(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0147708
(43) 공개일자 2024년10월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *G01N 33/569* (2017.01)
G01N 33/574 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2024-7032809(분할)
(22) 출원일자(국제) 2018년07월11일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2020-7003970
원출원일자(국제) 2018년07월11일
심사청구일자 2021년07월08일
(85) 번역문제출일자 2024년09월30일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/041612
(87) 국제공개번호 WO 2019/014328
국제공개일자 2019년01월17일
(30) 우선권주장
62/531,259 2017년07월11일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
콤파스 테라퓨틱스 엘엘씨
미국 02135 매사추세츠주 브라이턴 스위트 601 게스트 스트리트 80
(72) 발명자
바브로위츠, 피오테
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 퍼스트 스트리트 245 써드 플로어
위드붐, 폴
미국 03766 뉴햄프셔주 레바논 루센트 드라이브 7
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

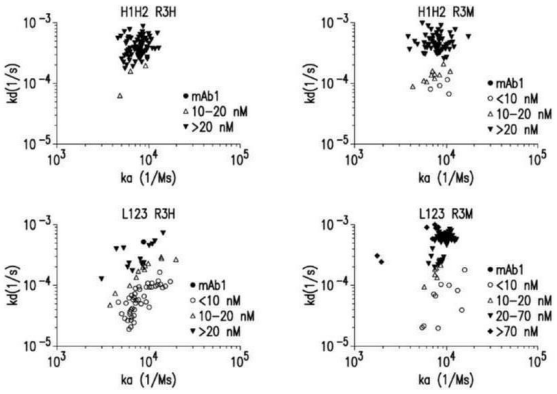
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 **인간 CD137에 결합하는 작동자 항체 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 개시는, 특히 CD137의 에피토프에 결합하여 CD137을 효능화하는 화합물(예: 항체 또는 이의 항원 결합 단편) 및 암의 하나 이상의 증상을 치료 또는 경감하기 위한 방법에서 상기 화합물의 용도에 관한 것이다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
G01N 33/56977 (2013.01)
G01N 33/574 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자
슈미트, 미카엘, 마취
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 퍼스트 스트리트 245 써드 플로어
라조이에, 제이슨, 엠.
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 퍼스트 스트리트 245 써드 플로어
타이, 로버트, 브이., 3세
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 퍼스트 스트리트 245 써드 플로어
룽, 측, 룬
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 퍼스트 스트리트 245 써드 플로어
에스키오칵, 우구르
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 퍼스트 스트리트 245 써드 플로어

(30) 우선권주장
62/531,190 2017년07월11일 미국(US)
62/568,231 2017년10월04일 미국(US)
62/577,257 2017년10월26일 미국(US)
62/577,259 2017년10월26일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 그의 항원 결합 부분이며, 각각 서열번호 129 및 133의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 단리된 단클론 항체 또는 그의 항원 결합 부분.

청구항 2

제1항의 항체 또는 그의 항원 결합 부분, 및

약학적으로 허용 가능한 담체

를 포함하는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 약제학적 조성물이며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 대상체에서 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 약제학적 조성물이며, 상기 방법은 대상체에게 항종양 면역 반응을 유도 또는 강화하는 데 유효한 약제학적 조성물의 양을 투여하는 것을 포함하고, 대상체는 주요 조직적합성 복합체 I(MHC I)을 발현하는 암 세포를 갖는 것인 약제학적 조성물.

청구항 4

제2항에 있어서, 대상체에서 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 약제학적 조성물이며, 여기서 암은 흑색종, 신경 교종, 신암, 대장암, 폐암, 전립선암, 유방암, 혈액암, 및 두경부암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 약제학적 조성물.

청구항 5

제2항에 있어서, 대상체에서 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 약제학적 조성물이며, 여기서 작용성 단클론 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 인간 CD137에 결합하는 기준 항체에 비해 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 특성 중 적어도 하나 이상을 나타내며, 기준 항체는 우렐루맙인 약제학적 조성물:

(a) 간 내 T 세포 활성화를 유도 또는 강화하지 않음;

(b) 간 내 T 세포 증식을 유도 또는 강화하지 않음;

(c) 비장 내 T 세포 활성화를 유도 또는 강화하지 않음;

(d) 비장 내 T 세포 증식을 유도 또는 강화하지 않음;

(e) 대식세포 활성화를 유도 또는 강화하지 않음;

(f) 대식세포 분화를 유도 또는 강화하지 않음;

(g) 알라닌 아미노기 전이효소(ALT) 활성을 유도 또는 강화하지 않음; 및

(h) 특성 (a)-(g)의 임의의 조합.

청구항 6

제2항에 있어서, 대상체에서 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 약제학적 조성물이며, 여기서 작용성 단클론 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 대상체에서 면역 세포의 사이토카인 생성을 유도 또는 강화하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 7

제7항에 있어서, 생성된 사이토카인은 IL-2, TNFα, IL-13, IFNɣ, 또는 이들의 조합인 약제학적 조성물.

청구항 8

제8항에 있어서, 면역 세포는 CD45를 발현하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 9

제2항에 있어서, 작용성 단클론 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 대상체에서 종양 미세환경에서의 T 조절(Treg) 세포의 양을 감소시키는 것인 약제학적 조성물.

청구항 10

제10항에 있어서, Treg 세포는 CD4, FOXP-3, 및 CD25를 발현하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 11

제2항에 있어서, 작용성 단클론 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 대상체에서 종양 미세환경에서의 대식세포의 양을 감소시키는 것인 약제학적 조성물.

청구항 12

제12항에 있어서, 대식세포는 CD45 및 CD11b를 발현하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 13

제2항에 있어서, 작용성 단클론 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 대상체에서 종양 미세환경에서의 T 세포 기능 소실을 감소시키는 것인 약제학적 조성물.

청구항 14

제14항에 있어서, T 세포 기능 소실 감소는 TIGIT, PD-1, LAG-3, 또는 이들의 조합의 발현 감소를 포함하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 15

제2항에 있어서, 작용성 단클론 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 대상체에서 항종양 기억 면역 반응을 유도하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 16

제2항에 있어서, 암 세포에서 다음 중 하나 이상을 유도 또는 강화하는 것을 포함하는 방법에 추가로 사용하기 위한 약제학적 조성물:

(a) CD137 삼량체의 이량체화;

(b) CD137 삼량체의 다량체화;

(c) 인간 CD137 매개 T 세포 활성화;

(d) 인간 CD137 매개 세포독성 T 세포 반응;

(e) 인간 CD137 매개 T 세포 증식; 및

(f) 인간 CD137 매개 사이토카인 생성.

청구항 17

암을 갖는 대상체가 작용성 CD137 항체 요법으로 치료될 수 있을 지 결정하는 방법이며,

(i) 대상체로부터의 암 세포를 포함하는 생물학적 샘플을 MHC I에 대한 제제와 접촉시키는 단계; 및

(ii) MHC I에 결합된 제제를 검출하는 단계를 포함하며,

여기서 MHC I의 존재는 암이 작용성 CD137 항체 또는 그의 항원 결합 단편으로 치료될 수 있음을 나타내는 것인 방법.

청구항 18

제18항에 있어서, 암이 작용성 CD137 항체 또는 그의 항원 결합 단편으로 치료될 수 있을 지 결정하는 단계, 및 대상체에게 작용성 항-CD137 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 19

암을 갖는 대상체에서 MHC I을 검출하는 방법이며,

(i) 대상체로부터의 암 세포를 포함하는 생물학적 샘플을 MHC I에 대한 제제와 접촉시키는 단계; 및

(ii) MHC I에 결합된 제제를 검출하는 단계를 포함하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원**

[0002] 본 출원은 2017년 7월 11일자로 출원된 미국 특허 가출원 제62/531,259호; 2017년 7월 11일에 출원된 미국 특허 가출원 제62/531,190호; 2017년 10월 4일에 출원된 미국 특허 가출원 제62/568,231호; 2017년 10월 26일에 출원된 미국 특허 가출원 제62/577,257호; 및 2017년 10월 26일에 출원된 미국 특허 가출원 제62/577,259호의 이익을 주장하며, 상기 언급된 출원의 전체 내용은 참조로서 본원에 통합된다.

배 경 기 술

[0003] 면역 체계가 종양 형성 및 진행에 대한 상당한 장벽으로서 작용한다는 것을 시사하는 일련의 증거가 최근 늘어나고 있다. 항종양 효능 또는 활성을 가진 자연 발생 T 세포가 암 환자 내에 존재한다는 원리는 종양학에 있어서 면역요법적 접근법의 개발에 대한 근거가 되어왔다. T 세포, 대식 세포 및 자연 살해 세포와 같은 면역 세포는 항종양 활성을 나타낼 수 있고 악성 종양의 발생 및 성장을 효과적으로 조절할 수 있다. 종양 특이적 항원 또는 종양 관련 항원은 악성 종양을 인식하여 제거하도록 면역 세포를 유도할 수 있다 (Chen & Mellman, (2013) *Immunity* 39(1):1-10 참조). 종양 특이적 면역 반응의 존재에도 불구하고, 악성 종양은 종종 다양한 면역조절 메커니즘을 통해 면역 공격을 모면하거나 회피하여 종양의 발생과 진행을 조절할 수 없게 한다(Motz & Coukos, (2013) *Immunity* 39(1):61-730 참조). 실제로, 암의 새로운 특징은 이러한 면역조절 메커니즘을 이용해 항종양 면역 반응을 무력화시키는 것이며, 이는 통해 종양은 면역학적 살해를 회피하고 이로부터 탈출하게 된다 (Hanahan 및 Weinberg (2011)) *Cell* 144(5):646-674 참조).

[0004] 암의 면역 요법에서의 신규한 접근법은 이러한 면역 회피 및 탈출 메커니즘에 대항하는 것 및 종양을 거부하도록 내인성 면역 체계를 유도하는 것을 포함한다. CD137(대안적으로은 "종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리 구성원 9"(TNFRSF9)인 4-1BB로도 알려져 있고, "림프구 유도형"(ILA)임)은 종양 괴사 인자 수퍼패밀리에 속하는 막관통 공동 자극 수용체 단백질이다. CD137은 TCR 활성화로 유도되는 T 세포 공동 자극 수용체이다(Nam 등의 (2005) *Curr Cancer Drug Target* 5:357-363; Watts 등의 (2005) *Annu Rev Immunol* 23:23-68 참조). CD137은 활성화된 CD4+ 및 CD8+ T 세포에서 발현될 뿐만 아니라, CD4+CD25+ 조절 T 세포, 활성화 자연 살해(NK) 세포 및 NK-T 세포, 단핵구, 호중구 및 수지상 세포에서도 발현된다.

[0005] 생리학적 조건 하에서, CD137은 B 세포, 단핵구, 대식세포 및 수지상 세포를 포함하는 항원 제시 세포에 존재하는 작용제 막 분자인 CD137 리간드(CD137L)에 의해 연결된다(Watt 등, (2005) *Annu Rev Immunol* 23:23-68 참조). CD137이 이의 리간드와 상호 작용하면, CD137은 TCR-유도 T 세포 증식을 증가시키고, 사이토카인 생산을 증가시키고, 기능적 성숙을 증가시키며, CD8+ T 세포의 생존을 연장시킨다. 면역 체계가 종양을 공격할 수 있게 함에 있어서, 다양한 작용제(예: 작용체 항체, 재조합 CD137L 단백질, 및 CD137-특이적 앱타머)를 사용하는 CD137 공동 자극의 효능은 많은 모델에서 문서화되었다(Dharmadhikari 등의 (2016) *Oncoimmunology* 5(4):e1113367 및 이에 통합된 참조 문헌 참조). 작용성 CD137 항체(우렐루맙, BMS-663513; Bristol-Myers Squibb)의 임상 평가에 대한 최근의 보고서에는 항체 투약량과 상관되는 중증 간독성(아미노 전이효소 증가(transaminitis))의 징후를 포함하여, 인간 대상체에서 치료와 관련하여 관찰된 이상 사례들이 문서화되어 있다 (Segal 등의 (2016) Clin Cancer Res 23(8):1929-1936 참조). 대조적으로, 항PD-1 항체(펨브롤리주맙)와 병용

시험한 상이한 작용성 CD137 항체(우토밀루맙, PF-05082566; Pfizer)는, 임의의 용량 제한 독성(dose-limiting toxicity)을 초래하지는 않았지만, 항PD-1 항체 단독 요법과 유사한 결과를 보였다(Tolcher, A. 등의 (2017) Clin Cancer Res 23(18): 5349-5357 참조). 이러한 결과는, CD137 작용제로 치료할 수 있는, 암을 포함한 다양한 질환 및 병태를 가진 환자들을 대상으로, CD137 작용제에 결합하면서, 안전하고 효과적인 치료제를 개발하기에 충분한 특성을 나타내는 신규한 작용성 항체에 대한 충족되지 않는 요구가 지속적으로 존재한다는 것을 강조한다.

발명의 내용

[0006] 본 개시는, 동물에서 보호 항종양 면역성을 나타내는 신규한 작용제 항CD137 항체의 발견에 적어도 부분적으로 기초한다. 특히, 본원에 기술된 항체는 다양한 종양 유형에 대해 효과적이고, 넓은 용량 범위에 걸쳐 효과적이다. 또한, 실시예에서 예시된 바와 같이, 본원에 기술된 항체는 매우 큰 종양에 대해 치료적으로 효과가 있다. 예를 들어, 본원에 기술된 작용제 항CD137 항체로 종양을 가진 마우스를 치료한 결과 1,800 mm^3만큼 큰 종양의 완전한 퇴행을 유도하였다. 도 15에 제시된 바와 같이, 이러한 마우스의 치료도 보호 면역성을 유도하였다. 그리고, 관찰된 바와 일관되게, 효능은 종양 미세환경에서의 긍정적인 면역 표현형 변화, 예컨대 조절 T 세포의 감소 및 T 세포 집단의 기능 소실을 수반하는 면역 세포 침윤의 증가였다(예: 도 22a~22d 참조).

[0007] 전술한 바와 같이, CD137의 작용성은 인간에서 간독성과 관련된 사망을 포함하여 특정 이상 사례와 연관되어왔다(예: Segal 등의 (2017) *Clin Cancer Res* 23(8): 1929-1935.참조). 작용제 항CD137 항체(예: 3H3 항체)를 사용한 치료로 인한 유사한 독성은 동물 모델에서도 관찰되었다(예: Bartkowiak 등의 (2018) *Clin Cancer Res* 24(5):1138-1151 참조). 그러나, 본원에 기술된 작용제 항CD137 항체는, 예를 들어, 간 효소의 혈장 수준(예를 들어, 알라닌 아미노기 전이 효소(ALT)) 및 면역 세포 침윤에 의해 결정했을 때, 간에 최소한의 영향을 미친다. 예를 들어, 상기 항체로 치료한 마우스에서는 간이나 비장 내에서 면역 세포 침윤이 증가했다는 증거가 없었다. 따라서, 본원에 기술된 항체는 매우 효과적일 뿐만 아니라, CD137 작용제와 연관된 특정 독성을 줄이기도 한다.

[0008] 본 개시는 임의의 특정 이론이나 작용 메커니즘에 의해 구속되지 않지만, 본원에 기술된 항체의 우월한 치료 특성 및 독성-감소 특성은 이들의 친화도 및 이들이 결합하는 신규한 에피토프 중 하나 또는 둘 다로부터 부분적으로 유도되는 것으로 여겨진다. 즉, 본원에 기술된 항체는 다른 효능제 항CD137 항체의 에피토프와 구별되는 공통의 신규한 에피토프를 공유한다. 그리고, 실시예에서 예시된 바와 같이, 본원에 기술된 항체에 의한 이러한 에피토프의 결합은 CD137의 상이한 에피토프에 결합하는 작용제 항체와 비교해 차별화된 시험관 내 활성, 예컨대, 조절 T 세포 증식, CD8+ T 세포 및 대식 세포에 의한 사이토카인 생성, 및 세포 내 신호 전달 등을 일으킨다. 또한, 항체에 대한 친화도 범위("스윗 스팟")가 항종양 활성에 특히 최적이라는 것이 입증되었다. 예를 들어, 친화도가 중간인 항체는 친화도가 더 높거나 낮은 항체와 비교해 큰 종양에 대해 더 효과적인 것으로 나타났다.

[0009] 전술한 바를 고려하면, 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 약 40 nM 내지 약 100 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 양태에서, 인간 CD137에 대한 항CD137 항체의 친화도는 마우스 CD137에 대한 mAb10의 친화도보다 적어도 2배(예를 들어, 적어도 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배 또는 10배) 더 높다. 일부 양태에서, 항CD137 항체의 친화도는 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 250, 200, 175, 150, 125, 110 또는 100 nM 이하이다. 일부 양태에서, 인간 CD137에 대한 항CD137 항체의 친화도는 마우스 CD137에 대한 mAb10의 친화도보다 적어도 2배(예를 들어, 적어도 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배 또는 10배) 더 높지만, 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 250, 200, 175, 150, 125, 110 또는 100 nM 이하이다.

[0010] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 서열번호 3의 아미노산 111~132 중 하나 이상(예: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개 모두)을 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 결합한다. 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 서열번호 3의 아미노산 111~132 내의 에피토프에 결합한다. 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 서열번호 3의 아미노산 111~132의 전

부 또는 일부에 결합한다. 일부 양태에서, 에피토프는 서열번호 3의 K114를 포함한다. 일부 양태에서, 에피토프는 서열번호 3의 잔기 E111, T113, 및 K114를 포함한다. 일부 양태에서, 에피토프는 서열번호 3의 잔기 E111, T113, K114, N126 및 I132를 포함한다. 일부 양태에서, 에피토프는 서열번호 3의 잔기 E111, T113, K114 및 P135를 포함한다. 일부 양태에서, 에피토프는 서열번호 3의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함한다. 일부 양태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 약 30 nM 내지 약 100 nM(예: 약 30 nM 내지 약 110 nM)의 친화도로 인간 CD137에 결합한다.

[0011] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 약 40~100 nM(예: 약 40 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, 서열번호 3의 K114를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 결합한다. 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, 서열번호 3의 K114를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 결합한다. 일부 양태에서, 에피토프는 서열번호 3의 잔기 E111, T113, 및 K114를 포함한다. 일부 양태에서, 에피토프는 서열번호 3의 잔기 E111, T113, K114, N126 및 I132를 포함한다. 일부 양태에서, 에피토프는 서열번호 3의 잔기 E111, T113, K114 및 P135를 포함한다. 일부 양태에서, 에피토프는 서열번호 3의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함한다.

[0012] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM 내지 약 100 nM)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, 인간 CD137은 서열번호 3의 아미노산 위치 111에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 에피토프는 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개의 아미노산 잔기를 포함한다.

[0013] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, 서열번호 3의 아미노산 잔기 111~135 사이에 위치한 인간 CD137 상의 에피토프에 결합한다. 일부 양태에서, 에피토프는 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15개의 아미노산이다. 일부 양태에서, 에피토프는 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 또는 5개 미만의 아미노산이다.

[0014] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, (서열번호 3의 아미노산 잔기 111~114에 상응하는) ELTK를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 결합한다. 일부 양태에서, 에피토프는 서열번호 3의 하나 이상의 잔기 N126, I132 및 P135를 포함한다.

[0015] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 에피토프는 비선형 에피토프이다. 전술한 양태 중 어느 하나에서, 서열번호 3의 잔기 K114의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 결합을 방해한다.

[0016] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 본원에 기술된 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM, 30~95 nM, 45~95 nM, 50~90 nM, 55~85 nM, 60~80 nM, 65~75 nM, 55~75 nM, 40~70 nM, 50~80 nM, 또는 60~90 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 양태에서, 항체 또는 항원 결합 부분은 인간 CD137의 세포외 도메인의 비리간드 결합 영역에 결합한다. 일부 양태에서, 항체 또는 항원 결합 부분은 CD137과 CD137L 간의 상호 작용을 억제하지 않는다. 일부 양태에서, 비리간드 결합 영역은 시스테인 풍부 도메인(CRD) III 및 CRD IV에 걸쳐 있다. 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 항원 결합 부분은 CD137:CD137L 단량체의 삼량체 형성을 억제하지 않는다.

[0017] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은:

[0018] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0019] (ii) 인간 CD137의 세포외 도메인의 비리간드 결합 영역에 결합하며;

[0020] (iii) 서열번호 3의 K114를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 결합한다.

[0021] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은:

[0022] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0023] (ii) 인간 CD137과 인간 CD137 리간드 간의 상호 작용을 억제하지 않으며;

[0024] (iii) 서열번호 3의 K114를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 결합한다.

[0025] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 포함하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은: (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, (ii) CD137:CD137L 단량체의 삼량체(즉, CD137:CD137L 삼량체:삼량체 복합체)의 형성을 억제하지 않는다. 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 포함하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, (ii) 인간 CD137의 세포외 도메인의 비리간드 결합 영역에 결합한다. 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 포함하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, (ii) 인간 CD137과 CD137 리간드 간의 상호 작용을 억제하지 않는다.

[0026] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX(서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. 일부 양태에서, 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 DXPFXLDXXYYYYYX(서열번호 127)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. 전술한 양태 중 어느 하나에서, 중쇄 CDR3의 잔기 D95, L100, Y100E, Y100G, Y100H, 또는 이들의 조합의 알라닌으로의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합의 손실을 초래한다. 전술한 양태 중 어느 하나에서, 잔기 P97, F98, D100A, Y100D, Y100F, 또는 이들의 조합의 알라닌으로의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합의 감소를 초래한다. 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하되, 중쇄 CDR3은 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0027] 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0028] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0029] (ii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX(서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. 일부 양태에서, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산이다.

[0030] 또 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0031] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0032] (ii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$(서열번호 128)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하되, X_1은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산이다. 일부 양태에서, X_2는 프롤린이고, X_3은 페닐알라닌 또는 트립토판이고, X_5는 아스파르트산 또는 글루탐산이고, X_8은 티로신이며, X_9는 티로신이다.

[0033] 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0034] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에

결합하고;

[0035] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 하나 이상의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 특이적으로 결합한다.

[0036] 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0037] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0038] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 하나 이상의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 특이적으로 결합하고;

[0039] (iii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX(서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하거나(X는 임의의 아미노산임);

[0040] (iv) 이들의 조합이다. 일부 양태에서, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산이다.

[0041] 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0042] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0043] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 하나 이상의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 특이적으로 결합하고;

[0044] (iii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$(서열번호 128)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하거나(X_1은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산임);

[0045] (iv) 이들의 조합이다. 일부 양태에서, X_2는 프롤린이고, X_3은 페닐알라닌 또는 트립토판이고, X_5는 아스파르트산 또는 글루탐산이고, X_8은 티로신이며, X_9는 티로신이다.

[0046] 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0047] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0048] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 하나 이상의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 특이적으로 결합하고;

[0049] (iii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX(서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다(X는 임의의 아미노산임). 일부 양태에서, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산이다.

[0050] 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0051] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0052] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 하나 이상의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 특이적으로 결합하고;

[0053] (iii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$(서열번호 128)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하되, X_1은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의

의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산이다. 일부 양태에서, X_2는 프롤린이고, X_3은 페닐알라닌 또는 트립토판이고, X_5는 아스파르트산 또는 글루탐산이고, X_8은 티로신이며, X_9는 티로신이다.

[0054] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 에피토프는 K114를 포함한다. 전술한 양태 중 어느 하나에서, 에피토프는 E111, T113 및 K114를 포함한다. 전술한 양태 중 어느 하나에서, 에피토프는 E11, T113, K114, N126 및 I132를 포함한다. 전술한 양태 중 어느 하나에서, 에피토프는 서열번호 3의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함한다.

[0055] 또 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0056] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0057] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합한다.

[0058] 또 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0059] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0060] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하고;

[0061] (iii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX(서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하거나(X는 임의의 아미노산임);

[0062] (iv) 이들의 조합이다. 일부 양태에서, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산이다.

[0063] 또 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0064] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0065] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하고;

[0066] (iii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$(서열번호 128)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하거나(X_1은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산임);

[0067] (iv) 이들의 조합이다. 일부 양태에서, X_2는 프롤린이고, X_3은 페닐알라닌 또는 트립토판이고, X_5는 아스파르트산 또는 글루탐산이고, X_8은 티로신이며, X_9는 티로신이다.

[0068] 또 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0069] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0070] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하며;

[0071] (iii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX(서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다(X는 임의의 아미노산임). 일부 양태에서, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산이다.

[0072] 또 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0073] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0074] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하며;

[0075] (iii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$(서열번호 128)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하되, X_1은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산이다. 일부 양태에서, X_2는 프롤린이고, X_3은 페닐알라닌 또는 트립토판이고, X_5는 아스파르트산 또는 글루탐산이고, X_8은 티로신이며, X_9는 티로신이다.

[0076] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 에피토프는 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개의 아미노산 잔기를 포함한다.

[0077] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0078] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도로 인간 CD137에 결합하고;

[0079] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 (서열번호 3의 아미노산 잔기 111 내지 114에 상응하는) ELTK를 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합한다.

[0080] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0081] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0082] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 (서열번호 3의 아미노산 잔기 111 내지 114에 상응하는) ELTK를 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하고;

[0083] (iii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX(서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하거나(X는 임의의 아미노산임);

[0084] (iv) 이들의 조합이다. 일부 양태에서, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산이다.

[0085] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0086] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0087] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 (서열번호 3의 아미노산 잔기 111 내지 114에 상응하는) ELTK를 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하고;

[0088] (iii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$(서열번호 128)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하거나(X_1은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아

미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산임);

[0089] (iv) 이들의 조합이다. 일부 양태에서, X_2는 프롤린이고, X_3은 페닐알라닌 또는 트립토판이고, X_5는 아스파르트산 또는 글루탐산이고, X_8은 티로신이며, X_9는 티로신이다.

[0090] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0091] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0092] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 (서열번호 3의 아미노산 잔기 111 내지 114에 상응하는) ELTK를 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하며;

[0093] (iii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX(서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다(X는 임의의 아미노산임). 일부 양태에서, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산이다.

[0094] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되,

[0095] (i) 항체 또는 항원 결합 부분은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0096] (ii) 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 (서열번호 3의 아미노산 잔기 111 내지 114에 상응하는) ELTK를 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하며;

[0097] (iii) 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$(서열번호 128)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하되, X_1은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산이다. 일부 양태에서, X_2는 프롤린이고, X_3은 페닐알라닌 또는 트립토판이고, X_5는 아스파르트산 또는 글루탐산이고, X_8은 티로신이며, X_9는 티로신이다

[0098] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 에피토프는 서열번호 3의 잔기 ELTK(서열번호 3의 아미노산 잔기 111~114에 상응함)를 포함한다. 일부 양태에서, 에피토프는 서열번호 3의 잔기 ELTK(서열번호 3의 아미노산 잔기 111~114에 상응함) 및 서열번호 3의 잔기 N126, I132 및 P135를 포함한다.

[0099] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 에피토프는 비선형 에피토프이다. 일부 양태에서, 인간 CD137(서열번호 3)의 잔기 K114의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 결합을 방해한다.

[0100] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 아미노산 서열 DXPFXLDXXYYYYYX(서열번호 128)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. 일부 양태에서, 본원에 기술된 항체 또는 항원 결합 부분의 중쇄 CDR3의 잔기 D95, L100, Y100E, Y100G, Y100H, 또는 이들의 조합의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합의 손실을 초래한다. 일부 양태에서, 본원에 기술된 항체 또는 항원 결합 부분의 중쇄 CDR3의 잔기 P97, F98, D100A, Y100D, Y100F, 또는 이들의 조합의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합의 감소를 초래한다. 다른 양태에서, 알라닌을 제외한 임의의 잔기에 대한 본원에 기술된 항체 또는 항원 결합 부분의 중쇄 CDR3의 잔기 P97, F98, D100A, Y100D, Y100F, 또는 이들의 조합의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합의 증가를 초래한다.

[0101] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 약 45~nM, 50~90 nM, 55~85 nM, 60~80 nM, 65~75 nM, 55~75 nM, 40~70 nM, 50~80 nM, 또는 60~90 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 약 45 nM 내지 약 95 nM, 약 50 내지 약 90 nM, 약 55 내지 약 85 nM, 약 60 내지 약 80 nM, 약 65 내지 약 75 nM, 약 55 내지 약 75 nM, 약 40 내지 약 70 nM, 약 50 내지 약 80 nM, 또는 약 60 내지 약 90 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다.

[0102] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하되, 중쇄 CDR3은

서열번호 68에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0103] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함한다:

[0104] (a) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열; 및

[0105] (b) 서열번호 51, 108 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열.

[0106] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 4 및 101로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다.

[0107] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0108] (a) 서열번호 4 및 6의 각각; 및

[0109] (b) 서열번호 101 및 6의 각각.

[0110] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 4 및 101로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0111] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0112] (a) 서열번호 4 및 6의 각각; 및

[0113] (b) 서열번호 101 및 6의 각각.

[0114] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 제1항 내지 제27항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0115] (a) 서열번호 129 및 133의 각각; 및

[0116] (b) 서열번호 131 및 133의 각각.

[0117] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 본원에 기술된 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 인간 CD137 활성의 작용제이다.

[0118] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 본원에 기술된 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 인간 CD137의 에피토프에 결합하기 위해 mAb1 또는 mAb1의 항원 결합 단편과 경쟁한다.

[0119] 일부 양태에서, 본 개시는 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체, 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함한다:

[0120] (a) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0121] (b) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 70, 79 및 90에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0122] (c) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및 서열번호 71, 80 및 91에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0123] (d) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 72, 81 및 92에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0124] (e) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및 서열번호 73, 82 및 91에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0125] (f) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 74, 83 및 93에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0126] (g) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및 서열번호 75, 84 및 91에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0127] (h) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 74, 85 및 94에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0128] (i) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및 서열번호 76, 86 및 95에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0129] (j) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 77, 87 및 93에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0130] (k) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 88 및 90에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0131] (l) 서열번호 49, 57 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0132] (m) 서열번호 49, 58 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0133] (n) 서열번호 49, 59 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0134] (o) 서열번호 49, 60 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0135] (p) 서열번호 50, 61 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0136] (q) 서열번호 50, 58 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0137] (r) 서열번호 51, 62 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0138] (s) 서열번호 52, 63 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0139] (t) 서열번호 50, 64 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0140] (u) 서열번호 50, 65 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0141] (v) 서열번호 51, 108 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0142] (w) 서열번호 107, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열; 및

[0143] (x) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 109, 110 및 92에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열.

[0144] 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역은, 서열

번호 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 101 및 103으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 6, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 및 105로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0145] 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0146] (a) 서열번호 5 및 7의 각각; 및

[0147] (b) 서열번호 102 및 7의 각각.

[0148] 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하되, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0149] (a) 서열번호 5 및 7의 각각;

[0150] (b) 서열번호 5 및 29의 각각;

[0151] (c) 서열번호 5 및 31의 각각;

[0152] (d) 서열번호 5 및 33의 각각;

[0153] (e) 서열번호 5 및 35의 각각;

[0154] (f) 서열번호 5 및 37의 각각;

[0155] (g) 서열번호 5 및 39의 각각;

[0156] (h) 서열번호 5 및 41의 각각;

[0157] (i) 서열번호 5 및 43의 각각;

[0158] (j) 서열번호 5 및 45의 각각;

[0159] (k) 서열번호 5 및 47의 각각;

[0160] (l) 서열번호 9 및 7의 각각;

[0161] (m) 서열번호 11 및 7의 각각;

[0162] (n) 서열번호 13 및 7의 각각;

[0163] (o) 서열번호 15 및 7의 각각;

[0164] (p) 서열번호 17 및 7의 각각;

[0165] (q) 서열번호 19 및 7의 각각;

[0166] (r) 서열번호 21 및 7의 각각;

[0167] (s) 서열번호 23 및 7의 각각;

[0168] (t) 서열번호 25 및 7의 각각;

[0169] (u) 서열번호 27 및 7의 각각;

[0170] (v) 서열번호 102 및 7의 각각;

[0171] (w) 서열번호 104 및 7의 각각; 및

[0172] (x) 서열번호 5 및 106의 각각.

[0173] 또 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0174] 또 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX(서열번호 126)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. 일부 양태에서, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산이다.

[0175] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DXPFXLDXXYYYYYX(서열번호 127)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. 일부 양태에서, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산이다.

[0176] 또 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX(서열번호 126)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이고, 잔기 D95, L100, Y100E, Y100G, Y100H, 또는 이들의 조합의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합의 손실을 초래한다.

[0177] 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DXPFXLDXXYYYYYX(서열번호 127)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이고, 잔기 P97, F98, D100A, Y100D, Y100F, 또는 이들의 조합의 알라닌으로의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합을 감소시킨다.

[0178] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DXPFXLDXXYYYYYX(서열번호 127)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이고, 잔기 P97, F98, D100A, Y100D, Y100F, 또는 이들의 조합의 알라닌을 제외한 임의의 잔기로의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합을 감소시킨다.

[0179] 또 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DX1X2X3X4LX5X6X7X8YX9YYX10(서열번호 128)을 포함하되, X1은 임의의 아미노산이고, X2는 비극성 아미노산이고, X3은 비극성 아미노산이고, X4는 임의의 아미노산이고, X5는 극성 아미노산이고, X6은 임의의 아미노산이고, X7은 임의의 아미노산이고, X8은 극성 아미노산이고, X9는 극성 아미노산이며, X10은 임의의 아미노산이다. 일부 양태에서, X2는 프롤린이고, X3은 페닐알라닌 또는 트립토판이고, X5는 아스파르트산 또는 글루탐산이고, X8은 티로신이며, X9는 티로신이다.

[0180] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0181] (a) 서열번호 4 및 6의 각각;

[0182] (b) 서열번호 4 및 28의 각각;

[0183] (c) 서열번호 4 및 30의 각각;

[0184] (d) 서열번호 4 및 32의 각각;

[0185] (e) 서열번호 4 및 34의 각각;

[0186] (f) 서열번호 4 및 36의 각각;

[0187] (g) 서열번호 4 및 38의 각각;

[0188] (h) 서열번호 4 및 40의 각각;

[0189] (i) 서열번호 4 및 42의 각각;

[0190] (j) 서열번호 4 및 44의 각각;

[0191] (k) 서열번호 4 및 46의 각각;

[0192] (l) 서열번호 8 및 6의 각각;

[0193] (m) 서열번호 10 및 6의 각각;

[0194] (n) 서열번호 12 및 6의 각각;

[0195] (o) 서열번호 14 및 6의 각각;

[0196] (p) 서열번호 16 및 6의 각각;

[0197] (q) 서열번호 18 및 6의 각각;

[0198] (r) 서열번호 20 및 6의 각각;

[0199] (s) 서열번호 22 및 6의 각각;

[0200] (t) 서열번호 24 및 6의 각각;

[0201] (u) 서열번호 26 및 6의 각각;

[0202] (v) 서열번호 101 및 6의 각각;

[0203] (w) 서열번호 103 및 6의 각각; 및

[0204] (x) 서열번호 4 및 105의 각각.

[0205] 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 101 및 103으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 6, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 및 105로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0206] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0207] (a) 서열번호 4 및 6의 각각;

[0208] (b) 서열번호 4 및 28의 각각;

[0209] (c) 서열번호 4 및 30의 각각;

[0210] (d) 서열번호 4 및 32의 각각;

[0211] (e) 서열번호 4 및 34의 각각;

[0212] (f) 서열번호 4 및 36의 각각;

[0213] (g) 서열번호 4 및 38의 각각;

[0214] (h) 서열번호 4 및 40의 각각;

[0215] (i) 서열번호 4 및 42의 각각;

[0216] (j) 서열번호 4 및 44의 각각;

[0217] (k) 서열번호 4 및 46의 각각;

[0218] (l) 서열번호 8 및 6의 각각;

[0219] (m) 서열번호 10 및 6의 각각;

[0220] (n) 서열번호 12 및 6의 각각;

[0221] (o) 서열번호 14 및 6의 각각;

[0222] (p) 서열번호 16 및 6의 각각;

[0223] (q) 서열번호 18 및 6의 각각;

[0224] (r) 서열번호 20 및 6의 각각;

[0225] (s) 서열번호 22 및 6의 각각;

[0226] (t) 서열번호 24 및 6의 각각;

[0227] (u) 서열번호 26 및 6의 각각;

[0228] (v) 서열번호 101 및 6의 각각;

[0229] (w) 서열번호 103 및 6의 각각; 및

[0230] (x) 서열번호 4 및 105의 각각.

[0231] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 서열을 포함한다:

[0232] (a) 서열번호 129 및 133의 각각; 및

[0233] (b) 서열번호 131 및 133의 각각.

[0234] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 129 및 133에 제시된 아미노산 서열을 각각 갖는 중쇄 및 경쇄 서열을 포함한다.

[0235] 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 131 및 133에 제시된 아미노산 서열을 각각 갖는 중쇄 및 경쇄 서열을 포함한다

[0236] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 항체 또는 항원 결합 부분은 인간 CD137에 특이적으로 결합하여 이를 효능화한다.

[0237] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 특성 중 적어도 하나 이상을 나타낸다:

[0238] (a) CD137 삼량체의 이량체화를 유도 또는 강화함;

[0239] (b) CD137 삼량체의 다량체화를 유도 또는 강화함;

[0240] (c) T 세포 활성화를 유도 또는 강화함;

[0241] (d) 세포독성 T 세포 반응을 유도 또는 강화함;

[0242] (e) T 세포 증식을 유도 또는 강화함;

[0243] (f) 면역 세포 사이토카인 생산을 유도 또는 강화함; 및

[0244] (g) 특성 (a)~(f)의 임의의 조합.

[0245] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 인간 CD137에 결합하는 기준 항체에 비해 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 특성 중 적어도 하나 이상을 나타낸다:

[0246] (a) 간 내 T 세포 활성화를 유도 또는 강화하지 않음;

[0247] (b) 간 내 T 세포 증식을 유도 또는 강화하지 않음;

[0248] (c) 종양 내 T 세포 활성화를 유도 또는 강화하지 않음;

[0249] (d) 종양 내 T 세포 증식을 유도 또는 강화하지 않음;

[0250] (e) 대식세포 활성화를 유도 또는 강화하지 않음;

[0251] (f) 대식세포 분화를 유도 또는 강화하지 않음;

[0252] (g) 알라닌 아미노기 전이효소(ALT) 활성을 유도 또는 강화하지 않음; 및

[0253] (h) 특성 (a)~(g)의 임의의 조합. 일부 양태에서, 기준 항체는 우렐루맙이다.

[0254] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 T 세포 활성화를 유도 또는 강화하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 T 세포 활성화를 유의미하게 유도 또는 강화하지 않는다.

[0255] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 T 세포 활성화를 유도 또는 강화하지만, 비장 및/또는 간에서는 T 세포 활성화를 유의미하게 유도 또는 강화하지 않는다.

[0256] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 세포독성 T 세포 반응을 유도 또는 강화하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 세포독성 T 세포 반응을 유의미하게 유도 또는 강화하지 않는다.

[0257] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 인간 세포독성 T 세포 반응을 유도 또는 강화하지만, 비장 및/또는 간에서는 세포독성 T 세포 반응을 유의미하게 유도 또는 강화하지 않는다.

[0258] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 T 세포 증식을 유도하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 T 세포 증식을 유의미하게 유도하지 않는다.

[0259] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 T 세포 증식을 유도하지만, 비장 및/또는 간에서는 T 세포 증식을 유의미하게 유도하지 않는다.

[0260] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 T 세포 침윤을 유도하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 T 세포 침윤을 유의미하게 유도하지 않는다.

[0261] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 T 세포 침윤을 유도하지만, 비장 및/또는 간에서는 T 세포 침윤을 유의미하게 유도하지 않는다.

[0262] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 사이토카인 생성을 유도 또는 강화하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 사이토카인 생성을 유의미하게 유도 또는 강화하지 않는다.

[0263] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 본원에 기술된 항체 또는 항원 결합 부분의 특성은 Fc 감마 수용체 결합에 의존하지 않는다. 일부 양태에서, 본원에 기술된 항체 또는 항원 결합 부분의 특성은 Fc 감마 수용체 결합에 의해 강화되지 않는다.

[0264] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 mAb1(즉, 서열번호 4와 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)과 교차 경쟁한다. 일부 양태에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 mAb1(즉, 서열번호 4와 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체), mAb8(즉, 서열번호 101과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체) 또는 mAb10(즉, 서열번호 26과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)와 교차 경쟁한다. 일부 양태에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 mAb8(즉, 서열번호 101과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)과 교차 경쟁한다. 일부 양태에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 mAb10(즉, 서열번호 26과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)과 교차 경쟁한다.

[0265] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 적어도 mAb1(즉, 서열번호 4와 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)의 기능적 특성을 포함한다. 일부 양태에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 적어도 mAb1(즉, 서열번호 4와 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체), mAb8(즉, 서열번호 101과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체) 또는 mAb10(즉, 서열번호 26과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)의 기능적 특성을 포함한다. 일부 양태에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 적어도 mAb8(즉, 서열번호 101과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)의 기능적 특성을 포함한다. 일부 양태에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 적어도 mAb10(즉, 서열번호 26과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)의 기능적 특성을 포함한다.

[0266] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 mAb1(즉, 서열번호 4와 6의 중

쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)과 적어도 동등한 K_D 값을 갖는다. 일부 양태에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 mAb1(즉, 서열번호 4와 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체), mAb8(즉, 서열번호 101과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체) 또는 mAb10(즉, 서열번호 26과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)와 적어도 동등한 K_D 값을 갖는다. 일부 양태에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 mAb8(즉, 서열번호 101과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)과 적어도 동등한 K_D 값을 갖는다. 일부 양태에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 mAb10(즉, 서열번호 26과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)과 적어도 동등한 K_D 값을 갖는다.

[0267] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 시노몰구스 CD137 및/또는 마우스 CD137과 교차 반응한다.

[0268] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, 및 IgE 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 IgG1 항체 또는 IgG4 항체이다.

[0269] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체는 야생형 IgG1 또는 야생형 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 양태에서, 단리된 단클론 항체는 돌연변이체 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 양태에서, 단리된 단클론 항체는 돌연변이체 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 양태에서, 돌연변이체 IgG4 중쇄 불변 영역은 Ser228에서 치환을 포함한다. 일부 측면에서, 돌연변이체 IgG4 중쇄 불변 영역은 치환 S228P를 포함한다.

[0270] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 CD137의 에피토프에 결합하되, 항체가 결합된 에피토프를 포함하는 아미노산 잔기는 본원에 기술된 mAb1 항체의 파라토프를 포함하는 아미노산 잔기의 4 옹스트롬 내에 위치한다.

[0271] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 CD137의 에피토프에 결합하되, 항체가 결합된 에피토프의 돌연변이는 항체 및 항체 mAb1에 대한 결합을 억제하거나, 감소시키거나, 차단한다.

[0272] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 완전한 인간 항체이거나 인간화 항체(즉, 완전한 인간 항체 또는 인간화 항체 또는 이의 항원 결합 부분)이다.

[0273] 일부 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 포함하는 약학적 조성물, 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 제공한다.

[0274] 다른 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 경쇄, 중쇄, 또는 경쇄와 중쇄 둘 다를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 제공한다. 일부 양태에서, 핵산은 서열번호 5 및 7을 포함한다. 일부 양태에서, 핵산은 서열번호 102 및 7을 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 핵산을 포함하는 발현 벡터를 제공한다. 다른 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 발현 벡터로 형질 변환된 세포를 제공한다.

[0275] 또 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 생산하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 발현을 허용하는 조건 하에서 본원에 기술된 세포를 유지하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 생산하기 위한 방법은 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 수득하는 단계를 추가로 포함한다.

[0276] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 인간 CD137 삼량체의 이량체화를 유도 또는 강화하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분 또는 본원에 기술된 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0277] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 인간 CD137 삼량체의 다량체화를 유도 또는 강화하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분 또는 본원에 기술된 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0278] 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 T 세포 활성화를 유도 또는 강화하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분 또는 본원에 기술된 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, T 세포 활성화는 종양 미세환경에서 발생한다. 다른 양태에서, T 세포 활성화는 대상체의 비장 및/또는 간에서

는 유의하게 발생하지 않는다.

[0279] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 세포독성 T 세포 반응을 유도 또는 강화하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분 또는 본원에 기술된 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, 세포독성 T 세포 반응은 종양 미세환경에서 발생한다. 다른 양태에서, 세포독성 T 세포 반응은 대상체의 비장 및/또는 간에서는 유의하게 발생하지 않는다.

[0280] 일부 양태에서, 본 개시는 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 사이토카인 생성을 유도 또는 강화하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분 또는 본원에 기술된 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2, TNFα, IL-13, IFNɣ, 또는 이들의 조합이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 TNFα이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-13이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IFNɣ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2 및 TNFα이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2 및 IL-13이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2 및 IFNɣ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 TNFα 및 IL-13이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 TNFα 및 IFNɣ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-13 및 IFNɣ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2, TNFα 및 IL-13이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2, TNFα 및 IFNɣ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IFNɣTNFα 및 IL-13이다. 다른 양태에서, 사이토카인 생성은 종양 미세환경에서 발생한다. 또 다른 양태에서, 사이토카인 생성은 대상체의 비장 및/또는 간에서는 유의하게 발생하지 않는다.

[0281] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 T 세포 증식을 유도 또는 강화하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분 또는 본원에 기술된 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, T 세포 증식은 종양 미세환경에서 발생한다. 다른 양태에서, T 세포 증식은 대상체의 비장 및/또는 간에서는 유의하게 발생하지 않는다.

[0282] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 종양 성장을 감소 또는 억제하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분 또는 본원에 기술된 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0283] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 장애를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분 또는 본원에 기술된 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0284] 일부 양태에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분 또는 본원에 기술된 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, 암은 흑색종, 신경 교종, 신암, 유방암, 혈액암 및 두경부암으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 혈액암은 B 세포 림프종이다.

[0285] 일부 양태에서, 본 개시는 항종양 기억 면역 반응을 유도하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분 또는 본원에 기술된 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0286] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 면역 세포의 종양 미세환경 내로의 침윤은 항체 또는 항원 결합 부분의 투여 후에 증가한다. 일부 양태에서, 면역 세포는 CD45를 발현한다.

[0287] 전술한 양태 중 어느 하나에서, T 조절(Treg) 세포의 양은 항체 또는 항원 결합 부분의 투여 후에 종양 미세환경에서 감소한다. 일부 양태에서, Treg 세포는 CD4, FOXP-3 및 CD24를 발현한다.

[0288] 전술한 양태 중 어느 하나에서, 대식 세포의 양은 항체 또는 항원 결합 부분의 투여 후에 종양 미세환경에서 감소한다. 일부 양태에서, 대식 세포는 CD45 및 CD11b를 발현한다.

[0289] 전술한 양태 중 어느 하나에서, T 세포의 기능 소실은 항체 또는 항원 결합 부분의 투여 후에 감소된다. 일부 양태에서, T 세포 기능 소실 감소는 TIGIT, PD-1, LAG-3 또는 이들의 조합의 발현 감소를 포함한다. 일부 양태에서, T 세포 기능 소실은 TIGIT 및 PD-1의 발현 감소를 포함한다.

[0290] 전술한 양태 중 어느 하나에서, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, 자연 살해 세포, 또는 이들의 조합의 고갈은 항체

또는 항원 결합 부분의 효능을 감소시킨다.

[0291] 또 다른 양태에서, 본 개시는 생물학적 샘플에서 인간 CD137의 존재 또는 부재를 검출하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은:

[0292] (a) 생물학적 샘플을 본원에 기술된 항체 또는 항원 결합 부분과 접촉시키되, 항체 또는 항원 결합 부분은 검출 가능한 물질로 표지되는 단계; 및

[0293] (b) 인간 CD137에 결합된 항체 또는 항원 결합 부분을 검출하여 생물학적 샘플에서 인간 CD137의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함한다.

[0294] 또 다른 양태에서, 본 개시는 용기 및 패키지 삽입체를 포함하는 키트를 제공하며, 상기 용기는 암의 치료나 암 진행의 지연 또는 종양 성장의 감소나 억제를 필요로 하는 대상체에서 암의 치료나 암 진행의 지연 또는 종양 성장의 감소나 억제를 위한 본원에 기술된 항체 또는 항원 결합 부분, 및 임의로 약학적으로 허용 가능한 담체, 또는 약학적 조성물을 포함하고; 상기 패키지 삽입체는 항체 또는 약학적 조성물의 투여를 위한 지침을 포함한다.

[0295] 또 다른 양태에서, 본 개시는 용기 및 패키지 삽입체를 포함하는 키트를 제공하며, 상기 용기는 암의 치료나 암 진행의 지연 또는 종양 성장의 감소나 억제를 필요로 하는 대상체에서 암의 치료나 암 진행의 지연 또는 종양 성장의 감소나 억제를 위한 본원에 기술된 항체 또는 항원 결합 부분, 및 임의로 약학적으로 허용 가능한 담체, 또는 약학적 조성물을 포함하고; 상기 패키지 삽입체는 항체 또는 약학적 조성물의 단독 투여 또는 다른 제제와의 병용 투여를 위한 지침을 포함한다.

[0296] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 T 세포 활성화를 유도 또는 강화하기 위한, 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 용도를 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 인간 CD137 이량체의 다량체화를 유도 또는 강화하기 위한, 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 용도를 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 세포독성 T 세포 반응을 유도 또는 강화하기 위한, 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 용도를 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 사이토카인의 생성을 유도 또는 강화하기 위한, 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 용도를 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 T 세포 증식을 유도 또는 강화하기 위한, 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 용도를 제공한다.

[0297] 또 다른 양태에서, 본 개시는 종양 성장의 감소 또는 억제를 필요로 하는 대상체에서 종양 성장의 감소 또는 억제를 위한, 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 용도를 제공한다. 다른 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 의해 매개된 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 장애의 치료를 위한, 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 용도를 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 개시는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암의 치료를 위한, 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 용도를 제공한다.

[0298] 또 다른 양태에서, 본 개시는 암의 치료나 암 진행의 지연 또는 종양 성장의 감소 또는 억제를 필요로 하는 대상체에서 암의 치료나 암 진행의 지연 또는 종양 성장의 감소 또는 억제를 위한 의약 제조를 위한, 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 용도를 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 개시는 암의 치료나 암 진행의 지연 또는 종양 성장의 감소 또는 억제를 필요로 하는 대상체에서 암의 치료나 암 진행의 지연 또는 종양 성장의 감소 또는 억제를 위한 의약의 제조에, 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 개시는 의약으로서 사용하기 위한, 본원에 기술된 바와 같은 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0299] **도 1**은 상기 부모 항CD137 항체 mAb1의 친화도 성숙된 클론의 결합 친화도의 분포를 도시하는 그래프를 제공한다.

도 2은 인간 또는 마우스 CD137에 대한 결합 친화도에 의해 측정했을 때, mAb1 CDRH3 알라닌 스캐닝의 결과를 보여주는 개략도를 제공한다.

도 3a는 인간 CD137의 아미노산 서열을 보여주며, mAb1, mAb4 또는 mAb5가 결합된 에피토프를 포함하는 잔기는 굵은 글씨체로 표시되어 있다.

도 3b는 표면 플라스몬 공명(surface plasmon resonance)에 의해 결정했을 때, 마우스 및 랫트 CD137의 세포외 도메인에 대한 mAb1의 동역학 결합 데이터를 도시한 그래프이다.

도 3c는 CD137L(회색으로 도시됨)에 결합된 인간 CD137 및 잔기 E111, T113, K114 및 P135(구체로 도시됨)의 x-선 결정 이미지를 제공한다.

도 3d는 상기 3량체를 형성함에 있어서 CD137L(회색으로 도시됨)에 결합된 인간 CD137 및 잔기 E111, T113, K114 및 P135(구체로 도시됨)의 x-선 결정 이미지를 제공한다.

도 4a는 항CD137 항체에 반응하여 CD44+ T 세포 상에서 TIGIT(상단) 또는 PD-1(하단)의 발현이 증가한 것을 도시하는 유세포 분석 데이터의 산포도를 제공한다.

도 4b는 항CD137 항체로 치료한 후 마우스의 비장에서 TIGIT(상단) 또는 PD-1(하단)을 발현하는 CD8+ CD44+ T 세포의 정량화를 도시한 그래프를 제공한다.

도 4c는 항CD137 항체로 치료한 후 마우스의 비장에서 CD8+ T 세포의 정량화를 비장당 CD45+ 세포의 백분율(좌측) 또는 세포 수의 백분율(우측)로서 도시한 그래프를 제공한다.

도 5a는 표시된 투약량의 항CD137 항체로 치료한 후 마우스에서 개별 CT26 종양 부피를 나타낸 그래프를 제공한다.

도 5b는 도 5a에서 제공된 평균 종양 부피를 나타낸 그래프이다.

도 5c는 항CD137 항체로 치료한 후 종양을 가진 마우스의 전체 생존율을 나타낸 카플란-마이어 그래프이다.

도 5d는 종양원성 CT26 세포를 재접종한 마우스에서 종양 부피를 나타낸 그래프이다.

도 6a는 부모 및 친화도 성숙 항CD137 항체로 치료한 후 마우스에서 개별 CT26 종양의 부피를 나타낸 그래프를 제공한다.

도 6b는 도 6a에서 제공된 평균 종양 부피를 제공하는 그래프이다.

도 7은 표시된 투약양의 항CD137 항체로 치료한 후 비장 T 세포(상단) 및 종양 침윤 백혈구(하단) 대비 CD8+ 또는 CD4+ T 세포의 백분율을 나타낸 그래프를 제공한다.

도 8은 림프구 고갈 항체의 유무와 상관없이, 마우스를 mAb1로 치료했을 때 개별 종양 부피를 나타내는 그래프를 제공한다. CD4+ T 세포는 GK1.5에 의해 고갈되었고(중간 그래프), CD8+ T 세포는 YTS169.4에 의해 고갈되었고(오른쪽에서 2번째 그래프), NK 세포는 항아시알로-GM1 항체에 의해 고갈되었다(오른쪽 마지막 그래프).

도 9는 CT26 종양(결장 암종), EMT-6 종양(유방 암종), A20 종양(B 세포 림프종), 또는 MC38 종양(결장 암종)을 가졌고 mAb8 또는 이소형 대조군 항체로 치료한 마우스에서 개별 종양 부피를 나타낸 그래프를 제공한다.

도 10a~10c는 마우스당 150 μg을 투여했을 때 항CD137 항체의 생체 내 항종양 효능을 보여준다. 개별 종양 부피는 **10a**에 도시되어 있고, 평균 종양 부피는 **10b**에 도시되어 있으며 생존 백분율은 **10c**에 도시되어 있다.

도 11a~11c는 마우스당 20 μg을 투여했을 때 항CD137 항체의 생체 내 항종양 효능을 보여준다. 개별 종양 부피는 **11a**에 도시되어 있고, 평균 종양 부피는 **11b**에 도시되어 있으며 생존 백분율은 **11c**에 도시되어 있다.

도 12는 CT26 종양을 가졌고 다양한 투약량의 mAb1(12.5, 25, 50, 100 또는 200 μg) 또는 이소형 대조군으로 치료한 마우스에서 개별 종양 부피를 나타낸 그래프를 제공한다.

도 13a 및 **도 13b**는 mAab1의 항종양 효능에서 Fc 결합의 기여를 보여준다. **도 13a**는 mAb1을 IgG4 이소형 또는 IgG4 아글리코실화된 이소형으로서 보여준다. 평균 종양 부피는 상단에 표시되어 있고 개별 종양 부피는 하단에 도시되어 있다. **도 13b**는 mAb1을 IgG4 이소형 또는 IgG1 아글리코실화된 이소형으로서 보여준다. 평균 종양 부피는 상단에 표시되어 있고 개별 종양 부피는 하단에 도시되어 있다.

도 14a~14d는 치료를 받기 전에 큰 확립된 종양(500 mm^3)을 가진 마우스에서 항CD137 항체의 생체 내 항종양 효능을 보여준다. 개별 종양 부피는 **14a** 및 **14d**에 도시되어 있고, 평균 종양 부피는 **14b**에 도시되어 있으며 생존 백분율은 **14c**에 도시되어 있다.

도 15는 도 14a~14c에서 mAb1, mAb8 또는 이소형 대조군으로 이전에 치료하여 치유된 것으로 간주되는 마우스의 반대 쪽 옆구리에 CT26 세포를 재 접종한 후 보호적 항종양 면역성을 보여주는 카플란-마이어 생존율 그래프를 제공한다.

도 16a는 표시된 투약량의 항CD137 항체로 치료한 후 CD45+ 간 내 T 세포의 증식을 보여주는 유세포 분석 데이터의 산포도를 제공한다.

도 16b는 표시된 투약량의 항CD137 항체로 치료한 후, 간 내 CD8+ T 세포(좌측) 및 CD4+ T 세포(우측)의 정량화를 도시한 그래프를 제공한다.

도 17a는 친화도 성숙된 항CD137 항체로 마우스를 치료한 후 비장의 T 세포 대비 CD3+, CD4+, 또는 CD8+ T 세포의 백분율을 도시한 그래프를 제공한다.

도 17b는 친화도 성숙된 항CD137 항체로 마우스를 치료한 후 간의 T 세포 대비 CD3+, CD4+, 또는 CD8+ T 세포의 백분율을 도시한 그래프를 제공한다.

도 18a는 친화도 성숙된 항CD137 항체로 마우스를 치료한 TIGIT, PD-1 또는 LAG3을 발현하는 비장의 CD8+CD44+ T 세포의 백분율을 도시한 그래프를 제공한다.

도 18b는 친화도 성숙된 항CD137 항체로 마우스를 치료한 후 TIGIT, PD-1 또는 LAG3을 발현하는 간의 CD8+CD44+ T 세포의 백분율을 도시한 그래프를 제공한다.

도 19a는 친화도 성숙된 항CD137 항체로 마우스를 치료한 후 TIGIT, PD-1 또는 LAG3을 발현하는 비장의 CD4+CD44+ T 세포의 백분율을 도시한 그래프를 제공한다.

도 19b는 친화도 성숙된 항CD137 항체로 마우스를 치료한 후 TIGIT, PD-1 또는 LAG3을 발현하는 간의 CD4+CD44+ T 세포의 백분율을 도시한 그래프를 제공한다.

도 20a~20c는 다양한 투약량의 항CD137 항체 mAb1, mAb8 또는 3H3를 여러 번 투여한 것에 의한 생체 내 독성을 나타내는 그래프를 제공한다. **도 20a**는 항CD137 항체의 투여 후 간에서 CD8+ T 세포의 백분율을 보여주는 그래프이다. **도 20b**는 항CD137 항체가 투여된 마우스의 혈장에서 알라닌 아미노기 전이효소(ALT) 활성을 보여주는 그래프이다. **도 20c**는 항CD137 항체가 투여된 마우스의 혈장 내 TNFα의 수준을 보여주는 그래프이다.

도 21은 도 20a~20c에서 설명된 바와 같이 mAb1, mAb8, 3H3 또는 이소형 대조군으로 치료한 마우스의 간을 헤마톡실린과 에오신(H&E)로 염색하여 절개한 대표적인 이미지를 제공한다. 화살표는 면역 세포의 침윤을 나타낸다.

도 22a~22d는 종양 미세환경에서 면역 세포 재프로그래밍을 보여주는 대표적인 FACS 도표를 제공한다. CT26 종양을 가진 마우스에게 mAb8 또는 이소형 대조군의 투약량을 여러 번 투여하였다(0, 3, 6 및 9일차). **도 22a**는 CD45 발현에 기초한 전체 면역 세포 침윤을 보여준다. **도 22b**는 FOXP-3 및 CD25 발현에 의해 측정한 Treg 세포의 감소를 보여준다. **도 22c**는 PD-1 및 TIGIT 발현에 의해 측정한 T 세포 기능 소실의 감소를 보여준다. **도 22d**는 F4/80 및 CD11b 발현에 의해 측정한 종양-관련 대식 세포의 감소를 보여준다.

도 23은 CT26 종양을 가진 마우스를 항CD137 항체 mAb1 및 3H3, 또는 이소형 대조군으로 치료한 다음, 해당 마우스의 비장에 대한 면역표현형 분석을 보여준다.

도 24는 OVA 자극 분석에서, 표시된 항CD137 항체로 자극했을 때 쥣과 T 세포에 의해 생성된 IL-2의 농도(pg/ml)를 보여주는 그래프이다. 아테졸리주맙(항PD-L1 항체)과 함께, 쥣과 항PD-1(RMP1-14)을 비교기로서 사용하였다.

도 25a 및 **25b**는 OVA 자극 분석에서, 표시된 항CD137 항체로 자극했을 때 CD25(**25a**) 또는 TIGIT(**25b**) 중 하나를 발현하는 쥣과 CD8+ T 세포의 백분율을 보여주는 그래프이다. 아테졸리주맙(항PD-L1 항체)과 함께, 쥣과 항PD-1(RMP1-14) 및 쥣과 항CD137(3H3)을 비교기로서 사용하였다.

도 26은 플레이트에 결합된 항CD137 항체와 함께 인큐베이션한 후 CD3+ T 세포에 의해 생성된 사이토카인(IL-2, TNFα, IL-13 및 IFNɣ)의 정량화를 도시한 막대 그래프를 제공한다. 사이토카인 레벨은 항CD3 항체에 의한 베이스라인 활성화에 대한 배수 증가로서 도시되어 있다.

도 27a~27c는 항CD137 항체로 치료한 후 혼합된 림프구 반응물에서 IFNɣ 생산의 투약량-반응을 도시한 그래프를 제공한다. 항PD1 항체(키트루다; Merck)를 대조군으로서 사용하였다.

도 28은 항CD137 항체 mAb1, mAb8, mAb4 또는 mAb5, 또는 이소형 대조군의 존재 하에 CD32를 발현하도록 조작된 CHO 세포(CHO-CD32 세포)와 함께 공동 배양한 인간 T 세포로부터 IFNγ의 생성을 보여주는 그래프이다.

도 29는 항CD137 항체 mAb1, mAb8, mAb4 또는 mAb5, 또는 이소형 대조군의 존재 여부와 상관없이 CD32를 발현하도록 조작된 CHO 세포(CHO-CD32 세포)와 함께 공동 배양했을 때 Treg 세포의 증식을 보여주는 그래프이다.

도 30은 mAb1, mAb8, mAb4 또는 mAb5가 다양한 농도로 존재하는 가운데 NFκβ 및 SRF용 루시페라아제 리포터를 형질 도입한 CCL-119 세포에서 NFκβ 및 SRF의 신호 전달을 보여주는 그래프를 제공한다.

도 31은 항CD137 항체 mAb1, 3H3 또는 LOB12.3, 또는 이소형 대조군의 존재 하에 TLR9 작용제 CpG로 자극한 골수 유래 마우스 대식 세포에 의한 IL-6, TNFα, 또는 IL-27의 유도를 보여주는 그래프를 제공한다.

도 32는 항CD137 항체 mAb1, mAb4 또는 mAb5, 또는 이소형 대조군의 존재 하에 LPS로 자극한 인간 단핵구 유래 대식 세포에 의한 TNFα의 유도를 보여주는 그래프를 제공한다.

도 33은 항CD137 항체 mAb1, mAb4 또는 mAb5, 또는 이소형 대조군의 존재 하에 PMA로 배양한 THP1 단핵구의 CD64 발현에 의해 결정했을 때 항CD137 항체가 대식 세포 분화에 미치는 효과를 보여주는 그래프를 제공한다.

도 34a~34c는 인간 PBMC와 항CD137 항체 mAb1, mAb4 또는 mAb5, 또는 이소형 대조군을 투여한 면역적격성 마우스에서 hCD45+, hCD8+ 또는 hCD4+의 백분율을 보여주는 그래프를 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0300] 작용제 항CD137 항체를 사용하는 암 요법은 마우스에서 면역 매개 종양 거부 작용을 유도하는 것으로 나타났으며, 현재 이러한 종류의 유사체가 암 환자에서 시험되고 있다. 이전의 보고는 항CD137 항체의 투여가 간에서 T 림프구의 다클론 침윤물의 상당한 축적을 유도할 수 있음을 보여주었는데(Dubrot 등의 (2010) Cancer Immunology, Immunotherapy 59(8):1223-1233), 이는 간 염증 및 약물 유도성 간 독성의 가능성을 시사한다. 작용성 항CD137 항체(우렐루맙, BMS-663513; Bristol-Myers Squibb)의 임상 평가에 대한 최근의 보고서에는 항체 투약량과 상관되는 중증 간독성(아미노 전이효소 증가(transaminitis))의 징후를 포함하여, 인간 대상체에서 치료와 관련하여 관찰된 이상 사례들이 문서화되어 있다(Segal 등의 (2016) Clin Cancer Res 23(8):1929-1936 참조).

[0301] 본 발명은 인간 CD137의 에피토프에 특이적으로 결합하여 인간 CD137을 효능화하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 인간 CD137의 에피토프에 결합하기 위해 mAb1과 경쟁한다. 일부 양태에서, 본 개시의 항CD137 효능제 항체는 항마우스 CD137 3H3 항체(Melero 등의 (1997) Nature Medicine 3(6):682-685; Uno 등의 (2006) Nature Medicine 12(6):693-696) 및 임상 개발 중인 적어도 2개의 항인간 CD137 항체(BMS-663513/우렐루맙, Bristol-Meyers Squibb, 및 PF-05082566/우토밀루맙, Pfizer)와 비교했을 때 종양 미세환경에서 CD8+ T 세포의 사이토카인 생성 및 증식을 유도하고, 생체 내에서 보호성 항종양 면역성을 유도하며, 독성 관련 사례의 발생 가능성 감소를 수반한다.

[0302] **정의**

[0303] 청구범위 및 명세서에서 사용된 용어는 달리 명시되지 않는 한, 아래에 기재한 바와 같이 정의된다.

[0304] 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용된 바와 같이, 단수 형태("a", "an" 및 "the")는 문맥상 달리 언급하지 않는 한 복수의 지시 대상을 포함한다는 것에 유의한다. 또한, 문맥에 의해 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수형을 포함하고 복수형은 단수형을 포함한다.

[0305] 본원에서 사용되는 바와 같이, "약(about)"은 당업자에 의해 이해될 것이고, 사용되는 맥락에 따라 어느 정도 변경될 것이다. 용어 "약"이 사용되는 문맥이 주어졌을 때 용어의 용도가 당업자에게 명확하지 않은 경우, "약"은 특정 값의 최대 +/- 10%를 의미하게 된다.

[0306] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "작용제(agonist)"는 본원에 기술된 천연 폴리펩티드의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전히 촉진, 유도, 증가 및/또는 활성화시키는 임의의 분자를 지칭한다(예: CD137). 적합한 작용제 분자는 구체적으로 효능제 항체 또는 항체 단편, 천연 폴리펩티드의 단편 또는 아미노산 서열 변이체, 펩티드, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 작은 유기 분자 등을 포함한다. 일부 구현예에서, 작용제의 존재 하의 활성화는 투약량 의존적인 방식으로 관찰된다. 일부 구현예에서, 측정된 신호(예: 생물학적 활성)는 유사한 조건 하에서 음성 대조군으로 측정된 신호보다 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도

약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 100% 더 높다. 본 개시의 방법에 사용하기에 적합한 효능제를 식별하는 방법도 본원에 개시된다. 예를 들어, 이들 방법은 효소 결합 면역 흡착 분석법(ELISA), Forte Bio© 시스템, 및 방사성 면역 분석법(RIA)과 같은 결합 분석법을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다. 이들 분석법은 관심 폴리펩티드(예: CD137과 같은 수용체 또는 리간드)에 결합하는 작용제의 능력을 결정하므로, 폴리펩티드의 활성을 촉진, 증가 또는 활성화시키는 작용제의 능력을 나타낸다. 작용제의 효능은 폴리펩티드의 기능을 활성화 또는 촉진하는 작용제의 능력 등과 같은 기능적 분석법을 사용해 결정될 수도 있다. 예를 들어, 기능적 분석법은 폴리펩티드를 후보 작용제 분자와 접촉시키는 단계, 및 폴리펩티드와 정상적으로 관련된 하나 이상의 생물학적 활성의 검출 가능한 변화를 측정하는 단계를 포함할 수 있다. 작용제의 효능은 일반적으로 이의 EC_{50} 값(작용제 반응의 50%까지 활성화하는 데 필요한 농도)에 의해 정의된다. EC_{50} 값이 낮을수록 작용제의 효능이 커지며, 생물학적 반응을 최대로 활성화하는데 필요한 농도가 낮아진다.

[0307] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "알라닌 스캐닝(alanine scanning)"은 주어진 단백질 또는 폴리펩티드의 안정성 또는 기능(들)(예: 결합 친화도)에 대한 특정 야생형 잔기의 기여도를 결정하는 데 사용되는 기술을 지칭한다. 상기 기술은 폴리펩티드 내의 야생형 잔기를 알라닌 잔기로 치환하는 단계, 이어서 알라닌-치환된 유도체 또는 돌연변이체 폴리펩티드의 안정성 또는 기능(들)(예: 결합 친화도)을 평가하는 단계, 및 야생형 폴리펩티드와 이를 비교하는 단계를 포함한다. 폴리펩티드 내의 야생형 잔기를 알라닌으로 치환하는 기술은 당업계에 공지되어 있다.

[0308] 용어 "완화(ameliorating)"는 암과 같은 질환 상태의 치료에 있어서 치료적으로 유익한 임의의 결과를 지칭하며, 질환 상태의 예방, 이의 중증도 또는 진행에 있어서의 경감, 이의 차도, 또는 이의 치유를 포함한다.

[0309] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "아미노산(amino acid)"은 자연 발생 아미노산과 합성 아미노산뿐만 아니라, 자연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 작용하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체도 지칭한다. 자연 발생 아미노산은 유전자 코드에 의해 암호화된 것들을 비롯하여 히드록시프롤린, γ-카복시글루타메이트 및 O-포스포세린과 같이 나중에 변형되는 아미노산들이다. 아미노산 유사체는 자연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조(수소, 카복실기, 아미노기, 및 R 기에 결합하는 탄소)를 포함하는 화합물, 예를 들어, 호모세린, 노르류신, 메티오닌 설폭시드, 메티오닌 메틸 설포늄 등을 지칭한다. 이러한 유사체는 변형된 R 기(예: 노르류신) 또는 변형된 펩티드 백본을 가지지만, 자연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 유지한다. 아미노산 모방체는 아미노산의 일반적인 화학적 구조와 상이하지만 자연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 작용하는 구조를 갖는 화학 화합물을 지칭한다.

[0310] 아미노산은 IUPAC-IUB 생화학 명명법 위원회(Biochemical Nomenclature Commission)에서 권장하는 이들의 3자 기호 또는 1자 기호 중 하나로 본원에서 지칭될 수 있다. 마찬가지로, 뉴클레오티드는 공통적으로 수용된 이들의 1자 코드로 지칭될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "극성 아미노산"은 수성 환경에 상주하는 것을 선호하는 측쇄를 포함하는 아미노산을 지칭한다. 일부 구현예에서, 극성 아미노산은 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루탐산, 글루타민, 히스티딘, 리신, 세린, 트레오닌 및 티로신으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 극성 아미노산은 양성, 음성 또는 중성으로 하전될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, "비극성 아미노산"은 알라닌, 시스테인, 글리신, 이소류신, 류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산을 지칭한다.

[0311] 본원에서 사용된 바와 같이, "아미노산 치환"은 소정의 아미노산 서열(시작 폴리펩티드의 아미노산 서열)에서 적어도 하나의 기존 아미노산 잔기를 제2의 상이한 "대체" 아미노산 잔기로 치환하는 것을 지칭한다. "아미노산 삽입"은 적어도 하나의 추가의 아미노산이 소정의 아미노산 서열에 혼입되는 것을 지칭한다. 삽입은 일반적으로 1개 또는 2개의 아미노산 잔기의 삽입으로 이루어지게 되지만, 약 3개 내지 약 5개 또는 심지어 최대 약 10개, 15개 또는 20개의 아미노산 잔기가 삽입되는 보다 큰 "펩티드 삽입"이 이루어질 수도 있다. 삽입된 잔기(들)는 전술한 바와 같이 자연 발생 잔기 또는 비자연 발생 잔기일 수 있다. "아미노산 결실"은 소정의 아미노산 서열로부터 적어도 하나의 아미노산 잔기를 제거하는 것을 지칭한다.

[0312] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "양(amount)" 또는 "수준(level)"은 물질(예: 단백질)의 검출 가능한 수량, 수준 또는 존재율(abundance)을 지칭한다. 본원에 기술된 것과 같은 폴리펩티드를 지칭할 때의 용어 "발현의 수준(level of expression)" 또는 "발현 수준(expression level)"은 일반적으로 상호 교환적으로 사용되며, 일반

적으로는 생물학적 샘플에서(예: 세포의 표면 상에서) 폴리펩티드의 검출 가능한 양을 지칭한다.

[0313] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항CD137 작용제 항체"(용어 "항CD137 항체"와 상호 교환적으로 사용됨)는 CD137에 특이적으로 결합하고 CD137 신호 전달 또는 다른 CD137 매개 기능에 의해 매개되된 CD137 생물학적 활성, 반응 및/또는 하류 경로(들)를 부분적으로 또는 완전히 촉진, 유도, 증가 및/또는 활성화시키는 항체를 지칭한다. 일부 구현예에서, 항CD137 작용제 항체는 CD137에 결합하고 CD137L의 결합을 허용한다. 일부 구현예에서, 항CD137 작용제 항체는 CD137에 결합하고 CD137의 다량체화를 유도한다. 일부 구현예에서, 항CD137 작용제 항체는 CD137에 결합하고 CD137 삼량체의 이량체화를 유도한다. 일부 구현예에서, 항CD137 작용제 항체는 CD137에 결합하고 CD137 삼량체의 다량체화를 유도한다. 항CD137 작용제 항체의 실시예가 본원에서 제공된다. 삼량체:삼량체 복합체의 형성을 검출하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 전자 현미경으로 이러한 복합체를 검출할 수 있는 것으로 나타났다(예: Won, E. The Journal of Biological Chemistry, Vol. 285 (12): 9202-9210(2010) 참조).

[0314] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항CD137 mAb1"("mAb1"과 상호 교환적으로 사용됨)은 다음의 가변 중쇄(V_H) 아미노산 서열:

[0315] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPF LLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS (서열번호 4),

[0316] 및 다음의 가변 경쇄(V_L) 아미노산 서열:

[0317] DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHLFPITFGGGT KVEIK (서열번호 6)를 포함하는 예시적인 항CD137 작용체 항체를 지칭한다.

[0318] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항CD137 mAb8"("mAb8"과 상호 교환적으로 사용됨)은 다음의 가변 중쇄(V_H) 아미노산 서열:

[0319] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGDTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPF LLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS (서열번호 101);

[0320] 및 다음의 가변 경쇄(V_L) 아미노산 서열:

[0321] DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHLFPITFGGGT KVEIK (서열번호 6)을 포함하는 예시적인 항CD137 작용체 항체를 지칭한다.

[0322] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항CD137 mAb10"("mAb10"과 상호 교환적으로 사용됨)은 다음의 가변 중쇄(V_H) 아미노산 서열:

[0323] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLEWVAAISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPF LLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS (서열번호 26);

[0324] 및 다음의 가변 경쇄(V_L) 아미노산 서열:

[0325] DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHLFPITFGGGT KVEIK (서열번호 6)을 포함하는 예시적인 항CD137 작용체 항체를 지칭한다.

[0326] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항체"는 2개의 경쇄 폴리펩티드와 2개의 중쇄 폴리펩티드를 포함하는 전체 항체를 지칭한다. 전체 항체는 IgM, IgG, IgA, IgD, 및 IgE 항체를 포함하는 상이한 항체 이소형을 포함한다. 용어 "항체"는 다클론 항체, 단클론 항체, 키메라화 또는 키메라 항체, 인간화 항체, 영장류화 항체, 탈면역화 항체 및 완전한 인간 항체를 포함한다. 항체는 다양한 종, 예를 들어, 인간, 비인간 영장류(예: 오랑우탄, 개코원숭이 또는 침팬지), 말, 소, 돼지, 양, 염소, 개, 고양이, 토끼, 기니피그, 게르빌루스쥐, 햄스터, 랫트 및 마우스와 같은 포유동물 중 어느 하나에서 만들어지거나 이로부터 유래될 수 있다. 항체는 정제된 항체 또는 재조합 항체일 수 있다.

[0327] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항체 단편", "항원 결합 단편", "항원 결합 부분" 또는 유사한 용어는 표적 항원(예를 들어, CD137)에 결합하는 능력을 보유하고 표적 항원의 활성을 억제하는 항체의 단편을 지칭한다. 이러한 단편은, 예를 들어, 단쇄 항체, 단쇄 Fv 단편(scFv), Fd 단편, Fab 단편, Fab' 단편, 또는 $F(ab')_2$ 단편을 포함한다. scFv 단편은 scFv가 유래되는 항체의 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역 둘 다를 포함하는 단일 폴리

펩티드 사슬이다. 또한, 인트라바디, 미니바디, 트리아바디, 및 디아바디 또한 항체의 정의에 포함되며, 본원에 기술된 방법에서 사용하기에 적합하다. 예를 들어, Todorovska 등의 (2001) *J. Immunol. Methods* 248(1):47-66; Hudson 및 Kortt, (1999) *J. Immunol. Methods* 231(1):177-189; Poljak, (1994) *Structure* 2(12):1121-1123; Rondon 및 Marasco, (1997) *Annu. Rev. Microbiol.* 51:257-283을 참조하고, 이들 각각의 개시는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0328] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항체 단편"은, 예를 들어, 카멜화 단일 도메인 항체(camelized single domain antibody)와 같은 단일 도메인 항체도 포함한다. 예를 들어, Muyldermans 등의 (2001) *Trends Biochem. Sci.* 26:230-235; Nuttall 등의 (2000) *Curr. Pharm. Biotech.* 1:253-263; Reichmann 등의 (1999) *J. Immunol. Meth.* 231:25-38; PCT 출원 공개 번호 WO 94/04678 및 WO 94/25591; 및 미국 특허 제6,005,079호를 참조하고, 이들 모두는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 일부 구현예에서, 본 개시는 단일 도메인 항체가 형성되도록 변형을 가진 2개의 VH 도메인을 포함하는 단일 도메인 항체를 제공한다.

[0329] 일부 구현예에서, 항원 결합 단편은 중쇄 폴리펩티드의 가변 영역 및 경쇄 폴리펩티드의 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항원 결합 단편은 항체의 경쇄 및 중쇄 폴리펩티드의 CDR을 포함한다.

[0330] 용어 "항원 제시 세포" 또는 "APC"는 MHC와 복합체를 이룬 외래 항원을 표면에서 디스플레이하는 세포이다. T 세포는 T 세포 수용체(TCR)을 사용해 이러한 복합체를 인식한다. APC의 예는 수지상 세포(DC), 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), 단핵구(예: THP-1 등), B 림프아구성 세포(예: C1R.A2, 1518 B-LCL) 및 단핵구 유래 수지상 세포(DC)를 포함하나 이들로 한정되지는 않는다. 일부 APC는 식균작용 또는 수용체 매개 엔도시토시스 중 하나에 의해 항원을 내재화한다.

[0331] 용어 "항원 제시"는 APC가 항원을 포획하여 이를 T 세포가, 예를 들어, MHC-I 및/또는 MHC-II 접합체의 성분으로서 인식할 수 있게 하는 과정을 지칭한다.

[0332] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "세포 자멸사(apoptosis)"는 다세포 유기체(예를 들어, 인간)에서 발생하는 예정된 세포 사멸의 과정을 지칭한다. 세포 자멸사를 초래하는 고도로 조절된 생화학적 이벤트 및 분자 이벤트는 세포에 대한 관찰 가능하고 특징적인 형태 변화를 초래할 수 있으며, 이에는 세포막 기포 형성, 세포 부피 수축, 염색체 DNA 축합 및 단편화, 및 mRNA 분해 등이 포함된다. T 세포를 포함하여 세포 자멸사를 겪는 세포를 식별하는 흔한 방법은 세포를 형광단-접합 단백질(아넥신 V)에 노출시키는 것이다. 아넥신 V는 원형질막의 외벽상에서 포스파티딜세린에 결합하는 능력에 의해 세포 자멸사 세포를 검출하는 데 흔히 사용되는데, 이는 세포가 세포 자멸사의 과정을 겪고 있음을 조기에 알려준다.

[0333] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "고정된 CD137에 결합하는"은 본 개시의 인간 항체가, 예를 들어, 세포의 표면에서 발현되거나 고형 지지체에 부착되는 CD137에 결합하는 능력을 지칭한다.

[0334] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "이중특이적" 또는 "이중특이적 항체"는 2개의 상이한 중쇄/경쇄 쌍 및 2개의 상이한 결합 부위를 갖는 인공 혼성화 항체(artificial hybrid antibody)를 지칭한다. 이중특이적 항체는 하이브리도마 융합 또는 Fab' 단편의 연결을 포함하는 다양한 방법에 의해 생산될 수 있다. 예를 들어, Songsivilai & Lachmann, (1990) *Clin.* Exp Immunol. 79:315-321; Kostelny 등의 (1992) *J. Immunol.* 148:1547-1553을 참조한다.

[0335] 전통적으로, 이중 특이적 항체의 재조합 생산은 2개의 면역글로불린 중쇄/경쇄 쌍의 공동 발현에 기초하는데, 여기서 2개의 중쇄/경쇄 쌍은 상이한 특이성을 갖는다(Milstein 및 Cuello, (1983) *Nature* 305:537-539 참조). 원하는 결합 특이성을 갖는 항체 가변 도메인(항체-항원 결합 부위)은 면역글로불린 불변 도메인 서열에 융합될 수 있다. 중쇄 가변 영역의 융합은 바람직하게는 힌지, CH2 및 CH3 영역의 적어도 일부를 포함하는 면역 글로불린 중쇄 불변 도메인과의 융합이다. 현재 알려진 이중 특이적 항체를 생성하는 예시적인 방법에 대한 보다 상세한 내용에 대해서는, 예를 들어, Suresh 등의 (1986) *Methods Enzymol.* 121:210; PCT 공개 번호 WO 96/27011; Brennan 등의 (1985) *Science* 229:81; Shalaby 등의 *J. Exp. Med.* (1992) 175:217-225; Kostelny 등의 (1992) *J. Immunol.* 148(5):1547-1553; Hollinger 등의 (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Gruber 등의 (1994) *J. Immunol.* 152:5368; 및 Tutt 등의 (1991) *J. Immunol.* 147:60을 참조한다. 이중 특이적 항체는 가교 결합된 항체 또는 이형접합 항체도 포함한다. 이형접합 항체는 임의의 편리한 가교 결합법을 사용해 만들 수 있다. 적절한 가교제는 당업계에 잘 알려져 있고, 미국 특허 제4,676,980호에 다수의 가교 결합 기술과 함께 개시되어 있다.

[0336] 재조합 세포 배양물로부터 직접 이중 특이적 항체 단편을 만들고 단리하기 위한 다양한 기술도 기술되어 있다.

예를 들어, 이중 특이적 항체는 류신 지퍼를 사용하여 생산되어 왔다. 예를 들어 Kostelny 등의 (1992) J Immunol 148(5):1547-1553을 참조한다. Fos 및 Jun 단백질 유래의 류신 지퍼 펩티드는 유전자 융합에 의해 2개의 상이한 항체의 Fab' 부분에 연결될 수 있다. 항체 동종이량체는 힌지 영역에서 감소되어 단량체를 형성한 다음 재산화되어 항체 이종이량체를 형성할 수 있다. 이러한 방법을 항체 동종이량체의 생산에 이용할 수도 있다. Hollinger 등의 (1993) Proc Natl Acad Sci USA 90:6444-6448에 기술된 "디아바디(diabody)" 기술은 이중 특이적 항체 단편을 제조하기 위한 대안적인 메커니즘을 제공하였다. 단편은 링커에 의해 경쇄 가변 도메인(VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인(VH)를 포함하는데, 링커는 너무 짧아서 동일한 사슬 상의 2개의 도메인을 쌍으로 연결할 수 없다. 따라서, 하나의 단편의 VH 및 VL 도메인은 또 다른 단편의 상보적 VL 및 VH 도메인과 쌍을 이룰 수밖에 없고, 이로써 2개의 항원 결합 부위가 형성된다. 단쇄 Fv(scFv) 이량체를 사용해 이중 특이적 항체 단편을 제조하기 위한 또 다른 전략도 보고되었다. 예를 들어, Gruber 등의 (1994) J Immunol 152:5368을 참조한다. 대안적으로, 항체는 예를 들어, Zapata 등의 (1995) Protein Eng. 8(10):1057-1062에 기술된 바와 같은 "선형 항체"일 수 있다. 요약하자면, 이들 항체는 한 쌍의 항원 결합 영역을 형성하는 한 쌍의 순차 Fd 분절(VH-CH1-VH-CH1)을 포함한다. 선형 항체는 이중 특이적이거나 단일 특이적일 수 있다.

[0337] 3가 이상의 항체(예: 삼중 특이적 항체)는, 예를 들어, Tutt 등의 (1991) J Immunol 147:60에서 고려되고 기술되어 있다.

[0338] 본 개시는 다양한 형태의 다중 특이적 항체, 예컨대, Wu 등의 (2007) Nat Biotechnol 25(11): 1290-1297에 기술된 이중 가변 도메인 면역글로불린(DVD-Ig) 분자도 포함한다. DVD-Ig 분자는 2개의 상이한 부모 항체 유래의 2개의 상이한 경쇄 가변 도메인(VL)이 재조합 DNA 기술에 의해 직접적으로 또는 짧은 링커를 통해 순차 연결되고, 경쇄 불변 도메인이 이어지도록 설계된다. 유사하게, 중쇄는 순차 연결된 2개의 상이한 중쇄 가변 도메인(VH)과, 이어지는 불변 도메인 CH1 및 Fc 영역을 포함한다. 2개의 부모 항체로부터 DVD-Ig 분자를 제조하기 위한 방법은, 예컨대 PCT 공개 번호 WO 08/024188 및 WO 07/024715에 추가로 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 이중 특이적 항체는 제2 특이성을 갖는 경쇄 가변 영역이 전체 항체의 중쇄 가변 영역에 융합되는 Fabs-인-탠덤(Fabs-in-Tandem) 면역글로불린이다. 이러한 항체는, 예를 들어, 국제 특허 출원 공개 번호 WO 2015/103072에 기술되어 있다.

[0339] 본원에서 사용되는 바와 같이, "암 항원"은 (i) 종양 특이적 항원, (ii) 종양 관련 항원, (iii) 종양 특이적 항원을 발현하는 세포, (iv) 종양 관련 항원을 발현하는 세포, (v) 종양 상의 태아 항원, (vi) 자가 조직 종양 세포, (vii) 종양 특이적 세포막 항원, (viii) 종양 관련 세포막 항원, (ix) 성장 인자 수용체, (x) 성장 인자 리간드, 및 (xi) 암과 관련된 임의의 다른 유형의 항원 또는 항원 제시 세포 또는 물질을 지칭한다.

[0340] 용어 "암종(carcinoma)"은 당업계에서 인지되어 있으며, 호흡기 계통 암종, 위장 계통 암종, 비뇨생식기 암종, 고환 암종, 유방 암종, 전립선 암종, 내분비계 암종, 및 흑색종을 포함하는 상피 또는 내분비 조직의 악성 종양을 지칭한다. 본원에 기술된 항CD137 항체는 신장 암종이나 흑색종을 포함하여, 임의의 유형의 암에 걸렸거나, 암 발생이 의심되거나, 암 발생 위험이 높을 수 있는 환자를 치료하는 데 사용될 수 있다. 예시적인 암종은 자궁경부, 폐, 전립선, 유방, 두경부, 결장 및 난소의 조직에서 형성되는 것들을 포함한다. 또한 상기 용어는 암종 및 육종 조직으로 이루어진 악성 종양을 포함하는 암육종(carcinosarcomas)을 포함한다. "선암종(adenocarcinoma)"은 샘 조직(glandular tissue)으로부터 유래된 암종 또는 인식 가능한 샘 구조가 종양 세포에 의해 형성되는 암종을 지칭한다.

[0341] 본원에 사용된 바와 같이, "경쟁"이란 용어가 동일한 에피토프에 결합하기 위해 경쟁하는 항원 결합 단백질(예를 들어, 면역글로불린, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)의 맥락에서 사용될 때, 이는 분석법(예: 경쟁 결합 분석; 교차 차단 분석법)에 의해 결정했을 때의 항원 결합 단백질 간의 상호 작용을 지칭하는데. 여기서, 시험 항원 결합 단백질(예: 시험 항체)은 공통 항원(예: CD137 또는 이의 단편)에 대한 기준 항원 결합 단백질(예: mAb1과 같은 기준 항체)의 특이적 결합을 억제(예: 감소 또는 차단)한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항체는 mAb1(즉, 서열번호 4와 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체), mAb8(즉, 서열번호 101과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체) 또는 mAb10(즉, 서열번호 26과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)과 교차 경쟁한다.

[0342] 지정된 폴리펩티드 또는 단백질로부터 "유래된(derived from)" 폴리펩티드 또는 아미노산 서열은 폴리펩티드의 기원을 지칭한다. 바람직하게는, 특정 서열로부터 유래되는 폴리펩티드 또는 아미노산 서열은 해당 특정 서열 또는 그의 일부분과 본질적으로 동일한 아미노산 서열을 가지며, 여기서 상기 일부분은 적어도 10~20개의 아미노산, 바람직하게는 적어도 20~30개의 아미노산, 더 바람직하게는 적어도 30~50개 아미노산으로 이루어지거나,

달리 상기 일부분은 서열에 그의 기원을 갖는 것으로 당업자에게 식별될 수 있다. 또 다른 펩티드로부터 유래된 폴리펩티드는 출발 폴리펩티드에 비해 하나 이상의 돌연변이, 예를 들어 또 다른 아미노산 잔기로 치환되었거나 하나 이상의 아미노산 잔기의 삽입 또는 결실을 갖는 하나 이상의 아미노산 잔기를 가질 수 있다.

[0343] 폴리펩티드는 자연적으로 발생하지 않는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이러한 변이체는 본질적으로 출발 분자와 100% 미만의 서열 동일성 또는 유사성을 갖는다. 특정 구현예에서, 변이체는 출발 폴리펩티드의 아미노산 서열과, 예를 들어 변이체 분자의 길이에 걸쳐, 약 75% 내지 100% 미만, 더 바람직하게는 약 80% 내지 100% 미만, 더 바람직하게는 약 85% 내지 100% 미만, 더 바람직하게는 약 90% 내지 100% 미만(예: 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%), 및 가장 바람직하게는 약 95% 내지 100% 미만의 아미노산 서열 동일성 또는 유사성을 갖게 된다.

[0344] 특정 구현예에서, 출발 폴리펩티드 서열과 이로부터 유도된 서열 간에는 하나의 아미노산 차이가 존재한다. 이러한 서열에 대한 동일성 또는 유사성은, 최대 백분율의 서열 동일성을 달성하기 위해 서열을 정렬하고 필요에 따라 갭을 도입한 후에, 출발 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내 아미노산 잔기(즉, 동일한 잔기)의 백분율로서 본원에서 정의된다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 표 3 또는 표 4에 제시된 서열로부터 선택된 아미노산 서열로 이루어지거나, 본질적으로 이로 이루어지거나, 이를 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 표 3 또는 표 4에 제시된 서열로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 표 3 또는 표 4에 제시된 서열로부터 선택된 연속 아미노산 서열과 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 연속 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 표 3 또는 표 4에 제시된 서열로부터 선택된 아미노산 서열 중 적어도 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 또는 500개(또는 이들 숫자 이내에 있는 임의의 정수 개)의 연속 아미노산을 포함한다.

[0345] 특정 구현예에서, 본 개시의 항체는 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다. 본 발명의 뉴클레오티드 서열은 다수의 응용 분야에 유용할 수 있으며, 이에는: 클로닝, 유전자 치료, 단백질 발현 및 정제, 돌연변이 도입, DNA 예방접종을 필요로 하는 숙주의 DNA 예방접종, 예를 들어, 수동 면역화를 위한 항체 생성, PCR, 프라이머와 프로브 생성 등이 포함된다. 특정 구현예에서, 본 발명의 뉴클레오티드 서열은 표 3 또는 표 4에 제시된 서열로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하거나, 이로 이루어지거나, 본질적으로 이로 이루어진다. 특정 구현예에서, 뉴클레오티드 서열은 표 3 또는 표 4에 제시된 서열로부터 선택된 뉴클레오티드 서열과 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 뉴클레오티드 서열은 표 3 또는 표 4에 제시된 서열로부터 선택된 연속 뉴클레오티드 서열과 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 연속 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 뉴클레오티드 서열은 표 3 또는 표 4에 제시된 서열로부터 선택된 뉴클레오티드 서열 중 적어도 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 또는 500개(또는 이들 숫자 이내에 있는 임의의 정수 개)의 연속 뉴클레오티드를 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0346] 당업자는 본원에 개시된 방법에서 사용하기에 적합한 항체는 천연 서열의 바람직한 활성을 유지하면서, 천연 서열 또는 이로부터 유래된 자연 발생 서열과 서열이 달라지도록 변경될 수 있다는 것을 또한 이해할 것이다. 예를 들어, "비-필수" 아미노산 잔기에서 보존적 치환 또는 변화를 유도하는 뉴클레오티드 치환 또는 아미노산 치환이 이루어질 수 있다. 돌연변이는 부위-지향적 돌연변이 유발 및 PCR-매개 돌연변이 유발과 같은 표준 기술에 의해 도입될 수 있다.

[0347] 본원에 개시된 방법에서 사용하기에 적합한 항체는 하나 이상의 아미노산 잔기, 예를 들어 필수 또는 비-필수 아미노산 잔기에서 보존적 아미노산 치환을 포함할 수 있다. "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 가진 아미노산 잔기로 치환되는 것이다. 유사한 측쇄를 가진 아미노산 잔기의 패밀리는 당업계에서 정의되어 왔으며, 이에는 염기성 측쇄(예: 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예: 아스파르트산, 글루탐산), 하전되지 않은 극성 측쇄(예: 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예: 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄(예: 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예: 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)이 포함된다. 따라서, 결합 폴리펩티드 내의 비필수 아미노산 잔기는 바람직하게는 동일한 측쇄 패밀리 유래의 또 다른 아미노산 잔기로 치환된다. 특정 구현예에서, 아미노산의 스트링은, 구조적으로 유사하면서 측쇄 패밀리 구성원과는 순서 및/또는 조성이 상이한 스트링으로 치환될 수 있다. 대안적으로, 특정 구현예에서, 돌연변이는 예컨대 포화 돌연변이 유

발에 의해, 코딩 서열의 전부 또는 일부를 따라 무작위로 도입될 수 있고, 생성된 돌연변이체는 본 발명의 결합 폴리펩티드에 통합되어 원하는 표적에 결합하는 이들의 능력에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0348] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "교차-제시(cross-presentation)"는 APC 상의 MHC 클래스 I 및 클래스 II 분자를 통해 외인성 단백질 항원을 T 세포에게 제시하는 것을 지칭한다.

[0349] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "교차 반응(cross-react)"은 본 개시의 항체가 상이한 종 유래의 CD137에 결합하는 능력을 지칭한다. 예를 들어, 인간 CD137에 결합하는 본 개시의 항체는 또 다른 종의 CD137에도 결합할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 교차 반응성은 결합 분석(예: SPR, ELISA)에서 정제된 항원으로 특이적 반응성을 검출하거나, CD137을 생리학적으로 발현하는 세포에 결합시키거나, 다르게는 이러한 세포와 기능적으로 상호 작용시킴으로써 측정된다. 교차 반응성을 결정하는 방법은 본원에 기술된 바와 같은 표준 결합 분석법, 예를 들어, Biacore™ 2000 SPR 기기(Biacore AB, 스웨덴 웁살라 소재)를 사용하는 Biacore™ 표면 플라스몬 공명(SPR) 분석법, 또는 유세포 분석 기술을 포함한다.

[0350] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "세포독성 T 림프구(CTL) 반응"은 세포독성 T 세포에 의해 유도된 면역 반응을 지칭한다. CTL 반응은 주로 $CD8^+$ T 세포에 의해 매개된다.

[0351] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "이량체화"는 일반적으로 비공유 결합된 2개의 거대분자, 예컨대 단백질 또는 단백질 다량체에 의해 거대분자 복합체가 형성되는 것을 지칭한다. 동종이량체화는 거대분자(예: 단백질)의 속성이 동일한 경우의 이량체화 과정을 지칭한다. 이종이량체화는 거대분자(예: 단백질)의 속성이 동일하지 않은 경우의 이량체화 과정을 지칭한다. 이량체화의 결정 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 이러한 방법은 효모 2-하이브리드 분석법(yeast two-hybrid assay), 형광 공명 에너지 전달법(fluorescence resonance energy transfer, FRET), 생물 발광 공명 에너지 전달(bioluminescence resonance energy transfer, BRET), 단백질 질량 분석법(protein mass spectrometry), 소멸파 방법(evanescent wave method), 크기 배제 크로마토그래피(size exclusion chromatography), 분석 초원심분리(analytical ultracentrifugation), 산란 기술(scattering techniques), NMR 분광법, 등온 적정 열량측정법(isothermal titration calorimetry), 형광 이방성(fluorescence anisotropy), 형광 상관 분광법(fluorescence correlation spectroscopy, FCS), 광 퇴색 후의 형광 회복(fluorescence recovery after photobleaching, FRAP), 인접 이미징(proximity imaging, PRIM) 및 이분자 형광 상보법(bimolecular fluorescence complementation, BiFC)을 포함하지만 이들로 한정되지 않는다(예를 들어,Gell D.A., Grant R.P., Mackay J.P. (2012) The Detection and Quantitation of Protein Oligomerization. In: Matthews J.M. (편집자) Protein Dimerization and Oligomerization in Biology. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 747. Springer, New York, NY; 및 Xie, Q. 등의 Methods Mol Biol, 2011; 680: 3-28 참조).

[0352] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "CD137의 이량체화"는 2개의 CD137 삼량체를 이량체화하는 것을 지칭한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 CD137의 이량체화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는, 항CD137 작용제 항체가 없을 때 이량체화의 양에 비해 CD137의 이량체화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는, 기준 항CD137 작용제 항체가 있을 때 이량체화의 양에 비해 CD137의 이량체화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 이량체화는 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%만큼 증가된다.

[0353] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "EC_{50}"은 시험관 내 또는 생체 내 분석에서 최대 반응의 50%, 즉 최대 반응과 베이스라인의 반치에 해당하는 반응을 유도하는, 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 농도를 지칭한다.

[0354] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "유효 투약량(effective dose 또는 effective dosage)"은 원하는 효과를 달성하거나 적어도 부분적으로 달성하기에 충분한 양으로 정의된다. 용어 "치료적으로 유효한 투약량"은 이미 질환을 앓고 있는 환자에서 질환 및 이의 합병증을 치유하거나 적어도 부분적으로 저지하기에 충분한 양으로 정의된다. 이러한 용도에 효과적인 양은 치료 중인 장애의 중증도 및 환자 자신의 면역 시스템의 일반적인 상태에 따라 달라질 것이다.

[0355] 본원에서 사용되는, 용어 "에피토프" 또는 "항원 결정인자"는 항원 결합 단백질(예를 들어, 면역글로불린, 항체 또는 항원 결합 단편)이 특이적으로 결합하는 항원(예를 들어, CD137) 상의 결정인자 또는 부위를 지칭한다. 단백질 항원의 에피토프는 "선형 에피토프" 및 "입체형 에피토프"로 구분될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이,

용어 "선형 에피토프"는 연결된 아미노산의 연속 선형 서열로부터 형성된 에피토프를 지칭한다. 단백질 항원의 선형 에피토프는 전형적으로 화학적 변성제(예를 들어, 산, 염기, 용매, 가교 결합 시약, 수축제, 이황화 결합 환원제) 또는 물리적 변성제(예를 들어, 열, 방사능, 또는 기계적 전단 또는 응력)에 노출될 때 보유된다. 일부 구현예에서, 에피토프는 비선형이고, 중단된 에피토프(interrupted epitope)로도 지칭된다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "입체형 에피토프" 또는 "비선형 에피토프"는 폴리펩티드의 삼차 접힘에 의해 병치된 비연속 아미노산으로부터 형성된 에피토프를 지칭한다. 입체형 에피토프는 일반적으로 변성제로 치료 시 소실된다. 에피토프는 일반적으로 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15개의 아미노산을 독특한 공간 형태로 포함한다. 일부 구현예에서, 에피토프는 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 또는 5개 미만의 아미노산을 독특한 공간 형태로 포함한다. 일반적으로, 특정 표적 분자에 특이적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 단백질 및/또는 거대분자의 복합 혼합물 내에서 표적 분자 상의 특이적 에피토프를 우선적으로 인식하고 이에 결합하게 된다. 일부 구현예에서, 에피토프는 인간 CD137의 세포 외 도메인의 모든 아미노산을 포함하지는 않는다.

[0356] 본원에 기술된 특정 항체에 의해 인식되는 에피토프의 전부 또는 일부(예: 동일하거나 중첩되는 영역, 또는 영역 사이 또는 영역에 걸쳐있는 영역)를 포함하는 CD137 상의 에피토프에 결합하는 항체도 본 개시에 포함된다.

[0357] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "에피토프 맵핑"은 표적 단백질 항원 상에서 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 결합 부위 또는 에피토프를 식별하는 과정 또는 방법을 지칭한다. 에피토프 맵핑 방법 및 기술이 본원에서 제공된다.

[0358] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "CD137"은 막관통 단백질의 종양 괴사 인자 수용체(TNFR) 패밀리의 특정 구성원을 지칭한다. CD137에 대한 당업계에서의 대안적인 명칭 및 약어는 "종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리 구성원 9(TNFRSF9)", 4-1BB 및 "림프구 활성화에 의해 유도된 것(ILA)"을 포함한다(Alderson 등의 (1994) Eur J Immunol 24(9):2219-2227; Schwarz 등의 (1993) Gene 134(2):295-298 참조). 리더 도메인, 막관통 도메인 및 세포질 도메인을 포함하는 전장 인간 CD137의 예시적인 아미노산 서열이 표 4(서열번호 3) 및 다음에 제시되어 있다:

[0359] MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMC EQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLF FLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL.

[0360] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "CD137L" 또는 "CD137 리간드"는 막관통 단백질의 종양 괴사 인자(TNF) 패밀리의 구성원을 지칭한다. CD137L에 대한 당업계에서의 대안적인 명칭 및 약어는 "종양 괴사 인자 수퍼패밀리 구성원 9(TNFSF9)" 및 4-1BB 리간드(4-1BBL)를 포함한다(Alderson 등의 (1994) Eur J Immunol 24(9):2219-2227 참조). 전장 CD137L의 예시적인 아미노산 서열은 표 4(서열번호 97)에 제시된다.

[0361] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "Fc-매개 효과기 기능" 또는 "Fc 효과기 기능"은 항체의 주요 기능 및 목적을 제외한, 항체의 생물학적 활성을 지칭한다. 예를 들어, 치료적 작용성 항체의 효과기 기능은 표적 단백질 또는 경로의 활성화를 제외한, 생물학적 활성이다. 항체 효과기 기능의 예는, C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC); 식균작용; 세포 표면 수용체(예: B 세포 수용체)의 하향 조절; Fc 수용체를 발현하는 혈소판의 활성화 결여; 및 B 세포 활성화를 포함한다. 많은 효과기 기능은 Fcɣ 수용체에 대한 Fc 결합으로 시작한다.

[0362] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "Fc 수용체"는 항체의 Fc 영역이 결합된 면역 효과기 세포의 표면에서 발견되는 폴리펩티드를 지칭한다. 일부 구현예에서, Fc 수용체는 Fcɣ 수용체이다. Fcɣ 수용체에는 3가지 하위 분류, 즉 FcɣRI(CD64), FcɣRII(CD32) 및 FɣCriII(CD16)가 있다. 4개의 IgG 이소형(IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4) 모두는 Fc 수용체인 FcɣRI, FcɣRIIA 및 FcɣRIIIA에 결합하여 이들을 활성화시킨다. FcɣRIIB는 억제성 수용체이며, 따라서 이러한 수용체에 결합하는 항체는 보체 반응 및 세포 반응을 활성화시키지 않는다. FcɣRI는 단량체 형태로 IgG에 결합하는 고 친화도 수용체인 반면, FcɣRIIA 및 FcɣRIIA는 다량체 형태로만 IgG에 결합하고 약간 낮은 친화도를 갖는 저 친화도 수용체이다. Fc 수용체 및/또는 C1q에 대한 항체의 결합은 Fc 영역 내의 특정 잔기 또는 도메인에 의해 좌우된다. 결합은 항체의 힌지 영역 내에 위치한 잔기 및 CH2 부분 내에 위치한 잔기에도 의존한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항체의 작용제 활성 및/또는 치료 활성은 Fc 수용체(예: FcɣR)에 대한 Fc 영역의 결합에 의존한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항체의 작용제 활성 및/또는 치료 활성은 Fc 수용체(예: FcɣR)에 대한 Fc 영역의 결합에 의해 강화된다.

[0363] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "글리코실화 패턴"은 단백질에, 보다 구체적으로는 면역글로불린 단백질에 공유 부착되는 탄수화물 단위의 패턴으로서 정의된다. 당업자가, 이종 항체의 글리코실화 패턴을 이식 유전자의 CH 유전자가 유래된 종에서의 글리코실화 패턴보다는 비인간 유전자 이식 동물 종에 의해 생산된 항체에서 자연적으로 발생하는 글리코실화 패턴과 더 유사한 것으로 인식하게 될 경우, 이종 항체의 글리코실화 패턴은 비인간 유전자 이식 동물 종에서의 상기 글리코실화 패턴과 실질적으로 유사한 것으로 특징지을 수 있다.

[0364] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "혈액암"은 림프종, 백혈병, 골수종 또는 림프 악성 종양뿐만 아니라 비장 및 림프절의 암을 포함한다. 예시적인 림프종은 B 세포 림프종(B 세포 혈액암) 및 T 세포 림프종 둘 다를 포함한다. B-세포 림프종은 호지킨 림프종 및 대부분의 비호지킨 림프종을 포함한다. B 세포 림프종의 비제한적인 예는 확산 거대 B-세포 림프종(diffuse large B-cell lymphoma), 여포성 림프종(follicular lymphoma), 점막-관련 림프 조직 림프종(mucosa-associated lymphatic tissue lymphoma), 소세포 림프구 림프종(만성 림프구성 백혈병과 중첩됨), 맨틀 세포 림프종(MCL), 버킷 림프종(Burkitt's lymphoma), 종격동 거대 B 세포 림프종(mediastinal large B cell lymphoma), 발덴스트롬 마크로글로불린혈증(Waldenstrom macroglobulinemia), 변연부 B 세포 림프종(nodal marginal zone B cell lymphoma), 비장 변연부 림프종(splenic marginal zone lymphoma), 혈관 내 거대 B 세포 림프종(intravascular large B-cell lymphoma), 원발성 삼출액 림프종(primary effusion lymphoma), 림프종모양 육아종증(lymphomatoid granulomatosis)을 포함한다. T 세포 림프종의 비제한적인 예는 결절 외 T 세포 림프종(extranodal T cell lymphoma), 피부 T 세포 림프종(cutaneous T cell lymphomas), 역형성 큰세포 림프종(anaplastic large cell lymphoma), 및 혈관면역모구 T 세포 림프종(angioimmunoblastic T cell lymphoma)을 포함한다. 혈액암은, 또한 2차성 백혈병(secondary leukemia), 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia), 급성 골수성 백혈병(acute myelogenous leukemia), 만성 골수성 백혈병(chronic myelogenous leukemia), 및 급성 림프모세포 백혈병(acute lymphoblastic leukemia)과 같은 백혈병을 포함하지만 이들로 한정되지는 않는다. 혈액암은 다발성 골수종(multiple myeloma) 및 무증상 다발성 골수종(smoldering multiple myeloma)과 같은 골수종을 추가로 포함하지만 이들로 한정되지는 않는다. 다른 혈액암 및/또는 B 세포 관련 암 또는 T 세포 관련 암은 혈액학적 악성 종양이라는 용어로 포함된다.

[0365] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "인간 항체"는 인간 생식계열 면역글로불린 서열의 가변 및 불변 영역(존재하는 경우)을 갖는 항체를 포함한다. 본 개시의 인간 항체는 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 의해 암호화되지 않은 아미노산 잔기(예: 시험관 내 무작위 돌연변이 유발 또는 부위 특이적 돌연변이 유발에 의하거나 생체 내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다(예를 들어, Lonberg 등의 (1994) *Nature* 368(6474): 856-859); Lonberg, (1994) *Handbook of Experimental Pharmacology* 113:49-101; Lonberg & Huszar, (1995) *Intern.* Rev. Immunol. 13:65-93, 및 Harding & Lonberg, (1995) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 764:536-546 참조). 그러나, 용어 "인간 항체"는 마우스와 같은 다른 포유동물 종의 생식계열에서 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 이식된 항체(예: 인간화 항체)는 포함하지 않는다.

[0366] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "이종 항체"는 이러한 항체를 생산하는 유전자 이식 비인간 유기체와 관련하여 정의된다. 이 용어는 유전자 이식 비인간 동물로 이루어지지 않는 유기체에서 발견된 것에 상응하는 아미노산 서열 또는 암호화 핵산 서열을 갖는 항체, 및 일반적으로 유전자이식 비인간 동물의 항체가 아닌 다른 종 유래의 항체를 지칭한다.

[0367] 용어 "면역 반응 유도" 및 "면역 반응 강화"는 상호 교환적으로 사용되며, 특정 항원에 대한 면역 반응(수동적 또는 적응적)을 자극하는 것을 지칭한다. CDC 또는 ADCC의 유도와 관련하여 사용될 때, 용어 "유도하다"는 특정한 직접적인 세포 살해 메커니즘을 자극하는 것을 지칭한다.

[0368] 본원에서 사용되는 바와 같이, "예방을 필요로 하는", "치료를 필요로 하는" 또는 "이를 필요로 하는" 대상체는 적합한 의료인(예를 들어, 인간이 대상인 경우, 의사, 간호사, 또는 임상 간호사; 비인간 포유류가 대상인 경우, 수의사)의 판단에 의해 주어진 치료(예: 항CD137 항체를 포함하는 조성물을 사용하는 치료)로부터 합리적으로 혜택을 받게 될 대상을 지칭한다.

[0369] 용어 "생체 내(*in vivo*)"는 살아있는 유기체에서 발생하는 과정을 지칭한다.

[0370] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭하도로고 의도된다(예를 들어, 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 CD137 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없음). 그러나, 에피토프에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 상이한 종 유래의 다른 CD137 단백질에 대한 교차 반응성을 가질 수 있다. 그러나, 항체는 본원에 기술된 바와 같은 특이적 결합 분석에서 인간 CD137에 대한 특이적 결합을 계속해서 디스플레이한다. 또한, 단리된 항체는 일반적으

로 다른 세포 물질 및/또는 화학물질을 실질적으로 갖지 않는다. 일부 구현예에서, 상이한 CD137 특이성을 갖는 "단리된" 항체의 조합은 잘 정의된 조성물로 조합된다.

[0371] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "단리된 핵산 분자"는 CD137에 결합하는 항체 또는 항체 부분(예: V_H, V_L, CDR3)을 암호화하는 핵산을 지칭하고; 뉴클레오티드 서열이 항체 또는 항체 부분을 암호화하는 핵산 서열을 지칭하도록 의도되는데, 여기서 상기 뉴클레오티드 서열에는 CD137 이외의 항원에 결합하는 항체 또는 항체 부분을 암호화하는 다른 뉴클레오티드 서열이 없으며, 상기 다른 서열은 인간 게놈 DNA에서 자연적으로 핵산의 측면에 위치될 수 있다. 예를 들어, 표 3 또는 표 4에 제시된 서열로부터 선택된 서열은 본원에 기술된 단클론 항체인 항CD137 항체의 중쇄(V_H) 및 경쇄(V_L) 가변 영역을 포함하는 뉴클레오티드 서열에 상응한다.

[0372] 본원에서 사용된 바와 같이, "이소형(isotype)"은 중쇄 불변 영역 유전자에 의해 암호화되는 항체 클래스(예: IgM 또는 IgG1)를 지칭한다. 일부 구현예에서, 본 개시의 인간 단클론 항체는 IgG1 이소형이다. 일부 구현예에서, 본 개시의 인간 단클론 항체는 IgG1 이소형이고 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시의 인간 단클론 항체는 IgG2 이소형이다. 일부 구현예에서, 본 개시의 인간 단클론 항체는 IgG3 이소형이다. 일부 구현예에서, 본 개시의 인간 단클론 항체는 IgG4 이소형이다. 일부 구현예에서, 본 개시의 인간 단클론 항체는 IgG4 이소형이고 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 돌연변이는 Ser228에서의 치환이다. 일부 구현예에서, Ser228에서의 치환은 S228P이다.

[0373] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "이소형 전환(isotype switching)"은 항체의 클래스 또는 이소형이 하나의 Ig 클래스에서 다른 Ig 클래스 중 하나로 바뀌는 현상을 지칭한다.

[0374] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "KD" 또는 "K_D"는 항체와 항원 간의 결합 반응의 평형 해리 상수를 지칭한다. K_D 값은 항체 결합 속도 상수(ka)에 대한 항체 해리 속도 상수(kd)의 비율의 수치 표현이다. K_D 값은 항원에 대한 항체의 결합 친화도에 반비례한다. K_D 값이 작을수록 항원에 대한 항체의 친화도는 더 크다. 친화도는 리간드에 대한 단일 분자의 결합 강도이며, 일반적으로, 2분자 상호 작용의 강도를 평가하여 순위를 매기는 데 사용되는 평형 해리 상수(K_D)에 의해 일반적으로 측정되고 보고된다.

[0375] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "kd" 또는 "k_d"(대안적으로는 "koff" 또는 "k_{off}")는 항체/항원 복합체로부터 항체의 해리에 대한 해리-속도 상수를 지칭하도록 의도된다. kd의 값은 초당 붕괴 또는 해리되는 복합체의 분획에 대한 수치 표현이며, 단위 $초^{-1}$로 표현된다.

[0376] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "ka" 또는 "k_a"(대안적으로는 "kon" 또는 "k_{on}")는 항체와 항원의 결합에 대한 결합-속도 상수를 지칭하도록 의도된다. ka의 값은 항체와 항원의 1몰(1M) 용액에서 초당 형성되는 항체/항원 복합체의 수에 대한 수치 표현이며, 단위 $M^{-1}초^{-1}$ 단위로 표현된다.

[0377] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "연결된(linked)", "융합된(fused)", 또는 "융합(fusion)"은 상호 교환적으로 사용된다. 이들 용어는 화학적 접합 또는 재조합 수단을 포함하는 갖가지 수단에 의해, 2개 이상의 요소 또는 성분 또는 도메인이 서로 결합하는 것을 지칭한다. 화학적 접합 방법(예: 이종 2분자 가교제를 사용함)은 당업계에 공지되어 있다.

[0378] 본원에서 사용되는 바와 같이, "국소 투여" 또는 "국소 전달"은 혈관 계통을 통해 조성물이나 제제를 이의 표적 조직이나 부위까지 운반하는 것에 의존하지 않는 전달을 지칭한다. 예를 들어, 조성물은 조성물이나 제제의 주사 또는 이식에 의하거나, 조성물이나 제제가 담긴 장치의 주사 또는 이식에 의해 전달될 수 있다. 조성물이나 제제 또는 이의 하나 이상의 성분은, 표적 조직이나 부위의 근위에 국소 투여된 다음, 의도된 표적 조직 또는 부위까지 확산될 수 있다.

[0379] 본원에서 사용되는 바와 같이, "MHC 분자"는 2가지 유형의 분자, 즉 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II를 지칭한다. MHC 클래스 I 분자는 특이적 CD8+ T 세포에 항원을 제시하고 MHC 클래스 II 분자는 특이적 CD4+ T 세포에 항원을 제시한다. APC에 외인성으로 전달된 항원은 주로 MHC 클래스 II와 결합하도록 처리된다. 대조적으로, APC에 내인성으로 전달된 항원은 주로 MHC 클래스 I과 결합하도록 처리된다.

[0380] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "단클론 항체"는 특정 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화도를 디스플레이하는 항체를 지칭한다. 따라서, 용어 "인간 단클론 항체"는, 단일 결합 특이성을 나타내고 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역과 임의로 불변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 일부 구현예에서, 인간

단클론 항체는, 불멸화 세포에 융합된 인간 중쇄 이식 유전자 및 경쇄 이식 유전자를 포함하는 게놈을 가진 유전자 이식 비인간 동물(예: 유전자 이식 마우스)로부터 수득된 B 세포를 포함하는 하이브리도마(hybridoma)에 의해 생산된다.

[0381] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "다량체화(multimerization)"는 일반적으로 비공유 상호 작용에 의해 결합된 3개 이상의 거대 분자(예: 단백질)를 포함하는 거대 분자 복합체를 형성하는 것을 지칭한다. 다량체화의 결정 방법은 당업자에게 공지되어 있으며, 이량체화에 대한 전술한 문헌에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 CD137의 다량체화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는, 항CD137 작용제 항체가 없을 때 다량체화의 양에 비해 CD137의 다량체화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는, 기준 항CD137 작용제 항체가 있을 때 다량체화의 양에 비해 CD137의 다량체화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 다량체화는 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%만큼 증가된다.

[0382] 본원에서 사용되는 바와 같이, 대상에 적용했을 때의 "자연 발생(naturally-occurring)"이라는 용어는 대상이 자연에서 발견될 수 있다는 사실을 의미한다. 예를 들어, 유기체(바이러스를 포함함)에 존재하고, 자연에서 기원으로부터 단리될 수 있으며, 사람이 실험실에서 의도적으로 변형하지 않은 폴리펩티드 서열 또는 폴리뉴클레오티드 서열은 자연 발생이다.

[0383] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "비전환 이소형(nonswitched isotype)"은 이소형 전환이 발생하지 않았을 때 생성되는 중쇄의 이소형 클래스를 지칭하며; 비전환 이소형을 암호화하는 CH 유전자는 일반적으로, 기능적으로 재배열된 VDJ 유전자의 바로 하류에 있는 제1 CH 유전자이다. 이소형 전환은 고전적 이소형 전환 또는 비고전적 이소형 전환으로 분류되어 왔다. 고전적 이소형 전환은 이식 유전자에 적어도 하나의 전환 서열 영역(switch sequence region)을 포함하는 재조합 사례에 의해 발생한다. 비고전적 이소형 전환은, 예를 들어, 인간 σ_{μ} 및 인간 Σ_{μ} (δ-관련 결실) 사이의 상동 재조합에 의해 발생할 수 있다. 특히, 대안적인 비고전적 전환 메커니즘, 예컨대 이식 유전자간 및/또는 염색체간 재조합이 발생하여 이소형 전환을 달성할 수 있다.

[0384] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "핵산"은 단일 가닥 또는 이중 가닥 형태의 디옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드 및 이들의 중합체를 지칭한다. 명시적으로 제한되지 않는 한, 상기 용어는 기준 핵산과 유사한 결합 특성을 가지고 자연 발생 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 대사되는 천연 뉴클레오티드의 알려진 유사체를 함유하는 핵산을 포함한다. 달리 표시되지 않는 한, 특정 핵산 서열은 보존적으로 변형된 그의 변이체(예: 축퇴 코돈 치환) 및 상보적 서열 및 명시적으로 표시된 서열을 또한 명시적으로 포함한다. 구체적으로, 축퇴 코돈 치환(degenerate codon substitution)은 하나 이상의 선택된 (또는 모든) 코돈의 제3 위치가 혼합-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환되는 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다(Batzer 등의 Nucleic Acid Res. 19:5081, 1991; Ohtsuka 등의 Biol. Chem. 260:2605-2608, 1985; 및 Cassol 등의 1992; Rossolini 등의 Mol. Cell. Probes 8:91-98, 1994 참조). 아르기닌과 류신의 경우, 제2 염기에서의 변형도 보존적일 수 있다. 용어 "핵산(nucleic acid)"은 유전자, cDNA, 및 유전자에 의해 암호화된 mRNA와 상호 교환적으로 사용된다.

[0385] 본원에 사용된 폴리뉴클레오티드는 변형되지 않은 RNA 또는 DNA 또는 변형된 RNA 또는 DNA일 수 있는 임의의 폴리리보뉴클레오티드 또는 폴리디옥시리보뉴클레오티드로 이루어질 수 있다. 예를 들어, 폴리뉴클레오티드는 단일-가닥 및 이중-가닥 DNA; 단일-가닥 영역과 이중-가닥 영역의 혼합물인 DNA; 단일-가닥 및 이중-가닥 RNA; 및 단일-가닥 영역과 이중-가닥 영역의 혼합물인 RNA; 단일-가닥이거나, 더 일반적으로는 이중-가닥이거나, 단일-가닥과 이중-가닥 영역의 혼합물일 수 있는 DNA 및 RNA를 포함하는 혼성 분자로 이루어질 수 있다. 또한, 폴리뉴클레오티드는 RNA 또는 DNA 또는 RNA와 DNA 둘 다를 포함하는 삼중-가닥 영역으로 이루어질 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 변형된 염기, 또는 안정성을 위해 또는 다른 이유로 변형된 DNA 또는 RNA 백본을 함유할 수도 있다. "변형된" 염기는, 예를 들어 트리틸화 염기, 및 이노신과 같은 비정상적 염기를 포함한다. 다양한 변형이 DNA 및 RNA에 대해 이루어질 수 있으며; 따라서, "폴리뉴클레오티드"는 화학적으로, 효소적으로 또는 대사적으로 변형된 형태를 포함한다.

[0386] 핵산은 또 다른 핵산 서열과 기능적인 관계로 배치될 때 "작동 가능하게 연결"된다. 예를 들어, 프로모터 또는 인핸서는 이들이 서열의 전사에 영향을 미치는 경우 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된 것이다. 전사 조절 서열과 관련하여, "작동 가능하게 연결된"은 연결되는 DNA 서열이 연속적이고, 필요 시 2개의 단백질 코딩 영역에 연결되도록 인접하고, 해독 프레임 내에 있음을 의미한다. 전환 서열의 경우, "작동 가능하게 연결된"은 서열이

전환 재조합을 수행할 수 있음을 나타낸다.

[0387] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "파라토프(paratope)"뿐만 아니라 "항원 결합 부위(antigen-binding site)"는 항원 상의 에피토프를 인식하여 이에 결합하는 항체의 일부분 또는 이의 항원 결합 단편을 지칭하며, 가변 중쇄 및 경쇄 내에 위치한 일단의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다.

[0388] 본원에서 사용되는 바와 같이, "비경구 투여", "비경구로 투여되는" 및 기타 이와 문법적으로 동등한 구문은, 장내 투여 및 국소 투여를 제외한, 일반적으로 주사에 의한 투여 방식을 지칭하며, 정맥 내(intravenous), 비강 내(intranasal), 안구 내(intraocular), 근육 내(intramuscular), 동맥 내(intraarterial), 척수 내(intrathecal), 낭 내(intracapsular), 안와 내(intraorbital), 심장 내(intracardiac), 피 내(intradermal), 복강 내(intraperitoneal), 기관 경유(transtracheal), 피하(subcutaneous), 표피하(subcuticular), 관절 내(intraarticular), 피막하(subcapsular), 지주막하(subarachnoid), 척수 내(intraspinal), 경막 외(epidural), 뇌 내(intracerebral), 두개 내(intracranial), 경동맥 내(intracarotid), 및 흉골 내(intrasternal) 주사 및 주입을 포함하되, 이들로 한정되지 않는다.

[0389] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "환자"는 예방적 또는 치료적 치료를 받는 인간 및 기타 포유류 대상체를 포함한다.

[0390] 2개 이상의 핵산 서열 또는 폴리펩티드 서열의 맥락에서, 용어 "동일성 백분율"은, 최대한의 상응성을 위해 비교하고 정렬했을 때, 아래에 기술된 서열 비교 알고리즘(예: BLASTP 및 BLASTN 또는 당업자가 이용할 수 있는 다른 알고리즘) 중 하나 또는 육안 검사를 사용해 측정했을 때 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기의 명시된 백분율을 갖는 둘 이상의 서열 또는 하위 서열을 지칭한다. 응용 분야에 따라, "동일성 백분율"은 비교되는 서열의 영역(예: 기능적 도메인)에 걸쳐 존재하거나, 대안적으로, 비교될 두 서열의 전장에 걸쳐 존재할 수 있다. 서열 비교를 위해서는, 일반적으로 하나의 서열이 시험 서열을 비교할 기준 서열의 역할을 한다. 서열 비교 알고리즘을 사용하는 경우, 시험 서열 및 기준 서열이 컴퓨터에 입력되고, 필요에 따라 하위 서열 좌표가 지정되며, 서열 알고리즘 프로그램 파라미터가 지정된다. 이어서, 서열 비교 알고리즘은 지정된 프로그램 파라미터에 기초하여, 기준 서열에 대해 시험 서열(들)의 서열 동일성 백분율을 계산한다.

[0391] 비교를 위한 서열의 최적 정렬은, 예를 들어, Smith & Waterman의 국소 상동성 알고리즘에 의해(Adv. Appl. Math. 2:482 (1981) 참조), Needleman & Wunsch의 상동성 정렬 알고리즘에 의해(J. Mol. Biol. 48:443 (1970) 참조), Pearson & Lipman의 유사성 검색 방법에 의해(Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988) 참조), 이들 알고리즘의 컴퓨터화된 적용(Wisconsin Genetics 소프트웨어 패키지의 GAP, BESTFIT, FASTA, 및 TFASTA)(Genetics Computer Group, 위스콘신주 매디슨 575 Science Dr. 소재)에 의해, 또는 육안 검사에 의해 수행될 수 있다(전체적으로, Ausubel 등의 전술한 문헌 참조).

[0392] 서열 동일성 백분율 및 서열 유사성을 결정하는 데 적합한 알고리즘의 일례는 BLAST 알고리즘으로, Altschul 등의 J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)에 기술되어 있다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 미국 국립생물공학 정보 센터를 통해 공개적으로 이용할 수 있다.

[0393] 본원에서 일반적으로 사용되는 바와 같이, "약학적으로 허용 가능한(pharmaceutically acceptable)"은, 건전한 의학적 판단의 범위 내에서, 합리적인 혜택/위험 비율에 상응하는 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 다른 문제나 합병증이 없이 인간 및 동물의 조직, 기관 및/또는 체액과 접촉된 상태로 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물, 및/또는 투여 형태를 지칭한다.

[0394] 본원에서 사용되는 바와 같이, "약학적으로 허용 가능한 담체"는 생리학적으로 적합한 모든 용매, 분산 매질, 코팅제, 항균제 및 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제 등을 지칭하고 포함한다. 조성물은 약학적으로 허용 가능한 염, 예를 들어 산 부가염 또는 염기 부가염을 포함할 수 있다(예를 들어, Berge 등의 (1977) *J Pharm Sci* 66:1-19 참조).

[0395] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "폴리펩티드", "펩티드", 및 "단백질"은 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하도록 상호 교환적으로 사용된다. 상기 용어는, 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 자연 발생 아미노산의 인공적인 화학적 모방체인 아미노산 중합체뿐만 아니라, 자연 발생 아미노산 중합체 및 비-자연 발생 아미노산 중합체에도 적용된다.

[0396] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "예방(preventing)"은, 조성물을 투여받지 않는 대상체에 비해 대상체에서 병태의 증상의 빈도를 감소시키거나 병태의 발생을 지연시키는 조성물을 투여하는 것을 지칭한다.

[0397] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "정제된(purified)" 또는 "단리된(isolated)"은, 본원에 기술된 단백질(항체 또는 단편) 중 어느 하나에 적용될 때, 자연적으로 폴리펩티드를 갖는 성분(예: 단백질 또는 자연 발생 생물학적 분자 또는 유기 분자), 예를 들어, 단백질을 발현하는 원핵 생물에서의 다른 단백질, 지질 및 핵산으로부터 분리되었거나 정제된 폴리펩티드를 지칭한다. 일반적으로, 폴리펩티드는 샘플에서 총 단백질의 적어도 60 wt%(예를 들어, 적어도 65, 70, 75, 80, 85, 90, 92, 95, 97 또는 99 wt%)를 구성하는 경우에 정제된다.

[0398] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "재배열된(rearranged)"은 중쇄 또는 경쇄 면역글로불린 유전자좌의 구성을 지칭하며, 여기서 V 분절은 본질적으로 완전한 V_H 또는 V_L 도메인을 각각 암호화하는 형태로 D-J 또는 J 분절에 바로 인접하게 위치된다. 재배열된 면역글로불린 유전자의 유전자좌는 생식계열 DNA와 비교하여 식별될 수 있고; 재배열된 유전자좌는 적어도 하나의 재조합된 헵타머/나노머 상동 요소를 갖게 된다.

[0399] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "수용체 클러스터링(receptor clustering)"은 일단의 수용체를 특정 세포 위치에 그룹화하거나 국소적으로 축적시키는 세포 과정을 지칭하며, 종종 신호 반응을 유도하거나 증폭시킨다. 많은 단백질 수용체가 동족 리간드에 결합하며, 이들은 동족 리간드에 결합할 때 클러스터링한다(즉, 이량체, 삼량체, 올리고머 또는 다량체를 형성한다). 예를 들어, PDGF 수용체 및 TNF 수용체 수퍼패밀리 구성원은 리간드 결합 시 각각 이량체와 삼량체를 형성한다. 동족 리간드-유도 클러스터링(예를 들어, 이량체화, 다량체화)은 수용체를 통해 신호 전달을 유도한다. 따라서, 본 개시의 항체 또는 항원 결합 단편은 둘 이상의 수용체에 결합함으로써 수용체를 활성화시키고, 동족 리간드 결합의 유무와 상관없이 이량체화, 삼량체화 및/또는 다량체화를 유도하거나 안정화시킬 수 있다.

[0400] 수용체 클러스터링 및 다량체화는 TNFR 신호 전달에 필요하고(Wajant (2015) Cell Death Differ 22(11):1727-1741 참조), 특히 TNFRSF 활성화에 필요하다. 4-1BB(CD137), CD40, GITR, CD27, DR3, DR5, 및 Fas는 하류 신호 전달을 유발하기 위해 클러스터링이 필요한 것으로 알려진 TNFSF 수용체 중 일부이다. 4-1BB 수용체가 신호에 가교 결합되어야 한다는 실험 증거는 Rabu 등의 문헌에 제시되어 있다. 이들 저자는, 인간 4-1BBL의 1-삼량체 형태가 인간 T 세포에 대한 활성화 효과가 없었지만, 단백질을 2- 이상의 삼량체로 가교 결합시킨 결과 단백질을 강력하게 활성화하였음을 보고하였다(Rabu 등의 (2005) J Biol Chem 280:41472-41481 참조). 따라서, 일부 구현예에서, 항CD137 작용제 항체는 CD137의 2개 이상의 삼량체의 다량체화를 유도한다.

[0401] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "재조합 숙주 세포"(또는 단순히 "숙주 세포")는 재조합 발현 벡터가 도입된 세포를 지칭하도록 의도된다. 이러한 용어는 특정 대상체 세포뿐만 아니라 이러한 세포의 자손까지도 지칭하도록 의도된 것으로 이해해야 한다. 돌연변이 또는 환경적 영향에 의해 후행 세대에서 특정 변형이 발생할 수 있기 때문에, 이러한 자손은 사실 부모 세포와 동일하지 않을 수 있지만, 본원에서 사용된 용어 "숙주 세포"의 범주 내에는 여전히 포함된다.

[0402] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "재조합 인간 항체"는 재조합 수단에 의해 제조되거나, 발현되거나, 생성되거나 단리된 모든 인간 항체로서, 예컨대 (a) 동물(예: 마우스)로부터 단리된 항체(상기 동물은 인간 면역글로불린 유전자 또는 하이브리도마를 제조하기 위해 유전자가 이식되었거나 염색체가 이식된 동물임), (b) 항체를 발현하도록 형질 변환된 숙주 세포(예: 트랜스펙토마(transfectoma))로부터 단리된 항체, (c) 재조합체 조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체, 및 (d) 인간 면역글로불린 유전자 서열을 다른 DNA 서열에 접합시키는 것을 포함하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체 등을 포함한다. 이러한 재조합 인간 항체는 특정한 인간 생식계열 면역글로불린 서열을 이용하는 가변 및 불변 영역을 포함하고, 생식계열 유전자에 의해 암호화되지만, 예를 들어, 항체가 성숙되는 동안 발생하는 후속 재배열 및 예를 들어 항체 성숙 동안 발생하는 후속 재배열 및 돌연변이를 포함한다. 당업계에 공지된 바와 같이(예를 들어, Lonberg (2005) Nature Biotech. 23(9):1117-1125 참조), 가변 영역은 항원 결합 도메인을 함유하는데, 이는 외래 항원에 특이적인 항체를 형성하기 위해 재배열되는 다양한 유전자에 의해 암호화된다. 재배열되는 것 외에도, 가변 영역은 다수의 단일 아미노산 변화(체세포 돌연변이 또는 과돌연변이로 지칭됨)에 의해 추가로 변형되어 외래 항원에 대한 항체의 친화도을 증가시킬 수 있다. 불변 영역은 항원에 대한 추가 반응을 변화시키게 된다(이소형 전환). 그러므로, 항원에 반응하여 경쇄 및 중쇄 면역글로불린 폴리펩티드를 암호화하는 재배열되고 체세포 돌연변이된 핵산 분자는 원래의 핵산 분자와 서열 동일성을 갖지 않을 수 있지만, 대신에 실질적으로 동일하거나 유사할 것이다(적어도 80% 동일성을 가짐).

[0403] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "기준 항체"("기준 mAb"와 상호 교환적으로 사용됨) 또는 "기준 항원 결합 단백질"은 인간 CD137 상의 특정 에피토프에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 지칭하며, 자신과 하나 이상의 구별되는 항체 간의 관계를 정립하기 위해 사용된다. 일부 구현예에서, 관계란 기준 항체 및 하나 이상

의 구별되는 항체가 CD137 상의 동일한 에피토프에 결합하는 것이다. 본원에서 사용된 바와 같이, 상기 용어는 본원에서 기술된 것들과 같은 시험 또는 분석에서 경쟁자(competitor)로서 유용한 항CD137 항체를 의미하며, 여기서 분석(assay)은 동일한 에피토프에 결합하는 하나 이상의 구별되는 항체의 발견, 식별 또는 개발에 유용하다. 예시적인 기준 항체(mAb1)의 가변 중쇄(V_H) 및 경쇄 (V_L) 아미노산 서열은 표 4에 제공된다(V_H1, 서열번호 4; V_H2, 서열번호 6). 일부 구현예에서, 상기 용어는 시험 또는 분석에서 비교기(comparator)로서 유용한 항CD137 항체를 의미하며, 여기서 분석은 항체의 특성(예를 들어, 간 독성, 항종양 효능)을 구별하는데 유용하다. 일부 구현예에서, 기준 항체는 우렐루맙이다. 일부 구현예에서, 기준 항체는 우토밀루맙이다.

[0404] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "특이적 결합", "선택적 결합", "선택적으로 결합하는" 및 "특이적으로 결합하는"은 항체가 소정의 항원 상의 에피토프에 결합하는 것을 지칭한다. 일반적으로, BIACORE 2000 기기에서 재조합 인간 CD137을 분석물로서 사용하고 항체를 리간드로 사용해, 표면 플라스몬 공명(SPR) 기술에 의해 결정했을 때, 항체는 대략 10^{-6} M 미만, 예컨대 대략 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M 또는 10^{-10} M 미만 또는 더 낮은 평형 해리 상수(K_D)로 결합하고, 소정의 항원이나 이와 밀접하게 관련된 항원이 아닌 비특이적 항원(예: BSA, 카세인)에 대한 결합 친화도보다 적어도 2배 더 큰 친화도로 소정의 항원에 결합한다. 문구 "항원을 인식하는 항체" 및 "항원에 특이적인 항체"는 용어 "항원에 특이적으로 결합하는 항체"와 상호 교환적으로 본원에서 사용된다.

[0405] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "전환 서열(switch sequence)"은 전환 재조합을 담당하는 DNA 서열을 지칭한다. 일반적으로는 μ 전환 영역인 "전환 공여자(switch donor)" 서열은 전환 재조합 도중에 결실될 작제물 영역의 5'(상류)이 될 것이다. "전환 수용자(switch acceptor)" 영역은 결실될 작제물 영역과 대체 불변 영역(예: γ, ε 등) 사이가 될 것이다. 재조합이 항상 발생하는 특정 부위가 없기 때문에, 최종 유전자 서열은 작제물로부터 일반적으로 예측할 수 없게 된다.

[0406] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "대상체(subject)"는 임의의 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 방법 및 조성물은 면역 장애를 가진 대상체를 치료하는 데 사용될 수 있다. 용어 "비인간 동물(non-human animal)"은 모든 척추 동물, 예를 들어, 비인간 영장류, 양, 개, 소, 닭, 양서류, 파충류 등과 같은 포유류 및 비포유류이다.

[0407] 핵산의 경우, 용어 "실질적 상동성(substantial homology)"은 2개의 핵산 또는 이들의 지정된 서열이 최적으로 정렬되어 비교될 때, 이들이 뉴클레오티드의 적어도 약 80%, 일반적으로 적어도 약 90% 내지 95%, 및 더 바람직하게는 적어도 약 98% 내지 99.5%에서 뉴클레오티드의 적절히 삽입 또는 결실을 통해 동일함을 나타낸다. 대안적으로, 선택적 혼성화 조건 하에서 분절들이 가닥의 보체에 혼성화될 때 실질적 상동성이 존재한다.

[0408] 2개의 서열 사이의 동일성 백분율은 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 도입할 필요가 있는 갭의 수 및 각 갭의 길이를 고려해 서열에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이다(즉, 상동성(%)= 동일한 위치의 #/위치들의 총 # x 100). 서열 비교 및 2개의 서열 사이의 동일성 백분율의 결정은 아래의 비제한적인 실시예에 기술된 바와 같이, 수학적 알고리즘을 사용하여 달성할 수 있다.

[0409] 2개의 뉴클레오티드 서열 사이의 동일성 백분율은 GCG 소프트웨어 패키지(http://www.gcg.com에서 이용 가능함)의 GAP 프로그램을 이용해, NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 40, 50, 60, 70, 또는 80의 갭 가중치 및 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6의 길이 가중치를 사용해 결정될 수 있다. 2개의 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 사이의 동일성 백분율은 또한, ALIGN 프로그램(버전 2.0)에 통합된 E. Meyers 및 W. Miller의 알고리즘(CABIOS, 4:11-17(1989) 참조)을 이용해, PAM120 중량 잔기 테이블, 12의 갭 길이 패널티 및 4의 갭 페널티를 사용해 결정될 수 있다. 또한, 2개의 아미노산 서열 사이의 동일성은 GCG 소프트웨어 패키지(http://www.gcg.com에서 이용 가능함)의 GAP 프로그램에 통합된 Needleman 및 Wunsch 알고리즘(*J. Mol. Biol.* (48):444-453 (1970) 참조)을 이용해, Blossum 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4의 갭 가중치 및 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6의 길이 가중치를 사용해 결정될 수 있다.

[0410] 본 개시의 핵산 및 단백질 서열은, 예를 들어, 관련 서열을 식별하기 위해 공공 데이터베이스에 대한 검색을 수행하는 데 "쿼리 서열(query sequence)"로서 추가로 사용될 수 있다. 이러한 검색은 NBLAST 및 XBLAST 프로그램(버전 2.0)을 사용하여 수행될 수 있다(Altschul 등의 (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10 참조). NBLAST 프로그램, score = 100, wordlength = 12를 사용해 BLAST 뉴클레오티드 검색을 수행해 본 발명의 핵산 분자에 대해 상동인 뉴클레오티드 서열을 얻을 수 있다. XBLAST 프로그램, score = 50, wordlength = 3을 사용해 BLAST 단백질 검색을 수행해 본 발명의 단백질 분자에 대해 상동인 아미노산 서열을 얻을 수 있다. 비교를 위한 갭이 있는 정렬을 얻기 위해, Altschul 등의 문헌[(1997) *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402]에 기술된 바와 같이

Gapped BLAST를 사용할 수 있다. BLAST 및 Gapped BLAST 프로그램을 이용할 때, 각 프로그램(예: XBLAST 및 NBLAST)의 기본 파라미터를 사용할 수 있다. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov 참조)

[0411] 핵산은 전체 세포, 세포 용해물, 또는 부분적으로 정제되거나 실질적으로 순수한 형태로 존재할 수 있다. 핵산이, 알칼리/SDS 처리, CsCl 밴딩(CsCl banding), 컬럼 크로마토그래피, 아가로오스 겔 전기영동 및 당업계에 잘 알려진 다른 것들을 포함하는 표준 기술에 의해 다른 세포 성분이나 다른 오염물, 예를 들어 다른 세포 핵산 또는 단백질이 없이 정제될 때, 핵산이 "단리"되거나 핵산에게 "실질적인 순수함이 부여"된다. (F. Ausubel, 등의 (편집주) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987) 참조).

[0412] 본 개시의 핵산 조성물로서, 종종 천연 서열에 존재하지만 cDNA, 게놈 또는 이의 혼합물 유래인 조성물은 표준 기술에 따라 돌연변이되어 유전자 서열을 제공할 수 있다. 코딩 서열의 경우, 이들 돌연변이는 원하는 대로 아미노산 서열에 영향을 미칠 수 있다. 특히, 본원에 기술된 천연 V, D, J, 불변, 전환 서열 및 기타 이러한 서열과 실질적으로 상동이거나 이로부터 유래된 DNA 서열이 고려된다(여기서, "유래된"은 서열이 다른 서열과 동일하거나 이로부터 변형됨을 나타냄).

[0413] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "종양 미세환경"(대안적으로는 "암 미세환경"이며, TME로 약칭됨)은 면역세포, 섬유아세포, 골수 유래 염증 세포, 및 림프구를 포함하되 이에 한정되지 않는 비암 세포뿐만 아니라 주변 혈관을 포함하여 종양이나 신생물이 존재하는 세포 환경 또는 환경(milieu)을 지칭한다. 신호 전달 분자와 세포외 매트릭스도 TME를 포함한다. 종양 및 주변 미세환경은 밀접한 관련이 있고 일정하게 상호 작용한다. 종양은 세포 외 신호를 방출하고, 종양 혈관형성을 촉진하고, 말초 면역 내성을 유도함으로써 미세환경에 영향을 미치는 반면, 미세환경 내의 면역 세포는 종양 세포의 성장 및 진화에 영향을 미칠 수 있다.

[0414] 용어 "T 세포"는 세포 표면 상에 존재하는 T 세포 수용체에 의해 다른 백혈구 세포와 구별될 수 있는 백혈구 세포의 유형을 지칭한다. 여러 가지 T 세포의 하위 집합이 있는데, 이에는 T 헬퍼 세포(T_H 세포 또는 $CD4^+$ T 세포로도 알려짐) 및 하위 유형(T_H1, T_H2, T_H3, T_H17, T_H9, 및 T_{FH} 세포를 포함함); 세포독성 T 세포(T_C 세포, $CD8^+$ T 세포, 세포독성 T 림프구, T-살해 세포, 살해 T 세포), 기억 T 세포 및 하위 유형(중심 기억 T 세포(T_{CM} 세포), 효과기 기억 T 세포(T_{EM} 및 T_{EMRA} 세포), 및 상주 기억 T 세포(T_{RM} 세포), 조절 T 세포(T_{reg} 세포 또는 억제 T 세포로도 알려짐) 및 하위 유형($CD4^+$ $FOXP3^+$ T_{reg} 세포, $CD4^+FOXP3^-$ T_{reg} 세포, Tr1 세포, Th3 세포, 및 $T_{reg}17$ 세포를 포함함), 자연 살해 T 세포(NKT 세포로도 알려짐), 점막 관련 비변이 T 세포(MAIT), 및 감마 델타 T 세포(γδ T 세포)(Vγ9/Vδ2 T 세포를 포함함) 등이 포함되지만, 이들로 한정되지는 않는다. 위에 언급되었거나 언급되지 않은 T 세포 중 하나 이상은 본 발명의 사용 방법을 위한 표적 세포 유형일 수 있다.

[0415] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "T 세포 활성화" 또는 "T 세포의 활성화"는 항원 특이적 T 세포 수용체를 그 표면에서 발현하는 성숙한 T 세포가 이들의 동족 항원을 인식하여, 이에 반응하는 세포 과정을 지칭하며, 여기서 반응은 성숙한 T 세포가 세포 사이클에 진입하는 것; 사이토카인이나 용해 효소를 분비하는 것; 및 세포 기반 효과기 기능의 수행을 개시하거나, 이를 개시하도록 유능해지는 것에 의해 일어난다. T 세포 활성화에는, 완전한 활성화를 위한 적어도 2개의 신호가 요구된다. 첫 번째는 항원-주요 조직적합성 복합체(MHC)에 의한 T 세포 항원-특이적 수용체(TCR)의 결합 후에 발생하고, 두 번째는 공동-자극 분자(예를 들어, CD28)의 후속 결합에 의해 발생한다. 이들 신호는 핵에 전달되어, T 세포의 클론 증식, 세포 표면 상의 활성화 마커의 상향 조절, 효과기 세포로의 분화, 세포독성 또는 사이토카인 분비의 유도, 세포 자멸사(apoptosis)의 유도, 또는 이들의 조합을 야기한다.

[0416] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "T 세포 매개 반응"은 T 세포에 의해 매개된 임의의 반응을 지칭하며, T 세포는 효과기 T 세포(예: $CD8^+$ 세포) 및 헬퍼 T 세포(예: $CD4^+$ 세포)를 포함하되 이들로 한정되지는 않는다. T 세포 매개 반응은, 예를 들어 T 세포 세포독성 및 증식을 포함한다.

[0417] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료적으로 유효한 양" 또는 "치료적으로 유효한 투약량" 또는 본원에 사용된 유사한 용어는 원하는 생물학적 또는 의학적 반응(예를 들어, 암의 하나 이상의 증상의 개선)을 유도하는 제제(예를 들어, 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편)의 양을 의미도록 의도된다.

[0418] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료(treat, treating, 및 treatment)"는 본원에 기술된 치료적 또는 예방적 대책을 지칭한다. "치료" 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 대상체에게 본 개시의 인간 항체를 투여하는 단

계를 포함하는데, 예를 들어, 특정 항원에 대한 강화된 면역 반응을 필요로 하는 대상체 또는 궁극적으로 이러한 장애를 가질 수 있는 대상체에게 장애 또는 재발성 장애의 하나 이상의 증상을 예방하거나, 치유하거나, 지연시키거나, 개선하거나, 이의 중증도를 감소시키기 위해 본 개시의 인간 항체를 투여하는 단계, 또는 이러한 치료의 부재 시 예상되는 것 이상으로 대상체의 생존을 연장시키기 위해 본 개시의 인간 항체를 투여하는 단계를 포함한다.

[0419] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "재배열되지 않은" 또는 "생식 계열 구성"는 V 분절이 D 또는 J 분절에 바로 인접하도록 재조합되지 않는 구성을 지칭한다.

[0420] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "벡터"는 연결된 또 다른 핵산을 운반할 수 있는 핵산 분자를 지칭하도록 의도된다. 한 가지 유형의 벡터는 "플라스미드"로서, 이는 추가의 DNA 분절이 연결될 수 있는 원형 이중 가닥 DNA 루프를 지칭한다. 또 다른 유형의 벡터는 바이러스 벡터인데, 이 경우 추가의 DNA 분절은 바이러스 게놈 내로 연결될 수 있다. 특정 벡터는 이들이 도입되는 숙주 세포에서 스스로 복제할 수 있다(예: 박테리아 복제 기원을 갖는 박테리아 벡터 및 에피솜 포유류 벡터). 다른 벡터(예: 비에피솜 포유류 벡터)는 숙주 세포에 도입될 때 숙주 세포의 게놈에 통합되어 숙주 게놈과 함께 복제될 수 있다. 또한, 특정 벡터는 이들이 작동 가능하게 연결된 유전자의 발현을 유도할 수 있다. 이러한 벡터는 본원에서 "재조합 발현 벡터"(또는 간단히 "발현 벡터")로 지칭된다. 일반적으로, 재조합 DNA 기술에서 유용한 벡터는 종종 플라스미드의 형태를 갖는다. 본 명세서에서, "플라스미드" 및 "벡터"는 상호 교환적으로 사용될 수 있는데, 이는 플라스미드가 가장 널리 사용되는 벡터의 형태이기 때문이다. 그러나, 본 발명은 동등한 기능을 수행하는 다른 형태의 이러한 발현 벡터, 예컨대 바이러스 벡터(예: 복제 결함 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-관련 바이러스) 등을 포함하도록 의도된다.

[0421] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시가 속하는 기술분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기술된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본원에 개시된 방법 및 조성물의 실시 또는 시험에 사용될 수도 있지만, 바람직한 방법 및 물질이 아래에 기술된다. 본원에 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허, 및 기타 참조 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0422] **항CD137 항체 및 이의 항원 결합 단편**

[0423] 본 개시는 CD137에 특이적으로 결합하고 이를 효능화하는 항체를 제공한다. 일부 양태에서, 본 개시는 암의 치료에 유용한 항CD137 작용제 항체를 제공한다. 일부 구현예에서, 항CD137 작용제 항체는 사이토카인 생성을 유도한다. 일부 구현예에서, 항CD137 작용제 항체는 종양 미세환경에서 CD8+ T 세포의 수를 증가시킨다. 일부 구현예에서, 항CD137 작용제 항체는 보호성 항종양 면역성을 유도한다. 본 개시는, 생체 내 투여 시, 비장 내 또는 간 내 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포 집단을 실질적으로 증가시키지 않는 항CD137 작용제 항체를 제공한다.

[0424] 인간 CD137은 255개 아미노산의 막관통 폴리펩티드(서열번호 3; 수탁 번호 NM_001561; NP_001552)이면서 계통발생적으로 보존된 종양 괴사 인자 수용체(TNFR) 수퍼패밀리의 구성원이다. CD137(대안적으로 4-1BB, TNFR 슈퍼패밀리 9) 및 이의 리간드(CD137L)는 광범위한 면역 활동의 조절에 관여한다. CD137 리간드는 활성화된 T 세포에서 발현되는 이의 수용체 CD137과 가교 결합하여 T 세포 활성을 공동 자극한다. CD137은 활성화-유도 공동-자극 분자이다. 최근의 연구는, CD137 매개 항암 효과가, T 세포를 활성화하여, 특히 세포독성 T 림프구(CTL) 반응을 유도하고, 사이토카인의 생성, 특히 많은 양의 IFNγ의 생성을 유도하는 CD137의 능력에 크게 기초한다는 것을 밝혀 냈다(Ye 등의 (2014) Clin Cancer Res 20(1):44-55 참조). CD137 리간드는 세포 표면 상의 막관통 단백질로서, 이 단백질이 발현되는 세포 내로 신호를 전송하는데, 이는 "역 신호전달(reverse signaling)" 또는 "후방 신호전달(back signaling)"로 지칭되는 현상이다. CD137 리간드의 발현은 대부분의 유형의 백혈구와 일부 비면역 세포에서 발견된다. 단핵구 세포(단핵구, 대식세포 및 DC)에서, CD137 리간드 신호전달은 활성화, 이동, 생존 및 분화를 유도한다.

[0425] 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CD137에 결합하여 이를 효능화하며, CD137L 결합을 가능하게 하거나 이를 촉진한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CD137에 결합하여 이를 효능화한다. 일부 구현예에서, 본 개시에 의해 제공되는 항CD137 항체는 CD137에 결합하여 이를 효능화하고, T 세포의 활성화를 공동 자극한다.

[0426] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 다음의 특성 또는 특징 중 하나 이상을 갖는다:

[0427] a) 인간 CD137에 특이적으로 결합함;

[0428] b) 인간 및 시노몰구스 CD137에 결합함; 및

[0429] c) 인간 및 마우스 CD137에 결합함.

[0430] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CD137에 결합하여 T 세포 활성을 공동 자극한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CD137에 결합하여 T 세포 활성화, 세포독성 T 림프구(CTL) 반응, T 세포 증식, 사이토카인 생성, 또는 이들의 조합을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 종양 미세환경에서 CD137에 결합하여 T 세포 활성화, 세포독성 T 림프구(CTL) 반응, T 세포 증식, 사이토카인 생성, 또는 이들의 조합을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 간 내 및/또는 비장 내 T 세포 활성화 및/또는 T 세포 증식을 유의미하게 유도하거나 강화시키지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 CD137에 결합하여 IFNɣ의 생성을 유도한다. 일부 구현예에서, 본 개시에 의해 제공되는 항체는 CD137에 결합하여 IL-2, TNF-α, IL-13, 또는 이들의 조합의 생성을 유도한다.

[0431] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 CD137에 특이적으로 결합하여 이를 효능화한다. 일부 구현예에서, CD137의 작용성은 면역 세포에 의해 생성된 사이토카인의 농도를 결정함으로써 측정된다. 사이토카인 생성을 분석하기 위한 방법은 당업계에 공지되어 있으며 실시예에서 사용된다. 일부 구현예에서, 면역 세포에 의한 사이토카인 생성의 증가는 CD137의 작용성을 나타낸다. 일부 구현예에서, CD137의 작용성은 T 세포 증식을 분석함으로써 측정된다. 일부 구현예에서, T 세포 증식 증가는 CD137의 작용성을 나타낸다. 일부 구현예에서, CD137의 작용성은 관련 분자의 인산화의 정량화 또는 관련 프로모터 다음의 유전자 리포터의 발현의 정량화를 통해 세포 신호전달 수준을 측정함으로써 측정된다. 일부 구현예에서, 세포 신호전달의 증가는 CD137의 작용성을 나타낸다. 일부 구현예에서, CD137의 작용성은 종양의 부피를 측정함으로써 측정된다. 일부 구현예에서, 종양의 부피 감소는 CD137의 작용성을 나타낸다.

[0432] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 CD137의 올리고머화, 다량체화, 또는 다른 고차 클러스터링을 유도하거나, 증가시키거나, 안정화시킨다. 일부 구현예에서, 세포 표면 상에서 CD137의 클러스터링은 형광 현미경을 통해 관찰된다.

[0433] CD137에 결합하여 이를 효능화하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고; (ii) 본원에 기술된 인간 CD137 상의 에피토프에 결합하고/하거나; (iii) 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX (서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다.

[0434] *CD137에 대한 친화도*

[0435] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이, 또는 약 40 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 인간 CD137에 대한 항CD137 항체의 친화도는 마우스 CD137에 대한 mAb10의 친화도보다 적어도 2배(예를 들어, 적어도 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배 또는 10배) 더 높다. 일부 구현예에서, 항CD137 항체의 친화도는 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 250, 200, 175, 150, 125, 110 또는 100 nM 이하이다. 일부 구현예에서, 인간 CD137에 대한 항CD137 항체의 친화도는 마우스 CD137에 대한 mAb10의 친화도보다 적어도 2배(예를 들어, 적어도 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배 또는 10배) 더 높지만, 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 250, 200, 175, 150, 125, 110 또는 100 nM 이하이다. 항체의 친화도는 단일 CD137 폴리펩티드에 대한 결합의 강도이다. 일부 구현예에서, 친화도는 평형 해리 상수(K_D)로 표시된다. K_D 값은 항원에 대한 항체의 결합 친화도에 반비례한다. 따라서, K_D 값이 작을수록 항원에 대한 항체의 친화도는 커진다.

[0436] 항원에 대한 항체의 친화도를 결정하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 결합 친화도를 결정하기 위한 예시적인 방법에는 표면 플라스몬 공명이 사용된다. 표면 플라스몬 공명은, 예를 들어 BIAcore 시스템(Pharmacia Biosensor AB, 스웨덴 웁살라 및 뉴저지주 피스카타웨이 소재)을 사용하여, 바이오센서 매트릭스 내에서 단백질 농도의 변화를 검출함으로써 실시간 생체특이적 상호작용의 분석을 가능하게 하는 광학 현상이다. 추가의 설명에 관해서는, 문헌[Jonsson, U., 등의 (1993) Ann. Biol. Clin. 51: 19-26; Jonsson, U., i (1991) Biotechniques 11 :620-627; Johnsson, B., 등의 (1995) J. Mol. Recognit. 8: 125-131; 및 Johnsson, B., 등의 (1991) Anal. Biochem. 198:268-277]을 참조한다.

[0437] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 40~100 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 30~40 nM, 40~50 nM, 50~60 nM, 60~70 nM, 70~80 nM, 80~90 nM, 90~100 nM, 45~55 nM, 55~65 nM, 75~85 nM, 85~95 nM, 45~95 nM, 50~90 nM, 55~85 nM, 60~80 nM, 65~75 nM, 55~75 nM, 40~70 nM, 50~80 nM, 또는 60~90 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 60~80 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 60~75 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다.

[0438] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 60~90 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 50~80 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 40~70 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 55~75 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 65~75 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 60~80 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 55~85 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 50~90 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 45~95 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 85~95 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 75~85 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 75~85 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 55~65 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 45~55 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 80~90 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 70~80 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 60~70 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 50~60 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 40~50 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 30~40 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 30 nM, 약 31 nM, 약 32 nM, 약 33 nM, 약 34 nM, 약 35 nM, 약 36 nM, 약 37 nM, 약 38 nM, 약 39 nM, 약 40 nM, 약 41 nM, 약 42 nM, 약 43 nM, 약 44 nM, 약 45 nM, 약 46 nM, 약 47 nM, 약 48 nM, 약 49 nM, 약 50 nM, 약 51 nM, 약 52 nM, 약 53 nM, 약 54 nM, 약 55 nM, 약 56 nM, 약 57 nM, 약 58 nM, 약 59 nM, 약 60 nM, 약 61 nM, 약 62 nM, 약 63 nM, 약 64 nM, 약 65 nM, 약 66 nM, 약 67 nM, 약 68 nM, 약 69 nM, 약 70 nM, 약 71 nM, 약 72 nM, 약 73 nM, 약 74 nM, 약 75 nM, 약 76 nM, 약 77 nM, 약 78 nM, 약 79 nM, 약 80 nM, 약 81 nM, 약 82 nM, 약 83 nM, 약 84 nM, 약 85 nM, 약 86 nM, 약 87 nM, 약 88 nM, 약 89 nM, 약 90 nM, 약 91 nM, 약 92 nM, 약 93 nM, 약 94 nM, 약 95 nM, 약 96 nM, 약 97 nM, 약 98 nM, 약 99 nM, 약 100 nM, 약 101 nM, 약 102 nM, 약 103 nM, 약 104 nM, 약 105 nM, 약 106 nM, 약 107 nM, 약 108 nM, 약 109 nM 또는 약 110 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다.

[0439] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 인간 CD137에 친화성 (K_D) 적어도 30 nM이지만 약 110 nM 미만, 적어도 31 nM이지만 약 109 nM 미만, 적어도 32 nM이지만 약 108 nM 미만, 적어도 33 nM이지만 약 107 nM 미만, 적어도 34 nM이지만 약 106 nM 미만, 적어도 35 nM이지만 약 105 nM 미만, 적어도 36 nM이지만 약 104 nM 미만, 적어도 37 nM이지만 약 103 nM 미만, 적어도 38 nM이지만 약 102 nM 미만, 적어도 39 nM이지만 약 101 nM 미만, 적어도 40 nM이지만 약 100 nM 미만; 적어도 41 nM이지만 약 99 nM 미만; 적어도 42 nM이지만 약 98 nM 미만; 적어도 43 nM이지만 약 97 nM 미만; 적어도 44 nM이지만 약 96 nM 미만; 적어도 45 nM이지만 약 95 nM 미만; 적어도 46 nM이지만 약 94 nM 미만; 적어도 47 nM이지만 약 93 nM 미만; 적어도 48 nM이지만 약 92 nM 미만; 적어도 49 nM이지만 약 91 nM 미만; 적어도 50 nM이지만 약 90 nM 미만; 적어도 51 nM이지만

약 89 nM 미만; 적어도 52 nM이지만 약 88 nM 미만; 적어도 53 nM이지만 약 87 nM 미만; 적어도 54 nM이지만 약 86 nM 미만; 적어도 55 nM이지만 약 85 nM 미만; 적어도 56 nM이지만 약 84 nM 미만; 적어도 57 nM이지만 약 83 nM 미만; 적어도 58 nM이지만 약 82 nM 미만; 적어도 59 nM이지만 약 81 nM 미만; 적어도 60 nM이지만 약 80 nM 미만; 적어도 61 nM이지만 약 79 nM 미만; 적어도 62 nM이지만 약 78 nM 미만; 적어도 63 nM이지만 약 77 nM 미만; 적어도 64 nM이지만 약 76 nM 미만; 또는 적어도 65 nM이지만 약 75 nM 미만의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 적어도 40 nM이지만 100 nM 미만의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다.

[0440] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 둘 이상의 종 유래의 CD137 폴리펩티드와 교차 반응한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 시노몰구스 CD137 및 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 마우스 CD137 및 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 인간 CD137, 마우스 CD137 및 시노몰구스 CD137에 결합한다.

[0441] *CD137 에피토프 결합*

[0442] 일부 구현예에서, 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 아미노산 111~132 중 하나 이상(예: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개 모두)을 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 아미노산 111~132 내의 에피토프에 결합한다. 일부 양태에서, 본 개시는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하며, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 서열번호 3의 아미노산 111~132의 전부 또는 일부에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 3의 잔기 K114를 포함하는 인간 CD137의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 3의 잔기 E111, T113 및 K114를 포함하는 인간 CD137의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 3의 잔기 E111, T113, K114 및 N126을 포함하는 인간 CD137의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 3의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 인간 CD137의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 3의 하나 이상의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 인간 CD137의 에피토프에 결합한다.

[0443] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 3의 아미노산 위치 100 내지 135, 101 내지 135, 102 내지 135, 103 내지 135, 104 내지 135, 105 내지 135, 106 내지 135, 107 내지 135, 또는 108 내지 135, 109 내지 135, 110 내지 135, 또는 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 인간 CD137의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 인간 CD137의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 에피토프는 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개의 아미노산 잔기를 포함한다.

[0444] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 3의 아미노산 위치 100 내지 135, 101 내지 135, 102 내지 135, 103 내지 135, 104 내지 135, 105 내지 135, 106 내지 135, 107 내지 135, 또는 108 내지 135, 109 내지 135, 110 내지 135, 또는 111 내지 135 내의 인간 CD137의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135 내의 인간 CD137의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 에피토프는 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개의 아미노산 잔기를 포함한다.

[0445] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 ELTK(서열번호 3의 아미노산 잔기 111~114에 상응함)를 포함하는 인간 CD137의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 아미노산 잔기 L112는 또 다른 아미노산 잔기일 수 있다.

[0446] 일부 구현예에서, 에피토프는 비선형 에피토프이다. 일부 구현예에서, 아미노산 잔기 K114의 돌연변이는 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 인간 CD137에 결합하는 것을 방해한다.

[0447] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 인간 CD137의 에피토프에 결합하며, 상기 에피토프는 적어도 아미노산 K114를 포함하고, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 마우스 CD137에 결합하고 랫트 CD137에는 결합하지 않는다. 일부 구현예에서, 에피토프는 비선형 에피토프이다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 마우스 CD137 및 시노몰구스 CD137에 결합하고, 랫트 CD137에는 결합하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 인간, 마우스, 랫트 및 시노몰구스 CD137에 결합하는 것은 표면 플라스몬 공명(SPR)에 의해 결정된다.

[0448] 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 랫트 CD137에 대한 항체의 친화도보다 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 500 또는 1000배 더 큰 친화도로 마우스, 시노몰구스 또는 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 서열번호 3의 인간 CD137에 비해 위치 114에서 리신을 포함하지 않는 CD137에 대한 항체의 친화도보다 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 500 또는 1000배 더 큰 친화도로 마우스, 시노몰구스 또는 인간 CD137에 결합한다.

[0449] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD137의 에피토프에 결합하고 인간 CD137의 에피토프에 결합하기 위해 mAb1과 경쟁한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CD137에 결합하여 이를 효능화한다. 일부 구현예에서, 본 개시에 의해 제공되는 항CD137 항체는 CD137에 결합하여 이를 효능화하고, T 세포의 활성화를 공동 자극한다.

[0450] 본 개시는 본원에 기술된 하나 이상의 특정 기준 항체(예: mAb1)에 의해 인식되는 에피토프의 전부 또는 일부를 포함하는 CD137 상의 에피토프에 결합하기 위해 경쟁하는 항체를 제공한다. 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 인간 CD137의 에피토프에 결합하고, 인간 CD137의 에피토프에 결합하기 위한 기준 항체(예: mAb1)와 경쟁하되, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 1×10^{-6} 이하의 평형 해리 상수 K_D로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 CD137의 에피토프에 결합하되, 에피토프에 대한 하나 이상의 돌연변이는 항체 및 기준 항체(예: mAb1) 둘 다에 대한 결합을 억제, 감소 또는 차단한다. 일부 구현예에서, 기준 항체는 본원에 기술된 mAb1 항체이다. 일부 구현예에서, 기준 항체는 표 3 또는 표 4에 제공된 임의의 하나의 항체이다.

[0451] 따라서, 본 개시에 의해 제공되는 항CD137 항체는 CD137에 결합된 항체, 또는 이의 단편 또는 부분을 포함하는 결정 구조의 x-선 결정학적 분석을 통해 평가될 수 있다. 일부 양태에서, 본 개시에 의해 제공되는 항체가 결합된 에피토프는 항체 파라토프 잔기(예: mAb1)의 4 옹스트롬(Å) 내에 상주하거나 위치하는 인간 CD137 항원 상의 잔기를 결정함으로써 식별된다.

[0452] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체가 결합된 에피토프는 적어도 3개의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체가 결합된 에피토프는 적어도 4개의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체가 결합된 에피토프는 적어도 5개의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체가 결합된 에피토프는 적어도 6개의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체가 결합된 에피토프는 적어도 7개의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 적어도 8개의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체가 결합된 에피토프는 적어도 9개의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체가 결합된 에피토프는 적어도 10개의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체가 결합된 에피토프는 적어도 12개의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체가 결합된 에피토프는 적어도 3개의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체가 결합된 에피토프는 적어도 13개의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체가 결합된 에피토프는 적어도 14개의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체가 결합된 에피토프는 적어도 15개의 아미노산 잔기이다.

[0453] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 25개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 24개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 23개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 22개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 21개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 20개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 19개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 18개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된

항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 17개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 16개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 15개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 14개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 13개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 12개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 11개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 10개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 9개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 8개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 7개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 6개 미만의 아미노산 잔기이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 5개 미만의 아미노산 잔기이다.

[0454] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 잔기가 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 또는 5개 미만인 에피토프에 결합하고 서열번호 3의 아미노산 잔기 K114를 포함한다.

[0455] *가변 영역*

[0456] 일부 구현예에서, 표 3 및 표 4에 기재된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 포함하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0457] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함한다:

[0458] (a) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0459] (b) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 70, 79 및 90에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0460] (c) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및 서열번호 71, 80 및 91에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0461] (d) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 72, 81 및 92에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0462] (e) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및 서열번호 73, 82 및 91에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0463] (f) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 74, 83 및 93에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0464] (g) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및 서열번호 75, 84 및 91에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0465] (h) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 74, 85 및 94에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0466] (i) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및 서열번호 76, 86 및 95에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0467] (j) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 77, 87 및 93에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0468] (k) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 88 및 90에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0469] (l) 서열번호 49, 57 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각

제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0470] (m) 서열번호 49, 58 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0471] (n) 서열번호 49, 59 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0472] (o) 서열번호 49, 60 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0473] (p) 서열번호 50, 61 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0474] (q) 서열번호 50, 58 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0475] (r) 서열번호 51, 62 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0476] (s) 서열번호 52, 63 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0477] (t) 서열번호 50, 64 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0478] (u) 서열번호 50, 65 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0479] (v) 서열번호 51, 108 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0480] (w) 서열번호 107, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열; 및

[0481] (x) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 109, 110 및 92에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열.

[0482] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 101 및 103로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 6, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 및 105로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0483] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하되, 중쇄 CDR3은 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0484] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0485] (a) 서열번호 4 및 6의 각각;

[0486] (b) 서열번호 4 및 28의 각각;

[0487] (c) 서열번호 4 및 30의 각각;

[0488] (d) 서열번호 4 및 32의 각각;

[0489] (e) 서열번호 4 및 34의 각각;

[0490] (f) 서열번호 4 및 36의 각각;

[0491] (g) 서열번호 4 및 38의 각각;

[0492] (h) 서열번호 4 및 40의 각각;

[0493] (i) 서열번호 4 및 42의 각각;

[0494] (j) 서열번호 4 및 44의 각각;

[0495] (k) 서열번호 4 및 46의 각각;

[0496] (l) 서열번호 8 및 6의 각각;

[0497] (m) 서열번호 10 및 6의 각각;

[0498] (n) 서열번호 12 및 6의 각각;

[0499] (o) 서열번호 14 및 6의 각각;

[0500] (p) 서열번호 16 및 6의 각각;

[0501] (q) 서열번호 18 및 6의 각각;

[0502] (r) 서열번호 20 및 6의 각각;

[0503] (s) 서열번호 22 및 6의 각각;

[0504] (t) 서열번호 24 및 6의 각각;

[0505] (u) 서열번호 26 및 6의 각각;

[0506] (v) 서열번호 101 및 6의 각각;

[0507] (w) 서열번호 103 및 6의 각각; 및

[0508] (x) 서열번호 4 및 105의 각각.

[0509] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 101 및 103으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 6, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 및 105로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0510] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0511] (a) 서열번호 4 및 6의 각각;

[0512] (b) 서열번호 4 및 28의 각각;

[0513] (c) 서열번호 4 및 30의 각각;

[0514] (d) 서열번호 4 및 32의 각각;

[0515] (e) 서열번호 4 및 34의 각각;

[0516] (f) 서열번호 4 및 36의 각각;

[0517] (g) 서열번호 4 및 38의 각각;

[0518] (h) 서열번호 4 및 40의 각각;

[0519] (i) 서열번호 4 및 42의 각각;

[0520] (j) 서열번호 4 및 44의 각각;

[0521] (k) 서열번호 4 및 46의 각각;

[0522] (l) 서열번호 8 및 6의 각각;

[0523] (m) 서열번호 10 및 6의 각각;

[0524] (n) 서열번호 12 및 6의 각각;

[0525] (o) 서열번호 14 및 6의 각각;

[0526] (p) 서열번호 16 및 6의 각각;

[0527] (q) 서열번호 18 및 6의 각각;

[0528] (r) 서열번호 20 및 6의 각각;

[0529] (s) 서열번호 22 및 6의 각각;

[0530] (t) 서열번호 24 및 6의 각각;

[0531] (u) 서열번호 26 및 6의 각각;

[0532] (v) 서열번호 101 및 6의 각각;

[0533] (w) 서열번호 103 및 6의 각각; 및

[0534] (x) 서열번호 4 및 105의 각각.

[0535] 일부 구현예에서, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 제공된다:

[0536] (a) 서열번호 5 및 7의 각각;

[0537] (b) 서열번호 5 및 29의 각각;

[0538] (c) 서열번호 5 및 31의 각각;

[0539] (d) 서열번호 5 및 33의 각각;

[0540] (e) 서열번호 5 및 35의 각각;

[0541] (f) 서열번호 5 및 37의 각각;

[0542] (g) 서열번호 5 및 39의 각각;

[0543] (h) 서열번호 5 및 41의 각각;

[0544] (i) 서열번호 5 및 43의 각각;

[0545] (j) 서열번호 5 및 45의 각각;

[0546] (k) 서열번호 5 및 47의 각각;

[0547] (l) 서열번호 9 및 7의 각각;

[0548] (m) 서열번호 11 및 7의 각각;

[0549] (n) 서열번호 13 및 7의 각각;

[0550] (o) 서열번호 15 및 7의 각각;

[0551] (p) 서열번호 17 및 7의 각각;

[0552] (q) 서열번호 19 및 7의 각각;

[0553] (r) 서열번호 21 및 7의 각각;

[0554] (s) 서열번호 23 및 7의 각각;

[0555] (t) 서열번호 25 및 7의 각각;

[0556] (u) 서열번호 27 및 7의 각각;

[0557] (v) 서열번호 102 및 7의 각각;

[0558] (w) 서열번호 104 및 7의 각각; 및

[0559] (x) 서열번호 5 및 106의 각각.

[0560] 일부 구현예에서, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 90%의 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 제공된다:

[0561] (a) 서열번호 5 및 7의 각각;

[0562] (b) 서열번호 5 및 29의 각각;

[0563] (c) 서열번호 5 및 31의 각각;

[0564] (d) 서열번호 5 및 33의 각각;

[0565] (e) 서열번호 5 및 35의 각각;

[0566] (f) 서열번호 5 및 37의 각각;

[0567] (g) 서열번호 5 및 39의 각각;

[0568] (h) 서열번호 5 및 41의 각각;

[0569] (i) 서열번호 5 및 43의 각각;

[0570] (j) 서열번호 5 및 45의 각각;

[0571] (k) 서열번호 5 및 47의 각각;

[0572] (l) 서열번호 9 및 7의 각각;

[0573] (m) 서열번호 11 및 7의 각각;

[0574] (n) 서열번호 13 및 7의 각각;

[0575] (o) 서열번호 15 및 7의 각각;

[0576] (p) 서열번호 17 및 7의 각각;

[0577] (q) 서열번호 19 및 7의 각각;

[0578] (r) 서열번호 21 및 7의 각각;

[0579] (s) 서열번호 23 및 7의 각각;

[0580] (t) 서열번호 25 및 7의 각각;

[0581] (u) 서열번호 27 및 7의 각각;

[0582] (v) 서열번호 102 및 7의 각각;

[0583] (w) 서열번호 104 및 7의 각각; 및

[0584] (x) 서열번호 5 및 106의 각각.

[0585] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 5, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 102 및 104로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 7, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47 및 106으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다.

[0586] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 5, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 102 및 104로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 90%의 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 7, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47 및 106으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 90%의 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다.

[0587] 일부 구현예에서, 인간 CD137에 특이적으로 결합하며, 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX (서열번호 126)를 갖는 중쇄 CDR3을 포함하는 항CD137 항체가 본원에 제공되며, 여기서 X는 임의의 아미노산이다. 일부 구현예에서, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산이다. 일부 구현예에서, 서열번호 126의 잔기 D95, L100, Y100E, Y100G, 및

/또는 Y100H의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합의 손실을 초래한다.

[0588] 일부 구현예에서, 인간 CD137에 특이적으로 결합하며, 아미노산 서열 DXPFXLDXXYYYYYX (서열번호 127)를 갖는 중쇄 CDR3을 포함하는 항CD137 항체가 본원에 제공되며, 여기서 X는 임의의 아미노산이다. 일부 구현예에서, 서열번호 126의 잔기 F98, D100A, Y100D, 및/또는 Y100F 및/또는 Y100H의 알라닌으로의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합의 손실을 초래한다. 일부 구현예에서, 서열번호 126의 잔기 F98, D100A, Y100D, 및/또는 Y100F 및/또는 Y100H의 알라닌을 제외한 임의의 잔기로의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합을 증가시킨다.

[0589] 일부 구현예에서, 인간 CD137에 특이적으로 결합하며, 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$(서열번호 128)을 갖는 중쇄 CDR3을 포함하는 항CD137 항체가 본원에 제공되며, 여기서 X_1은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산이다. 일부 구현예에서, X_2는 프롤린이고, X_3은 페닐알라닌 또는 트립토판이고, X_5는 아스파르트산 또는 글루탐산이고, X_8은 티로신이며, X_9는 티로신이다.

[0590] 특정 표적(예: CD137)에 대한 결합에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 중쇄 CDR3 내의 아미노산 잔기의 역할은 당업자에게 공지된 방법에 의해 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, 알라닌 스캐닝을 사용하는 초기 분석을 완료하여 항원 결합을 위한 중요 잔기를 결정한다. 본원에 기술된 바와 같이, 알라닌 스캐닝은 주어진 단백질 또는 폴리펩티드의 안정성 또는 기능(들)(예: 결합 친화도)에 대한 특정 야생형 잔기의 기여도를 결정하는 데 사용되는 기술이다. 상기 기술은 폴리펩티드 내의 야생형 잔기를 알라닌 잔기로 치환하는 단계, 이어서 알라닌-치환된 유도체 또는 돌연변이체 폴리펩티드의 안정성 또는 기능(들)(예: 결합 친화도)을 평가하는 단계, 및 야생형 폴리펩티드와 이를 비교하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 중요하지 않은 것으로 식별된 잔기를 추가로 평가하여 항원에 대한 항체의 결합을 조절(예: 결합 증가 또는 감소)한다. 이러한 분석의 비제한적인 예는 돌연변이 심층 스캐닝(deep mutational scanning)이다. 이 방법은 많은 수의 돌연변이를 평가할 수 있게 한다. 일부 구현예에서, 중쇄 CDR3 내의 각각의 아미노산 잔기가 (알라닌을 제외한) 모든 아미노산 잔기로 돌연변이되고, 그 결합이 평가된다. 아미노산 잔기 돌연변이의 영향을 분석하기 위한 다른 방법은 당업계에 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 이들 방법을 사용해 인간 CD137에 결합함에 있어서 모든 중쇄 및 경쇄 CDR 내의 잔기의 역할을 평가한다.

[0591] *예시적인 CD137 결합 항체*

[0592] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 약 40~100 nM(예: 약 40 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 전술한 인간 CD137(예를 들어, K114를 포함함) 상의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX (서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, 전술한 인간 CD137(예를 들어, K114를 포함함) 상의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX (서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 전술한 인간 CD137(예를 들어, K114를 포함함) 상의 에피토프와 결합하고, 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX (서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, 전술한 인간 CD137(예를 들어, K114를 포함함) 상의 에피토프에 결합하며, 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX (서열번호 126)를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다.

[0593] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0594] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0595] (ii) 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하며, 여기서 X_1은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고,

X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산이다.

[0596] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0597] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0598] (ii) 서열번호 3의 하나 이상의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 결합한다.

[0599] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0600] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0601] (ii) 서열번호 3의 하나 이상의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 결합하고;

[0602] (iii) 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하거나(X는 임의의 아미노산임);

[0603] (iv) 이들의 조합이다.

[0604] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0605] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0606] (ii) 서열번호 3의 하나 이상의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 결합하고;

[0607] (ii) 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하거나($X_1$은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산임);

[0608] (iv) 이들의 조합이다.

[0609] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0610] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0611] (ii) 서열번호 3의 하나 이상의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 특이적으로 결합하고;

[0612] (iii) 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다(X는 임의의 아미노산임).

[0613] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0614] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0615] (ii) 서열번호 3의 하나 이상의 잔기 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 인간 CD137 상의 에피토프에 결합하고;

[0616] (ii) 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다($X_1$은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산임).

[0617] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0618] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0619] (ii) 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 에피

토프에 결합한다.

[0620] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0621] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0622] (ii) 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 에피토프에 결합하고;

[0623] (iii) 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하거나(X는 임의의 아미노산임);

[0624] (iv) 이들의 조합이다.

[0625] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0626] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0627] (ii) 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 에피토프에 결합하고;

[0628] (ii) 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하거나($X_1$은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산임);

[0629] (iv) 이들의 조합이다.

[0630] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0631] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0632] (ii) 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 에피토프에 결합하고;

[0633] (iii) 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다(X는 임의의 아미노산임).

[0634] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0635] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0636] (ii) 서열번호 3의 아미노산 위치 111 내지 135에 상응하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 서열을 포함하는 에피토프에 결합하고;

[0637] (ii) 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다($X_1$은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산임).

[0638] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0639] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도로 인간 CD137에 결합하고;

[0640] (ii) (서열번호 3의 아미노산 잔기 111 내지 114에 상응하는) ELTK를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0641] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0642] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0643] (ii) (서열번호 3의 아미노산 잔기 111 내지 114에 상응하는) ELTK를 포함하는 에피토프에 결합하고;

[0644] (iii) 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하거나(X는 임의의 아미노산임);

[0645] (iv) 이들의 조합이다.

[0646] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0647] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0648] (ii) (서열번호 3의 아미노산 잔기 111 내지 114에 상응하는) ELTK를 포함하는 에피토프에 결합하고;

[0649] (ii) 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하거나($X_1$은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산임);

[0650] (iv) 이들의 조합이다.

[0651] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0652] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0653] (ii) (서열번호 3의 아미노산 잔기 111 내지 114에 상응하는) ELTK를 포함하는 에피토프에 결합하고;

[0654] (iii) 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다(X는 임의의 아미노산임).

[0655] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는

[0656] (i) 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이의) 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[0657] (ii) (서열번호 3의 아미노산 잔기 111 내지 114에 상응하는) ELTK를 포함하는 에피토프에 결합하고;

[0658] (ii) 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다($X_1$은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산임).

[0659] 일부 구현예에서, 전술한 항CD137 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함한다:

[0660] (a) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열; 및

[0661] (b) 서열번호 51, 108 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열.

[0662] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 4 및 101로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다.

[0663] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0664] (a) 서열번호 4 및 6의 각각; 및

[0665] (b) 서열번호 101 및 6의 각각.

[0666] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0667] (a) 서열번호 4 및 6의 각각;

[0668] (b) 서열번호 101 및 6의 각각; 및

[0669] (c) 서열번호 26 및 6의 각각.

[0670] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0671] (a) 서열번호 5 및 7의 각각; 및

[0672] (b) 서열번호 102 및 7의 각각.

[0673] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0674] (a) 서열번호 5 및 7의 각각;

[0675] (b) 서열번호 102 및 7의 각각; 및

[0676] (c) 서열번호 27 및 7의 각각.

[0677] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 4 및 101로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0678] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 4, 26 및 101로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0679] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 5 및 102로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 90% 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 6의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 90% 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다.

[0680] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 5, 27 및 102로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 90% 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 7의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 90% 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다.

[0681] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0682] (a) 서열번호 4 및 6의 각각; 및

[0683] (b) 서열번호 101 및 6의 각각.

[0684] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0685] (a) 서열번호 4 및 6의 각각;

[0686] (b) 서열번호 101 및 6의 각각; 및

[0687] (c) 서열번호 26 및 6의 각각.

[0688] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열과 적어도 90% 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0689] (a) 서열번호 5 및 7의 각각; 및

[0690] (b) 서열번호 102 및 7의 각각.

[0691] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열과 적어도 90% 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다:

[0692] (a) 서열번호 5 및 7의 각각;

[0693] (b) 서열번호 102 및 7의 각각; 및

[0694] (c) 서열번호 27 및 7의 각각.

[0695] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 적어도 mAb1(즉, 서열번호 4와 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체), mAb8(즉, 서열번호 101과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체) 또는

mAb10(즉, 서열번호 26과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)의 기능적 특성을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항체의 기능적 특성은: CD137의 이량체화의 유도 또는 강화; CD137의 다량체화의 유도 또는 강화; CD137 매개 T 세포 활성화의 유도 또는 강화; CD137 매개 세포독성 T 세포 반응의 유도 또는 강화; CD137 매개 T 세포 증식의 유도 또는 강화; CD137 매개 사이토카인 생성의 유도 또는 강화; 간 내 및/또는 비장 내 T 세포 활성화 및/또는 T 세포 증식의 유도 또는 강화의 결여; 및 종양 성장의 감소 또는 억제를 포함하나 이들로 한정되지는 않는다.

[0696] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 mAb1(즉, 서열번호 4와 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체), mAb8(즉, 서열번호 101과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체) 또는 mAb10(즉, 서열번호 26과 6의 중쇄 및 경쇄 가변 서열을 각각 포함하는 항체)와 적어도 동등한 평형 해리 상수(K_D)로 인간 CD137에 결합한다.

[0697] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 인간 IgG1 중쇄 불변 영역 또는 인간 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 인간 야생형 IgG1 중쇄 불변 영역 또는 인간 야생형 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 서열 번호 1에 제시된 것과 같은 인간 야생형 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 돌연변이체 IgG1 중쇄 불변 영역 또는 돌연변이체 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 돌연변이체 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함하되, 돌연변이체 IgG4 중쇄 불변 영역은 잔기 Ser228에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 잔기 Ser228에서의 아미노산 치환은 S228P이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 C-말단 리신 잔기가 제거된 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 C-말단 리신 잔기가 제거되고 S228P 아미노산 치환이 포함된 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 서열 번호 2에 제시된 것과 같은 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함한다.

[0698] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 서열번호 129 및 133에 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 서열번호 130 및 133에 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 서열번호 131 및 133에 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 서열번호 132 및 133에 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함한다.

[0699] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 서열번호 129 및 133에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도, 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 서열번호 130 및 133에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도, 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 서열번호 131 및 133에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도, 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 서열번호 132 및 133에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도, 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함한다.

[0700] *CD137 결합 항체의 특징 분석 및 기능*

[0701] I. 친화도

[0702] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 항원 결합 분석에 의해 결정했을 때, 약 40~100 nM(예: 약 40 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(KD)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 항원 결합 분석에 의해 결정했을 때, 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(KD)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 항원 결합 분석에 의해 결정했을 때, 약 45~95 nM, 50~90 nM, 55~85 nM, 60~80 nM, 65~75 nM, 55~75 nM, 40~70 nM, 50~80 nM 또는 60~90 nM의 친화도(KD)로 인간 CD137에 결합한다.

[0703] 일부 구현예에서, 항원 결합 분석은 CD137 폴리펩티드에 대한 항CD137 항체의 결합 친화도를 결정한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 분석은 표면 플라스몬 공명이다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 표면 플라스몬 공명을 사용해 결정했을 때, 약 40~100 nM(예: 약 40 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(KD)로 인간

CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 표면 플라스몬 공명을 사용해 결정했을 때, 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(KD)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 표면 플라스몬 공명을 사용해 결정했을 때, 약 45~95 nM, 50~90 nM, 55~85 nM, 60~80 nM, 65~75 nM, 55~75 nM, 40~70 nM, 50~80 nM 또는 60~90 nM의 친화도(KD)로 인간 CD137에 결합한다.

[0704] "표면 플라스몬 공명"이란 용어는, 예를 들어 BIAcore 시스템(Pharmacia Biosensor AB, 스웨덴 웁살라 및 뉴저지주 피스카타웨이 소재)을 사용하여, 바이오센서 매트릭스 내에서 단백질 농도의 변화를 검출함으로써 실시간 생체특이적 상호작용의 분석을 가능하게 하는 광학 현상을 포함한다. 추가의 설명에 관해서는, 문헌[Joensson, U. 등의 (1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26; Joensson, U. 등의 (1991) Biotechniques 11:620-627; Johnsson, B. 등의 (1995) J. Mol. Recognit. 8:125-131; 및 Johnnson, B. 등의 (1991) Anal. Biochem. 198:268-277]을 참조한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 분석은 바이오층 간섭법(BLI)이다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 바이오층 간섭법을 사용해 결정했을 때, 약 40~100 nM(예: 약 40 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(KD)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 바이오층 간섭법을 사용해 결정했을 때, 약 30~100 nM(예: 약 30 nM과 약 100 nM 사이)의 친화도(KD)로 인간 CD137에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 바이오층 간섭법을 사용해 결정했을 때, 약 45~95 nM, 50~90 nM, 55~85 nM, 60~80 nM, 65~75 nM, 55~75 nM, 40~70 nM, 50~80 nM 또는 60~90 nM의 친화도(KD)로 인간 CD137에 결합한다.

[0705] "바이오층 간섭법(biolayer interferometry)" 또는 "BLI"라는 용어는 이의 광학층 검출 표면의 두께에 있어서 나노미터보다 작은 변화의 측정을 가능하게 하는 광학 현상을 포함한다. 일부 구현예에서, 생체분자는 센서 표면에 결합하여 광학층의 두께를 변화시킨다. 광학층 두께 변화의 크기는 결합 분자의 질량 또는 분자량에 비례한다. 일부 구현예에서, CD137은 항체에 의한 결합을 측정하도록 센서 표면에 고정되며, 여기서 결합은 분자량을 변화시켜 광학층에서 이에 상응하는 두께 변화를 생성한다. 일부 구현예에서, BLI는 OCTET 시스템(ForteBio)으로 수행된다.

[0706] II 면역 세포 효과

[0707] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 사이토카인 분석에 의해 결정했을 때, 면역 세포에 의해 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 사이토카인 분석은 항CD137 항체와 접촉된 면역 세포로부터 분비된 적어도 하나의 사이토카인의 양을 결정하는데, 여기서 적어도 하나의 사이토카인의 양의 증가는 항CD137 항체에 의해 사이토카인 생성이 유도 또는 강화됨을 나타낸다. 일부 구현예에서, 사이토카인 생성의 증가는 대조군 항체(예를 들어, CD137에 결합하지 않고 사이토카인 생성을 유도하지 않는 항체)와 비교해 적어도 1배, 2배, 3배, 4배 또는 5배 더 많다.

[0708] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 사이토카인 분석에 의해 결정했을 때, 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키는데, 여기서 사이토카인 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0709] (i) 면역 세포를 항CD137 항체와 접촉시키는 단계; 및

[0710] (ii) 면역 세포에 의해 생성된 적어도 하나의 사이토카인의 양을 결정하되,

[0711] 적어도 하나의 사이토카인의 양의 증가는 항CD137 항체가 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키는 것임을 나타내는 단계.

[0712] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 사이토카인 분석에 의해 결정했을 때, 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키는데, 여기서 사이토카인 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0713] (i) 면역 세포를 항CD137 항체와 접촉시키는 단계; 및

[0714] (ii) 면역 세포에 의해 생성된 적어도 하나의 사이토카인의 양을 결정하는 단계; 및

[0715] (iii) 면역 세포에 의해 생성된 적어도 하나의 사이토카인의 양을 기준 면역 세포로부터 분비된 양과 비교하되,

[0716] 기준 면역 세포는 대조군 항체와 접촉되고, 기준 면역 세포에 비해 면역 세포로부터 생성된 적어도 하나의 사이토카인의 양의 증가는 인간 CD137 매개 사이토카인 생성이 유도 또는 강화되는 것임을 나타내는 단계.

[0717] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 사이토카인 분석에 의해 결정했을 때, 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키는데, 여기서 사이토카인 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0718] (i) 면역 세포를 항CD137 항체와 접촉시키는 단계;

[0719] (ii) 면역 세포에 의해 생성된 적어도 하나의 사이토카인의 양을 결정하는 단계; 및

[0720] (iii) 면역 세포에 의해 생성된 적어도 하나의 사이토카인의 양을 기준 면역 세포로부터 분비된 양 또는 수준과 비교하되,

[0721] 기준 면역 세포는 항CD137 항체와 접촉되고, 기준 면역 세포에 비해 면역 세포로부터 생성된 적어도 하나의 사이토카인의 양의 증가는 면역 세포에 의한 인간 CD137 매개 사이토카인 생성이 유도 또는 강화되는 것임을 나타내는 단계.

[0722] 일부 구현예에서, 적어도 하나의 사이토카인은 IL-2, IFNɣ, TNFα, IL-13, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 IL-2이다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 IFNɣ이다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 TNFα이다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 IL-13이다. 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 IL-2 생성을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 TNFα 생성을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 IL-13 생성을 유도하거나 강화시킨다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 TNFα이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-13이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IFN ɣ 이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2 및 TNFα이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2 및 IL-13이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2 및 IFN ɣ 이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 TNFα 및 IL-13이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 TNFα 및 IFN ɣ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-13 및 IFN ɣ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2, TNFα 및 IL-13이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2, TNFα 및 IFNɣ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IFNɣ, TNFα 및 IL-13이다.

[0723] 일부 구현예에서, 면역 세포는 T 세포이다. 일부 구현예에서, 기준 면역 세포는 T 세포이다. 일부 구현예에서, T 세포는 CD8+ T 세포이다.

[0724] 일부 구현예에서, 사이토카인 분석은 사이토카인 비드 어레이 분석법이다. 사이토카인 비드 어레이 분석법은 샘플에서 다수의 사이토카인의 다중 분석물 유세포 계측 결정을 가능하게 하는 비드 기반 면역 분석법이다. 크기 또는 색상이 다른 미소구체의 사용은 사이토카인 비드 어레이 분석의 기초로서, 각각의 미세구체(또는 "비드")는 항원(예를 들어, 사이토카인)에 특이적으로 결합하는 항체로 코팅된다. 그런 다음, 항체로 코팅된 비드를 검출기 항체와 함께 샘플에 도입한다. 그런 다음, 비드:항원:검출기 항체의 복합체를 유세포 분석에 의해 분석한다. 상업적으로 입수 가능한 사이토카인 비드 어레이 분석법은 BD™ Cytometric 비드 어레이 시스템(BD Biosciences) 및 Luminex® Assays(R&D Systems)를 포함하나 이들로 한정되지는 않는다. 일부 구현예에서, 인간 CD137 매개 사이토카인 생성의 유도 또는 강화는 사이토카인 비드 어레이 분석법에 의해 결정된다. 일부 구현예에서, 인간 CD137 매개 사이토카인 생성의 유도 또는 강화는 Luminex® Assay에 의해 결정된다.

[0725] 일부 구현예에서, 사이토카인 분석은 Meso Scale Discovery(MSD) 분석(Meso Scale Diagnostics; 메릴랜드주 록빌 소재)이다. MSD 분석은 관심 항원(예: 사이토카인)에 특이적으로 결합하는 전기화학발광-표지된 항체의 검출에 기초한, 상업적으로 입수 가능한 분석법이다. MSD 분석법은 생물학적 시약(예: 사이토카인에 특이적인 포획 항체)을 부착할 수 있는 마이크로플레이트 웰의 바닥에 높은 결합 탄소 전극을 포함한다. MSD 분석법은 검출 항체에 접합되는 전기화학발광 표지를 사용한다. 샘플을 마이크로플레이트 웰에 첨가하고 MSD 기기로 플레이트 전극에 전기를 인가하여 전기 화학발광 표지에 의한 발광을 유도한다. 광 강도를 측정하여 샘플 내의 분석물(예를 들어, 사이토카인)을 정량화한다. 일부 구현예에서, 인간 CD137 매개 사이토카인 생성의 유도 또는 강화는 Meso Scale Discovery (MSD) 분석에 의해 결정된다.

[0726] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 활성화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, T 세포 활성화 분석은 본원에 기술된 항CD137 항체와 접촉된 T 세포로부터 분비된 적어도 하나의 사이토카인의 양을 결정하는데, 적어도 하나의 사이토카인의 양의 증가는 T 세포 활성화의 유도 또는 강화를 나타낸다. 일부 구현예에서, 사이토카인 생성의 증가는 대조군 항체(예를 들어, CD137에 결합하지 않고 사이토카인 생성을 유도하지 않는 항체)와 비교해 적어도 1배, 2배, 3배, 4배 또는 5배 더 많다.

[0727] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는데, 여기서 T 세포 활성화 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0728] (i) 대상체로부터 T 세포를 단리하는 단계;

[0729] (ii) T 세포를 항CD137 항체와 접촉시키는 단계; 및

[0730] (iii) 단계 (ii) 이후에 T 세포에 의해 분비된 적어도 하나의 사이토카인의 양을 결정하되,

[0731] 적어도 하나의 사이토카인의 수준의 증가는 항CD137 항체가 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는 것임을 나타내는 단계.

[0732] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는데, 여기서 T 세포 활성화 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0733] (i) 대상체로부터 T 세포를 단리하는 단계;

[0734] (ii) T 세포를 항CD137 항체와 접촉시키는 단계;

[0735] (iii) T 세포에 의해 분비된 적어도 하나의 사이토카인의 양을 결정하는 단계; 및

[0736] (iv) T 세포에 의해 생성된 적어도 하나의 사이토카인의 양을 기준 T 세포로부터 분비된 양 또는 수준과 비교하되,

[0737] 기준 T 세포는 항CD137 항체와 접촉되지 않고, 기준 T 세포에 비해 T 세포로부터 생성된 적어도 하나의 사이토카인의 양의 증가는 항CD137 항체가 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는 것임을 나타내는 단계.

[0738] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는데, 여기서 T 세포 활성화 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0739] (i) 대상체로부터 T 세포를 단리하는 단계;

[0740] (ii) T 세포를 항CD137 항체와 접촉시키는 단계;

[0741] (iii) T 세포에 의해 분비된 적어도 하나의 사이토카인의 양을 결정하는 단계; 및

[0742] (iv) T 세포에 의해 생성된 적어도 하나의 사이토카인의 양을 기준 T 세포로부터 분비된 양과 비교하되,

[0743] 기준 T 세포는 기준 항체와 접촉되고, 기준 T 세포에 비해 T 세포로부터 생성된 적어도 하나의 사이토카인의 양의 증가는 항CD137 항체가 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는 것임을 나타내는 단계.

[0744] 일부 구현예에서, T 세포 활성화 분석은 본원에 기술된 항CD137 항체와 접촉 후 T 세포에 의해 분비된 적어도 하나의 사이토카인의 수준을 결정하는 단계를 포함하며, 여기서 적어도 하나의 사이토카인은 IL-2, IFNγ, TNFα 및 IL-13으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 IL-2이다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 IFNγ이다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 TNFα이다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 IL-13이다. 일부 구현예에서, T 세포 활성화 분석은 적어도 하나의 사이토카인의 양을 결정하기 위한 사이토카인 분석, 예컨대 본원에 기술된 것들을 포함한다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 TNFα이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-13이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IFNγ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2 및 TNFα이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2 및 IL-13이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2 및 IFNγ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 TNFα 및 IL-13이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 TNFα 및 IFNγ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-13 및 IFNγ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2, TNFα 및 IL-13이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IL-2, TNFα 및 IFNγ이다. 일부 양태에서, 생성된 사이토카인은 IFNγ, TNFα 및 IL-13이다.

[0745] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는데, 여기서 T 세포 활성화 분석은 T 세포 상에서 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 검출하는 단계를 포함하되, 적어도 하나의 활성화 마커의 발현 수준의 증가는 T 세포 활성화의 유도 또는 강화를 나타낸다. 일부 구현예에서, "표면 발현의 증가(increase in surface expression)"는 대조군 항체가 존재하거나 항체의 부재한 경우의 표면 발현에 비해 표면 발현이 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 증가하는 것을 지칭한다.

[0746] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 시험관 내 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는데, 여기서 T 세포 활성화 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0747] (i) 대상체로부터 T 세포를 단리하는 단계;

[0748] (ii) T 세포를 항CD137 항체와 접촉시키는 단계; 및

[0749] (iii) T 세포 상에서 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 검출하되,

[0750] 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현의 증가는 항CD137 항체가 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는 것임을 나타내는 단계.

[0751] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는데, 여기서 T 세포 활성화 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0752] (i) 대상체로부터 T 세포를 단리하는 단계;

[0753] (ii) T 세포를 항CD137 항체와 접촉시키는 단계;

[0754] (iii) T 세포 상에서 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 결정하는 단계; 및

[0755] (iv) T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현과 기준 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 비교하되,

[0756] 기준 T 세포는 항CD137 항체와 접촉되지 않고, 기준 T 세포에 비해 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현의 증가는 항CD137 항체가 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는 것임을 나타내는 단계.

[0757] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는데, 여기서 T 세포 활성화 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0758] (i) 대상체로부터 T 세포를 단리하는 단계;

[0759] (ii) T 세포를 항CD137 항체와 접촉시키는 단계;

[0760] (iii) T 세포 상에서 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 결정하는 단계;

[0761] (iv) T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현과 기준 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 비교하되,

[0762] 기준 T 세포는 항CD137 항체와 접촉되고, 기준 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현에 비해 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현의 증가는 항CD137 항체가 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는 것임을 나타내는 단계.

[0763] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 생체 내 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는데, 여기서 T 세포 활성화 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0764] (i) 항CD137 항체를 대상체에게 투여하는 단계;

[0765] (ii) 대상체로부터 T 세포를 단리하는 단계; 및

[0766] (iii) T 세포 상에서 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 검출하되,

[0767] 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현의 증가는 항CD137 항체가 CD137 매개 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는 것임을 나타내는 단계.

[0768] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는데, 여기서 T 세포 활성화 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0769] (i) 항CD137 항체를 대상체에게 투여하는 단계;

[0770] (ii) 대상체로부터 T 세포를 단리하는 단계;

[0771] (iii) T 세포 상에서 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 결정하는 단계; 및

[0772] (iv) T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현과 기준 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 비교하되,

[0773] 기준 T 세포는 항CD137 항체가 투여되지 않은 대상체로부터 단리되고, 기준 T 세포에 비해 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현의 증가는 항CD137 항체가 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는 것임을

나타내는 단계.

[0774] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는데, 여기서 T 세포 활성화 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0775] (i) 항CD137 항체를 대상체에게 투여하는 단계;

[0776] (ii) 대상체로부터 T 세포를 단리하는 단계;

[0777] (iii) T 세포 상에서 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 결정하는 단계; 및

[0778] (iv) T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현과 기준 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 비교하되,

[0779] 기준 T 세포는 대조군 항체와 접촉된 대상체로부터 단리되고, 기준 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현에 비해 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현의 증가는 항CD137 항체가 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는 것임을 나타내는 단계.

[0780] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 생체 내 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, 간 내 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키지 않는데, 여기서 T 세포 활성화 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0781] (i) 항CD137을 대상체에게 투여하는 단계;

[0782] (ii) 대상체의 간으로부터 T 세포를 단리하는 단계;

[0783] (iii) T 세포 상에서 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 검출하는 단계; 및

[0784] (iv) T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현과 기준 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 비교하되,

[0785] 기준 T 세포는 항CD137 항체가 투여되지 않은 대상체로부터 단리되고, 임의로, 기준 T 세포는 대조군 항체가 투여된 대상체로부터 단리되며, 기준 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현에 비해 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현 증가의 부재는 항CD137 항체가 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는 것임을 나타내는 단계.

[0786] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 생체 내 T 세포 활성화 분석에 의해 결정했을 때, 비장 내 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키지 않는데, 여기서 T 세포 활성화 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0787] (i) 항CD137을 대상체에게 투여하는 단계;

[0788] (ii) 대상체의 비장으로부터 T 세포를 단리하는 단계;

[0789] (iii) T 세포 상에서 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 검출하는 단계; 및

[0790] (iv) T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현과 기준 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현을 비교하되,

[0791] 기준 T 세포는 항CD137 항체가 투여되지 않은 대상체로부터 단리되고, 임의로, 기준 T 세포는 대조군 항체가 투여된 대상체로부터 단리되며, 기준 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현에 비해 T 세포 상에서의 적어도 하나의 활성화 마커의 표면 발현 증가의 부재는 항CD137 항체가 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키는 것임을 나타내는 단계.

[0792] 일부 구현예에서, "유도하거나 강화시키지 않는(does not incude or enhance)"은 활성(예: T 세포 활성화)의 부재, 또는 기준 항체에 의한 증가에 비해 활성 증가의 결여를 지칭하도록 의도된다.

[0793] 일부 구현예에서, T 세포 활성화 마커의 표면 발현은 항체 부재 시의 표면 발현과 동등하다. 일부 구현예에서, T 세포 활성화 마커의 표면 발현은 기준 항체 존재 시의 표면 발현보다 적으며, 항체 부재 시의 표면 발현과 비교해 표면 발현을 적어도 1배, 5배, 10배, 50배, 또는 100배 더 높게 유도하거나 강화시킨다.

[0794] 일부 구현예에서, 적어도 하나의 활성화 마커는 CD25, CD69 및 CD40L로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 활성화 마커는 CD25이다.

[0795] 일부 구현예에서, T 세포는 종양을 가진 대상체로부터 단리된다. 일부 구현예에서, T 세포는 종양으로부터 단리

된다. 일부 구현예에서, 대조군 항체는 이소형 대조군 항체이다.

[0796] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 면역 세포 침윤 분석에 의해 결정했을 때, 하나 이상의 면역 세포가 종양 미세환경 내로 침윤하는 것을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 면역 세포 침윤 분석에 의해 결정했을 때, 하나 이상의 면역 세포가 종양 미세환경 내로 침윤하는 것을 감소시킨다.

[0797] 일부 구현예에서, 면역 세포 침윤 분석은 종양에서 하나 이상의 면역 세포 마커를 발현하는 면역 세포의 양을 결정한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 면역 세포 마커는 항체로 표지된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 면역 세포 마커는 CD45, CD25, FOXP3, CD4, CD8, F4/80, CD11b, TIGIT 및 PD-1로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 종양에서 하나 이상의 면역 세포 마커를 발현하는 면역 세포의 양은 유세포 분석에 의해 결정된다. 유세포 분석에 의해, 하나 이상의 면역 세포 마커를 발현하는 면역 세포를 정량화하는 방법은 당업계에 공지되어 있다.

[0798] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 면역 세포 침윤 분석에 의해 결정했을 때, 기준 항체에 비해 하나 이상의 면역 세포가 종양 미세환경 내로 침윤하는 것을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 기준 항체는 항CD137 항체와 동일한 이소형을 포함하는 항체이며, CD137에 특이적으로 결합하지는 않는다. 일부 구현예에서, 기준 항체는 항CD137 항체와 동일한 이소형을 포함하는 항체이며, CD137에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 기준 항체는 항CD137 항체와 상이한 이소형을 포함하는 항체이며, CD137에 특이적으로 결합하지는 않는다. 일부 구현예에서, 기준 항체는 항CD137 항체와 상이한 이소형을 포함하는 항체이며, CD137에 특이적으로 결합한다.

[0799] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 면역 세포 침윤 분석에 의해 결정했을 때, CD45를 발현하는 면역 세포가 대상체에서 종양 미세환경 내로 침윤하는 것을 증가시키는데, 상기 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0800] (i) 항CD137 항체를 종양을 가진 대상체에게 투여하는 단계;

[0801] (ii) 종양의 샘플을 수득하는 단계;

[0802] (iii) 샘플을 CD45에 특이적으로 결합하는 형광 표지된 검출 항체와 접촉시키되, 검출 항체는 CD45를 발현하는 면역 세포를 형광 표지하는 단계; 및

[0803] (iv) CD45를 발현하는 형광 표지된 면역 세포의 양을 유세포 계측에 의해 결정하되,

[0804] CD45를 발현하는 형광 표지된 면역 세포의 양이 종양에서 증가한 것은, 면역 세포가 종양 미세환경 내로 침윤하는 것을 항CD137 항체가 유도하거나 강화시키는 것임을 나타내는 단계. 일부 구현예에서, CD45를 발현하는 면역 세포의 양의 증가는 종양 미세환경 내 총 세포의 적어도 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 80%이다.

[0805] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 면역 세포 침윤 분석에 의해 결정했을 때, 하나 이상의 면역 세포가 종양 미세환경 내로 침윤하는 것을 감소시키거나 억제한다. 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 면역 세포 침윤 분석에 의해 결정했을 때, 기준 항체에 비해 하나 이상의 면역 세포가 종양 미세환경 내로 침윤하는 것을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 기준 항체는 항CD137 항체와 동일한 이소형을 포함하는 항체이며, CD137에 특이적으로 결합하지는 않는다. 일부 구현예에서, 기준 항체는 항CD137 항체와 동일한 이소형을 포함하는 항체이며, CD137에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 기준 항체는 항CD137 항체와 상이한 이소형을 포함하는 항체이며, CD137에 특이적으로 결합하지는 않는다. 일부 구현예에서, 기준 항체는 항CD137 항체와 상이한 이소형을 포함하는 항체이며, CD137에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 면역 세포의 감소는 종양 미세환경 내 총 세포의 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% 또는 5% 미만이다.

[0806] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 면역 세포 침윤 분석에 의해 결정했을 때, 종양 관련 대식 세포(tumor associated macrophage)가 대상체에서 종양 미세환경 내로 침윤하는 것을 감소시키는데, 상기 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0807] (i) 종양의 샘플을 수득하는 단계;

[0808] (ii) 샘플을 종양 관련 대식 세포를 표지하는 하나 이상의 항체와 접촉시키되, 하나 이상의 항체는 F4/80, CD11b, CD45 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 면역 세포 마커에 특이적으로 결합하는 단계; 및

[0809] (iii) 표지된 종양 관련 대식 세포의 양을 유세포 계측에 의해 결정하는 단계. 일부 구현예에서, 종양 관련 대식 세포는 종양 미세환경 내 면역 세포의 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 또는 5% 미만이다. 일부 구현예

에서, 종양 관련 대식 세포는 F4/80, CD11b 및 CD45를 발현한다.

[0810] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 면역 세포 침윤 분석에 의해 결정했을 때, T 조절(Treg) 세포가 대상체에서 종양 미세환경 내로 침윤하는 것을 감소시키는데, 상기 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0811] (i) 종양의 샘플을 수득하는 단계;

[0812] (ii) 샘플을 종양 관련 대식 세포를 표지하는 하나 이상의 항체와 접촉시키되, 하나 이상의 항체는 CD25, FOXP-3, CD4 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 면역 세포 마커에 특이적으로 결합하는 단계; 및

[0813] (iii) 표지된 Treg 세포의 양을 유세포 계측에 의해 결정하는 단계. 일부 구현예에서, Treg 세포는 종양 미세환경 내 CD4+ T 세포의 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% 또는 5% 미만이다. 일부 구현예에서, Treg 세포는 CD4, FOXP-3 및 CD25를 발현한다.

[0814] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 T 세포 기능 소실 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 기능 소실로부터 T 세포를 보호하고/하거나 T 세포 기능 소실을 역전시킨다. 기능 소실된 T 세포는 이들의 기저 분자 메커니즘에 기초하여 아네르기(anergy) 및 세포 노화(senescence)와 같은 다른 T 세포 기능 장애와 구별될 수 있다(Crespo 등의 (2013) Curr Opin Immunol 25(2):241-221 참조). 아네르기는 공동자극 신호의 부재로 인해 프라이밍 도중에 발생하고, 세포 노화는 광범위한 증식 후의 성장 정지인 반면, 기능 소실된 T 세포는, 초기에 T 세포 효과기 기능을 얻어 이를 제공하였지만 종양에서 발생하는 지속성 항원 및 염증 매개체 둘 다로부터의 연속적인 T 세포 수용체(TCR) 자극으로 인해 T 세포 효과기 기능의 점진적 저하를 나타내는 T 세포로부터 생성된다(Wherry & Kurachi (2015) Nat Rev Immunol 15(8):486-99 참조). T 세포 기능 소실의 특징은, 생체 내 및/또는 생체 외 T 세포 기능의 연속적인 저하, 다수의 억제 수용체(IR)(예를 들어, PD-1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, CD244, CD160, TIGIT)의 발현 증가, 효과기 사이토카인 분비(예: IL-2, 인터페론 감마(IFNɣ), 종양 괴사인자 알파(TNFα))의 진행성 손실 또는 감소, CC 케모카인(β-케모카인) 생성의 손실 또는 감소, IL-7 및 IL-15에 대한 반응성 부족, 증식 능력의 손실 또는 감소, 생체 내 및/또는 생체 외 세포 용해 활성의 손실 또는 감소, 세포 대사의 변경, 및 기능 소실되지 않은 T 세포 대비 상이한 전사 프로파일을 포함하지만 이들로 한정되지는 않는다. 심각한 기능 소실 T 세포는 결실로 인해 사멸할 수 있다(Yi 등, (2010) Immunology 129(4):474-481 참조).

[0815] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 T 세포 기능 소실 분석에 의해 결정했을 때, T 세포 기능 소실로부터 T 세포를 보호하고/하거나 T 세포 기능 소실을 역전시키는데, 여기서 T 세포 기능 소실 분석은, 본원에 기술된 항CD137 항체로 치료된 T 세포로부터 분비된 하나 이상의 효과기 사이토카인의 양 또는 수준을 결정하고, 하나 이상의 효과기 사이토카인의 양 또는 수준은 T 세포 기능 소실로부터의 보호 또는 이의 역전을 나타낸다. 일부 구현예에서, T 세포 기능 소실 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0816] (i) 대상체(예: 인간 대상체)로부터 T 세포를 단리하는 단계;

[0817] (ii) T 세포를 T 세포 기능 소실을 유도하는 항원과 접촉시키는 단계;

[0818] (iii) T 세포를 항CD137 항체와 접촉시키는 단계;

[0819] (iv) T 세포로부터 분비된 하나 이상의 효과기 사이토카인의 양을 결정하는 단계; 및

[0820] (v) T 세포로부터 분비된 하나 이상의 효과기 사이토카인의 양 또는 수준을 기준 T 세포로부터 분비된 양 또는 수준과 비교하되,

[0821] 기준 T 세포는 T 세포 기능 소실을 유도하는 항원과 접촉되지 않으며, T 세포 및 기준 T 세포로부터 분비된 하나 이상의 효과기 사이토카인의 양 또는 수준의 차이는 T 세포 기능 소실로부터의 보호 또는 이의 역전을 나타내는 단계.

[0822] 일부 구현예에서, 하나 이상의 효과기 사이토카인은 IL-2, IFNɣ, 및 TNFα로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 효과기 사이토카인의 양 또는 수준은 ELISA에 의해 결정된다. 하나 이상의 효과기 사이토카인의 양 또는 수준의 결정에 적합한 ELISA는 당업계에 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 효과기 사이토카인의 양 또는 수준은 Meso Scale Discovery에 의해 결정된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 효과기 사이토카인의 양 또는 수준은 본원에 기술된 사이토카인 생성 분석법 중 어느 하나에 의해 결정된다.

[0823] 기능 소실된 T 세포의 점진적 기능 이상은 IR의 발현을 수반하는데, 이는 표적 세포 상의 리간드와 상호작용할 때 억제 신호를 핵에 전송한다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 T 세포 기능 소실 분

석에 의해 결정했을 때, T 세포 기능 소실로부터 T 세포를 보호하고/하거나 T 세포 기능 소실을 역전시키는데, 여기서 T 세포 기능 소실 분석은, 본원에 기술된 항CD137 항체로 치료된 T 세포 상에서 하나 이상의 억제 수용체의 발현 수준을 결정하고, 하나 이상의 억제 수용체의 발현 수준은 T 세포 기능 소실로부터의 보호 또는 이의 역전을 나타낸다. 일부 구현예에서, T 세포 기능 소실 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0824] (i) 대상체(예: 인간 대상체)로부터 T 세포를 단리하는 단계;

[0825] (ii) T 세포를 T 세포 기능 소실을 유도하는 항원과 접촉시키는 단계;

[0826] (iii) T 세포를 항CD137 항체와 접촉시키는 단계;

[0827] (iv) T 세포 상에서 하나 이상의 억제 수용체의 발현 수준을 결정하는 단계; 및

[0828] (v) T 세포 상의 하나 이상의 억제 수용체의 발현 수준을 기준 T 세포로부터 분비된 양 또는 수준과 비교하되, 기준 T 세포는 T 세포 기능 소실을 유도하는 항원과 접촉되지 않으며, T 세포 및 기준 T 세포 상의 하나 이상의 억제 수용체의 발현 수준의 차이는 T 세포 기능 소실로부터의 보호 또는 이의 역전을 나타내는 단계.

[0829] 일부 구현예에서, 하나 이상의 억제 수용체는 TIGIT 및 PD-1로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 억제 수용체의 발현 수준은 유세포 계측에 의해 결정된다. 유세포 계측에 의해 면역 세포(예를 들어, T 세포) 상의 억제 수용체의 발현 수준을 결정하는 방법은 당업계에 공지되어 있다.

[0830] 일부 구현예에서, 기능 소실된 T 세포의 양은 종양 미세환경에서 총 CD8+ 또는 CD4+ T 세포의 20%, 15%, 10% 또는 5% 미만이다.

[0831] 본원에 기술된 분석법이 '대상체로부터 T 세포를 단리하는 것'을 지칭하는 경우, 분석법은 대상체로부터 이전에 단리된 T 세포 상에서 적절히 수행될 수 있음을 이해해야 한다.

[0832] 본원에 기술된 분석법이 (i) 대상체에게 항CD137 항체를 투여하는 것 및 (ii) 대상체로부터 T 세포를 단리하는 것을 지칭하는 경우, 분석법은 항CD137 항체가 투여된 대상체로부터 이전에 단리된 T 세포 상에서 적절히 수행될 수 있음을 이해해야 한다.

[0833] 본원에 기술된 분석법이 '종양으로부터 샘플을 수득하는 것'을 지칭하는 경우, 분석법은 대상체로부터 이전에 단리된 종양 샘플 상에서 적절히 수행될 수 있음을 이해해야 한다.

[0834] 본원에 기술된 분석법이 (i) 종양을 가진 대상체에게 항CD137 항체를 투여하는 것 및 (ii) 종양으로부터 샘플을 수득하는 것을 지칭하는 경우, 분석법은 항CD137 항체가 투여된 대상체로부터 이전에 단리된 종양 샘플 상에서 적절히 수행될 수 있음을 이해해야 한다.

[0835] III 비리간드 결합

[0836] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 리간드 결합 분석에 의해 결정했을 때, CD137의 비리간드 결합 영역에 결합한다. 리간드 결합 분석(LBA)은 2개의 반응물 분자들(예를 들어, 수용체 및 리간드 폴리펩티드) 간에 발생하는 상호작용의 척도를 제공하는 분석법, 또는 분석 절차이다. 적절하게는, LBA는 2개의 반응물 분자(예를 들어, 수용체 및 리간드 폴리펩티드) 간의 친화도의 정도에 대한 척도를 제공한다. 예를 들어, 일부 구현예에서 리간드 결합 분석은 수용체(예: CD137)에 대한 리간드 분자(예: CD137L)의 결합의 존재, 속도, 정도, 또는 이들의 조합을 결정하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 수용체에 대한 리간드 결합의 존재, 속도 및/또는 정도를 결정하기 위해, 리간드 결합 분석은 리간드:수용체 복합체의 형성을 검출하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 수용체에 대한 리간드 결합의 존재, 속도 및/또는 정도를 결정하기 위해, 리간드 결합 분석은 리간드:수용체 복합체의 해리를 결정하는 단계를 포함한다.

[0837] 일부 구현예에서, 리간드:수용체 복합체의 형성 및/또는 해리는 복합체에서 형광 표지된 리간드를 수용체로 검출함으로써 결정된다. 일부 구현예에서, 리간드:수용체 복합체의 형성 및/또는 해리는 복합체에서 형광 표지된 수용체를 리간드로 검출하고/하거나 그 양을 정량화함으로써 결정된다. 일부 구현예에서, 리간드:수용체 복합체의 형성 및/또는 해리는 리간드 수용체 복합체에 특이적으로 결합하는 형광 표지된 항체를 검출하고/하거나 그 양을 정량화함으로써 결정된다. 형광을 검출하고 정량화하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 형광 편광(FP) 및 형광 이방성(FA)을 포함하지만 이들로 한정되지는 않는다.

[0838] 일부 구현예에서, 리간드:수용체 복합체의 형성 및/또는 해리는 복합체에서 방사성 표지된 리간드를 수용체로 검출하고/하거나 그 양을 정량화함으로써 결정된다. 일부 구현예에서, 리간드:수용체 복합체의 형성 및/또는 해

리는 복합체에서 방사성 표지된 수용체를 리간드로 검출하고/하거나 그 양을 정량화함으로써 결정된다. 일부 구현예에서, 리간드:수용체 복합체의 형성 및/또는 해리는 리간드 수용체 복합체에 특이적으로 결합하는 방사성 표지된 항체를 검출하고/하거나 그 양을 정량화함으로써 결정된다. 방사성을 검출하고 정량화하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 양적 방사성 자가 촬영(quantitative autoradiography) 및 섬광 계수(scintillation counting)를 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.

[0839] 일부 구현예에서, 리간드:수용체 복합체의 형성 및/또는 해리는 복합체에서 생물발광 표지된 리간드를 수용체로 검출하고/하거나 그 양을 정량화함으로써 결정된다. 일부 구현예에서, 리간드:수용체 복합체의 형성 및/또는 해리는 복합체에서 생물발광 표지된 수용체를 리간드로 검출하고/하거나 그 양을 정량화함으로써 결정된다. 일부 구현예에서, 리간드:수용체 복합체의 형성 및/또는 해리는 리간드 수용체 복합체에 특이적으로 결합하는 생물발광 표지된 항체를 검출하고/하거나 그 양을 정량화함으로써 결정된다. 생물발광(bioluminescence)을 검출하고 정량화하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 발광법(luminometry)을 포함하되 이에 한정되지는 않는다.

[0840] 일부 구현예에서, 리간드:수용체 복합체의 형성 및/또는 해리는 전술한 바와 같은 표면 플라스몬 공명 (SPR)에 의해 결정된다.

[0841] 일부 구현예에서, 리간드 결합 분석은 항체의 존재 하에 수용체에 대한 리간드 결합의 존재, 속도 및/또는 정도를 결정함으로써, 수용체에 특이적으로 결합하는 항체(예: 항CD137 항체)가 리간드 수용체 복합체의 형성에 영향을 미치는지 여부를 결정한다. 일부 구현예에서, 수용체(예: CD137)에 특이적으로 결합하여 리간드:수용체 복합체(예: CD137:CD137L 복합체)의 형성을 감소시키거나, 파괴하거나 차단하는 항체(예: 항CD137 항체)는 "리간드 차단 항체"로서 알려져 있다. 일부 구현예에서, "리간드 차단 항체"는 리간드 차단 항체의 부재 시 발생하는 리간드:수용체 복합체(예를 들어, CD137:CD137L 복합체)의 형성과 비교해 리간드:수용체 복합체(예를 들어, CD137:CD137L 복합체)의 형성을 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40% 또는 적어도 50%만큼 감소시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 수용체(예: CD137)에 특이적으로 결합하고 리간드:수용체 복합체(예: CD137:CD137L 복합체)의 형성을 감소, 파괴 또는 차단하지 않는 항체(예: 항CD137 항체)는 "비리간드 차단 항체"로서 지칭된다. 일부 구현예에서, "비리간드 차단 항체"는 비리간드 차단 항체의 부재 시 발생하는 리간드:수용체 복합체(예를 들어, CD137:CD137L 복합체)의 형성과 비교해 리간드:수용체 복합체(예를 들어, CD137:CD137L 복합체)의 형성을 10% 미만, 5% 미만, 2% 미만, 1% 미만 만큼 감소시킬 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 리간드 결합 분석은 수용체에 결합하는 항체를 "리간드 차단 항체" 또는 "비리간드 차단 항체"로서 특징을 분석한다.

[0842] 일부 구현예에서, 리간드 결합 분석은 수용체에 특이적으로 결합하여 리간드:수용체 복합체의 형성을 촉진하는 항체를 특징 분석한다. 일부 구현예에서, 리간드 결합 분석은 수용체에 특이적으로 결합하여 리간드:수용체 복합체의 형성을 안정화하는 항체를 특징 분석한다. 일부 구현예에서, 항체에 의한 리간드:수용체 복합체의 형성 유도 및/또는 안정화는 항체의 작용적 효과에 기여한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 리간드 결합 분석에 의해 결정했을 때, CD137을 효능화한다.

[0843] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 리간드 결합 분석(LBA)에 의해 결정했을 때, CD137에 결합하여 CD137L 결합을 유도한다.

[0844] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 리간드 결합 분석(LBA)에 의해 결정했을 때, CD137에 결합하여 CD137L 결합을 유도하며, 여기서 리간드 결합 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0845] (i) 항CD137 항체를 CD137 및 CD137L과 다양한 농도로 조합하되, CD137 및 CD137L은 CD137:CD137L 복합체를 형성하는 단계; 및

[0846] (ii) 항CD137 항체의 존재 하에 시간의 경과에 따라 CD137:CD137L 복합체를 검출하되,

[0847] 항CD137 항체의 존재 하에 CD137:CD137L 복합체의 증가는 항CD137 항체가 CD137에 대한 CD137L의 결합을 유도함을 나타내는 단계. 항CD137 항체의 존재 하에 CD137:CD137L 복합체의 증가는 항CD137 항체의 부재 하에 CD137:CD137L 복합체의 양보다 적어도 1.5배, 적어도 2배, 적어도 5배, 적어도 10배, 또는 적어도 20배 더 많을 수 있다.

[0848] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 리간드 결합 분석(LBA)에 의해 결정했을 때, CD137의 비리간드 결합 영역에 결합하며, 여기서 리간드 결합 분석은 다음의 단계를 포함한다:

[0849] (i) 항CD137 항체를 CD137 및 CD137L과 다양한 농도로 조합하되, CD137 및 CD137L은 CD137:CD137L 복합체를 형

성하는 단계; 및

[0850] (ii) 항CD137 항체의 존재 하에 시간의 경과에 따라 CD137:CD137L 복합체를 검출하되,

[0851] 항CD137 항체의 존재 하에 CD137:CD137L 복합체에 변화가 없는 것은 항CD137 항체가 CD137의 비리간드 결합 영역에 결합함을 나타내는 단계. 일부 구현예에서, CD137:CD137L 복합체의 2% 미만의 변화는 항CD137 항체가 CD137의 비리간드 결합 영역에 결합함을 나타낸다. 일부 구현예에서, CD137:CD137L 복합체의 5% 미만의 변화는 항CD137 항체가 CD137의 비리간드 결합 영역에 결합함을 나타낸다. 일부 구현예에서, CD137:CD137L 복합체의 10% 미만의 변화는 항CD137 항체가 CD137의 비리간드 결합 영역에 결합함을 나타낸다.

[0852] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 바이오층 간섭법에 의해 결정했을 때, CD137의 비리간드 결합 영역에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 표면 플라스몬 공명 촬영(SPRi)에 의해 결정했을 때, CD137의 비리간드 결합 영역에 결합한다. 일부 구현예에서, CD137 및 CD137L은 항CD137 항체가 미리 첨가된 센서에 순차적으로 도말된다(즉, 항체가 센서 상에 포획됨). 일부 구현예에서, 비리간드 결합 영역에 대한 항CD137 항체의 결합은 CD137L에 노출시 반응의 증가에 의해 표시된다.

[0853] IV CD137 결합 항체의 기능

[0854] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하여 T 세포 기능 소실을 억제하거나 감소시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하여 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하여 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하여 T 세포 증식을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하여 항종양 효능을 나타낸다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하여 대식 세포 분화 및/또는 활성화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(KD)로 인간 CD137에 결합하여 NFκβ 신호전달을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하여 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, 간 독성을 유도하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, 세포 외 CD137 상의 비리간드 결합 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, CD137과 CD137L의 상호 작용을 억제하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 약 30~100 nM(예: 약 30 nM와 약 100 nM 사이)의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고, 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0855] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 기능 소실을 억제하거나 감소시키고 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 기능 소실을 억제하거나 감소시키고 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 기능 소실을 억제하거나 감소시키고 T 세포 증식을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 기능 소실을 억제하거나 감소시키고 항종양 활성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 기능 소실을 억제하거나 감소시키고 대식 세포 분화 및/또는 활성화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 기능 소실을 억제하거나 감소시키고 NFκβ 신호전달을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 기능 소실을 억제하거나 감소시키고 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 기능 소실을 억제하거나 감소시키고 간 독성을 유도하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항

체는 T 세포 기능 소실을 억제하거나 감소시키고 세포 외 CD137 상의 비리간드 결합 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 기능 소실을 억제하거나 감소시키고 CD137과 CD137L의 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 기능 소실을 억제하거나 감소시키고 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0856] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키고, 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키고, T 세포 증식을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키고, 항종양 활성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키고, 대식 세포 분화 및/또는 활성화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키고, NFκβ 신호전달을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키고, 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키고, 간 독성을 유도하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키고, 세포 외 CD137 상의 비리간드 결합 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키고, CD137과 CD137L의 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 활성화를 유도하거나 강화시키고, 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0857] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키고, T 세포 증식을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키고, 항종양 활성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키고, 대식 세포 분화 및/또는 활성화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키고, NFκβ 신호전달을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키고, 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키고, 간 독성을 유도하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키고, 세포 외 CD137 상의 비리간드 결합 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키고, CD137과 CD137L의 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 면역 세포에 의한 사이토카인 생성을 유도하거나 강화시키고, 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0858] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 증식을 유도하거나 강화시키고, 항종양 활성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 증식을 유도하거나 강화시키고, 대식 세포 분화 및/또는 활성화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 증식을 유도하거나 강화시키고, NFκβ 신호전달을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 증식을 유도하거나 강화시키고, 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 증식을 유도하거나 강화시키고, 간 독성을 유도하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 증식을 유도하거나 강화시키고, 세포 외 CD137 상의 비리간드 결합 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 증식을 유도하거나 강화시키고, CD137과 CD137L의 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 T 세포 증식을 유도하거나 강화시키고, 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0859] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 항종양 효능을 나타내고, 대식 세포 분화 및/또는 활성화를 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 항종양 효능을 나타내고, NFκβ 신호전달을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 항종양 효능을 나타내고, 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 항종양 효능을 나타내고, 간 독성을 유도하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 항종양 효능을 나타내고, 세포 외 CD137 상의 비리간드 결합 도메인에 결합한다. 일

부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 항종양 효능을 나타내고, CD137과 CD137L의 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 항종양 효능을 나타내고, 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0860] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 대식 세포 분화 및/또는 활성화를 억제하거나 감소시키고, NFκβ 신호전달을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 대식 세포 분화 및/또는 활성화를 억제하거나 감소시키고, 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 대식 세포 분화 및/또는 활성화를 억제하거나 감소시키고, 간 독성을 유도하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 대식 세포 분화 및/또는 활성화를 억제하거나 감소시키고, 세포 외 CD137 상의 비리간드 결합 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 대식 세포 분화 및/또는 활성화를 억제하거나 감소시키고, CD137과 CD137L의 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 대식 세포 분화 및/또는 활성화를 억제하거나 감소시키고, 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0861] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 NFκβ 신호전달을 유도하거나 강화시키고, 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도하거나 강화시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 NFκβ 신호전달을 유도하거나 강화시키고, 간 독성을 유도하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 NFκβ 신호전달을 유도하거나 강화시키고, 세포 외 CD137 상의 비리간드 결합 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 NFκβ 신호전달을 유도하거나 강화시키고, CD137과 CD137L의 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 NFκβ 신호전달을 유도하거나 강화시키고, 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0862] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도하거나 강화시키고, 간 독성을 유도하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도하거나 강화시키고, 세포 외 CD137 상의 비리간드 결합 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도하거나 강화시키고, CD137과 CD137L의 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도하거나 강화시키고, 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0863] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 간 독성을 유도하지 않으며, 세포 외 CD137 상의 비리간드 결합 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 간 독성을 유도하지 않으며, CD137과 CD137L의 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 간 독성을 유도하지 않으며, 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0864] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 세포 외 CD137 상의 비리간드 결합 도메인에 결합하며, CD137과 CD137L의 상호작용을 억제하지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 세포 외 CD137 상의 비리간드 결합 도메인에 결합하며, 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 작용제 항체는 CD137과 CD137L의 상호작용을 억제하지 않으며, 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0865] **에피토프 맵핑**

[0866] 본 개시는 인간 CD137의 에피토프에 특이적으로 결합하고 인간 CD137의 에피토프에 결합하기 위해 기준 mAb(예를 들어, mAb1)와 경쟁하는 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 항CD137 항체의 에피토프의 특징을 분석하고, 맵핑하거나 달리 설명하는 방법은 구조적, 기능적 또는 연산 방법으로 그룹화될 수 있다. 항체 및 항체가 결합하는 상응 항원 간의 상호작용의 정확한 분자 구조를 결정하기 위한 특히 적합한 구조적 방법은 x-선 결정학(대안적으로 "x-선 공동-결정학")이다. 결합된 항체-항원 쌍의 결정 구조는 항원의 에피토프 및 항체의 파라토프 둘 다에서 측쇄 및 주쇄 원자 모두의 개발 아미노산 간의 주요 상호작용에 대한 매우 정확한 결정을 가능하게 한다. 서로에 대해 4옹스트롬(Å) 이내에 위치하는 아미노산은 일반적으로 접촉 잔기로 간주된다. 방법론은 일반적으로 항체 및 항원의 정제, 복합체의 형성 및 정제, 이어지는 연속 차수의 결정화 스크리닝 및 회절-품질 결정을 얻기 위한 최적화의 단계들 포함한다. 구조 용액은 x-선 결정학 이후에 흔히는 싱크로트론 소스(synchrotron source)에서 수득된다. 에피토프 맵핑을 위한 다른 구조적 방법은 질량 분광분석법, 가교-결합식 질량 분광분석법, 및 핵 자기 공명(NMR)에 결합된 수소-중수소 교환을 포함하나 이에 한정되지는 않는다(예를 들어, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris,

Ed. (1996); Abbott 등의 (2014) Immunology 142(4):526-535 참조).

[0867] 에피토프 맵핑을 위한 기능적 방법은 당업계에 잘 알려져 있고 전형적으로 전체 단백질, 단백질 단편 또는 펩티드에 대한 항체 결합의 평가 또는 정량화를 포함한다. 에피토프 맵핑을 위한 기능적 방법은, 예를 들어 선형 또는 입체형 에피토프를 식별하는 데 사용될 수 있고/있거나 2개 이상의 구별되는 항체가 동일하거나 유사한 에피토프에 결합할 때를 추론하는데 사용될 수 있다. 에피토프 맵핑을 위한 기능적 방법은, 예를 들어 면역블롯팅 및 면역침강 분석을 포함하며, 여기서 CD137 유래의 중첩 또는 연속 펩티드는 항CD137 항체, 예를 들어, mAb1과의 반응성에 대해 시험된다. 에피토프 맵핑을 위한 다른 기능적 방법은 어레이 기반 올리고펩티드 스캐닝(대안적으로는 "중첩 펩티드 스캐닝" 또는 "펩스캔 분석(pepscan analysis)"으로 알려짐), 부위-유도성 돌연변이 유발(예컨대, 알라닌-스캐닝 돌연변이 유발), 및 고처리량 돌연변이 유발 맵핑(예컨대, 샷건(shotgun) 돌연변이 유발 맵핑)을 포함한다.

[0868] 많은 유형의 경쟁 결합 분석법이 알려져 있으며, 예를 들어, 고상 직접 또는 간접 방사면역검정(RIA), 고상 직접 또는 간접 효소 면역분석(EIA), 샌드위치 경쟁 분석(Stahli 등의 *Methods in Enzymology* 9:242 (1983) 참조); 고상 직접 비오틴-아비딘 EIA(Kirkland 등의 *Immunol*. 137:3614 (1986) 참조); 고상 직접 표지 분석, 고상 직접 표지 샌드위치 분석(Harlow 및 Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988) 참조); I-125 표지를 사용하는 고상 직접 표지 RIA(Morel 등의 *Mol. Immunol*. 25(1):7 (1988) 참조); 고상 직접 비오틴-아비딘 EIA(Cheung 등의 *Virology* 176:546 (1990) 참조); 및 직접 표지 RIA (Moldenhauer 등의 *Scand. J. Immunol*. 32:77 (1990) 참조) 등이 알려져 있다. 일반적으로, 이러한 분석은 고체 표면이나 세포에 결합된 정제된 항원, 및 1) 비표지 시험 항원 결합 단백질 및 표지된 기준 항원 결합 단백질, 또는 2) 표지된 시험 항원 결합 단백질 및 비표지 기준 항원 결합 단백질을 사용하는 것을 포함한다. 경쟁 억제는 시험 항원 결합 단백질의 존재 하에 고체 표면이나 세포에 결합된 라벨의 양을 결정함으로써 측정된다. 일반적으로, 시험 항원 결합 단백질은 과잉으로 존재한다. 경쟁 분석(경쟁 항원 결합 단백질)에 의해 식별된 항원 결합 단백질은, 기준 항원 결합 단백질(예를 들어, mAb1)과 동일한 에피토프에 결합하는 항원 결합 단백질, 및 입체 장애가 일어나도록 기준 항원 결합 단백질(예: mAb1)이 결합된 에피토프와 충분히 가까운 인접 에피토프에 결합하는 항원 결합 단백질을 포함한다. 경쟁 결합을 결정하기 위한 방법에 관한 추가 세부사항이 본원의 실시예에 제공된다. 일반적으로, 경쟁하는 항원 결합 단백질이 과량으로(예를 들어, 약 1배, 약 5배, 약 10배, 약 20배, 약 50배, 또는 약 100배 과량으로) 존재하는 경우, 이는 공통 항원에 대한 기준 항원 결합 단백질의 특이적 결합을 적어도 약 40~45%, 약 45~50%, 약 50~55%, 약 55~60%, 약 60~65%, 약 65~70%, 약 70~75% 또는 약 75% 이상 만큼 억제(예: 감소 또는 차단)하게 된다. 일부 경우에, 결합은 적어도 약 80~85%, 약 85~90%, 약 90~95%, 약 95~97%, 또는 약 97% 이상 만큼 억제된다.

[0869] 부위-유도성 돌연변이 유발 방법은 표적 부위-유도성 돌연변이 유발을 포함하는데, 이 경우 중요 아미노산은 단백질 서열을 따라 치환을 체계적으로 도입한 다음 각각의 치환이 항체 결합에 미치는 영향을 결정함으로써 식별된다. 이는 "알라닌 스캐닝 돌연변이 유발(alanine scanning mutagenesis)" (Cunningham 및 Wells (1989) Science 244:1081-085 참조), 또는 CD137에서 아미노산 잔기의 일부 다른 형태의 점 돌연변이 유발에 의해 이뤄질 수 있다. 이론에 구속되지 않고, 항원에서 제1 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 모든 아미노산 돌연변이가 본질적으로 제2 또는 그 이상의 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 경우, 2개 이상의 항체(예를 들어, 시험 항체 및 기준 항체, 예컨대 mAb1)는 동일한 에피토프를 갖는다.

[0870] 샷건 돌연변이 유발 맵핑은 표적 유전자에 대한 포괄적인 플라스미드 돌연변이 라이브러리를 사용하는데, 라이브러리 내의 각 클론은 독특한 아미노산 돌연변이를 가지며, 전체 라이브러리는 표적 단백질 내의 모든 아미노산을 포함한다. 돌연변이 라이브러리를 구성하는 클론은 마이크로플레이트에 개별적으로 배열되고, 살아있는 포유류 세포 내에서 발현되며, 관심 항체와의 면역반응성에 대해 시험된다. 항체 에피토프에 중요한 아미노산은 반응성 상실에 의해 식별된 다음, 단백질 구조 상에 맵핑되어 에피토프를 가시화한다. 포유류 세포 내에서의 표적 단백질 항원의 발현은 종종 표적 단백질 항원의 천연 구조를 제공하는데, 이는 선형 및 입체형 에피토프 구조 모두가 복합 단백질에 대해 맵핑될 수 있게 한다. (Paes 등의 J. Am. Chem. Soc. 131 (20): 6952-6954 (2009); Banik 및 Doranz, Genetic Engineering and Biotechnology News 3(2): 25-28 (2010) 참조).

[0871] 항CD137 항체에 의해 결합된 에피토프는 펩티드 스캐닝 방법을 사용하여 결정될 수도 있다. 펩티드 스캐닝에서는, 표적 단백질의 중첩 분절 유래의 짧은 펩티드 서열의 라이브러리가 관심 항체에 결합하는 능력에 대해 CD137을 시험한다. 펩티드는 합성되며, "펩스캔" 방법론(WO 84/03564; WO 93/09872)에서와 같이 고상 스크리닝을 위한 다수의 방법(Reineke 등, Curr. Opin. Biotechnol. 12: 59-64, 2001 참조) 중 어느 하나에 의해, 예를

들어 ELISA 또는 BIACORE를 사용하거나, 칩 상에서 결합에 대해 스크리닝된다.

[0872] 최근에 개발된 CLIPS(chemical linkage of peptides onto scaffolds)라는 명칭의 기술을 사용해 입체형 에피토프를 매핑할 수 있다. 펩티드의 느슨한 단부가 합성 골격(scaffold) 상에 고정됨으로써, 골격화된 펩티드가 온전한 단백질 내의 상응하는 서열과 동일한 공간 구조를 채택할 수 있다. CLIPS 기술은 선형 펩티드를 환형 구조('단일 루프' 포맷)로 고정시키고, 단백질 결합 부위의 상이한 부분들을 합쳐서('이중 루프', '삼중 루프' 등의 포맷), 항체 결합에 대해 분석될 수 있는 입체형 에피토프를 생성하는데 사용된다. (미국 특허 제7,972,993호 참조).

[0873] 본 개시에 의해 제공되는 항체에 의해 결합된 에피토프는 연산 방법을 사용해 맵핑될 수도 있다. 이들 방법에서, 예를 들어, 펩티드 단편의 라이브러리가 파지 또는 세포의 표면 상에 디스플레이된다. 그런 다음, 선택적 결합 분석을 사용해 이들 단편에 대한 항체를 스크리닝함으로써 에피토프가 맵핑된다. 파지 디스플레이를 사용해 수득된 선형 친화도-선택 펩티드에 기초하여 입체형 에피토프에 대한 예측을 가능하게 하는 다수의 연산 도구가 개발되었다(Mayrose 등, (2007) Bioinformatics 23:3244-3246 참조). 파지 디스플레이에 의해 입체형 에피토프를 검출하는 방법들도 이용 가능하다. 미생물 디스플레이 시스템은 입체형 에피토프의 식별을 위해 세포 표면 상에사 적절하게 접힌 항원성 단편을 발현하는데 사용될 수도 있다(Cochran 등, J. Immunol. Meth. 287: 147-158, 2004; Rockberg 등, Nature Methods 5: 1039-1045, 2008 참조).

[0874] 단백질 분해 및 질량 분광법을 포함하는 방법을 사용해 항체 에피토프를 결정할 수도 있다(Baerga-Ortiz 등, Protein Sci. 2002 June; 1 1 (6): 1300-1308 참조). 단백질 분해가 제한되는 경우, 항체의 존재 여부와 상관없이 항원은 상이한 프로테아제에 의해 절단되고, 단편은 질량 분석에 의해 식별된다. 에피토프는 항체가 결합할 때 단백질 분해로부터 보호되는 항원의 영역이다(Suckau 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 9848-9852, 1990 참조). 단백질 분해에 기반한 추가의 방법은, 예를 들어, 선택적 화학적 변형(Fiedler 등, Bioconjugate Chemistry 1998, 9(2): 236-234, 1998 참조), 에피토프 절제(Van de Water 등, Clin. Immunol. Immunopathol. 1997, 85(3): 229-235, 1997 참조), 및 최근에 개발된 수소 중수소(H/D) 교환 방법(Flanagan, N., Genetic Engineering and Biotechnology News 3(2): 25-28, 2010 참조)을 포함한다.

[0875] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 돌연변이 유발 및 포유류 디스플레이에 의해 결정했을 때, 서열번호 3의 아미노산 잔기 111~135 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 돌연변이 유발 및 포유류 디스플레이에 의해 결정했을 때, 서열번호 3의 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 돌연변이 유발 및 포유류 디스플레이에 의해 결정했을 때, 서열번호 3의 E111, T113 및 K114를 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 돌연변이 유발 및 포유류 디스플레이에 의해 결정했을 때, 서열번호 3의 E111, T113, K114 및 P135를 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 돌연변이 유발 및 포유류 디스플레이에 의해 결정했을 때, 서열번호 3의 E111, T113, K114, N126, I132 및 P135를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0876] **항CD137 항체 및 이의 항원 결합 단편의 생산 방법**

[0877] 본 개시는 또한 본원에 기술된 항CD137 항체 중 어느 하나 또는 이의 항원 결합 단편을 생산하는 방법을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항체를 제조하기 위한 방법은 적절한 면역원(immunogen)으로 대상체(예를 들어, 비인간 포유동물)을 면역화하는 단계를 포함할 수 있다. 본원에 기술된 임의의 항체를 생성하기 위한 적합한 면역원은 본원에 제시되어 있다. 예를 들어, CD137에 결합하는 항체를 생성하기 위해, 당업자는 전장 CD137 폴리펩티드, 예컨대, 서열번호 3에 예시된 아미노산 서열을 포함하는 전장 인간 CD137 폴리펩티드로 적절한 대상체(예: 랫트, 마우스, 저빌(gerbil), 햄스터, 개, 고양이, 돼지, 염소, 말, 또는 비인간 영장류와 같은 비인간 포유동물)를 면역화할 수 있다.

[0878] 적절한 대상체(예를 들어, 비인간 포유동물)는 적절한 항체를 접종하고, 더불어 포유동물에 의한 항체의 생산을 유도하기에 충분한 회수의 후속적인 추가 접종을 통해 면역화될 수 있다. 면역원은 보조제(adjuvant)와 함께 대상체(예를 들어, 비인간 포유동물)에게 투여될 수 있다. 대상체에서 항체를 생산하는 데 유용한 보조제는 단백질 보조제; 세균 보조제, 예를 들어, 전체 박테리아(BCG, *코리네박테리움 파붐* 또는 *살모넬라 미네소타*) 및 세포벽 골격을 포함하는 박테리아 성분, 트레할로스 디미콜레이트, 모노포스포릴 지질 A, 결핵균(tubercle bacillus)의 메탄올 추출 가능 잔기(MER), 완전하거나 불완전한 프로인트 보조제; 바이러스 보조제; 화학적 보조제, 예를 들어, 수산화알루미늄, 및 요오드아세트산 및 콜레스테릴 반숙신산염을 포함하되, 이들로 한정되지는 않는다. 면역 반응을 유도하기 위한 방법에 사용될 수 있는 다른 보조제는, 예를 들어, 콜레라 독소 및 파라

폭스바이러스 단백질을 포함한다. (Bieg 등의 (1999) *Autoimmunity* 31(1):15-24 참조). 예를 들어, Lodmell 등의 (2000) *Vaccine* 18:1059-1066; Johnson 등의 (1999) *J Med Chem* 42:4640-4649; Baldridge 등의 (1999) *Methods* 19:103-107; 및 Gupta 등의 (1995) *Vaccine* 13(14): 1263-1276을 참조한다.

[0879] 일부 구현예에서, 상기 방법은 면역원에 결합하는 단클론 항체를 분비하는 하이브리도마 세포주를 제조하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 실험실용 마우스와 같은 적절한 포유동물을 전술한 바와 같이 CD137 폴리펩티드로 면역화한다. 면역화된 포유류의 항체 생성 세포(예를 들어, 비장의 B 세포)는 면역원으로 적어도 1회 추가 면역화 후 2 내지 4일 후에 단리한 다음, 배지에서 짧게 성장시킨 후, 적절한 골수종 세포주의 세포와 융합할 수 있다. 세포는 예를 들어, 우두 바이러스 또는 폴리에틸렌 글리콜과 같은 융합 프로모터의 존재 하에 융합될 수 있다. 융합에서 수득된 혼성 세포를 클로닝하고, 원하는 항체를 분비하는 세포 클론을 선택한다. 예를 들어, 적절한 면역원으로 면역화된 Balb/c 마우스의 비장 세포를 골수종 세포주 PAI 또는 골수종 세포주 Sp2/0-Ag 14의 세포와 융합할 수 있다. 융합 후, 세포를 적절한 배양 배지에서 증식시키는데, 이 배지는 정상 골수종 세포가 원하는 하이브리도마 세포를 과성장시키는 것을 방지하기 위해 일정한 간격으로 선택 배지, 예를 들어 HAT 배지로 보충한다. 그런 다음, 수득된 하이브리도마 세포를 원하는 항체, 예를 들어 CD137에 결합하는 항체의 분비에 대해 스크리닝한다.

[0880] 일부 구현예에서, 당업자는, 예를 들어, 미국 특허 제6,300,064호(Knappik 등; Morphosys AG) 및 Schoonbroodt 등의 문헌[(2005) *Nucleic Acids Res* 33(9):e81]에 기술된 바와 같이 비-면역 편향된 라이브러리로부터 항 CD137 항체를 식별할 수 있다.

[0881] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 방법은, 예를 들어, 파지 디스플레이 기술, 박테리아 디스플레이, 효모 표면 디스플레이, 진핵생물 바이러스 디스플레이, 포유류 세포 디스플레이, 및 무세포(예: 리보솜 디스플레이) 항체 스크리닝 기술을 포함하거나, 이와 함께 사용될 수 있다(예를 들어, Etz 등의 (2001) *J Bacteriol* 183:6924-6935; Cornelis (2000) *Curr Opin Biotechnol* 11:450-454; Klemm 등의 (2000) *Microbiology* 146:3025-3032; Kieke 등의 (1997) *Protein Eng* 10:1303-1310; Yeung 등의 (2002) *Biotechnol Prog* 18:212-220; Boder 등의 (2000) *Methods Enzymology* 328:430-444; Grabherr 등의 (2001) *Comb Chem High Throughput Screen* 4:185-192; Michael 등의 (1995) *Gene Ther* 2:660-668; Pereboev 등의 (2001) *J Virol* 75:7107-7113; Schaffitzel 등의 (1999) *J Immunol Methods* 231:119-135; 및 Hanes 등의 (2000) *Nat Biotechnol* 18:1287-1292 참조).

[0882] 다양한 파지 디스플레이 방법을 사용해 항체를 식별하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 파지 디스플레이 방법에서, 기능적 항체 도메인은 이를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 가진 파지 입자의 표면 상에 디스플레이된다. 이러한 파지는 항체의 레퍼토리나 조합 항체 라이브러리(예를 들어, 인간 또는 쥣과)로부터 발현되는 항원 결합 도메인, 예컨대, Fab, Fv 또는 이황화 결합 안정화 Fv 항체 단편 등을 디스플레이하는 데 사용될 수 있다. 이들 방법에 사용되는 파지는 통상적으로 fd 및 M13과 같은 사상 파지(filamentous phage)이다. 항원 결합 도메인은 임의의 파지 코팅 단백질 pIII, pVIII, 또는 pIX 중 어느 하나에 재조합적으로 융합된 단백질로서 발현된다. 예를 들어, Shi 등의 (2010) *JMB* 397:385-396을 참조한다. 본원에 기술된 면역글로불린, 또는 이의 단편을 제조하는 데 사용될 수 있는 파지 디스플레이 방법의 예는 Brinkman 등의 (1995) *J Immunol Methods* 182:41-50; Ames 등의 (1995) *J Immunol Methods* 184:177-186; Kettleborough 등의 (1994) *Eur J Immunol* 24:952-958; Persic 등의 (1997) *Gene* 187:9-18; Burton 등의 (1994) *Advances in Immunology* 57:191-280; 및 PCT 공개 번호 WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/11236, WO 95/15982, 및 WO 95/20401에 개시된 것들을 포함한다. 적합한 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제5,698,426호; 제5,223,409호; 제5,403,484호; 제5,580,717호; 제5,427,908호; 제5,750,753호; 제5,821,047호; 제5,571,698호; 제5,427,908호; 제5,516,637호; 제5,780,225호; 제5,658,727호; 제5,733,743호 및 제5,969,108호에도 기술되어 있다.

[0883] 일부 구현예에서, 파지 디스플레이 항체 라이브러리는 면역화된 포유동물 유래의 B 세포로부터 수집된 mRNA를 사용해 생성할 수 있다. 예를 들어, B 세포를 포함하는 비장 세포 샘플을 전술한 바와 같이 CD137 폴리펩티드로 면역화된 마우스로부터 단리할 수 있다. mRNA는 세포로부터 단리하여 표준 분자 생물학 기술을 사용해 cDNA로 변환할 수 있다. 예를 들어, Sambrook 등의 (1989) "Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition," Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Harlow and Lane (1988), 전술한 문헌; Benny K. C. Lo (2004), 전술한 문헌; 및 Borrebaek (1995), 전술한 문헌을 참조한다. 면역글로불린의 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드의 가변 영역을 코딩하는 cDNA를 사용해 파지 디스플레이 라이브러리를 작제한다. 이러한 라이브러리를 생성하기 위한 방법은 예를 들어 Merz 등의 (1995) *J Neurosci Methods* 62(1-2):213-9; Di Niro 등의 (2005) *Biochem J* 388(Pt 3):889-894; 및 Engberg 등의 (1995) *Methods Mol Biol* 51:355-376에 기술되어

있다.

[0884] 일부 구현예에서, 선택 및 스크리닝의 조합을 사용하여, 예를 들어 하이브리도마 유래 항체의 모집단 또는 파지 디스플레이 항체 라이브러리로부터 관심 항체를 식별할 수 있다. 적절한 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, Hoogenboom (1997) *Trends in Biotechnology* 15:62-70; Brinkman 등의 (1995) 전술한 문헌; Ames 등의 (1995) 전술한 문헌; Kettleborough 등의 (1994) 전술한 문헌; Persic 등의 (1997) 전술한 문헌; 및 Burton 등의 (1994) 전술한 문헌에 기술되어 있다. 예를 들어, 박테리오파지 코팅 단백질의 융합 단백질(예를 들어, M13 파지의 pIII, pVIII, 또는 pIX) 및 상이한 항원 결합 영역을 각각 암호화하는 복수의 파지미드 벡터를 표준 분자 생물학 기술을 사용해 생산한 다음, 박테리아 모집단(예를 들어, 대장균)에 도입할 수 있다. 박테리아에서 박테리오파지의 발현에는, 일부 구현예에서, 헬퍼 파지의 사용이 필요할 수 있다. 일부 구현예에서, 헬퍼 파지는 필요하지 않다(예를 들어, Chasteen 등의 (2006) *Nucleic Acids Res* 34(21):e145 참조). 박테리아로부터 생산된 파지를 회수한 다음, 예를 들어, 고형 지지체에 결합된(고정된) 표적 항원과 접촉시킨다. 파지는 용액에서 항원에 접촉시킬 수도 있으며, 복합체는 후속하여 고형 지지체에 결합된다.

[0885] 상기 방법을 사용하여 스크리닝된 항체의 하위집단은 당업계에 공지된 임의의 면역학 또는 생화학에 기반한 방법을 사용해 특정 항원(예를 들어, 인간 CD137)에 대한 특이성 및 결합 친화도에 대해 특징을 분석할 수 있다. 예를 들어, CD137에 대한 항체의 특이적 결합은, 예를 들어, ELISA 분석, SPR 분석, 면역침강 분석, 친화도 크로마토그래피, 및 전술한 바와 같은 평형 투석(equilibrium dialysis)과 같은, 그러나 이들로 한정되지 않는 면역학 또는 생화학 기반의 방법을 사용하여 결정할 수 있다. 항체의 면역특이적 결합 및 교차 반응성을 분석하는 데 사용될 수 있는 면역분석법은, 웨스턴 블롯, RIA, ELISA(효소 결합 면역흡착 분석), "샌드위치" 면역분석, 면역침강 분석, 면역확산 분석, 응집 분석, 보체 고정 분석, 면역방사성 분석, 형광 면역분석, 및 단백질 A 면역 분석과 같은 기술을 사용하는 경쟁적 및 비경쟁적 분석 시스템을 포함하지만, 이들로 한정되지는 않는다. 이러한 분석법은 일상적이며 당업계에 잘 알려져 있다.

[0886] 위의 방법은, 예를 들어, 항CD137 항체가 전장까지 인간 CD137 및/또는 CD137 단백질에 결합하지 않는지 여부를 결정하는데 사용될 수도 있는 것으로 이해된다.

[0887] 선택된 CDR 아미노산 서열이 짧은 서열(예를 들어, 길이가 10 내지 15개 미만의 아미노산임)인 구현예에서, CDR을 암호화하는 핵산은, 예를 들어 Shiraishi 등의 (2007) *Nucleic Acids Symposium Series* 51(1):129-130 및 미국 특허 제6,995,259호에 기술된 바와 같이 화학적으로 합성할 수 있다. 수용자 항체를 암호화하는 핵산 서열이 주어진 경우, CDR을 암호화하는 핵산 서열의 영역은 표준 분자 생물학 기술을 사용해, 화학적으로 합성된 핵산으로 대체될 수 있다. 화학적으로 합성된 핵산의 5' 및 3' 말단은, 핵산을 공여자 항체의 가변 영역을 인코딩하는 핵산으로 클로닝하는데 사용하기 위한 점착성 말단 제한 효소 부위를 포함하도록 합성될 수 있다. 대안적으로, 함께 항체를 암호화할 수 있는, 화학적으로 합성된 핵산의 단편은 당업계에 공지된 DNA 조립 기술(예를 들어, Gibson Assembly)을 사용하여 함께 결합될 수 있다.

[0888] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 이의 상응하는 변경되지 않은 불변 영역에 비해 효과기 기능이 감소된(또는 없는) 변경된 중쇄 불변 영역을 포함한다. 항CD137 항체의 불변 영역과 관련된 효과기 기능은 불변 영역 또는 Fc 영역의 특성을 변경함으로써 조절될 수 있다. 변경된 효과기 기능은, 예를 들어, 다음의 활성 중 하나 이상의 조절을 포함한다: 항체 의존성 세포의 세포독성(ADCC); 보체 의존성 세포독성(CDC); 세포 자멸사; 하나 이상의 Fc-수용체에 대한 결합; 및 전 염증성 반응. 조절은 변경되지 않은 형태의 불변 영역의 활성과 비교해 변경된 불변 영역을 함유하는 대상체 항체에 의해 나타난 효과기 기능 활성의 증가, 감소, 또는 제거를 지칭한다. 특정 구현예에서, 조절은 활성이 제거되거나 완전히 부재하는 상황을 포함한다.

[0889] 변경된 FcR 결합 친화도 및/또는 ADCC 활성 및/또는 변경된 CDC 활성을 갖는 변경된 불변 영역은, 변경되지 않은 형태의 불변 영역과 비교해 강화되거나 감쇠된 FcR 결합 활성 및/또는 ADCC 활성 및/또는 CDC 활성을 갖는 폴리펩티드이다. FcR에 대한 결합 증가를 디스플레이하는 변경된 불변 영역은 변경되지 않은 폴리펩티드보다 더 큰 친화도로 적어도 하나의 FcR에 결합한다. FcR에 대한 결합 감소를 디스플레이하는 변경된 불변 영역은 변경되지 않은 불변 영역보다 더 낮은 친화도로 적어도 하나의 FcR에 결합한다. FcR에 대한 결합 감소를 디스플레이하는 이러한 변이체는 FcR에 대한 결합을 거의 갖지 않거나 주목할 만한 결합을 갖지 않을 수 있는데, 예를 들어, FcR에 대한 원시 서열 면역글로불린 불변 영역 또는 Fc 영역의 결합 수준과 비교해 FcR에 대한 결합의 0 내지 50%(예를 들어, 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1% 미만)를 가질 수 있다. 유사하게, 조절된 ADCC 및/또는 CDC 활성을 디스플레이하는 변경된 불변 영

역은 변경되지 않은 불변 영역과 비교해 증가되었거나 감소된 ADCC 및/또는 CDC 활성을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 변경된 불변 영역을 포함하는 항CD137 항체는 변경된 형태의 불변 영역의 ADCC 및/또는 CDC 활성의 대략 0 내지 50%(예를 들어, 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1% 미만)를 나타낼 수 있다. 감소된 ADCC 및/또는 CDC를 디스플레이하는 변경된 불변 영역을 포함하는 본원에 기술된 항CD137 항체는 감소된 ADCC 및/또는 CDC 활성을 나타내거나 전혀 나타내지 않을 수 있다.

[0890] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 감소된 효과기 기능을 나타내거나 전혀 나타내지 않는다. 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 혼성화 불변 영역 또는 이의 일부, 예컨대 G2/G4 혼성화 불변 영역을 포함한다(예를 들어, Burton 등의 (1992) *Adv Immun* 51:1-18; Canfield 등의 (1991) *J Exp Med* 173:1483-1491; 및 Mueller 등의 (1997) *Mol Immunol* 34(6):441-452 참조). 상기 참조.

[0891] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 강화되었거나 감소된 보체 의존성 세포 독성(CDC)을 나타내는 변경된 불변 영역을 포함할 수 있다. 조절된 CDC 활성은 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입, 또는 결실을 항체의 Fc 영역에 도입함으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제6,194,551호를 참조한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 시스테인 잔기(들)가 Fc 영역에 도입되어, 이 영역에서 사슬간 이황화 결합을 형성할 수 있다. 따라서, 동종 이량체 항체는 개선되었거나 감소된 내재화 능력 및/또는 증가하였거나 감소한 보체 매개 세포 살해 능력을 가질 수 있다. 예를 들어 Caron 등의 (1992) *J Exp Med* 176:1191-1195 및 Shopes (1992) *Immunol* 148:2918-2922; PCT 공개 번호 WO 99/51642 및 WO 94/29351; Duncan 및 Winter (1988) *Nature* 322:738-40; 및 미국 특허 제5,648,260호 및 제5,624,821호를 참조한다.

[0892] **재조합 항체의 발현 및 정제**

[0893] 본원에 기술된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 분자 생물학 및 단백질 화학 분야에 공지된 다양한 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드 중 하나 또는 둘 다를 암호화하는 핵산은 전사 및 번역 조절 서열을 포함하는 발현 벡터 내에 삽입될 수 있으며, 이는 예를 들어 프로모터 서열, 리보솜 결합 부위, 전사 개시 및 종결 서열, 번역 개시 및 종결 서열, 전사 종결자 신호, 폴리아데닐화 신호, 및 인핸서 또는 활성화제 서열을 포함한다. 조절 서열은 프로모터 및 전사 개시 및 종결 서열을 포함한다. 또한, 발현 벡터는 발현 벡터가 2가지 상이한 유기체에서 유지될 수 있도록, 예를 들어, 발현을 위해서 포유동물 또는 곤충 세포에서 유지되고 클로닝과 증폭을 위해 원핵 생물 숙주에서 유지될 수 있도록, 2개 이상의 복제 시스템을 포함할 수 있다.

[0894] 포유동물 세포에서 핵산으로부터 클로닝된 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드의 발현을 위한 여러 가지 가능한 벡터 시스템을 이용할 수 있다. 한 부류의 벡터는 숙주 세포 게놈 내로 원하는 유전자 서열을 통합시키는 것에 의존한다. DNA를 안정적으로 통합한 세포는, *E. coli* gpt와 같은 약물 내성 유전자를 동시에 도입함으로써 선택될 수 있다(Mulligan 및 Berg (1981) *Proc Natl Acad Sci USA* 78:2072) 또는 *Tn*5 neo (Southern 및 Berg (1982) *Mol Appl Genet* 1:327 참조). 선택성 마커 유전자는 발현될 DNA 유전자 서열에 연결되거나, 공동-형질감염에 의해 동일 세포 내로 도입될 수 있다(Wigler 등 (1979) *Cell* 16:77 참조). 2번째 부류의 벡터는 염색체 외 플라스미드에 자율 복제 능력을 부여하는 DNA 요소를 사용한다. 이들 벡터는 동물 바이러스, 예컨대 소 유두종 바이러스(Sarver 등의 (1982) *Proc Natl Acad Sci USA*, 79:7147), 사이토메갈로바이러스, 폴리오마 바이러스(Deans 등 (1984) *Proc Natl Acad Sci USA* 81:1292), 또는 SV40 바이러스(Lusky 및 Botchan (1981)) *Nature* 293:79)로부터 유래될 수 있다.

[0895] 발현 벡터는 핵산의 후속 발현에 적합한 방식으로 세포 내에 도입될 수 있다. 도입의 방법은 후술하는 표적화 세포 유형에 의해 크게 좌우된다. 예시적인 방법은 $CaPO_4$ 침강, 리포솜 융합, 양이온성 리포솜, 천기 천공, 바이러스 감염, 덱스트란 매개 형질 감염, 폴리프렌 매개 형질 감염, 원형질 융합, 및 직접 미세 주입을 포함한다.

[0896] 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 발현에 적합한 숙주 세포는 효모, 박테리아, 곤충, 식물 및 포유동물 세포를 포함한다. 특히 관심이 있는 것은 *E. coli*와 같은 박테리아, 사카로마이세스 세레비시애 및 피키아 파스토리스와 같은 진균, SF9와 같은 곤충 세포, 포유동물 세포주(예: 인간 세포주)뿐만 아니라 단일 세포계 등이다.

[0897] 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 단편은 유전자 이식 동물(예: 유전자 이식 포유류)에서 발현되고, 이로부터 정제될 수 있다. 예를 들어, 항체는 Houdebine 등의 문헌에 기술된 바와 같이, 유전자 이식 비인간

포유동물(예: 설치류)에서 생산될 수 있고 우유로부터 단리될 수 있다(예를 들어, Houdebine (2002) *Curr Opin Biotechnol* 13(6):625-629; van Kuik-Romeijn 등의 (2000) *Transgenic Res* 9(2):155-159; 및 Pollock 등의 (1999) *J Immunol Methods* 231(1-2):147-157 참조).

[0898] 항체 및 이의 단편은 항체 또는 단편을 암호화하는 핵산을 포함하는 발현 벡터로 형질 변환된 숙주 세포를, 단백질 발현이 충분히 가능한 조건 하에서, 충분한 시간 동안 배양함으로써 세포로부터 생산될 수 있다. 단백질 발현을 위한 이러한 조건은 발현 벡터 및 숙주 세포의 선택에 따라 달라지게 되며, 당업자는 일상적인 실험을 통해 쉽게 확인할 것이다. 예를 들어, *E. coli*에서 발현된 항체는 봉입체로부터 다시 접힐 수 있다(예: Hou 등의 (1998) *Cytokine* 10:319-30 참조). 박테리아 발현 시스템 및 그 사용 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다(문헌[Current Protocols in Molecular Biology, Wiley & Sons, 및 Molecular Cloning--A Laboratory Manual--3rd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (2001)] 참조). 코돈, 적절한 발현 벡터 및 적절한 숙주 세포의 선택은 다수의 요인에 따라 달라질 것이고, 필요에 따라 쉽게 최적화될 수 있다. 본원에 기술된 항체(또는 이의 단편)는 포유동물 세포에서 발현되거나, 효모, 바큘로바이러스, 및 시험관 내 발현 시스템을 포함하되 이들로 한정되지 않는 다른 발현 시스템에서 발현될 수 있다(예를 들어, Kaszubska 등의 (2000) *Protein Expression and Purification* 18:213-220 참조).

[0899] 발현 후, 항체 및 이의 단편은 단리될 수 있다. 항체 또는 이의 단편은, 샘플에 어떤 다른 성분이 존재하는지에 따라 당업자에게 공지된 다양한 방식으로 단리되거나 정제될 수 있다. 표준 정제 방법은 전기영동 기술, 분자 기술, 면역학적 기술, 및 크로마토그래피 기술을 포함하며, 크로마토그래피 기술은 이온 교환, 소수성, 친화도 및 역상 HPLC 크로마토그래피를 포함한다. 예를 들어, 항체는 표준 항체 컬럼(예를 들어, 단백질-A 또는 단백질-G 컬럼)을 사용하여 정제될 수 있다. 단백질 농축과 함께 초여과 및 정용여과 기술도 유용하다. 예를 들어, Scopes (1994) "Protein Purification, 3rd edition," Springer-Verlag, New York City, New York을 참조한다. 필요한 정제 정도는 원하는 용도에 따라 달라지게 된다. 일부 경우에, 발현된 항체 또는 이의 단편의 정제가 필요하지 않을 수도 있다.

[0900] 정제된 항체 또는 이의 단편의 수율 또는 순도를 결정하기 위한 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 Bradford 분석, UV 분광법, Biuret 단백질 분석, Lowry 단백질 분석, 아미도 검은 단백질 분석, 고압의 액체 크로마토그래피(HPLC), 질량 분광분석(MS), 및 겔 전기영동 방법(예를 들어, 쿠마시 블루 또는 콜로이드성 실버 염색과 같은 단백질 염색을 사용함)을 포함한다.

[0901] **항체 또는 이의 항원 결합 단편의 변형**

[0902] 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이의 발현 및 정제 후에 변형될 수 있다. 변형은 공유 또는 비공유 변형일 수 있다. 이러한 변형은 예를 들어, 선택된 측면 사슬 또는 말단 잔기와 반응할 수 있는 유기 유도체와의 폴리펩티드의 표적화된 아미노산 잔기를 반응시킴으로써 항체 또는 단편 내로 도입될 수 있다. 변형에 적절한 부위는, 예컨대 항체 또는 단편의 구조적 분석 또는 아미노산 서열 분석을 포함하는 다양한 기준 중 어느 하나를 사용해 선택될 수 있다.

[0903] 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이종 모이어티에 접합될 수 있다. 이종 모이어티는, 예를 들어, 이종 폴리펩티드, 치료제(예컨대, 독소 또는 약물), 또는 검출 가능한 표지일 수 있으며, 여기서 검출 가능한 표지는 방사성 표지, 효소 표지, 형광 표지, 중금속 표지, 발광 표지, 또는 친화도 태그(예: 비오틴 또는 스트렙트아비딘)를 포함하되 이들로 한정되지 않는다. 적절한 이종 폴리펩티드는, 예를 들어, 항체 또는 단편을 정제하는 데 사용하기 위한 항원성 태그(예를 들어, FLAG (DYKDDDDK; 서열번호 98), 폴리히스티딘 (6-His; HHHHHH; 서열번호 99), 헤마글루티닌 (HA; YPYDVPDYA; 서열번호 100), 글루타티온-S-전이효소 (GST), 또는 말토오스-결합 단백질 (MBP)을 포함한다. 이종 폴리펩티드는 진단 마커 또는 검출 가능한 마커로서 유용한 폴리펩티드(예: 효소), 예를 들어 루시페라아제, 형광 단백질(예: 녹색 형광 단백질(GFP)), 또는 클로람페니콜 아세틸전이효소(CAT)를 또한 포함한다. 적절한 방사성 표지는 예를 들어, ^{32}P, ^{33}P, ^{14}C, ^{125}I, ^{131}I, ^{35}S, 및 ^{3}H를 포함한다. 적절한 형광 표지는 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트(FITC), 녹색 형광 단백질(GFP), DyLight™ 488, 피코에레트린(PE), 프로피듐 요오드화물(PI), PerCP, PE-Alexa Fluor® 700, Cy5, 알로피코시아닌 및 Cy7을 포함하되 이들로 한정되지 않는다. 발광 표지는 예를 들어, 다양한 발광 란타나이드(예를 들어, 유로퓸 또는 테르븀) 킬레이트들 중 어느 하나를 포함한다. 예를 들어, 적절한 유로퓸 킬레이트는 디에틸렌 트리아민 펜타아세트산(DTPA) 또는 테트라시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산(DOTA)의 유로퓸 킬레이트를 포함한다. 효소 표지는, 예를 들어 알칼리 포스파타아제, CAT, 루시페라아제, 및 서양고추냉이 퍼옥시다아제를 포함

한다.

[0904] 다수의 공지된 화학적 가교제를 사용하여 2개의 단백질(예를 들어, 항체 및 이종 모이어티)을 가교 결합할 수 있다. 이러한 가교제의 예는 "방해된" 이황화 결합을 포함하는 연결을 통해 2개의 아미노산 잔기를 연결시키는 것들이다. 이들 연결에서, 가교 유닛 내의 이황화 결합은 (이황화 결합의 양측 중 일측에서 그룹을 방해함으로써), 환원된 글루타티온 또는 효소 이황화 환원 효소와 같은 작용에 의한 환원으로부터 보호된다. 적절한 하나의 시약인, 4-숙신이미딜옥시카보닐-α-메틸- α (2-피리딜디티오) 톨루엔 (SMPT)은 2개의 단백질 사이에서 이러한 결합을 형성하는데, 여기서 2개의 단백질 중 하나에는 말단 리신을 사용하고 다른 하나에는 말단 시스테인을 사용한다. 각 단백질 상의 상이한 결합 모이어티에 의해 가교 결합을 유도하는 이종이기능성 시약을 사용할 수도 있다. 다른 유용한 가교결합제는, 2개의 아미노기를 연결하는 시약(예컨대, N-5-아지도-2-니트로벤조일옥시숙신이미드), 2개의 설프히드릴기를 연결하는 시약(예컨대, 1,4-비스-말레이미도부탄), 아미노기와 설프히드릴기를 연결하는 시약(예컨대, m-말레이미도벤조일-N-히드록시숙신이미드 에스테르), 아미노기와 카복실기를 연결하는 시약(예컨대, 4-[p-아지도살리실아미도]부틸아민), 및 아미노기와 아르기닌의 측쇄에 존재하는 구아니디늄기를 연결하는 시약(예컨대, p-아지도페닐 글리옥살 1수화물)을 포함하되 이들로 한정되지 않는다.

[0905] 일부 구현예에서, 방사성 표지는 항체의 아미노산 백본에 직접 접합될 수 있다.

[0906] 대안적으로, 방사성 표지는 더 큰 단백질의 일부로서 포함되거나(예: 유리 아미노기와 결합하여 관련 단백질의 메타-요오드페닐(mIP) 유도체를 형성하는 메타-[^{125}I]요오드페닐-N-히드록시숙신이미드([^{125}I]mIPNHS)에서의 ^{125}I)(예를 들어, Rogers 등의 (1997) *J Nucl Med* 38:1221-1229 참조) 킬레이트(예를 들어, DOTA 또는 DTPA)에 포함되어, 결과적으로 단백질 백본에 결합될 수 있다. 방사성 표지 또는 이를 포함하는 더 큰 분자/킬레이트를 본원에 기술된 항체 또는 항원 결합 단편에 접합하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 이러한 방법은 단백질에 대한 방사성 표지 또는 킬레이트의 결합을 용이하게 하는 조건 (예를 들어, pH, 염 농도 및/또는 온도) 하에서 단백질을 방사성 표지와 함께 인큐베이션하는 단계를 포함한다(예를 들어, 미국 특허 제6,001,329호 참조).

[0907] 단백질(예를 들어, 항체)에 형광 표지("형광단"으로 지칭되기도 함)를 접합하는 방법은 단백질 화학 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 형광단은 형광단에 부착된 숙신이미딜(NHS) 에스테르 또는 테트라플루오로페닐(TFP) 에스테르 모이어티를 사용해 단백질의 유리 아미노기(예를 들어, 리신) 또는 설프히드릴 기(예를 들어, 시스테인)에 접합될 수 있다. 일부 구현예에서, 형광단은 설포-SMCC와 같은 이종이기능성 가교제 모이어티에 접합될 수 있다. 적합한 접합 방법은, 단백질에 대한 형광단의 결합을 용이하게 하는 조건 하에서 항체 단백질 또는 이의 단편을 형광단과 함께 인큐베이션하는 단계를 포함한다. 예를 들어 Welch 및 Redvanly (2003) "Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications," John Wiley and Sons (ISBN 0471495603)를 참조한다.

[0908] 일부 구현예에서, 항체 또는 단편은, 예를 들어, 혈액, 혈청 또는 다른 조직에서 순환 중인 항체의 안정화 및/또는 유지를 개선하는 모이어티로 변형될 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 단편은, 예를 들어, Lee 등의 (1999) *Bioconjug Chem* 10(6): 973-8; Kinstler 등의 (2002) *Advanced Drug Deliveries Reviews* 54:477-485; 및 Roberts 등의 (2002) *Advanced Drug Delivery Reviews* 54:459-476 또는 HESylated (Fresenius Kabi, Germany; 가령, Pavisiζ 등의 (2010) *Int J Pharm* 387(1-2):110-119)에 기술된 바와 같이 PEG화될 수 있다. 안정화 모이어티는 항체(또는 단편)를 적어도 1.5(예를 들어, 적어도 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 또는 50개 이상) 접힘으로 안정성 또는 유지할 수 있다.

[0909] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 글리코실화될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 효소 또는 화학적 처리를 거칠 수 있거나, 세포로부터 생산되어, 항체 또는 단편이 글리코실화를 감소시키거나 없앨 수 있다. 글리코실화가 감소된 항체를 생산하는 방법은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 미국 특허 제6,933,368호; Wright 등의 (1991) *EMBO J* 10(10):2717-2723; 및 Co 등의 (1993) *Mol Immunol* 30:1361에 기술되어 있다.

[0910] **약학적 조성물 및 제형**

[0911] 소정의 실시예들에서, 본 발명은 약제학적으로 허용 가능한 희석제, 담체, 가용화제, 유화제, 보존제 및/또는 보강제를 포함하는 항CD137 항체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0912] 소정의 실시예들에서, 수용 가능한 제형화 물질은 바람직하게는 투여량과 사용된 농도에서 수용자에게 독성이 없다. 특정 구현예에서, 제형화 물질은 s.c. 및/또는 I.V. 투여용 것이다. 소정의 실시예들에서, 약제학적 조성

물은, 예를 들어, Ph, 삼투압, 점도, 투명도, 색상, 동편성, 냄새, 불임성, 안정성, 용해 속도 또는 조성물의 방출, 흡착 또는 침투를 개질하거나, 유지 또는 보존하기 위한 제형화 물질을 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 적합한 제형화 물질은 다음을 포함하되, 이들로 한정되지는 않는다: 아미노산(예: 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신); 항균제; 항산화제(예: 아스코르브산, 아황산나트륨 또는 아황산수소나트륨); 완충제(예: 붕산, 중탄산염, 트리스-HCl, 구연산염, 인산염 또는 기타 유기산); 벌크화제(예: 만니톨 또는 글리신); 킬레이트화제(예: 에틸렌디아민 테트라아세트산(EDTA)); 복합화제(예: 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-시클로덱스트린 또는 히드록시프로필-베타-시클로덱스트린); 충진제; 단당류; 이당류; 및 기타 탄수화물(예: 글루코오스, 만노오스, 또는 덱스트린); 단백질(예: 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린); 착색제, 향미제 및 희석제; 유화제; 친수성 중합체(예: 폴리비닐피롤리돈); 저분자량 폴리펩티드; 염형성 반대 이온(예: 나트륨); 보존제(예: 염화벤즈알코늄, 벤조산, 살리실산, 티메로살, 페네틸 알코올, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산 또는 과산화수소); 용제(예: 글리세린, 프로필렌글리콜 또는 폴리에틸렌글리콜); 당알코올(예: 만니톨 또는 소르비톨); 현탁제; 계면활성제 또는 습윤제(예: 플루로닉, PEG, 소르비탄 에스테르, 폴리소르베이트(예: 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80), 트라이톤, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤, 티록사팔); 안정성 강화제(예: 수크로오스 또는 소르비톨); 긴장성 강화제(예: 알칼리 금속 할라이드, 바람직하게는 염화나트륨 또는 염화칼륨, 만니톨 소르비톨); 전달 비히클; 희석제; 부형제 및/또는 약학적 보조제. (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company (1995) 참조). 특정 구현예에서, 제형은 PBS; 20 mM NaOAC, pH 5.2, 50 mM NaCl; 및/또는 10 mM NAOAC, pH 5.2, 9% 수크로오스를 포함한다. 특정 구현예에서, 최적의 약학적 조성물은, 예를 들어, 의도하는 투여 경로, 전달 포맷 및 원하는 투약량에 따라 당업자에 의해 결정될 것이다. 예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences의 전술한 문헌을 참조한다. 특정 구현예에서, 이러한 조성물은 항CD137 항체의 물리적 상태, 안정성, 생체 내 방출 속도 및/또는 생체 내 제거 속도에 영향을 미칠 수 있다.

[0913] 특정 구현예에서, 약학적 조성물 내의 일차 비히클 또는 담체는 성질이 수성 또는 비수성일 수 있다. 예를 들어, 특정 구현예에서, 적절한 비히클 또는 담체는 주사용 물, 생리학적 식염수 용액 또는 인공 뇌척수액일 수 있으며, 비경구 투여용 조성물에 흔히 사용되는 다른 물질로 보충할 수 있다. 특정 구현예에서, 식염수는 등장성 인산-완충 식염수를 포함한다. 특정 구현예에서, 중성 완충 식염수 또는 혈청 알부민과 혼합된 식염수는 추가로 예시적인 비히클이다. 특정 구현예에서, 약학적 조성물은 약 pH 7.0~8.5의 트리스 완충액, 또는 약 pH 4.0~5.5의 아세테이트 완충제를 포함하며, 이들은 소르비톨 또는 이의 적절한 치환체를 추가로 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항CD137 항체를 포함하는 조성물은 원하는 정도의 순도를 갖는 선택된 조성물을 임의의 제형화제(Remington's Pharmaceutical Sciences, 전술함)와 혼합함으로써, 보관용의 동결 건조된 케이크 또는 수용액 형태로 제조할 수 있다. 또한, 특정 구현예에서, 항CD137 항체를 포함하는 조성물은 수크로오스와 같은 적절한 부형제를 사용하여 동결 건조물(lyophilizate)로서 제형화될 수 있다.

[0914] 특정 구현예에서, 약학적 조성물은 비경구 전달용으로 선택될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 흡입용으로 선택되거나, 경구 투여와 같이 소화관을 경유 전달용으로 선택될 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 이러한 조성물은 당업자의 능력 범위 내에서 제조될 수 있다.

[0915] 특정 구현예에서, 제형화 성분은 투여 부위에 대해 허용 가능한 농도로 존재한다.

[0916] 특정 구현예에서, 조성물을 생리적 pH 또는 약간 낮은 pH, 일반적으로는 약 5 내지 약 8의 pH 범위 내에서 유지하지 위해 완충액이 사용된다.

[0917] 특정 구현예에서, 비경구 투여를 고려하는 경우, 치료용 조성물은, 항CD137 항체를 약학적으로 허용 가능한 비히클로 포함하고, 발열 물질이 없으며, 비경구적으로 허용 가능한 수용액의 형태를 가질 수 있다. 특정 구현예에서, 비경구 주입용 비히클은 항CD137 항체가 멸균 등장성 용액으로 제형화된 멸균 증류수이며, 적절하게 보존된다. 특정 구현예에서, 제조는 원하는 분자를 약품(product)의 방출을 조절하거나 서방출시키는 제제(약품을 데포 제형으로 주입하여 전달될 수 있게 하는 제제), 예컨대 주사 가능한 미소구체, 생체부식성 입자, 중합체 화합물(예컨대 폴리락트산 또는 폴리글리콜산), 비드 또는 리포좀과 함께 제형화시키는 단계를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 히알루론산이 사용될 수도 있는데, 이는 순환계에서 지속 시간을 연장하는 효과를 가질 수 있다. 특정 구현예에서, 원하는 분자를 도입하기 위해 이식 가능한 약물 전달 장치가 사용될 수 있다.

[0918] 특정 구현예에서, 약학적 조성물은 흡입용으로 제형화될 수 있다. 특정 구현예에서, 항CD137 항체는 흡입용 건조 분말로서 제형화될 수 있다. 특정 구현예에서, 항CD137 항체를 포함하는 흡입 용액은 에어로졸 전달을 위한 압축가스(propellant)와 함께 제형화될 수 있다. 특정 구현예에서, 용액은 분무될 수 있다. 폐 투여는, 화학적

으로 변형된 단백질의 폐 전달을 기술하는 PCT 출원 번호 PCT/US94/001875에 추가로 기술되어 있다.

[0919] 특정 구현예에서, 제형은 경구 투여될 수 있는 것으로 고려된다. 특정 구현예에서, 이러한 방식으로 투여되는 항CD137 항체는 정제 및 캡슐과 같은 고형 투여 형태를 구성하는 데 관례적으로 사용되는 담체와 함께 제형화되거나 이러한 담체 없이 제형화될 수 있다. 특정 구현예에서, 캡슐은, 위장관 내에서 생체이용률이 극대화되고 사전 전신 분해가 최소화되는 시점에 제형의 활성 부분을 방출하도록 설계될 수 있다. 특정 구현예에서, 항CD137 항체의 흡수를 용이하게 하기 위한 적어도 하나의 추가적인 제제가 포함될 수 있다. 특정 구현예에서, 희석제, 향미제, 저융점 왁스, 식물성 오일, 윤활제, 현탁제, 정제 분해제, 및 결합제가 사용될 수도 있다.

[0920] 특정 구현예에서, 약학적 조성물은 항CD137 항체의 유효량을 정제의 제조에 적합한 비-독성 부형제와의 혼합물로 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 멸균수 또는 적절한 다른 비히클에 정제를 녹여 단일 투약량 형태의 용액을 제조할 수 있다.

[0921] 특정 구현예에서, 적합한 부형제는, 탄산칼슘, 탄산나트륨이나 중탄산나트륨, 락토오스, 또는 인산칼슘과 같은 불활성 희석제; 또는 전분, 젤라틴 또는 아카시아와 같은 결합제; 또는 스테아린산마그네슘, 스테아르산 또는 탈크와 같은 윤활제를 포함하지만, 이들로 한정되지는 않는다.

[0922] 항CD137 항체를 서방출 제형이나 전달 조절식 제형으로 포함하는 제형을 포함하여, 추가의 약학적 조성물이 당업자에게 명백해질 것이다. 특정 구현예에서, 다양한 다른 서방출 수단 전달 조절식 수단, 예컨대 리포좀 담체, 생체부식성 미세입자 나 다공성 비드, 및 데포 주사 등을 제형화하는 기술도 당업자에게 공지되어 있다.

[0923] 예를 들어, 약학적 조성물의 전달을 위한 다공성 중합체 미세입자의 방출 조절이 기술된 PCT 출원 번호 PCT/US93/00829를 참조한다. 특정 구현예에서, 서방성 제제는 필름이나 마이크로캡슐과 같은 성형된 물품 형태의 반투과성 중합체 매트릭스를 포함할 수 있다. 서방성 매트릭스는 폴리에스테르, 하이드로겔, 폴리락타이드(미국 특허 번호 제3,773,919호 및 EP 058,481 참조), L-글루탐산 및 감마 에틸-L-글루타메이트(Sidman 등의, Biopolymer, 22:547-556(1983) 참조), 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트)(Langer 등의, J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277(1981) 및 Langer, Chem. Tech., 12:98- 105(1982) 참조), 에틸렌 비닐 아세테이트(Langer 등의 전술한 문헌) 또는 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산(EP 133,988 참조)을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 서방성 조성물은 리포좀을 포함할 수도 있는데, 이는 당업계에 공지된 여러 가지 방법 중 어느 하나에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, Eppstein 등의 Proc. Natl Acad. Sci. USA, 82:3688-3692 (1985); EP 036,676; EP 088,046 및 EP 143,949를 참조한다.

[0924] 생체 내 투여에 사용될 약학적 조성물은 일반적으로 멸균 상태이다. 특정 구현예에서, 이는 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 달성될 수 있다. 특정 구현예에서, 조성물이 동결 건조되는 경우, 이러한 방법을 사용하는 멸균은 동결 건조 및 재구성 전에 수행되거나 그 후에 수행될 수 있다. 특정 구현예에서, 비경구 투여용 조성물은 동결 건조된 형태로 보관되거나 용액으로 보관될 수 있다.

[0925] 특정 구현예에서, 비경구 조성물은 일반적으로 멸균 접근 포트를 갖는 용기, 예를 들어 피하 주사 바늘로 관통할 수 있는 스토퍼가 구비된 정맥 주사액용 백이나 바이알에 담겨진다.

[0926] 특정 구현예에서, 약학적 조성물이 제형되고 나면, 이를 용액, 현탁액, 겔, 에멀젼, 고형으로 멸균 바이알에 저장하거나, 탈수하거나 동결건조한 분말로 저장할 수 있다. 특정 구현예에 있어서, 이러한 제형은 즉시 사용 가능한 상태로 저장하거나 투여 전에 재구성해 사용하는 형태 (예를 들어, 동결 건조된 형태)로 저장할 수 있다.

[0927] 특정 구현예에서, 단일 투약량 투여 유닛을 생산하기 위한 키트가 제공된다. 특정 구현예에서, 키트는 건조된 단백질이 담긴 제1 용기 및 수성 제형이 담긴 제2 용기를 모두 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 단일 챔버형 및 다중 챔버형의 미리 채워진 주사기(예를 들어, 액체 주사기 및 리오주사기(lyosyringe))를 함유하는 키트가 포함된다.

[0928] 특정 구현예에서, 치료적으로 사용될 항CD137 항체를 포함하는 약제학적 조성물의 유효량은, 예를 들어 치료 맥락 및 목적에 따라 달라질 것이다. 당업자라면, 특정 구현예에 따른, 치료를 위한 적절한 투약량 수준이, 전달되는 분자, 항CD137 항체가 사용되는 대상 징후, 투여 경로, 및 환자의 크기(체중, 신체 표면 또는 장기 크기) 및/또는 상태(나이 및 일반적인 건강 상태)에 따라 부분적으로 달라진다는 것을 이해할 것이다. 특정 구현예에서, 임상의는 투약량을 적정하고 투여 경로를 수정하여 최적의 치료 효과를 얻을 수 있다. 특정 구현예에서, 투여 빈도에는 제형으로 사용된 항CD137 항체의 약동학적 파라미터가 고려된다. 특정 구현예에서, 임상의는 원하는 효과를 달성하는 투약량에 도달할 때까지 조성물을 투여하게 된다.

[0929] 따라서, 특정 구현예에서, 조성물은 단일 투약량 또는 시간의 경과에 따라 2회 이상의 투약량(동일한 양의 원하는 분자를 함유하거나 함유하지 않을 수 있음)으로서 투여되거나, 이식 장치나 카테터를 통한 연속으로 주입될 수 있다.

[0930] 적절한 투여량에 대한 추가의 개선은 당업자에 의해 일상적으로 이루어지며, 일상적으로 수행되는 이들의 업무 범위에 속한다. 특정 구현예에서, 적절한 투약량은 적절한 투약량-반응 데이터의 사용을 통해 확인될 수 있다.

[0931] 특정 구현예에서, 약학적 조성물의 투여 경로는 알려진 방법, 예를 들어, 경구 투여, 정맥 내, 복강 내, 두개내(내엽 내), 뇌심실 내, 근육 내, 피하, 안구 내, 동맥 내, 척추 내, 또는 병변 내 경로에 의한 주입; 서방형 시스템에 의하거나 이식 장치에 의한 주입에 따른다. 특정 구현예에서, 조성물은 볼루스 주사에 의해 투여되거나, 주입 또는 이식 장치에 의해 연속 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 병용 요법의 개별 성분은 상이한 경로로 투여될 수 있다.

[0932] 특정 구현예에서, 조성물은, 원하는 분자가 흡수되거나 캡슐화된 막, 스폰지 또는 다른 적절한 물질의 이식을 통해 국소적으로 투여될 수 있다. 이식 장치가 사용되는 특정 구현예에서, 장치는 임의의 적합한 조직 또는 기관에 이식될 수 있고, 원하는 분자의 전달은 확산, 정기 방출형 볼루스(timed-release bolus), 또는 연속 투여를 통해 이루어질 수 있다. 특정 구현예에서, 항CD137 항체를 포함하는 약학적 조성물을 생체 외 방식으로 사용하는 것이 바람직할 수 있다.

[0933] 이러한 경우에, 환자로부터 꺼낸 세포, 조직 및/또는 기관은 항CD137 항체를 포함하는 약제학적 조성물에 노출된 후, 후속적으로 이들 세포, 조직 및/또는 기관이 환자에게 이식된다.

[0934] 특정 구현예에서, 항CD137 항체가, 본원에 기술된 것과 같은 방법을 사용해 유전자 조작된 특정 세포를 이식함으로써 전달되어 폴리펩티드를 발현하고 분비할 수 있다. 특정 구현예에서, 이러한 세포는 동물 또는 인간 세포일 수 있고, 자가 세포, 이종 세포 또는 이종 개체 세포일 수 있다. 특정 구현예에서, 세포는 불멸화 될 수 있다. 특정 구현예에서, 면역 반응의 가능성을 감소시키기 위해, 세포는 주변 조직의 침윤을 피하도록 캡슐화 될 수 있다. 특정 구현예에서, 캡슐화 물질은 통상적으로 단백질 생성물(들)의 방출을 가능하게 하지만 환자의 면역 시스템에 의한 세포 파괴, 또는 주변 조직의 다른 유해 인자에 의한 세포의 파괴를 방지할 수 있는 생체적합성, 반투과성 중합체 인클로저 또는 막이다.

[0935] **응용 분야**

[0936] 본원에 기술된 조성물은 진단적 및 치료적 응용 분야에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 검출 가능하게 표지된 항원 결합 분자는 샘플(예를 들어, 생물학적 샘플)에서 표적 항원의 존재 또는 양을 검출하기 위한 분석에 사용될 수 있다. 조성물은 표적 항원 기능(예를 들어, CD137 매개 세포 신호 전달 또는 반응)의 억제를 연구하기 위한 시험관 내 분석에 사용될 수 있다. 예를 들어, 조성물이 표적 항원(예컨대, 단백질 또는 폴리펩티드)에 결합하여 이를 활성화시키는 일부 구현예에서, 조성물은 표적 단백질 또는 폴리펩티드의 활성을 또한 유도하고/하거나 표적 단백질 또는 폴리펩티드와 관련된 장애를 치료하는 데 유용한 추가적인 신규 화합물을 식별하도록 설계된 분석에서 양성 대조군으로서 사용될 수 있다. 예를 들어, CD137-활성화 조성물은 CD137 기능을 유도하거나, 증가시키거나, 자극하는 추가 화합물(예를 들어, 소 분자, 앱타머, 또는 항체)을 식별하는 분석에서 양성 대조군으로서 사용될 수 있다. 조성물은 아래에 상술된 바와 같이 치료 방법에서 사용될 수 있다.

[0937] **키트**

[0938] 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 항CD137 항체를 포함하는 키트를 제공한다. 일부 구현예에서, 키트는 본원에 개시된 바와 같은 항CD137 항체, 및 사용 지침을 포함한다. 키트는, 적절한 용기, 항CD137 항체, 하나 이상의 대조군, 및 다양한 완충제, 시약, 효소 및 당업계에 널리 공지된 다른 표준 성분을 포함할 수 있다.

[0939] 용기는 적어도 하나의 바이알, 웰, 시험 튜브, 플라스크, 병, 주사기, 또는 항CD137 항체를 넣거나 일부 경우에는 적절하게 분획할 수 있는 다른 용기 수단을 포함할 수 있다. 추가의 성분이 제공되는 경우, 키트는 이러한 성분을 넣을 수 있는 추가 용기를 포함할 수 있다. 키트는 또한 상업적 판매를 위해 항CD137 항체 및 임의의 다른 시약 용기를 엄격하게 구분해 담기 위한 수단을 포함할 수 있다. 이러한 용기는 원하는 바이알을 유지시키는 사출 용기 또는 취입 성형식(blow-molded) 플라스틱 용기를 포함할 수 있다. 용기 및/또는 키트에는 사용 및/또는 경고에 대한 지침이 표기된 라벨이 포함될 수 있다.

[0940] 일부 구현예에서, 키트는 항CD137 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 항CD137 항체를 포함하는 약학적 조성물; 및 암 진행을 치료 또는 지연시키거나 종양 성장을 감소 또는 억제하는 것을 필요로 하는 대상체에서

암 진행을 치료 또는 지연시키거나 종양 성장을 감소 또는 억제하기 위한 지침을 포함하는 용기를 포함한다. 일부 구현예에서, 키트는 항CD137 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 항CD137 항체를 포함하는 약학적 조성물; 및 대상체에서 암 진행을 치료 또는 지연시키거나 종양 성장을 감소 또는 억제하기 위해, 항CD137 항체를 필요로 하는 대상체에게 이를 단독으로 투여하거나 다른 제제와 조합하여 투여하기 위한 지침을 포함하는 용기를 포함한다.

[0941] **사용 방법**

[0942] 본 발명의 조성물은 CD137의 검출 및/또는 정량화 및 CD137 기능의 효능화를 관련된 다수의 시험관 내 및 생체 내 유용성을 갖는다.

[0943] 전술한 조성물은, 대상체에서 다양한 암을 치료 또는 예방하는 방법에 특히 유용하다. 조성물은, 부분적으로 투여 경로에 따라 달라지는 다양한 방법을 사용해 인간 대상체와 같은 대상체에게 투여될 수 있다. 경로는 정맥 내 주사 또는 주입(IV), 피하 주사(SC), 복강 내(IP) 주사, 근육 내 주사(IM), 또는 척수 내 주사(IT)일 수 있다. 주사는 볼루스 또는 연속 주입일 수 있다.

[0944] 투여는, 예를 들어, 국소 주입, 주사, 또는 임플란트에 의해 달성될 수 있다. 임플란트는 다공성, 비다공성 또는 젤라틴성 물질로서, 시알라스틱 막(sialastic membrane)이나 섬유와 같은 막을 포함할 수 있다. 임플란트는 대상체에 대한 조성물의 지속 방출 또는 주기적인 방출에 맞게 구성될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 출원 공개 제20080241223호; 미국 특허 제5,501,856호; 제4,863,457호; 및 제3,710,795호; EP488401; 및 EP 430539를 참조하고, 이들 각각의 개시는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 조성물은, 예를 들어, 확산 시스템, 침식성 시스템, 또는 대류 시스템에 기초한 이식 가능한 장치, 예를 들어, 삼투 펌프, 생분해성 임플란트, 전기확산 시스템, 전기 삼투압 시스템, 증기압 펌프, 전해성 펌프, 비등성 펌프, 압전 펌프, 침식 기반 시스템, 또는 전자기계 시스템에 의해 대상체에게 전달될 수 있다.

[0945] 일부 구현예에서, 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 국소 투여를 통해 대상체에게 치료적으로 전달된다.

[0946] 본원에 기술된 항체 또는 이의 단편의 적절한 투약량으로서, 대상체에서 암을 치료하거나 예방할 수 있는 투약량은, 예를 들어, 치료될 대상체의 연령, 성별, 및 체중 및 사용되는 특정 억제제 조성물을 포함하는 다양한 인자에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 암을 가진 대상체를 치료하기 위해 필요한 전체 CD137 항체의 투약량은 동일한 대상체를 치료하기 위해 필요한 CD137 결합 Fab' 항체 단편의 투약량과 비교했을 때 상이할 수 있다. 대상체에게 투여되는 투약량에 영향을 미치는 다른 인자는 예를 들어 암의 유형 또는 중증도를 포함한다. 예를 들어, 전이성 흑색종을 가진 대상체는 교아세포종을 가진 대상체와는 다른 투약량의 항CD137 항체를 투여하는 것이 필요할 수 있다. 다른 인자는 예를 들어, 대상체에게 동시에 영향을 미치거나 이전에 영향을 미친 기타 의학적 장애, 대상체의 일반적인 건강 상태, 대상체의 유전자 분포, 식단, 투여 시간, 배설 속도, 약물 조합, 및 대상체에게 투여되는 임의의 기타 추가 치료제를 포함할 수 있다. 임의의 특정 대상체에 대한 특이적 투약량 및 치료 처방은 이를 치료하는 의료인(예를 들어, 의사 또는 간호사)의 판단에 따라 달라질 수도 있다는 것을 또한 이해해야 한다. 적절한 투약량은 본원에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 고 용량 및 저 용량 모두에서 효과적이다.

[0947] 약학적 조성물은 본원에 기술된 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 치료적 유효량을 포함할 수 있다. 이러한 유효량은, 투여되는 항체의 효과, 또는 (하나 이상의 제제가 사용되는 경우) 항체 및 하나 이상의 추가 활성제의 조합적인 효과에 부분적으로 기초하여 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 본원에 기술된 항체 또는 이의 단편의 치료적 유효량은 개체의 질병 상태, 연령, 성별, 및 체중과 같은 인자, 및 개체에서 원하는 반응(예를 들어 종양 성장의 감소)을 유도하는 항체(및 하나 이상의 부가적인 활성제)의 능력에 따라 달라질 수도 있다. 예를 들어, 치료적 유효량의 항CD137 항체는 당업계에 알려져 있거나 본원에 기술된 특정 장애 및/또는 특정 장애의 증상 중 어느 하나를 억제할 수(중증도를 경감시키거나 발생을 없앨 수) 있다. 치료적 유효량은 조성물의 임의의 독성 또는 유해한 효과가 치료적으로 유익한 효과보다 더 큰 양이다.

[0948] 본원에 기술된 항체 또는 이의 단편의 적절한 인간 투약량은, 예를 들어, I상 투약량 증가 연구에서 추가로 평가될 수 있다. 예를 들어, van Gurp 등의 (2008) *Am J Transplantation* 8(8):1711-1718; Hanouska 등의 (2007) *Clin Cancer Res* 13(2, part 1):523-531; 및 Hetherington 등의 (2006) *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50(10): 3499-3500을 참조한다.

[0949] 일부 구현예에서, 조성물은 조성물이 전체적으로 치료에 효과적이도록, 본원에 기술된 항체 또는 이의 항원 결

합 단편 중 어느 하나, 및 하나 이상의 (예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 또는 11개 또는 그 이상) 추가 치료제를 함유한다. 예를 들어, 조성물은 본원에 기술된 항CD137 항체 및 알킬화제를 함유할 수 있으며, 여기서 항체 및 제제는 조합되었을 때, 대상체에서 암(예를 들어, 흑색종)을 치료하거나 예방하기에 치료적으로 유효한 농도로 각각 존재한다.

[0950] 이러한 조성물의 독성 및 치료 효능은 세포 배양물 또는 실험 동물(예를 들어, 본원에 기술된 임의의 암 중 하나의 동물 모델)에서, 공지된 약학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 이러한 절차는 예를 들어 LD_{50}(모집단의 50%에 대한 치사량) 및 ED_{50}(모집단의 50%에서 치료적으로 유효한 투약량)의 결정에 사용될 수 있다. 독성과 치료 효과 간의 투약량 비는 치료 지수이고, 이는 LD_{50}/ED_{50}. 비율로서 표현될 수 있다. 높은 치료 지수를 나타내는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 바람직하다. 독성 부작용을 나타내는 조성물이 사용될 수 있지만, 이러한 화합물을 손상된 조직의 부위에 표적화하는 전달 시스템의 설계하고, 정상 세포에 대한 잠재적인 손상을 최소화하여 부작용을 줄이기 위해서는 주의해야 한다.

[0951] 세포 배양 분석법 및 동물 연구로부터 얻어진 데이터는 인간에게 사용하기 위한 다양한 범위의 투약량을 제형화하는데 사용될 수 있다. 이러한 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투약량은 독성이 거의 없거나 전혀 없는 ED_{50}을 포함하는 항체 또는 단편의 다양한 순환 농도의 범위에 일반적으로 포함된다. 투약량은 사용된 투약량 형태 및 이용되는 투여 경로에 따라 이러한 범위 내에서 다양할 수 있다. 본원에 기술된 항CD137 항체의 경우, 치료적으로 유효한 투약량은 먼저 세포 배양 분석법에서 추정할 수 있다. 투약량은 세포 배양물에서 결정된 바와 같은 EC_{50}(즉, 증상의 반치 억제를 달성하는 항체의 농도)을 포함하는 순환 혈장 농도 범위를 달성하도록 동물 모델에서 제형화될 수 있다. 이러한 정보는 인간에서 유용한 투약량을 보다 정확하게 결정하는 데 사용될 수 있다. 혈장 수준은, 예를 들어 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 측정될 수 있다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 국소 투여(예컨대, 눈 또는 관절에 대한 투여)가 요구되는 경우, 세포 배양 또는 동물 모델링을 사용하여 국소 부위 내에서 치료학적으로 유효한 농도를 달성하는 데 필요한 용량을 결정할 수 있다.

[0952] 일부 구현예에서, 상기 방법은 암에 대한 다른 치료법과 함께 수행될 수 있다. 예를 들어, 조성물은 방사선, 수술, 표적화 또는 세포독성 화학요법, 화학방사선 요법, 호르몬 요법, 면역 요법, 유전자 치료, 세포 이식 요법, 정밀 약물, 게놈 편집 요법, 또는 기타 약물치료의 전 또는 후에 대상체에게 투여될 수 있다.

[0953] 전술한 바와 같이, 본원에 기술된 조성물(예를 들어, 항CD137 조성물)은 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 암을 치료하기 위해 사용될 수 있다: 카포시 육종(Kaposi's sarcoma), 백혈병(leukemia), 급성 림프구성 백혈병(acute lymphocytic leukemia), 급성 골수성 백혈병(acute myelocytic leukemia), 골수아세포 전골수세포 골수단핵구 단핵구 적백혈병(myeloblasts promyelocyte myelomonocytic monocytic erythroleukemia), 만성 백혈병(chronic leukemia), 만성 골수성(과립구성) 백혈병(chronic myelocytic (granulocytic) leukemia), 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia), 외투세포 림프종(mantle cell lymphoma), 원발성 중추신경계 림프종(primary central nervous system lymphoma), 버킷 림프종 및 변연부 B 세포 림프종(Burkitt's lymphoma and marginal zone B cell lymphoma), 진성다혈구성 림프종(Polycythemia vera Lymphoma), 호지킨병(Hodgkin's disease), 비호지킨병(non-Hodgkin' s disease), 다발성 골수종(multiple myeloma), 발덴스트롬 마크로글로불린혈증(Waldenstrom's macroglobulinemia), 중쇄 질환(heavy chain disease), 고형 종양(solid tumors), 육종 및 암종(sarcomas, and carcinomas), 섬유육종(fibrosarcoma), 점액육종(myxosarcoma), 지방육종(liposarcoma), 연골육종(chondrosarcoma), 골육종(osteogenic sarcoma, osteosarcoma), 척색종(chordoma), 혈관육종(angiosarcoma), 내피육종(endotheliosarcoma), 림프관육종(lymphangiosarcoma), 림프관 내피 육종(lymphangio endothelio sarcoma), 윤활막종(synovioma), 중피종(mesothelioma), 유잉종양(Ewing's tumor), 평활근육종(leiomyosarcoma), 횡문근육종(rhabdomyosarcoma), 대장육종(colon sarcoma), 결장육종(colorectal carcinoma), 췌장암(pancreatic cancer), 유방암(breast cancer), 난소암(ovarian cancer), 전립선암(prostate cancer), 편평세포암종(squamous cell carcinoma), 기저세포암종(basal cell carcinoma), 선암(adenocarcinoma), 땀샘육종(sweat gland carcinoma), 피지선암종(sebaceous gland carcinoma), 유두상암종(papillary carcinoma), 유두상선암(papillary adenocarcinomas), 낭샘암종(cystadenocarcinoma), 수질암종(medullary carcinoma), 기관지암종(bronchogenic carcinoma), 신세포암(renal cell carcinoma), 간암(hepatoma), 담도암(bile duct carcinoma), 융모막암종(choriocarcinoma), 정상피종(seminoma), 배아암종(embryonal carcinoma), 빌름스 종양(Wilm's tumor), 자궁경부암(cervical cancer), 자궁암(uterine cancer), 고환 종양(testicular tumor), 폐암종(lung carcinoma), 소세포 폐암종(small cell lung carcinoma), 비소세포 폐암종(non-small cell lung carcinoma), 방광암종(bladder carcinoma), 상피암종(epithelial carcinoma), 신

경교종(glioma), 성상세포종(astrocytoma), 수모세포종(medulloblastoma), 두개인두종(craniopharyngioma), 뇌실막종(ependymoma), 송과체종(pinealoma), 혈관모 세포종(hemangioblastoma), 속귀신경집종(acoustic neuroma), 희돌기교종(oligodendroglioma), 수막종(menangioma), 흑색종(melanoma), 신경아 세포종(neuroblastoma), 망막아종(retinoblastoma), 비인두암(nasopharyngeal carcinoma), 식도 암종(esophageal carcinoma), 기저세포 암종(basal cell carcinoma), 담도암(biliary tract cancer), 방광암(bladder cancer), 골암(bone cancer), 뇌 및 중추 신경계암(brain and central nervous system (CNS) cancer), 자궁경부암(cervical cancer), 융모암종(choriocarcinoma), 결장암(colorectal cancers), 결합조직암(connective tissue cancer), 소화기계통의 암(cancer of the digestive system), 자궁내막암(endometrial cancer), 식도암(esophageal cancer), 안암(eye cancer), 두경부암(head and neck cancer), 위암(gastric cancer), 상피내 신생물(intraepithelial neoplasm), 신장암(kidney cancer), 후두암(larynx cancer), 간암(liver cancer), 폐암(소세포, 대세포)(lung cancer (small cell, large cell)), 흑색종(melanoma), 신경아세포종(neuroblastoma); 구강암(oral cavity cancer)(예를 들어, 입술, 혀, 입 및 인두의 암), 난소암(ovarian cancer), 췌장암(pancreatic cancer), 망막아종(retinoblastoma), 횡문근육종(rhabdomyosarcoma), 직장암(rectal cancer); 호흡기계통의 암, 육종(sarcoma), 피부암(skin cancer), 위암(stomach cancer), 고환암(testicular cancer), 갑상선암(thyroid cancer), 자궁암(uterine cancer), 및 비뇨기 계통의 암.

[0954] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 단일 요법으로 대상체에게 투여될 수 있다. 대안적으로, 전술한 바와 같이, 항체 또는 이의 단편은 다른 치료제, 예를 들어, 암에 대한 다른 치료제와 병용 요법으로 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 병용 요법은 암을 가졌거나 발생 위험이 높은 대상체에게 치료적 이익을 제공하는 하나 이상의 추가 제제를 상기 대상체(예: 인간 환자)에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물과 공동 투여에 적합한 화학치료제는, 예를 들어: 탁솔, 시토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티듐 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈블라스틴, 콜히친, 독소루비신, 다우노루비신, 디히드록시안트란신디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 1-디하이드로테스토스테론, 글루코코티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 및 푸로마이신 및 이들의 유사체 또는 상동체를 포함한다. 추가 제제는, 예를 들어, 항대사성 물질(예: 메토트렉세이트, 6-메르캅토퓨린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오로우라실 데카바진), 알킬화제(예: 메클로르에타민, 티오TEPA, 클로람부실, 멜팔란, 카르무스틴(BSNU), 로무스틴(CCNU), 시클로포스파미드(BSNU), 부설판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C, 시스-디클로르디아민 플래티넘 (II)(DDP), 프로카바진, 알트레타민, 시스플라틴, 카보플라틴, 옥살리플라틴, 네다플라틴, 사트라플라틴, 또는 트리플라틴 테트라니트레이트), 안트라사이클린(예: 다우노루비신(이전의 다우노마이신) 및 독소루비신), 항생제(예: 닥티노마이신(이전의 악티노마이신) 블레오마이신, 미트라마이신, 및 안트라마이신(AMC)), 및 항유사분열성 제제(예: 빈크리스틴 및 빈블라스틴) 및 테모졸로마이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 항CD137 항체 및 하나 이상의 추가 활성제가 동시에 투여된다. 다른 구현예에서, 항CD137 항체가 먼저 투여되고 하나 이상의 추가 활성제는 시간 내에 두 번째로 투여된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가 활성제가 먼저 투여되고 항CD137 항체는 시간 내에 두 번째로 투여된다.

[0955] 본원에 기술된 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이전에 투여되었거나 현재 투여되는 치료제를 대체하거나 효능을 증강시킬 수 있다. 예를 들어, 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로 치료 시, 하나 이상의 추가 활성제의 투여는 중단되거나 감소될 수 있다(예를 들어, 더 낮은 수준 또는 투여량으로 투여될 수 있음). 일부 구현예에서, 이전 치료제의 투여는 유지될 수 있다. 일부 구현예에서, 이전 치료제는 항CD137 항체가 치료 효과를 제공하기에 충분한 수준에 도달할 때까지 유지될 것이다. 2가지 치료제는 조합으로 투여될 수 있다. 본원에서 정의된 바와 같이, 암의 개선에 대해 대상체(예를 들어, 인간 환자)를 모니터링하는 것은, 질환 파라미터의 변화, 예를 들어, 종양 성장의 감소에 대해 대상체를 평가하는 것을 의미한다. 일부 구현예에서, 평가는 투여 후 적어도 1시간, 예를 들어, 적어도 2, 4, 6, 8, 12, 24 또는 48 시간 후에, 또는 적어도 1일, 2일, 4일, 10일, 13일, 20일 또는 그 이상 후에, 또는 적어도 1주, 2주, 4주, 10주, 13주, 20주 또는 그 이상 후에 수행된다. 대상체는 다음 주기 중 하나 이상에 평가된다; 치료 시작 전; 치료 중; 또는 치료의 하나 이상의 요소가 투여된 후. 평가는 추가의 치료에 대한 필요를 평가하는 것, 예를 들어, 투약량, 투여 빈도, 또는 치료 기간이 변경되어야 하는지 여부를 평가하는 것을 포함할 수 있다. 또한, 선택된 치료 양식을 추가하거나 그만둘 필요가 있는지를 평가하는 것, 예를 들어 본원에 기술된 암에 대한 치료 중 어느 하나를 추가하거나 그만두는 것을 포함할 수도 있다.

[0956] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 예를 들어, T 세포 활성화의 증가 및/또는 증식에 의해 환자에서 T 세포 반응을 조절하기 위해 투여된다. CD137의 가교결합은 T 세포 증식, IFNγ

생성 및 분비, 및 T 세포의 세포용해 활성을 강력하게 향상시킨다. 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시의 항CD137 작용제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 T 세포 활성화를 유도하거나 증가시키고, T 세포 증식을 강화시키며, IFNɣ의 생산 및/또는 분비를 유도하고/하거나 세포용해성 T 세포 반응을 유도하기 위해 이를 필요로 하는 환자에게 투여된다.

[0957] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 환자에서 T 세포군을 조절하거나 T_H2/T_{reg} T 세포군에서 T_H1/T_H17 T 세포군으로 변화시킴으로써 환자에서 항종양 반응을 개선시키거나 강화시킨다. 연구에 따르면, CD137은 T 세포 서브세트, Th1 및 Th2 T 세포 모두에서 발현되는 반면, CD137은 CD4+ T 세포보다 CD8+ T 세포 상에서 더 높은 수준으로 발현된다. 따라서, CD137은 주로 CD8+ T 세포를 공동 자극한다. 따라서, 본원에 기술된 바와 같이, 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 예를 들어 환자에서 T 세포 반응을 조절하고/하거나, 환자에서 T 세포군을 T_H2/T_{reg} T 세포 반응 및/또는 T 세포군에서 T_H1/T_H17 T 세포 반응 및/또는 T 세포군으로 변화시킴으로써 항종양 반응을 향상시키기 위해 환자에게 투여된다.

[0958] 일부 암(예를 들어, 흑색종 및 난소암)에서, 자연 종양-침윤 림프구(TIL)는 최적화된 세포 배양 방법을 통해 풍부해질 수 있고 입양 면역요법에 유용한 종양 반응성 림프구의 공급원을 제공할 수 있다. 입양 TIL 요법은 일부 유형의 암에 대한 항구적 종양 퇴행을 유도할 수 있으며, 이는 암에 대한 TIL 기반 접근법의 개발 및 최적화를 보증한다. 현재, 자연 종양-반응성 TIL의 식별 및 증식은 항원 특이적 CD8+ T 세포의 낮은 수준 및/또는 희귀성으로 인해 과제로 남아있다. T 세포에 의한 CD137의 발현은 활성화에 의존하며, 이는 순환으로부터 또는 종양 샘플로부터 CD137을 발현하는 활성화된 T 세포를 포획할 기회를 제공한다. 따라서, 본원에 기술된 바와 같은 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 활성화된 항원 특이적 T 세포의 선택적으로 풍부화하는 데 사용될 수 있다.

[0959] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체의 효능은 적격 면역 시스템(competent immune system)에 의존한다. 구체적으로, 일부 구현예에서, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포 및/또는 자연 살해 세포의 고갈은 항CD137 항체의 효능을 감소시킨다. 일부 구현예에서, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포 및/또는 자연 살해 세포의 고갈은 본원에 기술된 항CD137 항체에 의한 종양 성장의 억제 또는 감소를 줄인다. 일부 구현예에서, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포 및/또는 자연 살해 세포의 고갈은 본원에 기술된 항CD137 항체에 의한 종양 성장의 억제 또는 감소를 감소시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체의 효능은 종양 미세환경으로의 면역 세포의 침윤에 따라 달라진다. 일부 구현예에서, 종양 미세환경으로의 면역 세포의 침윤은 비장 및/또는 간으로의 침윤의 결여와 결합된다.

[0960] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 보호 항종양 기억 면역 반응을 유도한다. 기억 T 세포는 장기간의 항원특이적 T 세포의 서브세트로서, 이들의 동족 항원을 만나 이에 반응한 후 장기간 지속된다. 이러한 세포는 이들의 동족 항원에 재노출될 때 다수의 효과기 세포로 신속하게 증식한다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 암 항원에 대한 기억 T 세포의 생산을 자극한다. 일부 구현예에서, 암을 치료하거나 치유하기 위해 본원에 기술된 항CD137 항체를 투여받은 대상체는 암에 특이적인 기억 T 세포를 생성한다. 일부 구현예에서, 암을 치료하거나 치유하기 위해 본원에 기술된 항CD137 항체를 투여받은 대상체는 암에 재노출될 때 항종양 기억 면역 반응을 생성한다. 일부 구현예에서, 항종양 기억 면역 반응은 기억 T 세포를 자극해 효과기 세포가 되게하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 암을 치료하거나 치유하기 위해 본원에 기술된 항CD137 항체를 투여받은 대상체는 암 항원에 대한 항종양 기억 면역 반응을 생성한다.

[0961] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체는 종양 미세환경을 사용해 면역 재프로그래밍을 유도한다. 구체적으로, 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 면역 침윤을 유도하고; Treg 증식을 감소, 억제 또는 예방하고; 종양 관련 대식 세포의 증식을 감소, 억제 또는 예방하며; T 세포 기능 소실을 보호하거나 역전시킨다.

[0962] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 종양 미세환경 내로 면역 세포의 침윤을 유도한다. 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 면역 세포 침윤을 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 100%, 적어도 105%, 적어도 110%, 적어도 115%, 적어도 120%, 적어도 125%, 적어도 130%, 적어도 135%, 적어도 140%, 적어도 145%, 또는 적어도 150% 만큼 증가시킨다. 일부 구현예에서, 면역 세포 침윤은 종양 미세환경으로부터 단리된 세포에서 CD45 발현 수준을 측정함으로써 결정된다. 단백질 발현을 측정하기 위한 방법은 당업자에게 공지되어 있으며 본원에 기술되어 있다.

[0963] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 종양 미세환경에서 Treg 세포의 증가를 방지하거나 억제한다. 일부 구현예에

서, 예방 또는 억제는 항CD137 항체의 부재 하에 종양 미세환경에서 Treg 세포의 양에 대해 상대적인 것이다. 일부 구현예에서, Treg 세포 증가의 방지 또는 억제는 기준 항체에 비해 상대적인 것이다. 일부 구현예에서, Treg 세포는 종양 미세환경으로부터 단리된 CD4+ T 세포 상에서 CD25 및 FOX-3P의 발현에 의해 검출된다. 단백질 발현을 측정하기 위한 방법은 당업자에게 공지되어 있으며 본원에 기술된 것이다.

[0964] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 종양 미세환경에서 종양 관련 대식 세포의 증가를 방지하거나 억제한다. 일부 구현예에서, 예방 또는 억제는 항CD137 항체의 부재 하에 종양 미세환경에서 종양 연관 대식세포의 양에 대해 상대적인 것이다. 일부 구현예에서, 종양 관련 대식세포 증가의 예방 또는 억제는 기준 항체에 대해 상대적인 것이다. 일부 구현예에서, 종양 연관 대식세포는 종양 미세환경으로부터 단리된 CD45+ 면역 세포 상에서 CD11b 및 F4/80의 발현에 의해 검출된다. 단백질 발현을 측정하기 위한 방법은 당업자에게 공지되어 있으며 본원에 기술되어 있다.

[0965] 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 종양 미세환경에서 T 세포 기능 소실로부터 T 세포를 보호한다. 일부 구현예에서, 항CD137 항체는 종양 미세환경에서 T 세포 기능 소실을 역전시킨다. 일부 구현예에서, 종양 미세환경에서 T 세포 기능 소실은 항CD137 항체의 부재 시의 종양 미세환경에 비해 본원에 기술된 항CD137 항체 존재 시의 종양 미세환경에서 감소된다. 일부 구현예에서, T 세포 기능 소실은 공동 억제 수용체(예를 들어, PD-1, TIGIT 또는 LAG-3)의 발현을 위한 CD8+ T 세포 또는 CD4+ T 세포를 분석함으로써 결정된다. 일부 구현예에서, T 세포 기능 소실은 종양 미세환경으로부터 단리된 CD4+ 또는 CD8+ T 세포 상에서 PD-1 및 TIGIT의 발현에 의해 검출된다.

[0966] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 생물학적 샘플에서 인간 CD137의 검출 방법 및/또는 정량화 방법에 사용될 수 있다. 따라서, 본원에 기술된 항CD137 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 환자의 질병(예를 들어, 암) 진행을 진단하고, 예측하고/하거나 결정하는 데 사용된다.

[0967] **기타 구현예**

[0968] E1. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분:

[0969] (a) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0970] (b) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 70, 79 및 90에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0971] (c) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 71, 80 및 91에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0972] (d) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 72, 81 및 92에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0973] (e) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 73, 82 및 91에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0974] (f) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 74, 83 및 93에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0975] (g) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 75, 84 및 91에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0976] (h) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 74, 85 및 94에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0977] (i) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및 서열번호 76, 86 및 95에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0978] (j) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 77, 87 및 93에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0979] (k) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 88 및 90에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0980] (l) 서열번호 49, 57 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0981] (m) 서열번호 49, 58 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0982] (n) 서열번호 49, 59 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0983] (o) 서열번호 49, 60 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0984] (p) 서열번호 50, 61 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0985] (q) 서열번호 50, 58 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0986] (r) 서열번호 51, 62 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0987] (s) 서열번호 52, 63 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0988] (t) 서열번호 50, 64 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0989] (u) 서열번호 50, 65 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0990] (v) 서열번호 51, 108 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열;

[0991] (w) 서열번호 107, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열; 및

[0992] (x) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 109, 110 및 92에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열.

[0993] E2. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역은, 서열번호 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 101 및 103으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 6, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 및 105로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[0994] E3. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[0995] E4. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분:

[0996] (a) 서열번호 4 및 6의 각각;

[0997] (b) 서열번호 4 및 28의 각각;

[0998] (c) 서열번호 4 및 30의 각각;

[0999] (d) 서열번호 4 및 32의 각각;

[1000] (e) 서열번호 4 및 34의 각각;

[1001] (f) 서열번호 4 및 36의 각각;

[1002] (g) 서열번호 4 및 38의 각각;

[1003] (h) 서열번호 4 및 40의 각각;

[1004] (i) 서열번호 4 및 42의 각각;

[1005] (j) 서열번호 4 및 44의 각각;

[1006] (k) 서열번호 4 및 46의 각각;

[1007] (l) 서열번호 8 및 6의 각각;

[1008] (m) 서열번호 10 및 6의 각각;

[1009] (n) 서열번호 12 및 6의 각각;

[1010] (o) 서열번호 14 및 6의 각각;

[1011] (p) 서열번호 16 및 6의 각각;

[1012] (q) 서열번호 18 및 6의 각각;

[1013] (r) 서열번호 20 및 6의 각각;

[1014] (s) 서열번호 22 및 6의 각각;

[1015] (t) 서열번호 24 및 6의 각각;

[1016] (u) 서열번호 26 및 6의 각각;

[1017] (v) 서열번호 101 및 6의 각각;

[1018] (w) 서열번호 103 및 6의 각각; 및

[1019] (x) 서열번호 4 및 105의 각각.

[1020] E5. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 101 및 103으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 6, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 및 105로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1021] E6. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분:

[1022] (a) 서열번호 4 및 6의 각각;

[1023] (b) 서열번호 4 및 28의 각각;

[1024] (c) 서열번호 4 및 30의 각각;

[1025] (d) 서열번호 4 및 32의 각각;

[1026] (e) 서열번호 4 및 34의 각각;

[1027] (f) 서열번호 4 및 36의 각각;

[1028] (g) 서열번호 4 및 38의 각각;

[1029] (h) 서열번호 4 및 40의 각각;

[1030] (i) 서열번호 4 및 42의 각각;

[1031] (j) 서열번호 4 및 44의 각각;

[1032] (k) 서열번호 4 및 46의 각각;

[1033] (l) 서열번호 8 및 6의 각각;

[1034] (m) 서열번호 10 및 6의 각각;

[1035] (n) 서열번호 12 및 6의 각각;

[1036] (o) 서열번호 14 및 6의 각각;

[1037] (p) 서열번호 16 및 6의 각각;

[1038] (q) 서열번호 18 및 6의 각각;

[1039] (r) 서열번호 20 및 6의 각각;

[1040] (s) 서열번호 22 및 6의 각각;

[1041] (t) 서열번호 24 및 6의 각각;

[1042] (u) 서열번호 26 및 6의 각각;

[1043] (v) 서열번호 101 및 6의 각각;

[1044] (w) 서열번호 103 및 6의 각각; 및

[1045] (x) 서열번호 4 및 105의 각각.

[1046] E7. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1047] E8. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX를 포함하되, X는 임의의 아미노산인, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1048] E9. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DXPFXLDXXYYYYYX를 포함하되, X는 임의의 아미노산인, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1049] E10. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX를 포함하되, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산인, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1050] E11. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DXPFXLDXXYYYYYX를 포함하되, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산인, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1051] E12. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX를 포함하되, X는 임의의 아미노산이고, 잔기 D95, L100, Y100E, Y100G, Y100H, 또는 이들의 조합의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합의 손실을 초래하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1052] E13. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DX**PF**XL**D**XX**YYY**YYX를 포함하되, X는 임의의 아미노산이고, 잔기 P97, F98, D100A, Y100D, Y100F 또는 이들의 조합의 알라닌으로의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합의 손실을 초래하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1053] E14. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 DX**PF**XL**D**XX**YYY**YYX를 포함하되,

X는 임의의 아미노산이고, 잔기 P97, F98, D100A, Y100D, Y100F 또는 이들의 조합의 알라닌을 제외한 임의의 잔기로의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합을 증가시키는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1054] E15. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체, 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하고, 중쇄 CDR3은 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$을 포함하되, X_1은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산인, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1055] E16. 구현예 15에서, X_2는 프롤린이고, X_3은 페닐알라닌 또는 트립토판이고, X_5는 아스파르트산 또는 글루탐산이고, X_8은 티로신이며, X_9는 티로신인, 단리된 단클론 항체.

[1056] E17. 구현예 8 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 mAb1과 교차 경쟁하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1057] E18. 구현예 8 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 mAb1, mAb8 또는 mAb10과 교차 경쟁하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1058] E19. 구현예 8 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 적어도 mAb1의 기능적 특성을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1059] E20. 구현예 8 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 적어도 mAb1, mAb8 또는 mAb10의 기능적 특성을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1060] E21. 구현예 8 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 mAb1과 적어도 동등한 K_D 값을 갖는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1061] E22. 구현예 8 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 mAb1, mAb8 또는 mAb10과 적어도 동등한 K_D 값을 갖는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1062] E23. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 인간 CD137에 결합할 때, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분이 mAb1이 결합된 아미노산 잔기, 또는 mAb1의 항원 결합 단편 중 적어도 하나에 결합하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1063] E24. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 인간 CD137에 결합할 때, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분이 (i) mAb1이 결합된 아미노산 잔기, 또는 mAb1의 항원 결합 단편 중 적어도 하나에 결합하여, (ii) 인간 CD137을 효능화하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1064] E25. 구현예 23 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체가 결합된 에피토프를 포함하는 아미노산 잔기는 mAb1 항체의 파라토프를 포함하는 아미노산 잔기의 4옹스트롬 내에 위치하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1065] E26. 구현예 23 내지 25 중 어느 하나에 있어서, 항체가 결합된 에피토프의 돌연변이는 항체 및 항체 mAb1에 대한 결합을 억제, 감소 또는 차단하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1066] E27. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 약 40~100 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1067] E28. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서,

[1068] (i) 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 약 40~100 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[1069] (ii) 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 DXXXXLXXXXYXYYX를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하되, X는 임의의 아미노산인, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1070] E29. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분으로서,

[1071] (i) 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 약 40~100 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하고;

[1072] (ii) 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 아미노산 서열 $DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하되, X_1은 임의의 아미노산이고, X_2는 비극성 아미노산이고, X_3은 비극성 아미노산이고, X_4는 임의의 아미노산이고, X_5는 극성 아미노산이고, X_6은 임의의 아미노산이고, X_7은 임의의 아미노산이고, X_8은 극성 아미노산이고, X_9는 극성 아미노산이며, X_{10}은 임의의 아미노산인, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1073] E30. 구현예 27에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 아미노산 서열 DXPFXLDXXYYYYYX를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하되, X는 임의의 아미노산인, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1074] E31. 구현예 28 내지 30 중 어느 하나에 있어서, 중쇄 CDR3의 잔기 D95, L100, Y100E, Y100G, Y100H, 또는 이들의 조합의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합의 손실을 초래하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1075] E32. 구현예 28 내지 31 중 어느 하나에 있어서, 잔기 P97, F98, D100A, Y100D, Y100F, 또는 이들의 조합의 알라닌으로의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합의 감소를 초래하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1076] E33. 구현예 28 내지 31 중 어느 하나에 있어서, 잔기 P97, F98, D100A, Y100D, Y100F, 또는 이들의 조합의 알라닌을 제외한 임의의 잔기로의 돌연변이는 인간 CD137에 대한 결합을 증가시키는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1077] E34. 구현예 28, 및 29 내지 33 중 어느 하나에 있어서, X는 알라닌을 제외한 임의의 아미노산인, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1078] E35. 구현예 29, 및 31 내지 33 중 어느 하나에 있어서, X_2는 프롤린이고, X_3은 페닐알라닌 또는 트립토판이고, X_5는 아스파르트산 또는 글루탐산이고, X_8은 티로신이며, X_9는 티로신인, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1079] E36. 구현예 1 내지 25 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 약 45~95 nM, 50~90 nM, 55~85 nM, 60~80 nM, 65~75 nM, 55~75 nM, 40~70 nM, 50~80 nM, 또는 60~90 nM의 친화도(K_D)로 인간 CD137에 결합하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1080] E37. 구현예 27 내지 36 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하되, 중쇄 CDR3은 서열번호 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1081] E38. 구현예 27 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분:

[1082] (a) 서열번호 48, 56 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열; 및

[1083] (b) 서열번호 51, 108 및 68에 각각 제시된 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 서열번호 69, 78 및 89에 각각 제시된 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열.

[1084] E39. 구현예 27 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 4 및 101로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1085] E40. 구현예 27 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분:

[1086] (a) 서열번호 4 및 6의 각각; 및

[1087] (b) 서열번호 101 및 6의 각각.

[1088] E41. 구현예 27 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하되, 중쇄 가변 영역은 서열번호 4 및 101로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1089] E42. 구현예 27 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분:

[1090] (a) 서열번호 4 및 6의 각각; 및

[1091] (b) 서열번호 101 및 6의 각각.

[1092] E43. 구현예 1 내지 42 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 인간 CD137에 특이적으로 결합하여 이를 효능화하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1093] E44. 구현예 1 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 다음의 특성 중 적어도 하나 이상 나타내는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분:

[1094] (a) CD137 삼량체의 이량체화를 유도 또는 강화함;

[1095] (b) CD137 삼량체의 다량체화를 유도 또는 강화함;

[1096] (c) 인간 CD137 매개 T 세포 활성화를 유도 또는 강화함;

[1097] (d) 인간 CD137 매개 세포독성 T 세포 반응을 유도 또는 강화함;

[1098] (e) 인간 CD137 매개 T 세포 증식을 유도 또는 강화함;

[1099] (f) 인간 CD137 매개 사이토카인 생성을 유도 또는 강화함;

[1100] (g) 간 내 및/또는 비장 내 T 세포 활성화 및/또는 T 세포 증식을 유의미하게 유도 또는 강화하지 않음;

[1101] (h) 1 x 10^{-6} 이하의 평형 해리 상수 평형 K_D로 인간 CD137에 결합함; 또는

[1102] (i) 특성 (a)~(h)의 조합.

[1103] E45. 구현예 44에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 T 세포 활성화를 유도 또는 강화하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 T 세포 활성화를 유의미하게 유도 또는 강화하지 않는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1104] E46. 구현예 44에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 세포독성 T 세포 반응을 유도 또는 강화하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 세포독성 T 세포 반응을 유의미하게 유도 또는 강화하지 않는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1105] E47. 구현예 44에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 T 세포 증식을 유도하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 T 세포 증식을 유의미하게 유도하지 않는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1106] E48. 구현예 44에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 사이토카인 생성을 유도 또는 강화하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 사이토카인 생성을 유의미하게 유도 또는 강화하지 않는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1107] E49. 구현예 44 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 특성은 Fc 수용체 결합에 의존하지 않는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1108] E50. 구현예 44 내지 49 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 특성은 Fc 수용체 결합에 의해 강화되는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1109] E51. 구현예 1 내지 50 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 시노몰구스 CD137 및/또는 마우스 CD137과 교차 반응하는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1110] E52. 인간 CD137에 결합하고 다음 특성 중 적어도 하나를 나타내는 단리된 작용성 단클론 항체:

[1111] (a) 인간 CD137 삼량체의 이량체화를 유도 또는 강화함;

[1112] (b) 인간 CD137 삼량체의 다량체화를 유도 또는 강화함;

[1113] (c) 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 T 세포 활성화를 유도 또는 강화하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 T 세포 활성화를 유의미하게 유도 또는 강화하지 않음;

[1114] (d) 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 세포독성 T 세포 반응을 유도 또는 강화하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 세포독성 T 세포 반응을 유의미하게 유도 또는 강화하지 않음;

[1115] (e) 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 사이토카인 생성을 유도 또는 강화하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 사이토카인 생성을 유의미하게 유도 또는 강화하지 않음;

[1116] (f) 종양 미세환경에서 인간 CD137 매개 T 세포 증식을 유도 또는 강화하지만, 비장 및/또는 간에서는 인간 CD137 매개 T 세포 증식을 유의미하게 유도 또는 강화하지 않음;

[1117] (g) 1×10^{-6} 이하의 평형 해리 상수 평형 K_D로 인간 CD137에 결합함; 또는

[1118] (h) 특성 (a)~(g)의 임의의 조합.

[1119] E53. 구현예 1 내지 52 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, 및 IgE 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1120] E54. 구현예 53에 있어서, 상기 항체는 IgG1 항체 또는 IgG4 항체인, 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분.

[1121] E55. 약학적 조성물로서, 구현예 1 내지 54 중 어느 하나의 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분, 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는, 약학적 조성물.

[1122] E56. 구현예 1 내지 54 중 어느 하나의 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 경쇄, 중쇄, 또는 경쇄와 중쇄 둘 다를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산.

[1123] E57. 구현예 56의 핵산을 포함하는 발현 벡터.

[1124] E58. 구현예 57의 발현 벡터로 형질 변환된 세포.

[1125] E59. 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 생산하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 발현을 허용하는 조건 하에서 구현예 58에 따른 세포를 유지하는 단계를 포함하는, 방법.

[1126] E60. 구현예 59에 있어서, 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 수득하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

[1127] E61. 대상체에서 인간 CD137 삼량체의 이량체화를 유도 또는 강화하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 구현예 1 내지 54 중 어느 하나의 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 구현예 55의 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[1128] E62. 대상체에서 인간 CD137 삼량체의 다량체화를 유도 또는 강화하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 구현예 1 내지 54 중 어느 하나의 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 구현예 55의 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[1129] E63. 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 T 세포 활성화를 유도 또는 강화하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 구현예 1 내지 54 중 어느 하나의 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 구현예 55의 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[1130] E64. 구현예 63에 있어서, T 세포 활성화는 종양 미세환경에서 발생하는, 방법.

[1131] E65. 구현예 63에 있어서, T 세포 활성화는 대상체의 비장 및/또는 간에서는 유의미하게 발생하지 않는, 방법.

[1132] E66. 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 세포독성 T 세포 반응을 유도 또는 강화하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 구현예 1 내지 54 중 어느 하나의 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 구현예 55의 약

학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[1133] E67. 구현예 66에 있어서, 세포독성 T 세포 반응은 종양 미세환경에서 발생하는, 방법.

[1134] E68. 구현예 66에 있어서, 세포독성 T 세포 반응은 대상체의 비장 및/또는 간에서는 유의하게 발생하지 않는, 방법.

[1135] E69. 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 사이토카인 생성을 유도 또는 강화하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 구현예 1 내지 54 중 어느 하나의 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 구현예 55의 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[1136] E70. 구현예 69에 있어서, 생성된 사이토카인은 IL-2, TNFα, IL-13, IFNɣ, 또는 이들의 조합인, 방법.

[1137] E71. 구현예 69 또는 구현예 70에 있어서, 사이토카인 생산은 종양 미세환경에서 발생하는, 방법.

[1138] E72. 구현예 69 또는 구현예 70에 있어서, 사이토카인 생성은 대상체의 비장 및/또는 간에서는 유의하게 발생하지 않는, 방법.

[1139] E73. 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 T 세포 증식을 유도 또는 강화하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 구현예 1 내지 54 중 어느 하나의 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 구현예 55의 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[1140] E74. 구현예 73에 있어서, T 세포 증식은 종양 미세환경에서 발생하는, 방법.

[1141] E75. 구현예 73에 있어서, T 세포 증식은 대상체의 비장 및/또는 간에서는 유의미하게 발생하지 않는 방법.

[1142] E76. 종양을 감소시키거나 종양 성장을 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 구현예 1 내지 54 중 어느 하나의 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 구현예 55의 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[1143] E77. 대상체에서 인간 CD137에 의해 매개된 장애를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 구현예 1 내지 54 중 어느 하나의 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 구현예 55의 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[1144] E78. 대상체에서 암을 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 구현예 1 내지 54 중 어느 하나의 단리된 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 구현예 55의 약학적 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[1145] E79. 구현예 78에 있어서, 암은 흑색종, 신경 교종, 신암, 및 두경부암으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

[1146] E80. 구현예 76 내지 79 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 Fc 감마 수용체에 결합하는, 방법.

[1147] E81. 구현예 76 내지 80 중 어느 하나에 있어서, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, 자연 살해 세포, 또는 이들의 조합의 고갈은 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 효능을 감소시키는, 방법.

[1148] E82. 생물학적 샘플에서 인간 CD137의 존재 또는 부재를 검출하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[1149] (i) 생물학적 샘플을 구현예 1 내지 54 중 어느 하나의 항체와 접촉시키되, 항체는 검출 가능한 물질로 표지되는 단계; 및

[1150] (ii) 인간 CD137에 결합된 항체를 검출하여 생물학적 샘플에서 인간 CD137의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함하는, 방법.

[1151] **실시예**

[1152] 본 개시는 특정 구현예를 참조하여 기술되었지만, 구현예에 대한 다양한 변경이 이루어질 수 있고, 본 발명의 진정한 사상과 범주를 벗어나지 않고도 균등물이 대체될 수 있다는 것을 당업자는 이해할 것이다. 또한, 특정 상황, 재료, 물질의 조성, 방법, 방법의 단계(들)를 본 개시의 목적, 사상 및 범주에 맞게 조정하기 위한 많은 변경이 이루어질 수 있다. 이러한 모든 변경은 본 발명의 범위에 포함되도록 의도된다.

[1153] **실시예 1: 효모에서 생성된 합성 인간 단클론 항체는 재조합 인간 CD137에 대한 결합을 나타냄**

[1154] EZ-Link Sulfo-NHS-비오틴화 키트(Thermo Scientific)를 사용해 정제된 CD137 단백질 항원을 비오틴화하였다. CD137 항원을 약 1 mg/mL까지 농축시키고 PBS로 완충액을 교환한 후, 1:7.5 몰비의 비오틴화 시약을 첨가하였다(EZ-Link Sulfo-NHS-비오틴화 키트, Thermo Scientific, Cat #21425). 혼합물을 4℃에 밤새 방치한 후, 또 다른 완충액 교환을 통해 용액 중의 유리 비오틴을 제거하였다. 비오틴화는 ForteBio를 이용해 표지된 단백질의 스트렙트아비딘 센서 결합을 통해 확인하였다. CD137 단백질 항원의 성공적인 비오틴화는, 제조사의 지침에 따라 ForteBio Octet™ Red384 간섭계(Pall ForteBio, 캘리포니아주 멘로 파크 소재)에 장착된 스트렙트아비딘 결합 바이오센서에 대한 검출 가능한 결합을 통해 확인하였다(데이터 미도시).

[1155] 각각 약 10^9개의 다양한 항체가 포함된 효모 기반의 8가지 미처리 인간 합성 항체 라이러브리를 전술한 바와 같이 설계하고, 생성하여, 전파하였다(예를 들어, WO2009036379; WO2010105256; WO2012009568; Xu 등, Protein Eng Des Sel. 2013 Oct;26(10):663-70 참조). 비오틴화된 인간 CD137-Fc 융합체에 대해 8가지 미처리 라이브러리를 사용해 8번의 병렬 선택을 수행하였다.

[1156] 첫 2번의 선택의 경우, 본질적으로 기술된 바와 같이, Miltenyi MACS 시스템을 사용하는 자기 비드 분류 기술을 수행하였다(Siegel 등, J Immunol Methods. 2004 Mar;286(1-2):141-53 참조). 요약하자면, 0.1% BSA가 포함된 FACS 세척 완충액 PBS 중에서 효모 세포(약 10^{10} 세포/라이브러리)를 10 mL의 10 nM 바이오틴화된 인간 CD137-Fc 융합 항원과 함께 15분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 얼음처럼 차가운 50 mL의 세척 완충액으로 1회 세척한 후, 세포 펠릿을 40 mL 세척 완충액 중에 재현탁하고, 500 μl 스트렙트아비딘 마이크로비드(Miltenyi Biotec, 독일 베르기슈글라트바흐 소재. Cat # 130-048-101)를 효모에 첨가하고, 4℃에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 다음으로, 효모를 펠릿화하여 5 mL 세척 완충액 중에 재현탁하고, MACS LS 컬럼(Miltenyi Biotec, 독일 베르기슈글라트바흐 소재. Cat # 130-048-101) 상에 첨가하였다. 5 mL를 첨가한 후, 3 mL FACS 세척 완충액으로 컬럼을 3회 세척하였다. 그런 다음, 컬럼을 자기장에서 꺼내고, 5 mL의 성장 배지로 효모를 용출시킨 다음 밤새 성장시켰다.

[1157] 2회의 MACS 후에, 유세포 계측(FACS)를 사용해 분류를 3회 실시하였으며, 이는 이어지는 3개의 단락에 기술된다.

[1158] *Fc 항원을 이용한 8번의 병렬 선택을 사용하는 선택 전략*

[1159] MACS 선택의 8가지 라이브러리는 3회의 FACS 선택을 통해 수득하였다. 라이브러리당 대략 $1X10^8$개의 효모를 펠릿화하고, 세척 완충액으로 3회 세척하고, 10 nM의 비오틴화된 인간 CD137-Fc 융합물, 및 별도로 10 nM의 비오틴화된 쥣과 CD137-Fc 융합 항원과 함께 실온에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 그런 다음, 효모를 2회 세척하고, 1:100으로 희석된 염소 항인간 $F(ab')_2$ 카파-FITC(Southern Biotech, 앨라배마주 버밍햄 소재, Cat# 2062-02)로 염색하고, 2차 시약으로서 1:500으로 희석된 스트렙트아비딘-Alexa Fluor 633(Life Technologies, 뉴욕주 그랜드 아일랜드 소재, Cat # S21375) 또는 1:50으로 희석된 Extravidin-피코에리트린(Sigma-Aldrich, 세인트루이스 소재, Cat # E4011) 중 하나로 15분 동안 4℃에서 염색하였다. 얼음처럼 차가운 세척 완충액으로 2회 세척한 후, 세포 펠릿을 0.4 mL 세척 완충액에 재현탁하고, 뚜껑에 염료명이 기재된 튜브에 옮겼다. FACS ARIA 분류기(BD Biosciences)를 사용해 분류를 수행하였고, 분류 게이트(sort gate)는 CD137 결합만을 선택하도록 결정하였다. 첫 번째 FACS에서의 쥣과- 및 인간-선택 모집단을 이어서 다음 차에 사용하였다.

[1160] 위에서 선택된 모집단에 대한 2번째 및 3번째 FACS에는 인간 및/또는 쥣과 CD137 시약에 대한 결합제를 대상으로 한 양성 분류를 포함시키거나, 다중특이적 시약 결합제를 줄이기 위한 음성 분류를 포함시켰다(Xu 등의 PEDS. 2013 Oct;26(10):663-70 참조). 특정 선택 출력의 다중특이적 결합 또는 표적 결합의 양에 따라, 양성 분류를 음성 분류 이후에 수행하거나 그 반대로 하여 제한된 양의 다중특이적 결합으로 전체 결합 모집단을 충분히 활용하였다. 경쟁 선택도 문헌의 대조군 mAbs로 수행하였다. 경쟁 선택을 위해, mAb4(우렐루맙; Bristol-Myers Squibb; CAS 번호: 934823-49-1) 및 mAb5(우토밀루맙; Pfizer; CAS 번호: 1417318-27-4)를 비오틴화된 인간 CD137-Fc 융합물로 미리 복합체화하였다. 대조군 mAb의 존재 하에 결합하고 결합하지 않는 항체를 FACS를 위해 선택하였다. 이들 회차의 출력을 플레이팅하고, 시퀀싱 및 특징분석을 위해 단리물을 선택하였다.

[1161] *선택된 미처리군에서 식별된 클론의 친화도 성숙*

[1162] 비오틴화된 인간 CD137 Fc 융합 출력에 대한 첫 번째 FAC 분류의 중쇄를 사용해 4번의 추가 선택 회차에 사용된 경쇄 다양화 라이브러리를 제조하였다. 이러한 선택 회차 첫 번째에는 10 nM 비오틴화된 인간 CD137-Fc 융합물

과 접합된 Miltenyi MAC 비드를 항원으로서 사용하였다.

[1163] MAC 비드 선택 후에, 3번의 FACS 분류를 수행하였다. 이러한 회차 중 첫 번째에는 바이오틴화된 인간 CD137-Fc 융합물을 10 nM로 사용하였다. 전술한 2번 째 FACS에는 마우스 CD137 시약에 대한 결합제를 대상으로 한 양성 분류, 전술한 대조군 mAbs를 사용하는 경쟁 분류, 또는 전술한 바와 같이 다중특이적 시약 결합제를 감소시키기 위한 음성 분류를 포함시켰다. 3번째와 마지막 FACS 선택 회차는 비오틴화된 쥣과 CD137 Fc 융합물을 10 nM로 사용하거나 비오틴화된 인간 단량체 CD137을 50 nM로 사용하여 수행하였다. 전술한 각 FACS 선택 회차에서의 개별 콜로니를 시퀀싱과 특징 분석을 위해 선택하였다.

[1164] *IgG 및 Fab의 생산 및 정제*

[1165] 효모 클론을 포화되도록 성장시킨 다음, 진탕하면서 30℃에서 48시간 동안 유도하였다. 유도 후, 효모 세포를 펠릿화하고, 정제용 상청액을 수확하였다. 단백질 A 컬럼을 사용해 IgG를 정제하고, 아세트산(pH 2.0)으로 용출시켰다. 파파인 분해에 의해 Fab 단편을 생성하고 CaptureSelect IgG-CH1 친화도 매트릭스(Life Technologies, Cat # 1943200250)를 이용해 정제하였다.

[1166] **실시예 2: 에피토프 비닝 및 재조합 CD137에 대한 인간 항CD137 항체 친화도의 결정**

[1167] 실시예 1에서 단리한 항체의 에피토프 비닝은, 표준 샌드위치 포맷 결합 비닝 분석을 사용하여 Forte Bio Octet Red384 시스템(Pall Forte Bio Corporation, 캘리포니아주 멘로 파크 소재)을 이용해 수행되었다. CD137 대조군 항체 IgG를 AHQ 센서 상에 첨가하고, 무관한 인간 IgG1 항체를 사용해 센서 상의 비점유 Fc-결합 부위를 차단하였다. 그런 다음, 센서를 100 nM 표적 항원에 노출시킨 다음, 실시예 1에 기술된 바와 같이 식별된 단리된 항체에 노출시켰다. ForteBio의 데이터 분석 소프트웨어 7.0을 사용해 데이터를 처리하였다. 항원 결합 후 제2 항체에 의한 추가의 결합은 비점유 에피토프(비경쟁자)를 나타내는 반면, 비결합은 에피토프 차단(경쟁자)을 나타낸다(데이터 미도시).

[1168] CD137 항체의 친화도는 ForteBio Octet을 이용해 이들의 동역학 상수(k_a, k_d, K_D)를 측정함으로써 결정하였다. ForteBio 친화도 측정은 일반적으로 전술한 바와 같이 수행하였다(Estep 등의 MAbs. 2013 5(2):270-8 참조). 요약하자면, ForteBio 친화도 측정은 항체(IgG)를 AHQ 센서 상에 온라인으로 첨가함으로써 수행하였다. 센서는 분석 완충액 중에서 30분 동안 오프라인으로 평형화한 다음, 베이스라인이 구축에 위해 60초 동안 온라인으로 모니터링하였다. Avid 결합 측정을 위해, IgG가 첨가된 센서를 100 nM 항원(인간, 시노몰구스, 또는 쥣과 CD137)에 3분 동안 노출하고, 그 후 센서를 3분 동안 분석 완충액으로 옮겨 해리 속도(off-rate)를 측정하였다. 1가 결합 측정 값은 인간 CD137-Fc 융합물을 AHQ 센서에 첨가하고, 이어서 200 nM 항체 Fab 용액에 노출시킴으로써 수득하였다. 동역학 데이터를 1:1 결합 모델을 사용해 ForteBio의 데이터 분석 소프트웨어에 피팅시켰다(데이터 미표시).

[1169] 항체가 리간드 차단 항체인지 여부도 결정하였다. 구체적으로, 리간드 차단 실험은 Octet HTX(ForteBio) 및 비표지 MX96 SPRi(Caterra) 둘 다를 이용해 수행하였다. mAb1은 Octet 센서 또는 MX96 칩 센서를 이용해 포획하였다. mAb1이 미리 첨가된 센서에 CD137과 CD137L을 순차적으로 발랐다. CD137L에 노출시 반응의 증가는, mAb1과 CD137L이 CD137에 결합하기 위해 경쟁하지 않았음을 나타낸다. 한 편, 신호의 변화 결여는 경쟁을 나타냈는데, 대조 항체 mAb5가 이에 해당하는 경우였다. mAb1은 CD137에 대한 CD137L의 결합을 억제하지 않았으며(데이터 미도시), 따라서 비-리간드 차단 항체로 간주하였다.

[1170] **실시예 3: 친화도 성숙된 항CD137 항체의 결합 친화도 분포**

[1171] 2개의 돌연변이체 라이브러리를 사용해 친화도 성숙된 항CD137 항체를 생성하였다. 제1 라이브러리는 중쇄에 돌연변이를 포함하고, 제2 라이브러리는 경쇄에 돌연변이를 포함하였으며, 여기서 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3의 공여자 다양성이 생성되었다. 돌연변이체 라이브러리는 친화성 증가 및 마우스 CD137과의 교차 반응성 유지를 목표로 3회의 파지 패닝(phage panning)을 거쳤다. 각 회차에서, 비오틴화된 항원에 대한 초기 결합(즉, 과량의 비표지 항원 또는 부모 IgG와 함께 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션) 후 해리 속도 경쟁 단계를 사용하였다.

[1172] 상이한 선택 회차에서 생성된 항CD137 항체를 k_d/k_a 이중 로그 도표 상에 표시하였다. 겉보기 결합 및 해리 동역학 속도 상수(k_a 및 k_d 값)은 PBS-T 0.01%의 영동 완충액 중에서 SPRi 판독기(MX96, Carterra)를 이용해 측정하였다. 항인간 CD137 항체는 CFM(Carterra)을 이용해 카복시메틸덱스트란 하이드로겔 50L 칩(Xantec bioanalytics) 상에 공유 인쇄하였다. 갓 혼합한 활성화 시약(H2O 중 150 ml 0.4 M EDC 및 150 ml 0.1 M sulfo-NHS)을 사용해 SPR 기질의 표면을 7분 동안 활성화시켰다. 아세트산 완충액 pH 4.5 중 10 mg/ml의 항체를

사용해 15분 동안 인쇄하였다. 이어서, 인쇄된 칩을 SPRi 판독기(MX96, Carterra) 상에서 1 M 에탄올아민으로 15분 동안 퀸칭하였다. 동역학 분석을 위해, 정제된 재조합 his 태그된 인간 CD137(0, 2.05, 5.12, 12.8, 32, 80, 200, 500 nM)을 순차적으로 주사하였다. 각 농도에 대해, 5분의 결합 시간에 이어서 10분의 해리 시간을 두었다. SPR 검사 도구 및 Scrubber 소프트웨어를 이용해 데이터를 처리하고 분석하였다. 동역학 데이터를 세포간 기준 스팟과 함께 참조하고, 완충액 교환 사이클에도 이중 참조한 다음, 1:1 결합 모델에 전체적으로 피팅하여 이들의 겉보기 결합 및 해리 동역학 속도 상수(k_a 및 k_d 값)를 결정하였다. 비율(k_d/k_a)을 사용해 각 항원/mAb 상호 작용의 K_D 값($K_D=k_d/k_a$)을 유도하였다.

[1173] K_D(k_d/k_a)가 10~20 nM인 항체는 상향 삼각형으로 도시되고, K_D가 10 nM 미만인 것들은 역삼각형으로 도시되어 있다(**도 1**). 중쇄 만 친화도 성숙된 것(상단 패널) 또는 경쇄 만 친화도 성숙된 것(하단 패널)은 둘 다 부모 항체(mAb1)보다 높은 결합 친화도로 항CD137 항체를 단리시켰다(**도 1**). mAb1의 중쇄 및 경쇄 가변 영역은 서열번호 4 및 6에 각각 제시되어 있다.

[1174] **실시예 4: 항CD137 항체의 중쇄 CDR3(CDRH3)을 포함하는 중요 결합 잔기의 식별**

[1175] CDRH3 내의 어떤 아미노산 잔기가 마우스 및 인간 CD137 폴리펩티드에 대한 mAb1의 결합에 중요한지를 결정하기 위해, 알라닌 스캐닝을 수행하였다. mAb1 개방 해독 프레임의 유도체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드의 세트를 생성하였고, 여기서 각각의 유도체는 CDRH3을 포함하는 야생형 아미노산 잔기 위치에서 단일 알라닌 잔기 치환을 함유하였다. 서열번호 4의 D95 내지 M100I는 야생형 코돈을 알라닌 코돈 GCC로 치환함으로써 각각 알라닌으로 돌연변이시켰다. 알라닌 치환된 각각의 mAb1 유도체의 각 CDRH3의 아미노산 서열은 서열번호 111~125에 제시되어 있다. 알라닌 치환된 15개의 mAb1 유도체 각각을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 Gibson Assembly를 통해 발현 벡터(aglyco-IgG1, DID-2600)로 개별적으로 클로닝하였다. 알라닌 치환된 각 mAb1 유도체를 당업계에 공지된 표준 기술을 사용하여 발현시키고 정제하였다. 알라닌 치환된 각 mAb1 유도체의 인간 및 마우스 CD137에 대한 결합 친화도는, 인간 CD137(huCD137)의 경우 Wasatch SPR 동역학 측정을 통해 결정하고, 마우스 CD137(mCD137)의 경우 평형 세포-결합 분석법을 통해 결정하였다.

[1176] **표 1**은 각 돌연변이체에 대해 계산된 해리 상수(K_D)를 포함한다. 표에서 "*약함*"이라고 표시된 경우, 백그라운드를 상회하는 측정 가능한 결합이 있지만, 정확한 K_D 값을 할당하기 위한 곡선 피팅에 있어서는 신뢰도가 충분하지 않은 것이다. 표 1에서, "**NB**"는 결합 친화도를 결정하는 동안 결합이 관찰되지 않았음(no binding)을 나타내며, CDRH3에서의 어떤 알라닌 치환으로 인해 항체가 CD137에 결합하지 않았는지를 나타낸다.

[1177] [표 1] 인간 및 마우스 CD137에 대한 알라닌 스캐닝 클론의 결합 친화도(K_D)

치환	huCD137	mCD137	치환	huCD137	mCD137
D95A	NB	NB	Y(100C)A	1 nM	25 nM
S96A	1.8 nM	40 nM	Y(100D)A	*약함*	170 nM
P97A	*약함*	*약함*	Y(100E)A	NB	NB
F98A	*약함*	*약함*	Y(100F)A	*약함*	*약함*
L99A	2.7 nM	33 nM	Y(100G)A	NB	NB
L100A	NB	NB	Y(100H)A	NB	NB
D(100A)A	*약함*	*약함*	M(100I)A	1.8 nM	21 nM
D(100B)A	1.3 nM	54 nM	야생형 K_D	1 nM	11 nM

[1178]

[1179] 알라닌으로의 돌연변이로 초래된 결합 친화도의 유지, 약화 또는 상실은 손실은 CD137 결합에 어떤 잔기가 필요하였고 어떤 잔기가 돌연변이에 내성을 가졌는지를 결정할 수 있는 정보를 제공하였다. **도 2**는 각각의 위치에서 표시된 야생형 아미노산 동일성을 갖는 CDRH3의 알라닌 스캐닝에 대한 결합 데이터를 요약한 것이다. 도시된 바와 같이, CDRH3 위치는 위치를 알라닌으로 돌연변이시키는 효과에 기초하여 컬러로 코드화되어 있다. 이러한 분석으로 다음의 공통 서열을 얻었다: DX*PF*X**L***D*XX*I*Y*Y*YYX. 공통 서열 중 **굵은 글꼴**로 표시된 잔기가 알라닌으로 돌연변이된 경우, 결합이 완전히 상실된 것이며, 따라서 mAb1이 CD137에 결합하는데 이들 잔기가 필요하였다. 공

통 서열 중 *이탤릭체*로 표시된 잔기가 알라닌으로 돌연변이된 경우, 항체가 여전히 CD137에 결합할 수 있지만 친화도가 약한 것이며, 이는 이들 잔기가 결합에 부분적인 역할을 하지만 절대적으로 필요한 것이 아님을 나타낸다. 공통 서열 중 X로 표시된 잔기 위치가 알라닌으로 돌연변이된 경우, 결합 친화도에는 변화가 거의 없거나 전혀 없었다. 따라서, 이들 잔기는 돌연변이에 내성을 가졌고 결합 상호 작용에 중요하지 않았다.

[1180] **실시예 5: 포화 돌연변이 유발의 스캐닝 및 상동체 비교에 의한 에피토프 맵핑**

[1181] CD137에 대한 항체의 결합에 중요한 잔기를 식별하기 위해, 포화 돌연변이 유발 라이브러리의 스캐닝 및 상동성 비교에 의해 CD137 에피토프의 기능적 맵핑을 수행하였다. 시스테인을 제외한 모든 가능한 아미노산 치환에 대한 단일 점 돌연변이를 갖는 CD137 돌연변이체의 조합 라이브러리를 생성하고 mAb1, mAb4 및 mAb5에 결합하는 이들의 능력에 대해 시험하였다. CD137의 각 점 돌연변이를 암호화하는 유전자로 이루어진 라이브러리를 상업적 공급자에게서 합성하고 포유류 디스플레이 발현 벡터에 클로닝하였다. 포유류 디스플레이를 사용해 변이체 인간 CD137 세포 외 도메인의 라이브러리를 제시하였으며, 이 때 각각의 변이체는 야생형 인간 CD137에 비해 적어도 하나의 점 돌연변이를 가진다.

[1182] CD137 변이체를 디스플레이하는 세포의 라이브러리를 비중첩 항체인 (i) mAb4와 mAb1 또는 (ii) mAb4와 mAb5로 염색하였다. 하나의 항체에 대해서는 결합이 감소되었지만 다른 하나에 대해서는 그렇지 않은 세포의 모집단을 FACS에 의해 농축하였다. 각 모집단을 Illumina sequencing에 의해 시퀀싱하여, 각 항체에 대한 결합을 특이적으로 파괴하였지만 CD137의 정확한 접힘 또는 비중첩 항체에 대한 결합에는 영향을 미치지 않은 위치에서 돌연변이를 식별하였다.

[1183] mAb1의 경우, K114가 CD137에 대한 결합에 중요한 가장 중요한 잔기로서 식별되었는데, 해당 위치에서 모든 돌연변이 중 34%가 발생하는 것이 관찰되었으며, 모든 아미노산 치환이 관찰되었다. E111, T113, 및 P135도 결합에 중요하며, 이들 각각의 위치에서 돌연변이 중 10%가 관찰된다. 또한, N126 및 I132는 mAb1에 대한 결합을 부분적으로 감소시킨 모집단에서 관찰되었다. **도 3a**는 mAb1, mAb4 and mAb5. mAb4 및 mAb5에 대한 에피토프를 포함하는 잔기가 mAb1과 구별되는 결합 에피토프를 가졌음을 보여준다. mAb4의 경우, N42는 모든 돌연변이 중 50%가 해당 위치에서 관찰된 가장 중요한 잔기였으며, R41과 D38은 그 다음이었다. mAb5의 경우, I132는 모든 돌연변이 중 32%가 해당 위치에서 발생하는 가장 중요한 잔기였으며, N126, G96, K114, 및 L95가 그 다음이었다.

[1184] 라이브러리 스크리닝에서 단리된 점 돌연변이체를 가용성 단백질로서 발현시켜 mAb1에 대한 결합에 대해 시험하였다. K114에서 시험한 4개의 돌연변이(R, E, N, T) 모두는 mAb1에 대한 결합을 차단하였다. T113 및 P135에서의 돌연변이도 결합을 파괴하였다. E111에서의 점 돌연변이체 2개 중 1개, N126에서의 돌연변이체 3개 중 1개, 및 I132에서의 돌연변이체 4개 중 1개는 결합을 나타내지 않았다. 마찬가지로, N42에서의 돌연변이체 3개 중 3개는 mAb4에 결합하지 않았으며, I132에서의 돌연변이체 4개 중 3개는 mAb5에 결합하지 않았다.

[1185] 또한, CD137 상동체를 mAb1에 대한 이들의 결합에 대해 시험하였다. **도 3b에 도시된 바와 같이, mAb1은 마우스 CD137에 결합할 수 있었지만 랫트 CD137에는 결합할 수 없었다.** 마우스 CD137 및 랫트 CD137 간에, mAb1에 대한 에피토프를 포함하는 잔기에 차이가 있었는지 여부를 결정하기 위해, 인간, 시노몰구스 원숭이, 랫트 및 마우스 유래의 CD137 동족체의 아미노산 서열을 정렬하여 비교하였다. mAb1 에피토프를 포함하는 아미노산 잔기 모두가 인간, 시노몰구스 원숭이 및 마우스에 존재하지만, 랫트에는 존재하지 않는다. 인간 CD137 서열의 리신 114(K114)뿐만 아니라 시노몰구스 원숭이 및 마우스 CD137 서열에서의 상응하는 리신은 랫트 CD137 서열에서는 글루탐산(E)인데, 이는 인간 CD137 서열의 K114가 mAb1에 대한 중요한 결합 잔기 중 적어도 하나임을 추가적으로 나타내는 것이다.

[1186] **도 3c** 및 **3d**는 CD137L에 결합된 인간 CD137의 결정 구조를 보여주는데(Bitra A 등의 J Biol Chem 2018, 293(26):9958-9969 참조), 여기서 잔기 E111, T113, K114 및 P135는 구형으로 도시되어 있다. 알 수 있는 바와 같이, 이들 잔기는 회색으로 도시된 CD137 리간드(CD137L) 결합 도메인으로부터 멀리 위치한다.

[1187] **실시예 6: 항CD137 항체가 마우스에서 면역 조절제 및 CD8+ T 세포에 미치는 영향**

[1188] 실시예 1에서 생성된 3가지 항CD137 항체인 mAb1, mAb2 및 mAb3를 이들의 효능에 대해 추가로 분석하였다. 이들 항체는 마우스 교차 반응성이었으며, Fab 뒤섞임(shuffling)을 방지하기 위한 S228P 돌연변이를 함유하는 인간 IgG4 이소형의 불변 영역을 포함하였다. 생체 내에서 마우스 CD137 신호전달을 자극하고 항종양 면역성을 유도하는 것으로 알려진 3H3 단클론 항체(Melero 등의 (1997) Nature Medicine 3(6):682-685; Uno 등의 (2006) Nature Medicine 12(6):693-696 참조)를 비교기로서 사용하였다(BioXcell 카탈로그 # BE0239; 로트 번호 5926/1115). 특히, 항체 3H3은, CD137의 세포 외 도메인을 표적으로 하지만 리간드 결합을 차단하지 않는 완전

한 인간 IgG4-S228P 작용성 항체인 우렐루맙(Bristol-Myers Squibb; CAS 번호: 934823-49-1)과 유사한 특성을 갖는다. 또한, 항랫트 IgG4를 이소형 대조군으로서 사용하였다(BioXcell 카탈로그 # BE0089; 로트 번호 5533/5679-316J1). 표시된 바와 같이, 마우스당 바람직한 투약량을 100 μl 주사 부피로 만들기 위해 PBS 중에서 희석액을 제조하였다.

[1189] 0, 3, 6일차에 종양이 없는 암컷 Balb/c 마우스에게 항체(100 μg)를 복강 내 투여하고, 9일차에 비장을 채취하였다. CD8+CD44+ T 세포에서의 PD-1 및 TIGIT의 발현 수준을 유세포 분석에 의해 측정하였다. 구체적으로, 비장을 기계적으로 파괴하고, 40 μm 세포 여과기에 통과시켜 비장의 단일 세포 현탁액을 수득하였다. 적혈구 세포는 ACK 완충액을 사용해 용해시켰다. 세포 현탁액은 다음의 항체로 염색하였다: CD45(클론 30-F11, eBioscience), CD8(클론 53-6.7, BD Biosciences), CD4(클론 RM-45, BD Biosciences), CD44(클론 IM7, eBioscience), PD-1(RMP1-30, eBioscience) 및 TIGIT(GIGD7, eBioscience). MACSquant Analyzer 유세포 분석기(Milenyi)를 이용해 데이터를 취득하고 FlowJo 소프트웨어, 버전 10을 사용해 데이터를 분석하였다.

[1190] 항체 3H3은 PD-1 및 TIGIT 둘 다의 발현을 유의미하게 증가시킨 반면, 항체 mAb1만이 mAb2와 mAb3과 비교해 발현을 증가시켰다(**도 4a 및 4b 참조**). 또한, CD8+ T 세포의 팽창은 비장의 CD45+ 세포의 백분율을 분석하거나 비장당 CD8+ T 세포의 수를 분석하여 평가하였다. 유사하게, 항체 3H3은 CD8+ T 세포를 가장 많이 증식시켰으며, mAb1은 mAb2 및 mAb3에 비해 가장 높은 수준으로 CD8+ T 세포를 증식시켰다(**도 4c**). 따라서, mAb1을 추가 시험용으로 선택하였다.

[1191] **실시예 7: 종양을 가진 마우스에서 항CD137 항체의 효능**

[1192] 실시예 6에 나타낸 바와 같은, CD8+ T 세포 증식을 강화하는 mAb1의 능력을 고려하여, 동계 대장암(syngeneic colon cancer)의 피하 모델을 사용하여 mAb1을 항종양 활성에 대해 추가로 분석하였다. 구체적으로, CT26 종양 세포(계대 3)를, 10% 56℃-열 불활성화된 FBS(Gibco 10438-034), 1 mM 피루브산나트륨(Gibco cat. # 11360-070), 1X NEAA(Gibco cat# 11140-050) 및 1X MEM 비타민 용액(Gibco cat#11120-052)이 포함된 DMEM 배지(Gibco cat#11965-092) 중에서 무균 조건 하에 유지시켰다. 세포는 37의 5% CO_2 조건에서 유지하였다. 50~70% 컨플루언스에 도달하면, 세포를 1:10의 비율로 총 2대까지 계대한 후 생체 내 이식하였다. 세포를 수확하고 Hemacytometer(Hausser Scientific Bright-Line #1492)를 사용해 계수하였다.

[1193] Balb/c 암컷 마우스를 Charles River Laboratories로부터 구입하였는데, 연구 시작 시점에 9주령이었다. CT26 종양 세포(0.1 mL PBS 중 마우스 당 1 x10^5 세포)를 각 마우스의 우측 옆구리에 피하 주사하고, 종양 부피를 다이얼 캘리퍼스를 사용해 주 2회 계산하였다(길이*(폭^2)/2). 종양 접종 후 7일차에, 동물을 8개 그룹으로 분류하고, 치료를 개시하였다. 체중은 연구 기간 동안 주 3회 기록되었다.

[1194] mAb1은 3가지 상이한 투약량(100, 50 또는 25 μg/마우스)으로 투여하고, 3H3은 2가지 상이한 투약량(50 또는 10 μg/마우스)으로 투여하고, 이소형 대조군 항체는 50 μg/마우스의 투약량으로 투여하였다. 모든 마우스에 대한 복강 내 투여는 0, 3, 6 및 9일차에 이루어졌다.

[1195] mAb1 및 3H3 상체 둘 다에 대해 종양에서 CD8+ T 세포의 증식을 팽창을 생체 내에서 확인하였다(데이터 미도시). 개별 종양 부피는 **도 5a**에 도시되어 있고 평균 종양 부피는 **도 5b**에 도시되어 있다. mAb1 치료는 3가지 투약량 모두에서 대조군과 비교해 종양 성장을 억제하였다. 또한, mAb1를 사용해 치료한 경우, 25 μg 투약량 수준에서는 마우스 8마리 중 6마리, 50 μg 투약량 수준에서는 마우스 8마리 중 5마리, 100 μg 투약량 수준에서는 마우스 8마리 중 3마리에서 완전한 퇴행을 유도하였다.

[1196] 각 치료 그룹에서의 전체 생존율은 **도 5c**에 도시되어 있다. CT26 종양에 대한 mAb1의 강력한 항종양 활성은 전체 생존율 연장으로 반영되었다. 장기 생존(>60일)은 25 μg 투약량 수준에서는 마우스의 80%에서, 50 μg 투약량 수준에서는 마우스의 62%에서, 100 μg 투약량 수준에서는 마우스의 38%에서 관찰되었다.

[1197] 70일차에 촉진할 수 있는(palpable) 종양이 없는 마우스는 치유된 것으로 간주하였고, 반대쪽 옆구리에 CT26 세포를 피하 주입하여 재접종하였다. 구체적으로, 종양이 제거된(eradiated) 마우스에게 1X10^5 개의 CT26 세포를 왼쪽 옆구리에 다시 주입하고, 종양 부피를 다이얼 캘리퍼스를 사용해 주 2회 계산하였다(길이*(폭^2)/2). 대조군으로서, 5마리의 비면역화(미처리) 마우스를 동일한 방식으로 각각 접종하였다. 재접종 실험 결과는 **도 5d**에 도시되어 있다. CT26 세포의 피하 주사 후 22일차에, 재접종 마우스 중 종양을 형성한 마우스는 없었다. 대조적으로, 동일한 세포를 주사한 미처리 마우스는 모두 종양을 형성하였다. 따라서, 치유된 것으로 간주된 모든 마우스가 CT26 종양을 거부하였으며, 이는 mAb1이 장기적인 보호 기억을 유도할 수 있음을 시사한다.

[1198] **실시예 8: 종양을 가진 마우스에서 친화도 성숙된 항CD137 항체의 효능**

[1199] 실시예 4에서 생성한 친화도 성숙된 단클론 항체를, 본질적으로 실시예 7에 기술된 바와 같이, 동일한 동계 대장암(CT26)의 피하 모델을 사용하여 항종양 활성에 대해 분석하였다. 구체적으로, 6가지 친화도 성숙된 클론(mAab7~mAb12)을 IgG4 불변 영역으로 생성하고 다음과 같이 시험하였다. 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 서열은 마우스 CD137에 대한 이들의 K_D 값(실시예 2에 기술된 ForteBio Octet에 의해 결정함) 및 인간 CD137에 대한 K_D 값(실시예 4에 기술된 Carterra에 의해 결정함)과 함께 아래 표에 제공되어 있다.

[1200]

항체	V_H 사슬	V_L 사슬	마우스 CD137에 대한 결합 K_D(nM)	인간 CD137에 대한 결합 K_D(nM)
mAb7	서열번호 8	서열번호 6	1.2	6.8
mAb8	서열번호 101	서열번호 6	72	3.2
mAb9	서열번호 103	서열번호 6	6.9	41.4
mAb10	서열번호 26	서열번호 6	8.4	20
mAb11	서열번호 4	서열번호 28	4.8	4.1
mAb12	서열번호 4	서열번호 105	25.8	12.1

[1201] 부모 mAb1, 3H3 항체(데이터 미도시), 및 IgG4 이소형 항체를 대조군으로서 사용하였다. 모든 마우스에게 마우스당 50 μg의 mAb를 0, 3, 7 및 10일차에 복강 내 투여하였다. 치료 개시 후 13일차에 비장과 간을 채취하였다.

[1202] 개별 종양 부피는 **도 6a**에 도시되어 있고 평균 종양 부피는 **도 6b**에 도시되어 있다. 실시예 7의 결과와 일관되게, 부모 mAb1를 사용한 치료는 종양 부피를 감소시켰다. 또한, 종양을 가진 마우스에게 mAb1 유래의 모든 친화도 성숙된 클론(mAb7~mAb12)을 투여한 결과 이소형 대조군 항체로 치료한 마우스와 비교해 종양 성장이 억제되었다.

[1203] **실시예 9: 종양을 보유 마우스에서 항CD137 항체가 T 세포에 미치는 영향**

[1204] 종양을 가진 마우스에서 항CD137 항체(즉, 3H3 및 mAb1)가 T 세포의 수준에 미치는 영향을 결정하기 위해, 실시예 7에 기술된 바와 같이, CT26 종양을 가진 Balb/c 마우스에게 0일 및 3일차에 항체를 주사하고, 7일차에 조직을 채취하였다. mAb1은 3가지 상이한 투약량으로(100, 50 또는 25 μg/마우스), 3H3은 2가지 상이한 투약량으로(50 또는 10 μg/마우스), 이소형 대조군 항체는 50 μg/마우스의 투약량으로 투여하였다.

[1205] 비장의 단일 세포 현탁액은 실시예 6에 기술된 바와 같이 수득였고, 종양 세포 현탁액은 종양 해리 키트(Miltenyi cat# 130-096-730)를 사용하는 효소적 분해 및 기계적 분해에 의해 수득하였다. 세포 현탁액을 완전한 배지로 처리하여 효소를 불활성화시킨 다음 40 μm 세포 여과기를 통과시켰다. 적혈구 세포는 ACK 완충액을 사용해 용해시켰다. 세포를 CD45, CD8 및 CD4에 대한 항체로 염색하고, 실시예 6에 기술된 바와 같이 분석하였다.

[1206] **도 7**은 비장과 종양에서 발견된 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 수를 CD45+ 세포의 백분율로서 보여준다. 이러한 결과는 mAb1이 비장의 CD8+ T 세포와 비교해 종양 침윤성 CD8+ T 세포를 선택적으로 확장한다는 것을 나타냈다.

[1207] **실시예 10: CD4+, CD8+ 또는 NK 림프구의 고갈이 생체 내에서 항CD137 항체의 항종양 효능에 미치는 영향**

[1208] 항CD137 항체의 작용 메커니즘을 평가하기 위해, 실시예 7에 기술된 바와 같이, CT26 종양을 가진 Balb/c 마우스에게 mAb1을 단독으로 복강 내 주입하거나 항CD4(GK1.5), 항CD8(YTS169.4), 또는 항아시알로-GM1(표적 NK 세포) 항체와 조합으로 복강내 주입하여 이들 특이적 림프구의 서브세트를 동물로부터 고갈시켰다. mAb1 항체로만 치료한 마우스에게는 6, 9, 12, 19 및 26일차에 150 μg의 항체를 투여하였다. 500 μg의 항CD4, 항CD8, 또는 50 uL의 항아시알로-GM1 항체와 조합하여 150 μg의 mAb1로 치료한 마우스에게는 -1, 0, 5, 10, 15 및 20일차에 투여하였다. 유효한 고갈은 FACS 분석에 의해 확인하였다(데이터 미표시).

[1209] 개별 종양 부피는 **도 8**에 도시되어 있다. 실시예 7의 결과와 일관되게, 부모 mAb1를 사용한 치료는 종양 부피를

감소시켰다. 또한, 림프구를 고갈시키는 항CD4, 항CD8, 또는 항아시알로-GM1 항체와 조합하여 mAb1를 투여한 결과 mAb1 항체의 항종양 활성이 감소되었다. 이러한 결과는 본원에 기술된 항CD137 항체의 항종양 효능에 대한 선천성 면역과 적응성 면역 간의 협력을 나타냈다.

[1210] **실시예 11: 다양한 종양 모델에서 항CD137 항체의 항종양 효능**

[1211] 항CD137 항체가 상이한 종양 모델에서 항종양 효능을 가지는지 여부를 결정하기 위해, CT26 종양(대장암종; 전술한 바와 같음), EMT-6 종양(유방 암종), A20 종양(B 세포 림프종) 또는 MC38 종양(대장 암종)을 가진 마우스에게 mAb8을 투여하였다.

[1212] 모든 종양 모델을 대상으로, Balb/c 암컷 마우스를 Charles River Laboratories로부터 구입하였는데, 연구 시작 시점에 7~9주령이었다. 각각의 종양 유형에 대해 적절한 동계 마우스 균주를 사용하였다(CT26, EMT-6 및 A20의 경우 Balb/c; MC38의 경우 C57BL/6). EMT6 종양 세포(0.05 mL PBS 중 마우스당 5 $x10^4$개의 세포)를 각 마우스의 오른쪽 유선 지방 패드 내에 주입하였다. CT26 종양 세포(마우스당 1 $x10^5$ 세포), A20 종양 세포(마우스당 5 $x10^6$ 세포) 및 MC38 종양 세포(마우스당 5 $x10^5$ 세포)를 각 마우스의 우측 옆구리에 피하 주사하고, 종양 부피를 다이얼 캘리퍼스를 사용하여 주 2회 계산하였다(길이*(폭^2)/2). 종양 크기가 50~100 mm^3에 도달하면, 마우스를 무작위 배정하여 mAb8 또는 이소형 대조군을 투여하였다(0일차). 직시(orthoptic) EMT6 종양을 가진 마우스에게는 0, 3, 6 및 9일차에 12.5 μg을 투여하였다. A20(200 μg/마우스) 및 MC38(12.5 μg/마우스) 종양을 가진 마우스에게는 주 1회 5회분의 투약량을 투여하였다. 모든 마우스에 대해서는 복강 내 투여가 이루어졌다.

[1213] **도 9**에 도시된 바와 같이, mAb8은 시험한 4개의 종양 모델에서 효과적이었으며, 이는 다양한 암 유형에 대한 광범위한 효능이 있음을 나타낸 것이다. mAb8로 치료한 결과, CT26 종양을 가진 마우스 8마리 중 8마리, EMT6 종양을 가진 마우스 8마리 중 3마리, A20 종양을 가진 마우스 8마리 중 5마리에서 종양 퇴행이 나타났으며, EMT6, A20 및 MC38을 가진 대부분의 나머지 마우스에서 성장이 지연되었다.

[1214] **실시예 12: 항CD137 항체 투여량의 영향**

[1215] 항CD137 항체의 항종양 효능의 특징을 추가로 분석하기 위해, 본질적으로 실시예 7에 기술된 바와 같이, 동일한 동계 대장암(CT26)의 피하 모델을 사용하여 투약량 연구를 수행하였다. 구체적으로, 치료 그룹당 8마리의 마우스를 대상으로, 부모 mAb1과 친화도 성숙된 항체 mAb8 및 mAb10을 마우스당 150 μg(고 투약량) 또는 20 μg(저 투약량)의 투약량으로 0, 3, 6 및 9일차에 복강 내 투여하였다. 한 그룹의 마우스(n=8)에게는 IgG4 이소형 대조군을 150 μg의 투약량으로 투여하였다.

[1216] 개별 종양 부피, 평균 종양 부피, 및 150 μg으로 치료한 마우스의 생존 백분율은 **도 10a, 도 10b 및 도** 10c에 각각 도시되어 있다. 개별 종양 부피, 평균 종양 부피 및 20 μg으로 치료한 마우스의 생존 백분율은 **도 11a, 도 11b 및 도** 11c에 각각 도시되어 있다. 이들 결과는, 부모 mAb1과 친화도 성숙된 mAb8 및 mAb10 항체로 치료한 결과 고 투약량 및 저 투약량 모두에서 종양 부피가 감소하였고 마우스의 생존이 증가하였음을 나타낸다.

[1217] CT26 종양 모델을 이용하는 별도의 투약량 연구에서는, 부모 mAb1의 추가 투약량을 시험하였다. 구체적으로, mAb1을 다음의 용량으로 복강내 투여하였다: 12.5 μg, 25 μg, 50 μg, 100 μg 및 200 μg. **도 12**는 투약량 연구의 결과를 보여주는데, 이는 넓은 투약량 범위에 걸쳐 효능이 있음을 나타낸다. mAb1로 치료한 결과, 각각의 투약량 수준에서는 마우스 8마리 중 적어도 3마리에서 종양 퇴행이 나타났고, 최적 투약량 범위(50~100 μg/마우스)에서는 8마리 중 7마리에서 종양이 제거되는 결과가 나타났다.

[1218] **실시예 13: Fc-수용체 결합이 항CD137 항체의 항종양 효능에 미치는 영향**

[1219] 항CD137 항체의 항종양 활동에 대한 Fc-수용체 결합의 기여도를 결정하기 위해, mAb1의 아글리코실화 IgG1 버전 및 IgG4 버전을 생성하였다. 실시예 7에 기술된 바와 같이 마우스에서 CT26 종양을 생성하였다. 마우스에게 150 ug의 (a) 이소형 대조군; (b) IgG4로서의 mAb1; (c) IgG4로서의 아글리코실화된 mAb1; 또는 (d) IgG1로서의 아글리코실화된 mAb1을 투여하였다.

[1220] **도 13a** 및 **도 13b**에 도시된 바와 같이, 부모 mAb1 항체의 아글리코실화된 IgG4 및 IgG1 이소형은 mAb1과 비교해 종양 부피에 미치는 영향이 감소하였다. 그러나, 효능은 완전히 사라진 것은 아니었다. 따라서, 이들 결과는 mAb1의 항종양 효능이 전적으로 Fc-의존성은 아니지만, Fc 수용체 결합에 의해 강화됨을 나타냈다.

[1221] **실시예 14: 항CD137 항체의 교차 종 친화도**

[1222] 항CD137 항체를 다수의 종 유래의 CD137에 대한 결합에 대해 추가로 시험하였다. 구체적으로, mAb1, mAb8 및 mAb10을 인간, 마우스, 시노몰구스 및 개과 CD137에 대한 결합에 대해 분석하였다. 동역학 실험은 동역학 완충액(1x PBS, pH 7.4, 0.1 mg/ml BSA, 및 0.002% Tween 20)에서 Octet HTX(ForteBio)를 이용해 수행하였다. Fc-, 마우스 IgG2a- 또는 His-태그가 부착된 CD137(인간, 마우스, 시노몰구스 또는 개과)을 미리 수화시킨 바이오센서, 즉 AHC, AMC 또는 NTA 각각에 5분 동안 첨가하였다. 그런 다음, 센서를 5분 동안 Fab(0, 5.12, 12.8, 32, 80, 200 및 500 nM)에 침지하여 결합시킨 다음, 15분 동안 해리시켰다. ForteBio Data Analysis 9.0으로 데이터를 분석하고, 전체적으로 1:1 결합 모델에 피팅하여 겉보기 K_D를 결정하였다. 인간 및 마우스 CD137 결합에 대한 K_D는 상이한 공급원(ACRO Biosystems, Sino Biological 및 자체 공급) 유래의 항원을 사용해 확인하였다. 그 결과는 아래 표 2에 나타나 있다.

[1223] **[표 2] 교차 종 친화도**

CD137 의 종	mAb1	mAb8	mAb10
인간	50~70 nM	3~5 nM	0.9 nM
마우스	300~500 nM	50~90 nM	10~30 nM
시노몰구스	30~100 nM	3~7 nM	1.8 nM
개과	미흡한 피팅	미흡한 피팅	미흡한 피팅

[1224]

[1225] **실시예 15: 종양 크기가 항CD137 항체의 항종양 효능에 미치는 영향**

[1226] 항CD137 항체의 항종양 효능을 추가로 특징 분석하기 위해, 큰 종양에 대한 항종양 효능을 평가하였다. 치료에 앞서 CT26 종양을 대략 500 mm^3까지 성장시켰다. 부모 mAb1과 친화도 성숙된 mAb8 및 mAb10 항체를 종양 확립 후 0, 3, 6 및 9일차에 마우스당 150 μg씩 투여하였다(치료 그룹당 마우스 n=6). IgG4 이소형 대조군 항체를 비교기로서 사용하였다.

[1227] **도 14a~14c**에 도시된 바와 같이, 부모 mAb1뿐만 아니라 친화도 성숙된 mAb8 및 mAb10은 이소형 대조군에 비해 종양 부피를 감소시켰고(**도 14a~14b**) 및 마우스 생존율을 증가시켰다(**도 14c**). mAb8의 항종양 효능은 mAb1 및 mAb10에 비해 유의하게 더 컸다. 25 μg의 항체를 0, 7 및 14일차에 투여한 것을 제외하고는 동일한 연구 설계를 사용해 큰 종양에 대한 mAb8 및 3H3의 효능을 비교하는 별도의 연구를 수행하였다. **도 14d**에 결과가 제공되며, 3H3은 큰 종양에 대해 효능이 없는 반면, mAb8은 종양 퇴행을 유도하였음을 보여준다.

[1228] 실시예 14에 기술된 바와 같이, mAb8은 마우스 CD137에 대한 친화도를 갖는데, 이는 인간 CD137에 대한 mAb1의 친화도와 비슷하다. 본 개시는 임의의 특정 이론이나 작용 메커니즘에 의해 구속되지 않지만, 중간 친화도를 갖는 작용제 항CD137 항체가 암 치료에 훨씬 더 유용할 수 있다고 여겨진다.

[1229] 70일차에 촉진할 수 있는 종양이 없는 마우스는 치유된 것으로 간주하였고, 반대쪽 옆구리에 CT26 세포를 피하 주입하여 재접종하였다. 구체적으로, 종양이 제거된(eradiated) 마우스에게 $1X10^5$ 개의 CT26 세포를 왼쪽 옆구리에 다시 주입하고, 종양 부피를 다이얼 캘리퍼스를 사용해 주 2회 계산하였다(길이*(폭^2)/2). 대조군으로서, 5마리의 비면역화(미처리) 마우스를 동일한 방식으로 각각 접종하였다. 재접종 실험 결과는 **도 15**에 도시되어 있다. CT26 세포의 피하 주사 후 80일차에, 재접종 마우스 중 종양을 형성한 마우스는 없었다. 대조적으로, 동일한 세포를 주사한 미처리 마우스는 모두 종양을 형성하였다. 따라서, 치유된 것으로 간주된 모든 마우스가 CT26 종양을 거부하였으며, 이는 mAb1이 장기적인 보호 기억 면역을 유도할 수 있음을 시사한다.

[1230] **실시예 16: 종양을 가진 마우스에서 항CD137 항체의 독성**

[1231] 종양을 가진 마우스에서 항CD137 항체(즉, 3H3 및 mAb1)가 간 내 T 세포 수준에 미치는 영향을 결정하기 위해, 실시예 7의 마우스를 분석하였다. 간 림프구를 수집하여 유세포 분석을 통해 분석하였다. 구체적으로, 간 해리 키트(Miltenyi cat# 130-105-807) 및 gentle MACS 해리기(Miltenyi)를 사용해 간의 단일 세포 현탁액을 수득하였다. 세포 현탁액을 완전한 배지로 처리하여 효소를 불활성화시킨 다음 40 μm 세포 여과기를 통과시켰다. 적혈구 세포는 ACK 완충액을 사용해 용해시켰다. 세포를 CD45, CD8 및 CD4에 대한 항체로 염색하고, 실시예 3에 기술된 바와 같이 분석하였다.

[1232] **도 16a 및 16b**는 치료한 마우스이 간에서 발견된 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 수를 CD45+ 세포의 백분율로서 보여준다. 결과는, mAb1이 간 내 T 세포의 침윤을 유도하지 않았음을 나타내는데, 이는 항체 3H3에 비해 독성이 더 낮음을 입증하는 것이다.

[1233] **실시예 17: 종양을 가진 마우스에서 친화도 성숙된 항CD137 항체의 독성**

[1234] 항CD137 항체(즉, 3H3, mAb1 및 mAb7~mAb12)에 의해 매개된 독성 관련 효과를 평가하기 위해, 실시예 8에서의 종양을 가진 마우스에게 항체를 투여한 후, 비장 및 세포의 세포 조성을 분석하였다.

[1235] 실시예 8에서의 종양을 가진 마우스에서 간 내(간) 및 비장 내(비장) T 세포를 수집하고 유세포 분석을 통해 분석하였다. 항CD137 항체 또는 이소형 대조군 항체를 표시된 바와 같이 투여한 후, 세포와 비장의 CD45+ 세포를 CD3+, CD4+, 또는 CD8+ 발현에 대해 평가하였다. 결과는 **도 17a**(비장) 및 **17b**(간)에 도시되어 있다. 결과는, 부모 mAb1뿐만 아니라 친화도 성숙된 항체(mAb7~mAb12)의 투여도 이소형 대조군 항체의 투여에 비해 간 내 또는 종양 내 T 세포의 백분율에 거의 영향을 미치지 않거나 전혀 영향을 미치지 않았음을 나타낸다. 대조적으로, 3H3 항체를 투여한 결과 이소형 대조군 항체, 특히 CD3+ T 세포 및 CD8+ T 세포에 비해 비장과 간 둘 다에서 T 세포가 증가하였다.

[1236] 또한, 항CD137 항체 또는 이소형 대조군 항체를 투여한 후, 치료한 마우스의 간과 비장 유래의 CD45+CD8+ T 세포 및 CD45+CD4+ T 세포를, T 세포 활성화 또는 기능 상실의 지표로서 TIGIT, PD-1 또는 LAG-3 공동 억제 수용체의 발현에 대해 평가하였다. CD8+ T 세포 및 CD4+ T 세포에서의 TIGIT, PD-1 및 LAG-3 발현의 수준은 이전 실시예에서 기술된 바와 같이 유세포 계측에 의해 측정하였다. **도 18a~18b** 및 **19a~19b**는 3H3 항체의 투여가 CD8+ T 세포와 CD4+ T 세포 둘 다에서 이들 공동 억제 수용체의 발현을 유의미하게 증가시킨 반면, 부모 mAb1 또는 친화도 성숙된 mAb7-mAb12 항체의 투여는 이소형 대조군 항체의 투여 후 나타난 것과 유사한 정도로 TIGIT, PD-1, 또는 LAG-3을 발현시켰음을 보여준다. 이들 결과는 친화도 성숙된 항체가 전신 CD8+ T 세포 또는 CD4+ T 세포 활성화를 유도하지 않았음을 나타낸다.

[1237] 종합하면, 이들 결과는 부모 mAb1과 친화도 성숙된 mAb7~mAb12 항체가 3H3 비교기 항체에 비해 더 낮은 생체 내 독성의 가능성을 나타낸다는 것을 보여준다. mAb1과 친화도 성숙된 mAb7~mAb12 항체로 치료한 후, 특히 간에서의 전신 T 세포 활성화 및 증식의 부재는 환자에서 간독성(아미노기 전이효소 증가)의 가능성으로 더 낮은 것으로 해석될 수 있다.

[1238] **실시예 18: 종양을 가진 마우스에서 항CD137 항체의 다중 투약의 독성**

[1239] mAb1에 의해 유도된 독성의 결여를 확인하기 위해, 반복 투약 독성 연구를 수행하였다. 구체적으로, 마우스에게 항CD137 항체 mAb1, mAb8, 또는 3H3을 4주 동안 매주 투여하였다. mAb1 및 mAb8은 10, 20, 40 또는 80 mg/kg으로 투여한 반면, 3H3은 10 또는 80 mg/kg으로 투여하였다. 35일차에, 혈장에서의 알라닌 아미노기 전이효소(ALT) 수준을 형광 활성 분석(Sigma, cat# MAK052)을 사용해 결정하고, 간에서의 CD8+ T 세포를 유세포 분석(전술한 바와 같음)을 사용해 결정하였으며, 혈장에서의 TNFα 농도는 전기화학발광 분석(Meso Scale Discovery, 주문형 키트)을 제조사의 지침에 따라 사용해 결정하였다.

[1240] **도 20a**는 4회 투약량의 mAb1 및 mAb8가 모두 투여된 마우스의 간에서는 CD8+ T 세포의 수준이 낮은 반면, 3H3은 저 투약량(10 mg/kg)과 고 투약량(80 mg/kg) 모두에서 높은 수준의 CD8+ T 세포를 유도하였음을 보여준다. **도 20b**는 4회 투약량의 mAb1 및 mAb8이 모두 투여된 마우스의 혈장에서는 ALT 활성이 낮은 반면, 3H3은 80 mg/kg의 투약량에서 높은 수준의 ALT를 유도하였음을 보여준다. **도 20c**는 mAb1 및 mAb8이 저 투약량(10 mg/kg) 및 고 투약량(80 mg/kg) 둘 다로 투여된 마우스의 혈장에서는 TNFα의 수준이 낮은 반면, 3H3은 저 투약량(10 mg/kg) 및 고 투약량(80 mg/kg) 둘 다에서 높은 수준의 TNFα를 유도하였음을 보여준다.

[1241] 또한, 80 mg/kg의 항CD137 작용성 항체를 투여해 치료한 마우스의 간을 절제하여 H&E로 염색하였다. 각 동물로부터의 간엽(liver lobe)의 절반을 OCT에 포매하고 액체 질소에 신선 동결(fresh frozen)하였다. 절제와 H&E 염색은 조직병리학 실험실(Mass Histology Service, Inc)에 의해 표준 절차에 따라 수행되었다. **도 21**은 결과를 제공하는데, 3H3를 투여한 마우스에서는 염증성 중심소엽 병소가 나타나지만(화살표 참조), mAb1 또는 친화도 성숙된 mAb1를 투여한 경우에는 나타나지 않음을 보여준다.

[1242] **실시예 19: 항CD137 항체를 사용한 재프로그래밍**

[1243] 종양 미세환경에서 면역 세포에 대한 항CD137 항체의 역할을 결정하기 위해, CT26 종양 모델을 이용하였다. 구체적으로, CT26 종양을 실시예 7에 기술된 바와 같이 생성하였다. mAb8을 25 ug의 투약량으로 0, 3, 6 및 9일차

에 마우스에게 투여하였다. 11일차에 실시예 16에 기술된 바와 같이 종양을 분석하였다.

[1244] 종양 미세환경 내로의 면역 세포의 전반적인 침윤은 CD45+ 활세포의 수를 측정해 결정하였다. **도 22a**에 도시된 바와 같이, mAb8은 종양 미세환경 내로의 면역 세포의 침윤을 유의하게 증가시켰다.

[1245] 종양 미세환경에서 Treg 세포의 수준은 CD25+ FOXP-3+ CD4+ 종양 침윤 림프구의 양을 측정함으로써 결정하였다. **도 22b**에 도시된 바와 같이, mAb8은 종양 미세환경에서 Treg의 수준을 유의하게 감소시켰다.

[1246] mAb8이 T 세포 기능 소실에 미치는 영향은 CD8+ 또는 CD4+ 종양 침윤 림프구(TIL) 상에서 PD-1+TIGIT+의 발현 수준을 측정함으로써 결정하였다. **도 22c**는 CD8+ TIL에 대한 결과를 도시하며, 여기서 PD-1+TIGIT+ 세포는 mAb8을 투여했을 때 종양 미세환경에서 감소되었다. 유사한 결과가 CD4+ TIL에 대해 관찰되었다(데이터 미도시). 이들 결과는 mAb8이 T 세포 기능 소실을 보호하고/보호하거나 역전시킴을 나타낸다.

[1247] 또한, mAb8이 종양 관련 대식 세포에 미치는 영향을 분석하였다. 구체적으로, F4/80+CD11b+CD45+ 세포를 측정하였으며, mAb8로 치료했을 때 종양 관련 대식 세포의 감소가 관찰되었다.

[1248] 별도의 연구에서, 항CD137 항체(mAb1 및 3H3)가 말초 면역 세포에 미치는 영향을 평가하였다. 구체적으로, 150 ug의 mAb1 또는 3H3을 0 및 3일차에 투여하여 치료한, CT26 종양을 가진 마우스의 비장을 7일차에 분석하였다. **도 23**에 도시된 바와 같이, 항CD137 항체 3H3은 CD8+ 및 CD4+ T 세포에서 TIGIT 및 PD-1의 발현을 유도하였을 뿐 아니라, CD8+CD25+ 및 CD4+Foxp3+ 세포도 증가시켰다. 또한, 3H3은 CD8+ 및 CD4+ 효과기 기억 세포 둘 다를 유도하였다. 대조적으로, 항CD137 항체 mAb1은 CD8+TIGIT+PD-1+, CD8+CD25+ 및 CD4+Foxp3+ T 세포를 유의하게 유도하지 않았다. 또한, mAb1은 CD8+ 또는 CD4+ 효과기 기억 세포를 유도하지 않았다.

[1249] 전반적으로, 이들 결과는 항CD137 항체 mAb1과 mAb8이 종양 미세환경 내에서 극적인 면역 재프로그래밍을 유도하며, 말초 면역 세포에 영향을 미치지 않거나 영향을 덜 미친다는 것을 나타낸다.

[1250] **실시예 20: 항CD137 항체에 의한 쥣과 T 세포 활성화의 강화**

[1251] 쥣과 오브알부민 자극 분석에서 IL-2 생성 자극을 평가함으로써 항CD137 항체의 작용성 활성을 추가로 분석하였다. 96-웰 플레이트 내에, JAWS-II 수지상 세포-유사 세포를 웰당 10^4개의 세포로 도말하고 쥣과 IFNɣ (10ng/Ml)의 존재 하에 밤새 인큐베이션하였다. 세포를 2 μg/mL의 OVA/A2 펩티드와 함께 인큐베이션하고, 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션한 다음, OT-I 마우스 비장으로부터 단리한, OVA를 발현하는 10^5개의 CD8+ T 세포와 함께 인큐베이션하였다. 항체는 동시에 첨가하였다. 아테졸리주맙(항PD-L1 항체) 및 마우스 항PD-1 항체(RMP1-14)를 IgG4 이소형 대조군과 함께 비교기로서 사용하였다. IL-2 농도는 Meso Scale Discovery(MSD)에 의해 결정하였다.

[1252] **도 24**에 도시된 바와 같이, mAb8 및 mAb10은 IL-2 생성을 유의하게 강화하였다.

[1253] IL-2 생성을 측정하는 것에 추가하여, CD25+CD8+ T 세포 및 TIGIT+CD8+ T 세포의 백분율을 동일한 쥣과 오브알부민 자극 분석을 사용해 분석하였다. 항체 3H3을 비교기로서 포함시켰다. **도 25a** 및 **25b**는 mAb8 및 mAb10이 활성화 마커인 CD25의 발현을 강화하고, 기능 소실 마커인 TIGIT의 유도를 감소시켰음을 보여준다. 대조적으로, 3H3은 TIGIT의 발현을 강화시켰다.

[1254] **실시예 21: 항CD137 항체가 사이토카인 유도에 미치는 영향**

[1255] 항CD137 항체가 T 세포에 의한 사이토카인 유도에 미치는 영향을 결정하기 위해, 플레이트-결합 항체를 사용하였다. 3개의 항체는 비교기로서 사용하였다: CD137의 세포 외 도메인을 표적으로 하지만 리간드 결합을 차단하지 않는 완전한 인간 IgG4-S228P 작용성 항체로서, 우렐루맙(Bristol-Myers Squibb; CAS 번호: 934823-49-1)에 상응하는 mAb4; CD137의 세포 외 도메인을 표적으로 하고 리간드 결합을 차단하는 완전한 인간 IgG2-S228P 작용성 항체로서, 우토밀루맙(Pfizer; CAS 번호: 1417318-27-4)에 상응하는 mAb5; 및 mAb1과 동일한 라이브러리로부터 선택된 완전한 인간 IgG4-S228P 작용성 항체로서 CD137의 세포 외 도메인을 표적으로 하는 mAb6. mAb6 항체는 리간드 결합을 차단하지 않는다.

[1256] 인간 CD3+ T 세포를 음성 선택을 통해 단리하고, 항CD137 항체 및 1 μg/ml의 항CD3과 결합된 플레이트에 첨가하였다. 항CD137 항체는 1 nM, 10 nM, 50 nM 또는 100 nM로 첨가하였다. 항체를 4℃에서 밤새 코팅하였다.

[1257] T 세포 첨가 후 72시간차에, IL-2, IFNɣ, TNFα 및 IL-13의 수준을 제조사의 지침에 따라 Luminex 키트(Luminex Corporation, 텍사스주 오스틴 소재)로 평가하였다. 가용성 항CD28(2 μg/mL)을 T 세포 활성화 대조

군으로서 사용하고, 활성화 베이스라인은 플레이트 결합된 항CD3을 사용해 설정하였다. **도 26**은 활성화 베이스라인과 관련하여 각 사이토카인 수준에서의 배수 변화를 보여준다. mAb4(우렐루맙)는 각 사이토카인의 가장 높은 유도 최고 수준을 나타냈고, mAb1은 더 낮은 유도 수준을 나타냈지만 mAb5(우토밀루맙) 및 mAb6에 비해 상대적으로 더 높았다. 이들 결과는, 동일한 농도에서 mAb1이 mAb4(우렐루맙)보다 CD137을 덜 효능화한다는 것을 나타낸다.

[1258] **실시예 22: 항CD137 항체에 의한 인터페론-감마(IFNɣ)의 유도**

[1259] 항CD137 항체의 작용성 활성을 추가로 평가하기 위해, 혼합 림프구 반응(MLR)에서 IFNɣ의 생성을 분석하였다. mAb2, mAb4(우렐루맙), mAb5(우토밀루맙), 및 PD-1(Merck)을 차단하는 인간화 항체로서 IFNɣ 생성을 유도하는 것으로 알려진 키트루다(Keytruda)를 비교기로서 사용하였다.

[1260] 3명의 독립적인 인간 공여자(D985, D7603 및 D5004) 유래의 류코팩(leukopaks)(HemaCare, 캘리포니아주 밴나이즈 소재)으로부터 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 단리하였다. 전체 T 세포를, 면역자기 세포 분리(EasySep™; Stemcell Technologies, 밴쿠버 소재)를 사용해 음성 선택에 의해 PBMC에서 농축시켰다. 단핵구를 면역자기 세포 분리(EasySep™; Stemcell Technologies, 밴쿠버 소재)를 사용해 PBMC로부터 단리하였다. T 세포는 완전한 RPMI에서 $1x10^6$ 세포/ml의 농도로 재현탁하고, 단핵구를 $5x10^5$ 세포/ml까지 각각 조정하였다. 96-웰 플레이트 내에, T 세포를 함유하는 100 μl의 배지를 $1x10^5$ 세포/웰의 밀도로 도말한 다음, 100 μl의 단핵구 세포 현탁액(E:T 비율 2:1)을 첨가하였다. 다음으로, CD137 항체의 다양한 희석액을 함유하는 50 μl의 배지를 첨가하였다. 플레이트를 37℃의 CO_2 인큐베이터에서 5일 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 기간이 끝나면, 배양 상청액을 수집하여 IFNɣ 수준을 MSD 분석(Mesoscale Diagnostics, 메릴랜드 주 록빌)에 의해 분석하였다. **도 27a~27c**는 표시된 바와 같이, 시험한 항체의 최종 농도에서 IFNɣ의 농도를 pg/mL로 보여준다. 이들 결과는, 동일한 농도에서 mAb1이 mAb4(우렐루맙)보다 CD137을 덜 효능화하지만 mAb5(우토밀루맙)와 비슷한 정도까지는 효능화한다는 것을 나타낸다.

[1261] 별도의 연구에서, IFNɣ 유도는 CD32(FCγRIIb) (CHO-CD32 세포)를 발현하도록 조작된 CHO 세포를 사용해 측정하였다. 구체적으로, CHO-CD32 세포를 가용성 항CD3 및 항CD137 항체인 mAb1, mAb8, mAb4 및 mAb5의 존재 하에 인간 T 세포와 공동 배양하였다.

[1262] 동결된 PBMC를 해동하고, 습윤화된 37℃의 5% CO2 인큐베이터 내의 T 세포 배지(TCM) 중에 밤새 방치하였다. 다음날, 비접촉식 CD3 T 세포 단리 키트(Stemcell # 17951)를 사용해 CD3+ T 세포를 단리한 후, 인간 CD32를 발현하도록 형질 도입된 CHO 세포(CHO-CD32)(Gibco # A29127), 250 ng/ml 항CD3(클론 OKT3), 및 항CD137 항체 또는 대조군 항체와 함께 혼합하였다. 100,000개의 T 세포를 50,000개의 CHO-CD32 세포와 함께 혼합하였다. 37℃에서 3일 동안 인큐베이션한 후, 분비된 인터페론-감마(IFNɣ)를 분석하기 위해 MesoScale Discovery(MSD)를 통해 상청액을 수집하였다.

[1263] **도 28**은 결과를 제공하는데, mAb4가 낮은 투약량으로 가장 높은 수준으로 IFNɣ를 유도하였음을 보여준다. 대조적으로, mAb5는 IFNɣ의 생성을 거의 유도하지 않았다. 특히, mAb1 및 mAb8은 용량 의존적 반응을 제공하였고 mAb4 및 mAb5에 의해 유도된 수준 사이에서 IFNɣ 를 유도하였다. 전반적으로, 이들 결과는 mAb4가 초작용성 활성을 가지고, mAb5는 약한 활성을 가지며, mAb1과 mAb8은 mAb4 및 mAb5와 비교해 중간 활성을 가진다는 것을 나타낸다.

[1264] **실시예 23: 항CD137 항체가 Treg 세포에 미치는 영향**

[1265] 항CD137 항체의 작용 메커니즘을 추가로 특징 분석하기 위해, 항체가 Treg 세포에 미치는 영향을 결정하였다. EasySep™ 인간 CD4+CD127lowCD25+ 조절 T 세포 단리 키트(Stemcell Technologies, Cat #18063)를 사용하여 인간 Treg를 단리하고 10% FBS가 포함된 완전한 T 세포 배지에서 Immunocult 항CD3/28(Stemcell # 10971)로 13일 동안 증식시켰다. 구체적으로, 실시예 21에 기술된 CHO-CD32 세포는, 항CD3(클론 OKT3) 및 항CD137 항체인 mAb1, mAb8, mAb4, mAb5 및 이소형 대조군의 존재 하에 Cell-trace 보라색 염료(Thermo Fisher, Cat #C34557)로 표지된, 증식시킨 인간 Treg 세포와 공동 배양하였다. Treg 세포의 증식은 4일차에 결정하였다.

[1266] **도 29**는 결과를 제공하는데, mAb4가 낮은 농도에서도 Treg의 증식을 강력하게 유도하였음을 보여준다. 대조적으로, mAb5는 Treg 증식에 매우 약한 영향을 미쳤다. 특히, mAb1 및 mAb8은 Treg 증식에 있어서 중간 정도의 증가를 보여주었다. 전반적으로, 이들 결과는 mAb4가 초작용성 활성을 가지고, mAb5는 약한 활성을 가지며, mAb1과

mAb8은 중간 활성을 가진다는 것을 확인해준다.

[1267] **실시예 24: 항CD137 항체가 세포 내 신호 전달에 미치는 영향**

[1268] 항CD137 작용성 항체들 간의 차이를 추가로 평가하기 위해, 세포 내 신호 전달을 시험관 내에서 평가하였다. 구체적으로,

[1269] NFkβ(Qiagen; Cat# CLS-013L-1) 또는 SRF(Qiagen; Cat# CLS-010L-1)를 사용해 렌티바이러스로 감염시킨(lentifected) CCL-119 T 세포(ATCC; Cat# ATCC CCL-119)를, 다양한 농도의 플레이트-결합 mAb1, mAb8, mAb4, mAb5 및 이소형 대조군과 함께 250 ng/mL의 플레이트-결합 항CD3(클론 OKT3)로 자극하였다. 첨가제가 없는 RPMI 배지에서 16시간 동안 자극한 후, 루시페라아제 완충액(Promega; Cat# E263B)에 세포를 용해시키고 BioTek Synergy H1 마이크로플레이트 판독기(Cat# 11-120-533)를 이용해 상대 광 단위(RLU)를 획득하였다. 이어서, 원시 RLU 데이터를 Microsoft Excel로 내보내고, 자극된 상태의 RLU를 자극되지 않은 대조군으로 나눔으로써 접힘 유도를 계산하였다.

[1270] **도 30**은 결과를 제공하며, mAb1 및 이의 친화도 성숙된 변이체 mAb8에 비해 mAb4 및 mAb5의 최소한의 NFkβ 및 SRF 활성을 보여준다. 전반적으로, 이들 결과는 mAb1이 mAb4 및 mAb5와 상이하게 세포 내 신호전달을 유도함을 나타낸다.

[1271] **실시예 25: 항CD137 항체가 대식 세포 활성화 및 분화에 미치는 영향**

[1272] 항mCD137 작용성 항체 3H3에 의해 유도된 간 독성은 간에서 대식 세포 및 CD8+ T 세포의 증식과 관련이 있고, 이는 혈청에서 사이토카인 수준 및 ALT 활성을 증가시킨다는 것은 이미 밝혀졌다. 또한, 항체 3H3은 유렐루맙과 유사한 특성을 갖는 것으로 특징 분석된 바 있다. 본원에 기술된 바와 같이, mAb1은 간 독성을 유도하지 않는다. 따라서, 항CD137 작용성 항체를 이들이 대식 세포 활성화에 미치는 영향에 대해 시험관 내에서 분석하였다.

[1273] 구체적으로, 10주령의 암컷 C57BL/6 마우스(Charles River Laboratories)로부터 쥣과 골수 유래 마우스 대식세포를 확립하였다. 마우스의 근육 조직으로부터 대퇴골과 경골을 추출하고, PBS를 이용해 얼음 상의 15 mL 원뿔형 튜브 내에 골수를 쏟았다. 세포를 5분 동안 1500 rpm으로 원심분리하고 상청액은 버렸다. 세포 펠릿을 부수고 배양 배지(RPMI, 20% FBS, 50 μg/mL M-CSF(Shenandoah Biotechnology, Inc.; Cat# 200-08-100) 및 pen/strep)를 첨가하였다. 40 μm 메쉬 필터를 이용해 세포를 여과하고, 비조직 배양물로 처리한 페트리 접시 내에 도말하였다. 3일 후, 10 mL의 배지를 각각의 페트리 접시에 첨가하였다. 배양 7일차에, 배지를 제거하고 세포를 PBS(10 mL)로 2회 세척하였다. MACS 완충액(PBS, 2 μM EDTA, 및 0.5% FBS)을 각 접시에 첨가하고 37℃에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 페트리 접시로부터 세포를 수집하여 5분 동안 1500 rpm으로 원심분리하였다. 그런 다음, 50 nm 항CD137 항체 mAb1, 3H3, 또는 LOB12.3(마우스 특이적 CD137 작용제 항체)의 존재 하에 이들 골수 유래 대식 세포를 TLR9 작용제 CpG로 자극하였다. 쥣과 골수 유래 대식 세포에 의한 IL-6, TNFα 및 IL-27의 생성은 48시간 후에, 전기 화학발광 분석(Meso Scale Discovery, 주문형 키트)을 제조사의 지침에 따라 사용하여 배양 상청액에서 평가하였다. **도 31**은 결과를 제공하는데, mAb1은 대식 세포에 의한 전염증성 사이토카인의 분비를 유도하지 않은 반면, 항체 3H3 및 LOB12.3은 유도하였음을 나타낸다.

[1274] 인간 단핵구-유래 대식 세포는, 항CD14 마이크로비드(Miltenyi Biotech, Cat# 130-050-201)를 사용해 $CD14^+$ 세포를 자기적으로 분리하고 50 ng/mL m-CSF의 존재 하에 7일 동안 성숙시켜 생성하였다. 그런 다음, 5 nm의 항CD137 항체 mAb1, mAb4 또는 mAb5의 존재 하에 10 ng/mL LPS로 인간 단핵구-유래 대식 세포를 자극하였다. TNFα의 생성은 48시간 후에, 전기 화학발광 분석(Meso Scale Discovery, 주문형 키트)을 제조사의 지침에 따라 사용하여 평가하였다. **도 32**는 결과를 제공하는데, mAb4 및 mAb5가 대식 세포 활성화를 mAb1보다 상당히 많이 유도하였음을 나타낸다.

[1275] 또한, THP1 단핵구는 2 μM의 포르볼 12-미리스테이트 13-아세테이트(PMA; Sigma; P1585)를 사용해 밤새 대식세포로 분화시켰다. 그런 다음, 50 nm의 항CD137 항체 mAb1, mAb4 또는 mAb5의 존재 하에 대식 세포를 배양하고, 48시간이 지난 후에 유세포 계측(APC 항인간 CD64 항체 클론 10.1; BioLegend; Cat#305013)을 사용해 CD64의 발현을 측정하였다. **도 33**은 결과를 제공하는데, mAb4 및 mAb5가 대식 세포 분화를 mAb1보다 상당히 많이 유도하였음을 나타낸다.

[1276] 본 개시는 임의의 특정 이론이나 작용 메커니즘에 의해 구속되지 않지만, 전체적으로, 이들 결과는 대식 mAb1이 세포 활성화 가능성의 감소로 인해 간 독성을 감소시킨다는 것을 시사한다.

[1277] **실시예 26: 항CD137 작용성 항체에 의한 인간 CD8+ T 세포의 생체 내 증식**

[1278] CD137 작용성 항체가 인간 세포에 미치는 생체 내 영향을 시험하기 위해, 면역계가 손상된 NSG 마우스(NOD.Cg-*Prkdc*^{scid} *I12rg*^{tm1Wjl}/SzJ; Jackson Laboratory; Cat# 005557)에게 인간 PBMC($7x10^6$)를 정맥 내 주사하였다. 마우스를 8개의 그룹으로 무작위 배정하고, 0, 7 및 14일차에 CD137 항체(200 μg/마우스) 또는 비히클 대조군을 투여하였다. 10, 20 및 29일차에 각 마우스로부터의 말초 혈액을 채취하고, 유세포 계측을 사용해 CD45+(FITC 항인간 CD45 클론 HI30; BioLegend; Cat# 304038), $CD8^+$(Alexa Fluor® 647 항인간 CD8a 클론 HIT8a; BioLegend; Cat#300918) 및 $CD4^+$(APC-Cy7 항인간 CD4 클론 RPA-T4; Bd; Cat# 557871)의 생착을 결정하였다.

[1279] **도 34a~34c**는 인간 CD4+ T 세포를 희생하면서 mAb4를 투여한 마우스에서 $hCD45^+$ 세포의 수가 전반적으로 증가하였고 인간 CD8+ T 세포가 전신 과잉 증식하였음을 보여준다. 특히, mAb1은 인간 T 세포의 과 활성화를 유도하지 않았다. 말초에서 인간 T 세포를 활성화시키는 mAb1이 가능성 감소는 독성의 잠재적 감소에 기여할 수 있다.

표 3

[1280] **항체 조합 표**

V_H	V_L	V_H CDR			V_L CDR		
		CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
4	6	48	56	68	69	78	89
4	28	48	56	68	70	79	90
4	30	48	56	68	71	80	91
4	32	48	56	68	72	81	92
4	34	48	56	68	73	82	91
4	36	48	56	68	74	83	93
4	38	48	56	68	75	84	91
4	40	48	56	68	74	85	94
4	42	48	56	68	76	86	95
4	44	48	56	68	77	87	93
4	46	48	56	68	69	88	90
4	105	48	56	68	109	110	92
8	6	49	57	68	69	78	89
10	6	49	58	68	69	78	89
12	6	49	59	68	69	78	89
14	6	49	60	68	69	78	89
16	6	50	61	68	69	78	89
18	6	50	58	68	69	78	89
20	6	51	62	68	69	78	89
22	6	52	63	68	69	78	89
24	6	50	64	68	69	78	89
26	6	50	65	68	69	78	89
101	6	51	108	68	69	78	89
103	6	107	56	68	69	78	89
8	28	49	57	68	70	79	90
8	30	49	57	68	71	80	91
8	32	49	57	68	72	81	92
8	34	49	57	68	73	82	91
8	36	49	57	68	74	83	93
8	38	49	57	68	75	84	91
8	40	49	57	68	74	85	94
8	42	49	57	68	76	86	95
8	44	49	57	68	77	87	93
8	46	49	57	68	69	88	90
8	105	49	57	68	109	110	92
10	28	49	58	68	70	79	90
10	30	49	58	68	71	80	91
10	32	49	58	68	72	81	92

10	34	49	58	68	73	82	91
10	36	49	58	68	74	83	93
10	38	49	58	68	75	84	91
10	40	49	58	68	74	85	94
10	42	49	58	68	76	86	95
10	44	49	58	68	77	87	93
10	46	49	58	68	69	88	90
10	105	49	58	68	109	110	92
12	28	49	59	68	70	79	90
12	30	49	59	68	71	80	91
12	32	49	59	68	72	81	92
12	34	49	59	68	73	82	91
12	36	49	59	68	74	83	93
12	38	49	59	68	75	84	91
12	40	49	59	68	74	85	94
12	42	49	59	68	76	86	95
12	44	49	59	68	77	87	93
12	46	49	59	68	69	88	90
12	105	49	59	68	109	110	92
14	28	49	60	68	70	79	90
14	30	49	60	68	71	80	91
14	32	49	60	68	72	81	92
14	34	49	60	68	73	82	91
14	36	49	60	68	74	83	93
14	38	49	60	68	75	84	91
14	40	49	60	68	74	85	94
14	42	49	60	68	76	86	95
14	44	49	60	68	77	87	93
14	46	49	60	68	69	88	90
14	105	49	60	68	109	110	92
16	28	50	61	68	70	79	90
16	30	50	61	68	71	80	91
16	32	50	61	68	72	81	92
16	34	50	61	68	73	82	91
16	36	50	61	68	74	83	93
16	38	50	61	68	75	84	91
16	40	50	61	68	74	85	94
16	42	50	61	68	76	86	95
16	44	50	61	68	77	87	93
16	46	50	61	68	69	88	90
16	105	50	61	68	109	110	92
18	28	50	58	68	70	79	90
18	30	50	58	68	71	80	91
18	32	50	58	68	72	81	92
18	34	50	58	68	73	82	91
18	36	50	58	68	74	83	93
18	38	50	58	68	75	84	91
18	40	50	58	68	74	85	94
18	42	50	58	68	76	86	95
18	44	50	58	68	77	87	93
18	46	50	58	68	69	88	90
18	105	50	58	68	109	110	92
20	28	51	62	68	70	79	90
20	30	51	62	68	71	80	91
20	32	51	62	68	72	81	92
20	34	51	62	68	73	82	91
20	36	51	62	68	74	83	93
20	38	51	62	68	75	84	91

20	40	51	62	68	74	85	94
20	42	51	62	68	76	86	95
20	44	51	62	68	77	87	93
20	46	51	62	68	69	88	90
20	105	51	62	68	109	110	92
22	28	52	63	68	70	79	90
22	30	52	63	68	71	80	91
22	32	52	63	68	72	81	92
22	34	52	63	68	73	82	91
22	36	52	63	68	74	83	93
22	38	52	63	68	75	84	91
22	40	52	63	68	74	85	94
22	42	52	63	68	76	86	95
22	44	52	63	68	77	87	93
22	46	52	63	68	69	88	90
22	105	52	63	68	109	110	92
24	28	50	64	68	70	79	90
24	30	50	64	68	71	80	91
24	32	50	64	68	72	81	92
24	34	50	64	68	73	82	91
24	36	50	64	68	74	83	93
24	38	50	64	68	75	84	91
24	40	50	64	68	74	85	94
24	42	50	64	68	76	86	95
24	44	50	64	68	77	87	93
24	46	50	64	68	69	88	90
24	105	50	64	68	109	110	92
26	28	50	65	68	70	79	90
26	30	50	65	68	71	80	91
26	32	50	65	68	72	81	92
26	34	50	65	68	73	82	91
26	36	50	65	68	74	83	93
26	38	50	65	68	75	84	91
26	40	50	65	68	74	85	94
26	42	50	65	68	76	86	95
26	44	50	65	68	77	87	93
26	46	50	65	68	69	88	90
26	105	50	65	68	109	110	92
101	28	51	108	68	70	79	90
101	30	51	108	68	71	80	91
101	32	51	108	68	72	81	92
101	34	51	108	68	73	82	91
101	36	51	108	68	74	83	93
101	38	51	108	68	75	84	91
101	40	51	108	68	74	85	94
101	42	51	108	68	76	86	95
101	44	51	108	68	77	87	93
101	46	51	108	68	69	88	90
101	105	51	108	68	109	110	92
103	28	107	56	68	70	79	90
103	30	107	56	68	71	80	91
103	32	107	56	68	72	81	92
103	34	107	56	68	73	82	91
103	36	107	56	68	74	83	93
103	38	107	56	68	75	84	91
103	40	107	56	68	74	85	94
103	42	107	56	68	76	86	95
103	44	107	56	68	77	87	93

103	46	107	56	68	69	88	90
103	105	107	56	68	109	110	92

표 4

[1281] 서열 목록

서열번호	설명	서열
1	인간 IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
2	인간 IgG4 돌연변이체(S228P/C-말단 K 절단)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
3	인간 CD137(수탁 # NP_001552)	MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFR TRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSV LVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRKK LLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
4	V_H1 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
5	V_H1핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACTTTTAGTTCGTATGCAATGTCGTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGAG TGCTATTTCCGGCTCTGGCGGATCTACCTATTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
6	V_L1 아미노산 서열	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQGHLFPITFGGGTKVEIK
7	V_L1 핵산 서열	GATATTCAGATGACACAGAGCCCGTCATCAGTAAGTGCAAGCGTCGGAGATCGGGTTACAATAACATGTCGTG CCTCGCAAGGAATTTCCTCCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCTGGCAAAGCCCCCAAATTACTAATTTA TGCCGCAAGCTCTCTGCAATCGGGTGTTCCTTCGCGGTTTTCTGGCTCTGGAAGTGGCACCGACTTCACGCTT ACTATCTCTAGCCTTCAGCCGGAGGATTTTGCTACCTACTACTGCCAACAAGGCCATTTATTCCCTATTACCT TTGGGGGCGGTACAAAAGTCGAGATCAAGCGTACG
8	V_H2 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIDGSGDNTTYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
9	V_H2핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACCTTTAACTATTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTC TGCAATCGATGGTTCTGGTGATAACACTACTTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
10	V_H3 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMSWVRQAPGKGLEWVAAISGSGDGTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
11	V_H3핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACCTTTAACTATTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGGC AGCAATCTCTGGTTCTGGTGATGGTACTTACTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
12	V_H4아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGDSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
13	V_H4핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACCTTTAACTATTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTC TGCAATCTCTGGTTCTGGTGATTCTACTTACTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
14	V_H5 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMSWVRQAPGKGLEWVAAISGGGDATYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS

15	V_H5핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACCTTTAACTATTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGGC AGCAATCTCTGGTGGTGGTGATGCAACTTACTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
16	V_H6 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGDVTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
17	V_H6핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACCTTTTATGGTTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTC TTCTATCTCTGGTTCTGGTGATGTTACTTACTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
18	V_H7 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLEWVAAISGSGDGTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
19	V_H7 핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACCTTTTATGGTTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGGC AGCAATCTCTGGTTCTGGTGATGGTACTTACTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
20	V_H8 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGFGESTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
21	V_H8 핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACCTTTAGAAACTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTC TGCAATCTCTGGTTTTGGTGAATCTACTTACTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
22	V_H9 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMNWVRQAPGKGLEWVAAISGSGGRTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
23	V_H9 핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACCTTTAACTATTACGCAATGAACTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGGC AGCAATCTCTGGTTCTGGTGGTAGAACTTACTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
24	V_H10 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGNTSYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
25	V_H10 핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACCTTTTATGGTTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTC TGCAATCTCTGGTTCTGGTGGTAACACTTCTTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
26	V_H11 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLEWVAAISGSGDSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
27	V_H11 핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACCTTTTATGGTTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGGC AGCAATCTCTGGTTCTGGTGATTCTACTTACTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
28	V_L2 아미노산 서열	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIHNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASGLESGVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPDDFATYYCQQGDRFPLTFGGGTKVEIK
29	V_L2 핵산 서열	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG CCAGTCAGAATATTCATAACTGGTTGGCCTGGTATCAGCAAAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTA TAAGGCGTCTGGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGATTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTC ACCATCAGCAGCCTGCAACCTGATGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGGGTGACAGATTCCCTCTCACTT TCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACG
30	V_L3 아미노산 서열	DIQMTQSPSILSASVGDRVTITCRASQSISRWLAWYQQKPGKPPKLLIFKASALESGVPSRFSGSGYGTDFTL TISNLQPEDFATYFCQQGNSFPLTFGGGTKVDIK

31	V_L3 핵산 서열	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCATCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACTATCACTTGCCGGG CCAGTCAGAGTATCAGTAGGTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAACCCCCTAAACTCCTGATCTT TAAGGCGTCTGCTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCGAGGTTCAGCGGCAGTGGATATGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCAGCAACCTGCAGCCTGAAGACTTTGCAACTTACTTCTGTCAACAGGGTAATAGTTTCCCTCTCACTT TCGGCGGAGGGACCAAAGTGGATATCAAACGTACG
32	V_L4 아미노산 서열	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIDIWLAWYQWKPGKAPKLLIYKASGLETGVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPEDFATYYCQQGNQFPLTFGQGTRLEIK
33	V_L4 핵산 서열	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG CCAGTCAGAATATTGATATCTGGTTGGCCTGGTATCAGTGGAAACCAGGGAAGGCCCCTAAACTCCTGATCTA TAAGGCGTCTGGTTTAGAAACTGGGGTCCCTTCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTC ACTATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGATTTTGCGACTTACTATTGTCAACAGGGTAACCAGTTCCCGCTCACCT TCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGTACG
34	V_L5 아미노산 서열	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIFKASALEVGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQGNSFPLTFGGGTKVDIK
35	V_L5 핵산 서열	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG CCAGTCAGAGTATCGGTAGGTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAACTCCTGATCTT TAAGGCGTCTGCTTTAGAAGTTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTAACAGTTTCCCGCTCACTT TCGGCGGAGGGACCAAAGTGGATATCAAACGTACG
36	V_L6 아미노산 서열	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASALQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQGDSFPLTFGGGTKVEIK
37	V_L6 핵산 서열	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG CCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAACTCCTGATCTA TGCTGCATCCGCTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGCGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACTATCAGCAGCCTGCAGCCCGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTGACAGTTTCCCTCTCACTT TCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACG
38	V_L7 아미노산 서열	DIQMTQSPSTLSASVGDTVTFSCRASQSINTWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASALENGVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPEDFATYYCQQGNSFPLTFGGGTKVEIK
39	V_L7 핵산 서열	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACACAGTCACCTTCAGTTGCCGGG CCAGTCAGAGTATTAACACCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAAAAGCCAGGGAAAGCCCCTAAACTCCTTATCTA TAAGGCGTCTGCTTTAGAAAATGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTC ACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGGAACAGTTTCCCTCTCACTT TCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACG
40	V_L8 아미노산 서열	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASALESGVPSRFSGGGSGTEFTL TISSLQPEDFATYYCQQGHSFPLTFGGGTKLEIK
41	V_L8 핵산 서열	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG CCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAACTCCTCATCTA TAAGGCGTCTGCTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCGGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTC ACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTCACAGTTTCCCTCTCACTT TCGGCGGAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACG
42	V_L9 아미노산 서열	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISDWLAWYQQKPGKAPKLLIFKASALEGGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQGNSFPITFGQGTRLEIK
43	V_L9 핵산 서열	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG CCAGTCAGAGTATTAGTGACTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGTAAAGCCCCTAAACTCCTGATCTT TAAGGCTTCTGCTTTAGAAGGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTAACAGTTTCCCGATCACCT TCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGTACG
44	V_L10 아미노산 서열	DIQMTQSPATLSASVGDRVTITCRASQSVDRWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASALQGGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQGDSFPLTFGGGTKVEIK
45	V_L10 핵산 서열	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGCATCTGTTGGAGACAGGGTCACCATCACTTGCCGGG CCAGTCAGAGTGTTGATAGGTGGTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAACCTCCTAATCTA TGAGGCGTCTGCCTTACAAGGTGGGGTCCCGTCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTGATAGTTTCCCTCTCACTT TCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACG
46	V_L11 아미노산 서열	DIQLTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASGLQNGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQGDRFPLTFGGGTKVEIK
47	V_L11 핵산 서열	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGG CGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTA TGCTGCATCCGGTTTGCAAAATGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTGACAGGTTCCCGCTCACTT TCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACG
48	V_H CDR1	FTFSSYAMS
49	V_H CDR1.1	FTFNYYAMS

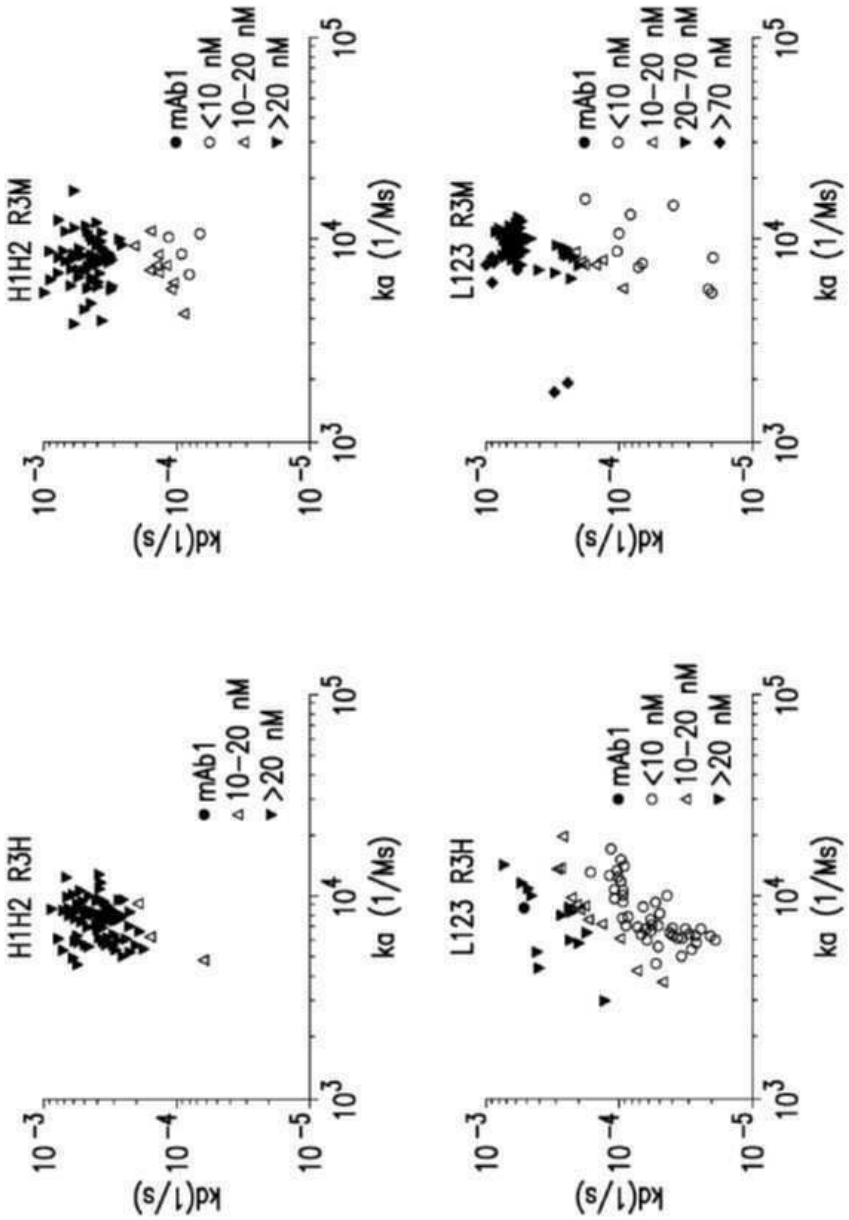
50	V_H CDR1.2	FTFYGYAMS
51	V_H CDR1.3	FTFRNYAMS
52	V_H CDR1.4	FTFNYYAMN
53	V_H CDR1.5	FTFNYYAMXAA$_1$ (Xaa_1 = S 또는 N임)
54	V_H CDR1.6	FTFXaa$_1$Xaa$_2$YAMS (Xaa1 = S, N, Y, R이고; Xaa2 = S, N, Y, G임)
55	V_H CDR1.7	FTFXaa$_1$Xaa$_2$YAMXaa$_3$ (Xaa1 = S, N, Y, R이고; Xaa2 = S, N, Y, G이고; Xaa3 = S 또는 N임)
56	V_H CDR2	SAISGSGGSTYY
57	V_H CDR2.1	SAIDGSGDNTTY
58	V_H CDR2.2	AAISGSGDGTYY
59	V_H CDR2.3	SAISGSGDSTYY
60	V_H CDR2.4	AAISGGGDATYY
61	V_H CDR2.5	SSISGSGDVTYY
62	V_H CDR2.6	SAISGFGESTYY
63	V_H CDR2.7	AAISGSGGRTYY
64	V_H CDR2.8	SAISGSGGNTSY
65	V_H CDR2.9	AAISGSGDSTYY
66	V_H CDR2.10	AAISGXaa1GXaa2Xaa3TYY (Xaa1 = S 또는 G이고; Xaa2 = D 또는 G이고; Xaa3 = S, R, G, A임)
67	V_H CDR2.11	Xaa$_1$Xaa$_2$IXaa$_3$GXaa$_4$GXaa$_5$Xaa$_6$TXaa$_7$Y
68	V_H CDR3	AKDSPFLLDDYYYYYYMD
69	V_L CDR1	RASQGISSWLAW
70	V_L CDR1.1	RASQNIHNWLAW
71	V_L CDR1.2	RASQSISRWLAW
72	V_L CDR1.3	RASQNIDIWLAW
73	V_L CDR1.4	RASQSIGRWLAW
74	V_L CDR1.5	RASQSISSWLAW
75	V_L CDR1.6	RASQSINTWLAW
76	V_L CDR1.7	RASQSISDWLAW
77	V_L CDR1.8	RASQSVDRWLAW
78	V_L CDR2	YAASSLQS
79	V_L CDR2.1	YKASGLES
80	V_L CDR2.2	FKASALES
81	V_L CDR2.3	YKASGLET
82	V_L CDR2.4	FKASALEV
83	V_L CDR2.5	YAASALQS
84	V_L CDR2.6	YKASALEN
85	V_L CDR2.7	YKASALES
86	V_L CDR2.8	FKASALEG
87	V_L CDR2.9	YEASALQG
88	V_L CDR2.10	YAASGLQN
89	V_L CDR3	QQGHLFPITF
90	V_L CDR3.1	QQGDRFPLTF
91	V_L CDR3.2	QQGNSFPLTF
92	V_L CDR3.3	QQGNQFPLTF
93	V_L CDR3.4	QQGDSFPLTF

94	V_L CDR3.5	QQGHSFPLTF
95	V_L CDR3.6	QQGNSFPITF
96	V_L CDR3.7	QQGXaa$_1$Xaa$_2$FPXaa$_3$TF
97	인간 CD137L Uniprot ID - P41273	MEYASDASLDPEAPWPPAPRARACRVLPWALVAGLLLLLLLAAACAVFLACPWAVSGARASPGSAASPRLREG PELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQ LELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTE ARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE
98	FLAG	DYKDDDDK
99	6-His	HHHHHH
100	HA	YPYDVPDYA
101	V_H12 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGDTTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
102	V_H12 핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACCTTTAGAAACTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTC TGCAATCTCTGGTTCTGGTGATACTACTTACTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
103	V_H13 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
104	V_H13 핵산 서열	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCT CTGGATTCACCTTTGGTTCTTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTC TGCAATCTCTGGTTCTGGTGGTTCTACTTACTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGAC AATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAA AGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGT CACCGTCTCCTCAGCTAGC
105	V_L12 아미노산 서열	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASGLQSGVPSRFSGSGSGTEFTL TISNLQPEDFATYYCQQGNQFPLTFGQGTRLE
106	V_L12 핵산 서열	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTAACCATCACTTGCCGGG CAAGTCAGGATATTGGTGACTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTA TAAGGCGTCTGGTTTACAAAGTGGGGTCCCATCAAGATTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTC ACTATCAGCAACCTGCAGCCAGAGGATTTTGCGACTTACTATTGTCAACAGGGTAACCAGTTCCCGCTCACCT TCGGCCAAGGGACACGACTGGAG
107	V_H CDR1.8	FTFGWYAMS
108	V_H CDR2.12	SAISGSGDTTYY
109	V_L CDR1.9	RASQDIGDWLAW
110	V_L CDR2.11	YKASGLQS
111	V_H CDR3.1	AKASPFLLDDYYYYYYMD
112	V_H CDR3.2	AKDAPFLLDDYYYYYYMD
113	V_H CDR3.3	AKDSAFLLDDYYYYYYMD
114	V_H CDR3.4	AKDSPALLDDYYYYYYMD
115	V_H CDR3.5	AKDSPFALDDYYYYYYMD
116	V_H CDR3.6	AKDSPFLADDYYYYYYMD
117	V_H CDR3.7	AKDSPFLLADYYYYYYMD
118	V_H CDR3.8	AKDSPFLLDAYYYYYYMD
119	V_H CDR3.9	AKDSPFLLDDAYYYYYMD
120	V_H CDR3.10	AKDSPFLLDDYAYYYYMD
121	V_H CDR3.11	AKDSPFLLDDYYAYYYMD
122	V_H CDR3.12	AKDSPFLLDDYYYAYYMD
123	V_H CDR3.13	AKDSPFLLDDYYYYAYMD
124	V_H CDR3.14	AKDSPFLLDDYYYYYAMD
125	V_H CDR3.15	AKDSPFLLDDYYYYYYAD
126	V_H CDR3.16	DXXXXLXXXXYXYYX
127	V_H CDR3.17	DXPFXLDXXYYYYYX
128	V_H CDR3.18	DX$_1$X$_2$X$_3$X$_4$LX$_5$X$_6$X$_7$X$_8$YX$_9$YYX$_{10}$

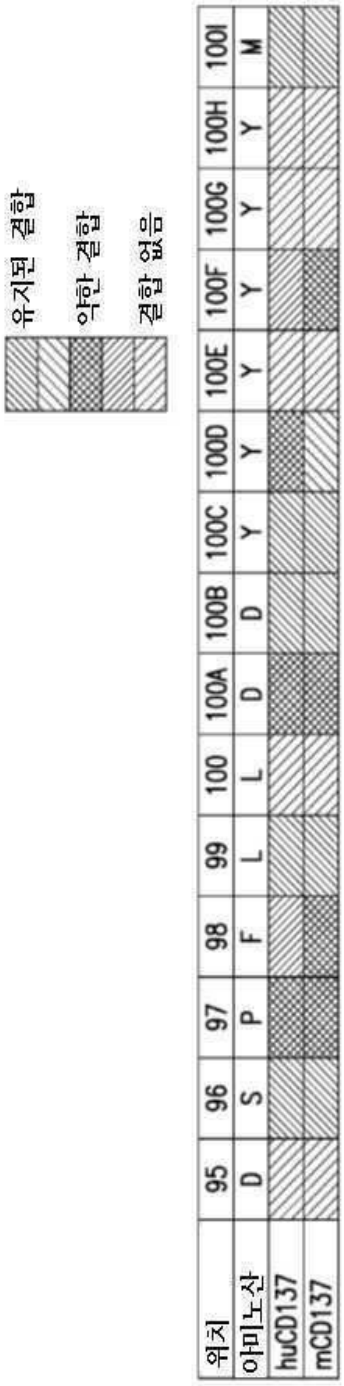
129	mAb1 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK VDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLG
130	mAb8 중쇄 V1	GTEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGDTTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLG
131	mAb8 중쇄 V2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGDTTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK VDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLG
132	mAb10 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLEWVAAISGSGDSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK VDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLG
133	mAb1, mAb8 및 mAb10 경쇄	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQGHLFPITFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

도면

도면1


H1H2 R3M
mAb1
<10 nM
10–20 nM
>20 nM
L123 R3M
mAb1
<10 nM
10–20 nM
20–70 nM
>70 nM
H1H2 R3H
mAb1
10–20 nM
>20 nM
L123 R3H
mAb1
<10 nM
10–20 nM
>20 nM
kd(1/s)
ka (1/Ms)

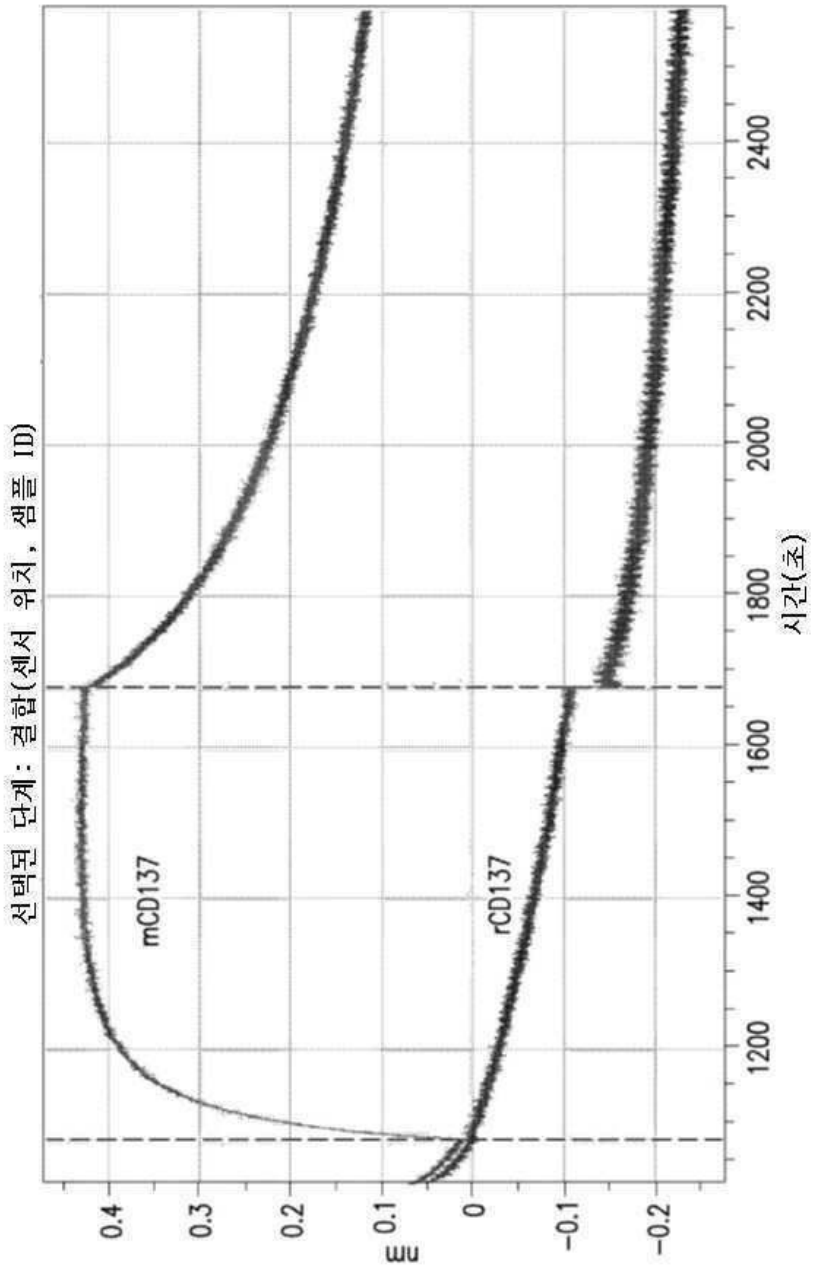
도면2


유지된 결합
약한 결합
결합 없음
위치
아미노산
huCD137
mCD137
95
96
97
98
99
100
100A
100B
100C
100D
100E
100F
100G
100H
100I
D
S
P
F
L
L
D
D
Y
Y
Y
Y
Y
M

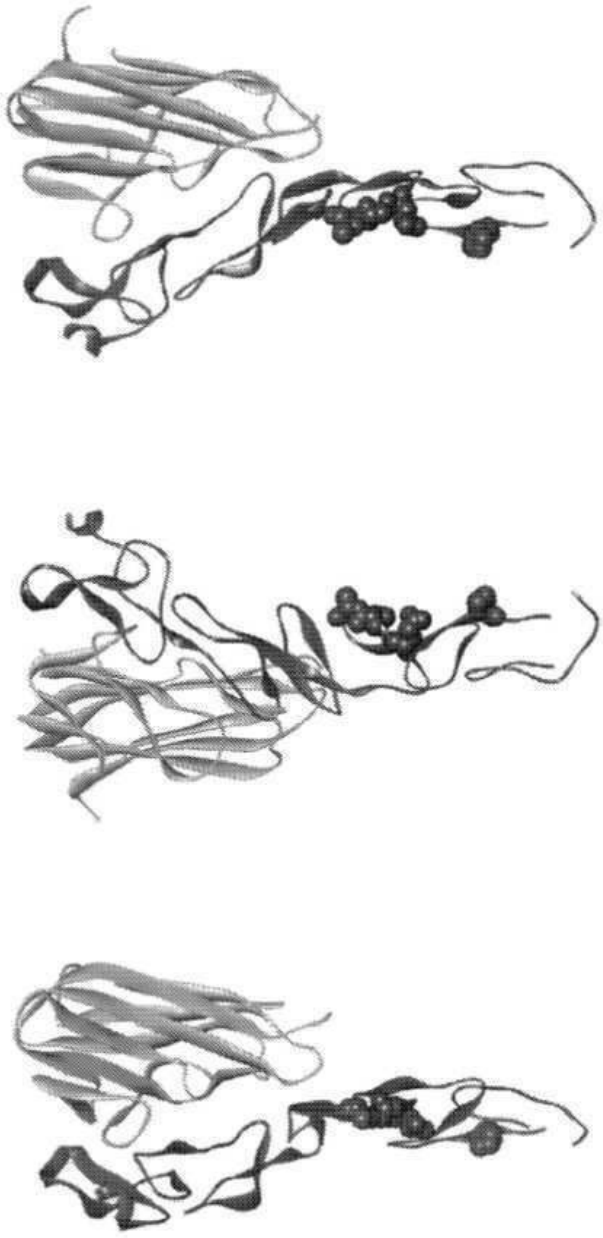
도면3a


LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQIC
SPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAEC
DCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCK
DCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCG
mAb1
LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQIC
SPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAEC
DCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCK
DCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCG
mAb4
LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQIC
SPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAEC
DCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCK
DCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCG
mAb5

도면3b


선택된 단계 : 결합(센서 위치, 샘플 ID)
mCD137
rCD137
nm
0.4
0.3
0.2
0.1
0
-0.1
-0.2
1200
1400
1600
1800
2000
2200
2400
시간(초)

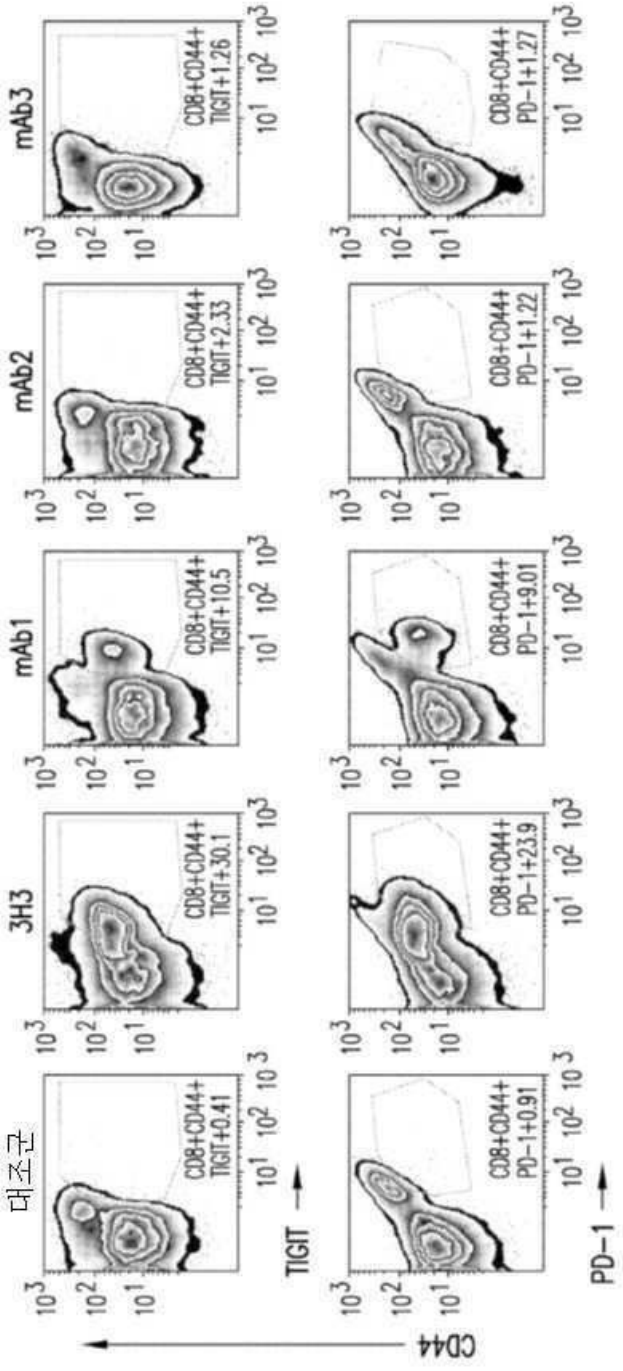
도면3c



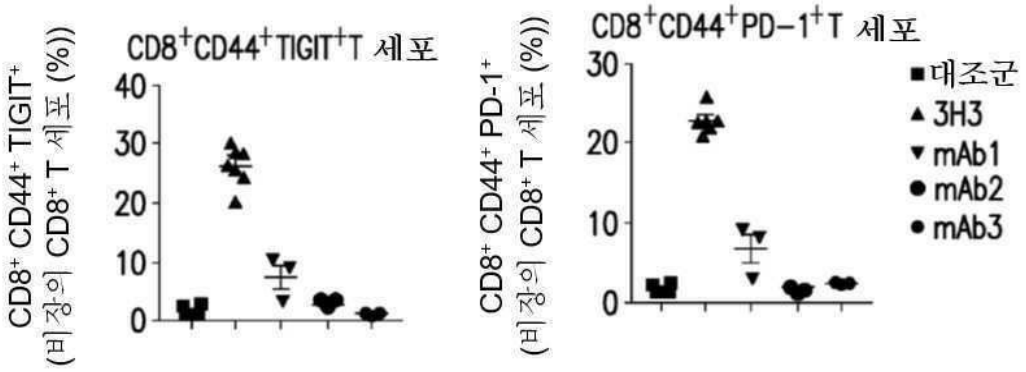
도면3d



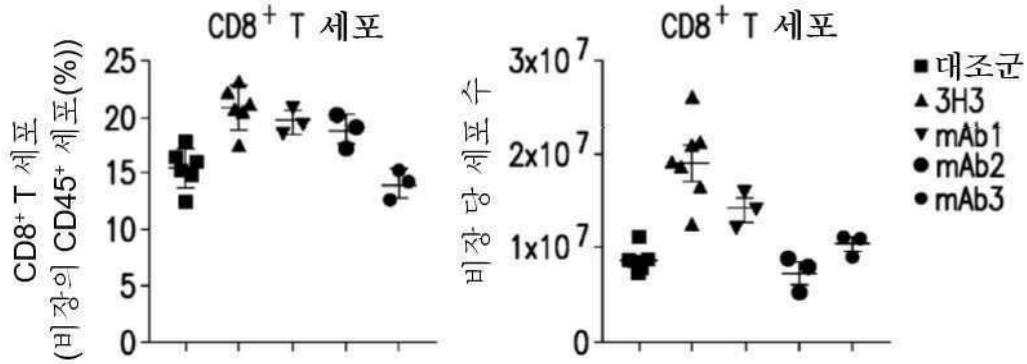
도면4a


대조군
3H3
mAb1
mAb2
mAb3
CD8+CD44+ TIGIT+0.41
CD8+CD44+ TIGIT+30.1
CD8+CD44+ TIGIT+10.5
CD8+CD44+ TIGIT+2.33
CD8+CD44+ TIGIT+1.26
CD8+CD44+ PD-1+0.91
CD8+CD44+ PD-1+23.9
CD8+CD44+ PD-1+9.01
CD8+CD44+ PD-1+1.22
CD8+CD44+ PD-1+1.27
TIGIT
PD-1
CD44

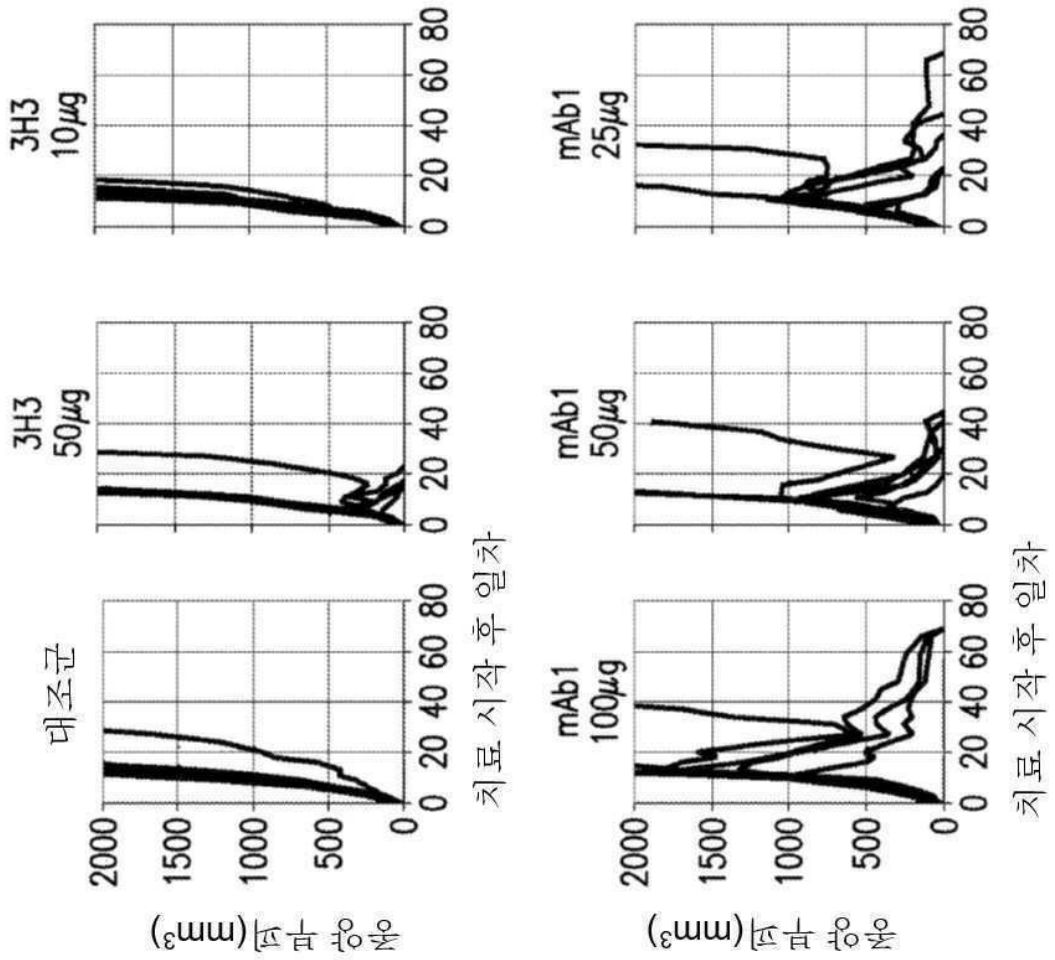
도면4b


CD8+CD44+TIGIT+T 세포
CD8+ CD44+ TIGIT+
(비장의 CD8+ T 세포 (%))
40
30
20
10
0
CD8+CD44+PD-1+T 세포
CD8+ CD44+ PD-1+
(비장의 CD8+ T 세포 (%))
30
20
10
0
대조군
3H3
mAb1
mAb2
mAb3

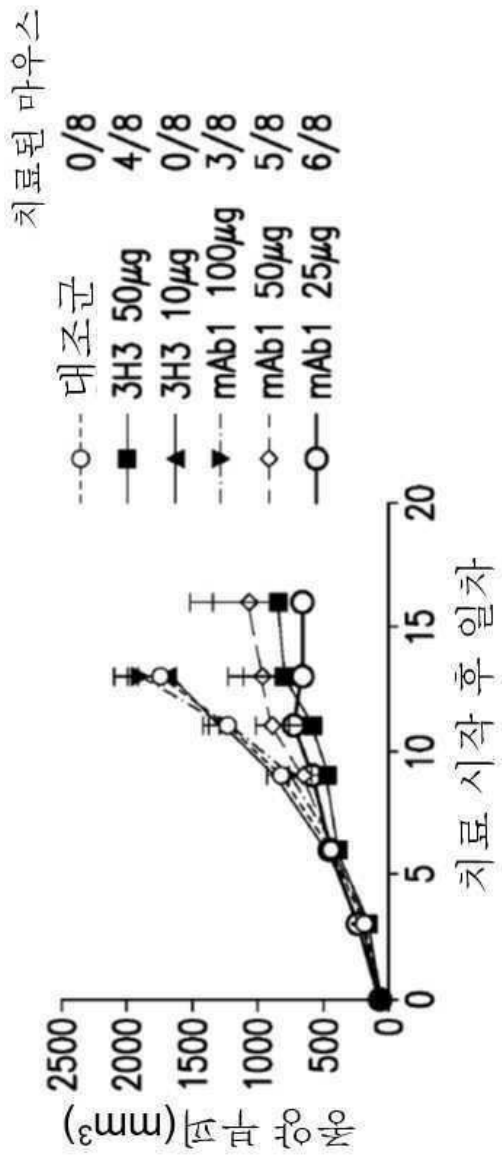
도면4c


CD8+ T 세포
CD8+ T 세포
(비장의 CD45+ 세포(%))
25
20
15
10
5
0
CD8+ T 세포
비장 당 세포 수
3x10 7
2x10 7
1x10 7
0
대조군
3H3
mAb1
mAb2
mAb3

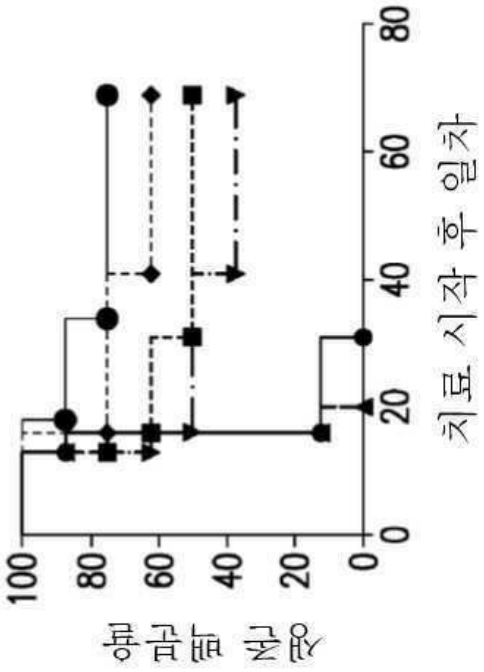
도면5a


대조군
3H3 50μg
3H3 10μg
mAb1 100μg
mAb1 50μg
mAb1 25μg
종양 부피(mm3)
2000
1500
1000
500
0
0 20 40 60 80
치료 시작 후 일차

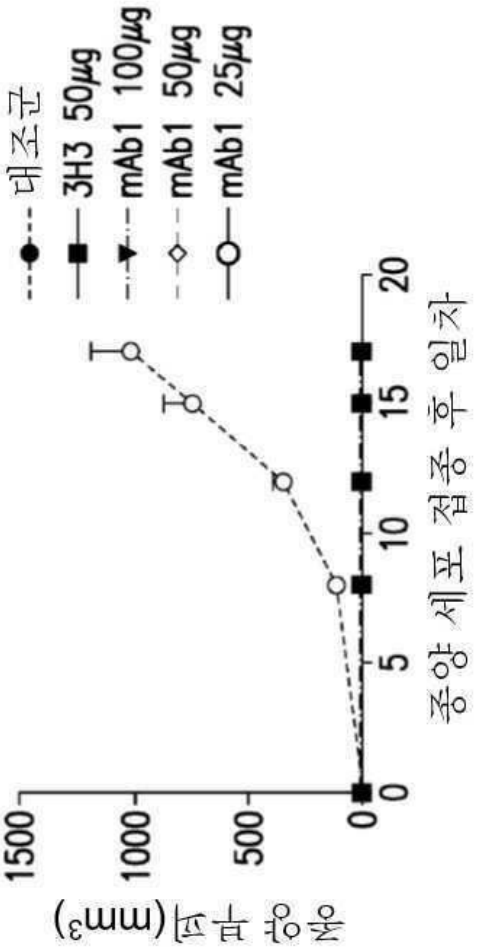
도면5b


치료된 마우스
대조군 0/8
3H3 50μg 4/8
3H3 10μg 0/8
mAb1 100μg 3/8
mAb1 50μg 5/8
mAb1 25μg 6/8
종양 부피 (mm3)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
치료 시작 후 일차

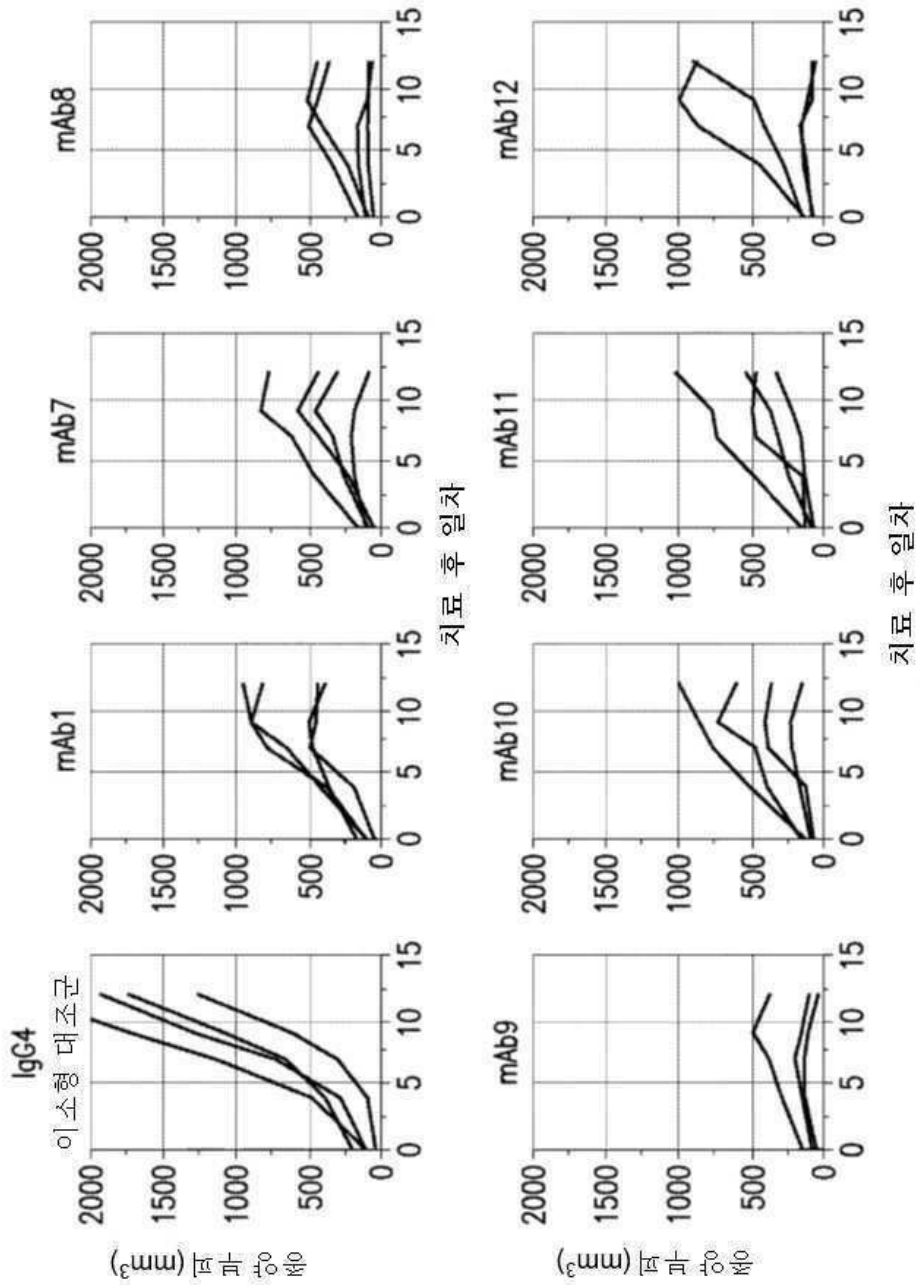
도면5c


생존 백분율
0
20
40
60
80
100
0
20
40
60
80
치료 시작 후 일차

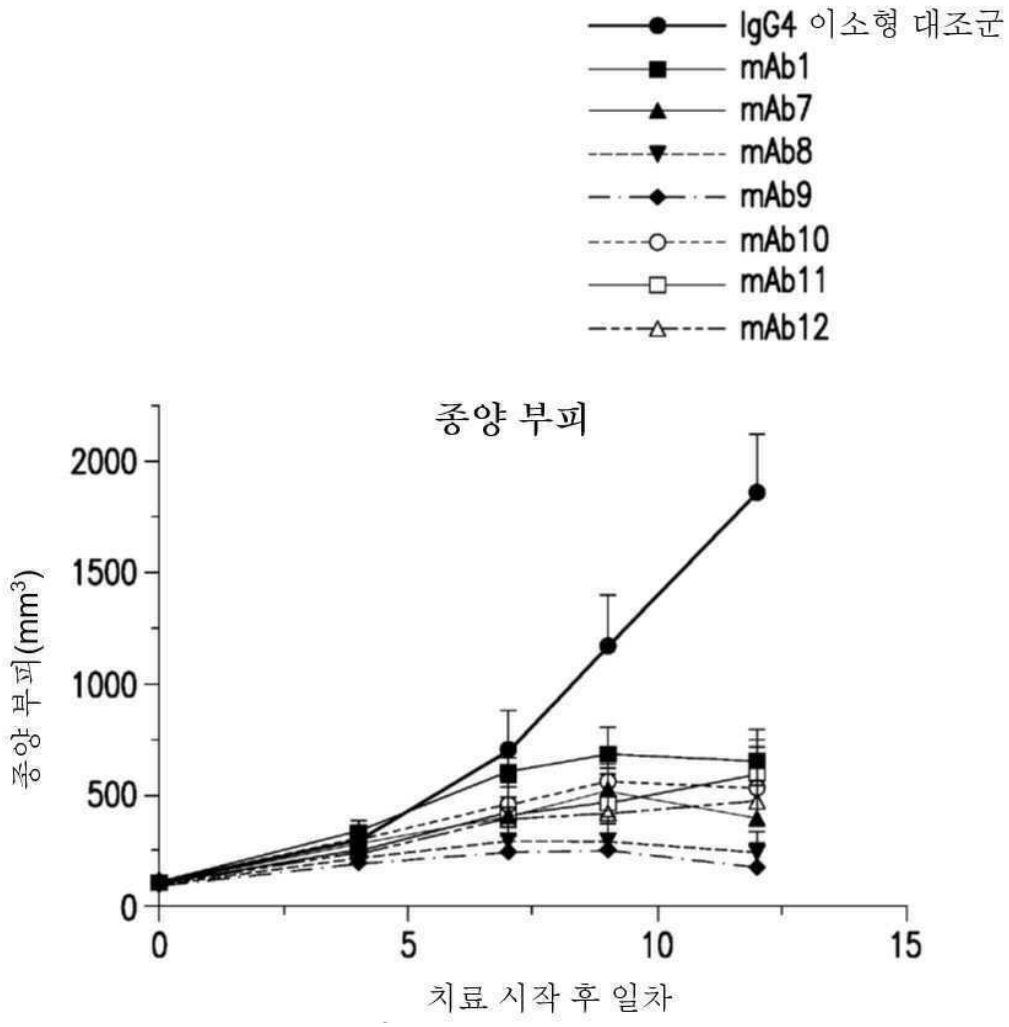
도면5d


대조군
3H3 50μg
mAb1 100μg
mAb1 50μg
mAb1 25μg
종양 부피 (mm³)
0
500
1000
1500
0
5
10
15
20
종양 세포 접종 후 일차

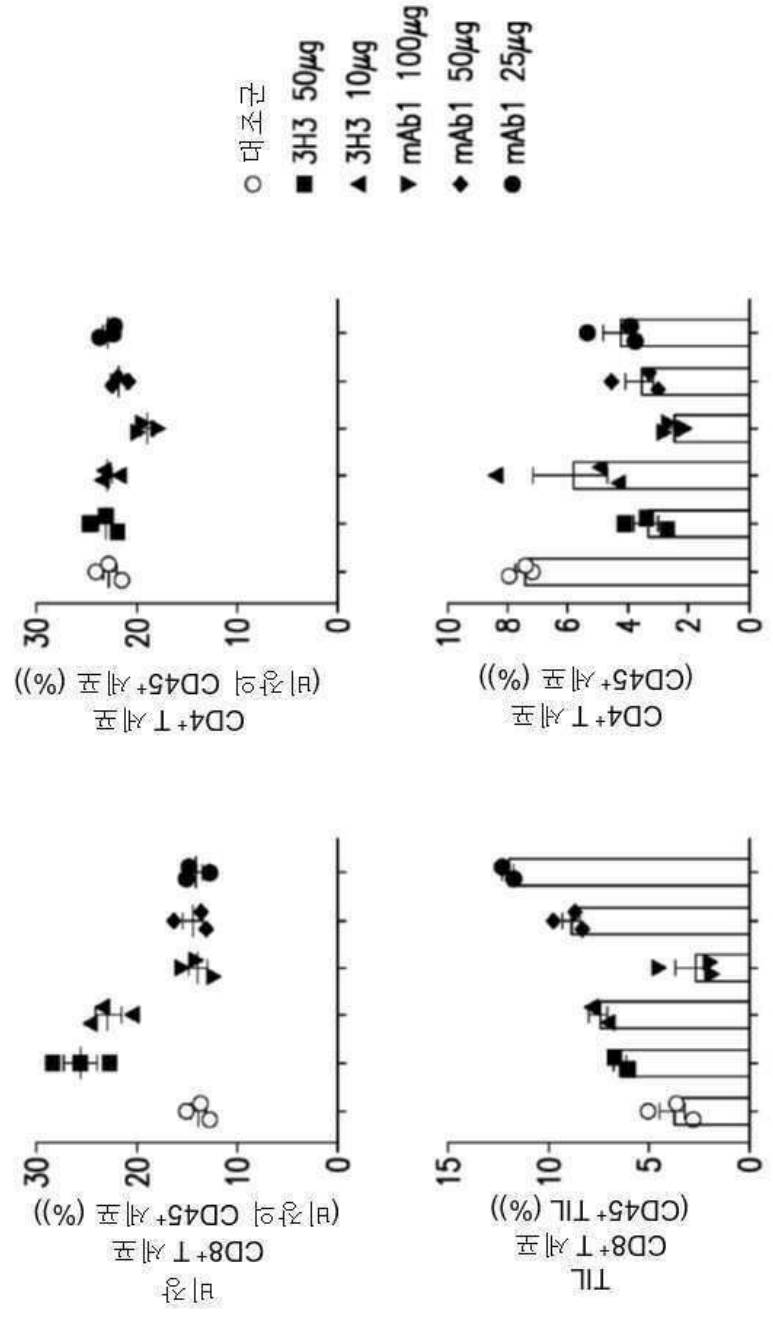
도면6a


IgG4
이소형 대조군
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
종양 부피 (mm³)
치료 후 일차
0
500
1000
1500
2000
0
5
10
15

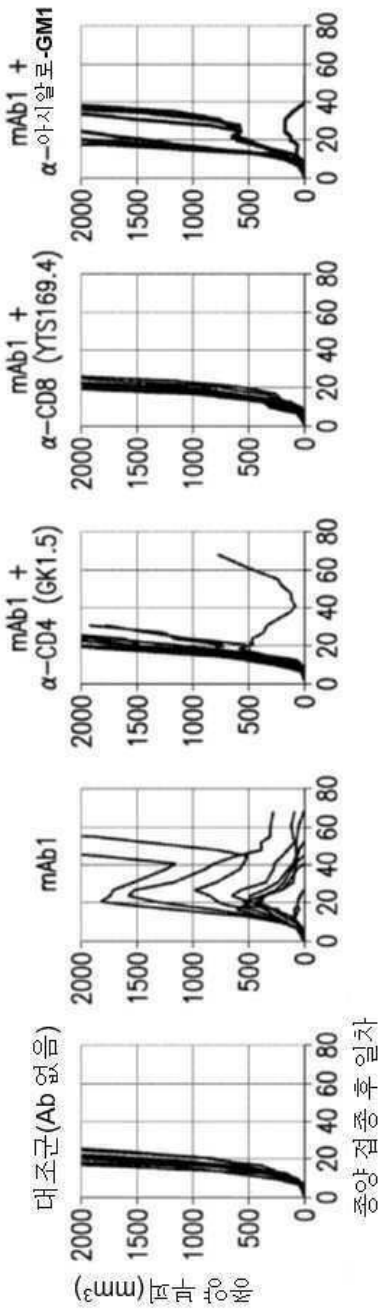
도면6b


IgG4 이소형 대조군
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
종양 부피
종양 부피(mm3)
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
치료 시작 후 일차

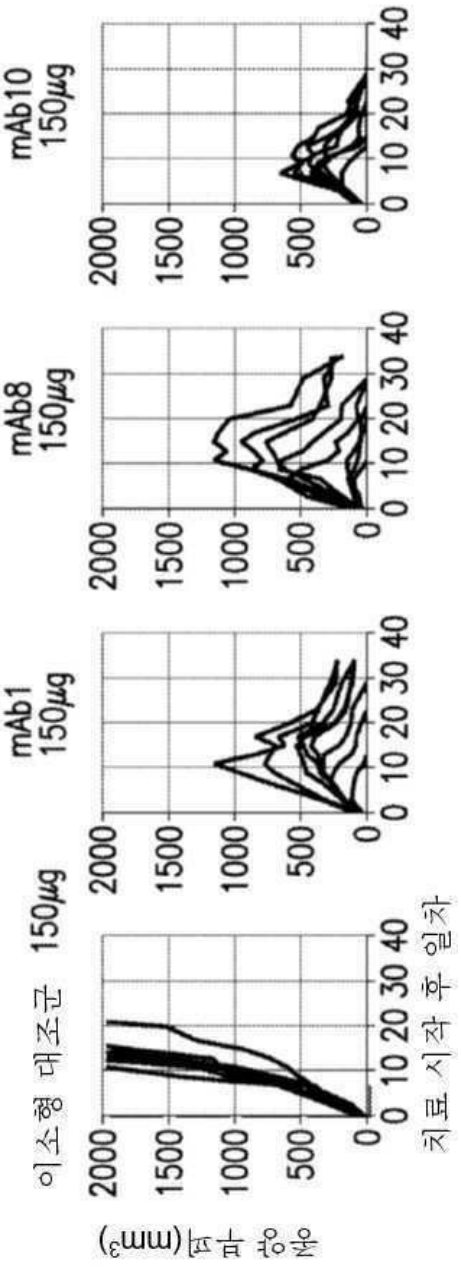
도면7


대조군
3H3 50μg
3H3 10μg
mAb1 100μg
mAb1 50μg
mAb1 25μg
CD4+ T 세포 (%)
CD4+ T 세포 (CD45+ 세포 (%))
CD8+ T 세포 (%)
CD8+ T 세포 (CD45+ 세포 (%))
TIL
CD8+ T 세포 (CD45+ TIL (%))
비장
비장의 CD45+ 세포 (%)

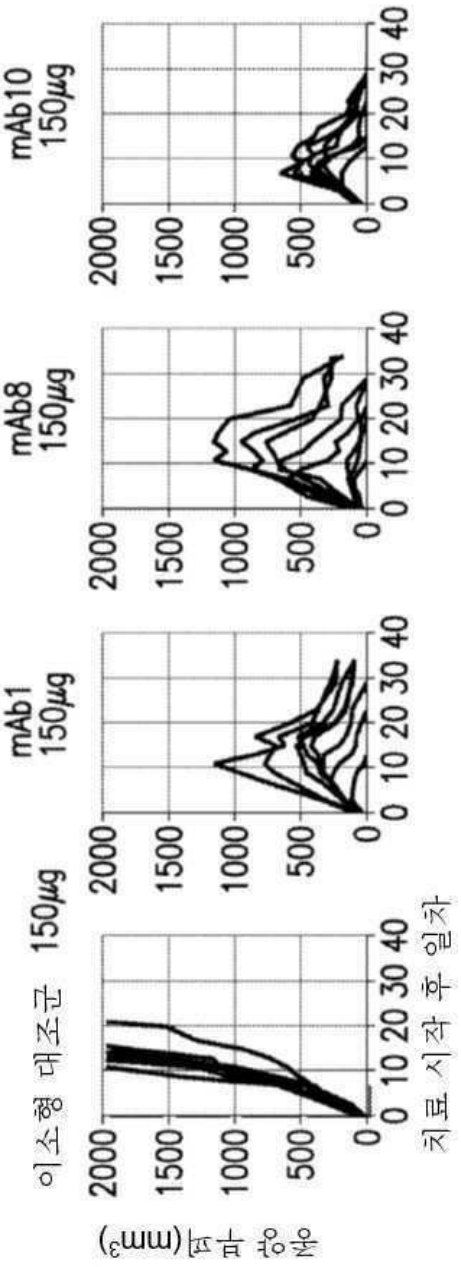
도면8


대조군(Ab 없음)
mAb1
mAb1 + α-CD4 (GK1.5)
mAb1 + α-CD8 (YTS169.4)
mAb1 + α-아시알로-GM1
종양 부피(mm³)
종양 접종 후 일차
0
500
1000
1500
2000
0 20 40 60 80

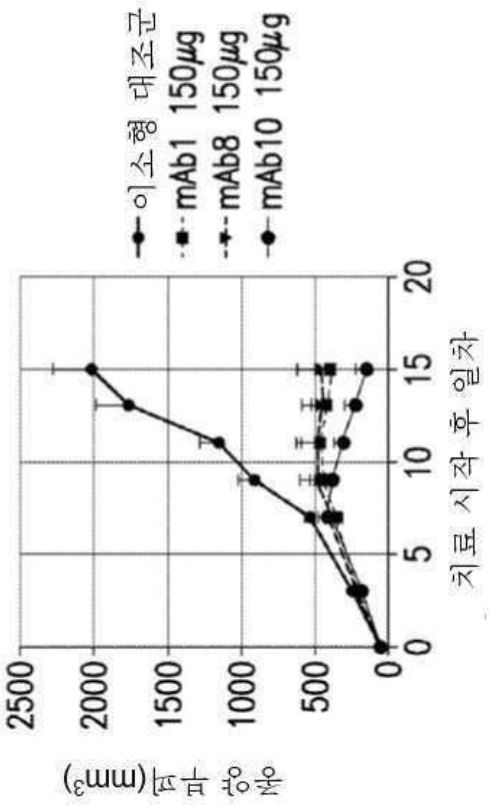
도면9


이소형 대조군 150μg
mAb1 150μg
mAb8 150μg
mAb10 150μg
종양 부피(mm³)
치료 시작 후 일자
0
500
1000
1500
2000
0 10 20 30 40

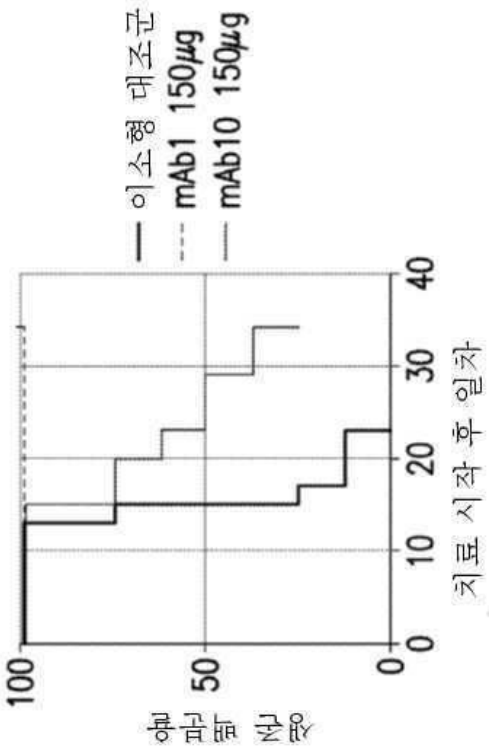
도면10a


mAb10 150μg
mAb8 150μg
mAb1 150μg
이소형 대조군 150μg
종양 부피(mm³)
치료 시작 후 일자
0
500
1000
1500
2000
0 10 20 30 40

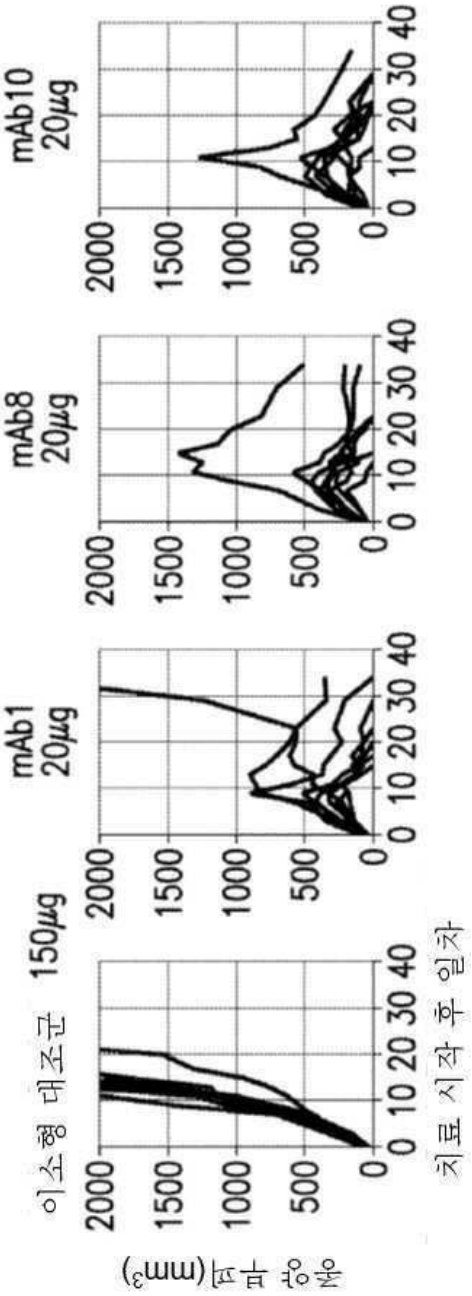
도면10b


이소형 대조군
mAb1 150μg
mAb8 150μg
mAb10 150μg
종양 부피(mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
치료 시작 후 일차

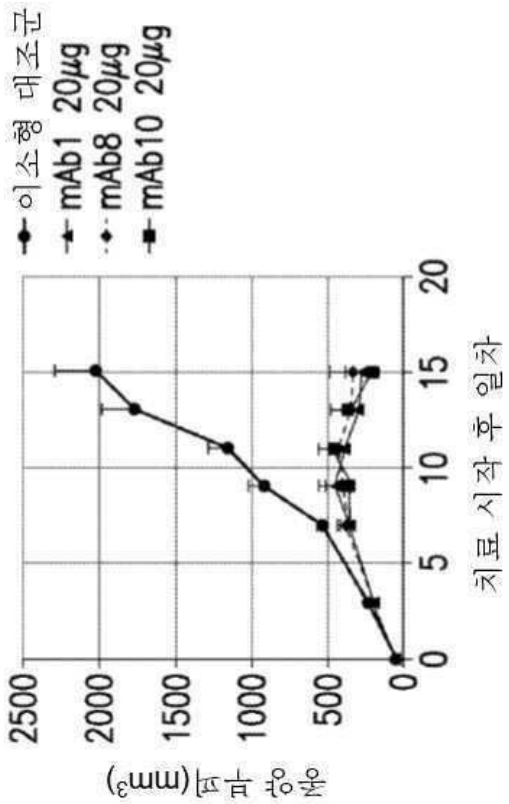
도면10c


이소형 대조군
mAb1 150μg
mAb10 150μg
생존 백분율
100
50
0
0
10
20
30
40
치료 시작 후 일차

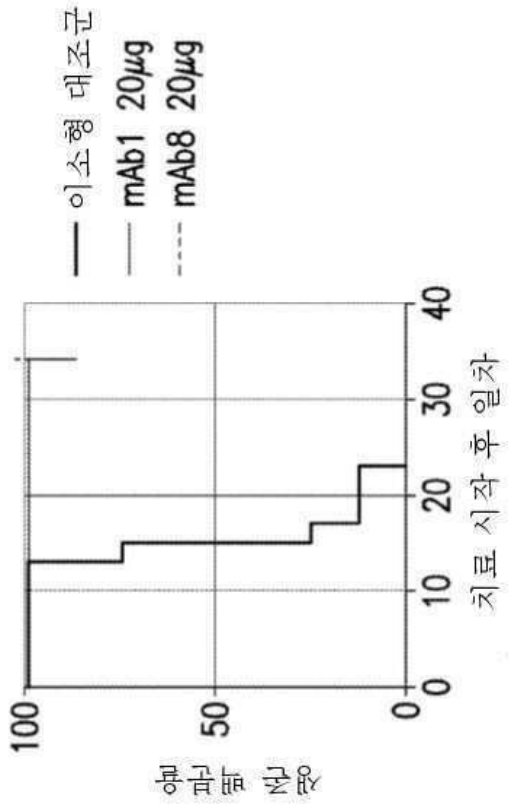
도면11a


이소형 대조군 150μg
mAb1 20μg
mAb8 20μg
mAb10 20μg
종양 부피(mm³)
치료 시작 후 일차
0
500
1000
1500
2000
0 10 20 30 40

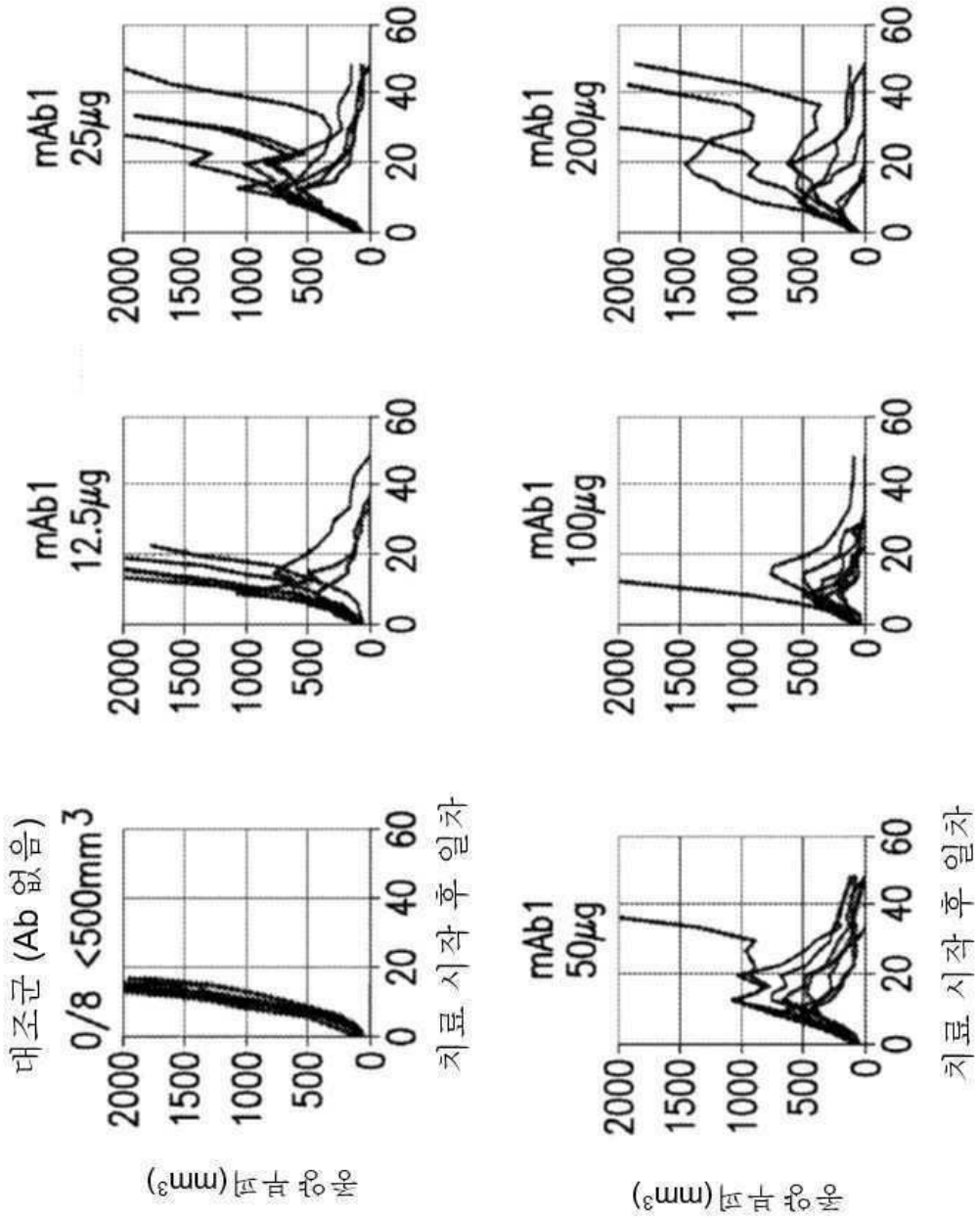
도면11b


이소형 대조군
mAb1 20μg
mAb8 20μg
mAb10 20μg
종양 부피(mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
치료 시작 후 일차

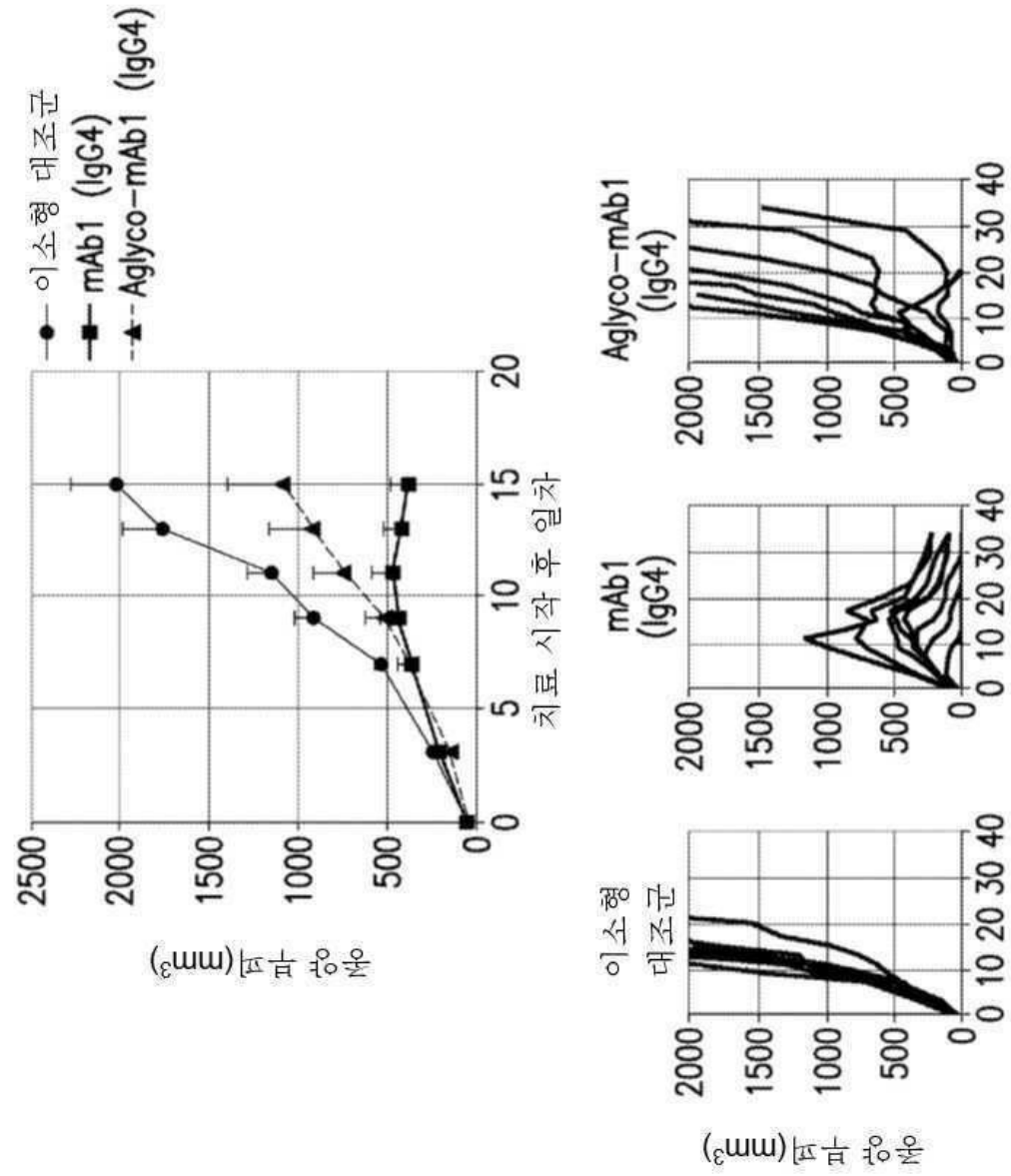
도면11c


이소형 대조군
mAb1 20μg
mAb8 20μg
생존 백분율
100
50
0
0
10
20
30
40
치료 시작 후 일차

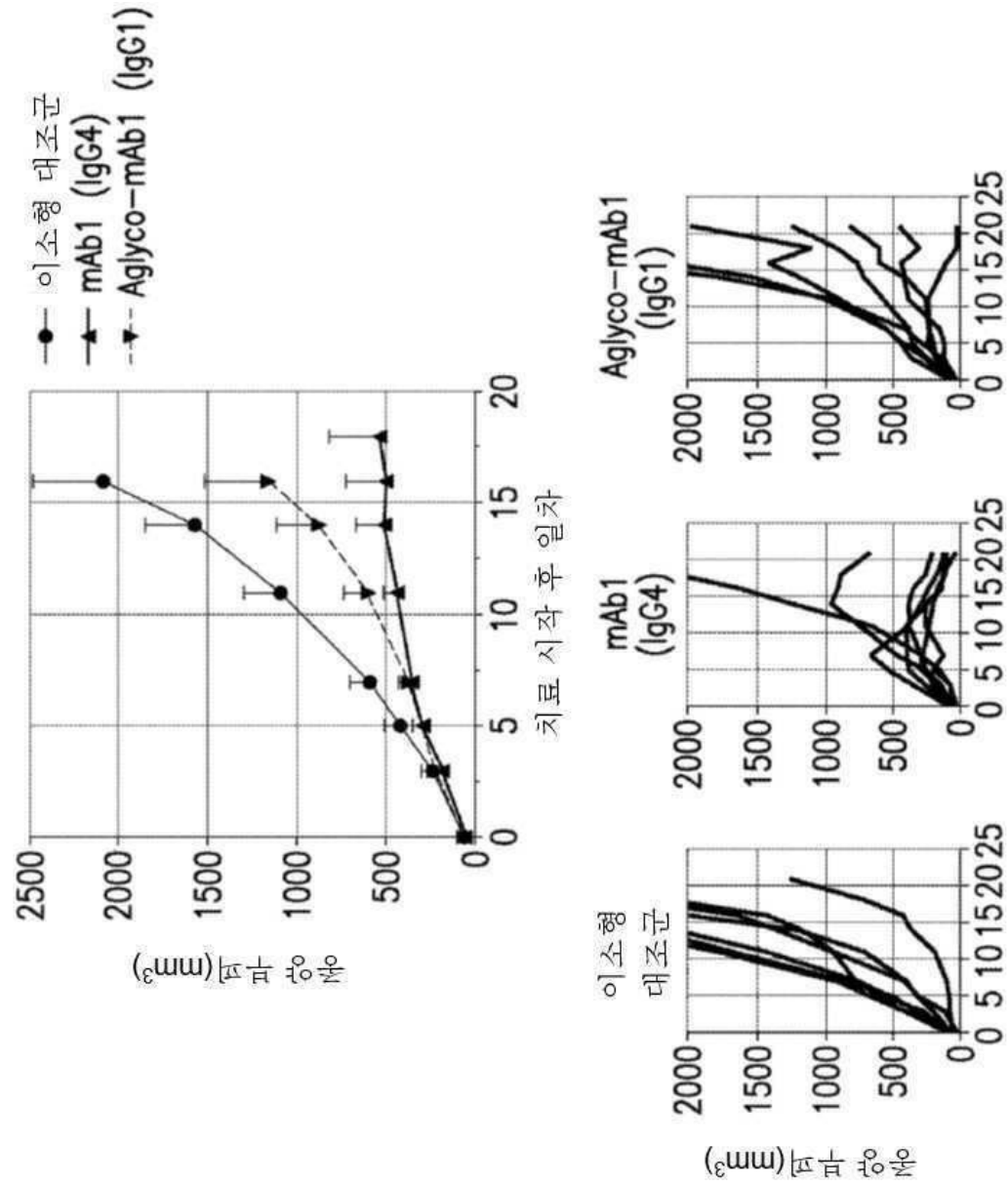
도면12


대조군 (Ab 없음)
0/8 <500mm3
mAb1
25μg
mAb1
12.5μg
mAb1
200μg
mAb1
100μg
mAb1
50μg
종양 부피 (mm3)
치료 시작 후 일차
0
500
1000
1500
2000
0
20
40
60

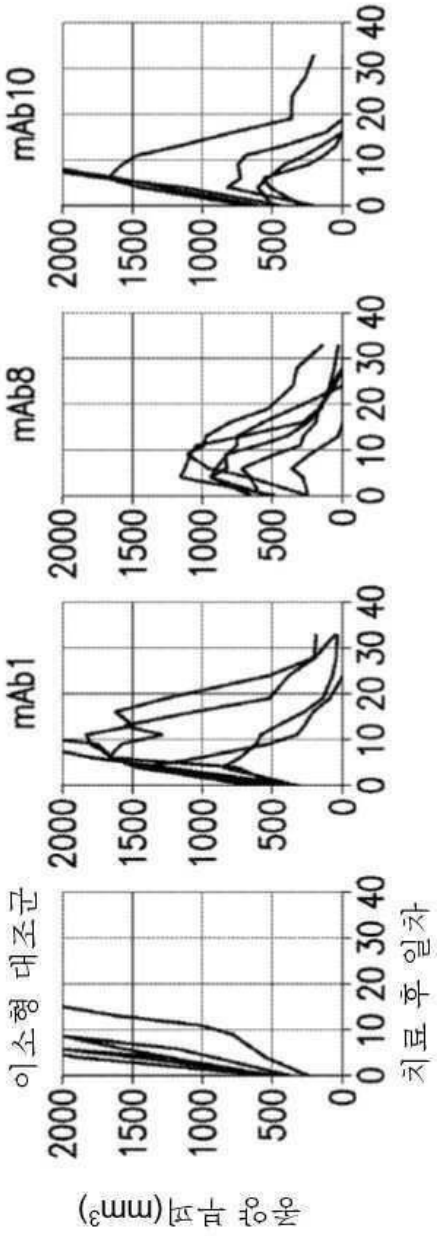
도면13a


이소형 대조군
mAb1 (IgG4)
Aglyco-mAb1 (IgG4)
종양 부피(mm³)
치료 시작 후 일차
0
500
1000
1500
2000
2500
0
5
10
15
20
이소형 대조군
mAb1 (IgG4)
Aglyco-mAb1 (IgG4)
종양 부피(mm³)
0
500
1000
1500
2000
0 10 20 30 40

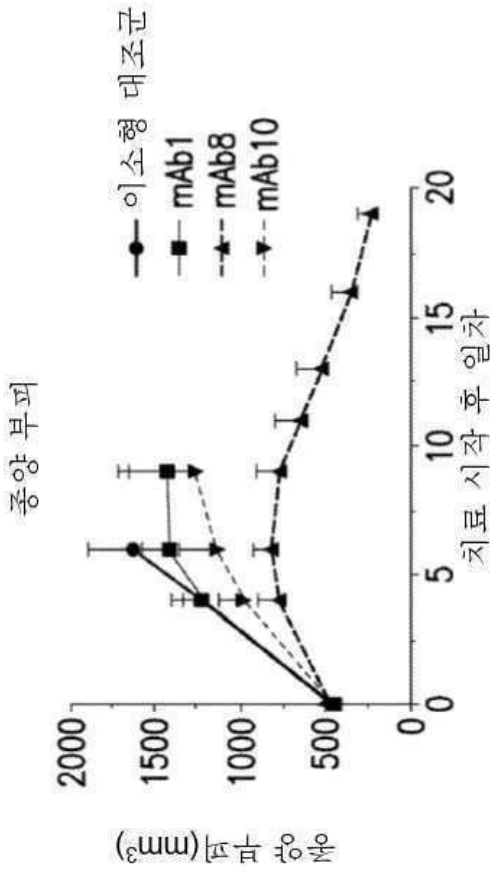
도면13b


이소형 대조군
mAb1 (IgG4)
Aglyco-mAb1 (IgG1)
종양 부피(mm³)
치료 시작 후 일차
0
500
1000
1500
2000
2500
0
5
10
15
20
25

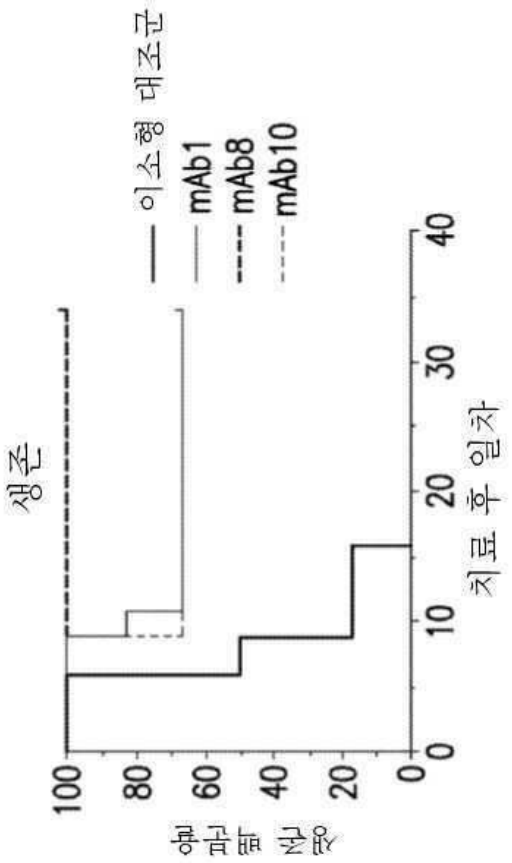
도면14a


mAb10
mAb8
mAb1
이소형 대조군
종양 부피(mm³)
치료 후 일차
0
500
1000
1500
2000
0 10 20 30 40

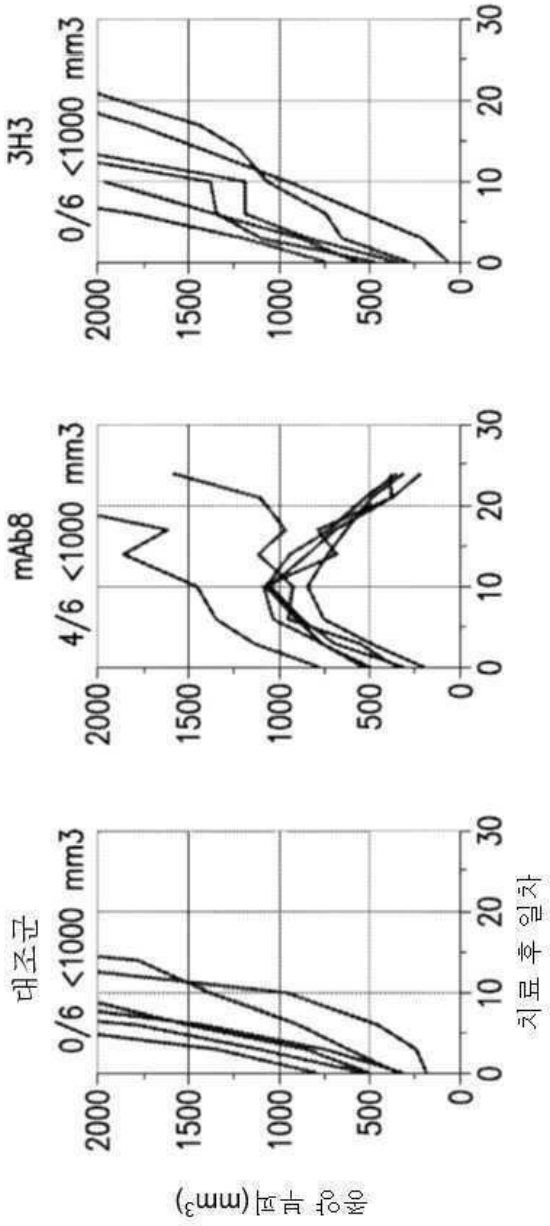
도면14b


종양 부피
이소형 대조군
mAb1
mAb8
mAb10
종양 부피(mm³)
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
치료 시작 후 일차

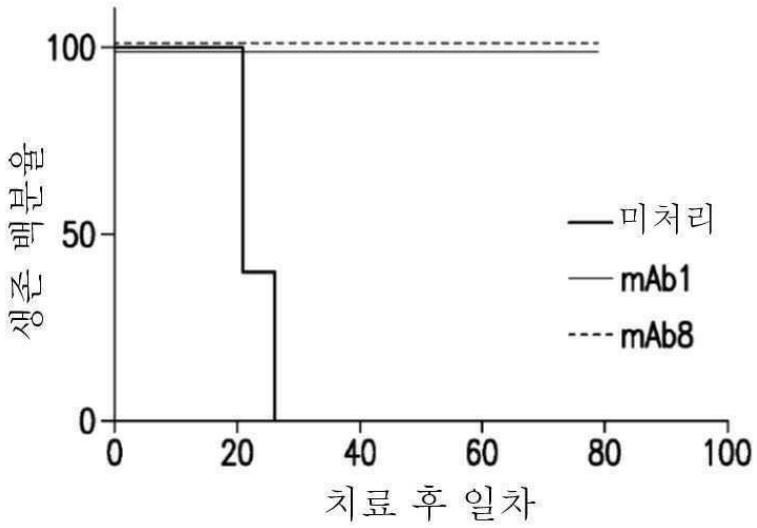
도면14c


이소형 대조군
mAb1
mAb8
mAb10
생존
생존 백분율
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
치료 후 일차

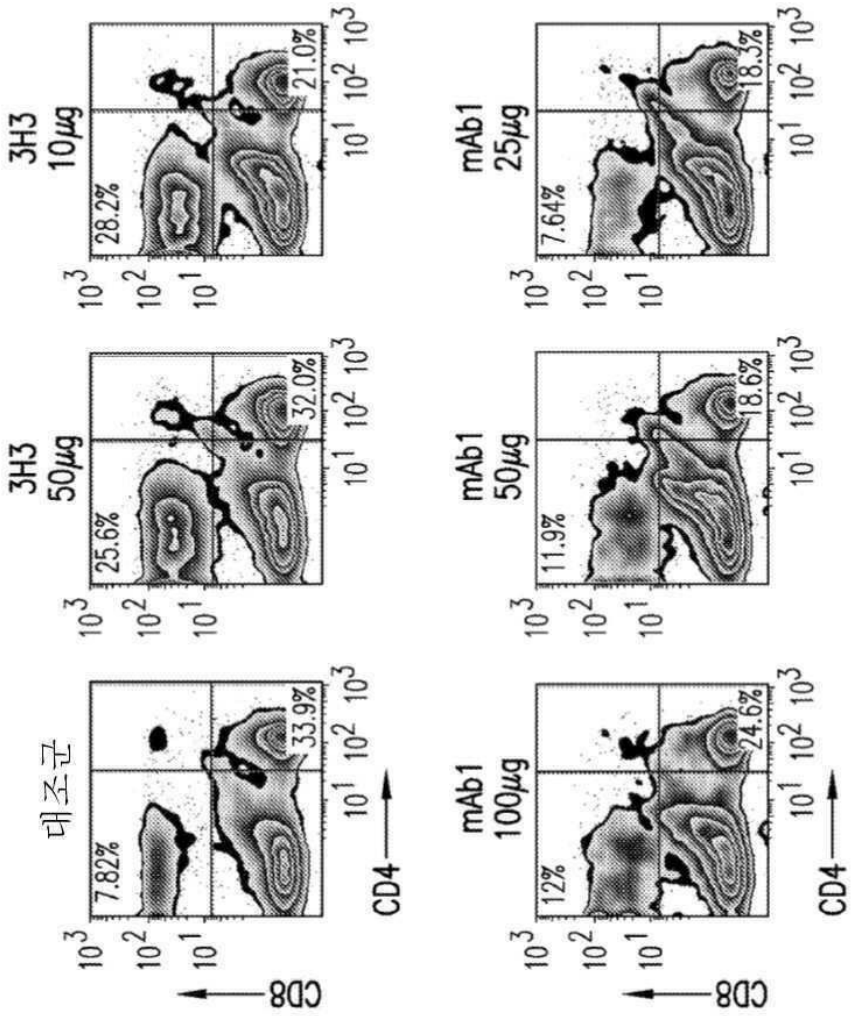
도면14d


대조군
0/6 <1000 mm3
mAb8
4/6 <1000 mm3
3H3
0/6 <1000 mm3
종양 부피 (mm³)
2000
1500
1000
500
0
0
10
20
30
치료 후 일차

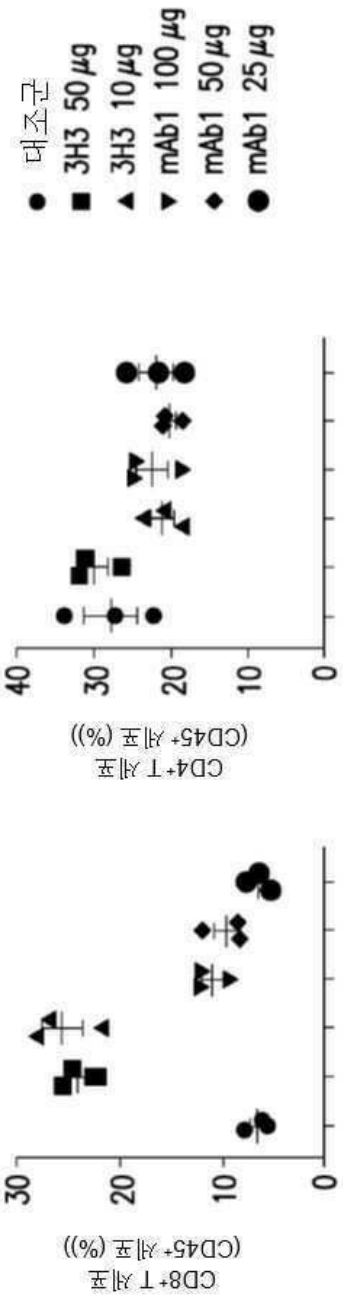
도면15


100
50
0
생존 백분율
0
20
40
60
80
100
치료 후 일차
미처리
mAb1
mAb8

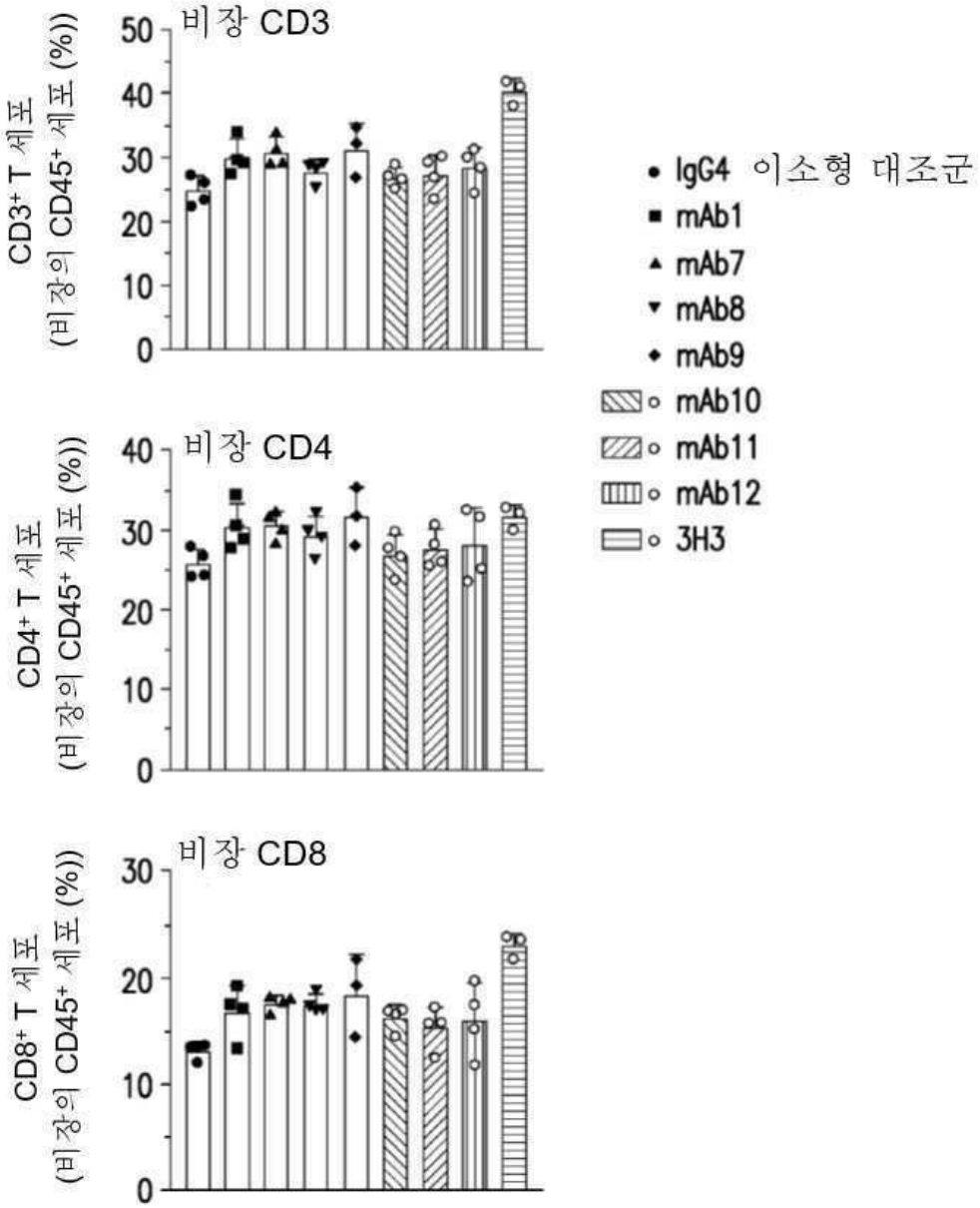
도면16a


3H3 10μg
28.2%
21.0%
mAb1 25μg
7.64%
18.3%
3H3 50μg
25.6%
32.0%
mAb1 50μg
11.9%
18.6%
대조군
7.82%
33.9%
mAb1 100μg
12%
24.6%
CD8
CD4

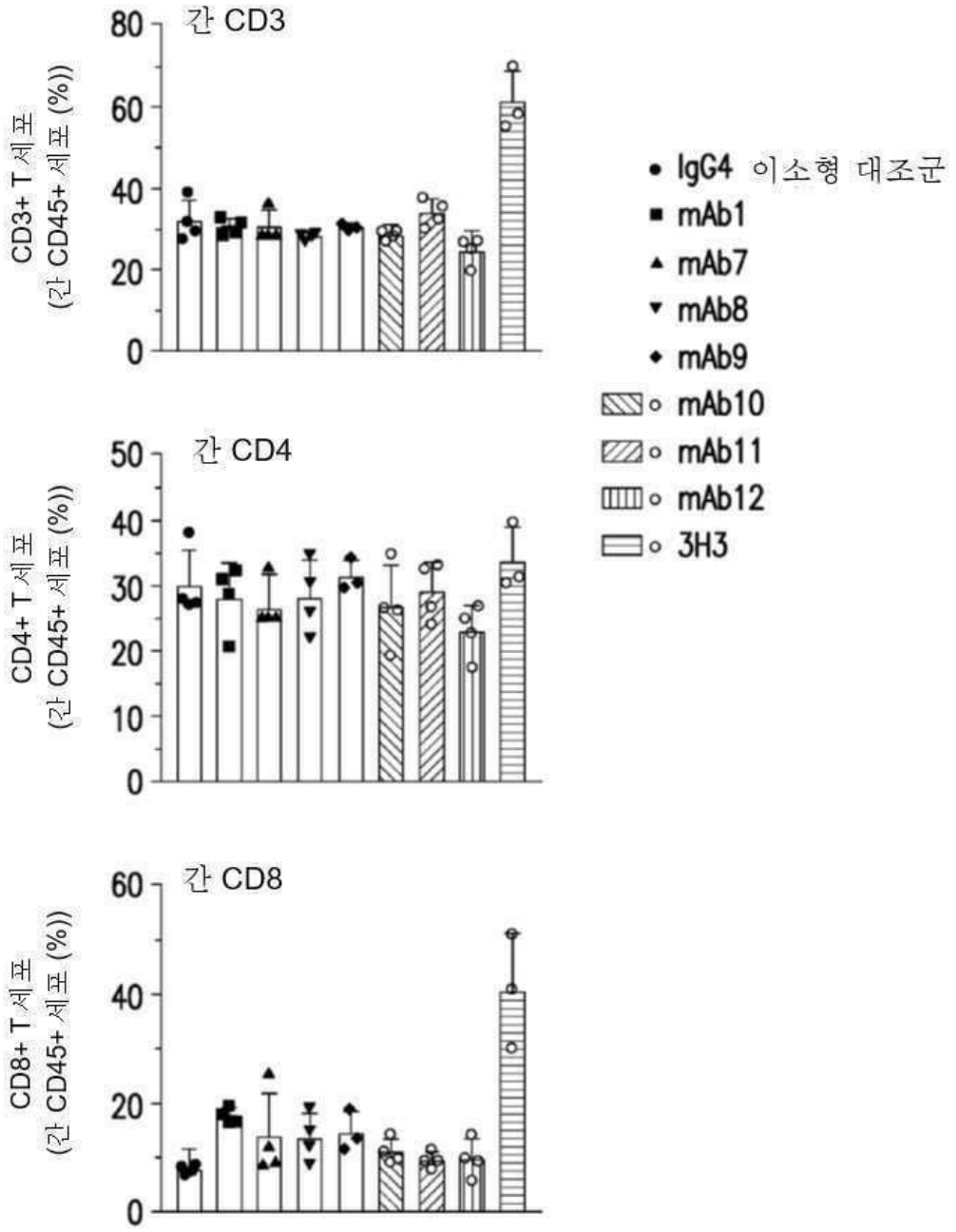
도면16b


대조군
3H3 50 μg
3H3 10 μg
mAb1 100 μg
mAb1 50 μg
mAb1 25 μg
CD4+ T 세포 (CD45+ 세포 (%))
0
10
20
30
40
CD8+ T 세포 (CD45+ 세포 (%))
0
10
20
30

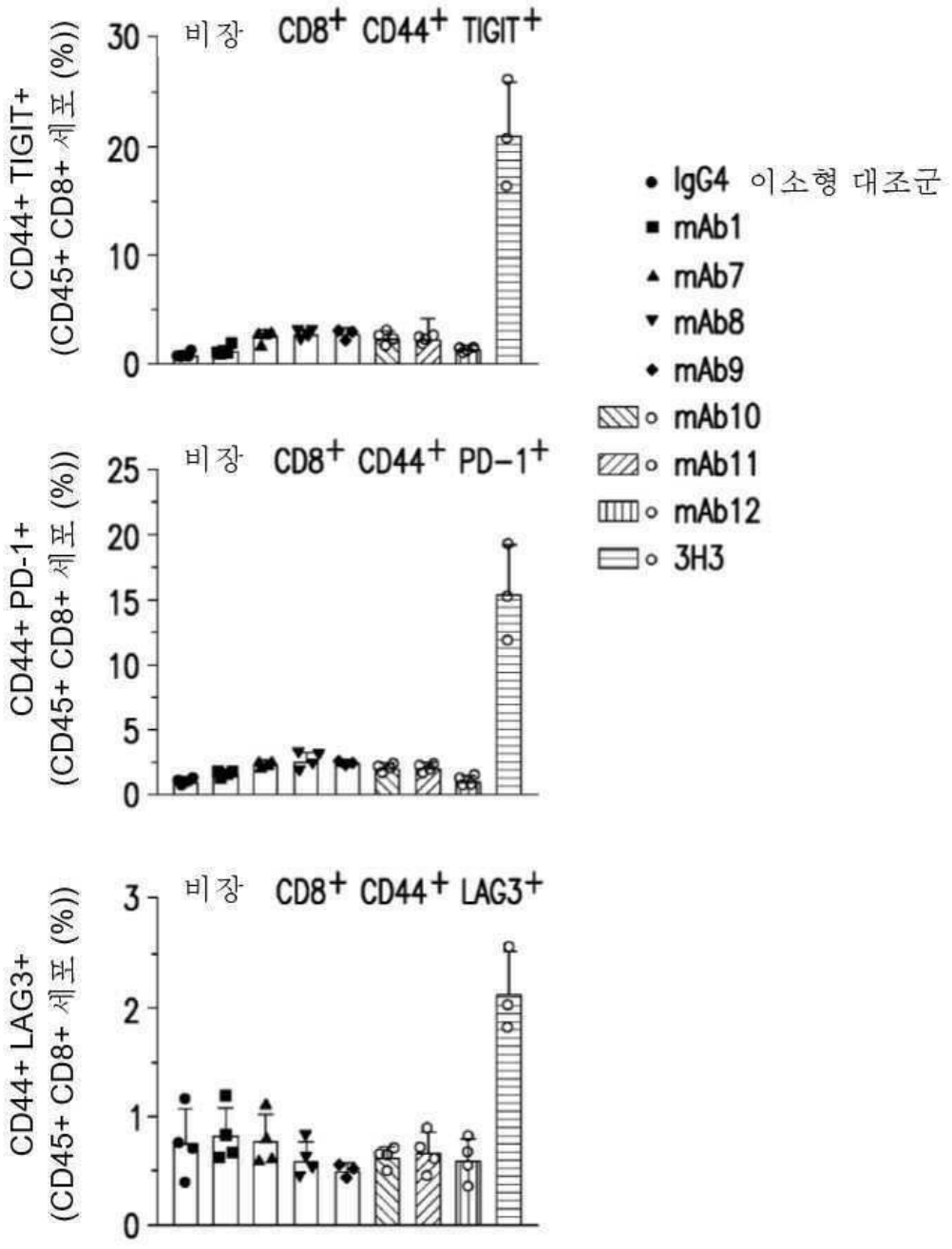
도면17a


비장 CD3
CD3+ T 세포
(비장의 CD45+ 세포 (%))
50
40
30
20
10
0
비장 CD4
CD4+ T 세포
(비장의 CD45+ 세포 (%))
40
30
20
10
0
비장 CD8
CD8+ T 세포
(비장의 CD45+ 세포 (%))
30
20
10
0
IgG4 이소형 대조군
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
3H3

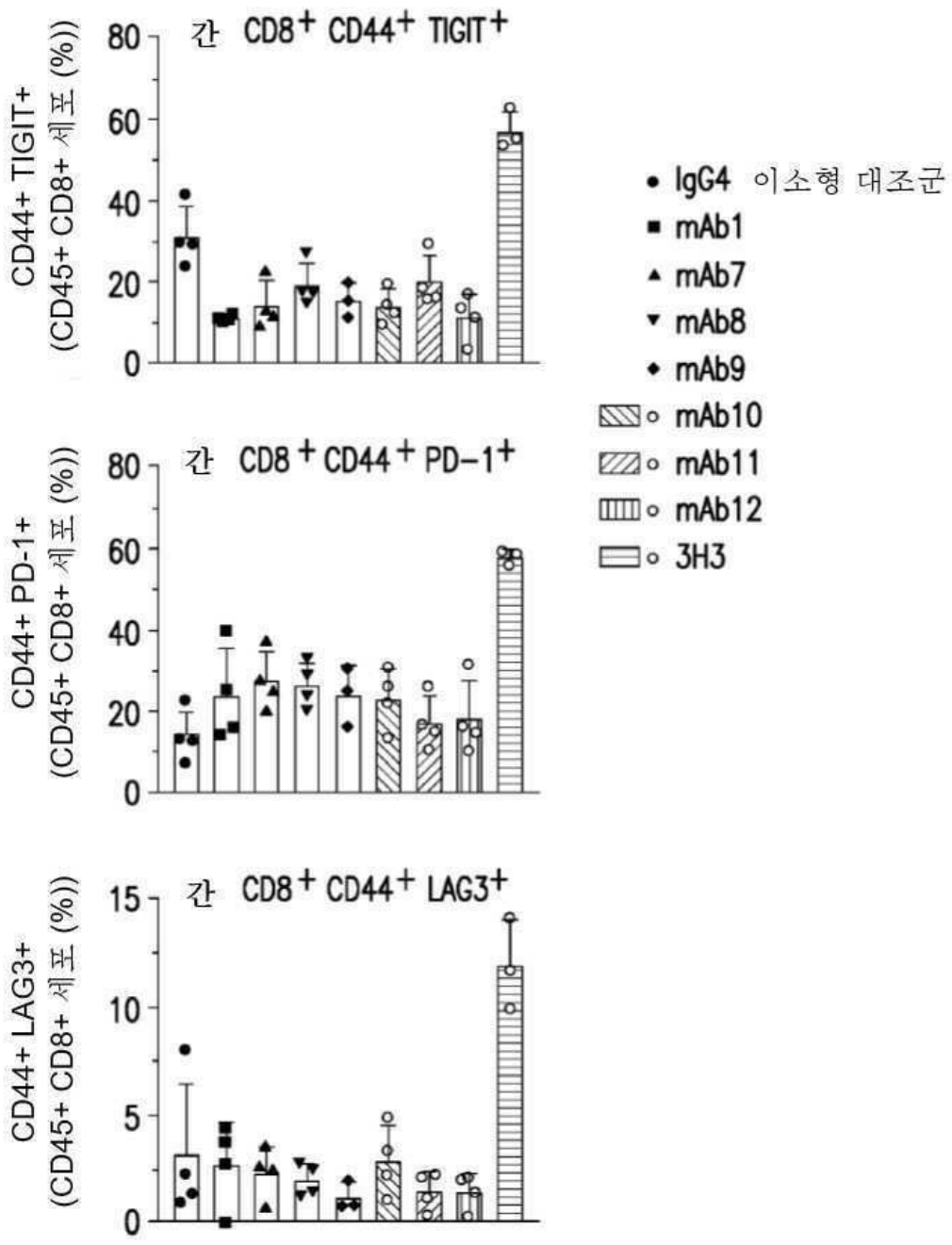
도면17b


간 CD3
CD3+ T 세포
(간 CD45+ 세포 (%))
80
60
40
20
0
간 CD4
CD4+ T 세포
(간 CD45+ 세포 (%))
50
40
30
20
10
0
간 CD8
CD8+ T 세포
(간 CD45+ 세포 (%))
60
40
20
0
IgG4 이소형 대조군
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
3H3

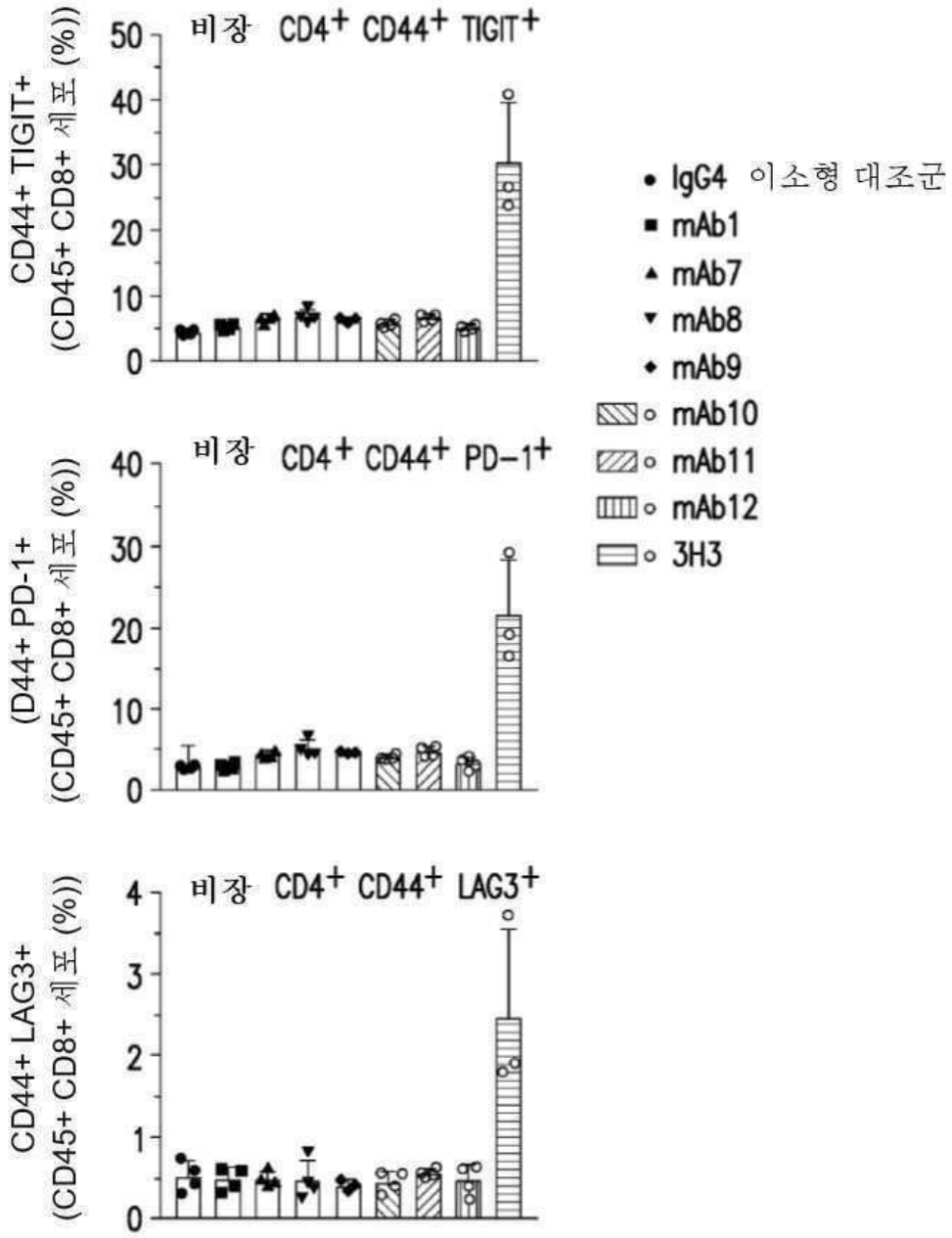
도면18a


비장 CD8+ CD44+ TIGIT+
CD44+ TIGIT+ (CD45+ CD8+ 세포 (%))
30
20
10
0
비장 CD8+ CD44+ PD-1+
CD44+ PD-1+ (CD45+ CD8+ 세포 (%))
25
20
15
10
5
0
비장 CD8+ CD44+ LAG3+
CD44+ LAG3+ (CD45+ CD8+ 세포 (%))
3
2
1
0
IgG4 이소형 대조군
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
3H3

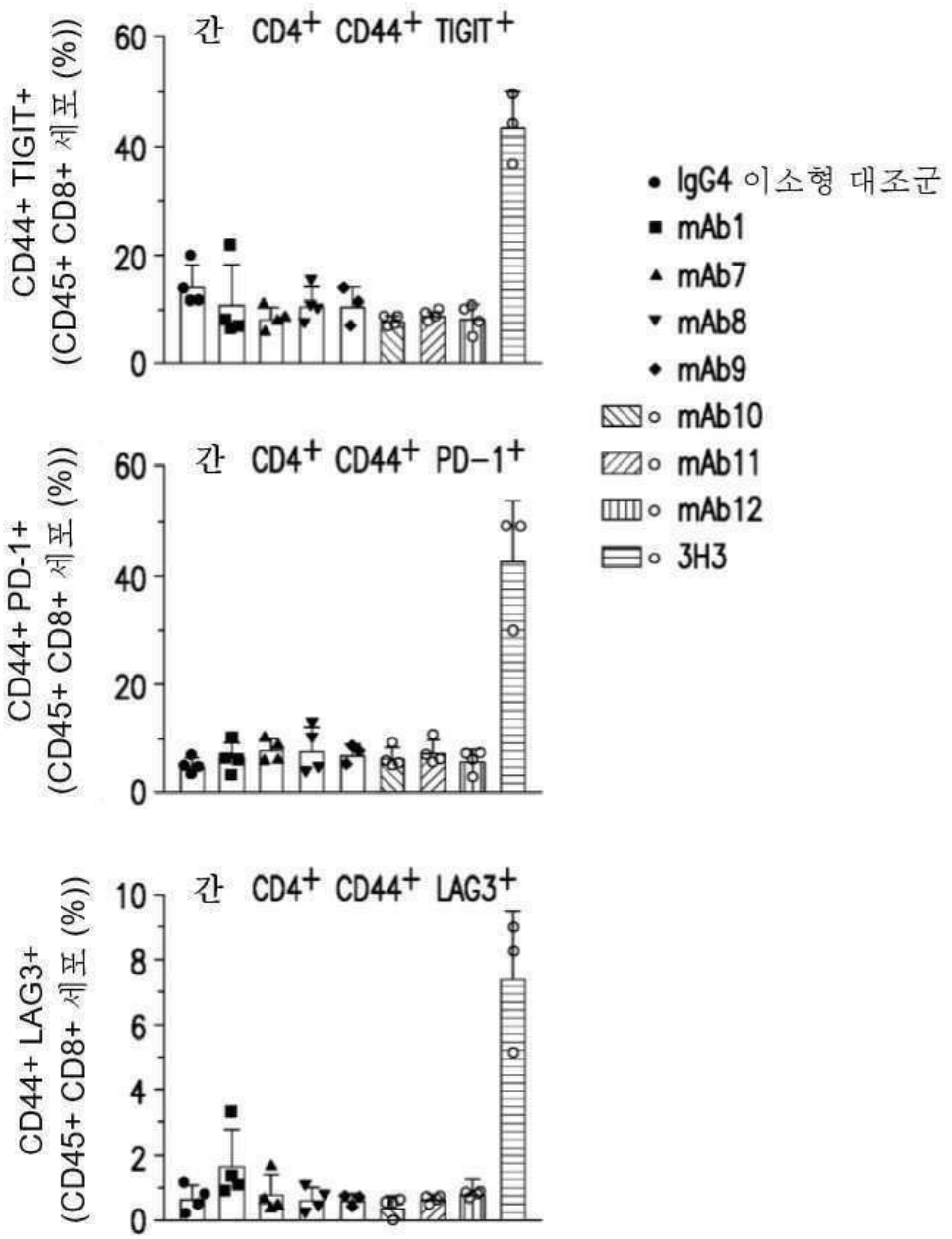
도면18b


간 CD8+ CD44+ TIGIT+
CD44+ TIGIT+ (CD45+ CD8+ 세포 (%))
0
20
40
60
80
간 CD8+ CD44+ PD-1+
CD44+ PD-1+ (CD45+ CD8+ 세포 (%))
0
20
40
60
80
간 CD8+ CD44+ LAG3+
CD44+ LAG3+ (CD45+ CD8+ 세포 (%))
0
5
10
15
IgG4 이소형 대조군
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
3H3

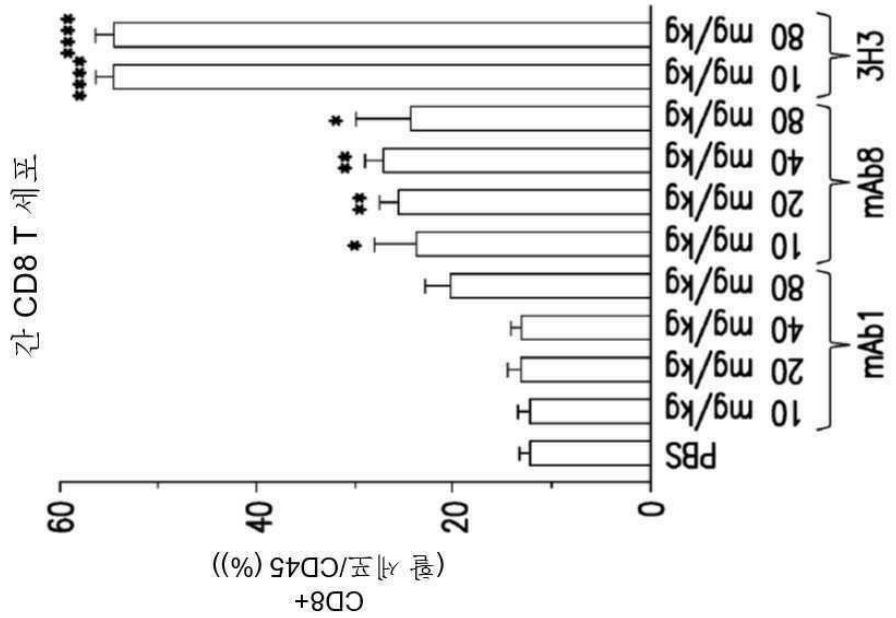
도면19a


비장 CD4+ CD44+ TIGIT+
CD44+ TIGIT+ (CD45+ CD8+ 세포 (%))
50
40
30
20
10
0
비장 CD4+ CD44+ PD-1+
(D44+ PD-1+ (CD45+ CD8+ 세포 (%))
40
30
20
10
0
비장 CD4+ CD44+ LAG3+
CD44+ LAG3+ (CD45+ CD8+ 세포 (%))
4
3
2
1
0
IgG4 이소형 대조군
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
3H3

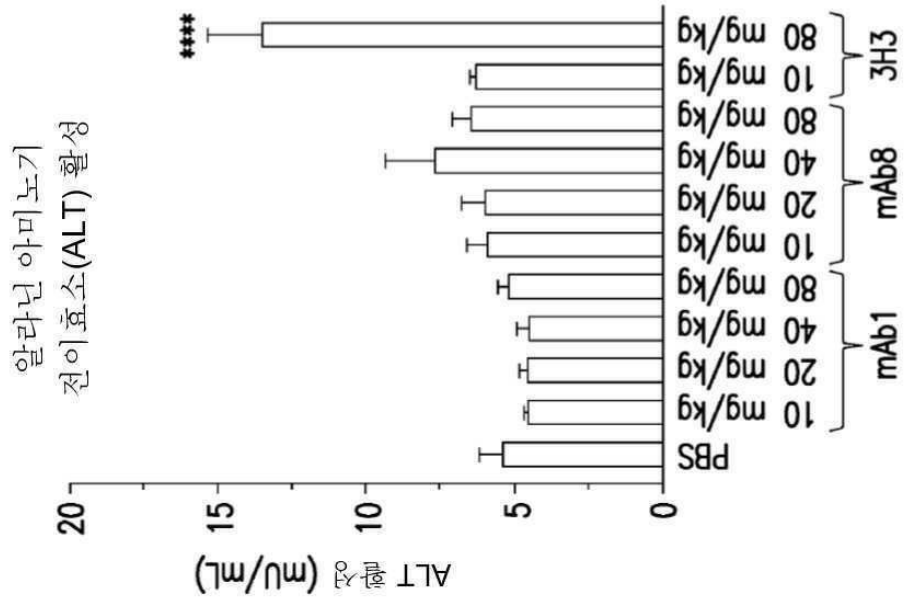
도면19b


간 CD4+ CD44+ TIGIT+
CD44+ TIGIT+ (CD45+ CD8+ 세포 (%))
60
40
20
0
간 CD4+ CD44+ PD-1+
CD44+ PD-1+ (CD45+ CD8+ 세포 (%))
60
40
20
0
간 CD4+ CD44+ LAG3+
CD44+ LAG3+ (CD45+ CD8+ 세포 (%))
10
8
6
4
2
0
IgG4 이소형 대조군
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
3H3

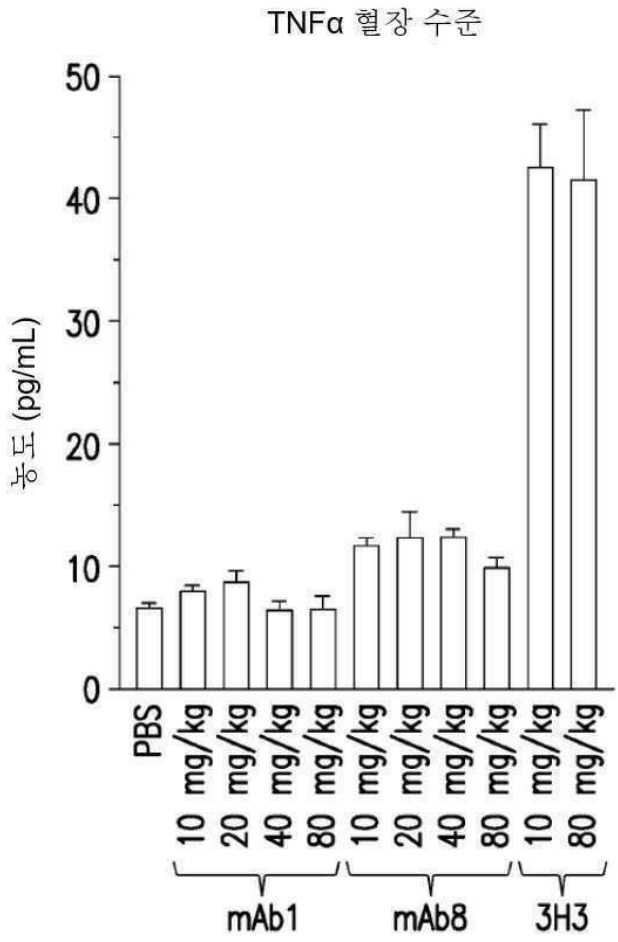
도면20a


간 CD8 T 세포
CD8+
(혈 세포/CD45 (%))
0
20
40
60
PBS
10 mg/kg
20 mg/kg
40 mg/kg
80 mg/kg
mAb1
10 mg/kg
20 mg/kg
40 mg/kg
80 mg/kg
mAb8
10 mg/kg
80 mg/kg
3H3

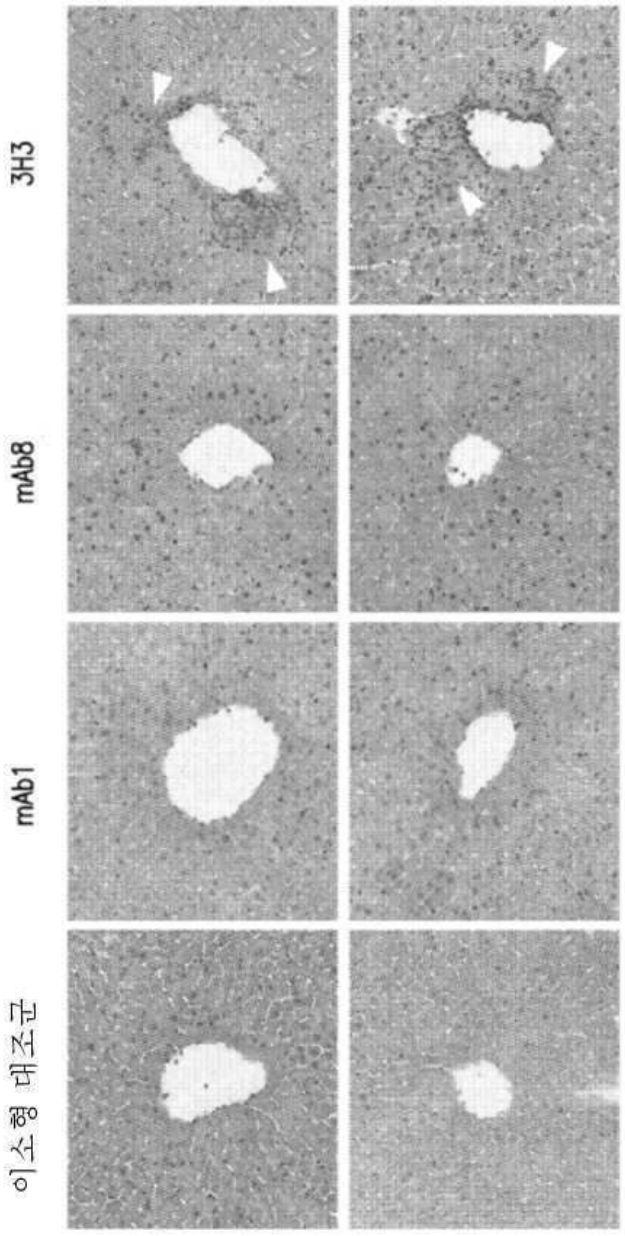
도면20b


알라닌 아미노기
전이효소(ALT) 활성
ALT 혈청 (mU/mL)
0
5
10
15
20
PBS
10 mg/kg
20 mg/kg
40 mg/kg
80 mg/kg
mAb1
10 mg/kg
20 mg/kg
40 mg/kg
80 mg/kg
mAb8
10 mg/kg
80 mg/kg
3H3

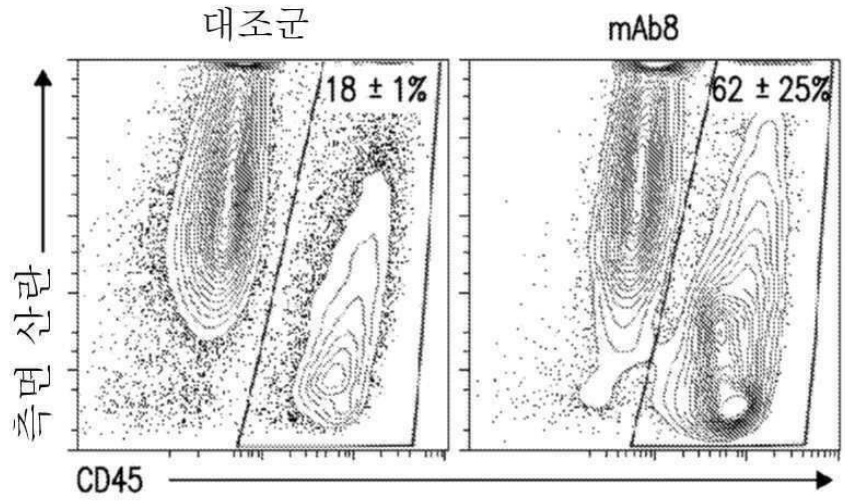
도면20c


TNFα 혈장 수준
농도 (pg/mL)
50
40
30
20
10
0
PBS
10 mg/kg
20 mg/kg
40 mg/kg
80 mg/kg
10 mg/kg
20 mg/kg
40 mg/kg
80 mg/kg
10 mg/kg
80 mg/kg
mAb1
mAb8
3H3

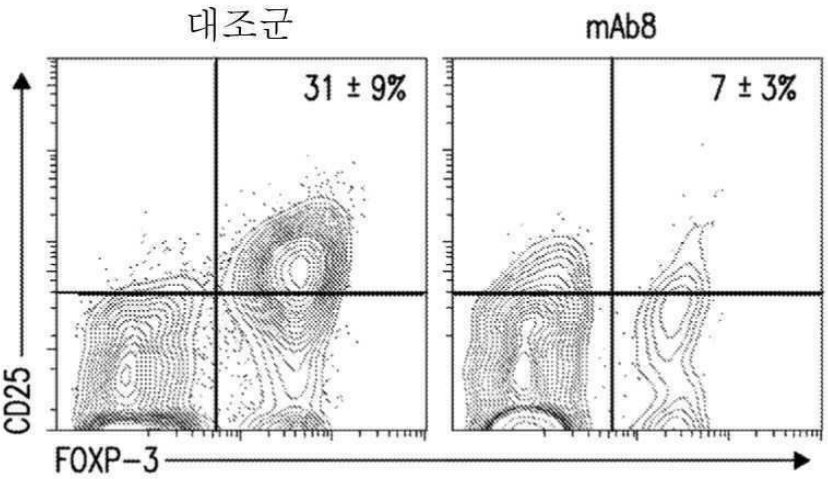
도면21



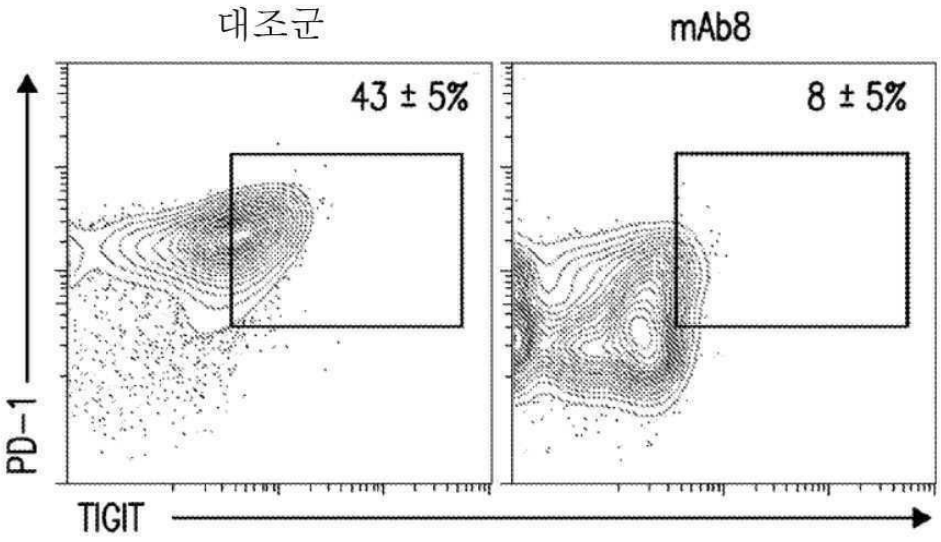
도면22a



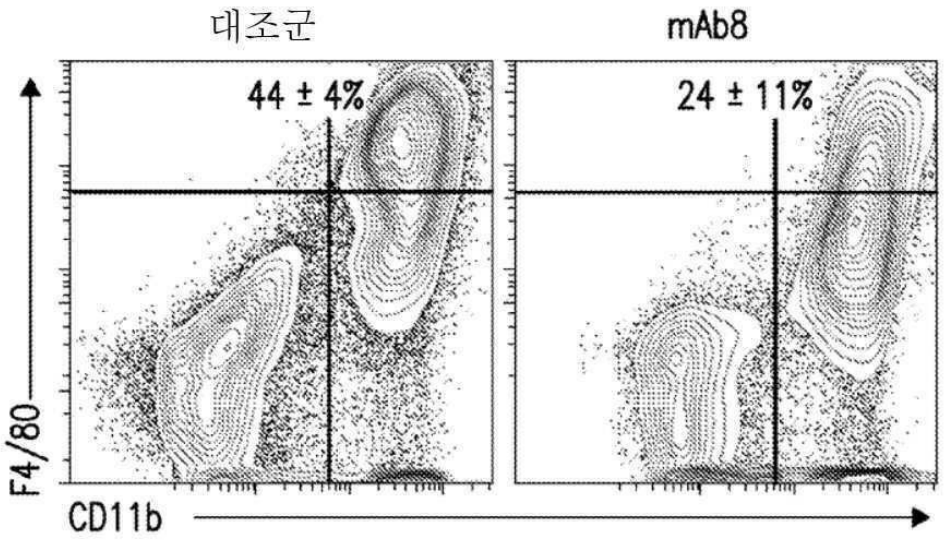
도면22b



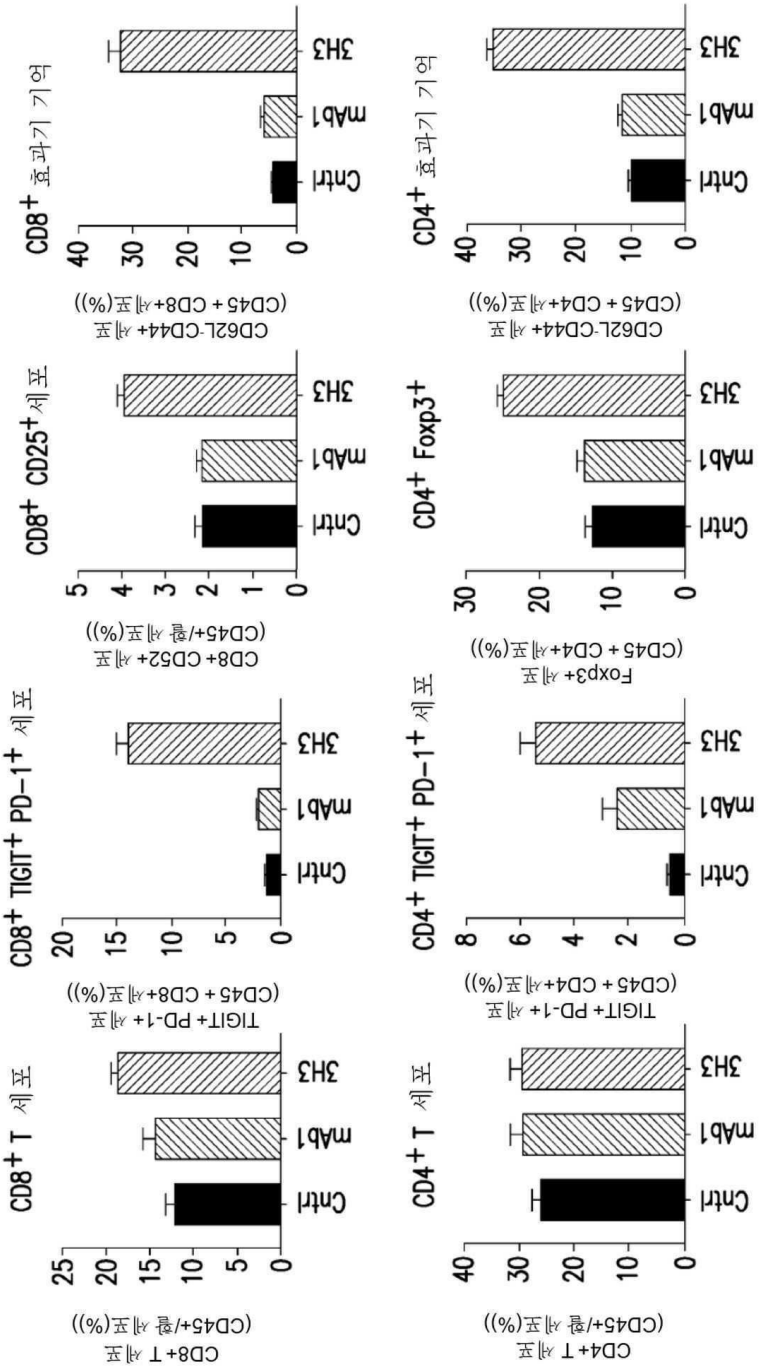
도면22c



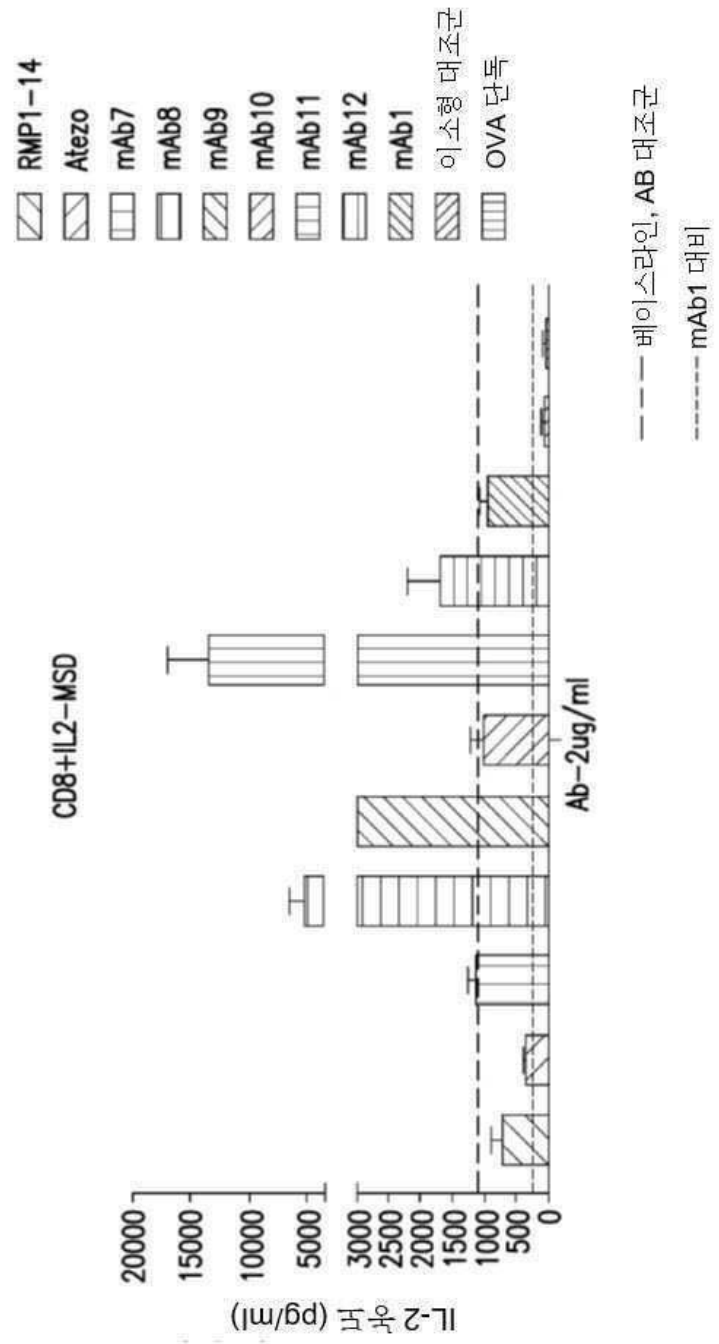
도면22d



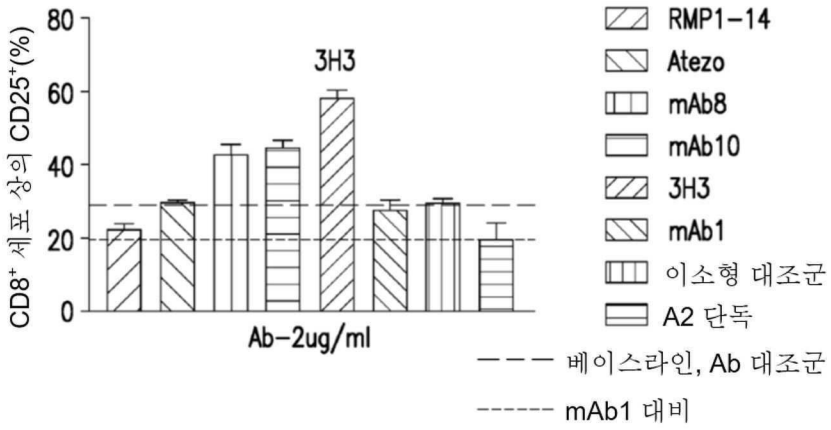
도면23


CD8+ T 세포
(CD45+/혈 세포(%))
CD8+ T 세포
TIGIT+ PD-1+ 세포
(CD45 + CD8+세포(%))
CD8+ TIGIT+ PD-1+ 세포
CD8+ CD25+세포
CD8+ CD52+ 세포
(CD45+/혈 세포(%))
CD8+ 효과기 기억
CD62L-CD44+ 세포
(CD45 + CD8+세포(%))
CD4+ T 세포
(CD45+/혈 세포(%))
CD4+ T 세포
TIGIT+ PD-1+ 세포
(CD45 + CD4+세포(%))
CD4+ TIGIT+ PD-1+ 세포
CD4+ Foxp3+
Foxp3+ 세포
(CD45 + CD4+세포(%))
CD4+ 효과기 기억
CD62L-CD44+ 세포
(CD45 + CD4+세포(%))
Cntrl
mAb1
3H3

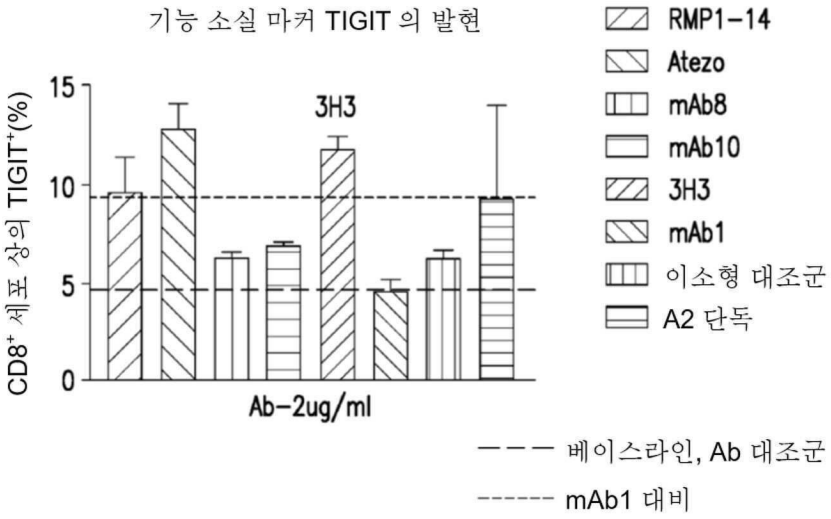
도면24


RMP1-14
Atezo
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
mAb1
이소형 대조군
OVA 단독
베이스라인, AB 대조군
mAb1 대비
CD8+IL2-MSD
IL-2 농도 (pg/ml)
20000
15000
10000
5000
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
Ab-2ug/ml

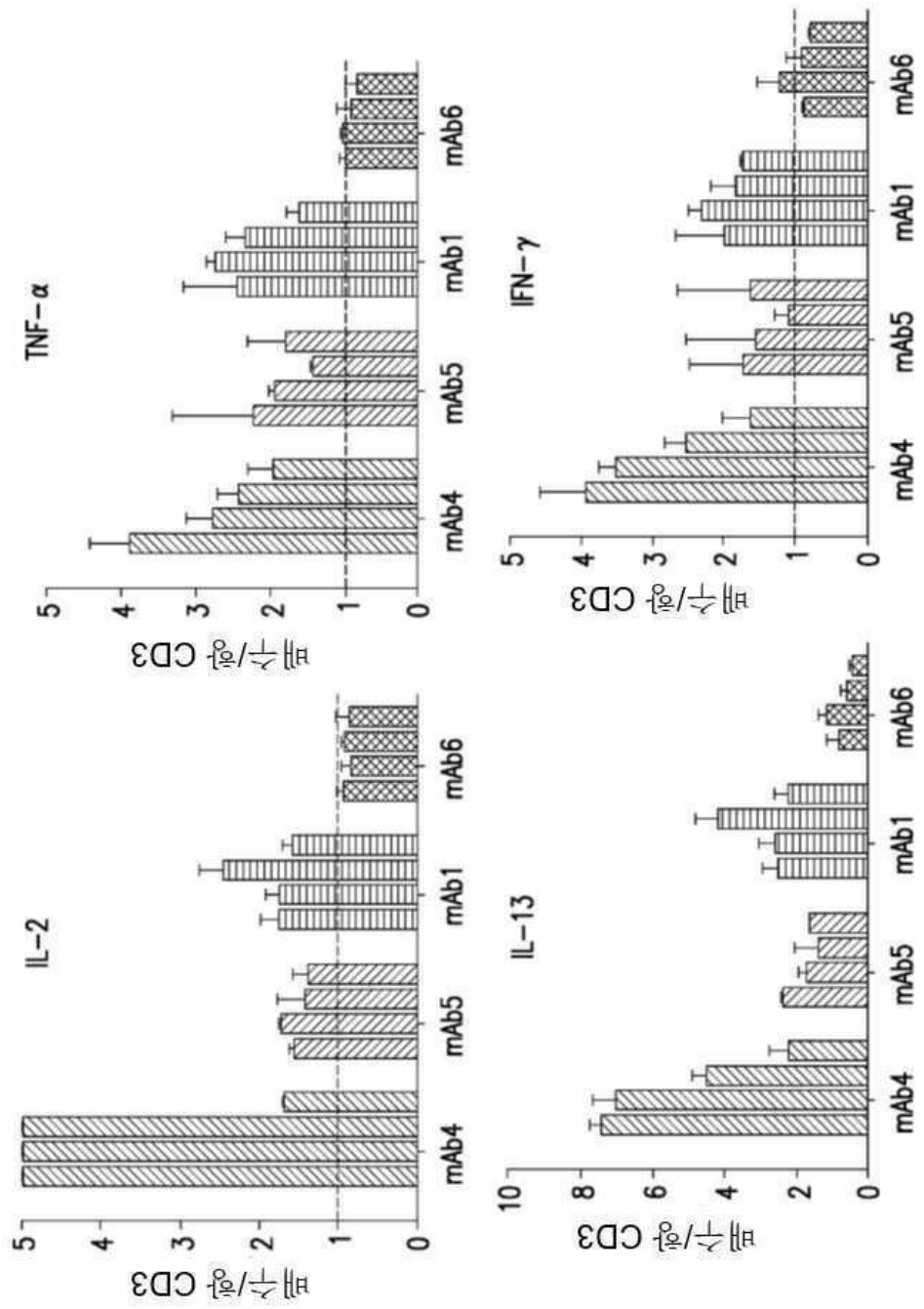
도면25a


80
60
40
20
0
CD8⁺ 세포 상의 CD25⁺(%)
3H3
Ab-2ug/ml
RMP1-14
Atezo
mAb8
mAb10
3H3
mAb1
이소형 대조군
A2 단독
베이스라인, Ab 대조군
mAb1 대비

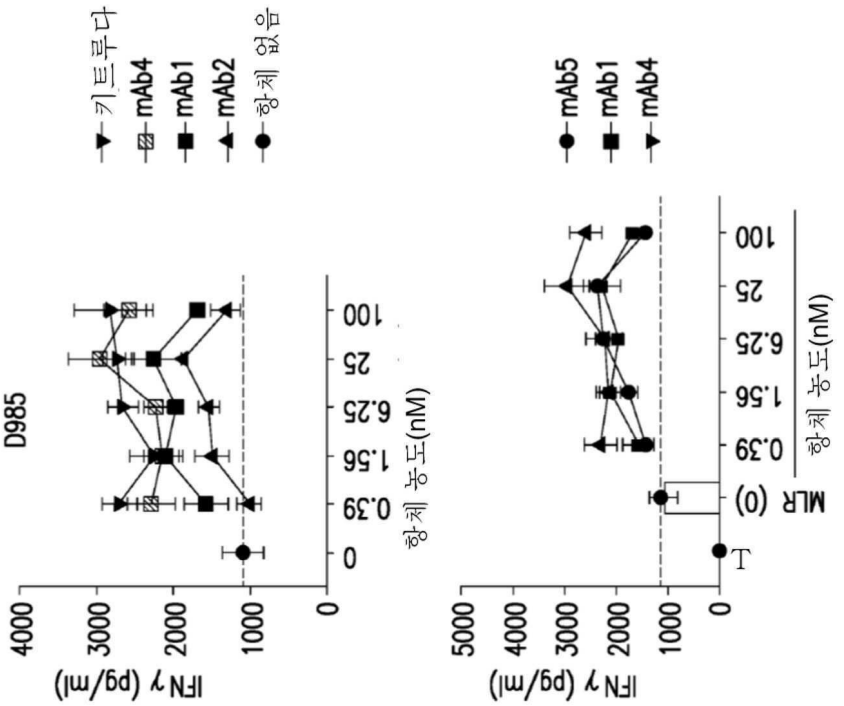
도면25b


기능 소실 마커 TIGIT 의 발현
15
10
5
0
CD8⁺ 세포 상의 TIGIT⁺(%)
3H3
Ab-2ug/ml
RMP1-14
Atezo
mAb8
mAb10
3H3
mAb1
이소형 대조군
A2 단독
베이스라인, Ab 대조군
mAb1 대비

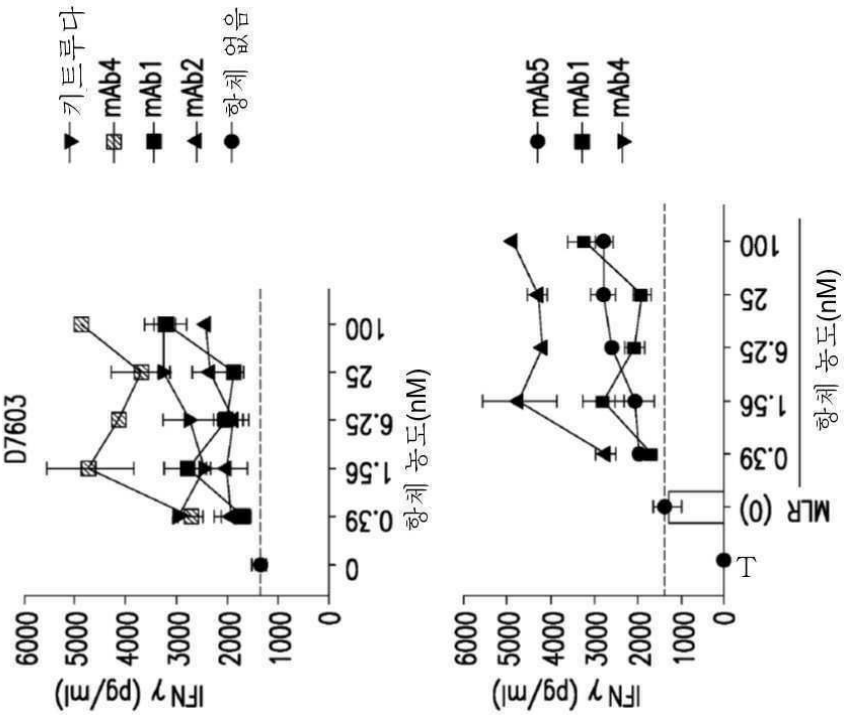
도면26



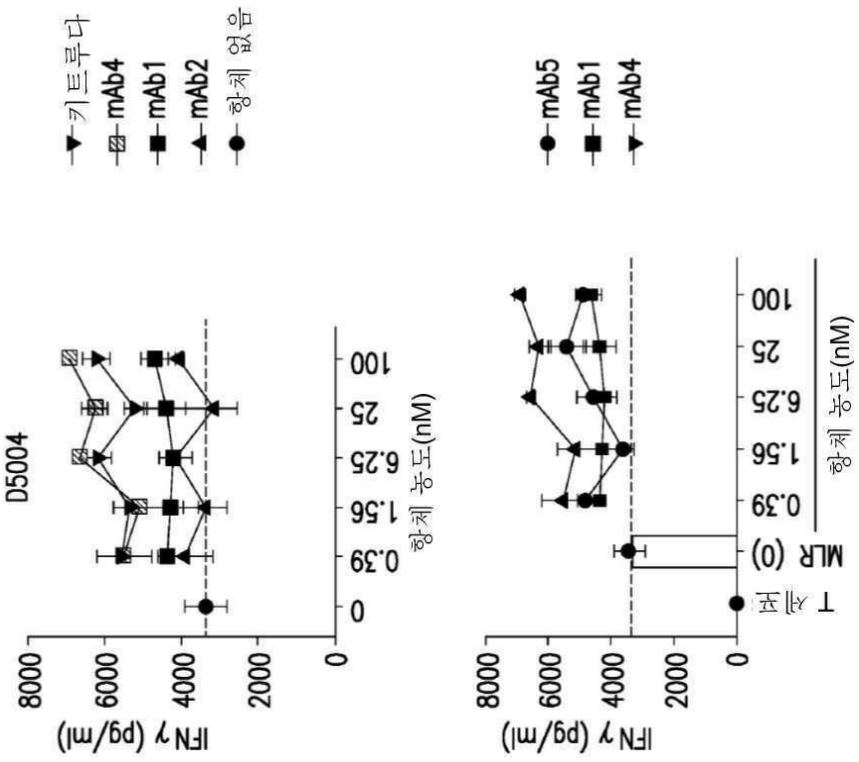
도면27a


D985
IFN γ (pg/ml)
항체 농도(nM)
키트루다
mAb4
mAb1
mAb2
항체 없음
MLR (0)
T
mAb5
mAb1
mAb4

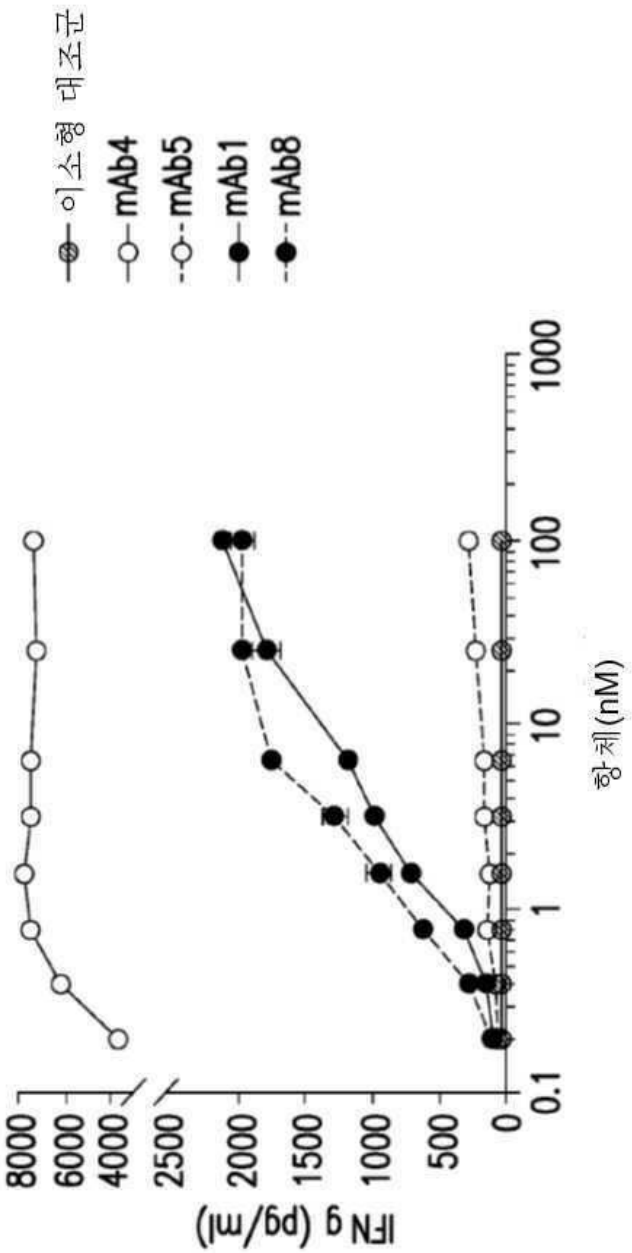
도면27b


D7603
IFN γ (pg/ml)
항체 농도(nM)
키트루다
mAb4
mAb1
mAb2
항체 없음
MLR (0)
T
mAb5
mAb1
mAb4

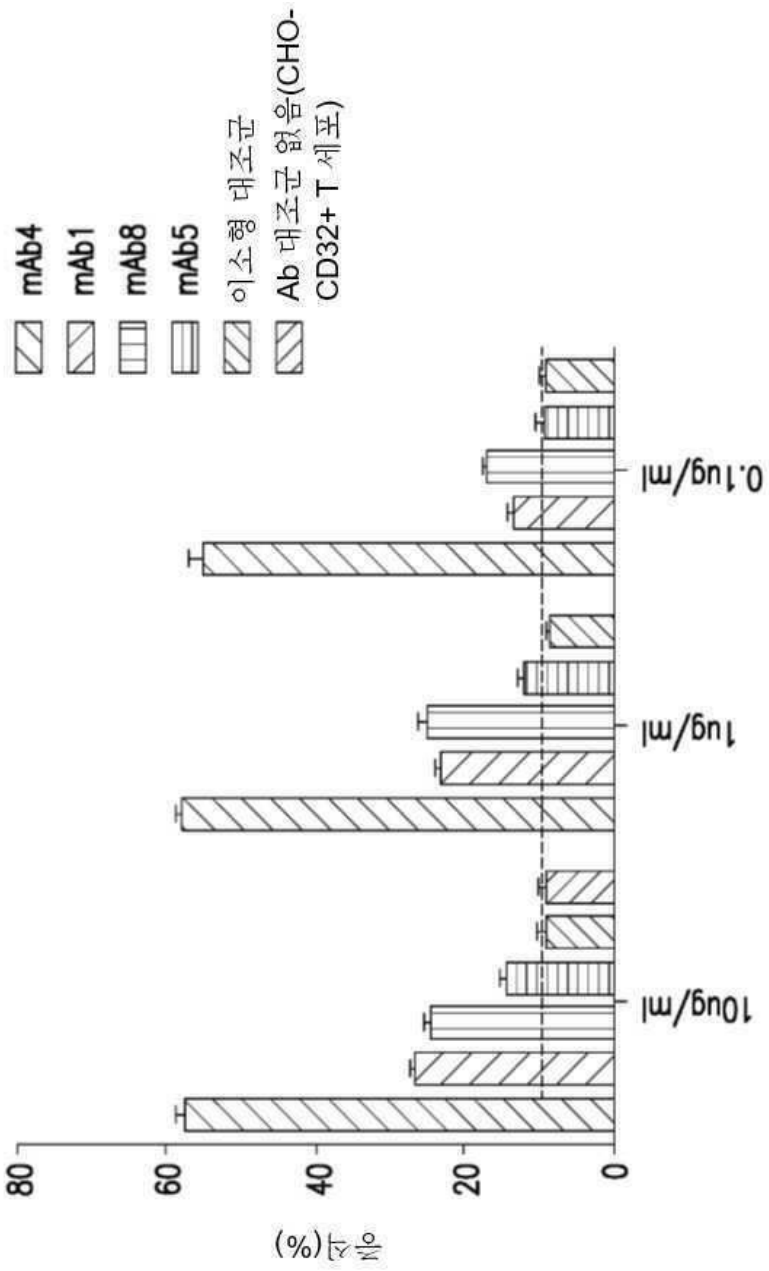
도면27c


키트루다
mAb4
mAb1
mAb2
항체 없음
D5004
IFN γ (pg/ml)
8000
6000
4000
2000
0
0
0.39
1.56
6.25
25
100
항체 농도(nM)
mAb5
mAb1
mAb4
T 세포
MLR (0)

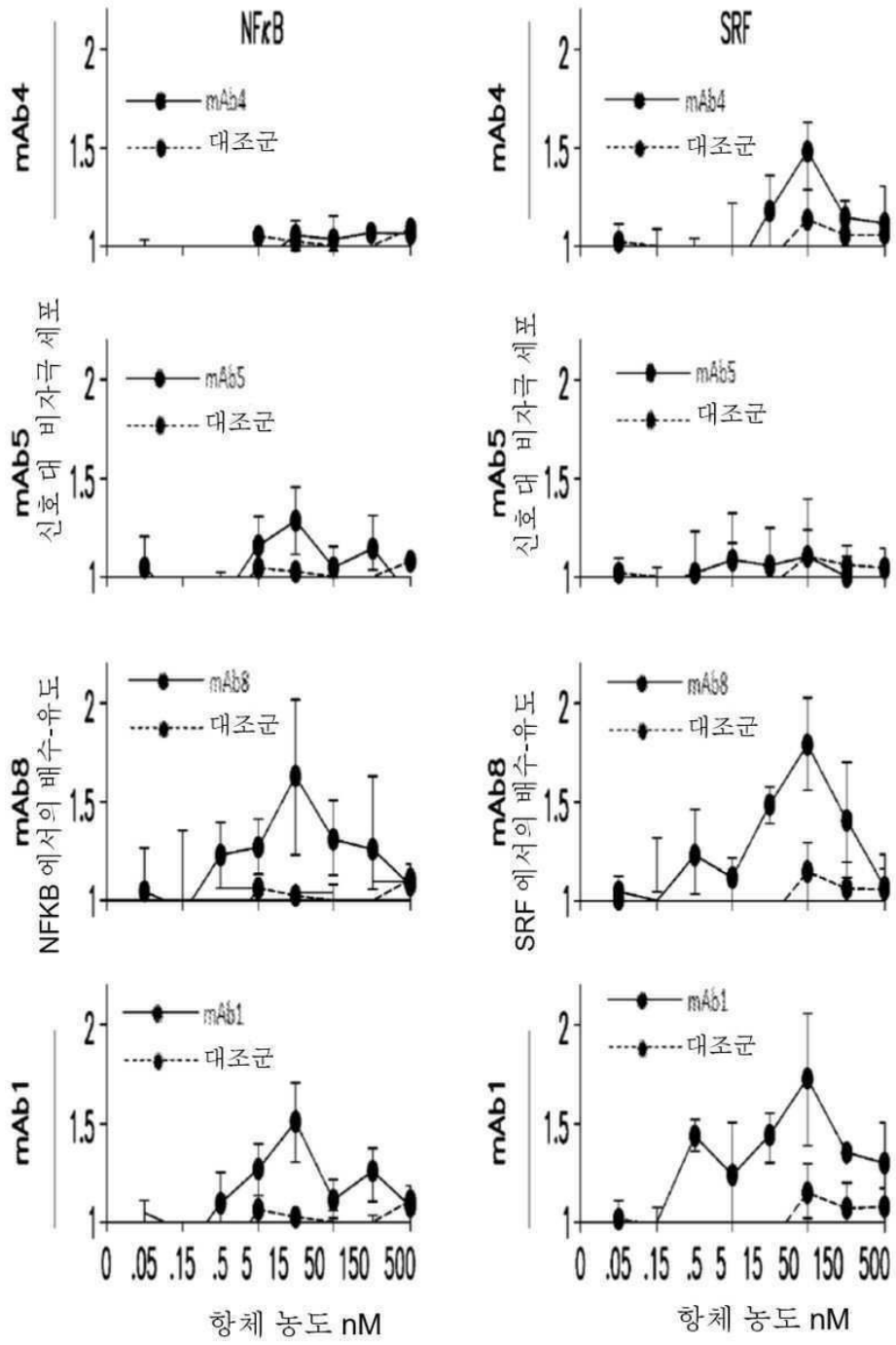
도면28


이소형 대조군
mAb4
mAb5
mAb1
mAb8
IFN g (pg/ml)
8000
6000
4000
2500
2000
1500
1000
500
0
0.1
1
10
100
1000
항체(nM)

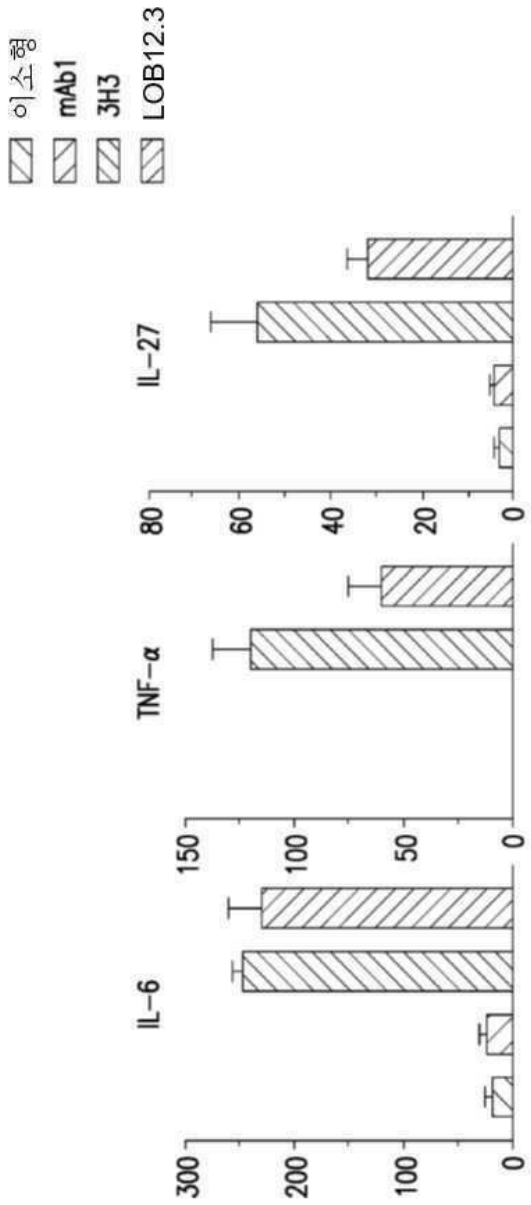
도면29


mAb4
mAb1
mAb8
mAb5
이소형 대조군
Ab 대조군 없음(CHO-CD32+ T 세포)
0.1ug/ml
1ug/ml
10ug/ml
0
20
40
60
80
(%)

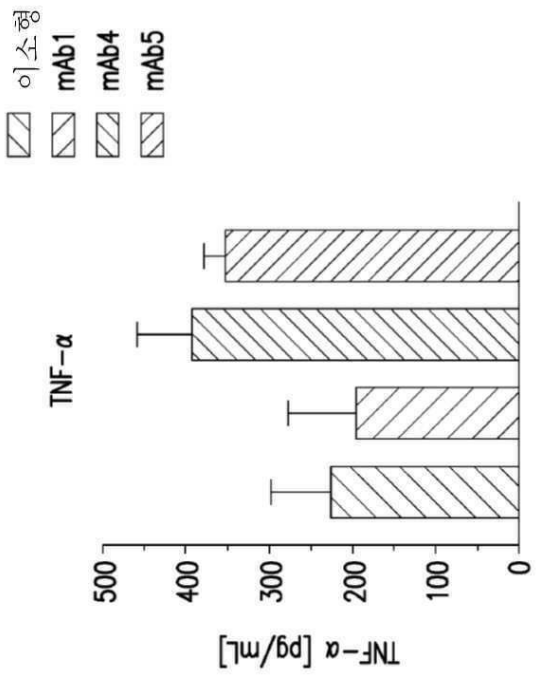
도면30


NFκB
SRF
mAb4
mAb4
대조군
mAb5
신호 대 비자극 세포
mAb5
대조군
mAb8
NFKB 에서의 배수-유도
mAb8
SRF 에서의 배수-유도
mAb8
대조군
mAb1
mAb1
대조군
0 .05 .15 .5 5 15 50 150 500
항체 농도 nM
항체 농도 nM

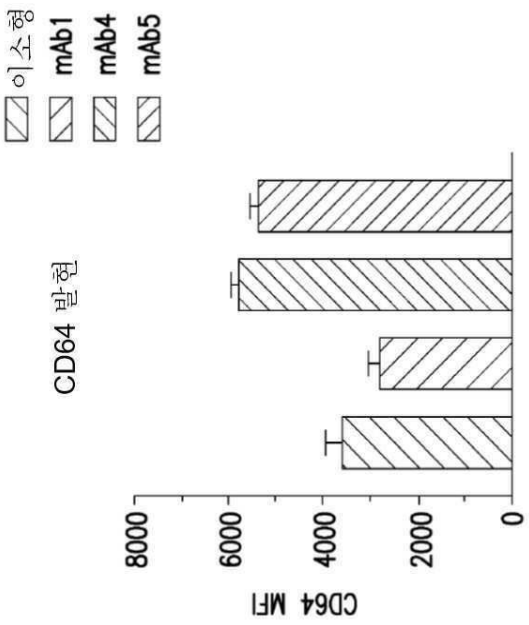
도면31


이소형
mAb1
3H3
LOB12.3
IL-27
TNF-α
IL-6
0
20
40
60
80
0
50
100
150
0
100
200
300

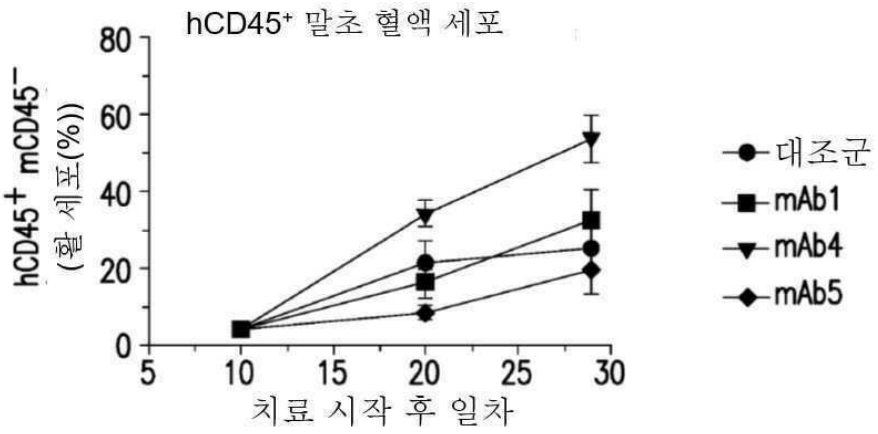
도면32


이소형
mAb1
mAb4
mAb5
TNF-α
TNF-α [pg/mL]
0
100
200
300
400
500

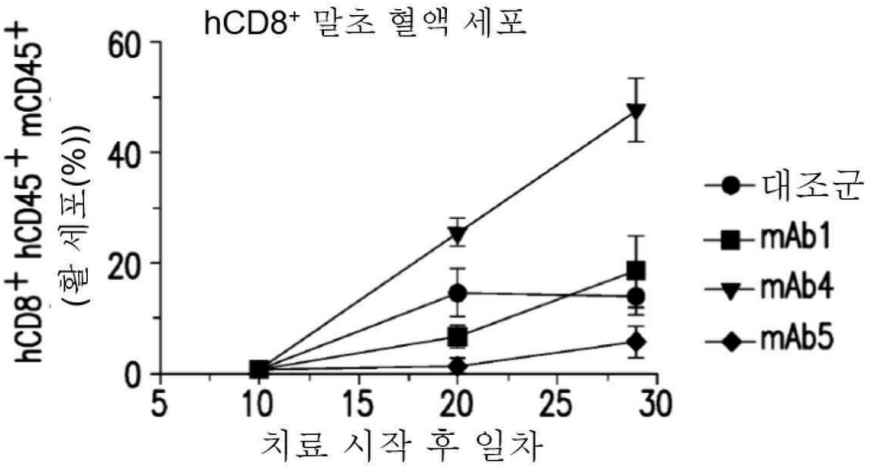
도면33


이소형
mAb1
mAb4
mAb5
CD64 발현
CD64 MFI
0
2000
4000
6000
8000

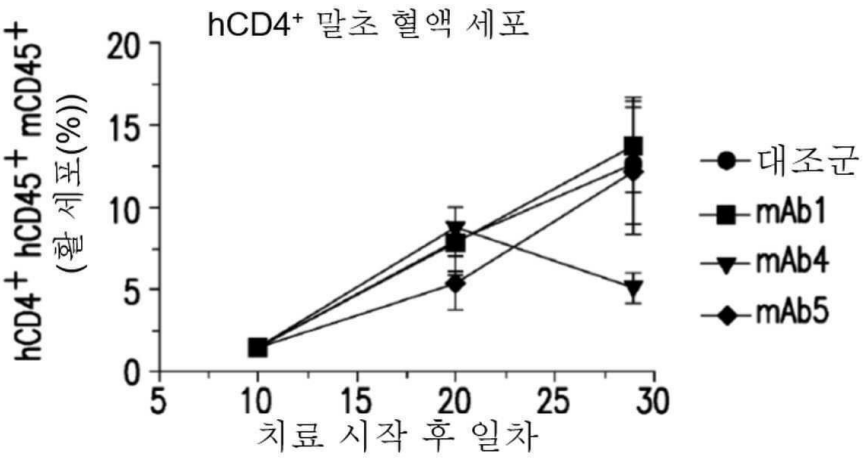
도면34a



도면34b



도면34c



서 열 목 록

<110> COMPASS THERAPEUTICS LLC

<120> AGONIST ANTIBODIES THAT BIND HUMAN CD137 AND USES THEREOF

<130> CTN-006PC

<140> PCT/US2018/041612

<141> 2018-07-11

<150> US 62/531,259

<151> 2017-07-11

<150> US 62/577,257

<151> 2017-10-26

<150> US 62/531,190

<151> 2017-07-11

<150> US 62/568,231

<151> 2017-10-04

<150> US 62/577,259

<151> 2017-10-26

<160> 133

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(330)

<223> Human IgG1

<400> 1

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 2

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(326)

<223> Human IgG4 mutant (S228P/C-terminal K truncation)

<400> 2

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195 200 205

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

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

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

275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly

325

<210> 3

<211> 255

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(255)

<223> Human CD137

<400> 3

Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu

1 5 10 15

Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro

20 25 30

Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys

35 40 45

Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile
50 55 60

Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser
65 70 75 80
Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly
85 90 95
Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu
100 105 110
Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln
115 120 125
Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys

130 135 140
Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro
145 150 155 160
Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala
165 170 175
Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu
180 185 190
Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu
195 200 205

Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
210 215 220
Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
225 230 235 240
Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
245 250 255

<210> 4
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: VH1 amino acid sequence
<400> 4

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 5

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH1 nucleic acid sequence

<400> 5

gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacttttagt tcgtatgcaa tgtcgtgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgagtgct atttccggct ctggcggatc tacctattac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 6

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL1 amino acid sequence

<400> 6

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Leu Phe Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 7

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL1 nucleic acid sequence

<400> 7

gatattcaga tgacacagag cccgtcatca gtaagtgcaa gcgtcggaga tcgggttaca 60

ataacatgtc gtgcctcgca aggaatttcc tcctggttgg cctggtatca gcagaaacct 120

ggcaaagccc ccaaattact aatttatgcc gcaagctctc tgcaatcggg tgttccttcg 180

cggttttctg gctctggaag tggcaccgac ttcacgctta ctatctctag ccttcagccg 240

gaggattttg ctacctacta ctgccaacaa ggccatttat tccctattac ctttgggggc 300

ggtacaaaag tcgagatcaa gcgtacg 327

<210> 8

<211> 126

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: VH2 amino acid sequence
<400> 8

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Asp Gly Ser Gly Asp Asn Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 9
<211> 384
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: VH2 nucleic acid sequence
<400> 9

gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60
agttgcgcag cctctggatt cacctttaac tattacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120
cccggtaagg gtctggagtg ggtgtctgca atcgatggtt ctggtgataa cactacttac 180
gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

cctttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 10

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH3 amino acid sequence

<400> 10

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 11

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH3 nucleic acid sequence

<400> 11

gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttaac tattacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtggcagca atctctggtt ctggtgatgg tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 12

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH4 amino acid sequence

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 13

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH4 nucleic acid sequence

<400> 13

gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttaac tattacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgtctgca atctctggtt ctggtgattc tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 14

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH5 amino acid sequence

<400> 14

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 15

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH5 nucleic acid sequence

<400> 15

gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttaac tattacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtggcagca atctctggtg gtggtgatgc aacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

cctttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 16

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH6 amino acid sequence

<400> 16

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Tyr Gly Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Asp Val Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 17

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH6 nucleic acid sequence

<400> 17

gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt caccttttat ggttacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgtcttct atctctggtt ctggtgatgt tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 18

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH7 amino acid sequence

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 19

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH7 nucleic acid sequence

<400> 19

gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttat ggttacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtggcagca atctctggtt ctggtgatgg tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 20

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH8 amino acid sequence

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Phe Gly Glu Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 21

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH8 nucleic acid sequence

<400> 21

gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttaga aactacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgtctgca atctctggtt ttggtgaatc tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 22

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH9 amino acid sequence

<400> 22

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 23

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH9 nucleic acid sequence

<400> 23

gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttaac tattacgcaa tgaactgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtggcagca atctctggtt ctggtggtag aacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 24

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH10 amino acid sequence

<400> 24

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 25

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH10 nucleic acid sequence

<400> 25

gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttat ggttacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgtctgca atctctggtt ctggtggtaa cacttcttac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 26

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH11 amino acid sequence

<400> 26

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Tyr Gly Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 27

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH11 nucleic acid sequence

<400> 27

gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt caccttttat ggttacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtggcagca atctctggtt ctggtgattc tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 28

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL2 amino acid sequence

<400> 28

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile His Asn Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Gly Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Arg Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 29

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL2 nucleic acid sequence

<400> 29

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gaatattcat aactggttgg cctggtatca gcaaaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctggtt tggaaagtgg ggtcccatca 180

agattcagcg gcagtggatc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcaacct 240

gatgattttg caacttacta ctgtcaacag ggtgacagat tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acgtacg 327

<210> 30

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL3 amino acid sequence

<400> 30

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ile Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Phe Lys Ala Ser Ala Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 31

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL3 nucleic acid sequence

<400> 31

gacatccaga tgacccagtc tccttccatc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcact 60

atcacttgcc gggccagtca gagtatcagt aggtggttgg cctggtatca gcagaagcca 120

gggaaacccc ctaaactcct gatctttaag gcgtctgctt tagaaagtgg ggtcccatcg 180

aggttcagcg gcagtggata tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa cctgcagcct 240

gaagactttg caacttactt ctgtcaacag ggtaatagtt tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaaag tggatatcaa acgtacg 327

<210> 32

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL4 amino acid sequence

<400> 32

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asp Ile Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Trp Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 33

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL4 nucleic acid sequence

<400> 33

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gaatattgat atctggttgg cctggtatca gtggaaacca 120

gggaaggccc ctaaactcct gatctataag gcgtctggtt tagaaactgg ggtcccttca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ctatcagcag cctgcagcca 240

gaggattttg cgacttacta ttgtcaacag ggtaaccagt tcccgctcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa acgtacg 327

<210> 34

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL5 amino acid sequence

<400> 34

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Arg Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Phe Lys Ala Ser Ala Leu Glu Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 35

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL5 nucleic acid sequence

<400> 35

gacatccaga tgacccagtc tccttcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gagtatcggt aggtggttgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctttaag gcgtctgctt tagaagttgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtgggtc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag ggtaacagtt tcccgctcac tttcggcgga 300

gggaccaaag tggatatcaa acgtacg 327

<210> 36

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL6 amino acid sequence

<400> 36

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ala Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 37

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL6 nucleic acid sequence

<400> 37

gacatccagt tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccgctt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagcggatc tgggacagat ttcactctca ctatcagcag cctgcagccc 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag ggtgacagtt tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acgtacg 327

<210> 38

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL7 amino acid sequence

<400> 38

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Thr Val Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Thr Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ala Leu Glu Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 39

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL7 nucleic acid sequence

<400> 39

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cacagtcacc 60

ttcagttgcc gggccagtca gagtattaac acctggttgg cctggtatca gcaaaagcca 120

gggaaagccc ctaaactcct tatctataag gcgtctgctt tagaaaatgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagag ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gggaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acgtacg 327

<210> 40

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL8 amino acid sequence

<400> 40

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ala Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 41

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL8 nucleic acid sequence

<400> 41

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct catctataag gcgtctgctt tagaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag ggtcacagtt tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagc tggagatcaa acgtacg 327

<210> 42

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL9 amino acid sequence

<400> 42

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Phe Lys Ala Ser Ala Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 43

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL9 nucleic acid sequence

<400> 43

gacatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gagtattagt gactggttgg cctggtatca gcagaagcca 120

ggtaaagccc ctaaactcct gatctttaag gcttctgctt tagaaggtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag ggtaacagtt tcccgatcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa acgtacg 327

<210> 44

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL10 amino acid sequence

<400> 44

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Arg Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Ala Leu Gln Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 45

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL10 nucleic acid sequence

<400> 45

gacatccaga tgacccagtc tccagccacc ctgtctgcat ctgttggaga cagggtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gagtgttgat aggtggttgg cctggtacca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaacctcct aatctatgag gcgtctgcct tacaaggtgg ggtcccgtca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag ggtgatagtt tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acgtacg 327

<210> 46

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL11 amino acid sequence

<400> 46

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Gly Leu Gln Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Arg Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 47

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL11 nucleic acid sequence

<400> 47

gacatccagt tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccggtt tgcaaaatgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag ggtgacaggt tcccgctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acgtacg 327

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR1

<400> 48

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR1.1

<400> 49

Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR1.2

<400> 50

Phe Thr Phe Tyr Gly Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR1.3

<400> 51

Phe Thr Phe Arg Asn Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR1.4

<400> 52

Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR1.5

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)

<223> X = S or N

<400> 53

Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr Ala Met Xaa

1 5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR1.6

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)

<223> X = S, N, Y, R;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)

<223> X = S, N, Y, G

<400> 54

Phe Thr Phe Xaa Xaa Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR1.7

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)

<223> X = S, N, Y, R

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)

<223> X = S, N, Y, G

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)

<223> X = S or N

<400> 55

Phe Thr Phe Xaa Xaa Tyr Ala Met Xaa

1 5

<210> 56

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR2

<400> 56

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 57

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR2.1

<400> 57

Ser Ala Ile Asp Gly Ser Gly Asp Asn Thr Thr Tyr

1 5 10

<210> 58

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR2.2

<400> 58

Ala Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Gly Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR2.3

<400> 59

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 60

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR2.4

<400> 60

Ala Ala Ile Ser Gly Gly Gly Asp Ala Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 61

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR2.5

<400> 61

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Asp Val Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 62

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR2.6

<400> 62

Ser Ala Ile Ser Gly Phe Gly Glu Ser Thr Tyr Tyr
1 5 10

<210> 63

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR2.7

<400> 63

Ala Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr
1 5 10

<210> 64

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR2.8

<400> 64

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Ser Tyr
1 5 10

<210> 65

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic: VH CDR2.9

<400> 65

Ala Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr
1 5 10

<210> 66

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR2.10

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)

<223> X = S or G

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)

<223> X = D or G

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)

<223> X = S, R, G, A

<400> 66

Ala Ala Ile Ser Gly Xaa Gly Xaa Xaa Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 67

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR2.11

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(2)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(9)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 67

Xaa Xaa Ile Xaa Gly Xaa Gly Xaa Xaa Thr Xaa Tyr

1 5 10

<210> 68

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3

<400> 68

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Met Asp

<210> 69

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR1

<400> 69

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp

1 5 10

<210> 70

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR1.1

<400> 70

Arg Ala Ser Gln Asn Ile His Asn Trp Leu Ala Trp

1 5 10

<210> 71

<211> 12

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR1.2

<400> 71

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp Leu Ala Trp

1 5 10

<210> 72

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR1.3

<400> 72

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asp Ile Trp Leu Ala Trp

1 5 10

<210> 73

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR1.4

<400> 73

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Arg Trp Leu Ala Trp

1 5 10

<210> 74

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR1.5

<400> 74

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp

1 5 10

<210> 75

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR1.6

<400> 75

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Thr Trp Leu Ala Trp

1 5 10

<210> 76

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR1.7

<400> 76

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Trp Leu Ala Trp

1 5 10

<210> 77

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR1.8

<400> 77

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Arg Trp Leu Ala Trp

1 5 10

<210> 78

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR2

<400> 78

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 79

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR2.1

<400> 79

Tyr Lys Ala Ser Gly Leu Glu Ser

1 5

<210> 80

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR2.2

<400> 80

Phe Lys Ala Ser Ala Leu Glu Ser

1 5

<210> 81

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR2.3

<400> 81

Tyr Lys Ala Ser Gly Leu Glu Thr

1 5

<210> 82

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR2.4

<400> 82

Phe Lys Ala Ser Ala Leu Glu Val

1 5

<210> 83

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR2.5

<400> 83

Tyr Ala Ala Ser Ala Leu Gln Ser

1 5

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR2.6

<400> 84

Tyr Lys Ala Ser Ala Leu Glu Asn

1 5

<210> 85

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR2.7

<400> 85

Tyr Lys Ala Ser Ala Leu Glu Ser

1 5

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR2.8

<400> 86

Phe Lys Ala Ser Ala Leu Glu Gly

1 5

<210> 87

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR2.9

<400> 87

Tyr Glu Ala Ser Ala Leu Gln Gly

1 5

<210> 88

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR2.10

<400> 88

Tyr Ala Ala Ser Gly Leu Gln Asn

1 5

<210> 89

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR3

<400> 89

Gln Gln Gly His Leu Phe Pro Ile Thr Phe

1 5 10

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR3.1

<400> 90

Gln Gln Gly Asp Arg Phe Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 91

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR3.2

<400> 91

Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 92

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR3.3

<400> 92

Gln Gln Gly Asn Gln Phe Pro Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 93

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR3.4

<400> 93

Gln Gln Gly Asp Ser Phe Pro Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 94

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR3.5

<400> 94

Gln Gln Gly His Ser Phe Pro Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 95

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR3.6

<400> 95

Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Ile Thr Phe
1 5 10

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR3.7

<220><221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(5)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (8)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid
<400> 96
Gln Gln Gly Xaa Xaa Phe Pro Xaa Thr Phe
1 5 10
<210> 97
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(254)
<223> Human CD137L Uniprot ID P41273
<400> 97
Met Glu Tyr Ala Ser Asp Ala Ser Leu Asp Pro Glu Ala Pro Trp Pro

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

Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val
85 90 95
Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp
100 105 110

Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu
115 120 125

Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe
130 135 140

Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser

145 150 155 160

Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala
165 170 175

Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala
180 185 190

Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala
195 200 205

Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His
210 215 220

Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val
225 230 235 240

Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
245 250

<210> 98

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: FLAG

<400> 98

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
1 5

<210> 99

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 6-His

<400> 99

His His His His His His

1 5

<210> 100

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: HA

<400> 100

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

1 5

<210> 101

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH12 amino acid sequence

<400> 101

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 102

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH12 nucleic acid sequence

<400> 102

gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttaga aactacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgtctgca atctctggtt ctggtgatac tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 103

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH13 amino acid sequence

<400> 103

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 104
<211> 384
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: VH13 nucleic acid sequence
<400> 104
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60
agttgcgcag cctctggatt cacctttggt tcttacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120
cccggtaagg gtctggagtg ggtgtctgca atctctggtt ctggtggttc tacttactac 180
gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240
cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

cctttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360
actgtcaccg tctcctcagc tagc 384
<210> 105
<211> 105
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: VL12 amino acid sequence
<400> 105
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asp Trp
20 25 30

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu

100 105

<210> 106

<211> 315

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL12 nucleic acid sequence

<400> 106

gacatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtaacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggatattggt gactggttgg cctggtatca gcagaagcct 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctggtt tacaaagtgg ggtcccatca 180

agattcagtg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ctatcagcaa cctgcagcca 240

gaggattttg cgacttacta ttgtcaacag ggtaaccagt tcccgctcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggag 315

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR1.8

<400> 107

Phe Thr Phe Gly Trp Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 108

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR2.12

<400> 108

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210

> 109

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR1.9

<400> 109

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asp Trp Leu Ala Trp

1 5 10

<210> 110

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VL CDR2.11

<400> 110

Tyr Lys Ala Ser Gly Leu Gln Ser

1 5

<210> 111

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.1

<400> 111

Ala Lys Ala Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Met Asp

<210> 112

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.2

<400> 112

Ala Lys Asp Ala Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Met Asp

<210> 113

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.3

<400> 113

Ala Lys Asp Ser Ala Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 114

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.4

<400> 114

Ala Lys Asp Ser Pro Ala Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 115

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.5

<400> 115

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Ala Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 116

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.6

<400> 116

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Ala Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Met Asp

<210> 117

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.7

<400> 117

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Ala Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Met Asp

<210> 118

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.8

<400> 118

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Met Asp

<210> 119

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.9

<400> 119

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 120

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.10

<400> 120

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Ala Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 121

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.11

<400> 121

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Ala Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 122

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.12

<400> 122

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Ala Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 123

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.13

<400> 123

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Ala Tyr

1 5 10 15

Met Asp

<210> 124

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.14

<400> 124

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Ala

1 5 10 15

Met Asp

<210> 125

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.15

<400> 125

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Ala Asp

<210> 126

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.16

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(5)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(10)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (12)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (15)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 126

Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Tyr Tyr Xaa

1 5 10 15

<210> 127

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.17

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(9)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (15)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 127

Asp Xaa Pro Phe Xaa Leu Asp Xaa Xaa Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Xaa

1 5 10 15

<210> 128

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: VH CDR3.18

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)

<223> Xaa is a non-polar amino acid or proline

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)

<223> Xaa is a non-polar amino acid or phenylalanine or tryptophan

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)

<223> Xaa is a polar amino acid or aspartic acid or glutamic acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)

<223> Xaa is a polar amino acid or tyrosine

<220><221> MISC_FEATURE

<

222> (12)

<223> Xaa is a polar amino acid or tyrosine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (15)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 128

Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Tyr Tyr Xaa

1 5 10 15

<210> 129

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: mAb1 heavy chain

<400> 129

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
130 135 140
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145 150 155 160

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

225 230 235 240
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
325 330 335
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Leu Ser Leu Gly

450

<210> 130

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: mAb8 heavy chain V1

<400> 130

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

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

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

195 200 205

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

210 215 220

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

225 230 235 240

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

245 250 255

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

260 265 270

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

290 295 300

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

305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

325 330 335

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

340 345 350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

355 360 365

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

370 375 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

385 390 395 400

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

405 410 415

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

435 440 445

Leu Ser Leu Ser Leu Gly

450

<210> 131

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: mAb8 heavy chain V2

<400> 131

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

165 170 175

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

180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr

195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val

210 215 220

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
405 410 415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

435 440 445
Leu Ser Leu Gly
450

<210> 132
<211> 452
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: mAb10 heavy chain
<400> 132
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Tyr Gly Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
Ala Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
130 135 140
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145 150 155 160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

180 185 190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
195 200 205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
210 215 220
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
225 230 235 240
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
290 295 300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser

325 330 335
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

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

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

<210> 133
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: mAb1, mAb8 and mAb10 light chain

<400> 133
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Leu Phe Pro Ile
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210