(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0112342
(43) 공개일자 2024년07월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07K 14/54 (2024.01) *C07K 14/715* (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2827 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2024-7021496
(22) 출원일자(국제) 2022년11월29일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년06월27일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/080542
(87) 국제공개번호 WO 2023/102367
국제공개일자 2023년06월08일
(30) 우선권주장
63/284,937 2021년12월01일 미국(US)

(71) 출원인
카드몬 코포레이션, 엘엘씨
미국 08807 뉴저지 브리지워터 코포레이트 드라이브 55
(72) 발명자
루, 댄
미국 02141 매사추세츠 캠브리지 워터 스트리트 450 사노피, 페이턴트 디파트먼트 내
파텔, 지가 피.
미국 02141 매사추세츠 캠브리지 워터 스트리트 450 사노피, 페이턴트 디파트먼트 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이윤기

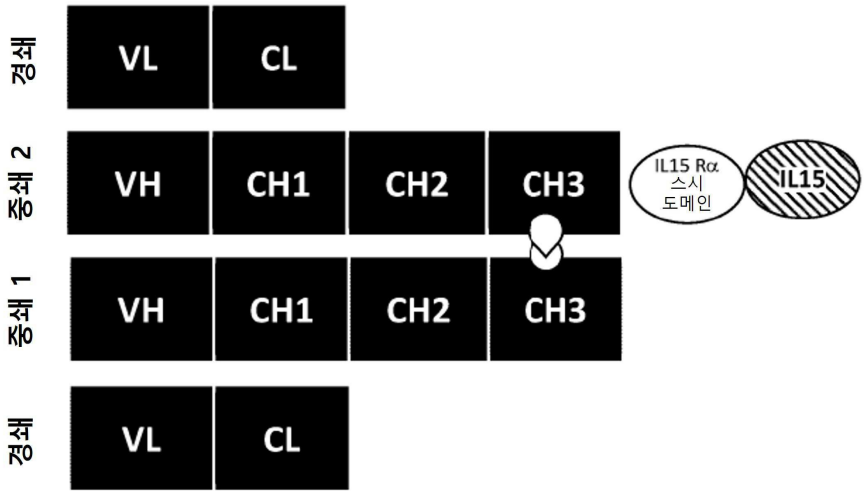
전체 청구항 수 : 총 95 항

(54) 발명의 명칭 **B7-H4 항체 및 항-B7-H4 항체/IL-15 융합 단백질**

(57) 요 약

B7-H4에 결합하여 이를 억제하는 데 유용한 재조합 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 이의 융합 단백질이 본원에 제공된다. 또한, 본원에 개시된 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 이의 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자, 및 이의 치료 조성물이 제공된다. 개시된 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 이의 융합 단백질을 질환의 치료를 위해 사용하는 추가 방법이 개시된다.

대 표 도 - 도1b



(52) CPC특허분류
C07K 14/5443 (2013.01)
C07K 14/7155 (2013.01)
C12N 5/0636 (2023.05)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/32 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)
C07K 2317/77 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
C07K 2319/74 (2013.01)

(72) 발명자
창, 츠-페이
미국 02141 매사추세츠 캠브리지 워터 스트리트 450 사노피, 페이턴트 디파트먼트 내
폴론스카야, 잔나
미국 02141 매사추세츠 캠브리지 워터 스트리트 450 사노피, 페이턴트 디파트먼트 내
미야라, 페이셜
미국 02141 매사추세츠 캠브리지 워터 스트리트 450 사노피, 페이턴트 디파트먼트 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 상기 중쇄 가변 영역 및 상기 경쇄 가변 영역 각각은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고,

a. CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고,

i. CDR1L은 서열번호 20을 포함하고, CDR2L은 서열번호 21을 포함하고, CDR3L은 서열번호 22를 포함하거나.

ii. CDR1L은 서열번호 66을 포함하고, CDR2L은 서열번호 67을 포함하고, CDR3L은 서열번호 68을 포함하거나;

iii. CDR1L은 서열번호 70을 포함하고, CDR2L은 서열번호 71을 포함하고, CDR3L은 서열번호 72를 포함하거나;

b. CDR1H는 서열번호 4를 포함하고, CDR2H는 서열번호 5를 포함하고, CDR3H는 서열번호 6을 포함하고,

i. CDR1L은 서열번호 8을 포함하고, CDR2L은 서열번호 9를 포함하고, CDR3L은 서열번호 10을 포함하거나;

ii. CDR1L은 서열번호 77을 포함하고, CDR2L은 서열번호 78을 포함하고, CDR3L은 서열번호 79를 포함하거나;

iii. CDR1L은 서열번호 81을 포함하고, CDR2L은 서열번호 82를 포함하고, CDR3L은 서열번호 83을 포함하는,

항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 70을 포함하고, CDR2L은 서열번호 71을 포함하고, CDR3L은 서열번호 72를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 3

제1항에 있어서,

a. 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 15, 또는 서열번호 15와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고;

i. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 19, 또는 서열번호 19와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

ii. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 65, 또는 서열번호 65와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

iii. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 69, 또는 서열번호 69와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

b. 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 3, 또는 서열번호 3과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고;

i. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 7, 또는 서열번호 7과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

ii. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 76, 또는 서열번호 76과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

iii. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 80, 또는 서열번호 80과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 15, 또는 서열번호 15와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 69, 또는 서열번호 69와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 5

제3항에 있어서,

a. 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 15를 포함하고;

i. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 19를 포함하거나;

ii. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 65를 포함하거나;

iii. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 69를 포함하거나;

b. 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 3을 포함하고;

i. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 7을 포함하거나;

ii. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 76을 포함하거나;

iii. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 80을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 15를 포함하고 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 69를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 hB7-H4의 IgV 도메인에 결합하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 8

중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 상기 중쇄 가변 영역 및 상기 경쇄 가변 영역 각각은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고,

a. CDR1L은 서열번호 50을 포함하고, CDR2L은 서열번호 51을 포함하고, CDR3L은 서열번호 52를 포함하거나;

b. CDR1L은 서열번호 88을 포함하고, CDR2L은 서열번호 89를 포함하고, CDR3L은 서열번호 90을 포함하거나;

c. CDR1L은 서열번호 92를 포함하고, CDR2L은 서열번호 93을 포함하고, CDR3L은 서열번호 94를 포함하거나;

d. CDR1L은 서열번호 96을 포함하고, CDR2L은 서열번호 97을 포함하고, CDR3L은 서열번호 98을 포함하거나;

e. CDR1L은 서열번호 100을 포함하고, CDR2L은 서열번호 101을 포함하고, CDR3L은 서열번호 102를 포함하

거나;

f. CDR1L은 서열번호 104를 포함하고, CDR2L은 서열번호 105를 포함하고, CDR3L은 서열번호 106을 포함하거나;

g. CDR1L은 서열번호 108을 포함하고, CDR2L은 서열번호 109를 포함하고, CDR3L은 서열번호 110을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 9

제8항에 있어서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 108을 포함하고, CDR2L은 서열번호 109를 포함하고, CDR3L은 서열번호 110을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고,

a. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 49, 또는 서열번호 49와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

b. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 87, 또는 서열번호 87과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

c. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 91, 또는 서열번호 91과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

d. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 95, 또는 서열번호 95와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

e. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 99, 또는 서열번호 99와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

f. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 103, 또는 서열번호 103과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

g. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 107, 또는 서열번호 107과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 11

제8항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 107, 또는 서열번호 107과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 12

제10항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고,

a. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 49를 포함하거나;

b. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 87을 포함하거나;

c. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 91을 포함하거나;

d. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 95를 포함하거나;

e. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 99를 포함하거나;

f. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 103을 포함하거나;

g. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 107을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 13

제8항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 107을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 14

제8항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 및 뮤린 hB7-H4의 IgC 도메인에 결합하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 15

중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 상기 중쇄 가변 영역 및 상기 경쇄 가변 영역 각각은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고,

a. CDR1L은 서열번호 62를 포함하고, CDR2L은 서열번호 63을 포함하고, CDR3L은 서열번호 64를 포함하거나;

b. CDR1L은 서열번호 115를 포함하고, CDR2L은 서열번호 116을 포함하고, CDR3L은 서열번호 117을 포함하거나;

c. CDR1L은 서열번호 119를 포함하고, CDR2L은 서열번호 120을 포함하고, CDR3L은 서열번호 121을 포함하거나;

d. CDR1L은 서열번호 123을 포함하고, CDR2L은 서열번호 124를 포함하고, CDR3L은 서열번호 125를 포함하거나;

e. CDR1L은 서열번호 127을 포함하고, CDR2L은 서열번호 128을 포함하고, CDR3L은 서열번호 129를 포함하거나;

f. CDR1L은 서열번호 131을 포함하고, CDR2L은 서열번호 132를 포함하고, CDR3L은 서열번호 133을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 16

제15항에 있어서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 119를 포함하고, CDR2L은 서열번호 120을 포함하고, CDR3L은 서열번호 121을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 17

제15항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고,

a. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 61, 또는 서열번호 61과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

b. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 114, 또는 서열번호 114와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

c. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 118, 또는 서열번호 118과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

d. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 122, 또는 서열번호 122와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

e. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 126, 또는 서열번호 126과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

f. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 130, 또는 서열번호 130과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 18

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 118, 또는 서열번호 118과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고,

a. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 61을 포함하거나;

b. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 114를 포함하거나;

c. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 118을 포함하거나;

d. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 122를 포함하거나;

e. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 126을 포함하거나;

f. 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 130을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 20

제15항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 118을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 21

제15항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 및 뮤린 hB7-H4의 IgV 도메인에 결합하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 동일한 B7-H4 상의 에피토프에 결합하는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 키메라 항체, CDR-이식 항체, 또는 인간화 항체, 또는 이의 항원 결합 단편인, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 다중특이적 또는 이중특이적 항체 또는 이의 항원 결합 단편인, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 scFv, Fv, Fab', Fab, $F(ab')_2$, 또는 디아바디인, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 IgG 클래스 면역글로불린인, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 이소형 IgG1을 갖는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 탈당화되어 있는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 제1 및 제2 중쇄 불변 영역을 포함하고, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에 이종이량체화를 일으키는 적어도 하나의 변형을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 제1 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에서의 변형은 상기 제2 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에서의 변형과 상이한, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 31

제29항 또는 제30항에 있어서, 상기 제1 중쇄 불변 영역은 S354C, T366W, Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 상기 제2 중쇄 불변 영역은 S354C, T366W, Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 32

제31항에 있어서,

a. 상기 제1 중쇄 불변 영역은 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 상기 제2 중쇄 불변 영역은 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나;

b. 상기 제2 중쇄 불변 영역은 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 상기 제1 중쇄 불변 영역은 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 33

제32항에 있어서,

a. 상기 제1 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하고, 상기 제2 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하거나;

b. 상기 제2 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하고, 상기 제1 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 34

제29항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 중쇄 불변 영역, 상기 제2 중쇄 불변 영역, 또는 둘 모두는 아미노산 치환 M428L 및 N434S(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 35

a. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편;

b. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%,

또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드; 및

c. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

를 포함하는 융합 단백질.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 B7H4 항체는 중쇄 CDR1(CDR1H), CDR2(CDR2H) 및 CDR3(CDR3H), 및 경쇄 CDR1(CDR1L), CDR2(CDR2L) 및 CDR3(CDR3L)을 포함하고, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 70을 포함하고, CDR2L은 서열번호 71을 포함하고, CDR3L은 서열번호 72를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 37

제35항에 있어서, 상기 B7H4 항체는 중쇄 CDR1(CDR1H), CDR2(CDR2H) 및 CDR3(CDR3H), 및 경쇄 CDR1(CDR1L), CDR2(CDR2L) 및 CDR3(CDR3L)을 포함하고, CDR1H는 서열번호 172를 포함하고, CDR2H는 서열번호 173을 포함하고, CDR3H는 서열번호 174를 포함하고, CDR1L은 서열번호 175를 포함하고, CDR2L은 서열번호 176을 포함하고, CDR3L은 서열번호 177을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 38

제35항에 있어서, 상기 B7H4 항체는 중쇄 CDR1(CDR1H), CDR2(CDR2H) 및 CDR3(CDR3H), 및 경쇄 CDR1(CDR1L), CDR2(CDR2L) 및 CDR3(CDR3L)을 포함하고, CDR1H는 서열번호 178을 포함하고, CDR2H는 서열번호 179를 포함하고, CDR3H는 서열번호 180을 포함하고, CDR1L은 서열번호 181을 포함하고, CDR2L은 서열번호 182를 포함하고, CDR3L은 서열번호 183을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 39

제35항에 있어서, 상기 B7H4 항체는 중쇄 CDR1(CDR1H), CDR2(CDR2H) 및 CDR3(CDR3H), 및 경쇄 CDR1(CDR1L), CDR2(CDR2L) 및 CDR3(CDR3L)을 포함하고, CDR1H는 서열번호 184를 포함하고, CDR2H는 서열번호 185를 포함하고, CDR3H는 서열번호 186을 포함하고, CDR1L은 서열번호 187을 포함하고, CDR2L은 서열번호 188을 포함하고, CDR3L은 서열번호 189를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 40

제35항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드는 서열번호 167을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드는 서열번호 167의 아미노산 서열로 구성되는, 융합 단백질.

청구항 42

제35항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-15 폴리펩티드는 서열번호 166을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 IL-15 폴리펩티드는 서열번호 166으로 구성되는, 융합 단백질.

청구항 44

제35항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드는 상기 IL-15 폴리펩티드의 N-말단에 융합되는, 융합 단백질.

청구항 45

제35항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 제1 및 제2 중쇄

불변 영역을 포함하고, 상기 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드 및 상기 IL-15 폴리펩티드는 상기 제1 중쇄 불변 영역의 C-말단에 융합되는, 융합 단백질.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 융합 단백질은 (i) 상기 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드 및 상기 IL-15 폴리펩티드와 (ii) 상기 불변 영역의 C-말단을 연결하는 링커를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 링커는 25~35개의 아미노산 길이인, 융합 단백질.

청구항 48

제47항에 있어서, 상기 링커는 Gly(G), Asn(N), Ser(S), Thr(T), Ala(A), Leu(L), 및 Gln(Q)으로 주로 구성되는, 융합 단백질.

청구항 49

제46항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 서열번호 168을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 50

제35항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 융합 단백질은 서열번호 169를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 51

제45항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역은 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에 이종이량체화를 일으키는 적어도 하나의 변형을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 제1 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에서의 변형은 상기 제2 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에서의 변형과 상이한, 융합 단백질.

청구항 53

제52항에 있어서, 상기 제1 중쇄 불변 영역은 S354C, T366W, Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 54

제53항에 있어서,

a. 상기 제1 중쇄 불변 영역은 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 상기 제2 중쇄 불변 영역은 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나;

b. 상기 제2 중쇄 불변 영역은 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 상기 제1 중쇄 불변 영역은 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 55

제54항에 있어서,

a. 상기 제1 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하고, 상기 제2 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하거나;

b. 상기 제2 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하고, 상기 제1 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 56

제35항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 중쇄 불변 영역, 상기 제2 중쇄 불변 영역, 또는 둘 모두는 아미노산 치환 M428L 및 N434S(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 57

제35항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 융합 단백질은 1개 이하의 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드 및 1개 이하의 IL-15 폴리펩티드를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 58

제35항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편인, 융합 단백질.

청구항 59

a. 서열번호 69 및/또는 서열번호 145를 포함하는 경쇄;

b. 서열번호 150 또는 서열번호 151을 포함하는 제1 중쇄; 및

c. 서열번호 157 또는 서열번호 158을 포함하는 제2 중쇄

를 포함하는 융합 단백질.

청구항 60

제59항에 있어서,

a. 상기 제1 중쇄는 서열번호 150을 포함하고;

b. 상기 제2 중쇄는 서열번호 157을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 61

제59항에 있어서,

a. 상기 제1 중쇄는 서열번호 151을 포함하고;

b. 상기 제2 중쇄는 서열번호 158을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 62

a. 서열번호 118 및/또는 서열번호 144를 포함하는 경쇄;

b. 서열번호 148 또는 서열번호 149를 포함하는 제1 중쇄; 및

c. 서열번호 155 또는 서열번호 156을 포함하는 제2 중쇄

를 포함하는 융합 단백질.

청구항 63

제62항에 있어서,

a. 상기 제1 중쇄는 서열번호 148을 포함하고;

b. 상기 제2 중쇄는 서열번호 155를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 64

제62항에 있어서,

a. 상기 제1 중쇄는 서열번호 149를 포함하고;

b. 상기 제2 중쇄는 서열번호 156을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 65

a. 서열번호 145를 포함하는 경쇄

b. 서열번호 150을 포함하는 제1 중쇄

c. 서열번호 157을 포함하는 제2 중쇄

를 포함하는 융합 단백질.

청구항 66

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항의 융합 단백질을 암호화하는 핵산 서열.

청구항 67

제66항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 68

제66항의 핵산 또는 제67항의 벡터를 포함하는 세포.

청구항 69

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항의 융합 단백질을 발현하는 세포.

청구항 70

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 항-B7-H4 결합 단백질을 발현하는 T 세포.

청구항 71

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-B7-H4 결합 단백질을 발현하는 T 세포.

청구항 72

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편 또는 상기 융합 단백질은 세포독소, 형광표지, 및 영상화제 중 하나 이상에 접합되는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질.

청구항 73

(i) 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항의 융합 단백질 및 (ii) 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 74

항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질을 생성하는 방법으로서, 제59항의 세포를 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질이 생성되도록 하는 조건하에 배양하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 75

B7-H4의 리간드에 대한 B7-H4 결합의 억제를 필요로 하는 대상체에서 이를 억제하는 방법으로서, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항의 융합 단백질의 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 76

T 세포 활성화의 증가를 필요로 하는 대상체에서 이를 증가시키는 방법으로서, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항의 융합 단백질의 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 77

CD8+ T 세포 증식의 증가를 필요로 하는 대상체에서 이를 증가시키는 방법으로서, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항의 융합 단백질의 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 78

B7-H4-발현 세포에서 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC)의 유도를 필요로 하는 대상체에서 이를 유도하는 방법으로서, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항의 융합 단백질의 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 79

면역계의 자극을 필요로 하는 대상체에서 이를 자극하는 방법으로서, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항의 융합 단백질의 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 80

암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항의 융합 단백질의 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 81

제80항에 있어서, 상기 암은 난소암, 흑색종, 췌장암, 갑상선암, 폐암, 결장직장암, 편평상피암, 전립선암, 유방암, 방광암, 또는 위암인, 방법.

청구항 82

제80항에 있어서, 상기 암은 삼중음성 유방암 또는 난소암인, 방법.

청구항 83

종양 성장의 감소를 필요로 하는 대상체에서 이를 감소시키는 방법으로서, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항의 융합 단백질의 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 84

종양 전이의 감소를 필요로 하는 대상체에서 이를 감소시키는 방법으로서, 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항의 융합 단백질의 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 85

제75항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 체크포인트 억제제를 사용한 치료법에 반응하지 않거나, 처음에는 체크포인트 억제제 치료에 반응하지만 나중에 체크포인트 억제제 차단에 내성을 갖게 되는, 방법.

청구항 86

제75항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 추가 치료제 또는 추가 치료법을 투여하는 단계를 추

가로 포함하는, 방법.

청구항 87

제85항에 있어서, 상기 추가 치료제는 암 백신, 체크포인트 억제제, 종양-특이적 항원에 대한 항체, 바실러스 칼메트-게랭 백신, 세포독소, 인터류킨 6 수용체(IL-6R) 억제제, 인터류킨 4 수용체(IL-4R) 억제제, IL-10 억제제, IL-2, IL-7, IL-21, IL-15, 항체-약물 접합체, 항염증제, 및 식이 보충제로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 88

제87항에 있어서, 상기 체크포인트 억제제는 CTLA-4, PD-1, PD-L1, 또는 PD-L2 억제제인, 방법.

청구항 89

제85항에 있어서, 상기 추가 치료제는 LAG3, TIGIT, LAP, 포도플라닌, 단백질 C 수용체, ICOS, GITR, CD226, 또는 CD160의 억제제인, 방법.

청구항 90

제85항에 있어서, 상기 추가 치료법은 화학요법, 방사선요법, 또는 수술인, 방법.

청구항 91

제85항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 추가 치료제 또는 추가 치료법은 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 상기 융합 단백질과 동시에 또는 연속하여 투여되는, 방법.

청구항 92

제85항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 추가 치료제는 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 상기 융합 단백질과 개별적으로 또는 혼합물로 투여되는, 방법.

청구항 93

제74항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 B7-H4의 발현이 상향조절되었거나, 상기 대상체는 B7-H4의 발현에 대해 양성인 것으로 확인된 적이 있는, 방법.

청구항 94

제74항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 인간인, 방법.

청구항 95

샘플에서 B7-H4를 검출하는 방법으로서, 상기 샘플을 제1항 내지 제34항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제35항 내지 제65항 중 어느 한 항의 융합 단백질과 접촉시키는 단계를 포함하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 일반적으로 분자 생물학 및 의학 분야와 관련이 있다. 보다 구체적으로, 본 발명은 IL-15Rα 스시 도메인을 포함하는 IL-15 수용체 알파(IL-15Rα) 폴리펩티드에 결과적으로 연결되는 IL-15 폴리펩티드에 연결된, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 또한, 본 발명은 B7-H4에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 항원 결합 단편, 뿐만 아니라 이러한 항-B7-H4 항체 또는 이의 B7-H4 결합 단편을 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 또한, 질환 치료용 항체 융합체 또는 항체를 포함하는 치료 조성물이 개시된다.

배 경 기 술

[0002] B7-H4는 종양 세포, 항원 제시 세포(APC), 및 TAM(종양 관련 대식세포)에서만 발현되는 B7 계열의 공동억제 리간드이다. B7-H4는 T 세포 상의 확인되지 않은 동족 수용체에 결합한다. PD-L1 발현은 면역학적으로 "강한(hot)" 종양과 관련이 있는 반면, B7-H4 발현은 "약한(cold)" 환경을 나타낸다. B7-H4 발현은 PD-L1 발현과 음의 상관관계가 있다. 중요하게도, B7-H4의 과발현은 암 환자의 진행된 질병 단계 및 불량한 예후와 상관관계가 있다. 종양 및 TAM에 의해 발현된 B7-H4는 항종양 T 세포의 활성을 억제하고, T 세포에서의 고갈된 기능장애 상태를 촉진하고, 종양 관련 호중구(골수 유래 억제 세포)를 촉진하고, 조절 T 세포(T_{regs}), IL-6 및 IL-10 생성을 유도한다.

[0003] IL-15는 사이토카인의 4개의 α-나선 다발 계열에 속하는 114개의 아미노산을 갖는 12.5 kDa의 당단백질이다. 이 계열은 또한 IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, 과립구 콜로니-자극 인자(G-CSF), 및 GM-CSF를 포함한다. IL-15는 대식세포, 수지상 세포, 단핵구에 의해 분비된다. IL-15는 중앙 기억 CD8 세포를 자극하여 다른 T 세포에 대한 영향 조절 없이 면역력을 발휘할 수 있다. 또한, IL-15는 자연 살해(NK) 세포 및 이펙터 및 기억 CD8 T 세포를 활성화할 수 있으며, T_{regs}에 의해 유도된 아폽토시스로부터 T 세포를 구할 수 있다. IL-15의 투여는 또한 다른 사이토카인에 비해 더 높은 용량에서 전신 독성을 유발할 위험이 더 낮은 것과 관련이 있다. 인간 IL-15는 가용성이거나 막 결합형일 수 있다. IL-15의 주요 형태인 막 결합 IL-15는 IL-15가 세포막에 직접 결합함으로써, 또는 막 결합 IL-15R 수용체에 의해 IL-15가 제시됨으로써 형성된다. IL-15 수용체는 3개의 서브유닛, 즉 IL-15Rα, IL-15Rβ, 및 IL-15Rγ로 구성된다. IL-15는 일반적으로 T 세포 및 NK 세포 상의 기능적 IL-15Rβ 및 γ 유닛에 결합하기 전에 APC에서 발현된 IL-15 수용체 α와 복합체를 형성한다. IL-15는 IL-15Rα 수용체 단독에 친화도($K_D \approx 10$ pM)로 결합할 수 있다. 이는 또한 더 낮은 친화도($K_D \approx 1$ nM)로 IL-15Rβγc 신호전달 복합체에 결합할 수 있다. IL-15Rα의 스시 도메인(29.5 kDa)은 IL-15와 IL-15Rα의 복합체 형성에 중요한 역할을 한다. 전신 IL-15 치료의 한계 중 하나는 생체내 반감기가 매우 짧다는 것이다. 따라서, 면역 반응을 조절하는 능력을 유지하면서 생체내 반감기가 더 긴 적합한 면역자극 형태의 IL-15/IL-15Rα를 생성할 필요가 있다. 또한, 원치 않는 전신 독성을 피하고 보다 효과적인 치료 이점을 제공하기 위해 질환 부위에 선택적으로 표적화될 수 있는 효과적인 IL-15 길항제가 필요하다.

[0004] IL-2, IL-15, IL-21, 종양 괴사 인자(TNF), 및 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자(GM-CSF)와 같은 다양한 사이토카인과 B7-H4 항체를 포함하는 병용 요법은 암 및 감염 치료에 어느 정도 효능이 있을 수 있다. 그러나, 이러한 치료법은 효능을 얻는 데 필요한 높은 혈중 사이토카인 농도, 및 영향을 받은 세포 및 조직에 대한 투여 사이토카인의 특이성 부족 둘 모두와 관련된 전신 독성으로 인해 제한된다.

[0005] 따라서, 비특이적 면역 활성과 관련된 부작용 없이 치료적 이점을 제공하기 위해 질환 부위에 다양한 이펙터 분자를 표적화하는 새로운 전략을 개발해야 할 충족되지 못한 상당한 필요성이 있다.

발명의 내용

[0006] IL-15Rα 스시 도메인을 포함하는 IL-15 수용체 알파(IL-15Rα) 폴리펩티드에 결과적으로 연결되는 IL-15 폴리펩티드에 연결된, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질이 본원에 제공된다. 본 발명은 B7-H4에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 항원 결합 단편, 뿐만 아니라 이러한 항-B7-H4 항체 또는 이의 B7-H4 결합 단편을 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 또한, 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질을 사용하여 이를 필요로 하는 대상체를 치료하는 방법이 개시된다.

[0007] 일 양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역 각각은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고,

[0008] a. CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고,

[0009] i. CDR1L은 서열번호 20을 포함하고, CDR2L은 서열번호 21을 포함하고, CDR3L은 서열번호 22를 포함하거나;

[0010] ii. CDR1L은 서열번호 66을 포함하고, CDR2L은 서열번호 67을 포함하고, CDR3L은 서열번호 68을 포함하거나;

[0011] iii. CDR1L은 서열번호 70을 포함하고, CDR2L은 서열번호 71을 포함하고, CDR3L은 서열번호 72를 포함하거나;

[0012] b. CDR1H는 서열번호 4를 포함하고, CDR2H는 서열번호 5를 포함하고, CDR3H는 서열번호 6을 포함하고,

[0013] i. CDR1L은 서열번호 8을 포함하고, CDR2L은 서열번호 9를 포함하고, CDR3L은 서열번호 10을 포함하거나;

[0014] ii. CDR1L은 서열번호 77을 포함하고, CDR2L은 서열번호 78을 포함하고, CDR3L은 서열번호 79를 포함하거나;

[0015] iii. CDR1L은 서열번호 81을 포함하고, CDR2L은 서열번호 82를 포함하고, CDR3L은 서열번호 83을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0016] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 70을 포함하고, CDR2L은 서열번호 71을 포함하고, CDR3L은 서열번호 72를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0017] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서,

[0018] a. 중쇄 가변 영역은 서열번호 15, 또는 서열번호 15와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고;

[0019] i. 경쇄 가변 영역은 서열번호 19, 또는 서열번호 19와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0020] ii. 경쇄 가변 영역은 서열번호 65, 또는 서열번호 65와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0021] iii. 경쇄 가변 영역은 서열번호 69, 또는 서열번호 69와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0022] b. 중쇄 가변 영역은 서열번호 3, 또는 서열번호 3과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고;

[0023] i. 경쇄 가변 영역은 서열번호 7, 또는 서열번호 7과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0024] ii. 경쇄 가변 영역은 서열번호 76, 또는 서열번호 76과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0025] iii. 경쇄 가변 영역은 서열번호 80, 또는 서열번호 80과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0026] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15, 또는 서열번호 15와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 69, 또는 서열번호 69와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0027] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서,

[0028] a. 중쇄 가변 영역은 서열번호 15를 포함하고;

[0029] i. 경쇄 가변 영역은 서열번호 19를 포함하거나;

[0030] ii. 경쇄 가변 영역은 서열번호 65를 포함하거나;

[0031] iii. 경쇄 가변 영역은 서열번호 69를 포함하거나;

[0032] b. 중쇄 가변 영역은 서열번호 3을 포함하고;

[0033] i. 경쇄 가변 영역은 서열번호 7을 포함하거나;

[0034] ii. 경쇄 가변 영역은 서열번호 76을 포함하거나;

[0035] iii. 경쇄 가변 영역은 서열번호 80을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된

다.

[0036] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 69를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0037] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 hB7-H4의 IgV 도메인에 결합하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0038] 일 양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역 각각은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고,

[0039] a. CDR1L은 서열번호 50을 포함하고, CDR2L은 서열번호 51을 포함하고, CDR3L은 서열번호 52를 포함하거나;

[0040] b. CDR1L은 서열번호 88을 포함하고, CDR2L은 서열번호 89를 포함하고, CDR3L은 서열번호 90을 포함하거나;

[0041] c. CDR1L은 서열번호 92를 포함하고, CDR2L은 서열번호 93을 포함하고, CDR3L은 서열번호 94를 포함하거나;

[0042] d. CDR1L은 서열번호 96을 포함하고, CDR2L은 서열번호 97을 포함하고, CDR3L은 서열번호 98을 포함하거나;

[0043] e. CDR1L은 서열번호 100을 포함하고, CDR2L은 서열번호 101을 포함하고, CDR3L은 서열번호 102를 포함하거나;

[0044] f. CDR1L은 서열번호 104를 포함하고, CDR2L은 서열번호 105를 포함하고, CDR3L은 서열번호 106을 포함하거나;

[0045] g. CDR1L은 서열번호 108을 포함하고, CDR2L은 서열번호 109를 포함하고, CDR3L은 서열번호 110을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0046] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 108을 포함하고, CDR2L은 서열번호 109를 포함하고, CDR3L은 서열번호 110을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0047] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고,

[0048] a. 경쇄 가변 영역은 서열번호 49, 또는 서열번호 49와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0049] b. 경쇄 가변 영역은 서열번호 87, 또는 서열번호 87과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0050] c. 경쇄 가변 영역은 서열번호 91, 또는 서열번호 91과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0051] d. 경쇄 가변 영역은 서열번호 95, 또는 서열번호 95와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0052] e. 경쇄 가변 영역은 서열번호 99, 또는 서열번호 99와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0053] f. 경쇄 가변 영역은 서열번호 103, 또는 서열번호 103과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0054] g. 경쇄 가변 영역은 서열번호 107, 또는 서열번호 107과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0055] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 107, 또는 서열번호 107과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0056] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고,

[0057] a. 경쇄 가변 영역은 서열번호 49를 포함하거나;

[0058] b. 경쇄 가변 영역은 서열번호 87을 포함하거나;

[0059] c. 경쇄 가변 영역은 서열번호 91을 포함하거나;

[0060] d. 경쇄 가변 영역은 서열번호 95를 포함하거나;

[0061] e. 경쇄 가변 영역은 서열번호 99를 포함하거나;

[0062] f. 경쇄 가변 영역은 서열번호 103을 포함하거나;

[0063] g. 경쇄 가변 영역은 서열번호 107을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0064] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 107을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0065] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 및 뮤린 hB7-H4의 IgC 도메인에 결합하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0066] 일 양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역 각각은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고,

[0067] a. CDR1L은 서열번호 62를 포함하고, CDR2L은 서열번호 63을 포함하고, CDR3L은 서열번호 64를 포함하거나;

[0068] b. CDR1L은 서열번호 115를 포함하고, CDR2L은 서열번호 116을 포함하고, CDR3L은 서열번호 117을 포함하거나;

[0069] c. CDR1L은 서열번호 119를 포함하고, CDR2L은 서열번호 120을 포함하고, CDR3L은 서열번호 121을 포함하거나;

[0070] d. CDR1L은 서열번호 123을 포함하고, CDR2L은 서열번호 124를 포함하고, CDR3L은 서열번호 125를 포함하거나;

[0071] e. CDR1L은 서열번호 127을 포함하고, CDR2L은 서열번호 128을 포함하고, CDR3L은 서열번호 129를 포함하거나;

[0072] f. CDR1L은 서열번호 131을 포함하고, CDR2L은 서열번호 132를 포함하고, CDR3L은 서열번호 133을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0073] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 119를 포함하고, CDR2L은 서열번호 120을 포함하고, CDR3L은 서열번호 121을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0074] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고,

[0075] a. 경쇄 가변 영역은 서열번호 61, 또는 서열번호 61과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0076] b. 경쇄 가변 영역은 서열번호 114, 또는 서열번호 114와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0077] c. 경쇄 가변 영역은 서열번호 118, 또는 서열번호 118과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도

97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0078] d. 경쇄 가변 영역은 서열번호 122, 또는 서열번호 122와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0079] e. 경쇄 가변 영역은 서열번호 126, 또는 서열번호 126과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나;

[0080] f. 경쇄 가변 영역은 서열번호 130, 또는 서열번호 130과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0081] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 118, 또는 서열번호 118과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0082] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고,

[0083] a. 경쇄 가변 영역은 서열번호 61을 포함하거나;

[0084] b. 경쇄 가변 영역은 서열번호 114를 포함하거나;

[0085] c. 경쇄 가변 영역은 서열번호 118을 포함하거나;

[0086] d. 경쇄 가변 영역은 서열번호 122를 포함하거나;

[0087] e. 경쇄 가변 영역은 서열번호 126을 포함하거나;

[0088] f. 경쇄 가변 영역은 서열번호 130을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0089] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 118을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0090] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 및 뮤린 hB7-H4의 IgV 도메인에 결합하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0091] 일 구현예에서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 동일한 B7-H4 상의 에피토프에 결합하는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0092] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 항원 결합 단편은 키메라 항체, CDR-이식 항체, 또는 인간화 항체, 또는 이의 항원 결합 단편인, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0093] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 항원 결합 단편은 다중특이적 또는 이중특이적 항체 또는 이의 항원 결합 단편인, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0094] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 항원 결합 단편은 scFv, Fv, Fab', Fab, $F(ab')_2$, 또는 디아바디인, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0095] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체는 IgG 클래스 면역글로불린인, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0096] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 항원 결합 단편은 이소형 IgG1을 갖는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0097] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 항원 결합 단편은 탈당화되어 있는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0098] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 항원 결합 단편은 제1 및 제2 중쇄 불변 영역을 포함하고, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 제1 및 제2 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에 이종이량체화를 일으키는 적어도 하나의 변형을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다. 일 구현예에서, 제1 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에서의 변형은 제2 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에서의 변형과 상이

하다. 일 구현예에서, 제1 중쇄 불변 영역은 S354C, T366W, Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 제2 중쇄 불변 영역은 S354C, T366W, Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, (i) 제1 중쇄 불변 영역은 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 제2 중쇄 불변 영역은 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나; (ii) 제2 중쇄 불변 영역은 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 제1 중쇄 불변 영역은 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, (i) 제1 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하고, 제2 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하거나; (ii) 제2 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하고, 제1 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함한다. 일 구현예에서, 제1 중쇄 불변 영역, 제2 중쇄 불변 영역, 또는 둘 모두는 아미노산 치환 M428L 및 N434S(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함한다.

[0099] 일 양태에서,

[0100] a. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편;

[0101] b. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드; 및

[0102] c. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0103] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0104] 일부 구현예에서, 융합 단백질은 중쇄 CDR1(CDR1H), CDR2(CDR2H) 및 CDR3(CDR3H), 및 경쇄 CDR1(CDR1L), CDR2(CDR2L) 및 CDR3(CDR3L)을 포함하고, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 70을 포함하고, CDR2L은 서열번호 71을 포함하고, CDR3L은 서열번호 72를 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 중쇄 CDR1(CDR1H), CDR2(CDR2H) 및 CDR3(CDR3H), 및 경쇄 CDR1(CDR1L), CDR2(CDR2L) 및 CDR3(CDR3L)을 포함하고, CDR1H는 서열번호 172를 포함하고, CDR2H는 서열번호 173을 포함하고, CDR3H는 서열번호 174를 포함하고, CDR1L은 서열번호 175를 포함하고, CDR2L은 서열번호 176을 포함하고, CDR3L은 서열번호 177을 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 중쇄 CDR1(CDR1H), CDR2(CDR2H) 및 CDR3(CDR3H), 및 경쇄 CDR1(CDR1L), CDR2(CDR2L) 및 CDR3(CDR3L)을 포함하고, CDR1H는 서열번호 178을 포함하고, CDR2H는 서열번호 179를 포함하고, CDR3H는 서열번호 180을 포함하고, CDR1L은 서열번호 181을 포함하고, CDR2L은 서열번호 182를 포함하고, CDR3L은 서열번호 183을 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 중쇄 CDR1(CDR1H), CDR2(CDR2H) 및 CDR3(CDR3H), 및 경쇄 CDR1(CDR1L), CDR2(CDR2L) 및 CDR3(CDR3L)을 포함하고, CDR1H는 서열번호 184를 포함하고, CDR2H는 서열번호 185를 포함하고, CDR3H는 서열번호 186을 포함하고, CDR1L은 서열번호 187을 포함하고, CDR2L은 서열번호 188을 포함하고, CDR3L은 서열번호 189를 포함한다.

[0105] 일 구현예에서, IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드는 서열번호 167을 포함한다. 일 구현예에서, IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드는 서열번호 167의 아미노산 서열로 구성된다. 일 구현예에서, IL-15 폴리펩티드는 서열번호 166을 포함한다. 일 구현예에서, IL-15 폴리펩티드는 서열번호 166으로 구성된다. 일 구현예에서, IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드는 IL-15 폴리펩티드의 N-말단에 융합된다.

[0106] 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 제1 및 제2 중쇄 불변 영역을 포함하고, IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드 및 IL-15 폴리펩티드는 제1 중쇄 불변 영역의 C-말단에 융합된다. 일 구현예에서, 융합 단백질은 (i) IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드 및 IL-15 폴리펩티드와 (ii) 불변 영역의 C-말단을 연결하는 링커를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 25~35개의 아미노산 길이이다. 일부 구현예에서, 링커는 Gly(G), Asn(N), Ser(S), Thr(T), Ala(A), Leu(L), 및 Gln(Q)으로 주로 구성된다. 일 구현예에서, 링커는 서열번호 168을 포함한다. 일 구현예에서, 융합 단백질은 서열번호 169를 포함한다. 일 구현예에서, 제1 및 제2 중쇄 불변 영역은 제1 및 제2 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에 이종이량체화를 일으키는 적어도 하나의 변형을 포함한다. 일 구현예에서, 제1 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에서의 변형은 제2 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에서의 변형과

상이하다. 일 구현예에서, 제1 중쇄 불변 영역은 S354C, T366W, Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, (i) 제1 중쇄 불변 영역은 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 제2 중쇄 불변 영역은 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나; (ii) 제2 중쇄 불변 영역은 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 제1 중쇄 불변 영역은 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, (i) 제1 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하고, 제2 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하거나; (ii) 제2 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하고, 제1 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함한다. 일 구현예에서, 제1 중쇄 불변 영역, 제2 중쇄 불변 영역, 또는 둘 모두는 아미노산 치환 M428L 및 N434S(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함한다. 일 구현예에서, 융합 단백질은 1개 이하의 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드 및 1개 이하의 IL-15 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0107] 일 양태에서,

[0108] a. 서열번호 69 및/또는 서열번호 145를 포함하는 경쇄;

[0109] b. 서열번호 150 또는 서열번호 151을 포함하는 제1 중쇄; 및

[0110] c. 서열번호 157 또는 서열번호 158을 포함하는 제2 중쇄

[0111] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0112] 일 구현예에서, 제1 중쇄는 서열번호 150을 포함하고; 제2 중쇄는 서열번호 157을 포함한다. 일 구현예에서, 제1 중쇄는 서열번호 151을 포함하고; 제2 중쇄는 서열번호 158을 포함한다.

[0113] 일 양태에서,

[0114] a. 서열번호 118 및/또는 서열번호 144를 포함하는 경쇄;

[0115] b. 서열번호 148 또는 서열번호 149를 포함하는 제1 중쇄; 및

[0116] c. 서열번호 155 또는 서열번호 156을 포함하는 제2 중쇄

[0117] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0118] 일 구현예에서, 제1 중쇄는 서열번호 148을 포함하고; 제2 중쇄는 서열번호 155를 포함한다.

[0119] 일 구현예에서, 제1 중쇄는 서열번호 149를 포함하고; 제2 중쇄는 서열번호 156을 포함한다.

[0120] 일 양태에서, 서열번호 145를 포함하는 경쇄; 서열번호 150을 포함하는 제1 중쇄; 및 서열번호 157을 포함하는 제2 중쇄를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0121] 일 양태에서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질을 암호화하는 핵산 서열이 제공된다.

[0122] 본원에 개시된 핵산을 포함하는 벡터가 본원에 제공된다. 본원에 개시된 둘 이상의 핵산 분자를 포함하는 벡터 세트가 본원에 제공된다.

[0123] 본원에 개시된 핵산 또는 벡터를 포함하는 세포가 본원에 제공된다. 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질을 발현하는 세포가 본원에 제공된다. 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질을 발현하는 T 세포가 본원에 제공된다. 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함하는 항-B7-H4 결합 단백질을 발현하는 T 세포가 본원에 제공된다. 일부 구현예에서, 세포는 단리된다.

[0124] 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질은 세포독소, 형광표지, 및 영상화제 중 하나 이상에 접합된다.

[0125] (i) 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질 및 (ii) 약학적으로 허용되는

담체를 포함하는 약학적 조성물이 본원에 제공된다.

[0126] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질을 생성하는 방법으로서, 본원에 개시된 세포를 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질이 생성되도록 하는 조건하에 배양하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0127] B7-H4의 리간드에 대한 B7-H4 결합의 억제를 필요로 하는 대상체에서 이를 억제하는 방법으로서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0128] T 세포 활성화의 증가를 필요로 하는 대상체에서 이를 증가시키는 방법으로서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0129] CD8+ T 세포 증식의 증가를 필요로 하는 대상체에서 이를 증가시키는 방법으로서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0130] B7-H4-발현 세포에서 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC)의 유도를 필요로 하는 대상체에서 이를 유도하는 방법으로서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0131] 면역계의 자극을 필요로 하는 대상체에서 이를 자극하는 방법으로서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0132] 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 구현예에서, 암은 난소암, 흑색종, 췌장암, 갑상선암, 폐암, 결장직장암, 편평상피암, 전립선암, 유방암, 방광암, 또는 위암이다. 일부 구현예에서, 암은 삼중음성 유방암 또는 난소암이다.

[0133] 종양 성장의 감소를 필요로 하는 대상체에서 이를 감소시키는 방법으로서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0134] 종양 전이의 감소를 필요로 하는 대상체에서 이를 감소시키는 방법으로서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0135] 일 구현예에서, 상기 방법은 추가 치료제 또는 추가 치료법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 추가 치료제는 암 백신, 체크포인트 억제제, 종양-특이적 항원에 대한 항체, 바실러스 칼메트-게랭 백신, 세포독소, 인터류킨 6 수용체(IL-6R) 억제제, 인터류킨 4 수용체(IL-4R) 억제제, IL-10 억제제, IL-2, IL-7, IL-21, IL-15, 항체-약물 접합체, 항염증제, 및 식이 보충제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 체크포인트 억제제는 CTLA-4, PD-1, PD-L1, 또는 PD-L2 억제제이다. 일부 구현예에서, 추가 치료제는 LAG3, TIGIT, LAP, 포도플라닌, 단백질 C 수용체, ICOS, GITR, CD226, 또는 CD160의 억제제이다. 일부 구현예에서, 추가 치료법은 화학요법, 방사선요법, 또는 수술이다. 일부 구현예에서, 추가 치료제 또는 추가 치료법은 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질과 동시에 또는 연속하여 투여된다. 일부 구현예에서, 추가 치료제는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질과 개별적으로 또는 혼합물로 투여된다.

[0136] 일 구현예에서, 대상체는 B7-H4의 발현이 상향조절되었거나, 대상체는 B7-H4의 발현에 대해 양성인 것으로 확인된 적이 있다. 일 구현예에서, 대상체는 체크포인트 억제제를 사용한 치료법에 반응하지 않거나, 처음에는 체크포인트 억제제 치료에 반응하지만 나중에 체크포인트 억제제 차단에 내성을 갖게 된다. 일 구현예에서, 대상체는 인간이다.

[0137] 일 양태에서, 샘플에서 B7-H4를 검출하는 방법으로서, 샘플을 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0138] **도 1a**는 고도로 글리코실화된 IgC 및 매우 짧은 세포질 꼬리를 포함하는 B7-H4의 독특한 구조를 보여준다. **도 1b**는 본원에 개시된 예시적인 융합 단백질을 보여준다.

도 2는 B7-H4에 대한 완전 인간 scFv 파지 디스플레이 라이브러리(Distributed Bio의 Superman 2.0)의 패닝에 이은 친화도 성숙(경쇄 셔플링)에 의해 고친화성 B7-H4 항체를 얻는 프로세스를 보여준다.

도 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 및 3f는 가용성 및 세포성 B7-H4에 대한 항체 1D3, 3F2, 1A12, 1F11, 및 6C3의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 3a**), hB7-H4-his(**도 3b**), mB7-H4-Fc(**도 3c**), 및 hB7-H4 IgV 도메인(**도 3d**)에 대한 결합을 측정하였다. 유세포 분석 실험을 수행하여, hB7-H4(**도 3e**) 또는 mB7-H4(**도 3f**)를 발현하는 CHO 세포에 대한 결합을 측정하였다. 항체 1D3, 3F2, 1A12, 1F11, 및 6C3은 가용성 및 세포성 hB7-H4에, 특히 hB7-H4의 IgV 도메인에 결합하였다.

도 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 및 4f는 가용성 및 세포성 B7-H4에 대한 항체 6C3, 1D3, 3D1, 및 4H6의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 4a**), hB7-H4-his(**도 4b**), hB7-H4 IgV 도메인(**도 4c**), 및 mB7-H4 IgV 도메인(**도 4d**)에 대한 결합을 측정하였다. 유세포 분석 실험을 수행하여, hB7-H4(**도 4e**) 또는 mB7-H4(**도 4f**)를 발현하는 CHO 세포에 대한 결합을 측정하였다. 항체 6C3, 1D3, 3D1, 및 4H6은 가용성 및 세포성 hB7-H4에, 특히 hB7-H4의 IgV 도메인에 결합하였다. 교차 반응성 IgV 결합 항체를 대조군으로 사용하였다.

도 5a, 5b, 5c, 5d, 5e, 5f, 및 5g는 가용성 및 세포성 B7-H4에 대한 항체 9H2의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 5a**), hB7-H4-his(**도 5b**), mB7-H4-Fc 도메인(**도 5c**), hB7-H4 IgV 도메인(**도 5d**), 및 hB7-H4 IgC 도메인(**도 5e**)에 대한 결합을 측정하였다. 유세포 분석 실험을 수행하여, hB7-H4(**도 5f**) 또는 mB7-H4(**도 5g**)를 발현하는 CHO 세포에 대한 결합을 측정하였다. 항체 9H2는 가용성 및 세포성 hB7-H4에, 특히 hB7-H4의 IgV 도메인에 결합하였다. 교차 반응성 IgV 결합 항체 및 IgC 결합 항체를 대조군으로 사용하였다.

도 6a, 6b, 6c, 6d, 6e, 및 6f는 가용성 및 세포성 B7-H4에 대한 항체 5G6, 9E1, 5F4, 5E4, 및 4B9의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 6a**), mB7-H4-hFc(**도 6b**), hB7-H4 IgV 도메인(**도 6c**), 및 mB7-H4 IgV 도메인(**도 6d**)에 대한 결합을 측정하였다. 유세포 분석 실험을 수행하여, hB7-H4(**도 6e**) 또는 mB7-H4(**도 6f**)를 발현하는 CHO 세포에 대한 결합을 측정하였다. 항체 5E4, 5F4, 5G6, 및 9E1은 인간 및 마우스 B7-H4의 IgC 도메인에 결합하였다. 항체 4B9는 hB7-H4-Fc에 강력하게 결합했지만 mB7-H4에는 결합하지 않았다. 항체 4B9의 결합은 IgV와 IgC 둘 모두를 필요로 했다. 교차 반응성 IgV 결합 항체를 대조군으로 사용하였다.

도 7a, 7b, 7c, 7d, 7e, 7f, 7g, 및 7h는 가용성 및 세포성 B7-H4에 대한 항체 9D11, 24B6, 15B11, 30G4, 및 24F4의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 7a**), hB7-H4-His(**도 7b**), mB7-H4-hFc(**도 7c**), mB7-H4-His(**도 7d**), hB7-H4 IgC 도메인(**도 7e**), 및 mB7-H4 IgC 도메인(**도 7f**)에 대한 결합을 측정하였다. 유세포 분석 실험을 수행하여, hB7-H4(**도 7g**) 또는 mB7-H4(**도 7h**)를 발현하는 CHO 세포에 대한 결합을 측정하였다. 항체 9D11, 24B6, 15B11, 30G4, 및 24F4는 인간 및 마우스 B7-H4의 IgC 도메인에 결합하였다. 교차 반응성 IgC 결합 항체를 대조군으로 사용하였다.

도 8a, 8b, 8c, 8d, 8e, 8f, 8g, 및 8h는 가용성 및 세포성 B7-H4에 대한 항체 39A11 및 31D7의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 8a**), hB7-H4-His(**도 8b**), mB7-H4-hFc(**도 8c**), mB7-H4-His(**도 8d**), hB7-H4 IgV 도메인(**도 8e**), hB7-H4 IgC 도메인(**도 8f**), mB7-H4 IgV 도메인(**도 8g**), 및 mB7-H4 IgC 도메인(**도 8h**)에 대한 결합을 측정하였다. 유세포 분석 실험을 수행하여, hB7-H4(**도 8i**) 또는 mB7-H4(**도 8j**)를 발현하는 CHO 세포에 대한 결합을 측정하였다. 항체 39A11 및 31D7은 인간 및 마우스 B7-H4의 IgV 도메인에 결합하였다. 교차 반응성 IgV 결합 항체를 대조군으로 사용하였다.

도 9a, 9b, 9c, 9d, 9e, 9f, 9g, 9h는 가용성 B7-H4에 대한 항체 1D3/1D3, 1D3/1D3 유도체 1D3/45A2, 1D3/1D3 유도체 1D3/47B2, 3F2/3F2, 3F2/3F2 유도체 3F2/50A10, 및 3F2/3F2 유도체 3F2/49A2의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여, hB7-H4-Fc(**도 9a**), mB7-H4-Fc(**도 9b**), hB7-H4-his(**도 9c**), mB7-H4-his(**도 9d**), hB7-H4 IgV 도메인(**도 9e**), mB7-H4 IgV 도메인(**도 9f**), hB7-H4 IgC 도메인(**도 9g**), mB7-H4 IgC 도메인(**도 9h**)에 대한 결합을 측정하였다. 3F2 유도체 3F2/50A10 및 3F2/49A2는 3F2와 동일한 중쇄 서열을 갖지만, 3F2와 다른 경쇄 서열을 갖는다. 1D3 유도체 1D3/47B2 및 1D3/45A2는 1D3과 동일한 중쇄 서열을 갖지만, 1D3과 다른 경쇄 서열을 갖는다. 항체 C3 및 49A2는 동일한 VH 및 VL 서열을 갖는다.

도 10a, 10b, 10c, 10d는 세포 결합 B7-H4에 대한 항체 1D3/1D3, 1D3/1D3 유도체 1D3/45A2, 1D3/1D3 유도체 1D3/47B2, 3F2/3F2, 3F2/3F2 유도체 3F2/50A10, 및 3F2/3F2 유도체 3F2/49A2의 결합을 보여준다. 유세포 분석 실험을 수행하여, hB7-H4를 발현하는 CHO 세포(**도 10a**), mB7-H4를 발현하는 CHO 세포(**도 10b**), hB7-H4를 발현

하는 삼중음성 유방암 세포주 MDA-MB-468 세포(**도 10c**), 및 hB7-H4를 발현하는 난소암 세포주 SK-BR-3 세포(**도 10d**)에 대한 결합을 측정하였다.

도 11a, 11b, 11c, 11d, 11e, 및 11f는 가용성 B7-H4에 대한 항체 9D11/9D11 및 9D11/9D11 유도체 9D11/67H9, 9D11/67C3, 9D11/67C6, 9D11/67E12, 및 9D11/67G3의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 11a**), mB7-H4-Fc(**도 11b**), hB7-H4 IgC 도메인(**도 11c**), mB7-H4 IgC 도메인(**도 11d**), hB7-H4 IgV 도메인(**도 11e**), 및 mB7-H4 IgV 도메인(**도 11f**)에 대한 결합을 측정하였다. 9D11 유도체 9D11/67E12, 9D11/67C3, 9D11/67C6, 9D11/67H9, 9D11/67G3, 및 9D11/68F5는 9D11과 동일한 중쇄 서열을 갖지만, 9D11과 다른 경쇄 서열을 갖는다.

도 12a, 12b, 12c, 및 12d는 가용성 B7-H4에 대한 9D11/9D11 유도체 9D11/67C3, 9D11/67E12, 및 9D11/68F5의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 12a**), mB7-H4-Fc(**도 12b**), hB7-H4-his(**도 12c**), 및 hB7-H4-his(**도 12d**)에 대한 결합을 측정하였다. 9D11 유도체 9D11/67C3, 9D11/67E12, 및 9D11/68F5는 9D11과 동일한 중쇄 서열을 갖지만, 9D11과 다른 경쇄 서열을 갖는다.

도 13a 및 13b는 세포 결합 B7-H4에 대한 항체 9D11/9D11 및 9D11/9D11 유도체 9D11/67C3, 9D11/67C6, 9D11/67E12, 9D11/67G3, 9D11/67H9, 및 9D11/68F5의 결합을 보여준다. 유세포 분석 실험을 수행하여, mB7-H4를 발현하는 CT26 세포(**도 13a**) 및 hB7-H4를 발현하는 SK-BR-3 세포(**도 13b**)에 대한 결합을 측정하였다. 9D11 유도체 9D11/67C3, 9D11/67C6, 9D11/67E12, 9D11/67G3, 9D11/67H9, 및 9D11/68F5는 9D11과 동일한 중쇄 서열을 갖지만, 9D11과 다른 경쇄 서열을 갖는다.

도 14a, 14b, 14c, 14d, 14e, 및 14f는 가용성 B7-H4에 대한 항체 39A11/39A11 및 39A11/39A11 유도체 39A11/62F9, 39A11/56H7, 39A11/57G8, 39A11/57H3, 및 39A11/56A9의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 14a**), mB7-H4-Fc(**도 14b**), hB7-H4 IgV 도메인(**도 14c**), mB7-H4 IgV 도메인(**도 14d**), hB7-H4 IgC 도메인(**도 14e**), 및 mB7-H4 IgC 도메인(**도 14f**)에 대한 결합을 측정하였다. 39A11 유도체 39A11/62F9, 39A11/56H7, 39A11/57G8, 39A11/57H3, 및 39A11/56A9는 39A11과 동일한 중쇄 서열을 갖지만, 39A11과 다른 경쇄 서열을 갖는다.

도 15a 및 15b는 세포 결합 B7-H4에 대한 항체 39A11/39A11 및 39A11/39A11 유도체 39A11/62F9, 39A11/56H7, 39A11/57G8, 39A11/57H3, 및 39A11/56A9의 결합을 보여준다. 유세포 분석 실험을 수행하여, mB7-H4를 발현하는 CT26 세포(**도 15a**) 및 hB7-H4를 발현하는 SK-BR-3 세포(**도 15b**)에 대한 결합을 측정하였다. 39A11 유도체 39A11/62F9, 39A11/56H7, 39A11/57G8, 39A11/57H3, 및 39A11/56A9는 39A11과 동일한 중쇄 서열을 갖지만, 39A11과 다른 경쇄 서열을 갖는다.

도 16a, 16b, 16c, 16d, 16e, 및 16f는 가용성 B7-H4에 대한 항체 3F2/50A10(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 39A11/57G8(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 및 9D11/68F5(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체)의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 16a**), mB7-H4-Fc(**도 16b**), hB7-H4 IgV 도메인(**도 16c**), mB7-H4 IgV 도메인(**도 16d**), hB7-H4 IgC 도메인(**도 16e**), 및 mB7-H4 IgC 도메인(**도 16f**)에 대한 결합을 측정하였다. IgV 또는 IgC에 결합하는 항체를 각각 대조군으로 사용하였다.

도 17a, 17b, 및 17c는 세포 결합 B7-H4에 대한 항체 3F2/50A10(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 39A11/57G8(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 및 9D11/68F5(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체)의 결합을 보여준다. 유세포 분석 실험을 수행하여, hB7-H4를 발현하는 SK-BR-3 세포(**도 17a**), mB7-H4를 발현하는 CT26 세포(**도 17b**), 및 hB7-H4를 발현하는 MDA-MB-468 세포(**도 17c**)에 대한 결합을 측정하였다.

도 18a 및 18b는 hB7-H4에 대한 결합 후 항-B7-H4 항체 3F2/50A10(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 39A11/57G8(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 및 9D11/68F5(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체)의 내재화를 보여준다. 항체를 항체 표지 시약(즉, pH-민감성 형광 프로브에 접합된 Fc-영역 표적화 Fab 단편)과 혼합하였다. Fab-Ab 복합체가 내재화되어 산성(pH 4.5~5.5) 리소좀과 엔도좀을 통해 처리됨에 따라 형광 신호가 관찰된다. hB7-H4를 발현하는 SK-BR-3 세포(**도 18a**) 및 hB7-H4를 발현하는 MDA-MB-468 세포(**도 18b**)에 대해 내재화가 나타나 있다. IgV 또는 IgC 결합 항체를 각각 대조군으로 사용하였다.

도 19a 및 19b는 항체 3F2/50A10(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 39A11/57G8(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체)(**도 19a**), 및 9D11/68F5(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체)(**도 19b**)에 의한 복원 T 세포 사이토카인 분비 기능(여기서는 IFNɣ 분비)을 보여준다. IgV 또는 IgC 결합 항체를 각각 대조군으로 사용하였다. 관련 없는 대조 항체도 포함되었다.

도 20a 및 20b는 항체 3F2/50A10(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 39A11/57G8(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 및 9D11/68F5(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체)가 종양 세포에서 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC)을 유도함을 보여준다. hB7-H4를 발현하는 SK-BR-3 세포(**도 20a**) 및 hB7-H4를 발현하는 MDA-MB-468 세포(**도 20b**)에 대해 종양 세포 사멸이 나타나 있다.

도 21a 및 21b는 IgV 도메인 결합 항체 3F2/50A10 및 39A11/57G8이 IncuCyte® 면역 세포 사멸 분석에서 종양 세포를 사멸시킴을 보여준다. ADCC 분석을 위해, SK-BR-3 암세포를 hPBMC와 각각 1:5(**도 21a**) 또는 1:10(**도 21b**)의 비로 혼합한 SKBR3/hPBMC 공동배양 모델을 설정하였다. DP47을 대조 항체로 사용하였다.

도 22a, 22b, 22c, 22d, 22e, 및 22f는 각각 B7-H4에 대한 항체 39A11/57G8 및 양성 대조 항체(IgV 결합 항체)의 결합과, 항체 39A11/57G8을 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 57G8/IL15) 또는 양성 대조 항체를 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 (+)Ab1/IL15)의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 22a**), hB7-H4-his(**도 22b**), hB7-H4 IgV 도메인(**도 22c**), mB7-H4-Fc(**도 22d**), mB7-H4-his(**도 22e**), mB7-H4 IgV 도메인(**도 22f**)에 대한 결합을 측정하였다.

도 23a, 23b, 23c, 23d, 23e, 및 23f는 각각 B7-H4에 대한 항체 3F2/50A10 및 양성 대조 항체(IgV 결합 항체)의 결합과, 항체 3F2/50A10을 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 50A10/IL15) 또는 양성 대조 항체를 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 (+)Ab1/IL15)의 결합을 보여준다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 23a**), hB7-H4-his(**도 23b**), hB7-H4 IgV 도메인(**도 23c**), mB7-H4-Fc(**도 23d**), mB7-H4-his(**도 23e**), mB7-H4 IgV 도메인(**도 23f**)에 대한 결합을 측정하였다.

도 24a, 24b, 24c, 및 24d는 세포성 B7-H4에 대한 항체 3F2/50A10, 39A11/57G8 및 양성 대조 항체(B7-H5 IgV 도메인 결합 항체)의 결합과, 항체 3F2/50A10을 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 50A10/IL15), 항체 39A11/57G8을 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 57G8/IL15), 또는 양성 대조 항체를 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 (+)Ab1/IL15)의 결합을 보여준다. 유세포 분석 실험을 수행하여, hB7-H4를 발현하는 SK-BR-3 세포(**도 24a 및 도 24b**) 또는 mB7-H4를 발현하는 CT26 세포(**도 24c 및 도 24d**)에 대한 결합을 측정하였다.

도 25a, 25b, 25c, 및 25d는 유세포 분석으로 측정시 MDA-MB-468 세포(**도 25a 및 25b**) 또는 MX-1(**도 25c 및 25d**)에서 발현된 세포성 B7-H4에 대한 항체 3F2/50A10, 39A11/57G8 및 음성 대조 항체 DP47의 결합과, 항체 3F2/50A10을 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 50A10/IL15), 항체 39A11/57G8을 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 57G8/IL15), 또는 음성 대조 항체를 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 DP47/IL15)의 결합을 보여준다.

도 26a 및 26b는 IncuCyte® 면역 세포 사멸 분석을 사용한 항체 3F2/50A10, 39A11/57G8, 및 음성 대조 항체 DP47에 의한 종양 세포 사멸과, 항체 3F2/50A10을 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 50A10/IL15), 항체 39A11/57G8을 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 57G8/IL15), 또는 음성 대조 항체를 포함하는 융합 단백질(즉, 융합 단백질 DP47/IL15)에 의한 종양 세포 사멸을 보여준다. 3F2/50A10 및 융합 단백질 50A10/IL15(**도 26a**)와, 39A11/57G8 및 융합 단백질 57G8/IL15(**도 26b**)에 대해 SD-BR-3 세포의 사멸이 나타나 있다. 3F2/50A10 및 융합 단백질 50A10/IL15에 대해 MDA-MB-468 세포의 사멸이 나타나 있다(**도 26c**). **도 26d**는 **도 26c**에 도시된 곡선에 대한 끝점 값을 나타낸다. **도 26e**는 50A10/IL-15, 57G8/IL-15, 57G8, 및 50A1로 처치 후의 MDA-MB-468 세포의 아폽토시스를 보여준다.

도 27a, 27b, 및 27c는 hPBMC(**도 27a**) 및 특히 CD8+ T 세포(**도 27b**), 및 CD4+ T 세포(**도 27c**)의 증식에 대한 항체 39A11/57G8 및 3F2/50A10과 융합 단백질 57G8/IL15 및 50A10/IL15의 효과를 보여준다. 항체 DP47 및 DP47을 포함하는 IL-15 융합 단백질을 대조군으로 사용하였다.

도 28a 및 28b는 IL-2 수용체를 통해 p-STAT5 신호 경로를 활성화하는 항체 39A11/57G8 및 3F2/50A10과 융합 단백질 57G8/IL15 및 50A10/IL115의 능력을 보여준다. **도 28a**는 STAT5 신호전달 경로를 보여준다. **도 28b**는 표시된 항체 및 융합 단백질에 의한 경로의 활성화를 보여준다. 항체 DP47 및 DP47을 포함하는 IL-15 융합 단백질을 대조군으로 사용하였다.

도 29a 및 29b는 항체 39A11/57G8 및 3F2/50A10과 융합 단백질 57G8/IL15 및 50A10/IL15가 종양 세포에서 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC)을 유도함을 보여준다. hB7-H4를 발현하는 SK-BR-3 세포(**도 29a**) 및 hB7-H4를 발현하는 MDA-MB-468 세포(**도 29b**)에 대해 종양 세포 사멸이 나타나 있다.

도 30a, 30b, 30c, 및 30d는 가용성 B7-H4에 대한 융합 단백질 57G8/IL-15, 57G8/IL-15_LS, 50A10/IL-15, 및

50A10/IL-15_LS의 결합을 보여준다. 항체의 불변 영역 내 "LS" 돌연변이(M428L/N434S)는 pH 6에서 FcRn에 대한 친화도를 증가시키고 K_{off} 속도를 낮추어, 혈청 반감기를 연장시킨다. ELISA 실험을 수행하여 hB7-H4-Fc(**도 30a**), mB7-H4-Fc(**도 30b**), hB7-H4his(**도 30c**), 및 mB7-H4his(**도 30d**)에 대한 결합을 측정하였다. DP47을 포함하는 IL-15 융합 단백질을 대조군으로 사용하였다.

도 31a 및 31b는 세포 결합 B7-H4에 대한 융합 단백질 57G8/IL-15, 57G8/IL-15_LS, 50A10/IL-15, 및 50A10/IL-15_LS의 결합을 보여준다. 유세포 분석 실험을 수행하여, hB7-H4를 발현하는 SK-BR-3 세포(**도 31a**) 및 mB7-H4를 발현하는 CT26 세포(**도 31b**)에 대한 결합을 측정하였다. DP47을 포함하는 IL-15 융합 단백질을 대조군으로 사용하였다.

도 32는 IL-2 의존성 M07e 세포의 증식을 유도하는 융합 단백질 57G8/IL-15, 57G8/IL-15_LS, 50A10/IL-15, 및 50A10/IL-15_LS의 능력을 보여준다. DP47을 포함하는 IL-15 융합 단백질을 대조군으로 사용하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0139] **융합 단백질**

[0140] B7-H4(B7 동족체 4, B7h.5, 면역 공동자극 단백질 B7-H4, 단백질 B7S1, 또는 T-세포 공동자극 분자 B7x로도 알려진, V-세트 도메인 함유 T-세포 활성화 억제제 1로도 알려짐)는 PD-L1을 포함하는 다른 B7 계열 구성원과 상동성을 공유하는 면역 조절 분자이다. B7-H4는 IgV 및 IgC 엑토도메인 둘 모두로 구성된 I형 막관통 단백질이다. 건강한 조직에서의 B7-H4 발현은 단백질 수준에서 상대적으로 제한적인 반면, B7-H4는 여러 고형 종양에서 발현된다. 종양에서 B7-H4의 발현은 불량한 예후와 상관관계가 있는 경향이 있다. B7-H4는 고도로 글리코실화된 IgC 도메인과 매우 짧은 세포질 꼬리를 포함하는 독특한 구조를 가지고 있다(**도 1a**).

[0141] 일 양태에서, 본 발명은 B7-H4에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 융합 단백질의 이 부분은 **표 1, 5, 7, 9, 및 16 내지 20**에 제공되거나 본원에 달리 기술된 항체의 상응하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역 또는 CDR을 포함하는 것들을 포함하여, B7-H4에 특이적으로 결합하는 임의의 항체 또는 이의 항체 단편일 수 있다.

[0142] 자극 도메인을 포함하는 융합 단백질이 본원에 개시된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "자극 도메인"은 면역 반응을 촉진하는 도메인이다. 자극 도메인은 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포 활성 및/또는 증식을 유도함으로써 매개되는 면역 반응을 자극할 수 있다. 구현예에서, 자극 도메인은 비제한적으로 IL-2, IL-7, IL-15, 및 IL-21과 같은 인터류킨 또는 인터페론에 반응하는 세포를 자극한다. 일 구현예에서, 자극 도메인은 비제한적으로 IL-2, IL-7, IL-13, IL-15, 및 IL-21과 같은 인터류킨 또는 인터페론에 반응하는 수용체에 결합하고 이를 자극한다. 자극 도메인은 또한 서로 공유 연결된 2개 이상의 리간드의 이종복합체인 하이브리드 도메인일 수 있다.

[0143] 구현예에서, 자극 도메인은 IL-15 수용체(IL-15R)의 IL-15 자극을 촉진하는 서열 또는 도메인을 포함한다.

[0144] 일 구현예에서, IL-15R 자극을 촉진하는 자극 도메인은 IL-15 또는 IL-15 유도체를 포함한다.

[0145] 일 구현예에서, IL-15R 자극을 촉진하는 자극 도메인은 IL-15Rα 스시 도메인을 포함하는 IL-15Rα 폴리펩티드 또는 이의 유도체를 포함한다. 구현예에서, 자극 도메인은 IL-15Rα 쇄의 스시 도메인을 포함한다.

[0146] 구현예에서, 자극 도메인은 IL-15Rα 스시 도메인을 포함하는 IL-15Rα 폴리펩티드 또는 이의 유도체의 존재에 의해 결합이 강화될 수 있는 IL-15 또는 이의 유도체를 포함한다. 일 구현예에서, 자극 도메인은 IL-15 또는 이의 유도체와 IL-15Rα 스시 도메인을 포함하는 IL-15Rα 폴리펩티드 또는 이의 유도체의 복합체를 포함한다. 일부 구현예에서, 자극 도메인은 IL-15 또는 이의 유도체와, IL-15Rα 스시 도메인을 포함하는 IL-15Rα 폴리펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 두 폴리펩티드는 링커에 의해 공유 연결된다.

[0147] 일 구현예에서, IL-15 또는 이의 유도체는 IL-15Rα 스시 도메인을 포함하는 IL-15Rα 폴리펩티드 또는 이의 유도체의 N-말단에 위치한다. 일 구현예에서, IL-15 또는 이의 유도체는 IL-15Rα 스시 도메인을 포함하는 IL-15Rα 폴리펩티드 또는 이의 유도체의 C-말단에 위치한다. 일 구현예에서, 자극 도메인은 서열번호 169의 서열을 포함한다.

[0148] (1) B7-H4와 그 리간드의 결합을 차단하고 면역억제를 억제하는 항-B7H4 결합 도메인, 및 (2) 면역 반응을 촉진하는 자극 도메인을 포함하는 융합 단백질로서, 앞서 언급한 기능을 개별적으로 제공하는 2개의 별개의 분자에 비해 증가된 면역 세포 활성을 제공할 수 있는 융합 단백질이 본원에 제공된다. 구체적으로, 본원에 개시된 실험은 B7-H4와 그 리간드의 결합을 차단하는 B7-H4 결합 도메인, 및 자극 도메인 IL-15 또는 이의 유도체 및 IL-

15Rα 스시 도메인을 포함하는 IL-15Rα 폴리펩티드 또는 이의 유도체를 둘 다 포함하는 융합 단백질이 종양 세포를 사멸하였고, T 세포 증식을 유도했고, IL-2Rβɣɣɣ

이러한 유도체에서, 자연발생적 아미노산은 화학적으로 변형된 아미노산으로 대체되어 폴리펩티드 반감기를 변경할 수 있다. 일부 구현예에서, IL-15Rα 스시 도메인 또는 IL-15Rα 스시 도메인 유도체 서열은 하나 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다.

[0156] IL-15는 IL-15Rα에 높은 친화도로 결합한 다음, 동일한 표적 세포에 의해 발현되는 IL-15Rβ/γc 복합체와 회합한다(시스-제시). IL-15Rα는 IL-15Rβ/γ(c) 복합체를 발현하는 상이한 표적 세포에 높은 친화도로 IL-15를 트랜스-제시하는 것으로도 알려져 있다(트랜스-제시). IL-15 시스- 및 트랜스-제시 메커니즘은 수용체 활성화 및 신호 전달의 상이한 역학으로 이어지며, 시스-제시는 빠르고 일시적인 반응을 유도하고, 트랜스-제시는 더 느리고 지속적인 반응을 유도한다.

[0157] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 링커에 의해 IL-15에 부착된 IL-15Rα 쇄의 스시 도메인을 포함하는 하이브리드 도메인을 포함하는 자극 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 자극 도메인은 제2 링커를 통해 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 연결된다. 다른 구현예에서, 본원에 예시된 자극 도메인은 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 항원 결합 단편에 직접 융합된다.

[0158] 일 구현예에서, 자극 도메인이 융합 단백질의 항-B7-H4 결합 부분의 C-말단(예를 들어, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체의 중쇄의 C-말단)에 직접 또는 링커를 통해(예를 들어, 하나 이상의 펩티드를 통해) 연결된 "C-말단 융합 단백질"이 제공된다.

[0159] C-말단 융합 단백질은 다음의 (예시적인) 융합 단백질을 포함하나 이에 한정되지 않는다(구성요소는 N-말단에서 C-말단으로 나열되어 있고, "-"는 직접 공유 연결 또는 링커를 통한(예를 들어, 하나 이상의 펩티드를 통한) 연결을 나타냄):

[0160] **(a)** (항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편) - (IL-15 또는 이의 유도체)

[0161] **(b)** (항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 중쇄) - (IL-15Rα 스시 도메인을 포함하는 IL-15Rα 폴리펩티드 또는 이의 유도체); 및

[0162] **(c)** (항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 중쇄) - (IL-15Rα 스시 도메인을 포함하는 IL-15Rα 폴리펩티드 또는 이의 유도체) - (IL-15 또는 이의 유도체)

[0163] C-말단 융합 단백질은 하나 초과의 자극 도메인을 포함할 수 있다.

[0164] 일 구현예에서, 자극 도메인이 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 중쇄 중 하나(단 하나)의 C-말단에 공유 연결된 융합 단백질이 제공된다.

[0165] (1) 자극 도메인, (2) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 제1 중쇄(자극 도메인은 제1 중쇄의 C-말단에 공유 연결됨), 및 (3) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 제2 중쇄(제2 중쇄는 자극 도메인에 연결되지 않음)를 포함하는 융합 단백질이 본원에 제공된다. 일부 구현예에서, 자극 도메인은 (i) IL-15 또는 이의 유도체, 또는 (ii) IL-15Rα 스시 도메인을 포함하는 IL-15Rα 폴리펩티드 또는 이의 유도체, 또는 (iii) 둘 모두를 포함한다.

[0166] **도 1b**는 본원에 기술된 융합 단백질의 비제한적 예의 개략도를 나타낸다.

[0167] 일 양태에서,

[0168] (a) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편,

[0169] (b) IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드, 및

[0170] (c) IL-15 폴리펩티드

[0171] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0172] 일 양태에서,

[0173] (a) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편,

[0174] (b) IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0175] (c) IL-15 폴리펩티드, 및

[0176] (d) IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커

[0177] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0178] 일 양태에서,

[0179] (a) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편,

[0180] (b) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드를 연결하는 링커,

[0181] (c) IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0182] (d) IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0183] (e) IL-15 폴리펩티드

[0184] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0185] 일 양태에서,

[0186] (a) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편,

[0187] (b) 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드; 및

[0188] (c) 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0189] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0190] 일 양태에서,

[0191] (a) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편,

[0192] (b) 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드;

[0193] (c) 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드, 및

[0194] (d) IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커

[0195] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0196] 일 구현예에서, N-말단에서 C-말단으로,

[0197] (a) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0198] (b) 불변 중쇄,

[0199] (c) 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0200] (d) IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0201] (e) 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0202] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0203] 일 구현예에서, N-말단에서 C-말단으로,

[0204] (a) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0205] (b) 불변 중쇄,

[0206] (c) 불변 중쇄와 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드를 연결하는 링커,

[0207] (d) 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%,

적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0208] (e) IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0209] (f) 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0210] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0211] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0212] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0213] a. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0214] b. 불변 중쇄,

[0215] c. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0216] d. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0217] e. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0218] 를 포함하는 제1 쇄; 및

[0219] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0220] a. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 경쇄, 및

[0221] b. 불변 경쇄

[0222] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0223] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0224] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0225] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0226] a. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0227] b. 불변 중쇄,

[0228] c. 불변 중쇄와 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드를 연결하는 링커,

[0229] d. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0230] e. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0231] f. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0232] 를 포함하는 제1 쇄, 및

[0233] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0234] a. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 경쇄, 및

[0235] b. 불변 경쇄

[0236] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0237] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0238] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0239] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0240] a. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 제1 가변 중쇄,

[0241] b. 제1 불변 중쇄,

[0242] c. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0243] d. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0244] e. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0245] 를 포함하는 제1 중쇄;

[0246] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0247] a. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 제2 가변 중쇄, 및

[0248] b. 제2 불변 중쇄

[0249] 를 포함하는 제2 중쇄; 및

[0250] (c) N-말단에서 C-말단으로,

[0251] a. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 경쇄, 및

[0252] b. 불변 경쇄

[0253] 를 포함하는 경쇄를 포함하고,

[0254] 임의로, 제1 및 제2 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0255] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0256] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0257] a. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 제1 가변 중쇄,

[0258] b. 제1 불변 중쇄,

[0259] c. 불변 중쇄와 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드를 연결하는 링커,

[0260] d. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0261] e. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0262] f. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0263] 를 포함하는 제1 중쇄;

[0264] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0265] a. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 제2 가변 중쇄, 및

[0266] b. 제2 불변 중쇄

[0267] 를 포함하는 제2 중쇄; 및

[0268] (c) N-말단에서 C-말단으로,

[0269] a. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 경쇄, 및

[0270] b. 불변 경쇄

[0271] 를 포함하는 경쇄를 포함하고,

[0272] 임의로, 제1 및 제2 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0273] 일 구현예에서, IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드는 서열번호 167을 포함한다. 일 구현예에서, IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드는 서열번호 167로 구성된다.

[0274] 일 구현예에서, IL-15 폴리펩티드는 서열번호 166을 포함한다. 일 구현예에서, IL-15 폴리펩티드는 서열번호 166으로 구성된다.

[0275] 일 구현예에서, IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커는 서열번호 168을 포함한다. 일 구현예에서, IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커는 서열번호 168로 구성된다.

[0276] 일 구현예에서, 융합 단백질은 서열번호 169를 포함한다.

[0277] 일 양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역 각각은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0278] 일 구현예에서, 융합 단백질은 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하고, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 73을 포함하고, CDR2L은 서열번호 74를 포함하고, CDR3L은 서열번호 75를 포함한다.

[0279] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 20을 포함하고, CDR2L은 서열번호 21을 포함하고, CDR3L은 서열번호 22를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0280] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 66을 포함하고, CDR2L은 서열번호 67을 포함하고, CDR3L은 서열번호 68을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0281] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 70을 포함하고, CDR2L은 서열번호 71을 포함하고, CDR3L은 서열번호 72를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0282] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 84를 포함하고, CDR2L은 서열번호 85를 포함하고, CDR3L은 서열번호 86을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0283] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 8을 포함하고, CDR2L은 서열번호 9를 포함하고, CDR3L은 서열번호 10을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0284] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 77을 포함하고, CDR2L은 서열번호 78을 포함하고, CDR3L은 서열번호 79를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0285] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 81을 포함하고, CDR2L은 서열번호 82를 포함하고, CDR3L은 서열번호 83을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0286] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15, 또는 서열번호 15와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 19, 또는 서열번호 19와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%,

적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0287] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15, 또는 서열번호 15와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 65, 또는 서열번호 65와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0288] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15, 또는 서열번호 15와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 69, 또는 서열번호 69와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0289] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3, 또는 서열번호 3과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 7, 또는 서열번호 7과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0290] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3, 또는 서열번호 3과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 76, 또는 서열번호 76과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0291] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3, 또는 서열번호 3과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 80, 또는 서열번호 80과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0292] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 19를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0293] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 65를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0294] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 69를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0295] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 7을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0296] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 76을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0297] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 80을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0298] 일 양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역 각각은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0299] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 111을 포함하고, CDR2L은 서열번호 112를 포함하고, CDR3L은 서열번호 113을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0300] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 50을 포함하고, CDR2L은 서열번호 51을 포함하고, CDR3L은 서열번호 52를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0301] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 88을 포함하고, CDR2L은 서열

번호 89를 포함하고, CDR3L은 서열번호 90을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0302] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 92를 포함하고, CDR2L은 서열번호 93을 포함하고, CDR3L은 서열번호 94를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0303] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 96을 포함하고, CDR2L은 서열번호 97을 포함하고, CDR3L은 서열번호 98을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0304] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 100을 포함하고, CDR2L은 서열번호 101을 포함하고, CDR3L은 서열번호 102를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0305] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 104를 포함하고, CDR2L은 서열번호 105를 포함하고, CDR3L은 서열번호 106을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0306] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 108을 포함하고, CDR2L은 서열번호 109를 포함하고, CDR3L은 서열번호 110을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0307] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 49, 또는 서열번호 49와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0308] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 87, 또는 서열번호 87과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0309] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 91, 또는 서열번호 91과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0310] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 95, 또는 서열번호 95와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0311] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 99, 또는 서열번호 99와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0312] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 103, 또는 서열번호 103과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0313] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 107, 또는 서열번호 107과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0314] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하

고 경쇄 가변 영역은 서열번호 49를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0315] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 87을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0316] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 91을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0317] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 95를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0318] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 99를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0319] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 103을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0320] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 107을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0321] 일 양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역 각각은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0322] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 134를 포함하고, CDR2L은 서열번호 135를 포함하고, CDR3L은 서열번호 136을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0323] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 62를 포함하고, CDR2L은 서열번호 63을 포함하고, CDR3L은 서열번호 64를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0324] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 115를 포함하고, CDR2L은 서열번호 116을 포함하고, CDR3L은 서열번호 117을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0325] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 119를 포함하고, CDR2L은 서열번호 120을 포함하고, CDR3L은 서열번호 121을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0326] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 123을 포함하고, CDR2L은 서열번호 124를 포함하고, CDR3L은 서열번호 125를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0327] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 127을 포함하고, CDR2L은 서열번호 128을 포함하고, CDR3L은 서열번호 129를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0328] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 131을 포함하고, CDR2L은 서열번호 132를 포함하고, CDR3L은 서열번호 133을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0329] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 61, 또는 서열번호 61과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0330] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 114, 또는 서열번호 114와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도

97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0331] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 118, 또는 서열번호 118과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0332] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 122, 또는 서열번호 122와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0333] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 126, 또는 서열번호 126과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0334] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 130, 또는 서열번호 130과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0335] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 61을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0336] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 114를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0337] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 118을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0338] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 122를 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0339] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 126을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0340] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 130을 포함하는, 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0341] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0342] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0343] a. CDR1H, CDR2H, 및 CDR3H를 포함하고, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0344] b. 불변 중쇄,

[0345] c. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0346] d. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0347] e. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0348] 를 포함하는 제1 쇄, 및

[0349] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0350] a. CDR1L, CDR2L, 및 CDR3L을 포함하고, CDR1L은 서열번호 70을 포함하고, CDR2L은 서열번호 71을 포함하고, CDR3L은 서열번호 72를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 경쇄, 및

[0351] b. 불변 경쇄

[0352] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0353] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0354] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0355] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0356] a. CDR1H, CDR2H, 및 CDR3H를 포함하고, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0357] b. 불변 중쇄,

[0358] c. 불변 중쇄와 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드를 연결하는 링커,

[0359] d. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0360] e. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0361] f. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0362] 를 포함하는 제1 쇄; 및

[0363] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0364] a. CDR1H, CDR2H, 및 CDR3H를 포함하고, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄; 및

[0365] b. 불변 경쇄

[0366] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0367] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0368] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0369] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0370] a. CDR1H, CDR2H, 및 CDR3H를 포함하고, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0371] b. 불변 중쇄,

[0372] c. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0373] d. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0374] e. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0375] 를 포함하는 제1 쇄; 및

[0376] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0377] a. CDR1L, CDR2L, 및 CDR3L을 포함하고, CDR1L은 서열번호 108을 포함하고, CDR2L은 서열번호 109를 포함하고, CDR3L은 서열번호 110을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 경쇄, 및

[0378] b. 불변 경쇄

[0379] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0380] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0381] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0382] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0383] a. CDR1H, CDR2H, 및 CDR3H를 포함하고, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0384] b. 불변 중쇄,

[0385] c. 불변 중쇄와 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드를 연결하는 링커,

[0386] d. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0387] e. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0388] f. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0389] 를 포함하는 제1 쇄; 및

[0390] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0391] a. CDR1L, CDR2L, 및 CDR3L을 포함하고, CDR1L은 서열번호 108을 포함하고, CDR2L은 서열번호 109를 포함하고, CDR3L은 서열번호 110을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 경쇄, 및

[0392] b. 불변 경쇄

[0393] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0394] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0395] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0396] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0397] a. CDR1H, CDR2H, 및 CDR3H를 포함하고, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0398] b. 불변 중쇄,

[0399] c. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0400] d. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0401] e. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0402] 를 포함하는 제1 쇄; 및

[0403] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0404] a. CDR1L, CDR2L, 및 CDR3L을 포함하고, CDR1L은 서열번호 119를 포함하고, CDR2L은 서열번호 120을 포함하고, CDR3L은 서열번호 121을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 경쇄, 및

[0405] b. 불변 경쇄

[0406] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0407] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0408] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0409] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0410] a. CDR1H, CDR2H, 및 CDR3H를 포함하고, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0411] b. 불변 중쇄,

[0412] c. 불변 중쇄와 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드를 연결하는 링커,

[0413] d. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0414] e. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커,

[0415] f. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0416] 를 포함하는 제1 쇄; 및

[0417] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0418] a. CDR1L, CDR2L, 및 CDR3L을 포함하고, CDR1L은 서열번호 119를 포함하고, CDR2L은 서열번호 120을 포함하고, CDR3L은 서열번호 121을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 경쇄, 및

[0419] b. 불변 경쇄

[0420] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0421] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0422] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0423] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0424] a. 서열번호 15, 또는 서열번호 15와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0425] b. 불변 중쇄,

[0426] c. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0427] d. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0428] e. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0429] 를 포함하는 제1 쇄; 및

[0430] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0431] a. 서열번호 69, 또는 서열번호 69와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 경쇄, 및

[0432] b. 불변 경쇄

[0433] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0434] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0435] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0436] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0437] a. 서열번호 15, 또는 서열번호 15와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0438] b. 불변 중쇄,

[0439] c. 불변 중쇄와 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드를 연결하는 링커,

[0440] d. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0441] e. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0442] f. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0443] 를 포함하는 제1 쇄; 및

[0444] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0445] a. 서열번호 69, 또는 서열번호 69와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 경쇄, 및

[0446] b. 불변 경쇄

[0447] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0448] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0449] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0450] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0451] a. 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0452] b. 불변 중쇄,

[0453] c. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0454] d. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0455] e. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0456] 를 포함하는 제1 쇄; 및

[0457] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0458] a. 서열번호 107, 또는 서열번호 107과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄, 및

[0459] b. 불변 경쇄

[0460] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0461] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0462] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0463] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0464] a. 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0465] b. 불변 중쇄,

[0466] c. 불변 중쇄와 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드를 연결하는 링커,

[0467] d. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0468] e. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0469] f. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0470] 를 포함하는 제1 쇄; 및

[0471] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0472] a. 서열번호 107, 또는 서열번호 107과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄, 및

[0473] b. 불변 경쇄

[0474] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0475] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0476] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0477] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0478] a. 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0479] b. 불변 중쇄,

[0480] c. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0481] d. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0482] e. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0483] 를 포함하는 제1 쇄; 및

[0484] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0485] a. 서열번호 118, 또는 서열번호 118과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄, 및

[0486] b. 불변 경쇄

[0487] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0488] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0489] 일 구현예에서, 융합 단백질로서,

[0490] (a) N-말단에서 C-말단으로,

[0491] a. 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄,

[0492] b. 불변 중쇄,

[0493] c. 불변 중쇄와 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드를 연결하는 링커,

[0494] d. 서열번호 167, 또는 서열번호 167과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드,

[0495] e. IL-15Rα 스시 도메인 폴리펩티드와 IL-15 폴리펩티드를 연결하는 링커, 및

[0496] f. 서열번호 166, 또는 서열번호 166과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-15 폴리펩티드

[0497] 를 포함하는 제1 쇄; 및

[0498] (b) N-말단에서 C-말단으로,

[0499] a. 서열번호 118, 또는 서열번호 118과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 가변 중쇄, 및

[0500] b. 불변 경쇄

[0501] 를 포함하는 제2 쇄를 포함하고,

[0502] 임의로, 불변 중쇄는 이종이량체화를 일으키는 하나 이상의 변형을 포함하는, 융합 단백질이 제공된다.

[0503] 일 구현예에서,

[0504] (a) 서열번호 69, 또는 서열번호 69와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열 및/또는 서열번호 145, 또는 서열번호 145와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0505] (b) 서열번호 150, 또는 서열번호 150과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄; 및

[0506] (c) 서열번호 157, 또는 서열번호 157과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄

[0507] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0508] 일 구현예에서,

[0509] (a) 서열번호 69, 또는 서열번호 69와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열 및/또는 서열번호 145, 또는 서열번호 145와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0510] (b) 서열번호 151, 또는 서열번호 151과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%,

적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄; 및

[0511] (c) 서열번호 158, 또는 서열번호 158과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄

[0512] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0513] 일 구현예에서,

[0514] (a) 서열번호 118, 또는 서열번호 118과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열 및/또는 서열번호 144, 또는 서열번호 144와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0515] (b) 서열번호 148, 또는 서열번호 148과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄; 및

[0516] (c) 서열번호 155, 또는 서열번호 155와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄

[0517] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0518] 일 구현예에서,

[0519] (a) 서열번호 118, 또는 서열번호 118과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열 및/또는 서열번호 144, 또는 서열번호 144와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;

[0520] (b) 서열번호 149, 또는 서열번호 149와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄; 및

[0521] (c) 서열번호 156, 또는 서열번호 156과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄

[0522] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0523] 일 구현예에서,

[0524] (a) 서열번호 69 및/또는 서열번호 145를 포함하는 경쇄;

[0525] (b) 서열번호 150을 포함하는 제1 중쇄; 및

[0526] (c) 서열번호 157을 포함하는 제2 중쇄

[0527] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0528] 일 구현예에서,

[0529] (a) 서열번호 69 및/또는 서열번호 145를 포함하는 경쇄;

[0530] (b) 서열번호 151을 포함하는 제1 중쇄; 및

[0531] (c) 서열번호 158을 포함하는 제2 중쇄

[0532] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0533] 일 구현예에서,

[0534] (a) 서열번호 118 및/또는 서열번호 144를 포함하는 경쇄;

[0535] (b) 서열번호 148을 포함하는 제1 중쇄; 및

[0536] (c) 서열번호 155를 포함하는 제2 중쇄

[0537] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0538] 일 구현예에서,

[0539] (a) 서열번호 118 및/또는 서열번호 144를 포함하는 경쇄;

[0540] (b) 서열번호 149를 포함하는 제1 중쇄; 및

[0541] (c) 서열번호 156을 포함하는 제2 중쇄

[0542] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0543] 일 구현예에서,

[0544] (a) 서열번호 145를 포함하는 경쇄;

[0545] (b) 서열번호 150을 포함하는 제1 중쇄; 및

[0546] (c) 서열번호 157을 포함하는 제2 중쇄

[0547] 를 포함하는 융합 단백질이 제공된다.

[0548] **표 13, 21, 또는 22**에 개시된 하나 이상의 서열을 포함하는 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0549] **항체 및 이의 항원 결합 단편**

[0550] 항체라는 용어는 가장 넓은 의미로 본원에서 사용되며, 목적하는 생물학적 활성 및 특이성을 나타내는 한, 단일클론 항체(전장 또는 온전한 단일클론 항체 포함), 다클론 항체, 이중특이적 항체, 인간화 항체, 단일쇄 항체, 키메라 항체, 합성 항체, 재조합 항체, 하이브리드 항체, 돌연변이 항체 및 이식 항체(이식 항체), 이중특이적 항체, 특정 항체 부분(예를 들어, 도메인 항체), 뿐만 아니라 특이적 결합을 위해 온전한 항체와 경쟁하는 이의 임의의 항원 결합 부분, 이의 항원 결합 부분(예를 들어, 파라토프, CDR), 및 항원 인식 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 형태를 포함한다. 따라서, 항체는 면역글로불린 분자의 가변 영역에 위치한 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해 표적에 특이적으로 결합할 수 있는, 항원 결합 부위를 포함하는 임의의 폴리펩티드를 포함한 면역글로불린 분자 또는 이의 단편 또는 유도체이다. 개시된 항체는 뮤린, 래트, 인간, 또는 임의의 다른 기원(키메라 또는 인간화 항체 포함)일 수 있다.

[0551] 특정 구현예에서, 항체(또는 이의 항원 결합 단편)의 프레임워크 영역은 인간 생식계열 서열과 동일할 수 있거나, 자연적으로 또는 인공적으로 변형될 수 있다.

[0552] 바람직한 일 구현예에서, 개시된 항체 구조는 면역글로불린 분자의 IgG 클래스에 속한다. 표준 IgG 면역글로불린 분자는 2개의 동일한 경쇄 폴리펩티드 및 2개의 동일한 중쇄 폴리펩티드를 포함한다. 경쇄 폴리펩티드의 분자량은 약 23,000 달톤이며, 중쇄 폴리펩티드의 분자량은 53,000~70,000 달톤으로 다양하다. 4개의 쇄는 일반적으로 "Y" 배열로 이황화 결합에 의해 연결된다.

[0553] 면역글로불린 분자의 2개의 중쇄(HC)와 2개의 경쇄(LC)는 서로 공유 결합되고, 면역글로불린이 하이브리도마, B 세포, 또는 유전자 조작된 숙주 세포에 의해 생성되는 경우, 두 중쇄의 말단 부분은 공유 이황화 연결 또는 비공유 연결에 의해 서로 결합된다. 경쇄 및 중쇄는 둘 다 구조적 및 기능적 상동성의 영역을 포함한다. 용어 "가변" 및 "불변"은 기능적으로 사용된다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역("HCVR" 또는 "VH") 및 중쇄 불변 영역(도메인 CH1, CH2, 및 CH3으로 구성)으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역("LCVR" 또는 "VL") 및 경쇄 불변 영역(CL)으로 구성된다. VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역(FR)이라고 하는 더 보존된 영역이 산재된, 상보성 결정 영역(CDR)이라고 하는 초가변성 영역으로 더 세분화될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 아미노-말단에서 카복시-말단으로 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4의 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다.

[0554] 가변 영역은 항체가 항원에 위치한 에피토프를 인식하고 이에 특이적으로 결합할 수 있도록 한다. 경쇄 부분(VL) 및 중쇄 부분(VH) 둘 모두의 가변 도메인은 항원 인식 및 특이성을 결정한다. 항체의 항원 결합 부위는 VL 도메인 및 VH 도메인, 또는 CDR의 서브세트로 구성된다. 보다 구체적으로, 항원 결합 부위는 VH 및 VL 쇄 각각에 있는 1, 2, 또는 3개의 CDR(즉, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3)에 의해 정의된다. 반대로, 경쇄의 불변 도메인(CL) 및 중쇄의 불변 도메인(CH1, CH2, 또는 CH3)은 분비, 경태반 이동성, Fc 수용체 결합, 보체 결합 등과 같은 생물학적 특성을 부여한다. 규칙에 따라, 불변 영역 도메인의 넘버링은 불변 영역 도메인이 항체의 항원 결합 부위 또는 아미노-말단으로부터 멀어질수록 증가한다.

[0555] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "상보성 결정 영역"(CDR)은 (일반적으로) 항원 결합에 관여하는 항체 가변

도메인의 부분을 지칭한다. 각각의 가변 영역은 CDR1, CDR2, 및 CDR3으로 알려진 3개의 비연속적인 CDR을 갖는다. CDR은 가변 도메인의 표면에 이들 루프를 표시하는 "핵심" β-시트 구조를 형성하는 프레임워크 영역(FR-1, -2, -3, 및 -4)이라고 하는 구조적으로 보존된 영역에 의해 분리된다. 각각의 항원 결합 도메인에 존재하는 6개의 CDR은 항체가 수성 환경에서 3차원 배열을 가정할 때 특이적으로 위치하여 항원 결합 도메인을 형성하는 짧고 비연속적인 아미노산 서열이다. CDR 서열의 길이 및 조성은 특히 CDR3에서 매우 가변적이다. 항원 결합 도메인에 위치한 아미노산의 나머지 또는 "프레임워크" 영역은 분자간 변동성이 더 적다. 배치된 CDR에 의해 형성된 항원 결합 도메인은 면역반응성 항원 상의 에피토프에 상보적인 표면을 정의한다. 이러한 상보적 표면은 항체와 그 동족 에피토프의 비공유 결합을 촉진한다. 각각의 CDR은, 예를 들어 Kabat에 의해 정의된 바와 같은 CDR로부터의 아미노산 잔기(즉, 대략 경쇄 가변 도메인의 24-34(L1), 50-56(L2), 및 89-97 (L3) 및 중쇄 가변 도메인의 31-35(H1), 50-65(H2), 및 95-102(H3) 잔기)를 포함할 수 있다(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987, 1991)). 각각의 CDR은 또한 "초가변 루프"로부터의 아미노산 잔기(즉, 대략 경쇄 가변 도메인의 26-32(LI), 50-52(L2), 및 91-96 (L3) 및 중쇄 가변 도메인의 26-32 (H1), 53-55 (H2), 및 96-101 (H3) 잔기)를 포함할 수 있다(Chothia & Lesk 196 J. Mol. Biol. 901 (1987)). 일부 예에서, CDR은 Kabat에 따라 정의된 CDR 영역과 초가변 루프 둘 모두로부터의 아미노산을 포함할 수 있다. 기본 가변 도메인 구조의 프레임워크이든 CDR이든 구조적 구성요소가 단축되거나 이에 삽입되는 것으로 인해 Kabat 넘버링이 아미노산 잔기 상의 선형 넘버링과 항상 일치하는 것은 아니다. 잔기의 올바른 Kabat 넘버링은 주어진 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 대해 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 서열의 상동성 잔기를 "표준" Kabat 넘버링 서열과 정렬함으로써 결정되거나, ImMunoGeneTics(IMGT) 시스템에 따라 정의될 수 있다(Lefranc, M.-P. et al., Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003)).

[0556] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항원 결합 부분" 또는 "항원 결합 단편"은 Fab, Fab', F(ab')2, Fd, Fv, 도메인 항체(상어 및 낙타 항체와 같은 dAb), ScFv, 맥시바디, 미니바디, 나노바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR, 및 비스-scFv를 포함하는 단편, 또는 폴리펩티드에 특이적 항원 결합을 부여하기에 충분한 면역글로불린의 적어도 특정 부분을 함유하는 폴리펩티드일 수 있다.

[0557] 항체는 IgG, IgA, 또는 IgM(또는 이의 서브클래스)과 같은 임의의 클래스의 항체일 수 있으며, 항체는 특정 클래스일 필요는 없고, 요구되는 특이성의 항원 인식 부위를 포함하는 임의의 면역글로불린 분자, 기타 변형된 구성(항체의 글리코실화 변이체, 항체의 아미노산 서열 변이체, 및 공유적으로 변형된 항체 포함)이 포함될 수 있다. 이들 클래스 및 이소형 각각의 변형된 버전은 당업자에게 알려져 있으며, 따라서 본 발명의 범위 내에 있다.

[0558] 본원에 기술된 양태의 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 단편은, 경쇄의 가변(VL) 및 불변(CL) 도메인과 중쇄의 가변 도메인(VH) 및 제1 불변 도메인(CH1)을 포함하거나 본질적으로 이들로 이루어진 Fab 단편이다.

[0559] 본원에 기술된 양태의 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 단편은 CH1 도메인의 C-말단에 하나 이상의 시스테인 잔기를 갖는 Fab 단편을 지칭하는 Fab' 단편이다.

[0560] 본원에 기술된 양태의 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 단편은, VH 및 CH1 도메인을 포함하거나 본질적으로 이들로 이루어진 Fd 단편이다.

[0561] 본원에 기술된 양태의 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 단편은 VH 및 CH1 도메인, 및 CH1 도메인의 C-말단의 하나 이상의 시스테인 잔기를 포함하는 Fd' 단편이다.

[0562] 단일쇄 Fv 또는 scFv 항체 단편은 항체의 VH 및 VL 도메인이 단일 폴리펩티드 쇄에 존재하도록 이들 도메인을 포함하거나 본질적으로 이들로 이루어진다. 일반적으로, Fv 폴리펩티드는 VH 도메인과 VL 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 추가로 포함하며, 이는 scFv가 항원 결합을 위한 바람직한 구조를 형성할 수 있도록 한다. 따라서, 본원에 기술된 양태의 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 단편은, 항체의 단일 아암의 VL 및 VH 도메인을 포함하거나 본질적으로 이들로 이루어진 Fv 단편이다.

[0563] 본원에 기술된 양태의 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 단편은, 동일한 폴리펩티드 쇄에서 경쇄 가변 도메인(VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인(VH)을 포함하는, 2개의 항원 결합 부위를 포함하는 디아바디이다.

[0564] 본원에 기술된 양태의 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 단편은, VH 도메인을 포함하거나 본질적으로 이로 이루어진 dAb 단편이다.

[0565] 본원에 기술된 양태의 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 단편은, 힌지 영역에서 이황화 가교에 의해 연결된 2개

의 Fab' 단편을 포함하는 2가 단편을 포함하는 F(ab')2 단편이다.

[0566] 본원에 기술된 양태의 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 단편은 상보성 경쇄 폴리펩티드와 함께 한 쌍의 항원 결합 영역을 형성하는 한 쌍의 탠덤 Fd 분절(VH-CH1-VH-CH1)을 포함하는 선형 항체이다.

[0567] 당업자는 항체 단편의 생성에 이용가능한 개발된 다양한 기술을 사용할 수 있다. 통상적으로, 이러한 단편은 온전한 항체의 단백질 분해를 통해 파생되었다. 그러나, F(ab')2 단편은 재조합 숙주 세포 배양물로부터 직접 단리될 수 있다. 항체 단편의 생성을 위한 다른 기술은 당업자에게 명백할 것이다. 다른 구현예에서, 선택한 항체 단편은 단일쇄 Fv 단편(scFv)이다. 예를 들어, WO 93/16185 참조. 대안적으로, 이러한 단편은 재조합 숙주 세포에 의해 직접 생성될 수도 있다. 예를 들어, 항체 단편은 본원에 논의된 항체 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 다른 접근법에서, Fab'-SH 단편을 대장균으로부터 직접 회수하고 화학적으로 커플링하여 F(ab')2 단편을 형성할 수 있다(Carter et al., 1992).

[0568] 일 구현예에서, 항체는 B7-H4에 결합하는 상보적 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다.

[0569] 고려되는 항체 또는 항원 결합 단편은 IgM, IgG, IgD, 및 IgE를 포함하는 모든 유형의 불변 영역과, IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4를 포함하는 임의의 이소형을 가질 수 있다. 일 구현예에서, 이소형은 인간 IgG1이다. 다른 구현예에서, 인간 이소형 IgG4가 사용된다. 경쇄 불변 영역은 λ 또는 κ일 수 있다. 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 하나 초과의 클래스 또는 이소형으로부터의 서열을 포함할 수 있다.

[0570] 본 발명은 B7-H4에 결합하는 항체, 및 B7-H4에 결합하는 이의 항원 결합 단편, 뿐만 아니라 이러한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질을 기술한다. 용어 "B7-H4"는 B7 동족체 4, B7h.5, 면역 공동자극 단백질 B7-H4, 단백질 B7S1, 또는 T-세포 공동자극 분자 B7x로도 알려진, V-세트 도메인 함유 T-세포 활성화 억제제 1(VTCN1)를 지칭한다. 인간 B7-H4의 서열은 서열번호 161에 제공된다. 뮤린 B7-H4의 서열은 서열번호 162에 제공된다. B7-H4라는 용어는 재조합 B7-H4 및/또는 이의 단편을 포괄한다. 이 용어는 또한 예를 들어 마우스 또는 인간 Fc, 히스티딘 태그, 및/또는 신호 서열에 커플링된 B7-H4 또는 이의 단편을 포함한다. 이 용어는 또한 B7-H4를 포함하는 융합 단백질을 포괄할 수 있다.

[0571] 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질은 B7-H4에 특이적으로 결합하고 B7-H4 매개 면역억제에 길항한다. 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편(및 이러한 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 B7-H4에 의해 매개되는 하류 이벤트를 포함하여 B7-H4 생물학적 활성을 방해하거나, 억제하거나, 감소시킬 수 있다. 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편(및 이러한 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 다음 특징 중 임의의 하나 이상을 나타낼 수 있다: (a) B7-H4에 대한 결합 및 하류 신호전달 이벤트의 차단; (b) B7-H4와 그 동족 리간드의 결합 차단; (c) T 세포 증식의 향상; (d) T 세포-매개 면역 반응의 상향조절; (e) 사이토카인 분비의 촉진; (f) B7-H4를 통한 억제 신호 전달의 감소; 및/또는 (g) 종양 세포의 사멸. 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편(및 이러한 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 강력한 결합 및 억제 활성을 나타내며 치료 및 진단 용도에 유용하다.

[0572] 일 양태에서, 본 발명은 B7-H4에 결합하는 항체 및 이의 항원 결합 단편(및 이러한 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)을 제공한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 B7-H4 및 적어도 하나의 다른 분자에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체 및 결합 단백질을 제공한다.

[0573] 일 양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역 각각은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0574] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 73을 포함하고, CDR2L은 서열번호 74를 포함하고, CDR3L은 서열번호 75를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0575] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 20을 포함하고, CDR2L은 서열번호 21을 포함하고, CDR3L은 서열번호 22를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0576] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 66을 포함하고, CDR2L은 서열번호 67을 포함하고,

CDR3L은 서열번호 68을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0577] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 70을 포함하고, CDR2L은 서열번호 71을 포함하고, CDR3L은 서열번호 72를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0578] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 84를 포함하고, CDR2L은 서열번호 85를 포함하고, CDR3L은 서열번호 86을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0579] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 8을 포함하고, CDR2L은 서열번호 9를 포함하고, CDR3L은 서열번호 10을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0580] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 77을 포함하고, CDR2L은 서열번호 78을 포함하고, CDR3L은 서열번호 79를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0581] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 81을 포함하고, CDR2L은 서열번호 82를 포함하고, CDR3L은 서열번호 83을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0582] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 16을 포함하고, CDR2H는 서열번호 17을 포함하고, CDR3H는 서열번호 18을 포함하고, CDR1L은 서열번호 70을 포함하고, CDR2L은 서열번호 71을 포함하고, CDR3L은 서열번호 72를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0583] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 172를 포함하고, CDR2H는 서열번호 173을 포함하고, CDR3H는 서열번호 174를 포함하고, CDR1L은 서열번호 175를 포함하고, CDR2L은 서열번호 176을 포함하고, CDR3L은 서열번호 177을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0584] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 178을 포함하고, CDR2H는 서열번호 179를 포함하고, CDR3H는 서열번호 180을 포함하고, CDR1L은 서열번호 181을 포함하고, CDR2L은 서열번호 182를 포함하고, CDR3L은 서열번호 183을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0585] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 184를 포함하고, CDR2H는 서열번호 185를 포함하고, CDR3H는 서열번호 186을 포함하고, CDR1L은 서열번호 187을 포함하고, CDR2L은 서열번호 188을 포함하고, CDR3L은 서열번호 189를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0586] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15, 또는 서열번호 15와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 19, 또는 서열번호 19와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0587] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15, 또는 서열번호 15와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 65, 또는 서열번호 65와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0588] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15, 또는 서열번호 15와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 69, 또는 서열번호 69와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0589] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3, 또는 서열번호 3과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 7, 또는 서열번호 7과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0590] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3, 또는 서열번호 3과 적어도 90%,

적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 76, 또는 서열번호 76과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0591] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3, 또는 서열번호 3과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 80, 또는 서열번호 80과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0592] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 19를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0593] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 65를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0594] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 15를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 69를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0595] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 7을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0596] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 76을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0597] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 80을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0598] 일 양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역 각각은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0599] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 111을 포함하고, CDR2L은 서열번호 112를 포함하고, CDR3L은 서열번호 113을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0600] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 50을 포함하고, CDR2L은 서열번호 51을 포함하고, CDR3L은 서열번호 52를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0601] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 88을 포함하고, CDR2L은 서열번호 89를 포함하고, CDR3L은 서열번호 90을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0602] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 92를 포함하고, CDR2L은 서열번호 93을 포함하고, CDR3L은 서열번호 94를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0603] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 96을 포함하고, CDR2L은 서열번호 97을 포함하고, CDR3L은 서열번호 98을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0604] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 100을 포함하고, CDR2L은 서열번호 101을 포함하고, CDR3L은 서열번호 102를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0605] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 104를 포함하고, CDR2L은 서열번호 105를 포함하고, CDR3L은 서열번호 106을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0606] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 46을 포함하고, CDR2H는 서열번호 47을 포함

하고, CDR3H는 서열번호 48을 포함하고, CDR1L은 서열번호 108을 포함하고, CDR2L은 서열번호 109를 포함하고, CDR3L은 서열번호 110을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0607] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 49, 또는 서열번호 49와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0608] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 87, 또는 서열번호 87과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0609] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 91, 또는 서열번호 91과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0610] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 95, 또는 서열번호 95와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0611] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 99, 또는 서열번호 99와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0612] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 103, 또는 서열번호 103과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0613] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45, 또는 서열번호 45와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 107, 또는 서열번호 107과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0614] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 49를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0615] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 87을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0616] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 91을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0617] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 95를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0618] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 99를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0619] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 103을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0620] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 45를 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 107을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0621] 일 양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역 각각은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0622] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 134를 포함하고, CDR2L은 서열번호 135를 포함하고, CDR3L은 서열번호 136을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0623] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 62를 포함하고, CDR2L은 서열번호 63을 포함하고, CDR3L은 서열번호 64를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0624] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 115를 포함하고, CDR2L은 서열번호 116을 포함하고, CDR3L은 서열번호 117을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0625] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 119를 포함하고, CDR2L은 서열번호 120을 포함하고, CDR3L은 서열번호 121을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0626] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 123을 포함하고, CDR2L은 서열번호 124를 포함하고, CDR3L은 서열번호 125를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0627] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 127을 포함하고, CDR2L은 서열번호 128을 포함하고, CDR3L은 서열번호 129를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0628] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, CDR1H는 서열번호 58을 포함하고, CDR2H는 서열번호 59를 포함하고, CDR3H는 서열번호 60을 포함하고, CDR1L은 서열번호 131을 포함하고, CDR2L은 서열번호 132를 포함하고, CDR3L은 서열번호 133을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0629] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 61, 또는 서열번호 61과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0630] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 114, 또는 서열번호 114와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0631] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 118, 또는 서열번호 118과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0632] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 122, 또는 서열번호 122와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0633] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 126, 또는 서열번호 126과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0634] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57, 또는 서열번호 57과 적어도

90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열번호 130, 또는 서열번호 130과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0635] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 61을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0636] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 114를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0637] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 118을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0638] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 122를 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0639] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 126을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0640] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 57을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열번호 130을 포함하는, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0641] **표 5, 7, 9, 16 내지 20, 및 24**는 전체가 참조로 포함되는 첨부 서열 목록과 마찬가지로 본원에 개시된 항체의 중쇄와 경쇄 가변 영역 및 관련 CDR을 나타낸다. 아래 실시예에 나타낸 바와 같이, 항-B7-H4 항체의 경쇄 셔플링은 B7-H4 결합 친화도의 실질적 개선을 부여한 항체 변이체의 확인으로 이어졌다. 변이체 분석을 통해, 경쇄 셔플링된 항체 중에서 아미노산이 상대적으로 변하지 않고 유지된 특정 CDR 위치 및 B7-H4 결합을 없애지 않고도 변이체가 도입될 수 있는 다른 CDR 위치가 밝혀졌다.

[0642] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편 및 본원에 개시된 융합 단백질은 하나 이상의 아미노산 치환, 결실, 삽입, 및/또는 부가를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 항원 결합 단편(또는 항-B7-H4 항체 또는 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)의 하나 이상의 CDR 잔기 또는 하나 이상의 프레임워크 잔기는 아미노산 치환, 결실, 삽입, 및/또는 부가에 의해 변경되었다. 아미노산 치환은 보존적 또는 비보존적 치환일 수 있다. 본 발명은 또한 본원에 개시된 아미노산 서열로부터 유래된 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편(및 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)을 포함하며, 하나 이상의 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산은 항체가 유래된 생식계열 서열의 대응하는 잔기(들), 또는 다른 인간 생식계열 서열의 대응하는 잔기(들), 또는 대응하는 생식계열 잔기(들)의 보존적 아미노산 치환(이러한 서열 변화는 본원에서 "생식계열 돌연변이"로 총칭됨)으로 돌연변이된다. 특정 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 결합 단편(또는 항-B7-H4 항체 또는 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 **표 5, 7, 9, 16 내지 20 또는 24**에 제시된 CDR 및/또는 가변 도메인 서열과 적어도 85% 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 하나 이상의 CDR 또는 하나 이상의 가변 도메인을 포함한다.

[0643] 또한, **표 16 내지 20**에 개시된 가변 중쇄 및 가변 경쇄(및 이들의 쌍)와 유사하지만 동일하지 않은 가변 중쇄 및 가변 경쇄 서열(및 이들의 쌍)이 본원에 제공된다. 본원에 기술된 임의의 프레임워크가 본원에 기술된 임의의 CDR 및 CDR 모티프와 조합하여 활용될 수 있다는 것이 명백할 것이다. 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 **표 16 내지 20**에 기재된 프레임워크를 활용한다.

[0644] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 및 항원 결합 단편의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개 CDR을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)가 또한 본원에 제공된다. 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 및 항원 결합 단편 중 어느 하나의 6개 CDR을 포함하는 CAR이 또한 본원에 제공된다.

[0645] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 및 항원 결합 단편의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개 CDR을 포함하는 CAR을 발현하는 면역 세포가 개시된다. 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 및 항원 결합 단편 중 어느 하나의 6개 CDR을 포함하는 CAR을 포함하는 CAR을 발현하는 면역 세포가 개시된다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 T 세포이다.

[0646] "동일성"은 최적의 정렬에 필요한 갭의 수와 각 갭의 길이를 고려한 후 최적으로 정렬된 서열에서 2개의 아미노산 또는 핵산 서열이 공유하는 동일한 위치의 수 또는 백분율을 나타낸다. "실질적으로 동일한"이란 단백질의

기능을 파괴하지 않는, 보존적 아미노산 치환만 원래 서열과 상이한 아미노산 서열을 의미한다.

[0647] 본원에 개시된 아미노산 서열과 적어도 80%, 또는 적어도 85%, 또는 적어도 90%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편 또는 융합 단백질이 또한 본원에 개시된다. 서열 유사성을 확인하기 위한 방법 및 컴퓨터 프로그램은 GCG 프로그램 패키지(Devereux et al., Nucleic Acids Research 12: 387, 1984), BLASTP, BLASTN, FASTA(Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403 (1990), 및 ALIGN 프로그램(버전 2.0)을 포함하여(이에 한정되지 않음), 공개적으로 이용 가능하다. Smith Waterman 알고리즘을 사용하여 유사성을 확인할 수도 있다. BLAST 프로그램은 NCBI 및 기타 소스(BLAST Manual, Altschul, et al., NCBI NLM NIH, Bethesda, Md. 20894; BLAST 2.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/)로부터 공개적으로 이용 가능하다. 서열을 비교할 때, 이들 방법은 다양한 치환, 결실, 및 기타 변형을 고려한다.

[0648] 본원에 기술된 양태의 일부 구현예에서, 본원에 기술된 B7-H4에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 B7-H4에 결합하는 융합 단백질의 아미노산 서열 변형(들)이 고려된다. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 아미노산 서열 변이체는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질을 암호화하는 핵산에 적절한 뉴클레오티드 변화를 도입하여 제조되거나, 펩티드 합성에 의해 제조된다. 이러한 변형은 예를 들어 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 아미노산 서열 내의 잔기로부터의 결실 및/또는 잔기 내의 삽입 및/또는 잔기의 치환을 포함한다. 최종 구성체가 목적하는 특성(예를 들어, 결합 특이성, 생물학적 활성의 억제)을 갖는다면, 결실, 삽입, 및 치환의 임의의 조합이 최종 구성체에 도달하도록 이루어진다.

[0649] 일부 경우에, 아미노산 치환은 (a) 치환 영역의 펩티드 백본 구조, (b) 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성, 또는 (c) 측쇄의 대부분(보존적 아미노산 치환 변이체)의 유지에 미치는 영향이 크게 다르지 않은 치환을 선택함으로써 이루어질 수 있다. 이들 변이체는 유사한 측쇄 특성을 갖는 상이한 잔기로 대체된 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질에 적어도 하나의 아미노산 잔기를 갖는다. 아미노산은 측쇄 특성의 유사성에 따라 분류될 수 있다(문헌 [Lehninger, BIOCHEMISTRY (2nd ed., Worth Publishers, New York, 1975] 참조):

[0650] (1) 비극성: Ala(A), Val(V), Leu(L), Ile(I), Pro(P), Phe(F), Trp(W), Met(M);

[0651] (2) 하전되지 않은 극성: Gly(G), Ser(S), Thr(T), Cys(C), Tyr(Y), Asn(N), Gln(Q);

[0652] (3) 산성: Asp(D), Glu(E);

[0653] (4) 염기성: Lys(K), Arg(R), His(H).

[0654] 따라서, 보존적 아미노산 치환에 대한 비제한적인 예는 비극성 아미노산을 다른 비극성 아미노산으로 대체하는 것이다.

[0655] 대안적으로, 자연발생적 잔기는 공통 측쇄 특성에 따라 그룹으로 분류될 수 있다:

[0656] (1) 소수성: Ala(A), Val(V), Leu(L), Ile(I), Met(M);

[0657] (2) 중성 친수성: Ser(S), Thr(T), Cys(C), Asn(N), Gln(Q);

[0658] (3) 산성: Asp(D), Glu(E);

[0659] (4) 염기성: Lys(K), Arg(R), His(H);

[0660] (5) 쇄 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly(G), Pro(P);

[0661] (6) 방향족: Phe(F), Trp(W), Tyr(Y).

[0662] 이러한 그룹 내에서 이루어진 치환은 보존적 치환으로 간주될 수 있다. 비제한적 치환의 예는 알라닌을 발린으로, 아르기닌을 라이신으로, 아스파라긴을 글루타민으로, 아스파트산을 글루탐산으로, 시스테인을 세린으로, 글루타민을 아스파라긴으로, 글루탐산을 아스파트산으로, 글리신을 프롤린으로, 히스티딘을 아르기닌으로, 이소류신을 류신으로, 류신을 이소류신으로, 라이신을 아르기닌으로, 메티오닌을 류신으로, 페닐알라닌을 류신으로, 프롤린을 글리신으로, 세린을 트레오닌으로, 트레오닌을 세린으로, 트립토판을 티로신으로, 티로신을 페닐알라닌으로, 및/또는 발린을 류신으로 치환하는 것을 포함한다.

[0663] 1개의 잔기 길이 내지 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드 길이 범위의 아미노- 및/또는 카복실-말단 융합을 포함할 수 있는 아미노산 서열 삽입뿐만 아니라 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입이 추가로 고

려된다.

[0664] 말단 융합의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 세포독성 폴리펩티드에 융합된 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 이러한 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)을 포함한다. 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 말단 융합의 다른 예는 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 N- 또는 C-말단에 대한 융합, 예를 들어 비오틴과 같은, 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 이러한 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)의 혈청 반감기를 증가시키는 효소 또는 폴리펩티드에 대한 융합을 포함한다.

[0665] 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 이러한 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 FcRn에 대한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 이러한 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)의 친화도를 증가시키는 변형(아미노산 변형 또는 치환을 포함하나 이에 한정되지 않음)을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 이러한 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 M428L 아미노산 치환(Kabat EU 인덱스 넘버링)을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 이러한 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 N434S 아미노산 치환(Kabat EU 인덱스 넘버링)을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 이러한 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 M428L 및 N434S 아미노산 치환(Kabat EU 인덱스 넘버링)을 포함한다.

[0666] B7-H4에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 적절한 형태를 유지하는 데 관여하지 않는 임의의 시스테인 잔기가 또한, 예를 들어 세린 또는 알라닌으로 치환되어, 분자의 산화 안정성을 향상시키고 비정상적인 가교를 방지할 수 있다.

[0667] 반대로, 시스테인 결합(들)이 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 추가되어 안정성을 향상시킬 수 있다(특히, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 Fv 단편과 같은 항체 단편인 경우).

[0668] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 본원에 기술된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 원래의 글리코실화 패턴을 변경하는 아미노산 변경을 갖는다. "원래 글리코실화 패턴의 변경"은 항체 또는 이의 항원 결합 단편에서 발견되는 하나 이상의 탄수화물 모이어티의 결실, 및/또는 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 존재하지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위의 추가를 의미한다. 항체의 글리코실화는 일반적으로 N-연결 또는 O-연결이다. N-연결은 아스파라긴 잔기의 측쇄에 탄수화물 모이어티가 부착되는 것을 의미한다. 트리펩티드 서열 아스파라긴-X-세린 및 아스파라긴-X-트레오닌(여기서, X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임)은 아스파라긴 측쇄에 대한 탄수화물 모이어티의 효소적 부착을 위한 인식 서열이다. 따라서, 폴리펩티드 내 이들 트리펩티드 서열 중 하나의 존재는 잠재적 글리코실화 부위를 생성한다. O-연결 글리코실화는, 5-하이드록시프롤린 또는 5-하이드록시라이신이 사용될 수도 있지만, 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스, 또는 자일로스 중 하나가 하이드록시아미노산, 가장 일반적으로는 세린 또는 트레오닌에 부착되는 것을 의미한다. 변경은 또한 (O-연결 글리코실화 부위에 대해) 원래 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 서열에 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기를 추가하거나 이로 치환함으로써 이루어질 수 있다.

[0669] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 본원에 기술된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 글리코실화, 아세틸화, 페길화, 인산화, 인산화, 아미드화, 알려진 보호/차단기에 의한 유도체화, 단백질분해 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에 대한 연결 등을 포함하되 이에 한정되지 않는 변형을 포함할 수 있다. 화학적 변형을 일으키는 공정은 당업계에 알려져 있으며, 특정 화학적 절단, 아세틸화, 포르밀화, 튜니카마이신의 대사 합성 등을 포함할 수 있으나 이에 한정되지 않는다. 또한, 분자는 하나 이상의 비전형적 아미노산을 함유할 수 있다.

[0670] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편은 직접적인 돌연변이, 친화도 성숙, 파지 디스플레이, 또는 쇄 셔플링에 의해 결합 특성이 변경된 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함할 수 있다. CDR을 돌연변이시키고 목적하는 특성을 갖는 CDR을 스크리닝함으로써 친화도 및 특이성을 변경할 수 있다. 돌연변이유발 방법은 당업자에게 알려져 있다.

[0671] **항체 및 융합 단백질 결합**

[0672] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편 중 하나와 동일한 B7-H4 상의 에피토프에 결합하는 (i) 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단

백질이 또한 본원에 제공된다.

[0673] 일부 구현예에서, (i) 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편, 또는 (ii) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질은 B7-H4의 IgV 도메인에 결합한다. IgV 도메인은 면역글로불린의 가변 도메인과 관련이 있다. 인간 및 뮤린 B7-H4의 IgC 도메인은 **표 23**에 나타나 있다(서열번호 161 및 162 참조).

[0674] 일부 구현예에서, (i) 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편, 또는 (ii) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질은 B7-H4의 IgC 도메인에 결합한다. IgC 도메인은 면역글로불린의 불변 도메인과 관련이 있다. 인간 및 뮤린 B7-H4의 IgC 도메인은 **표 23**에 나타나 있다(서열번호 161 및 162 참조).

[0675] 일부 구현예에서, (i) 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편, 또는 (ii) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질은 B7-H4의 IgV 도메인 및 IgC 도메인에 결합한다.

[0676] 일부 구현예에서, (i) 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편, 또는 (ii) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질은 뮤린 B7-H4 또는 이의 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, (i) 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편, 또는 (ii) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질은 인간 B7-H4 또는 이의 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, (i) 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편, 또는 (ii) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질은 뮤린 및 인간 B7-H4 또는 이의 도메인에 결합한다.

[0677] 본원에서 사용되는 바와 같이, B7-H4, B7-H4 상의 에피토프, 또는 하기 특정 구현예에서, B7-H4 상의 특정 잔기에 대한 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질의 "결합"은 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 B7-H4의 선택적 상호작용을 포함한다. 따라서, 결합은 예를 들어 수소 결합, 이온 상호작용, 염 가교뿐만 아니라 친수성 및 소수성 상호작용을 포함한 1차 및 2차 상호작용을 포함한다.

[0678] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 이러한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 10^{-2} 내지 10^{-13} mol/l, 10^{-3} 내지 10^{-13} mol/l, 10^{-4} 내지 10^{-13} mol/l, 10^{-5} 내지 10^{-13} mol/l, 10^{-6} 내지 10^{-13} mol/l, 10^{-7} 내지 10^{-13} mol/l, 10^{-8} 내지 10^{-13} mol/l, 10^{-9} 내지 10^{-13} mol/l, 10^{-10} 내지 10^{-13} mol/l, 10^{-12} 내지 10^{-13} mol/l의 해리 평형 상수(K_D)로 B7-H4에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 이러한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 10^{-2} 내지 10^{-9} mol/l, 10^{-3} 내지 10^{-9} mol/l, 10^{-4} 내지 10^{-9} mol/l, 10^{-5} 내지 10^{-9} mol/l, 10^{-6} 내지 10^{-9} mol/l, 10^{-7} 내지 10^{-9} mol/l, 10^{-8} 내지 10^{-9} mol/l, 10^{-10} 내지 10^{-11} mol/l, 10^{-11} 내지 10^{-12} mol/l, 10^{-12} 내지 10^{-13} mol/l, 또는 10^{-12} 내지 10^{-14} mol/l의 K_D로 B7-H4에 결합한다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 이러한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)은 10^{-9} 내지 10^{-13} mol/l의 K_D로 B7-H4에 결합한다.

[0679] 본원에서 사용되는 바와 같이, 항원 결합 단백질과 항원의 K_D로 표현되는 "친화도"는 항원 결정기와 항체 또는 이의 항체 단편과 같은 항원 결합 단백질 상의 항원 결합 부위 사이의 결합 강도의 척도이다. K_D 값은 항원 결정기와 항원 결합 분자 사이의 결합 강도에 반비례한다. 대안적으로, 친화도는 $1/K_D$인 결합 상수(K_A)로 표현될 수도 있다. 친화도는 당업자에 의해, 관심 특정 항원에 따라 그 자체로 알려진 방식으로 결정될 수 있다.

[0680] 본원에서 용어 "특이성"은 B7-H4의 다른 부분과의 검출가능한 반응성이 거의 또는 전혀 없이, B7-H4 내의 에피토프를 인식하는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 같은 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 능력을 의미한다. 특이성은 경쟁 분석법 또는 본원에 기술된 또는 에피토프 식별/특성화 기술 또는 당업계에 알려진 이와 동등한 기술에 의해 상대적으로 결정될 수 있다.

[0681] 본원에서 용어 "에피토프"는 항체가 결합하는 특정 표적을 의미한다. 에피토프는 아미노산의 연속 스트레치에 의해 형성될 수도 있고(연속 에피토프), 표적 단백질이 특정 형태로 접힐 때만 존재하는 아미노산 잔기의 3차원 배열에 의해 형성될 수도 있다(불연속 에피토프). 일반적으로, 에피토프는 적어도 3개의 아미노산, 적어도 4개, 적어도 5개, 또는 적어도 7~10개의 아미노산을 포함한다.

[0682] 항-B7-H4 항체 38B2와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편, 뿐만 아니라 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질이 본원에 개시된다. 또한, 항-B7-H4 항체 31B1과 동일한 에피토프에 결합하는 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편, 뿐만 아니라 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질이 본원에 개시된다.

[0683] 본원에서 사용되는 바와 같이, "차단" 항체 또는 항체 "길항제"는 결합하는 항원의 생물학적 활성을 억제하거나 감소시키는 것이다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 항-B7-H4 길항제 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 B7-H4에 결합하고 B7-H4의 활성 및/또는 B7-H4와 그 결합 파트너(들)의 결합을 억제한다. 활성의 억제 및 결합의 억제는 부분 억제를 포함한다. B7-H4 상호작용을 차단하는 B7-H4 항체의 식별 방법은 본원에 기술되어 있으며 당업자에게 알려져 있다. 예를 들어, 경쟁하는 항체, 교차 차단하는 항체, 및 교차 차단된 항체는 경쟁 ELISA 또는 BIACORE® 분석법을 포함하여 당업계에 알려진 임의의 적합한 방법을 사용하여 식별될 수 있으며, 인간 B7-H4에 대한 경쟁하는 항체 또는 교차 차단하는 항체의 결합은 본원에 개시된 항체의 결합을 방해하거나 그 반대의 경우도 마찬가지이다.

[0684] 특정 구현예에서, 모든 CDR이 항원 결합에 직접 관여하는 것은 아니다. 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 6개의 CDR 중 4개가 항원과 접촉한다. 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 6개의 CDR 중 5개가 항원과 접촉한다. 일 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 6개의 CDR 중 6개가 항원과 접촉한다.

[0685] 본원에서 용어 "선택적" 및 "선택성"은 다른 B7-H4 계열 구성원을 포함한 하나 이상의 다른 생물학적 분자와는 대조적으로, 특정 영역, 표적, 또는 펩티드, 일반적으로는 B7-H4의 영역 또는 에피토프에 대한, 항체 또는 이의 항원 결합 단편(즉, B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편)의 우선적인 결합을 의미한다.

[0686] 일 양태에서, B7-H4 상의 결합 부위의 적어도 일부에 특이적으로 결합하여 하나 이상의 B7-H4 리간드와 B7-H4의 상호작용을 차단하는 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편이 제공된다.

[0687] 특정 구현예에서, 본 발명에 따른 항-B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편은 제1 및 제2 서브유닛으로 구성된 Fc 도메인을 포함한다. 항체의 Fc 도메인은 면역글로불린 분자의 중쇄 도메인을 포함하는 한 쌍의 폴리펩티드 쇄로 구성된다. Fc 도메인의 두 서브유닛은 안정적인 회합을 형성한다. 구현예에서, Fc 도메인의 두 서브유닛은 동일하다. 대안적인 구현예에서, Fc 도메인의 두 서브유닛은 동일하지 않다. 구현예에서, Fc 도메인의 하나의 서브유닛은 면역접합체 분자와 융합될 수 있다. 구현예에서, 항체의 Fc 도메인은 IgG Fc 도메인, IgG_1 Fc 도메인, IgG_2 Fc 도메인, IgG_3 Fc 도메인, IgG_4 Fc 도메인일 수 있다. 추가의 특정 구현예에서, Fc 도메인은 인간 Fc 도메인이다.

[0688] **이종이량체화를 촉진하는 Fc 도메인 변형**

[0689] 이량체화를 촉진하는 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 Fc 도메인의 변형이 추가로 고려된다. 변형은 아미노산 치환, 삽입, 결실, 또는 임의의 다른 화학적 또는 물리적 변형일 수 있다. 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 Fc 도메인은 Fc 도메인의 제1 및 제2 서브유닛의 회합을 촉진하는 변형을 포함한다. 일 구현예에서, 상기 변형은 Fc 도메인의 CH3 도메인에 존재한다. 특정 구현예에서, Fc 도메인의 제1 및 제2 서브유닛의 회합을 촉진하는 상기 변형은 Fc 도메인의 두 서브유닛 중 하나에서의 "노브" 변형 및 Fc 도메인의 두 서브유닛 중 다른 하나에서의 "홀" 변형을 포함하는 소위 "노브-인투-홀" 변형이다.

[0690] 노브-인투-홀 변형은 이종 올리고머화를 위한 제1 폴리펩티드와 제2 폴리펩티드 사이의 경계면을 조작하는 역할을 하는 "돌기부 대 공동부(protuberance-into-cavity)" 전략이다. "돌기부"(즉, 노브)는 제1 폴리펩티드의 경계면으로부터의 작은 아미노산 측쇄를 더 큰 측쇄로 대체하여 구성된다. 돌기부와 동일하거나 유사한 크기의 보상 "공동부"(즉, 홀)는 큰 아미노산 측쇄를 더 작은 것으로 대체하여 제2 폴리펩티드의 경계면에 임의적으로 생성된다. 특정 구현예에서, 제1 Fc 서브유닛의 CH3 도메인의 아미노산 잔기는 더 큰 측쇄 부피를 갖는 아미노산 잔기로 대체됨으로써, 제1 Fc 서브유닛의 CH3 도메인 내에 노브를 생성하며, 이는 하나의 아미노산 잔기를 제2 Fc 서브유닛의 CH3 도메인에 더 작은 측쇄 부피를 갖는 아미노산 잔기로 대체하여 생성된, 제2 Fc 서브유닛의 CH3 도메인 내에 존재하는 홀에 위치할 수 있다. 바람직하게는, 더 큰 측쇄 부피를 갖는 상기 아미노산 잔기는 시스테인(C), 발린(V), 알라닌(A), 페닐알라닌(F), 티로신(Y), 류신(L), 라이신(K), 프롤린(P), 글루탐산(E), 및 트립토판(W)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직하게는, 더 작은 측쇄 부피를 갖는 상기 아미노산 잔기는 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 아르기닌(R), 트립토판(W), 시스테인(C), 라이신(L), 글루탐산(E), 아

스파트산(D), 및 발린(V)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0691] 노브 및 홀에 해당하는 돌연변이는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산을 변경함으로써, 예를 들어 부위-특이적 돌연변이유발 또는 펩티드 합성에 의해 생성될 수 있다.

[0692] 하나의 중쇄만이 IL-15/IL-15Rα 스시에 연결된 융합 단백질 구현예에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 Fc 도메인은 이종이량체 형성(즉, 중쇄 융합과 융합이 결여된 중쇄의 회합)을 촉진하는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다. 구현예에서, 하나의 중쇄의 CH3 도메인(CH3-1)의 아미노산 잔기는 아미노산을 더 큰 측쇄 부피를 갖는 아미노산 잔기로 대체하여 CH3 도메인 내에 "노브"를 생성하는 아미노산 치환을 포함하며, 이는 아미노산 잔기를 더 작은 측쇄 부피를 갖는 아미노산 잔기로 대체하여 생성되는, 다른 중쇄의 CH3 도메인(CH3-2) 내에 존재하는 "홀"에 위치할 수 있다.

[0693] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 이러한 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)이 본원에 제공되며,

[0694] (a) 제1 중쇄 불변 영역은 S354C, T366W, Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 제2 중쇄 불변 영역은 S354C, T366W, Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나;

[0695] (b) 제1 중쇄 불변 영역은 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 제2 중쇄 불변 영역은 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나;

[0696] (c) 제2 중쇄 불변 영역은 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 제1 중쇄 불변 영역은 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나;

[0697] (d) 제1 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하고, 제2 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하거나;

[0698] (e) 제2 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 S354C 및 T366W(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함하고, 제1 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V(Kabat EU 인덱스 넘버링)를 포함한다.

[0699] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 이러한 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 융합 단백질)이 본원에 제공되며, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 147~160으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 서열번호 147~160으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 일부를 포함한다.

[0700] **링커**

[0701] 구현예에서, 본원에 제공된 융합 단백질은 본원에 개시된 융합 단백질의 구성요소를 결합하는 하나 이상의 링커를 포함할 수 있다. 링커는 (i) IL-15 폴리펩티드와 스시 도메인을 포함하는 IL15Rα 폴리펩티드 사이; (ii) 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 중쇄와, IL-15 폴리펩티드 또는 스시 도메인을 포함하는 IL15Rα 폴리펩티드 사이; 또는 (iii) 둘 모두에 위치할 수 있다. 본 발명의 구현예에서, IL-15 폴리펩티드와 스시 도메인을 포함하는 IL15Rα 폴리펩티드는 제1 링커 아미노산 서열에 의해 결합되거나 연결된다. 구현예에서, IL15Rα 폴리펩티드는 제2 링커 아미노산 서열에 의해, 본원에 기술된 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 연결된다. 제1 및 제2 링커는 동일하거나 상이한 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0702] 본원에 기술된 링커 아미노산 서열은 융합 단백질이 적절한 2차 및 3차 구조를 형성하는 것을 보장하기에 충분한 길이일 수 있다. 링커 아미노산의 길이는 5 내지 40개 아미노산, 바람직하게는 10 내지 40개 아미노산, 더 바람직하게는 15 내지 40개 아미노산, 훨씬 더 바람직하게는 20 내지 40개 아미노산, 가장 바람직하게는 25 내지 35개 아미노산일 수 있다.

[0703] 바람직하게는, 링커 서열은 Gly(G), Asn(N), Ser(S), Thr(T), Ala(A), Leu(L), 및 Gln(Q)을 포함하는 군에서 선택된 거의 중성의 아미노산, 가장 바람직하게는 Gly(G), Asn(N), 및 Ser(S)을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산을 포함한다. 바람직하게는, 링커 서열은 글리신-풍부 및 세린-풍부이고, 일부 구현예에서, 링커는 세린 및 글리신 잔기만을 포함한다.

[0704] 일부 구현예에서, 링커는 서열번호 171(IRDPALVHQRPAPP)의 서열을 포함하되 이에 한정되지 않는, 스시 도메인 외부의 IL15Rα 폴리펩티드의 부분을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 서열번호 168(SGGSGGGGSGGGSGGGGSLQ)을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 서열번호 171 및 서열번호 168을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 서열번호 170을 포함한다.

[0705] 구현예에서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 중쇄 및 경쇄는 VR 및 VL 도메인이 회합하여 항원 결합 부위를 형성할 수 있도록 하는 제3 링커를 사용하여 단일 폴리펩티드 쇄("단일쇄 Fv" 또는 scFv")로 연결될 수 있다. 링커의 아미노산 서열은 동일하거나 상이할 수 있다.

[0706] 일 구현예에서, IL-15 폴리펩티드 또는 IL-15 유도체는 링커에 의해 IL-15Rα 스시 폴리펩티드 또는 IL-15Rα 스시 유도체에 공유 연결된다.

[0707] 일부 구현예에서, IL-15 폴리펩티드 또는 IL-15 유도체는 제1 링커에 의해 IL-15Rα 스시 폴리펩티드 또는 IL-15Rα 스시 유도체에 공유 연결되며, IL-15 폴리펩티드 또는 IL-15 유도체 또는 IL-15Rα 스시 폴리펩티드 또는 IL-15Rα 스시 유도체는 제2 링커에 의해 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 연결된다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 링커의 아미노산 서열은 동일하다. 다른 구현예에서, 제1 및 제2 링커의 아미노산 서열은 상이하다.

[0708] **접합체**

[0709] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질은 하나 이상의 기능적 모이어티를 추가로 포함할 수 있다. 유용한 기능적 모이어티의 예는 차단 모이어티, 검출가능한 모이어티, 진단 모이어티, 표적화 모이어티, 및 치료 모이어티를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0710] 차단 모이어티는 예를 들어 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 글리코실화하는 글리코시다제의 능력을 차단함으로써 글리코실화가 감소되도록 하는 충분한 입체적 벌크 및/또는 전하의 모이어티를 포함할 수 있다. 바람직한 차단 분자는 시스테인 부가물, 예컨대 시스테인, 혼합 이황화 부가물, 또는 이황화 연결 및 PEG 모이어티, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜("PEG"), 폴리프로필렌 글리콜("PPG"), 폴리옥시에틸화 글리세롤("POG") 및 기타 폴리옥시에틸화 폴리올, 폴리비닐 알코올("PVA") 및 기타 폴리알킬렌 옥사이드, 폴리옥시에틸화 소르비톨, 또는 폴리옥시에틸화 글루코스를 포함한다. PEG는 여러 가지 이유로 생물학적 용도에서 바람직한 모이어티이다. 페길화는 분자의 겉보기 분자량을 증가시켜 분자의 약동학적 성능을 향상시킬 수 있다. 증가된 겉보기 분자량은 피하 또는 전신 투여 후 신체로부터 제거되는 속도를 감소시킨다. 많은 경우, 페길화는 항원성과 면역원성을 감소시킬 수 있다. 페길화는 또한 생물학적 활성 분자의 용해도를 증가시킬 수 있다. 또한, PEG는 일반적으로 투명하고, 무색이고, 무취이며, 물에 용해되고, 열에 안정적이며, 많은 화학물질에 불활성이고, 가수분해되지 않고, 무독성이므로 생물학적 용도에 바람직한 선택이다.

[0711] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 항원 결합 단편 또는 융합체와 접합될 수 있는 검출가능한 모이어티의 예는 형광 모이어티 또는 표지, 영상화제, 방사성 동위원소 모이어티, 방사선 불투과성 모이어티 등, 예를 들어 비오틴, 형광단, 발색단, 스핀 공명 프로브, 또는 방사성 표지와 같은 검출가능한 표지를 포함할 수 있다. 형광단의 예는 형광 염료(예를 들어, 플루오레세인, 로다민 등) 및 기타 발광 분자(예를 들어, 루미날)를 포함한다. 형광단은 기질(예를 들어, 단실 프로브)에 결합시 구조적 변화를 겪는 변형된 단백질 내의 하나 이상의 잔기 근처에 위치하는 경우 형광이 변할 정도로 환경-민감성일 수 있다. 예시적인 방사성 표지는 하나 이상의 저감도 핵(^{13}C, ^{15}N, ^{2}H, ^{125}I, ^{123}I, ^{99}Tc, ^{43}K, ^{52}Fe, ^{67}Ga, ^{68}Ga, ^{111}In 등)을 갖는 원자를 함유하는 소분자를 포함한다.

[0712] 진단 모이어티는 질환 또는 장애의 존재를 밝히는 데 적합한 검출가능한 모이어티를 포함한다. 일반적으로, 진단 모이어티는 질환 또는 장애와 관련된 분자, 예를 들어 표적 펩티드, 단백질, 또는 단백질들의 존재, 부재, 또는 수준에 대한 확인을 가능하게 한다. 이러한 진단제는 질환 또는 장애 및 그 진행을 예측 및/또는 진단하는 데에도 적합하다.

[0713] 치료 모이어티의 예는 항염증제, 항암제, 항신경퇴행제, 항감염제, 또는 일반적으로 치료제를 포함한다. 기능적 모이어티는 또한 상기 언급된 기능 중 하나 이상을 가질 수 있다. 예시적인 치료 모이어티는 항생제, 제2 항-B7-H4 항체, 또는 종양-특이적 항원, 자가면역 조직 항원, 바이러스 감염 세포 항원, Fc 수용체, T 세포 수용체, 또는 T 세포 공동억제제와 같은 다른 항원에 대한 항체, 또는 면역독소, 또는 암, 자가면역 질환, 또는 만성 바이러스 감염을 포함한 질환 또는 병태를 치료하는 데 유용한 임의의 다른 치료 모이어티를 포함할 수 있다. 예시적인 치료 모이어티는 또한, 표적과 결합할 수 있는 한, 분자를 따라 임의의 위치에 있는 세포독소, 방

사성 물질, 사이토카인, 인터페론, 표적 또는 리포터 모이어티, 효소, 독소, 펩티드 또는 치료제일 수 있다. 면역접합체의 예는 항체-약물 접합체 및 항체-독소 융합 단백질을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 종양 세포 또는 바이러스 감염 세포에 특이적인 제제에 접합될 수 있다.

[0714] 본원에 기술된 항체 또는 항원 결합 단편의 반감기를 증가시키기 위해, 예를 들어 미국 특허 5,739,277호에 기술된 바와 같은 회수(salvage) 수용체 결합 에피토프가 항체 또는 이의 항원 결합 단편(특히 항체 단편)에 부착될 수도 있다. 용어 "회수 수용체 결합 에피토프"는 IgG 분자(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4)의 생체내 혈청 반감기를 증가시키는 역할을 하는 IgG 분자의 Fc 영역의 에피토프를 지칭할 수 있다(예를 들어, 문헌 [Ghetie et al., 18 Ann. Rev. Immunol. 739 (2000)]).

[0715] **핵산**

[0716] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질을 암호화하는 핵산, 뿐만 아니라 벡터, 숙주 세포, 및 발현 시스템이 또한 본원에 제공된다. 본원에서 사용되는 용어 "핵산"은 리보뉴클레오티드 또는 데옥시리보뉴클레오티드 등 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합체 형태를 지칭하며, 단일-, 이중-, 또는 다중-가닥 DNA 또는 RNA, 게놈 DNA, cDNA, DNA-RNA 하이브리드, 또는 퓨린 및 피리미딘 염기, 또는 기타 천연, 화학적 또는 생화학적 변형, 비천연, 또는 유도체화 뉴클레오티드 염기를 포함하는 중합체를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 본원에 개시된 항-B7-H4 항체, 및 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질을 암호화하는 핵산은 예를 들어 DNA, cDNA, RNA, 합성적으로 생성된 DNA 또는 RNA, 또는 임의의 폴리뉴클레오티드를 단독으로 또는 조합하여 포함하는 재조합적으로 생성된 키메라 핵산 분자일 수 있다.

[0717] 용어 "벡터"는 핵산 분자를 세포 내로 수송할 수 있는 핵산 분자를 포함하는 비히클을 의미한다. "벡터"는 염색체, 비염색체, 반합성 또는 합성 핵산으로 구성될 수 있는, 바이러스 벡터, 플라스미드, RNA 벡터, 또는 선형 또는 원형 DNA 또는 RNA 분자를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 사용된 벡터는 자율 복제가 가능한 벡터(에피솜 벡터) 및/또는 연결된 핵산을 발현할 수 있는 벡터(발현 벡터)이다. 다수의 적합한 벡터가 당업자에게 알려져 있으며 상업적으로 입수 가능하다.

[0718] **표 1, 5, 7, 9, 16 내지 20, 또는 24**에 개시된 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 암호화하는 핵산 또는 핵산 세트가 본원에 제공된다. **표 13, 21, 또는 22**에 개시된 융합 단백질을 암호화하는 핵산 또는 핵산 세트가 본원에 제공된다.

[0719] **표 16 내지 21**에 개시된 VH 서열을 암호화하는 핵산이 본원에 제공된다. **표 16 내지 21**에 개시된 VL 서열을 암호화하는 핵산이 본원에 제공된다. **표 21 및 22**에 개시된 HC 서열을 암호화하는 핵산이 본원에 제공된다. **표 21 및 22**에 개시된 LC 서열을 암호화하는 핵산이 본원에 제공된다.

[0720] 본원에 개시된 하나 이상의 핵산 서열을 포함하는 벡터 또는 벡터 세트가 본원에 제공된다.

[0721] 본원에 개시된 벡터 또는 벡터 세트를 포함하는 세포가 본원에 제공된다. 일부 구현예에서, 세포는 면역 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 포유류 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 인간 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 단리된 세포이다.

[0722] **항체 및 융합 단백질 제조 및 발현 시스템**

[0723] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체, 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질은 일반적으로 재조합 발현에 의해 생성된다. 임의로 불변 영역에 연결된 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 암호화하는 핵산은 동일한 발현 벡터에 삽입될 수 있다. 대안적으로, 임의로 불변 영역에 연결된 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 암호화하는 핵산은 상이한 발현 벡터에 삽입된다. 발현 벡터는, 프로모터(예를 들어, 동종 또는 이종 프로모터), 신호 서열, 인핸서 요소, 및 전사 종결 서열을 포함하되 이에 한정되지 않는 하나 이상의 발현 제어 서열을 추가로 포함할 수 있다. 바람직하게는, 발현 제어 서열은 진핵 숙주 세포를 형질전환 또는 형질감염시킬 수 있는 벡터 내 진핵 프로모터 시스템이다. 일반적으로, 숙주는 뉴클레오티드 서열의 고수준 발현, 및 적절한 숙주에 벡터가 통합된 후 교차 반응 항체의 수집 및 정제에 적합한 조건하에 유지된다.

[0724] 일반적으로, 발현 벡터는 목적하는 DNA 서열로 형질전환된 세포의 검출을 가능하게 하는 선별 마커(예를 들어, 암피실린 내성, 하이그로마이신 내성, 테트라사이클린 내성, 또는 네오마이신 내성)를 포함한다.

[0725] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 발현에 사용되는 숙주는 원핵생물 또는 진핵생물 숙주일 수 있다. 적합한 숙주의 예는 생체내 또는 인시투 효모, 곤충, 진균, 조류, 및 포유류 세포, 또는 포유류, 곤충, 조류, 또는 효모 기원의 숙주 세포를 포함하는 박테리아 또는 진핵생물 숙주를 포함

한다. 포유류 세포 또는 조직은 인간, 영장류, 햄스터, 토끼, 설치류, 소, 돼지, 양, 말, 염소, 개, 또는 고양이 기원일 수 있지만, 임의의 다른 포유류 세포도 사용될 수 있다.

[0726] 본원에 개시된 항체, 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 발현에 사용될 수 있는 박테리아 숙주의 예는 *E. 콜라이*, 바실러스, 예컨대 *바실러스 서브틸러스*, 및 기타 장내세균, 예컨대 *살모넬라*, *세라티아*, 및 다양한 *슈도모나스* 종일 수 있다.

[0727] 효모도 본원에 개시된 항체, 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 발현을 위한 숙주로서 사용될 수 있다. 사카로마이세스 및 피키아는 예시적인 효모 숙주이며, 적합한 벡터는 필요에 따라 발현 제어 서열(예를 들어, 프로모터), 복제 기점, 종결 서열 등을 갖는다. 일반적인 프로모터는 3-포스포글리세레이트 키나제 및 기타 당분해 효소를 포함한다. 유도성 효모 프로모터는 특히, 알코올 탈수소효소, 이소시토크롬 C, 및 메탄올, 말토스, 및 갈락토스 활용을 담당하는 효소로부터의 프로모터를 포함한다.

[0728] 배양 중인 포유류 세포도 본원에 개시된 항체, 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 발현을 위한 숙주 세포로서 사용될 수 있다. 당업계에 잘 알려져 있는 이종 단백질(예를 들어, 온전한 면역글로불린)을 분비할 수 있는 적합한 숙주 세포주의 예는 CHO 세포주, 다양한 COS 세포주, HeLa 세포, 293 세포, 골수종 세포주, 형질전환된 B 세포, 및 하이브리도마를 포함한다. 이러한 세포용 발현 벡터는 발현 제어 서열, 예컨대 복제 기점, 프로모터, 인핸서, 및 필요한 프로세싱 정보 부위, 예컨대 리보솜 결합 부위, RNA 스플라이스 부위, 및/또는 전사 종결자 서열을 포함할 수 있다. 발현 제어 서열의 예는 SV40, 아데노바이러스, 소 유두종 바이러스, 사이토메갈로바이러스 등을 포함한다.

[0729] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질은 단일 발현 구성체 또는 벡터 또는 다중 발현 구성체 또는 벡터(예를 들어, 2개 또는 3개의 발현 구성체)를 사용하여 발현될 수 있다. 항체 중쇄 및 경쇄가 개별 발현 벡터에 클로닝되는 경우, 벡터는 공동 형질감염되어 온전한 면역글로불린의 발현 및 조립을 얻는다. 일단 발현되면, 본원에 개시된 전체 항체, 이의 이량체, 개별 경쇄 및 중쇄, 또는 다른 면역글로불린 형태는 황산암모늄 침전, 친화성 컬럼, 컬럼 크로마토그래피, HPLC 정제, 겔 전기영동 등을 포함하는 당업계의 표준 절차에 따라 정제될 수 있다(일반적으로 문헌[Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, N.Y., (1982)] 참조). 약학적 용도의 경우, 적어도 약 90 내지 95% 균질성의 실질적으로 순수한 면역글로불린이 바람직하고, 98 내지 99% 이상의 균질성이 가장 바람직하다.

[0730] 개시된 항-B7-H4 항체, 항원 결합 단편, 및 융합 단백질은 당업계에 알려진 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 인간 또는 마우스 항체 또는 융합 분자를 생성하기 위한 일반적인 기술은 당업계에 알려져 있다.

[0731] **B7-H4 활성을 조절하는 방법**

[0732] 일 양태에서, B7-H4와 그 동족 리간드 간의 상호작용을 감소시키기 위해 본원에 기술된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질을 사용하는 방법이 제공된다. 이러한 감소는 항체 결합 후 수용체의 내재화 또는 표적 세포 상의 수용체의 발현 감소를 포함할 수 있다.

[0733] 일 양태에서, B7-H4와 동족 수용체의 결합의 결과로 발생하는 신호 전달을 감소시키기 위해 본원에 기술된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질을 사용하는 방법이 제공된다. 이러한 감소는 부분적일 수 있거나(즉, B7-H4 활성을 약화시키지만 제거하지는 않음), 이러한 활성을 완전히 제거할 수 있다(예를 들어, 신호 전달을 중재하는 B7-H4의 능력을 무효화함). 이러한 감소는 항체 결합 후 수용체의 내재화 또는 표적 세포 상의 수용체의 발현 감소를 포함할 수 있다.

[0734] 일 양태에서, 면역억제, 예를 들어 T 세포 내성을 감소시키기 위해 본원에 기술된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질을 사용하는 방법이 제공된다. 면역억제는 면역 세포의 표면에서 발현된 면역 억제 수용체 및 그 리간드와의 상호작용에 의해 매개될 수 있다. T 세포 활성을 측정하는 방법은 당업계에 알려져 있다. 비제한적인 예로서, T 세포 내성은 T 세포를 리콜 항원, 공동자극 부재하의 항-CD3, 및/또는 이오노마이신과 접촉시켜 유도될 수 있다. 예를 들어 T 세포 면역내성 유발의 정도를 확인하기 위해, 예를 들어 IL-27, LDH-A, RAB10, 및/또는 ZAP70(세포내 또는 분비 둘 다)의 수준이 모니터링될 수 있다(IL-2, 인터페론-γ 및 TNF의 수준은 T 세포 내성 증가와 상관관계가 있음).

[0735] 일 양태에서, T 세포 확장, 활성화, 및/또는 증식을 향상시키기 위해 본원에 기술된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질을 사용하는 방법이 제공된다. $CD8^+$ T 세포 증식을 향상시기키 위해 본원에 기술된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질을 사용하는 방법이 제공된다. $CD4^+$ T 세포 증식을 향상시

기키 위해 본원에 기술된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질을 사용하는 방법이 제공된다.

[0736] 일 양태에서, (인시투 또는 생체외) 수여체 인간 또는 인간 조직에서 B7-H4 발현 종양 세포 또는 종양 관련 대식세포(TAM)를 고갈시키기 위해 본원에 기술된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질을 사용하는 방법이 제공된다. B7-H4 양성 종양 세포 또는 TAM의 고갈은 개시된 항-B7-H4 항체(또는 다른 종양-특이적 또는 TAM-특이적 마커)를 사용하여 종양 조직의 면역조직화학(IHC)에 의해, 또는 PCR, 인시투 하이브리드화, 또는 당업자에게 알려진 다른 방법에 의한 B7-H4 mRNA 수준의 감소에 의해 모니터링할 수 있다.

[0737] 일 양태에서, B7-H4 발현 세포에서 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC)의 유도를 필요로 하는 대상체에서 이를 유도하기 위해 본원에 기술된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질을 사용하는 방법이 제공된다.

[0738] "감소"(또는 "저하")는 치료되지 않은 대조군에 비해 약 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 또는 95% 이상의 전반적인 감소를 유발하는 능력을 의미한다.

[0739] 본원에 기술된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질에 의해 표적화되는 세포는 B7-H4를 발현하는 세포, 예를 들어 형질전환되지 않은 경우 일반적으로 B7-H4를 발현하지 않는 형질전환된 세포, 또는 대조군 세포에 비해 증가된 발현을 특징으로 하는 세포를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 바람직한 표적 세포는 암세포 및 종양 관련 대식세포를 포함한다.

[0740] **치료 방법**

[0741] 일 양태에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 대상체의 치료에 유용한 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질을 제공한다.

[0742] 본원에 기술된 방법에서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 치료 유효량이 이를 필요로 하는 포유류에게 투여된다. 본원에서 사용되는 용어 "포유류"는 인간, 실험 동물, 가축, 및 농장 동물을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 바람직하게는, 포유류는 인간이다. 본원에 기재된 "치료 유효량"은 포유류에게 투여되었을 때 원하는 치료 효과를 나타내는 데 효과적인 항-B7-H4 항체, 이의 항원 단편, 또는 융합 단백질의 양을 의미한다.

[0743] 구현예에서, "대상체"는 포유류이다. 구현예에서, 대상체는 비영장류(예를 들어, 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트, 마우스 등) 또는 영장류(예를 들어, 원숭이 및 인간)이다. 개체 및 환자도 본원의 대상체이다.

[0744] 본원에서 사용되는 용어 "치료"는 바람직하지 않은 생리학적 병태, 장애, 또는 질환을 늦추거나(완화), 유익하거나 바람직한 임상 결과를 얻는 것이 목적인 치료법적 치료를 의미한다. 본 발명의 목적을 위해, 유익하거나 바람직한 임상 결과는 증상의 완화; 병태, 장애, 또는 질환 정도의 감소; 병태, 장애, 또는 질환 상태의 안정화(즉, 악화되지 않음); 병태, 장애, 또는 질환의 발병 지연 또는 진행 둔화; 병태, 장애, 또는 질환 상태의 하나 이상의 증상의 개선; 및 관해(부분적이든 전체적이든)를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 치료는 과도한 수준의 부작용 없이 임상적으로 유의미한 반응을 이끌어 내는 것을 포함한다. 치료는 또한 치료를 받지 않을 경우 예상되는 생존과 비교하여 생존을 연장하는 것을 포함한다.

[0745] 용어 "예방"은 질환 또는 장애가 발생하는 것을 방지하기 위해 또는 질환 또는 장애의 정도를 최소화하거나 발달 과정을 늦추기 위해, 명백한 질환 또는 장애가 발병하기 전에 조치를 취하는 것을 의미한다.

[0746] 항-B7-H4 항체를 사용한 치료로 이익을 얻을 가능성이 있는 대상체는 종양 또는 TAM에서 표적 B7-H4 단백질을 발현할 것이며, 이는 종양 샘플의 IHC, FAC, 인시투 하이브리드화, 또는 당업자에게 알려진 다른 방법에 의해 평가될 수 있다. 구현예에서, 대상체는 B7-H4의 발현이 상향조절되었다.

[0747] 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 데 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질이 본원에 제공된다. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 데 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 용도가 본원에 제공된다. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0748] 종양 성장의 감소를 필요로 하는 대상체에서 이를 감소시키는 방법으로서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 종양 성장의 감소를 필요로 하는 대상체에서 이를 감소시키는 데 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질이 본원에 제공된다. 종양 성장의 감소를 필요로 하는 대상체에서 이를 감소시키는 데 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 용도가 본원에 제공된다. 종양 성장의 감소를 필요로 하는 대상체에서 이를 감소시키기 위한 의약의 제조에 있어서 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0749] 종양 전이의 감소를 필요로 하는 대상체에서 이를 감소시키는 방법으로서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 종양 전이의 감소를 필요로 하는 대상체에서 이를 감소시키는 데 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질이 본원에 제공된다. 종양 전이의 감소를 필요로 하는 대상체에서 이를 감소시키는 데 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 용도가 본원에 제공된다. 종양 전이의 감소를 필요로 하는 대상체에서 이를 감소시키기 위한 의약의 제조에 있어서 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0750] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질로 치료 또는 예방될 수 있는 암 및 관련 장애는 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다: 급성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 골수모구성, 전골수성, 골수단구성, 단구성, 적백혈병 백혈병, 및 골수이형성증후군과 같은 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성(과립구) 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 털세포 백혈병과 같은(이에 한정되지 않음) 만성 백혈병을 포함하되 이에 한정되지 않는 백혈병; 진성적혈구증가증; 호지킨병, 비호지킨병과 같은(이에 한정되지 않음) 림프종; 무증상 다발성 골수종, 비분비성 골수종, 골경화 골수종, 형질세포 백혈병, 고립성 형질세포종, 및 골수외 형질세포종과 같은(이에 한정되지 않음) 다발성 골수종; 발덴스트롬 마크로글로불린혈증; 의미가 불분명한 단일클론 감마병증; 양성 단일클론 감마병증; 중쇄 질환; 뼈 육종, 골육종, 연골육종, 유잉육종, 악성거대세포종양, 뼈의 섬유육종, 척삭종, 골막육종, 연조직 육종, 맥관육종(혈관육종), 섬유육종, 카포시 육종, 평활근육종, 지방육종, 림프관육종, 신경연종, 횡문근육종, 활막육종을 포함하되 이에 한정되지 않는 뼈 및 결합조직 육종; 신경교종, 성상세포종, 뇌간 신경교종, 상의세포종, 핍지교종, 비신경교종양, 청신경초종, 두개인두종, 수모세포종, 뇌수막종, 솔방울샘종, 솔방울샘모세포종, 원발성 뇌 림프종을 포함하되 이에 한정되지 않는 뇌종양; 선암종, 소엽(소세포) 암종, 관내 암종, 수질 유방암, 점액성 유방암, 관형 유방암, 유두상 유방암, 파제트병, 및 염증성 유방암을 포함하되 이에 한정되지 않는 유방암; 로톰친화성세포종 및 부신피질암종을 포함하되 이에 한정되지 않는 부신암; 유두상 또는 여포상 갑상선암, 갑상선수질암, 및 역형성 갑상선암을 포함하되 이에 한정되지 않는 갑상선암; 인슐린종, 가스트린종, 글루카곤종, 비포마, 소마토스타틴 분비 종양, 및 카르시노이드 또는 섬세포 종양을 포함하되 이에 한정되지 않는 췌장암; 쿠싱병, 프로락틴분비종양, 말단비대증, 및 요붕증을 포함하되 이에 한정되지 않는 뇌하수체암; 홍채 흑색종, 맥락막 흑색종, 및 모양체 흑색종과 같은 안구 흑색종 및 망막모세포종을 포함하되 이에 한정되지 않는 눈암; 편평세포암종, 선암종, 및 흑색종을 포함하되 이에 한정되지 않는 질암; 편평세포암종, 흑색종, 선암종, 기저세포암종, 육종, 및 파제트병을 포함하되 이에 한정되지 않는 외음부암; 편평세포암종 및 선암종을 포함하되 이에 한정되지 않는 자궁경부암; 자궁내막암종 및 자궁육종을 포함하되 이에 한정되지 않는 자궁암; 난소 상피성 암종, 경계성 종양, 생식세포 종양, 및 간질 종양을 포함하되 이에 한정되지 않는 난소암; 편평암, 선암종, 선낭암종, 점액표피양암종, 선편평암종, 육종, 흑색종, 형질세포종, 사마귀성 암종, 및 귀리세포(소세포) 암종을 포함하되 이에 한정되지 않는 식도암; 선암종, 진균성(폴립), 궤양성, 표층발육성, 확산발육성, 악성림프종, 지방육종, 섬유육종, 및 암육종을 포함하되 이에 한정되지 않는 위암; 결장암; 직장암; 간세포암종 및 간모세포종을 포함하되 이에 한정되지 않는 간암, 선암종을 포함하되 이에 한정되지 않는 담낭암; 유두형, 결절형, 및 확산형을 포함하되 이에 한정되지 않는 담관암종; 비소세포폐암, 편평세포암종(표피암종), 선암종, 대세포암종, 및 소세포폐암을 포함하되 이에 한정되지 않는 폐암; 배종양, 정상피종, 역형성, 고전적(전형적), 정모세포성, 비정상피종, 배아암종, 기형종암종, 융모막암종(난황낭 종양)을 포함하되 이에 한정되지 않는 고환암, 선암종, 평활근육종, 및 횡문근육종을 포함하되 이에 한정되지 않는 전립선암; 음경암; 편평세포암종을 포함하되 이에 한정되지 않는 구강암; 기저암; 선암종, 점액표피양암종, 및 선낭암종을 포함하되 이에 한정되지 않는 침샘암; 편평세포암 및 사마귀성을 포함하되 이에 한정되지 않는 인두암; 기저세포암종, 편평세포암종 및 흑색종, 표층발육성 흑색종, 결절흑색종, 흑색점 악성 흑색종, 말단 흑색점 흑색종을 포함하되 이에 한정되지 않는 피부암; 신세포암, 선암종, 부신종, 섬유육종, 이행세포암(신우 및/또는 요관)을 포함하되 이에 한정되지 않는 신장암; 빌름스 종양; 이행세포암종, 편평세포암, 선암종, 암육종을 포함하되 이에 한정되지 않는 방광암. 또한, 암은 점액육종, 골육종, 내피육종, 림프관내피육종, 중피종, 윤활막종, 혈관모세

포종, 상피암종, 낭선암종, 기관지암종, 땀샘암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 및 유두 선암종을 포함한다.

[0751] 따라서, 본원에 개시된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질은 다양한 암(특히, 난소암, 유방암, 전립선암, 위암, 신장암, 갑상선암, 및 자궁암) 또는 다음을 포함하되 이에 한정되지 않는 기타 비정상 증식성 질환의 치료 또는 예방에도 유용하다: 편평세포암종을 포함하여, 방광, 유방, 결장, 신장, 간, 폐, 난소, 췌장, 위, 자궁경부, 갑상선, 및 피부의 암종을 포함하는 암종; 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, B-세포 림프종, T-세포 림프종, 버킷 림프종을 포함하는 림프 계통의 조혈 종양; 급성 및 만성 골수성 백혈병 및 전골수성 백혈병을 포함하는 골수 계통의 조혈 종양; 섬유육종 및 횡문근육종을 포함하는 중간엽 기원의 종양; 흑색종, 정상피종, 기형암종, 신경모세포종, 및 신경교종을 포함하는 기타 종양; 성상세포종, 신경모세포종, 신경교종, 및 신경초종을 포함하는 중추 및 말초 신경계의 종양; 섬유육종, 횡문근육종, 및 골육종을 포함하는 중간엽 기원의 종양; 및 흑색종, 색소성 건피증, 각화가시세포종, 정상피종, 갑상선 여포암, 및 기형암종을 포함하는 기타 종양. 또한, 아폽토시스의 이상으로 인해 발생하는 암도 본원에 개시된 방법 및 조성물에 의해 치료될 것으로 예상된다. 이러한 암은 여포성 림프종, p53 돌연변이가 있는 암종, 유방, 전립선 및 난소의 호르몬 의존성 종양, 및 전암성 병변, 예컨대 가족성 선종 폴립증 및 골수이형성증후군을 포함할 수 있으나 이에 한정되지 않는다. 특정 구현예에서, 난소, 방광, 유방, 결장, 폐, 피부, 췌장, 또는 자궁에서의 악성종양 또는 증식이상 변화(예컨대, 화생 및 이형성), 또는 과다증식 장애는 개시된 방법 및 조성물에 의해 치료 또는 예방된다. 다른 특정 구현예에서, 육종, 흑색종, 또는 백혈병은 제공된 방법 및 조성물에 의해 치료 또는 예방된다.

[0752] 암세포는 다양한 메커니즘을 통해서이긴 하지만 발달 과정에서 일련의 특징적인 기능적 능력을 획득한다. 이러한 능력은 아폽토시스 회피, 성장 신호의 자족, 성장 방지 신호에 대한 둔감, 조직 침습/전이, 무한한 복제 잠재력, 및 지속적인 혈관 신생을 포함한다. 용어 "암세포"는 전악성 및 악성 암세포를 둘 다 포함하는 의미이다. 일부 구현예에서, 암은 국소적으로 남아 있는 양성 종양을 의미한다. 다른 구현예에서, 암은 주변 신체구조를 침범하여 파괴하고 먼 부위로 퍼진 악성종양을 의미한다. 또 다른 구현예에서, 암은 특정 암 항원(예를 들어, 범암종 항원(KS 1/4), 난소암종 항원(CA125), 전립선 특이적 항원(PSA), 암배아 항원(CEA), CD19, CD20, HER2/neu 등)과 연관되어 있다.

[0753] **병용 요법**

[0754] 본원에 개시된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질은 유리하게는 추가 치료제와 조합될 수 있다. 이러한 추가 제제는 세포독성제, 화학요법제, 성장억제제, 항염증제, 항암제, 항신경퇴행제, 면역억제제, 및 항감염제를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질과 추가 치료제(또는 추가 치료법)는 동시에, 연속적으로, 또는 간헐적으로 투여될 수 있다. 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질과 추가 치료제(또는 추가 치료법)는 개별적으로 또는 혼합물로서 투여될 수 있다. 또한, 본원에 제공된 치료 방법은 항체 치료법, 화학요법, 사이토카인 치료법, 수지상세포 치료법, 유전자 치료법, 호르몬 치료, 레이저광 치료법, 및 방사선 치료법의 그룹을 포함하되 이에 한정되지 않는 하나 이상의 치료법과 조합된 치료와 관련될 수 있다.

[0755] 본 발명의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 융합 단백질은 신세포암종, 결장직장암, 교모세포종 다형체, 두경부 편평세포암종, 비소세포폐암, 결장암, 난소암, 선암종, 전립선암, 신경교종, 및 흑색종을 포함하되 이에 한정되지 않는 암을 치료하는 데 사용되는 하나 이상의 항암제 또는 치료법과 상승작용을 발휘하도록 조합될 수 있다. 이러한 제제의 예는 PD-L1에 대한 항체(예를 들어, 니볼루맙), LAG-3 억제제, CTLA-4 억제제(예를 들어, 이필리무맙), TIM3 억제제, BTLA 억제제, T IGIT 억제제, CD47 억제제, 다른 T 세포 공동억제제 또는 리간드의 길항제(예를 들어, CD-28, 2B4, LY108, LAI R 1, ICOS, CD1 60, 또는 VISTA에 대한 항체), 인돌아민-2,3-디옥시게나제(IDO) 억제제, 혈관 내피 성장 인자(VEGF) 길항제(예를 들어, "VEGF-Trap", 예컨대 US 7,087,41 1에 제시된 바와 같은 애플리버셉트 또는 기타 VEGF-억제 융합 단백질, 또는 항-VEGF 항체 또는 이의 항원 결합 단편(예를 들어, 베바시주맙 또는 라니비주맙) 또는 VEGF 수용체의 소분자 키나제 억제제(예를 들어, 수니티닙, 소라페닙, 또는 파조파닙)), Ang2 억제제(예를 들어, 네스바쿠맙), 전환 성장 인자 β(TGF3) 억제제, 표피 성장 인자 수용체(EGFR) 억제제(예를 들어, 에를로티닙, 세툭시맙), 공동자극 수용체에 대한 효능제(예를 들어, 글루코코르티코이드-유발 TNFR 관련 단백질에 대한 효능제), 종양-특이적 항원(예를 들어, CA9, CA1 25, 흑색종-관련 항원 3(MAGE3)에 대한 항체, 암배아성 항원(CEA), 항바이러스제(예를 들어, 지도부딘, 라미부딘, 아바카비르, 리바비린, 로피나비르, 에파비렌즈, 코비시스타트, 테노포비르, 릴피비린, 및 코르티코스테로이드), 비멘틴, 종양-M2-PK, 전립선-특이적 항원(PSA), 뮤신-1, MART-1, 및 CA1 9-9), 백신(예를 들어, 바실러스 칼메트-게랭, 암 백신), 항원 제시를 증가시키는 보조제(예를 들어, 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자), 이중

특이적 항체(예를 들어, CD3xCD20 이중특이적 항체, PSMAxCD3 이중특이적 항체), 암 백신(예를 들어, MAGE3, MUC1, EGFRv3, ALVAC-CEA), 세포독소, 화학요법제(예를 들어, 다카르바진, 테모졸로미드, 시클로포스파미드, 도세탁셀, 독소루비신, 다우노르비신, 시스플라틴, 카보플라틴, 젬시타빈, 메토트렉세이트, 미토잔트론, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 및 빈크리스틴), 시클로포스파미드, 방사선요법, IL-6R 억제제(예를 들어, 사릴루맙), IL-4R 억제제(예를 들어, 두필루맙), IL-10 억제제, 사이토카인, 예컨대 IL-2, IL-7, IL-21, 및 IL-15, 항체-약물 접합체(ADC)(예를 들어, 항-CD1 9-DM4 ADC 및 항-DS6-DM4 ADC), 항염증제(예를 들어, 코르티코스테로이드 및 비스테로이드성 항염증제), 식이보충제, 예컨대 암 치료를 위한 항산화제 또는 완화 치료, 방사선 치료법, 및/또는 자가면역 질환 치료를 위한 면역 세포 상의 Fc 수용체에 대한 항체를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0756] **투여 방법**

[0757] 본원에 기술된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질 중 임의의 것을 포함하는 치료 조성물은 이를 필요로 하는 대상체에게 주사, 주입, 이식, 또는 장기 이식을 포함하되 이에 한정되지 않는 임의의 편리한 방식으로 투여될 수 있다. 본원에 기술된 조성물은 이를 필요로 하는 대상체에게 피하로, 피내로, 종양내로, 결절내로, 수질내로, 근육내로, 두개내로, 정맥내 또는 림프내 주사에 의해, 또는 복강내로 투여될 수 있다. 일 구현예에서, 본 발명의 세포 조성물은 바람직하게는 정맥내 주사에 의해 투여된다.

[0758] 특정 구현예에서, 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질은 정맥내 주입에 의해, 즉 일정 기간에 걸쳐 포유류의 정맥에 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질을 도입함으로써 포유류에게 투여된다. 특정 구현예에서, 기간은 약 5분, 약 10분, 약 30분, 약 1시간, 약 2시간, 약 4시간, 또는 약 8시간이다.

[0759] 일부 구현예에서, 종양 부위에 대한 조성물의 국소화를 강화하고 B7-H4 발현 비표적 세포에 대한 독성을 감소시키기 위해 조성물은 종양 또는 종양 미세환경에 직접 투여된다.

[0760] **투여 요법**

[0761] 본 발명의 이 양태에 따른 방법은 본 발명의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 다회 용량을 대상체에게 순차적으로 투여하는 단계를 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "순차적 투여"는 본 발명의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 각 용량이 상이한 시점에, 예를 들어 소정 간격(예를 들어, 수 시간, 수 일, 수 주, 또는 수 개월)으로 분리된 상이한 날에 대상체에게 투여됨을 의미한다. 본 발명은 본 발명의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 단회 초기 용량, 그 다음 본 발명의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 1회 이상의 2차 용량, 및 임의로 그 다음 본 발명의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 1회 이상의 3차 용량을 환자에게 순차적으로 투여하는 단계를 포함하는 방법을 포함한다. 본 발명의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질은 0.01 mg/kg 내지 100 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있다.

[0762] 특정 구현예에서, 화합물 또는 조성물의 용량은 대상체에게 매일, 격일로, 2일에 1회, 3일에 1회, 1주에 1회, 1주에 2회, 1주에 3회, 2주에 1회, 또는 1개월에 1회 투여된다. 다른 구현예에서, 화합물 또는 조성물의 2, 3, 또는 4회 용량은 대상체에게 매일, 2일에 1회, 3일에 1회, 1주에 1회, 2주에 1회, 또는 1개월에 1회 투여된다. 일부 구현예에서, 화합물 또는 조성물의 용량(들)은 2일, 3일, 5일, 7일, 14일, 21일, 또는 28일 동안 투여된다. 특정 구현예에서, 화합물 또는 조성물의 용량은 1개월, 1.5개월, 2개월, 2.5개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월 이상 동안 투여된다.

[0763] **약학적 조성물**

[0764] 다른 양태에서, 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제와 함께 제형화된 본 발명의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질의 치료 유효량을 포함하는 약학적으로 허용되는 조성물이 제공된다.

[0765] 활성 성분(들)의 용량은 사용 이유, 개별 대상체, 및 투여 방식에 따라 달라질 수 있다. 투여량은 대상체의 체중, 연령, 건강 상태, 및 화합물(들) 또는 조성물에 대한 내성을 기준으로 조정될 수 있다.

[0766] 활성제 및 부형제(들)은 당업계에 알려진 방법에 따라 조성물 및 투약 형태로 제형화될 수 있다. 본원에 제공된 약학적 조성물은 특히, 예를 들어 멸균 용액 또는 현탁액으로서 비경구 투여, 예를 들어 피하, 종양내, 근육내, 또는 정맥내 주사에 의한 투여에 적합한 것을 포함하여 고체 또는 액체 형태로 제형화될 수 있다.

[0767] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 이의 융합 단백질을 포함하는 치료 조성물은 약학적으로 허용되는 물질, 조성물, 또는 비히클일 수 있는 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제, 예컨대 액체 또는 고체 충

전제, 희석제, 담체, 제조 보조제(예를 들어, 윤활제, 활석 마그네슘, 칼슘 또는 아연 스테아레이트, 또는 스테아르산), 대상체에게 투여하기 위한 치료 화합물을 운반 또는 수송하는 데 관여하는 용매 또는 캡슐화 물질, 증량제, 염, 계면활성제, 및/또는 보존제와 제형화될 수 있다. 약학적으로 허용되는 부형제로서 작용할 수 있는 물질의 일부 예는 다음을 포함한다: 당, 예컨대 락토스, 글루코스, 및 수크로스; 전분, 예컨대 옥수수 전분 및 감자 전분; 셀룰로스 및 이의 유도체, 예컨대 나트륨 카복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 및 셀룰로스 아세테이트; 젤라틴; 활석; 왁스; 오일, 예컨대 땅콩유, 면실유, 홍화유, 호마유, 올리브유, 옥수수유, 및 대두유; 글리콜, 예컨대 에틸렌 글리콜 및 프로필렌 글리콜; 폴리올, 예컨대 글리세린, 소르비톨, 만니톨, 및 폴리에틸렌 글리콜; 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트 및 에틸 라우레이트; 한천; 완충제; 물; 등장성 식염수; pH 완충 용액; 및 약학적 제형에 사용되는 기타 무독성 상용성 물질.

[0768] 본원에 언급된 증량제는 약학적 조성물의 질량을 증가시키기 위해 첨가되고 동결건조된 형태의 제형의 물리적 구조에 기여하기 위해 첨가되는 화합물로서 설명될 수 있다. 증량제의 예는 적합한 만니톨, 글리신, 폴리에틸렌 글리콜, 및 소르비톨을 포함할 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

[0769] 치료 조성물은 임의로 계면활성제를 포함할 수 있다. 계면활성제를 사용하면, 재구성된 단백질의 응집을 감소시키고/시키거나 재구성된 제형 내 미립자의 형성을 감소시킬 수 있다. 본 발명에 따라 사용될 수 있는 적합한 계면활성제의 예는 폴리소르베이트(예를 들어, 폴리소르베이트 20 또는 80); 폴록사머(예를 들어, 폴록사머 188); 트리톤; 소듐 도데실 설페이트(SDS); 소듐 라우릴 설레이트; 소듐 옥틸 글리코시드; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일-, 또는 스테아릴-설포베타인; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일-, 또는 스테아릴-사르코신; 리놀레일-, 미리스틸-, 또는 세틸-베타인; 라우로아미도프로필-, 코카미도프로필-, 리놀레아미도프로필-, 미리스타미도프로필-, 팔미도프로필-, 또는 이소스테아라미도프로필-베타인(예를 들어, 라우로아미도프로필); 미리스타미도프로필-, 팔미도프로필-, 또는 이소스테아라미도프로필-디메틸아민; 소듐 메틸 코코일-, 또는 디소듐 메틸 올레일-타우레이트; 및 폴리에틸 글리콜, 폴리프로필 글리콜, 및 에틸렌과 프로필렌 글리콜의 공중합체(예를 들어, 플루로닉, PF68 등)를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0770] 본원에 기술된 치료 조성물에 보존제가 임의로 사용될 수 있다. 본원에 제공된 제형에 사용하기에 적합한 보존제는 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 벤잘코늄 클로라이드(알킬기가 장쇄 화합물인 알킬벤질-디메틸암모늄 클로라이드의 혼합물), 및 염화벤제토늄을 포함한다. 기타 유형의 보존제는 페놀, 부틸, 및 벤질 알코올과 같은 방향족 알코올, 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤, 카테콜, 레조르시놀, 시클로헥산올, 3-펜탄올, 및 m-크레졸을 포함한다.

[0771] 본원에 기술된 치료 조성물은 다양한 농도의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질을 가질 수 있다. 예를 들어, 조성물은 10 mg/ml 내지 200 mg/ml, 25 mg/ml 내지 130 mg/ml, 50 mg/ml 내지 125 mg/ml, 75 mg/ml 내지 110 mg/ml, 또는 80 mg/ml 내지 100 mg/ml의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질을 포함할 수 있다. 조성물은 또한 약 10 mg/ml, 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml, 70 mg/ml, 80 mg/ml, 90 mg/ml, 100 mg/ml, 110 mg/ml, 120 mg/ml, 130 mg/ml, 140 mg/ml, 또는 150 mg/ml의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 치료 조성물은 동결건조되어, 투여 전에 재구성하기 위한 조성물로 제공될 수 있다.

[0772] **진단 용도**

[0773] 본 발명의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질은, 예를 들어 진단 목적으로, 샘플에서 B7-H4를 검출하고/하거나 측정하는 데 사용될 수 있다. 본원에 개시된 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질은 암과 같은 질환 또는 장애를 검출하기 위한 분석에 사용될 수 있다. B7-H4에 대한 예시적인 진단 분석은 예를 들어, 환자로부터 얻은 샘플을 본 발명의 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계를 포함하며, 항-B7-H4 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 융합 단백질은 검출가능한 표지 또는 리포터 분자로 표지되거나, 또는 환자 샘플로부터 B7-H4를 선택적으로 단리시키기 위해 포획 리간드로서 사용되거나, 또는 대안적으로, 자체 검출가능하게 표지된 2차 항체와 조합하여 사용된다. 검출가능한 표지 또는 리포터 분자는 방사성 동위원소, 형광 또는 화학발광 모이어티, 예컨대 플루오레세인 이소티오시아네이트 또는 로다민; 또는 알칼리성 포스파타제, β-갈락토시다제, 호스래디쉬 퍼옥시다제, 또는 루시퍼라제와 같은 효소일 수 있다. 샘플에서 B7-H4를 검출하거나 측정하는 데 사용될 수 있는 특정 예시적 분석은 효소 결합 면역흡착 분석(ELISA), 방사면역분석(RIA), 및 형광 활성화 세포 분류(FACS)를 포함한다.

[0774] 본 발명의 키트는 본원에 제공된 제제, 조성물, 성분, 시약, 투여 장치, 또는 메커니즘, 또는 기타 개체의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 키트는 담체 조성물, 투여 장치, 및 병용 치료제 중 하나 이

상과 본원에 개시된 하나 이상의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편 또는 융합 단백질을 포함할 수 있다. 키트는 주사용 주사기와 같이 전달을 용이하게 하는 장치 또는 치료가 필요한 대상체에 대한 치료 조성물의 전달을 용이하게 하는 도구를 추가로 포함할 수 있다. 본원에 제공된 임의의 키트는 투여 설명서와 함께 용기, 팩, 또는 디스펜서 내에 포함될 수 있다.

[0775] 기타 모든 참고 특허 및 출원은 그 전체가 참조로 본원에 포함된다. 또한, 본원에 참조로 포함되는 참고문헌에 있는 용어의 정의 또는 사용이 본원에 제공된 해당 용어의 정의와 일치하지 않거나 반대되는 경우, 본원에 제공된 해당 용어의 정의가 적용되고 참고문헌에 있는 해당 용어의 정의는 적용되지 않는다.

[0776] 본 발명은 설명된 특정 분자, 조성물, 방법론, 또는 프로토콜로 제한되지 않으며 이들은 다양할 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 본원에 기술된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 구현예의 실시 또는 시험에 사용될 수 있다. 본 명세서의 본 발명은 이러한 특정 특징의 모든 가능한 조합을 포함한다는 것이 또한 이해되어야 한다. 예를 들어, 본원 발명의 특정 양태 또는 구현예 또는 특정 청구항의 맥락에서 특정 특징이 개시되는 경우, 해당 특징은 또한 가능한 한도까지, 본 발명의 다른 특정 양태 및 구현예의 맥락에서 및/또는 이와 조합하여, 그리고 일반적으로 본 발명에서 사용될 수 있다.

[0777] 본원에서 2개 이상의 정의된 단계를 포함하는 방법에 대한 언급이 있는 경우, 정의된 단계는 나열된 순서로 또는 임의의 순서로 또는 동시에 수행될 수 있으며(문맥상 해당 가능성이 배제된 경우는 제외), 해당 방법은 정의된 임의의 단계 이전, 정의된 두 단계 사이, 또는 정의된 모든 단계 이후에 수행되는 하나 이상의 다른 단계를 포함할 수 있다(문맥상 해당 가능성이 배제된 경우는 제외).

[0778] 본 발명의 더 나은 이해를 돕기 위해, 특정 구현에 대한 하기 실시예가 제공된다. 하기 실시예는 본 발명의 전체 범위를 제한하거나 정의하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0779] **실시예**

[0780] **실시예 1: 실시예 1 내지 21의 물질 및 방법**

[0781] *인간/마우스 B7-H4-Fc, 인간/마우스 B7-H4의 IgV 도메인, 및 인간 및 마우스 B7-H4의 IgC 도메인의 생성*

[0782] 인간 B7-H4(NCBI 수탁번호 NP_078902, Phe29-Ala258) 및 마우스 B7-H4(NCBI 수탁번호 Q7TSP5, Phe29-Pro258)에 대한 유전자를 합성하여(IDT), 인간 IgG1 Fc(NCBI 수탁번호 P01587, Pro100-Lys330)의 N-말단을 암호화하는 유전자에 융합하였다. B7-H4-Fc 융합 단백질을 암호화하는 유전자를 pcDNA 3.1(ThermoFisher)과 같은 포유류 발현 벡터에 삽입하고 Expi293F 세포(ThermoFisher)에 형질감염시켰다. 대용량 리치인(reach-In) CO2 인큐베이터(Thermo Scientific) 내에서 세포를 30℃에서 4~5일 동안 인큐베이션한 후, 맑은 상청액을 MabSelect SuRe Protein A 컬럼에 로딩하였다. 정제된 단백질을 pH 3 글리신 버퍼로 용리시켰다. pH 7.5 Tris 버퍼로 중화시킨 후, SDS-PAGE 및/또는 SE-HPLC로 단백질을 분석하였다. 동일한 방법을 사용하여 인간 및 마우스 B7-H4-Fc(Phe29-Val157)의 IgV 도메인 및 인간 B7-H4-Fc(Asp158-Ala258) 또는 마우스 B7-H4-Fc (Asp158-Pro258)의 IgC 마우스를 생성하였다.

[0783] *Superman 2.0 파지 디스플레이 라이브러리로부터의 항체 식별*

[0784] EZ-Link™ NHS-PEG4-비오틴(ThermoFisher)을 사용하여 인간 및 마우스 B7-H4-his를 비오티닐화하였다. Superman 2.0 파지 디스플레이 라이브러리(Distributed Bio)로부터 정제된 파지를 100 μg 내지 0.5 μg의 인간/마우스 B7-H4-Fc 또는 비오티닐화된 인간/마우스 B7-H4-his와 혼합하였다. 실온에서 0.5 내지 1시간 동안 인큐베이션한 후, B7-H4/파지 혼합물을 단백질 G(Fc-융합 B7-H4의 경우) 또는 스트렙(비오티닐화된 B7-H4의 경우) 자성 비드로 포획하였다. 결합되지 않은 파지를 PBS-T 및 PBS로 세척하고 100 mm 트리에틸아민(TEA)으로 용리시켰다. 용리된 파지를 pH 7.5 Tris 버퍼로 중화시키고, 대수기로 성장하는 감염 전기충격용 ER2738 대장균 세포에 사용하였다. 30℃에서 밤새 인큐베이션한 후, 박테리아를 채취하여 2YT에 글루코스, 테트라사이클린, 및 카르베니실린을 접종하는 데 사용하였다. M13 헬퍼 파지를 사용하여 대수기 박테리아를 감염시키고, 배지를 카나마이신 및 카르베니실린이 포함된 2YT로 변경하여 밤새 파지를 계속 증폭시켰다. 다음 날, 파지를 PEG로 정제하고 PBS에 재현탁시켰다. 정제된 파지를 다음 회차 패닝을 위해 준비시켰다. 패닝을 모니터링하기 위해, 개별 박테리아 콜로니를 선택하고 대수기까지 성장시켰다. M13 헬퍼 파지를 첨가하여 전술한 바와 같이 파지를 증폭시켰다. 미정제 파지 혼합물을 B7-H4 코팅된 플레이트에 첨가하였다. HRP-항-M13 항체를 사용하여 결합을 검출하였다. 일반적으로, 양성률이 50%를 초과할 때까지 3~4회의 패닝을 수행하였다.

[0785] 납의 친화도를 향상시키기 위해 경쇄 셔플링 방법을 사용하였다. 간략하게, Superman 2.0 라이브러리의 경쇄 풀

과 쌍을 이룬 납 중쇄에 의해 새로운 파지 라이브러리를 구성하였다. 더 높은 온도, 더 낮거나 높은 pH, 및 세척 버퍼 내 추가적 B7-H4 항원의 존재와 같은 가혹한 조건에서 더 높은 친화성의 항체가 확인되었다.

[0786] *scFv로부터의 IgG 전환, 발현, 및 정제*

[0787] 가변 도메인 경쇄 및 가변 중쇄를 암호화하는 유전자를 인간 IgG1 경쇄 또는 중쇄의 불변 도메인을 암호화하는 유전자에 각각 융합하였다. (가변 도메인과 불변 도메인 둘 모두를 암호화하는) 전체 단백질-암호화 서열을 pcDNA3.1(ThermoFisher)과 같은 포유류 발현 벡터에 삽입하였다. HEK293, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 또는 (ADCC 활성을 향상시키는) α1,6-푸코실트랜스퍼라제(FUT8) 형질감염된 CHO와 같은 발현 세포주에 벡터를 형질감염시켰다. 단백질 A 컬럼 및 SEC-HPLC를 사용하여 항체를 정제하여 95% 초과의 단량체를 갖는 순수한 항체를 생성하였다.

[0788] *융합 단백질 생성*

[0789] IL-15 수용체 스시 도메인(NCBI 수탁번호 EAW86418.1의 잔기 33-93) 및 성숙 IL-15(NCBI 수탁번호 P40933의 잔기 49-162)를 암호화하는 유전자를 합성하여, 항-B7-H4 항체의 중쇄를 암호화하는 서열의 3' 말단에 융합하였다 (C-말단 융합 단백질을 암호화하는 유전자를 생성함). 두 중쇄의 이종이량체를 안정화하기 위해 중쇄의 돌연변이(하나의 중쇄에 S354C 및 T366W, 다른 중쇄에 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V)를 도입하였다. pH 6에서 FcRn에 대한 항체 결합을 증가시켜 단백질의 혈청 반감기를 연장시키기 위해 항체의 Fc 영역 내 추가적 돌연변이(M428L 및 N434S)를 도입하였다. 전술한 바와 같이 융합 항체의 발현 및 정제를 수행하였다.

[0790] *용량 반응 ELISA*

[0791] 약 1~2 μg/ml의 인간 또는 마우스 B7-H4-Fc(또는 his-태그)를 ELISA 플레이트(Immuno 2HB, Thermo scientific, cat # 3455)에 4℃에서 밤새 고정화하였다. 3% PBS + 우유로 플레이트를 차단한 후, 차단된 플레이트에 연속 희석 항체를 첨가하고, 실온에서 1~1.5시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 PBS-T(0.05 %)로 세척한 후, hFab를 표적화하는 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRP)-접합 항체를 플레이트에 첨가하였다. 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)을 첨가하여 신호를 발생시킨 후, 1 N의 H_2SO_4를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 450 nm에서의 OD를 ELISA 플레이트 판독기(TECAN의 Infinite M1000)로 판독하였다. Prism의 GraphPad를 사용하여 OD450 대 항체 농도 곡선을 플롯팅하고 EC50 값을 계산하였다.

[0792] *Biacore 동역학*

[0793] CM5 센서 칩이 장착된 Biacore T200 기기를 사용하여 표면 플라즈몬 공명 실험을 수행하였다. 러닝 버퍼 HBS-EP(pH 7.4)에서 시스템을 평형화하였다. 아민-커플링 화학을 사용하여 리간드를 고정화하였다. 아민 커플링 키트를 사용하여 10 μl/분의 유량으로 5분 동안 1~4의 플로우 셀의 표면을 활성화하였다. 리간드(인간 B7-H4-Fc, 인간 B7-H4-hism, 및 마우스 B7-H4-Fc; 10 mM 아세트산나트륨(pH 5.0) 중 5 μg/ml의 농도)를 플로우 셀 2, 3, 4에 각각 50~100 RU의 밀도로 고정화하였다. 플로우 셀 1은 기준 표면으로 사용하기 위해 비워두었다. 1 M 에탄올아민(pH 8.0)을 5분간 주입하여 모든 플로우 셀 표면을 차단하였다. 동역학 결합 데이터를 수집하기 위해, 각각의 피분석물(1XHBS-EP(pH 7.4)에 희석)을 30 μl/분의 유량 및 25℃의 온도에서 100 nM 내지 0.1 nM의 농도로 4개의 플로우 셀에 주입하였다. 단백질 복합체를 180초 및 1000 또는 1200초 동안 각각 결합시키고 해리시켰다. 1.5 M NaCl/0.05 M NaOH를 30초간 주입하여 표면을 재생시켰다. Biaevaluaton 소프트웨어 내에서 사용가능한 Langmuir 피팅 옵션을 사용하여 데이터를 간단한 1:1 상호작용 모델에 피팅하였다.

[0794] *mB7-H4를 발현하는 CT26 세포주의 생성*

[0795] 뮤린 암종 CT26 세포주(CT26.CL25, cat# CRL-2639)는 ATCC로부터 입수하였다. pReceiver-M68 벡터 중 뮤린 B7-H4(Vtcn1) ORF cDNA(cat# EX-32401-M68) 및 이의 빈 대조 벡터 pReceiver-M68 벡터(cat# EX-NEG-M68)는 GeneCopoeia로부터 구입하였다. Lipofectamine® 2000 DNA 형질감염 시약을 사용하여 CT26 세포를 정제된 플라스미드로 형질감염시켰다. 48~72시간의 형질감염 후, 형질감염된 CT26 세포 콜로니를 선택하고 퓨로마이신 함유 배지에서 배양하였다. Guava® FLOW Cytometry easyCyte™ 시스템을 사용하여 PE 항-마우스 B7-H4 항체(cat# 139406, Biolegend)를 염색하여, 선택된 콜로니의 mB7-H4 발현 수준을 검출하였다.

[0796] *세포발현 B7-H4에 대한 항체/융합 단백질 결합의 FACS에 의한 평가*

[0797] 세포를 채취하고, 1회 세척한 후, 빙냉 FACS 버퍼에 1 x 10^6개 세포/ml의 농도로 재현탁시켰다. 25 μl의 세포 현탁액을 96웰 둥근 바닥 마이크로리터 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 연속 희석된 항체 또는 융합 단백질을

각 웰에 첨가하고, 4℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 1500 rpm으로 5분 동안 원심분리하여 3회 세척한 후, 4℃의 암실에서 30분 동안 2차 항체(1:200 희석)로 염색하였다. 세포를 1회 세척하고, 100 μl PBS 버퍼에 재현탁시킨 후, Guava Flow Cytometry EasyCyte 시스템을 사용하여 분석하였다.

[0798] *M-07e 세포 배양 및 증식 분석*

[0799] 15% 열비활성화된 FBS 및 20% 세포주 5637의 컨디셔닝된 배지가 보충된 IMDM 배지에서 인간 급성 거핵모구 백혈병 M-07e 세포주를 배양하였다. 항체 또는 융합 단백질의 연속 희석액을 96웰 플레이트에 첨가한 후, 세포를 완전 IMDM 배지에서 웰당 2.5 x 10^4개로 시딩하였다. 세포를 37℃에서 3일 동안 인큐베이션하고, CellTiter-Glo® 발광 세포 생존력 분석 키트를 사용하여 세포 증식을 검출하였다.

[0800] *인간 PBMC의 증식 및 T 세포 하위유형 분석*

[0801] 냉동된 인간 PBMC를 실험 당일 해동하고, 즉시 증식 분석을 위해 10% 열비활성화된 FBS가 보충된 완전 IMDM 배지에서 준비하였다. 항체의 연속 희석액을 96웰 플레이트에 첨가한 후, 세포를 웰당 1 x 10^5개 세포로 시딩하였다. 세포를 37℃에서 6일 동안 배양하고, CellTiter-Glo® 발광 세포 생존력 분석 키트를 사용하여 세포 증식을 검출하였다.

[0802] T 세포 집단 분석의 경우, 세포를 1회 세척하고, 4℃에서 10분 동안 고착성 생존력 염료 eFluor780으로 염색하였다. 세척 후, 세포를 고정하고, Foxp3 전사 인자 염색 버퍼 세트를 사용하여 투과화시킨 후, 4℃에서 1시간 동안 항-CD3-PE, 항-CD4-APC, 항-CD8α-PECy7, 및 항-Ki67-FITC로 염색하였다. Guava Flow Cytometry EasyCyte 시스템을 사용하여 증식성 CD4(CD4+Ki67+) 또는 CD8(CD8+Ki67+) T 세포 집단을 분석하고 정의하였다.

[0803] *T 세포에 의한 IFNγ 사이토카인 분비*

[0804] 인간 B7-H4 형질감염된 세포주 hB7-H4-CHO를 96웰 U자형 바닥 플레이트에 웰당 4 x 10^4개 세포로 시딩하였다. 연속 희석된 항체를 각 웰에 첨가하였다. 이펙터 세포 및 인간 T 세포(EasySep 인간 T 세포 단리 키트를 사용하여 LeuPak로부터 단리)의 세포 현탁액을 준비하고, 각 웰에 목적하는 이펙터 대 표적 세포 비(예를 들어, 5:1)로 시딩하였다. 공동배양물을 37℃에서 96시간 동안 인큐베이션하고, IFNγ 사이토카인 ELISA(R&D)를 위해 배지를 수집하였다.

[0805] *항체 내재화 분석*

[0806] 표적 세포(예컨대, SK-BR-3 MDA-MB-468 세포)를 96웰 평면 바닥 플레이트에 웰당 6,000개 세포로 시딩하고, 세포가 평평한 표면에 정착할 수 있도록 3시간 동안 인큐베이션하였다. 항체/Incucyte FabFlour 시약 혼합물(IncuCyte® Human Fabfluor-pH Red Antibody Labeling Dye)을 각 웰에 첨가하여 2 μg/ml의 최종 농도로 시험하였다. IncuCyte® 생세포 분석 시스템을 사용하여 분석 플레이트를 매시간마다 반복적으로 스캔하였다. IncuCyte® 소프트웨어로 이미지를 분석하였다.

[0807] *Promega의 ADCC 리포터 생물검정을 사용한 종양 세포 사멸의 평가*

[0808] ADCC 리포터 생물검정은 조작된 이펙터 세포를 사용한다. ADCC 리포터 생물검정 키트(hIgG1에 대한 ADCC Reporter Bioassay G7010)를 사용하여 분석을 수행하였다. 간략하게, 표적 세포를 96웰 평면 바닥 플레이트에 웰당 1.5 x10^4개 세포로 시딩하였다. 다음 날, 성장 배지를 흡인하여 제거하고, ADCC 분석 버퍼 및 항체 희석 시리즈를 각 웰에 첨가하였다. ADCC 생물검정 이펙터 세포의 세포 현탁액을 준비하고, 목적하는 이펙터 대 표적 세포 비(예를 들어, 5:1)로 시딩하였다. 37℃에서 6시간 인큐베이션한 후, Bio-Glo™ 루시퍼라제 분석 시약을 각 웰에 첨가하고 15분 동안 인큐베이션하고, 플레이트 판독기를 사용하여 발광 신호를 측정하였다.

[0809] *hPBMC에 의한 종양 세포 사멸(면역 세포 사멸 분석)*

[0810] 항체 또는 융합 단백질의 존재하에 면역 세포에 의한 종양 세포 사멸을 측정하기 위해, 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC)(단기간 분석) 또는 세포독성 T 세포 사멸(장기간 분석)을 분석하기 위한 SKB-R3/hPBMC 공동배양 모델을 설정하였다. 표적 암세포, SKB-R3 세포를 IncuCyte® CytoLight 레드 래피드 시약으로 표지하고, 96웰 평면 바닥 플레이트에 웰당 5,000개 세포로 시딩하였다. 다음 날, 성장 배지를 흡인하여 제거하고, IncuCyte® Annexin V 그린 염료 및 항체 희석액을 각 웰에 첨가하였다. 이펙터 세포, hPBMC의 세포 현탁액을 준비하고, 목

적하는 이펙터 대 표적 세포 비(10:1 또는 5:1)로 시딩하였다. IncuCyte® 생세포 분석 시스템 및 IncuCyte® 소프트웨어를 사용하여 지침에 따라 분석 플레이트를 반복적으로 스캔하고 이미지를 분석하였다.

[0811] *HEK-블루 IL-2 리포터 세포를 사용한 pSTAT5 측정*

[0812] 완전히 기능적인 IL-2 신호전달 경로를 얻기 위해 인간 배아 신장 HEK 293 세포주를 인간 JAK3 및 STAT5 유전자와 함께 인간 IL-2Rα, IL-2Rβ, 및 IL-2Rɣ 유전자로 안정적으로 형질감염시켜 HEK-Blue™ IL-2 세포를 생성하였다. 또한, STAT5-유도성 SEAP 리포터 유전자도 도입시켰다. IL-2 자극시, HEK-Blue™ IL-2 세포는 STAT5의 활성화와 그에 따른 SEAP의 분비를 유발한다. STAT5-유도된 SEAP의 수준은 QUANTI-Blue™ Solution을 사용하여 쉽게 모니터링할 수 있다.

[0813] 1 μg/ml 퓨로마이신 및 1 X HEK-Blue CLR Selection을 포함하는 (10% 열비활성화된 FBS가 보충된) 완전 DMEM 배지에서 HEK-Blue IL-2 세포를 유지하고 계대 배양하였다. 리포터 분석을 위해 세포를 완전 DMEM 배지에 2.8 x 10^5/ml로 현탁시켰다. 연속 희석된 항체 또는 융합 항체 20 μl를 먼저 96웰 평면 바닥 플레이트의 각 웰에 첨가한 다음, 세포 현탁액 180 μl를 첨가하였다. 세포를 37℃, CO_2 인큐베이터에서 20~24시간 동안 인큐베이션하였다. SEAP 수준을 QUANTI-BlueTM Solution의 지침에 따라 630 nm에서 검출하였다.

[0814] *항체 명명법*

[0815] 간단히 "X"라는 항체는 "X"라는 가변 중쇄와 "X"라는 가변 경쇄를 둘 다 포함하는 항체를 지칭한다. 예를 들어, 항체 3F2는 3F2 가변 경쇄와 3F2 가변 중쇄를 포함한다.

[0816] "X/Y"라는 항체는 "X"라는 가변 중쇄와 가변 경쇄 "Y"를 포함한다. 예를 들어, 항체 3F2/50A10은 3F2 가변 중쇄와 50A10 가변 경쇄를 포함한다.

[0817] *대조 항체*

[0818] 다음의 항체를 대조군으로 사용하였다: (1) B7-H4 IgV 도메인 결합 항체 FPA150(Five Prime), 미국 공개 US2019/0085080A1의 항체 "20502" 참조("대조 항체 1"; b7-H4의 IgV 도메인에 결합, FPA150이라고도 함), (2) B7-H4 IgC 도메인 결합 항체 6H3(Medimmune), 미국 특허 US9,574,000의 항체 "6H3" 참조("대조 항체 2"; b7-H4의 IgC 도메인에 결합), 및 (3) DP47.

[0819] **실시예 2: 고친화성 항-B7-H4 항체의 생성**

[0820] 전술한 바와 같이 파지 디스플레이를 수행하였다. 먼저, 스트렙 비드에 의해 포획된 고정된 hB7-H4-Fc 또는 비오틴-hB7-H4-his에 대한 패닝을 수행하였다. 도 1(단계 1) 참조. 이 단계에서, 다음의 항체가 확인되었다:

[0821] (1) hB7-H4에 결합하는 항체: 1A12, 1D3, 1F11, 3D1, 3F2, 4H6, 6C3, 9H2, 및 4B9(**도 2**(배치 A-1)). 항체 1A12, 1D3, 1F11, 3D1, 3F2, 4H6, 6C3, 및 9H2는 가용성 및 세포성 hB7-H4에, 특히 hB7-H4의 IgV 도메인에 결합하였다(**도 2 내지 5**). 4B9는 hB7-H4-Fc에 강력하게 결합했지만 mB7-H4에는 결합하지 않았다. hB7-H4에 대한 4B9의 결합은 IgV와 IgC 둘 모두를 필요로 했다(**도 6**).

[0822] (2) 인간 및 뮤린 hB7-H4의 IgC 도메인에 결합하는 항체: 5E4, 5F4, 5G6, 9D11, 9E1, 15B11, 24B6, 24F4, 및 30G4(**도 2**(배치 A-2) 및 **도 6 내지 7**).

[0823] (3) 인간 및 뮤린 hB7-H4의 IgV 도메인에 결합하는 항체: 31D7 및 39A11. **도 1**(배치 A-3) 및 **도 8** 참조.

[0824] 단리된 항체의 특이성 및 특이적 결합 부위는 **표 1**에 요약되어 있다.

표 1

단리된 항-B7-H4 항체의 특이성 및 특이적 결합 부위.

항체 [VH/VL]	특이성	결합 부위
1A12/1A12	인간 hB7-H4만	인간 B7-H4의 IgV 도메인
1D3/1D3	인간 hB7-H4만	인간 B7-H4의 IgV 도메인
1F11/1F11	인간 hB7-H4만	인간 B7-H4의 IgV 도메인
3D1/3D1	인간 hB7-H4만	인간 B7-H4의 IgV 도메인
3F2/3F2	인간 hB7-H4만	인간 B7-H4의 IgV 도메인
4H6/4H6	인간 hB7-H4만	인간 B7-H4의 IgV 도메인
6C3/6C3	인간 hB7-H4만	인간 B7-H4의 IgV 도메인
9H2/9H2	인간 hB7-H4만	인간 B7-H4의 IgV 도메인
4B9/4B9	인간 hB7-H4만	인간 B7-H4의 IgV 및 IgC 도메인 둘 모두
5E4/5E4	인간 및 마우스 B7-H4	h/mB7-H4의 IgC 도메인
5F4/5F4	인간 및 마우스 B7-H4	h/mB7-H4의 IgC 도메인
5G6/5G6	인간 및 마우스 B7-H4	h/mB7-H4의 IgC 도메인
9D11/9D11	인간 및 마우스 B7-H4	h/mB7-H4의 IgC 도메인
9E1/9E1	인간 및 마우스 B7-H4	h/mB7-H4의 IgC 도메인
15B11/15B11	인간 및 마우스 B7-H4	h/mB7-H4의 IgC 도메인
24B6/24B6	인간 및 마우스 B7-H4	h/mB7-H4의 IgC 도메인
24F4/24F4	인간 및 마우스 B7-H4	h/mB7-H4의 IgC 도메인
30G4/30G4	인간 및 마우스 B7-H4	h/mB7-H4의 IgC 도메인
39A11/39A11	인간 및 마우스 B7-H4	h/mB7-H4의 IgV 도메인
31D7/31D7	인간 및 마우스 B7-H4	h/mB7-H4의 IgV 도메인

[0825]

[0826] **실시예 3: 가용성 B7-H4에 대한 단리된 항-B7-H4 항체의 결합 동역학**

[0827] Biacore 분석을 사용하여 다양한 항체와 그 표적의 결합 동역학을 조사하였다. 결과는 **표 2 내지 4**에 요약되어 있다.

[0828] 항체 1D3 및 3F2는 hB7-H4에 강력하게 결합하였고, 친화도 성숙(경쇄 셔플링)을 위해 선택되었다(**도 1**(단계 B)). h/mB7-H4 교차 반응성 항체 9D11(IgC 도메인 결합 항체) 및 39A11(IgV 도메인 결합 항체)는 이들의 표적에 강력하게 결합하였고, 또한 친화도 성숙(경쇄 셔플링)을 위해 선택되었다(**도 1**(단계 B)).

표 2

hB7-H4-Fc 및 hB7-H4-his에 대한 표시된 hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체의 결합.
mB7-H4-Fc 또는 mB7-H4-his에 대한 결합은 관찰되지 않았다. n/a = 측정되지 않음.
* 친화도 성숙(경쇄 셔플링)을 위해 항체 1D3 및 3F2를 선택하였다.

항체	hB7-H4-Fc에 대한 결합 동역학			hB7-H4-his에 대한 결합 동역학		
	k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D
1A12	1.41E+05	5.04E-04	3.57E-09	2.36E+05	5.83E-04	2.47E-09
1D3*	9.02E+05	7.26E-04	8.05E-10	1.01E+06	5.58E-04	5.51E-10
1F11	1.75E+06	2.91E-03	1.66E-09	4.38E+06	4.88E-03	1.11E-09
3D1	1.12E+06	2.49E-03	2.23E-09	1.36E+05	3.88E-03	2.85E-08
3F2*	1.12E+07	1.06E-03	9.51E-11	1.19E+08	1.01E-02	8.49E-11
4B9	4.10E+05	1.18E-03	2.89E-09	4.90E+04	2.02E-04	4.13E-09
4H6	5.51E+05	1.57E-03	2.86E-09	9.03E+05	3.61E-03	4.00E-09
6C3	1.29E+05	1.40E-03	1.09E-08	3.15E+05	1.99E-03	6.30E-09
9H2	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d

[0829]

표 3

hB7-H4-Fc 및 hB7-H4-his에 대한 항-h/mB7-H4 항체의 결합. n/a = 사용할 수 없음. 친화도 성숙(경쇄 셔플링)을 위해 항체 39A11을 선택하였다.

항체	hB7-H4-Fc에 대한 결합 동역학			hB7-H4-his에 대한 결합 동역학		
	k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D
5E4	3.87E+05	4.52E-03	1.17E-08	4.53E+05	4.55E-03	1.00E-08
5F4	1.92E+05	2.88E-03	1.50E-08	1.99E+05	3.29E-03	1.66E-08
5G6	1.87E+05	2.26E-03	1.21E-08	3.77E+05	1.96E-03	5.19E-09
9D11	3.74E+05	6.74E-04	1.80E-09	6.47E+05	5.49E-04	8.50E-10
9E1	2.72E+05	3.72E-03	1.37E-08	7.11E+05	5.62E-03	7.91E-09
15B11	1.84E+05	7.84E-04	4.26E-09	1.11E+05	5.73E-04	5.17E-09
24B6	n/d			1.49E+05	7.89E-04	5.30E-09
24F4				2.68E+04	5.20E-03	1.94E-07
30G4				1.15E+05	6.94E-04	6.05E-09
39A11*	7.27E+05	6.74E-04	9.26E-10	n/d		
31D7	8.97E+05	7.66E-04	8.54E-10			

[0830]

표 4

mB7-H4-Fc 및 mB7-H4-his에 대한 항-h/mB7-H4 항체의 결합. n/a = 측정되지 않음. 친화도 성숙(경쇄 셔플링)을 위해 항체 39A11을 선택하였다.

항체	mB7-H4-Fc에 대한 결합 동역학			mB7-H4-his에 대한 결합 동역학		
	k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D
5E4	1.97E+05	2.79E-03	1.41E-08	1.17E+06	1.06E-02	9.09E-09
5F4	2.40E+05	2.86E-03	1.19E-08	2.56E+05	3.84E-03	1.50E-08
5G6	2.00E+05	2.61E-03	1.31E-08	2.86E+05	2.24E-03	7.83E-09
9D11	6.99E+05	4.49E-04	6.42E-10	1.85E+05	2.81E-04	1.52E-09
9E1	3.09E+05	3.28E-03	1.06E-08	2.81E+05	3.49E-03	1.24E-08
15B11	2.76E+05	9.80E-04	3.55E-09	1.18E+05	7.29E-04	6.17E-09
24B6	n/d			1.62E+05	5.52E-04	3.40E-09
24F4				1.07E+05	3.14E-03	2.92E-08
30G4				9.54E+04	6.09E-04	6.38E-09
39A11	7.30E+05	1.11E-03	1.53E-09	n/d		
31D7	8.88E+05	1.43E-03	1.61E-09			

[0831]

[0832] **실시예 4: 경쇄 셔플링에 의한 항-B7-H4 항체 3F2 및 1D3(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체)의 친화도 성숙**

[0833] 경쇄 셔플링으로 3F2 및 1D3의 친화도 성숙을 수행하였다. 이를 위해, 3F2 또는 1D3의 중쇄를 각각 1.0 x 10^8개 초과의 경쇄를 포함하는 라이브러리와 쌍을 이루도록 하였다(**도 1**(단계 B-1 및 B-2) 참조). 생성된 라이브러리를 실시예 1에 설명된 바와 같이 가혹한 조건에서 스트렙 비드에 의해 포획된 고정된 hB7-H4-Fc 또는 비오틴-hB7-H4-his에 대해 패닝하였다. 단리된 3F2 유도체 및 1D3 유도체에 대한 서열은 **표 5**에 나타나 있다.

[0834] 단리된 3F2 유도체 3F2/50A10 및 3F2/49A2는 3F2와 동일한 중쇄 서열을 갖지만, 3F2와 다른 경쇄 서열을 가졌다(**도 1**(배치 B-1)). 이들의 모 항체와 마찬가지로, 유도체 3F2/50A10 및 3F2/49A2는 hB7-H4의 IgV 도메인에만 결합하였다. 3F2 유도체 3F2/50A10 및 3F2/49A2는 모 항체 3F2보다 세포성 인간 B7-H4에 더 강한 결합을 나타냈다(**표 6**).

[0835] 단리된 1D3 유도체 1D3/47B2 및 1D3/45A2는 1D3과 동일한 중쇄 서열을 갖지만, 1D3과 다른 경쇄 서열을 가졌다(**도 1**(배치 B-2)). 이들의 모 항체와 마찬가지로, 유도체 1D3/47B2 및 1D3/45A2는 hB7-H4의 IgV 도메인에만 결합하였다. 1D3 유도체 1D3/47B2 및 1D3/45A2는 모 항체 1D3보다 세포성 인간 B7-H4에 더 강한 결합을 나타냈다(**표 6**).

[0836] 가용성 및 세포성 B7-H4에 대한 이들 항체의 결합은 **도 9 내지 10**에 나타나 있다.

표 5

항체 3F2 및 1D3 및 이들 각각의 유도체에 대한 경쇄 CDR 서열.

항체 VL	서열 번호	LCDR1	서열 번호	LCDR2	서열 번호	LCDR3
3F2	20	RASQSISSYLN	21	SSLQS	22	QQSYSTPLT
50A10	70	QASQDISNYIN	71	SRLQS	72	QQSYRSPFT
49A2	66	RASQNIDTYVN	67	SRLHT	68	QQSYTSPFT
3F2 CDR 모티프	73	X_1ASQX_2IX_3X_4YX_5N 여기서, X_1은 R 또는 Q이고 X_2는 D, N, 또는 S이고 X_3은 D 또는 S이고 X_4는 N, S, 또는 T이고 X_5는 I, L, 또는 V임	74	SX_6LX_7X_8 여기서, X_6은 R 또는 S이고 X_7은 H 또는 Q이고 X_8은 S 또는 T임	75	QQSYX_9X_{10}PX_{11}T 여기서, X_9는 R, S, 또는 T이고 X_{10}은 S 또는 T이고 X_{11}은 F 또는 L임
1D3	8	RASRSIYTWLA	9	STLQS	10	QQSYSTPYT
47B2	81	RASQTVYTWLA	82	TNLAT	83	QQSYSTSWT
45A2	77	RASQNIYTWLA	78	TNLPT	79	QQSYSTRWT
1D3 CDR 모티프	84	RAS$X_{12}X_{13}X_{14}$YTWLA 여기서, X_{12}는 Q 또는 R이고 X_{13}은 N, S, 또는 T이고 X_{14}는 I 또는 V임	85	$X_{15}X_{16}$L$X_{17}X_{18}$ 여기서, X_{15}는 S 또는 T이고 X_{16}은 N 또는 T이고 X_{17}은 A, P, 또는 Q이고 X_{18}은 S 또는 T임	86	QQSYSTX$_{19}$X$_{20}$T 여기서, X_{19}는 P, R, 또는 S이고 X_{20}은 W 또는 Y임

[0837]

표 6

항체 3F2(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체) 및 이의 유도체 및 항체 1D3(hB7-H4의 IgV 도메인에 특이적) 및 이의 유도체의 결합 특성.

항체 (VH/VL)	EC50, nM		hB7-H4에 대한 결합 동역학			EC50, nM		mB7-H4에 대한 결합 동역학		
	SK-BR-3	hB7-H4	K_a	K_d	K_D	mB7-H4/CT26	mB7-H4	K_a	K_d	K_D
3F2/3F2	0.84	0.048	1.59E+07	1.30E-03	8.19E-11	결합 없음				
3F2/50A10	**0.41**	**0.046**	**1.07E+07**	**4.13E-04**	**3.85E-11**					
3F2/49A2	0.79	0.056	8.12E+06	1.22E-04	1.50E-11					
1D3/1D3	18.6	0.044	6.37E+05	4.94E-04	7.75E-10					
1D3/47B2	36.0	0.078	5.85E+05	1.22E-04	2.09E-10					
1D3/45A2	52.1	0.041	2.32E+05	7.36E-05	3.17E-10					

[0838]

[0839] **실시예 5: 경쇄 셔플링에 의한 항-B7-H4 항체 9D11(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체)의 친화도 성숙**

[0840] 경쇄 셔플링으로 9D11의 친화도 성숙을 수행하였다. 이를 위해, 9D11의 중쇄를 1.0 x 10^8개 초과의 경쇄를 포함하는 라이브러리와 쌍을 이루도록 하였다. **도 1**(단계 B-3) 참조. 생성된 라이브러리를 실시예 1에 설명된 바와 같이 가혹한 조건에서 스트렙 비드에 의해 포획된 고정된 hB7-H4-Fc 또는 비오틴-hB7-H4-his에 대해 패닝하였다. **도 1**(단계 B) 참조. 단리된 9D11 유도체에 대한 서열은 **표 7**에 나타나 있다.

[0841] 단리된 9D11 유도체 9D11/67E12, 9D11/67C3, 9D11/67C6, 9D11/67H9, 9D11/67G3, 및 9D11/68F5는 9D11과 동일한 중쇄 서열을 갖지만, 9D11과 다른 경쇄 서열을 갖는다(**도 1**(배치 B-3)). 이들 항체에 대한 결합 친화도는 **표 8**에 나타나 있고, 가용성 및 세포성 B7-H4에 대한 이들 항체의 결합은 **도 11 내지 13**에 나타나 있다.

표 7

항체 9D11 및 이의 유도체에 대한 경쇄 CDR 서열.

[0842]

항체 VL	서열 번호	LCDR1	서열 번호	LCDR2	서열 번호	LCDR3
9D11	50	KSSQSVLYSSNNKNYLA	51	STRES	2	QQYFSTPS
67E12	88	KSSQSVLYSSNNKNYLA	89	SKRVS	90	QQYFDSPT
67C6	92	KSSQSVLSSSNNKNYLA	93	STRQS	94	QQYYSDPT
67C3	96	KSSQSVLYSSNNKNYLA	97	STRAS	98	QQYYDTPT
68F5	108	KSSRSVLSRSNNKNYLA	109	STRQF	110	QQYYDTPT
67G3	100	KSSQSVLSSSNNKNYLA	101	STRQS	102	QQYYTSPT
67H9	104	RSSQSVLYSSNNKNYLA	105	SNRKS	106	QQYYSAPT
9D11 CDR 모티프	111	$X_{21}SSX_{22}SVLX_{23}X_{24}SNNKNYLA$ 여기서, X_{21}은 K 또는 R이고 X_{22}는 Q 또는 R이고 X_{23}은 S 또는 Y이고 X_{24}는 R 또는 S임	112	$SX_{25}RX_{26}X_{27}$ 여기서, X_{25}는 K, N, T이고 X_{26}은 A, E, K, Q, 또는 V이고 X_{27}은 F 또는 S임	113	$QQYX_{25}X_{29}X_{30}PX_{31}$ 여기서, X_{25}은 F 또는 Y이고 X_{29}는 D, S, 또는 T이고 X_{30}은 A, D, S, 또는 T이고 X_{31}은 S 또는 T임

표 8

항체 9D11(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체) 및 이의 유도체의 결합 특성.

[0843]

항체 (VH/VL)	EC50, nM		hB7-H4에 대한 결합 동역학		
	SK-BR-3	hB7-H4	K_a	K_d	K_D
9D11/9D11	125.9	0.180	3.72E+05	2.22E-03	5.97E-09
9D11/67E12	8.08	0.203	1.04E+05	6.54E-04	6.30E-09
9D11/67C6	9.20	0.115	4.25E+04	6.36E-04	1.50E-08
9D11/67C3	4.06	0.112	3.45E+04	3.94E-04	1.14E-08
9D11/67G3	22.5	0.261	1.44E+05	1.53E-03	1.06E-08
9D11/68F5	**9.53**	**0.778***	**1.18E+05**	**8.42E-04**	**7.15E-09**
9D11/68H9	24.0	0.100	1.52E+05	1.08E-03	7.09E-09
항체 (VH/VL)	EC50, nM		mB7-H4에 대한 결합 동역학		
	mB7-H4/CT26	mB7-H4	K_a	K_d	K_D
9D11/9D11	122.4	0.104	4.28E+05	2.05E-03	4.78E-09
9D11/67E12	16.7	0.110	1.65E+05	7.67E-04	4.66E-09
9D11/67C6	45.7	0.082	3.36E+04	9.41E-05	2.80E-09
9D11/67C3	28.2	0.086	3.11E+04	3.23E-04	1.04E-08
9D11/67G3	45.3	0.162	1.91E+05	1.61E-03	8.46E-09
9D11/68F5	**31.8**	**0.145***	**1.52E+05**	**9.03E-04**	**5.96E-09**
9D11/68H9	54.3	0.105	1.75E+05	1.06E-03	6.08E-09

[0844] **실시예 6: 경쇄 셔플링에 의한 항-B7-H4 항체 39A11(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체)의 친화도 성숙**

[0845] 경쇄 셔플링으로 39A11의 친화도 성숙을 수행하였다. 이를 위해, 39A11의 중쇄를 1.0 x 10^8개 초과의 경쇄를 포함하는 라이브러리와 쌍을 이루도록 하였다. **도 1**(단계 B-4) 참조. 생성된 라이브러리를 실시예 1에 설명된 바와 같이 가혹한 조건에서 스트렙 비드에 의해 포획된 고정된 hB7-H4-Fc 또는 비오틴-hB7-H4-his에 대해 패닝하였다(**도 1**(단계 B)). 단리된 39A11 유도체에 대한 서열은 **표 9**에 나타나 있다.

[0846] 단리된 39A11 유도체 39A11/57H3, 39A11/57G8, 39A11/56A9, 39A11/56H7, 및 39A11/62F9는 39A11과 동일한 중쇄 서열을 갖지만, 39A11과 다른 경쇄 서열을 갖는다(**도 1**(배치 B-4)). 모체 39A11과 마찬가지로, 모든 유도체는 인간 및 마우스 B7-H4의 IgV 도메인에만 결합하였다. 39A11 유도체는 일반적으로 모 항체 39A11보다 세포성 인간 B7-H4에 더 강한 결합을 나타냈다. 가용성 및 세포성 B7-H4에 대한 이들 항체의 결합은 **표 10** 및 **도 14 내지 15**에 나타나 있다.

표 9

항체 39A11 및 이의 유도체에 대한 경쇄 CDR 서열.

항체 VL	서열 번호	LCDR1	서열 번호	LCDR2	서열 번호	LCDR3
39A11	62	RASQTIRSYLN	63	SHLQS	64	QQSYTTPYT
57H3	115	QASQDIRKYLN	116	STRES	117	QQYYSLPLT
57G8	119	RASQSIRSYLN	120	SSLQS	121	QQYYSTPLT
56A9	123	RASQSISSYLN	124	SIRES	125	QQYYTTPLT
56H7	127	RASQSISSYLN	128	SNLQS	129	QQYYTTPLT
62F9	131	RASQSVSSAVA	132	SIRES	133	QQYYSTPLT
CDR 모티프	134	X_{32}ASQ$X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$ 여기서, X_{32}는 Q 또는 R이고 X_{33}은 D, S, 또는 T이고 X_{34}는 I 또는 V이고 X_{35}는 R 또는 S이고 X_{36}은 K 또는 S이고 X_{37}은 A 또는 Y이고 X_{38}은 L 또는 V이고 X_{39}는 A 또는 N임	135	S$X_{40}X_{41}X_{42}$S 여기서, X_{40}은 H, I, N, S, 또는 T이고 X_{41}은 L 또는 R이고 X_{42}는 E 또는 Q임	136	QQX_{43}Y$X_{44}X_{45}$PX_{46}T 여기서, X_{43}은 S 또는 Y이고 X_{44}는 S 또는 T이고 X_{45}는 L 또는 T이고 X_{46}은 L 또는 Y임

[0847]

표 10

항체 39A11(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체) 및 이의 유도체의 결합 특성.

항체 (VH/VL)	EC50, nM		hB7-H4에 대한 결합 동역학		
	SK-BR-3	hB7-H4	K_a	K_d	K_D
39A11/39A11	4.17	0.080	1.73E+06	1.81E-03	1.05E-09
39A11/57H3	2.07	0.086	6.16E+05	2.95E-04	4.78E-10
39A11/57G8	**1.90**	**0.068**	**8.63E+05**	**2.61E-04**	**3.03E-10**
39A11/56A9	2.53	0.081	5.73E+05	6.91E-04	1.21E-09
39A11/56H7	2.85	0.061	5.14E+05	4.00E-04	7.79E-10
39A11/62F9	1.31	0.079	7.33E+05	6.25E-04	8.53E-10
항체 (VH/VL)	EC50, nM		mB7-H4에 대한 결합 동역학		
	mB7-H4/CT26	mB7-H4	K_a	K_d	K_D
39A11/39A11	6.73	0.136	5.21E+06	6.80E-02	1.30E-08
39A11/57H3	1.63	0.128	5.00E+05	6.22E-07	1.25E-12
39A11/57G8	**1.22**	**0.096**	**9.69E+05**	**9.66E-05**	**9.98E-11**
39A11/56A9	1.85	0.130	7.37E+05	1.02E-06	1.38E-12
39A11/56H7	1.67	0.107	6.30E+05	1.38E-07	2.19E-13
39A11/62F9	1.32	0.124	4.55E+05	8.41E-04	1.85E-09

[0848]

[0849] **실시예 3 내지 6**으로부터의 상위 3개의 항체 3F2/50A10(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 39A11/57G8(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 및 9D11/68F5(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체)를 추가 특성화를 위해 선택하였다.

[0850] **실시예 7: 가용성 및 세포발현 B7-H4에 대한 항-B7-H4 항체의 결합**

[0851] 가용성 B7-H4 또는 세포발현 B7-H4에 대한 항체 3F2/50A10(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 39A11/57G8(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 및 9D11/68F5(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체)의 결합을 각각 ELISA 또는 유세포 분석으로 측정하였다.

[0852] ELISA 실험에서는 두 항체 3F2/50A10 및 39A11/57G8 모두 hB7-H4의 IgV 도메인에 강력하게 결합한 것으로 나타났다. 항체 39A11은 mB7-H4와 교차 반응하였다. 항체 9D11/68F5는 인간 및 마우스 B7-H4의 IgC 도메인에 결합하였다(**도 16**).

[0853] 유세포 분석 실험에서는 삼중음성 유방암 세포주 MDA-MB-468 및 난소암 세포주 SK-BR-3에서 발현된 세포성 hB7-H4에 두 항체 3F2/50A10 및 39A11/57G8 모두 강력하게 결합한 것으로 나타났다. 항체 39A11/57G8 및 9D11/68F5는 mB7-H4 형질감염된 마우스 결장암 세포주 CT26에서 발현된 세포성 mB7-H4에도 결합하였다(**도 17**).

[0854] **실시예 8: 항-B7-H4 항체는 B7-H4 내재화를 유발한다**

[0855] 세포 표면 항원에 특이적인 항체는 항체/항원 복합체의 항원 매개 세포내이입을 유도할 수 있다. 항-B7-H4 항체 3F2/50A10(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 39A11/57G8(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 및 9D11/68F5(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체)와 그 표적의 결합이 항체/항원 복합체의 내재화를 유도하는지 여부를 확인하기 위해, IncuCyte® FabFluor 항체 표지 시약을 사용하였다. FabFluor는 pH-민감성 형광 프로브에 접합된 Fc-영역 표적화 Fab 단편이다. Fab-Ab 복합체가 내재화되어 산성(pH 4.5~5.5) 리소좀과 엔도좀을 통해 처리됨에 따라 형광 신호가 관찰된다.

[0856] IgC 도메인 항체 9D11/68F5 및 IgV 도메인 항체 39A11/57G8은 B7-H4와의 결합에 의해 내재화를 유발하였다(**도 18**).

[0857] **실시예 9: 항-B7-H4 항체는 T 세포 기능을 복원한다**

[0858] 세포발현 B7-H4와 T 세포 상의 그(미지의) 동족 수용체의 결합은 T 세포 사이토카인 분비 기능을 억제한다. 따라서, 항-B7-H4 항체 3F2/50A10(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 39A11/57G8(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 및 9D11/68F5(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체)가 B7-H4와 T 세포 상의 그 동족 수용체의 상호작용을 방해함으로써 T 세포 사이토카인 분비 기능(예를 들어, IFNɣ 분비)을 복원할 수 있는지 여부를 시험하였다.

[0859] IgV 결합 항체 39A11/57G8 및 3F2/50A10은 IFNɣ 분비로 측정시 T 세포 기능 복원에 높은 효능을 나타냈다(**도 19**).

[0860] **실시예 10: 항-B7-H4 항체는 종양 세포를 사멸시킨다**

[0861] 항-B7-H4 항체 3F2/50A10(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 39A11/57G8(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 및 9D11/68F5(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체)의 종양 세포 사멸 능력을 확인하기 위해, 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC) 생물검정을 사용하였다(Promega G7010/G7018). 이 분석은 다음과 같이 작용한다: 이펙터 세포(예를 들어, 자연 살해 세포)의 세포 표면 상의 FcɣRIIIa 수용체가, 예를 들어 암세포 상의 표적에 결합된 항체의 Fc 이펙터 부분에 결합하면, 이펙터 세포와 암세포의 가교가 일어난다. 이는 ADCC의 활성화로 이어진다. 이 실험에 사용된 ADCC 리포터 분석은 ADCC 경로 활성화의 초기 단계, 즉 이펙터 세포 내 NFAT(활성화된 T-세포의 핵인자) 경로를 통한 유전자 전사의 활성화를 검출한다. 또한, 이 분석은 FcɣRIIIa 수용체의 V158(고친화성) 변이체를 안정적으로 발현하는 조작된 Jurkat 세포와 이펙터 세포로서 반딧불이 루시퍼라제의 발현을 유도하는 NFAT 반응 요소를 사용한다.

[0862] 시험된 3개의 항체 모두 SK-BR-3 및 MDA-MB-468 세포를 둘 다 사멸시키는 데 효과적이었다(**도 20**).

[0863] IncuCyte® 면역 세포 사멸 분석을 사용하여 종양 세포 사멸을 또한 평가하였다. 이를 위해, ADCC를 분석하기 위한 SKBR3/hPBMC 공동배양 모델을 설정하였다.

[0864] hPBMC와 혼합된 경우, IgV 도메인 결합 항체 3F2/50A10 및 39A11/57G8은 SK-BR-3 암세포를 사멸시키는 데 효과적이었지만 음성 대조 항체 DP47은 효과적이지 않았다(**도 21**).

[0865] **실시예 11: 선택된 항-B7-H4 항체의 결합 특성**

[0866] 항-B7-H4 항체 3F2/50A10(hB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 39A11/57G8(h/mB7-H4 IgV 도메인 결합 항체), 및 9D11/68F5(h/mB7-H4 IgC 도메인 결합 항체)에 대해 항원 결합에 대한 동역학을 확인하였다(**표 11 및 12**). 이들 실험은 상기 Biacore 분석과는 별개의 실험으로 수행되었다.

표 11

항체 39A11 및 이의 유도체의 결합 특성. Ab1은 B7-H4 IgV 도메인 결합 항체 FPA150(Five Prime)이었다. Ab2는 B7-H4 IgC 도메인 결합 항체 6H3(Medimmune)이었다.

항체 (VH/VL)	EC50, nM		hB7-H4에 대한 결합 동역학		
	SK-BR-3	hB7-H4	K_a	K_d	K_D
3F2/50A10	1.18	0.082	8.67E+06	3.93E-04	4.54E-11
9D11/68F5	3.53	0.105	7.20E+04	2.13E-04	2.96E-09
39A11/57G8	2.82	0.060	9.18E+05	1.40E-04	1.52E-10
(+) 대조 Ab1	2.64	0.106	5.33E+05	2.66E-04	4.99E-10
(+) 대조 Ab2	3.37	0.222	2.04E+05	1.28E-04	6.26E-10

[0867]

표 12

항체 39A11 및 이의 유도체의 결합 특성. Ab1은 B7-H4 IgV 도메인 결합 항체 FPA150(Five Prime)이었다. Ab2는 B7-H4 IgC 도메인 결합 항체 6H3(Medimmune)이었다.

항체 (VH/VL)	EC50, nM		mB7-H4에 대한 결합 동역학		
	mB7-H4/CT26	mB7-H4	K_a	K_d	K_D
3F2/50A10	ND	ND	8.67E+06	3.93E-04	4.54E-11
9D11/68F5	9.41	0.144	7.20E+04	2.13E-04	2.96E-09
39A11/57G8	7.82	0.051	9.18E+05	1.40E-04	1.52E-10
(+) 대조 Ab1	2.06	0.139	5.33E+05	2.66E-04	4.99E-10
(+) 대조 Ab2	18.36	0.289	2.04E+05	1.28E-04	6.26E-10

[0868]

[0869] **실시예 12: 항-B7-H4 항체를 포함하는 융합 단백질의 구성**

[0870] 항-B7-H4 항체를 포함하는 여러 이종이량체, C-말단 융합 단백질을 생성하였다(**표 13**). **도 1b**에 도시된 바와 같이, 융합 단백질은 제1 중쇄(N-말단에서 C-말단으로 가변 영역 및 불변 영역 포함), 제2 중쇄(N-말단에서 C-말단으로 가변 영역, 불변 영역, IL-15R알파 스시 도메인, 및 IL-15 포함), 및 2개의 경쇄를 포함하였다. 소위 노브-인투-홀(CW-CSAV) 돌연변이를 항체의 Fc 영역에 도입하여 이종이량체를 더욱 안정화함으로써 이종이량체화를 달성하였다. "LS" 돌연변이(M428L/N434S)는 pH 6에서 FcRn에 대한 친화도를 증가시키고 K_{off} 속도를 낮추어, 혈청 반감기를 연장시킨다. 마지막으로, IL-15 내 N65S 돌연변이는 림프구 증식을 자극하는 IL-15의 능력을 감소시킨다.

표 13

융합 단백질의 구조. HC1 = 중쇄 1. HC2 = 중쇄 2. WT = 야생형 Abl 은 B7-H4 IgV 도메인 결합 항체 FPA150(Five Prime)이었다.

융합 단백질에 사용된 항체 (VH/VL)	항원	융합 단백질	HC1		HC2			불변 영역 돌연변이	LC	
			명칭	서열번호	명칭	서열번호	IL-15		명칭	서열번호
(+) 대조 항체 1 (20502)	h/m B7-H4 의 IgV 도메인	(+) Abl/IL15	20502 HC1	147	20502 HC-2	154	N65S	HC1: S354C, T366W. HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V	20502 LC	143
39A11/ 57G8	h/m B7-H4 의 IgV 도메인	39A11/57G8-IL15 (57G8/IL15 라고도 함)	39A11 HC1	148	39A11-HC2	155	N65S	HC1: S354C, T366W. HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V	57G8 LC	144
39A11/ 57G8	h/m B7-H4 의 IgV 도메인	39A11/57G8-IL15-LS (57G8/IL15- LS 라고도 함)	39A11 HC1-LS	149	39A11-HC2-LS	156	N65S	HC1: S354C,T366W; M428L, N434S HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V, M428L, N434S	57G8 LC	144
3F2/ 50A10	hB7-H4 의 IgV 도메인	3F2/50A10-IL15 (50A10/IL15 라고도 함)	3F2 HC1	150	3F2 HC1	157	N65S	HC1: S354C, T366W. HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V	50A10 LC	145
3F2/ 50A10	hB7-H4 의 IgV 도메인	3F2/50A10-IL15-LS (50A10/IL15- LS 라고도 함)	3F2 HC1-LS	151	3F2 HC2-LS	158	N65S	HC1: S354C,T366W; M428L, N434S HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V, M428L, N434S	50A10 LC	145
DP47	관련 없는 대조 항원	DP47/IL15	DP47 HC1	152	DP47 HC2	159	N65S	HC1: S354C, T366W. HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V	DP47 LC	146
DP47	관련 없는 대조 항원	DP47/IL15-LS	DP47 HC1-LS	153	DP47 HC2-LS	160	N65S	HC1: S354C,T366W; M428L, N434S HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V, M428L, N434S	DP47 LC	146

[0871]

[0872] **실시예 13: 가용성 B7-H4에 대한 항-B7-H4 항체를 포함하는 융합 단백질의 결합**

[0873] 가용성 B7-H4에 대한 융합 단백질 57G8/IL15 및 50A10/IL15의 결합을 Biacore 및 ELISA로 측정하였다. Biacore 분석의 결과는 **표 14**에 나타나 있다.

[0874] 모 항체와 마찬가지로, 융합 단백질 50A10/IL15는 hB7-H4(IgV 도메인)에만 결합하였고, 57G8/IL15는 h/m B7-H4(IgV 도메인)에 결합하였다(**표 14**와 **도 22 및 23** 참조). ELISA 및 Biacore 둘 모두에서 항체와 융합 항체 사이에 가용성 B7-H4에 대한 결합의 유의미한 차이는 관찰되지 않았다.

표 14

가용성 B7-H4에 대한 결합에 대한 항-B7-H4 항체를 포함하는 융합 단백질의 결합 친화도(K_D [M]). (+) **Abl** = B7-H4 IgV 도메인 항체 FPA150(Five Prime).

	(+) Abl	(+) Ab/IL15	39A11/57G8	57G8/IL15	3F2/50A10	50A10/IL15
항체	✓		✓		✓	
융합 단백질		✓		✓		✓
hB7-H4 Fc	4.50E-10	6.47E-10	1.07E-10	2.19E-10	4.33E-11	1.01E-10
hB7-H4 his	1.10E-10	1.80E-10	3.55E-11	4.54E-11	1.55E-11	2.59E-11
mB7-H4 Fc	5.09E-10	7.61E-10	5.18E-11	1.07E-10	결합 없음	

[0875]

[0876] **실시예 14: 세포발현 B7-H4에 대한 항-B7-H4 항체를 포함하는 융합 단백질의 결합**

[0877] FACS를 사용하여 세포발현 B7-H4에 대한 융합 단백질의 결합을 평가하였다. 항체 3F2/50A10 및 융합 단백질 3F2/50A10은 SK-BR-3에서 발현된 인간 B7-H4에 결합하였다(**도 24a 및 24c**). 항체 39A11/57G8 및 융합 단백질 57G8/IL15는 각각 SK-BR-3 및 mB7-H4-CT26에서 발현된 인간 및 마우스 B7-H4 둘 모두에 결합하였다(**도 24b 및 24d**).

[0878] 두 항체 39A11/57G8 및 3F2/50A10 모두 삼중음성 유방암 세포주 MDA-MB-468 및 삼중음성 유방암 세포주 MX-1에

서 발현된 B7-H4에 결합하였다(**도 25** 및 **표 15**). 39A11/57G8 또는 3F2/50A10을 각각 포함하는 IL-15 융합 단백질은 또한, MDA-MB-468 및 MX-1에서 발현된 B7-H4에 이들의 각각의 모 단일특이적 항체와 유사한 친화도로 결합하였다(**도 25** 및 **표 15**).

표 15

MDA-MB-468 및 MX-1 세포에서 발현된 B7-H4에 대한 표시된 항체 및 융합 단백질의 결합에 대한 EC50 값.

	39A11/57G8	3F2/50A10	57G8/IL-15	50A10/IL-15
항체	✓	✓		
융합 단백질			✓	✓
MDA-MB-468 EC50 [nM]	13.07	0.416	29.63	0.398
MX-1 세포 EC50 [nM]	8.87	0.120	24.79	0.162

[0879]

[0880] **실시예 15: 항-B7-H4 항체를 포함하는 융합 단백질은 종양 세포/hPBMC 공동배양 모델에서 종양 세포를 사멸시킨다**

[0881] IncuCyte® 면역 세포 사멸 분석을 사용하여, 항-B7-H4 항체를 포함하는 융합 단백질의 종양 세포 사멸 능력을 평가하였다. 이를 위해, ADCC를 분석하기 위한 SKBR3/hPBMC 공동배양 모델 또는 MDA-MB-468/hPBMC 공동배양 모델을 설정하였다. 더 낮은 이펙터 세포와 표적 세포 비(5:1)에서 종양 세포 사멸을 시험하였고; Incucyte로 96시간까지 세포 성장을 모니터링하였다.

[0882] 융합 단백질 57G8/IL15 및 50A10/IL15 융합체는 각각 이들의 모 항체 39A11/57G8 및 3F2/50A10보다 더 강력한 사멸을 나타냈다. 융합 단백질 50A10/IL15 및 57G8/IL15 융합체는 표적화되지 않은 융합 DP47/IL15보다 더 강력한 사멸을 나타냈다(**도 26**).

[0883] 융합 단백질 57G8/IL15 또는 50A10/IL15로 각각 7일간 처치한 후, MDA-MB-468 세포의 대부분이 사멸되었다(**도 26e**).

[0884] **실시예 16: hPBMC 증식에 대한 항-B7-H4 항체를 포함하는 융합 단백질의 효과**

[0885] hPBMC 증식에 대한 항체 39A11/57G8 및 3F2/50A10과 융합 단백질 57G8/IL15 및 50A10/IL15의 효과를 확인하였다. 항체 DP47 및 DP47을 포함하는 IL-15 융합 단백질을 대조군으로 사용하였다. 모든 융합체는 B7-H4를 발현하지 않는 인간 PBMC에서 림프구 증식을 유도하는 유사한 능력을 나타냈다(**도 27a**). $CD4^+$ T 세포보다 더 많은 $CD8^+$ T가 확장되었다(**도 27b 및 27c**).

[0886] **실시예 17: 항-B7-H4 항체를 포함하는 융합 단백질은 STAT5 신호전달 경로를 활성화한다**

[0887] IL-2 수용체를 통해 p-STAT5 신호 경로를 활성화하는 융합 단백질 57G8/IL15 및 50A10/IL115의 능력을 조사하였다. DP47을 포함하는 IL-15 융합 단백질을 대조군으로 사용하였다. 모든 융합체는 IL-2Rβγ 하류의 STAT5 경로를 활성화하는 유사한 효능을 나타냈다(**도 28**).

[0888] **실시예 18: 항-B7-H4 항체를 포함하는 융합 단백질은 Promega 생물검정에서 종양 세포를 사멸시킨다**

[0889] 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC) 생물검정(Promega)을 사용하여 융합 단백질 57G8/IL15 및 50A10/IL115의 종양 세포 사멸 능력을 평가하였다.

[0890] 항체 39A11/57G8 및 3F2/50A10과 융합 단백질 57G8/IL15 및 50A10/IL15는 SK-Br-3 및 MDA-MB-468 세포의 B7-H4 매개 ADCC를 유발하였다(**도 29**). MDA-MB-468 세포에서, 3F2/50A10 및 50A10/IL-15는 MDA-MB-468 세포에서 발현된 B7-H4에 대한 항체의 증가된 결합으로 인해 39A11/57G8 및 57G8/IL-15보다 더 강력한 ADCC 기능을 나타냈다.

[0891] **실시예 19: 가용성 B7-H4에 대한 융합 단백질(항-B7-H4 항체 및 LS 돌연변이 포함)의 결합**

[0892] 항체의 불변 영역 내 "LS" 돌연변이(M428L/N434S)는 pH 6에서 FcRn에 대한 친화도를 증가시키고 K_{off} 속도를 낮추어, 혈청 반감기를 연장시킨다.

[0893] 융합 단백질 57G8/IL-15, 57G8/IL-15_LS, 50A10/IL-15, 및 50A10/IL-15_LS는 가용성 인간 B7-H4Fc 및 인간 B7-

H4his에 결합하였다. 이들 4개의 융합 단백질에서 결합의 차이는 관찰되지 않았다(**도 30a 및 30c**) 융합 단백질 57G8/IL-15 및 57G8/IL-15_LS만이 가용성 마우스 B7-H4Fc 및 마우스 B7-H4his에 결합하였다. 57G8/IL-15_LS 및 57G8/IL-15에서 결합의 차이는 관찰되지 않았다(**도 30b 및 30d**).

[0894] **실시예 20: 세포발현 B7-H4에 대한 융합 단백질(항-B7-H4 항체 및 LS 돌연변이 포함)의 결합**

[0895] FACS를 사용하여 세포발현 B7-H4에 대한 융합 단백질의 결합을 평가하였다.

[0896] 융합 단백질 57G8/IL-15, 57G8/IL-15_LS, 50A10/IL-15, 및 50A10/IL-15_LS는 모두 인간 종양 세포 발현 B7-H4에 결합하였다. 융합 단백질 50A10/IL-15 및 50A10/IL-15_LS는 융합 단백질 57G8/IL-15 or 57G8/IL-15_LS보다 SK-BR-3 세포에 대한 더 강한 결합을 나타낸다(**도 31a**). 융합 단백질 57G8/IL-15 및 57G8/IL-15_LS는 뮤린 종양 세포주 CT-26에 형질감염된 마우스 B7-H4에 결합하였다(**도 31b**). 57G8/IL-15와 비교하여 57G8/IL-15_LS에서, 또는 50A10/IL-15와 비교하여 50A10/IL-15_LS에서 결합의 차이는 관찰되지 않았다(**도 31**).

[0897] **실시예 21: IL-2 의존성 M07e 세포의 증식을 유도하는 융합 단백질(항-B7-H4 항체 및 LS 돌연변이 포함)의 능력**

[0898] IL-2 의존성 M07e 세포의 증식을 유도하는 융합 단백질 57G8/IL-15, 57G8/IL-15_LS, 50A10/IL-15, 및 50A10/IL-15_LS의 능력을 확인하였다. 모든 융합체는 M07e 세포의 증식을 유도할 수 있었다(**도 32**).

[0899] **서열**

표 16

[0900] **인간 B7H4의 IgV 도메인에 결합하는 항체 (3F2 및 유도체)**

유형	3F2	유형	3F2	49A2	50A10	3F2 CDR 모티프
	서열번호		서열번호	서열번호	서열번호	서열번호
VH	15	VL	19	65	69	
CDR1H	16	CDR1L	20	66	70	73
CDR2H	17	CDR2L	21	67	71	74
CDR3H	18	CDR3L	22	68	72	75

표 17

[0901] **인간 B7H4의 IgV 도메인에 결합하는 항체 (1D3 및 유도체)**

유형	1D3	유형	1D3	45A2	47B2	1D3 CDR 모티프
	서열번호		서열번호	서열번호	서열번호	서열번호
VH	3	VL	7	76	80	
CDR1H	4	CDR1L	8	77	81	84
CDR2H	5	CDR2L	9	78	82	85
CDR3H	6	CDR3L	10	79	83	86

표 18

[0902] **인간 및 뮤린 hB7-H4의 IgC 도메인에 결합하는 항체 (9D11 및 유도체)**

유형	9D11	유형	9D11	67E12	67C6	67C3	67G3	67H9	68F5	9D11 CDR 모티프
	서열번호		서열번호	서열번호	서열번호	서열번호	서열번호	서열번호	서열번호	서열번호
VH	45	VL	49	87	91	95	99	103	107	
CDR1H	46	CDR1L	50	88	92	96	100	104	108	111
CDR2H	47	CDR2L	51	89	93	97	101	105	109	112
CDR3H	48	CDR3L	52	90	94	98	102	106	110	113

표 19

인간 및 뮤린 hB7-H4의 IgV 도메인에 결합하는 항체 (39A11 및 유도체)

[0903]

유형	39A11	유형	39A11	57H3	57G8	56A9	56H7	62F9	39A11 CDR 모티프
	서열 번호		서열 번호	서열 번호	서열 번호	서열 번호	서열 번호	서열 번호	서열 번호
VH	57	VL	61	114	118	122	126	130	
CDR1H	58	CDR1L	62	115	119	123	127	131	134
CDR2H	59	CDR2L	63	116	120	124	128	132	135
CDR3H	60	CDR3L	64	117	121	125	129	133	136

표 20

항체 서열.

[0904]

항체	설명	서열 번호	서열
인간 B7H4의 IgV 도메인에 결합하는 항체			
1A12	VH	1	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTE DTAVYYCARHGWDAFDIWGQGTLVTVSS
1A12	VL	2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNRLNWYQQKPGKAPKLLIYLASSLQGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QAISFPLTFGGGTKVEIK
1D8	VH	3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFNTHAMH**WVRQAPGKGLEWVS**AISGSGGSTYYADSVKG**RFTISRDISKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAR**LLGRFGEYGMDV**WGQGTTVTVSS
1D8	CDR1H	4	GFTFNTHAMH
1D8	CDR2H	5	AISGSGGSTYYADSVKG
1D8	CDR3H	6	LLGRFGEYGMDV
1D8	VL	7	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASRSIYTWLA**WYQQKPGKAPKLLIYDA**STLQS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**Q QSYSTPYT**FGGGTKVEIK
1D8	CDR1L	8	RASRSIYTWLA
1D8	CDR2L	9	STLQS
1D8	CDR3L	10	QQSYSTPYT
1F11	VH	11	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFTTYQIHWVRQAPGQGLEWMGGIMPIFGTTKYAQNFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARRNYGMDVWGQGTTVTVSS
1F11	VL	12	DIVMTQSPISLAVSLGERATINCKSSQSLLYRPVNKNFLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRGSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV ATYFCQQYYSTPITFGQGTKVEIK
3D1	VH	13	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYSFISYAITWVRQAPGQGLEWIGGINPIFGTAKYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCAKGQALIQHWGQGTLVTVSS
3D1	VL	14	DIVMTQSPISLAVSLGERATINCKSSQSVLSSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVYYCQQYYSTPLAFGQGTKVEIK
3F2	VH	15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFTAQYMY**WVRQAPGQGLEWMG**RINPTSGNTVYAQKLQG**RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAR**GINWFDP**WGQGTLVTVSS

[0905]

항체	설명	서열 번호	서열
3F2	CDR1H (EU 인덱스 넘버링)	16	GYTFTAQYMY
3F2	CDR2H (EU 인덱스 넘버링)	17	RINPTSGNTVYAQKLQG
3F2	CDR3H (EU 인덱스 넘버링)	18	GINWFDP
3F2	CDR1H (Kabat EU 인덱스 넘버링)	172	AQYMY
3F2	CDR2H (Kabat EU 인덱스 넘버링)	173	RINPTSGNTVYAQKLQG
3F2	CDR3H (Kabat EU 인덱스 넘버링)	174	GINWFDP
3F2	CDR1H (IGMT)	178	GYTFTAQY
3F2	CDR2H (IGMT)	179	INPTSGNT
3F2	CDR3H (IGMT)	180	ARGINWFDP

항체	설명	서열 번호	서열
3F2	CDR1H (Chothia)	184	GYTFTAQ
3F2	CDR2H (Chothia)	185	PTSG
3F2	CDR3H (Chothia)	186	INWFD
3F2	VL	19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSISSYLN**WYQQKPGKAPKLLIYAA**SSLQS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ**QSYSTPLT**FGGGTKVEIK
3F2	CDR1L	20	RASQSISSYLN
3F2	CDR2L	21	SSLQS
3F2	CDR3L	22	QQSYSTPLT
4H6	VH	23	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARTQWRASLDPWGQGTLVNVSS
4H6	VL	24	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISYWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QTTMSPYTFGQGTKVEIK
6C3	VH	25	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVASISGTGFTTRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARGGWFRDTPVDYWGQGTLVTVSS
6C3	VL	26	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYGASSLRSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCMQASHWPPTFGQGTRLEIK
9H2	VH	27	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSTYAINWVRQAPGQGLEWMGGINPMFGTARYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARGRLHRHWGQGTLVTVSS
9H2	VL	28	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVYYCQQYYTTPITFGQGTRLEIK
인간 B7H4의 IgV 및 IgC 도메인 둘 모두에 결합하는 항체			
4B9	VH	29	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARGQGRYLNYYYMDVWGKGTTVTVSS
4B9	VL	30	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSQGISNYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPFTFGPGTKVDIK

[0906]

항체	설명	서열 번호	서열
인간 및 뮤린 hB7-H4의 IgC 도메인에 결합하는 항체			
15B11	VH	31	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMGWMNPHSGHTGYAQNLQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARVKVTTGFDYWGQGTLVTVSS
15B11	VL	32	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCMQGTHWPPTFGQGTKLEIK
24B6	VH	33	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWIGWMNPNSGDTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAKVGAYGGMDVWGQGTTVTVSS
24B6	VL	34	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYGGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCMQGTHWPPTFGPGTKVDIK
24F4	VH	35	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYRFTGIYIHWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGLAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARVLGFSGGMDVWGQGTTVTVSS
24F4	VL	36	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYAASSLRSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCMQGTHWPPTFGQGTKLEIK
3OG4	VH	37	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSYYMHWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGDTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARVPETGGMDVWGQGTTVTVSS
3OG4	VL	38	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYGASSLHSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCMQGTHWPPTFGQGTKVEIK
5B4	VH	39	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARGELWFGEFDYYYYYGMDVWGQGTTVTVSS
5B4	VL	40	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QADRIPFTFGRGTKVEIK
5F4	VH	41	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAIGGSGRTTYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTE DTAVYYCARERGYSYGQIDYWGQGTLVTVSS
5F4	VL	42	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYAASSLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCMQGAHWPLTFGQGTKVEIK
5G5	VH	43	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWLGWVNPNTGTTRFAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARDANYYYGMDVWGQGTMVTVSS

[0907]

[0908]

항체	설명	서열 번호	서열
5G5	VL	44	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV ATYYCQKYNSALPITFGQGTRLEIK
9D11	VH	45	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFTSYGIS**WVRQAPGQGLEWVG**VINPNGGTTTYAQTFQG**RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAR**TGYSSGWAFDY**WGRGTLVTVSS
9D11	CDR1H	46	GYTFTSYGIS
9D11	CDR2H	47	VINPNGGTTTYAQTFQG
9D11	CDR3H	48	TGYSSGWAFDY
9D11	VL	49	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSVLYSSNNKNYLA**WYQQKPGQPPKLLIYWA**STRES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVYYC**QQYFSTPS**FGQGTKVEIK
9D11	CDR1L	50	KSSQSVLYSSNNKNYLA
9D11	CDR2L	51	STRES
9D11	CDR3L	52	QQYFSTPS
9E1	VH	53	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNSAQRFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARVRGYEGGMDVWGQGTTVTVSS
9E1	VL	54	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCMQGSHWPPTFGQGTRLEIK
인간 및 뮤린 hB7-H4의 IgV 도메인에 결합하는 항체			
31D7	VH	55	EVQLLESGGGLVQPGGSXRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARIGSGGSLDYWGQGTLVTVSS
31D7	VL	56	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYTIPITFGQGTRLEIK
39A11	VH	57	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSSYGMH**WVRQAPGKGLEWVA**SISSSSSGYIYYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAR**ASSGMDV**WGQGTTVTVSS
39A11	CDR1H	58	GFTFSSYGMH
39A11	CDR2H	59	SISSSSGYIYYADSVKG
39A11	CDR3H	60	ASSGMDV
39A11	VL	61	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQTIRSYLN**WYQQKPGKAPKLLIYAA**SHLQS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ **QSYTTPYT**FGQGTKLEIK

[0909]

항체	설명	서열 번호	서열
39A11	CDR1L	62	RASQTIRSYLN
39A11	CDR2L	63	SHLQS
39A11	CDR3L	64	QQSYTTPYT
hB7-H4에 결합하는 항체: 3F2 유도체			
49A2	VL	65	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQNIIDTYVN**WYQQKPGKAPKLLIYAA**SRLHT**VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQ SYTSPFT**FGGGTKVEIK
49A2	CDR1L	66	RASQNIIDTYVN
49A2	CDR2L	67	SRLHT
49A2	CDR3L	68	QQSYTSPFT
50A10	VL	69	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**QASQDISNYIN**WYQQKPGKAPKLLIYAA**SRLQSG**VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ **QSYRSPFT**FGQGTKLEIK
50A10	CDR1L (EU 인덱스 넘버링)	70	QASQDISNYIN
50A10	CDR2L (EU 인덱스 넘버링)	71	SRLQS
50A10	CDR3L (EU 인덱스 넘버링)	72	QQSYRSPFT
50A10	CDR1L (Kabat EU 인덱스 넘버링)	175	SQDISNY
50A10	CDR2L (Kabat EU 인덱스 넘버링)	176	AAS

[0910]

항체	설명	서열 번호	서열
5QA10	CDR3L (Kabat EU 인덱스 넘버링)	177	SYRSPF
5QA10	CDR1L (IGMT)	181	SQDISNY
5QA10	CDR2L (IGMT)	182	AAS
5QA10	CDR3L (IGMT)	183	SYRSPF
5QA10	CDR1L (Chothia)	187	QASQDISNYIN
5QA10	CDR2L (Chothia)	188	AASRLQS
5QA10	CDR3L (Chothia)	189	QQSYRSPFT
3F2 CDR 모티프	CDR1L	73	X_1ASQX_2IX_3X_4YX_5N 여기서, X_1은 R 또는 Q이고 X_2는 D, N, 또는 S이고 X_3은 D 또는 S이고 X_4는 N, S, 또는 T이고 X_5는 I, L, 또는 V임
3F2 CDR 모티프	CDR2L	74	SX_6L$X_7$$X_8$ 여기서, X_6은 R 또는 S이고 X_7은 H 또는 Q이고

[0911]

항체	설명	서열 번호	서열
			X_8은 S 또는 T임
3F2 CDR 모티프	CDR3L	75	QQSYX_9X_{10}PX_{11}T 여기서, X_9는 R, S, 또는 T이고 X_{10}은 S 또는 T이고 X_{11}은 F 또는 L임
hB7-H4에 결합하는 항체: 1D3 유도체			
45A2	VL	76	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQNIYTWLA**WYQQKPGKAPKLLIYDA**TNLPT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYSTRWT**FGGGTKVEIK
45A2	CDR1L	77	RASQNIYTWLA
45A2	CDR2L	78	TNLPT
45A2	CDR3L	79	QQSYSTRWT
47B2	VL	80	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQTVYTWLA**WYQQKPGKAPKLLIYDA**TNLAT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSYSTSWT**FGGGTKVEIK
47B2	CDR1L	81	RASQTVYTWLA
47B2	CDR2L	82	TNLAT
47B2	CDR3L	83	QQSYSTSWT
1D3 CDR 모티프	CDR1L	84	RAS$X_{12}X_{13}X_{14}$YTWLA 여기서, X_{12}는 Q 또는 R이고 X_{13}은 N, S, 또는 T이고 X_{14}는 I 또는 V임
1D3 CDR 모티프	CDR2L	85	$X_{15}X_{16}$L$X_{17}X_{18}$ 여기서, X_{15}는 S 또는 T이고 X_{16}은 N 또는 T이고 X_{17}은 A, P, 또는 Q이고 X_{18}은 S 또는 T임

[0912]

항체	설명	서열 번호	서열
1D3 CDR 모티프	CDR3L	86	QQSYSTX$_{19}$X$_{20}$T 여기서, X$_{19}$는 P, R, 또는 S이고 X$_{20}$은 W 또는 Y임
인간 및 뮤린 hB7-H4의 IgC 도메인에 결합하는 항체: 9D11 유도체			
67E12	VL	87	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSVLYSSNNKNYLA**WYQQKPGQPPKLLIYWA**SKRVS**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVYYC**QQYFDSPT**FGQGTKVEIK
67E12	CDR1L	88	KSSQSVLYSSNNKNYLA
67E12	CDR2L	89	SKRVS
67E12	CDR3L	90	QQYFDSPT
67C6	VL	91	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSVLSSSNNKNYLA**WYQQKPGQPPKLLIYWA**STRQS**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVYYC**QQYYSIPT**FGQGTKVEIK
67C6	CDR1L	92	KSSQSVLSSSNNKNYLA
67C6	CDR2L	93	STRQS
67C6	CDR3L	94	QQYYSIPT
67C3	VL	95	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSVLYSSNNKNYLA**WYQQKPGQPPKLLIYWA**STRAS**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVYYC**QQYYDTPT**FGQGTKVEIK
67C3	CDR1L	96	KSSQSVLYSSNNKNYLA
67C3	CDR2L	97	STRAS
67C3	CDR3L	98	QQYYDTPT
67G3	VL	99	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSVLSSSNNKNYLA**WYQQKPGQPPKLLIYWA**STRQS**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVYYC**QQYYTSPT**FGQGTKVEIK
67G3	CDR1L	100	KSSQSVLSSSNNKNYLA
67G3	CDR2L	101	STRQS
67G3	CDR3L	102	QQYYTSPT
67H9	VL	103	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RSSQSVLYSSNNKNYLA**WYQQKPGQPPKLLIYWA**SNRKS**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVYYC**QQYYSAPT**FGQGTKVEIK
67H9	CDR1L	104	RSSQSVLYSSNNKNYLA

[0913]

항체	설명	서열 번호	서열
67H9	CDR2L	105	SNRKS
67H9	CDR3L	106	QQYYSAPT
68F5	VL	107	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSRSVLSRSNNKNYLA**WYQQKPGQPPKLLIYWA**STRQF**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVYYC**QQYYDTPT**FGQGTKVEIK
68F5	CDR1L	108	KSSRSVLSRSNNKNYLA
68F5	CDR2L	109	STRQF
68F5	CDR3L	110	QQYYDTPT
9D11 CDR 모티프	CDR1L	111	X$_{21}$SSX$_{23}$SVLX$_{25}$X$_{24}$SNNKNYLA 여기서, X$_{21}$은 K 또는 R이고 X$_{22}$는 Q 또는 R이고 X$_{23}$은 S 또는 Y이고 X$_{24}$는 R 또는 S임
9D11 CDR 모티프	CDR2L	112	SX$_{25}$RX$_{26}$X$_{27}$ 여기서, X$_{25}$는 K, N, T이고 X$_{26}$은 A, E, K, Q, 또는 V이고 X$_{27}$은 F 또는 S임
9D11 CDR 모티프	CDR3L	113	QQYX$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$PX$_{31}$ 여기서, X$_{28}$은 F 또는 Y이고 X$_{29}$는 D, S, 또는 T이고 X$_{30}$은 A, D, S, 또는 T이고 X$_{31}$은 S 또는 T임
인간 및 뮤린 hB7-H4의 IgV 도메인에 결합하는 항체: 39A11 유도체			
57H3	VL	114	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**QASQDIRKYLN**WYQQKPGKAPKLLIYAA**STRES**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**Q** **QYYSLPLT**FGQGTKLEIK
57H3	CDR1L	115	QASQDIRKYLN

항체	설명	서열 번호	서열
57H3	CDR2L	116	STRES
57H3	CDR3L	117	QQYYSLPLT
57G8	VL	118	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSIRSYLN**WYQQKPGKAPKLLIYYA**SSLQS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ**QYYSTPLT**FGQGTKVEIK
57G8	CDR1L	119	RASQSIRSYLN
57G8	CDR2L	120	SSLQS
57G8	CDR3L	121	QQYYSTPLT
56A9	VL	122	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSISSYLN**WYQQKPGKAPKLLIYAA**SIRES**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ**QYYTTPLT**FGQGTKLEIK
56A9	CDR1L	123	RASQSISSYLN
56A9	CDR2L	124	SIRES
56A9	CDR3L	125	QQYYTTPLT
56H7	VL	126	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSISSYLN**WYQQKPGKAPKLLIYAA**SNLQS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ**QYYTTPLT**FGQGTKLEIK
56H7	CDR1L	127	RASQSISSYLN
56H7	CDR2L	128	SNLQS
56H7	CDR3L	129	QQYYTTPLT
62F9	VL	130	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIYAA**SIRES**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ**QYYSTPLT**FGQGTKLEIK
62F9	CDR1L	131	RASQSVSSAVA
62F9	CDR2L	132	SIRES
62F9	CDR3L	133	QQYYSTPLT
39A11 CDR 모티프	CDR1L	134	X_{32}ASQ$X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$ 여기서, X_{32}는 Q 또는 R이고 X_{33}은 D, S, 또는 T이고 X_{34}는 I 또는 V이고 X_{35}는 R 또는 S이고

[0914]

항체	설명	서열 번호	서열
			X_{36}은 K 또는 S이고 X_{37}은 A 또는 Y이고 X_{38}은 L 또는 V이고 X_{39}는 A 또는 N임
39A11 CDR 모티프	CDR2L	135	S$X_{40}X_{41}X_{42}$S 여기서, X_{40}은 H, I, N, S, 또는 T이고 X_{41}은 L 또는 R이고 X_{42}는 E 또는 Q임
39A11 CDR 모티프	CDR3L	136	QQX_{43}Y$X_{44}X_{45}$PX_{46}T 여기서, X_{43}은 S 또는 Y이고 X_{44}는 S 또는 T이고 X_{45}는 L 또는 T이고 X_{46}은 L 또는 Y임
대조 항체			
대조 항체 1 (US20190085080A1에 기술된 항체 20502)	VH	137	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIKSGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGNIYYSGSTYYNPSLRSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARBGSYPNQFDPWGQGTLVTVSS
대조 항체 1 (US20190085080A1에 기술된 항체 20502)	VL	138	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYHSFPPTFGGGTKVEIK
대조 항체 2 (US9,574,000에	VH	139	EVQLQQSGPVLVKPGTSVKMSCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGVINPYNGDTTYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMEVNSLTFEDSAVYYCARYPESTYWGQGTLVTVSA

[0915]

항체	설명	서열 번호	서열
기술된 항체 6H3)			
대조 항체 2 (US9,574,000에 기술된 항체 6H3)	VL	140	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKVLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPLTFGAGTKLELK
DP47	VH	141	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGSGFDYWGQGTLVTVSS
DP47	VL	142	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGQGTKVEIK

[0916]

표 21

융합 단백질 서열.

융합 단백질	VH		VL		HC1		HC2		LC	
	명칭	서열 번호	명칭	서열 번호	명칭	서열 번호	명칭	서열 번호	명칭	서열 번호
(+) Ab1/IL15	20502 VH	137	20502 VL	138	20502 HC1	147	20502 HC-2	154	20502 LC	143
39A11/57G8-IL15 (57G8/IL15 라고도 함)	39A11 VH	57	57G8 VL	118	39A11 HC1	148	39A11-HC2	155	57G8 LC	144
39A11/57G8-IL15-LS (57G8/IL15-LS 라고도 함)	39A11 VH	57	57G8 VL	118	39A11 HC1-LS	149	39A11-HC2-LS	156	57G8 LC	144
3F2/50A10-IL15 (50A10/IL15 라고도 함)	3F2 VH	15	50A10 VL	69	3F2 HC1	150	3F2 HC1	157	50A10 LC	145
3F2/50A10-IL15-LS (50A10/IL15-LS 라고도 함)	3F2 VH	15	50A10 VL	69	3F2 HC1-LS	151	3F2 HC2-LS	158	50A10 LC	145
DP47/IL15	DP47 VH	141	DP47 VL	142	DP47 HC1	152	DP47 HC2	159	DP47 LC	146
DP47/IL15-LS	DP47 VH	141	DP47 VL	142	DP47 HC1-LS	153	DP47 HC2-LS	160	DP47 LC	146

[0917]

표 22

융합 단백질 서열.

설명	어떤 융합 단백질에 사용되는지	유형	주석	서열 번호	서열
20502 LC (대조 항체 1)	(+) Ab1/IL15	LC	*20502 VL*	143	*EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPAR FSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYHSFPFTFGGGTKVEIK*RTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
57G8 LC	39A11/57G8-IL15 및 39A11/57G8-IL15-LS	LC	*57G8 VL*	144	*DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRSYLNWYQQKPGKAPKLLIYVASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQVYSTPLTFGQGTKVEIK*RTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
50A10 LC	3F2/50A10-IL15 및 3F2/50A10-IL15-LS	LC	*50A10 VL*	145	*DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASRLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYRSPFTFGQGTKLEIK*RTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
DP47 LC	DP47/IL15 및 DP47/IL15-LS	LC	*DP47 VL*	146	*EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGQGTKVEIK*RTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
20502 HC1	(+) Ab1/IL15	HC1	*20502 VH*	147	*QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIKSGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGIIYYSGSTYY NPSLRSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREGSVPNQFDPWGQGTLVTVSS*AS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQV

[0918]

[0919]

설명	어떤 융합 단백질에 사용되는지	유형	주석	서열 번호	서열
					SLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
39A11 HC1	39A11/57G8-IL15	HC1	*39A11 VH*	148	*EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVASISSSSGYIYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARASSGMDVWGQGTTVTVSS*ASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
39A11 HC1-LS	39A11/57G8-IL15-LS	HC1	*39A11 VH* **LS 돌연변이**	149	*EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVASISSSSGYIYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARASSGMDVWGQGTTVTVSS*ASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV**L** HEALH**S**HYTQKSLSLSPGK
3F2 HC1	3F2/5QA10-IL15	HC1	*3F2 VH*	150	*QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAQYMYWVRQAPGQGLEWMGRIIPTSGITVYA QKLQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGIIWFDPWGQGTLVTVSS*ASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
3F2 HC1-LS	3F2/5QA10-IL15-LS	HC1	*3F2 VH* **LS 돌연변이**	151	*QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAQYMYWVRQAPGQGLEWMGRIIPTSGITVYA QKLQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGIIWFDPWGQGTLVTVSS*ASTKGP

[0920]

설명	어떤 융합 단백질에 사용되는지	유형	주석	서열 번호	서열
					SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV**L** HEALH**S**HYTQKSLSLSPGK
DP47 HC1	DP47/IL15	HC1		152	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGSGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
DP47 HC1-LS	DP47/IL15-LS	HC1	**LS 돌연변이**	153	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGSGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV**L**H EALH**S**HYTQKSLSLSPGK
20502 HC-2	(+) Abl/IL15	HC2	***20502 VH*** *IL-15Rα 스시 도메인* 링커 **IL-15**	154	***QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIKSGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGNIYYSGSTYY NPSLRSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARRGSYFNQFDPWGQGTLVTVSS***AS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQV

설명	어떤 융합 단백질에 사용되는지	유형	주석	서열 번호	서열
					SLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGS*CPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICINSGFKRKAGTS SLTECVLNKATINVAHWTTPSLKC*IRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQ**NWVN VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVESL IILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS**
39A11-HC2	39A11/57G8-IL15 융합	HC2	***39A11 VH*** *IL-15Rα 스시 도메인* 링커 **IL-15**	155	***EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVASISSSSGYIYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARASSGMDVWGQGTTVTVSS***ASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGS*CPPPMSVEHADIWVKSYSLVSRERVICIISGFKRKAGTSSLTE CVLNKATINVAHWTTPSLKC*IRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQ**NWVNVISD LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVESLIIL ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS**
39A11-HC2-LS	39A11/57G8-IL15-LS 융합	HC2	***39A11 VH*** **LS 돌연변이** *IL-15Rα 스시 도메인* 링커 **IL-15**	156	***EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVASISSSSGYIYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARASSGMDVWGQGTTVTVSS***ASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV**L** HEALH**S**HYTQKSLSLSPGS*CPPPMSVEHADIWVKSYSLVSRERVICIISGFKRKAGTSSLTE CVLNKATINVAHWTTPSLKC*IRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQ**NWVNVISD LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVESLIIL ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS**

[0921]

설명	어떤 융합 단백질에 사용되는지	유형	주석	서열 번호	서열
3F2 HC1	3F2/50A10-IL15 융합	HC2	***3F2 VH*** *IL-15Rα 스시 도메인* 링커 **IL-15**	157	***QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAQYMYWVRQAPGQGLEWMGRINPTSGNTVYA QKLQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGINWFDPWGQGTLVTVSS***ASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGS*CPPPMSVEHADIWVKSYSLVSRERVICIISGFKRKAGTSSLTE CVLNKATINVAHWTTPSLKC*IRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQ**NWVNVISD LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVESLIIL ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS**
3F2 HC2-LS	39A11/57G8-IL15-LS	HC2	***3F2 VH*** **LS 돌연변이** *IL-15Rα 스시 도메인* 링커 **IL-15**	158	***QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAQYMYWVRQAPGQGLEWMGRINPTSGNTVYA QKLQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGINWFDPWGQGTLVTVSS***ASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV**L** HEALH**S**HYTQKSLSLSPGS*CPPPMSVEHADIWVKSYSLVSRERVICIISGFKRKAGTSSLTE CVLNKATINVAHWTTPSLKC*IRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQ**NWVNVISD LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVESLIIL ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS**
DP47 HC2	DP47/IL15	HC2	***DP47 VH*** *IL-15Rα 스시 도메인* 링커 **IL-15**	159	***EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGSGFDYWGQGTLVTVSS***ASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCA

[0922]

설명	어떤 융합 단백질에 사용되는지	유형	주석	서열 번호	서열
					VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGS*CPPPMSVEHADIWVKSYSLVSRERVICIISGFKRKAGTSSLTEC VLNKATINVAHWTTPSLKC*IRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQ**NWVNVISDL KKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVESLIILA NNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS**
DP47 HC2-LS	DP47/IL15-LS	HC2	**LS 돌연변이** *IL-15Rα 스시 도메인* 링커 **IL-15**	160	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGSGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV**L**H EALH**S**HYTQKSLSLSPGS*CPPPMSVEHADIWVKSYSLVSRERVICIISGFKRKAGTSSLTEC VLNKATINVAHWTTPSLKC*IRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQ**NWVNVISDL KKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVESLIILA NNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS**

[0923]

표 23

기타 단백질 서열.

단백질	서열번호	서열
인간 B7-H4 (NCBI 수탁번호: NP_078902) *신호 펩티드* **IgV 도메인** ***IgC 도메인*** **막관통 영역**	161	*MASLGQILFWSIISIIIILAGAIA*LIIGFGISG**HMHSITVTTVASAGNIGEDGILSCTFEPDIKLSDIVIQWLKEGVLGLVH** **EFKEGKDELSEQDEMFRGRTAVFADQVVVGNASLRLKNVQLTDAGTYKCYIITSKGKGNANLEYKTG*AFSMPEVNVDYNAS*** ***SETLRCEAPRWFPQPTVVWASQVDQGANFSEVSNTSFELNSENVTMKVVSVLYNVTINNTYSCMIENDIAKATGDIKVTES*** ***EIKRRSHLQLLNSKAS*LCVSSFFAISWALLPLSPYLMLK**
뮤린 B7-H4 (NCBI 수탁번호: Q7TSP5, Phe29-Pro258) *신호 펩티드* **IgV 도메인** ***IgC 도메인*** **막관통 영역**	162	*MASLGQILFWSIIIIIILAGAIA*LIIGFGISG**KKHFITVTTFTSAGNIGEDGTLSCTFEPDIKLNGIVIQWLKEGILGLVH** **EFKEGKDDLSQQHEMFRGRTAVFADQVVVGNASLRLKNVQLTDAGTYTCYIRTSKGKGNANLEYKTG*AFSMPEINVDYNAS*** ***SESLRCEAPRWFPQPTVAWASQVDQGANFSEVSNTSFELNSENVTMKVVSVLYNVTINNTYSCMIENDIAKATGDIKVTDS*** ***EVKRRSQLQLLNSGFS*PCVFSSAFVAGWALLSLSCCLMLR**
IgG1 Fc (NCBI 수탁번호: P01857) Pro100-Lys330 밑줄 표시	163	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
전장 인간 Il-15 (NCBI 수탁번호 P40933) 성숙 단백질	164	MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHP SCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
인간 IL-15 (성숙 단백질, 잔기 N65는 볼드체로 표시)	165	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVT ESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
인간 IL-15 N65S (성숙 단백질, 잔기 N65S는 볼드체로 표시)	166	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVESLIILANNSLSSNGNVT ESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

[0924]

단백질	서열번호	서열
IL-15Rα 스시 도메인 (NCBI 수탁번호: EAW86418.1 의 잔기 33-93)	167	CPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKC
인공 서열	168	SGGSGGGGSGGGSGGGGSLQ
IL-15Rα 스시 도메인 + 링커 + Il-15 N65S *IL-15Rα 스시 도메인* 링커 **IL-15**	169	*CPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKC*IRDPALVHQRPAPPSGGSGG GGSGGGSGGGGSLQ**NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVESLI ILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS**
인공 서열	170	IRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQ
인공 서열	171	IRDPALVHQRPAPP

[0925]

표 24

인간 B7H4의 IgV 도메인에 결합하는 항체 CDR의 예 (3F2 및 5OA10)

		EU 인덱스 넘버링	Kabat EU 인덱스 넘버링 대안	IMGT	Chothia
3F2	CDR1H	GYTFTAQYMY (서열번호 16)	AQYMY (서열번호 172)	GYTFTAQY (서열번호 178)	GYTFTAQ (서열번호 184)
3F2	CDR2H	RINPTSGNTVYAQKLQG (서열번호 17)	RINPTSGNTVYAQKLQG (서열번호 173)	INPTSGNT (서열번호 179)	PTSG (서열번호 185)
3F2	CDR3H	GINWFDP (서열번호 18)	GINWFDP (서열번호 174)	ARGINWFDP (서열번호 180)	INWFD (서열번호 186)
5OA10	CDR1L	QASQDISNYIN (서열번호 70)	SQDISNY (서열번호 175)	SQDISNY (서열번호 181)	QASQDISNYIN (서열번호 187)
5OA10	CDR2L	SRLQS (서열번호 71)	AAS (서열번호 176)	AAS (서열번호 182)	AASRLQS (서열번호 188)
5OA10	CDR3L	QQSYRSPFT (서열번호 72)	SYRSPF (서열번호 177)	SYRSPF (서열번호 183)	QQSYRSPFT (서열번호 189)

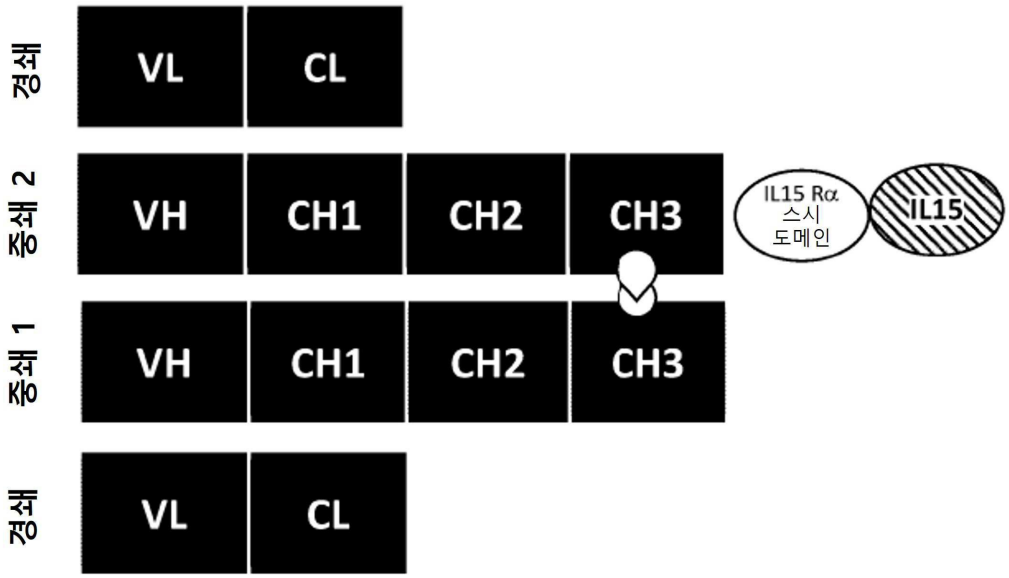
[0926]

도면

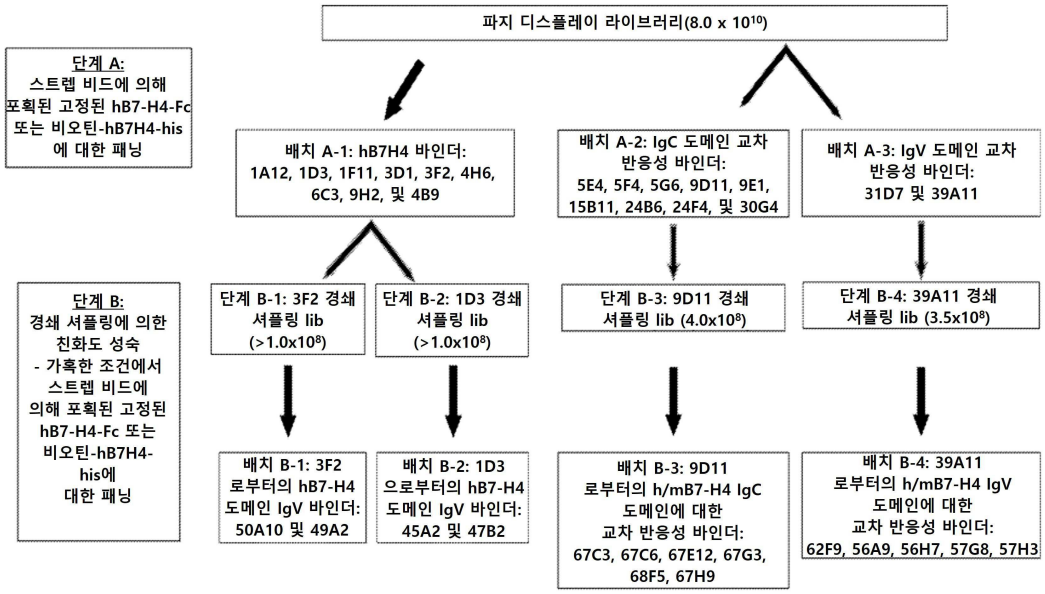
도면1a


수용체-결합
IgV 도메인
고도로
글리코실화된 IgC
도메인
줄기 영역
막관통
도메인
세포질 꼬리

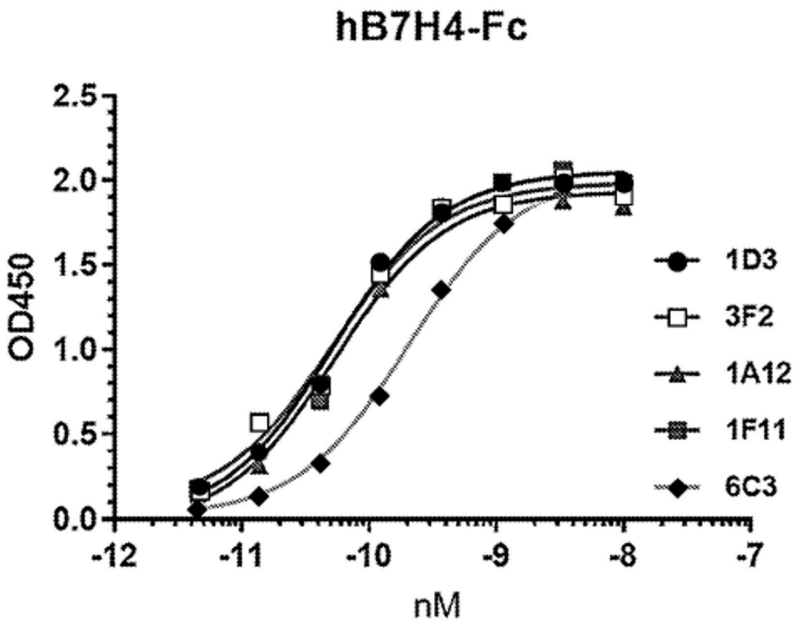
도면1b


경쇄
VL
CL
중쇄 2
VH
CH1
CH2
CH3
IL15 Rα
스시
도메인
IL15
중쇄 1
VH
CH1
CH2
CH3
경쇄
VL
CL

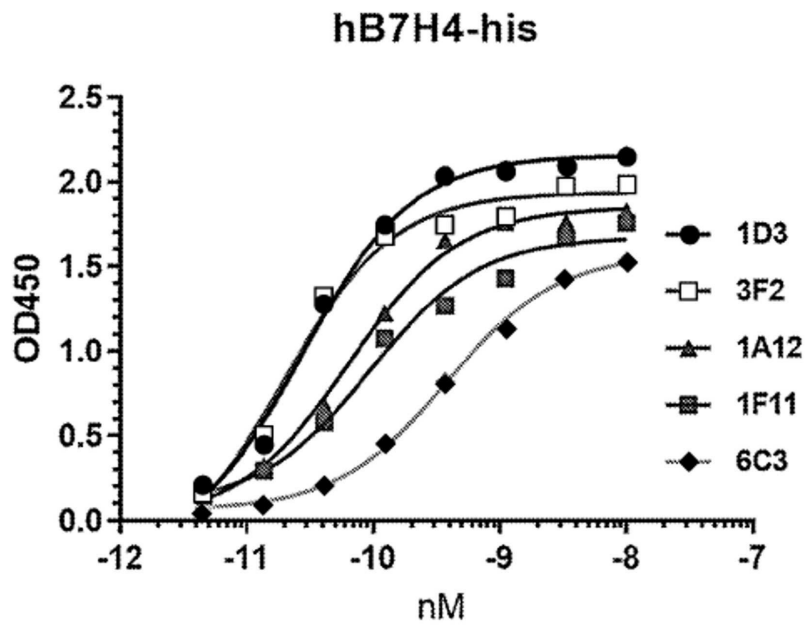
도면2


파지 디스플레이 라이브러리(8.0 x 10¹⁰)
단계 A:
스트렙 비드에 의해 포획된 고정된 hB7-H4-Fc 또는 비오틴-hB7H4-his에 대한 패닝
배치 A-1: hB7H4 바인더: 1A12, 1D3, 1F11, 3D1, 3F2, 4H6, 6C3, 9H2, 및 4B9
배치 A-2: IgC 도메인 교차 반응성 바인더: 5E4, 5F4, 5G6, 9D11, 9E1, 15B11, 24B6, 24F4, 및 30G4
배치 A-3: IgV 도메인 교차 반응성 바인더: 31D7 및 39A11
단계 B:
경쇄 셔플링에 의한 친화도 성숙
- 가혹한 조건에서 스트렙 비드에 의해 포획된 고정된 hB7-H4-Fc 또는 비오틴-hB7H4-his에 대한 패닝
단계 B-1: 3F2 경쇄 셔플링 lib (>1.0x10⁸)
단계 B-2: 1D3 경쇄 셔플링 lib (>1.0x10⁸)
단계 B-3: 9D11 경쇄 셔플링 lib (4.0x10⁸)
단계 B-4: 39A11 경쇄 셔플링 lib (3.5x10⁸)
배치 B-1: 3F2 로부터의 hB7-H4 도메인 IgV 바인더: 50A10 및 49A2
배치 B-2: 1D3 으로부터의 hB7-H4 도메인 IgV 바인더: 45A2 및 47B2
배치 B-3: 9D11 로부터의 h/mB7-H4 IgC 도메인에 대한 교차 반응성 바인더: 67C3, 67C6, 67E12, 67G3, 68F5, 67H9
배치 B-4: 39A11 로부터의 h/mB7-H4 IgV 도메인에 대한 교차 반응성 바인더: 62F9, 56A9, 56H7, 57G8, 57H3

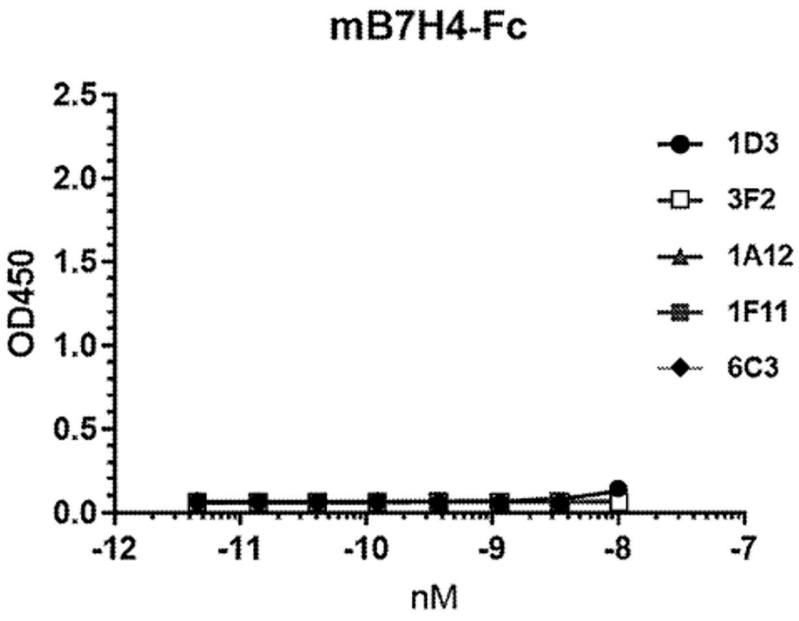
도면3a


hB7H4-Fc
OD450
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
nM
1D3
3F2
1A12
1F11
6C3

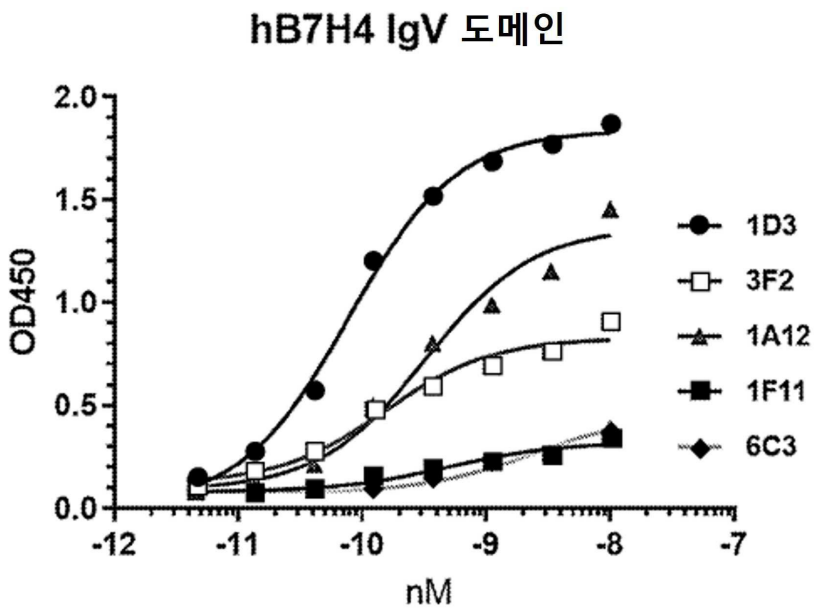
도면3b


hB7H4-his
OD450
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
nM
1D3
3F2
1A12
1F11
6C3

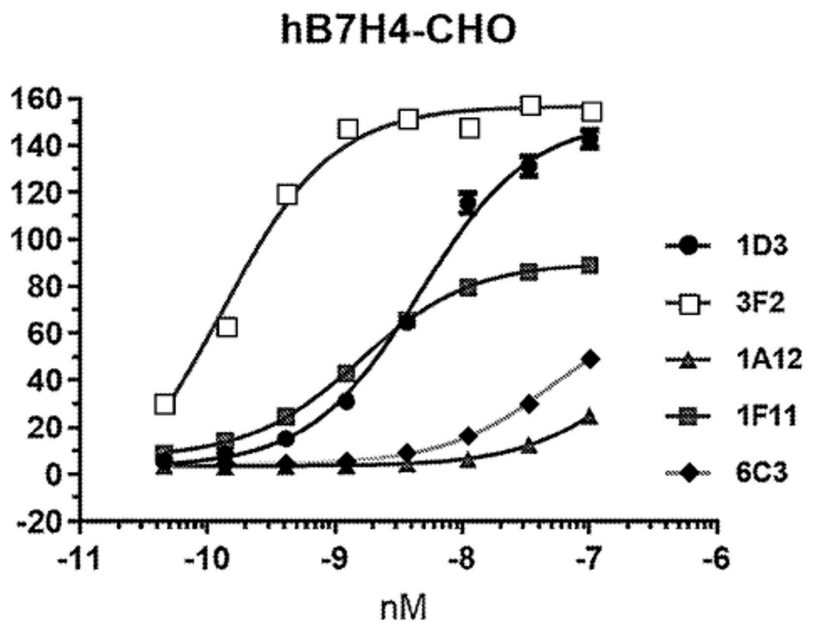
도면3c


mB7H4-Fc
OD450
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
nM
1D3
3F2
1A12
1F11
6C3

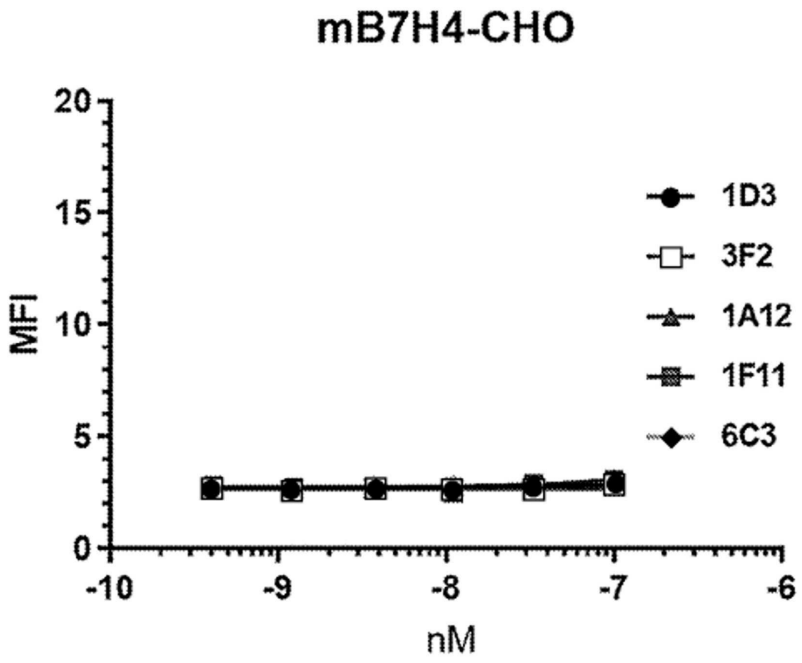
도면3d


hB7H4 IgV 도메인
OD450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
nM
1D3
3F2
1A12
1F11
6C3

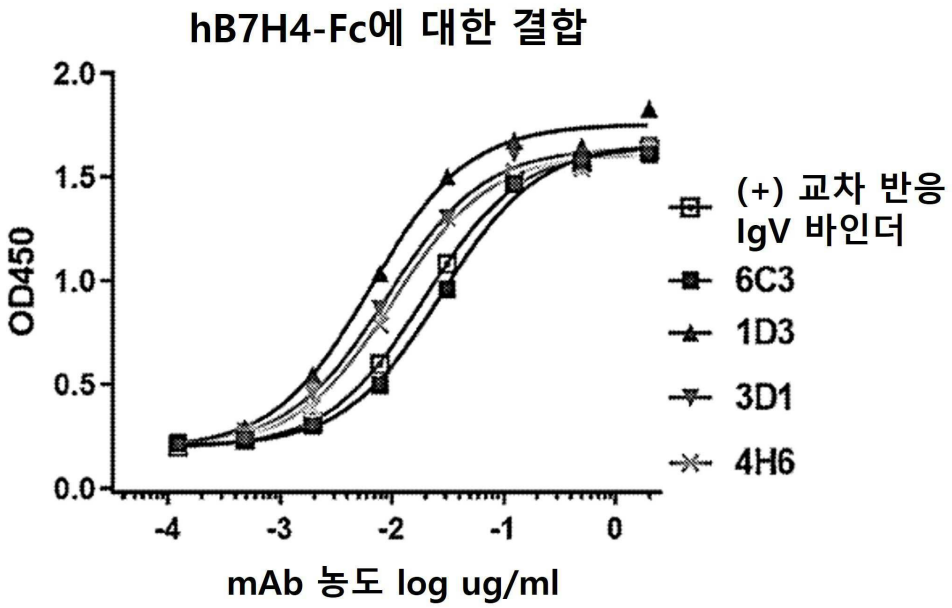
도면3e


hB7H4-CHO
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-11
-10
-9
-8
-7
-6
nM
1D3
3F2
1A12
1F11
6C3

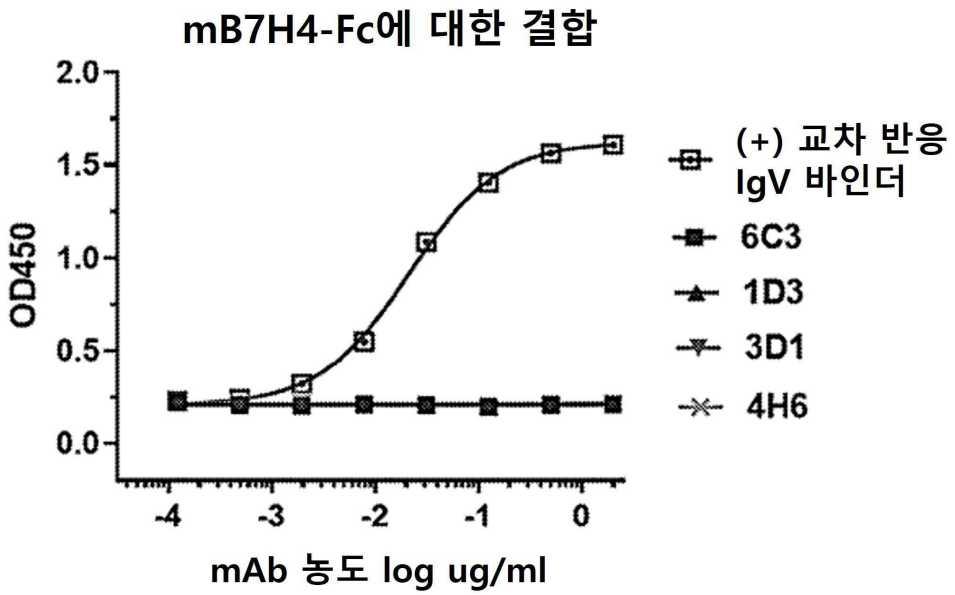
도면3f


mB7H4-CHO
MFI
20
15
10
5
0
-10
-9
-8
-7
-6
nM
1D3
3F2
1A12
1F11
6C3

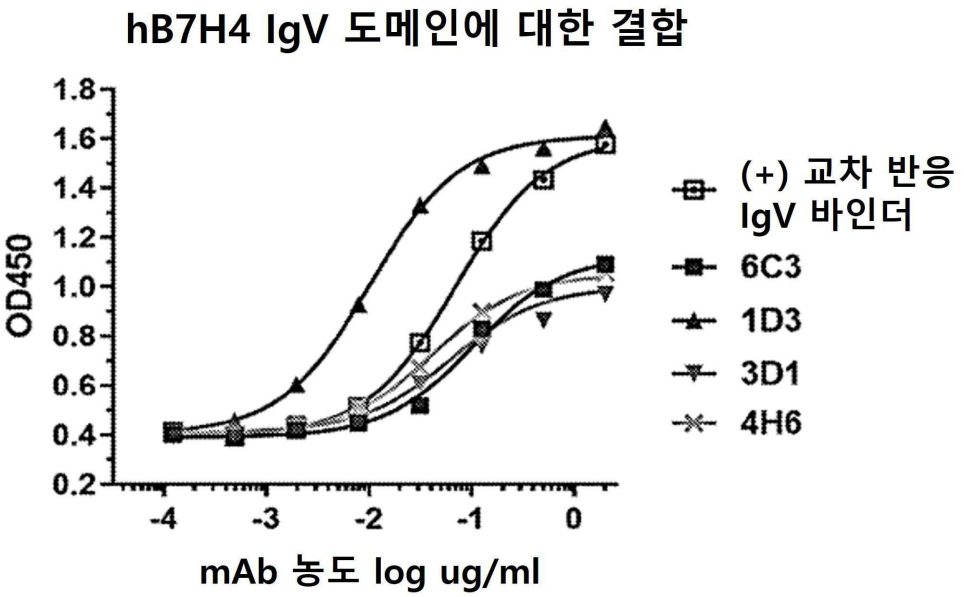
도면4a


hB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-4
-3
-2
-1
0
mAb 농도 log ug/ml
(+) 교차 반응
IgV 바인더
6C3
1D3
3D1
4H6

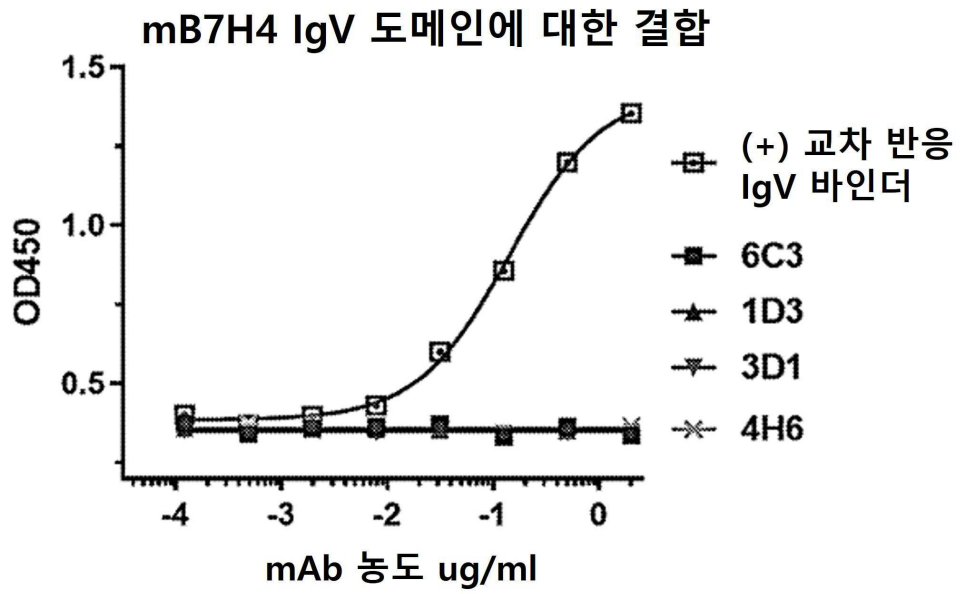
도면4b


mB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-4
-3
-2
-1
0
mAb 농도 log ug/ml
(+) 교차 반응 IgV 바인더
6C3
1D3
3D1
4H6

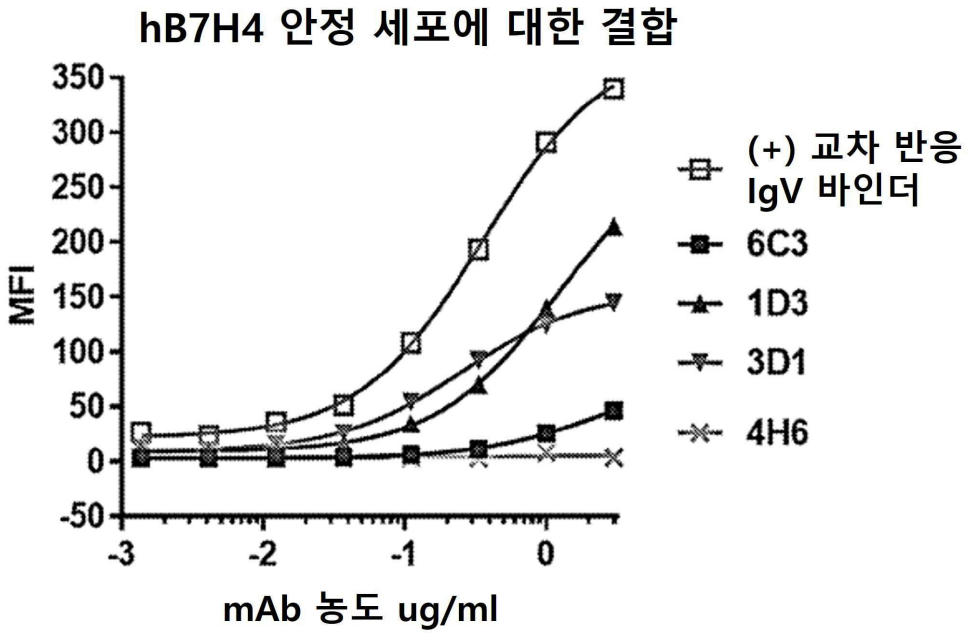
도면4c


hB7H4 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
-4
-3
-2
-1
0
mAb 농도 log ug/ml
(+) 교차 반응 IgV 바인더
6C3
1D3
3D1
4H6

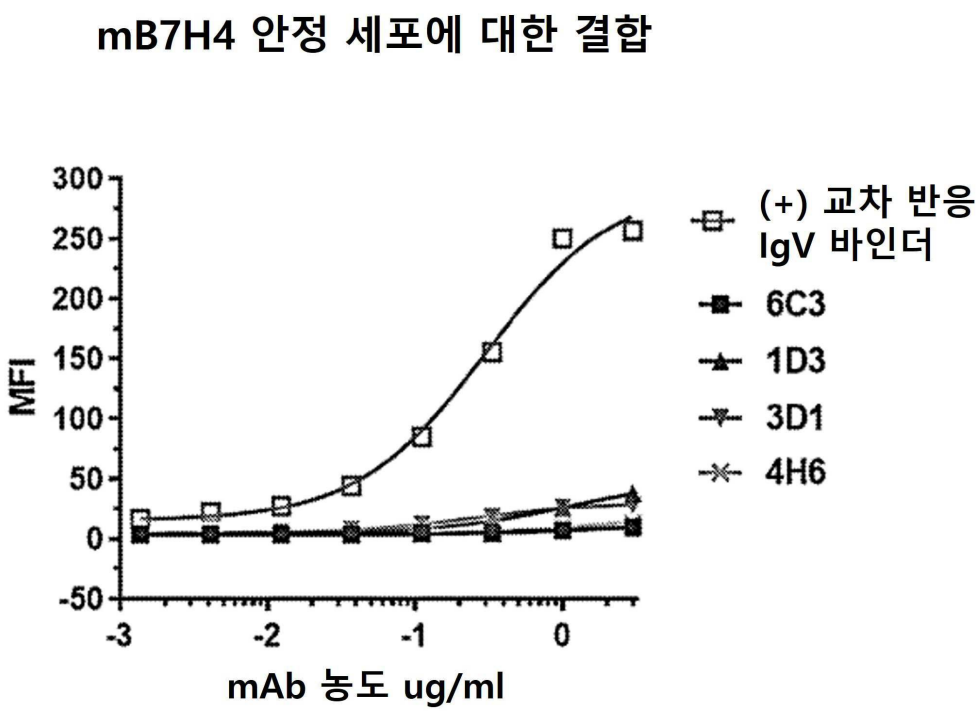
도면4d


mB7H4 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
1.5
1.0
0.5
-4
-3
-2
-1
0
mAb 농도 ug/ml
(+) 교차 반응 IgV 바인더
6C3
1D3
3D1
4H6

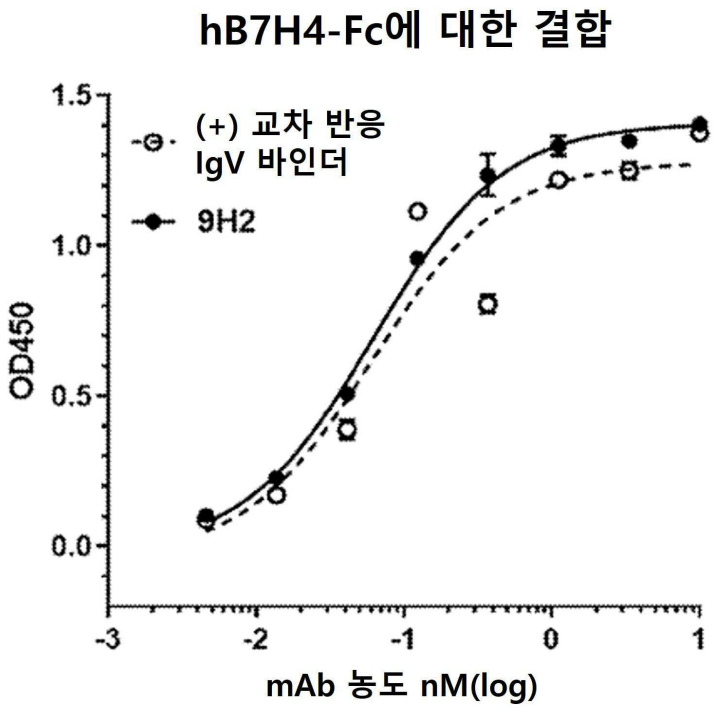
도면4e


hB7H4 안정 세포에 대한 결합
MFI
350
300
250
200
150
100
50
0
-50
-3
-2
-1
0
mAb 농도 ug/ml
(+) 교차 반응 IgV 바인더
6C3
1D3
3D1
4H6

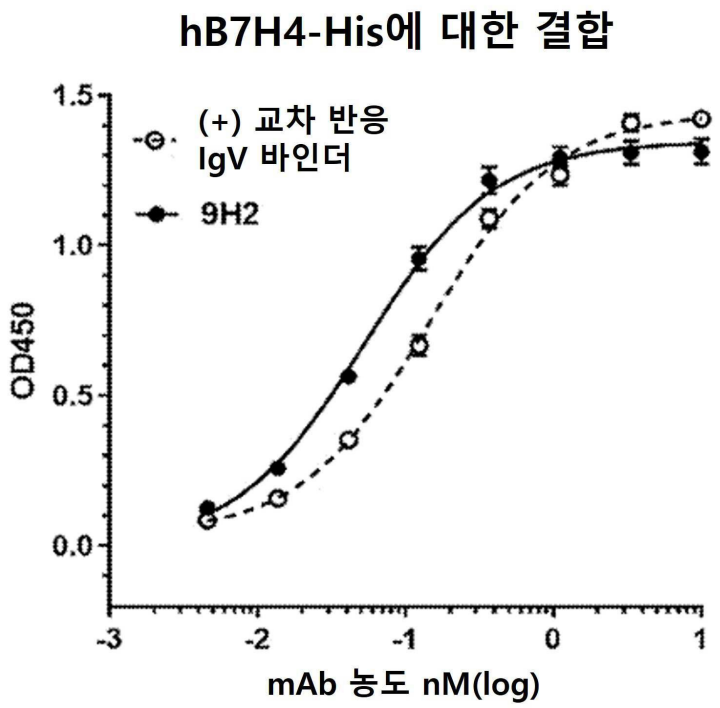
도면4f


mB7H4 안정 세포에 대한 결합
MFI
300
250
200
150
100
50
0
-50
-3
-2
-1
0
mAb 농도 ug/ml
(+) 교차 반응 IgV 바인더
6C3
1D3
3D1
4H6

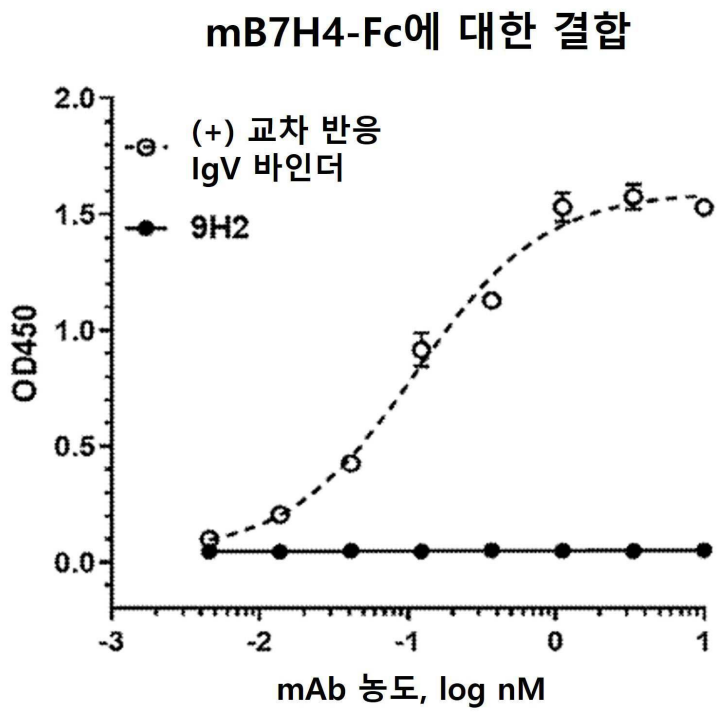
도면5a


hB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
mAb 농도 nM(log)
(+) 교차 반응 IgV 바인더
9H2

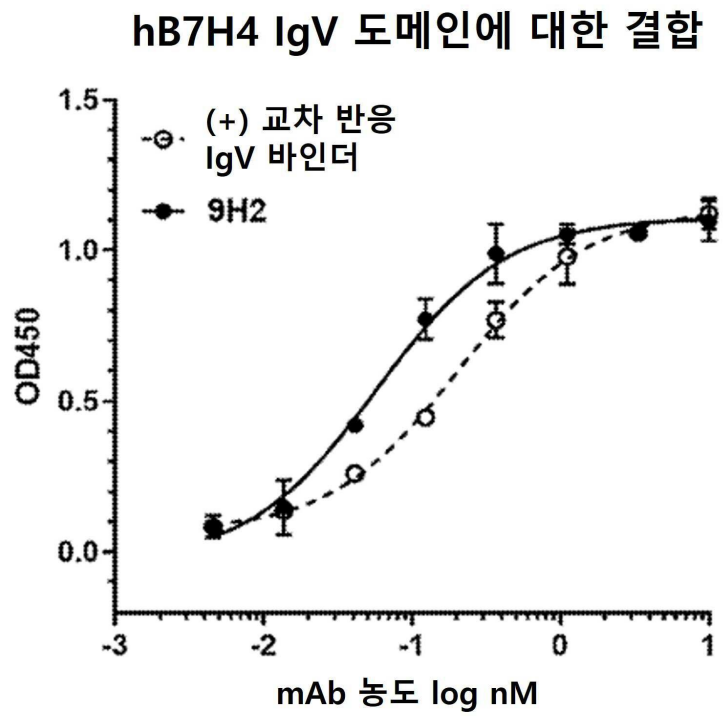
도면5b


hB7H4-His에 대한 결합
(+) 교차 반응
IgV 바인더
9H2
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
mAb 농도 nM(log)

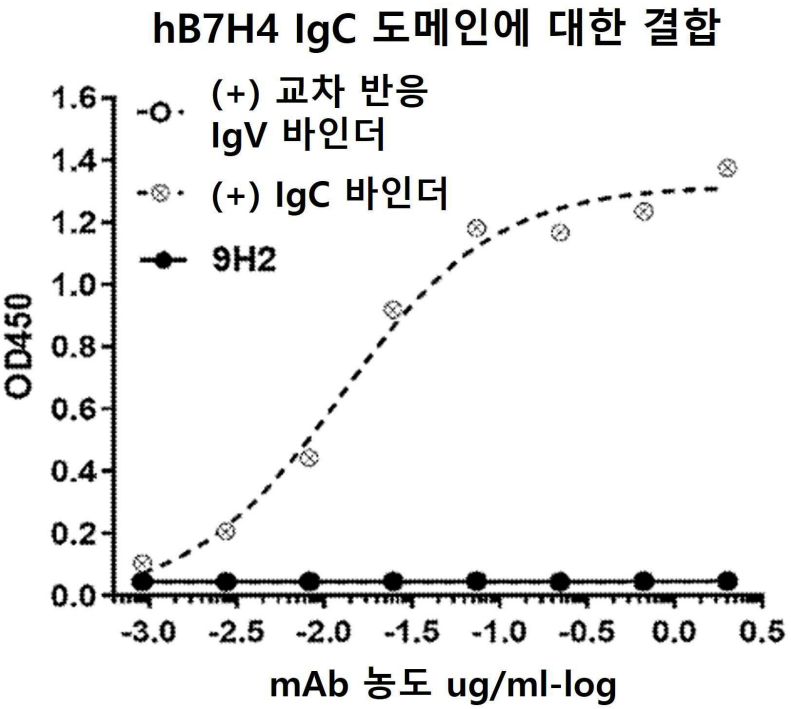
도면5c


mB7H4-Fc에 대한 결합
(+) 교차 반응
IgV 바인더
9H2
OD450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
mAb 농도, log nM

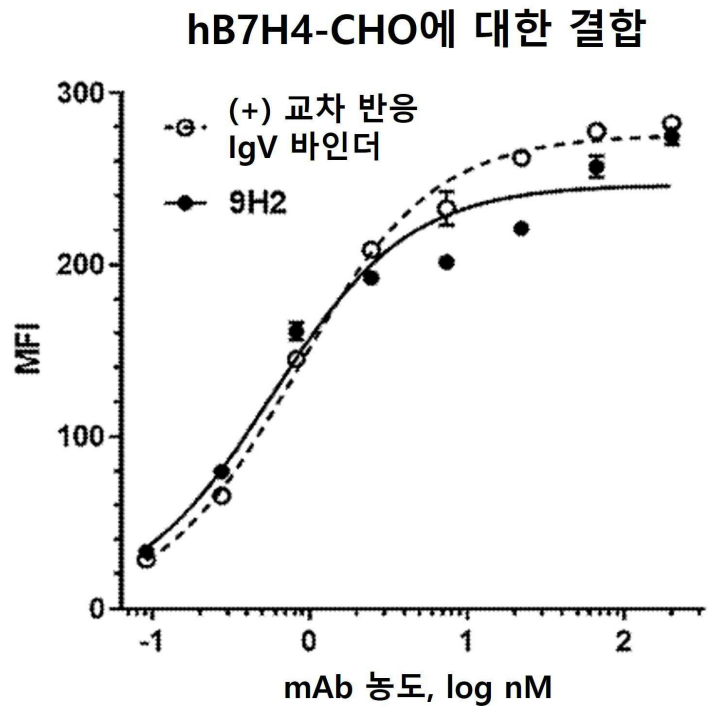
도면5d


hB7H4 IgV 도메인에 대한 결합
(+) 교차 반응
IgV 바인더
9H2
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
mAb 농도 log nM

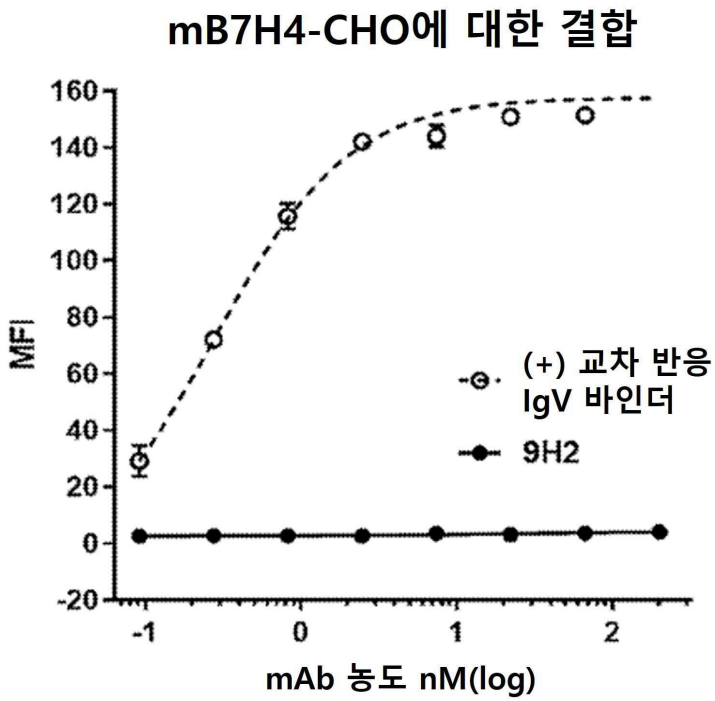
도면5e


hB7H4 IgC 도메인에 대한 결합
(+) 교차 반응
IgV 바인더
(+) IgC 바인더
9H2
OD450
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3.0
-2.5
-2.0
-1.5
-1.0
-0.5
0.0
0.5
mAb 농도 ug/ml-log

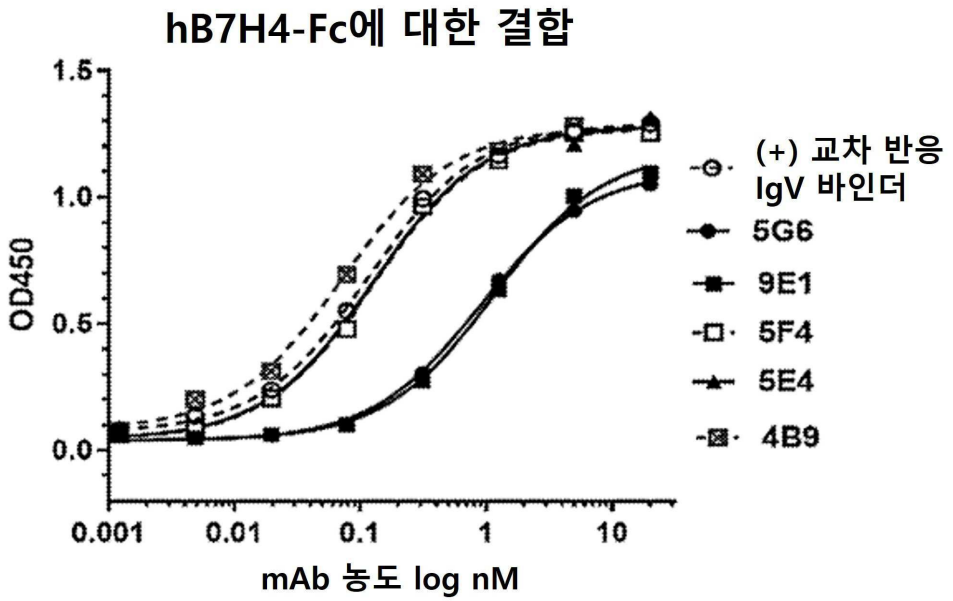
도면5f


hB7H4-CHO에 대한 결합
(+) 교차 반응
IgV 바인더
9H2
MFI
300
200
100
0
-1
0
1
2
mAb 농도, log nM

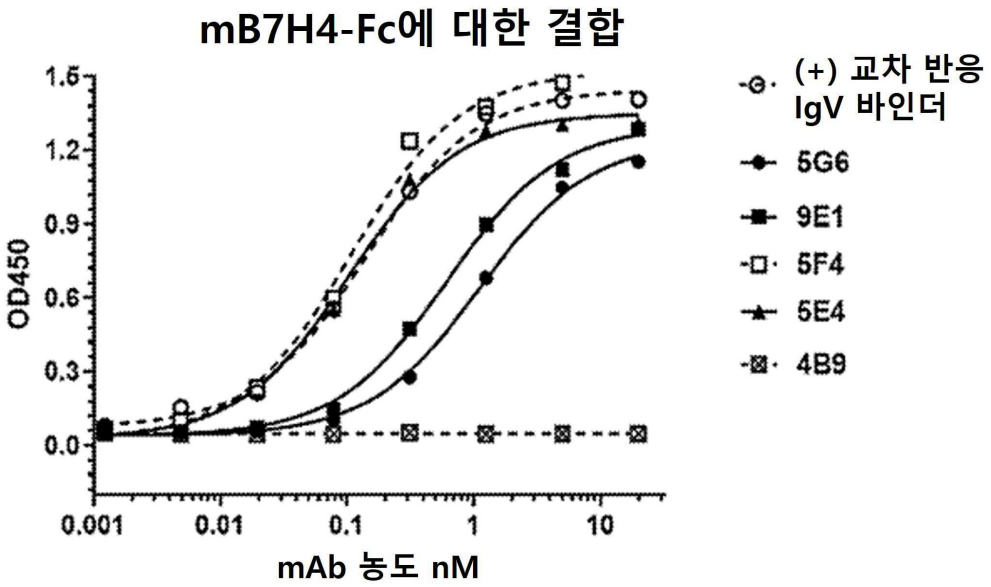
도면5g


mB7H4-CHO에 대한 결합
MFI
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-1
0
1
2
mAb 농도 nM(log)
(+) 교차 반응
IgV 바인더
9H2

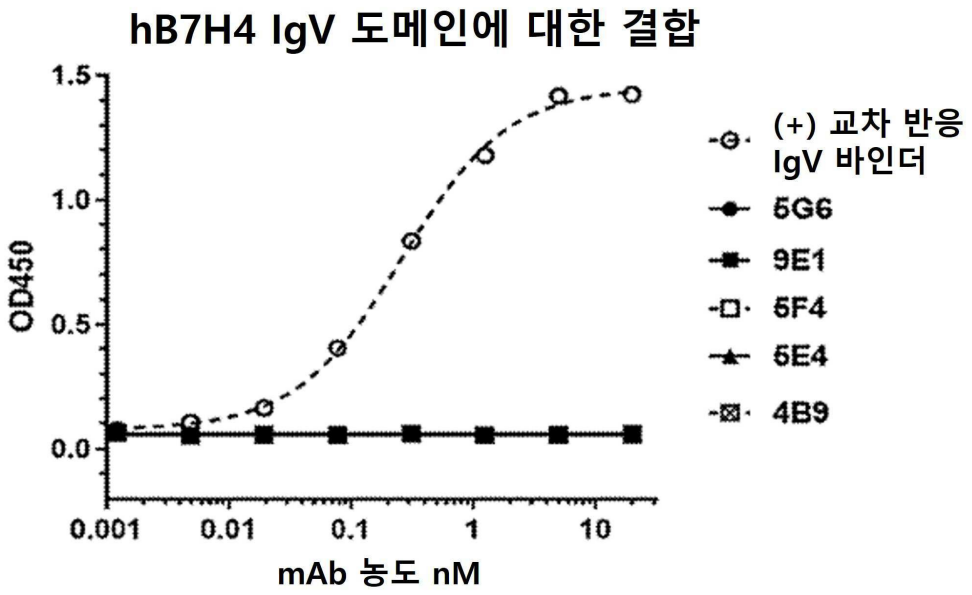
도면6a


hB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
mAb 농도 log nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
5G6
9E1
5F4
5E4
4B9

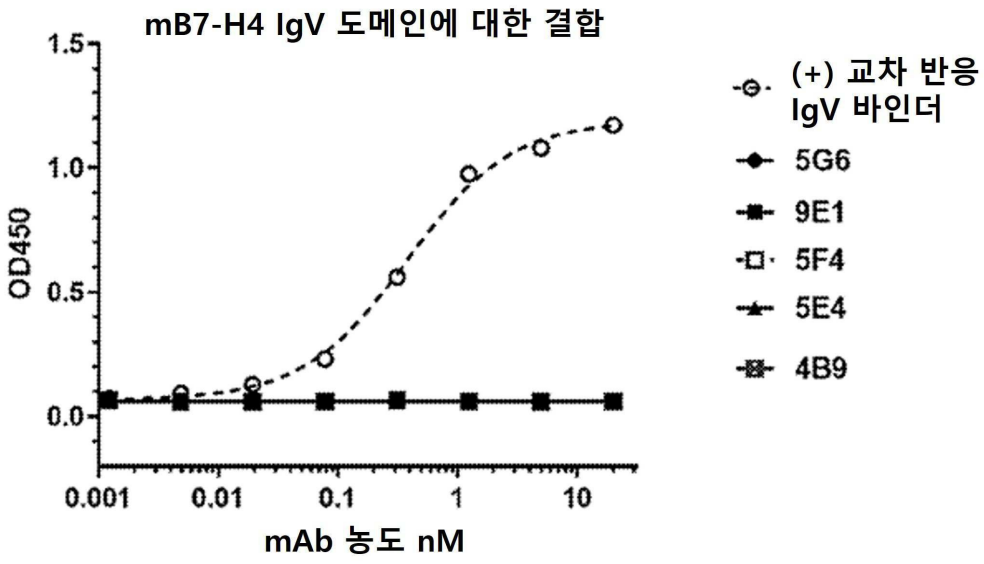
도면6b


mB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.5
1.2
0.9
0.6
0.3
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
mAb 농도 nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
5G6
9E1
5F4
5E4
4B9

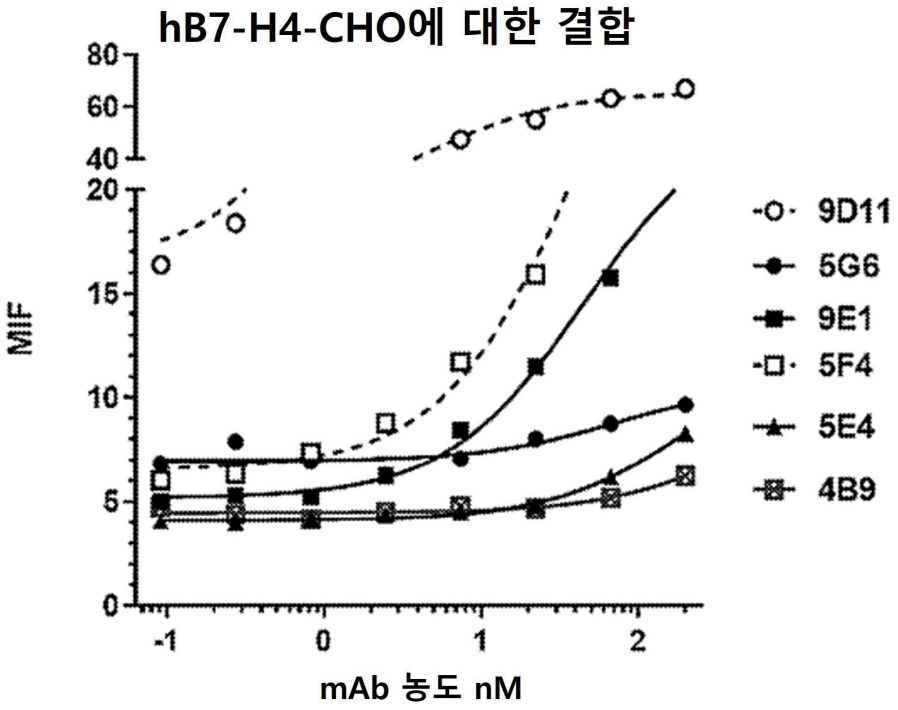
도면6c


hB7H4 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
mAb 농도 nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
5G6
9E1
5F4
5E4
4B9

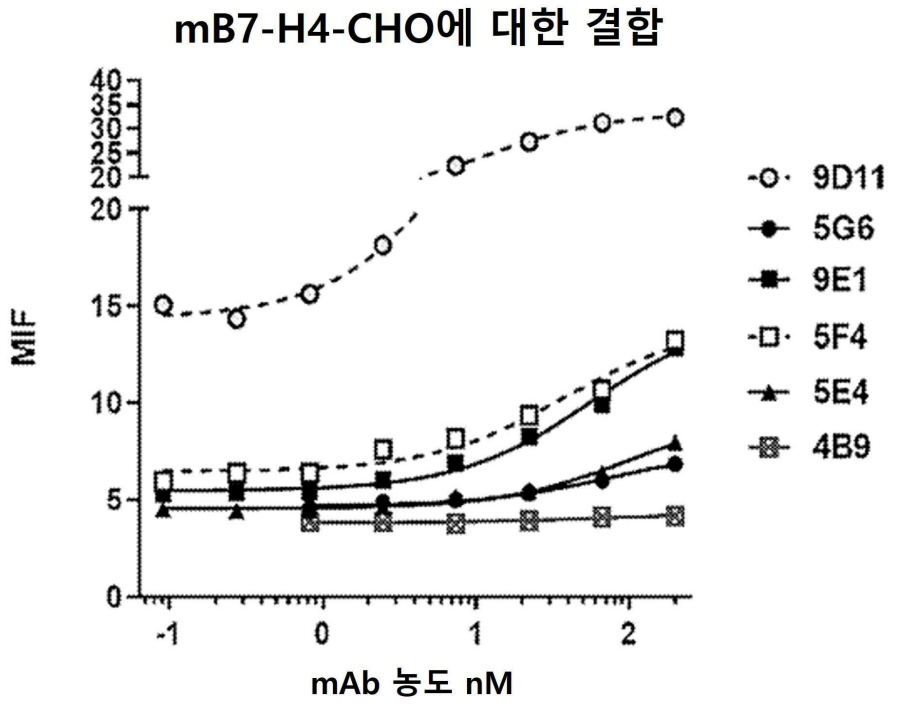
도면6d


mB7-H4 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
mAb 농도 nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
5G6
9E1
5F4
5E4
4B9

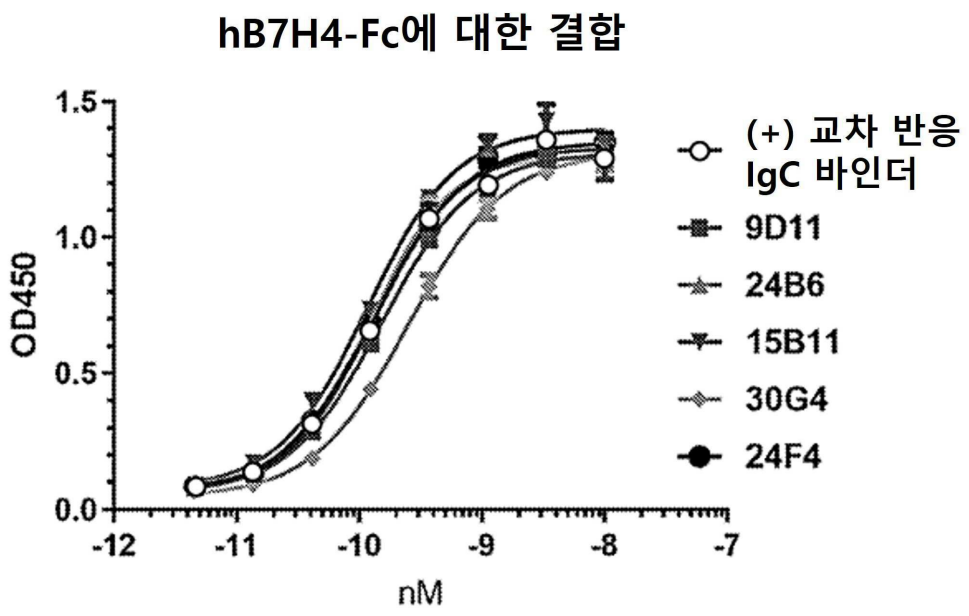
도면6e


hB7-H4-CHO에 대한 결합
MIF
mAb 농도 nM
9D11
5G6
9E1
5F4
5E4
4B9

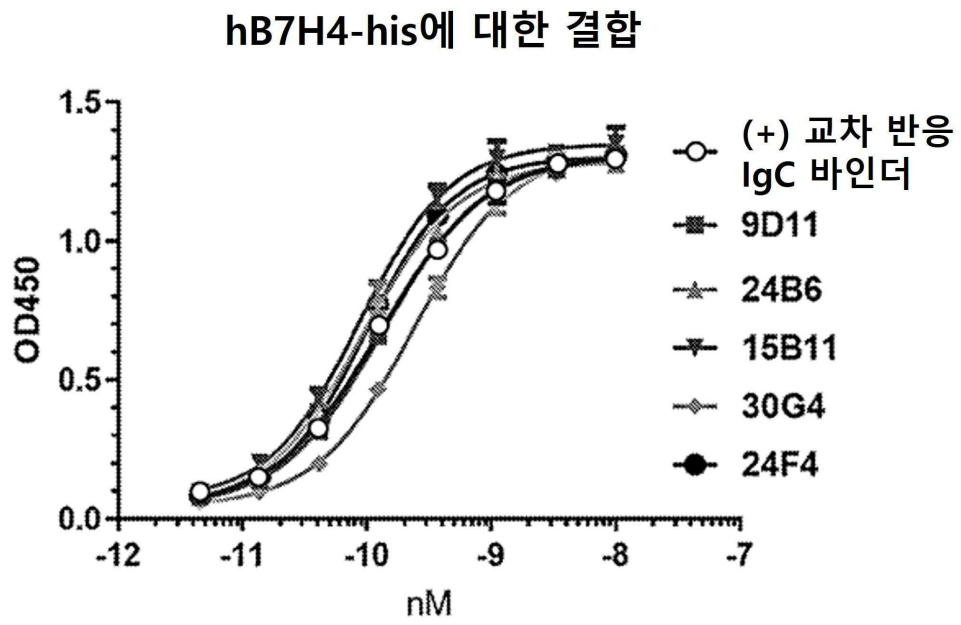
도면6f


mB7-H4-CHO에 대한 결합
MIF
mAb 농도 nM
9D11
5G6
9E1
5F4
5E4
4B9

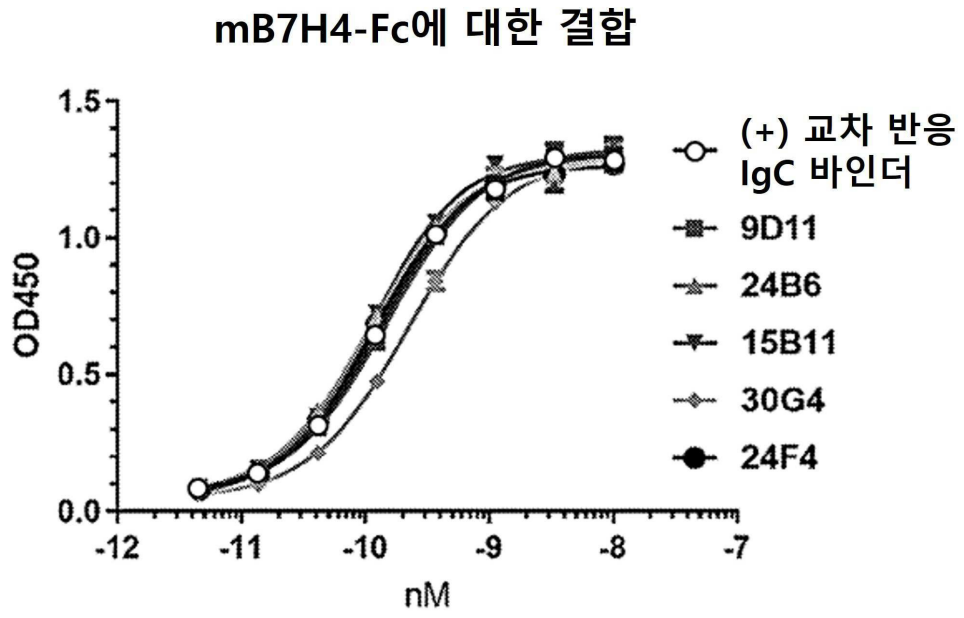
도면7a


hB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
nM
(+) 교차 반응 IgC 바인더
9D11
24B6
15B11
30G4
24F4

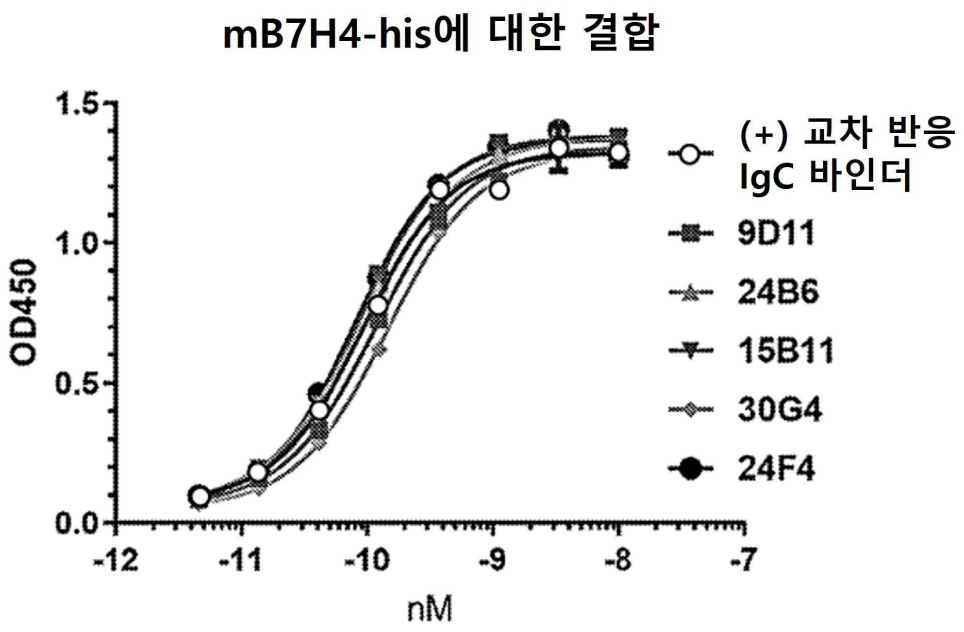
도면7b


hB7H4-his에 대한 결합
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
nM
(+) 교차 반응 IgC 바인더
9D11
24B6
15B11
30G4
24F4

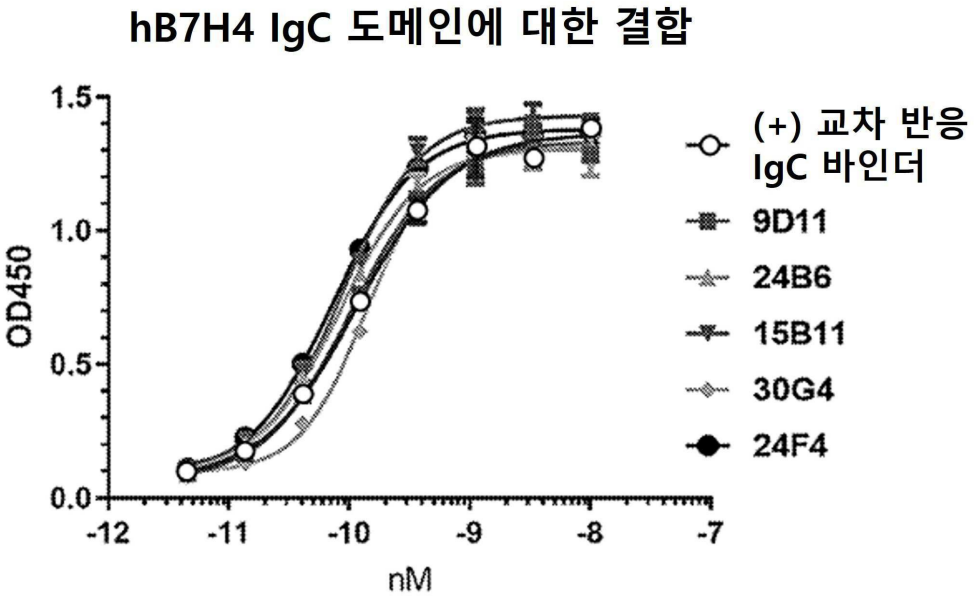
도면7c


mB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
nM
(+) 교차 반응 IgC 바인더
9D11
24B6
15B11
30G4
24F4

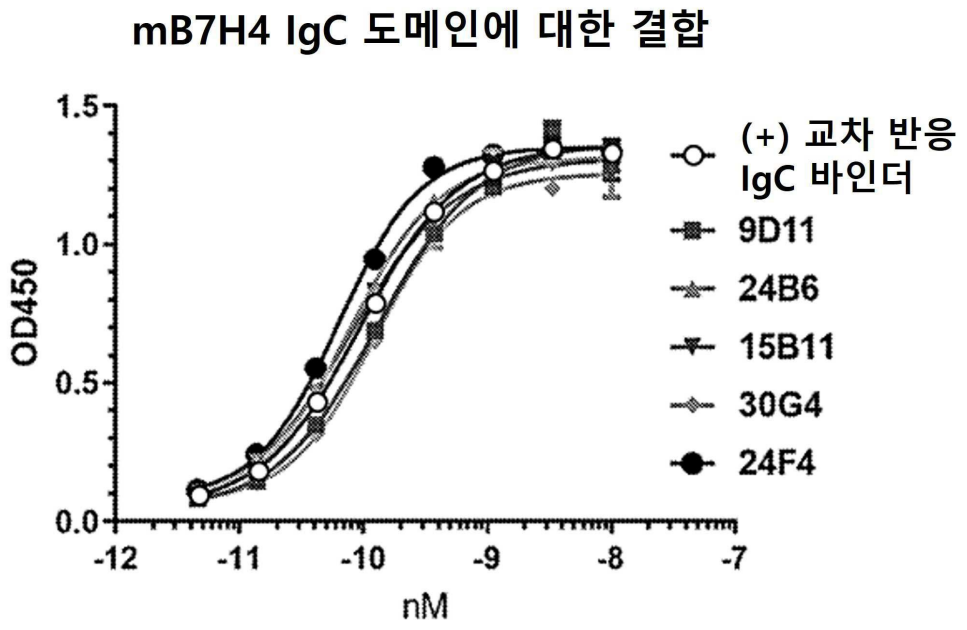
도면7d


mB7H4-his에 대한 결합
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
nM
(+) 교차 반응 IgC 바인더
9D11
24B6
15B11
30G4
24F4

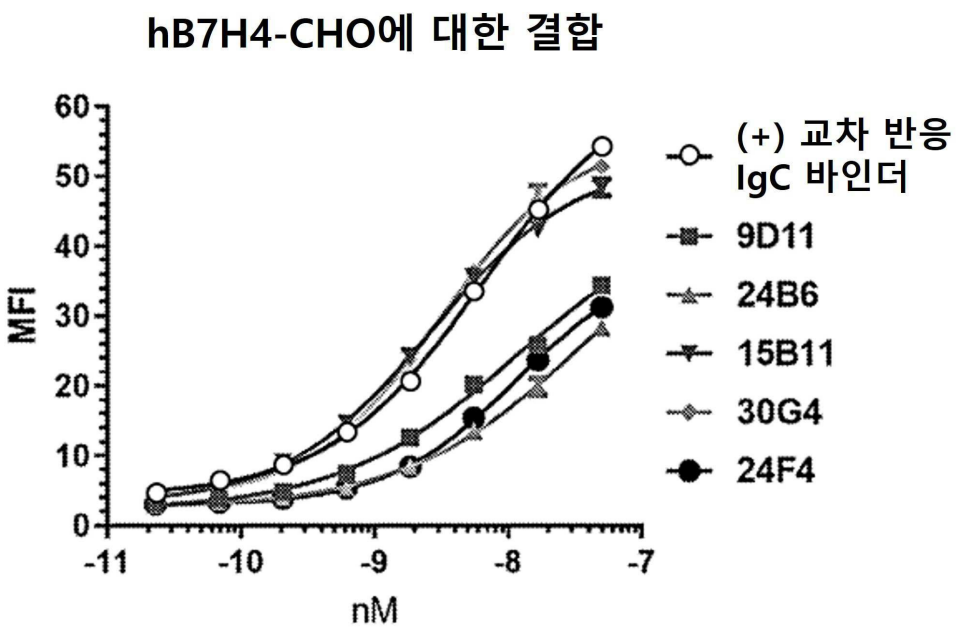
도면7e


hB7H4 IgC 도메인에 대한 결합
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
nM
(+) 교차 반응 IgC 바인더
9D11
24B6
15B11
30G4
24F4

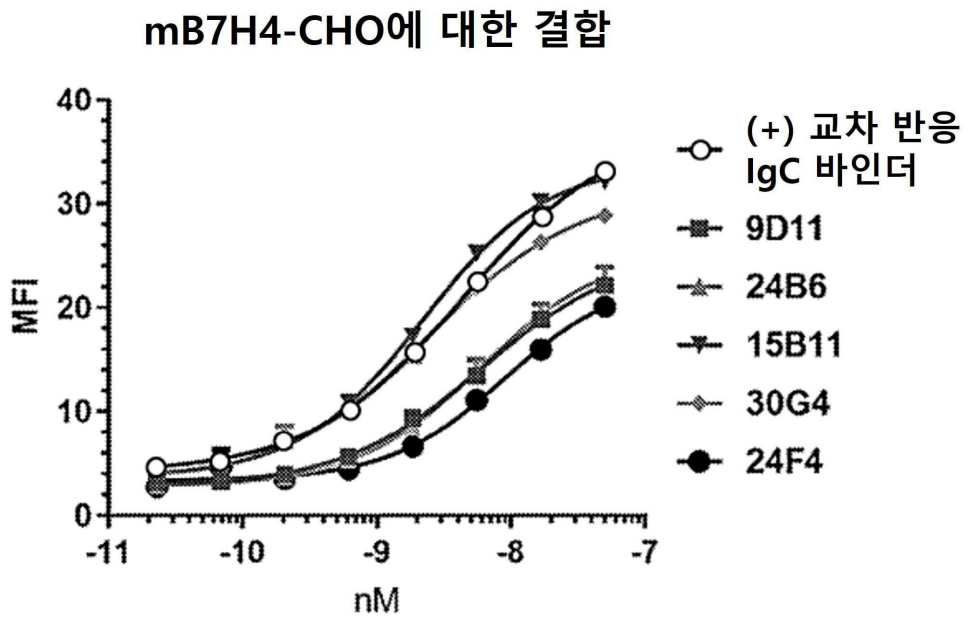
도면7f


mB7H4 IgC 도메인에 대한 결합
OD450
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
nM
(+) 교차 반응 IgC 바인더
9D11
24B6
15B11
30G4
24F4

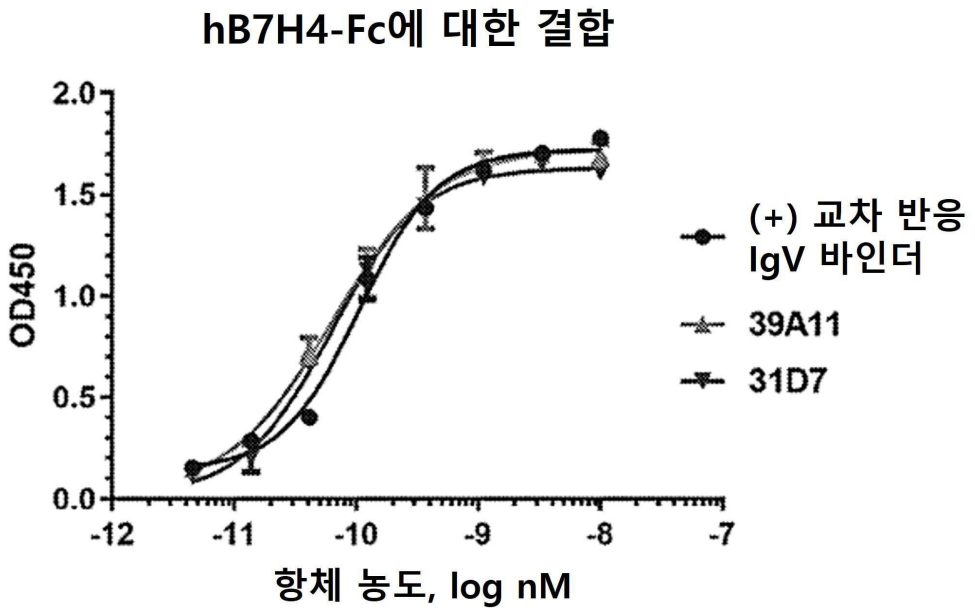
도면7g


hB7H4-CHO에 대한 결합
MFI
60
50
40
30
20
10
0
-11
-10
-9
-8
-7
nM
(+) 교차 반응 IgC 바인더
9D11
24B6
15B11
30G4
24F4

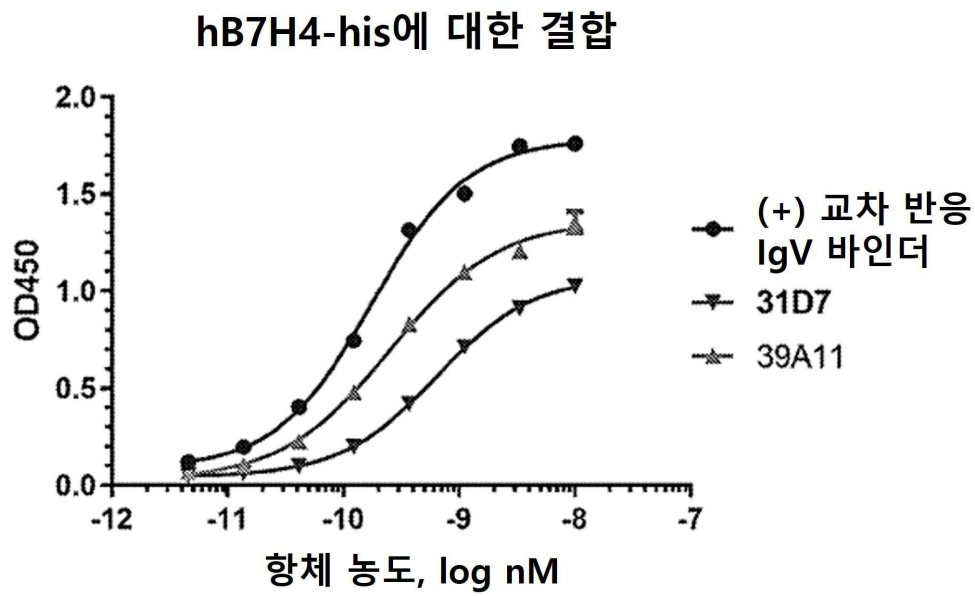
도면7h


mB7H4-CHO에 대한 결합
MFI
40
30
20
10
0
-11
-10
-9
-8
-7
nM
(+) 교차 반응 IgC 바인더
9D11
24B6
15B11
30G4
24F4

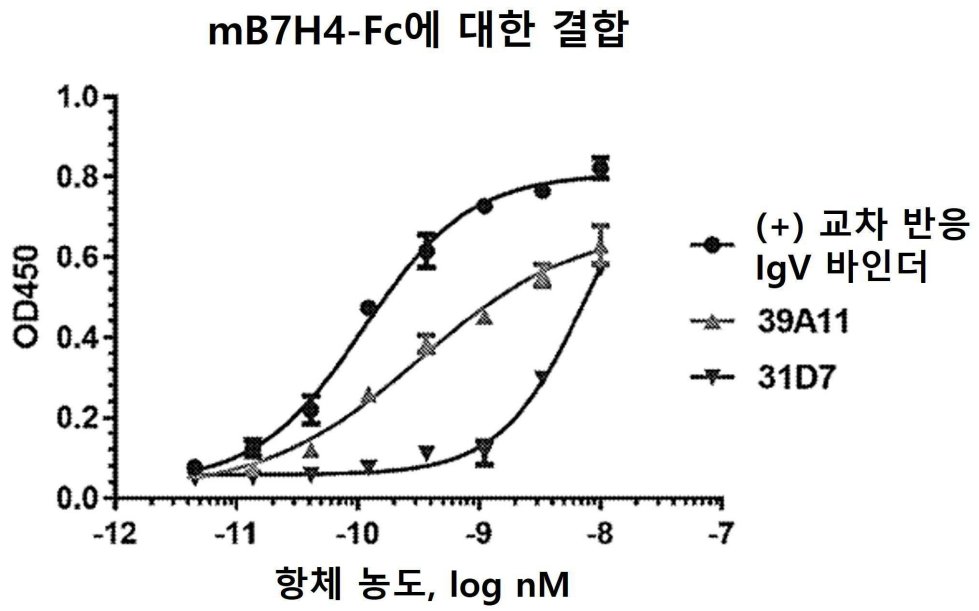
도면8a


hB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
39A11
31D7

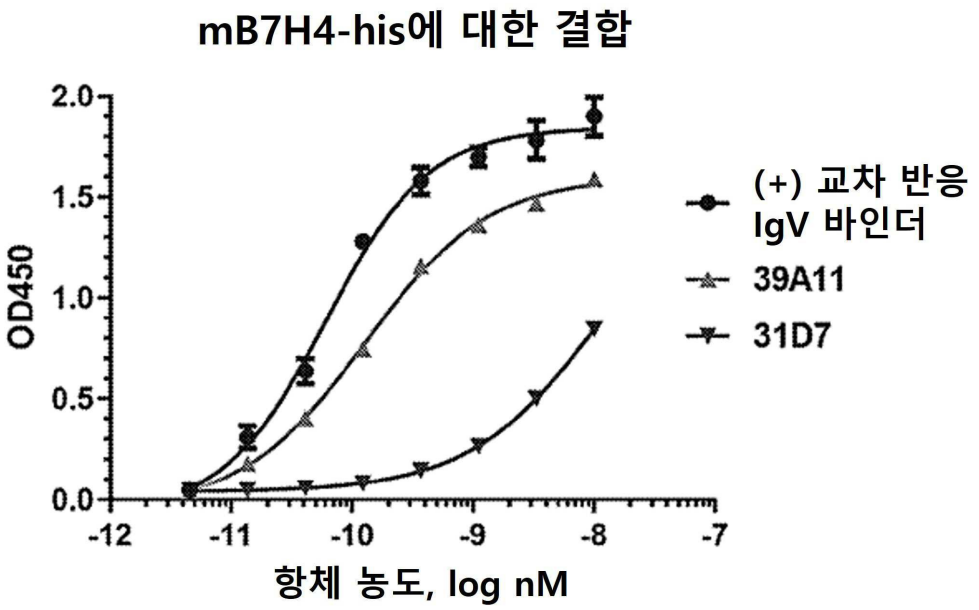
도면8b


hB7H4-his에 대한 결합
OD450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
31D7
39A11

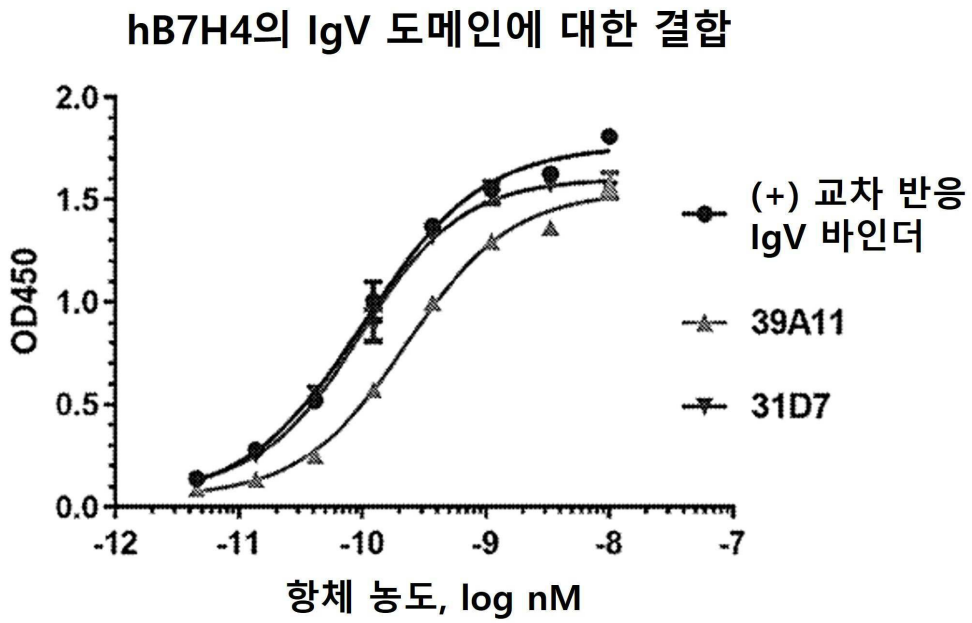
도면8c


mB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
39A11
31D7

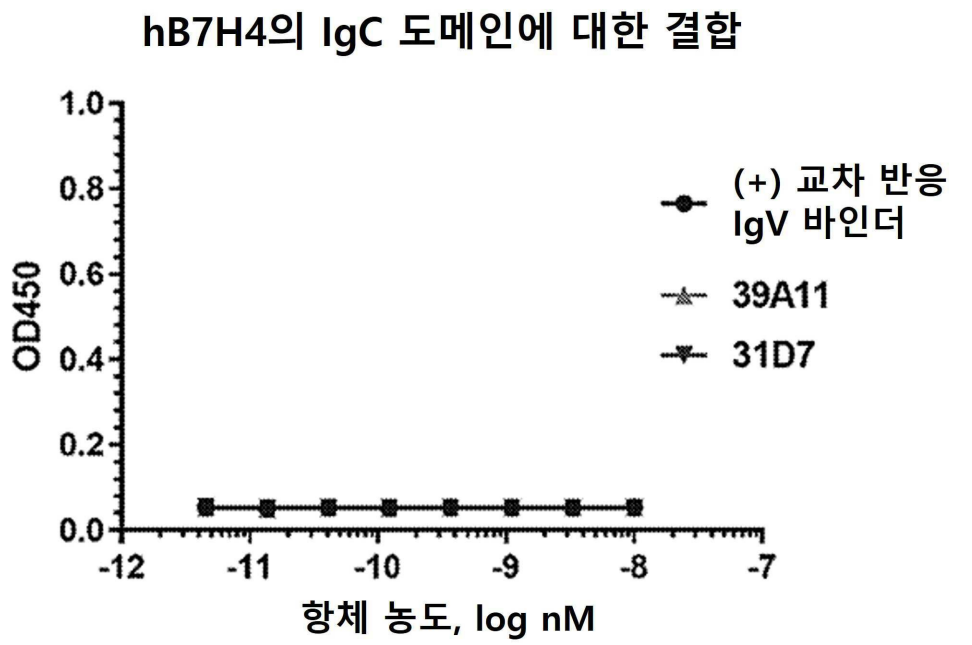
도면8d


mB7H4-his에 대한 결합
OD450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
39A11
31D7

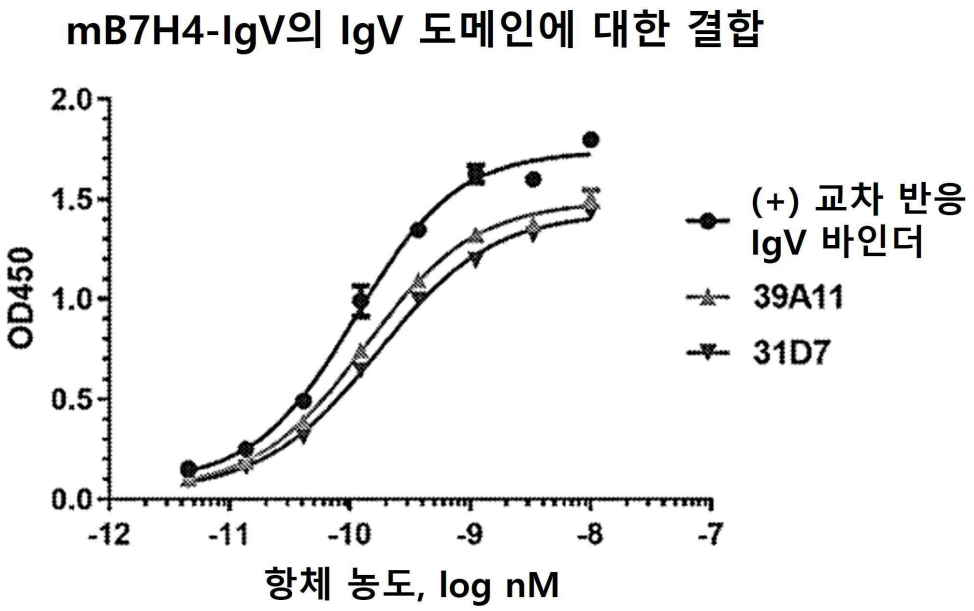
도면8e


hB7H4의 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
39A11
31D7

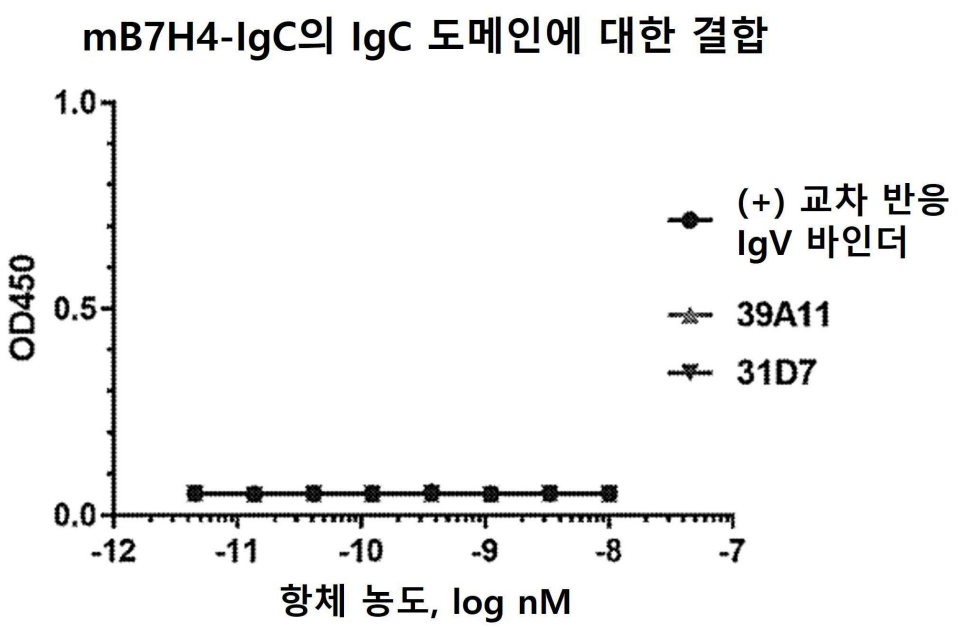
도면8f


hB7H4의 IgC 도메인에 대한 결합
OD450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
39A11
31D7

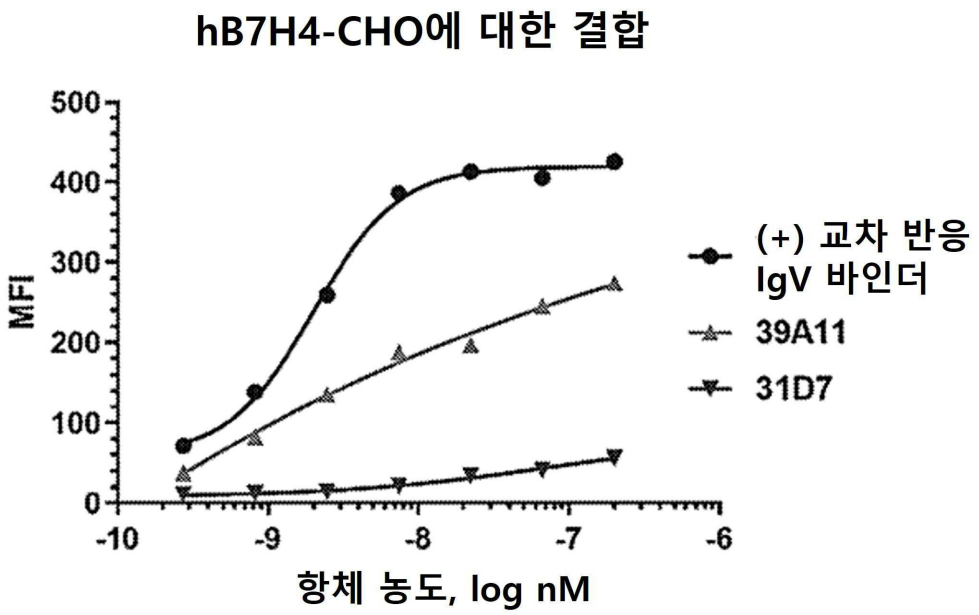
도면8g


mB7H4-IgV의 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
39A11
31D7

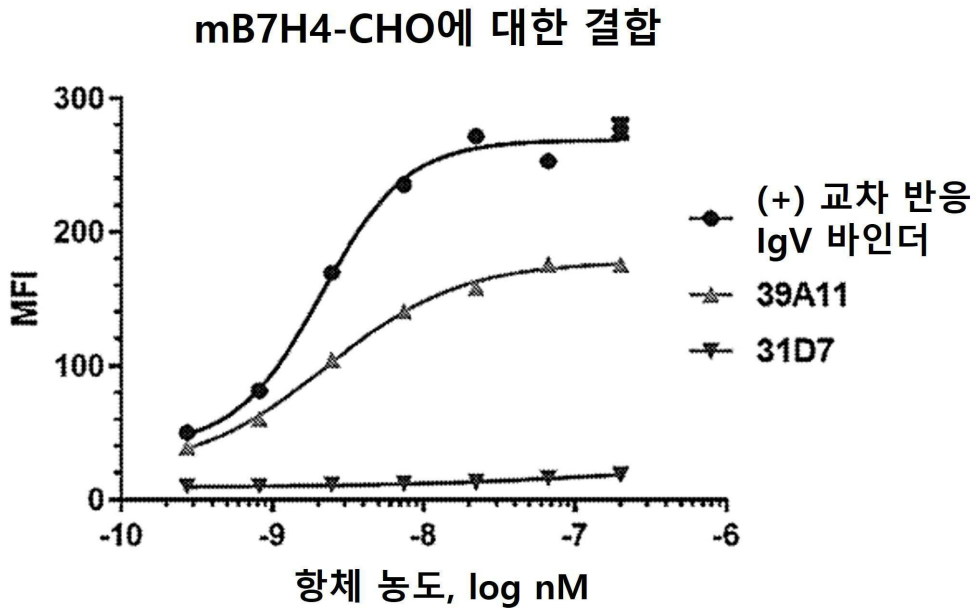
도면8h


mB7H4-IgC의 IgC 도메인에 대한 결합
OD450
1.0
0.5
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
39A11
31D7

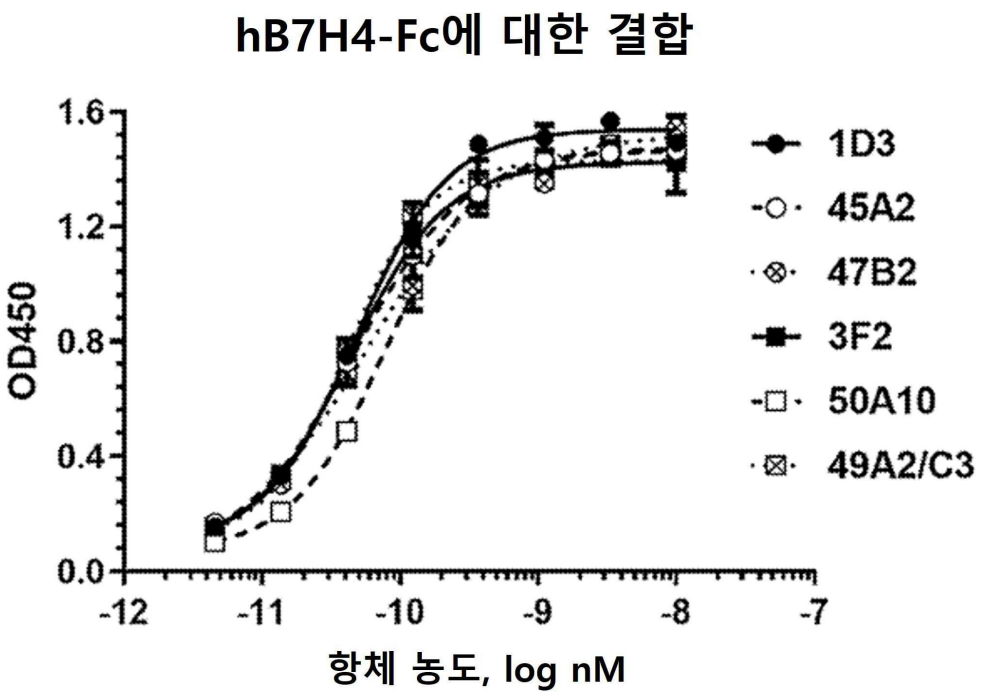
도면8i


hB7H4-CHO에 대한 결합
MFI
500
400
300
200
100
0
-10
-9
-8
-7
-6
항체 농도, log nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
39A11
31D7

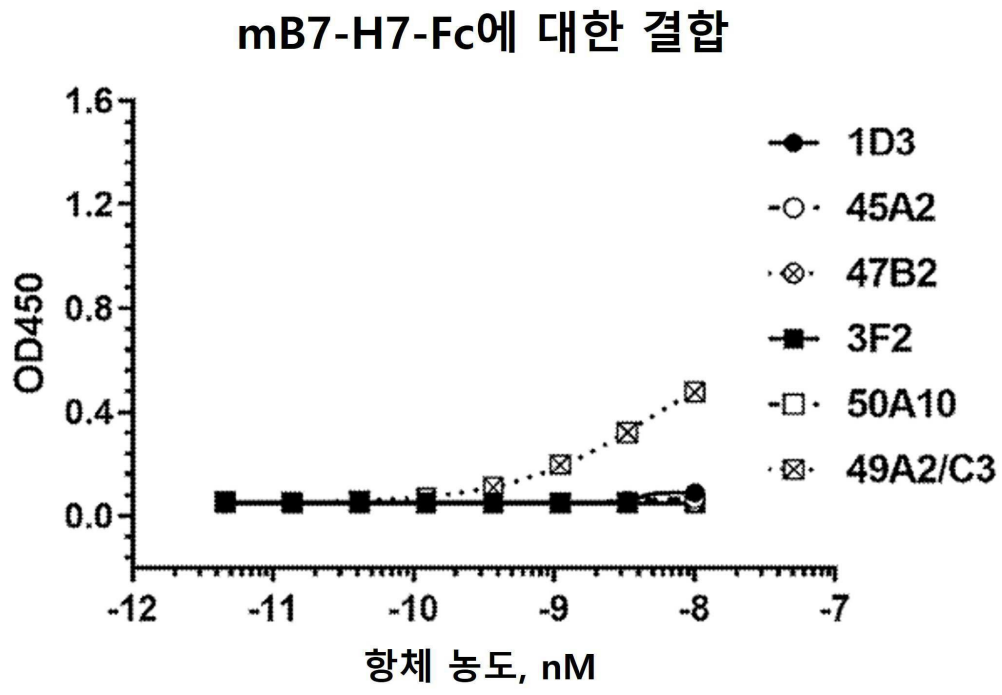
도면8j


mB7H4-CHO에 대한 결합
MFI
300
200
100
0
-10
-9
-8
-7
-6
항체 농도, log nM
(+) 교차 반응 IgV 바인더
39A11
31D7

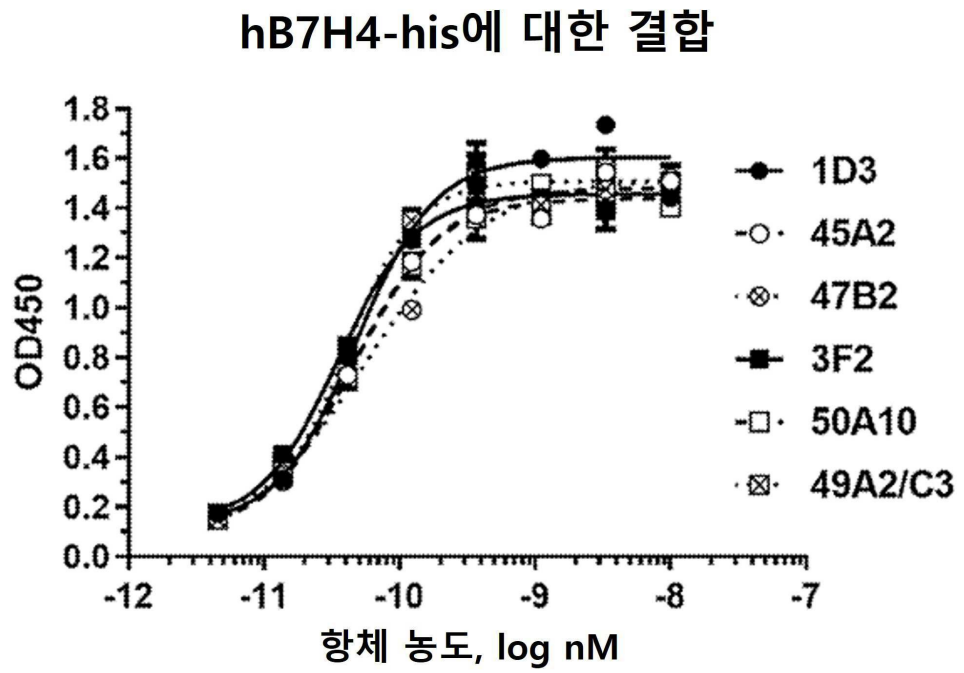
도면9a


hB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.6
1.2
0.8
0.4
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
1D3
45A2
47B2
3F2
50A10
49A2/C3

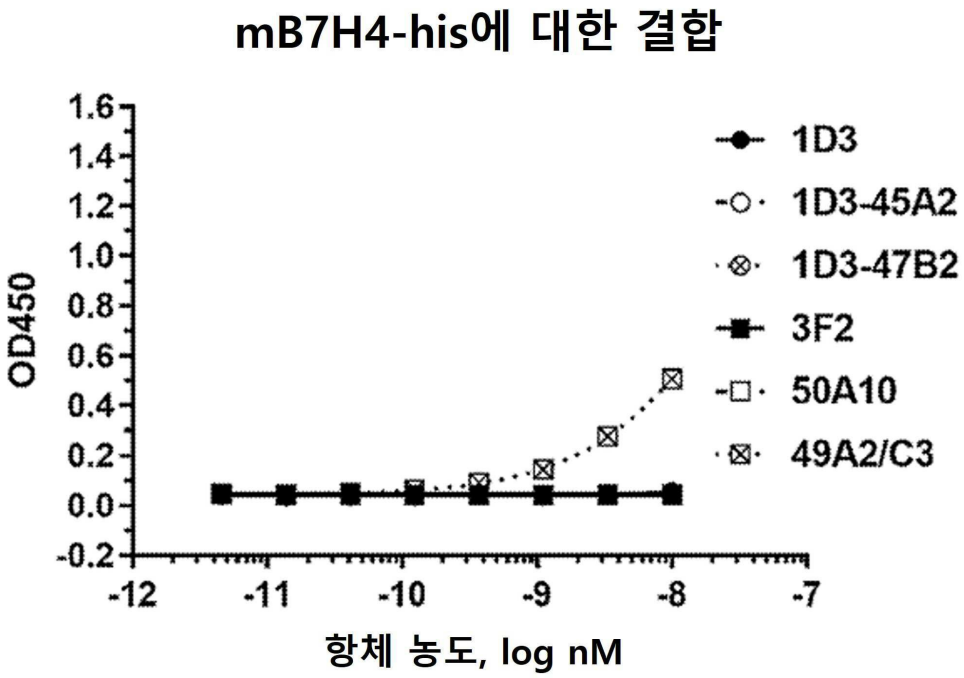
도면9b


mB7-H7-Fc에 대한 결합
OD450
1.6
1.2
0.8
0.4
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, nM
1D3
45A2
47B2
3F2
50A10
49A2/C3

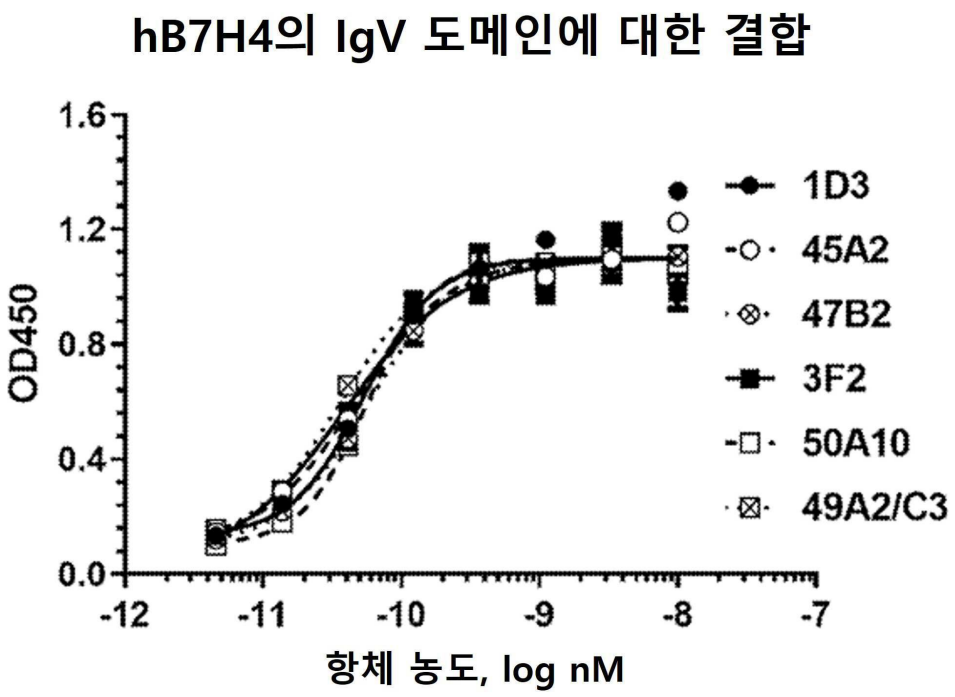
도면9c


hB7H4-his에 대한 결합
OD450
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
1D3
45A2
47B2
3F2
50A10
49A2/C3

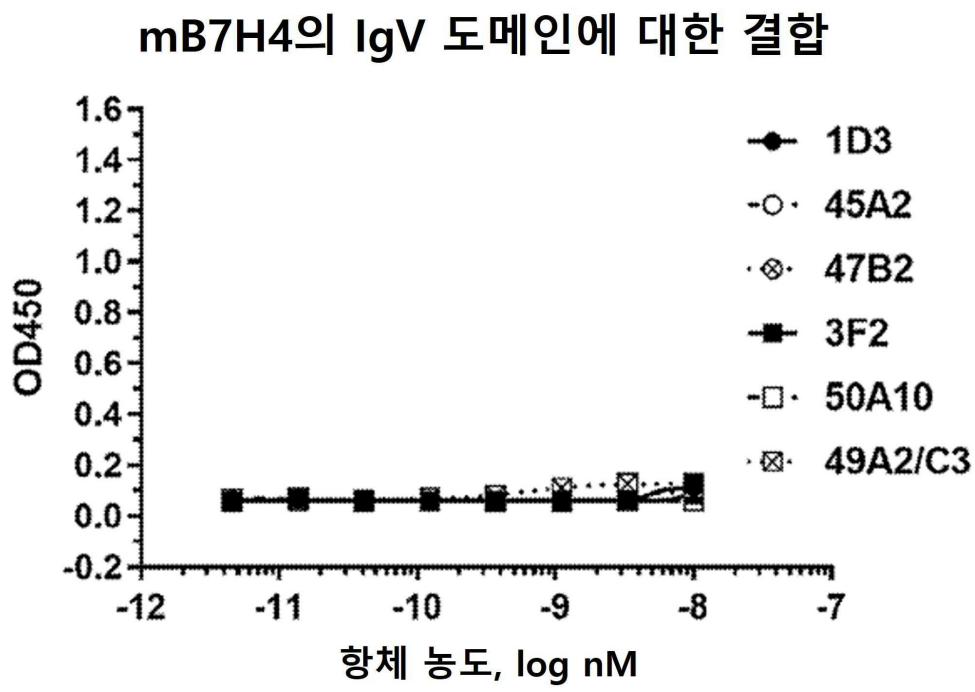
도면9d


mB7H4-his에 대한 결합
OD450
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
1D3
1D3-45A2
1D3-47B2
3F2
50A10
49A2/C3

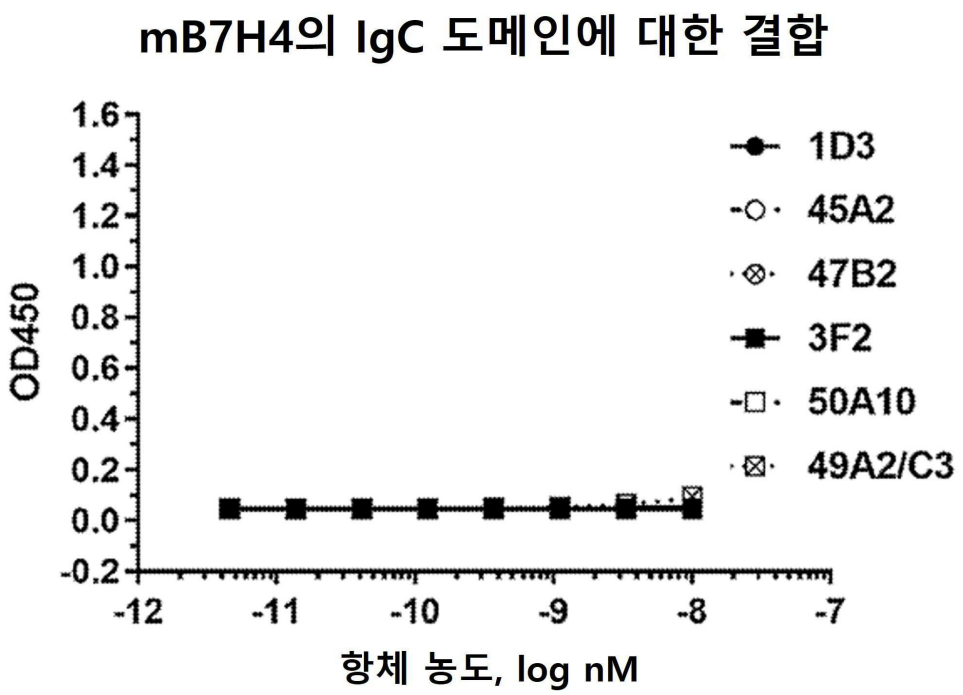
도면9e


hB7H4의 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
1.6
1.2
0.8
0.4
0.0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
1D3
45A2
47B2
3F2
50A10
49A2/C3

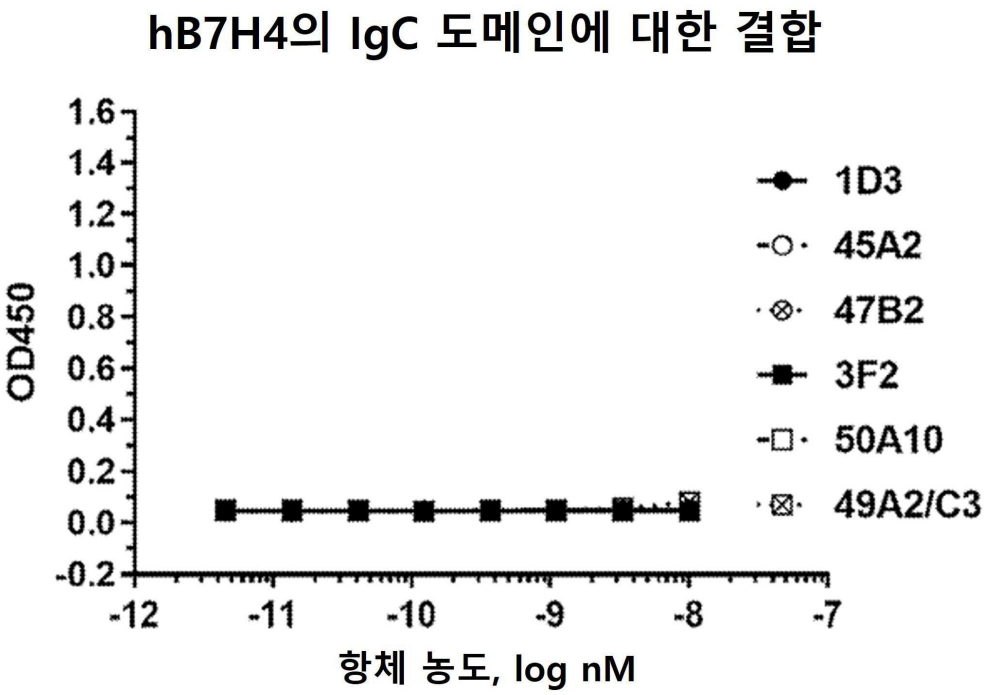
도면9f


mB7H4의 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
1D3
45A2
47B2
3F2
50A10
49A2/C3

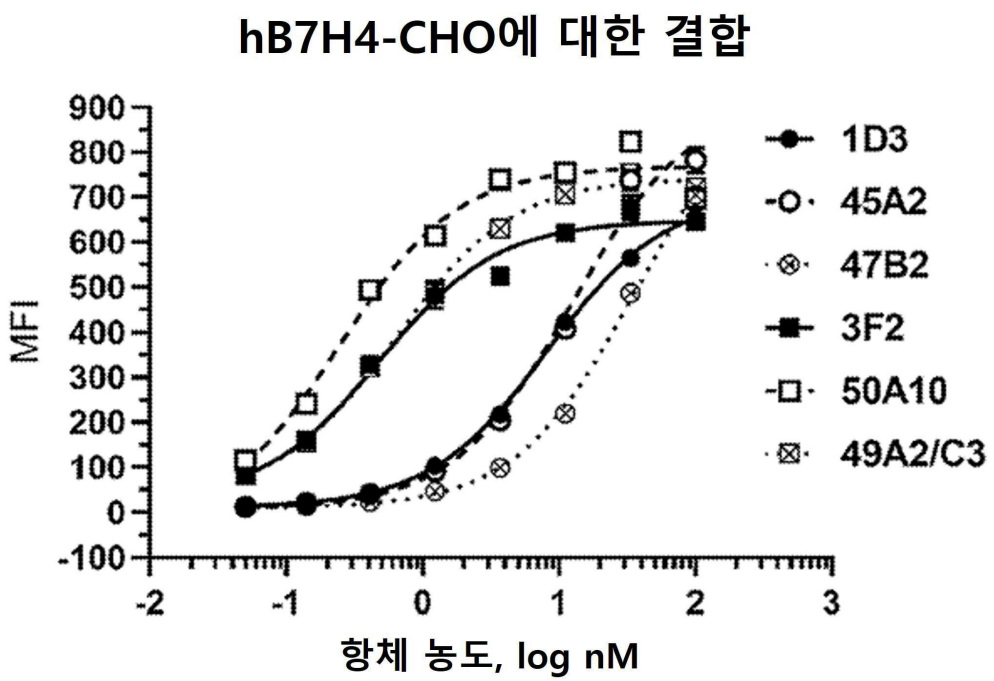
도면9g


mB7H4의 IgC 도메인에 대한 결합
OD450
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
1D3
45A2
47B2
3F2
50A10
49A2/C3

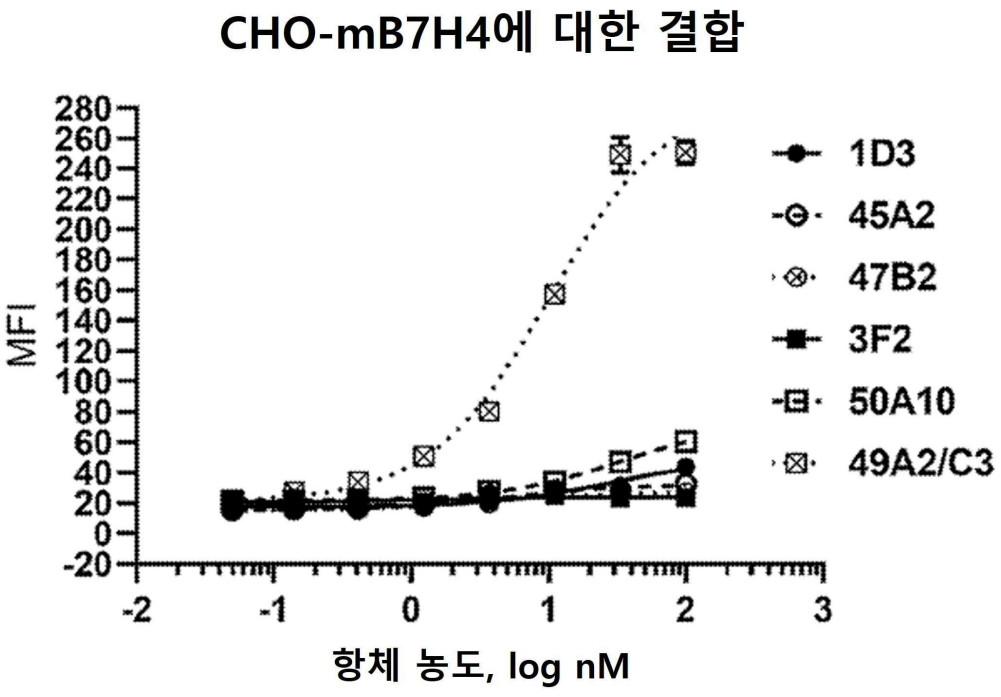
도면9h


hB7H4의 IgC 도메인에 대한 결합
OD450
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
-12
-11
-10
-9
-8
-7
항체 농도, log nM
1D3
45A2
47B2
3F2
50A10
49A2/C3

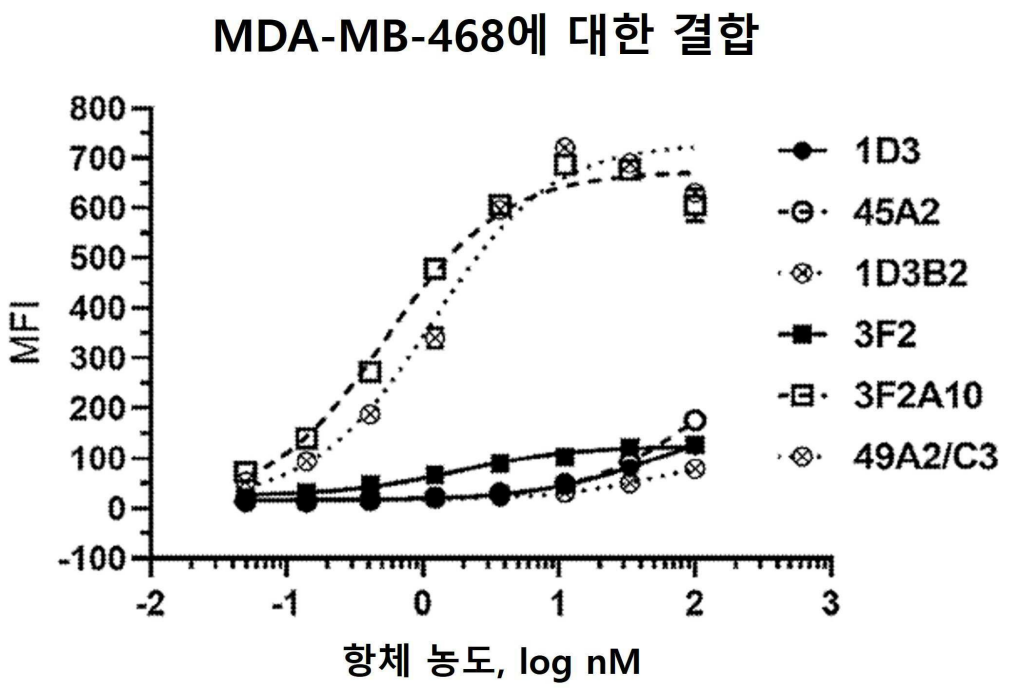
도면10a


hB7H4-CHO에 대한 결합
MFI
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
-100
-2
-1
0
1
2
3
항체 농도, log nM
1D3
45A2
47B2
3F2
50A10
49A2/C3

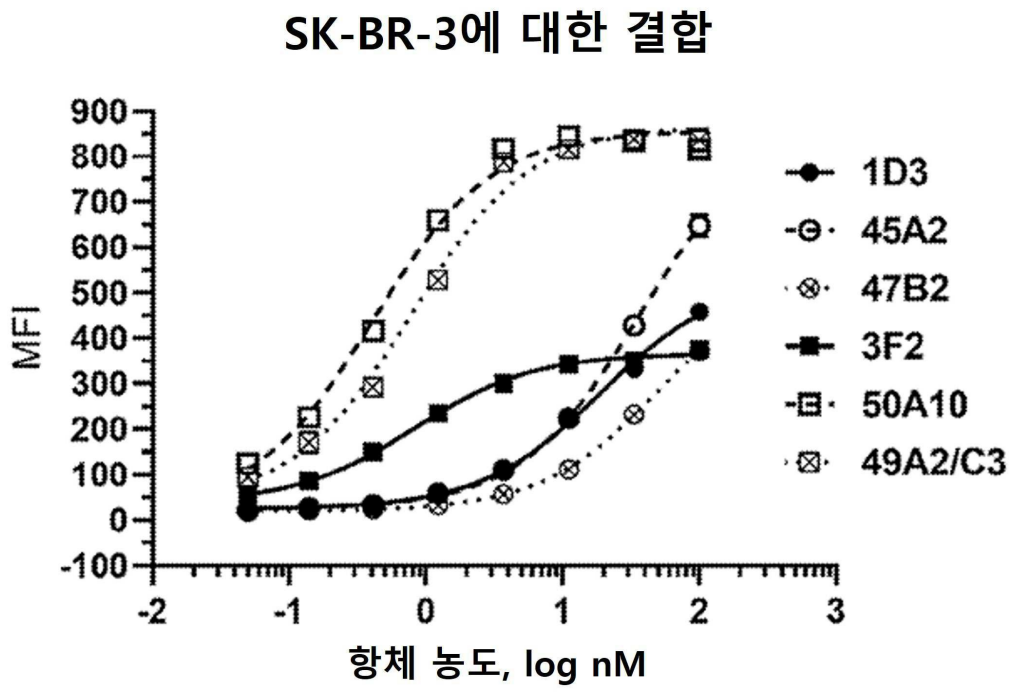
도면10b


CHO-mB7H4에 대한 결합
MFI
280
260
240
220
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-2
-1
0
1
2
3
항체 농도, log nM
1D3
45A2
47B2
3F2
50A10
49A2/C3

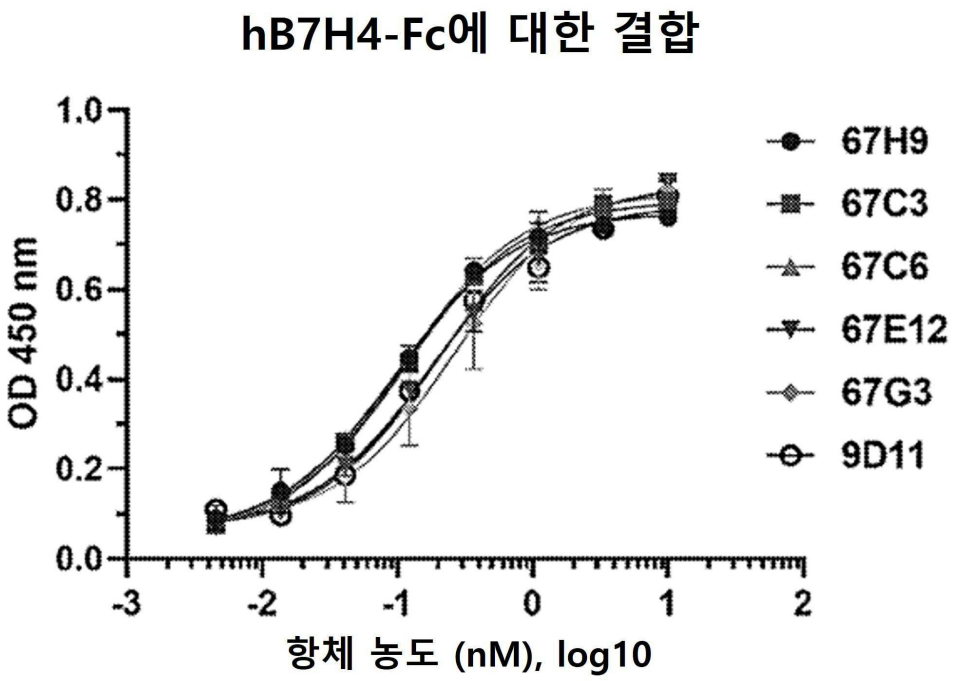
도면10c


MDA-MB-468에 대한 결합
MFI
800
700
600
500
400
300
200
100
0
-100
-2
-1
0
1
2
3
항체 농도, log nM
1D3
45A2
1D3B2
3F2
3F2A10
49A2/C3

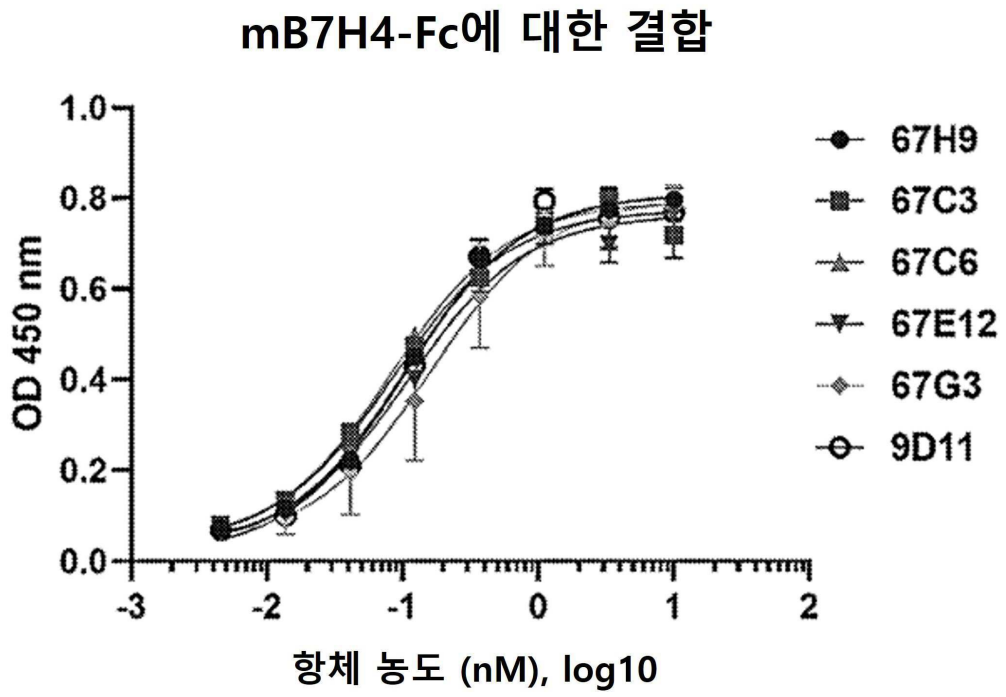
도면10d


SK-BR-3에 대한 결합
MFI
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
-100
-2
-1
0
1
2
3
항체 농도, log nM
1D3
45A2
47B2
3F2
50A10
49A2/C3

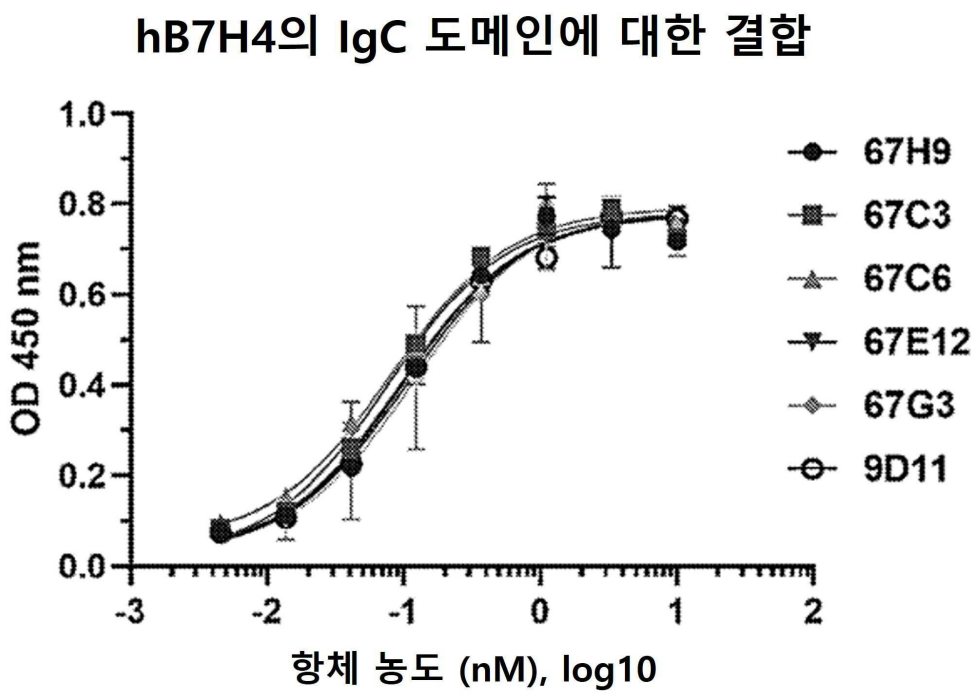
도면11a


hB7H4-Fc에 대한 결합
OD 450 nm
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
항체 농도 (nM), log10
67H9
67C3
67C6
67E12
67G3
9D11

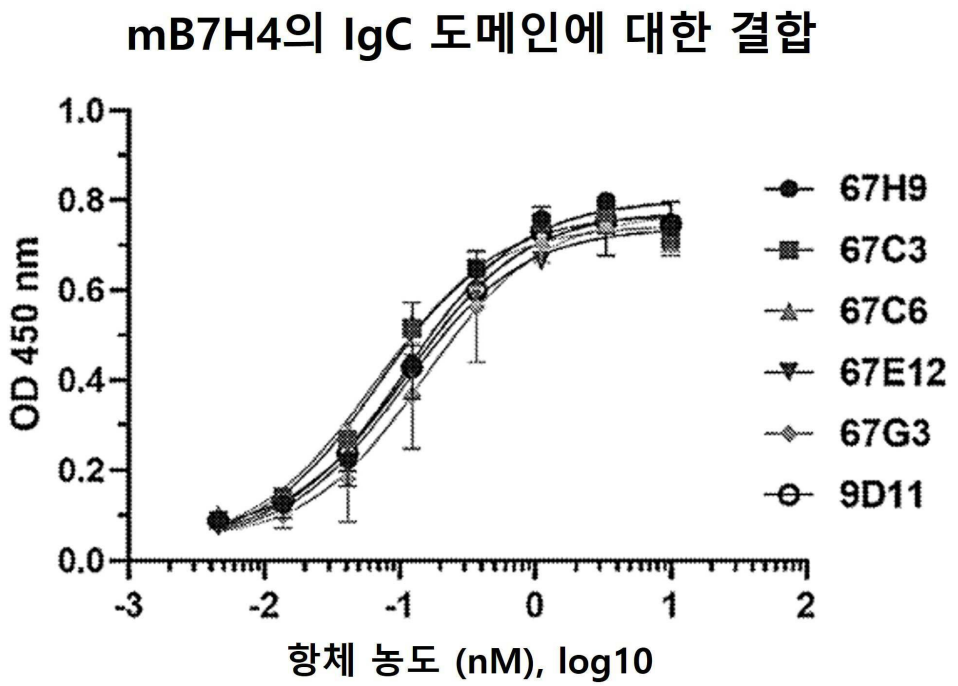
도면11b


mB7H4-Fc에 대한 결합
OD 450 nm
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
항체 농도 (nM), log10
67H9
67C3
67C6
67E12
67G3
9D11

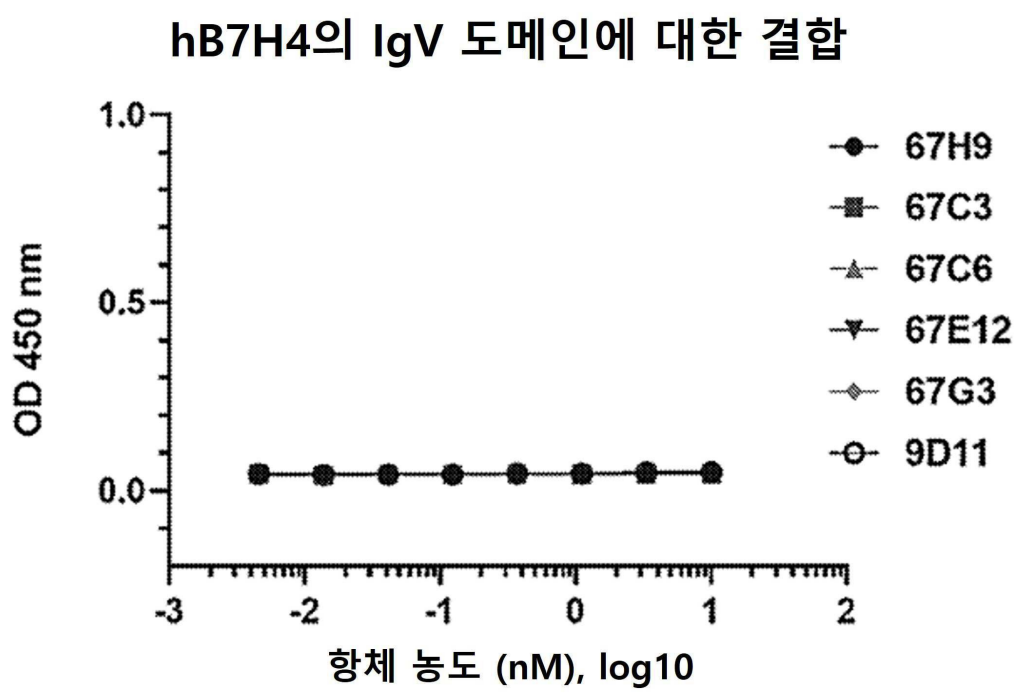
도면11c


hB7H4의 IgC 도메인에 대한 결합
OD 450 nm
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
항체 농도 (nM), log10
67H9
67C3
67C6
67E12
67G3
9D11

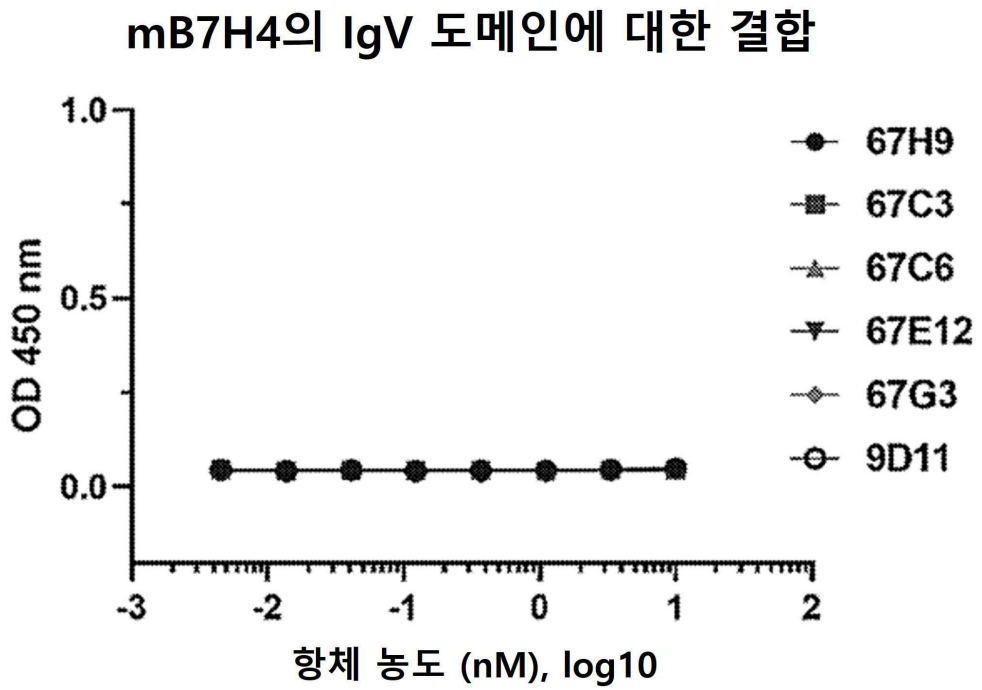
도면11d


mB7H4의 IgC 도메인에 대한 결합
OD 450 nm
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
항체 농도 (nM), log10
67H9
67C3
67C6
67E12
67G3
9D11

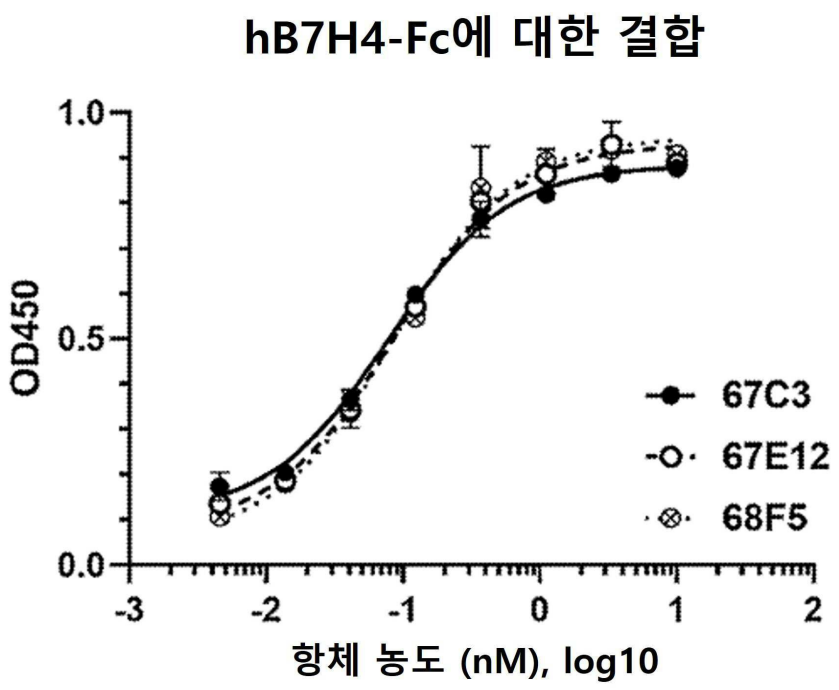
도면11e


hB7H4의 IgV 도메인에 대한 결합
OD 450 nm
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
항체 농도 (nM), log10
67H9
67C3
67C6
67E12
67G3
9D11

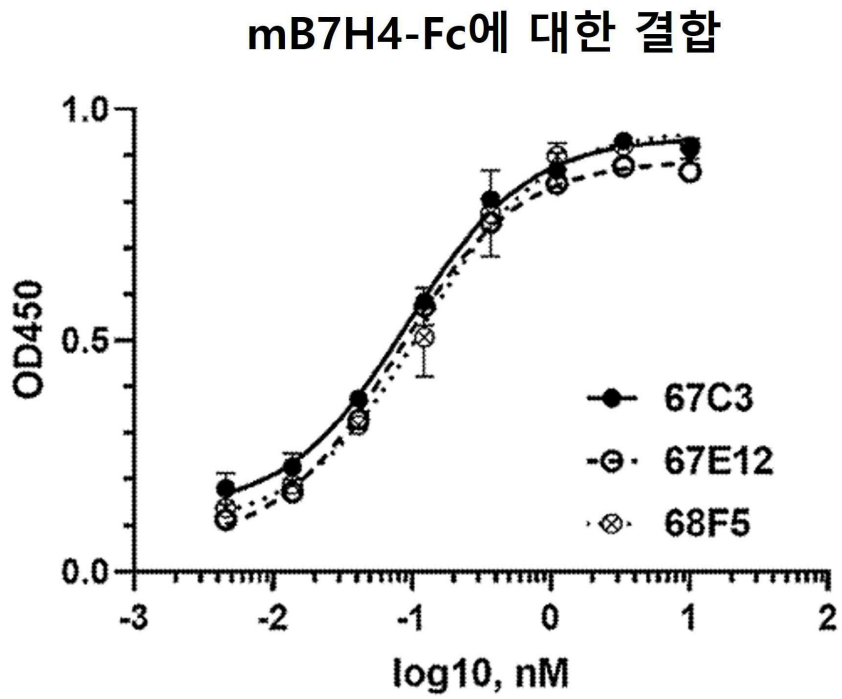
도면11f


mB7H4의 IgV 도메인에 대한 결합
OD 450 nm
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
항체 농도 (nM), log10
67H9
67C3
67C6
67E12
67G3
9D11

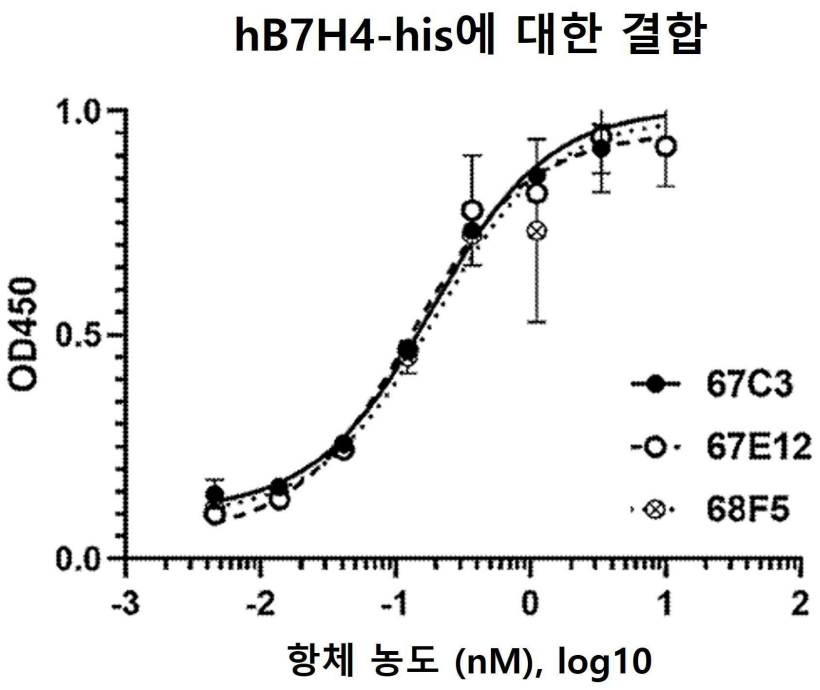
도면12a


hB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
67C3
67E12
68F5
항체 농도 (nM), log10

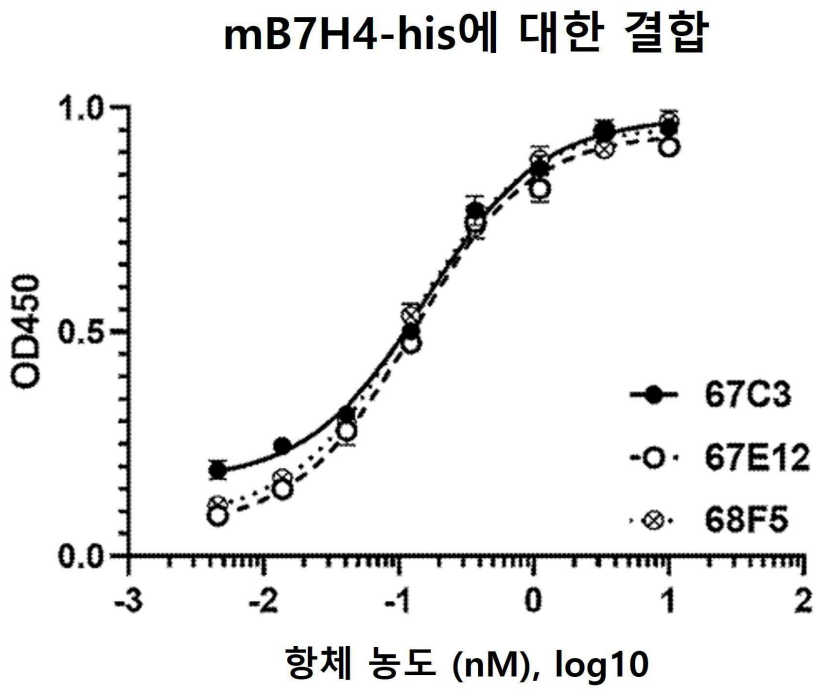
도면12b


mB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
67C3
67E12
68F5
log10, nM

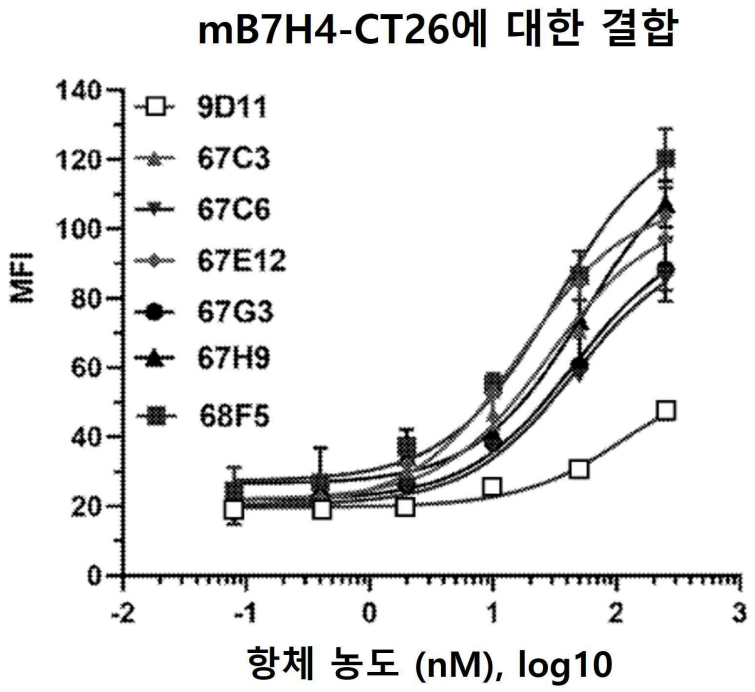
도면12c


hB7H4-his에 대한 결합
OD450
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
67C3
67E12
68F5
항체 농도 (nM), log10

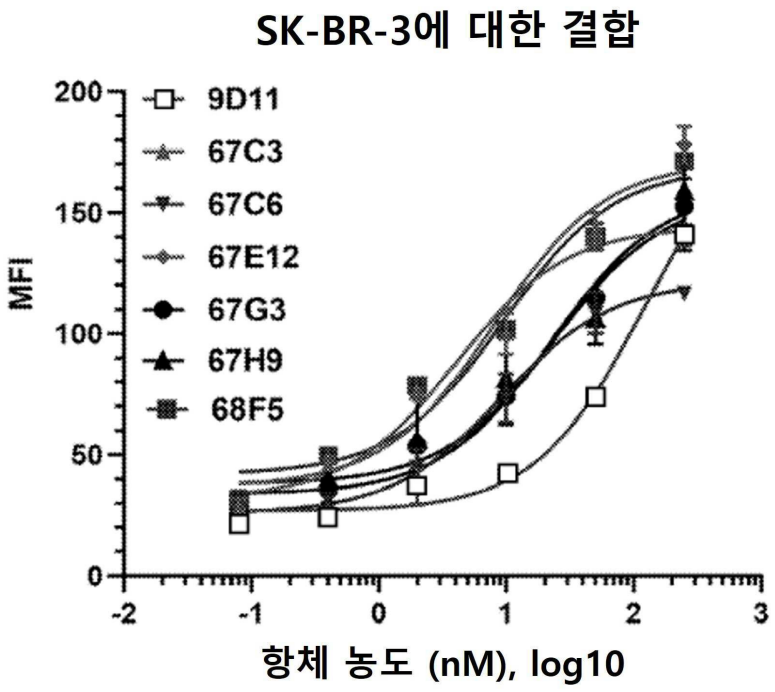
도면12d


mB7H4-his에 대한 결합
OD450
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
67C3
67E12
68F5
항체 농도 (nM), log10

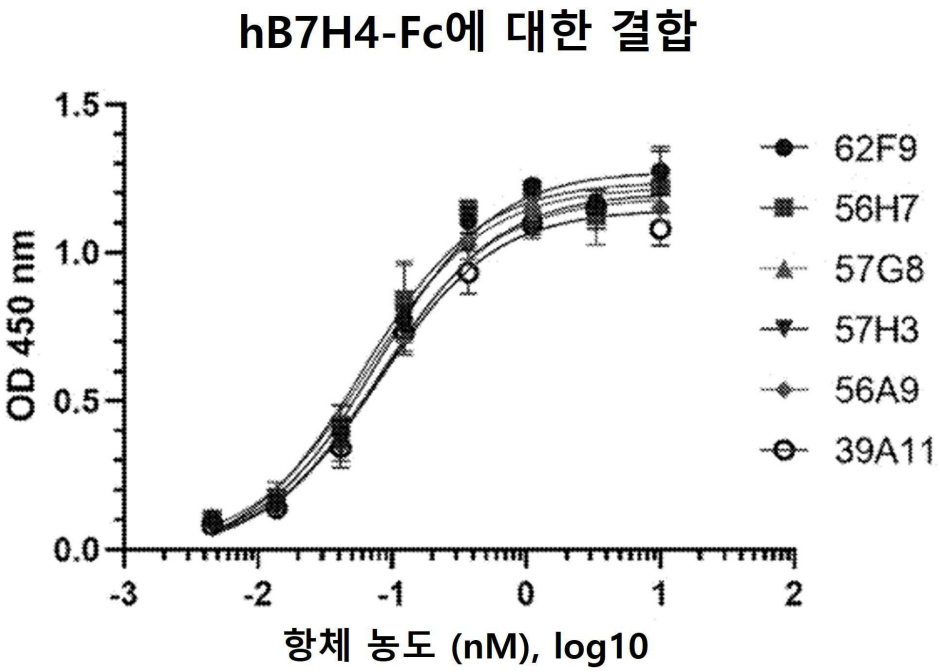
도면13a


mB7H4-CT26에 대한 결합
MFI
9D11
67C3
67C6
67E12
67G3
67H9
68F5
140
120
100
80
60
40
20
0
-2
-1
0
1
2
3
항체 농도 (nM), log10

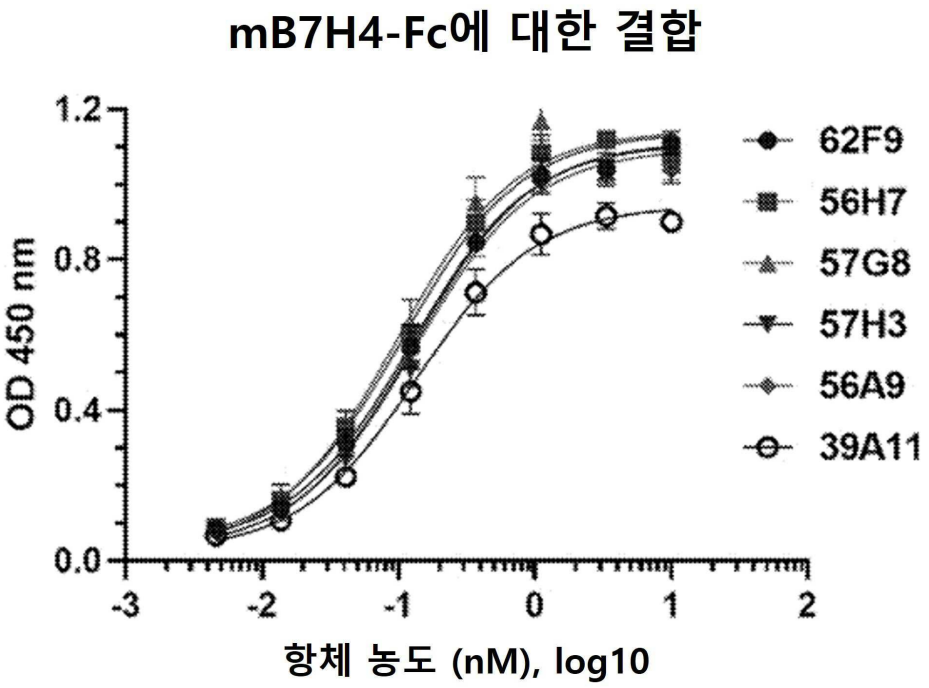
도면13b


SK-BR-3에 대한 결합
MFI
9D11
67C3
67C6
67E12
67G3
67H9
68F5
200
150
100
50
0
-2
-1
0
1
2
3
항체 농도 (nM), log10

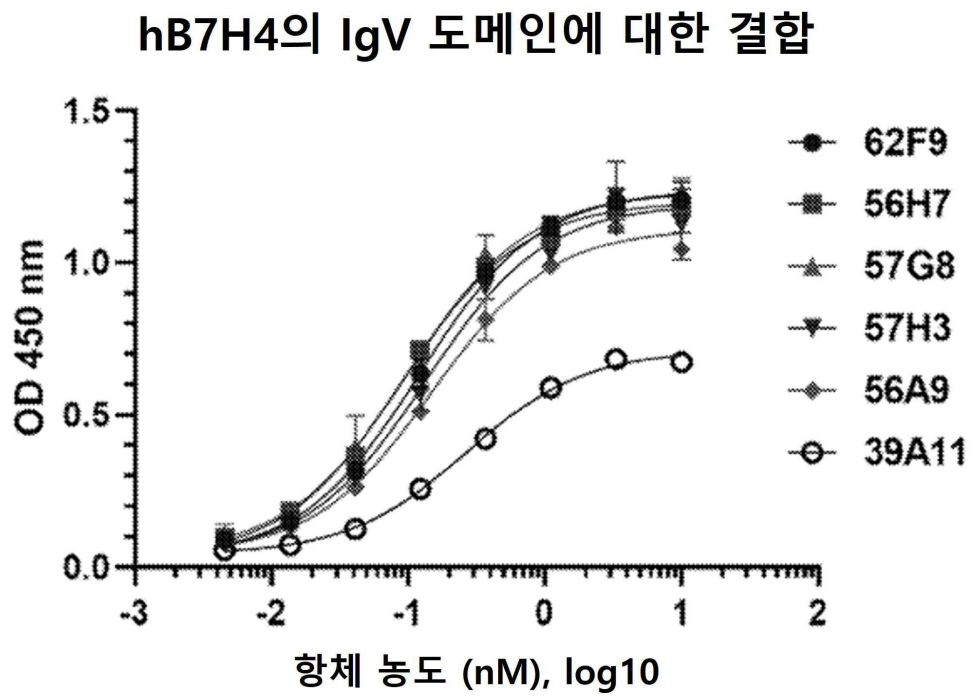
도면14a


hB7H4-Fc에 대한 결합
OD 450 nm
1.5
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
항체 농도 (nM), log10
62F9
56H7
57G8
57H3
56A9
39A11

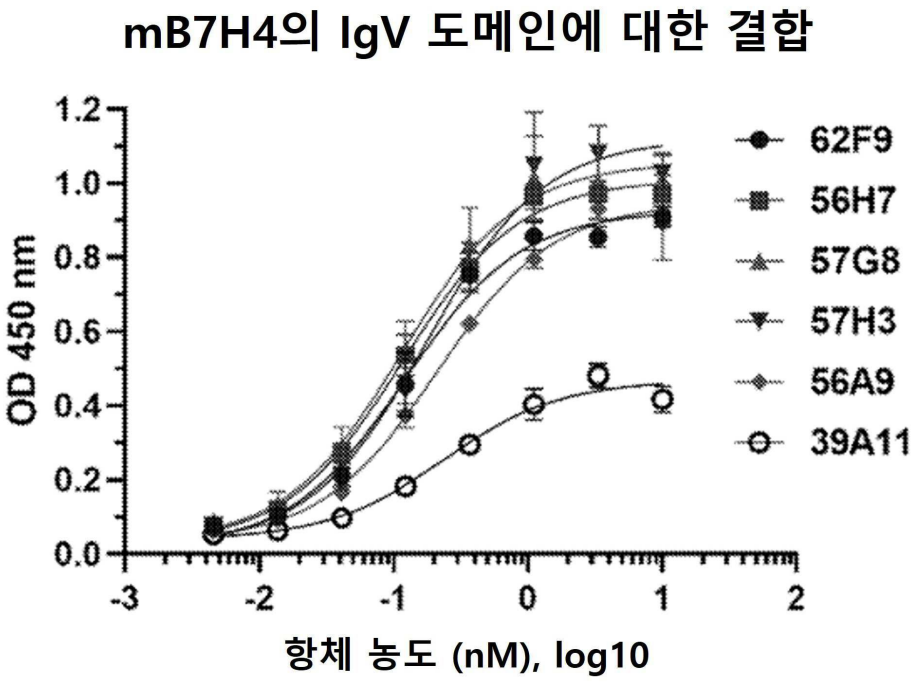
도면14b


mB7H4-Fc에 대한 결합
OD 450 nm
1.2
0.8
0.4
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
항체 농도 (nM), log10
62F9
56H7
57G8
57H3
56A9
39A11

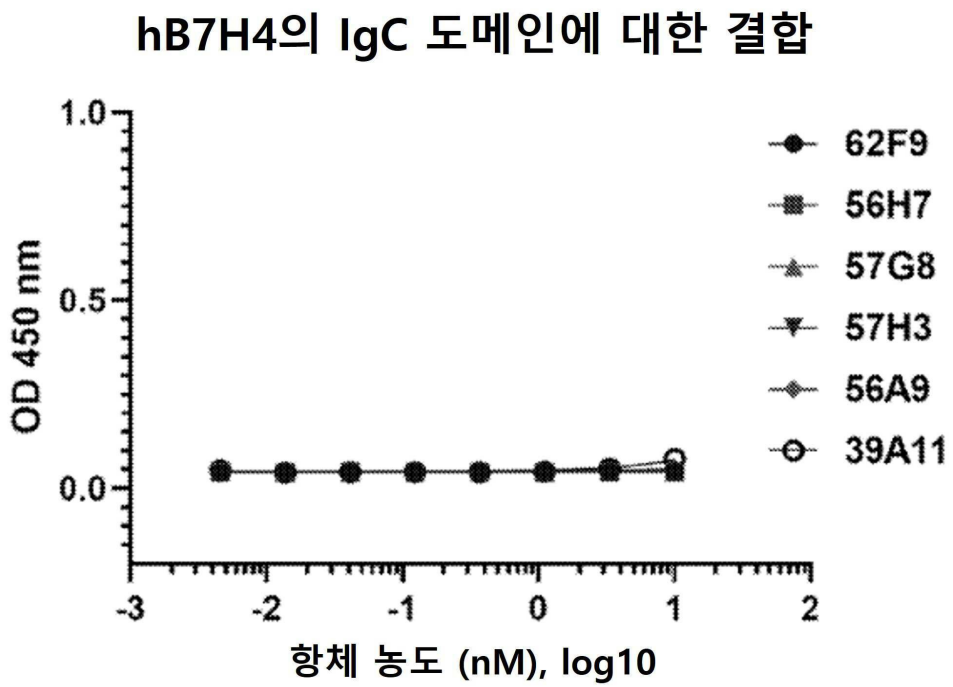
도면14c


hB7H4의 IgV 도메인에 대한 결합
OD 450 nm
1.5
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
항체 농도 (nM), log10
62F9
56H7
57G8
57H3
56A9
39A11

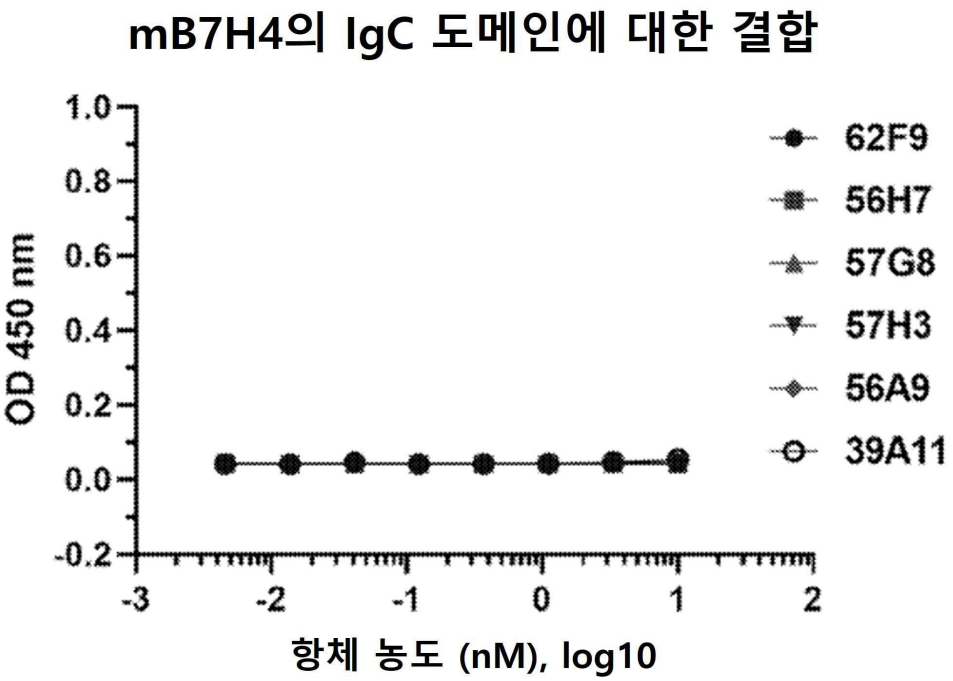
도면14d


mB7H4의 IgV 도메인에 대한 결합
OD 450 nm
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
항체 농도 (nM), log10
62F9
56H7
57G8
57H3
56A9
39A11

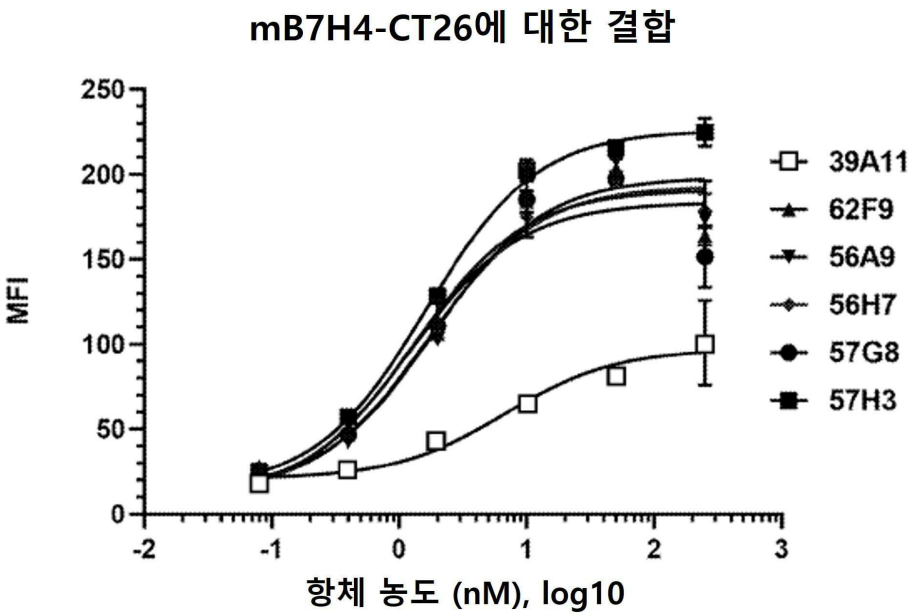
도면14e


hB7H4의 IgC 도메인에 대한 결합
OD 450 nm
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
항체 농도 (nM), log10
62F9
56H7
57G8
57H3
56A9
39A11

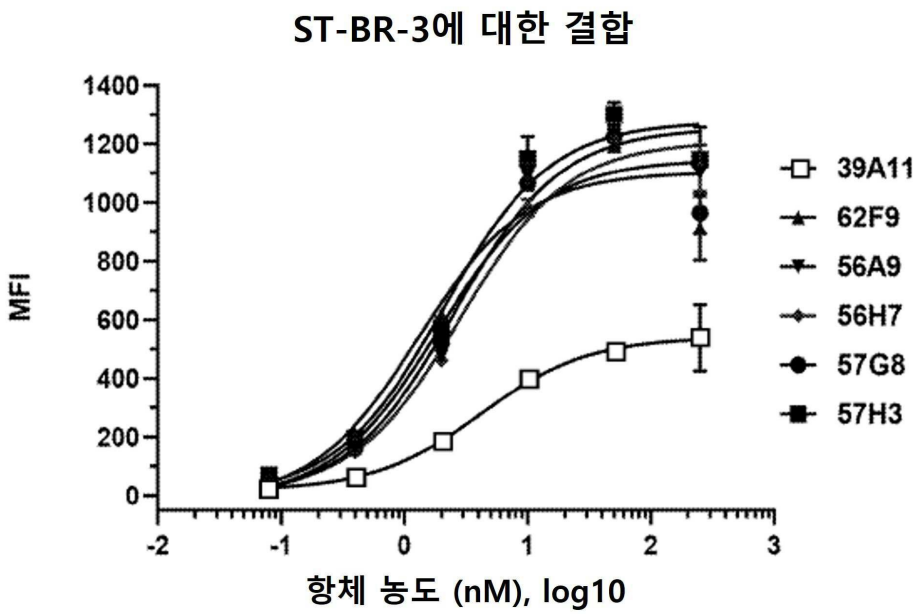
도면14f


mB7H4의 IgC 도메인에 대한 결합
OD 450 nm
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
-3
-2
-1
0
1
2
항체 농도 (nM), log10
62F9
56H7
57G8
57H3
56A9
39A11

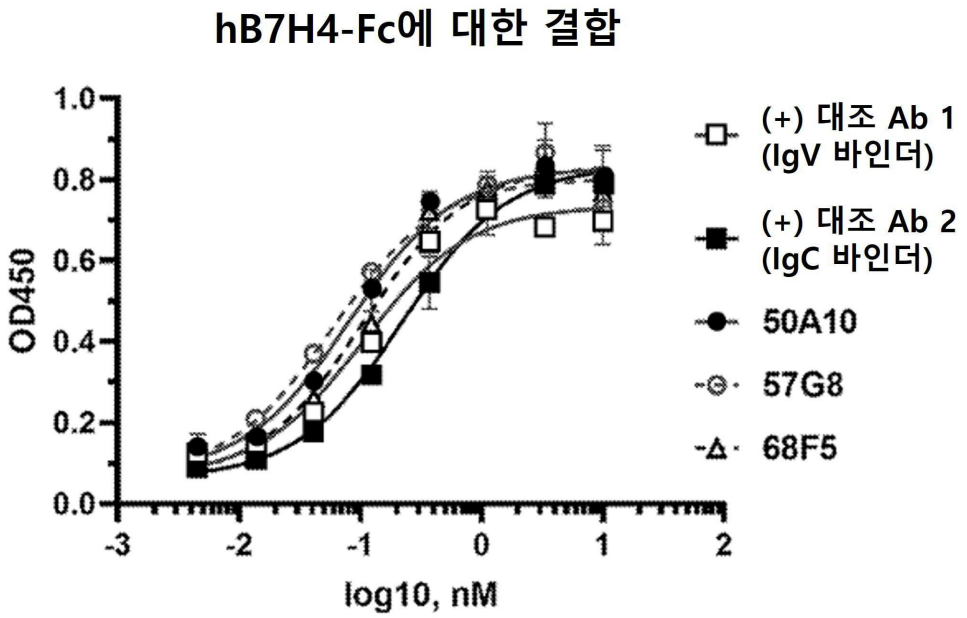
도면15a


mB7H4-CT26에 대한 결합
MFI
250
200
150
100
50
0
-2
-1
0
1
2
3
항체 농도 (nM), log10
39A11
62F9
56A9
56H7
57G8
57H3

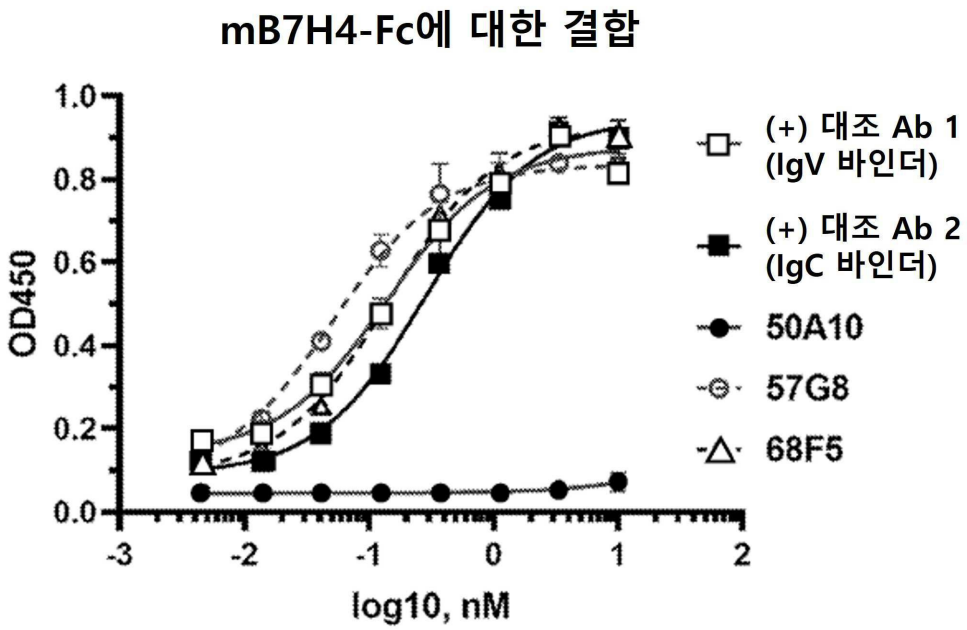
도면15b


ST-BR-3에 대한 결합
MFI
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
-2
-1
0
1
2
3
항체 농도 (nM), log10
39A11
62F9
56A9
56H7
57G8
57H3

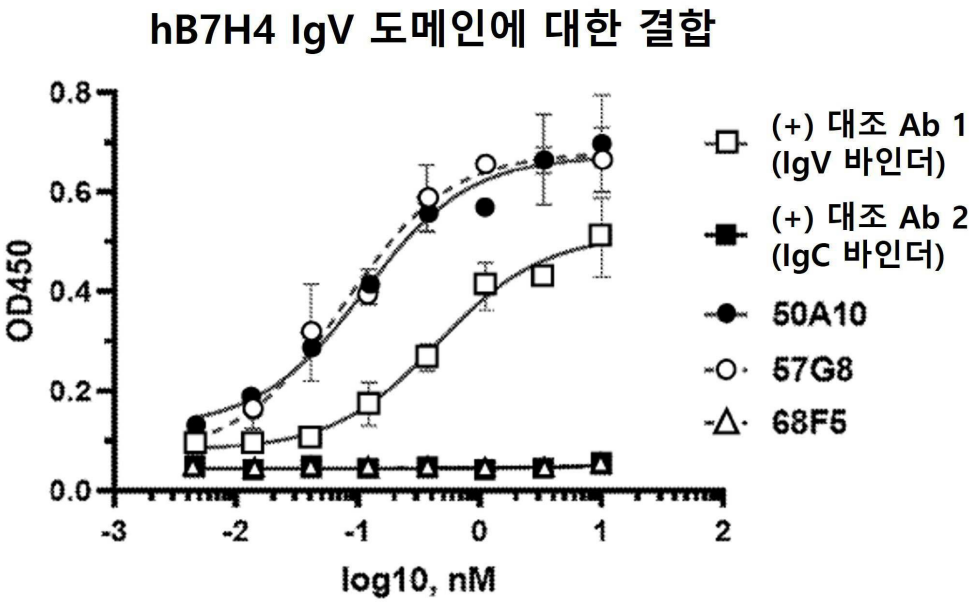
도면16a


hB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
(+) 대조 Ab 1
(IgV 바인더)
(+) 대조 Ab 2
(IgC 바인더)
50A10
57G8
68F5

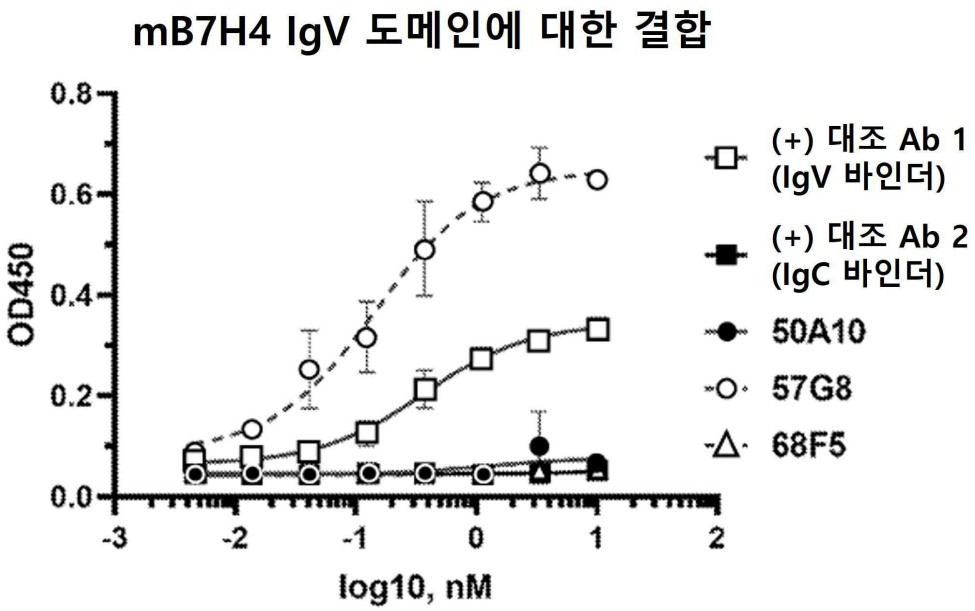
도면16b


mB7H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
(+) 대조 Ab 1
(IgV 바인더)
(+) 대조 Ab 2
(IgC 바인더)
50A10
57G8
68F5

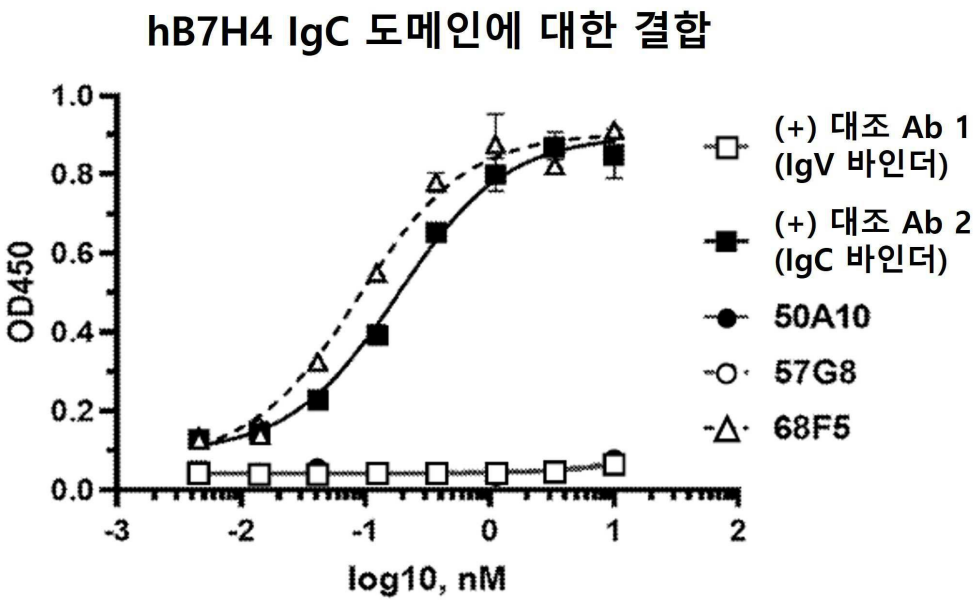
도면16c


hB7H4 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
(+) 대조 Ab 1
(IgV 바인더)
(+) 대조 Ab 2
(IgC 바인더)
50A10
57G8
68F5

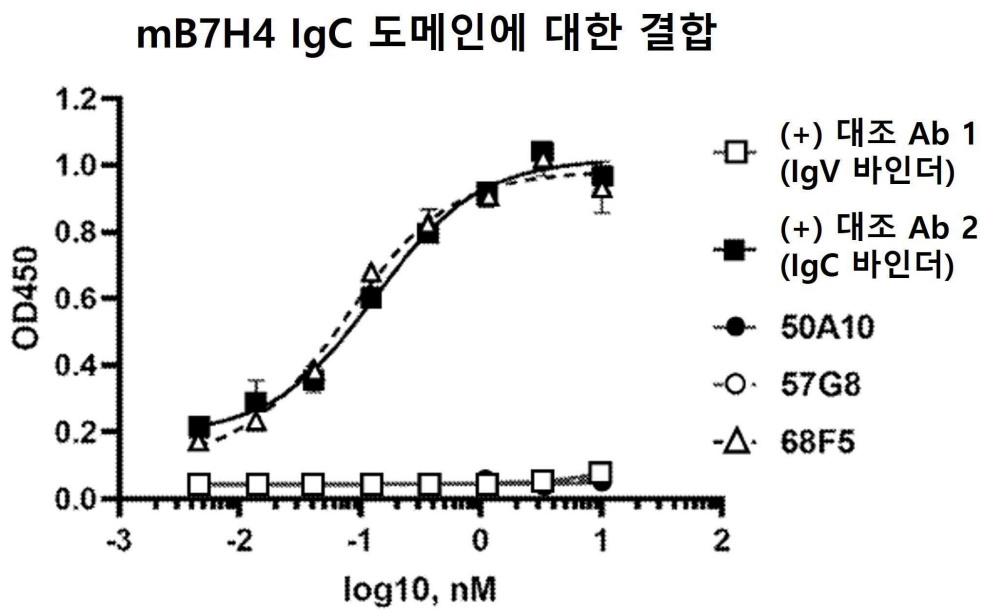
도면16d


mB7H4 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
(+) 대조 Ab 1
(IgV 바인더)
(+) 대조 Ab 2
(IgC 바인더)
50A10
57G8
68F5

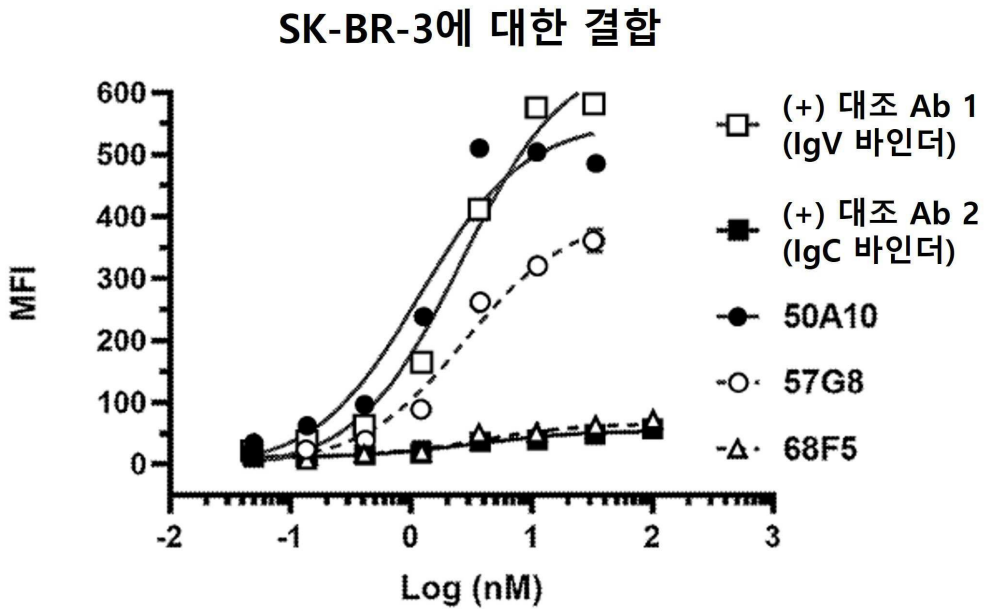
도면16e


hB7H4 IgC 도메인에 대한 결합
OD450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
(+) 대조 Ab 1
(IgV 바인더)
(+) 대조 Ab 2
(IgC 바인더)
50A10
57G8
68F5

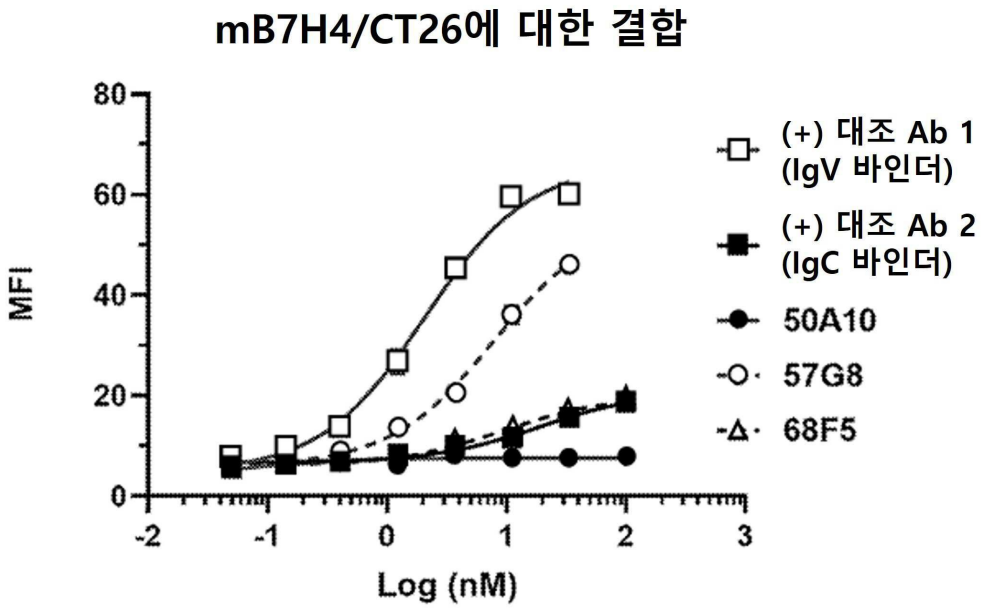
도면16f


mB7H4 IgC 도메인에 대한 결합
OD450
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
(+) 대조 Ab 1
(IgV 바인더)
(+) 대조 Ab 2
(IgC 바인더)
50A10
57G8
68F5

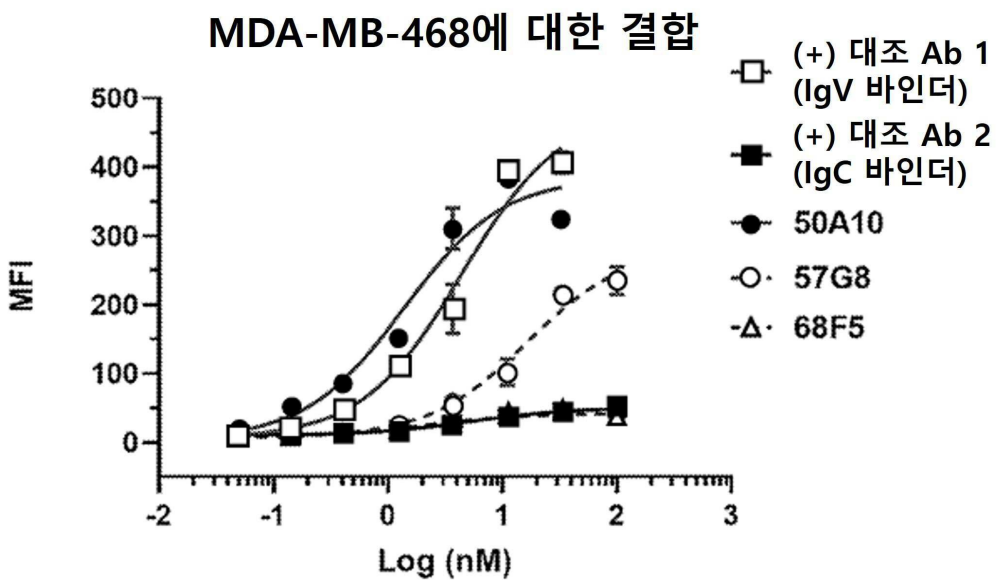
도면17a


SK-BR-3에 대한 결합
MFI
600
500
400
300
200
100
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
(+) 대조 Ab 1
(IgV 바인더)
(+) 대조 Ab 2
(IgC 바인더)
50A10
57G8
68F5

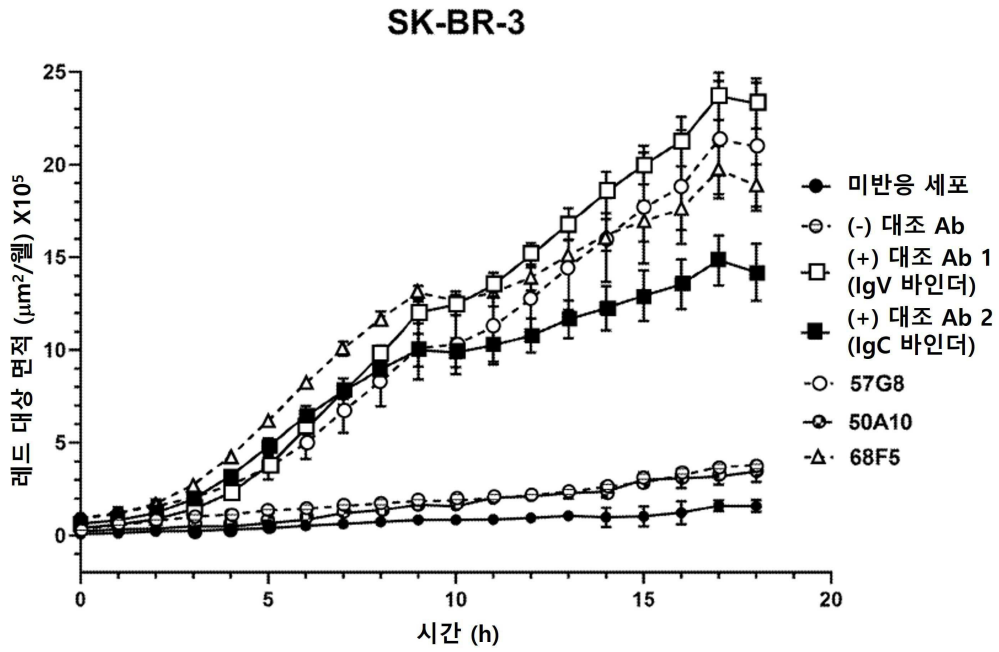
도면17b


mB7H4/CT26에 대한 결합
MFI
80
60
40
20
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
(+) 대조 Ab 1
(IgV 바인더)
(+) 대조 Ab 2
(IgC 바인더)
50A10
57G8
68F5

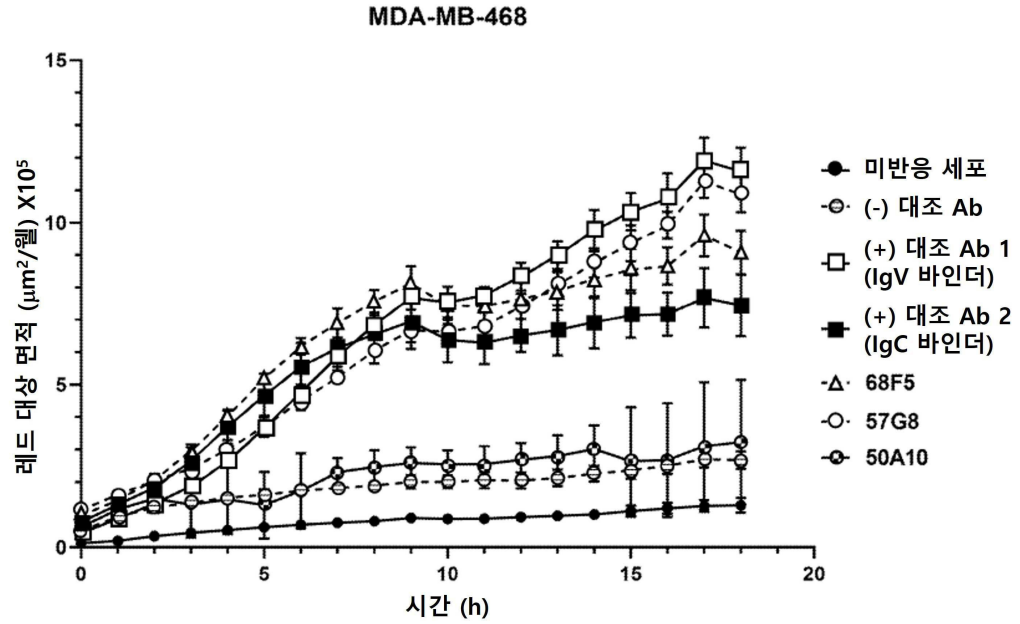
도면17c


MDA-MB-468에 대한 결합
MFI
500
400
300
200
100
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
(+) 대조 Ab 1
(IgV 바인더)
(+) 대조 Ab 2
(IgC 바인더)
50A10
57G8
68F5

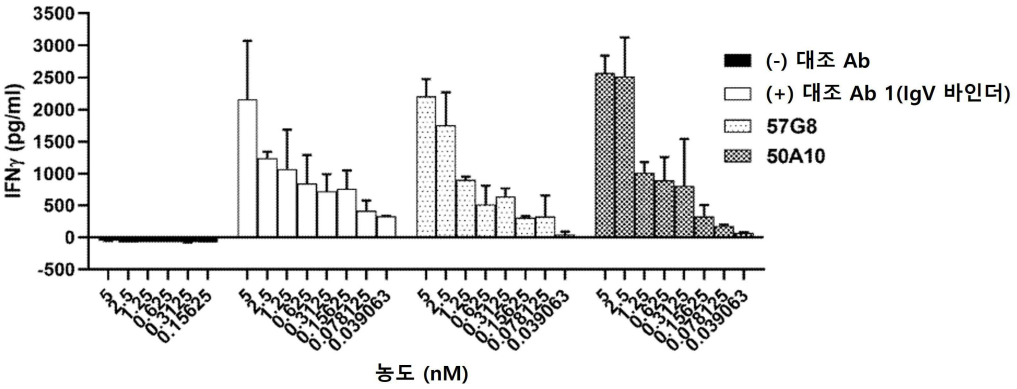
도면18a


SK-BR-3
레드 대상 면적 (μm²/웰) X10⁵
25
20
15
10
5
0
0
5
10
15
20
시간 (h)
미반응 세포
(-) 대조 Ab
(+) 대조 Ab 1
(IgV 바인더)
(+) 대조 Ab 2
(IgC 바인더)
57G8
50A10
68F5

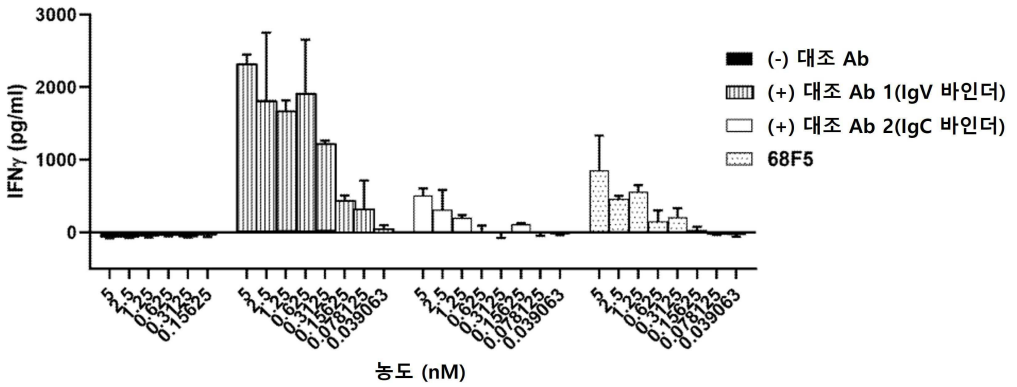
도면18b



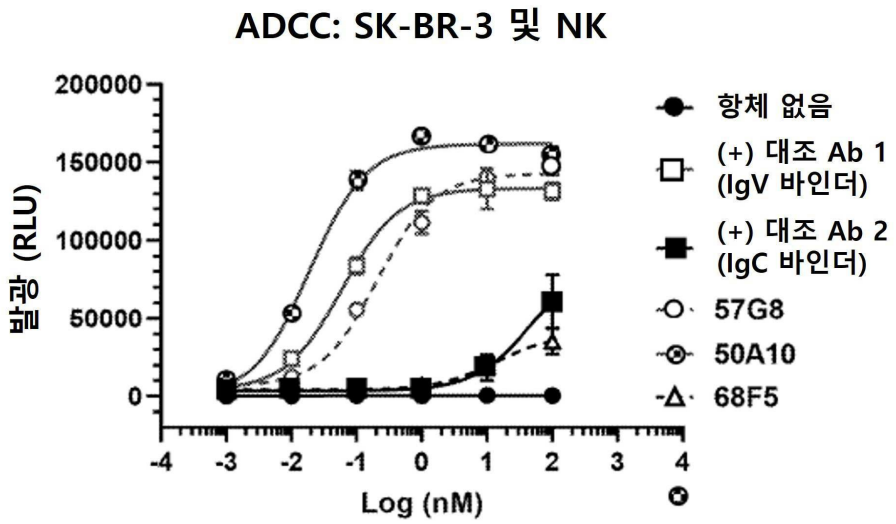
도면19a



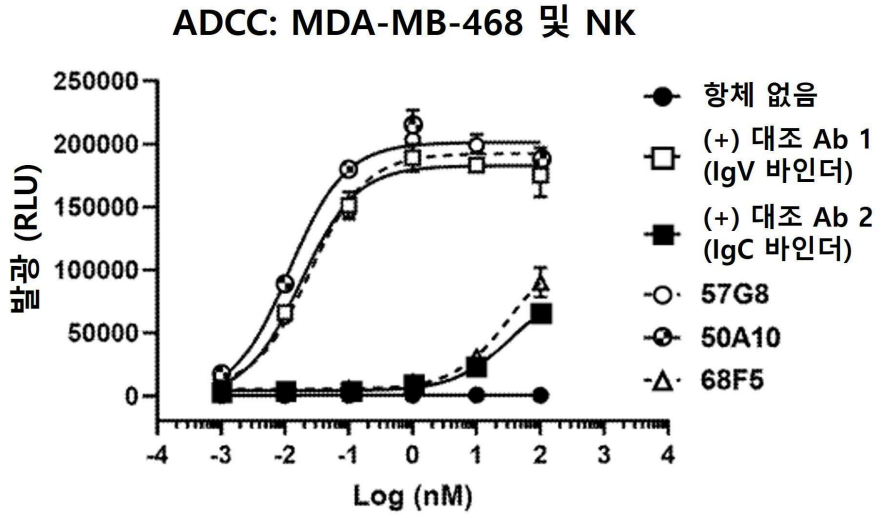
도면19b



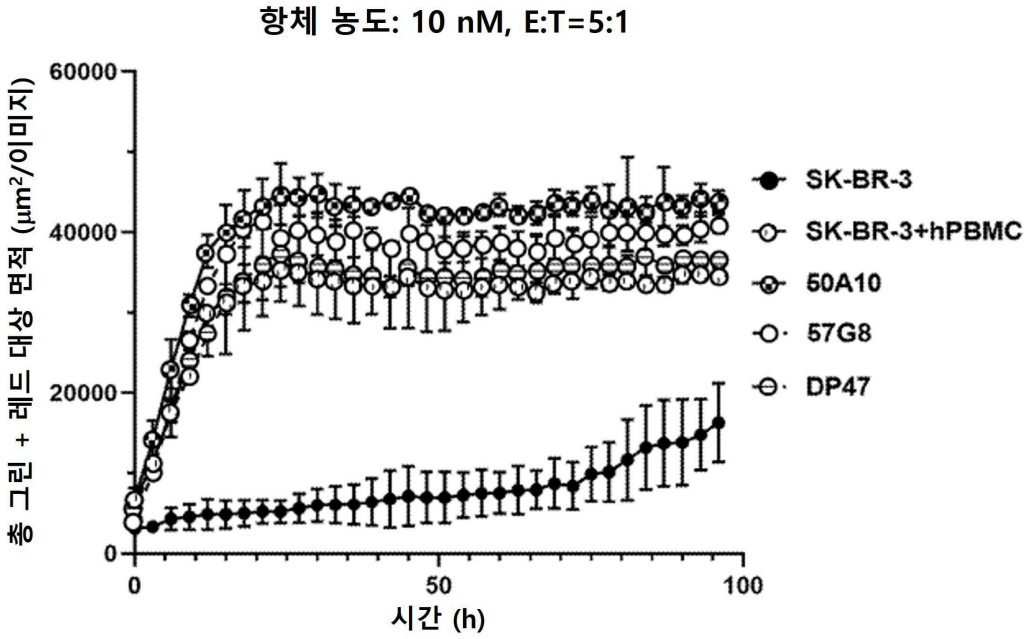
도면20a


ADCC: SK-BR-3 및 NK
200000
150000
100000
50000
0
발광 (RLU)
-4
-3
-2
-1
0
1
2
3
4
Log (nM)
항체 없음
(+) 대조 Ab 1
(IgV 바인더)
(+) 대조 Ab 2
(IgC 바인더)
57G8
50A10
68F5

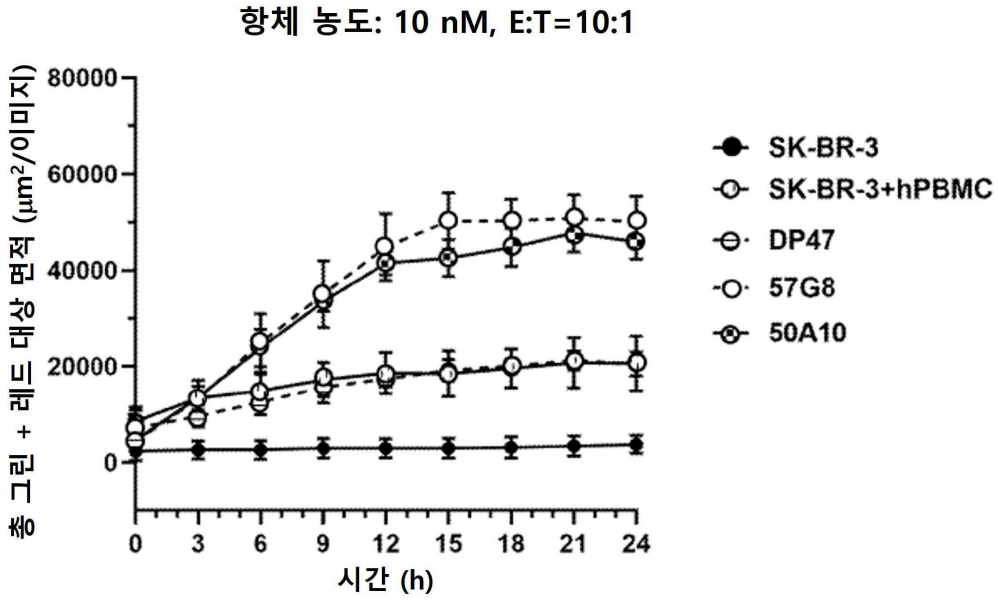
도면20b


ADCC: MDA-MB-468 및 NK
250000
200000
150000
100000
50000
0
발광 (RLU)
-4
-3
-2
-1
0
1
2
3
4
Log (nM)
항체 없음
(+) 대조 Ab 1
(IgV 바인더)
(+) 대조 Ab 2
(IgC 바인더)
57G8
50A10
68F5

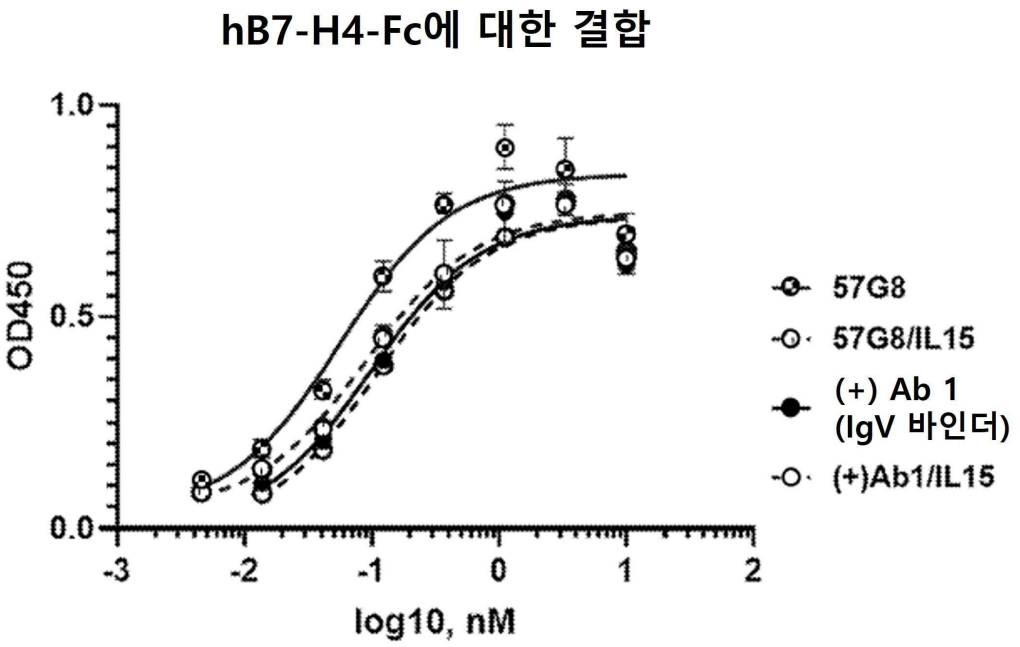
도면21a


항체 농도: 10 nM, E:T=5:1
총 그린 + 레드 대상 면적 (μm²/이미지)
60000
40000
20000
0
0
50
100
시간 (h)
SK-BR-3
SK-BR-3+hPBMC
50A10
57G8
DP47

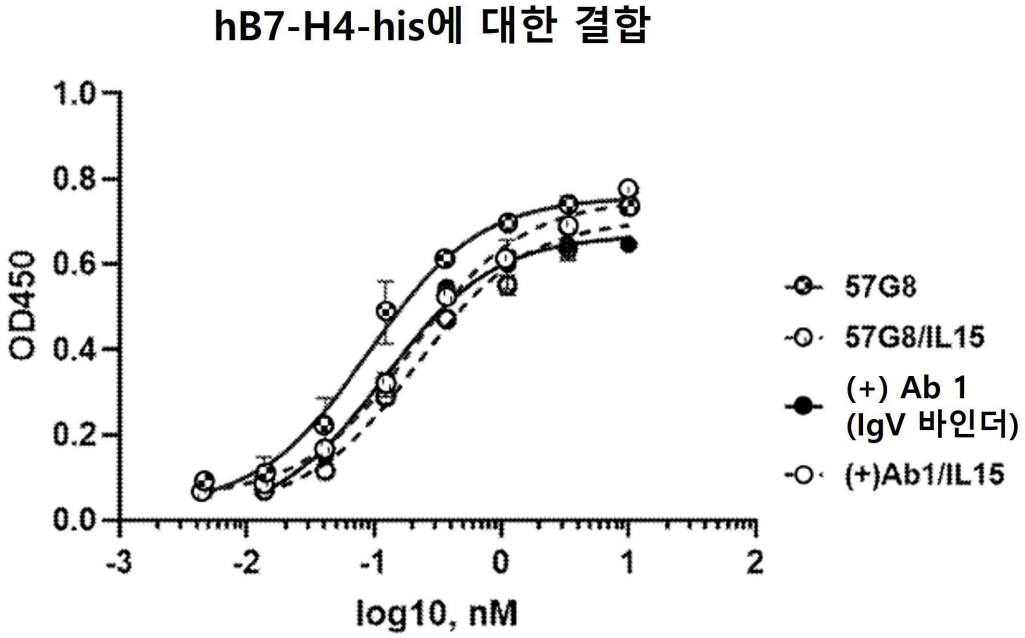
도면21b


항체 농도: 10 nM, E:T=10:1
총 그린 + 레드 대상 면적 (μm²/이미지)
80000
60000
40000
20000
0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
시간 (h)
SK-BR-3
SK-BR-3+hPBMC
DP47
57G8
50A10

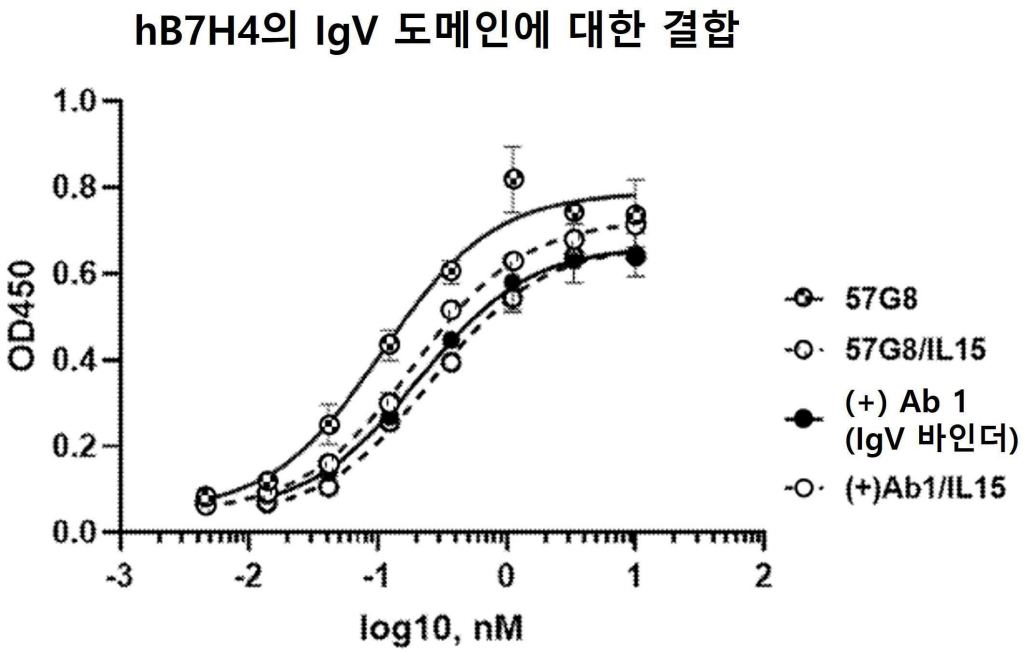
도면22a


hB7-H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
57G8
57G8/IL15
(+) Ab 1
(IgV 바인더)
(+)Ab1/IL15

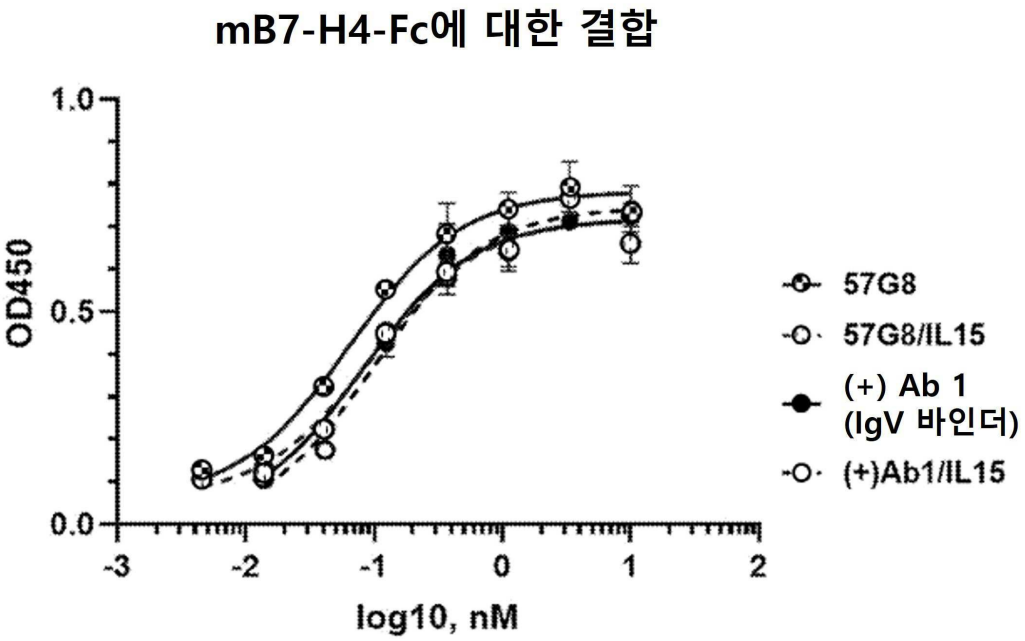
도면22b


hB7-H4-his에 대한 결합
OD450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
57G8
57G8/IL15
(+) Ab 1
(IgV 바인더)
(+)Ab1/IL15

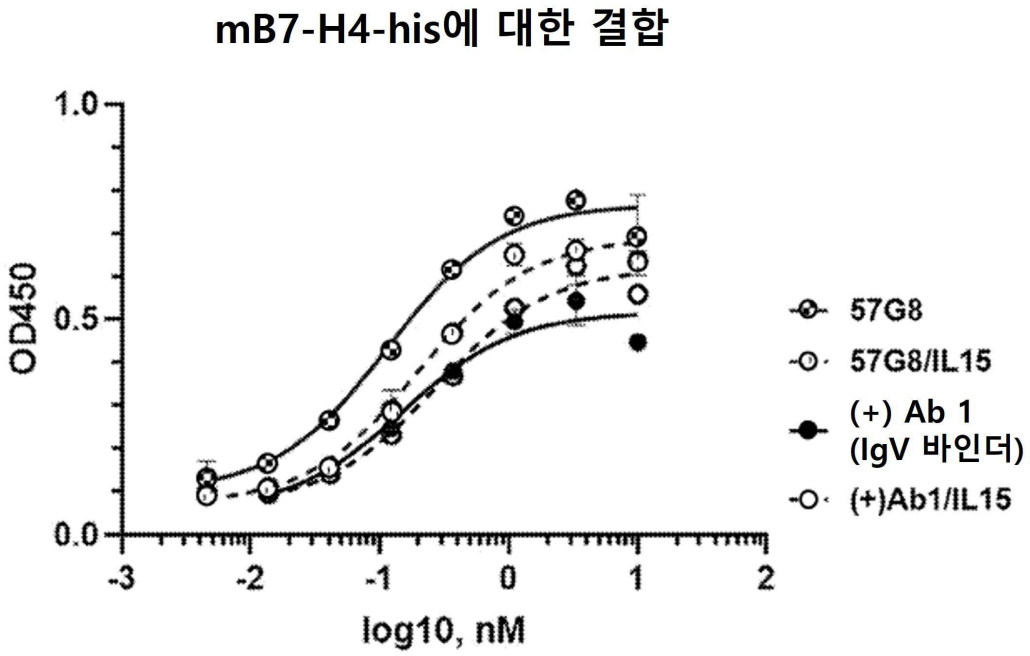
도면22c


hB7H4의 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
57G8
57G8/IL15
(+) Ab 1
(IgV 바인더)
(+)Ab1/IL15

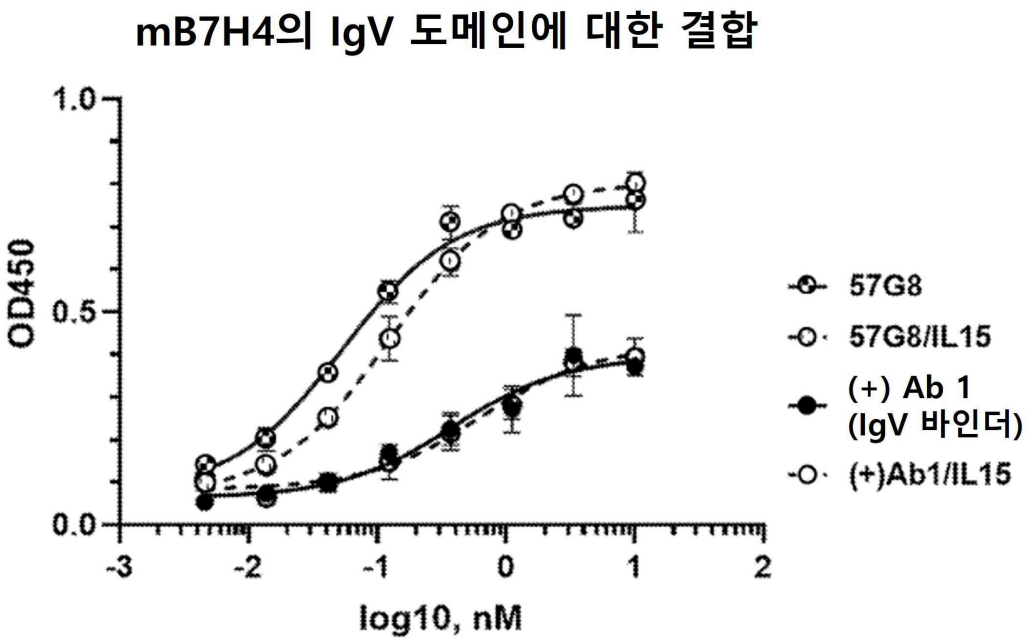
도면22d


mB7-H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
57G8
57G8/IL15
(+) Ab 1
(IgV 바인더)
(+)Ab1/IL15

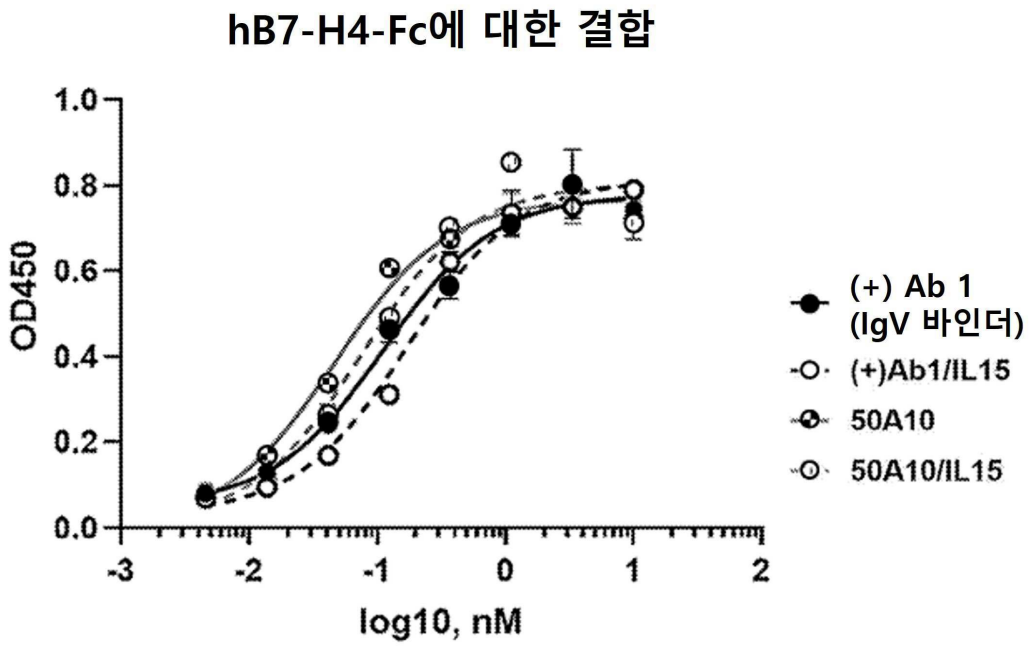
도면22e


mB7-H4-his에 대한 결합
OD450
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
57G8
57G8/IL15
(+) Ab 1
(IgV 바인더)
(+)Ab1/IL15

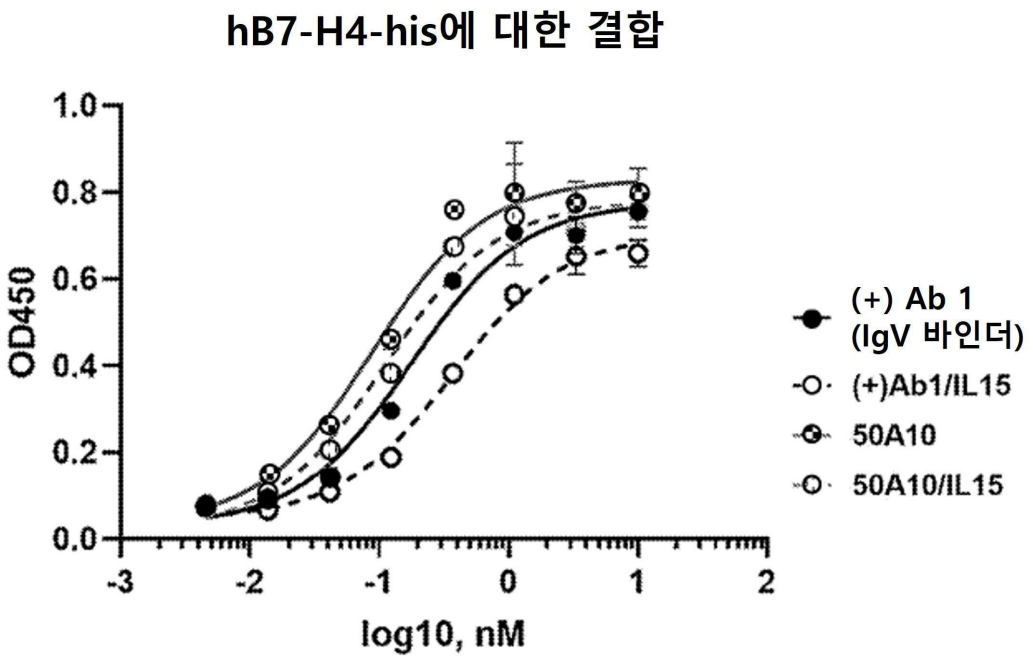
도면22f


mB7H4의 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
1.0
0.5
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
57G8
57G8/IL15
(+) Ab 1
(IgV 바인더)
(+)Ab1/IL15

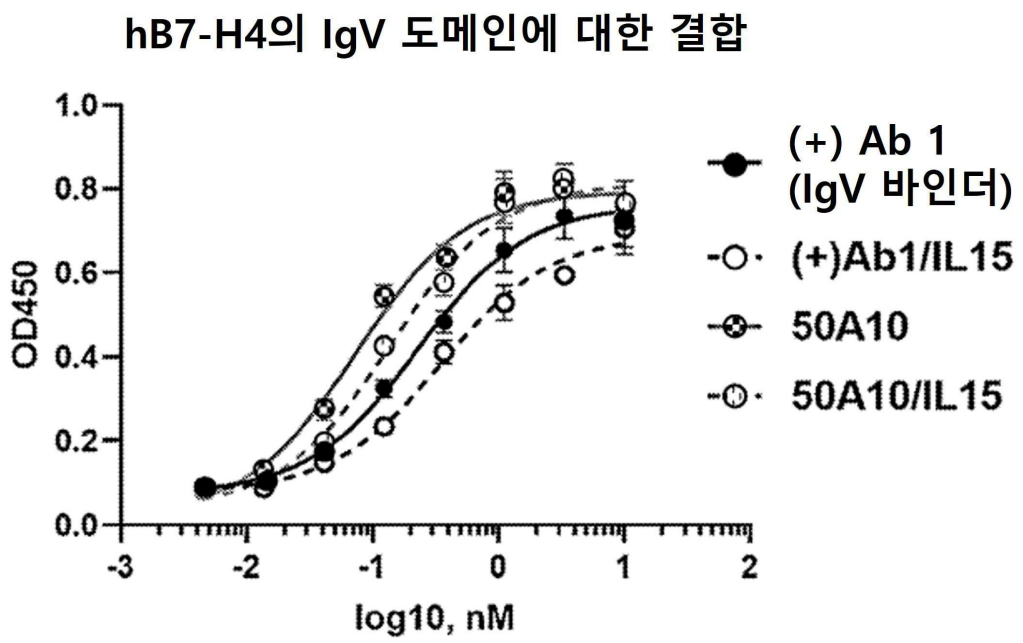
도면23a


hB7-H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
(+) Ab 1
(IgV 바인더)
(+)Ab1/IL15
50A10
50A10/IL15

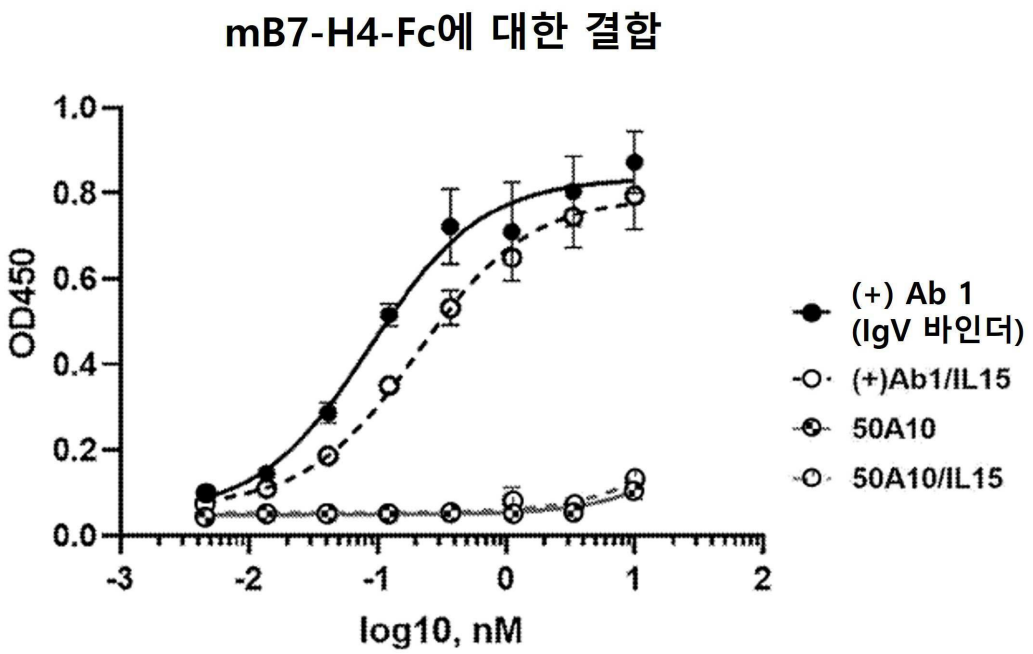
도면23b


hB7-H4-his에 대한 결합
OD450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
(+) Ab 1
(IgV 바인더)
(+)Ab1/IL15
50A10
50A10/IL15

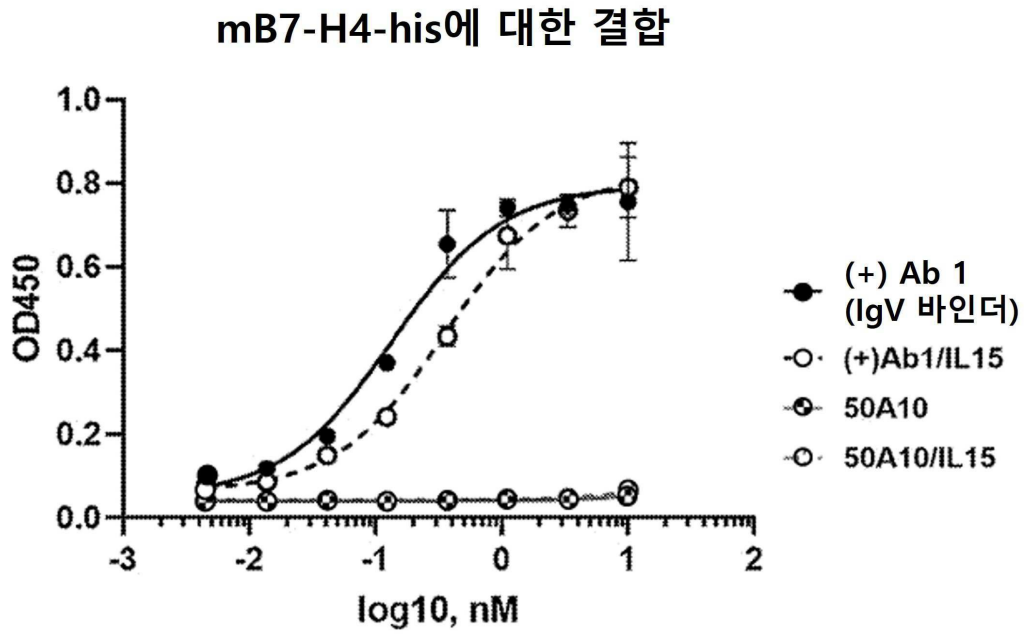
도면23c


hB7-H4의 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
(+) Ab 1
(IgV 바인더)
(+)Ab1/IL15
50A10
50A10/IL15

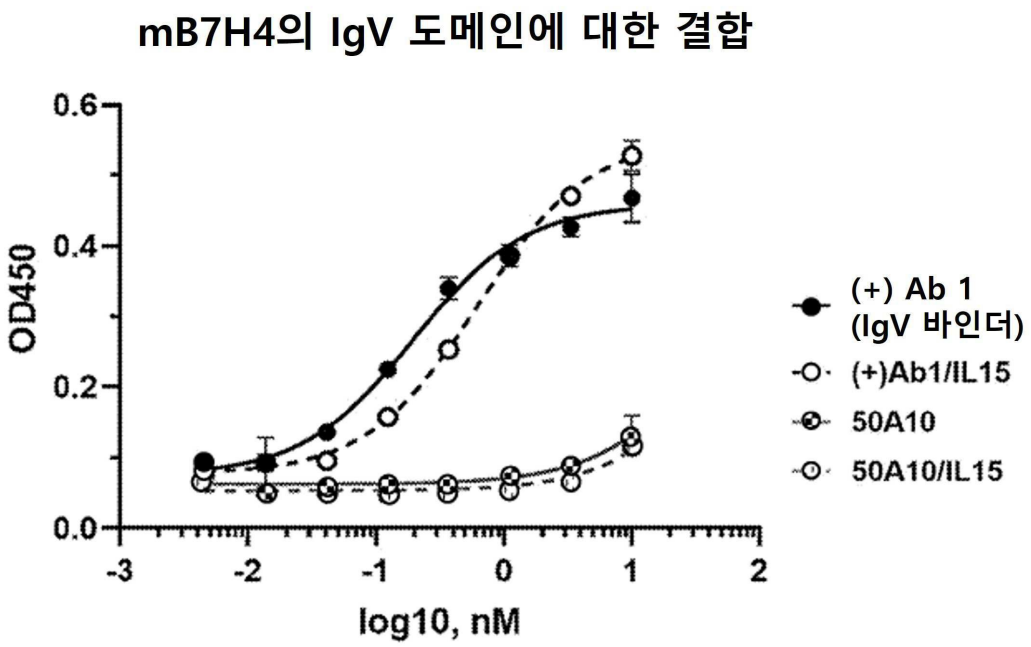
도면23d


mB7-H4-Fc에 대한 결합
OD450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
(+) Ab 1
(IgV 바인더)
(+)Ab1/IL15
50A10
50A10/IL15

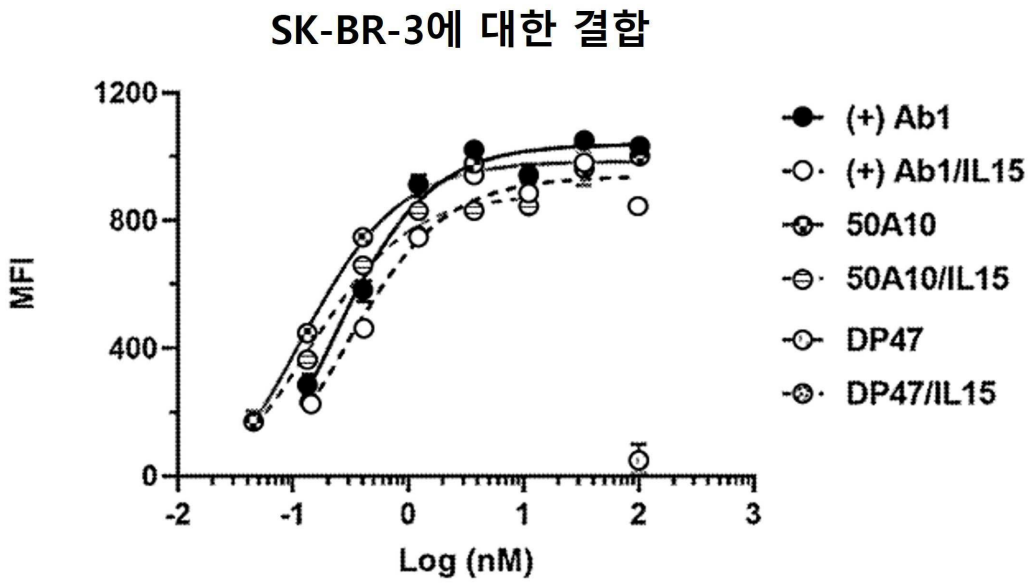
도면23e


mB7-H4-his에 대한 결합
OD450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
(+) Ab 1
(IgV 바인더)
(+)Ab1/IL15
50A10
50A10/IL15

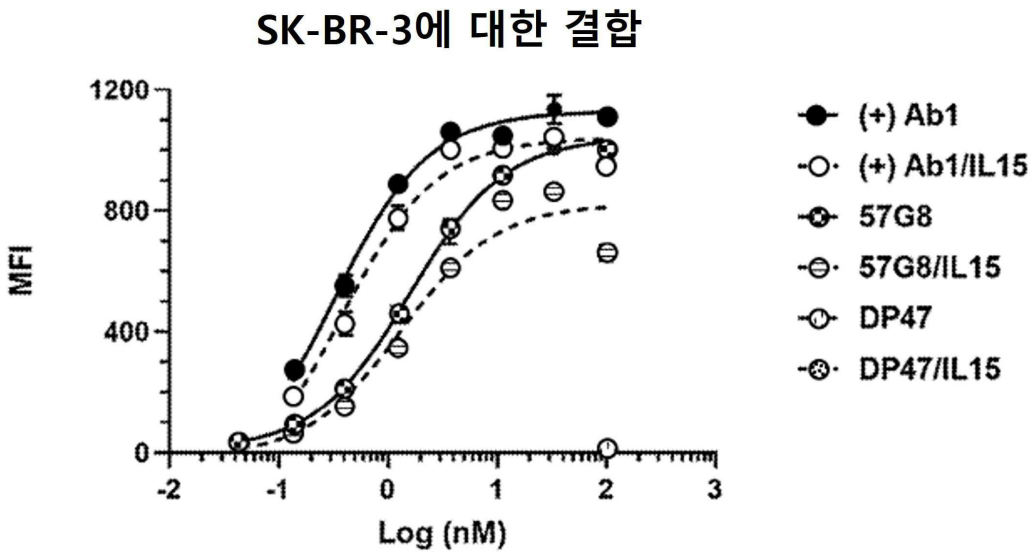
도면23f


mB7H4의 IgV 도메인에 대한 결합
OD450
0.6
0.4
0.2
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
(+) Ab 1
(IgV 바인더)
(+)Ab1/IL15
50A10
50A10/IL15

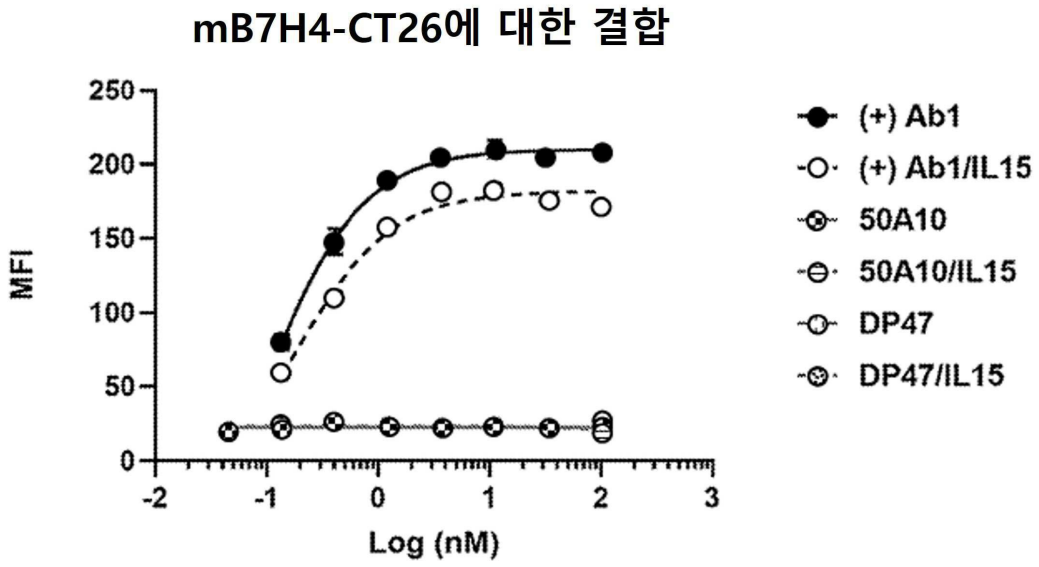
도면24a


SK-BR-3에 대한 결합
MFI
1200
800
400
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
(+) Ab1
(+) Ab1/IL15
50A10
50A10/IL15
DP47
DP47/IL15

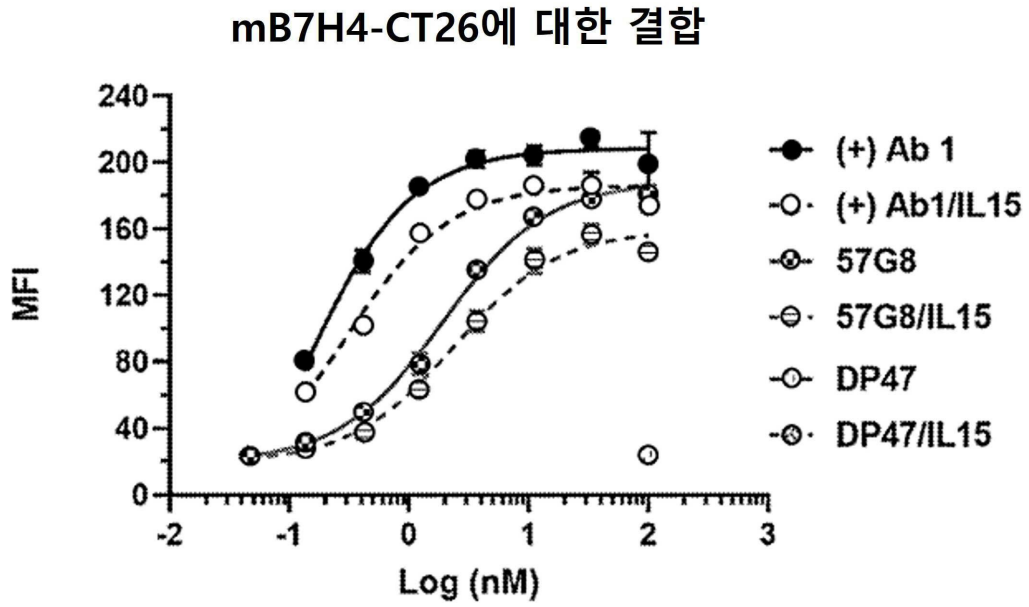
도면24b


SK-BR-3에 대한 결합
MFI
1200
800
400
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
(+) Ab1
(+) Ab1/IL15
57G8
57G8/IL15
DP47
DP47/IL15

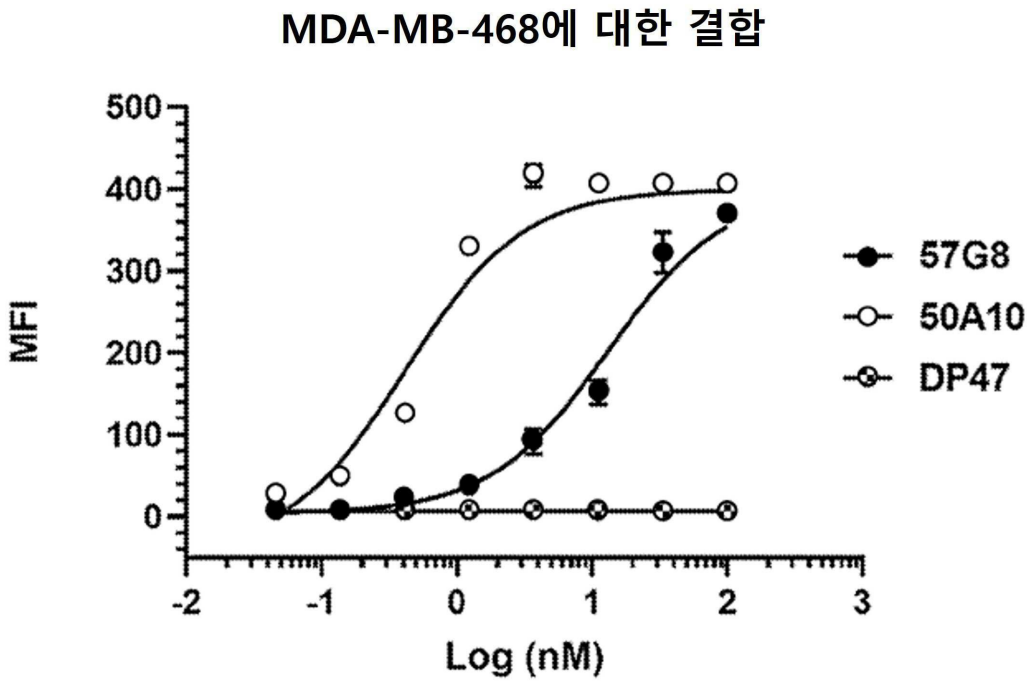
도면24c


mB7H4-CT26에 대한 결합
MFI
250
200
150
100
50
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
(+) Ab1
(+) Ab1/IL15
50A10
50A10/IL15
DP47
DP47/IL15

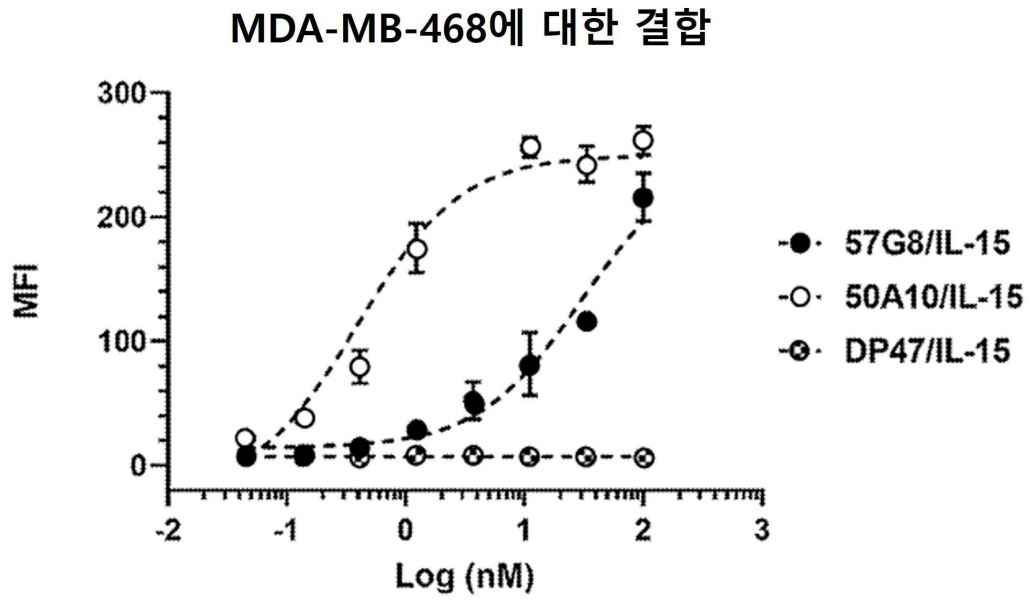
도면24d


mB7H4-CT26에 대한 결합
MFI
240
200
160
120
80
40
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
(+) Ab 1
(+) Ab1/IL15
57G8
57G8/IL15
DP47
DP47/IL15

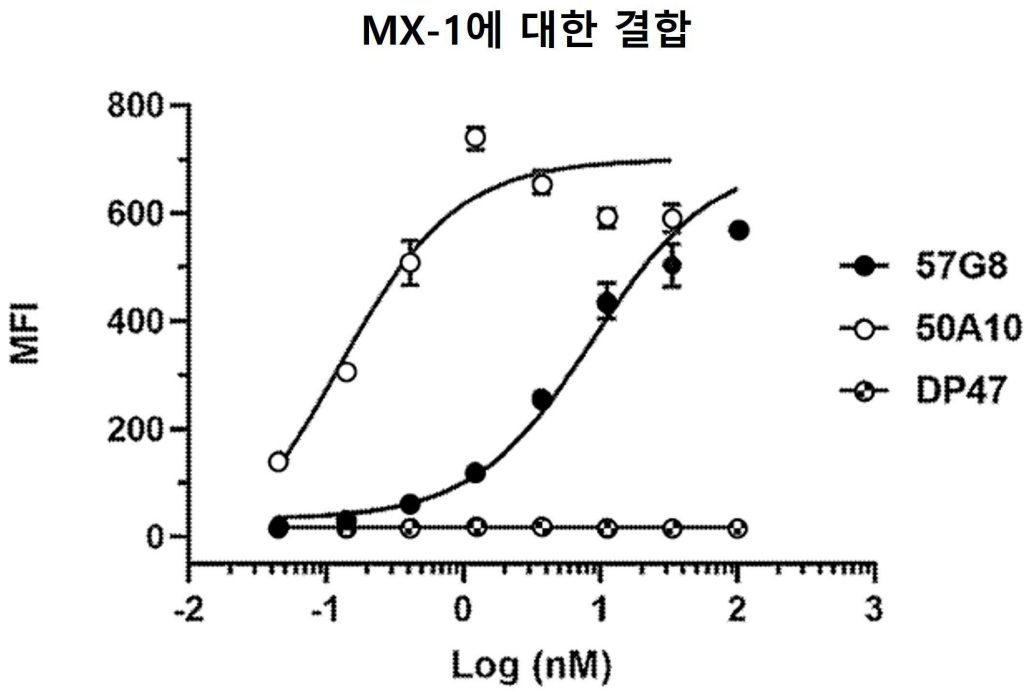
도면25a


MDA-MB-468에 대한 결합
MFI
500
400
300
200
100
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
57G8
50A10
DP47

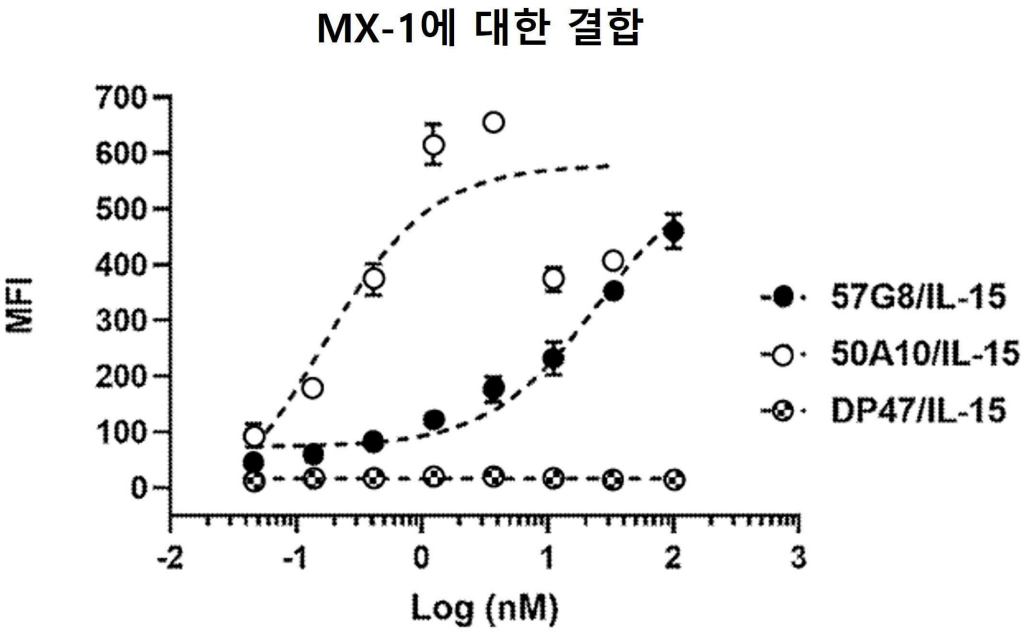
도면25b


MDA-MB-468에 대한 결합
MFI
300
200
100
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
57G8/IL-15
50A10/IL-15
DP47/IL-15

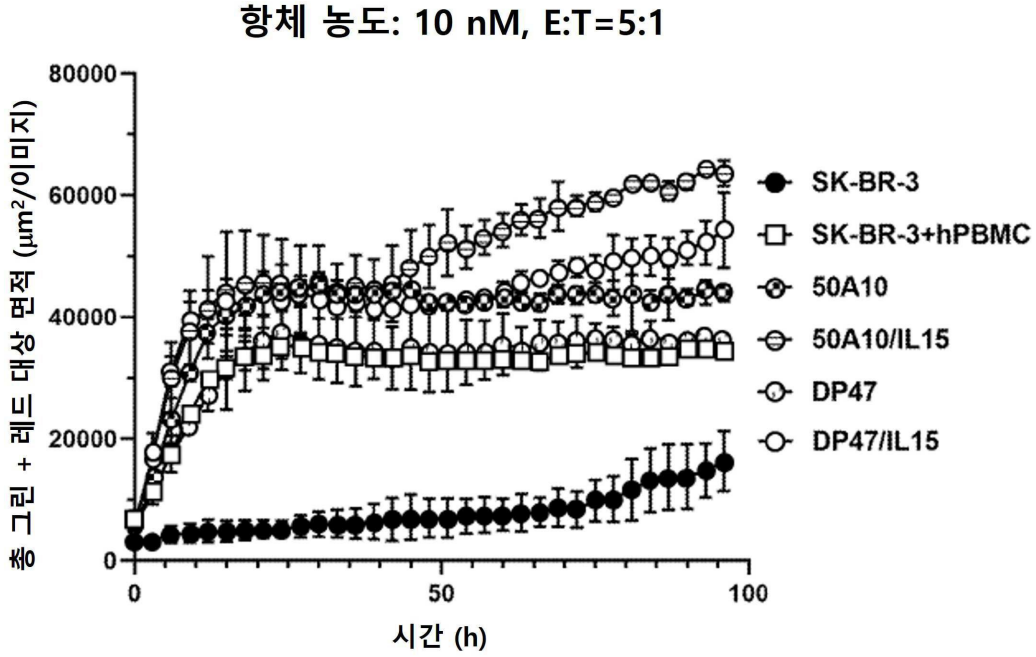
도면25c


MX-1에 대한 결합
MFI
800
600
400
200
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
57G8
50A10
DP47

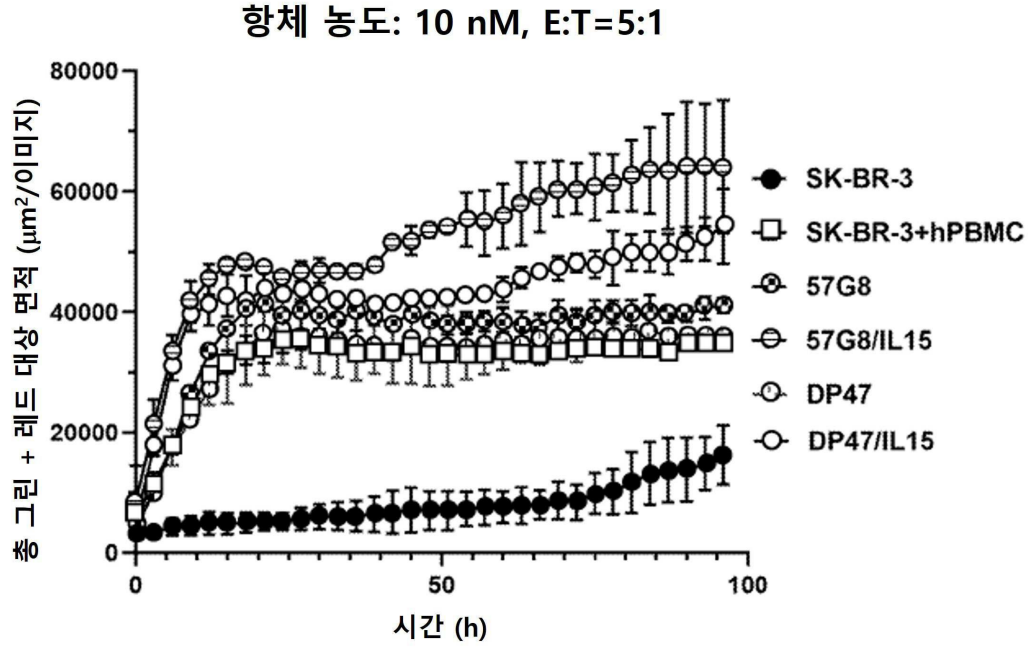
도면25d


MX-1에 대한 결합
MFI
700
600
500
400
300
200
100
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
57G8/IL-15
50A10/IL-15
DP47/IL-15

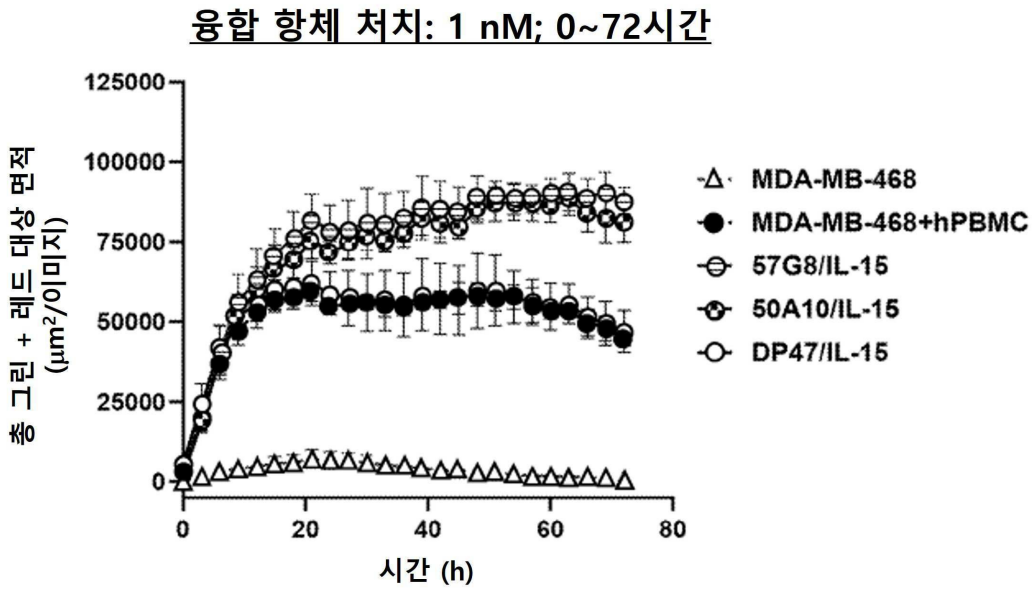
도면26a


항체 농도: 10 nM, E:T=5:1
총 그린 + 레드 대상 면적 (μm²/이미지)
80000
60000
40000
20000
0
0
50
100
시간 (h)
SK-BR-3
SK-BR-3+hPBMC
50A10
50A10/IL15
DP47
DP47/IL15

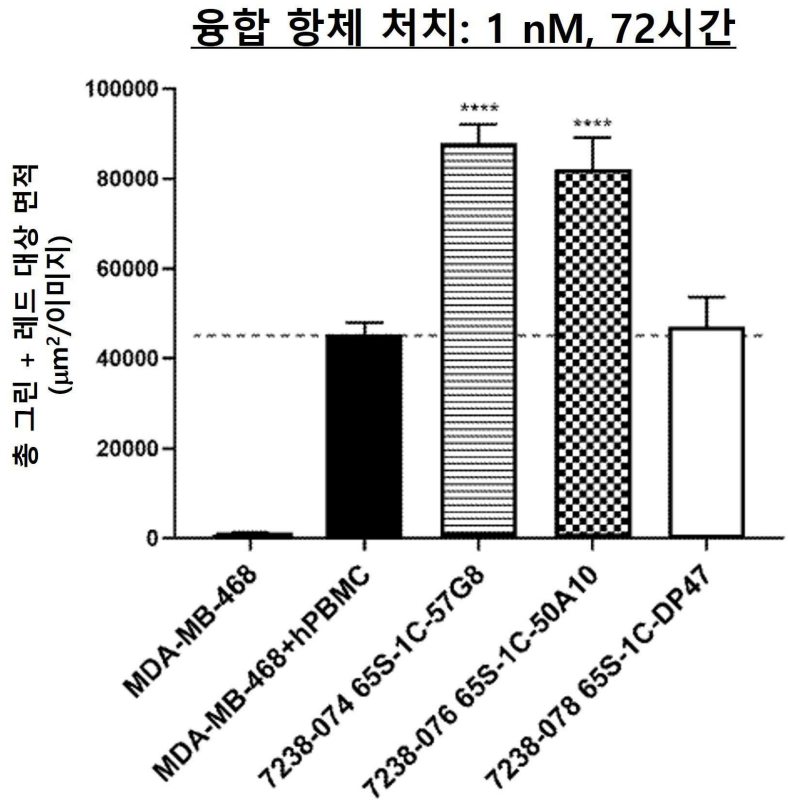
도면26b


항체 농도: 10 nM, E:T=5:1
총 그린 + 레드 대상 면적 (μm²/이미지)
80000
60000
40000
20000
0
0
50
100
시간 (h)
SK-BR-3
SK-BR-3+hPBMC
57G8
57G8/IL15
DP47
DP47/IL15

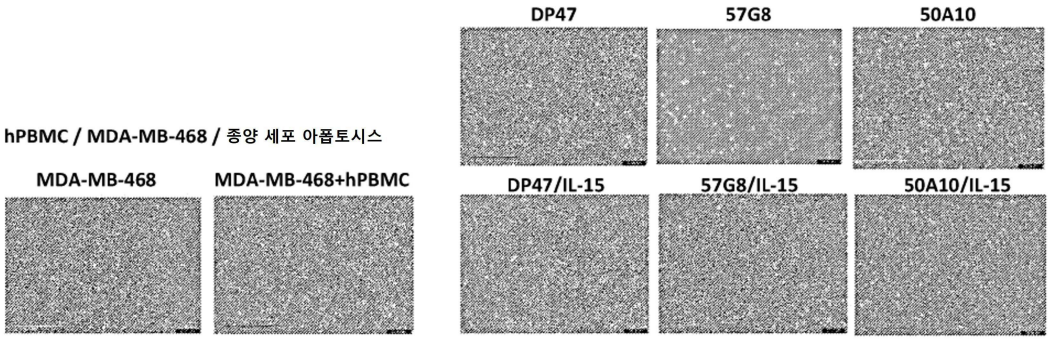
도면26c


융합 항체 처치: 1 nM; 0~72시간
총 그린 + 레드 대상 면적 (μm²/이미지)
125000
100000
75000
50000
25000
0
0
20
40
60
80
시간 (h)
MDA-MB-468
MDA-MB-468+hPBMC
57G8/IL-15
50A10/IL-15
DP47/IL-15

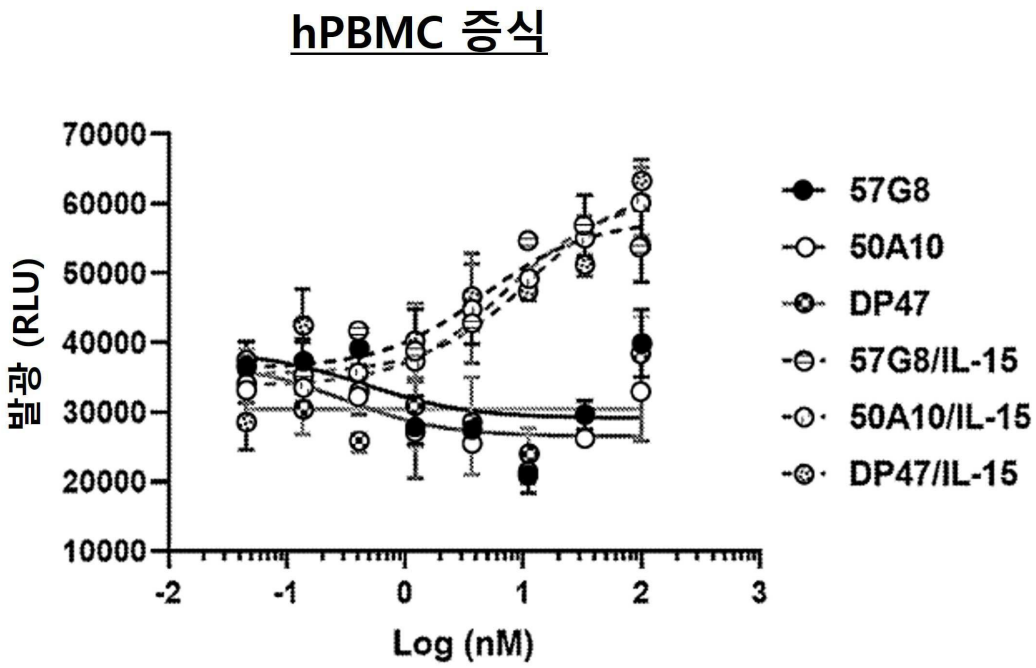
도면26d


융합 항체 처치: 1 nM, 72시간
총 그린 + 레드 대상 면적 (μm²/이미지)
100000
80000
60000
40000
20000
0
****
****
MDA-MB-468
MDA-MB-468+hPBMC
7238-074 65S-1C-57G8
7238-076 65S-1C-50A10
7238-078 65S-1C-DP47

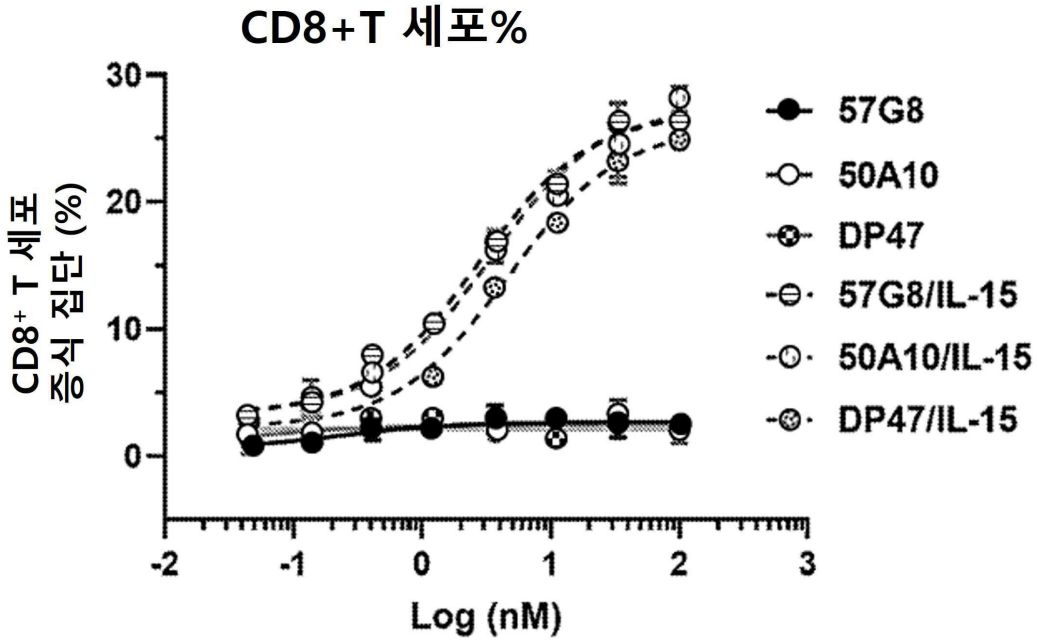
도면26e


hPBMC / MDA-MB-468 / 종양 세포 아폽토시스
MDA-MB-468
MDA-MB-468+hPBMC
DP47
57G8
50A10
DP47/IL-15
57G8/IL-15
50A10/IL-15

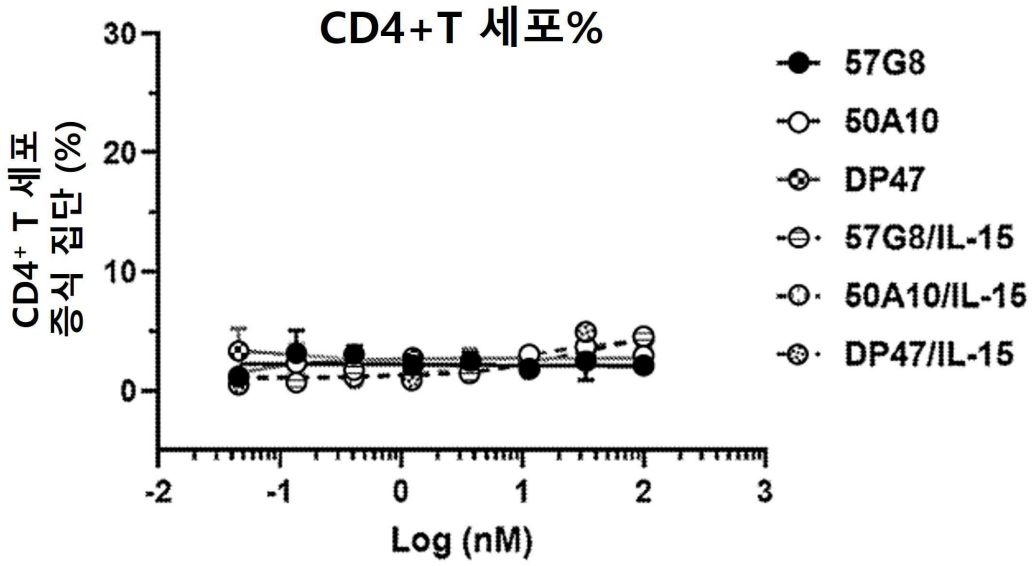
도면27a


hPBMC 증식
발광 (RLU)
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
57G8
50A10
DP47
57G8/IL-15
50A10/IL-15
DP47/IL-15

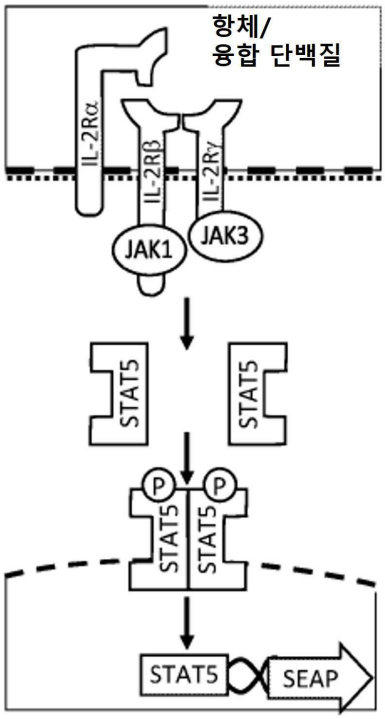
도면27b


CD8+T 세포%
CD8+ T 세포 증식 집단 (%)
30
20
10
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
57G8
50A10
DP47
57G8/IL-15
50A10/IL-15
DP47/IL-15

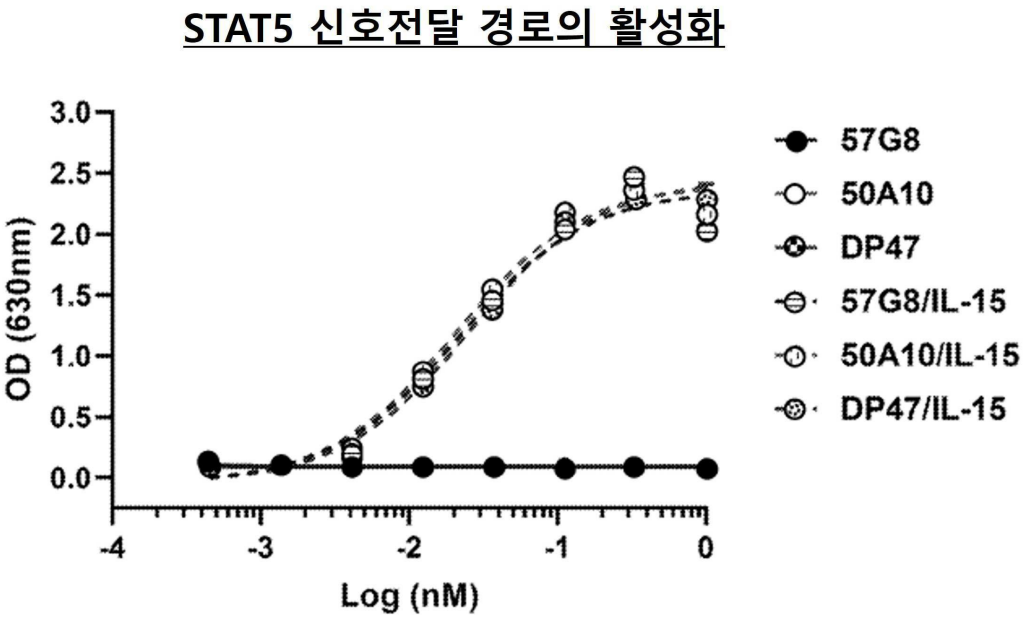
도면27c


CD4+T 세포%
CD4+ T 세포 증식 집단 (%)
30
20
10
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
57G8
50A10
DP47
57G8/IL-15
50A10/IL-15
DP47/IL-15

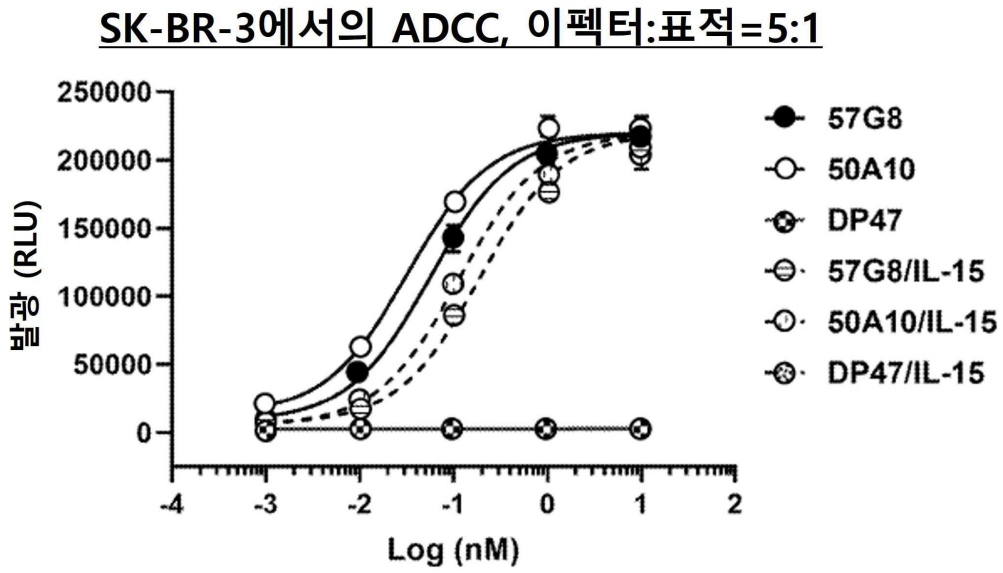
도면28a


항체/
융합 단백질
IL-2Rα
IL-2Rβ
IL-2Rγ
JAK1
JAK3
STAT5
STAT5
P
P
STAT5
STAT5
STAT5
SEAP

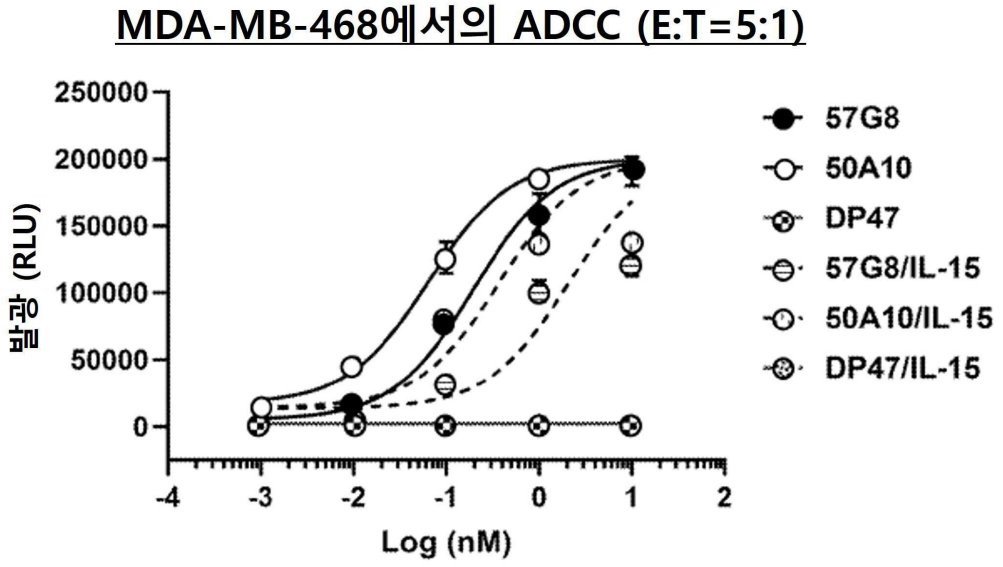
도면28b


STAT5 신호전달 경로의 활성화
OD (630nm)
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-4
-3
-2
-1
0
Log (nM)
57G8
50A10
DP47
57G8/IL-15
50A10/IL-15
DP47/IL-15

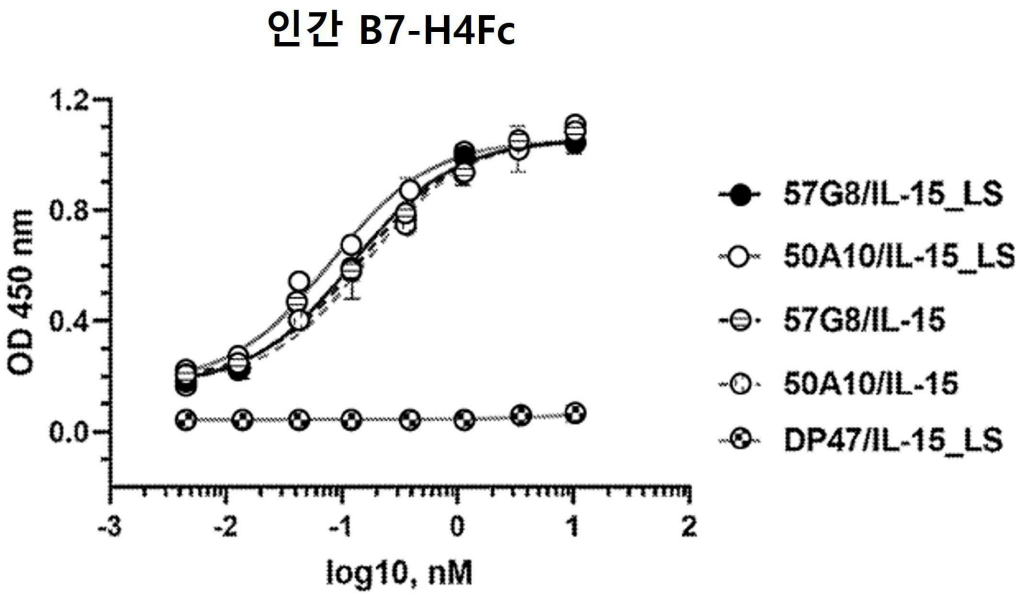
도면29a


SK-BR-3에서의 ADCC, 이펙터:표적=5:1
250000
200000
150000
100000
50000
0
발광 (RLU)
-4
-3
-2
-1
0
1
2
Log (nM)
57G8
50A10
DP47
57G8/IL-15
50A10/IL-15
DP47/IL-15

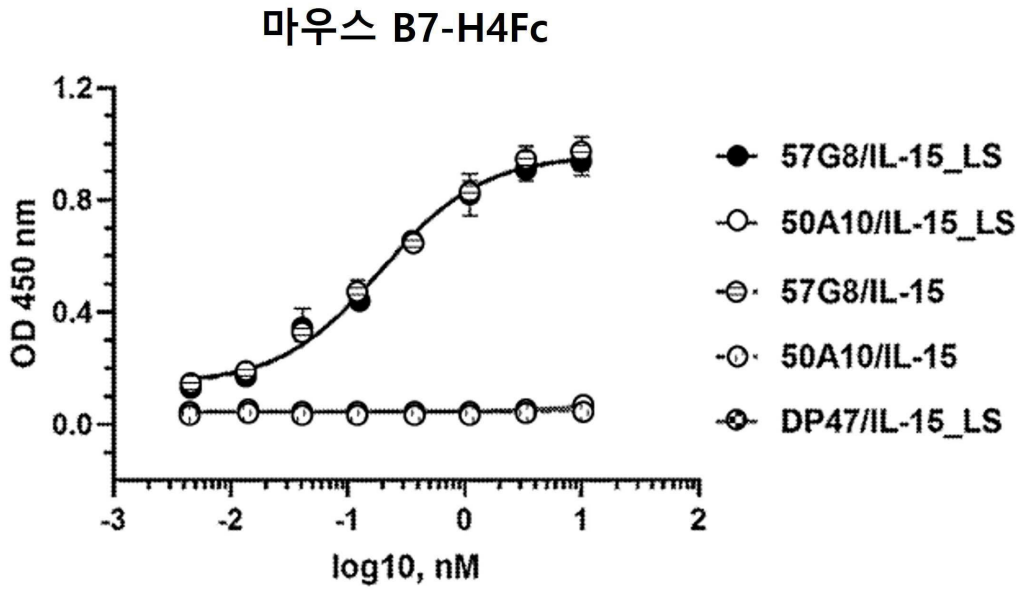
도면29b


MDA-MB-468에서의 ADCC (E:T=5:1)
250000
200000
150000
100000
50000
0
발광 (RLU)
-4
-3
-2
-1
0
1
2
Log (nM)
57G8
50A10
DP47
57G8/IL-15
50A10/IL-15
DP47/IL-15

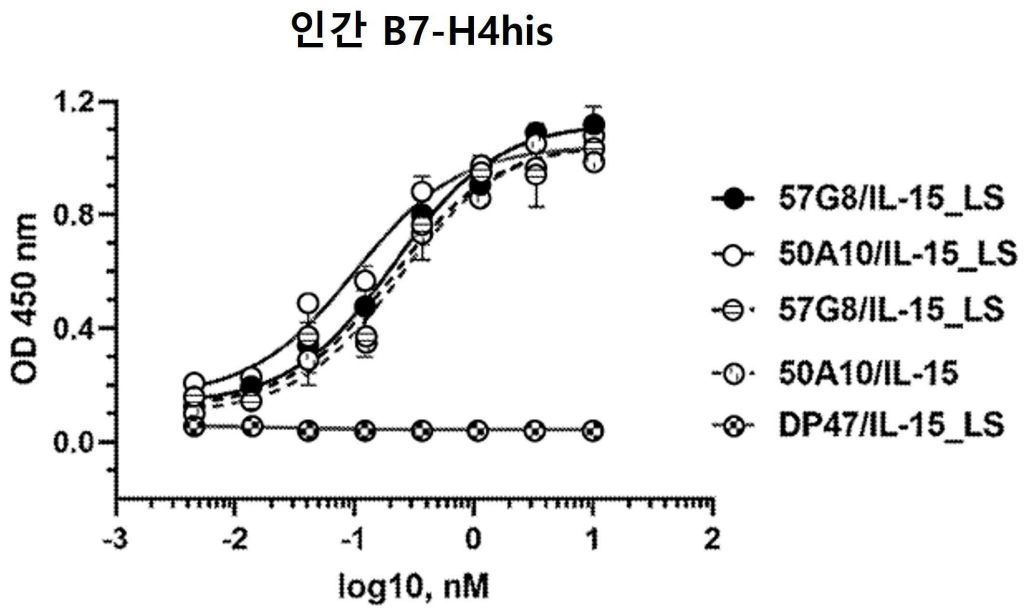
도면30a


인간 B7-H4Fc
OD 450 nm
1.2
0.8
0.4
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
57G8/IL-15_LS
50A10/IL-15_LS
57G8/IL-15
50A10/IL-15
DP47/IL-15_LS

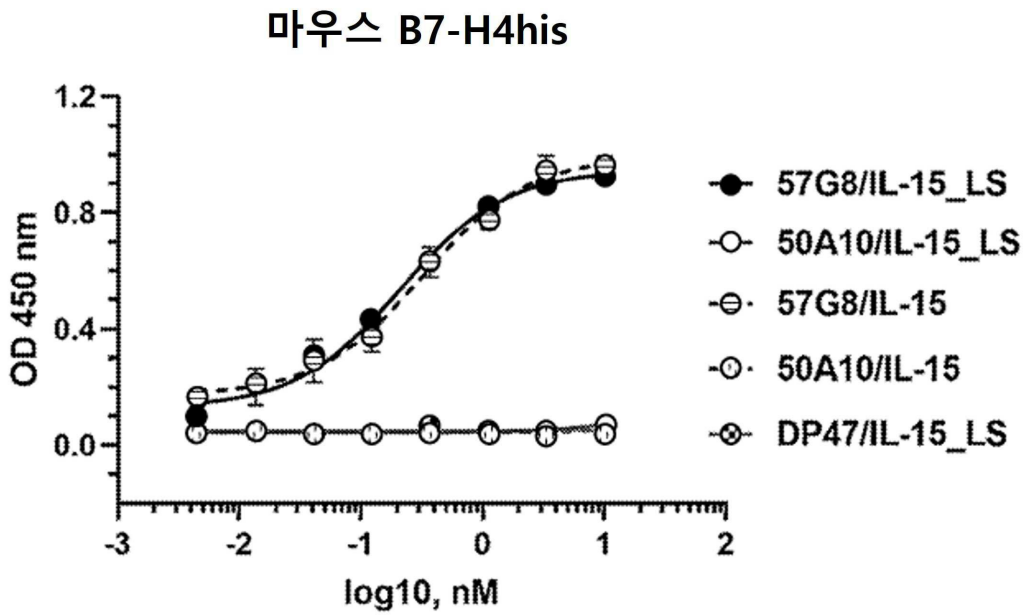
도면30b


마우스 B7-H4Fc
OD 450 nm
1.2
0.8
0.4
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
57G8/IL-15_LS
50A10/IL-15_LS
57G8/IL-15
50A10/IL-15
DP47/IL-15_LS

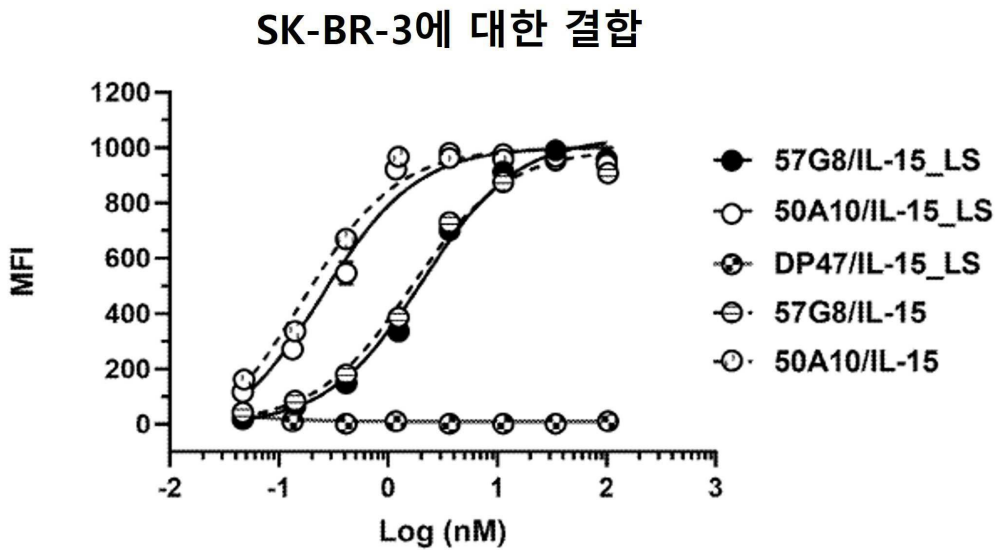
도면30c


인간 B7-H4his
OD 450 nm
1.2
0.8
0.4
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
57G8/IL-15_LS
50A10/IL-15_LS
57G8/IL-15_LS
50A10/IL-15
DP47/IL-15_LS

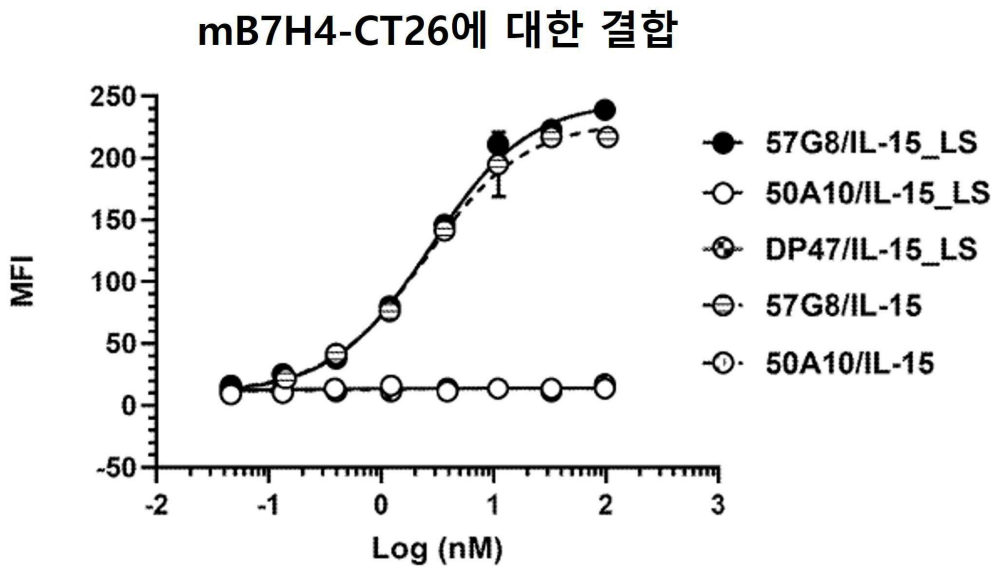
도면30d


마우스 B7-H4his
OD 450 nm
1.2
0.8
0.4
0.0
-3
-2
-1
0
1
2
log10, nM
57G8/IL-15_LS
50A10/IL-15_LS
57G8/IL-15
50A10/IL-15
DP47/IL-15_LS

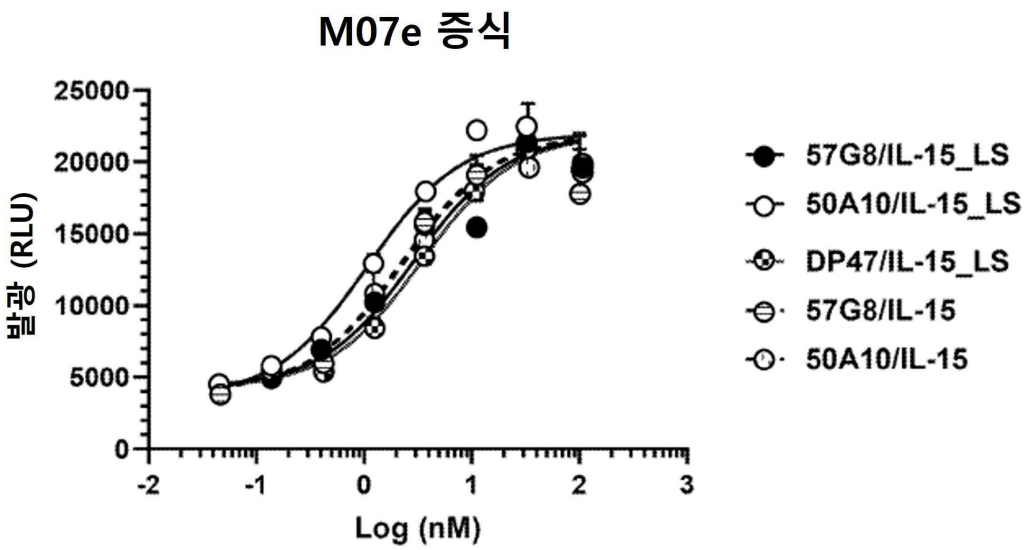
도면31a


SK-BR-3에 대한 결합
MFI
1200
1000
800
600
400
200
0
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
57G8/IL-15_LS
50A10/IL-15_LS
DP47/IL-15_LS
57G8/IL-15
50A10/IL-15

도면31b


mB7H4-CT26에 대한 결합
MFI
250
200
150
100
50
0
-50
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
57G8/IL-15_LS
50A10/IL-15_LS
DP47/IL-15_LS
57G8/IL-15
50A10/IL-15

도면32


M07e 증식
25000
20000
15000
10000
5000
0
발광 (RLU)
-2
-1
0
1
2
3
Log (nM)
57G8/IL-15_LS
50A10/IL-15_LS
DP47/IL-15_LS
57G8/IL-15
50A10/IL-15

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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