



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0168484
(43) 공개일자 2024년11월29일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/44 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/44 (2013.01)
A61K 47/6843 (2017.08)
- (21) 출원번호 10-2024-7033177
- (22) 출원일자(국제) 2023년03월02일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년10월04일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2023/063605
- (87) 국제공개번호 WO 2023/168352
국제공개일자 2023년09월07일
- (30) 우선권주장
63/316,338 2022년03월03일 미국(US)

- (71) 출원인
예일 유니버시티
미국, 코네티컷 06511, 뉴 헤븐, 투 휘트니 애비뉴
체나오 바이오, 인크.
미국 08534 뉴저지 페닝턴 페닝턴 록키 힐 로드 311 빌딩 21
- (72) 발명자
키하노, 엘리아스
미국 06510 코네티컷 뉴헤이븐 요크 스트리트 15 헌터 빌딩 스위트 에이치알티 140에이 예일 테라퓨틱 래디올로지 씨/오
글레이저, 피터
미국 06510 코네티컷 뉴헤이븐 요크 스트리트 15 헌터 빌딩 스위트 에이치알티 140에이 예일 테라퓨틱 래디올로지 씨/오
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 김영

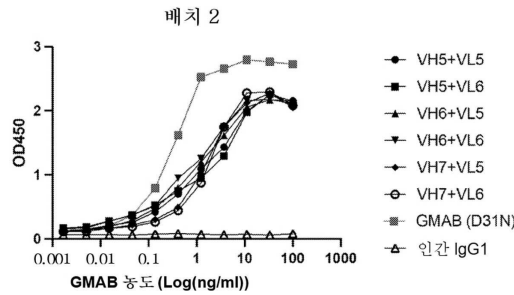
전체 청구항 수 : 총 159 항

(54) 발명의 명칭 인간화 3E10 항체, 변이체, 및 항원 결합 단편

(57) 요약

본 개시는 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편의 조성물 및 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편을 사용해 물질을 전달하는 방법도 개시된다.

대표도 - 도12e



변이체	EC50 (ng/ml)	정규화된 EC50
55	1815	5.7
56	2602	8.1
65	1157	3.6
66	893	2.8
75	1477	4.6
76	1766	5.5
GMAB	320	1

(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/52 (2013.01)
C07K 2317/522 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/72 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

스퀀토, 스티븐

미국 10021 뉴욕 뉴욕 피프쓰 애비뉴 930

루드비히, 데일

미국 08534 뉴저지 페닝턴 페닝턴 록키 힐 로드
311 빌딩 21 제나오 바이오, 인크.

명세서

청구범위

청구항 1

경쇄 가변 도메인(3E10-VL) 및 중쇄 가변 도메인(3E10-VH)을 포함하는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서,

3E10-VL은 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VL-h5(서열번호 89), 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 97% 동일한 아미노산 서열을 포함하고,

3E10-VH는 3E10-VH-h1(서열번호 64), 3E10-VH-h2(서열번호 65), 3E10-VH-h3(서열번호 66), 3E10-VH-h4(서열번호 67), 3E10-VH-h5(서열번호 68), 3E10-VH-h6(서열번호 69), 및 3E10-VH-h7(서열번호 70)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 경쇄(3E10-LC) 및 중쇄(3E10-HC)를 포함하되,

상기 3E10-LC는 3E10-LC-h1m(서열번호 91), 3E10-LC-h2m(서열번호 92), 3E10-LC-h3m(서열번호 93), 3E10-LC-h4m(서열번호 94), 3E10-LC-h5m(서열번호 95), 및 3E10-LC-h6m(서열번호 96)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 97% 동일한 아미노산 서열을 포함하고,

상기 3E10-HC는 3E10-HC-h1m(서열번호 71), 3E10-HC-h2m(서열번호 72), 3E10-HC-h3m(서열번호 73), 3E10-HC-h4m(서열번호 74), 3E10-HC-h5m(서열번호 75), 3E10-HC-h6m(서열번호 76), 및 3E10-HC-h7m(서열번호 77)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 경쇄(3E10-LC) 및 중쇄(3E10-HC)를 포함하되,

상기 3E10-LC는 3E10-LC-h1m(서열번호 97), 3E10-LC-h2(서열번호 98), 3E10-LC-h3(서열번호 99), 3E10-LC-h4(서열번호 100), 3E10-LC-h5(서열번호 101), 및 3E10-LC-h6(서열번호 102)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 97% 동일한 아미노산 서열을 포함하고,

상기 3E10-HC는 3E10-HC-h1(서열번호 78), 3E10-HC-h2(서열번호 79), 3E10-HC-h3(서열번호 80), 3E10-HC-h4(서열번호 81), 3E10-HC-h5(서열번호 82), 3E10-HC-h6(서열번호 83), 및 3E10-HC-h7(서열번호 84)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VL은 3E10-VL-h1(서열번호 85)과 적어도 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VL은 3E10-VL-h2(서열번호 86)와 적어도 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VL은 3E10-VL-h3(서열번호 87)과 적어도 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VL은 3E10-VL-h4(서열번호 88)와 적어도 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VL은 3E10-VL-h5(서열번호 89)와 적어도 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 9

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VL(서열번호 8)은 3E10-VL-h6(서열번호 90)과 적어도 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h1(서열번호 64)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h2(서열번호 65)와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 12

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h3(서열번호 66)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 13

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h4(서열번호 67)와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 14

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h5(서열번호 68)와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 15

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h6(서열번호 69)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 16

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h7(서열번호 70)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 17

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h6(서열번호 69)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 상기 3E10-VL은 3E10-VL-h6(서열번호 90)과 적어도 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h6(서열번호 69)의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 3E10-VL은 3E10-VL-h6(서열번호 90)의 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 3E10-HC는 3E10-HC-h6m(서열번호 76)의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 3E10-LC는 3E10-LC-h6m(서열번호 96)의 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 20

제17항에 있어서, 상기 3E10-HC는 3E10-HC-h67(서열번호 83)의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 3E10-LC는 3E10-LC-h6(서열번호 102)의 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11), 3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15), 3E10-VH-CDR2(서열번호 4), 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 갖는 상보성 결정 영역(CDR) 세트에 비해 집합적으로 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 치환을 갖는 CDR 세트를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 22

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11), 3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15), 3E10-VH-CDR2(서열번호 4), 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 23

3E10-VL 및 3E10-VH를 포함하는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 상기 3E10-VL은:

3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VL-h5(서열번호 89), 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,

Kabat 넘버링에 따른 3E10-VL의 위치 15에서의 프롤린(Pro), 위치 22에서의 트레오닌(Thr), 위치 49에서의 티로신(Tyr), 위치 74에서의 Thr, 위치 76에서의 아스파라긴(Asn), 위치 80에서의 알라닌(Ala), 위치 81에서의 Asn, 위치 83에서의 Thr, 위치 85에서의 Asn, 및 위치 104에서의 발린(Val)으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기, 및

3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 합쳐서 6개 이하의 아미노산 치환을 갖는 CDR 세트를 포함하고;

상기 3E10-VH는:

3E10-VH-h1(서열번호 64), 3E10-VH-h2(서열번호 65), 3E10-VH-h3(서열번호 66), 3E10-VH-h4(서열번호 67), 3E10-VH-h5(서열번호 68), 3E10-VH-h6(서열번호 69), 및 3E10-VH-h7(서열번호 70)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,

Kabat 넘버링에 따른 3E10-VH의 위치 13에서의 글루타민(Gln), 위치 18에서의 류신(Leu), 위치 19에서의 아르기닌(Arg), 위치 42에서의 글리신(Gly), 위치 49에서의 세린(Ser), 위치 77에서의 Ser, 위치 79에서의 티로신(Tyr), 위치 82에서의 Asn, 위치 84에서의 Ala, 위치 89에서의 Val, 위치 108에서의 류신(Leu), 위치 109에서의 Val, 및 위치 113에서의 Ser로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기, 및

3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15), 3E10-VH-CDR2(서열번호 4), 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 집합적으로 6개 이하의 아미노산 치환을 갖는 3E10-VH CDR 세트를 포함하는, 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 3E10-VL은 3E10-VL-h1(서열번호 85)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동

일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 25

제23항에 있어서, 상기 3E10-VL은 3E10-VL-h2(서열번호 86)와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 26

제23항에 있어서, 상기 3E10-VL은 3E10-VL-h3(서열번호 87)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 27

제23항에 있어서, 상기 3E10-VL은 3E10-VL-h4(서열번호 88)와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 28

제23항에 있어서, 상기 3E10-VL은 3E10-VL-h5(서열번호 89)와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 29

제23항에 있어서, 상기 3E10-VL(서열번호 8)은 3E10-VL-h6(서열번호 90)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 30

제23항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h1(서열번호 64)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 31

제23항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h2(서열번호 65)와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 32

제23항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h3(서열번호 66)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 33

제23항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h4(서열번호 67)와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 34

제23항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h5(서열번호 68)와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 35

제23항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h6(서열번호 69)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 36

제23항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH는 3E10-VH-h7(서열번호 70)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 37

제23항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VL CDR 세트는 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 집합적으로 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 치환을 갖는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 38

제23항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VL CDR 세트는 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 갖는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 39

제23항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3E10-VH CDR 세트는 3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15), 3E10-VH-CDR2(서열번호 4), 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 집합적으로 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 치환을 갖는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 40

제23항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 VH CDR 세트는 3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15), 3E10-VH-CDR2(서열번호 4), 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 갖는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, Kabat 넘버링에 따른 상기 3E10-VL의 위치 49에서 리신(Lys) 잔기를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, Kabat 넘버링에 따른 상기 3E10-VL의 위치 81에서 글루탐산(Glu) 잔기를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, Kabat 넘버링에 따른 상기 3E10-VH의 위치 18에서 아르기닌(Arg) 잔기를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, Kabat 넘버링에 따른 상기 3E10-VH의 위치 19에서 Lys 잔기를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, Kabat 넘버링에 따른 상기 3E10-VH의 위치 49에서 알라닌(Ala) 잔기를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, Kabat 넘버링에 따른 상기 3E10-VL의 위치 15에서 프롤린(Pro) 잔기를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 47

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, Kabat 넘버링에 따른 상기 3E10-VL의 위치 104에서 발린(Val) 잔기를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 48

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, Kabat 넘버링에 따른 상기 3E10-VH의 위치 13에서 글루타민(Gln) 잔기를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, Kabat 넘버링에 따른 상기 3E10-VH의 위치 108에서 류신(Leu) 잔기를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, Kabat 넘버링에 따른 상기 3E10-VH의 위치 109에서 Val 잔기를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, Kabat 넘버링에 따른 상기 3E10-VH의 위치 113에서 세린(Ser) 잔기를 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 52

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 뉴클레오티드 서열5' pppGGAGCAAAAGCAGGGUGACAAAGACAUAUUGGAUCCAAACACUGUGUCAAGCUUCAGGUAGAUUGCUUUCUUGGCAUGUCCGCAAAC- 3' (서열번호 103)을 갖는 3p-hpRNA RIG-I 작용제에 대해 약한 결합 친화도를 갖는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 53

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 뉴클레오티드 서열5' pppGGAGCAAAAGCAGGGUGACAAAGACAUAUUGGAUCCAAACACUGUGUCAAGCUUCAGGUAGAUUGCUUUCUUGGCAUGUCCGCAAAC- 3' (서열번호 103)을 갖는 3p-hpRNA RIG-I 작용제에 대해 중간 결합 친화도를 갖는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 54

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 뉴클레오티드 서열5' pppGGAGCAAAAGCAGGGUGACAAAGACAUAUUGGAUCCAAACACUGUGUCAAGCUUCAGGUAGAUUGCUUUCUUGGCAUGUCCGCAAAC- 3' (서열번호 103)을 갖는 3p-hpRNA RIG-I 작용제에 대해 강한 결합 친화도를 갖는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 55

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 단편 결정화 가능(Fc) 영역을 추가로 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 Fc 영역은 인간 IgG1 Fc 영역, 인간 IgG2a Fc 영역, 인간 IgG2b Fc 영역, 인간 IgG3 Fc 영역, 및 인간 IgG4 Fc 영역으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 57

제56항에 있어서, 상기 인간 Fc 영역은 IgG1 Fc 영역인, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 58

제56항에 있어서, 상기 인간 Fc 영역은 IgG4 Fc 영역인, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 59

제56항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 Fc 영역은 Kabat 넘버링에 따른 위치 234에서의 알라닌

및 위치 235에서의 알라닌을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 60

제56항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 Fc 영역은 Kabat 넘버링에 따른 위치 234에서의 알라닌 및 위치 235에서의 글루탐산을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 61

제56항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 Fc 영역은 Kabat 넘버링에 따른 위치 297에서의 아스파르타산을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 62

제56항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 Fc 영역은 Kabat 넘버링에 따른 위치 228에서의 프롤린을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 63

제56항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 Fc 영역은 Kabat 넘버링에 따른 위치 307에서의 글루타민 및 위치 434에서의 알라닌을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 64

제56항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 Fc 영역은 Kabat 넘버링에 따른 위치 252에서의 메티오닌, 위치 254에서의 트레오닌, 및 위치 256에서의 글루탐산을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 65

제56항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 Fc 영역은 Kabat 넘버링에 따른 위치 310에서의 글루타민을 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 66

제1항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 불변 도메인(CH1)을 추가로 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 67

제66항에 있어서, 상기 CH1은 인간 γ 1 CH1, 인간 γ 2 CH1, 인간 γ 3 CH1, 및 인간 γ 4 CH1로 이루어진 군으로부터 선택되는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 68

제1항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 경쇄 불변 도메인(CL)을 추가로 포함하는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 CL은 인간 λ CL 및 인간 κ CL로 이루어진 군으로부터 선택되는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 70

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 단쇄 Fv(scFv) 또는 항원 결합 단편(Fab)인, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 71

제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 치료 모이어티

에 공유 연결되는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 72

제71항에 있어서, 상기 치료 모이어티는 치료 폴리뉴클레오티드인, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 73

제71항에 있어서, 상기 치료 모이어티는 치료 폴리펩티드인, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 74

제71항에 있어서, 상기 치료 모이어티는 세포독성 모이어티인, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 75

제71항에 있어서, 상기 치료 모이어티는 화학요법 모이어티인, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 76

제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 검출 가능한 모이어티에 공유 연결되는, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 77

다음으로부터 이루어진 군으로부터 선택된 3E10-VL과 3E10-VH의 조합을 포함하는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편:

- 3E10-VL-h1(서열번호 85)과 3E10-VH-h1(서열번호 64),
- 3E10-VL-h1(서열번호 85)과 3E10-VH-h2(서열번호 65),
- 3E10-VL-h1(서열번호 85)과 3E10-VH-h3(서열번호 66),
- 3E10-VL-h1(서열번호 85)과 3E10-VH-h4(서열번호 67),
- 3E10-VL-h2(서열번호 86)와 3E10-VH-h1(서열번호 64),
- 3E10-VL-h2(서열번호 86)와 3E10-VH-h2(서열번호 65),
- 3E10-VL-h2(서열번호 86)와 3E10-VH-h3(서열번호 66),
- 3E10-VL-h2(서열번호 86)와 3E10-VH-h4(서열번호 67),
- 3E10-VL-h3(서열번호 87)과 3E10-VH-h1(서열번호 64),
- 3E10-VL-h3(서열번호 87)과 3E10-VH-h2(서열번호 65),
- 3E10-VL-h3(서열번호 87)과 3E10-VH-h3(서열번호 66),
- 3E10-VL-h3(서열번호 87)과 3E10-VH-h4(서열번호 67),
- 3E10-VL-h4(서열번호 88)와 3E10-VH-h1(서열번호 64),
- 3E10-VL-h4(서열번호 88)와 3E10-VH-h2(서열번호 65),
- 3E10-VL-h4(서열번호 88)와 3E10-VH-h3(서열번호 66),
- 3E10-VL-h4(서열번호 88)와 3E10-VH-h4(서열번호 67),
- 3E10-VL-h5(서열번호 89)와 3E10-VH-h5(서열번호 68),
- 3E10-VL-h5(서열번호 89)와 3E10-VH-h6(서열번호 69),
- 3E10-VL-h6(서열번호 90)과 3E10-VH-h5(서열번호 68),

3E10-VL-h6(서열번호 90)과 3E10-VH-h6(서열번호 69),
 3E10-VL-h7(서열번호 91)과 3E10-VH-h5(서열번호 68), 및
 3E10-VL-h7(서열번호 91)과 3E10-VH-h6(서열번호 69).

청구항 78

(i) 제1항 내지 제77항 중 어느 한 항에 따른 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 폴리뉴클레오티드의 비공유 복합체를 포함하는 조성물.

청구항 79

제78항에 있어서, (ii) 상기 조성물에서 (i) 상기 폴리뉴클레오티드에 대한 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 몰비는 적어도 2:1, 적어도 5:1, 적어도 20:1, 적어도 50:1, 또는 적어도 100:1인, 조성물.

청구항 80

제78항 또는 제79항에 있어서, (ii) 상기 조성물에서 (i) 상기 폴리뉴클레오티드에 대한 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 몰비는 200:1 이하 또는 100:1 이하인, 조성물.

청구항 81

제78항에 있어서, (ii) 상기 조성물에서 (i) 상기 폴리뉴클레오티드에 대한 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 몰비는 2:1 내지 50:1이고, 상기 폴리뉴클레오티드는 2000 뉴클레오티드 이하의 길이인, 조성물.

청구항 82

제78항에 있어서, (ii) 상기 조성물에서 (i) 상기 폴리뉴클레오티드에 대한 상기 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 몰비는 2:1 내지 30:1이고, 상기 폴리뉴클레오티드는 1000 뉴클레오티드 이하의 길이인, 조성물.

청구항 83

제78항에 있어서, (ii) 상기 조성물에서 (i) 상기 폴리뉴클레오티드에 대한 상기 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 몰비는 20:1 내지 200:1이고, 상기 폴리뉴클레오티드는 적어도 2000 뉴클레오티드의 길이인, 조성물.

청구항 84

(i) 제1항 내지 제77항 중 어느 한 항에 따른 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드, 또는 화학제의 공유 복합체를 포함하는 조성물.

청구항 85

제78항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오티드는 치료 폴리뉴클레오티드인, 조성물.

청구항 86

제85항에 있어서, 상기 치료 폴리뉴클레오티드는 폴리뉴클레오티드 면역자극제인, 조성물.

청구항 87

제86항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오티드 면역자극제는 패턴 인식 수용체(PRR)를 자극할 수 있는 폴리뉴클레오티드 리간드인, 조성물.

청구항 88

제87항에 있어서, 상기 PRR은 레티노산-유도성 유전자 I(RIG-I)인, 조성물.

청구항 89

제87항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오티드 리간드는 5' 트리포스페이트 및 이중-가닥 RNA를 포함하는, 조성물.

청구항 90

제87항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오티드 리간드는 다음 핵산 서열을 포함하는, 조성물:

5' pppGGAGCAAAAGCAGGGUGACAAAGACAUAUUGGAUCCAACACUGUGUCAAGCUUCAGGUAGAUUGCUUUCUUGGCAUGUCCGCAAAC- 3'
(서열번호 103).

청구항 91

제87항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오티드 리간드는 3' 트리포스페이트 및 헤어핀 RNA를 포함하는, 조성물.

청구항 92

제87항에 있어서, 상기 PRR은 톨-유사 수용체(TLR)인, 조성물.

청구항 93

제92항에 있어서, 상기 TLR은 TLR3, TLR7, TLR8, 또는 TLR9인, 조성물.

청구항 94

제87항에 있어서, 상기 PRR은 흑색종 분화-연관 단백질 5(MDA5)인, 조성물.

청구항 95

제86항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오티드 면역자극제는 환형-GMP-AMP-합성효소(cGAS)를 자극할 수 있는 폴리뉴클레오티드 리간드인, 조성물.

청구항 96

제86항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오티드 면역자극제는 인터페론 유전자의 자극제(STING)를 자극할 수 있는 폴리뉴클레오티드 리간드인, 조성물.

청구항 97

제85항에 있어서, 상기 치료 폴리뉴클레오티드는 암 요법을 위한 단백질 또는 펩티드를 암호화하는 DNA 또는 mRNA인, 조성물.

청구항 98

제97항에 있어서, 암 요법을 위한 상기 단백질 또는 펩티드는 종양 항원인, 조성물.

청구항 99

제98항에 있어서, 상기 종양 항원은 종양 연관 항원, 온코바이러스 단백질 항원, 신항원, 및 암-생식선 유전자 유래의 항원으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 100

제99항에 있어서, 상기 종양 항원은 다음으로부터 선택된 단백질로부터 유래되는, 조성물: 엽산 수용체, HER2, 유두종바이러스 종양단백질 E6 및 유두종바이러스 종양단백질 E7 암배아 항원(CEA), 뮤신 1, EGFR, T 세포 3에 의해 인식되는 편평 세포 암종 항원(SART3), 베타-인간 융모막 성선자극 호르몬(베타-hCG), 빌름스 종양 항원 1(WT1), 서바이빈, MAGE3, p53, 링 핑거 단백질 43 및 외부 미토콘드리아 막 34의 전사체(TOMM34), 전립선-특이적 항원(PSA)-TRICOM, 및 KRAS.

청구항 101

제99항에 있어서, 상기 종양 항원은 다음으로부터 선택된 돌연변이체 단백질로부터 유래된 신항원인, 조성물: BRCA1, BRCA2 BRAF, KRAS, EGFR, IDH1, PIK3CA, ROS1, HLA, JAK1, JAK2, PARK2, ATM, p53, TP53, erbb2 상호작용 단백질(ERBB2IP), 베타-2-마이크로글로불린(β 2m), 시클린 의존성 키나아제 억제제 2A(CDKN2A), 대체 관독 프레임(ARF), 및 시클린 의존성 키나아제 4(CDK4).

청구항 110

제109항에 있어서, 상기 siRNA는 KRAS, ERBB2/HER2, VEGF, SOCS1, PLK1, 및 BCL2로부터 선택된 유전자의 mRNA 전사체를 표적화하는, 조성물.

청구항 111

제108항있어서, 상기 발현 조절 폴리뉴클레오티드는 miRNA인, 조성물.

청구항 112

제111항에 있어서, 상기 miRNA는 miR-15a, miR-15b, miR-16, miR-20b, miR-21, miR-28, miR-34a, miR-34b, miR-34c, miR-125b, miR-130b, miR-138, miR-138-5p, miR-155, miR-195, miR-197, miR-200, miR-210, miR-221, miR-222, miR-424, miR-497, miR-503, 및 miR-513으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 113

제108항에 있어서, 상기 발현 조절 폴리뉴클레오티드는 소형-활성화 RNA(saRNA)인, 조성물.

청구항 114

제113항에 있어서, 상기 saRNA는 CEBPA 유전자의 프로모터 영역을 표적화하는, 조성물.

청구항 115

제108항있어서, 상기 발현 조절 폴리뉴클레오티드는 안타고미르(antagomir)인, 조성물.

청구항 116

제108항있어서, 상기 발현 조절 폴리뉴클레오티드는 안티센스 올리고뉴클레오티드인, 조성물.

청구항 117

제108항있어서, 상기 발현 조절 폴리뉴클레오티드는 디코이 올리고뉴클레오티드(decoy oligonucleotide)인, 조성물.

청구항 118

제85항에 있어서, 상기 치료 폴리뉴클레오티드는 게놈 편집 효과기를 암호화하는, 조성물.

청구항 119

제85항에 있어서, 상기 치료 폴리뉴클레오티드는 징크-핑거 뉴클레아제를 암호화하는, 조성물.

청구항 120

제85항에 있어서, 상기 치료 폴리뉴클레오티드는 전사 활성화제-유사 효과기 뉴클레아제(TALEN)를 암호화하는, 조성물.

청구항 121

제85항에 있어서, 상기 치료 폴리뉴클레오티드는 Cas 단백질 및 가이드 RNA를 포함하는 CRISPR 시스템을 암호화하는, 조성물.

청구항 122

제85항에 있어서, 상기 치료 폴리뉴클레오티드는 효과기 폴리뉴클레오티드인, 조성물.

청구항 123

제122항에 있어서, 상기 효과기 폴리뉴클레오티드는 앵타머(aptamer)인, 조성물.

청구항 124

제123항에 있어서, 상기 앵타머는 PSMA 앵타머, HER2 앵타머, MUC1 앵타머, CD117 앵타머, PTK7 앵타머, CTLA-4 앵타머, TLS11a 앵타머, PD-1 앵타머, PD-1 앵타머, Macugen 앵타머, AS1411, Sgc8, TD05, ARC1779, a-트롬빈(TBA), 마쿠젠(Macugen), E10030, AS1411, ARC1779, NU172, NOX-A12, NOX-E36, NOX-H94, ARC1905, REG1, ARC19499, AS1411, AS1411, EpCAM, A10-3-J1, Sgc8c, TSA14, 5TR1, 엔도28, EGFR, A10, Sgc8c, AS1411, NOX-A12, KH1C12, K19, TD05, AS1411, HB5, HeA2_3, H2, S6, SYL3C, APTA-12, M17, S-1, SL2B, CAA01, CA50 A02, CA72-4 A01, APT-43, TA6, CA125.1, Apt928, R13, HF3-58, 및 HA5-68로부터 선택되는, 조성물.

청구항 125

제122항에 있어서, 상기 효과기 폴리뉴클레오티드는 리보자임인, 조성물.

청구항 126

제125항에 있어서, 상기 리보자임은 인간 텔로머라아제 역전사효소(hTERT) RNA를 표적화하는, 조성물.

청구항 127

제84항에 있어서, 상기 화학제는 DNA 손상 유도제, DNA 복구 억제제, 면역 조절 분자, 알킬화제, 미세소관 억제제, 면역 관문 억제제, 혈관형성 억제제, 입양 세포 요법, 및 국소이성화효소 억제제로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 128

제84항에 있어서, 상기 화학제는 항종양 약물인, 조성물.

청구항 129

제84항에 있어서, 상기 화학제는 메이탄시노이드, 벤조디아제핀, 아우리스타틴, 테칸, 택소이드, CC-1065, (4S)-4,11-디에틸-4,9-디하이드록시-1,4-디하이드로-3H,14H-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-3,14-디온(SN38), 엑사테칸, 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 F(MMAF), 피롤로벤조디아제핀(PBD), 단백질분해 표적화 키메라(PROTAC), 데룩스테칸(Dxd), 칼리키아미신, 듀오카마이신, 인터페론 유전자의 자극제(STING) 작용제, PNU-159682, NMS249, IMGN Camp 1, 듀오카마이신 하이드록시벤즈아미드 아자인돌(DUBA), 및 이의 전구약물로부터 선택되는, 조성물.

청구항 130

제84항에 있어서, 상기 화학제는 메이탄시노이드인, 조성물.

청구항 131

제84항에 있어서, 상기 화학제는 N(2')-탈아세틸-N(2')-(3-메르캅토-1-옥소프로필)-메이탄신(DM1)인, 조성물.

청구항 132

제84항에 있어서, 상기 화학제는 N2'-탈아세틸-N2'-(4-메르캅토-4-메틸-1-옥소펜틸) 메이탄신(DM4)인, 조성물.

청구항 133

제84항에 있어서, 상기 화학제는 (4S)-4,11-디에틸-4,9-디하이드록시-1,4-디하이드로-3H,14H-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-3,14-디온(SN38)인, 조성물.

청구항 134

제84항에 있어서, 상기 화학제는 PNU-159682인, 조성물. 일부 구현예에서, 상기 치료제는 PNU-159682이다.

청구항 135

제84항에 있어서, 상기 화학제는 NMS249인, 조성물.

청구항 136

암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제77항 중 어느 한 항에 따른 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 치료적 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 137

암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 제78항 내지 제135항 중 어느 한 항에 따른 조성물의 치료적 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 138

제136항 또는 제137항에 있어서, 상기 암은 암종, 육종, 모세포종, 유두종, 또는 선종인, 방법.

청구항 139

제136항 또는 제137항에 있어서, 상기 암은 전이성 암인, 방법.

청구항 140

제136항 내지 제139항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 방광암, 혈액암, 뇌암, 유방암, 골암, 자궁경부암, 대장암, 내분비암, 식도암, 위암, 두경부암, 간담도암, 백혈병, 폐암, 림프종, 흑색종, 골수종, 난소암, 췌장암, 전립선암, 신장암, 갑상선암, 및 자궁암으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 141

제140항에 있어서, 상기 암은 기저 세포 암종, 편평 세포 암종, 및 흑색종으로 이루어진 군으로부터 선택된 피부암인, 방법.

청구항 142

제141항에 있어서, 상기 암은 흑색종인, 방법.

청구항 143

제136항 내지 제139항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 중추신경계의 암인, 방법.

청구항 144

제143항에 있어서, 상기 암은 수모세포종, 성상세포 종양, 희소돌기아교세포 종양, 희소성상세포 종양, 뇌실막 종양, 맥락종 종양, 신경세포 또는 혼합 신경-교세포 종양, 송과체 부위 종양, 배아 종양, 또는 달리 분류되지 않은 신경상피 종양으로 이루어진 군으로부터 선택된 신경상피 뇌 종양 또는 척추 종양인, 방법.

청구항 145

제136항 내지 제144항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투여하는 단계는 비경구 투여로 이루어지는, 방법.

청구항 146

제145항에 있어서, 상기 비경구 투여는 근육내 투여, 정맥내 투여, 또는 피하 투여인, 방법.

청구항 147

제136항에 있어서, 상기 암은 흑색종이고, 상기 투여 단계는 비경구 투여에 의해 이루어지는, 방법.

청구항 148

골격근 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은:

- (i) 제1항 내지 제77항 중 어느 한 항에 따른 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 유전적 골

격근 질환에서 돌연변이된 단백질을 암호화하는 mRNA의 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 상기 대상 체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 149

제148항에 있어서, mRNA는 디스트로핀(DMD)을 암호화하는, 방법.

청구항 150

제148항에 있어서, 상기 투여하는 단계는 정맥내 또는 피하 투여에 의해 이루어지는, 방법.

청구항 151

제148항 내지 제150항 중 어느 한 항에 있어서, 유전적 골격근 질환에서 돌연변이된 단백질을 암호화하는 상기 mRNA는 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합되는, 방법.

청구항 152

제148항 내지 제150항 중 어느 한 항에 있어서, 유전적 골격근 질환에서 돌연변이된 상기 단백질을 암호화하는 상기 mRNA는 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합되는, 방법.

청구항 153

제152항에 있어서, (ii) 상기 조성물에서 (i) 유전적 골격근 질환에서 돌연변이된 단백질을 암호화하는 상기 mRNA에 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 몰비는 적어도 2:1, 적어도 5:1, 적어도 20:1, 적어도 50:1, 또는 적어도 100:1인, 방법.

청구항 154

제152항 또는 제153항에 있어서, (ii) 상기 조성물에서 (i) 유전적 골격근 질환에서 돌연변이된 단백질을 암호화하는 상기 mRNA에 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 몰비는 200:1 이하 또는 100:1 이하인, 방법.

청구항 155

제152항에 있어서, (ii) 상기 조성물에서 (i) 유전적 골격근 질환에서 돌연변이된 단백질을 암호화하는 상기 mRNA에 대한 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 몰비는 2:1 내지 50:1이고, 상기 폴리뉴클레오티드는 2000 뉴클레오티드 이하의 길이인, 방법.

청구항 156

제152항에 있어서, (ii) 상기 조성물에서 (i) 유전적 골격근 질환에서 돌연변이된 단백질을 암호화하는 상기 mRNA에 대한 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 몰비는 2:1 내지 30:1이고, 상기 폴리뉴클레오티드는 1000 뉴클레오티드 이하의 길이인, 방법.

청구항 157

제152항에 있어서, (ii) 상기 조성물에서 (i) 유전적 골격근 질환에서 돌연변이된 단백질을 암호화하는 상기 mRNA에 대한 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 몰비는 20:1 내지 200:1이고, 상기 폴리뉴클레오티드는 적어도 2000 뉴클레오티드의 길이인, 방법.

청구항 158

제1항 내지 제77항 중 어느 한 항에 따른 상기 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 암호화하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 159

제158항의 상기 폴리뉴클레오티드 조성물을 보유하는 숙주 세포.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2022년 3월 3일에 출원된 미국 가출원 제63/316,338호에 대한 우선권을 주장하며, 이의 개시는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 개시는, 예를 들어 세포 내로 치료 카고(therapeutic cargo)를 전달하기 위한 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편에 관한 것이다.

[0005] 서열 목록에 대한 간단한 설명

[0006] 본 출원에는 37 CFR § § 1.831 내지 1.835에 따라, 2023년 3월 1일에 생성되어 USPTO 특허 전자 출원 시스템을 통해 XML 파일로서 제출된, 서열번호 1~161을 포함하는 169 KB의 “Sequence Listing XML” 이 부속된다. 37 CFR § 1.835(a)(1).

배경 기술

[0007] 폴리뉴클레오티드 기반 암 요법 중, 많은 상이한 전략이 진화하였다. 예를 들어, 패턴 인식 수용체와 같은 면역 자극 폴리뉴클레오티드는 다양한 암 면역요법에서 전염증성 사이토카인의 매개체를 작용화시키는 데 사용되어 왔다. 유전자 조절 폴리뉴클레오티드, 예를 들어, siRNA, miRNA, ASO 등은 암 진행에 관여하는 신호 전달 경로를 조절하는 표적화된 유전자를 침묵화하는 데 사용되어 왔다. 치료 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드, 예를 들어, 항원 또는 암 면역 요법 단백질을 암호화하는 mRNA 또는 플라스미드는 치료적으로 사용되었다. 앵타머와 같은 기능적 핵산은, 예를 들어 PD-1과 같은 주요 종양학 표적에 결합하고 이를 차단함으로써 항체 기반 암 요법과 유사하게 사용되어 왔다. 유전자 편집 폴리뉴클레오티드 또한, 암 매개체의 발현을 침묵화하는 데 사용되어 왔다. 이들 다양한 폴리뉴클레오티드-기반 암 요법의 검토를 위해서는 다음을 참조한다. 예를 들어, 그 내용이 본원에 참조로서 통합되는 Zhou S. 등의 문헌[*Medicine in Drug Discovery*, 2020. 6:100023] 및 Hager 등의 문헌[*Cells*. 2020. 9(9):2061].

[0008] 이들 폴리뉴클레오티드-기반 요법은 전임상 연구에서 일부 성공을 나타냈지만, 임상 시험에서 치료 효능에 대해 평가했을 때는 기대에 미치지 못했다. 예를 들어 Lopes 등의 문헌[*Cancer DNA vaccines: Current preclinical and clinical developments and future perspectives. J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2019. 38, 146]; Dome 등의 문헌[*Therapeutic Cancer Vaccination with ex vivo RNA-Transfected Dendritic Cells-An Update. Pharmaceutics.* 2020. 12, 92]을 참조하고, 그 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 하나의 문제점은 핵산이 세포막을 쉽게 통과하지 못한다는 것이다. 뿐만 아니라, 핵산은 피부, 조직, 및 혈액에 존재하는 세포외 뉴클레아제에 의해 쉽게 분해된다. Kowalski PS 등의 문헌[*Mol Ther.*, 27(4):710-28 (2019)] (그 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨).

[0009] 쫓과 항-DNA 항체인 3E10은 세포를 침투하고 세포의 핵에 적어도 부분적으로 국소화되는 것으로 알려져 있다. 예를 들어, Weisbart R.H. 등의 문헌[1998. *J. Autoimmun.*; 11:539-546]을 참조하고, 그 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 이와 같이, 3E10 및 이의 유도체가 생체 내에서 치료제의 전달을 위한 표적화제의 역할을 할 수 있다는 것이 제안되었다. 그러나, 쫓과 항체는 인간에게 투여될 때, 특히 만성으로 투여되는 동안 면역원성이다. 비인간 항체를 인간화함으로써 이러한 항체의 면역원성을 감소시키는 여러 기술이 당업계에 알려져 있다. 그러나, 모든 인간화 항체가 부모 비인간 항체의 유리한 특징을 보유하는 것은 아니다.

발명의 내용

[0010] 위의 배경을 고려하면, 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편에 대한 필요성이 당업계에 존재한다. 이러한 인간화 3E10 항체는 치료 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드, 및 화학 제제와 같은 치료 카고(therapeutic cargo)를 표적화된 세포 내로 전달하기 위한 방법을 용이하게 개선할 것이다. 예를 들어, 폴리뉴클레오티드-기반 요법은 어떠한 폴리펩티드도 암호화할 수 있는 다능성(versatility), 고도로 재현 가능한 제조 방법의 가용성, 폴리뉴클레오티드 서열을 간단하고 정확하게 조정할 수 있는 능력, 저렴함, 임의의 유전자 서열을 특이적으로 표적화 및/또는 편집하는 능력 등을 가지고 있기 때문에 질환 치료를 위한 유망한 경로를 제시한다. 그러나, 생체 내에

서 특정 조직에 폴리뉴클레오티드 치료제를 전달하는 것은 많은 어려움을 제기하였는데, 여기에는 외래 핵산의 신체 내 신속한 분해; 및 리포좀 및 바이러스 벡터와 같은 공통 전달 비히클에 의해 야기되는 면역원성이 포함된다. 예를 들어 Zhou 등의 문헌[*Medicine in Drug Discovery*, 6 (2020) 100023] 및 Dahlman 등의 문헌[*Nature Nanotechnol.* 9(8):648-655 (2014)]을 참조하고, 그 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

- [0011] 유리하게는, 본 개시는 ENT2-기반 세포 침투 활성 및 핵산 결합 활성과 같은 코어 3E10 특성을 보유하는 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 따라서, 본원에 기술된 바와 같이, 본 개시는 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편, 약학적 조성물, 및 이를 사용하여 다양한 의학적 장애를 치료하기 위한 방법을 제공한다.
- [0012] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VL-h5(서열번호 89), 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(3E10-VL)을 포함한다.
- [0013] 일부 구현예에서, 경쇄 가변 도메인(3E10-VL)은 Kabat 넘버링에 따라 넘버링된 위치 15에서의 프롤린(Pro), 위치 22에서의 트레오닌(Thr), 위치 49에서의 티로신(Tyr), 위치 74에서의 Thr, 위치 76에서의 아스파라긴(Asn), 위치 80에서의 알라닌(Ala), 위치 81에서의 Asn, 위치 83에서의 Thr, 위치 85에서의 Asn, 및 위치 104에서의 발린(Val)으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서, 3E10-VL은 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 합쳐서 6개 이하의 아미노산 치환을 갖는 CDR 세트를 포함한다.
- [0014] 유사하게, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-h1(서열번호 64), 3E10-VH-h2(서열번호 65), 3E10-VH-h3(서열번호 66), 3E10-VH-h4(서열번호 67), 3E10-VH-h5(서열번호 68), 3E10-VH-h6(서열번호 69), 및 3E10-VH-h7(서열번호 70)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(3E10-VH(서열번호 2))을 포함한다.
- [0015] 일부 구현예에서, 중쇄 가변 도메인(3E10-VH)은 Kabat 넘버링에 따라 넘버링된 위치 13에서의 글루타민(Gln), 위치 18에서의 류신(Leu), 위치 19에서의 아르기닌(Arg), 위치 42에서의 글리신(Gly), 위치 49에서의 세린(Ser), 위치 77에서의 Ser, 위치 79에서의 티로신(Tyr), 위치 82에서의 Asn, 위치 84에서의 Ala, 위치 89에서의 Val, 위치 108에서의 류신(Leu), 위치 109에서의 Val, 및 위치 113에서의 Ser로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서, 3E10-VH는 3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15), 3E10-VH-CDR2(서열번호 4), 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 합쳐서 6개 이하의 아미노산 치환을 갖는 CDR 세트를 포함한다.
- [0016] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따라 넘버링된 위치 31에서 아스파르트산을 갖는 중쇄 CDR1을 포함한다.
- [0017] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따라 넘버링된 3E10-VL의 위치 72에서 핵산 결합 친화도를 지지하는 리신을 포함한다. 이 아미노산 잔기가 티로신으로 돌연변이되면 DNA 기질에 대한 고친화도 결합이 제거된다. 또한, 3E10-VH에서 위치 37 및 38 각각에 있는 아르기닌 및 리신은 핵산 결합에 유익한 것으로 보인다. 이들 잔기를 류신 및 아르기닌으로 각각 돌연변이시키면, 항체가 높은 친화도로 DNA 기질에 결합하는 능력이 감소된다.
- [0018] 일부 구현예에서, 본 개시는, 예를 들어, 리포좀, 바이러스 벡터 등과 같은 별도의 전달 비히클에 의존하지 않고 세포 내로의 핵산 전달을 개선하는 조성물 및 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 세포 내로의 핵산 전달을 개선하는 조성물 및 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 조성물은 (i) 핵산 결합 활성을 갖는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 핵산 카고, 예를 들어, 치료 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드를 암호화하는 핵산, 기능적 핵산, 기능적 핵산을 암호화하는 핵산, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, 요소 (i) 및 (ii)는 비공유 결합되어 복합체를 형성한다. 일부 구현예에서, 요소 (i) 및 (ii)는 공유 결합된다. 다양한 구현예에서, 핵산은 DNA(단일 가닥 또는 이중 가닥), RNA, PNA, 또는 다른 변형된 핵산을 포함한다.
- [0019] 일부 구현예에서, 본 개시는 치료제에 공유 접합된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 일부 구현예에서, 치료제는 치료 핵산이다. 일부 구현예에서, 치료제는 화학제이고, 일부 구현예에서, 치료제는 치료 단백질 또는 폴리펩티드이다. 일부 구현예에서, 이들 접합체는, 예를 들어, 리포좀, 바이러스 벡터 등과 같은 별도의 전달 비히클을 필요로 하지 않고, 세포 내로 치료제를 전달하는 방법에 사용된다. 일부

구현예에서, 접합체는 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 폴리펩티드 및 치료 폴리펩티드가 동일한 개방 핵 독 프레임에서 암호화되고 번역되는 융합 단백질이다.

[0020] 핵산, 화학제, 또는 치료 단백질 또는 폴리펩티드와 같은 카고를 세포 내로 전달하는 방법으로서, 세포를 본원에 기술된 복합체 및 복합체의 유효량과 접촉시킴으로써 이러한 카고를 세포 내로 전달하는 방법이 또한 제공된다. 접촉시키는 단계는 시험관 내, 생체 외, 또는 생체 내에서 이루어질 수 있다. 일부 구현예에서, 생체 외에서 치료된 세포의 유효량이, 예를 들어, 질환 또는 장애의 하나 이상의 증상을 치료하는 유효량으로 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다.

[0021] 일부 구현예에서, 접촉시키는 단계는 투여를 필요로 하는 대상체에게 투여가 이루어진 후 생체 내에서 이루어진다. 대상체는 유전자 질환 또는 암과 같은 질환 또는 장애를 가질 수 있다. 조성물은 대상체에서 질환 또는 장애의 하나 이상의 증상을 감소시키는 유효량으로, 예를 들어 주사 또는 주입에 의해 대상체에게 투여될 수 있다.

[0022] 조성물 및 방법의 응용예가 또한 제공되며, 여기에는 유전자 요법 및 T 세포 또는 CAR T 세포 제조, 형성, 및/또는 요법이 포함되지만 이에 한정되지는 않는다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1(서열번호 1~12)은 부모 3E10 단클론 항체에 대한 아미노산 서열을 도시한다.

도 2a(서열번호 13~25), 2b 및 2c는 본 개시의 일부 구현예에 따른 3E10 단클론 항체의 D31N 변이체(도 2a(서열번호 13~25)), 다른 CDR 변이체(도 2b), 및 추가적으로 고려되는 CDR 변이체(도 2c)에 대한 아미노산 서열을 도시한다.

도 3은 본 개시의 다양한 구현예에 따른 3E10 단클론 항체의 예시적인 전하 보존 CDR 변이체를 도시한다.

도 4는 본 개시의 다양한 구현예에 따른 3E10 단클론 항체의 아미노산 치환, 전하 보존된 아미노산 치환, 및 합리적으로 설계된 아미노산 치환의 조합을 함유하는 예시적인 CDR 변이체를 도시한다.

도 5는 본 개시의 다양한 구현예에 따른 인간화 3E10 가변 중쇄(3E10-VH) 도메인의 아미노산 서열을 도시한다.

도 6은 본 개시의 다양한 구현예에 따른, 신호 펩티드가 결합된 성숙한 인간화 3E10 중쇄(3E10-HC)의 아미노산 서열을 도시한다.

도 7은 본 개시의 다양한 구현예에 따른 인간화 3E10 중쇄(3E10-HC)의 아미노산 서열을 도시한다.

도 8은 본 개시의 다양한 구현예에 따른 인간화 3E10 가변 경쇄(3E10-VL) 도메인의 아미노산 서열을 도시한다.

도 9는 본 개시의 다양한 구현예에 따른, 신호 펩티드가 결합된 성숙한 인간화 3E10 경쇄(3E10-LC)의 아미노산 서열을 도시한다.

도 10은 본 개시의 다양한 구현예에 따른 인간화 3E10 경쇄(3E10-LC)의 아미노산 서열을 도시한다.

도 11a 및 11b는 추정 핵산 결합 포켓(NAB1)을 드러내는, 3E10-scFv 작제물의 분자 모델의 정전기 표면 전위 렌더링을 도시한다. 도 11a는 잔기 HC CDR1 잔기 31에서 아미노산 치환에 의해 유도된 예측된 구조적 및 정전기적 전위 변화를 추가로 보여준다. 도 11b는 반점으로 강조된 NAB1 아미노산 잔기를 갖는 3E10-scFv(Pym01)의 분자 모델링의 예시이다.

도 12a, 12b, 12c, 12d, 및 12e는 실시예 1에 기술된 것과 같은, 본 개시의 일부 구현예에 따른 다양한 인간화 3E10 작제물의 핵산 결합 특성 분석 결과를 집합적으로 보여준다.

도 13은 실시예 3에 표시된 바와 같이, THP-1 단핵구 PBS(대조군), 3p-hpRNA RIG-I 작용제 단독(1 ug/웰), 증가하는 양의 인간화 3E10 항체 단독, 및 인간화 3E10 항체/3p-hpRNA(1 ug 3p-hpRNA/웰)에서 4일 동안의 1형 IFN 반응을 집합적으로 보여주는 히스토그램을 도시한다.

도 14는 실시예 3에 표시된 바와 같이, THP-1 단핵구 PBS(대조군), 3p-hpRNA RIG-I 작용제 단독(1 ug/웰), 증가하는 양의 인간화 3E10 항체 단독, 및 인간화 3E10 항체/3p-hpRNA(1 ug 3p-hpRNA/웰)에서 4일 동안의 1형 IFN 반응을 집합적으로 보여주는 히스토그램을 도시한다.

도 15는 실시예 4에 표시된 바와 같이, THP-1 단핵구 PBS(대조군), 3p-hpRNA RIG-I 작용제 단독(1 ug/웰), 증

가하는 양의 인간화 3E10 항체 단독, 및 인간화 3E10 항체/3p-hpRNA(1 ug 3p-hpRNA/웰)에서 4일 동안의 1형 IFN 반응을 집합적으로 보여주는 히스토그램을 도시한다.

도 16은 실시예 3에 표시된 바와 같이, THP-1 단핵구 PBS(대조군), 3p-hpRNA RIG-I 작용제 단독(1 ug/웰), 증가하는 양의 인간화 3E10 항체 단독, 및 비-인간화 3E10 항체/3p-hpRNA(1 ug 3p-hpRNA/웰)에서 4일 동안의 1형 IFN 반응을 집합적으로 보여주는 히스토그램을 도시한다.

도 17은 종양 보유 마우스(CT-26 대장암 모델)의 종양, 간, 신장, 비장, 사두근, 및 비복근에서 인간화 3E10 항체 흡수 (+/-) 디피리다몰을 집합적으로 보여주는 히스토그램을 도시한다.

도 18은 췌장관 선암종(PDAC) 쥐과 모델에서 3E10-D31N IgG4 변이체의 생체분포를 측정하기 위한 실험 계획을 도시한다.

도 19a, 19b, 19c, 19d, 및 19e는 실시예 8에 표시된 바와 같이, 3E10-D31N 및 3E10-D31N IgG4 Fc 변이체에 대한 결합 동역학 및 친화도 측정을 도시한다.

도 20a는 MDA-MB-231 쥐과 모델에서 GFP mRNA의 키메라 3E10-D31N 전달을 도시한다.

도 20b는 KPC 동계 종양 모델에서 GFP mRNA의 키메라 3E10-D31N 전달 및 GFP mRNA의 인간화 3E10 항체 작제물(V66) 전달을 시험하는 비교가능성 연구를 도시한다.

도 21은 GFP mRNA 페이로드의 표적화된 기능적 전달을 위한 종양 및 정상 조직 발현을 도시한다.

도 22는 항체:3E10p-hpRNA 복합체의 이식하고 수일 후 종양 부피를 측정하는 B16 종양 모델에서 키메라 3E10 D31N 및 인간화 3E10 항체(V66)의 비교가능성을 도시한다.

도 23a, 23b, 23c, 23d, 23e, 23f, 23g, 23h, 23i, 23j, 23k, 23l, 23m, 23n, 23o, 23p, 및 23q는 실시예 12에 기술된 바와 같이, C57Bl/6 마우스를 대상으로 수행된 단일 투여량, 투여량 증량, 약동학 연구에서 인간화 3E10(D31N) 항체 V66의 혈청 및 조직 약동학적 프로파일을 각 도면에 표시된 바와 같은 집합적으로 도시한다.

도 24a, 24b, 24c, 및 24d는 실시예 12에 기술된 바와 같이, 인간화 3E10(D31) 항체 V66의 혈청 및 조직 약동학 연구에 대한 요약 분석 및 통계를 집합적으로 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 다양한 양태 및 구현예에서, 본 개시는 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편뿐만 아니라 이를 사용하여 카고(cargo), 예를 들어 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드, 또는 화학제를 세포 내로 전달하는 방법을 제공한다. 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편은 세포에 침투하여, 별도의 전달 비히클 없이도, 카고(예: 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드, 또는 화학제)를 형질막을 가로질러 세포의 세포질 내로 전달하는 데 도움을 줄 수 있다. 유리하게는, 본원에 기술된 3E10 항체 및 항원 결합 단편은 인간화되었기 때문에 인간에게 투여될 때 쥐과 및 키메라 3E10 부모 항체에 비해 면역원성이 덜할 것이다. 또한, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 및 항원 결합 단편은 서열 비특이적 핵산 결합 및 항원 매개 세포 침투와 같은 주요 3E10 특성을 보유한다. 더욱이, 실시예에서 보고된 바와 같이, 인간화 3E10 가변 중쇄 및 가변 경쇄 도메인의 다양한 조합은 상이한 핵산 결합 친화도를 가지므로, 생체 내에서 핵산 결합 및 방출을 더 잘 조절할 수 있다.

[0025] 정의

[0026] 본 개시에 사용된 용어는 단지 특정 구현예를 설명하기 위한 것이며 본 발명을 한정하려는 것이 아니다. 본 발명의 설명 및 첨부된 청구범위에 사용된 바와 같이, 단수 형태(“a, an, 및 the”)는 문맥이 명확하게 달리 나타내지 않는 한 복수 형태도 포함하도록 의도된다. 또한, 본원에서 사용되는 용어 “및/또는”은 연관된 열거된 항목 중 하나 이상의 임의의 그리고 모든 가능한 조합을 지칭하고 포함한다는 것을 이해할 것이다. 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 본 명세서에 사용될 때, 용어 “포함하다”, “포함하는”, 또는 이의 임의의 변형은 언급된 특징, 정수, 단계, 작동, 요소, 및/또는 구성 요소의 존재를 명시하지만, 하나 이상의 다른 특징, 정수, 단계, 작동, 요소, 구성 요소, 및/또는 이들의 그룹의 존재 또는 추가를 배제하지 않는다는 것을 추가로 이해할 것이다. 또한, 용어 “포함하는(including, includes)”, “갖는(having, has, with)”, 또는 이의 변형이 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용 및/또는 청구범위 중 어느 하나에 사용되는 정도까지, 이러한 용어는 용어 “포함하는(comprising)”과 유사한 방식으로 포괄적인 것으로 의도된다.

[0027] 본원에서 값의 범위의 인용은, 본원에서 달리 명시되지 않는 한, 단지 범위 내에 속하는 각각의 별도의 값을 개

별적으로 지칭하는 짧은 방법으로서의 역할을 하도록 의도되며, 각각의 별도의 값은 본원에서 개별적으로 인용된 것과 같이 명세서에 포함된다.

- [0028] 용어 “약”의 사용은 대략 +/- 10%의 범위에서 언급된 값의 위 또는 아래에 있는 값을 설명하는 것으로 의도된다.
- [0029] 또한, 본원에서 사용되는 용어 “및/또는”은 연관된 열거된 항목 중 하나 이상의 임의의 그리고 모든 가능한 조합을 지칭하고 포함한다.
- [0030] 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 용어 “포함하다(includes, comprising)” 또는 이의 임의의 변형은 언급된 특징, 정수, 단계, 작동, 요소, 및/또는 구성 요소의 존재를 명시하지만, 하나 이상의 다른 특징, 정수, 단계, 작동, 요소, 구성 요소, 및/또는 이들의 군이 존재하는 것 또는 이를 추가하는 것을 배제하지 않는다. 또한, 용어 “포함하는(including, includes)”, “갖는(having, has, with)”, 또는 이의 변형이 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용 및/또는 청구범위 중 어느 하나에 사용되는 정도까지, 이러한 용어는 용어 “포함하는(comprising)”과 유사한 방식으로 포괄적인 것으로 의도된다.
- [0031] 본원에서 값의 범위의 인용은, 본원에서 달리 명시되지 않는 한, 단지 범위 내에 속하는 각각의 별도의 값을 개별적으로 지칭하는 짧은 방법으로서의 역할을 하도록 의도되며, 각각의 별도의 값은 본원에서 개별적으로 인용된 것과 같이 명세서에 포함된다.
- [0032] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “대상체”는 투여의 표적인 임의의 개체를 의미한다. 대상체는 척추동물, 예를 들어 포유동물일 수 있다. 따라서, 대상체는 인간일 수 있다. 본 용어는 특정 연령 또는 성별을 나타내지 않는다.
- [0033] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “약학적 유효량”은 사용된 조성물의 양이 질환 또는 장애의 하나 이상의 원인 또는 증상을 개선시키기에 충분한 양임을 의미한다. 이러한 개선은 감소 또는 변경만을 필요로 하며, 반드시 제거될 필요는 없다. 정확한 투여량은 대상체-의존적 변수(예를 들어, 연령, 면역계 건강 등), 치료 중인 질환 또는 장애뿐만 아니라 투여 경로 및 투여 중인 제제의 약동학과 같은 다양한 인자에 따라 달라질 것이다.
- [0034] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “담체” 또는 “부형제”는 하나 이상의 활성 성분이 조합된, 제형 내의 유기 또는 무기 성분, 천연 또는 합성 비활성 성분을 지칭한다. 담체 또는 부형제는 당업자에게 잘 알려진 바와 같이, 활성 성분의 분해를 최소화하고 대상체에서 부작용을 최소화하도록 자연적으로 선택될 것이다.
- [0035] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “치료”는 질환, 병리학적 상태 또는 장애를 치유, 개선, 안정화 또는 예방하기 위한 의도로 환자의 의학적 관리를 지칭한다. 이 용어는 활성 치료, 즉 질환, 병리학적 상태 또는 장애의 개선을 구체적으로 지향하는 치료를 포함하며, 또한 인과적 치료, 즉 관련 질환, 병리학적 상태 또는 장애의 원인을 제거하는 것을 지향하는 치료를 포함한다. 또한, 이 용어는 완화 치료, 즉, 질환, 병리학적 상태, 또는 장애의 치유보다는 증상의 완화를 위해 설계된 치료; 예방 치료, 즉, 관련 질환, 병리학적 상태, 또는 장애의 발생을 최소화하거나 부분적으로 또는 완전히 억제하도록 의도된 치료; 및 지지 치료, 즉, 연관된 질환, 병리학적 상태, 또는 장애의 개선을 지향하는 또 다른 구체적인 요법을 보충하기 위해 사용된 치료를 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “억제” 또는 “감소”는 활성, 반응, 병태, 질환, 또는 다른 생물학적 파라미터를 감소시키는 것을 의미한다. 이는 활성, 반응, 병태 또는 질환의 완전한 제거를 포함할 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 이는 또한, 예를 들어, 자연 수준 또는 대조군 수준 대비 활성, 반응, 병태 또는 질환의 통계적으로 유의한 감소를 포함할 수 있다.
- [0036] 본 개시에서, 용어 “CNS 암” 또는 “중추신경계의 암”은 대상체의 일차 CNS의 뇌, 척수, 수막, 또는 조혈 조직을 포함하는 중추신경계의 임의의 조직으로부터의 세포의 비정상적인 성장을 지칭한다. CNS 암의 비제한적인 예는 신경상피암(예컨대 신경교종, 성숙한 뉴런암, 원시 신경 외배엽 종양, 및 원시 뇌암), 수막암, 및 원발성 중추신경계 조혈암을 포함한다.
- [0037] **항체 및 이의 변이체**
- [0038] 본원에서 사용되는 바와 같이, “항원 결합 도메인” 또는 “ABD”는 폴리펩티드 서열 또는 서열들의 일부로서 존재할 때, 본원에서 논의된 바와 같은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 6개의 상보성 결합 영역(CDR)의 세트를 의미한다. 당업계에 알려진 바와 같이, 이들 CDR은 일반적으로 가변 중쇄 CDR(vhCDR 또는 VHCDR)의 제1 세트 및 가변 경쇄 CDR(vlCDR 또는 VLCDR)의 제2 세트로서 존재하며, 각각은 중쇄에 대해 vhCDR1, vhCDR2, vhCDR3 및 경쇄에 대해 vlCDR1, vlCDR2 및 vlCDR3의 3개의 CDR을 포함한다. CDR은 각각 가변 중쇄 및 가변 경쇄 도메인

에 존재하고, 함께 Fv 영역을 형성한다. 아래 표 및 관련 논의에서 개략된 바와 같이, 다양한 CDR 넘버링 체계가 알려져 있다. 따라서, 일부 경우에, 항원 결합 도메인의 6개의 CDR은 가변 중쇄 및 가변 경쇄 도메인에 의해 제공된다. “Fab” 포맷에서, 6개의 CDR 세트는 2개의 상이한 폴리펩티드 서열인 가변 중쇄 도메인(vh 또는 VH; vhCDR1, vhCDR2, 및 vhCDR3을 함유함) 및 가변 경쇄 도메인(vl 또는 VL; vlCDR1, vlCDR2, 및 vlCDR3을 함유함)에 의해 제공되며, 여기서 vh 도메인의 C-말단은 중쇄의 CH1 도메인의 N-말단에 부착되고, vl 도메인의 C-말단은 불변 경쇄 도메인의 N-말단에 부착된다(따라서 경쇄를 형성함). scFv 포맷에서, vh 및 vl 도메인은, 일반적으로 본원에서 개략된 바와 같은 링커(“scFv 링커”)의 사용을 통해, 단일 폴리펩티드 서열 내로 공유 부착되는데, 이는 (N-말단에서 시작하는) vh-링커-vl 또는 vl-링커-vh의 포맷일 수 있고, 사용되는 포맷에 따라 각각은 임의의 도메인 링커를 포함할 수 있다. 일반적으로, scFv 도메인의 C-말단은 제2 단량체에서 힌지의 N-말단에 부착된다.

[0039] 당업자가 이해할 수 있듯이, CDR의 정확한 넘버링 및 배치는 상이한 넘버링 시스템 간에 상이할 수 있다. 그러나, 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄 서열에 대한 개시는 연관된 (유전적) CDR에 대한 개시를 포함한다는 것을 이해해야 한다. 따라서, 각각의 가변 중쇄 영역에 대한 개시는 vhCDR(예를 들어, vhCDR1, vhCDR2 및 vhCDR3)에 대한 개시이고, 각각의 가변 경쇄 영역에 대한 개시는 vlCDR(예를 들어, vlCDR1, vlCDR2 및 vlCDR3)에 대한 개시이다. 유용한 CDR 넘버링의 비교는 다음과 같고, Lafranc 등의 문헌[*Dev. Comp. Immunol.* 2003. 27(1):55-77]을 참조한다.

CDR 넘버링의 비교

	Kabat+ Chothia	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	접촉	Xencor
vhCDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35	27-35
vhCDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58	54-61
vhCDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101	103-116
vlCDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36	27-38
vlCDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55	56-62
vlCDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96	97-105

[0040]

[0041] 항체와 관련하여 본 개시에서 논의된 모든 아미노산 위치의 경우, 아미노산 위치 넘버링은 EU 인덱스에 따른 것이다. EU 인덱스, 또는 Kabat 또는 EU 넘버링 체계에서와 같은 EU 인덱스는 EU 항체를 넘버링하는 것을 지칭한다. Kabat 등은 중쇄 및 경쇄의 가변 영역의 다수의 일차 서열을 수집하였다. 서열의 보존 정도에 기초하여, 이들은 개별 일차 서열을 CDR 및 프레임워크로 분류하고 이의 목록을 만들었다. Kabat 등의 문헌[SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 제5판, NIH publication, No. 91-3242, E.A.]; Edelman 등의 문헌[1969, *Proc Natl Acad Sci USA* 63:78-85]을 참조하고, 이들의 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 변형은 추가, 결실, 또는 치환일 수 있다.

[0042] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “항체 변이체” 또는 “변이체 항체”는 적어도 하나의 아미노산 변형에 의해 부모 항체와 상이한 항체를 지칭하고, 본원에서 사용되는 “IgG 변이체” 또는 “변이체 IgG”는 적어도 하나의 아미노산 변형에 의해 (다시, 많은 경우에 인간 IgG 서열 유래의) 부모 IgG와 상이한 항체를 의미하며, 본원에서 사용되는 “면역글로불린 변이체” 또는 “변이체 면역글로불린”은 적어도 하나의 아미노산 변형에 의해 부모 면역글로불린 서열과 상이한 면역글로불린 서열을 의미한다. 본원에서 사용되는 “Fc 변이체” 또는 “변이체 Fc”는 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4의 Fc 도메인과 비교했을 때 Fc 도메인에서 아미노산 변형을 포함하는 단백질을 의미한다.

[0043] 일부 구현예에서, 부모 폴리펩티드, 예를 들어 Fc 부모 폴리펩티드는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4로부터의 중쇄 불변 도메인 또는 Fc 영역과 같은 인간 야생형 서열이지만, 변이체를 갖는 인간 서열도 “부모 폴리펩티드”의 역할을 할 수 있으며, 예를 들어 미국 특허 공개 제2006/0134105호(그 내용은 전체가 참조로서 본원에 통합됨)의 IgG1/2 하이브리드가 사용될 수 있다. 본원의 단백질 변이체 서열은 바람직하게는 부모 단백질 서열과 적어도 약 75%의 동일성, 또는 부모 단백질 서열과 적어도 약 80%의 동일성, 가장 바람직하게는 적어도 약 90%의 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99%의 서열 동일성을 가질 것이다.

[0044] 일부 구현예에서, 본원의 단백질 변이체 서열은 부모 단백질 서열과 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어

도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 적어도 99.5%의 서열 동일성을 갖는다.

- [0045] 본원에서 사용되는 바와 같이, “이소형”은 불변 영역의 화학적 및 항원적 특성에 의해 정의된 면역글로불린의 하위부류 중 어느 하나를 의미한다. 치료 항체도 이소형 및/또는 하위부류의 하이브리드를 포함할 수 있다는 것을 이해해야 한다.
- [0046] 본원에서 사용되는 바와 같이, “Fab” 또는 “Fab 영역”은 일반적으로 2개의 상이한 폴리펩티드 사슬 상에 VH, CH1, VL, 및 CL 면역글로불린 도메인을 포함하는 (예를 들어, 하나의 사슬 상의 VH-CH1 및 다른 하나의 사슬 상의 VL-CL) 폴리펩티드를 지칭한다. Fab는 이 영역을 독립적으로 지칭하거나, 본 개시의 항체의 맥락에서 이 영역을 지칭할 수 있다. Fab의 맥락에서, Fab는 CH1 및 CL 도메인에 추가하여 Fv 영역을 포함한다.
- [0047] 본원에서 사용되는 바와 같이, “Fv” 또는 “Fv 단편” 또는 “Fv 영역”은 ABD의 VL 및 VH 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. Fv 영역은 Fab(전술한 바와 같이, 일반적으로 위에 개략된 바와 같은 불변 영역을 또한 포함하는 2개의 상이한 폴리펩티드) 및 scFv 둘 다로서 포맷팅될 수 있으며, 여기서 v1 및 vh 도메인은 (일반적으로 본원에서 논의된 바와 같은 링커에 의해) 합쳐져 scFv를 형성한다.
- [0048] 본원에서 사용되는 바와 같이, “단쇄 Fv” 또는 “scFv”는 일반적으로 본원에서 논의된 바와 같은 scFv 링커를 사용하여 가변 경쇄 도메인에 공유 부착되어 scFv 또는 scFv 도메인을 형성하는 가변 중쇄 도메인을 지칭한다. scFv 도메인은 N-말단에서 C-말단 방향으로 어느 하나의 배향(vh-링커-v1 또는 v1-링커-vh)일 수 있다. 본 개시에서, 특히 도면에 개략된 바와 같이, vh 및 v1 도메인의 순서는 명칭에 표시되어 있는데, 예를 들어, N-말단에서 C-말단 방향으로 H.X.L.Y는 vh-링커-v1이고, L.Y.H.X는 v1-링커-vh이다.
- [0049] 본원에서 사용되는 바와 같이, “Fc” 또는 “Fc 영역” 또는 “Fc 도메인”은 IgG 분자의 CH2-CH3 도메인을 포함하고, 일부 경우에 힌지를 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 인간 IgG1에 대한 EU 넘버링에서, CH2-CH3 도메인은 아미노산 231 내지 447을 포함하고, 힌지는 216 내지 230이다. 따라서, “Fc 도메인”의 정의는 아미노산 231-447(CH2-CH3) 또는 216-447(힌지-CH2-CH3) 또는 이의 단편 둘 다를 포함한다. 이러한 맥락에서 “Fc 단편”은 N-말단 및 C-말단 중 어느 하나 또는 둘 모두로부터 더 적은 아미노산을 함유할 수 있지만, 일반적으로 크기에 기초한 표준 방법(예를 들어, 비변성 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피 등)을 사용하여 검출될 수 있는 바와 같이 다른 Fc 도메인 또는 Fc 단편과 이량체를 형성하는 능력을 여전히 보유한다. 특히 인간 IgG Fc 도메인이 본 개시에서 사용되며, 인간 IgG1, IgG2 또는 IgG4로부터의 Fc 도메인일 수 있다.
- [0050] 본원에서 사용되는 바와 같이, “변이체 Fc 도메인”은 부모 Fc 도메인과 비교했을 때 아미노산 변형을 함유한다. 따라서, “변이체 인간 IgG1 Fc 도메인”은 인간 IgG1 Fc 도메인과 비교하여 아미노산 변형(일반적으로 아미노산 치환, 그러나 절체 변이체의 경우, 아미노산 결실이 포함됨)을 함유하는 것이다. 일반적으로, 변이체 Fc 도메인은 상응하는 부모 인간 IgG Fc 도메인과 적어도 약 80, 약 85, 약 90, 약 95, 약 97, 약 98 또는 약 99%의 동일성을 갖는다(아래에서 논의되는 동일성 알고리즘을 사용했을 때; 일 구현예에서, 당업계에 공지된 바와 같은 BLAST 알고리즘을 기본값 파라미터로 두고 사용했을 때). 대안적으로, 변이체 Fc 도메인은 부모 Fc 도메인과 비교하여 1 내지 약 20개(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개)의 아미노산 변형을 가질 수 있다. 또한, 본원에서 논의된 바와 같이, 본원의 변이체 Fc 도메인은 본원에 기술된 바와 같은 공지된 기술, 예컨대 비변성 겔 전기영동을 사용하여 측정했을 때 다른 Fc 도메인과 이량체를 형성하는 능력을 여전히 보유한다.
- [0051] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “중쇄 불변 영역”은 가변 중쇄 도메인을 제외한 항체(또는 이의 단편)의 CH1-힌지-CH2-CH3 부분을 지칭하며; 인간 IgG1의 EU 넘버링에서, 이는 아미노산 118-447이다. 본원에서, “중쇄 불변 영역 단편”이란 N-말단 및 C-말단 중 어느 하나 또는 둘 다에 비해 더 적은 아미노산을 함유하지만 다른 중쇄 불변 영역과 이량체를 형성하는 능력을 여전히 보유하는 중쇄 불변 영역을 의미한다.
- [0052] 본원에서 사용되는 바와 같이, “가변 영역” 또는 “가변 도메인”은 카파, 람다, 및 중쇄 면역글로불린 유전자좌를 각각 구성하는 Vκ, Vλ, 및/또는 VH 유전자 중 어느 하나에 의해 실질적으로 암호화되는 하나 이상의 Ig 도메인을 포함하고, 항원 특이성을 부여하는 CDR을 함유하는 면역글로불린의 영역을 지칭한다. 따라서, “가변 중쇄 도메인”은 “가변 경쇄 도메인”과 짝을 이루어 항원 결합 도메인(“ABD”)을 형성한다. 또한, 각각의 가변 도메인은 아미노 말단에서 카르복시 말단까지 다음 순서로 배열된 3개의 초가변 영역(“상보성 결정 영역”, “CDR”)(가변 중쇄 도메인의 경우 vhCDR1, vhCDR2 및 vhCDR3, 및 가변 경쇄 도메인의 경우 v1CDR1,

vICDR2 및 vICDR3) 및 4개의 프레임워크(FR) 영역을 포함한다: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.

- [0053] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “전장 중쇄”는 신호 펩티드(S)를 포함하여 S-VH-CH1-힌지-CH2-CH3의 구조를 갖는 항체의 전체 중쇄를 지칭한다.
- [0054] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “성숙한 중쇄”는 신호 펩티드를 제외하고 VH-CH1-힌지-CH2-CH3의 구조를 갖는 항체의 중쇄 부분을 지칭한다.
- [0055] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “전장 경쇄”는 신호 펩티드(S)를 포함하여 S-VL-CL의 구조를 갖는 항체의 전체 경쇄를 지칭한다.
- [0056] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “성숙한 경쇄”는 신호 펩티드를 제외하고 S-VL-CL의 구조를 갖는 항체의 경쇄 부분을 지칭한다.
- [0057] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “IgG 하위부류 변형” 또는 “이소형 변형”은 하나의 IgG 이소형의 하나의 아미노산을 상이한 정렬된 IgG 이소형의 상응하는 아미노산으로 변환하는 아미노산 변형을 의미한다. 예를 들어, IgG1은 EU 위치 296에서 티로신 및 IgG2는 페닐알라닌을 포함하기 때문에, IgG2에서의 F296Y 치환은 IgG 하위부류 변형으로 간주된다.
- [0058] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “비자연 발생 변형”은 이소형이 아닌 아미노산 변형을 지칭한다. 예를 들어, 인간 IgG 중 어느 것도 위치 434에서 세린을 포함하지 않기 때문에, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4(또는 이의 하이브리드)에서의 치환 434S는 비자연 발생 변형으로 간주된다.
- [0059] 본 개시의 항체 및 이의 항원 결합 단편은 본원에 기술된 다양한 특성을 갖도록 조작된 재조합 항체이며, 일반적으로 사용 전에 단리된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 본원에 기술된 다양한 폴리펩티드를 설명하는 데 사용될 때의 용어 “단리된(isolated)”은 폴리펩티드가 발현된 세포 또는 세포 배양물로부터 식별되고 분리된/분리되었거나 이로부터 회수된 폴리펩티드를 지칭한다. 일반적으로, 단리된 폴리펩티드는 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다. “단리된 항체”는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭한다. “재조합”은 항체가 외인성 숙주 세포에서 재조합 핵산 기술을 사용하여 생성되는 것을 의미하며, 이들도 단리될 수 있다.
- [0060] 본원에서 사용되는 바와 같이, “3E10 항체”는 Kabat 시스템에 따라 식별되고, 서열번호 58, 59, 및 60과 2개 이하의 아미노산만큼 상이한 아미노산 서열을 각각 포함하는 중쇄 CDR 세트(VH CDR1, VH CDR2, 및 VH CDR3), 및 서열번호 61, 62, 및 63과 2개 이하의 아미노산만큼 상이한 아미노산을 각각 포함하는 경쇄 CDR 세트(VL CDR1, VL CDR2, 및 VL CRD3)를 갖는 항체로서, 핵산에 결합하는 항체를 지칭한다. 본원에 기술된 바와 같이, 3E10 항원은 폴리뉴클레오티드이다.
- [0061] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “세포 침투(cell-penetrating)”는 리포솜과 같은 외인성 수송 비히클, 또는 접합된 세포 침투 펩티드의 도움 없이 세포(예: 포유류 세포)에 침투할 수 있는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 지칭한다. 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편과 관련하여, 세포 투과 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 예를 들어 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합 및/또는 접합된 핵산의 존재 하에, ENT2 수용체를 표면 상에서 발현하는 세포에 침투하여 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편을 내재화시킬 수 있다. 일부 구현 예에서, 세포 투과 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 기능성 분자, 예를 들어 화학제, 폴리뉴클레오티드, 또는 폴리펩티드에 접합된다.
- [0062] 본원에서 사용되는 바와 같이, “변이체 단백질” 또는 “단백질 변이체” 또는 “변이체”는 적어도 하나의 아미노산 변형에 의해 부모 단백질과 상이한 단백질을 의미한다. 단백질 변이체는 부모 단백질과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 변형을 갖지만, 변이체 단백질이 아래에 기술된 것과 같은 정렬 프로그램을 사용하여 부모 단백질과 정렬되지 않을 정도로 많지는 않다. 일반적으로, 변이체 단백질(예컨대, 본원에 개략된 바와 같은 변이체 Fc 도메인 등은 일반적으로 후술되는 정렬 프로그램, 예컨대, BLAST를 사용하면, 부모 단백질에 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 적어도 99.5% 동일하다. 본원에 기술된 바와 같은 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 대한 아미노산 서열 변형이 변이체 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서 지칭되는 단백질 및/또는 폴리펩티드를 생산할 수 있지만, 이러한 변이체가 CDR 서열을 유지하고 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 세포 침투 활성 요건을 유지하는 한 이러

한 변이체는 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 분류에 여전히 속한다.

[0063] 2개의 유사한 서열(예를 들어, 항체 가변 도메인) 간의 서열 동일성은 알고리즘, 예컨대, Smith, T.F. & Waterman, M.S의 문헌[(1981) "Comparison Of Biosequences," *Adv. Appl. Math.* 2:482 [local homology algorithm]]; Needleman, S.B. & Wunsch, CD의 문헌 [(1970) "A General Method Applicable To The Search For Similarities In The Amino Acid Sequence Of Two Proteins," *J. Mol. Biol.*, 48:443 [homology alignment algorithm]], Pearson, W.R. & Lipman, D.J.의 문헌[(1988) "Improved Tools For Biological Sequence Comparison," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 85:2444 [search for similarity method]]; 또는 Altschul, S.F. 등의 문헌[(1990) "Basic Local Alignment Search Tool," *J. Mol. Biol.* 215:403-10], "BLAST" 알고리즘(URL blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi. 있는 웹페이지 참조)과 같은 알고리즘으로 측정될 수 있다. 진술한 알고리즘 중 어느 하나를 사용할 때, (윈도우 길이, 갭 페널티 등에 대해) 디폴트 파라미터가 사용된다. 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 서열 동일성은 기본 파라미터를 사용하여 BLAST 알고리즘을 사용하여 결정된다.

[0064] **3E10 항체, 변이체, 및 이의 단편**

[0065] 구현예에서, 본 개시는 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편, 및 다양한 질환의 치료를 위해 치료제를 전달하기 위한 이의 용도에 관한 것이다. 본원에서 논의되는 바와 같이, 본 개시의 방법 및 조성물에 유용한 인간화 3E10 항체는 아미노산 치환의 어레이를 항체의 임의의 부분에 포함할 수 있다. 또한, 인간화 3E10 항체의 항원 결합 단편은 본원에 기술된 예시적인 포맷을 포함하지만 이에 한정되지 않는 많은 형태를 취할 수 있다.

[0066] 3E10 단클론 항체 및 이의 결합 단편의 아미노산 서열은 당업계에서 알려져 있다. 3E10 중쇄 및 경쇄의 예시적인 서열이 아래에 제공되어 있고 다양한 도메인에 도시되어 있다. 존재하는 경우, 하나의 밀줄은 Kabat 시스템에 따라 식별된 CDR 영역을 나타내고, 이탤릭체는 가변 도메인을 나타내고, 이중 밀줄은 신호 펩티드를 나타낸다. 3E10 항체의 첫과 버전은 Zack 등의 문헌[*Immunology and Cell Biology*, 72:513-520 (1994)]에 기술되어 있다. 첫과 3E10의 중쇄 및 경쇄뿐만 아니라 가변 영역 및 CDR이 도 1에 도시되어 있다(서열번호 1~12).

[0067] 3E10 항체의 아미노산 변이체는, 예를 들어, Zack 등의 문헌[*J. Immunol.*, 157(5):2082-8 (1996)]에 기술된 바와 같이, 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, 3E10의 중쇄 가변 영역의 CDR1에서의 아미노산 위치 31은 핵산 결합에 영향을 미치고 핵을 침투하는 항체의 능력에 영향을 미친다. (예를 들어, 원래 첫과 항체에 비해) ‘야생형’ 아스파르트산을 아스파라긴으로 치환하면(‘D31N’ 돌연변이) ‘야생형’ 첫과 항체에 비해 항체의 핵산 결합 및 핵 침투가 개선된다. 예를 들어, Zack 등의 문헌[*Immunology and Cell Biology*, 72:513-520 (1994)]; Weisbart 등의 문헌[*J. Autoimmun.*, 11, 539-546 (1998)]; 및 Weisbart의 문헌[*Int. J. Oncol.*, 25, 1867-1873 (2004)] 참조. D31N 치환을 갖는 첫과 3E10에 대한 서열은 도 2에 도시되어 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 개시된 인간화 3E10 항체 및 이의 결합 단편은 D31N 치환을 포함한다. 다른 구현예에서, 본원에 개시된 인간화 3E10 항체 및 이의 결합 단편의 위치 31에서 다른 아미노산이 치환된다. 예를 들어, 도 11a에서 모델링한 것과 같이, D31R 또는 D31K 치환이 본 개시의 일부 구현예에 포함되어 있다.

[0068] 다른 3E10 경쇄 서열은 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, Zack 등의 문헌[*J. Immunol.*, 15;154(4):1987-94 (1995)]; GenBank: L16981.1 - 마우스 Ig 재배열된 L-사슬 유전자, 부분 cds; GenBank: AAA65681.1 - 면역글로불린 경쇄, 부분[Mus musculus])을 참조한다.

[0069] 전통적인 항체 구조 단위는 통상적으로 사량체를 포함한다. 각각의 사량체는 통상적으로 2개의 동일한 폴리펩티드 사슬 쌍으로 구성되며, 각각의 쌍은 하나의 “경쇄” (통상적으로 약 25 kDa의 분자량을 가짐) 및 하나의 “중쇄” (통상적으로 약 50~70 kDa의 분자량을 가짐)를 갖는다. 인간 경쇄는 카파 및 람다 경쇄로서 분류된다. 본 개시는 일반적으로 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4를 포함하지만 이에 한정되지 않는 여러 하위부류를 갖는 IgG 부류에 기반한 항체에 관한 것이다. 일반적으로, IgG1, IgG2, 및 IgG4는 IgG3보다 더 빈번하게 사용된다. IgG1은 356(D 또는 E) 및 358(L 또는 M)에서 다형성을 갖는 상이한 동종이인자형을 갖는다는 점에 주목해야 한다.

[0070] 경쇄는 일반적으로 2개의 도메인, 즉 가변 경쇄 도메인(경쇄 CDR을 함유하고, 가변 중쇄 도메인과 함께 Fv 영역을 형성함), 및 (중중 CL 또는 Ck로 지칭되는) 불변 경쇄 영역을 포함한다. 중쇄는 가변 중쇄 도메인 및 불변 도메인을 포함하며, 여기에는 CH1-임의 힌지-Fc 도메인(CH2-CH3를 포함함)이 포함된다.

[0071] 항체의 초가변 영역은 일반적으로 경쇄 가변 영역에서 대략 아미노산 잔기 24-34(LCDR1; “L”은 경쇄를 나타냄), 50-56(LCDR2) 및 89-97(LCDR3)로부터의 아미노산 잔기, 중쇄 가변 영역에서 약 31-35B(HCDR1; “H”는 중쇄를 나타냄), 50-65(HCDR2), 및 95-102(HCDR3)로부터의 아미노산 잔기(참조: Kabat 등의 문헌[[SEQUENCES](#)

OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 제5판. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)) 및/또는 초가변 루프를 형성하는 잔기(예를 들어, 경쇄 가변 영역의 잔기 26-32(LCDR1), 50-52(LCDR2), 및 91-96(LCDR3) 및 중쇄 가변 영역의 잔기 26-32(HCDR1), 53-55(HCDR2), 및 96-101(HCDR3)(참조: Chothia 및 Lesk의 문헌[J. Mol. Biol. 1987. 196:901-917])을 포함한다. 본원에 기술된 조성물 및 방법에 유용한 특정 CDR이 아래에 기술된다.

- [0072] 당업자가 이해할 수 있듯이, CDR의 정확한 넘버링 및 배치는 상이한 넘버링 시스템 간에 상이할 수 있다. 그러나, 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄 서열에 대한 개시는 연관된 (유전적) CDR에 대한 개시를 포함한다는 것을 이해해야 한다. 따라서, 각각의 가변 중쇄 영역의 개시는 vhCDR(예를 들어, vhCDR1, vhCDR2, 및 vhCDR3)의 개시이고, 각각의 가변 경쇄 영역의 개시는 vLCDR(예를 들어, vLCDR1, vLCDR2, 및 vLCDR3)의 개시이다. CDR 넘버링의 유용한 비교는 Lafranc 등의 문헌[Dev. Comp. Immunol. 2003. 27(1):55-77 (2003)]에 기술되어 있다.
- [0073] 본 개시 전반에 걸쳐, Kabat 넘버링 시스템은 일반적으로 가변 도메인(대략, 경쇄 가변 영역의 잔기 1-107 및 중쇄 가변 영역의 잔기 1-113)의 잔기를 언급할 때 사용되고, EU 넘버링 시스템(예를 들어, Kabat 등의 전술한 (1991) 문헌)은 Fc 영역에 대해 사용된다.
- [0074] 본 개시는 다수의 상이한 CDR 세트를 제공한다. 이 경우, “전체 CDR 세트”는 3개의 가변 경쇄 및 3개의 가변 중쇄 CDR, 예를 들어 vLCDR1, vLCDR2, vLCDR3, vhCDR1, vhCDR2, 및 vhCDR3을 포함한다. 이들은 각각 더 큰 가변 경쇄 도메인 또는 가변 중쇄 도메인의 일부일 수 있다. 또한, 본원에서 보다 완전하게 개략된 바와 같이, 가변 중쇄 및 가변 경쇄 도메인은 중쇄 및 경쇄가 사용될 때(예를 들어, Fab가 사용될 때) 별도의 폴리펩티드 사슬 상에 존재할 수 있거나 scFv 서열의 경우 단일 폴리펩티드 사슬 상에 존재할 수 있다. CDR은 항체의 항원 결합 부위, 또는 보다 구체적으로 에피토프 결합 부위를 형성하는 데 기여한다. “에피토프”는 과파토프로서 알려진 항체 분자의 가변 영역에서 특이적 항원 결합 부위와 상호작용하는 결정인자를 지칭한다.
- [0075] 에피토프는 핵산, 아미노산, 또는 당 측쇄와 같은 분자의 그룹화이며, 일반적으로 특이적인 구조적 특성뿐만 아니라 특이적인 전하 특성을 갖는다. 단일 항원은 하나 초과와 에피토프를 가질 수 있다. 본원에 기술된 항체는 핵산 에피토프에 부분적으로 서열 독립적 방식으로 결합한다. 즉, 본원에 기술된 항체는 다른 핵산 구조 및 서열보다 더 큰 친화도로 일부 폴리뉴클레오티드 구조 및 서열에 결합하지만, 이들은 폴리뉴클레오티드에 대한 일부 일반적인 친화도를 갖는다.
- [0076] 중쇄의 “Fc 도메인”은 -CH2-CH3 도메인, 및 선택적으로 힌지 도메인(-H-CH2-CH3)을 포함한다. IgG의 경우, Fc 도메인은 면역글로불린 도메인 CH2 및 CH3(Cy2 및 Cy3) 및 CH1(Cy1)과 CH2(Cy2) 사이의 하부 힌지 영역을 포함한다. Fc 영역의 경계는 달라질 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 일반적으로 그의 카르복실 말단에 잔기 C226 또는 P230을 포함하도록 정의되며, 여기서 넘버링은 Kabat에서와 같이 EU 인덱스에 따른다. 따라서, IgG의 맥락에서 “CH” 도메인은 다음과 같다: “CH1”은 Kabat에서와 같이 EU 인덱스에 따른 위치 118-215를 지칭한다. “힌지”는 Kabat에서와 같이 EU 인덱스에 따른 위치 216-230을 지칭한다. “CH2”는 Kabat에서와 같이 EU 인덱스에 따른 위치 231-340을 지칭하고, “CH3”은 Kabat에서와 같이 EU 인덱스에 따른 위치 341-447을 지칭한다. 따라서, “Fc 도메인”은 -CH2-CH3 도메인, 및 선택적으로 힌지 도메인(힌지-CH2-CH3)을 포함한다. 본원의 구현예에서, scFv가 Fc 도메인에 부착될 때, 이는 일반적으로 Fc 도메인의 힌지의 전부 또는 일부에 부착되는 scFv 작제물의 C-말단이고; 예를 들어, 힌지의 시작인 서열 EPKS에 일반적으로 부착된다. 일부 구현예에서, 이하에서 더욱 상세히 설명되는 바와 같이, 예를 들어 하나 이상의 FcγR 수용체 또는 FcRn 수용체에 대한 결합을 변경하고, 본원에 개략된 바와 같이 이중이량체 형성 및 정제를 가능하게 하기 위해 아미노산 변형이 Fc 영역에 이루어진다.
- [0077] 중쇄의 다른 부분은 힌지 영역이다. 본원에서 “힌지” 또는 “힌지 영역” 또는 “항체 힌지 영역” 또는 “힌지 도메인”은 항체의 제1 및 제2 불변 도메인 사이에 아미노산을 포함하는 가요성 폴리펩티드를 의미한다. 구조적으로, IgG CH1 도메인은 EU 위치 215에서 종결되고, IgG CH2 도메인은 잔기 EU 위치 231에서 시작된다. 따라서, IgG의 경우, 항체 힌지는 위치 216(IgG1의 E216) 내지 230(IgG1의 p230)을 포함하도록 본원에서 정의되며, 여기서 넘버링은 Kabat에서와 같이 EU 인덱스에 따른다. 일부 경우에, 힌지 도메인의 N-말단 및 C-말단 중 어느 하나 또는 둘 모두에서 더 적은 아미노산을 함유하는 “힌지 단편”이 사용된다.
- [0078] scFv는 가변 중쇄, scFv 링커, 및 가변 경쇄 도메인을 포함한다. 본원에 개략된 대부분의 작제물 및 서열에서, 가변 중쇄의 C-말단은 scFv 링커의 N-말단에 부착되고, 이의 C-말단은 가변 경쇄의 N-말단(N-vh-링커-vl-C)에 부착되지만, 이는 스위칭될 수 있다(N-vl-링커-vh-C).

- [0079] 따라서, 본 개시는 상이한 항체 도메인에 관한 것이다. 본원에 기술되고 당업계에 공지된 바와 같이, 본 개시의 특정 구현예에서 기술된 이종이량체 항체는 중쇄 및 경쇄 내에 상이한 도메인을 포함하며, 이는 또한 중첩될 수 있다. 이들 도메인은 Fc 도메인, CH1 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인, 힌지 도메인, 중쇄 불변 도메인(CH1-힌지-Fc 도메인 또는 CH1-힌지-CH2-CH3), 가변 중쇄 도메인, 가변 경쇄 도메인, 경쇄 불변 도메인, Fab 도메인 및 scFv 도메인을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0080] 소정의 구현예에서, 본 개시의 항체는 특정 생식계열 중쇄 면역글로불린 유전자로부터의 중쇄 가변 영역 및/또는 특정 생식계열 경쇄 면역글로불린 유전자로부터의 경쇄 가변 영역을 포함한다. 예를 들어, 이러한 항체는 특정 생식계열 서열, 예를 들어 3E10 항체의 “생성물” 이거나 “이로부터 유래된” 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 인간 항체를 포함하거나 이로 이루어질 수 있다. 인간 생식계열 면역글로불린 서열의 “생성물” 이거나 이로부터 “유래된” 인간 항체는 인간 항체의 아미노산 서열을 인간 생식계열 면역글로불린의 아미노산 서열과 비교하고 (본원에 개략된 방법을 사용하여) 인간 항체의 서열에 서열이 가장 가까운(즉, 최대 % 동일성) 인간 생식계열 면역글로불린 서열을 선택함으로써 이와 같이 식별될 수 있다. 특정 인간 생식계열 면역글로불린 서열의 “생성물” 이거나 이로부터 “유래된” 인간 항체는, 예를 들어 자연 발생 체세포 돌연변이 또는 부위-유도 돌연변이의 의도적인 도입으로 인해, 생식계열 서열과 비교했을 때 아미노산 차이를 가질 수 있다. 그러나, 인간화 항체는 통상적으로 인간 생식계열 면역글로불린 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열과 아미노산 서열이 적어도 90% 동일하고, 다른 종의 생식계열 면역글로불린 아미노산 서열(예를 들어, 쥐와 생식계열 서열)과 비교했을 때 인간 서열로부터 유래한 것으로 항체를 식별하는 아미노산 잔기를 함유한다. 소정의 경우에, 인간화 항체는 생식계열 면역글로불린 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열과 아미노산 서열이 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%, 또는 심지어 적어도 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일할 수 있다. 일반적으로, 특정 인간 생식계열 서열로부터 유래된 인간화 항체는 인간 생식계열 면역글로불린 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열과 10-20개 이하의 아미노산 차이를 나타낼 것이다. 소정의 경우에, 인간화 항체는 생식계열 면역글로불린 유전자에 의해 암호화된 아미노산 서열과 5개 이하, 또는 심지어 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 차이를 나타낼 수 있다.
- [0081] 일 구현예에서, 부모 항체는 당업계에 공지된 바와 같이 친화도 성숙되었다. 예를 들어 US 출원 제11/004,590호 (그 내용은 전체가 참조로서 본원에 통합됨)에 기술된 바와 같이, 구조 기반 방법이 인간화 및 친화도 성숙을 위해 사용될 수 있다. 선택 기반 방법이 항체 가변 영역을 인간화 및/또는 친화도 성숙시키는 데 사용될 수 있으며, 이러한 방법에는 Wu 등의 문헌[1999, *J. Mol. Biol.* 294:151-162]; Baca 등의 문헌[1997, *J. Biol. Chem.* 272(16):10678-10684]; Rosok 등의 문헌[1996, *J. Biol. Chem.* 271 (37): 22611-22618]; Rader 등의 문헌[1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 8910-8915]; Krauss 등의 문헌[2003, *Protein Engineering* 16(10):753-759]에 기술된 방법이 포함되지만 이에 한정되지는 않는다(이들 문헌 모두는 전체가 참조로서 본원에 통합됨). 다른 인간화 방법은 CDR의 일부만을 이식하는 것을 포함할 수 있으며, 이러한 방법에는 US 출원 제 09/810,510호; Tan 등의 문헌[2002, *J. Immunol.* 169:1119-1125]; De Pascalis 등의 문헌[2002, *J. Immunol.* 169:3076-3084]에 기술된 방법이 포함되지만 이에 한정되지는 않는다(이들 문헌의 내용은 전체가 참조로서 본원에 통합됨).
- [0082] 일부 구현예에서, 본 개시는 핵산에 결합하는, 구체적으로는 질환(예: 암)에 사용되는 치료 폴리뉴클레오티드에 결합하는, 3E10 항체로부터 유래된 항원 결합 도메인(ABD)의 용도에 관한 것이다. 부모 3E10 항체의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열은 도 1에 도시되어 있다(서열번호 1~12). 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.
- [0083] 본원에서 사용되는 바와 같이, 인간화 3E10 항체의 “항원 결합 단편”은 핵산 결합 특성을 갖는 scFv, 디-scFv, 트리-scFv, 및 다른 단쇄 가변 단편과 같은 단편, 변이체, 및 융합 단백질을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0084] 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 담체 또는 접합체의 도움 없이 세포의 세포질 및/또는 핵 내로 수송될 수 있다. 예를 들어, 세포독성 효과 없이 포유류 세포의 핵으로 생체 내 수송되는 단클론 항체 3E10 및 이의 활성 단편은 Richard Weisbart의 미국 특허 제4,812,397호 및 제7,189,396호에 개시되어 있다.
- [0085] 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Rad51에 결합하고/하거나 이를 억제한다. 예를 들어 Turchick 등의 문헌[*Nucleic Acids Res.*, 45(20): 11782-11799 (2017)], WO 2020/047344, 및 WO 2020/047353을 참조하고, 이들 각각은 그 전체가 참조로서 본원에 구체적으로 통합된다.
- [0086] 조성물 및 방법에 사용될 수 있는 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편은 임의의 부류의 전체 면역글로불

린(즉, 온전한 항체), 이의 단편, 및 3E10 항체의 특징인 적어도 핵산 결합 및 ENT2 매개 세포 내재화를 함유하는 합성 단백질을 포함한다. 항원 결합 활성은 통상적으로 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘 다에서 상보성 결정 영역(CDR) 또는 초가변 영역이라고 불리는 3개의 분절에 집중된다. 가변 도메인의 더 고도로 보존된 부분은 프레임워크(FR)로 불린다. 고유 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 각각 4개의 FR 영역을 포함하는데, 이는 3개의 CDR에 의해 연결되고 루프 연결을 형성하는 베타-시트 구성을 채택하고, 일부 경우에는 베타-시트 구조의 일부를 형성한다. 각각의 사슬에서의 CDR은 FR 영역에 매우 근접하여 함께 유지되고, 다른 사슬로부터의 CDR과 함께 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다.

[0087] 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편

[0088] 일반적으로, 인간화 항체는 비인간 중 유래의 부모 항체의 서열이 부모 항체의 항원 결합 활성을 유지하면서 인간 항체에 대한 부모 항체의 전반적인 유사성을 증가시키도록 변형되는 프로세스의 결과이다. 일반적으로, 상기 프로세스는 인간 항체(스캐폴드(인간) 항체 유래의 동등한 아미노산, 예를 들어, 항원 결합에 거의 영향을 미치지 않거나 전혀 영향을 미치지 않는 프레임워크 아미노산으로 치환하는 단계, 또는 (ii) 스캐폴드(인간) 항체 내의 아미노산을 부모(비인간) 항체 유래의 동등한 아미노산으로, 예를 들어 항원 결합에 유의한 영향을 미치는 CDR 및 다른 아미노산으로 치환하는 단계를 포함한다. 프레임워크-상동성 기반 인간화, 생식선 인간화, 상보성 결정 영역(CDR)-상동성 기반 인간화, 및 특이성 결정 잔기(SDR) 접목을 포함하여, 다양한 인간화 방법이 당업계에 알려져 있다. 이들 방법의 검토를 위해서는, 예를 들어 Safdari Y. 등의 문헌[Biotechnology and Genetic Engineering Reviews, 29:2, 175-86 (2013)]을 참조한다.

[0089] 실시예에 기술된 바와 같이, 7개의 인간화 3E10 가변 경쇄 및 6개의 인간화 3E10 가변 중쇄를 생성하였으며, 이들의 서열은 도 5(중쇄 가변 영역), 도 6(신호 서열이 없는 중쇄), 도 7(신호 펩티드를 포함하는 중쇄), 도 8(경쇄 가변 영역), 도 9(신호 서열이 없는 경쇄), 및 도 10(신호 펩티드가 포함된 경쇄)에 도시되어 있다. 이들 가변 경쇄 및 가변 중쇄 도메인은 가능한 42개의 조합(7개의 가변 경쇄 각각과 가변 중쇄 각각) 중 어느 하나로 조합되어 인간화 3E10 항체 및 이의 핵산 결합 단편(예: scFv)을 형성할 수 있다. 실시예에 기술된 바와 같이, 이들 인간화 VL 및 VH 서열의 상이한 조합을 포함하는 22개의 항체를 만들었으며, 이들 모두는 핵산에 결합하였다. 또한, 인간 백혈병 세포가 이들 항체와 RIG-I 작용제 폴리뉴클레오티드 사이에 형성된 복합체에 노출되었을 때, 모든 복합체는 I형 IFN 반응을 생성할 수 있었는데, 이는 시험된 항체 모두가 기능적 폴리뉴클레오티드를 세포 내로 전달할 수 있었고 RIG-I 매개 반응에 영향을 미칠 수 있었음을 시사한다.

[0090] 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시는 도 5~10에 도시된 인간화 VL 및 VH 서열을 비롯하여 이들과 서열 동일성을 갖는 VL 및 VH 서열, 예를 들어 도 5~10에 도시된 VH 또는 VL 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 VL 및 VH 서열의 임의의 조합을 포함하는 인간화 항체 및 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0091] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VL-h5(서열번호 89), 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 97% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(3E10-VL) 및 3E10-VH-h1(서열번호 64), 3E10-VH-h2(서열번호 65), 3E10-VH-h3(서열번호 66), 3E10-VH-h4(서열번호 67), 3E10-VH-h5(서열번호 68), 3E10-VH-h6(서열번호 69), 및 3E10-VH-h7(서열번호 70)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(3E10-VH)을 포함한다.

[0092] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VL-h5(서열번호 89), 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 97% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(3E10-VL) 및 3E10-VH-h1(서열번호 64), 3E10-VH-h2(서열번호 65), 3E10-VH-h3(서열번호 66), 3E10-VH-h4(서열번호 67), 3E10-VH-h5(서열번호 68), 3E10-VH-h6(서열번호 69), 및 3E10-VH-h7(서열번호 70)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 97% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(3E10-VH)을 포함한다.

[0093] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VL-h5(서열번호 89), 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 98% 동일한 아미노산 서열을

포함하는 경쇄 가변 도메인(3E10-VL) 및 3E10-VH-h1(서열번호 64), 3E10-VH-h2(서열번호 65), 3E10-VH-h3(서열번호 66), 3E10-VH-h4(서열번호 67), 3E10-VH-h5(서열번호 68), 3E10-VH-h6(서열번호 69), 및 3E10-VH-h7(서열번호 70)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 98% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(3E10-VH)을 포함한다.

- [0094] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VL-h5(서열번호 89), 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(3E10-VL) 및 3E10-VH-h1(서열번호 64), 3E10-VH-h2(서열번호 65), 3E10-VH-h3(서열번호 66), 3E10-VH-h4(서열번호 67), 3E10-VH-h5(서열번호 68), 3E10-VH-h6(서열번호 69), 및 3E10-VH-h7(서열번호 70)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(3E10-VH)을 포함한다.
- [0095] 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h1(서열번호 85)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h1(서열번호 85)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h1(서열번호 85)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h1(서열번호 85)이다.
- [0096] 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h2(서열번호 86)와 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h2(서열번호 86)와 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h2(서열번호 86)와 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h2(서열번호 86)이다.
- [0097] 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h3(서열번호 87)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h3(서열번호 87)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h3(서열번호 87)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h3(서열번호 87)이다.
- [0098] 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h4(서열번호 88)와 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h4(서열번호 88)와 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h4(서열번호 88)와 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h4(서열번호 88)이다.
- [0099] 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h5(서열번호 89)와 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h5(서열번호 89)와 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h5(서열번호 89)와 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h5(서열번호 89)이다.
- [0100] 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h6(서열번호 90)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h6(서열번호 90)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h6(서열번호 90)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VL의 서열은 3E10-VL-h6(서열번호 90)이다.
- [0101] 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h1(서열번호 64)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h1(서열번호 64)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h1(서열번호 64)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h1(서열번호 64)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h1(서열번호 64)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h1(서열번호 64)이다.
- [0102] 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h2(서열번호 65)와 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h2(서열번호 65)와 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h2(서열번호 65)와 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h2(서열번호 65)와 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h2(서열번호 65)와 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h2(서열번호 65)이다.
- [0103] 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h3(서열번호 66)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h3(서열번호 66)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h3(서열번호 66)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h3(서열번호 66)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h3(서열번호 66)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h3(서열번호 66)이다.
- [0104] 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h4(서열번호 67)와 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h4(서열번호 67)와 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-

h4(서열번호 67)와 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h4(서열번호 67)와 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h4(서열번호 67)와 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h4(서열번호 67)이다.

[0105] 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h5(서열번호 68)와 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h5(서열번호 68)와 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h5(서열번호 68)와 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h5(서열번호 68)와 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h5(서열번호 68)와 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h5(서열번호 68)이다.

[0106] 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h6(서열번호 69)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h6(서열번호 69)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h6(서열번호 69)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h6(서열번호 69)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h6(서열번호 69)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h6(서열번호 69)이다.

[0107] 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h7(서열번호 70)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h7(서열번호 70)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h7(서열번호 70)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h7(서열번호 70)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h7(서열번호 70)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-VH의 서열은 3E10-VH-h7(서열번호 70)이다.

[0108] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-LC-h1m(서열번호 91)3E10-LC-h1m(서열번호 91), 3E10-LC-h2m(서열번호 92), 3E10-LC-h3m(서열번호 93), 3E10-LC-h4m(서열번호 94), 3E10-LC-h5m(서열번호 95), 및 3E10-LC-h6m(서열번호 96)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(3E10-LC) 및 3E10-HC-h1m(서열번호 71), 3E10-HC-h2m(서열번호 72), 3E10-HC-h3m(서열번호 73), 3E10-HC-h4m(서열번호 74), 3E10-HC-h5m(서열번호 75), 3E10-HC-h6m(서열번호 76), 및 3E10-HC-h7m(서열번호 77)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(3E10-HC)를 포함한다.

[0109] 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h1m(서열번호 91)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h1m(서열번호 91)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h1m(서열번호 91)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h1m(서열번호 91)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h1m(서열번호 91)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h1m(서열번호 91)이다.

[0110] 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h2m(서열번호 92)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h2m(서열번호 92)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h2m(서열번호 92)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h2m(서열번호 92)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h2m(서열번호 92)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h2m(서열번호 92)이다.

[0111] 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h3m(서열번호 93)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h3m(서열번호 93)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC(서열번호 7)의 서열은 3E10-LC-h3m(서열번호 93)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h3m(서열번호 93)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h3m(서열번호 93)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h3m(서열번호 93)이다.

[0112] 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h4m(서열번호 94)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h4m(서열번호 94)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h4m(서열번호 94)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC(서열번호 7)의 서열은 3E10-LC-h4m(서열번호 94)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h4m(서열번호 94)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h4m(서열번호 94)이다.

[0113] 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h5m(서열번호 95)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h5m(서열번호 95)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-

h5m(서열번호 95)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h5m(서열번호 95)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h5m(서열번호 95)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h5m(서열번호 95)이다.

[0114] 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h6m(서열번호 96)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h6m(서열번호 96)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h6m(서열번호 96)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h6m(서열번호 96)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h6m(서열번호 96)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h6m(서열번호 96)이다.

[0115] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-LC-h1m(서열번호 97), 3E10-LC-h2(서열번호 98), 3E10-LC-h3(서열번호 99), 3E10-LC-h4(서열번호 100), 3E10-LC-h5(서열번호 101), 및 3E10-LC-h6(서열번호 102)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(3E10-LC) 및 3E10-HC-h1(서열번호 78), 3E10-HC-h2(서열번호 79), 3E10-HC-h3(서열번호 80), 3E10-HC-h4(서열번호 81), 3E10-HC-h5(서열번호 82), 3E10-HC-h6(서열번호 83), 및 3E10-HC-h7(서열번호 84)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(3E10-HC)를 포함한다.

[0116] 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h1m(서열번호 97)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h1m(서열번호 97)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h1m(서열번호 97)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h1m(서열번호 97)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h1m(서열번호 97)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h1m(서열번호 97)이다.

[0117] 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h2(서열번호 98)와 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h2(서열번호 98)와 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h2(서열번호 98)와 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h2(서열번호 98)와 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h2(서열번호 98)와 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h2(서열번호 98)이다.

[0118] 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h3(서열번호 99)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h3(서열번호 99)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h3(서열번호 99)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h3(서열번호 99)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h3(서열번호 99)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h3(서열번호 99)이다.

[0119] 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h4(서열번호 100)와 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h4(서열번호 100)와 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h4(서열번호 100)와 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h4(서열번호 100)와 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h4(서열번호 100)와 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h4(서열번호 100)이다.

[0120] 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h5(서열번호 101)와 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h5(서열번호 101)와 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h5(서열번호 101)와 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h5(서열번호 101)와 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h5(서열번호 101)와 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h5(서열번호 101)이다.

[0121] 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h6(서열번호 102)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h6(서열번호 102)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h6(서열번호 102)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h6(서열번호 102)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h6(서열번호 102)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-LC의 서열은 3E10-LC-h6(서열번호 102)이다.

[0122] 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h1m(서열번호 71)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h1m(서열번호 71)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-

구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h3(서열번호 80)이다.

- [0132] 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h4(서열번호 81)와 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h4(서열번호 81)와 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h4(서열번호 81)와 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h4(서열번호 81)와 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h4(서열번호 81)와 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h4(서열번호 81)이다.
- [0133] 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h5(서열번호 82)와 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h5(서열번호 82)와 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h5(서열번호 82)와 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h5(서열번호 82)와 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h5(서열번호 82)와 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h5(서열번호 82)이다.
- [0134] 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h67(서열번호 83)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h67(서열번호 83)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h67(서열번호 83)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h67(서열번호 83)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h67(서열번호 83)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h67(서열번호 83)이다.
- [0135] 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h7(서열번호 84)과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h7(서열번호 84)과 적어도 96% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h7(서열번호 84)과 적어도 97% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h7(서열번호 84)과 적어도 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h7(서열번호 84)과 적어도 99% 동일하다. 일부 구현예에서, 3E10-HC의 서열은 3E10-HC-h7(서열번호 84)이다.
- [0136] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h5(서열번호 68) 및 3E10-VL-h5(서열번호 89), 3E10-VH-h5(서열번호 68) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90), 3E10-VH-h6(서열번호 69) 및 3E10-VL-h5(서열번호 89), 3E10-VH-h6(서열번호 69) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90), 3E10-VH-h7(서열번호 70) 및 3E10-VL-h5(서열번호 89), 및 3E10-VH-h7(서열번호 70) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)으로부터 선택된 한 쌍의 VL 및 VH와 적어도 97%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 경쇄 가변 도메인(VL)의 조합을 포함한다.
- [0137] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h5(서열번호 68) 및 3E10-VL-h5(서열번호 89), 3E10-VH-h5(서열번호 68) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90), 3E10-VH-h6(서열번호 69) 및 3E10-VL-h5(서열번호 89), 3E10-VH-h6(서열번호 69) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90), 3E10-VH-h7(서열번호 70) 및 3E10-VL-h5(서열번호 89), 및 3E10-VH-h7(서열번호 70) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)으로부터 선택된 한 쌍의 VL 및 VH와 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 경쇄 가변 도

메인(VL)의 조합을 포함한다.

- [0138] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h5(서열번호 68) 및 3E10-VL-h5(서열번호 89), 3E10-VH-h5(서열번호 68) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90), 3E10-VH-h6(서열번호 69) 및 3E10-VL-h5(서열번호 89), 3E10-VH-h6(서열번호 69) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90), 3E10-VH-h7(서열번호 70) 및 3E10-VL-h5(서열번호 89), 및 3E10-VH-h7(서열번호 70) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)으로부터 선택된 한 쌍의 VL 및 VH와 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 경쇄 가변 도메인(VL)의 조합을 포함한다.
- [0139] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h1(서열번호 64) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h2(서열번호 65) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h3(서열번호 66) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VH-h4(서열번호 67) 및 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VH-h5(서열번호 68) 및 3E10-VL-h5(서열번호 89), 3E10-VH-h5(서열번호 68) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90), 3E10-VH-h6(서열번호 69) 및 3E10-VL-h5(서열번호 89), 3E10-VH-h6(서열번호 69) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90), 3E10-VH-h7(서열번호 70) 및 3E10-VL-h5(서열번호 89), 및 3E10-VH-h7(서열번호 70) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 경쇄 가변 도메인(VL)의 조합을 포함한다.
- [0140] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-h6(서열번호 69)과 적어도 97%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)과 적어도 97%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-h6(서열번호 69)과 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)과 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-h6(서열번호 69)과 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)과 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-h6(서열번호 69)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다.
- [0141] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 도 1에 도시된 부모 3E10 항체의 CDR 서열(서열번호 1-12)에 상응하고, 임의로 도 2에 도시된 것과 같이 VH CDR1에서 D31N 아미노산 치환을 포함하는 CDR 서열을 갖는다. 따라서, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR1(서열번호 9)의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL) 상보성 결정 영역(CDR) 1, 3E10-VL-CDR2(서열번호 10)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3, 3E10-VH-CDR1a(서열번호 16)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) CDR1, 3E10-VH-CDR2(서열번호 4)의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함한다.
- [0142] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 도 2에 도시된 것과 같이 VH

서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL) 상보성 결정 영역(CDR) 1, 3E10-VL-CDR2(서열번호 10)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3, 3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH) CDR1, 3E10-VH-CDR2(서열번호 4)의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함한다.

[0155] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2에 도시된) 3E10-D31N 변이체의 CDR 서열에 비해 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 치환을 집합적으로 갖는 상보성 결정 영역(CDR) 세트를 포함하며, 상기 아미노산 치환은 다음으로부터 선택되지만 이에 한정되지는 않는다: VH CDR2의 위치 5에서 G로부터 S로의 치환, VH CDR2의 위치 14에서 T로부터 S로의 치환, VL CDR1의 위치 5에서 S로부터 T로의 치환, VL CDR1의 위치 14에서 M으로부터 L로의 치환, VL CDR1의 위치 15에서 H로부터 A로의 치환, 및 VL CDR2의 위치 6에서 E로부터 Q로의 치환.

[0156] 따라서, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR2.1(서열번호 26) 또는 3E10-VH-CDR2.2(서열번호 27)의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 1 및 3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10- D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 1 및 3을 추가로 포함한다.

[0157] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR1.1(서열번호 28) 또는 3E10-VL-CDR1.1(서열번호 29)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 2 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10- D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 2 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다.

[0158] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR2.1(서열번호 30)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10- D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 1 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다.

[0159] 전술한 아미노산 치환 중 일부는 상당히 보존적인 치환이지만(예를 들어, VL CDR1의 위치 5에서 S로부터 T로의 치환), 다른 치환은 매우 상이한 특성을 갖는 아미노산에 대한 치환이다(예를 들어, VL CDR1의 위치 14에서 M으로부터 L로의 치환, VL CDR1의 위치 15에서 H로부터 A로의 치환, 및 VL CDR2의 위치 6에서 E로부터 Q로의 치환). 이론에 얽매이지 않는 것은 아니지만, 이는 3E10 CDR 프레임워크 내의 적어도 이들 위치가 다른 아미노산 치환에 관용성이 있음을 시사한다.

[0160] 따라서, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR2.3(서열번호 31)의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 1 및 3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10- D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 1 및 3을 추가로 포함한다.

[0161] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR1.3(서열번호 32)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 2 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10- D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 2 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다.

[0162] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR2.2(서열번호 33)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10- D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 1 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다.

- [0163] 따라서, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR1.c1(서열번호 34), 3E10-VH-CDR1.c2(서열번호 35), 3E10-VH-CDR1.c3(서열번호 36), 3E10-VH-CDR1.c4(서열번호 37), 또는 3E10-VH-CDR1.c5(서열번호 38)의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 2 및 3을 추가로 포함한다.
- [0164] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR2.c1(서열번호 39), 3E10-VH-CDR2.c2(서열번호 40), 또는 3E10-VH-CDR2.c3(서열번호 41)의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 1 및 3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10-D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 1 및 3을 추가로 포함한다.
- [0165] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR3.c1(서열번호 42), 3E10-VH-CDR3.c2(서열번호 43), 또는 3E10-VH-CDR3.c3(서열번호 44)의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 1 및 2를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10-D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 1 및 2를 추가로 포함한다.
- [0166] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR1.c1(서열번호 45), 3E10-VL-CDR1.c2(서열번호 46), 3E10-VL-CDR1.c3(서열번호 47), 3E10-VL-CDR1.c4(서열번호 48), 3E10-VL-CDR1.c5(서열번호 49), 또는 3E10-VL-CDR1.c6(서열번호 50)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 2 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10-D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 2 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다.
- [0167] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR2.c1(서열번호 51)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10-D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 1 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다.
- [0168] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR3.c1(서열번호 52), 3E10-VL-CDR3.c2(서열번호 53), 3E10-VL-CDR3.c3(서열번호 54), 3E10-VL-CDR3.c4(서열번호 55), 3E10-VL-CDR3.c5(서열번호 56), 또는 3E10-VL-CDR3.c6(서열번호 57)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1 및 2, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10-D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 1 및 2, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다.
- [0169] 본원에 기술된 것과 같은 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 전술한 CDR 아미노산 치환 중 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 CDR 아미노산 치환을 포함하는 것으로 또한 고려된다. 본원에 기술된 3E10 변이체 CDR 서열의 추가 예시는 도 4에 도시되어 있다.
- [0170] 따라서, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR1m(서열번호 58)의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 2 및 3을 추가로 포함한다.
- [0171] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR2m(서열번호 59)의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 1 및 3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은)

3E10-D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 1 및 3을 추가로 포함한다.

- [0172] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR3m(서열번호 60)의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 1 및 2를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10-D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 1~3 및 VH CDR 1 및 2를 추가로 포함한다.
- [0173] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR1m(서열번호 61)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 2 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10-D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 2 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다.
- [0174] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR2m(서열번호 62)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10-D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 1 및 3, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다.
- [0175] 유사하게, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR3m(서열번호 63)의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 1에 도시된 것과 같은) 부모 3E10 항체(서열번호 1~12)에 따른 VL CDR 1 및 2, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 또는 이의 항원 결합 단편은 (도 2a에 도시된 것과 같은) 3E10-D31N 변이체(서열번호 13~25)에 따른 VL CDR 1 및 2, 및 VH CDR 1~3을 추가로 포함한다.
- [0176] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-h1(서열번호 85), 3E10-VL-h2(서열번호 86), 3E10-VL-h3(서열번호 87), 3E10-VL-h4(서열번호 88), 3E10-VL-h5(서열번호 89), 및 3E10-VL-h6(서열번호 90)으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(3E10-VL)을 포함하되, 경쇄 가변 도메인(3E10-VL)은 Kabat 넘버링에 따른 3E10-VL의 위치 15에서의 프롤린(Pro), 위치 22에서의 트레오닌(Thr), 위치 49에서의 티로신(Tyr), 위치 74에서의 Thr, 위치 76에서의 아스파라긴(Asn), 위치 80에서의 알라닌(Ala), 위치 81에서의 Asn, 위치 83에서의 Thr, 위치 85에서의 Asn, 및 위치 104에서의 발린(Val)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기; 및 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 집합적으로 6개 이하의 아미노산 치환을 갖는 3E10-VL(서열번호 8) CDR 세트를 포함하고, 상기 항체는 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 집합적으로 6개 이하의 아미노산 치환을 갖는 3E10-VL CDR 세트를 포함한다.
- [0177] 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 5개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 3E10-VL CDR 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 4개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 3E10-VL CDR 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 3개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 3E10-VL CDR 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 2개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 3E10-VL CDR 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 1개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 3E10-VL CDR 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VL-CDR1(서열번호 9), 3E10-VL-CDR2(서열번호 10), 3E10-VL-CDR3(서열번호 11)의 아미노산 서열을 갖는 3E10-VL CDR 세트를 포함한다.
- [0178] 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따른 3E10-VL의 위치 49에서 리신(Lys) 잔기를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따

른 3E10-VL의 위치 81에서 글루탐산(Glu) 잔기를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따른 3E10-VL의 위치 15에서 프롤린(Pro) 잔기를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따른 3E10-VL의 위치 104에서 발린(Val) 잔기를 갖는다.

[0179] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-h1(서열번호 64), 3E10-VH-h2(서열번호 65), 3E10-VH-h3(서열번호 66), 3E10-VH-h4(서열번호 67), 3E10-VH-h5(서열번호 68), 3E10-VH-h6(서열번호 69), 및 3E10-VH-h7(서열번호 70)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(3E10-VH)을 포함하되, 중쇄 가변 도메인(3E10-VH)은 Kabat 넘버링에 따른 3E10-VH의 위치 13에서의 글루타민(Gln), 위치 18에서의 류신(Leu), 위치 19에서의 아르기닌(Arg), 위치 42에서의 글리신(Gly), 위치 49에서의 세린(Ser), 위치 77에서의 Ser, 위치 79에서의 티로신(Tyr), 위치 82에서의 Asn, 위치 84에서의 Ala, 위치 89에서의 Val, 위치 108에서의 류신(Leu), 위치 109에서의 Val, 및 위치 113에서의 Ser로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함하고, 상기 항체는 3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15), 3E10-VH-CDR2(서열번호 4), 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 집합적으로 6개 이하의 아미노산 치환을 갖는 3E10-VH CDR 세트를 포함한다.

[0180] 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15), 3E10-VH-CDR2(서열번호 4), 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 5개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 3E10-VH CDR 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15), 3E10-VH-CDR2(서열번호 4), 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 4개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 3E10-VH CDR 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15), 3E10-VH-CDR2(서열번호 4), 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 3개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 3E10-VH CDR 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15), 3E10-VH-CDR2(서열번호 4), 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 2개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 3E10-VH CDR 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 3E10-VH-CDR1_D31N(서열번호 15), 3E10-VH-CDR2(서열번호 4), 및 3E10-VH-CDR3(서열번호 5)의 아미노산 서열을 갖는 CDR 세트에 비해 1개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 3E10-VH CDR 세트를 포함한다.

[0181] 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따른 3E10-VH의 위치 18에서 아르기닌(Arg) 잔기를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따른 3E10-VH(서열번호 2)의 위치 19에서 (Lys) 잔기를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따른 3E10-VH의 위치 49에서 알라닌(Ala) 잔기를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따른 3E10-VH(서열번호 2)의 위치 13에서 글루타민(Gln) 잔기를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따른 3E10-VH의 위치 108에서 류신(Leu) 잔기를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따른 3E10-VH의 위치 109에서 Val 잔기를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Kabat 넘버링에 따른 3E10-VH의 위치 113에서 세린(Ser) 잔기를 갖는다.

[0182] 일부 구현예에서, 본 개시의 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드(예를 들어 DNA, RNA, PNA, 모르폴리노 등)에 대해, 기준 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 대한 친화도와 유사한, 예를 들어 ATCC 번호 PTA 2439 하이브리도마 또는 이의 D31N 변이체에 의해 생산된 3E10 단클론 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 것과 유사한 핵산 결합 친화도를 갖는다. 따라서, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드에 대해, 기준 3E10 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 친화도의 0.05배 내지 50배인 친화도를 갖는다.

[0183] 일부 구현예에서, 본 개시의 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드(예를 들어 DNA, RNA, PNA, 모르폴리노 등)에 대해, 기준 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 대한 친화도보다 적은, 예를 들어 ATCC 번호 PTA 243E109 하이브리도마 또는 이의 D31N 변이체에 의해 생산된 3E10 단클론 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 것보다 적은 핵산 결합 친화도를 갖는다. 따라서, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드에 대해, 기준 3E10 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 친화도의 0.00001배 내지 1배 미만인 친화도를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항

원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드에 대해, 기준 3E10 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 친화도의 0.00001배 내지 0.001배의 친화도를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드에 대해, 기준 3E10 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 친화도의 0.0001배 내지 0.01배의 친화도를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드에 대해, 기준 3E10 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 친화도의 0.001배 내지 0.1배의 친화도를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드에 대해, 기준 3E10 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 친화도의 0.01배 내지 1배 미만의 친화도를 갖는다.

[0184] 일부 구현예에서, 본 개시의 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드(예를 들어 DNA, RNA, PNA, 모르폴리노 등)에 대해, 기준 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 대한 친화도보다 큰, 예를 들어 ATCC 번호 PTA 2439 하이브리도마 또는 이의 D31N 변이체에 의해 생산된 3E10 단클론 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 것보다 큰 핵산 결합 친화도를 갖는다. 따라서, 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드에 대해, 기준 3E10 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 친화도의 1배 초과 내지 10,000배의 친화도를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드에 대해, 기준 3E10 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 친화도의 100배 내지 10,000배의 친화도를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드에 대해, 기준 3E10 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 친화도의 10배 내지 1000배의 친화도를 갖는다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드에 대해, 기준 3E10 항체가 동일한 폴리뉴클레오티드에 대해 갖는 친화도의 1배 초과 내지 100배의 친화도를 갖는다.

[0185] 결합 친화도는 결합 속도(K_a) 및 해리 속도(K_d)에 의해 결정될 수 있다. 평형 친화도 상수인 KD 는 K_a/K_d 의 비율이다. 또 다른 3E10 항체와 동일한 결합 친화도를 갖는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 각각의 항체에 대한 해리 상수(K_d)가 약 1 내지 10배 내에(1~10배 더 큰 친화도 또는 1~10배 더 적은 친화도, 또는 이러한 범위 내의 임의의 수치 또는 범위 또는 값) 있음을 의미한다. 표적 항원(DNA (예를 들어, 단일 가닥 및/또는 이중 가닥 DNA))에 대한 예시적인 친화도는 5×10^{-2} M 미만, 10^{-2} M 미만, 5×10^{-3} M 미만, 10^{-3} M 미만, 5×10^{-4} M 미만, 10^{-4} M 미만, 5×10^{-5} M 미만, 10^{-5} M 미만, 5×10^{-8} M 미만, 10^{-8} M 미만, 5×10^{-7} M 미만, 10^{-7} M 미만, 5×10^{-8} M 미만, 10^{-8} M 미만, 5×10^{-9} M 미만, 10^{-9} M 미만, 5×10^{-10} M 미만, 10^{-10} M 미만, 5×10^{-11} M 미만, 10^{-11} M 미만, 5×10^{-12} M 미만, 10^{-12} M 미만, 5×10^{-13} M 미만, 10^{-13} M 미만, 5×10^{-14} M 미만, 10^{-14} M 미만, 5×10^{-15} M 미만, 또는 10^{-15} M 미만의 해리 상수(K_d)를 갖는다. 일부 구현예에서, 표적에 대한 결합 친화도(K_d)는 10^{-7} M 미만, 5×10^{-8} M 미만, 10^{-8} M 미만, 5×10^{-9} M 미만, 10^{-9} M 미만, 5×10^{-10} M 미만, 10^{-10} M 미만, 5×10^{-11} M 미만, 10^{-11} M 미만, 5×10^{-12} M, 또는 10^{-12} M 미만이다.

[0186] 일부 구현예에서, 결합 친화도는 고체 표면 상에 코팅된 폴리뉴클레오티드의 반치 최대 결합(EC_{50})을 달성하는 데 필요한 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 용액 농도를 결정함으로써 평가된다. 일부 구현예에서, 핵산은 폴리-dT 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드, 예를 들어 폴리-dT 올리고뉴클레오티드의 결합은 이차 항-인간 면역글로불린 항체를 사용하는 ELISA 검정을 사용하여 검출된다.

[0187] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리-dT 올리고뉴클레오티드에 대해 약한 결합 친화도를 갖는다. 일부 구현예에서, 약한 결합 친화도는 기준 3E10 항체, 예를 들어 D31N 아미노산 치환을 갖는 키메라 3E10 항체의 EC_{50} 값보다 적어도 100배 더 큰 EC_{50} 값이다. 일부 구현예에서, 약한 결합 친화도는 기준 3E10 항체, 예를 들어 D31N 아미노산 치환을 갖는 키메라 3E10 항체의 EC_{50} 값보다 100배 초과 내지 10,000배 초과인 EC_{50} 값이다. 일부 구현예에서, 약한 결합 친화도는 기준 3E10 항체, 예를 들어 D31N 아미노산 치환을 갖는 키메라 3E10 항체의 EC_{50} 값보다 100배 초과 내지 5000배 초과인 EC_{50} 값이다. 일부 구현예에서, 약한 결합 친화도는 기준 3E10 항체, 예를 들어 D31N 아미노산 치환을 갖는 키메라 3E10 항체의 EC_{50} 값보다 100배 초과 내지 1000배 초과인 EC_{50} 값이다. 일부 구현예에서, 약한 결합 친화도는 기준 3E10 항체, 예를 들어 D31N 아미노산 치환을 갖는 키메라 3E10 항체의 EC_{50} 값보다 100배 초과 내지 500배 초과인 EC_{50} 값이다.

[0188] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리-dT 올리고뉴클레오티드에 대해 중간 결합 친화도를 갖는다. 일부 구현예에서, 중간 결합 친화도는 기준 3E10 항체, 예를 들어 D31N 아미노산 치환을 갖는 키메라 3E10 항체의 EC_{50} 값보다 25배 내지 100배 더 큰 EC_{50} 값이다.

- [0189] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리-dT 올리고뉴클레오티드에 대해 중간 결합 친화도를 갖는다. 일부 구현예에서, 중간 결합 친화도는 기준 3E10 항체, 예를 들어 D31N 아미노산 치환을 갖는 키메라 3E10 항체의 EC50 값보다 25배 이하로 더 큰 EC50 값이다. 일부 구현예에서, 중간 결합 친화도는 기준 3E10 항체, 예를 들어 D31N 아미노산 치환을 갖는 키메라 3E10 항체의 EC50 값보다 20배 이하로 더 큰 EC50 값이다. 일부 구현예에서, 중간 결합 친화도는 기준 3E10 항체, 예를 들어 D31N 아미노산 치환을 갖는 키메라 3E10 항체의 EC50 값보다 15배 이하로 더 큰 EC50 값이다. 일부 구현예에서, 중간 결합 친화도는 기준 3E10 항체, 예를 들어 D31N 아미노산 치환을 갖는 키메라 3E10 항체의 EC50 값보다 10배 이하로 더 큰 EC50 값이다. 일부 구현예에서, 중간 결합 친화도는 기준 3E10 항체, 예를 들어 D31N 아미노산 치환을 갖는 키메라 3E10 항체의 EC50 값보다 5배 이하로 더 큰 EC50 값이다.
- [0190] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 다음 뉴클레오티드 서열을 갖는 3p-hpRNA RIG-I 작용제에 대해 약한 결합 친화도를 갖는다: 5' - pppGGAGCAAAGCAGGGUGACAAGACAUAUUGGAUCCAACACUGUGUCAAGCUUUCAGGUAGAUUGCUUUCUUUGGCAUGUCCGCAAAC- 3' (서열번호 103).
- [0191] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 다음 뉴클레오티드 서열을 갖는 3p-hpRNA RIG-I 작용제에 대해 중간 결합 친화도를 갖는다: 5' - pppGGAGCAAAGCAGGGUGACAAGACAUAUUGGAUCCAACACUGUGUCAAGCUUUCAGGUAGAUUGCUUUCUUUGGCAUGUCCGCAAAC- 3' (서열번호 103).
- [0192] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 다음 뉴클레오티드 서열을 갖는 3p-hpRNA RIG-I 작용제에 대해 강한 결합 친화도를 갖는다: 5' - pppGGAGCAAAGCAGGGUGACAAGACAUAUUGGAUCCAACACUGUGUCAAGCUUUCAGGUAGAUUGCUUUCUUUGGCAUGUCCGCAAAC- 3' (서열번호 103).
- [0193] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 단편 결정화 가능(Fc) 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, Fc 영역은 인간 IgG1 Fc, 인간 IgG2a Fc, 인간 IgG2b Fc, 인간 IgG3 Fc, 및 인간 IgG4 Fc이다.
- [0194] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 IgG1 Fc 도메인을 갖는다. 일부 구현예에서, 인간 IgG1 도메인은 다음 서열과 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKLSLSLSPGK (서열번호 115).
- [0195] 일부 구현예에서, IgG1 Fc 도메인 서열은 인간 모집단에서 발견되는 하나 이상의 천연 아미노산 변이체를 포함한다. 예를 들어, 이는 IgG1 Fc 동종이인자형이다. IgG1 Fc 동종이인자형 아미노산 변이체의 비제한적인 예는 G1m (z,a), G1m (f), 및 G1m (f,a)을 포함한다. G1m (f) 대립유전자는 백인(Caucasians)에서만 발견되는 반면, G1m (f,a) 대립유전자는 아시아인 모집단에서 흔하지만, 다른 변이체인 G1m (z,a,x) 및 G1m (z,a,v)도 기술되어 있다(Vidarsson 등의 문헌[*Front. Immunol.*, October 2014, Vol. 5, Article 520]을 참조하고, 그 개시내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨).
- [0196] 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 예를 들어 Fc 효과기 기능을 감소시키고, 생체 내 반감기를 개선하고/하거나, 생체 내에서 달리 항체의 특성을 변경하도록 조작된 하나 이상의 아미노산 치환을 함유하는 IgG1 도메인을 갖는다. 항-CD20 mAb인 리툽시맙 및 오파투무맙과 같은 몇몇 승인된 항체는 강력한 시험관 내 CDC 활성을 나타냈으며, 시험자들이 보체 기반 효과기 기능을 향상시키기 위해 Fc 조작을 사용한 많은 방식이 있다. Idusogie 등은 K326W /E333S가 IgG1에 비해 C1q 결합 및 CDC 활성을 강화시켰음을 입증하였으며, 이를 통해 이 저자들은 이들 2개의 잔기가 C1q와 IgG 간의 상호작용에서 구조적 역할을 한다는 것을 제시하였다. Moore 등은 Fc 돌연변이 S267E/H268F/S324T가 IgG1에 비해 C1q 결합을 47배, CDC 활성을 6.9배 강화하였음을 입증하였다(Teeling J.L. 등의 문헌[*J. Immunol.* 2006 177:362-371], Idusogie E.E. 등의 문헌[*J. Immunol.* 2001 166:2571-2575], Moore G.L. 등의 문헌[*MAbs.* 2010 2:181-189], 및 Wang 등의 문헌[*Protein &*

Cell, Volume 9, Issue 1, 2018, 63-73]을 참조하고, 이들의 개시내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨).

- [0197] 따라서, 일부 구현예에서, IgG1 Fc 도메인은 Kabat 넘버링 체계에서와 같이 EU 인덱스에 따라 L234A로부터 선택된 위치에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, IgG1 Fc 도메인은 L235A로부터 선택된 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, IgG1 Fc 도메인은 L234A/L235A로부터 선택된 아미노산 치환의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, IgG1 Fc 도메인은 N297D로부터 선택된 아미노산 치환의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, IgG1 Fc 도메인은 L234A/L235A/N297D로부터 선택된 아미노산 치환의 조합을 포함한다.
- [0198] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 L234A/L235A 아미노산 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 도메인을 갖는다. 일부 구현예에서, IgG1 Fc 도메인은 잔기 234A/235A를 포함하고 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHITCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 116).
- [0199] 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 N297D 아미노산 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 도메인을 갖는다. 일부 구현예에서, IgG1 Fc 도메인은 잔기 297D를 포함하고 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHITCPPCPAPELGGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYDSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 117).
- [0200] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 L234A/L235A/N297D 아미노산 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 도메인을 갖는다. 일부 구현예에서, IgG1 Fc 도메인은 잔기 234A/235A/297D를 포함하고 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHITCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYDSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 118).
- [0201] 일부 구현예에서, IgG1 중쇄 불변 영역 1은 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV (서열번호 154).
- [0202] 일부 구현예에서, IgG1 힌지 영역은 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다: EPKSCDKTHITCP (서열번호 155).
- [0203] 일부 구현예에서, IgG1 L2345A/L235A 중쇄 불변 영역 2는 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
 PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (서열번호 156).
- [0204] 일부 구현예에서, IgG1 중쇄 불변 영역 3은 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의

동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSQSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 157).

[0205] 일부 구현예에서, IgG1 N297D 중쇄 불변 영역 2는 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYDSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (서열번호 158).

[0206] 일부 구현예에서, IgG1 L2345A/L235A/N297D 중쇄 불변 영역 2는 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYDSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (IgG1 L2345A/L235A/N297D (서열번호 159)).

[0207] 일부 구현예에서, 변형되지 않은 중쇄 불변 영역 2는 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (서열번호 160).

[0208] 일부 구현예에서, 경쇄 전장 서열은 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
DIQMTQSPSSLSASLGRDITTCRAKSTVSTSSYSYMHWYQQKPKGPPKLLIKYASYLESVPSRFSGSGSGDFTLTISLQPEDAATYYCQHSRFPWFVGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC (서열번호 161).

[0209] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 IgG4 Fc 도메인을 갖는다. 일부 구현예에서, 인간 IgG4 도메인은 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVKRVEVKY GPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGK (서열번호 104).

[0210] 일부 구현예에서, IgG4 Fc 도메인 서열은 인간 모집단에서 발견되는 하나 이상의 천연 아미노산 변이체를 포함한다. 예를 들어, 이는 IgG4 Fc 동종이인자형이다. IgG4 Fc 동종이인자형 아미노산 변이체의 비제한적인 예는 nG4m (a) 및 nG4m (b)를 포함한다(Vidarsson 등의 문헌[*Front. Immunol.*, October 2014, Vol. 5, Article 520]을 참조하고, 그 개시내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨).

[0211] 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 예를 들어 Fc 효과기 기능을 감소시키고, 생체 내 반감기를 개선하고/하거나, 생체 내에서 달리 항체의 특성을 변경하도록 조작된 하나 이상의 아미노산 치환을 함유하는 IgG4 도메인을 갖는다. 실제로, 시판용으로 승인되었거나 임상 시험 막바지에 있는 IgG4-기반 치료 항체의 대부분은 적어도 하나의 이러한 아미노산 치환을 함유한다. 이러한 항체에서의 아미노산 치환을 검토하기 위해서는, 예를 들어 Dumet C. 등의 문헌[*MABS*, 11 (8):1341-50 (2019)]을 참조하고, 그 개시내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 다른 Fc 특성을 유지하면서 면역 효과기 기능을 감소시키기 위해 다른 IgG4 Fc 돌연변이가 제안된 적이 있다. 예를 들어, Tam S.H. 등은 문헌[*Antibodies*, 6(12):1-34 (2017)]에서 2개의 IgG4 Fc 변이체 설계, huIgG4 σ 1 및 huIgG4 σ 2의 특성분석에 대해 보고하고 있다(상기 문헌의 개시내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨). huIgG4 σ 1 작제물은 S228P, F234A, L235A, G237A, 및 P238S 아미노산 치환을 포함하고, huIgG4 σ 2 작제물은 S228P, F234A, L235A, G237A, 및 P238S 아미노산 치환에 더하여 G236> 결실을 포함한다. 다른 IgG4 Fc 돌연변이는 Liu R. 등의 문헌[*Antibodies*, 9(64):1-34 (2020)]에 기술되어 있으며, 그 개시내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 이들 돌연변이는 M252Y, S254T, T256E, H433K, 및 N434F 포함

한다.

[0212] 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 IgG4 Fc 도메인에 통합될 수 있는 또 다른 IgG4 Fc 아미노산 치환이 당업계에 제안되어 있고, 다음을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다: WO 1989/007142, US 5,885,573, WO 1994/029351, US 6,407,214, US 2006/0024298, US 7,863,419, US 2007/0041972, US 8,961,967, US 9,187,552, US 8,969,526, US 9,359,437, WO 2017/079369, US 7,371,826, US 7,083,784, WO 2004/035752, US 9,200,079, US 11,046,784, US 8,802,820, US 2020/0255502, US 2010/0098730, US RE45992, US 2010/0204454, US 8,637,641, US 2014/0302028, GB 201302878, US 2015/0065690, US 2014/0294812, US 2020/0071423, US 11,319,383, US 2018/0037634, KR 101792191, US 2019/0010243, US 8,911,726, US 2010/0267934, US 9,688,762, US 2012/0100140, US 9,085,625, US 10,562,966, US 2017/029521, US 11,254,753, 및 WO 2018/119380 (그 개시내용은 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨).

[0213] 따라서, 일부 구현예에서, IgG4 Fc 도메인은 Kabat 넘버링 체계에서와 같이 EU 인덱스에 따른 196, 228, 234, 234, 235, 235, 236, 237, 238, 252, 254, 256, 265, 296, 233, 310, 331, 356, 409, 428, 433, 434, 435, 445, 446, 및 K447로부터 선택된 위치에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, IgG4 Fc 도메인은 K196Q, S228P, F234A, F234V, L235A, L235E, G236> 결실, G237A, P238S, M252Y, S254T, T256E, D265A, F296Y, E233P, T307Q, H310Q, P331S, E356K, R409K, M428L, H433K, N434A, N434F, N434S, H435R, L445P, G446> 결실, 및 K447> 결실로부터 선택된 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, IgG4 Fc 도메인은 S228P/L234A/L235A, L234F/L235E/P331S, M252Y/S254T/T256E, M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F, S228P/F234A/L235A/H310Q, S228P/F234A/L235A/M252Y/S254T/T256E, S228P/F234A/L235A/T307Q/N434A, S228P/F234A/L235A/G237A/P238S, 및 S228P/F234A/L235A/G236> 결실/G237A/P238S로부터 선택된 아미노산 치환의 조합을 포함한다.

[0214] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 S228P/F234A/L235A 아미노산 치환을 포함하는 인간 IgG4 Fc 도메인을 갖는다. 일부 구현예에서, IgG4 Fc 도메인은 잔기 228P/234A/235A를 포함하고 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSKVHFFPAPVQLQSSGLYSLSSVIVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVKDKRVEESKY
 GPPCP**P**CPAPE**A**AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSK
 NKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNIVFSCS
 VMHEALHNHYTQKSLSLGLK (서열번호 105).

[0215] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 S228P/F234A/L235A/T307Q/N434A 아미노산 치환을 포함하는 인간 IgG4 Fc 도메인을 갖는다. 일부 구현예에서, IgG4 Fc 도메인은 잔기 228P/234A/235A/307Q/434A를 포함하고 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSKVHFFPAPVQLQSSGLYSLSSVIVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVKDKRVEESKY
 GPPCP**P**CPAPE**A**AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL**Q**VLHQDWLNGKEYKCKVSK
 NKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNIVFSCS
 VMHEALH**A**HYTQKSLSLGLK (서열번호 106).

[0216] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 S228P/F234A/L235A/M252Y/S254T/T256E 아미노산 치환을 포함하는 인간 IgG4 Fc 도메인을 갖는다. 일부 구현예에서, IgG4 Fc 도메인은 잔기 228P/234A/235A/252Y/254T/256E를 포함하고 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSKVHFFPAPVQLQSSGLYSLSSVIVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVKDKRVEESKY
 GPPCP**P**CPAPE**A**AGGPSVFLFPPKPKDT**L**Y**I**T**R**EPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSK
 NKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNIVFSCS
 VMHEALHNHYTQKSLSLGLK (서열번호 107).

[0217] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 S228P/F234A/L235A/H310Q 아미

노산 치환을 포함하는 인간 IgG4 Fc 도메인을 갖는다. 일부 구현예에서, IgG4 Fc 도메인은 잔기 228P/234A/235A/310Q를 포함하고 다음 서열에 대해 높은 서열 동일성, 예를 들어 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성, 적어도 99.5%의 동일성, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다:
 ASTKGPSVFLPAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVKRVEISKY
 GPPCP~~PC~~PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLQQD~~WL~~NGKEYKCKVSKV
 NKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN~~V~~FSCS
 VMHEALHNYHTQKLSLSLGLK(서열번호 108).

[0218] 일부 구현예에서, 본 개시는 중쇄 불변 도메인(CH)1을 포함하는 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0219] 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 γ 1 CH1, 인간 γ 2 CH1, 인간 γ 3 CH1, 및 인간 γ 4 CH1로부터 선택된 Fc 영역을 포함한다.

[0220] 일부 구현예에서, 본 개시는 경쇄 불변 도메인(CL)을 포함하는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0221] 또 다른 양태에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 λ CL 및 인간 κ CL로 이루어진 군으로부터 선택된 Fc 영역을 포함한다.

[0222] 다양한 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 치료 모이어티에 공유 연결된다.

[0223] 일부 구현예에서, 치료 모이어티는 치료 폴리펩티드, 세포독성 모이어티, 화학요법 모이어티, 또는 검출 가능한 모이어티이다.

[0224] **세포 침투 및 핵 국소화**

[0225] 개시된 조성물 및 방법은 통상적으로 세포, 및 선택적으로 핵으로 침투하는 능력을 유지하는 항체를 이용한다.

[0226] 자가항체에 의한 세포 내재화 기전은 다양하다. 일부는 정전기적 상호작용 또는 FcR-매개 세포내이입을 통해 세포 내로 유입되는 반면, 다른 일부는 세포 표면 미오신 또는 칼레티쿨린과의 결합에 기초한 기전을 사용한 후, 세포내이입이 이어진다(Ying-Chyi 등의 문헌[*Eur. J. Immunol* 38, 3178-3190 (2008)], Yanase 등의 문헌[*J Clin Invest* 100, 25-31 (1997)]). 3E10은 (Fc가 없는 3E10 단편의 세포 침투 능력에 의해 입증된 바와 같이) Fc-독립 기전으로 세포에 침투하지만, 뉴클레오시드 수송체 ENT2의 존재와 관련된다(Weisbart 등의 문헌 [Scientific Reports volume 5, Article number: 12022 (2015)], Zack 등의 문헌[*J Immunol* 157, 2082-2088 (1996)], Hansen 등의 문헌[*J Biol Chem* 282, 20790-20793 (2007)]). 따라서, 일부 구현예에서, 개시된 조성물 및 방법에 사용된 항체는 Fc-독립 기전으로 세포에 침투하지만 뉴클레오시드 수송체 ENT2의 존재와 관련된 항체이다.

[0227] 핵산에 결합하는 능력을 방해하는 3E10에서의 돌연변이는 항체가 핵 침투를 할 수 없게 할 수 있다. 따라서, 통상적으로 개시된 변이체 및 항체의 인간화 형태는 핵산에 결합하는 능력을 유지한다. 또한, 3E10 scFv는 ENT2-의존적 방식으로 살아있는 세포 및 핵 내로 침투할 수 있고 흡수 효율은 ENT2 결핍 세포에서 손상되는 것으로 이전에 밝혀졌다(Hansen 등의 문헌[J. Biol. Chem. 282, 20790-20793 (2007)]). 따라서, 일부 구현예에서, 개시된 항체의 인간화 형태 및 변이체는 ENT-의존적, 바람직하게는 ENT2-의존적 방식으로 세포 핵 내로 침투하는 능력을 유지한다.

[0228] US 2021/0054102 및 US 2021/0137960에서 논의된 바와 같이, 일부 인간화 3E10 변이체는 원래의 찢과 동물 3E10(D31N) 디-scFv보다 더 효율적으로 세포 핵으로 침투하는 것으로 밝혀졌지만, 다른 것들은 핵으로 침투하는 능력을 상실한 것으로 밝혀졌다. 특히, 변이체 10 및 13은 찢과 항체와 비교해 핵에 매우 잘 침투하였다.

[0229] 인간화 3E10 VL에서의 잠재적 이분 핵 국소화 신호(NLS)가 식별되었으며, 다음 서열의 일부 또는 전부를 포함할 수 있다: RASK~~V~~STSSSYMH~~W~~YQQKPGQPPKLLIKY (서열번호 109); RASK~~T~~VSTSSSYMH~~W~~YQQKPGQPPKLLIKY (서열번호 110); 또는 RVTITCRASKSVSTSSSYMH~~W~~YQQKPGKAPKL (서열번호 111).

[0230] 예시적인 컨센서스 NLS는 다음과 같거나 다음을 포함할 수 있다, (X)RASKTVSTSSSYMH~~W~~YQQKPGQPPKLL(X)KY (여기서 (X)는 임의의 잔기이지만, 바람직하게는 염기성 잔기(R 또는 K)(서열번호 112) 또는 서열번호 112과 적어도 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체임).

- [0231] 따라서, 특히 핵 수입이 중요한 일부 구현예에서, 개시된 항체는 세포의 핵 내로 전좌할 수 있는 서열번호 109~112 중 어느 하나, 또는 이의 단편, 및 이의 변이체(예를 들어, 서열번호 109~112 중 어느 하나와 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100%의 아미노산 서열 동일성을 가짐)의 서열을 포함할 수 있다.
- [0232] NLS이 존재한다는 것은, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 핵 수입 경로를 통해 핵 외피를 통과할 수 있음을 나타낸다. 일부 구현예에서, NLS는 수입 경로의 하나 이상의 구성원과 상호 작용함으로써 수입을 개선한다. 따라서, 일부 구현예에서, NLS는 임포틴- β , 임포틴- β /임포틴- α 이중이량체, 또는 이들의 조합에 결합할 수 있다.
- [0233] **핵산 결합**
- [0234] 일부 구현예에서, 개시된 조성물 및 방법은 DNA, RNA, 또는 이들의 조합과 같은 핵산에 결합하는 능력을 유지하는 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편을 이용한다.
- [0235] 아래의 실시예는 야생형 3E10 서열 및 추가 3E10 변이체의 분자 모델링을 예시한다. 3E10(Pyomol)의 분자 모델링은 추정 핵산 결합 포켓(NAB1)을 밝혀냈고(예를 들어, 도 11a 및 11b 참조), 아래 서열에 밑줄을 그어 도시하였다.
- [0236] WT 중쇄 scFv 서열
- [0237] E VQLVESGGGL VKPGGSRKLS CAASGFTFSY YGMHWVRQAP EKGLEWVAYI SSGSSTIYYA DTVKGRFTIS RDNAKNTLFL QMTSLRSEDT AMYYCARRGL LLDYWGQGIT LTVS (서열번호 113)
- [0238] 경쇄 scFv 서열
- [0239] D IVLTQSPASL AVSLGQRATI SCRASKSVST SSYSYMHWYQ QKPGQPPKLL IKYASYLESG VPARFSGSGS GTDFTLNHP VEEEDAATYY COHSRFEFPWT FGGGTKLEIK RADAAPGGGG SGGGGSGGGGS (서열번호 114)
- [0240] 일부 구현예에서, 개시된 인간화 3E10 항체는 밑줄 친 NAB1 서열의 일부 또는 전부를 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는 핵산에 결합하는 능력이 변경된 변이체 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, NAB1에서의 돌연변이(예를 들어, 치환, 삽입 및/또는 결실)는 DNA, RNA, 또는 이들의 조합과 같은 핵산에 대한 항체의 결합을 개선한다. 일부 구현예에서, 돌연변이는 보존적 치환이다. 일부 구현예에서, 돌연변이는 NAB1 포켓의 양이온 전하를 증가시킨다.
- [0241] 본원에서 논의되고 예시된 바와 같이, CDR1의 잔기 31에서 아스파르트산의 아스파라긴으로의 돌연변이는 이러한 잔기의 양이온 전하를 증가시키고 생체 내에서 핵산 결합 및 전달을 향상시켰다(3E10-D31N).
- [0242] 추가의 예시적인 변이체는, 양이온 전하를 확장시키는 것을 나타내는 모델링인 CDR1의 잔기 31에서 아스파르트산의 아르기닌으로의 돌연변이(3E10-D31R); 또는 전하 배향의 변화를 나타내는 모델링은 리신으로의 돌연변이(3E10-D31K)를 포함한다. 따라서, 일부 구현예에서, 3E10 결합 단백질은 D31R 또는 D31K 치환을 포함한다.
- [0243] 추가의 예시적인 변이체는 단독으로 또는 D31N, D31R, 또는 D31K와의 조합하는 아르기닌(R) 96에서 아스파라긴(N)으로의 돌연변이, 및/또는 세린(S) 30에서 아스파르트산(D)으로의 돌연변이를 포함한다.
- [0244] 3E10 D31 또는 N31에 상응하는 잔기를 갖는 본원에 개시된 모든 서열은 D31R 또는 D31K 또는 N31R 또는 N31K 치환으로 명시적으로 개시된다.
- [0245] 3E10(Pyomol)의 분자 모델링은 추정 핵산 결합 포켓(NAB1)을 밝혔다(도 11a~11b). CDR1의 잔기 31에서 아스파르트산의 아스파라긴으로의 돌연변이는 이러한 잔기의 양이온 전하를 증가시키고 생체 내 핵산 결합 및 전달을 향상시켰다(3E10-D31N).
- [0246] CDR1의 잔기 31에서 아스파르트산의 아르기닌(3E10-D31R)으로의 돌연변이는 양이온 전하를 추가로 증가시킨 반면, 리신(3E10-D31K)으로의 돌연변이는 전하 배향을 변화시켰다(도 11a).
- [0247] 분자 모델링으로부터 예측된 NAB1 아미노산은 위의 중쇄 및 경쇄 서열에 밑줄이 그어져 있다. 도 11b는 점으로 도시된 NAB1 아미노산 잔기를 갖는 3E10-scFv(Pyomol)의 분자 모델링을 보여주는 도면이다.
- [0248] R96에 상응하는 잔기를 갖는 본원에 개시된 모든 서열은 R96N 치환으로 명시적으로 개시된다.
- [0249] S30에 상응하는 잔기를 갖는 본원에 개시된 모든 서열은 S30D로 명시적으로 개시된다.

- [0250] 임의의 치환은 임의의 조합에 포함될 수 있다. 잔기 31, 30, 및 96의 임의의 조합에서 2개 또는 3개의 치환을 갖는 서열이 명시적으로 제공된다.
- [0251] 특정 구현예에서, 서열은 R96N 치환 없이, 단독으로 또는 30D와 조합하여 31N, 31K, 또는 31R을 갖는다. 따라서, 일부 구현예에서, 96에 상응하는 잔기는 N이 아니고, 보다 구체적인 구현예에서는 R이 유지된다.
- [0252] **단편, 변이체, 및 융합 단백질**
- [0253] 항-핵산 항체는 인간화 3E10 형태의 가변 중쇄 및/또는 경쇄(예를 들어, 서열번호 64~102 중 어느 하나)의 아미노산 서열과 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 가변 중쇄 및/또는 경쇄의 아미노산 서열을 포함하는 항체 단편 또는 융합 단백질로 이루어질 수 있다.
- [0254] 항-핵산 항체는 인간화 3E10 또는 이의 변이체(예를 들어, 서열번호 3~5, 9~11, 15~18, 22~24, 및 26~63 중 어느 하나)의 CDR(들)의 아미노산 서열과 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 하나 이상의 CDR(들)을 포함하는 항체 단편 또는 융합 단백질로 이루어질 수 있다. 2개의 아미노산 서열의 동일성 백분율의 결정은 BLAST 단백질 비교에 의해 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 본원에 기술된 3E10 CDR 중 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개 모두를 포함한다.
- [0255] 바람직하게는, 항체는 경쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 중 각각 하나와 조합하여 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 중 각각 하나를 포함한다.
- [0256] 3E10에 대한 경쇄 가변 서열의 예측된 상보성 결정 영역(CDR)이 위에 제공된다. 또한 GenBank: AAA65681.1 - 먼역글로불린 경쇄, 부분[Mus musculus] 및 GenBank: L34051.1 - 마우스 Ig 재배열된 카파-사슬 mRNA V 영역을 참고한다. 3E10에 대한 중쇄 가변 서열의 예측된 상보성 결정 영역(CDR)이 위에 제공된다. 또한, 예를 들어, Zack 등의 문헌[*Immunology and Cell Biology*, 72:513-520 (1994)], GenBank 등록 번호 AAA65679.1. Zach 등의 문헌[*J. Immunol.* 154 (4), 1987-1994 (1995)] 및 GenBank: L16982.1 - 마우스 Ig 재배열된 L-사슬 유전자, 부분 cds를 참고한다.
- [0257] 또한, 핵산 전달 활성을 갖는 항체 단편이 포함된다. 단편의 활성이 변형되지 않은 항체 또는 항체 단편에 비해 유의하게 변형되거나 손상되지 않는 경우, 단편은, 다른 서열에 부착 여부에 관계없이, 특정 영역 또는 특정 아미노산 잔기의 삽입, 결실, 치환, 또는 다른 선택된 변형을 포함한다.
- [0258] 기술은 또한 본 개시의 항체에 대해 특이적인 단쇄 항체의 생산에 적합할 수 있다. 단쇄 항체의 생산 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다. 단쇄 항체는 짧은 펩티드 링커를 사용하여 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인을 함께 융합함으로써 생성될 수 있고, 이에 의해 단일 분자 상의 항원 결합 부위를 재구성할 수 있다. 하나의 가변 도메인의 C-말단이 15 내지 25개의 아미노산 펩티드 또는 링커를 통해 다른 가변 도메인의 N-말단에 테더링되는 단쇄 항체 가변 단편(scFv)은 항원 결합 또는 결합의 특이성을 유의하게 파괴하지 않고 개발되었다. 링커는 중쇄 및 경쇄가 적절한 입체 배향으로 함께 결합할 수 있도록 선택된다.
- [0259] 항-핵산 항체는 이들의 핵산 전달 능력을 개선하기 위해 변형될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 세포 침투성 항-핵산 항체는 표적 세포의 세포질 및/또는 핵에서 치료 표적에 특이적인 또 다른 항체에 접합된다. 예를 들어, 세포 침투성 항-핵산 항체는 3E10 Fv 및 치료 표적에 특이적으로 결합하는 단클론 항체의 단쇄 가변 단편을 함유하는 융합 단백질일 수 있다. 다른 구현예에서, 세포 침투성 항-핵산 항체는 3E10으로부터 유래한 제1 중쇄 및 제1 경쇄, 및 치료 표적에 특이적으로 결합하는 단클론 항체로부터 유래한 제2 중쇄 및 제2 경쇄를 갖는 이중특이적 항체이다.
- [0260] 3E10으로부터 유래한 제1 중쇄 및 제1 경쇄 및 표적에 특이적으로 결합하는 단클론 항체로부터 유래한 제2 중쇄 및 제2 경쇄를 갖는 이중특이적 항체 및 다른 결합 단백질은 Weisbart 등의 문헌[*Mol. Cancer Ther.*, 11 (10):2169-73 (2012)], 및 Weisbart 등의 문헌[*Int. J. Oncology*, 25:1113-8 (2004)], 및 미국 특허 출원 제 2013/0266570호에 논의되어 있고, 이들 문헌은 그 전체가 참조로서 구체적으로 본원에 통합된다. 일부 구현예에서, 표적은 표적 세포 유형, 조직, 기관 등에 특이적이다. 따라서, 제2 중쇄 및 제2 경쇄는 표적 세포 유형, 조직, 기관에 복합체를 표적화하는 표적화 모이어티로서 작용할 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 중쇄 및 제2 경쇄는, 예를 들어, 세포 유형에서 발견된 수용체 또는 리간드를 표적화함으로써 조절 줄기 세포, CD34⁺ 세포, T 세포, 또는 임의의 다른 세포 유형을 표적화한다. 일부 구현예에서, 제2 중쇄 및 제2 경쇄는 흉선, 비장, 또는 암

세포를 표적화한다.

[0261] 일부 구현예에서, 예를 들어 항원 특이적 T 세포를 생체 내에서 생산하기 위해, 특히 생체 내에서 T 세포를 표적화하는 경우에, CAR T 세포, 면역 세포, 또는 CD3, CD7, 또는 CD8과 같은 T 세포 마커를 표적화할 수 있다. 예를 들어, 항-CD8 항체 및 항-CD3 Fab 단편 모두가 생체 내에서 T 세포를 표적화하는 데 사용된 적이 있다 (Pfeiffer 등의 문헌[EMBO Mol Med., 10(11) (2018). pii: e9158. doi: 10.15252/emmm.201809158], Smith 등의 문헌[Nat Nanotechnol., 12(8):813-820 (2017). doi: 10.1038/nnano.2017.57]). 따라서, 일부 구현예에서, 3E10 항체 또는 항원 결합 단편 또는 융합 단백질은 이중특이적 항체 부분이며, 이중특이적 항체 부분은 CD3, CD7, CD8, 또는 다른 면역 세포(예를 들어, T 세포) 마커, 또는 흉선, 비장, 또는 간과 같은 특정 조직에 대한 마커에 특이적으로 결합할 수 있다.

[0262] 2가 단쇄 가변 단편(di-scFv)은 2개의 scFv를 연결함으로써 조작될 수 있다. 이는 2개의 VH 및 2개의 VL 영역을 갖는 단일 펩티드 사슬을 생산하여 탠덤 scFv를 생성함으로써 수행될 수 있다. ScFv는 2개의 가변 영역이 함께 접히기에는 너무 짧은 링커 펩티드(약 5개의 아미노산)로도 설계되어, scFv가 이량체화되도록 강제할 수 있다. 이러한 유형은 디아바디로 알려져 있다. 디아바디는 상응하는 scFv보다 최대 40배 낮은 해리 상수를 갖는 것으로 나타났으며, 이는 이들이 그들의 표적에 대해 훨씬 더 높은 친화도를 갖는다는 것을 의미한다. 여전히 더 짧은 링커(하나 또는 2개의 아미노산)는 삼량체(트리아바디 또는 트리바디)의 형성을 유도한다. 테트라바디도 생산되었다. 이들은 디아바디보다 표적에 대해 훨씬 더 높은 친화도를 나타낸다. 일부 구현예에서, 항-핵산 항체는 3E10의 2개 이상의 결합된 단쇄 가변 단편(예를 들어, 3E10 디-scFv, 3E10 트리-scFv) 또는 이의 보존적 변이체를 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-핵산 항체는 디아바디 또는 트리아바디(예를 들어, 3E10 디아바디, 3E10 트리아바디)이다. 3E10의 1개 및 2개 이상의 연결된 단쇄 가변 단편에 대한 서열은 US 2019/0247515 및 US 2017/0291961에 제공되어 있다.

[0263] 항체의 기능은 항체 또는 이의 단편을 치료제와 결합시킴으로써 향상될 수 있다. 항체 또는 단편과 치료제의 이러한 결합은, 항체 또는 항체 단편 및 치료제를 포함하는, 면역접합체를 제조하거나 융합 단백질을 제조하거나, DNA 또는 RNA(예를 들어, siRNA)와 같은 핵산에 항체 또는 단편을 연결함으로써 달성될 수 있다.

[0264] 일부 구현예에서, 세포 침투성 항체는 그의 반감기를 변경하도록 변형된다. 일부 구현예에서, 항체의 반감기가 순환 또는 치료 부위에 더 긴 시간 동안 존재하도록 항체의 반감기를 증가시키는 것이 바람직하다. 예를 들어, 장기간 동안 순환 또는 치료될 위치에서 항체의 역가를 유지하는 것이 바람직할 수 있다. 다른 구현예에서, 항-핵산 항체의 반감기는 잠재적 부작용을 감소시키기 위해 감소된다. 3E10Fv와 같은 항체 단편은 전체 크기 항체보다 짧은 반감기를 가질 수 있다. 반감기를 변경하는 다른 방법이 공지되어 있으며, 기술된 방법에 사용될 수 있다. 예를 들어, 항체는 반감기를 연장시키는 Fc 변이체에 의해, 예를 들어 Xtend™ 항체 반감기 연장 기술(Xencor, Monrovia, CA)을 사용하여 조작될 수 있다.

[0265] **링커**

[0266] 본원에서 사용되는 용어 “링커”는, 제한 없이, 펩티드 링커를 포함한다. 펩티드 링커는 가변 영역에 의한 에피토프의 결합을 방해하지 않는 한 임의의 크기일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 하나 이상의 글리신 및/또는 세린 아미노산 잔기를 포함한다. 하나의 가변 도메인의 C-말단이 통상적으로 15 내지 25개의 아미노산 펩티드 또는 링커를 통해 다른 가변 도메인의 N-말단에 테더링되는 1가 단쇄 항체 가변 단편(scFv). 링커는 중쇄 및 경쇄가 적절한 입체 배향으로 함께 결합할 수 있도록 선택된다. 디아바디, 트리아바디 등에서의 링커는 통상적으로 위에서 논의한 바와 같은 1가 scFv의 링커보다 짧은 링커를 포함한다. 2가, 3가 및 기타 다가 scFv는 통상적으로 3개 이상의 링커를 포함한다. 링커는 길이 및/또는 아미노산 조성물이 동일하거나 상이할 수 있다. 따라서, 당업계에 공지된 바와 같이, scFv의 원하는 원자가에 기초하여 링커의 수, 링커(들)의 조성, 및 링커(들)의 길이를 결정할 수 있다. 링커(들)는 2가, 3가 및 기타 다가 scFv의 형성을 허용하거나 유도할 수 있다.

[0267] 예를 들어, 링커는 4~8개 아미노산을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 링커는 아미노산 서열 GQSSRSS(서열번호 119)를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 링커는 15~20개 아미노산, 예를 들어, 18개 아미노산을 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 아미노산 서열 GQSSRSSGGGSSGGGGS(서열번호 120)를 포함한다. 다른 가요성 링커는 아미노산 서열 Gly-Ser, Gly-Ser-Gly-Ser(서열번호 121), Ala-Ser, Gly-Gly-Gly-Ser(서열번호 122), (Gly₄-Ser)₂(서열번호 123) 및 (Gly₄-Ser)₄(서열번호 124), 및 (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₃(서열번호 125)을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.

[0268] 다른 예시적인 링커는, 예를 들어, RADAAPGGGGSSGGGSSGGGGS(서열번호 126) 및 ASTKGPSVFPPLAPLESSGS(서열번호

127)를 포함한다.

[0269] 핵산 카고(Nucleic Acid Cargo)

[0270] 본원에 제공된 방법 및 조성물의 일부 구현예에서 사용되는 바와 같이, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 핵산 카고(폴리뉴클레오티드)와 복합체화된다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0271] 핵산 카고는 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. 핵산 카고는 DNA, RNA, 핵산 유사체, 또는 이들의 조합이거나 이를 포함할 수 있다. 아래에서 보다 상세히 논의되는 바와 같이, 핵산 유사체는 염기 모이어티, 당 모이어티, 또는 인산염 골격이 변형될 수 있다. 이러한 변형은, 예를 들어, 핵산의 안정성, 혼성화, 또는 용해도를 개선할 수 있다.

[0272] 핵산 카고는, 세포 내로 전달된 후 생물학적으로 활성인 제제이거나 이러한 제제를 암호화한다는 의미에서 일반적으로 기능성이다. 예시적인 카고는 아래에서 보다 상세히 논의되지만, 예를 들어, 발현 작제물 및 벡터를 포함하는 관심 폴리펩티드를 암호화하는 mRNA 또는 DNA, siRNA와 같은 억제 핵산, 또는 예를 들어, 발현 작제물 및 벡터를 포함하는 억제 핵산을 암호화하는 핵산을 예를 들어 포함한다.

[0273] 개시된 조성물은 복수의 단일 핵산 카고 분자를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 조성물은 복수의 상이한 핵산 분자의 다중성(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 10 또는 그 이상)을 포함한다.

[0274] 일부 구현예에서, 카고 분자는 약 0.001, 약 0.01, 약 1, 10, 100, 1,000, 10,000, 및/또는 100,000의 킬로베이스의 길이이다.

[0275] 일부 구현예에서, 예를 들어, 카고는 0.001 kb 및 100 kb 사이, 또는 0.001 kb 및 50 kb 사이, 또는 0.001 kb 및 25 kb 사이, 또는 0.001 kb 및 12.5 kb 사이, 또는 0.001 kb 및 10 kb 사이, 또는 0.001 kb 및 8 kb 사이, 또는 0.001 kb 및 5 kb, 또는 0.001 kb 및 2.5 kb 사이, 또는 0.001 kb 및 1 kb 사이, 또는 0.01 kb 및 100 kb 사이, 또는 0.01 kb 및 50 kb 사이, 또는 0.01 kb 및 25 kb 사이, 또는 0.01 kb 및 12.5 kb 사이, 또는 0.01 kb 및 10 kb 사이, 또는 0.01 kb 및 8 kb 사이, 또는 0.01 kb 및 5 kb, 또는 0.01 kb 및 2.5 kb 사이, 또는 0.01 kb 및 1 kb 사이, 또는 0.1 kb 및 100 kb 사이, 또는 0.1 kb 및 50 kb 사이, 또는 0.1 kb 및 25 kb 사이, 또는 0.1 kb 및 12.5 kb 사이, 또는 0.1 kb 및 10 kb 사이, 또는 0.1 kb 및 8 kb 사이, 또는 0.1 kb 및 5 kb, 또는 0.1 kb 및 2.5 kb 사이, 또는 0.1 kb 및 1 kb 사이, 또는 1 kb 및 100 kb 사이, 또는 1 kb 및 50 kb 사이, 또는 1 kb 및 25 kb 사이, 또는 1 kb 및 12.5 kb 사이, 또는 1 kb 및 10 kb 사이, 또는 1 kb 및 8 kb 사이, 또는 1 kb 및 5 kb, 또는 1 kb 및 2.5 kb 사이(각각 그 사이의 값을 포함함)이다.

[0276] 일부 구현예에서, 예를 들어, 카고는 약 0.001 kb 및 약 100 kb 사이, 또는 약 0.001 kb 및 약 50 kb 사이, 또는 약 0.001 kb 및 약 25 kb 사이, 또는 약 0.001 kb 및 약 12.5 kb 사이, 또는 약 0.001 kb 및 약 10 kb 사이, 또는 약 0.001 kb 및 약 8 kb 사이, 또는 약 0.001 kb 및 약 5 kb, 또는 약 0.001 kb 및 약 2.5 kb 사이, 또는 약 0.001 kb 및 약 1 kb 사이, 또는 약 0.01 kb 및 약 100 kb 사이, 또는 약 0.01 kb 및 약 50 kb 사이, 또는 약 0.01 kb 및 약 25 kb 사이, 또는 약 0.01 kb 및 약 12.5 kb 사이, 또는 약 0.01 kb 및 약 10 kb 사이, 또는 약 0.01 kb 및 약 8 kb 사이, 또는 약 0.01 kb 및 약 5 kb, 또는 약 0.01 kb 및 약 2.5 kb 사이, 또는 약 0.01 kb 및 약 1 kb 사이, 또는 약 0.1 kb 및 약 100 kb 사이, 또는 약 0.1 kb 및 약 50 kb 사이, 또는 약 0.1 kb 및 약 25 kb 사이, 또는 약 0.1 kb 및 약 12.5 kb 사이, 또는 약 0.1 kb 및 약 10 kb 사이, 또는 약 0.1 kb 및 약 8 kb 사이, 또는 약 0.1 kb 및 약 5 kb, 또는 약 0.1 kb 및 약 2.5 kb 사이, 또는 약 0.1 kb 및 약 1 kb 사이, 또는 약 1 kb 및 약 100 kb 사이, 또는 약 1 kb 및 약 50 kb 사이, 또는 약 1 kb 및 약 25 kb 사이, 또는 약 1 kb 및 약 12.5 kb 사이, 또는 약 1 kb 및 약 10 kb 사이, 또는 약 1 kb 및 약 8 kb 사이, 또는 약 1 kb 및 약 5 kb, 또는 약 1 kb 및 약 2.5 kb 사이(각각 그 사이의 값을 포함함)이다.

[0277] 일부 구현예에서, 예를 들어, 카고는 0.2 kb 및 10 kb 사이, 또는 0.2 kb 및 5 kb 사이, 또는 0.2 kb 및 2.5 kb 사이, 또는 0.2 kb 및 1 kb 사이, 또는 0.2 kb 및 0.5 kb 사이, 또는 0.2 kb 및 0.25 kb 사이, 또는 0.5 kb 및 10 kb 사이, 또는 0.5 kb 및 5 kb 사이, 또는 1 kb 및 5 kb 사이, 또는 1 kb 및 3 kb 사이, 또는 2 kb 및 10 kb 사이, 또는 3 kb 및 5 kb 사이이다.

[0278] 일부 구현예에서, 예를 들어, 카고는 약 0.2 kb 및 약 10 kb 사이, 또는 약 0.2 kb 및 약 5 kb 사이, 또는 약 0.2 kb 및 약 2.5 kb 사이, 또는 약 0.2 kb 및 약 1 kb 사이, 또는 약 0.2 kb 및 약 0.5 kb 사이, 또는 약 0.2 kb 및 약 0.25 kb 사이, 또는 약 0.5 kb 및 약 10 kb 사이, 또는 약 0.5 kb 및 약 5 kb 사이, 또는 약 1 kb 및 약 5 kb 사이, 또는 약 1 kb 및 약 3 kb 및

약 5 kb 사이, 또는 약 1 kb 및 약 3 kb 사이, 또는 약 2 kb 및 약 10 kb 사이, 또는 약 3 kb 및 약 5 kb 사이이다.

[0279] 특정 응용예에 있어서, 핵산 카고는, 예를 들어, 각각에 대한 구체적인 값이 명백하게 개시된, 전술한 범위(포함형) 중 하나에 속하는 하나 이상의 별개의 길이일 수 있다는 것을 이해할 것이다. 예를 들어, 크기는 단일 뉴클레오티드 또는 핵염기만큼 작을 수 있다. 예시적인 응용예에서, 카고는 STING 작용제인 cGAMP와 유사한 환형 디뉴클레오티드이다. 다른 구현예에서, 카고는 짧은 올리고머이다. 예를 들어, 8량체만큼 짧은 올리고머가 안티-센스 또는 스플라이스 스위칭에 사용될 수 있다. 약간 더 긴 것(예를 들어, 18 내지 20량체)이 유전자 편집을 위해 사용될 수 있다.

[0280] **면역자극 올리고뉴클레오티드**

[0281] 선천 면역계의 거대분자 자극제, 특히 패턴 인식 수용체(PRR)의 폴리뉴클레오티드 작용제는 암의 치료에 대한 높은 가능성을 갖는다. 패턴 인식 수용체(PRR)는 내인성 손상-연관 분자 패턴뿐만 아니라 병원균-연관 분자 패턴을 인식한다. 일단 리간드 결합이 발생하면, 신호 전달 캐스케이드가 세포 내에서 발생하여 효과기 분자를 활성화시킴으로써, 항종양 면역 세포의 동원 및 활성화 및 염증성 사이토카인의 방출을 초래한다. 이와 같이, PRR 작용제는 광범위한 암의 치료를 위한 면역요법으로서 성공적으로 사용되어 왔다. PRR 및 암 면역요법에서의 PRR 작용제의 용도에 대한 검토를 위해서는, 예를 들어 Bai L. 등의 문헌[“Promising targets based on pattern recognition receptors for cancer immunotherapy,” *Pharmacological Research*, 159 (2020) 105017]을 참조하고, 그 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0282] 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리뉴클레오티드 면역자극제, 예를 들어, 패턴 인식 수용체(PRR)를 자극할 수 있는 폴리뉴클레오티드와 복합체를 이룬다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드 면역자극제는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드 면역자극제는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0283] **패턴 인식 수용체(PRR) 작용제**

[0284] 일 양태에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 패턴 인식 수용체(PRR)를 자극할 수 있는 폴리뉴클레오티드 리간드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 당업계에서 인식되는 바와 같이, 예를 들어 패턴 인식 수용체의 활성화를 통한 선천 면역계의 자극은 특히 암을 치료하기 위한 유망한 치료 방법을 제시한다. 일반적으로, PRR은 병원균 연관 패턴(PAMP) 및/또는 손상 연관 패턴(DAMP)의 인식 후 선천 면역계를 자극한다. 통상적으로, PRR은 다음 5개의 범주로 그룹화된다: 톨-유사 수용체(TLR), C-형 렉틴 수용체(CLR), RIG-I-유사 수용체(RLR), 뉴클레오티드-결합 올리고머화 도메인(NOD)-유사 수용체(NLR), 및 세포기질 DNA 센서(CDS). 본원에 기술된 방법 및 조성물은 폴리뉴클레오티드 항원을 인식하고 이에 의해 활성화되는 이들 부류의 PRR 중 어느 하나를 통해 작용한다.

[0285] RIG-I 유사 수용체(RLR)는 바이러스 RNA 내에서 병원균-연관 분자 패턴(PAMP)의 세포질 센서로서 기능하는 RNA 헬리카아제의 계열이다. 따라서, 또 다른 양태에서, 암을 치료하기 위한 조성물, 및 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 (ii) RIG-I-유사 수용체(RLR)를 자극할 수 있는 폴리뉴클레오티드 리간드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 암을 치료하기 위한 방법이 제공된다. 식별된 RLR은 RIG-I(레티노산 유도성 유전자 1), MDA5(흑색종 분화 연관 인자 5), 및 LGP2(유전학 및 생리학 실험실(laboratory of genetics and physiology) 2)를 포함한다. 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시는 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편 (ii) RIG-I를 자극할 수 있는 폴리뉴클레오티드 리간드 간에 형성된 조성물을 제공한다. 이러한 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여함으로써 암을 치료하는 방법도 제공된다. 일부 구현예에서, 복합체는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 폴리뉴클레오티드 리간드 간의 공유 접합체를 포함한다.

[0286] 예시적인 RIG-I 리간드는 RIG-I의 특이적 작용제인 5' ppp-dsRNA; RIG-I의 특이적 작용제인 3p-hpRNA; 폴리(I:C)의 크기에 따라 RIG-I 및/또는 MDA-5에 의해 인식되는 폴리(I:C)/LyoVec 복합체; RIG-I에 의해 간접적으로 인식되는 폴리(dA:T)/LyoVec 복합체를 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. 일부 구현예에서, 3p-hpRNA는 인플루엔자 A(H1N1) 유래 서열의 시험관내 전사에 의해 생성된 5' 트리포스페이트 헤어핀 RNA이다. 일부 구현예에서, 3p-hpRNA는 캡핑되지 않은 5' 트리포스페이트 말단 및 이중 가닥 단편을 함유하는 RNA 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서, 3p-hpRNA는 약 50 bp, 약 55 bp, 약 60 bp, 약 65 bp, 약 70 bp, 약 75 bp, 약 80

bp, 약 85 bp, 약 90 bp, 약 100 bp, 또는 그 이상이다. 일부 구현예에서, 3p-hpRNA는 89 bp 길이다.

- [0287] 일부 구현예에서, RIG-I를 자극할 수 있는 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, RIG-I를 자극할 수 있는 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.
- [0288] 따라서, 일부 구현예에서, 암을 치료하기 위한 조성물, 및 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 적어도 부분적으로 이중가닥이고 RIG-I를 자극할 수 있는 RNA 분자 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 암을 치료하기 위한 방법이 제공된다. 일부 구현예에서, 적어도 부분적으로 이중 가닥인 RNA 분자는 분자의 이중 가닥 부분을 형성하도록 어닐링되는 2개의 별도 RNA 가닥을 포함한다. 다른 구현예에서, 적어도 부분적으로 이중 가닥인 RNA 분자는 자가-상보성을 갖는 단일 RNA 가닥이며, 이에 의해, 생리학적 조건 하에서 분자의 이중 가닥 부분을 형성하기 위해 어닐링되어, 예를 들어 하나 이상의 헤어핀 구조를 형성한다.
- [0289] 유사하게, 일부 구현예에서, 암을 치료하기 위한 조성물, 및 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 적어도 부분적으로 이중가닥이고, 적어도 1개의 5' 트리포스페이트 모이어티를 함유하고, RIG-I를 자극할 수 있는 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 암을 치료하기 위한 방법이 제공된다. 일부 구현예에서, 적어도 부분적으로 이중 가닥인 RNA 분자는 분자의 이중 가닥 부분을 형성하도록 어닐링되는 2개의 별도 RNA 가닥을 포함한다. 다른 구현예에서, 적어도 부분적으로 이중 가닥인 RNA 분자는 자가-상보성을 갖는 단일 RNA 가닥이며, 이에 의해, 생리학적 조건 하에서 분자의 이중 가닥 부분을 형성하기 위해 어닐링되어, 예를 들어 하나 이상의 헤어핀 구조를 형성한다. 폴리뉴클레오티드 RIG-I 작용제의 예는 문헌에 제공된다. 일반적으로, 이들 폴리뉴클레오티드 RIG-I 작용제 중 어느 하나가 본원에 기술된 방법 및 조성물에 사용된다.
- [0290] 일부 구현예에서, RIG-I 작용제는 인플루엔자 A(H1N1) 바이러스 유래 서열의 시험관 내 전사에 의해 생성된 5' 트리포스페이트 헤어핀 RNA, 즉 다음 서열을 갖거나 이의 고도로 보존된 뉴클레오티드 서열을 갖는 단일 가닥 음성-센스 RNA 바이러스(3p0hpRNA)이다: 5' - pppGGAGCAAAGCAGGGUGACAAAGACAUAUUGGAUCCAAACACUGUGUCAAGCUUCAGGUAGAUUGCUUCUUGGCAUGCCGCAAAC- 3' (서열번호 103). 예를 들어, 그 내용의 전체가 모든 목적을 위해 참조로서 본원에 통합되는 Rehwinkel J. 등의 문헌[*Cell*, 140:397-408 (2010)] 및 Liu G. 등의 문헌[*J Virol.* 89(11):6067-79 (2015)]을 참조한다. 따라서, 일부 구현예에서, 암을 치료하기 위한 조성물, 및 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) RIG-I를 자극할 수 있는 3p-hpRNA의 서열(서열번호 103)을 갖는 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 암을 치료하기 위한 방법이 제공된다.
- [0291] 일부 구현예에서, RIG-I 작용제는 3p-hpRNA(서열번호 103)의 서열과 적어도 80% 동일한 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, RIG-I 작용제는 3p-hpRNA(서열번호 103)의 서열과 적어도 85% 동일한 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, RIG-I 작용제는 3p-hpRNA(서열번호 103)의 서열과 적어도 90% 동일한 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, RIG-I 작용제는 3p-hpRNA(서열번호 103)의 서열과 적어도 95% 동일한 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, RIG-I 작용제는 3p-hpRNA(서열번호 103)의 서열과 적어도 96% 동일한 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, RIG-I 작용제는 3p-hpRNA(서열번호 103)의 서열과 적어도 97% 동일한 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, RIG-I 작용제는 3p-hpRNA(서열번호 103)의 서열과 적어도 98% 동일한 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, RIG-I 작용제는 3p-hpRNA(서열번호 103)의 서열과 적어도 99% 동일한 서열을 갖는다. 따라서, 일부 구현예에서, 암을 치료하기 위한 조성물, 및 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) RIG-I를 자극할 수 있는 3p-hpRNA의 뉴클레오티드 서열(서열번호 103)과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%, 동일한 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 암을 치료하기 위한 방법이 제공된다.
- [0292] 본원에 개시된 방법 및 조성물에 사용하기 위한 다른 RIG-I 작용제는 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 인간화 3E10 항체 및 이의 항원 결합 단편과 복합체화될 수 있는 유용한 RIG-I 작용제는 WO 2023/278897, US20100178272, US 9,738,680, US 2011/0184045, US 10,059,943, US 2018/0195063, US 11,382,966, US 11,542,505, WO 2020/260547, US 2021/0260093, US 9,226,959, US 2014/0286998, US 9,861,574, US 9,775,894, US 2021/0046168, US 2019/0076463, US 11,499,157, US 10,907,161, 및 US 2022/0333113에 기술되어 있으며, 상기 문헌의 개시내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.
- [0293] 일부 구현예에서, 대상체에서의 암을 치료하기 위한 조성물, 및 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단

편, 및 (ii) 톨-유사 수용체(TLR)를 자극할 수 있는 폴리뉴클레오티드 리간드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 암을 치료하기 위한 방법이 제공된다. TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12, 및 TLR13을 포함하는, 적어도 13개의 톨-유사 수용체가 식별되었다. 이들 톨-유사 수용체 각각은 상이한 항원에 대한 친화도를 갖는다. 본 개시의 다양한 구현예에 따르면, 본원에 기술된 방법 및 조성물은 TLR의 폴리뉴클레오티드 작용제를 사용하는 것을 포함한다. 예를 들어, TLR3, TLR7, TLR8, 및 TLR9 각각은 다양한 폴리뉴클레오티드에 대한 친화도를 가지며 이에 의해 활성화된다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 방법 및 조성물에 사용되는 작용제는 TLR3, TLR7, TLR8, 또는 TLR9를 자극할 수 있다. 일부 구현예에서, 복합체는 비공유 복합체이다. 일부 구현예에서, 복합체는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 폴리뉴클레오티드 리간드 간의 공유 접합체를 포함한다.

[0294] 예를 들어, 메틸화되지 않은 CpG 부위는 인간에서 형질세포양 수지상 세포 및 B 세포 상에서 TLR9에 의해 검출될 수 있다(Zaida 등의 문헌[*Infection and Immunity*, 76(5):2123-2129, (2008)]). 따라서, 올리고뉴클레오티드의 서열은 하나 이상의 비메틸화 시토신-구아닌(CG 또는 CpG, 상호 교환적으로 사용됨) 디뉴클레오티드 모티프를 포함할 수 있다. 'p' 는 DNA의 인산디에스테르 골격을 지칭하지만, 일부 구현예에서, CG를 포함하는 올리고뉴클레오티드는 변형된 골격, 예를 들어 포스포로티오에이트(PS) 골격을 가질 수 있다.

[0295] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 하나를 초과하는 CG 디뉴클레오티드를 함유할 수 있고, 이는 인접하여 배열되거나 개입 뉴클레오티드(들)에 의해 분리될 수 있다. CpG 모티프(들)는 올리고뉴클레오티드 서열의 내부에 있을 수 있다. 다수의 뉴클레오티드 서열은 CG 디뉴클레오티드(들)의 수 및 위치뿐만 아니라 CG 이량체의 측면에 위치하는 정확한 염기 서열에 변이를 가지고 TLR9를 자극한다.

[0296] 일반적으로, CG ODN은 이들의 서열, 이차 구조, 및 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)에 미치는 효과에 기초하여 분류된다. 5개의 부류는 클래스 A(유형 D), 클래스 B(유형 K), 클래스 C, 클래스 P, 및 클래스 S이다(Vollmer, J & Krieg, AM의 문헌[*Advanced Drug Delivery Reviews* 61 (3): 195-204 (2009)], 참조로서 본원에 통합됨). CG ODN은 I형 인터페론(예를 들어, IFN α)의 생산을 자극하고 수지상 세포(DC)의 성숙을 유도할 수 있다. 일부 부류의 ODN은 또한 간접적인 사이토카인 신호전달을 통한 자연 살해(NK) 세포의 강력한 활성화제이다. 일부 부류는 인간 B 세포 및 단핵구 성숙의 강한 자극제이다(Weiner, GL의 문헌[*PNAS USA* 94(20): 10833-7 (1997)]; Dalpke, AH의 문헌[*Immunology* 106(1): 102-112 (2002)]; Hartmann, G,의 문헌[*J. of Immun.* 164(3):1617-2 (2000)], 이들 각각은 참조로서 본원에 통합됨).

[0297] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드 면역자극제는 환형-GMP-AMP 합성효소(cGAS) 또는 인터페론 유전자의 자극제(Stimulator of Interferon Genes (STING))이다.

[0298] **효과기 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드**

[0299] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 암 요법을 위한 단백질 또는 펩티드, 예를 들어 효과기 폴리펩티드를 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드와 공유적으로 또는 비공유적으로 복합체화된다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0300] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 RNAi 제제, siRNA, shRNA, miRNA, miRNA 결합 부위, 안티센스 RNA, 리보자임, 촉매 DNA, tRNA, 삼중 나선 형성을 유도하는 RNA, 앵타머 또는 벡터 등 중 하나 이상에 접합되거나 이를 추가로 암호화한다.

[0301] 다른 구현예에서, 폴리뉴클레오티드(들)는 암성 조직에 대한 하나 이상의 효과기 폴리펩티드(들) 또는 이의 단편을 암호화하도록 설계될 수 있다. 이러한 효과기 폴리펩티드(들)는 전체 폴리펩티드, 복수의 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 단편을 포함할 수 있지만, 이에 한정되지 않으며, 이들은 효과기 폴리뉴클레오티드의 하나 이상의 영역 또는 부분 또는 전체에 의해 독립적으로 암호화될 수 있다.

[0302] 효과기 폴리펩티드는, 본 개시의 폴리뉴클레오티드 내에서 암호화되도록 선택되거나 본 개시의 폴리뉴클레오티드에 의해 기능이 영향을 받는 임의의 폴리펩티드를 지칭한다. 효과기 폴리펩티드는 면역 체계의 활성을 조절할 수 있고, 예를 들어 암의 진행을 늦추고, 암세포의 세포 사멸을 유도하고, 암세포의 노화를 유도하는 것 등에 의해 직접 또는 간접적으로 암의 치료에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 효과기 폴리펩티드는 면역 세포를 자극하여 사이토카인의 생성을 상향조절함으로써 암세포의 표적화를 유발하여 세포 사멸을 초래한다. 다른 구현예에서, 효과기 폴리펩티드는 종양 세포를 식별하기 위한 면역 세포의 마커인 종양 항원의 발현

을 상향조절하도록 종양 세포를 발현시키거나 자극한다. 효과기 폴리펩티드에 대한 검토는, 예를 들어, 그 내용의 전체가 모든 목적을 위해 참조로서 본원에 통합되는, Esensten 등의 문헌[“CD28 costimulation: from mechanism to therapy,” *Immunity Review*, 44, (2016) 973; *Immunity*, 2016, 44, 973-988]; Smolle 등의 문헌[Noncoding RNAs and immune checkpoints, *FEBS Journal*, 2017, 284, 1952-1966]; Chen 등의 문헌[Anti-PD-1 - PD-L1 therapy of human cancer past, present, and future, *Journal of Clinical Investigation*, 2015, Volume 125, 9, 3384-3391]; Rowshanravan 등의 문헌[CTLA-4 a moving target in immunotherapy, *Blood*, 2018, Volume 131, 1, 58-67]; 및 Dougall 등의 문헌[TIGIT and CD96 New checkpoint receptor targets for cancer immunotherapy, *Immunological Reviews*, 2017, 276, 112-120]을 참조한다.

[0303] 따라서, 일 양태에서, 본 개시는 대상체에서의 암을 치료하기 위한 조성물 및, 본원에 기술된 바와 같은 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 암 요법을 위한 단백질 또는 펩티드, 예를 들어 효과기 폴리펩티드를 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다.

[0304] **종양 항원**

[0305] 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물을 비롯하여, 본원에 기술된 바와 같은 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 종양 연관 항원을 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물도 제공한다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 결합된다.

[0306] 종양 항원은 암세포의 세포 표면 상에 거의 독점적으로 나타나는 펩티드이며, 이에 의해 종양 항원을 나타내지 않는 비암성 세포와 암세포를 구별한다. 암세포가 사멸할 때, 이들 종양 항원은 종양 미세환경 내로 방출되고 면역계에 의해 외래 펩티드, 변경된 자가 펩티드, 또는 자가 펩티드로서 인식될 수 있다. 충분한 양의 종양 항원의 방출 시, 면역계는 해당 종양 항원에 대한 면역 반응을 생성함으로써 항종양 면역을 생성할 수 있다. 구체적으로, 면역계는 면역 반응을 생성하는 데 사용된 종양 항원을 나타내는 암세포를 표적화하고 파괴한다.

[0307] 항종양 면역을 생성하기 위해 여러 부류의 항원이 실험적으로 이용되었다. 구체적으로, 종양 항원은 항원을 암호화하는 펩티드 또는 핵산으로서, 종양 항원을 세포 표면 상에 나타내는 암 환자에게 외인성으로 투여된다. 결과적으로, 면역계는 종양 항원에 대한 면역 반응을 생성하기에 충분한 양의 항원을 제시하여 항종양 면역을 초래한다. 종양 항원의 부류의 예는 온코바이러스 단백질 항원, 신항원, 및 암-생식선 유전자로부터 유래된 항원을 포함한다. 종종, 종양 항원, 또는 종양 항원을 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 항종양 면역을 생성을 촉진하기 위해 수지상 세포를 활성화시키는 보조제와 공동 투여되거나, 수지상 세포 자체와 공동 투여된다. 이에 대한 검토를 위해서는, 예를 들어 Haen 등의 문헌[“Towards new horizons Characterization, classification and implications of the tumor antigenic repertoire,” *Nature Reviews-Clinical Oncology*, 2020, Volume 17, 595-610]; Saxena M. 등의 문헌[*Nat. Rev. Cancer* 21, 360-378 (2021)]을 참조하고, 이들의 전체 내용은 참조로서 본원에 통합된다.

[0308] 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 온코바이러스 단백질 항원을 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다.

[0309] B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, 엡스타인-바 바이러스(EBV 또는 HHV-4), 인간 유두종 바이러스, 인간 T 림프친화 바이러스 1형, 카포시 육종-연관 헤르페스바이러스(KSHV 또는 HHV-8)를 포함하는 암유발 바이러스인 적어도 6개의 온코바이러스가 지금까지 알려져 있지만, 병원성 메커니즘은 아직도 완전히 이해되지 않고 있다.

[0310] 온코바이러스 단백질 항원은 암과 연관된 종양원성 바이러스로부터 유래된 암의 세포 표면에 나타나는 항원이다. 예를 들어, 자궁경부암의 대부분은 HPV 감염에 의해 야기되지 않더라도 이에 연관된다. 따라서, 자궁경부암 세포의 세포 표면 상에 나타나는 HPV로부터 유래된 항원은 온코바이러스 단백질 항원을 나타낸다. 온코바이러스 단백질 항원의 비제한적인 예, 및 이들 항원과 연관된 암의 예는 아래 표 1에 제시되어 있다.

[표 1] 온코바이러스 단백질 및 연관 암 유형의 예.

바이러스	연관 암 유형	단백질 항원
인간 유두종바이러스 (HPV)	HPV 16 형 및 18 형은 자궁경부암, 항문암, 음경암, 외음부암, 질암, 및 HPV-양성 구인두암과 연관됨.	E6/E7-연관 단백질
	편평 세포 암종과 연관된 인간 유두종바이러스 8, 18, 및 5 형	
엡스타인-바 바이러스(EBV)	버킷 림프종, 호지킨 림프종, 이식 후 림프구증식 질환, 비인두 암종 및 위암의 아형.	EBV 핵 항원(EBNA) 1, 2, 3a, 3b, 3c 및 LP, BARF1, 잠복 막 단백질(LMP) 1, 2a 및 2b, BamHI A 우측 전사체(BART), EBV 암호화 RNA(EBER).
B 형 간염 바이러스(HBV), C 형 간염 바이러스(HCV)	간세포 암종	B 형 간염 바이러스 단백질 (HBcAg)
인간 T-림프친화 바이러스 1(HTLV-1)	성인 T-세포 백혈병	Tax

[0311]

[0312]

따라서, 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 1에 나열된 바이러스 단백질로부터 유래된 온코바이러스 단백질 항원을 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 조성물의 치료적 유효량은 보조제와 공동 투여된다. 일부 구현예에서, 조성물의 치료적 유효량은 수지상 세포와 공동 투여된다.

[0313]

일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 신항원을 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 신항원은 암성 조직에 대해 신규한 아미노산 서열을 갖는, 암세포의 표면 상에 나타나는 펩티드이다. 즉, 신항원은 생식선(야생형) 인간 게놈에 존재하지 않는 아미노산 서열을 갖는다. 신항원은 암의 발생 동안 또는 그 후 게놈의 돌연변이에 의해 생성되며, 이러한 방식으로 개별 환자에 대해 특이적이다.

[0314]

심층 시퀀싱 기술은 신항원을 예측하기 위해 개별 종양의 엑솜 내에 존재하는 돌연변이를 식별하는 데 사용될 수 있다. 이는 T 세포에 의해 인식될 수 있는 신항원을 식별함으로써 수행된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 종양 물질은 비동의(nonsynonymous) 체세포 돌연변이에 대해 분석된다. RNA 시퀀싱 데이터는 발현된 유전자의 돌연변이에 초점을 맞추기 위해 사용된다. 식별된 비동의 돌연변이 중 어느 하나를 함유하는 펩티드 신장은 가상으로 생성되고, 필터링되지 않은 상태로 유지되거나, 예측 알고리즘을 사용하여 필터링되거나, 환자의 암성 조직으로부터 생성된 질량 분광분석 데이터에서 MHC-연관 신항원을 식별하는 데 사용된다. 생성된 펩티드-MHC 복합체에 대한 돌연변이의 효과의 모델링은 특히 가능한 신항원을 식별하기 위한 추가 필터로서 사용될 수 있다. 생성된 에피토프 세트는 또한 MHC 다량체 기반 스크리닝에 의해 생리학적으로 발생하는 신항원-특이적 T 세포 반응을 식별하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, *Science*, 03 Apr 2015: Vol. 348, Issue 6230, pp. 69-74 참조. 그러나, 엑솜 분석 및 단백질체 분석을 포함하는 다른 기술은 또한 각각 신항원에 상응하는 신규 게놈 또는 신규 펩티드 서열을 식별하는 데 사용될 수 있다. 전사체, 엑솜 및 단백질체 분석을 사용하는, 개별 암으로부터 식별된 신항원의 비제한적인 예는, 예를 들어, Haen 등의 문헌[Towards new horizons Characterization, classification and implications of the tumor antigenic repertoire, *Nature Reviews-Clinical Oncology*, 2020, Volume 17, 595-610]에 기술되어 있다.

[0315] 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시는, 먼저 대상체에서 암의 신항원을 식별하고, 두 번째로, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 식별된 신항원을 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법을 제공한다.

[0316] 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 암-생식선 유전자 유래의 항원을 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 암 생식선 항원은 고환 및/또는 난소의 생식세포 및 인간 암에서 발현된 유전자에 의해 암호화된 면역원성 종양 항원의 부류이다. 암 생식선 항원의 예는, 각각 흑색종 및 폐암과 같은 상이한 인간 암에서 과발현되는, 율활막 육종 X-2(SSX-2), 뉴욕-식도 편평 세포 암종-1(NY-ESO-1), 흑색종 연관 항원 1(MAGA1), 및 흑색종 연관 항원 3(MAGA3)으로부터 유래된 항원을 포함하나, 이에 한정되지는 않는다.

[0317] 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) SSX-2, NY-ESO-1, MAGA1, 또는 MAGA3 단백질로부터 유래된 항원을 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 암은 흑색종이다. 일부 구현예에서, 암은 폐암이다.

[0318] 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 종양 연관 항원(TAA)을 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 조성물의 치료적 유효량은 보조제와 공동 투여된다. 일부 구현예에서, 조성물의 치료적 유효량은 수지상 세포와 공동 투여된다.

[0319] 종양 연관 항원은 야생형 단백질 서열 또는 종양 세포에 의해 합성된 당단백질로부터 유래된 펩티드이다. TAA 단백질은 종양 세포의 임의의 세포내 구획에 상주할 수 있으며; 예를 들어, 이들은 막-결합되거나, 세포질에 상주하거나, 핵-국소화되거나, 심지어 종양 세포에 의해 분비될 수도 있다. TAA는 주로 유전적 증폭 또는 번역 후 변형에 의해 생성되며, 이는 비암성 세포에 비해 암 세포 내에서의 기저 단백질의 차등 발현을 야기하고, 특이적 T 세포 또는 면역글로불린에 의한 종양 세포의 우선적으로 인식을 가능하게 한다. 식별된 종양 연관 항원의 비제한적인 예는 표 2-3에 제시되어 있다.

[표 2] 종양 연관 항원(TAA) 및 연관 암의 예.

종양 연관 항원	암
알파태아단백질(AFP)	생식 세포 종양 간세포 암종
암배아 항원(CEA)	장암
CA-125	난소암
MUC-1	유방암
상피 종양 항원(ETA)	유방암
티로신분해효소	악성 흑색종

[0320]

표 3

[0321] 종양 관련 항원(TAA)의 예 및 관련 참조 문헌(이들 모두는 언급된 종양 마커를 식별하기 위한 목적으로 참조로서 본원에 통합됨).

종양 항원	예시적인 참조 문헌
5-알파 환원효소	Delos 등의 문헌[(1998) <i>Int. J. Cancer</i> , 75: 6 840-846]
a-태아단백질	Esteban 등의 문헌[(1996) <i>Tumor Biol.</i> , 17(5): 299-305]
AM-1	Harada 등의 문헌[(1996) <i>Tohoku J Exp Med.</i> , 180(3): 273-288]
APC	Dihlmann 등의 문헌[(1997) <i>Oncol. Res.</i> , 9(3) 119-127]
APRIL	Sordat 등의 문헌[(1998) <i>Exp Med.</i> , 188(6): 1185-1190]

BAGE	Boel 등의 문헌[(1995) <i>Immunity</i> , 2: 167-175]
β-카테닌	Hugh 등의 문헌[(1999) <i>Int Cancer</i> , 82(4): 504-11]
Bcl2	Koty 등의 문헌[(1999) <i>Lung Cancer</i> , 23(2): 115-127]
bcr-abl (b3a2)	Verfaillie 등의 문헌[(1996) <i>Blood</i> , 87(11): 4770-4779]
CA-125	Bastet 등의 문헌[(1998) <i>Int. Biol. Markers</i> , 13(4): 179-187]
CASP-8/FLICE	Mandrizzato 등의 문헌[(1997) <i>J Exp. Med.</i> , 186(5): 785-793]
카텝신	Thomssen 등의 문헌[(1995) <i>Clin. Cancer Res.</i> , 1 (7): 741-746]
CD19	Scheuermann 등의 문헌[(1995) <i>Leuk. Lymphoma</i> , 18(5-6): 385-397]
CD20	Knox 등의 문헌[(1996) <i>Clin. Cancer Res.</i> , 2(3): 457-470]
CD21, CD23	Shubinsky 등의 문헌[(1997) <i>Leuk. Lymphoma</i> , 25(5-6): 521-530]
CD22, CD38	French 등의 문헌[(1995) <i>Br. J. Cancer</i> , 71 (5): 986-994]
CD33	Nakase 등의 문헌[(1996) <i>Am. J. Clin. Pathol.</i> , 105(6): 761-768]
CD35	Yamakawa 등의 문헌[<i>Cancer</i> , 73(11): 2808-2817]
CD44	Naot 등의 문헌[(1997) <i>Adv. Cancer Res.</i> , 71: 241-319]
CD45	Buzzi 등의 문헌[(1992) <i>Cancer Res.</i> , 52(14): 4027-4035]
CD46	Yamakawa 등의 문헌[(1994) <i>Cancer</i> , 73(11): 2808-2817]
CD5	Stein 등의 문헌[(1991) <i>Clin. Exp. Immunol.</i> , 85(3): 418-423]
CD52	Ginaldi 등의 문헌[(1998) <i>Leuk. Res.</i> , 22(2): 185-191]
CD55	Spendlove 등의 문헌[(1999) <i>Cancer Res.</i> , 59: 2282-2286]
CD59 (791Tgp72)	Jarvis 등의 문헌[(1997) <i>Int. J. Cancer</i> , 1049-1055]
CDC27	Wang 등의 문헌[(1999) <i>Science</i> , 284(5418): 1351-1354]
CDK4	Wolfel 등의 문헌[(1995) <i>Science</i> , 269(5228): 1281-1284]
CEA	Kass 등의 문헌[(1999) <i>Cancer Res.</i> , 59(3): 676-683]
c-myc	Watson 등의 문헌[(1991) <i>Cancer Res.</i> , 51 (15): 3996-4000]
Cox-2	Tsujii 등의 문헌[(1998) <i>Cell</i> , 93: 705-716]
DCC	Gotley 등의 문헌[(1996) <i>Oncogene</i> , 13(4): 787-795]
DcR3	Pitti 등의 문헌[(1998) <i>Nature</i> , 396: 699-703]
E6/E7	Steller 등의 문헌[(1996) <i>Cancer Res.</i> , 56(21): 5087-5091]
EGFR	Yang 등의 문헌[(1999) <i>Cancer Res.</i> , 59(6): 1236-1243]
EMBP	Shiina 등의 문헌[(1996) <i>Prostate</i> , 29(3): 169-176]
Ena78	Arenberg 등의 문헌[(1998) 102: 465-472]
FGF8b 및 FGF8a	Dorkin 등의 문헌[(1999) <i>Oncogene</i> , 18(17): 2755-2761]
FLK-1/KDR	Annie 및 Fong의 문헌[(1999) <i>Cancer Res.</i> , 59: 99-106]
엽산 수용체	Dixon 등의 문헌[(1992) <i>J. Biol. Chem.</i> , 267(33): 24140-72414]
G250	Divgi 등의 문헌[(1998) <i>Clin. Cancer Res.</i> , 4(11): 2729-2739]
GAGE-계열	De Backer 등의 문헌[(1999) <i>Cancer Res.</i> , 59(13): 3157-3165]
가스트린 17	Watson 등의 문헌[(1995) <i>Int. J. Cancer</i> , 61 (2): 233-240]
가스트린-방출 호르몬 (봄베신)	Wang 등의 문헌[(1996) <i>Int. J. Cancer</i> , 68(4): 528-534]
GD2/GD3/GM2	Wiesner 및 Sweeley의 문헌[(1995) <i>Int. J. Cancer</i> , 60(3): 294-299]
GnRH	Bahk 등의 문헌[(1998) <i>Urol. Res.</i> , 26(4): 259-264]
GnTV	Hengstler 등의 문헌[(1998) <i>Recent Results Cancer Res.</i> 154: 47-85]
gp100/Pmel17	Wagner 등의 문헌[(1997) <i>Cancer Immunol. Immunother.</i> , 44(4): 239-247]
gp-100-in4	Kirkin 등의 문헌[(1998) <i>APMIS</i> , 106(7): 665-679]
gpis	Maeurer 등의 문헌[(1996) <i>Melanoma Res.</i> , 6(1): 11-24]
gp75/TRP-1	Lewis 등의 문헌[(1995) <i>Semin. Cancer Biol.</i> , 6(6): 321-327]
hCG	Hoermann 등의 문헌[(1992) <i>Cancer Res.</i> , 52(6): 1520-1524]
해파라나아제	Vlodavsky 등의 문헌[(1999) <i>Nat. Med.</i> , 5(7): 793-802]
Her2/neu Her3	Lewis 등의 문헌[(1995) <i>Semin Cancer Biol.</i> , 6(6): 321-327]
HMTV	Kahl 등의 문헌[(1991) <i>Br J Cancer</i> , 63(4): 534-540]
Hsp70	Jaattela 등의 문헌[(1998) <i>EMBO J.</i> , 17(21): 6124-6134]
hTERT (텔로머라아제)	Vonderheide 등의 문헌[(1999) <i>Immunity</i> . 10: 673-679. 1999]
IGFR1	Ellis 등의 문헌[(1998) <i>Breast Cancer Res. Treat.</i> , 52: 175-184]
IL-13R	Murata 등의 문헌[(1997) <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> , 238(1): 90-94]
iNOS	Klotz 등의 문헌[(1998) <i>Cancer</i> , 82(10): 1897-1903]
Ki 67	Gerdes 등의 문헌[(1983) <i>Int. J. Cancer</i> , 31: 13-20]
KIAA0205	Gueguen 등의 문헌[(1998) <i>J. Immunol.</i> , 160(12): 6188-6194]
K-ras, H-ras, N-ras	Abrams 등의 문헌[(1996) <i>Semin. Oncol.</i> , 23(1): 118-134]

KSA (CO17-1A)	Zhang 등의 문헌[(1998) <i>Clin. Cancer Res.</i> , 4(2): 295-302]
LDLR-FUT	Caruso 등의 문헌[(1998) <i>Oncol. Rep.</i> , 5(4): 927-930]
MAGE 계열 (MAGE1, MAGE3 등)	Marchand 등의 문헌[(1999) <i>Int. J. Cancer</i> , 80(2): 219-230]
맘마글로빈	Watson 등의 문헌[(1999) <i>Cancer Res.</i> , 59: 13 3028-3031]
MAP 17	Kocher 등의 문헌[(1996) <i>Am. J. Pathol.</i> , 149(2): 493-500]
Melan-A/MART-1	Lewis 및 Houghton의 문헌[(1995) <i>Semin. Cancer Biol.</i> , 6(6): 321-327]
메소텔린	Chang 등의 문헌[(1996) <i>Proc. Natl. Acad. Sci.</i> 93(1): 136-140]
MIC A/B	Groh 등의 문헌[(1998) <i>Science</i> , 279: 1737-1740]
MMP2, MMP3, MMP7, MMP9와 같은 MT-MMP	Sato 및 Seiki의 문헌[(1996) <i>J. Biochem. (Tokyo)</i> , 119(2): 209-215]
Mox1	Candia 등의 문헌[(1992) <i>Development</i> , 116(4): 1123-1136]
MUC-1, MUC-2, MUC-3, 및 MUC-4와 같은 뮤신	Lewis 및 Houghton의 문헌[(1995) <i>Semin. Cancer Biol.</i> , 6(6): 321-327]
MUM-1	Kirkin 등의 문헌[(1998) <i>APMIS</i> , #06(T)# 665-679]
NY-ESO-1	Jager 등의 문헌[(1998) <i>J. Exp. Med.</i> 187: 265-270]
오스테오넥틴	Graham 등의 문헌[(1997) <i>Eur. J. Cancer</i> . 33(10): 1654-1660]
p15	Yoshida 등의 문헌[(1995) <i>Cancer Res.</i> 55(13): 2756-2760]
P170/MDR1	Trock 등의 문헌[(1997) <i>J. Natl. Cancer Inst.</i> , 89(13): 917-931]
p53	Roth 등의 문헌[(1996) <i>Proc. Natl. Acad. Sci.</i> , 93(10): 4781-4786]
p97/멜라노트랜스페린	Furukawa 등의 문헌[(1989) <i>J. Exp. Med.</i> , 169(2): 585-590]
PAI-1	Grondahl-Hansen 등의 문헌[(1993) <i>Cancer Res.</i> 53(11): 2513-2521]
PDGF	Vassbotn 등의 문헌[(1993) <i>Mol. Cell Biol.</i> , 13(7): 4066-4076]
플라스미노겐 (uPA)	Naitoh 등의 문헌[(1995) <i>Jpn. J. Cancer Res.</i> , 86(1): 48-56]
PRAME	Kirkin 등의 문헌[(1998) <i>APMIS</i> , 106(7): 665-679]
프로바신	Matuo 등의 문헌[(1985) <i>Biochem, Biophys. Res. Commun.</i> , 130(1): 293-300]
프로게니포이에틴	Sanda 등의 문헌[(1999) <i>Urology</i> , 53(2): 260-266]
PSA	Kawakami 등의 문헌[(1997) <i>Cancer Res.</i> , 57(12): 2321-2324]
PSM	Gaugler 등의 문헌[(1996) <i>Immunogenetics</i> , 44(5): 323-330]
RAGE-1	Dosaka-Akita 등의 문헌[(1997) <i>Cancer</i> , 79(7): 1329-1337]
Rb	Sonoda 등의 문헌[(1996) <i>Cancer</i> , 77(8) 1501-1509]
RCAS1	Kikuchi 등의 문헌[(1999) <i>Int. J. Cancer</i> , 81 (3): 459-466]
SART-1	Gure 등의 문헌[(1997) <i>Int. J. Cancer</i> , 72(6): 965-971]
SSX 유전자	Bromberg 등의 문헌[(1999) <i>Cell</i> , 98(3): 295-303]
계열(family)	Sandmaier 등의 문헌[(1999) <i>J. Immunother.</i> , 22(1): 54-66]
STAT3 (뮤신 연관)	Kuroki 등의 문헌[(1990) <i>Cancer Res.</i> , 50(16): 4872-4879]
TAG-72	Imanishi 등의 문헌[(1989) <i>Br. J. Cancer</i> , 59(5): 761-765]
TGF-ct	Picon 등의 문헌[(1998) <i>Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.</i> 7(6): 497-504]
TGF-β	Bao 등의 문헌[(1996) <i>Nature Medicine.</i> 2(12), 1322-1328]
티모신 β 15	Moradi 등의 문헌[(1993) <i>Cancer</i> , 72(8): 2433-2440]
IFN-ct	Maulard 등의 문헌[(1994) <i>Cancer</i> , 73(2): 394-398]
TPA	Nishida 등의 문헌[(1984) <i>Cancer Res</i> 44(8): 3324-9]
TPI	Parkhurst 등의 문헌[(1998) <i>Cancer Res.</i> 58(21) 4895-4901]
TRP-2	Kirkin 등의 문헌[(1998) <i>APMIS</i> , 106(7): 665-679]
티로신분해효소	Hyodo 등의 문헌[(1998) <i>Eur. J. Cancer</i> , 34(13): 2041-2045]
VEGF	Sanchez 등의 문헌[(1999) <i>Science</i> , 283(5409): 1914-1919]
ZAG	Sanda 등의 문헌[(1999) <i>Urology</i> , 53(2): 260-266]
p16INK4	Kawakami 등의 문헌[(1997) <i>Cancer Res.</i> , 57(12): 2321-2324]
글루타티온 S-전이효소	Gaugler 등의 문헌[(1996) <i>Immunogenetics</i> , 44(5): 323-330]

[0322] 예시적인 TAA는, 예를 들어 생체 내 및 시험관 내에서 대부분의 종양 세포에서 발현되는 것으로 밝혀진 막 결합 보체 조절 당단백질: CD46, CD55, 및 CD59를 포함한다. 흑색종에서 발견되는 gp100, 티로시나아제, 및 MAGE와 같이, 알려진 종양 마커인 인간 뮤신, 예를 들어 MUC1에 대해서는 표 2-3을 참조한다. 야생형 빌름스 종양 유전자 WT1은 급성 골수성, 급성 림프구성, 및 만성 골수성 백혈병의 대부분에서 뿐만 아니라 폐암을 포함하는 다양한 유형의 고형 종양에서도 높은 수준으로 발현된다.

[0323] 급성 림프구성 백혈병은 TAA HLA-Dr, CD1, CD2, CD5, CD7, CD19, 및 CD20을 특징으로 해왔다. 급성 골수성 백혈병은 TAA HLA-Dr, CD7, CD13, CD14, CD15, CD33, 및 CD34를 특징으로 해왔다. 유방암은 EGFR, HER2, MUC1,

Tag-72 마커를 특징으로 해왔다. 다양한 암종은 MUC1, TAG-72, 및 CEA 마커를 특징으로 해왔다. 만성 림프구성 백혈병은 CD3, CD19, CD20, CD21, CD25, 및 HLA-DR 마커를 특징으로 해왔다. 모양 세포 백혈병은 CD19, CD20, CD21, CD25 마커를 특징으로 해왔다. 호지킨병은 Leu-M1 마커를 특징으로 해왔다. 다양한 흑색종은 HMB 45 마커를 특징으로 해왔다. 비호지킨 림프종은 CD20, CD19, 및 Ia 마커를 특징으로 해왔다. 다양한 전립선암은 PSMA 및 SE10 마커를 특징으로 해왔다.

[0324] 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 2~3에 나열된 단백질로부터 유래된 종양 연관 항원을 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 조성물의 치료적 유효량은 보조제와 공동 투여된다. 일부 구현예에서, 조성물의 치료적 유효량은 수지상 세포와 공동 투여된다.

[0325] 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 2에 나열된 단백질로부터 유래된 각각의 종양 연관 항원을 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것으로서, 여기서 암은 표 2에 있는 각각의 종양 연관 항원과 연관된 암이다. 일부 구현예에서, 조성물의 치료적 유효량은 보조제와 공동 투여된다. 일부 구현예에서, 조성물의 치료적 유효량은 수지상 세포와 공동 투여된다.

[0326] 일부 구현예에서, 종양 항원은 온코바이러스 단백질 항원, 신항원, 또는 암 생식선 유전자로부터 유래된 항원이다.

[0327] 일부 구현예에서, 온코바이러스 단백질 항원은 염산 수용체, HER2, 유두종바이러스 종양단백질 E6 및 유두종바이러스 종양단백질 E7 암배아 항원(CEA), 뮤신 1, EGFR, T 세포 3에 의해 인식되는 편평 세포 암종 항원(SART3), 베타-인간 옴모막 성선자극 호르몬(베타-hCG), 빌름스 종양 항원 1(WT1), 서바이빈, MAGE3, p53, 링펩기 단백질 43 및 외부 미토콘드리아 막 34의 전좌효소(translocase)(TOMM34), 전립선 특이적 항원(PSA)-TRICOM, 및 KRAS이다.

[0328] 일부 구현예에서, 종양 연관 항원(TAA)은 5-알파 환원효소, a-태아단백질, AM-1, APC, APRIL, BAGE, β-카테닌, Bcl2, bcr-abl (b3a2), CA-125, CASP-8/FLICE, 카텡신, CD19, CD20, CD21, CD23, CD22, CD38, CD33, CD35, CD44, CD45, CD46, CD5, CD52, CD55, CD59 (791Tgp72), CDC27, CDK4, CEA, c-myc, Cox-2, DCC, DcR3, E6/E7, EGFR, EMBP, Ena78, FGF8b and FGF8a, FLK-1/KDR, 염산 수용체, G250, GAGE-계열, 가스트린 17, 가스트린-방출 호르몬(봄베신), GD2/GD3/GM2, GnRH, GnTV, gp100/Pmel17, gp-100-in4, gpis, gp75/TRP-1, hCG, 헤파라나아제(Heparanase), Her2/neu Her3, HMTV, Hsp70, hTERT(텔로머라아제), IGFR1, IL-13R, iNOS, Ki 67, KIAA0205, K-ras, H-ras, N-ras, KSA (CO17-1A), LDLR-FUT, MAGE 계열(MAGE1, MAGE3, 등), 맘마글로빈(Mammaglobin), MAP 17, 멜란(Melan)-A/MART-1, 메소텔린(mesothelin), MIC A/B, MT-MMP(예: MMP2, MMP3, MMP7, MMP9), Mox1, 뮤신(예: MUC-1, MUC-2, MUC-3, 및 MUC-4), MUM-1, NY-ESO-1, 오스테오넥틴(Osteonectin), p15, P170/MDR1, p53, p97/멜라노트랜스페린(melanotransferrin), PAI-1, PDGF, 플라스미노겐(Plasminogen) (uPA), PRAME, 프로바신(Probasin), 프로게니포이에틴(Progenipoietin), PSA, PSM, RAGE-1, Rb, RCAS1, SART-1, SSX 유전자 계열, STAT3 (뮤신 연관), TAG-72, TGF-ct, TGF-β, 티모신(Thymosin) β 15, IFN-ct, TPA, TPI, TRP-2, 티로시나아제(Tyrosinase), VEGF, ZAG, p16INK4, 또는 글루타티온 S-전이효소이다.

[0329] 일부 구현예에서, 신항원은 BRCA1, BRCA2 BRAF, KRAS, EGFR, IDH1, PIK3CA, ROS1, HLA, JAK1, JAK2, PARK2, ATM, p53, TP53, erbb2 상호작용 단백질(ERBB2IP), 베타-2-마이크로글로불린(β2m), 시클린 의존성 키나아제 억제제 2A(CDKN2A), 대체 관독 프레임(ARF), 또는 시클린 의존성 키나아제 4(CDK4)이다.

[0330] 일부 구현예에서, 암 생식선 유전자는 MAGEA1, MAGEA2, MAGEA3, MAGEA4, MAGEA5, MAGEA6, MAGEA8, MAGEA9, MAGEA10, MAGEA11, MAGEA12, BAGE, BAGE2, BAGE3, BAGE4, BAGE5, MAGEB1, MAGEB2, MAGEB5, MAGEB6, MAGEB3, MAGEB4, GAGE1, GAGE2A, GAGE3, GAGE4, GAGE5, GAGE6, GAGE7, GAGE8, Ssx1, Ssx2, Ssx2b, Ssx3, Ssx4, CTAG1B, LAGE-1b, CTAG2, MAGEC1, MAGEC3, SYCP1, BRDT, MAGEC2, SPANXA1, SPANXB1, SPANXC, SPANXD, SPANXN1, SPANXN2, SPANXN3, SPANXN4, SPANXN5, XAGE1D, XAGE1C, XAGE1B, XAGE1, XAGE2, XAGE3, XAGE-3b, XAGE-4/RP11-167P23.2, XAGE5, DDX43, SAGE1, ADAM2, PAGE5, CT16.2, PAGE1, PAGE2, PAGE2B, PAGE3, PAGE4, LIPI, VENTXP1, IL13RA2, TSP50, CTAGE1, CTAGE-2, CTAGE5, SPA17, ACRBP, CSAG1, CSAG2, DSCR8, MMA1b, DDX53, CTCFL, LUZP4, CASC5, TFDP3, JARID1B, LDHC, MORC1, DKKL1, SPO11, CRISP2, FMR1NB, FTHL17, NXF2, TAF7L, TDRD1, TDRD6, TDRD4, TEX15, FATE1, TPTE, CT45A1, CT45A2, CT45A3, CT45A4, CT45A5, CT45A6,

patients with advanced follicular lymphoma. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *New Engl. J. Med.*, 1993, 329, 1608-1614]; Kirkwood 등의 문헌[Interferon alfa-2b adjuvant therapy of high-risk resected cutaneous melanoma: the Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684. *J. Clin. Oncol.*, 1996, 14, 7-17]; Groopman 등의 문헌[Recombinant alpha-2 interferon therapy for Kaposi's sarcoma associated with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Intern. Med.*, 1984, 100, 671-676]).

[0336] IL-6은 면역 체계에 영향을 미칠 뿐만 아니라, 세포 성장 조절뿐만 아니라 유전자 활성화, 증식, 생존, 및 분화와 같은, 다른 생물학적 시스템 및 많은 생리학적 사건에서도 작용하는 다면 발현성 사이토카인(pleiotropic cytokine)이다. IL-6은 단핵구, 섬유아세포, 및 내피 세포를 포함하는 다양한 세포 유형에 의해 생산된다. 자극 후, IL-6은 대식세포, T 세포, B 세포, 비만 세포, 교세포, 호산구, 각질세포, 및 과립구를 포함하는 많은 추가 세포 유형에 의해 분비된다. IL-6은 여러 유형의 백혈구를 자극하고 간에서 급성기 단백질의 생성을 자극한다. 이는 B 세포를 항체 형성 세포(형질 세포)로 분화시키는 데 있어서 특히 중요하다. IL-6이 이의 수용체에 결합하면 JAK(야누스 키나아제) 키나아제의 활성화 및 Ras 매개 신호전달의 활성화를 포함하는 세포 이벤트가 시작된다.

[0337] 다른 Th1 전염증성 사이토카인과 마찬가지로, TNF- α 는 국소 염증 반응 및 순환에서의 염증 반응 모두를 포함하는 중요한 역할을 한다. TNF- α 는 혈관 내피 세포의 발현을 촉발할 뿐만 아니라, 면역 세포 침윤을 자극하는 백혈구 부착 분자도 향상시킨다. 이는 감염 부위에 림프구가 침윤하는 것을 향상시킴으로써 바이러스 감염에 대한 초기 반응에서 중요한 역할을 한다

[0338] 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법은 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 전염증성 사이토카인을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다.

[0339] 일부 구현예에서, 본 개시는 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 전염증성 사이토카인을 암호화하는 치료 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 이러한 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여함으로써 암을 치료하기 위한 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0340] 일부 구현예에서, 사이토카인은 IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ , IL-18, IL-15, IL-2, TNF- α , IL-10, TGF- β , CSF-1, CCL2, CCL3, CCL5, 또는 VEGF이다.

[0341] **유전자 조절 폴리뉴클레오티드**

[0342] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 예를 들어, 유전자 또는 이의 전사체를 표적화함으로써 암 성장 및/또는 진행을 촉진하는 유전자 산물의 발현을 감소시키거나 침묵화하는 유전자 조절 폴리뉴클레오티드를 전달하는 데 사용된다. 유전자 조절 폴리뉴클레오티드의 비제한적인 예는 siRNA, miRNA, saRNA, 안타고미르(antagomir), 안티센스 올리고뉴클레오티드, 및 유인 올리고뉴클레오티드(decoy oligonucleotide)를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조절 폴리뉴클레오티드는 변형되었거나 변형되지 않은 비-복제 mRNA이다. 일부 구현예에서, 유전자 조절 폴리뉴클레오티드는 자가 증폭 mRNA이다. 일부 구현예에서, 유전자 조절 폴리뉴클레오티드는 단백질 또는 펩티드를 암호화하는 플라스미드이다. 일부 구현예에서, 유전자 조절 폴리뉴클레오티드는 발현 조절 폴리뉴클레오티드이다. 치료 능력에 대해 연구된 다양한 유형의 유전자 조절 폴리뉴클레오티드를 검토하기 위해서는, 예를 들어 Roberts TC, Langer R, Wood MJA의 문헌[“Advances in oligonucleotide drug delivery,” *Nat. Rev. Drug Discov.*, 19(10):673-94 (2020)]을 참조하고, 그 내용은 참조로서 본원에 통합된다.

[0343] 따라서, 일 양태에서, 본 개시는 암을 치료하기 위한 조성물뿐만 아니라, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, (ii) 유전자 조절 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다. 일부 구현예에서, 유전자 조절 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 유전자 조절 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0344] **siRNA**

- [0345] 본 개시는 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것으로, 본원에 기술된 바와 같은 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) siRNA 간에 형성된 복합체를 포함한다. 짧은 간섭 RNA 또는 침묵화 RNA로도 알려진 소형 간섭 RNA(siRNA)는 이중 가닥 RNA 비암호화 RNA 분자의 부류이며, 이는 일반적으로 20 내지 27개 염기쌍 길이이고, RNA 간섭(RNAi) 경로 내에서 작동한다. siRNA와 같은 유전자 조절 핵산 약물은 전사 후 유전자 발현을 조절하고, 표적화된 유전자를 침묵시키며, 암 진행에 관여하는 세포내 신호 전달 경로를 추가로 조절할 수 있다(Zhou 등의 문헌[Delivery of nucleic acid therapeutics for cancer immunotherapy, *Medicine in Drug Discovery*, March 24, 2020]; Dahlman 등의 문헌[In vivo endothelial siRNA delivery using polymeric nanoparticles with low molecular weight, *Nature Nanotechnol.* 2014;9(8):648-655]). 일부 구현예에서, siRNA는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, siRNA는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.
- [0346] 따라서, siRNA는 번역 후 유전자 발현을 조절하고/하거나 상응하는 유전자를 침묵화시킴으로써 본원에 기술된 바와 같은 면역 관문 분자의 발현을 조절하는 데 사용될 수 있다. 유사하게, siRNA는 면역 관문 분자의 작용제 또는 억제제의 발현을 조절함으로써 면역 관문 분자의 활성을 간접적으로 조절하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 면역 관문 분자를 암호화하는 유전자로부터 mRNA 전사체를 표적화하는 siRNA 간에 형성된 복합체를 포함한다.
- [0347] 예를 들어, PD-1 및 이의 특정 상동체, 예를 들어, PD-L1은 특히 종양 미세환경에서 T 세포 반응을 억제한다. 따라서, PD-1 및/또는 PD-L1의 억제제는 종양 세포를 공격하고 사멸시키는 데 있어서 T 세포의 효능을 개선할 수 있다. PD-1 및/또는 PD-L1 활성의 억제는, 예를 들어 세포 내에서 PD-1 및/또는 PD-L1의 생성을 억제함으로써 달성될 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 제공된 암을 치료하기 위한 조성물은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) PD-1 또는 PD-L1에 대한 mRNA 전사체를 표적화하는 siRNA 간에 형성된 복합체를 포함한다.
- [0348] 세포독성 T 림프구 연관 항원 4(CTLA-4) 활성의 억제는 T 세포의 신속한 침윤을 초래하는 것으로 알려져 있다. 따라서, CTLA-4의 억제제는 T 세포 반응을 촉진시킬 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 제공된 암을 치료하기 위한 조성물은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) CTLA-4에 대한 mRNA 전사체를 표적화하는 siRNA 간에 형성된 복합체를 포함한다.
- [0349] siRNA는 유사하게 종양 성장 또는 혈관형성을 조절하는 유전자를 침묵화하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, siRNA는 (고형 종양, 예를 들어, 결장암으로부터의 간 전이에 대해) 혈관 내피 성장 인자(VEGF) 및 키네신 스핀들 단백질(KSP)을 표적화하는 데 사용되어 왔다. siRNA를 사용하여 침묵화될 수 있는 다른 유전적 표적은, 단백질 키나아제 N3(PKN3)(예를 들어, 전이성 췌장암의 경우), 리보뉴클레오티드 환원효소(RRM2)의 M2 서브유닛(예를 들어, 고형 종양의 경우), Myc 종양단백질(예를 들어, 간세포 암종의 경우), 에프린 A형 수용체 2(EphA2)(예를 들어, 진행성 암의 경우), 및 KRAS G12D 돌연변이(예를 들어, 진행성 췌장암의 경우)를 암호화하는 유전자를 포함하나, 이에 한정되지는 않는다. 예를 들어, *International Journal of Nanomedicine* 2019;14 3111-3128을 참조한다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 제공된 암을 치료하기 위한 조성물은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편 사이, 및 (ii) VEGF, KSP, PKN3, RRM2, EphA2, ERBB2/HER2, SOCS1, PLK1, 또는 KRAS에 대한 mRNA 전사체를 표적화하는 siRNA 간에 형성된 복합체를 포함한다.
- [0350] 본원에 기술된 방법 및 조성물에 사용되는 siRNA의 다른 예는, CD8+ T 세포에서 IL-2 신호 전달을 하향조절하기 위해 CD25(IL-2 수용체)를 암호화하는 유전자로부터의 mRNA 전사체를 표적화하는 siRNA를 포함하나, 이에 한정되지는 않는다.
- [0351] 연구중인 siRNA 및 연관 암 유형의 다른 비제한적인 예는 아래의 표 4에 제공되어 있다(예를 들어, *Int. J. Mol. Sci.* 22 (2021) 3295 참조):

[표 4] 예시적인 siRNA 및 연관 암 유형.

약물/치료제	표적	암
KRAS G12D siRNA	KRASG12D	췌장암
EphA2-표적화 DOPC-캡슐화 siRNA	EPHA2	고형 종양
APN401	CBLB	뇌암, 흑색종, 췌장암, 신장세포암
프로테오솜 siRNA 및 종양 항원 RNA-형질감염 수지상 세포	LMP2, LMP7, MECL1	흑색종
TKM-080301	PLK1	간 전이를 동반한 암, 간암, 간세포암, 부신피질암
Atu027	PNK3	고형 종양, 췌장암
DCR-MYC	MYC	고형 종양, 간세포암
CALAA-01	리보뉴클레오티드 환원효소 2 의 M2 서브유닛	고형 종양
siG12D LODER	KRASG12D	췌장암
ARO-HIF2	HIF2A	투명 세포 신장 세포 암종
siRNA 를 운반하는 SV40 벡터	알 수 없음	만성 골수성 백혈병

[0352]

[0353]

따라서, 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물 및, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 4에 나열된 siRNA 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다.

[0354]

일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 4에 나열된 각각의 siRNA 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이며, 여기서 암은 표 4의 각각의 siRNA와 연관된 암이다.

[0355]

일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물 및, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 4에 나열된 유전자로부터의 전사체를 표적화하는 siRNA 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다.

[0356]

일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 4에 나열된 각각의 유전자로부터의 전사체를 표적화하는 siRNA 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이며, 여기서 암은 표 4의 각각의 유전자와 연관된 암이다.

[0357]

miRNA

[0358]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) miRNA 간에 형성된 복합체를 포함한다. 마이크로RNA(miRNA)는 유전자 발현을 조절하는 데 중요한 역할을 하는 비암호화 RNA의 부류이다. miRNA는 siRNA와 유사한 메커니즘으로 표적 유전자 발현을 조절할 수 있는 길이가 약 18 내지 24 nt인 내인성 소형 비암호화 RNA이다(Zhou 등의 문헌 [Delivery of nucleic acid therapeutics for cancer immunotherapy, *Medicine in Drug Discovery*, March 24, 2020]; Xiao 등의 문헌[MicroRNA control in the immune system; basic principles, *Cell*, 2009; 136(1):26-36]). miRNA 전달의 한 가지 주 과제는 이를 효율적인 깊은 조직 침투로 종양 조직 내에 전달하는 것이다. 더욱이, 종양 미세환경의 복합체화는 또한 miRNA가 효율적으로 표적 종양 세포 내에 세포내 전달되는 것을 방해한다(Rupaimoole 등의 문헌[miRNA deregulation in cancer cells and the tumor microenvironment. *Cancer Discov.* 2016;6(3):235-46]). 일부 구현예에서, miRNA는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, miRNA는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 결합된다.

- [0359] 그러나, 유리하게는, miRNA의 발현은 구별되는 종양에 특이적이며, miRNA는 면역 반응의 조기 조절에 관여한다. 암을 치료하는 하나의 접근법은 miRNA의 수준을 조절함으로써 본원에 기술된 것과 같은 면역 관문 분자의 발현을 조절하는 것이다. 면역 관문 관련 과정을 조절하는 miRNA의 예는 PD-L1 및 CD80의 발현을 조절하는 miR-15a, -15b, -16, -195, -424, -497, 및 -503을 포함하나, 이에 한정되지는 않는다. 종양 억제 기능을 갖는 miRNA의 또 다른 예는 miR-28이며, 이는 각각의 3' UTR에 결합함으로써 T 세포에서 TIM3, BTLA, 및 PD-1의 발현을 억제한다. miRNA의 또 다른 예는 효과기 및 조절 T 세포 둘 모두에서 PD-1 및 CTLA-4의 발현을 억제하는 miR-138이다. miR-34a, -34b 및 -34c를 포함하는 miR-34 계열은 PD-L1의 발현을 억제한다.
- [0360] miR-138-5p의 발현은 CRC 세포의 증식을 방해하고, 세포 주기에서의 G1로부터 S기로의 전이를 차단하고, PD-L1 발현을 직접적으로 억제하는 것으로 알려져 있다.
- [0361] 특정 유형의 암 세포에서 과발현되는, 예를 들어 miR-20b, -21, 및 -130b와 같은 다른 miRNA는 PTEN의 발현에 의해 종양 미세환경에서 T 세포 활성화를 간접적으로 완화시키는 데 효과적일 수 있다.
- [0362] 따라서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 면역 관문 분자의 발현을 직접 또는 간접적으로 조절하는 miRNA 간에 형성된 복합체를 포함한다.
- [0363] 일부 구현예에서, miRNA는 miR-15a, miR-15b, miR-16, miR-20b, miR-21, miR-28, miR-34a, miR-34b, miR-34c, miR-125b, miR-130b, miR-138, miR-138-5p, miR-155, miR-195, miR-197, miR-200, miR-210, miR-221, miR-222, miR-424, miR-497, miR-503, 또는 miR-513이다.
- [0364] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 면역 관문 분자의 발현을 직접 또는 간접적으로 조절하는 miRNA 모방 분자 간에 형성된 복합체를 포함한다. miRNA는 동일한 서열로 인해 내인성 miRNA를 모방하는 이중 가닥 합성 RNA일 수 있다.
- [0365] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 면역 관문 분자의 발현을 직접 또는 간접적으로 조절하는 miRNA를 암호화하는 miRNA 발현 벡터 간에 형성된 복합체를 포함한다.
- [0366] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 면역 관문 분자의 발현을 직접 또는 간접적으로 조절하는 miRNA를 표적화하는 LNA-변형된 안티센스 올리고데옥시리보뉴클레오티드(ASO) 간에 형성된 복합체를 포함한다. LNA는 2' -O, 4' -C 메틸렌 가교의 도입에 의해 리보오스가 C3' -엔도 형태로 잠긴 이환 RNA 유사체이다.
- [0367] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 면역 관문 분자의 발현을 직접 또는 간접적으로 조절하는 miRNA를 표적화하는 안타고미르(antagomir) 간에 형성된 복합체를 포함한다. 안타고미르는 2' -O-메톡시에틸 이외에 부분 포스포로티오에이트 백본으로 변형된 표적화된 miRNA에 상보적인 단일-가닥 23-뉴클레오티드 RNA 분자일 수 있다. 이는 miRNA를 분해로부터 보호함으로써 miRNA의 안정성을 증가시키는 것으로 알려져 있다.
- [0368] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 면역 관문 분자의 발현을 직접 또는 간접적으로 조절하는 miRNA를 표적화하는 안티센스 올리고데옥시리보뉴클레오티드(ASO) 간에 형성된 복합체를 포함한다.
- [0369] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 면역 관문 분자의 발현을 직접 또는 간접적으로 조절하는 miRNA 스폰지 간에 형성된 복합체를 포함한다. miRNA 스폰지는 발현 벡터로부터 전사된 관심 miRNA에 대한 다수의 직렬 결합 부위를 함유하는 RNA일 수 있다.
- [0370] 유사하게, 종양 성장 또는 혈관형성과 연관된 단백질의 발현을 조절하는 miRNA는 본원에 기술된 바와 같은 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 복합체를 형성함으로써 전달될 수도 있다. miRNA 및 miRNA와 연관된 암의 비제한적인 예는 표 5에 제공되어 있다.

[표 5] 암 치료를 위해 연구중인 예시적인 miRNA(예를 들어, *Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (2019) Vol. 30, No. 2, pp. 114-127 참조).

miRNA	암
miR-122	HCV
miR-155	림프종 및 백혈병
miR-16	중피종
miR-34	신장세포 암종, 말단 흑색종, 간세포 암종
MRX34	간암, 폐암, 림프종, 흑색종, 다발성 골수종, 신장세포암
INT-1B3	고형 종양
TargomiRs	악성 흉막 중피종, 비소세포 폐암
코보마르센 (MRG-106)	피부 T-세포 림프종, 대장암

[0371]

[0372]

따라서, 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물 및, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 5에 나열된 miRNA 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다.

[0373]

일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 5에 나열된 각각의 miRNA 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이며, 여기서 암은 표 5의 각각의 miRNA와 연관된 암이다.

[0374]

saRNA

[0375]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) saRNA 간에 형성된 복합체를 포함한다. 소형-활성화 RNA(saRNA)는 양 말단에서 2 nt 오버행을 갖는 약 21 nt 길이의 비암호화 dsRNA의 부류이다(Zhou 등의 문헌[*Medicine in Drug Discovery*, March 24, 2020]; Kwok 등의 문헌[*Ther. Deliv.* 2019;10(3):151-64]). 이는 siRNA와 유사한 구조를 공유하지만, 반대되는 유전자 조절 기전을 갖는다. 세포질 내의 saRNA는 AGO2 단백질에 특이적으로 로딩되고, 이 RNA-AGO2 복합체는 핵으로 수송되어 유전자 활성화를 위한 표적화된 유전자 프로모터를 유도한다(Li 등의 문헌[*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006;103(46): 17337-42]). 핵에서의 saRNA-AGO2 복합체는 전사 개시를 위한 필수 단백질, 예컨대 RNA 헬리카아제 A, RNA 중합효소-연관 단백질 CTR9 상동체(CTR9), 및 RNA 중합효소 II-연관 인자 1 상동체(PAF1)를 동원하는 것으로 보고되었다(Portnoy 등의 문헌[*Cell Res.* 2016;26(3): 320-35]). 유전자 상향조절의 능력으로 인해, saRNA는 암 면역요법과 같은 응용에 대한 가능성을 나타낸다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 면역 관문 분자를 암호화하는 유전자의 활성을 유도하는 saRNA 간에 형성된 복합체를 포함한다. 일부 구현예에서, saRNA는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, saRNA는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 결합된다.

[0376]

일례로서, saRNA는 전사 인자 CCATT/인헨서 결합 단백질 알파(CEBPA)를 상향조절할 수 있으며, 이는 랫트 모델에서 기능적 C/EBP 단백질 및 알부민의 증가를 초래하고 간암의 성장을 억제한다. 암 치료용으로 연구 중인 saRNA의 다른 비제한적인 예는 표 6에 나열되어 있다.

[표 6] 암 치료용으로 연구 중인 saRNA

saRNA	암
C/EBP α -saRNA	간세포 암종, 췌장관 선암종
dsP21-322	방광 종양

[0377]

[0378]

안타고미르(Antagomir)

[0379] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 안타고미르(antagomir) 간에 형성된 복합체를 포함한다. 안타고미르는 Ago2의 절단 부위에서의 미스페어링 또는 Ago2 절단을 억제하기 위한 일종의 염기 변형을 갖는 특이적 miRNA 표적에 상보적인 소형 합성 RNA이다. 안타고미르는 세포 표적 mRNA와 경쟁하여 특이적 내인성 마이크로 RNA를 격리시키고, miRNA 억제를 유도하고 RISC를 통한 mRNA 표적 분해를 방지한다. 따라서, 안타고미르는 miRNA 기능 상실이 유리한 치료에 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 안타고미르는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 안타고미르는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0380] 안타고미르의 일례는 항-miR21이다. 기존 연구는 항-miR21의 사용을 통한 miR21의 침묵화가 결장암 세포에서 생존력, 세포자멸사 및 세포 주기에 영향을 미쳤음을 입증하였다(Song 등의 문헌[“The anti-miR21 antagomir, a therapeutic tool for colorectal cancer, has a potential synergistic effect by perturbing an angiogenesis-associated miR30,” *Front. Genet*, January 2014]).

[0381] 안타고미르의 다른 예는 안타고미르-221이다. 기존 연구는 안타고미르-221가 P27KIP1, P57KIP2, 및 인산분해효소 및 텐신 상동체(PTEN)와 같은 종양 억제 표적 단백질을 억제하며, HCC에서 중요한 역할을 하는 miR-221의 기능을 억제함으로써 세포 증식을 감소시킬 수 있다는 것을 입증하였다. 마찬가지로, 여러 연구는 안타고미르-21이 PTEN을 표적화함으로써 AKT 세린/트레오닌 키나아제 1(AKT) 및 ERK1/2 경로의 불활성화를 통해 상피암-중간엽 전이(EMT)를 역전시켰음을 입증하였다. 안타고미르-21의 이러한 작용은 잠재적으로 유방암의 악성 성향의 인과 메커니즘을 표적화하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, Atri 등의 문헌[AGO-Driven Non-Coding RNAs (2019)]을 참조한다.

[0382] miR-155를 표적화하는 안타고미르는 1상(NCT02580552) 및 2상(NCT03713320) 임상시험 중이다. miR-155는 혈액 및 림프 세포의 분화 및 증식을 조절하며 특정 종류의 림프종 및 백혈병을 치료하기에 적합한 표적이다. 예를 들어, “RNA-Based Therapeutics: From Antisense Oligonucleotides to miRNAs,” *Cells* 9 (2020), 137 참조.

[0383] 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 종양 연관 mRNA의 번역을 조절하는 마이크로RNA를 표적화하는 안타고미르 간에 형성된 복합체를 포함한다. 안타고미르의 비제한적인 예는 안타고미르-221, 안타고미르-21 및 안타고미르-155를 포함한다.

[0384] **안티센스 올리고뉴클레오티드(ASO)**

[0385] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 암을 치료하기 위한 조성물은, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 안티센스 올리고뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함한다. 안티센스 올리고뉴클레오티드(ASO)는 임의의 관심 유전자 산물을 표적화할 가능성이 있는 뉴클레오티드의 짧은, 합성된, 화학적으로 변형된 사슬이다. 통상적으로, ASO는 세포 내의 표적 유전자의 전사된 전령 RNA(mRNA)의 서열에 상보적인 단일 가닥 서열이다(Rinaldi 등의 문헌[“Antisense oligonucleotides: the next frontier for treatment of neurological disorders,” *Nat. Rev. Neurol.* 2018;14(1):9-21]; Bennett의 문헌[Therapeutic Antisense Oligonucleotides Are Coming of Age. *Ann. Rev. Med.* 2019; 70:307-321]). ASO는 상응하는 mRNA를 표적화하여 내인성 세포 RNase H와 같은 기전에 의해 표적화된 복합체를 분해한다. 일부 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0386] 암 요법에 사용되는 ASO의 일례는, CD8+ T 세포 증식을 개선함으로써 항종양 면역 반응을 개선하기 위해 CD39 mRNA를 표적화하는 ASO이다. Zhou 등의 문헌[*Medicine in Drug Discovery*, 6:(2020) 100023].

[0387] ASO 및 ASO와 연관된 암의 다른 비제한적인 예는 표 7에 제공되어 있다.

표 7

[0388] 암 치료용으로 연구중인 ASO의 예(예를 들어, *Int. J. Mol. Sci* 22 (2021) 3295 참조):

약물/치료제	표적	암
AEG35156	AEG35156	간세포암, 췌장암, 유방암, 비소세포 폐암, 백혈병, 림프종
아파토르센 (OGX-427)	HSP27	비뇨기암, 방광암, 전립선암, 요로상피암, 비소세포 폐암

ARRx (AZD5312)	AR	전립선암
AZD4785	KRAS	비소세포 폐암
AZD8701	FOXP3	진행성 암
AZD9150	STAT3	방광암, 림프종, 악성 종양
BP1001	GRB2	Ph1 양성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병
세네르센(Cenersen) (EL625)	TP53	급성 골수성 백혈병, 림프종
CpG 7909 (PF03512676)	TLR9	흑색종, 유방암, 신장암, 림프종, 비소세포 폐암, 식도암, 전립선암
CpG ODN (GNKG168)	TLR9	백혈병
CpG 올리고뉴클레오티드	TLR9	유방암
CpG-ODN	TLR9	교모세포종
커스터센(Custirsen) (OGX-011)	ApoJ	전립선암, 유방암, 비소세포 폐암
단바티센(Danvatirsen) (AZD9150, ISIS STAT3Rx)	STAT3	진행성 암
EGFR 안티센스 DNA	EGFR	두경부 편평 세포암, 위암, 난소암, 전립선암
EZN-2968 (RO7070179, SPC2968)	HIF1A	간세포암, 림프종
G4460	CMYB	백혈병, 혈액암
IGF-1R/AS ODN	IGF1	신경교종
안티센스 올리고뉴클레오티드(IMV-001)로 치료된 자가 GBM 세포를 함유하는 IGV-001	IGF1R	교모세포종
IMO-2055 (EMD 1201081)	TLR9	신장세포암, 대장암, 비소세포 폐암, 두경부암
ION251	IRF4	골수종
ION537	YAP1	진행성 고형 종양
ISIS 183750 (ISIS-EIF4ERx, LY2275796)	EIF4E	거세 저항성 전립선암, 비소세포 폐암, 대장암
ISIS 2503	HRAS	대장암, 췌장암
ISIS 5132	CRAF	난소암
L-Bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드	BCL2	진행성 림프구 악성 종양
LErafAON	CRAF	암
루카닉스(Lucanix)	TGFB2	비소세포 폐암
LY2181308	BIRC5	비소세포 폐암
LY900003 (ISIS 3521, Affinitak)	PKCA	흑색종, 폐암, 비소세포 폐암, 유방암
MTL-CEBPA	CEBPA	간세포 암
오블리머센(Oblimersen) (G3139)	BCL2	암
OGX-427	HSP27	암
PNT2258	BCL2	전립선암, 림프종, 흑색종
SPC2996	BCL2	만성 림프구성 백혈병
TGF 2 안티센스-GMCSF 유전자 변형된 자가 종양 세포(TAG) 백신	TGFB2	진행성 암
SD-101	TLR9	암
트라베더센(Trabedersen) (AP 12009, OT-101)	TGFB2	교모세포종, 역형성 성상세포종, 췌장암, 흑색종, 대장암
VEGF-안티센스 올리고뉴클레오티드	VEGF	중피종

[0389] 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물 및, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 7에 나열된 안티센스 올리고뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다.

[0390] 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 7에 나열된 각각의 안티센스 올리고뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이며, 여기서 암은 표 7의 각각의 안티센스 올리고뉴클레오티드와 연관된 암이다.

[0391] 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물 및, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화

3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 7에 나열된 유전자로부터의 전사체를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다.

[0392] 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물, 및 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 7에 나열된 각각의 유전자로부터의 전사체를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이며, 여기서 암은 표 7의 각각의 유전자와 연관된 암이다.

[0393] **유인 올리고뉴클레오티드(Decoy Oligonucleotides)**

[0394] 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물뿐만 아니라, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 유인 올리고뉴클레오티드 또는 유인 올리고뉴클레오티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 유인 올리고뉴클레오티드로 지칭되는 시스-요소 이중 가닥 올리고뉴클레오티드의 형질감염은 유전자 요법을 위한 새로운 부류의 항원 전략을 제공하는 강력한 도구인 것으로 보고되었다(Crinelli 등의 문헌[Design and characterization of decoy oligonucleotides containing locked nucleic acids. *Nucleic Acid Res.* 2002; 30(11): 2435-2443]). 이러한 일례는, 잠재적 항종양 활성을 갖는 c-fos 프로모터 내의 신호 변환기 및 전사 활성화제 3(STAT3) 반응 요소에 밀접하게 상응하는 이중 가닥 15-량체 올리고뉴클레오티드인 STAT3 유인 올리고뉴클레오티드이다. STAT3 유인 올리고뉴클레오티드는 활성화된 STAT3에 특이적으로 결합하고, 다양한 STAT3-반응성 프로모터에 대해 DNA 서열에 대한 STAT3의 결합을 차단하여, STAT3 매개 전사를 억제하고 잠재적으로 종양 세포 증식을 억제한다. STAT3은 두경부의 편평 세포 암종을 포함하는 다양한 암에서 구성적으로 활성화되어, 세포 성장 조절의 상실 및 신생물 형질전환에 기여한다. 일부 구현예에서, 유인 올리고뉴클레오티드 또는 유인 올리고뉴클레오티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 유인 올리고뉴클레오티드 또는 유인 올리고뉴클레오티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0395] 게놈 편집을 수행할 수 있는 복합체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드의 예가 다음 섹션에 기술된다.

[0396] **징크 핑거 뉴클레아제**

[0397] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 징크-핑거 뉴클레아제를 암호화하는 폴리뉴클레오티드에 복합체화된다. 징크-핑거 뉴클레아제는 게놈 편집 뉴클레아제이다. 이들은 징크 핑거 DNA 결합 도메인을 DNA 절단 도메인에 융합함으로써 생성된 인공 제한 효소이다. 설계된 징크-핑거 도메인의 결합 특이성은 징크-핑거 뉴클레아제를 특정 게놈 부위로 유도한다.

[0398] 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 유전자를 편집하기 위한 조성물뿐만 아니라, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 징크-핑거 뉴클레아제를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 유전자 편집을 필요로 하는 대상체에서의 유전자를 편집하기 위한 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 징크 핑거 뉴클레아제를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 징크 핑거 뉴클레아제를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0399] ZFN 기술이 초파리, 제브라피시, 및 랫트를 포함하는 다수의 유기체에서 성공을 거두면서, ZFN 기술은 K562 세포, T 세포, 및 hPSC와 같은 인간 세포 배양에도 성공적으로 사용되어 왔다. 이는, hESC의 내인성 CCR5 유전자좌에 ZFN-주도 표적화 유전자를 첨가하여 미분화 상태 및 분화 상태 모두에서 적어도 2개월 동안 GFP를 안정적으로 발현하는 녹색 형광 단백질(GFP) 리포터 세포주를 생성함으로써 먼저 입증되었다. OCT4(POU5F1로도 알려짐) 유전자좌에 도입된 eGFP 유전자는 그의 전사 상태를 충실하게 반영하여, 내인성 다능성 리포터 세포주를 생성하는 것으로 보고되었다. ZFN-주도 유전자 첨가는, 구성적 또는 유도성 발현을 위한 AAVS1와 같은 유비쿼터스 유전자좌 내로 또는 PITX3과 같은 분화된 계통-특이적 유전자좌 내로 형광 리포터 유전자 및 약물-저항성 유전자를 도입하여, 다능성을 모니터링하고 세포 분화를 추적하는 데에도 성공적으로 사용되어 왔다. 이들 연구 모두에서, 특이적이고 안정한 유전자 첨가는 다능성을 상실하지 않고도 높은 효율로 달성되었으며, 보다 중요하게는, 통합된 유전자는 줄기 세포가 분화될 때 높은 발현 수준을 유지하였다.

[0400] hPSC에서의 표적 게놈 편집에서의 성공에도 불구하고, ZFN 기술은 여러 한계가 있다. 우선, 2개의 ZFN 및 상동성 DNA가 hPSC 내로 공동 전달되어야 하는데, 이는 일반적으로 바이러스 벡터를 사용하는 효율적인 전달 방법을 필요로 한다. 그러나, 바이러스 벡터는 바이러스 서열을 표적 게놈 내로 무작위로 통합시켜, hPSC에서 중요한 유전자를 파괴할 수 있다. 형질감염 및 전기천공 방법 또는 심지어 직접 단백질 전달 방법이 바이러스 벡터를 우회하여 관심 세포 내로 ZFN 및 DNA를 도입하는 데 사용되어 왔다. ZFN 기술을 성공적으로 적용하기 위한 또 다른 장애물은, 조립된 ZFN이 각각의 개별 징크 핑거의 3-bp 결합 서열의 복합체인 표적화된 서열에 대해 높은 친화도를 반드시 갖지 않는, 탠덤 징크 핑거의 불완전한 모듈식 성질로 인해 ZFN의 설계가 항상 어렵고 시간이 많이 걸린다는 것이다. 또한, 징크-핑거 어셈블리의 불완전한 모듈식 구조 및 FokI 절단 도메인의 비특이적 부위 결합 또한 표적 외 활성화 및 세포 독성의 위험을 증가시킨다. 이러한 문제를 해결하기 위해, 올리고머화된 풀조작 및 유도식 진화를 포함하는 구조 및 선택 기반 접근법을 적용하여 DNA 결합 특이성이 최적화되고 세포 독성이 감소된 개선된 ZFN을 생성하였다.

[0401] **전사 활성화제 유사 효과기 뉴클레아제(TALEN)**

[0402] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 전사 활성화제-유사 효과기 뉴클레아제(TALEN)를 암호화하는 폴리뉴클레오티드에 복합체화된다. TALEN은 인공 엔도뉴클레아제(예를 들어, 제한 효소)이고, 전사 활성화제-유사 효과기(TALE) DNA 결합 도메인을 DNA 절단 도메인과 융합함으로써 생산된다. TALEN은 임의의 관심 DNA 서열에 결합하도록 조작될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 유전자를 편집하기 위한 조성물뿐만 아니라, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) TALEN을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서 유전자를 편집하기 위한 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, TALEN을 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, TALEN을 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0403] 일 구현예에서, 조작된 TALEN은 N-말단에서 C-말단 방향으로 제1 스페이서, TALE DNA 결합 도메인, 제2 스페이서, 및 C-말단에 융합된 FokI 뉴클레아제 촉매 도메인을 포함한다. DNA 절단 도메인은 DNA 가닥을 절단하므로, TALE DNA 결합 도메인과의 융합은 이중 가닥 절단을 유도함으로써 게놈을 편집하는 관심 DNA 서열에 특이적일 수 있다. TALEN은 단독으로, 쌍으로, 또는 복수의 쌍으로 기능할 수 있다. 예를 들어, TALE DNA 결합 도메인은 스페이서에 걸쳐 서로 대향하여 위치된 표적에 결합할 수 있으며, 여기서 FokI 도메인은 함께 결합되어 DNA에 파단을 생성한다. 일 양태에서, TALE DNA 결합 도메인은 개시된 TALEN에 사용되도록 설계될 수 있다. 단일 TALEN(본원에서 단량체 TALEN 또는 TALEN 단량체로도 지칭됨)은 C-말단에 융합된 TALE DNA 결합 도메인 및 FokI 뉴클레아제 촉매 도메인을 포함한다. TALEN은 DNA의 대향하는 가닥 상에 N-말단에서 C-말단 방향으로 구성된 표적 뉴클레오티드 서열에 결합하도록 설계된 TALEN 쌍(또는 본원에서 TALEN 쌍 또는 TALEN 쌍으로도 지칭됨)에 사용되도록 조작될 수 있다. TALEN 쌍 내의 TALEN은 동일한 서열을 가질 수 있거나 서열이 상이할 수 있다.

[0404] **CRISPR/Cas 시스템**

[0405] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Cas 엔도뉴클레아제를 암호화하는 폴리뉴클레오티드에 복합체화된다. 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 유전자를 편집하기 위한 조성물뿐만 아니라, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) Cas 엔도뉴클레아제를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서 유전자를 편집하기 위한 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, Cas 엔도뉴클레아제를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, Cas 엔도뉴클레아제를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0406] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CRISPR/Cas 가이드 폴리뉴클레오티드, 예를 들어 단일 가이드 RNA(sgRNA)에 복합체화된다. 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 유전자를 편집하기 위한 조성물뿐만 아니라, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) CRISPR/Cas 가이드 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서 유전자를 편집하기 위한 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, CRISPR/Cas 가이드 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, CRISPR/Cas 가이드 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0407] CRISPR(일정한 간격을 두고 주기적으로 분포하는 짧은 회문 반복 서열) 및 CRISPR-연관(Cas) 엔도뉴클레아제는

원래는, 바이러스 및 플라스미드 침입으로부터 보호하기 위해 박테리아 및 고세균에 의해 진화된 적응 면역 시스템으로서 발견되었다. 박테리아에서의 자연 발생 CRISPR/Cas 시스템은 하나 이상의 Cas 유전자 및 하나 이상의 CRISPR 어레이로 이루어지며, 하나 이상의 CRISPR 어레이는 이전에 우연히 발견된 바이러스 및 플라스미드 (스페이서라고 함)로부터 획득된 게놈-표적화 서열에 의해 분리된 염기 서열의 짧은 회문 반복 서열로 이루어진다. (Wiedenheft, B. 등의 문헌[Nature. 2012; 482:331]; Bhaya, D. 등의 문헌[Annu. Rev. Genet. 2011; 45:231]; 및 Terms, M. P. 등의 문헌[Curr. Opin. Microbiol. 2011; 14:321]). 하나 이상의 CRISPR 유전자좌를 보유하는 박테리아 및 고세균류는 외래 서열의 짧은 단편(프로토스페이서)을 CRISPR 어레이의 근위 말단에서 숙주 염색체에 통합함으로써 바이러스 또는 플라스미드 침입에 반응한다. CRISPR 유전자좌의 전사는 이전에 우연히 발견된 침입 핵산에 상보적인 서열을 함유하는 CRISPR-유래 RNA(crRNA)의 라이브러리를 생성한다(Haurwitz, R. E. 등의 문헌[Science. 2012:329; 1355]; Gesner, E. M. 등의 문헌[Nat. Struct. Mol. Biol. 2001:18; 688]; Jinek, M. 등의 문헌[Science. 2012:337; 816-21]). crRNA에 의한 표적 인식은, Cas 단백질에 의한 외래 서열의 절단을 유도하는 표적 DNA와의 상보적 염기 쌍 형성을 통해 이루어진다. (Jinek 등의 문헌[2012 “A Programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity.” Science. 2012:337; 816-821]).

[0408] 적어도 6개의 주요 CRISPR 시스템 유형(I, II, III, IV, V, 및 VI형) 및 적어도 16개의 구별되는 아형이 있다. 예를 들어 Makarova, K. S. 등의 문헌[Nat. Rev. Microbiol. 2015. Nat. Rev. Microbiol. 13, 722-736], 및 Liu, Z., Dong, H., Cui, Y. 등의 문헌[Application of different types of CRISPR/Cas-based systems in bacteria. Microb Cell Fact 19, 172 (2020)] 참조. CRISPR 시스템은 이들의 효과기 단백질에 기초하여 분류되기도 한다. 클래스 1 시스템은 다중-서브유닛 crRNA-효과기 복합체를 갖는 반면, 클래스 2 시스템에서는 효과기 복합체의 모든 기능이 단일 단백질(예: Cas9 또는 Cpf1)에 의해 수행된다. 일부 구현예에서, 본 개시는 II형 및 /또는 V형 단일 서브유닛 효과기 시스템을 사용하는 것을 교시한다. 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시는 클래스 2 CRISPR 시스템을 사용하는 것을 교시한다.

[0409] **CRISPR/Cas9**

[0410] 일부 구현예에서, 본 개시는 II형 CRISPR 시스템을 사용하여 유전자를 편집하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, II형 CRISPR 시스템은 Cas9 효소를 사용한다. II형 시스템은 i) 단일 엔도뉴클레아제 단백질, ii) 트랜스활성화 crRNA(tracrRNA), 및 iii) crRNA의 5' 단부의 약 20개 뉴클레오티드(nt) 부분이 표적 핵산에 상보적인 crRNA에 의존한다. 표적 DNA 프로토스페이서에 상보적인 CRISPR crRNA 가닥의 영역은 본원에서 “가이드 서열”로서 지칭된다.

[0411] 일부 구현예에서, II형 시스템의 tracrRNA 및 crRNA 성분은 단일 가이드 RNA(sgRNA)로 치환될 수 있다. sgRNA는, 예를 들어 표적 DNA 서열에 상보적인 적어도 12-20개의 뉴클레오티드 서열(가이드 서열)을 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있고, 이의 3' 단부에서 공통 스캐폴드 RNA 서열을 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, “공통 스캐폴드 RNA”는 tracrRNA 서열을 모방하는 임의의 RNA 서열 또는 tracrRNA로서 기능하는 임의의 RNA 서열을 지칭한다.

[0412] Cas9 엔도뉴클레아제는 독특한 단부 DNA 파단을 생성하며, RNA CRISPR 복합체의 상보적 혼성화를 통해 엔도뉴클레아제를 테더링하는 crRNA 및 tracrRNA 올리고의 조합에 의해 표적 DNA에 동원된다.

[0413] 일부 구현예에서, crRNA/엔도뉴클레아제 복합체에 의한 DNA 인식은 표적 프로토스페이서로부터 하류에 있는, 표적 DNA의 3' 부분에 위치한 프로토스페이서 인접 모티프(PAM)와의 추가적인 상보적 염기쌍 형성(예: 5' -NGG-3')을 필요로 한다. (Jinek, M. 등의 문헌[Science. 2012:337; 816-821]). 일부 구현예에서, Cas9에 의해 인식되는 PAM 모티프는 상이한 Cas9 단백질 별로 다양하다.

[0414] **애포타머(aptamers)**

[0415] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 애포타머 또는 애포타머를 암호화하는 폴리뉴클레오티드와 복합체화된다. 핵산 애포타머는 구별되는 이차 또는 삼차 구조로 접혀서 이들의 상응하는 표적에 대한 높은 친화도 및 특이적 결합 능력을 생성하는 단일 가닥(ss) 올리고뉴클레오티드 분자(DNA 또는 RNA) 분자이다(Zhu 등의 문헌[“Nucleic Acid Aptamer-Mediated Drug Delivery for Targeted Cancer Therapy”, ChemMedChem 2015, 10, 39-45]). 애포타머는 SELEX(지수적 농축에 의한 리간드의 체계적 진화(systematic evolution of ligands by exponential enrichment))로 알려진 시험관 내 기술을 통해 1013 내지 1016개 ssDNA 또는 ssRNA 분자의 무작위 라이브러리로부터 선택된다(Ellington 등의 문헌[Nature. 1990, 346, 818 -822];

Tuerk 등의 문헌[*Science*. 1990, 249, 505 -510]).

[0416] 앵타머 서열이 SELEX에 의해 식별된 후, 변형된 뉴클레오티드는, 예를 들어 뉴클레아제 분해에 대한 안정성 및/또는 내성을 촉진하고/하거나 앵타머의 효율을 증가시키기 위해 해당 서열에 혼입될 수 있다. 예를 들어, 앵타머 APTA-12는 2' 데옥시시티딘의 2', 2' -디플루오로 유사체인 젤시타빈 잔기를 포함한다. 예를 들어, Park JY 등의 문헌[*Mol. Ther. Nucleic Acids* 2018, 12, 543-553]을 참조한다.

[0417] 대체적으로, 앵타머는 표적 분자의 활성을 직접 억제하거나(앵타머가 기능적 치료 분자로서 작용하는 경우), 치료 분자, 예를 들어 화학요법제 또는 다른 항암제를 암성 조직에 표적화하기 위한 암 요법에 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 방법 및 조성물에 사용되는 앵타머는 암성 조직을 표적화하기보다는 표적 분자의 활성을 직접 억제한다. 이는, 앵타머와 복합체화된 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 기술된 바와 같은 다양한 암성 조직을 이미 표적화하기 때문이다. 통상적으로, 암 치료에 사용되는 치료 앵타머는 종양단백질 또는 이의 리간드 중 하나에 결합함으로써 종양단백질 또는 이의 리간드의 길항제로서 작용하며, 이에 따라 암 발생 및/또는 진행을 촉진하는 단백질-단백질 또는 수용체-리간드 상호작용을 차단한다. 암 치료를 위한 앵타머의 용도에 대한 검토는 예를 들어, 다음을 참조한다. Han 등의 문헌[Application and development of aptamer in cancer - from clinical diagnosis to cancer therapy, *Journal of Cancer*, 2020, 11, 6902-6915]; Zhu 등의 문헌[“Nucleic Acid Aptamer-Mediated Drug Delivery for Targeted Cancer Therapy”, *ChemMedChem* 2015, 10, 39-45]; 및 Subjakova 등의 문헌[“Polymer Nanoparticles and Nanomotors Modified by DNA RNA Aptamers and Antibodies in Targeted Therapy of Cancer”, *Polymers*, 2021, 13, 341]; Morita Y 등의 문헌[*Cancers (Base1)*, 2018;10(3):80] (이들의 개시내용은 참조로서 본원에 통합됨).

[0418] 일부 구현예에서, 본 개시는 (예를 들어 암에 대한) 치료를 필요로 하는 대상체를 치료하기 위한 조성물뿐만 아니라, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 앵타머 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 (예를 들어 암에 대한) 치료를 필요로 하는 대상체를 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 앵타머는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 앵타머는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0419] 일부 구현예에서, 앵타머는 PSMA 앵타머, HER2 앵타머, MUC1 앵타머, CD117 앵타머, PTK7 앵타머, CTLA-4 앵타머, TLS11a 앵타머, PD-1 앵타머, PD-1 앵타머, 마쿠젠(Macugen) 앵타머, AS1411, Sgc8, TD05, ARC1779, a-트롬빈(TBA), 마쿠젠, E10030, AS1411, ARC1779, NU172, NOX-A12, NOX-E36, NOX-H94, ARC1905, REG1, ARC19499, AS1411, AS1411, EpCAM, A10-3-J1, Sgc8c, TSA14, 5TR1, 엔도28, EGFR, A10, Sgc8c, AS1411, NOX-A12, KH1C12, K19, TD05, AS1411, HB5, HeA2_3, H2, S6, SYL3C, APTA-12, M17, S-1, SL2B, CAA01, CA50 A02, CA72-4 A01, APT-43, TA6, CA125.1, Apt928, R13, HF3-58, 또는 HA5-68이다. 일부 구현예에서, 앵타머는 면역 조절 단백질을 표적화한다. 일부 구현예에서, 면역 관문 조절 단백질은 B7-H3, B7-H4, BTLA, CD160, CTLA4, KIR, LAG3, PD-1, PD-L1, PD-L2, TIM3, 또는 TIGIT이다.

[0420] 암 치료를 위해 연구되어 온 앵타머의 비제한적인 예는 아래 표 8에 제시되어 있다.

표 8

암 치료용으로 연구된 예시적인 앵타머

[0421]

앵타머	분자 표적	암 유형	앵타머 서열
Sgc8c	단백질 티로신 키나아제 7(PTK-7)	백혈병 급성 림프구성 백혈병	ATC TAA CTG CTG CGC CGC CGG GAA AAT ACT GTA CGG TTA GA (서열번호 128)
AS1411	뉴클레올린; MCF7 세포	백혈병 급성 림프구성 백혈병 유방암	GGT GGT GGT GGT TGT GGT GGT GGT GG (서열번호 129)
NOX-A12	CXCL12, MS-5 세포	백혈병 만성 림프구성 백혈병	GCG UGG UGU GAU CUA GAU GUA UUG GCU GAU CCU AGU CAG GUA CGC (서열번호 130)
KH1C12	HL60 세포	백혈병 급성 골수성 백혈병	ATC CAG AGT GAC GCA GCA TGC CCT AGT TAC TAC TAC TCT TTT TAG CAA ACG CCC TCG CTT TGG ACA CGG TGG CTT AGT (서열번호 131)
K19	Sigles-5, NB4 세포	백혈병 급성 골수성 백혈병	AAG GGG TTG GGT GGG TTT ATA CAA ATT AAT TAA TAT TGT ATG GTA TAT TT (서열번호 132)

TD05	IgM, Ramos 세포	백혈병 버킷 림프종	ACC GGG AGG ATA GTT CGG TGG CTG TTC AGG GTC TCC TCC CGG TG (서열번호 133)
HB5	HER2	유방암	AAC CGC CCA AAT CCC TAA GAG TCT GCA CTT GTC ATT TTG TAT ATG TAT TTG GTT TTT GGC TCT CAC AGA CAC ACT ACA CAC GCA CAT G (서열번호 134)
HeA2_3	HER2	유방암	TCT AAA AGG ATT CTT CCC AAG GGG ATC CAA TTC AAA CAG C (서열번호 135)
H2	Her2	유방암	GGG CCG TCG AAC ACG AGC ATG GTG CGT GGA CCT AGG ATG ACC TGA GTA CTG TCC (서열번호 136)
S6	SK-BR-3 세포	유방암	TGG ATG GGG AGA TCC GTT GAG TAA GCG GGC GTG TCT CTC TGC CGC CTT GCT ATG GGG (서열번호 137)
SYL3C	EpCAM	유방암	CAC TAC AGA GGT TGC GTC TGT CCC ACG TTG TCA TGG GGG GTT GGC CTG (서열번호 138)
APTA-12	뉴클레올린	췌장암	GGT GGT GGT GGT TZ*T GGT GGT GGT GG (서열번호 139) Z* = 쯤시타빈
M17	MMP14 단백질분해효소, MIA PaCa-2 및 PANC-1 세포주	췌장암	AGG GCC CGA CGT GAC GGC ACG TCG GAT ATC TCA TGC GTG T (서열번호 140)
S-1	DHX9, RNA 헬리카아제	대장암	GCC CAG CAT GCA TTA CTG ATC GTG GTG TTT GCT TAG CCC A (서열번호 141)
SL2B	VEGF	대장암	TTT TTT TTT ACA TTC CTA AGT CTG AAA CAT TAC AGC TTG CTA CAC GAG AAG AGC CGC CAT AGT A (서열번호 142)
CAA01	CEA	대장암	GGG UCG UGU CGG AUC CAG GCA CGA CGC AUA GCC UUG GGA GCG AGG AAA GCU UCU AAG GUA ACG AU (서열번호 143)
CA50 A02	CA50	대장암	GGG UCG UGU CGG AUC CAG CUC GAA AGU GGG CUG GCG AUG UGU CCC GAA GCU UCU AAG GUA ACG AU (서열번호 144)
CA72-4 A01	CA72-4	대장암	GGG UCG UGU CGG AUC CUG CGA AGG GGG GCA GAG GUU UGA CGC GAG AAA GCU UCU AAG GUA ACG AU (서열번호 145)
APT-43	폐암 마커	폐암	CTA TAG CAA TGG TAC GGT ACT TCC TCT CAG GTG GGT GTA TGT GGG CTC CCT TTA CTG ATT GGG TCA AAA GTG CAC GCT ACT TTG CTA A (서열번호 146)
N/A	A549 세포주	폐암	GGT TGC ATG CCG TGG GGA GGG GGG TGG GTT TTA TAG CGT ACT CAG (서열번호 147)
TA6	CD44, SKOV3, IGROV, 및 A2780 세포주	폐암	TTG GGA CGG TGT TAA ACGA AAG GGG ACG AC (서열번호 148)
CA125.1	CA125	폐암	AAA AUG CAU GGA GCG AAG GUG UGG GGG AUA CCA ACC GCG CCG UG (서열번호 149)
Apt928	CD70	폐암	GCT GTG TGA CTC CTG CAA GCG GGA AGA GGG CAG GGG AGG GAG GGT GAC GCG GAA GAG GCA AGC AGC TGT ATC TTG TCT CC (서열번호 150)
R13	A2780, SKOV3 세포	폐암	CTC TAG TTA TTG AGT TTT CTT TTA TGG GTG GGT GGG GGG TTT TT (서열번호 151)
HF3-58	A2780T 세포	폐암	TTG GAG CAG CGT GGA GGA TAT GCT TTC CGA CCG TGT TCG TTT GTT ATA ACG CTG CTC C (서열번호 152)
HA5-68	A2780T 세포	폐암	TTA AGG AGC AGC GTG GAG GAT ATC GGT GTT TAT GGT GTC TGT CTT CCT CCA GTT TCC TTC TGC GCC TT (서열번호 153)
ARC126 (RNA)	PDGF-B		Akiyama, Kachi 등, 2006
AX102 (RNA)	PDGF-B		Sennino, Falcon 등, 2007
SL (2)-B (DNA)	VEGF-165		Kaur, Li 등, 2013
RNV66 (DNA)	VEGF-165		Gantenbein, Sarikaya 등, 2015

FCL-II (DNA, 변형된 형태 AS1411)	뉴클레올린		Fan, Sun 등, 2017
NOX-A12 (RNA)	CXCL12		Vater, Sahlmann 등, 2013; Liu, Alomran 등, 2014; Hoellenriegel, Zboralski 등, 2014; Zboralski, Hoehlig 등, 2017
E0727 (RNA)	EGFR		Li, Nguyen 등, 2011 [8], Esposito, Passaro 등, 2011 [7], Wan,
CL428 (RNA)	EGFR		
KDI130 (RNA)	EGFR		Tamuly 등, 2013; Buerger, Nagel-Wolfrum 등, 2003; Wang, Song 등, 2014
TuTu2231 (RNA)	EGFR		
삼량체 apt (DNA)	HER2		Kim 및 Jeong 2011; Mahlke, Maron 등, 2013
PND-3 (DNA)	Periostin		Lee, Kim 등, 2013
TTA140,41 (DNA)	TN-C		Hicke, Stephens 등, 2006; Daniels, Chen 등, 2003; Hicke, Marion 등, 2001
GBI-1042 (DNA)	TN-C		Hicke, Stephens 등, 2006; Daniels, Chen 등, 2003; Hicke, Marion 등, 2001
NAS-24 (DNA)	Vimentin		Zamay, Kolovskaya 등, 2014
YJ-1 (RNA)	CEA		Lee, Han 등, 2012
AGE-apt (DNA)	AGE		Ojima, Matsui 등, 2014
A-P50 (RNA)	NF-κB		Mi, Zhang 등, 2008
GL21.T (RNA)	Axl		Cerchia, Esposito 등, 2012
OPN-R3 (RNA)	OPN		Mi, Guo 등, 2009; Talbot, Mi 등, 2011
AGCO3 (DNA)	HGC-27		Zhang, Zhang 등, 2014; Cao, Yuan 등, 2014
cy-apt (DNA)	HGC-27		Zhang, Zhang 등, 2014; Cao, Yuan 등, 2014
BC15 (DNA)	hnRNP A1		Li, Wang 등, 2012
A9g (RNA)	PSMA		Dassie, Hernandez 등, 2014
ESTA (DNA)	E-셀렉틴		Mann, Somasunderam 등, 2010; Kang, Hasan 등, 2015; Kang, Blache 등, 2016; Morita, Kamal 등, 2016
M12-23 (RNA)	4-1 BB		McNamara, Kolonias 등, 2008
OX40-apt (RNA)	OX40		Dollins, Nair 등, 2008; Pratico, Sullenger 등, 2013
CD28-apt (RNA)	CD28		Pastor, Soldevilla 등, 2013
De160 (RNA)	CTLA-4		Santulli-Marotto, Nair 등, 2003
PSMA-4-1BB-apt (RNA)	PSMA/4-1BB		Pastor, Kolonias 등, 2011
CD16a/c-Met-apt (RNA)	CD16a/c-Met		Eder, VandeWoude 등, 2009
VEGF-4-1BB apt (DNA)	VEGF/4-1BB		Schrand, Berezhnoy 등, 2014
MP7 (DNA)	PD-1		Prodeus, Abdul-Wahid 등, 2015
aptPD-L1 (DNA)	PD-L1		Lai, Huang 등, 2016
R5A1 (RNA)	IL10R		Berezhnoy, Stewart 등, 2012
CL-42 (RNA)	IL4R		Roth, De La Fuente 등, 2012
CD44-EpCAM aptamer (RNA)	CD44/EpCAM		Zheng, Zhao 등, 2017
TIM3Apt (RNA)	TIM3		Hervas-Stubbs, Soldevilla 등, 2016
CD40apt (RNA)	CD40		Soldevilla, Villanueva 등, 2015
AptCTLA-4 (DNA)	CTLA-4		Huang, Lai 등, 2017
AON-D21 1-aptamer (RNA/DNA)	C5a		Ajona, Ortiz-Espinosa 등, 2017

[0422]

따라서, 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물 및, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 8에 나열된 aptamer들로부터 aptamer 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, aptamer는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부

구현예에서, 앵타머는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0423] 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물뿐만 아니라, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 표 8에 나열된 분자 표적들로부터 선택된 각각의 분자 표적에 특이적으로 결합하는 앵타머 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서의 암을 치료하기 위한 방법에 관한 것이며, 여기서 암은 표 8의 분자 표적과 연관된 암이다. 일부 구현예에서, 앵타머는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 앵타머는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0424] **리보자임**

[0425] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 리보자임 또는 리보자임을 암호화하는 폴리뉴클레오티드와 복합체화된다. 리보자임은 촉매 활성 RNA 분자이다. 리보자임은 다양한 크기 및 형상으로 자연적으로 발생한다. 이들은 특이적 포스포디에스테르 결합의 절단 및 결합을 촉매한다. 리보솜 상에서의 단백질 합성 동안 펩티드 결합 형성은 리보솜 RNA에 의해 촉매된다. 리보자임의 생물학적 기능은 다양하며, 이들은 전달 RNA 성숙, 인트론 스플라이싱, RNA 바이러스 또는 바이로이드의 복제, 전령 RNA 안정성의 조절, 및 단백질 합성 동안 중심적인 역할을 한다(Westhof 등의 문헌[Encyclopedia of Virology (제3판), 2008]). 일부 구현예에서, 리보자임은 인간 텔로머라아제 역전사효소(hTERT) RNA를 표적화한다.

[0426] 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시는 장애(예: 암)를 치료하기 위한 조성물뿐만 아니라, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 리보자임 또는 리보자임을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여함으로써 장애(예: 암)를 치료하기 위한 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 리보자임 또는 리보자임을 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 리보자임 또는 리보자임을 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0427] **치료 방법**

[0428] 일부 구현예에서, 본 개시는 장애를 치료하기 위한 조성물뿐만 아니라, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 치료제 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여함으로써 장애를 치료하기 위한 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 치료제는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다.

[0429] 일부 구현예에서, 치료제는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 치료제를 위한 전달 비히클과 결합(예를 들어 접합)된다. 일부 구현예에서, 전달 비히클은 리포솜, 지질 나노입자, 나노입자, 미세입자, 비드화 시스템, 미셀, 생체 모방체 엑소솜, 또는 덴드리머이다. 약물 전달 시스템을 검토하기 위해서는, 예를 들어 Tiwari G. 등의 문헌 [International Journal of Pharmaceutical Investigation, 2(1):2-11 (2012)]을 참조하고, 그 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 나노미립자 약물 전달 시스템을 관능화하기 위한 전략을 검토하기 위해서, 예를 들어 Seidu TA 등의 문헌[Pharmaceutics, 14(5):1113 (2022)]를 참조하고, 그 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0430] 일부 구현예에서, 치료제는 DNA 손상 유도제, DNA 복구 억제제, 면역 조절 분자, 알킬화제, 미세소관 억제제, 면역 관문 억제제, 혈관형성 억제제, 입양 세포 요법, 또는 국소이성화효소 억제제이다. 일부 구현예에서, 치료제는 항종양 약물이다. 일부 구현예에서, 치료제는 메탄탄시노이드, 벤조디아제핀, 아우리스타틴, 테칸, 텍소이드, CC-1065, (4S)-4,11-디에틸-4,9-디하이드록시-1,4-디하이드로-3H,14H-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-3,14-디온(SN38), 엑사테칸, 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 F(MMAF), 피롤로 벤조디아제핀(PBD), 단백질분해 표적화 키메라(PROTAC), 데록스테칸(Dxd), 칼리키아미신, 듀오카마이신, 인터페론 유전자의 자극제(STING) 작용제, PNU-159682, NMS249, IMGN Camp 1, 듀오카마이신 하이드록시벤즈아미드 아자인돌(DUBA), 또는 이들의 전구약물이다. 일부 구현예에서, 치료제는 메탄탄시노이드이다. 일부 구현예에서, 치료제는 N(2')-탈아세틸-N(2')-(3-메르캅토-1-옥소프로필)-메탄탄신(DM1)이다. 일부 구현예에서, 치료제는 N2'-탈아세틸-N2'-(4-메르캅토-4-메틸-1-옥소펜틸) 메탄탄신(DM4)이다. 일부 구현예에서, 치료제는 (4S)-4,11-디에틸-4,9-디하이드록시-1,4-디하이드로-3H,14H-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-3,14-디온(SN38)이다. 일부 구현예에서, 치료제는 PNU-159682이다. 일부 구현예에서, 치료제는 PNU-159682이다. 일부 구

현예에서, 치료제는 NMS249이다.

- [0431] 일부 구현예에서, 치료제는, 예를 들어 본원에 기술된 것과 같은 치료 폴리뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 부착된다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 변형되지 않은 비-복제 mRNA이다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 변형된 비-복제 mRNA이다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 자가 증폭 mRNA이다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 단백질 또는 펩티드를 암호화하는 플라스미드이다. 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드는 유전자 조절 폴리뉴클레오티드이다.
- [0432] 일부 구현예에서, 장애는 암이다. 일부 구현예에서, 암은 암종, 육종, 모세포종, 유두종, 또는 선종이다. 일부 구현예에서, 암은 전이성 암이다. 일부 구현예에서, 암은 방광암, 혈액암, 뇌암, 유방암, 골암, 자궁경부암, 대장암, 내분비암, 식도암, 위암, 두경부암, 간담도암, 백혈병, 폐암, 림프종, 흑색종, 골수종, 난소암, 췌장암, 전립선암, 신장암, 갑상선암, 또는 자궁암이다.
- [0433] 일부 구현예에서, 암종, 모세포종, 및 육종, 및 특정 백혈병 또는 림프구성 악성 종양, 양성 및 악성 종양, 및 악성 종양, 예를 들어, 육종, 암종, 및 흑색종; 혈액 또는 골수의 혈액암; 급성 백혈병(예: 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 급성 골수성 백혈병 및 골수아구성, 전골수구, 골수단핵구, 단핵구, 및 적백혈병), 만성 백혈병(예: 만성 골수성(과립구) 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 및 만성 림프구성 백혈병), 진성 적혈구증가증, 림프종, 호지킨병, 비호지킨 림프종(무통성 및 고등급 형태), 다발성 골수종, 발덴스트롬 거대글로블린혈증, 중쇄 질환, 골수이형성 증후군, 모양 세포 백혈병 및 골수이형성증을 포함하는 혈액암(또는 혈행암); 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 및 기타 육종, 유태막종, 중피종, 유잉 종양, 평활근육종, 횡문근육종, 대장암, 림프성 악성 종양, 췌장암, 유방암, 폐암, 난소암, 전립선암, 간세포 암종, 편평세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 갑상선 수질 암종, 유두상 갑상선 암종, 크롬친화세포종 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 수질 암종, 기관지 암종, 신세포 암종, 간종, 담관 암종, 용모막암종, 빌름스 종양, 자궁경부암, 고환 종양, 반종, 방광 암종, 흑색종, 및 CNS 종양(예: 신경교종(예컨대 뇌간 신경교종 및 혼합 신경교종), 교모세포종(다형성 교모세포종으로도 알려짐), 성상세포종, CNS 림프종, 배세포종, 수모세포종, 신경초종 두개인두종, 뇌실막종, 송과체종, 혈관모세포종, 음향 신경종, 희소돌기아교종, 수막종, 신경아세포종, 망막아종, 또는 뇌 전이를 앓고 있는 대상체를 치료하기 위한 방법이 제공된다.
- [0434] 일부 구현예에서, 본 개시는, 본원에 기술된 바와 같은, (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 치료제 간에 형성된 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체의 주변부에 비경구 투여함으로써 대상체에서 중추 신경계 암을 치료하기 위한 방법을 제공한다.
- [0435] 일부 구현예에서, 암은 피부암이다. 일부 구현예에서, 피부암은 기저 세포 암종, 편평 세포 암종, 또는 흑색종이다. 일부 구현예에서, 암은 흑색종이다.
- [0436] 일 양태에서, 본 개시는 대상체에서 골격근 질환을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (i) 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (ii) 및 유전적 골격근 질환에서 돌연변이된 단백질을 암호화하는 mRNA의 비공유 복합체를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, mRNA는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합된다. 일부 구현예에서, mRNA는 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 공유 접합된다. 일부 구현예에서, mRNA는 디스트로핀(DMD) 또는 이의 단편, 예를 들어 미니-디스트로핀 또는 마이크로-디스트로핀 작제물을 암호화한다.
- [0437] **치료 폴리뉴클레오티드의 화학량론적 비율**
- [0438] 예를 들어, 치료 폴리뉴클레오티드가 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 비공유 결합되는 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물의 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편 대 치료 폴리뉴클레오티드의 몰비는 적어도 2:1이다. 본원에 기술된 조성물 중 치료 폴리뉴클레오티드에 대한 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 몰비는 치료 폴리뉴클레오티드가 분해되지 않도록 보호하는 것이다. 예를 들어, 부모 3E10 및 3E10(D31N) 변이체 항체는 2:1 및 20:1의 몰비에서 RNaseA 매개 RNA 분해로부터 mRNA를 보호하며, 20:1의 몰비에 의해 제공되는 보호는 2:1일 때 제공되는 보호를 초과한다.
- [0439] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물의 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편 대 치료 폴리뉴클레오티드의 몰비는 적어도 2:1이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물의 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편 대 치료 폴리뉴클레오티드의 몰비는 적어도 2.5:1이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물의 인간화

내지 30:1, 10:1 내지 25:1, 10:1 내지 20:1, 10:1 내지 15:1, 15:1 내지 50:1, 15:1 내지 40:1, 15:1 내지 30:1, 15:1 내지 25:1, 15:1 내지 20:1, 20:1 내지 50:1, 20:1 내지 40:1, 20:1 내지 30:1, 20:1 내지 25:1, 25:1 내지 50:1, 25:1 내지 40:1, 25:1 내지 30:1, 30: 내지 50:1, 30:1 내지 40:1, 또는 40:1 내지 50:1이다. 또 다른 구현예에서, 2:1 내지 50:1의 범위에 속하는 다른 범위가 고려된다.

[0451] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물의 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편 대 치료 폴리뉴클레오티드의 몰비는 1:1 내지 50:1이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물의 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편 대 치료 폴리뉴클레오티드의 몰비는 1:1 내지 30:1이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물의 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편 대 치료 폴리뉴클레오티드의 몰비는 1:1 내지 20:1이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물의 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편 대 치료 폴리뉴클레오티드의 몰비는 1:1 내지 10:1이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 조성물의 인간화 3E10 항체 또는 이의 항원 결합 단편 대 치료 폴리뉴클레오티드의 몰비는 1:1 내지 5:1이다.

[0452] 일부 구현예에서, 몰비는 핵산(즉, 치료 폴리뉴클레오티드)의 크기와 관련된다. 예를 들어, 더 긴 폴리뉴클레오티드는 더 높은 몰비로 복잡체화되고, 더 짧은 폴리뉴클레오티드는 더 낮은 몰비로 복잡체화된다.

[0453] 일부 구현예에서, 치료 폴리뉴클레오티드의 크기는 약 10bp, 15bp, 20bp, 25bp, 30bp, 35bp, 40bp, 45bp, 50bp, 55bp, 60bp, 65bp, 70bp, 75bp, 80bp, 85bp, 90bp, 95bp, 100bp, 105bp, 110bp, 115bp, 120bp, 125bp, 130bp, 135bp, 140bp, 145bp, 150bp, 155bp, 160bp, 165bp, 170bp, 175bp, 180bp, 185bp, 190bp, 195bp, 200bp, 205bp, 210bp, 215bp, 220bp, 225bp, 230bp, 235bp, 240bp, 245bp, 250bp, 255bp, 260bp, 265bp, 270bp, 275bp, 280bp, 285bp, 290bp, 295bp, 300bp, 305bp, 310bp, 315bp, 320bp, 325bp, 330bp, 335bp, 340bp, 345bp, 350bp, 355bp, 360bp, 365bp, 370bp, 375bp, 380bp, 385bp, 390bp, 395bp, 400bp, 405bp, 410bp, 415bp, 420bp, 425bp, 430bp, 435bp, 440bp, 445bp, 450bp, 455bp, 460bp, 465bp, 470bp, 475bp, 480bp, 485bp, 490bp, 495bp, 500bp, 505bp, 510bp, 515bp, 520bp, 525bp, 530bp, 535bp, 540bp, 545bp, 550bp, 또는 그 이상 및 그 사이의 임의의 범위이다.

[0454] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 몰비는 본원에 개시된 바와 같은 치료 폴리뉴클레오티드의 크기와 관련된다. 예를 들어, 더 긴 폴리뉴클레오티드는 더 높은 몰비로 복잡체화되고, 더 짧은 폴리뉴클레오티드는 더 낮은 몰비로 복잡체화된다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 임의의 몰비는 치료 폴리뉴클레오티드의 임의의 크기와 조합될 수 있다. 비제한적인 예는, 3E10 항체 대 치료 폴리뉴클레오티드의 몰비가 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1, 35:1, 40:1, 45:1, 50:1, 55:1, 60:1, 65:1, 70:1, 75:1, 80:1, 85:1, 90:1, 95:1, 100:1, 105:1, 110:1, 115:1, 120:1, 125:1, 130:1, 135:1, 140:1, 145:1, 150:1, 155:1, 160:1, 165:1, 170:1, 175:1, 180:1, 185:1, 190:1, 195:1, 200:1, 205:1, 210:1, 215:1, 220:1, 225:1, 230:1, 235:1, 240:1, 245:1, 250:1, 또는 그 이상 및 그 사이의 임의의 범위인 조성물을 포함하며, 여기서 치료 폴리뉴클레오티드의 크기는 약 10bp, 15bp, 20bp, 25bp, 30bp, 35bp, 40bp, 45bp, 50bp, 55bp, 60bp, 65bp, 70bp, 75bp, 80bp, 85bp, 90bp, 95bp, 100bp, 105bp, 110bp, 115bp, 120bp, 125bp, 130bp, 135bp, 140bp, 145bp, 150bp, 155bp, 160bp, 165bp, 170bp, 175bp, 180bp, 185bp, 190bp, 195bp, 200bp, 205bp, 210bp, 215bp, 220bp, 225bp, 230bp, 235bp, 240bp, 245bp, 250bp, 255bp, 260bp, 265bp, 270bp, 275bp, 280bp, 285bp, 290bp, 295bp, 300bp, 305bp, 310bp, 315bp, 320bp, 325bp, 330bp, 335bp, 340bp, 345bp, 350bp, 355bp, 360bp, 365bp, 370bp, 375bp, 380bp, 385bp, 390bp, 395bp, 400bp, 405bp, 410bp, 415bp, 420bp, 425bp, 430bp, 435bp, 440bp, 445bp, 450bp, 455bp, 460bp, 465bp, 470bp, 475bp, 480bp, 485bp, 490bp, 495bp, 500bp, 505bp, 510bp, 515bp, 520bp, 525bp, 530bp, 535bp, 540bp, 545bp, 550bp, 또는 그 이상 및 그 사이의 임의의 범위이다.

[0455] 본원에 기술된 모든 방법은 달리 표시되지 않거나 문맥에 의해 명확하게 모순되지 않는 한 임의의 적절한 순서로 수행될 수 있다. 본원에서 제공된 임의의 및 모든 예, 또는 예시적인 언어(예를 들어, “예컨대”)의 사용은 단지 구현예를 더 잘 밝히기 위한 의도이고, 달리 청구되지 않는 한 구현예의 범위에 대한 제한을 제기하지 않는다. 본 명세서 내의 어떠한 언어도 본 발명의 실시예에 필수적인 것으로서 임의의 청구되지 않은 요소를 나타내는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0456] 실시예

[0457] **실시예 1: 인간화 3E10 항체의 결합 동역학 및 친화도 측정**

[0458] 간략하게, 3E10 가변 중쇄 도메인의 7개의 인간화 버전(VH-h1 내지 VH-h7) 및 3E10 가변 경쇄 도메인의 6개의

인간화 버전(VL-h1 내지 VL-h6)을 삭제하였다. 도 5~10은 인간화 VH 도메인, 인간화 VH를 포함하는 전체 HC의 성숙한 부분, 인간화 VH를 포함하는 전장 중쇄, 인간화 VL 도메인, 인간화 VL을 포함하는 전체 LC의 성숙한 부분, 및 인간화 VL을 포함하는 전장 중쇄 각각에 대한 아미노산 서열을 제공한다.

[0459] 이들 인간화 VH 및 VL 도메인으로부터 생성될 수 있는 42개의 가능한 인간화 3E10 항체 중, 표 1에 개략된 바와 같이 22개의 작제물을 생성하였다. 표 1에서, 변이체 번호는 인간화 VH 및 VL의 특정 조합을 지칭한다. 예를 들어, 변이체 12는 인간화 VH-h1 및 인간화 VL-h2를 포함하는 인간화 3E10 항체를 지칭하고, 변이체 41은 인간화 VH-h4 및 인간화 VL-h1을 포함하는 인간화 3E10 항체를 지칭한다.

표 1

인간화 3E10 항체 작제물

[0460]

인간화 3E10 항체 (n = 22)	3E10-VH	3E10-VL
변이체 11	3E10-VH-h1 (서열 번호 64)	3E10-VL-h1 (서열 번호 85)
변이체 12	3E10-VH-h1 (서열 번호 64)	3E10-VL-h2 (서열 번호 86)
변이체 13	3E10-VH-h1 (서열 번호 64)	3E10-VL-h3 (서열 번호 87)
변이체 14	3E10-VH-h1 (서열 번호 64)	3E10-VL-h4 (서열 번호 88)
변이체 21	3E10-VH-h2 (서열 번호 65)	3E10-VL-h1 (서열 번호 85)
변이체 22	3E10-VH-h2 (서열 번호 65)	3E10-VL-h2 (서열 번호 86)
변이체 23	3E10-VH-h2 (서열 번호 65)	3E10-VL-h3 (서열 번호 87)
변이체 24	3E10-VH-h2 (서열 번호 65)	3E10-VL-h4 (서열 번호 88)
변이체 31	3E10-VH-h3 (서열 번호 66)	3E10-VL-h1 (서열 번호 85)
변이체 32	3E10-VH-h3 (서열 번호 66)	3E10-VL-h2 (서열 번호 86)
변이체 33	3E10-VH-h3 (서열 번호 66)	3E10-VL-h3 (서열 번호 87)
변이체 34	3E10-VH-h3 (서열 번호 66)	3E10-VL-h4 (서열 번호 88)
변이체 41	3E10-VH-h4 (서열 번호 67)	3E10-VL-h1 (서열 번호 85)
변이체 42	3E10-VH-h4 (서열 번호 67)	3E10-VL-h2 (서열 번호 86)
변이체 43	3E10-VH-h4 (서열 번호 67)	3E10-VL-h3 (서열 번호 87)
변이체 44	3E10-VH-h4 (서열 번호 67)	3E10-VL-h4 (서열 번호 88)
변이체 55	3E10-VH-h5 (서열 번호 68)	3E10-VL-h5 (서열 번호 89)
변이체 56	3E10-VH-h5 (서열 번호 68)	3E10-VL-h6 (서열 번호 90)
변이체 65	3E10-VH-h6 (서열 번호 69)	3E10-VL-h5 (서열 번호 89)
변이체 66	3E10-VH-h6 (서열 번호 69)	3E10-VL-h6 (서열 번호 90)
변이체 75	3E10-VH-h7 (서열 번호 70)	3E10-VL-h5 (서열 번호 89)
변이체 76	3E10-VH-h7 (서열 번호 70)	3E10-VL-h6 (서열 번호 90)

[0461] 22개의 인간화 3E10 항체의 핵산 친화도를 고상 ELISA 폴리-dT 결합 검정을 사용하여 조사하였다. 간략하게, 웰

당 PBS 중 100 μ l의 μ g/ml 스트렙타아비딘을 4°C에서 밤새 인큐베이션하여 마이크로역가 플레이트를 코팅하였다. 코팅 용액을 제거한 후, 웰을 0.05% PBST로 2회 세척하였다. 그런 다음, PBS 중 1% 소 혈청 알부민(BSA)과 함께 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하여 웰을 차단하였다. 차단 용액을 제거한 후, 웰을 0.05% PBST로 1회 세척하였다. 그런 다음, ELISA 완충액 중 100 μ l의 0.1 μ M 비오틴-표지된 폴리-dT를 실온에서 40분 동안 인큐베이션하여 폴리-dT로 웰을 코팅하였다. 코팅 용액을 제거한 후, 웰을 0.05% PBST로 3회 세척하였다. 전술한 22개의 인간화 항체 각각에 대해 100 μ g/ml에서 1.69 ng/ml의 항체 농도까지 3배 연속 희석물을 확립하였다. 100 μ l의 각 희석물을 별도의 웰에서 4°C에서 4시간 동안 인큐베이션하였다. 희석 용액을 제거한 후, 웰을 0.05% PBST로 3회 다시 세척하였다. 폴리-dT에 결합된 항체는 각 웰에서 서양고추냉이 과산화효소(HRP)-접합된 이차 마우스 항-인간 IgG Fc 항체의 1:10,000 희석물 100 μ l을 실온에서 1.5시간 동안 인큐베이션하여 검출하였다. 이차 항체 용액을 제거한 후, 웰을 0.05% PBST로 3회 다시 세척하였다. 이차 항체는 각 웰에서 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)을 10분 동안 인큐베이션하여 검출하였다.

[0462] 다양한 결합 검정에 대한 결합 곡선은 도 12a, 12b, 12c, 12d, 및 12e에 도시되어 있다. 폴리-dT의 반치 최대 결합이 달성되는 항체 농도를 나타내는 EC50 값을 곡선으로부터 계산한 다음, 컷과 VH 및 VL 서열을 갖는 키메라 3E10 D31N 변이체를 사용하여 각 실험에 대해 결정된 EC50 값에 대해 정규화하였다.

[0463] 결과는 3E10 경쇄의 위치 72에서의 리신이 3E10의 핵산 결합 활성화에 유의하게 기여함을 나타낸다. VL-h1 변이체에서 이러한 잔기를 티로신으로 돌연변이시키면 DNA 결합을 위한 항체의 친화도가 유의하게 감소된다. 유사하게, 가변 중쇄의 위치 37 및 38에서의 아르기닌 및 리신도 3E10의 핵산 결합 활성화에 기여하는 것으로 보인다. 이들 잔기를 류신 및 아르기닌으로 각각 돌연변이시키면, DNA 결합을 위한 항체의 친화도가 감소된다.

[0464] **실시예 2: RIG-I 리간드의 인간화 3E10 항체 매개 전달은 THP-1 단핵구에서 I형 IFN 반응을 유도함 (저 친화도 후보물질)**

[0465] 급성 단핵구 백혈병에서 유래된 단핵구 세포 내로 RIG-I 자극 리간드의 인간화 3E10 항체 매개 전달이 면역요법의 I형 IFN 반응 특성을 효과적으로 유도하는지 여부를 조사하였다. 간략하게, THP-1 단핵구를 20,000 세포/웰로 웰에 시딩하고, 20% FBS 및 1% P/S가 보충된 DMEM에서 인큐베이션하였다. 그런 다음, 세포를 PBS(대조군), 3p-hpRNA RIG-I 작용제 단독(1 μ g/웰), 증가하는 양의 인간화 3E10 항체 단독, 및 인간화 3E10 항체/3p-hpRNA(1 μ g 3p-hpRNA/웰) 복합체로 도 13에 표시된 것과 같이 치료하였다. 샘플 배지를 표시된 시점에 샘플링하고 루시페라아제 활성화에 대해 측정하였다(유형 I IFN에 대한 보고자). 도 13에 도시된 바와 같이, IFN 반응을 4 연속일, 24시간, 48시간, 72시간, 및 96시간 동안 모니터링하였다.

[0466] 도 13에 도시된 바와 같이, 3p-hpRNA RIG-I 및 3E10 변이체 11, 21, 31, 또는 41에 THP-1 단핵구를 노출시킨 결과, 치료 후 24시간차에 1형 IFN 반응의 평균 피크가 대조군 샘플과 비교하여 (약 135배) 증가하였고, 48시간, 72시간, 및 96시간차에 지속적으로 감소하였다(미치료, 3p-hpRNA 단독, 및 3E10 변이체 11, 21, 31, 또는 41 단독).

[0467] **실시예 3: RIG-I 리간드의 인간화 3E10 항체 매개 전달은 THP-1 단핵구에서 I형 IFN 반응을 유도함 (중간 친화도 후보물질)**

[0468] 급성 단핵구 백혈병에서 유래된 단핵구 세포 내로 RIG-I 자극 리간드의 인간화 3E10 항체 매개 전달이 면역요법의 I형 IFN 반응 특성을 효과적으로 유도하는지 여부를 조사하였다. 간략하게, THP-1 단핵구를 20,000 세포/웰로 웰에 시딩하고, 20% FBS 및 1% P/S가 보충된 DMEM에서 인큐베이션하였다. 그런 다음, 세포를 PBS(대조군), 3p-hpRNA RIG-I 작용제 단독(1 μ g/웰), 증가하는 양의 인간화 3E10 항체 단독, 및 인간화 3E10 항체/3p-hpRNA(1 μ g 3p-hpRNA/웰) 복합체로 도 14에 표시된 것과 같이 치료하였다. 샘플 배지를 표시된 시점에 샘플링하고 루시페라아제 활성화에 대해 측정하였다(유형 I IFN에 대한 보고자). 도 14에 도시된 바와 같이, IFN 반응을 4 연속일, 24시간, 48시간, 72시간, 및 96시간 동안 모니터링하였다.

[0469] 도 14에 도시된 바와 같이, 3p-hpRNA RIG-I 및 3E10 변이체 22, 12, 또는 13에 THP-1 단핵구를 노출시킨 결과, 치료 후 72시간차에 1형 IFN 반응의 평균 피크가 (약 132배) 증가하였다. 96시간차에, IFN 반응이 감소하기 시작한다. 데이터는 대조군 샘플과 비교했을 때, 시간 경과에 따라 페이로드, 즉 3p-hpRNA가 인간화 3E10 항체로부터 조절된 방식으로 해리되는 메커니즘을 시사한다(미치료, 3p-hpRNA 단독, 및 3E10 변이체 22, 12, 또는 13 단독).

[0470] 인간화 항체 대신에 비-인간화 3E10 WT 및 3E10 D31N을 사용하여 실험을 반복하였다. 결과는 도 16에 도시되어 있다.

[0471] **실시예 4: RIG-I 리간드의 인간화 3E10 항체 매개 전달은 THP-1 단핵구에서 I형 IFN 반응을 유도함 (고 친화도 후보물질)**

[0472] 급성 단핵구 백혈병에서 유래된 단핵구 세포 내로 RIG-I 자극 리간드의 인간화 3E10 항체 매개 전달이 면역요법의 I형 IFN 반응 특성을 효과적으로 유도하는지 여부를 조사하였다. 간략하게, THP-1 단핵구를 20,000 세포/웰로 웰에 시딩하고, 20% FBS 및 1% P/S가 보충된 DMEM에서 인큐베이션하였다. 그런 다음, 세포를 PBS(대조군), 3p-hpRNA RIG-I 작용제 단독(1 ug/웰), 증가하는 양의 인간화 3E10 항체 단독, 및 인간화 3E10 항체/3p-hpRNA(1 ug 3p-hpRNA/웰) 복합체로 도 15에 표시된 것과 같이 치료하였다. 샘플 배지를 표시된 시점에 샘플링하고 루시페라아제 활성에 대해 측정하였다(유형 I IFN에 대한 보고서). 도 15에 도시된 바와 같이, IFN 반응을 4 연속일, 24시간, 48시간, 72시간, 및 96시간 동안 모니터링하였다.

[0473] 도 15에 도시된 바와 같이, 3p-hpRNA RIG-I 및 3E10 변이체 55, 56, 65, 또는 66에 THP-1 단핵구를 노출시킨 결과, 치료 후 72시간차에 1형 IFN 반응의 평균 피크가 (약 93배) 증가하였다. 96시간차에, IFN 반응이 감소하기 시작한다. 데이터는 대조군 샘플과 비교했을 때, 시간 경과에 따라 페이로드, 즉 3p-hpRNA가 인간화 3E10 항체로부터 조절된 방식으로 해리되는 메커니즘을 시사한다(미치료, 3p-hpRNA 단독, 및 3E10 변이체 55, 56, 65, 또는 66 단독).

[0474] **실시예 5: 3E10-D31N에 비해 인간화 3E10 항체 변이체 66에 대한 결합 동역학 및 친화도 측정**

[0475] 3E10-VL-h6(서열번호 90) 및 3E10-VH-h6 (서열번호 69)를 포함하는 인간화 3E10 작제물 V66의 RIG-I 작용제 3p-hpRNA(5' 말단에 트리포스페이트를 갖는 89개 리보뉴클레오타이드)에 대한 결합 동역학을 Octet R8 장치(Sartorius)를 사용하여 바이오층 간섭계에 의해 분석하였다. 원래 3E10-D31N 변이체는 2.08E-9 M의 KD를 갖는 것으로 결정되었고, HEK293 세포에서 일시적으로 발현된 V66 변이체는 3php-RNA에 대해 1.30E-9 M의 친화도를 갖는 것으로 나타났다. CHO 세포에서 일시적으로 발현된 V66 변이체는 2.60E-9 M의 KD 값을 갖는 것으로 결정되었다. 친화도는 1:1 결합 동역학 모델을 사용하여 설명되었다. R2 값(1:1 결합 상호작용에 기초하여 예측된 결합 피팅에 대한 실제 측정에 대한 피팅 테스트)은 허용 가능한 파라미터 내에 있었다(표 2). 이들 측정은, V66을 AHC2(항-인간 Fc) 바이오센서에 포획한 다음, 3php-RNA의 4-점 농도 적정을 검정하여 결합 친화도를 측정하는 Fc 포획 포맷에서 수행하였다.

[0476] 결과는 부모 항체(3E10-D31N 변이체)의 친화도가 인간화 프로세스 동안 보존되어 V66 변이체를 생성하였음을 나타낸다.

표 2

3E10 항체에 대한 결합 친화도

[0477]

샘플 ID	KD (M)	ka (1/Ms)	kdis (1/초)	R ²
3E10-D31N	2.08E-09	2.29E+05	4.76E-04	0.9377
V66 (HEK293)	1.30E-09	2.42E+05	3.13E-04	0.9185
V66 (CHO)	2.60E-09	3.08E+05	7.99E-04	0.9420

[0478] **실시예 6: 인간화 3E10 작제물(V66)은 조직 선택적이며 ENT2-의존적 생체이용률을 갖는다**

[0479] 대장암에 대한 쥐와 CT-26 모델에서 인간화 3E10 작제물(V66)의 조직 흡수 및 생체이용률을 조사하였다. 조직에서 인간화 3E10 작제물(V66)을 검출하기 위해, 항체를 Alexa Fluor 680(AF680)으로 형광 표지하였다. 3개의 실험용 쥐와 동물 CT-26 모델 코호트를 시험하고, 비히클, AF680-V66, 또는 AF680-V66 + 디피리다몰(ENT2 억제제) 각각으로 전신 치료하였다. 조직 생체분포 데이터는 종양, 간, 신장, 비장, 사두근, 및 비복근에서의 생체 외 IVIS 영상화에 의해 수집하였다.

[0480] 3개의 코호트로부터의 영상화 데이터는 간, 신장, 및 비장에서의 V66 흡수가 ENT2-의존적이지 아니며, 이들 기관에서 V66의 제거가 비특이적임을 나타냈는데, 이는 다른 생물학적 체제의 항체 제거와 일치한다. 또한, 종양 조직이 근육 조직의 V66 흡수에 비해 8 내지 10배 더 높은 생체이용률을 갖는 것으로 나타났다.

[0481] **실시예 7: 동계 췌장관 선암종(PDAC) 마우스 모델에서 3E10-D31N IgG4 변이체의 생체분포**

[0482] 3E10-D31N IgG4 변이체의 생체분포를 췌장관 선암종(PDAC) 마우스 모델에서 분석하게 된다. SC- KrasG12D Trp53-/- 종양이 있는 C57B1/6 마우스에게, 종양 크기가 250-350 mm³에 도달하면, 20 mg/Kg의 형광 3E10 D31N

IgG4 변이체 항체(표 3 참조) + 폴리(dT)를 4:1의 비율로 주입한다. 생체 내 IVIS 영상은 30분, 2시간, 6시간, 24시간, 48시간, 및 96시간차에 3E10 D31N Ig4 변이체 항체를 추적한다. 조직 생체분포 데이터는 간, 뇌, 신장, 삼두근, 비복근, 종양, 심장, 및 횡격막에서의 생체 외 IVIS 영상화에 의해 수집된다. 면역형광 염색을 사용하여 조직 구획을 시각화하고 양성 세포 백분율(%)을 결정한다.

[표 3] 3E10 D31N Ig4 변이체 및 효과기 기능

3E10 D31N Ig4 변이체	효과기 기능
3E10-D31N	Fab-아암 교환을 방지하고, FcγRI, FcγRII, FcγRIII, 및 C1q 에 대한 결합을 감소시켰음
3E10-D31N-IgG4CH-S228P-F234A-L235A-T307Q-N434A	반감기를 개선함(적당한 연장)
3E10-D31N-IgG4CH-S228P-F234A-L235A-M252Y-S254T-T256E	반감기를 개선함(유의한 연장)
3E10-D31N-IgG4CH-S228P-F234A-L235A-H310Q	더 빠른 제거

[0483]

[0484]

실시예 8: 3E10-D31N IgG4 변이체의 친화도 분석

[0485]

RIG-I 작용제 3p-hpRNA(5' 말단에서 트리포스페이트를 갖는 89개 리보뉴클레오티드)에 대한 3E10-D31N 및 4개의 3E10-D31 IgG4 변이체의 결합 동역학을 Octet R8 장치(Sartorius)를 사용하여 바이오층 간섭계에 의해 분석하였다. 3E10-D31N의 KD(M) 측정치는 1.052E-08이었다(표 4).

표 4

[0486]

3E10-D31N 및 3E10-D31N IgG4 변이체의 결합 동역학

도면	클론 ID	KD (M)	Ka (1/Ms)	Kdis (1/초)	R ²
19A	3E10-D31N	1.052E-08	1.50E05	1.581E-03	0.9612
19B	3E10-D31N IgG4 4CH-S228P/F234A/L235A	3.326E-09	1.43E05	4.767E-04	0.9665
19C	3E10-D31N-IgG4CH- S228P/F234A/L235A/T307Q/N434A_pcDN A3.4	1.268E-08	4.79E04	6.070E-04	0.9069
19D	3E10-D31N-IgG4CH- S228P/F234A/L235A/M252Y/S254T/T256 E	5.00E-09	1.45E+05	7.28E-04	0.9633
19E	3E10-D31N-IgG4CH- S228P/F234A/L235A/H310Q_pcDNA3.4	6.58E-09	1.57E+05	1.03E-03	0.9584

[0487]

친화도는 1:1 결합 동역학 모델을 사용하여 설명하였다. R2 값(1:1 결합 상호작용에 기초하여 예측된 결합 피팅에 대한 실제 측정에 대한 피팅 테스트)은 허용 가능한 파라미터 내에 있었다(표 3). 이들 측정은, 3E10-D31N IgG4 변이체 각각을 AHC2(항-인간 Fc) 바이오센서에 포획한 다음, 3php-RNA의 4-점 농도 적정(62.5 nm, 125 nm, 250 nm, 및 500 nm)을 검정하여 결합 친화도를 측정하는 Fc 포획 포맷에서 수행하였다.

[0488]

결과는 IgG4 Fc 변이체를 갖는 3E10-D31N 항체의 친화도가 보존됨을 나타낸다.

[0489]

실시예 9: KPC 동계 종양 모델에서 GFP mRNA의 기능적 전달

[0490]

인간화 3E10 항체 작제물(V66)의 균등성 또는 우월성을

[0491]

핵산 페이로드 기능 전달 모델을 생체 내에서 분석함으로써 키메라 3E10 D31N과 비교하였다.

[0492]

첫 번째 상동성 연구는 마우스의 피하 종양에 대한 GFP mRNA 페이로드의 전신 표적화된 기능적 전달을 분석하였다. 이전 연구는 MDA-MB-231 모델에서 3E10 D31N을 사용하는 표적화된 기능적 전달을 보여주었다(도 20a). 본 연구에는 피하 KPC 종양을 사용하였다. 각각의 쥐와 코호트에게 10:1의 중량:중량비(400:40 ug)로 1회 투여하였다. 24시간 후, 종양/정상 조직을 GFP 발현에 대해 IVIS로 분석하였다.

[0493]

도 20b에 도시된 것과 같이, 인간화 3E10 항체 작제물(V66)은 GFP-mRNA를 KPC 종양에 전달하였지만, 키메라

3E10 D31N은 그렇지 않았다.

[0494] **실시예 10: GFP mRNA 페이로드의 표적화된 기능적 전달을 위한 종양 및 정상 조직 발현**

[0495] GFP mRNA 페이로드를 위한 종양 대 정상 조직(신장, 심장, 간, 및 골격근) 발현을 키메라 3E10 D31N 및 인간화 3E10 항체(V66)를 각각 사용하여 분석하였다. 투여량은 mRNA의 경우 2 mg/kg이었고 항체의 경우 20 mg/kg이었다.

[0496] 도 21에 도시된 바와 같이, V66-GFP mRNA를 투여한 마우스의 종양 및 신장에서 GFP의 검출이 관찰되었다. 기능적 GFP 신장 발현은 표적화된 ENT2 전달로 인한 것일 수 있는 것으로 가정된다. 또한, 간 GFP 발현이 없다는 것은 단백질 이화작용이 있었고, ENT2 표적화 전달이 되지 않았음을 시사하는 것일 수 있다.

[0497] **실시예 11: B16 종양 모델에서 키메라 3E10 D31N 항체와 인간화 3E10 항체(V66)의 비교**

[0498] 종양 정체(tumor stasis)는 20 mg/kg의 농도로 항체를 사용하고, 3 내지 4일 간격으로 4회 투여량을 투여하는 4:1 몰비의 키메라 3E10 D31N:3p-hpRNA를 사용했을 때 이전에 나타났다. 본 연구는 키메라 3E10 D31N 및 인간화 3E10 항체(V66), 및 치료 대조군(PBS)에 대해 동일한 조건을 사용하였다. 투여량 1은 10일차에 투여하였고, 투여량 2는 13일차에 투여하였고, 투여량 3은 18일차에 투여하였다. 연구는 30~35일 동안 지속되었다.

[0499] 도 21에 도시된 바와 같이, V66/3p-hpRNA는 B16 모델에서 2회 투여량을 투여한 후 키메라 3E10-D31N/3p-hpRNA에 대해 유사한 항종양 반응을 나타냈으며, 이는 17일차에 통계적 유의성에 도달하였다.

[0500] **실시예 12: C57BL/6 마우스에서 3E10-D31N 단클론 항체(V66)의 약동학(pK) 평가**

[0501] C57BL/6 마우스를 대상으로 3E10-D31N 단클론 항체(V66)에 대한 1회 투여량 및 투여량 증량의 동역학(pK) 연구를 수행하였다. 항체(V66)를 C57BL/6 마우스의 3개의 군(36마리/군)에게 25 mg/kg(군 1), 50 mg/kg(군 2), 및 100 mg/kg(군 3)의 투여량으로 각각 투여하였다. 항체(V66) 투여량을 총 12개의 시점 동안 매 시점마다 군 당 3 마리에게 투여하고, 각 군별로 기록하였다. 관류 후 분석한 조직은 간, 신장, 심장, 뇌, 비복근, 삼두근, 및 골격근(삼각근)이었다. 혈청 및 메조 스케일(MSD) 면역검정을 사용하여 혈청과 선택된 조직에서 항체(V66)를 검출하였다.

[0502] 도 23 및 도 24는 3개의 군 각각에 대한 약동학 분석 및 요약 통계를 보여주며, C57BL/6 마우스에서의 순환 혈청 반감기는 40~50시간, 약 1.7~2.1일로 계산되었다. 더욱이, 골격근 조직, 특히 삼각근뿐만 아니라 비복근 및 삼두근에 대해서도 강력한 분포가 있었는데, 이를 통해 3E10-D31N 단클론 항체(V66)에 의한 ENT2-양성 골격근의 표적화를 확인하였다. 심장 조직에서도 3E10-D31N 단클론 항체(V66) 축적이 관찰되었다. 특히, 평가된 다른 조직보다는 낮았지만, 뇌에서 3E10-D31N 단클론 항체(V66)가 축적되고 유보되었다. (V66)의 흡수 및 생체분포는 간 및 신장에서도 검출되었다.

[0503] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 개시된 발명이 속하는 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 인용된 간행물 및 이들 간행물이 인용된 재료는 구체적으로 참조로서 통합된다.

[0504] 당업자는 본원에 기술된 본 발명의 특정 구현예에 대한 많은 등가물을 통상적인 실험을 사용하여 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 균등물은 다음의 청구범위에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

도면1

WT 3E10 항체 서열

>3E10-HC

EVQLVESGGGLVKPGGSRKLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNK
NTLFLQMTSLRSEDTAMYICARRGLLDYWGQGTTLTVSAASTKGFSPVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPPVLDSGDSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열
번호 1)

>3E10-VH

EVQLVESGGGLVKPGGSRKLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNK
NTLFLQMTSLRSEDTAMYICARRGLLDYWGQGTTLTVSS (서열번호 2)

>3E10-VH-CDR1

DYGMH (서열번호 3)

>3E10-VH-CDR2

YISSGSSTIYYADTVKG (서열번호 4)

>3E10-VH-CDR3

RGLLDY (서열번호 5)

>3E10-HC-SP

MGWSCIIILFLVATATGVHS (서열번호 6)

>3E10-LC

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASYLESQVPARFSGSGSGTDFT
LNIPVVEEDAATYYCQHSREFPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCVLLNNFYPREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열
번호 7)

>3E10-VL

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASYLESQVPARFSGSGSGTDFT
LNIPVVEEDAATYYCQHSREFPWTFGGGTKLEIK (서열번호 8)

>3E10-VL-CDR1

RASKSVSTSSYSYMH (서열번호 9)

>3E10-VL-CDR2

YASYLES (서열번호 10)

>3E10-VL-CDR3

QHSREFPWT (서열번호 11)

>3E10-LC-SP

MGWSCIIILFLVATATGVHS (서열번호 12)

도면2a

D31N 3E10 항체 서열

>3E10-HC_D31N
 EVQLVESGGGLV~~PKG~~SRKLSCAASGFTFS~~NYGMHWVRQAPEKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTISRDN~~AKNTLF
 LQMTSLRSED~~TAMYYCARRGLLDYWGQGTTLTV~~SAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
 ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV~~TPSS~~SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK~~KKVEPKSCDKHTHTCPPCP~~APPELLGGPSVF
 LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
 KVSNAKALPAPIEKTI~~SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT~~PPVLDSD
 GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV~~FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK~~ (서열번호 13)

>3E10-VH_D31N
 EVQLVESGGGLV~~PKG~~SRKLSCAASGFTFS~~NYGMHWVRQAPEKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTISRDN~~AKNTLF
 LQMTSLRSED~~TAMYYCARRGLLDYWGQGTTLTV~~SS (서열번호 14)

>3E10-VH-CDR1_D31N
 NYGMH (서열번호 15)

>3E10-VH-CDR1a
 XYGMH, 여기서 X는 D 또는 N임(서열번호 16)

>3E10-VH-CDR2_D31N
 YISSGSSTIYYADTVKG (서열번호 17)

>3E10-VH-CDR3_D31N
 RGLLDY (서열번호 18)

>3E10-HC-SP_D31N
 MGWSCIILFLVATATGVHS (서열번호 19)

>3E10-VL_D31N
 DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSSYSYMH~~WYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGV~~PARFSGSGGTDFTLNIH
 PVEEEDAATYYCQHSREFPWT~~FGGGTKLEIKRTVAAPS~~VFIFPPSDEQLKSGTASV~~VCLLN~~FYPREAKVQWVDNALQS
 GNSQESVTEQDSKDYSLSS~~TLT~~SKADY~~EKKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC~~ (서열번호 20)

>3E10-VL-VR_D31N
 DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSSYSYMH~~WYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGV~~PARFSGSGGTDFTLNIH
 PVEEEDAATYYCQHSREFPWT~~FGGGTKLEIK~~ (서열번호 21)

>3E10-VL-CDR1_D31N
 RASKSVSTSSYSYMH (서열번호 22)

>3E10-VL-CDR2_D31N
 YASYLES (서열번호 23)

>3E10-VL-CDR3_D31N
 QHSREFPWT (서열번호 24)

>3E10-LC-SP_D31N
 MGWSCIILFLVATATGVHS (서열번호 25)

도면2b

알려진 다른 3E10 CDR 변이체

3E10-VH-CDR2 변이체
 3E10-VH-CDR2.1 YISSGSSTIYYAD~~S~~VKG (서열번호 26)
 3E10-VH-CDR2.2 YISS~~S~~STIYYAD~~S~~VKG (서열번호 27)

3E10-VL-CDR1 변이체
 3E10-VL-CDR1.1 RASKSVSTSSYSY~~LA~~ (서열번호 28)
 3E10-VL-CDR1.2 RASK~~T~~VSTSSYSYMH (서열번호 29)

3E10-VL-CDR2 변이체
 3E10-VL-CDR2.1 YASYL~~QS~~ (서열번호 30)

도면2c

추가적으로 고려되는 3E10 CDR 변이체

3E10-VH-CDR2 변이체

3E10-VH-CDR2.3 YISSX₁SSTIYYADX₂VKG, 여기서:

X₁ 및 X₂는 별도로 임의의 아미노산임(서열번호 31)

3E10-VL-CDR1 변이체

3E10-VL-CDR1.3 RASKX₁VSTSSYSYX₂X₃, 여기서:

X₁, X₂, 및 X₃는 별도로 임의의 아미노산임(서열번호 32)

3E10-VL-CDR2 변이체

3E10-VL-CDR2.2 YASYLX₁S, 여기서:

X₁는 임의의 아미노산임(서열번호 33)

도면3

전하 보존 변이체 3E10 CDR

VH CDR1 변이체

3E10-VH-CDR1.c1 QYGMH (서열번호 34)

3E10-VH-CDR1.c2 EYGMH (서열번호 35)

3E10-VH-CDR1.c3 X₁YGMX₂, 여기서:

X₁는 D 또는 N이고, X₂는 K 또는 R 임(서열번호 36)

3E10-VH-CDR1.c4 QYGMX₁, 여기서 X₁는 K 또는 R 임(서열번호 37)

3E10-VH-CDR1.c5 EYGMX₁, 여기서 X₁는 K 또는 R 임(서열번호 38)

VH CDR2 변이체

3E10-VH-CDR2.c1 YISSGSSTIYYAETVKG (서열번호 39)

3E10-VH-CDR2.c2 YISSGSSTIYYADTVX₁G, 여기서 X₁는 R 또는 H 임(서열번호 40)

3E10-VH-CDR2.c3 YISSGSSTIYYAETVX₁G, 여기서 X₁는 R 또는 H 임(서열번호 41)

VH CDR3 변이체

3E10-VH-CDR3.c1 X₁GLLLDY, 여기서 X₁는 K 또는 H 임(서열번호 42)

3E10-VH-CDR3.c2 RGLLLEY (서열번호 43)

3E10-VH-CDR3.c3 X₁GLLLEY, 여기서 X₁는 K 또는 H 임(서열번호 44)

VL CDR1 변이체

3E10-VL-CDR1.c1 X₁ASKSVSTSSYSYMH, 여기서 X₁는 K 또는 H 임(서열번호 45)

3E10-VL-CDR1.c2 RASX₁SVSTSSYSYMH, 여기서 X₁는 R 또는 H 임(서열번호 46)

3E10-VL-CDR1.c3 RASKSVSTSSYSYMX₁, 여기서 X₁는 K 또는 R 임(서열번호 47)

3E10-VL-CDR1.c4 X₁ASX₂SVSTSSYSYMH, 여기서:

X₁는 K 또는 H이고, X₂는 R 또는 H 임(서열번호 48)

3E10-VL-CDR1.c5 X₁ASKSVSTSSYSYMX₂, 여기서:

X₁는 K 또는 H이고, X₂는 K 또는 R 임(서열번호 49)

3E10-VL-CDR1.c6 RASX₁SVSTSSYSYMX₂, 여기서:

X₁는 R 또는 H이고, X₂는 K 또는 R 임(서열번호 50).

VL CDR2 변이체

3E10-VL-CDR2.c1 YASYLDS (서열번호 51)

VL CDR3 변이체

3E10-VL-CDR3.c1 QX₁SREFPWT, 여기서 X₁는 K 또는 R 임(서열번호 52)

3E10-VL-CDR3.c2 QHSX₁EFPWT, 여기서 X₁는 K 또는 H 임(서열번호 53)

3E10-VL-CDR3.c3 QHSRDFPWT (서열번호 54)

3E10-VL-CDR3.c4 QX₁SX₂EFPWT, 여기서:

X₁는 K 또는 R이고, X₂는 K 또는 H 임(서열번호 55)

3E10-VL-CDR3.c5 QX₁SRDFPWT, 여기서 X₁는 K 또는 R 임(서열번호 56)

3E10-VL-CDR3.c6 QHSX₁DFPWT, 여기서 X₁는 K 또는 H 임(서열번호 57)

도면4

화합물 변이체 3E10 CDR

VH CDR1 변이체

3E10-VH-CDR1m X₁YGMX₂, 여기서:

X₁은 D, E, N, Q, R, 또는 K이고,
X₂는 K, R, 또는 H임(서열번호 58)

VH CDR2 변이체

3E10-VH-CDR2m YISSX₁SSTIYYAX₂X₃VX₄G, 여기서:

X₁은 G 또는 S이고,
X₂는 D 또는 E이고,
X₃은 T 또는 s이고,
X₄는 K, R, 또는 H임(서열번호 59)

VH CDR3 변이체

3E10-VH-CDR3m X₁GLLLX₂Y, 여기서:

X₁은 K, R, 또는 H이고,
X₂는 D 또는 E임(서열번호 60)

VL CDR1 변이체

3E10-VL-CDR1m X₁ASX₂X₃VSTSSYSYX₄X₅, 여기서:

X₁은 K, R, 또는 H이고,
X₂는 K, R, 또는 H이고,
X₃은 T 또는 S이고,
X₄는 M 또는 L이고,
X₅는 K, R, H, 또는 A임(서열번호 61)

VL CDR2 변이체

3E10-VL-CDR2m YASYLX₁S, 여기서:

X₁은 D, E, N, 또는 Q임(서열번호 62)

VL CDR3 변이체

3E10-VL-CDR3m QX₁SX₂X₃FPWT, 여기서:

X₁은 K, R, 또는 H이고,
X₂는 K, R, 또는 H이고,
X₃은 D 또는 E임(서열번호 63)

도면5

인간화3E10 중쇄 가변 영역

>3E10-VH-h1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVSYISSGSSTIYYADTVKGRFTI
SRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCARRGLLLDYWGQGTLLVTVSS (서열번호 64)

>3E10-VH-h2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTI
SRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAMYYCARRGLLLDYWGQGTLLVTVSS (서열번호 65)

>3E10-VH-h3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTI
SRDNAKNSLYLQMTSLRAEDTAMYYCARRGLLLDYWGQGTLLVTVSS (서열번호 66)

>3E10-VH-h4

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTI
SRDNAKNSLYLQMTSLRAEDTAMYYCARRGLLLDYWGQGTLLVTVSS (서열번호 67)

>3E10-VH-h5

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTI
SRDNAKNTLFLQMNLSRAEDTAVYYCARRGLLLDYWGQGTLLVTVSS (서열번호 68)

>3E10-VH-h6

EVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTI
SRDNAKNTLFLQMNLSRAEDTAVYYCARRGLLLDYWGQGTLLVTVSS (서열번호 69)

>3E10-VH-h7

EVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTI
SRDNAKNTLFLQMTSLRAEDTAVYYCARRGLLLDYWGQGTLLVTVSS (서열번호 70)

도면6

인간화 3E10 중쇄 (신호 펩티드 없음)

>3E10-HC-h1m

EVQLVESGGGLVQP... (서열번호 71)

>3E10-HC-h2m

EVQLVESGGGLVQP... (서열번호 72)

>3E10-HC-h3m

EVQLVESGGGLVQP... (서열번호 73)

>3E10-HC-h4m

EVQLVESGGGLVQP... (서열번호 74)

>3E10-HC-h5m

EVQLVESGGGLVQP... (서열번호 75)

>3E10-HC-h6m

EVQLVESGGGLVQP... (서열번호 76)

>3E10-HC-h7m

EVQLVESGGGLVQP... (서열번호 77)

도면7

인간화 3E10 중쇄 (신호 펩티드 포함)

>3E10-HC-h1

MGWSCIILFLVATATGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVSYISSGSSTIYYADTVK
GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLLLDYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
SFPLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (서열번호 78)

>3E10-HC-h2

MGWSCIILFLVATATGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVK
GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLLLDYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
SFPLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (서열번호 79)

>3E10-HC-h3

MGWSCIILFLVATATGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVK
GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLLLDYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
SFPLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (서열번호 80)

>3E10-HC-h4

MGWSCIILFLVATATGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVK
GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLLLDYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
SFPLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (서열번호 81)

>3E10-HC-h5

MGWSCIILFLVATATGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVK
GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLLLDYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
SFPLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (서열번호 82)

>3E10-HC-h6

MGWSCIILFLVATATGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVK
GRFTISRDNAKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLLLDYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
SFPLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (서열번호 83)

>3E10-HC-h7

MGWSCIILFLVATATGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVK
GRFTISRDNAKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCARRGLLLDYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
SFPLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (서열번호 84)

도면8

인간화3E10 경쇄 가변 영역

- >3E10-VL-h1
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYYASYLESGVPARFSGSG
SGTDFTLTINPVEANDTANYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIK (서열번호 85)
- >3E10-VL-h2
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGVPARFSGSG
SGTDFTLTINPVEAEDTATYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIK (서열번호 86)
- >3E10-VL-h3
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGVPARFSGSG
SGTDFTLTINPVEAEDTANYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIK (서열번호 87)
- >3E10-VL-h4
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGVPARFSGSG
SGTDFTLTINPVEAEDAATYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIK (서열번호 88)
- >3E10-VL-h5
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGVPARFSGSG
SGTDFTLNIHPVEAEDTANYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIK (서열번호 89)
- >3E10-VL-h6
DIVLTQSPASLAVSPGQRATISCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGVPARFSGSG
SGTDFTLNIHPVEEEDTANYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIK (서열번호 90)

도면9

인간화3E10 경쇄 (신호 펩티드 없음)

- >3E10-LC-h1m
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYYASYLESGVPARFSGSG
SGTDFTLTINPVEANDTANYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT
KSFNRGEC (서열번호 91)
- >3E10-LC-h2m
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGVPARFSGSG
SGTDFTLTINPVEAEDTATYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT
KSFNRGEC (서열번호 92)
- >3E10-LC-h3m
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGVPARFSGSG
SGTDFTLTINPVEAEDTANYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT
KSFNRGEC (서열번호 93)
- >3E10-LC-h4m
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGVPARFSGSG
SGTDFTLTINPVEAEDAATYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT
KSFNRGEC (서열번호 94)
- >3E10-LC-h5m
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGVPARFSGSG
SGTDFTLNIHPVEAEDTANYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT
KSFNRGEC (서열번호 95)
- >3E10-LC-h6m
DIVLTQSPASLAVSPGQRATISCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASYLESGVPARFSGSG
SGTDFTLNIHPVEEEDTANYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT
KSFNRGEC (서열번호 96)

도면10

인간화3E10 경쇄(신호 펩티드 포함)

>3E10-LC-h1
 MGWSCIILFLVATATGVHSDIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLL
 IYYASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI
 FPPSDEQLKSGTASVVCLLNLFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS'LTLSKADYE
 KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 97)

>3E10-LC-h2
 MGWSCIILFLVATATGVHSDIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLL
 IKYASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEAEDTATYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI
 FPPSDEQLKSGTASVVCLLNLFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS'LTLSKADYE
 KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 98)

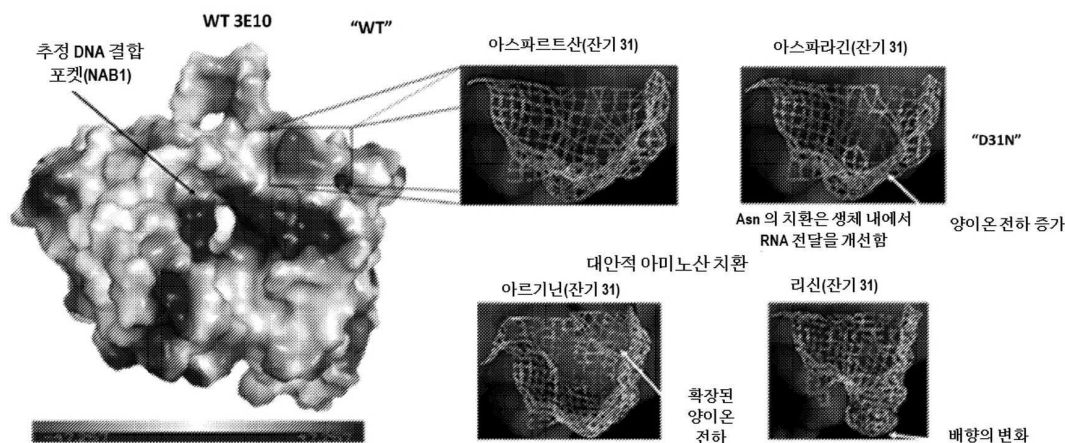
>3E10-LC-h3
 MGWSCIILFLVATATGVHSDIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLL
 IKYASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEAEDTANYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI
 FPPSDEQLKSGTASVVCLLNLFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS'LTLSKADYE
 KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 99)

>3E10-LC-h4
 MGWSCIILFLVATATGVHSDIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLL
 IKYASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEAEDAATYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI
 FPPSDEQLKSGTASVVCLLNLFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS'LTLSKADYE
 KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 100)

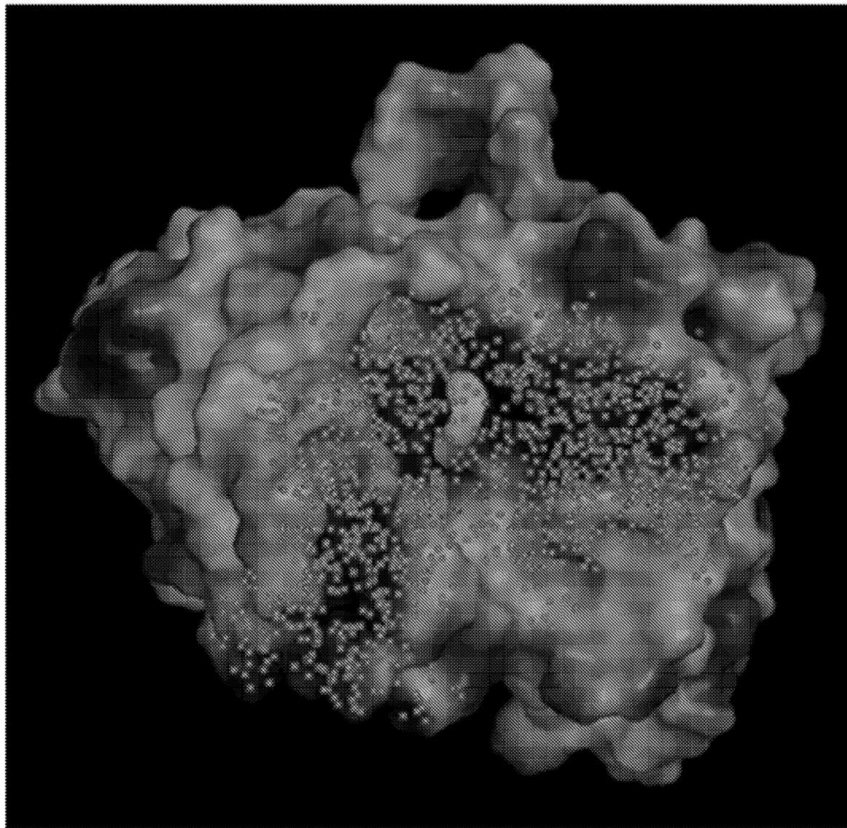
>3E10-LC-h5
 MGWSCIILFLVATATGVHSDIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLL
 IKYASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLNHPVEAEDTANYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI
 FPPSDEQLKSGTASVVCLLNLFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS'LTLSKADYE
 KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 101)

>3E10-LC-h6
 MGWSCIILFLVATATGVHSDIVLTQSPASLAVSPGQRATISCRASKSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLL
 IKYASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDTANYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI
 FPPSDEQLKSGTASVVCLLNLFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS'LTLSKADYE
 KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 102)

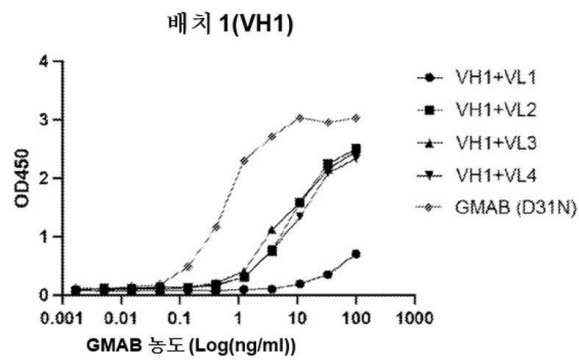
도면11a



도면11b

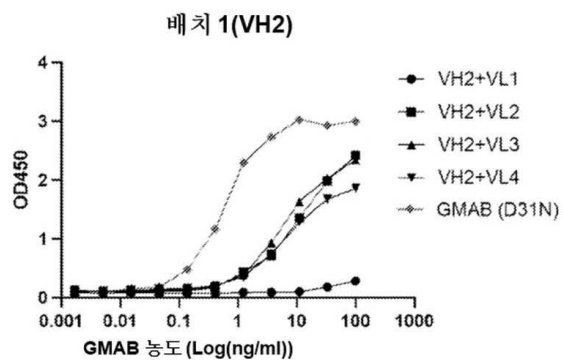


도면12a



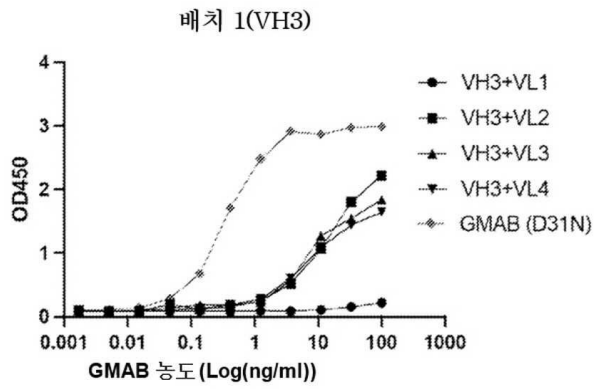
변이체	EC50 (ng/ml)	정규화된 EC50
11	256090	432.6
12	8273	14.0
13	6651	11.2
14	9975	16.8
GMAB	592	1.0

도면12b



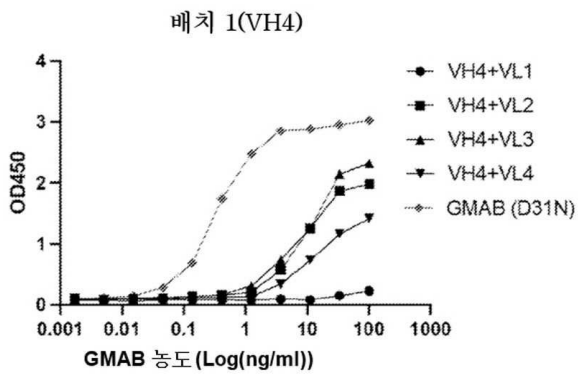
변이체	EC50 (ng/ml)	정규화된 EC50
21	48703	83.4
22	13031	22.3
23	6269	10.7
24	6787	11.6
GMAB	583.7	1.0

도면12c



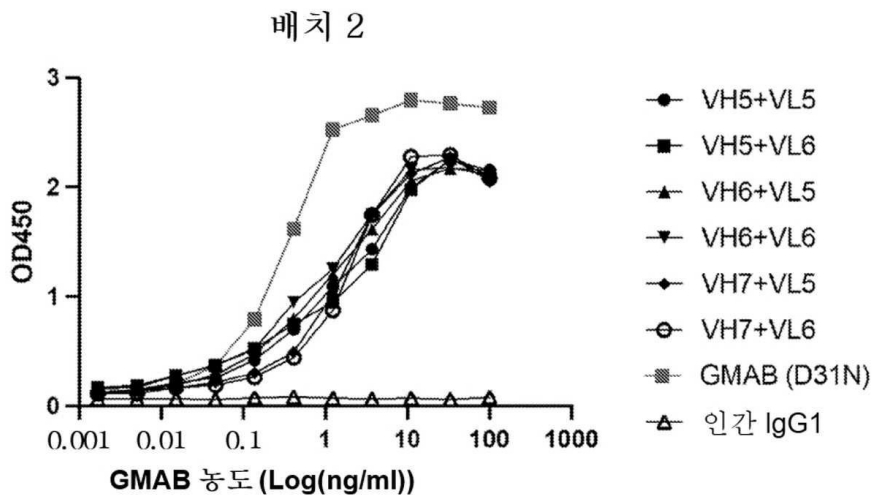
변이체	EC50 (ng/ml)	정규화된 EC50
31	102775	289.1
32	15343	43.2
33	7419	20.9
34	7677	21.6
GMAB	355.5	1.0

도면12d



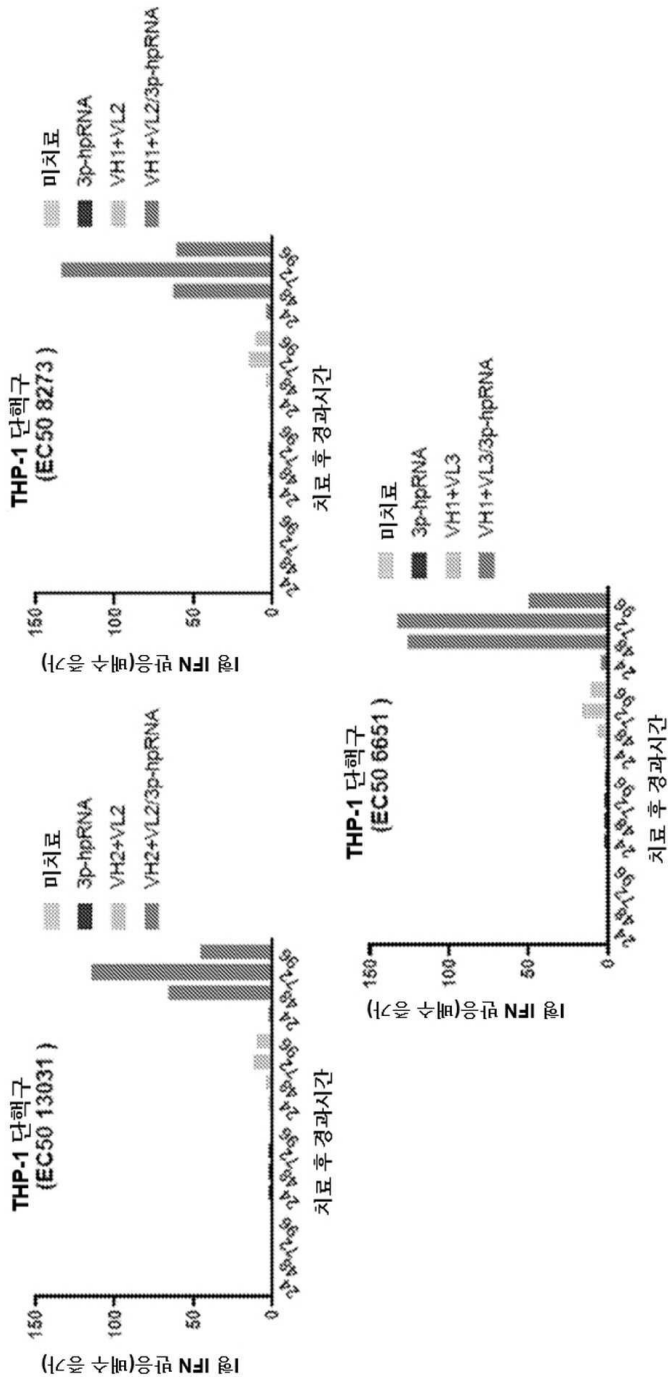
변이체	EC50 (ng/ml)	정규화된 EC50
41	35515	101.7
42	8375	24.0
43	10609	30.4
44	13513	38.7
GMAB	349.1	1.0

도면12e

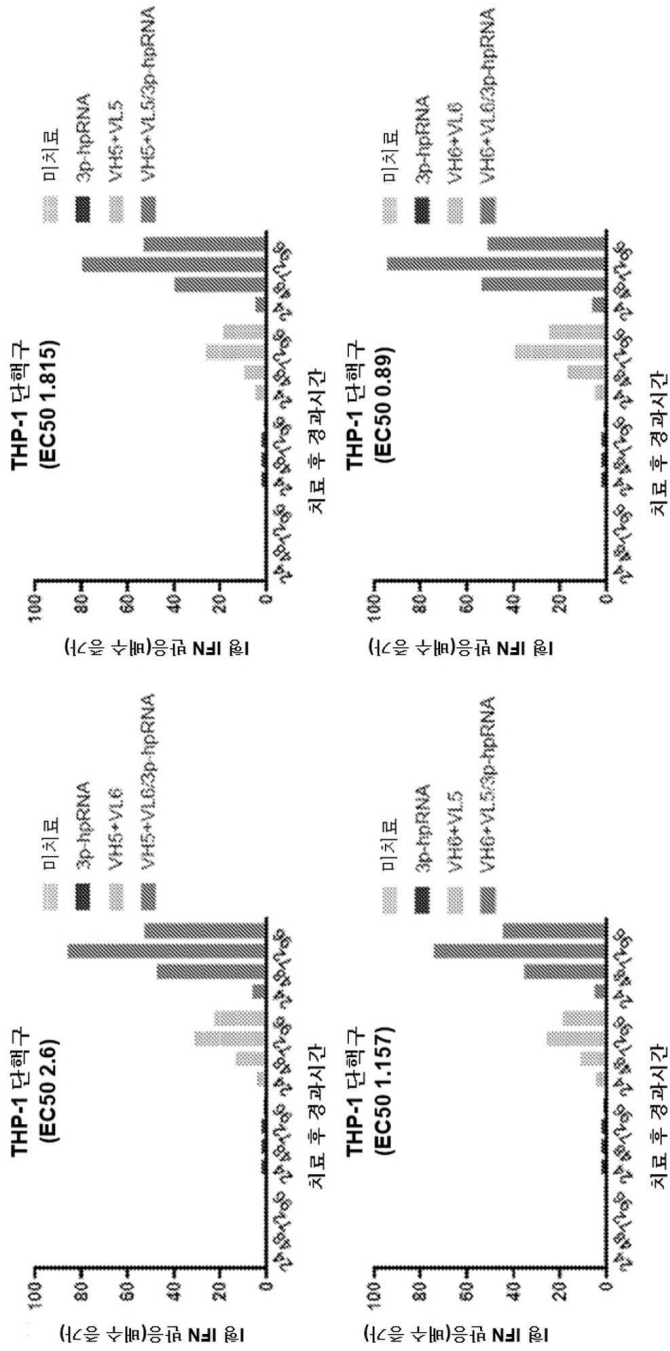


변이체	EC50 (ng/ml)	정규화된 EC50
55	1815	5.7
56	2602	8.1
65	1157	3.6
66	893	2.8
75	1477	4.6
76	1766	5.5
GMAB	320	1

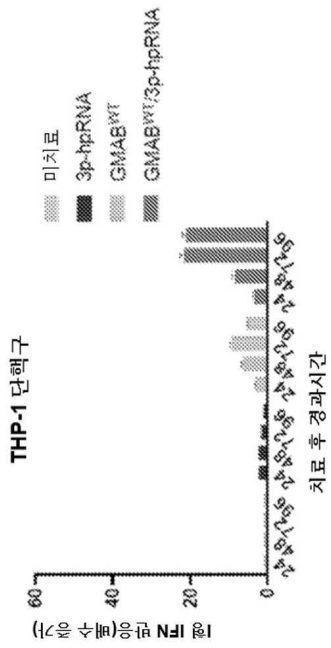
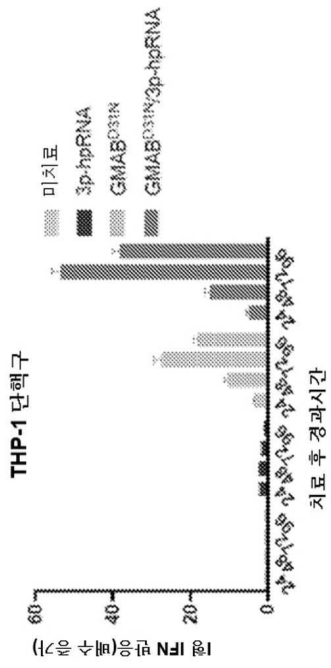
도면14



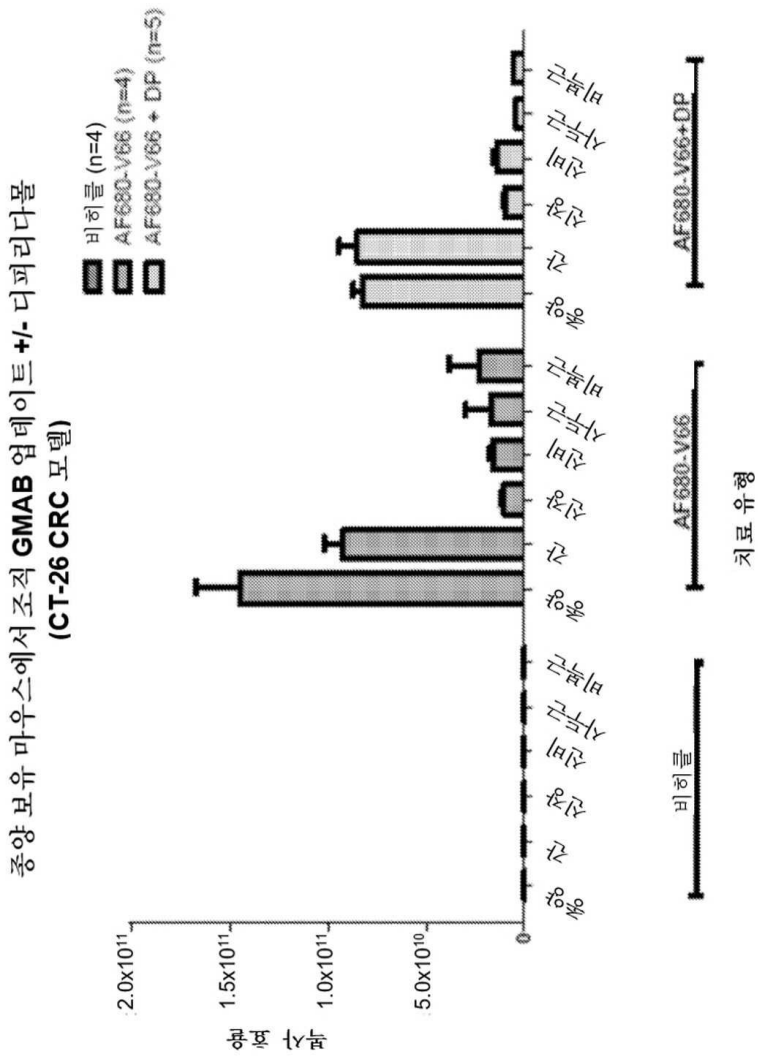
도면15



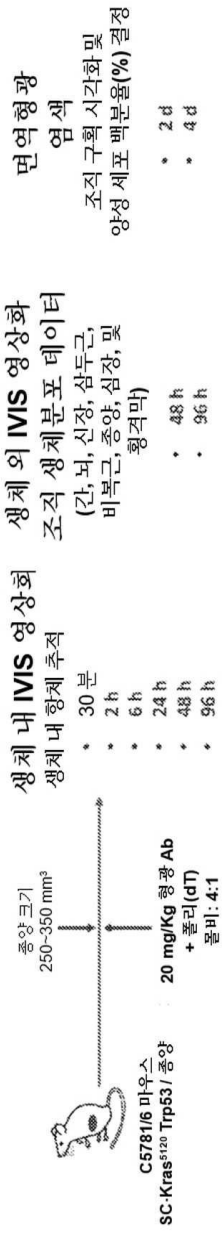
도면16



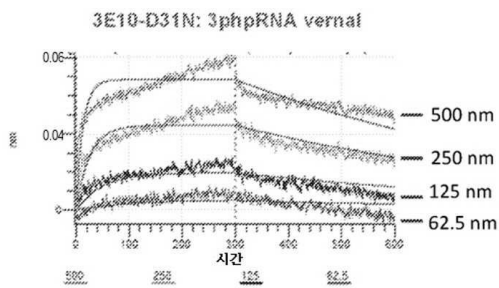
도면17



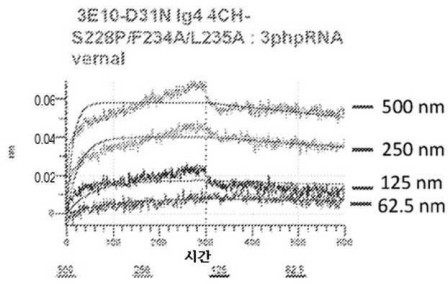
도면18



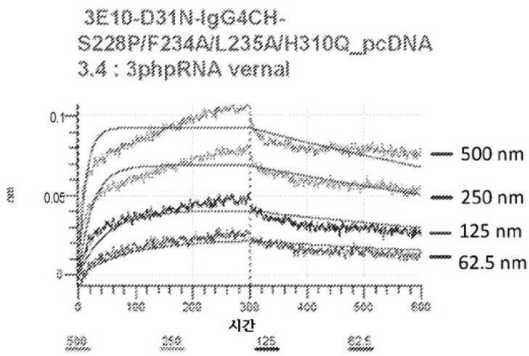
도면19a



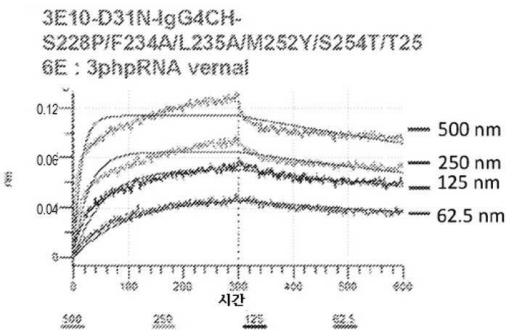
도면19b



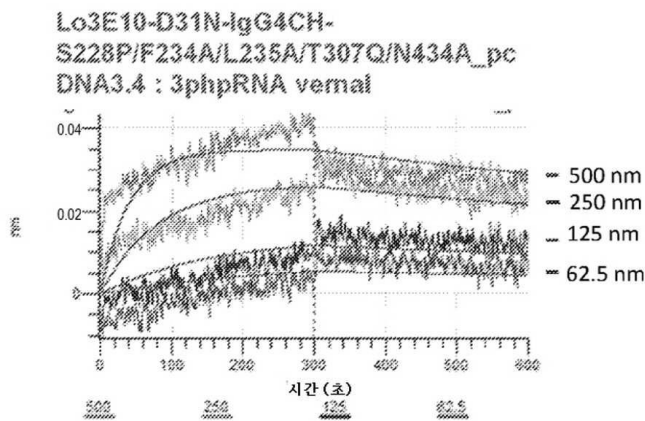
도면19c



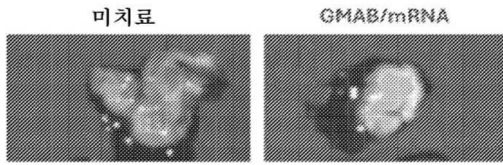
도면19d



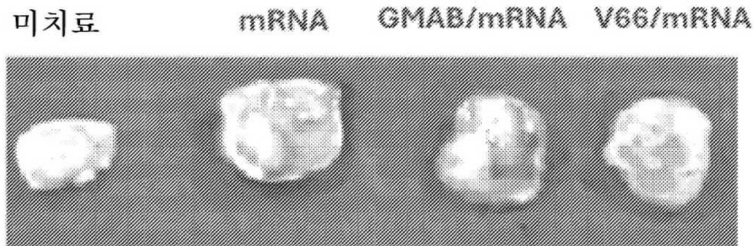
도면19e



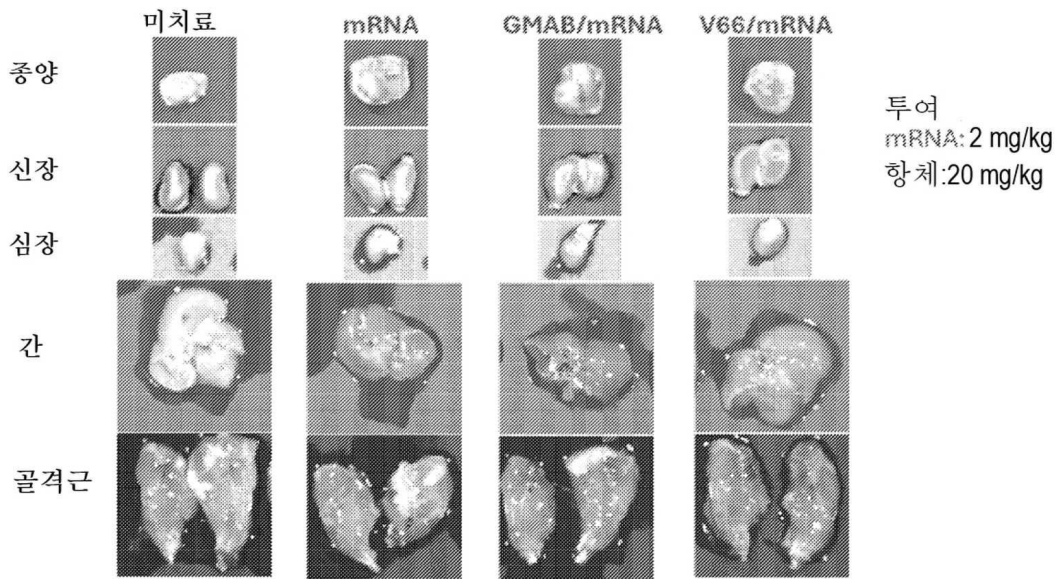
도면20a



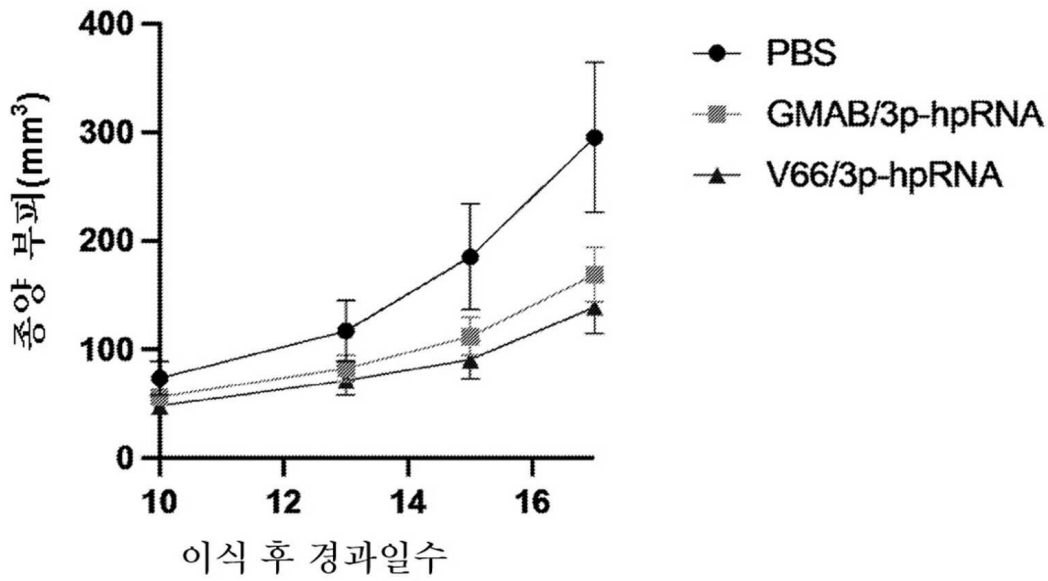
도면20b



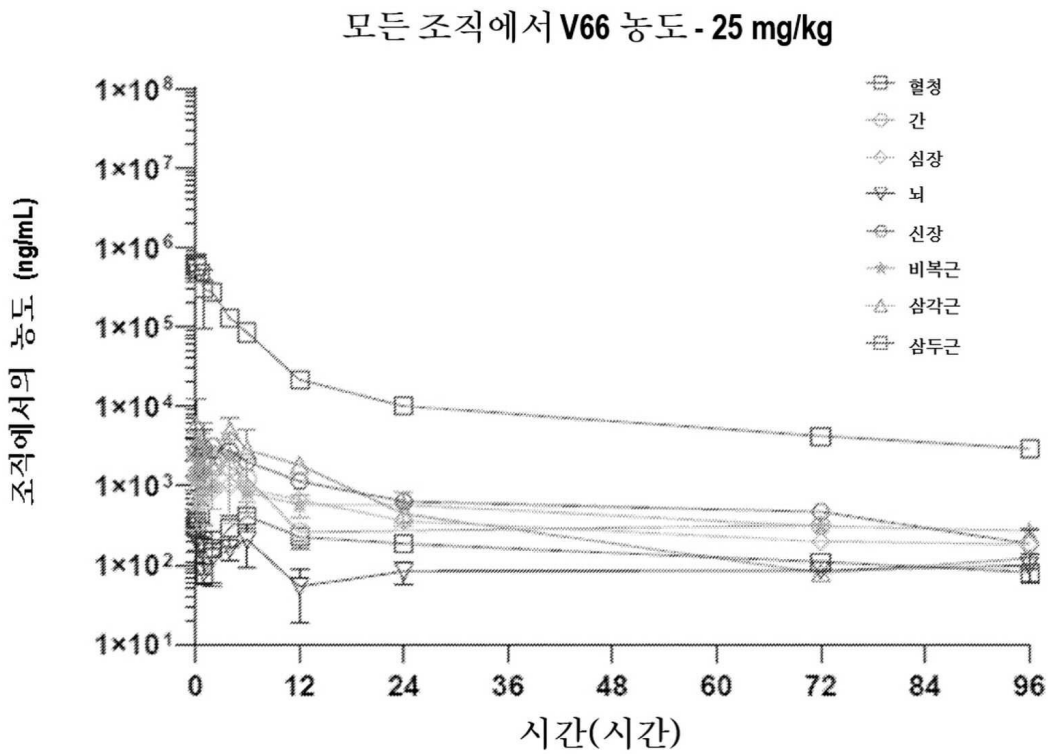
도면21



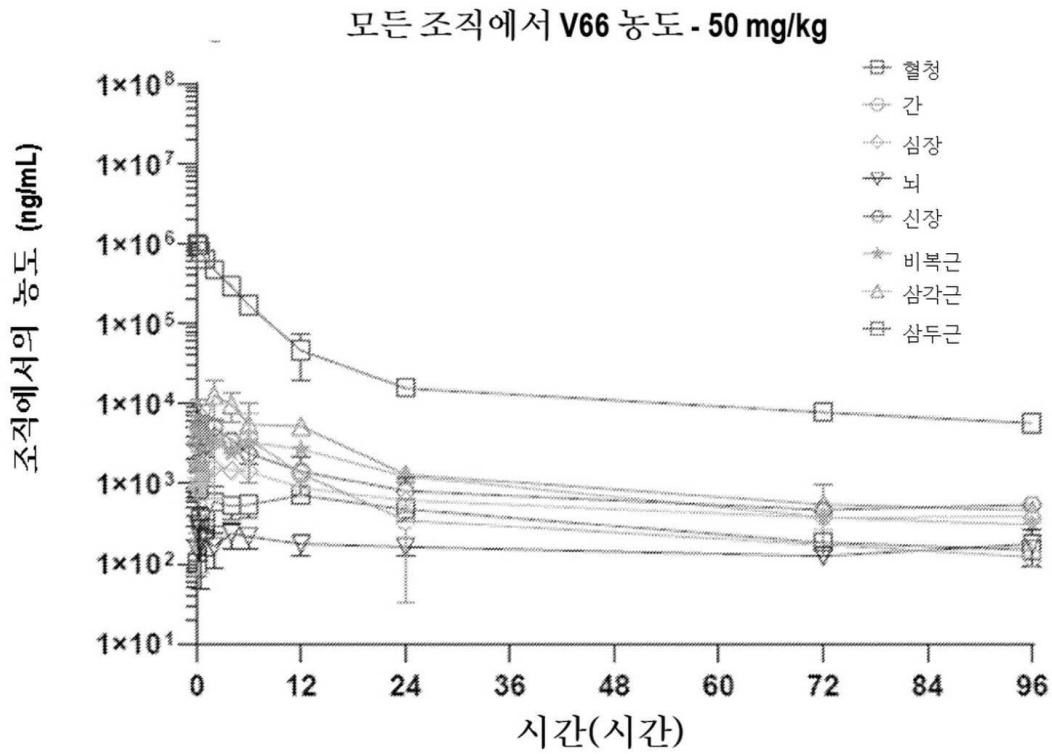
도면22



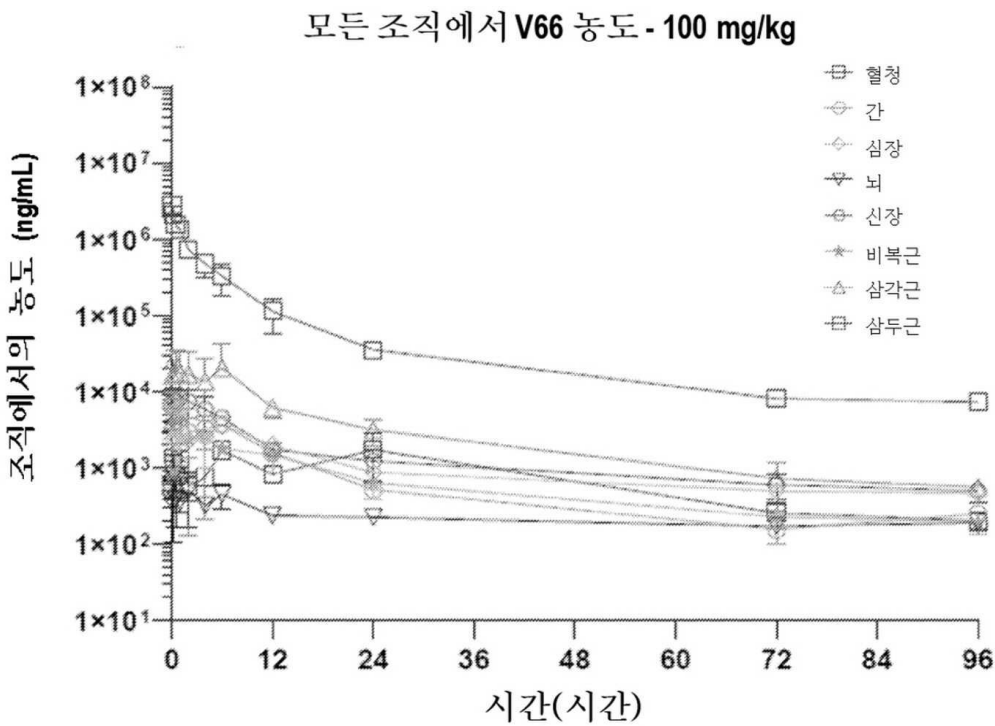
도면23a



도면23b

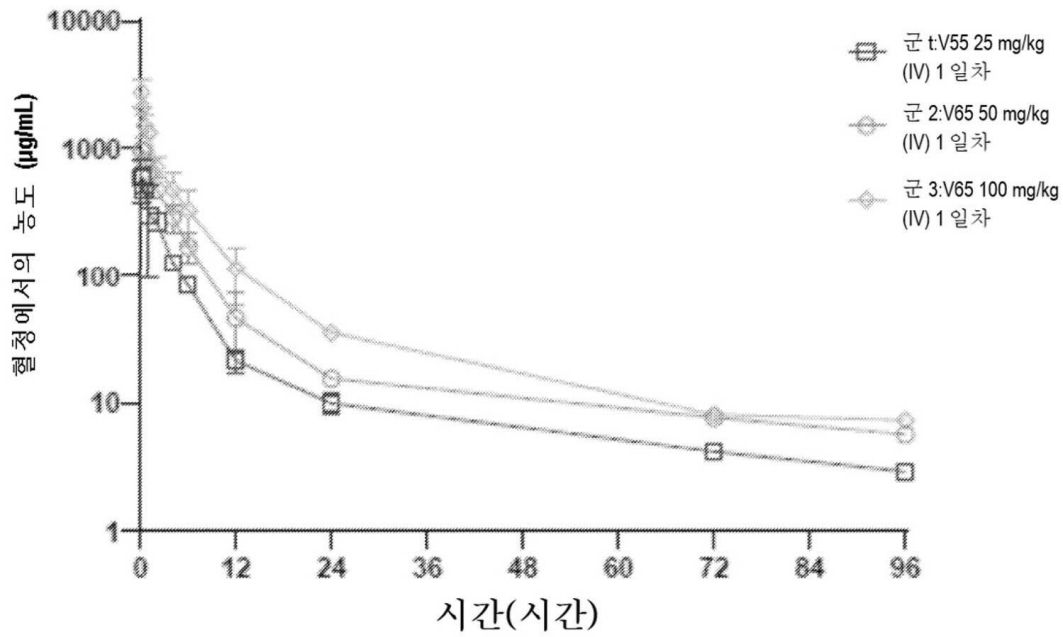


도면23c



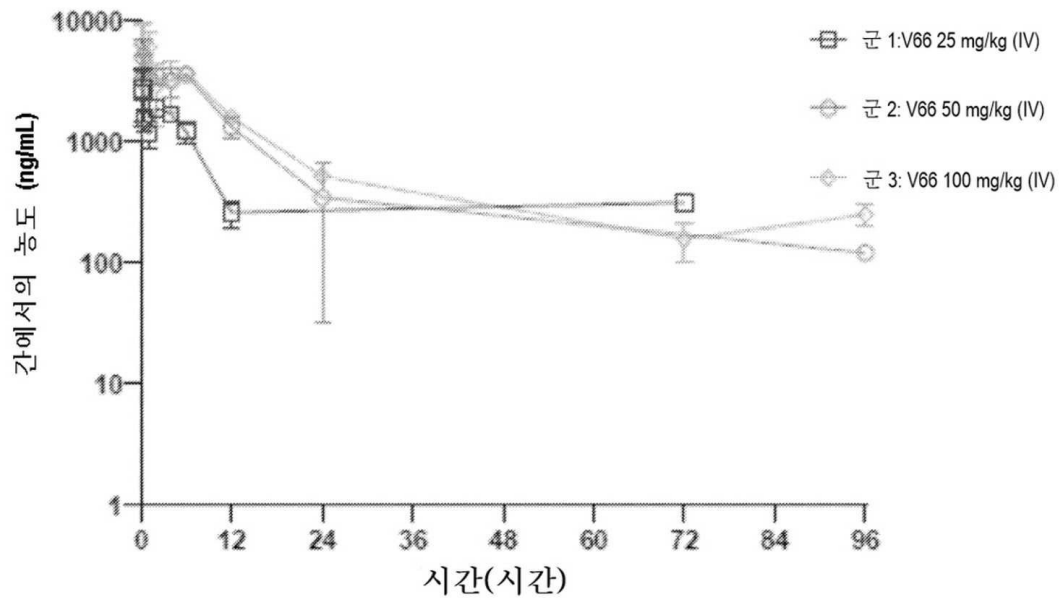
도면23d

혈청 분석의 군 비교

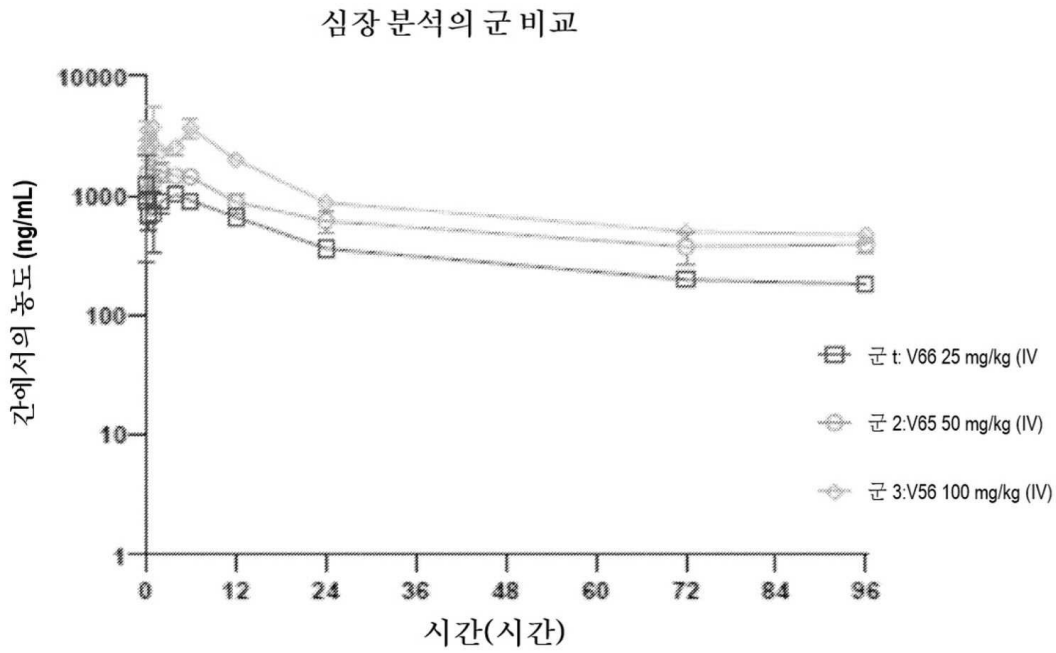


도면23e

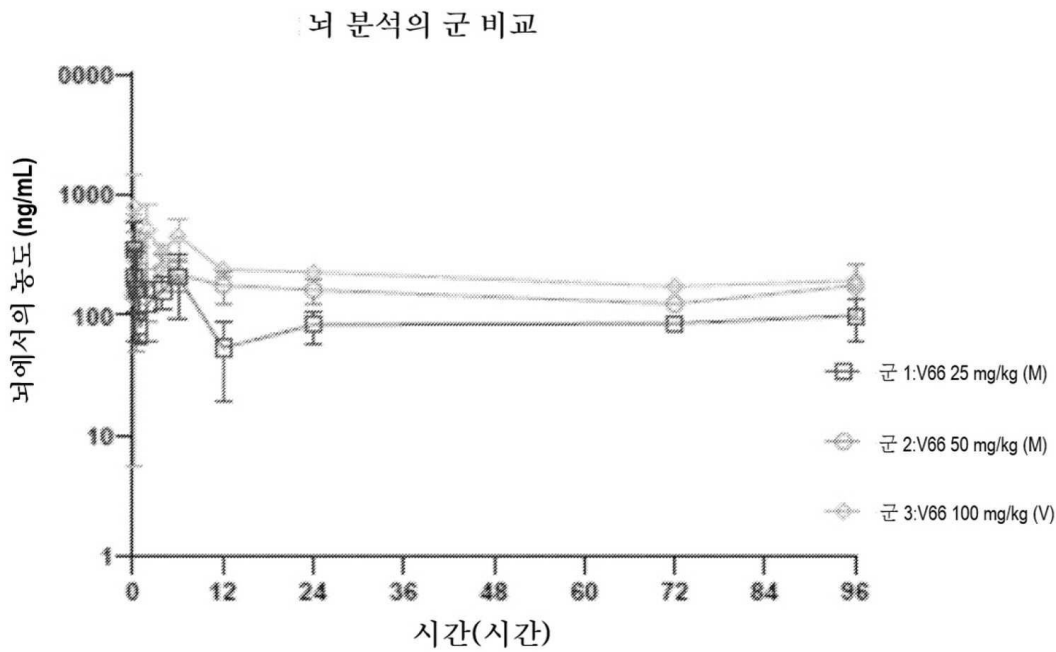
간 분석의 군 비교



도면23f

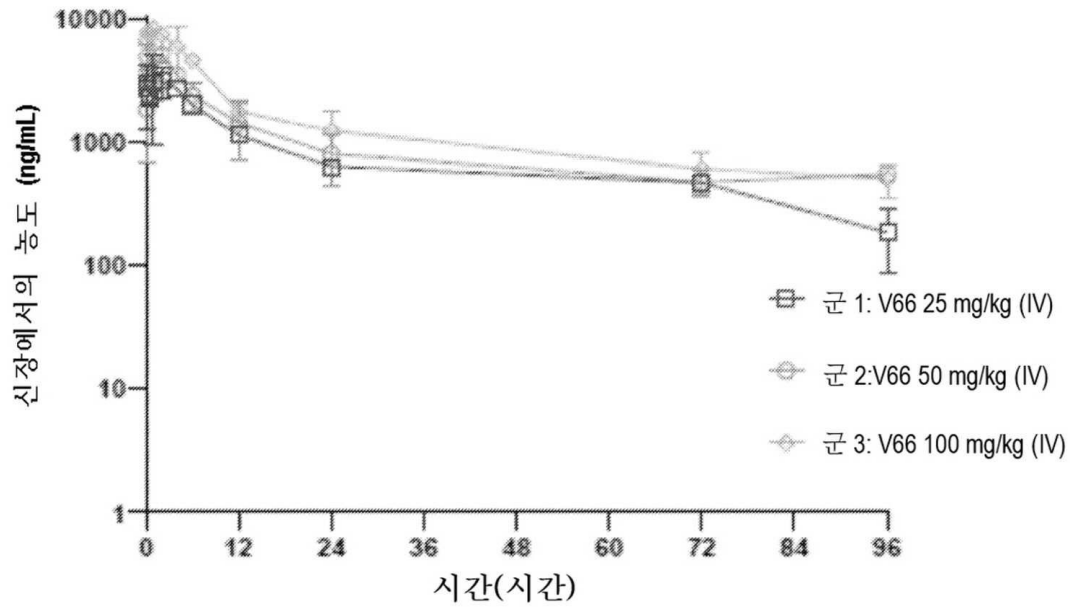


도면23g



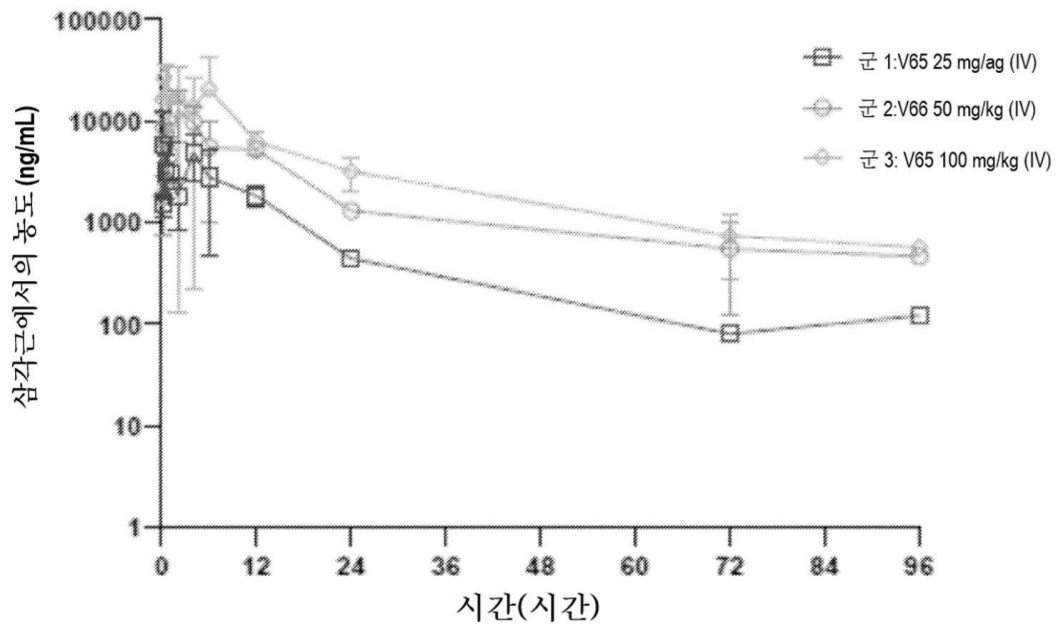
도면23h

신장 분석의 군 비교

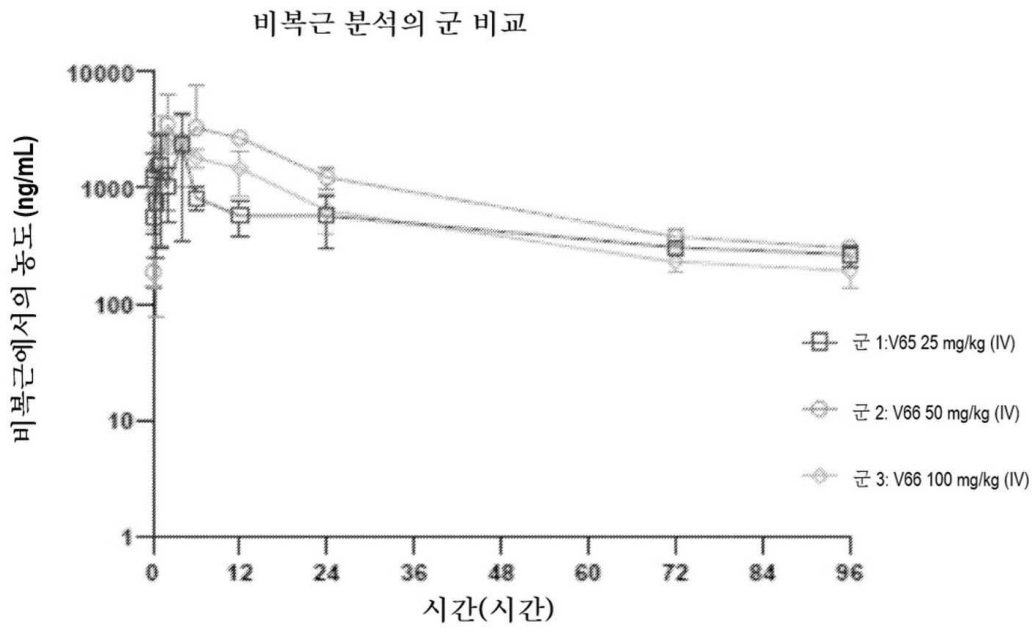


도면23i

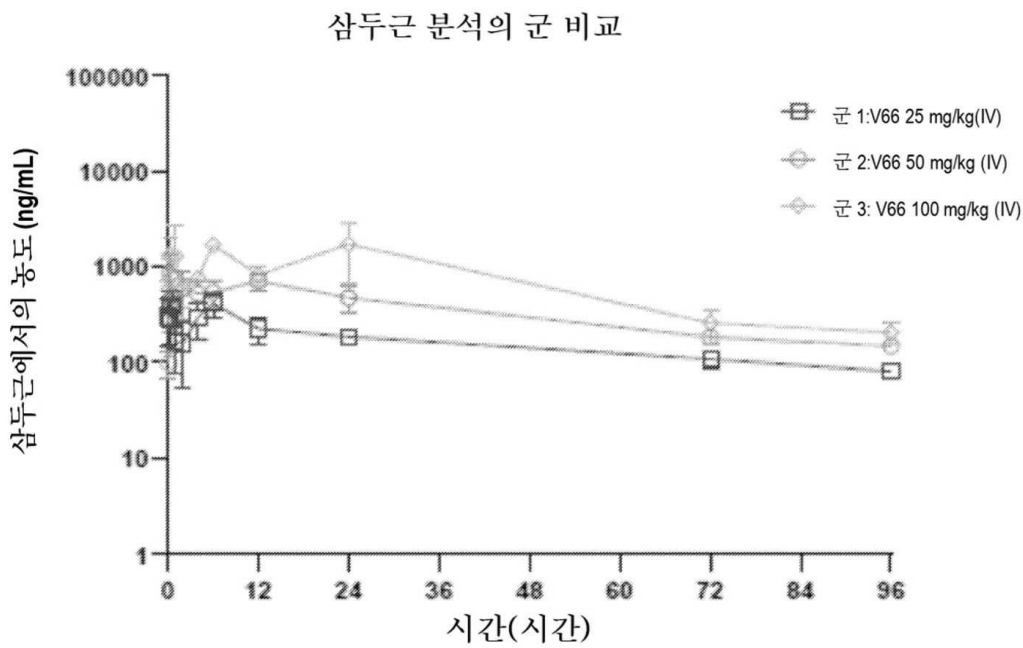
삼각근 분석의 군 비교



도면23j

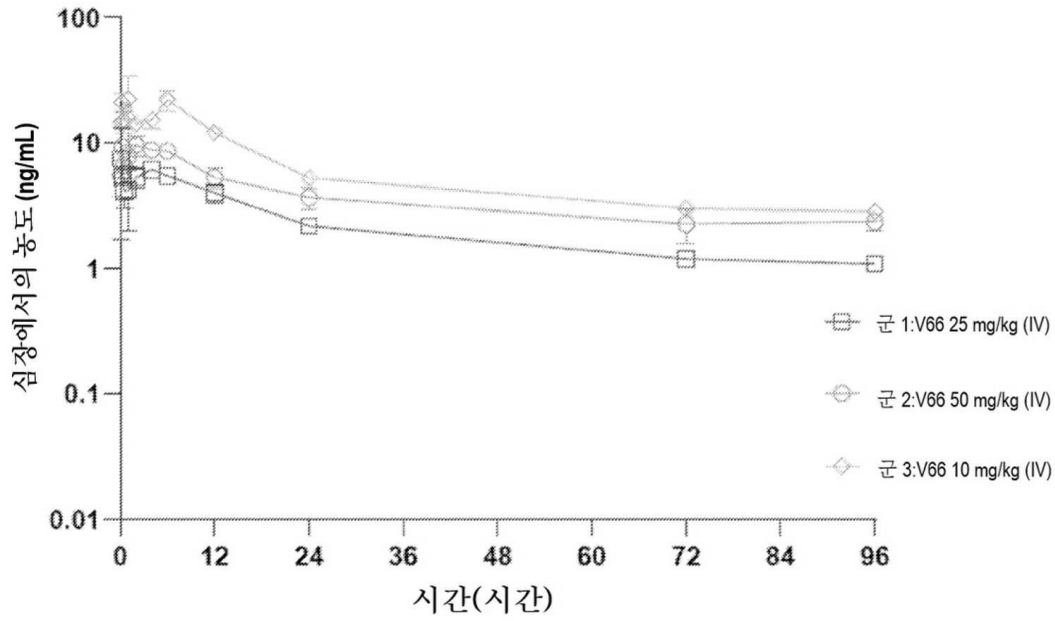


도면23k



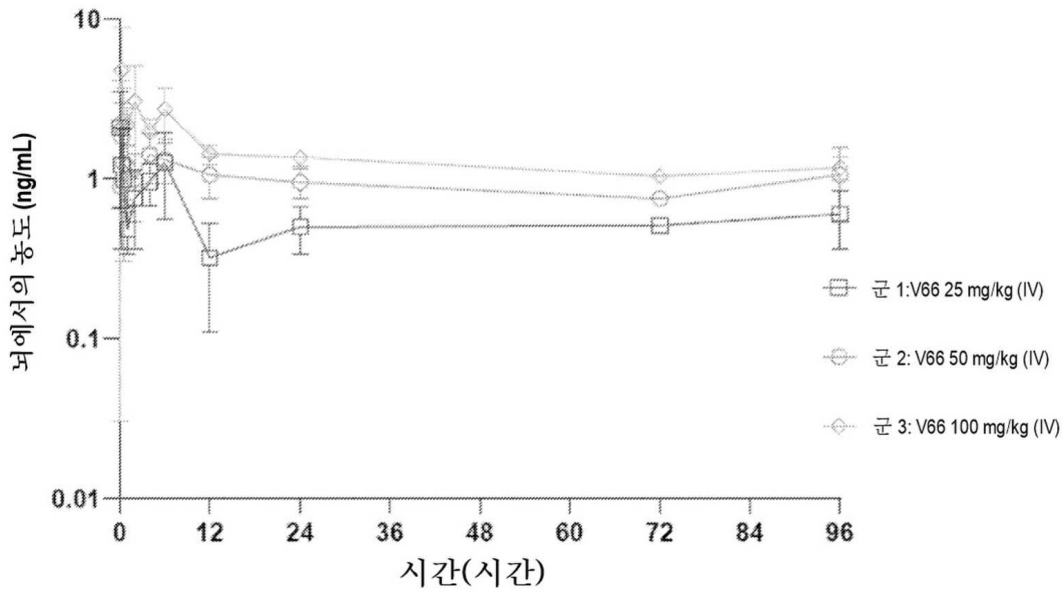
도면23l

심장 분석의 군 비교

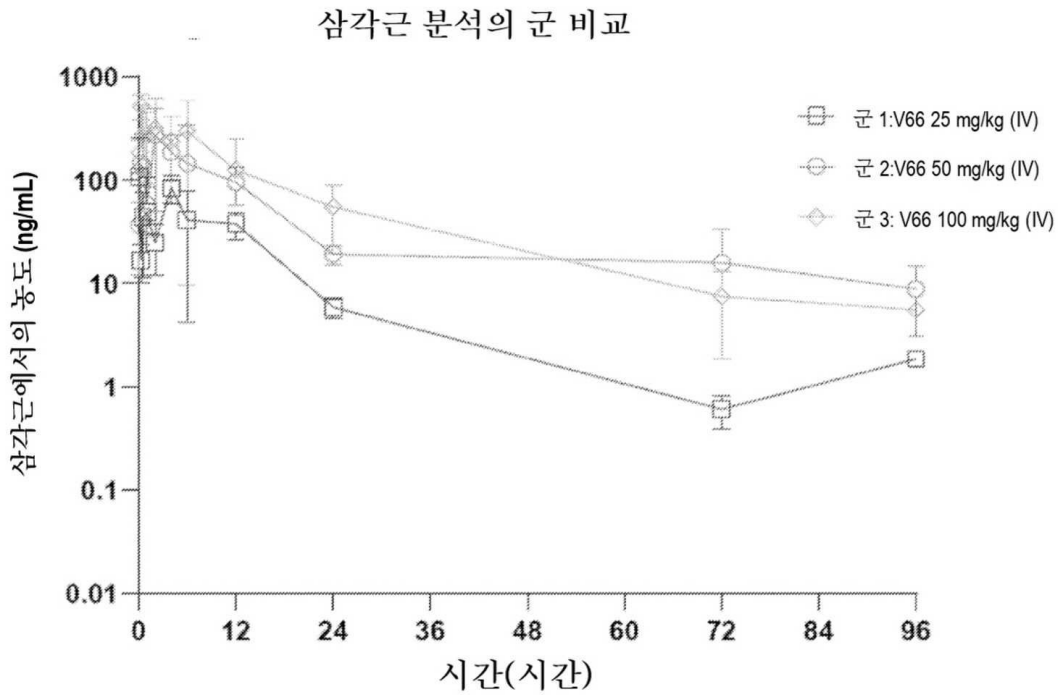


도면23m

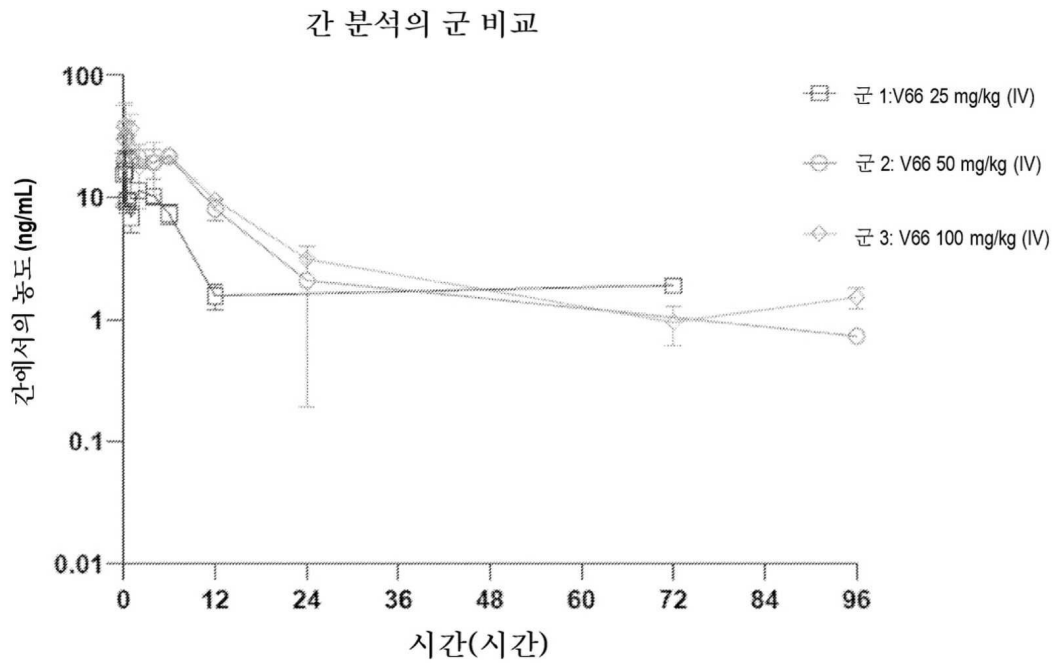
뇌 분석의 군 비교



도면23n

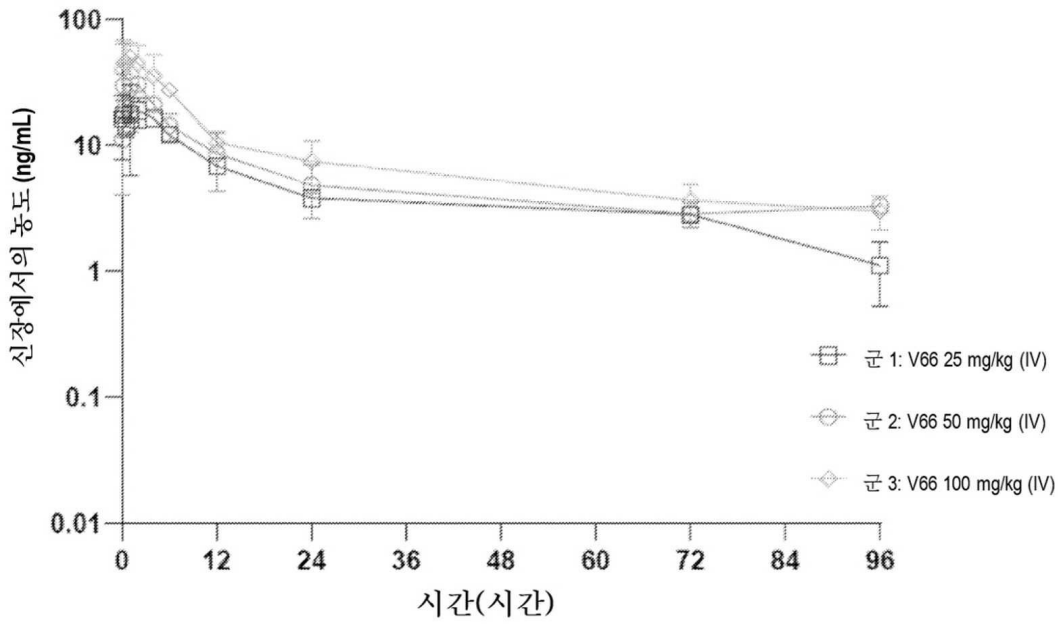


도면23o



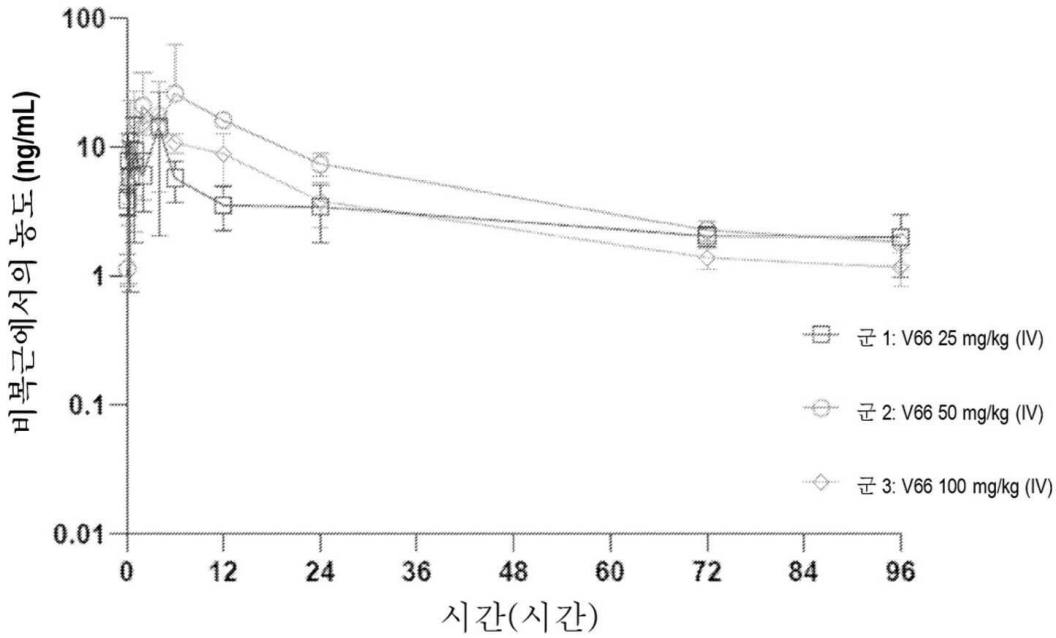
도면23p

신장 분석의 군 비교



도면23q

비복근 분석의 군 비교



도면24a

PK 파라미터	군 1:25 mg/kg						
	혈청	간	심장	뇌	신장	비복근	삼두근
Tmax (시간)	0.08	0.25	0.08	0.08	2.00	4.00	6.00
Cmax (ng/mL)	590176.88	2760.62	1239.35	349.01	3146.55	2396.34	414.75
AUClast (시간*ng/mL)	2204959.30	30882.41	33668.65	8593.21	69233.01	47182.90	1511.59
AUC별 V66 농도의 순위	1	6	5	8	2	4	7
PK 파라미터	군 2:50 mg/kg						
	혈청	간	심장	뇌	신장	비복근	삼두근
Tmax (시간)	0.08	0.25	2.00	0.25	2.00	2.00	0.25
Cmax (ng/mL)	968386.37	5082.91	1597.07	304.27	3517.08	3517.08	845.22
AUClast (시간*ng/mL)	4196886.10	58692.28	56674.19	14899.77	88008.07	98579.71	32556.60
AUC별 V66 농도의 순위	1	5	6	8	4	3	7
PK 파라미터	군 3:100 mg/kg						
	혈청	간	심장	뇌	신장	비복근	삼두근
Tmax (시간)	0.08	0.25	1.00	0.25	1.00	4.00	24.00
Cmax (ng/mL)	2767693.90	6577.94	3715.26	797.94	2641.31	2641.31	1737.15
AUClast (시간*ng/mL)	7890941.40	69311.08	93794.40	21269.60	129719.97	59432.66	71144.90
AUC별 V66 농도의 순위	1	6	4	8	3	7	5

도면24b

PK 파라미터	군 1 V66 25 mg/kg QW									
	절정	간	심장	뇌	신장	비복근	심근	심각근	총	중
$t_{1/2}$	1.00	0.35	0.91	0.1	0.83	0.96	1.00	0.85		
반감기 (시간)	49.44	32.30	69.84	148.89	32.71	69.23	60.64	17.38		
T_{max} (시간)	0.08	0.25	0.08	0.08	2.00	4.00	5.00	0.08		
C_{max} (ng/mL)	590176.88	2760.52	1239.35	349.01	3146.55	2396.34	414.75	5842.34		
$AUC_{0-\infty}$ (시간*ng/mL)	2204953.30	3.882.41	33668.65	8693.21	69223.01	47182.90	15111.59	57226.66		
AUC_{0-24} (시간*ng/mL)	2376178.70	45674.88	52038.28	30001.37	77965.12	74019.29	22195.56	60261.76		
AUC Extrapolation (%)	7.21	32.99	35.90	71.02	11.21	36.26	31.92	5.04		
V_z Obs (mL/kg)	614.53	25504.36	48404.21	178991.81	15132.06	33733.98	98530.98	10407.77		
CI Obs (mL/시간/kg)	10.52	547.35	480.42	833.30	320.66	337.75	1126.35	414.86		
AUC ₀₋₂₄ 에 V66 농도의 순위 AUC_{0-24}	중	중	중	중	중	중	중	중		

도면24c

PK 파라미터	군 2 V66 30 mg/kg (1%)									
	절정	간	심장	피	신장	비복근	심두근	심각근		
$t_{1/2}$	1.00	0.79	0.79	0.25	0.67	0.94	0.96	0.94		
반감기 (시간)	49.44	18.95	72.95	218.25	38.66	26.68	37.15	46.89		
T_{max} (시간)	0.08	0.25	2.00	0.25	2.00	2.00	0.25	2.00		
C_{max} (ng/mL)	968386.37	5082.91	1597.07	304.27	5074.80	3517.08	845.22	12698.33		
AUC_{0-24h} (시간*ng/mL)	4196886.10	58692.28	56674.19	14899.77	88008.07	98579.71	32556.60	170714.24		
AUC_{0-24h} (시간*ng/mL)	4593226.50	61999.71	97870.76	70398.68	118460.19	110387.77	40531.56	202041.70		
AUC Extrapol(%) {%}	8.85	5.33	41.00	78.84	25.71	10.70	19.68	15.51		
V_z Obs (mL/kg)	776.45	22041.95	53766.64	223633.14	23540.01	17431.87	66115.30	16741.65		
CI Obs (mL/시간/kg)	10.89	806.46	510.85	713.24	422.08	452.95	1233.61	247.47		
AUC_{0-24h} 별 V66 농도의 순위 {%}	1.	5	6	8	4	3	7	2		

도면24d

PK 파라미터	군 3 156 100 mg/kg (IV)							
	절정	간	심장	뇌	신장	비복근	심두근	삼각근
k_e	0.85	0.79	0.83	0.68	0.96	0.92		0.94
반감기 (시간)	29.95	19.87	77.07	79.71	54.02	40.45		24.30
T_{max} (시간)	0.08	0.25	1.00	0.25	1.00	4.00	0.24	0.25
C_{max} (ng/mL)	2767693.90	657794.91	3715.26	797.94	3260.64	2641.31	1737.15	26581.01
$AUC_{0-\infty}$ (시간*ng/mL)	7890941.40	69311.08	93794.40	21269.60	129719.97	59432.66	71144.90	321721.05
AUC_{0-24} (시간*ng/mL)	8209008.10	76551.66	146447.65	43613.90	168828.65	110387.77		341559.83
AUC Extrapolation (%)	3.86	9.46	35.95	51.23	23.16	10.70		5.81
V_z Obs (mL/kg)	526.39	37454.68	75928.43	263661.53	46165.10	17431.87		10263.44
Cl Obs (mL/시간/kg)	12.18	1306.31	662.84	2292.85	592.32	452.95		292.77
AUC ₀₋₂₄ 및 $AUC_{0-\infty}$ 순위	1	6	4	8	3	7	5	2

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.