(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0111823
(43) 공개일자 2024년07월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2024-7017377
(22) 출원일자(국제) 2022년10월27일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년05월24일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2022/127875
(87) 국제공개번호 WO 2023/072177
국제공개일자 2023년05월04일
(30) 우선권주장
PCT/CN2021/126597 2021년10월27일 중국(CN)

(71) 출원인
아다젠 프라이빗 리미티드
싱가포르 싱가포르 048581 래플스 쿼이 16 홍 레옹 빌딩 넘버33-03
(72) 발명자
두, 팡융
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프
루오, 피터 페이지
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상영

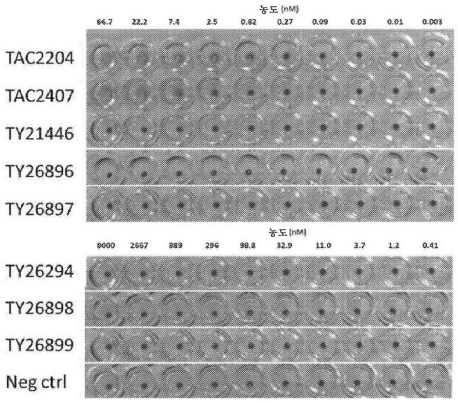
전체 청구항 수 : 총 144 항

(54) 발명의 명칭 **항-CD47 항체 및 이의 사용 방법**

(57) 요 약

본원은 인간 CD47을 표적으로 하는 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 및 이의 항원 결합 단편, 상기 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 이의 약학적 조성물, 및 암과 같은 CD47-양성 질환을 치료하기 위한 이의 용도를 제공한다. 본원에 따른 마스킹된 항체는 IgG1 Fc 영역을 포함할 수 있다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
C07K 2317/94 (2013.01)
(72) 발명자
리, 얀
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프
차이, 빈
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프
시, 지안펭
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프
쉬, 장춘
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프
웅우옌, 아아론
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프
정, 쑹마오
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프
리우, 구이중
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프
다이, 정시
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프

명 세 서

청구범위

청구항 1

마스킹된 항체로서,

(a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드;

(b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM); 및

(c) 인간 IgG1 Fc 영역, 또는 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 활성을 갖는 인간 IgG Fc 영역을 포함하되,

마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고,

MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하는, 마스킹된 항체.

청구항 2

제1항에 있어서,

마스킹된 항체는 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 및 제4 폴리펩티드를 포함하되,

a) 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고;

b) 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 제1 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하며;

c) 제3 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고;

d) 제4 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 제2 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 3

마스킹된 항체로서,

(a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및

(b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하되,

마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고;

MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며;

1) VH는 제1 상보성 결정 영역(CDR-H1), 제2 상보성 결정 영역(CDR-H2) 및 제3 상보성 결정 영역(CDR-H3)을 포함하고,

CDR-H1은 서열번호 182 또는 183의 아미노산 서열을 포함하며;

CDR-H2는 서열번호 184 또는 185의 아미노산 서열을 포함하고;

CDR-H3은 서열번호 186-189로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는

2) VL은 제1 상보성 결정 영역(CDR-L1), 제2 상보성 결정 영역(CDR-L2) 및 제3 상보성 결정 영역(CDR-L3)을 포함하고,

CDR-L1은 서열번호 190-193으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하며;

CDR-L2는 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하고;

CDR-L3은 서열번호 195 또는 196의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 4

제1항 또는 제3항에 있어서,

a) 마스킹된 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VH를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하거나; 또는

b) 마스킹된 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VH를 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VL을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하거나; 또는

c) 마스킹된 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드, VL 및 VH를 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함하거나; 또는

d) 마스킹된 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드, VH 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 188의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 191의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 195의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 6

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는 서열번호 35-37 및 39-50으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 52-54 및 56-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 서열번호 69-71 및 73-84로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은 서열번호 86-88 및 89-101로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 103-105 및 106-118로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 서열번호 120-122 및 124-135로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 7

제3항 또는 제4항에 있어서,

VH는 서열번호 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 및 31로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 VL은 서열번호 2, 4, 6, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 및 32로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 8

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 9

제8항에 있어서,

VH는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 10

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 11

제10항에 있어서,

VH는 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 12

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 13

제12항에 있어서,

VH는 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 14

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 120의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 15

제14항에 있어서,

VH는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 16

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 121의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 17

제16항에 있어서,

VH는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 18

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 105의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 19

제18항에 있어서,

VH는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 20

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 90의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 21

제20항에 있어서,

VH는 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 22

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 23

제22항에 있어서,

VH는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 24

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 109의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 25

제24항에 있어서,

VH는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 26

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 27

제26항에 있어서,

VH는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 28

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 111의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 29

제28항에 있어서,

VH는 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 30

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 112의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 129의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 31

제30항에 있어서,

VH는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 32

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 113의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 33

제32항에 있어서,

VH는 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 34

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 114의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 131의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 35

제34항에 있어서,

VH는 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 36

제3항 또는 제4항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 98의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 115의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 132의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 37

제36항에 있어서,

VH는 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서,

MM은 서열번호 197-200으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 39

제38항에 있어서,

MM은 서열번호 137 및 167-181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 40

제39항에 있어서,

MM은 서열번호 199의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 41

제40항에 있어서,

MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서,

LM은 적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함하지 않는, 마스킹된 항체.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서,

마스킹된 항체는 활성화 가능 항체인, 마스킹된 항체.

청구항 44

제43항에 있어서,

LM은 적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함하고, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높은, 마스킹된 항체.

청구항 45

제43항 또는 제44항에 있어서,

절단 부위는 우로키나아제형 플라스미노겐 활성화 인자(uPA), 매트릭스 메탈로프로테아제-1(MMP-1), MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-14, 담배 식각 바이러스(TEV) 프로테아제, 플라스민, 트롬빈, 인자 X, PSA, PSMA, 카텝신 D, 카텝신 K, 카텝신 S, ADAM10, ADAM12, ADAMTS, 카스파제-1, 카스파제-2, 카스파제-3, 카스파제-4, 카스파제-5, 카스파제-6, 카스파제-7, 카스파제-8, 카스파제-9, 카스파제-10, 카스파제-11, 카스파제-12, 카스파제-13, 카스파제-14 및 TACE로 이루어진 군으로부터 선택된 프로테아제의 프로테아제 절단 부위인, 마스킹된 항체.

청구항 46

제45항에 있어서,

마스킹 펩티드는 서열번호 139 및 152-166으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 47

제45항에 있어서,

CM은 MMP-9에 의해 절단되는 MMP-9의 절단 부위를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 48

제47항에 있어서,

CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 49

제48항에 있어서,

마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서,

마스킹된 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VH를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 51

제50항에 있어서,

마스킹된 항체는 인간 IgG4 단편 결정화 가능(Fc) 영역을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 52

제51항에 있어서,

마스킹된 항체는 제3 폴리펩티드 및 제4 폴리펩티드를 추가로 포함하되,

a) 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고;

b) 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG4 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하며;

c) 제3 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고;

d) 제4 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG4 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 53

제51항 또는 제52항에 있어서,

제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 142의 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG4 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하되, 제2 폴리펩티드는 서열번호 143의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 54

제50항에 있어서,

마스킹된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 55

제54항에 있어서,

마스킹된 항체는 제3 폴리펩티드 및 제4 폴리펩티드를 추가로 포함하되,

a) 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고;

b) 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하며;

c) 제3 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고;

d) 제4 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 56

제54항 또는 제55항에 있어서,

제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하되, 제1 폴리펩티드는

서열번호 148의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하되, 제2 폴리펩티드는 서열번호 149의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 57

제54항에 있어서,

인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 58

제57항에 있어서,

마스킹된 항체는 제3 폴리펩티드 및 제4 폴리펩티드를 추가로 포함하되,

a) 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고;

b) 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하며;

c) 제3 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고;

d) 제4 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 59

제57항 또는 제58항에 있어서,

제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 150의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하되, 제2 폴리펩티드는 서열번호 151의 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 60

제1항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서,

마스킹 펩티드는 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정했을 때 적어도 약 50의 마스킹 효율을 갖는, 마스킹된 항체.

청구항 61

제60항에 있어서,

마스킹 펩티드는 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정했을 때 적어도 약 100의 마스킹 효율을 갖는, 마스킹된 항체.

청구항 62

제1항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서,

마스킹된 항체는 사이노몰거스 원숭이, 랫트 및 개로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 비인간 종의 CD47 폴리펩티드와 교차 반응하는, 마스킹된 항체.

청구항 63

제62항에 있어서,

마스킹된 항체는 사이노몰거스 원숭이 CD47에 결합하는, 마스킹된 항체.

청구항 64

제1항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서,

마스킹된 항체는 인간 CD47의 K39, W40, K41, F50, D51, G52, T99, E100, L101 및 T102로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기에 결합하는, 마스킹된 항체.

청구항 65

제1항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서,

마스킹된 항체는 인간 CD47의 L2, L3, F4, K6, N27, E29, A30, Q31, T34, E35, V36, Y37, D46, T49, A53, E97, R103, E104, G105 및 E106으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기에 결합하지 않는, 마스킹된 항체.

청구항 66

제1항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서,

마스킹된 항체는 인간 CD47의 아미노산 잔기 K39, W40, K41, F50, D51, G52, T99, E100, L101 및 T102에 결합하는, 마스킹된 항체.

청구항 67

제1항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서,

마스킹된 항체는 인간 CD47의 아미노산 잔기 L2, L3, F4, K6, N27, E29, A30, Q31, T34, E35, V36, Y37, D46, T49, A53, E97, R103, E104, G105 및 E106에 결합하지 않는, 마스킹된 항체.

청구항 68

VH 및 VL을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서,

1) VH는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하되,

CDR-H1은 서열번호 182 또는 183의 아미노산 서열을 포함하고;

CDR-H2는 서열번호 184 또는 185의 아미노산 서열을 포함하며;

CDR-H3은 서열번호 186-189로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는

2) VL은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하되,

CDR-L1은 서열번호 190-193으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고;

CDR-L2는 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하며;

CDR-L3은 서열번호 195 또는 196의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 69

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 188의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 191의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 195의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 70

제68항에 있어서,

a) VH는 서열번호 35-37 및 39-50으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 52-54 및 56-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 서열번호 69-71 및 73-84로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은 서열번호 86-88 및 90-101로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 103-105 및 106-118로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 서열번호 120-122 및 124-135로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 71

제68항에 있어서,

VH는 서열번호 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 및 31로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 VL은 서열번호 2, 4, 6, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 및 32로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 72

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 73

제72항에 있어서,

VH는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 74

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 75

제74항에 있어서,

VH는 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 76

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 77

제76항에 있어서,

VH는 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 78

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 120의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 79

제78항에 있어서,

VH는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 80

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 121의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 81

제81항에 있어서,

VH는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 82

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 105의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 83

제82항에 있어서,

VH는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 84

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 90의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 85

제84항에 있어서,

VH는 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 86

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 87

제86항에 있어서,

VH는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 88

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 109의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 89

제88항에 있어서,

VH는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 90

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는,

분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 91

제90항에 있어서,

VH는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 92

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 111의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 93

제92항에 있어서,

VH는 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 94

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 112의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 129의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 95

제94항에 있어서,

VH는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 96

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 113의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 97

제96항에 있어서,

VH는 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 98

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 114의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 131의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 99

제98항에 있어서,

VH는 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 100

제68항에 있어서,

a) VH는,

서열번호 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고;

b) VL은,

서열번호 98의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

서열번호 115의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

서열번호 132의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 101

제100항에 있어서,

VH는 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 102

제68항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서,

분리된 항체는 인간 IgG4 Fc 영역을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 103

제102항에 있어서,

분리된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG4 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 140의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 141의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 104

제68항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서,

분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 105

제104항에 있어서,

분리된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드; N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 144의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 145의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 106

제104항에 있어서,

인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 107

제106항에 있어서,

분리된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc

도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 146의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 147의 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 108

제68항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서,

항원 결합 단편은 Fab, Fv, scFab 및 scFv로 이루어진 군으로부터 선택되는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 109

제68항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서,

분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 약 50 nM 이하의 K_D로 인간 CD47에 결합하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 110

제109항에 있어서,

분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 약 10 nM 이하의 K_D로 인간 CD47에 결합하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 111

제68항 내지 제110항 중 어느 한 항에 있어서,

분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 100 nM 이하의 반수 최대 억제 농도(IC_{50})로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 112

제111항에 있어서,

분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 10 nM 이하의 반수 최대 억제 농도(IC_{50})로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 113

제68항 내지 제112항 중 어느 한 항에 있어서,

분리된 항체 또는 항원 결합 단편이 약 1 μM 이상의 농도로 제공되는 경우, 분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 완전히 차단하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 114

제68항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서,

분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 10 nM 이하의 반수 최대 유효 농도(EC_{50})로 종양 세포에 결합하고, 종양 세포는 B 세포 림프종 세포주, T 세포 림프종 세포주 또는 이들의 조합을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 115

제68항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서,

분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 10 nM 이하의 반수 최대 유효 농도(EC_{50})로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시키고, 종양 세포는 B 세포 림프종 세포주, T 세포 림프종 세포주 또는 이들의 조합

을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 116

제115항에 있어서,

분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 1 nM 이하의 반수 최대 유효 농도(EC_{50})로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시키고, 종양 세포는 B 세포 림프종 세포주, T 세포 림프종 세포주 또는 이들의 조합을 포함하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 117

제68항 내지 제116항 중 어느 한 항에 있어서,

분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 사이노몰거스 원숭이, 랫트 및 개로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 비인간 종의 CD47 폴리펩티드와 교차 반응하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 118

제117항에 있어서,

분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 사이노몰거스 원숭이 CD47에 결합하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 119

분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서,

인간 CD47의 K39, W40, K41, F50, D51, G52, T99, E100, L101 및 T102로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기에 결합하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 120

제119항에 있어서,

분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47의 L2, L3, F4, K6, N27, E29, A30, Q31, T34, E35, V36, Y37, D46, T49, A53, E97, R103, E104, G105 및 E106으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기에 결합하지 않는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 121

제119항 내지 제120항 중 어느 한 항에 있어서,

분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47의 아미노산 잔기 K39, W40, K41, F50, D51, G52, T99, E100, L101 및 T102에 결합하는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 122

제119항 내지 제121항 중 어느 한 항에 있어서,

분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47의 아미노산 잔기 L2, L3, F4, K6, N27, E29, A30, Q31, T34, E35, V36, Y37, D46, T49, A53, E97, R103, E104, G105 및 E106에 결합하지 않는, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 123

제1항 내지 제67항 중 어느 한 항에 따른 마스킹된 항체 또는 제68항 내지 제122항 중 어느 한 항에 따른 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 하나 이상의 폴리펩티드 사슬을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드.

청구항 124

제123항에 따른 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

청구항 125

제124항에 있어서,

벡터는 발현 벡터인, 벡터.

청구항 126

제124항 또는 제125항에 따른 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 127

마스킹된 항체, 또는 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 제조 방법으로서,

상기 마스킹된 항체, 또는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 생산하기에 적합한 조건에서 제126항에 따른 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 128

제127항에 있어서,

상기 세포에 의해 생산된 마스킹된 항체, 또는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 회수하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 129

제1항 내지 제67항 중 어느 한 항에 따른 마스킹된 항체 또는 제68항 내지 제122항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 130

치료가 필요한 대상체에서 CD47-양성 질환 또는 병증을 치료하는 방법으로서,

유효량의 제129항에 따른 약학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 131

제130항에 있어서,

투여는 대상체에서 빈혈을 유발하지 않는, 방법.

청구항 132

제130항 또는 제131항에 있어서,

질환 또는 병증은 암인, 방법.

청구항 133

제132항에 있어서,

암은 B 세포 림프종, T 세포 림프종 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 134

제132항에 있어서,

암은 림프종, 백혈병, 두경부암, 위암, 식도암, 유방암, 자궁경부암, 담관암종, 결장암, 난소암, 갑상선암, 자궁암, 자궁내막암, 폐암, 중피종 및 췌장암으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 135

제132항에 있어서,

암은 삼중음성유방암(TNBC), HER2+위식도접합부암(GEJ), 소세포폐암(SCLC), 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL),

급성 골수성 백혈병(AML), 두경부 편평 세포 암종(HNSC), 위암(GC), 유방암(BRCA), 자궁경부 편평상피세포암종 및 자궁경관내막선암(CESC), 담관암종(CHOL), 결장 선암종(COAD), 난소 장액성 낭선암종(OV), 갑상선암(THCA), 자궁내막암(UCEC), HER2+유방암, 호르몬 수용체 양성 유방암, 림프성 신생물 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBC), 폐 선암종(LUAD), 폐 편평 세포 암종(LUSC), 중피종(MESO) 및 췌장 선암종(PAAD)으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 136

제130항 내지 제135항 중 어느 한 항에 있어서,

마스킹된 항체, 또는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 적어도 약 0.6 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 137

제130항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서,

약학적 조성물은 적어도 2주에 1회의 빈도로 투여되는, 방법.

청구항 138

제130항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서,

약학적 조성물은 적어도 3주에 1회의 빈도로 투여되는, 방법.

청구항 139

제130항 내지 제138항 중 어느 한 항에 있어서,

유효량의 하나 이상의 추가 치료제를 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 140

제139항에 있어서,

하나 이상의 추가 치료제는 바이러스 유전자 요법, 면역 체크포인트 억제제, 표적 요법, 방사선 요법, 화학요법 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 141

제139항 또는 제140항에 있어서,

하나 이상의 추가 치료제는 포말리스트(pomalyst), 레블리미드(revlimid), 레날리도마이드(lenalidomide), 포말리도마이드(pomalidomide), 탈리도마이드(thalidomide), DNA 알킬화 백금 함유 유도체, 시스플라틴(cisplatin), 5-플루오로우라실, 사이클로포스파미드(cyclophosphamide), 항-CD47 항체, 항-CTLA4 항체, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CD20 항체, 항-CD40 항체, 항-DR5 항체, 항-CD1d 항체, 항-TIM3 항체, 항-SLAMF7 항체, 항-KIR 수용체 항체, 항-OX40 항체, 항-HER2 항체, 항-ErbB-2 항체, 항-EGFR 항체, 세툭시맙(cetuximab), 리툭시맙(rituximab), 트라스투주맙(trastuzumab), 펨브롤리주맙(pembrolizumab), 방사선 요법, 단일 용량 방사선, 분할 방사선, 국소 방사선, 전체 기관 방사선, IL-12, IFNα, GM-CSF, 키메라 항원 수용체, 입양 전달된 T 세포, 항암 백신, 및 종양 용해 바이러스 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 142

암의 치료 방법으로서,

항-CD47 마스킹된 항체를 투여하는 단계를 포함하고,

항-CD47 마스킹된 항체는,

(a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드;

(b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM); 및

(c) 인간 IgG1 Fc 영역, 또는 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 활성을 갖는 인간 IgG Fc 영역을 포함하되,

마스킹된 항체는 암 부위에서 인간 CD47에 결합하는, 방법.

청구항 143

제142항에 있어서,

마스킹 펩티드는 절단 가능 모이어티를 포함하지 않는, 방법.

청구항 144

제142항에 있어서,

마스킹된 항체는 활성화 가능 항체이고, LM은 적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함하며, 활성화 가능 항체는 암 부위에서 CM이 절단되지 않을 때보다 CM이 절단될 때 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높은, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본 발명은 2021년 10월 27일에 출원된 국제 출원 번호 PCT/CN2021/126597의 우선권을 주장하며, 그 모든 내용은 참조로서 본 명세서에 인용된다.

[0003] 서열 목록에 대한 참조

[0004] ASCII 텍스트 파일로 된 다음 제출 내용은 그 전체가 참조로서 본 발명에 인용된다. 서열목록의 컴퓨터 판독 가능 형식(CRF)(파일 명칭: 695402001641seqlist.xml, 기록 일자: 2022년 10월 14일, 사이즈: 288,462 bytes).

[0005] 본 발명은 인간 CD47을 표적으로 하는 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 및 이의 항원 결합 단편, 상기 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 이의 약학적 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0006] 다양한 유형의 암세포 표면에서 과발현되는 CD47이 골수 세포의 신호 조절 단백질 α(SIRPα)에 결합하면 "나를 먹지 마세요" 신호를 발생하는 억제 신호 전달 경로가 유발되어 숙주 면역 체계에서 악성 세포를 탈출시킨다. CD47/SIRPα 신호 전달 축을 표적으로 하는 치료법은 전임상 모델에서 성공을 보였으며 현재 고형 종양과 혈액 악성 종양 모두에 대한 임상 시험이 진행 중이다. 항-CD47 치료법은 초기 임상 시험에서 유망한 활성을 보여주었지만 어려움도 있었다. 예를 들어, 적혈구(RBC)를 포함한 다양한 인간 세포 유형은 CD47을 발현하여 항-CD47 항체에 대한 다량의 항원 침강을 발생한다. 마그롤리맙(Magrolimab)(Hu5F9)과 같은 적혈구의 CD47을 차단하면 일시적인 빈혈이 발생하여 임상 용량 증량이 필요하다. Hu5F9, TJC4, AK117, CC-90002 및 IBI188과 같은 많은 항-CD47 치료법이 IgG4 서브클래스 유형의 항체라는 점은 주목할 가치가 있다. IgG1 항체는 ADCC 및 ADCP 활성 면역 세포를 표적으로 삼아 IgG1 항체가 표적으로 삼는 항원을 발현하도록 표적화할 수 있다. CD47은 정상 조직에서도 널리 발현되므로 일반적으로 표적/비종양 독성을 예방하거나 제한하기 위해 IgG1 서브클래스 유형을 치료용 항-CD47 항체에 사용해서는 안 된다고 간주된다.

[0007] 따라서, 적혈구 및 다른 비암성 세포에 대한 결합의 바람직하지 않은 영향을 나타내지 않으면서 CD47과 SIRPα의 결합을 차단할 수 있는 신규한 항-CD47 항체에 대한 필요성이 남아 있다.

발명의 내용

[0008] 강력한 항종양 활성 및 감소된 비표적 효과를 갖는 항-CD47 항체를 제공하기 위해, 발명자들은 각각 N-말단 마스킹 펩티드 및 IgG1 Fc 영역을 포함하는 마스킹된 항-CD47 항체 세트(활성화 가능 항-CD47 항체 포함)를 개발하였다. 항체의 항종양 활성은 다음과 같은 2가지이다. 1) CD47-SIRPα 상호작용을 차단하여 대식세포에 의한 종양 세포의 인식 및 식균작용을 허용하고, 2) IgG1 Fc 매개 이펙터 기능(예를 들어, ADCC 및 ADCP)을 통해 종

양을 사멸한다. 상기 마스킹 펩티드는 표적 결합을 위해 항-CD47 항체 모이어티와 경쟁하도록 설계됨으로써, 건강한 조직에서 표적/비종양 활성을 억제하고 종양 미세환경(TME)에서 항종양 활성을 허용한다.

[0009] 마스킹된 항체는 마스킹 펩티드의 마스킹 모이어티로 항원 결합 부위를 차폐하도록 설계되어 항체가 건강한 조직의 표적에 결합하는 것을 방지한다. 마스킹된 항체는 SAFEBODY™로도 알려져 있는 활성화 가능 항체일 수 있으며, 여기서 마스킹 모이어티는 특정 활성화 조건을 갖는 TME에서 항체를 활성화하도록 설계되어 항원 결합 부위가 표적에 결합할 수 있도록 허용한다. 예를 들어, 활성화 가능 항체의 마스킹 펩티드는 프로테아제에 의해 절단될 때 항체의 마스킹 모이어티를 제거하고 CD47에 결합하도록 항체를 활성화시키는 절단 가능 모이어티를 포함할 수 있다. 정상 조직 및 순환계에서 활성화 가능 항-CD47 항체의 마스킹 모이어티는 CD47에 대한 결합을 차단하는 기능을 갖고 있어 빈혈과 같은 항-CD47 항체와 관련된 비표적 효과를 감소시킨다. 그러나, 프로테아제 활성이 증가된 것으로 보고된 TME에서는 마스킹 모이어티가 절단되어 활성화된 항-CD47 항체가 종양 세포의 CD47에 결합할 수 있다. 따라서, 본원에 따른 활성화 가능 항-CD47 항체는 기존 항-CD47 항체와 비교하여 정상 세포에 대한 독성이 감소되면서 CD47-SIRPα 상호작용 및 ADCC/ADCP 이펙터 기능의 차단을 통해 향상된 항종양 활성을 나타낸다.

[0010] 따라서, 일부 측면에서, 본원은 항체(예를 들어, 분리된 항체), 항원 결합 단편, 및 CD47에 결합하는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)(예를 들어, 인간 CD47)를 제공한다. 일부 실시예에서, 항체(예를 들어, 분리된 항체), 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, (a) 500 nm 이하의 K_D로 인간 CD47에 결합함; (b) 원숭이, 랫트 또는 개 CD47과 교차 반응함; (c) 종양 세포 성장을 억제할 수 있음; (d) 암에 대해 치료 효과가 있음; (e) CD47과 SIRP 단백질(예를 들어, SIRPα) 사이의 결합을 차단함; 및 (f) CD47을 발현하는 종양 세포에 대한 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP)을 유도함; 중 적어도 하나(예를 들어, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개 또는 6개 모두)의 기능적 특성을 갖는다.

[0011] 따라서, 일부 측면에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁한다. 일부 실시예에서, 1) 상기 VH는 제1 상보성 결정 영역(CDR-H1), 제2 상보성 결정 영역(CDR-H2) 및 제3 상보성 결정 영역(CDR-H3)을 포함하고, 여기서, CDR-H1은 서열번호 182 또는 183의 아미노산 서열을 포함하며; 여기서, CDR-H2는 서열번호 184 또는 185의 아미노산 서열을 포함하고; 여기서, CDR-H3은 서열번호 186-189로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 2) VL은 제1 상보성 결정 영역(CDR-L1), 제2 상보성 결정 영역(CDR-L2) 및 제3 상보성 결정 영역(CDR-L3)을 포함하고, 여기서, CDR-L1은 서열번호 190-193으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하며; 여기서, CDR-L2는 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하고; 여기서, CDR-L3은 서열번호 195 또는 196의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 서열번호 188의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; b) VL은 서열번호 191의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 서열번호 195의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VH를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 다른 실시예에서, 마스킹된 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VH를 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VL을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 또 다른 실시예에서, 마스킹된 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드, VL 및 VH를 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함한다. 또 다른 실시예에서, 마스킹된 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드, VH 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 모이어티(MM)는 서열번호 197-200으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시예에서, MM은 서열번호 199의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137 및 167-181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 여기서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)는 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정했을 때 적어도 약 50의 마스킹 효율을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)는 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정했을 때 적어도 약 100의 마스킹 효율을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VH를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 IgG4 단편 결정화 가능(Fc) 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc

영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 CD47의 K39, W40, K41, F50, D51, G52, T99, E100, L101 및 T102로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 CD47의 L2, L3, F4, K6, N27, E29, A30, Q31, T34, E35, V36, Y37, D46, T49, A53, E97, R103, E104, G105 및 E106으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기에 결합하지 않는다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 CD47의 아미노산 잔기 K39, W40, K41, F50, D51, G52, T99, E100, L101 및 T102에 결합하거나, 및/또는 인간 CD47의 아미노산 잔기 L2, L3, F4, K6, N27, E29, A30, Q31, T34, E35, V36, Y37, D46, T49, A53, E97, R103, E104, G105 및 E106에 결합하지 않는다.

[0012] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM); 및 (c) IgG1 Fc 영역(예를 들어, 인간 IgG1 Fc 영역) 또는 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 활성을 갖는 IgG Fc 영역(예를 들어, 인간 IgG Fc 영역)을 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 향상된 ADCC 활성을 갖는 IgG Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0013] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, (a) VH는 서열번호 35-37 및 39-50으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 52-54 및 56-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 서열번호 69-71 및 73-84로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; (b) VL은 서열번호 86-88 및 89-101로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 103-105 및 106-118로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 서열번호 120-122 및 124-135로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.

[0014] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 및 31로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 VL은 서열번호 2, 4, 6, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 및 32로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0015] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0016] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포

함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0017] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0018] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 120의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0019] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 121의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호

137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0020] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 105의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0021] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 90의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0022] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0023] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 109의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하

고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0024] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0025] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 111의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0026] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 112의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 129의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0027] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호

113의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0028] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 114의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 131의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0029] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 98의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 115의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 132의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함한다.

[0030] 상기 마스킹된 항체 중 어느 하나의 일부 실시예에서, LM은 적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함하지 않는다.

[0031] 상기 마스킹된 항체 중 어느 하나의 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 활성화 가능 항체이다. 따라서, 일부 측면에서, 본원에 따른 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 CM을 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁한다. 바람직한 실시예에서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높다. 일부 실시예에서, 1) VH는 제1 상보성 결정 영역(CDR-H1), 제2 상보성 결정 영역(CDR-H2) 및 제3 상보성 결정 영역(CDR-H3)을 포함하고, 여기서, CDR-H1은 서열번호 182 또는 183의 아미노산 서열을 포함하며; 여기서, CDR-H2는 서열번호 184 또는 185의 아미노산 서열을 포함하고; 여기서, CDR-H3은 서열번호 186-189로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 2) VL은 제1 상보성 결정 영역(CDR-L1), 제2 상보성 결정 영역(CDR-L2) 및 제3 상보성 결정 영역(CDR-L3)을 포함하고, 여기서, CDR-L1은 서열번호 190-193으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하며; 여기서, CDR-L2는 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하고; 여기서, CDR-L3은 서열번호 195 또는 196의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및

서열번호 188의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; b) VL은 서열번호 191의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 195의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VH를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 다른 실시예에서, 활성화 가능 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VH를 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VL을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 또 다른 실시예에서, 활성화 가능 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드, VL 및 VH를 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함한다. 또 다른 실시예에서, 활성화 가능 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드, VH 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 절단 가능 모이어티(CM)의 절단 부위는 우로키나아제형 플라스미노겐 활성화 인자(uPA), 매트릭스 메탈로프로테아제-1(MMP-1), MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-14, 담배 식각 바이러스(TEV) 프로테아제, 플라스민, 트롬빈, 인자 X, PSA, PSMA, 카텝신 D, 카텝신 K, 카텝신 S, ADAM10, ADAM12, ADAMTS, 카스파제-1, 카스파제-2, 카스파제-3, 카스파제-4, 카스파제-5, 카스파제-6, 카스파제-7, 카스파제-8, 카스파제-9, 카스파제-10, 카스파제-11, 카스파제-12, 카스파제-13, 카스파제-14 및 TACE로 이루어진 군으로부터 선택된 프로테아제의 프로테아제 절단 부위이다. 일부 실시예에서, CM은 MMP-9에 의해 절단되는 MMP-9의 절단 부위를 포함한다. 일부 실시예에서, CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139 및 152-166으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)는 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정했을 때 적어도 약 50의 마스킹 효율을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)는 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정했을 때 적어도 약 100의 마스킹 효율을 갖는다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VH를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 인간 IgG4 단편 결정화 가능(Fc) 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0032] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, (a) VH는 서열번호 35-37 및 39-50으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 52-54 및 56-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 서열번호 69-71 및 73-84로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; (b) VL은 서열번호 86-88 및 89-101로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 103-105 및 106-118로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 서열번호 120-122 및 124-135로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.

[0033] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 및 31로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 VL은 서열번호 2, 4, 6, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 및 32로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0034] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를

포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VH를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 인간 IgG4 단편 결정화 가능(Fc) 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 142의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG4 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하되, 제2 폴리펩티드는 서열번호 143의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 148의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하되, 제2 폴리펩티드는 서열번호 149의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 150의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하되, 제2 폴리펩티드는 서열번호 151의 아미노산 서열을 포함한다.

[0035] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0036] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0037] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 120의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0038] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 121의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0039] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 105의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0040] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM

에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 90의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0041] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0042] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 109의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0043] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를

포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0044] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 111의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0045] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 112의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 129의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0046] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 113의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을

포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0047] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 114의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 131의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0048] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 98의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 115의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 132의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, VH는 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하고, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CM은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다.

[0049] 다른 측면에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함한다. 일부 실시예에서, 1) 상기 VH는 제1 상보성 결정 영역(CDR-H1), 제2 상보성 결정 영역(CDR-H2) 및 제3 상보성 결정 영역(CDR-H3)을 포함하고, 여기서, CDR-H1은 서열번호 182 또는 183의 아미노산 서열을 포함하며; 여기서, CDR-H2는 서열번호 184 또는 185의 아미노산 서열을 포함하고; 여기서, CDR-H3은 서열번호 186-189로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 2) VL은 제1 상보성 결정 영역(CDR-L1), 제2 상보성 결정 영역(CDR-L2) 및 제3 상보성 결정 영역(CDR-L3)을 포함하고, 여기서, CDR-L1은 서열번호 190-193으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하며; 여기서, CDR-L2는 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하고; 여기서, CDR-L3은 서열번호 195 또는 196의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; 서열번호 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 서열번호 188의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; b) VL은 서열번호 191의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 서열번호 195의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG4 Fc 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일부 실시예에서, 항원 결합 단편은 Fab, Fv, scFab 및 scFv로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 인간 CD47의 K39, W40, K41, F50, D51, G52, T99, E100, L101 및 T102로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 인간 CD47의 L2, L3, F4, K6, N27, E29, A30, Q31, T34, E35, V36, Y37, D46, T49, A53, E97, R103, E104, G105 및 E106으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기에 결합하지 않는다. 일부 실시예에서, 항체

또는 항원 결합 단편은 인간 CD47의 아미노산 잔기 K39, W40, K41, F50, D51, G52, T99, E100, L101 및 T102에 결합하거나, 및/또는 인간 CD47의 아미노산 잔기 L2, L3, F4, K6, N27, E29, A30, Q31, T34, E35, V36, Y37, D46, T49, A53, E97, R103, E104, G105 및 E106에 결합하지 않는다.

[0050] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, (a) VH는 서열번호 35-37 및 39-50으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 52-54 및 56-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 서열번호 69-71 및 73-84로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; (b) VL은 서열번호 86-88 및 89-101로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 103-105 및 106-118로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 서열번호 120-122 및 124-135로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 및 31로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 VL은 서열번호 2, 4, 6, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 및 32로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0051] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG4 Fc 영역을 포함한다. 일 실시예에서, 분리된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG4 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 140의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 141의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일 실시예에서, 분리된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 144의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 145의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일 실시예에서, 여기서, 분리된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 146의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 서열번호 147의 아미노산 서열을 포함한다.

[0052] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0053] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D

치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0054] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 120의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0055] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 121의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0056] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 105의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0057] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 90의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0058] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0059] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 58의 아미노산 서열

을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 109의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0060] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0061] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 111의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0062] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 112의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 129의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0063] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 113의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0064] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 114의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 131의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, 및

/또는 VL은 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다.

[0065] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, 1) VH는 서열번호 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 98의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 115의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 132의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 CD47에 결합하고 VH 및 VL을 포함하며, 여기서, VH는 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 약 50 nM 이하의 K_D로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 약 10 nM 이하의 K_D로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 100 nM 이하의 반수 최대 억제 농도(IC_{50})로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 10 nM 이하의 반수 최대 억제 농도(IC_{50})로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 항원 결합 단편이 약 1 μM 이상의 농도로 제공되는 경우, 분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 완전히 차단한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 10 nM 이하의 반수 최대 유효 농도(EC_{50})로 종양 세포에 결합하고, 여기서, 종양 세포는 B 세포 림프종 세포주, T 세포 림프종 세포주 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 10 nM 이하의 반수 최대 유효 농도(EC_{50})로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시키고, 여기서, 종양 세포는 B 세포 림프종 세포주, T 세포 림프종 세포주 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 1 nM 이하의 반수 최대 유효 농도(EC_{50})로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시키고, 여기서, 종양 세포는 B 세포 림프종 세포주, T 세포 림프종 세포주 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0066] 전술한 임의의 실시예와 조합될 수 있는 일부 실시예에서, 마스킹된 항체, 활성화 가능 항체, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 사이노몰거스 원숭이, 랫트 및 개로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 비인간 종의 CD47 폴리펩티드와 교차 반응한다. 전술한 임의의 실시예와 조합될 수 있는 일부 실시예에서, 마스킹된 항체, 활성화 가능 항체, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 사이노몰거스 원숭이 CD47에 결합한다.

[0067] 일부 측면에서, 본원은 본원에 따른 임의의 마스킹된 항체, 활성화 가능 항체, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 하나 이상의 폴리펩티드 사슬을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 제공한다.

[0068] 다른 측면에서, 본원은 본원에 따른 임의의 마스킹된 항체, 활성화 가능 항체, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 하나 이상의 폴리펩티드 사슬을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 제공한다.

[0069] 다른 측면에서, 본원은 본원에 따른 임의의 마스킹된 항체, 활성화 가능 항체, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 하나 이상의 폴리펩티드 사슬을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

[0070] 다른 측면에서, 본원은 마스킹된 항체, 활성화 가능 항체, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 제조 방법을 제공하며, 상기 방법은 마스킹된 항체, 활성화 가능 항체, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 생산하기에 적합한 조건에서 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하고, 여기서, 숙주 세포는 본원에 따른 임의의 마스킹된 항체, 활성화 가능 항체, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 하나 이상의 폴리펩티드 사슬을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함한다.

[0071] 일부 측면에서, 본원에 의해 제공된 약학적 조성물은 본원에 따른 임의의 마스킹된 항체, 활성화 가능 항체, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다.

[0072] 다른 측면에서, 본원은 치료가 필요한 대상체에서 CD47-양성 질환 또는 병증을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의 약학적 조성물, 본원에 따른 임의의 마스킹된 항체, 활성화 가능 항체, 분리된 항체 또는 이의

항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 투여는 대상체에서 빈혈을 유발하지 않는다. 일부 실시예에서, 질환 또는 병증은 암이다. 일부 실시예에서, 암은 B 세포 림프종, T 세포 림프종 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 실시예에서, 암은 림프종, 백혈병, 두경부암, 위암, 식도암, 유방암, 자궁경부암, 담관암종, 결장암, 난소암, 갑상선암, 자궁암, 자궁내막암, 폐암, 중피종(MESO) 또는 췌장암으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시예에서, 암은 삼중음성유방암(TNBC), HER2+위식도접합부암(GEJ), 소세포폐암(SCLC), 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL), 급성 골수성 백혈병(AML), 두경부 편평 세포 암종(HNSC), 위암(GC), 유방암(BRCA), 자궁경부 편평상피세포암종 및 자궁경관내막선암(CESC), 담관암종(CHOL), 결장 선암종(COAD), 난소 장액성 낭선암종(OV), 갑상선암(THCA), 자궁내막암(UCEC), HER2+유방암, 호르몬 수용체 양성 유방암, 림프성 신생물 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBC), 폐 선암종(LUAD), 폐 편평 세포 암종(LUSC), 중피종(MESO) 및 췌장 선암종(PAAD)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체, 또는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 적어도 약 0.6 mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시예에서, 약학적 조성물은 적어도 3주에 1회 또는 적어도 2주에 1회의 빈도로 투여된다.

[0073] 상기 CD47-양성 질환 또는 병증을 치료하는 임의의 방법 중 어느 하나의 일부 실시예에서, 상기 방법은 유효량의 하나 이상의 추가 치료제를 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시예에서, 하나 이상의 추가 치료제는 바이러스 유전자 요법, 면역 체크포인트 억제제, 표적 요법, 방사선 요법, 화학요법 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시예에서, 하나 이상의 추가 치료제는 포말리스트(pomalyst), 레블리미드(revlimid), 레날리도마이드(lenalidomide), 포말리도마이드(pomalidomide), 탈리도마이드(thalidomide), DNA 알킬화 백금 함유 유도체, 시스플라틴(cisplatin), 5-플루오로우라실, 사이클로포스파미드(cyclophosphamide), 항-CD47 항체, 항-CTLA4 항체, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CD20 항체, 항-CD40 항체, 항-DR5 항체, 항-CD1d 항체, 항-TIM3 항체, 항-SLAMF7 항체, 항-KIR 수용체 항체, 항-OX40 항체, 항-HER2 항체, 항-ErbB-2 항체, 항-EGFR 항체, 세툭시맙(cetuximab), 리툭시맙(rituximab), 트라스투주맙(trastuzumab), 펨브롤리주맙(pembrolizumab), 방사선 요법, 단일 용량 방사선, 분할 방사선, 국소 방사선, 전체 기관 방사선, IL-12, IFNα, GM-CSF, 키메라 항원 수용체, 입양 전달된 T 세포, 항암 백신, 및 종양 용해 바이러스 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0074] 다른 측면에서, 본원은 암의 치료 방법을 제공하며, 상기 방법은 항-CD47 활성화 가능 항체를 투여하는 단계를 포함하고, 여기서, 항-CD47 활성화 가능 항체는 인간 IgG1 Fc, 또는 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 활성을 갖는 IgG1 Fc를 포함하며, 여기서, 항-CD47 활성화 가능 항체는 적어도 하나의 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함하는 마스킹 펩티드를 포함하고, 여기서, 활성화 가능 항체는 암 부위(예를 들어, 종양 미세환경(TME))에서 CM이 절단되지 않을 때보다 CM이 절단될 때 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높다.

도면의 간단한 설명

[0075] 본 출원은 첨부된 도면과 함께 이하의 설명을 참조함으로써 이해될 수 있다.

도 1은 인간 RBC 응집을 유도하는 표시된 항체의 능력을 보여준다.

도 2는 표시된 항체와 함께 배양된 상이한 공여체의 칼세인-표지된 CEM 세포에 대한 인간 NK 세포의 ADCC 활성을 보여준다. 세포 용해 백분율은 세포독성 백분율로 표시된다.

도 3a 및 도 3b는 2개의 독립적인 실험에서 B-NDG/Raji-Luc 마우스 전신 모델에서 항체 또는 이소형 대조군의 생체 내 항종양 효능을 보여준다. 데이터 포인트는 그룹 평균을 나타내고; 오류 막대는 표준 편차를 나타낸다. 도 3a는 첫번 째 독립적인 실험을 보여준다. 도 3b는 두번 째 독립적인 실험을 보여준다.

도 4a 및 도 4b는 B-NDG/Raji 마우스 피하 종양 모델에서 항체 또는 이소형 대조군의 생체 내 항종양 효능을 보여준다. 데이터 포인트는 그룹 평균을 나타내고; 오류 막대는 표준 편차를 나타낸다. 도 4a는 첫번 째 독립적인 실험을 보여준다. 도 4b는 두번 째 독립적인 실험을 보여준다.

도 5는 SCID/Raji-Luc 마우스 전신 모델에서 항체 또는 이소형 대조군의 생체 내 항종양 효능을 보여준다. 데이터 포인트는 그룹 평균을 나타내고; 오류 막대는 표준 편차를 나타낸다.

도 6a-6b는 B-hSIRPα/hCD47 인간화 마우스에 대한 표시된 항체의 혈액학적 독성을 보여준다. 도 6a는 항체의 단일 복강 주사 전후 말초 혈액 내 RBC 수의 변화 상황을 보여준다. 도 6b는 항체의 단일 복강 주사 전후 말초 혈액 내 헤모글로빈 수준의 변화 상황을 보여준다.

도 7a-7f는 사이노몰거스 원숭이에게 표시된 항체를 단일 정맥 주사한 후 사이노몰거스 원숭이에 대한 표시된

항체의 혈액학적 독성 및 약동학을 보여준다. 도 7a는 투여 후 RBC 백분율의 변화를 보여준다. 도 7b는 투여 후 헤모글로빈 백분율의 변화를 보여준다. 도 7c는 투여 후 망상적혈구 백분율의 변화를 보여준다. 도 7d는 투여 후 헤마토크릿의 변화를 보여준다. 도 7e는 투여 후 혈소판 백분율의 변화를 보여준다. 도 7f는 사이노몰거스 원숭이에게 지정된 용량으로 표시된 항체를 정맥 주사한 후 사이노몰거스 원숭이의 혈액 농도를 보여준다.

도 8은 CB17-SCID 마우스에게 지정된 용량으로 표시된 항체를 정맥 주사한 후 혈장 농도를 보여준다.

도 9a-9d는 유세포 분석기에 의해 검출된 CFSE-표지된 Raji 세포 및 BMQC-표지된 Jurkat 세포의 클러스터링을 보여준다. 도 9a는 음성 이소형 대조군 및 음성 완충액 대조군으로 처리된 CFSE-Raji 세포 및 BMQC-Jurkat 세포의 클러스터링을 보여주며, 항체와 세포의 트랜스 결합 및 시스 결합의 개념을 예시한다. 도 9b는 CFSE-Raji 세포 및 BMQC-Jurkat 세포가 트랜스 결합된 것으로 알려진 양성 대조군으로 처리된 경우 CFSE-Raji 세포 및 BMQC-Jurkat 세포의 클러스터링을 보여준다. 도 9c은 항-CD47 항체 TY21446으로 처리된 경우 CFSE-Raji 세포 및 BMQC-Jurkat 세포의 클러스터링을 보여준다. 도 9d는 항-CD47 벤치마크 대조 항체 TAC2204로 처리된 경우 CFSE-Raji 세포 및 BMQC-Jurkat 세포의 클러스터링을 보여준다.

도 10a-10c는 유세포 분석기에 의해 검출된 형광 염료 표지된 인간 RBCs의 클러스터링을 보여준다. 도 10a는 유세포 분석법의 게이팅 전략에 의해 결정된 CFSE-RBCs 및 BMQC-RBCs의 클러스터링을 보여준다. 도 10b 및 도 10c는 상이한 두 공여체로부터 얻은 RBCs를 사용하여 인간 RBC 클러스터링에 대한 시험 항체의 영향을 보여준다.

도 11a-11c는 유세포 분석기에 의해 검출된 인간 RBCs의 클러스터링을 보여준다. 도 11a는 유세포 분석법의 FSC-H/FSC-A 게이팅 전략에 의해 결정된 적혈구 응집 상황을 보여준다. 도 11b 및 도 11c는 상이한 두 공여체로부터 얻은 RBCs를 사용하여 RBC 클러스터링에 대한 시험 항체의 영향을 보여준다.

도 12a-12e는 Raji 종양 세포가 주사된 hSIRPα/hCD47 유전자 녹인 마우스에서 발현된 인간 CD47 세포외 도메인(ECD)에 생체 내 결합하는 항-CD47 항체의 수용체 점유율(RO)을 보여준다. 도 12a 및 도 12b는 각각 상이한 용량 및 시간에서 표시된 항체를 주사한 후 적혈구(RBCs) 및 RBCs 이외의 혈액 세포(WBC)에 결합하는 표시된 항체의 RO 비율을 보여준다. 도 12c는 표시된 항체를 주사한지 72시간 후에 수집된 피하 종양 샘플 내 Raji 세포에 결합하는 표시된 항체의 RO 비율을 보여준다. 도 12d는 표시된 항체를 주사한지 72시간 후에 얻은 마우스 골수 내 Raji 세포에 결합하는 표시된 항체의 RO 비율을 보여준다. 도 12e는 표시된 항체를 주사한지 72시간 후에 마우스의 리터당 총 혈액 세포 수를 보여준다. 괄호 안의 이중 별표(**)는 두 샘플이 $p<0.01$에서 유의미한 차이가 있음을 나타내고, 괄호 안의 "ns"는 두 샘플 간의 차이가 유의하지 않음을 나타낸다.

도 13a-13b는 SIRPα, 마그롤리맙 및 TY21446에 결합된 인간 CD47의 에피토프 잔기의 위치를 보여준다. 도 13a는 인간 CD47의 결정 구조, 및 SIRPα, 마그롤리맙 및 TY21446에 결합된 인간 CD47의 에피토프 잔기(회색 음영으로 표시)를 보여준다. 도 13b는 SIRPα, 마그롤리맙 및 TY21446에 결합된 인간 CD47의 특정 잔기(회색 음영으로 표시)를 보여준다.

도 14a-14d는 TAC2204 및 TY26898의 CD47 수용체 점유율(RO), 및 혈액 세포 수 및 생존력에 대한 이의 영향을 보여준다. 도 14a는 각각의 항체가 투여된 마우스의 조직에서 TAC2204 및 TY26898의 CD47 수용체 점유율을 보여준다. 도 14b는 각각의 항체가 투여된 마우스의 조직에서 TY26898에 대한 TAC2204의 상대적인 CD47 수용체 점유율을 보여준다. 도 14c는 TAC2204 및 TY26898이 투여된 마우스로부터 채취한 혈액 내 총 세포 수를 보여준다. 도 14d는 TAC2204 및 TY26898이 투여된 마우스로부터 채취한 혈액의 혈액 세포 생존력을 보여준다.

도 15a-15d는 상이한 암 모델에서 TY26898, TY26896, TAC2204 또는 이소형 대조군의 생체 내 항종양 효능을 보여준다. 데이터 포인트는 그룹 평균을 나타내고; 오류 막대는 평균의 표준 오차를 보여준다. 도 15a는 CB17 SCID 마우스 OE19 HER2+ GEJ 암 이종이식 모델에서 TY26898 및 TAC2204의 생체 내 종양 억제 효과를 보여주며, 허셉틴은 양성 대조군이고, 비히클은 음성 대조군이다. 도 15b는 CB17 SCID 마우스 MDA-MB-231 삼중 음성 유방암(TNBC) 이종이식 종양 모델에서 TY26898 및 TAC2204의 생체 내 종양 억제 효과를 보여주며, PBS는 음성 대조군이다. 도 15c는 CB17 SCID 마우스 SHP-77 소세포폐암(SCLC) 이종이식 모델에서 TY26898, TY26896 및 TAC2204의 생체 내 종양 억제 효과를 보여주며, PBS는 음성 대조군이다. 도 15d는 CB17 SCID 마우스 OV90 난소암 이종이식 종양 모델에서 TY26898 및 TAC2204의 생체 내 종양 억제 효과를 보여주며, PBS는 음성 대조군이다. 도 15E는 OE19 HER2+ GEJ 종양 모델에서 TY26898의 생체 내 종양 억제 효과를 보여주며, PBS는 음성 대조군이다.

도 16a-16b는 상이한 종양 모델에서 TY26898의 CD47 수용체 점유율(RO)을 보여준다. 도 16a는 OE19 HER2+ GEJ 종양, MDA-MB-231 TNBC 종양 및 OV90 난소 종양에서 TY26898 및 TAC2204의 CD47 수용체 점유율을 보여준다. 도 16b는 마우스 OE19 HER2+ GEJ 종양에서 3 mg/kg 또는 10 mg/kg으로 투여되는 TY26898의 CD47 수용체 점유율을

보여준다.

도 17a-17b는 이전에 TY26898로 치료한 마우스로부터 추출된 종양에서 절단된 및 온전한 TY26898의 웨스턴 블롯과 비율을 보여준다. 도 17a는 이전에 TY26898로 치료한 마우스 OE19 HER2+ GEJ 종양에서 절단된 및 온전한 TY26898을 보여준다. 도 17b는 이전에 TY26898로 치료한 마우스 OV90 난소 종양에서 절단된 및 온전한 TY26898을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0076] 아래에서 예시적인 방법, 매개변수 등을 설명한다. 그러나 이러한 설명은 본 발명의 범위를 제한하려는 것이 아니라 예시적인 실시예의 설명으로 제공된다는 것으로 이해해야 한다.

[0077] A. 정의

[0078] 본원에서 달리 정의되지 않는 한, 본 발명와 관련하여 사용되는 과학 및 기술 용어는 당업자가 일반적으로 이해하는 의미를 가져야 한다. 또한, 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수형 용어는 복수형을 포함하고, 복수형 용어는 단수형을 포함해야 한다. 일반적으로, 본원에 따른 항체 공학, 면역요법, 세포 및 조직 배양, 분자생물학, 면역학, 미생물학, 유전학, 단백질 및 핵산 화학과 관련하여 사용되는 명명법 및 기술은 당업계에 잘 알려져 있고 일반적으로 사용되는 것들이다.

[0079] 본원에 사용된 다음 용어 각각은 본 섹션에서 모두 이와 관련된 의미를 갖는다.

[0080] 관사 "a" 및 "an"은 상기 관사의 문법적 목적어 중 하나 이상(즉, 적어도 하나)을 나타낸다. 예를 들어, "구성요소"는 하나의 구성요소 또는 하나 이상의 구성요소를 의미한다.

[0081] 용어 "아미노산"는 자연 발생 및 합성 아미노산뿐만 아니라 자연 발생 아미노산과 유사하게 기능하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체를 의미한다. 자연 발생 아미노산은 유전자 코드에 의해 암호화된 아미노산뿐만 아니라 하이드록시프롤린, γ-카르복시글루탐산 및 O-포스포세린)과 같은 나중에 변형되는 아미노산이다. 용어 "아미노산 유사체"는 자연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 갖지만 C-말단 카르복실기, N-말단 아미노기 또는 측쇄 작용기가 다른 작용기로 화학적으로 변형된 화합물을 의미한다. 용어 "아미노산 모방체"는 아미노산의 일반적인 화학 구조와는 다른 구조를 갖지만 자연 발생 아미노산과 유사하게 기능하는 화학적 화합물을 의미한다. 본원에 사용된 바와 같이, 20개의 통상적인 아미노산 및 이들의 약어는 통상적인 사용법을 따른다. 예를 들어, Immunology—A Synthesis(제2판, E. S. Golub 및 D. R. Gren 편집, Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991))를 참조한다.

[0082] 용어 "아미노산 치환" 또는 "아미노산 잔기 치환"은 상기 참조 서열에 비해 아미노산 서열의 아미노산 잔기 중 하나의 변화를 의미한다. 아미노산 서열은 상기 서열의 임의의 잔기에서 상기 참조 서열에 비해 임의의 수(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 그 이상)의 아미노산 치환을 가질 수 있다. 용어 "변이체"는 상기 참조 아미노산 서열에 비해 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 폴리펩티드 또는 아미노산 서열을 의미한다.

[0083] 용어 "항체"는 본원에서 가장 넓은 의미로 사용되며 특히 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한 단클론 항체(전장 단클론 항체 포함), 다클론 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체), 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체) 및 항체 단편(예를 들어, 단일 사슬 가변 단편 또는 scFv)을 포함한다.

[0084] 용어 "항체"는 당업계에서 공지되는 용어로서 2개의 동일한 중쇄(H)와 2개의 동일한 경쇄(H)로 구성된 기본 4-폴리펩티드 사슬 구조를 갖는 항원 결합 단백질(즉, 면역글로불린)을 의미할 수 있다. 각각의 L 사슬은 하나의 공유 이황화 결합에 의해 H 사슬에 연결되는 반면, 2개의 H 사슬은 H 사슬 이소형에 따라 하나 이상의 이황화 결합에 의해 서로 연결된다. 각각의 중쇄는 N-말단에 가변 영역(본원에서는 VH로 약칭함)을 갖고, 이어서 불변 영역을 갖는다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인 CH1, CH2 및 CH3을 포함한다. 각각의 경쇄는 N-말단에 가변 영역(본원에서는 VL로 약칭함)을 갖고, 이어서 다른 말단에 불변 영역을 갖는다. 경쇄 불변 영역은 CL이라는 하나의 도메인을 포함한다. VL은 VH와 정렬되고 CL은 중쇄의 첫 번째 불변 도메인(CH1)과 정렬된다. VH와 VL의 쌍은 함께 단일 항원 결합 부위를 형성한다. IgM 항체는 J 사슬이라고 불리는 다른 폴리펩티드와 함께 5개의 기본 이종사량체 단위로 구성되므로 10개의 항원 결합 부위를 포함하는 반면, 분비된 IgA 항체는 중합되어 형성될 수 있다.

[0085] 본원에 사용된 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열이 초가변인 항체 가변 도메인의 각 영역을 의미한다. HVR은 구조적으로 정의된 루프("초가변 루프")를 형성할 수 있다. 일반적으로, 천연 4-사슬 항체는 6개의 HVR을 포

함하는데, 3개(H1, H2, H3)는 VH에 있고, 3개(L1, L2, L3)는 VL에 있다. HVR은 프레임워크 영역(FW)이라고 하는 보다 보존된 영역에 산재해 있다. 각각의 VH 및 VL은 3개의 HVR과 4개의 FW를 포함하며 FW1, HVR1, FW2, HVR2, FW3, HVR3, FW4의 순서로 아미노 말단에서 카르복시 말단으로 배열된다. HVR은 일반적으로 초가변 루프 및/또는 "상보성 결정 영역"(CDR)으로부터의 아미노산 잔기를 포함하며, CDR은 가장 높은 서열 가변성을 갖고 있거나 및/또는 항원 인식에 관여한다. 예시적인 초가변 루프는 아미노산 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) 및 96-101 (H3)에서 발생한다. (Chothia 및 Lesk, J.Mol.Biol.196:901-917(1987).). 예시적인 CDRs(CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3)는 L1의 아미노산 잔기 24-34, L2의 50-56, L3의 89-97, H1의 31-35B, H2의 50-65 및 H3의 95-102에서 발생한다. (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 제5판, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)). VH의 CDR1을 제외하고, CDR은 일반적으로 초가변 루프를 형성하는 아미노산 잔기를 포함한다. CDR은 또한 항원과 접촉하는 잔기인 "특이성 결정 잔기" 또는 "SDR"을 포함한다. SDR은 약식-CDR (abbreviated-CDR) 또는 a-CDR이라고 불리는 CDR 내에 포함되어 있다. 예시적인 a-CDR(a-CDR-L1, a-CDR-L2, a-CDR-L3, a-CDR-H1, a-CDR-H2 및 a-CDR-H3)은 L1의 아미노산 잔기31-34, L2의 50-55, L3의 89-96, H1의 31-35B, H2의 50-58 및 H3의 95-102에서 발생한다. (Almagro 및 Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008) 참조).

[0086] 하기 표 1은 당업계에 공지된 다양한 알고리즘에 따른 예시적인 CDR 정의를 제공한다.

[0087] 표 1. CDR 정의.

[0088]

	Kabat[1]	Chothia[2]	MacCallum[3]	IMGT[4]	AHo[5]
CDR-H1	31-35	26-32	30-35	27-38	25-40
CDR-H2	50-65	53-55	47-58	56-65	58-77
CDR-H3	95-102	96-101	93-101	105-117	109-137
CDR-L1	24-34	26-32	30-36	27-38	25-40
CDR-L2	50-56	50-52	46-55	56-65	58-77
CDR-L3	89-97	91-96	89-96	105-117	109-137

[0089] [1] 잔기 넘버링은 Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological interest" (1991)의 명명법을 따른다.

[0090] [2] 잔기 넘버링은 Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); Al-Lazikani B. et al., J. Mol. Biol., 273: 927-948 (1997)의 명명법을 따른다.

[0091] [3] 잔기 넘버링은 MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996); Abhinandan 및 Martin, Mol. Immunol., 45: 3832-3839 (2008)의 명명법을 따른다.

[0092] [4] 잔기 넘버링은 Lefranc M.P. et al., Dev. Comp. Immunol., 27: 55-77 (2003); 및 Honegger 및 Plückthun, J. Mol. Biol., 309:657-670 (2001)의 명명법을 따른다.

[0093] [5] 잔기 넘버링은 Honegger 및 Plückthun, J. Mol. Biol., 309:657-670 (2001)의 명명법을 따른다.

[0094] 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역 체계의 다양한 세포(예를 들어, 효과기 세포) 및 고전적 보체 시스템의 제1 성분(C1q)을 포함하는 숙주 조직 또는 인자에 대한 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 경쇄 및 중쇄에서 가변 영역과 불변 영역은 약 12개 이상의 아미노산을 갖는 "J" 영역으로 연결되며, 여기서 중쇄는 또한 약 10개 이상의 아미노산을 갖는 "D" 영역도 포함한다. 일반적으로 Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W. 편집, 제2판 Raven Press, N.Y. (1989))을 참조한다.

[0095] 임의의 척추동물 종으로부터 유래된 L 사슬은 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초하여 κ 및 λ라고 불리는 두 가지 명확하게 구별되는 유형 중 하나로 지정될 수 있다. 항체는 중쇄 불변 도메인(CH)의 아미노산 서열에 따라 다양한 클래스 또는 이소형으로 분류될 수 있다. 용어 "단편 결정화 가능(Fc) 영역"은 중쇄 불변 영역을 의미한다. 항체에는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM의 5가지 클래스가 있으며 각각 α, δ, ε, γ 및 μ로 명명된 중쇄를 갖는다. IgG 클래스의 항체는 각각 γ 중쇄 Y1-Y4에 따라 4개의 서브클래스 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로 추가로

분류될 수 있다.

[0096] 용어 항체의 "항원 결합 단편" 또는 "항원 결합 부분"은 해당 항체가 결합하는 항원(예를 들어, CD47)에 결합하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 부분을 의미한다. 항체의 "항원 결합 단편"의 구현예는, (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 구성된 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 이황화 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 $F(ab')_2$ 단편; (iii) VH 및 CH1 도메인으로 구성된 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 팔의 VL 및 VH 도메인으로 구성된 Fv 단편; (v) VH 도메인으로 구성된 dAb 단편(Ward et al., Nature 341:544-546 (1989)); (vi) 단리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다.

[0097] 용어 "마스킹된 항체"는 표적에 결합하기 위해 표적 결합 모이어티를 방해하거나, 저지하거나, 이의 능력을 감소시키거나, 방지하거나, 억제하거나, 표적에 결합하기 위해 항체의 표적 결합 모이어티(TBM), 또는 항원 결합 단편과 경쟁하는 펩티드를 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 의미한다. 마스킹된 항체는 마스킹 펩티드를 항체의 TBM 또는 항원 단편에 연결함으로써 생성될 수 있다.

[0098] 용어 "활성화 가능 항체"는 비활성화된(예를 들어, 억제된, 마스킹된 및/또는 절단되지 않은) 상태에 있을 때 표적에 대해 제1 결합 친화도를 나타내고 활성화된(예를 들어, 억제되지 않은, 마스킹되지 않은 및/또는 절단된) 상태에 있을 때 표적에 대해 제2 결합 친화도를 나타내는 마스킹된 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 의미하며, 여기서 제2 결합 친화도가 제1 결합 친화도보다 크다. 활성화 가능 항체는 활성화 가능 성분(예를 들어, 절단 가능 모이어티(CM))를 포함하는 마스킹 펩티드를 항체의 표적 결합 모이어티(TBM) 또는 이의 항원 결합 단편에 연결함으로써 생성될 수 있다. 활성화 가능 항체는 예를 들어 미국 특허 공개 제2019/0241886호 및 미국 특허 공개 제2021/0207126호에 설명되어 있으며, 이 특허들은 그 전체 내용이 참조로서 본원에 인용된다.

[0099] 용어 "표적 결합 모이어티(TBM)"는 항체의 표적 항원에 결합하는 항체의 항원 결합 부분의 구조적 모이어티를 의미한다. TBM은 VH 및 VL, 예를 들어 본원에 따른 임의의 VH 또는 VL의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0100] 용어 "마스킹 펩티드"는 TBM과 표적 항원의 결합을 억제하고 일반적으로 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 구조적 모이어티를 의미한다. 마스킹 펩티드의 C-말단은 일반적으로 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 VH 또는 VL의 N-말단에 연결된다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부는 TBM과 표적의 결합을 매우 효율적으로 방해하거나 억제하여 TBM과 표적의 결합이 극히 낮거나 및/또는 검출 한계 미만이도록 한다(예를 들어, ELISA 또는 유세포 분석법에서는 결합을 검출할 수 없음). 본원에 따른 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 LM 내에 위치하거나, MM과 LM 사이, LM과 VH 또는 VL 사이 또는 VH과 Fc힌지 영역 사이에 위치하는 하나 이상의 링커를 포함할 수 있다.

[0101] 마스킹 펩티드의 LM은 절단 가능 모이어티(CM)를 포함할 수 있다. 상기 CM은 일반적으로 절단 가능한 아미노산 서열을 포함하며, 예를 들어, 환원성 이황화 결합을 형성할 수 있는 효소 및/또는 시스테인-시스테인 쌍에 대한 기질 역할을 한다. 따라서, 용어 "절단", "절단 가능한", "절단된" 등이 CM과 결합되어 사용되는 경우, 이러한 용어는 예를 들어 프로테아제에 의한 효소적 절단뿐만 아니라, 및 환원제에 대한 노출로 인해 발생할 수 있는 이황화 결합의 환원에 의한 시스테인-시스테인 쌍 사이의 이황화 결합 파괴를 포함한다. 상기 CM의 아미노산 서열은 상기 MM과 중첩되거나 상기 MM 내에 포함될 수 있다. 활성화 가능 항체는 항체의 활성화를 중재하도록 구성된 CM을 포함할 수 있다. 예를 들어, 활성화 가능 항체의 CM이 온전한 경우(예를 들어, 해당 효소에 의해 절단되지 않거나, 및/또는 환원되지 않은 시스테인-시스테인 이황화 결합을 포함), 상기 마스킹 펩티드 또는 이의 일부는 TBM과 표적의 결합을 방해하거나 억제할 수 있다.

[0102] 용어 "마스킹 효율"은 마스킹 펩티드가 TBM과 표적 항원의 결합을 억제하는 효율을 의미한다. 마스킹 효율은 TBM 및 마스킹 펩티드를 갖는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)와, 동일한 TBM을 갖지만 마스킹 펩티드가 결여된 대응되는 마스킹되지 않은 항체("모 항체") 사이의 특성(예를 들어, 표적 항원에 대한 결합 친화도) 또는 활성(예를 들어, 표적 항원과 리간드의 결합 차단) 차이 또는 비율로 측정될 수 있다. 활성화 가능 항체에서, 마스킹 효율은 TBM 및 마스킹 펩티드를 갖는 활성화 가능 항체의 비활성화된(예를 들어, 억제된, 마스킹된 및/또는 절단되지 않은) 상태와, 활성화된(예를 들어, 억제되지 않은, 마스킹되지 않은 및/또는 절단된) 상태, 또는 동일한 TBM을 갖지만 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체 사이의 특성(예를 들어, 표적 항원에 대한 결합 친화도) 또는 활성(예를 들어, 표적 항원과 리간드의 결합 차단) 차이 또는 비율로 측정될 수 있다. 예를 들어, 마스킹 효율은 표적 항원에 결합하는 활성화 가능 항체의 비활성화된(예를 들어, 억제된, 마스킹된 및/또는 절단되지 않은) 상태의 EC_{50}을 표적 항원에 결합하는 활성화 가능 항체의 활성화된(예를 들어, 억제되지 않은,

마스킹되지 않은 및/또는 절단된) 상태의 EC_{50} 또는 K_D, 또는 표적 항원에 결합하는 모 항체의 EC_{50} 또는 K_D를 나눔으로써 측정될 수 있다. EC_{50} 값은 구현예 5에 기술된 바와 같이 ELISA로 측정될 수 있거나, 또는 미국 특허 공개 제US20210207126 A1호에 기술된 바와 같이 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정될 수 있다. K_D 값은 예를 들어 본원에 사용된 시스템 중 하나를 사용하여 표면 플라스몬 공명에 의해 측정될 수 있다.

[0103] 용어 "항체 유도체" 또는 항체의 "유도체"는 항체가 결합하는 동일한 항원(예를 들어, CD47)에 결합할 수 있고 다른 분자 실체에 연결된 항체의 아미노산 서열을 포함하는 분자를 의미한다. 항체 유도체에 포함된 항체의 아미노산 서열은 전장 중쇄, 전장 경쇄, 전장 중쇄의 임의의 부분, 항체의 전장 경쇄의 임의의 부분, 항체의 임의의 다른 단편, 또는 완전한 항체일 수 있다. 다른 분자 실체는 화학적 또는 생물학적 분자일 수 있다. 다른 분자 실체의 구현예는 화학 그룹, 아미노산, 펩티드, 단백질(예를 들어, 효소, 항체) 및 화학적 화합물을 포함한다. 다른 분자 실체는 검출제, 라벨, 마커, 약제 또는 치료제로서의 사용과 같은 임의의 유용성을 가질 수 있다. 항체의 아미노산 서열은 화학적 커플링, 유전적 융합, 비공유 결합 또는 다른 방식을 통해 다른 분자 실체에 부착되거나 연결될 수 있다. 용어 "항체 유도체"는 또한 키메라 항체, 인간화 항체, 및 CD47 항체의 아미노산 서열의 변형(예를 들어, 보존적 아미노산 치환, 추가 및 삽입)으로부터 유래된 분자를 포함한다.

[0104] 용어 "결합 분자"는 각각 본원에 정의된 바와 같은 (1) 항체, (2) 항체의 항원 결합 단편, (3) 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 및 (4) 항체의 유도체를 포함한다.

[0105] 용어 "결합 CD47(binding CD47/binds CD47)" 또는 "CD47에 결합하다(binding to CD47/binds to CD47)"는 시험관 내 검정(예를 들어, 실시예2에에서 설명된 Octet® RED96 검정)에서 결합 분자(예를 들어, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체))가 100 nM 이하의 친화도(K_D)로 인간 CD47에 결합하는 것을 의미한다.

[0106] 용어 "CD47"과 "CD47 수용체"는 본 출원에서 상호교환적으로 사용되며, 인간 CD47 수용체 및 이의 변이체, 이소형 및 동족체를 포함한다. 따라서, 결합 분자(예를 들어, 항체, 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체))는 인간 이외의 종의 CD47에도 결합할 수 있다. 다른 경우에는, 결합 분자(예를 들어, 항체, 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체))는 인간 CD47에 대해 완전히 특이적일 수 있으며, 종 또는 다른 유형의 교차 반응성을 나타내지 않을 수 있다. 용어 "CD47-ECD"는 CD47 세포외 도메인을 의미한다.

[0107] 용어 "CD47"은 본 출원에서 사용되며 인간 CD47(예를 들어, UniProt 기탁 번호 Q08722; NCBI 기탁 번호 NP_001768), 및 이의 변이체, 이소형 및 동족체(예를 들어, 마우스 CD47(UniProt 기탁 번호 Q61735; NCBI 기탁 번호 NP_034711), 랫트 CD47(UniProt 기탁 번호 P97829; NCBI 기탁 번호 NP_062068), 개 CD47(UniProt 기탁 번호 F1P6D7), 사이노몰거스 원숭이 CD47(UniProt 기탁 번호 G7NZR3; NCBI 기탁 번호 XP_005548289), 붉은털 원숭이 CD47(NCBI 기탁 번호 NP_001253446) 등)을 포함한다. 따라서, 결합 분자(예를 들어, 항체, 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체))는 인간 이외의 종으로부터 유래된 CD47에도 결합할 수 있다. 다른 경우에는, 결합 분자는 인간 CD47에 대해 완전히 특이적일 수 있으며 종 또는 다른 유형의 교차 반응성을 나타내지 않을 수 있다.

[0108] 용어 "SIRPα"는 본 출원에서 사용되며 인간 SIRPα(예를 들어, UniProt 기탁 번호 P78324), 및 이의 변이체, 이소형 및 동족체(예를 들어, 마우스 SIRPα (UniProt 기탁 번호 P97797), 랫트 SIRPα(UniProt 기탁 번호 P97710), 개 SIRPα (UniProt 기탁 번호 F1PK00), 사이노몰거스 원숭이 SIRPα(NCBI 기탁 번호 NP_001271679) 등)를 포함한다. 따라서, 결합 분자(예를 들어, 항체, 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체))는 인간 이외의 종으로부터 유래된 CD47과 인간 이외의 종으로부터 유래된 SIRPα의 결합을 차단할 수도 있다. 다른 경우에는, 결합 분자는 인간 CD47과 인간 SIRPα의 상호작용에 대해 완전히 특이적일 수 있으며 종 또는 다른 유형의 교차 반응성을 나타내지 않을 수 있다.

[0109] 용어 "CD47 항체" 또는 "항-CD47 항체"는 본원에 정의된 바와 같은 인간 CD47 수용체에 결합할 수 있는 항체를 의미한다.

[0110] 용어 "키메라 항체"는 인간 항체로부터 유래된 가변 영역 및 뮤린 면역글로불린 불변 영역을 갖는 항체와 같은 상이한 동물 종으로부터 유래된 아미노산 서열로을 포함하는 항체를 의미한다.

[0111] 용어 "경쟁적 결합"은 결합 표적에 대한 결합에서 두 항체의 상호작용을 의미한다. 제1 항체와 이의 동족 에피토프의 결합이 제1 항체의 존재 및 제2 항체의 부재 하에서의 결합과 비교하여 제2 항체의 존재 하에 검출 가능

하게 감소되는 경우, 제1 항체는 결합에 대해 제2 항체와 경쟁한다. 제2 항체와 이의 에피토프의 결합이 또한 제1 항체의 존재 하에 검출 가능하게 감소된다는 대안이 있을 수 있지만 반드시 그런 것은 아니다. 즉, 제1 항체는 제2 항체와 이의 에피토프의 결합을 억제할 수 있지만, 제2 항체는 제1 항체와 이의 상응하는 에피토프의 결합을 억제하지 않는다. 그러나, 각 항체가 다른 항체와 이의 동족 에피토프의 결합을 검출 가능하게 억제하는 경우, 정도가 동일하거나, 더 크거나, 더 작거나 상관없이, 이러한 항체는 상응하는 에피토프에 대한 결합을 두고 서로 "교차 경쟁"하는 것으로 간주된다.

[0112] 용어 "에피토프"는 항체(또는 이의 항원 결합 단편)에 결합하는 항원의 일부를 의미한다. 에피토프는 단백질의 3차 접힘에 의해 병치된 연속 아미노산 또는 비연속 아미노산으로 형성될 수 있다. 연속 아미노산으로 형성된 에피토프는 일반적으로 변성 용매에 노출되면 유지되는 반면 3차 접힘에 의해 형성된 에피토프는 일반적으로 변성 용매로 처리하면 손실된다. 에피토프는 독특한 공간 형태로 다양한 수의 아미노산을 포함할 수 있다. 에피토프의 공간 형태를 결정하는 방법은 예를 들어 X선 결정학, 2차원 핵 자기 공명, 중수소 및 수소 교환 결합 질량 분석법, 부위 지정 돌연변이 유발법, 또는 항원 및 이의 결합 항체 및 변이체와의 복합체 구조의 컴퓨터 모델링과 함께 사용되는 모든 방법을 포함한다. 예를 들어, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, 제66권, G. E. Morris 편집(1996)을 참조한다. 항원의 원하는 에피토프가 결정되면, 예를 들어 본원에 따른 기술을 사용하여 해당 에피토프에 대한 항체가 생성될 수 있다. 항체의 생성 및 특성화는 또한 원하는 에피토프에 대한 정보를 명료하게 할 수 있다. 이 정보로부터 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 경쟁적으로 스크리닝할 수 있다. 이를 달성하기 위한 방법은 교차 경쟁 연구를 수행하여 서로 경쟁적으로 결합하는 항체, 즉 항원에 결합하기 위해 경쟁하는 항체를 찾는 것이다. 교차 경쟁을 기반으로 항체를 "비닝(binning)"하는 고처리량 방법은 PCT 공개 번호 WO 03/48731에 설명되어 있다.

[0113] 용어 "글리코실화 부위"는 당 잔기의 연결 위치로서 진핵 세포에 의해 인식되는 아미노산 잔기를 의미한다. 탄수화물(예를 들어, 올리고당)의 경우 연결된 아미노산은 일반적으로 아스파라긴(N-연결), 세린(O-연결) 및 트레오닌(O-연결) 잔기이다. 특정 연결 부위는 일반적으로 아미노산 서열(본원에서는 "글리코실화 부위 서열"로 지칭됨)을 통해 신호를 전달한다. N-연결된 글리코실화를 위한 글리코실화 부위 서열은 -Asn-X-Ser- 또는 -Asn-X-Thr-이며, 여기서, X는 프롤린을 제외한 기존 아미노산 중 어느 하나일 수 있다. 용어 "N-연결" 및 "O-연결"은 당 분자와 아미노산 잔기 사이의 연결 부위 역할을 하는 화학 그룹을 의미한다. N-연결된 당은 아미노기를 통해 연결되고; O-연결된 당은 히드록실기를 통해 연결된다. 용어 "글리칸 점유"는 글리코실화 부위에 연결된 탄수화물 모이어티의 존재(즉, 글리칸 부위 점유)를 의미한다. 폴리펩티드에 적어도 2개의 잠재적 글리코실화 부위가 존재하는 경우, 0개(0-글리칸 부위 점유), 1개(1-글리칸 부위 점유) 또는 2개(2-글리칸 부위 점유)의 부위가 탄수화물 모이어티에 의해 점유될 수 있다.

[0114] 용어 "숙주 세포"는 관심 있는 단백질, 단백질 단편 또는 펩티드를 생성하도록 조작될 수 있는 세포 시스템을 의미한다. 숙주 세포는 배양된 세포, 예를 들어, 설치류(예를 들어, 랫트, 마우스, 기니아 피그 또는 햄스터)로부터 유래된 포유동물 배양 세포, 예를 들어 CHO, BHK, NSO, SP2/0, YB2/0; 또는 인간 조직 또는 하이브리도마 세포, 효모 세포, 곤충 세포, 및 형질전환 동물 또는 배양된 조직에 함유된 세포를 포함하지만 이에 한정되지 않느다. 이 용어는 특정 대상체 세포 뿐만 아니라 이러한 세포의 자손도 포함한다. 특정 변형이 자손에서 발생할 수 있기 때문에 이러한 자손은 돌연변이나 환경 영향으로 인해 모 세포와 동일하지 않을 수 있지만 여전히 "숙주 세포"라는 용어의 범위 내에 포함된다.

[0115] 용어 "인간 항체"는 경쇄 및 중쇄의 전체 아미노산 서열이 인간 면역글로불린 유전자로부터 유래된 항체를 의미한다. 인간 항체는 마우스, 마우스 세포 또는 마우스 세포로부터 유래된 하이브리도마에서 생성된 경우 뮤린 탄수화물 사슬을 함유할 수 있다. 인간 항체는 당업계에 공지된 다양한 방식으로 제조될 수 있다.

[0116] 용어 "인간화 항체"는 인간 항체 서열로부터 유래된 아미노산 잔기를 함유하는 키메라 항체를 의미한다. 인간화 항체는 비인간 동물 또는 합성 항체로부터 유래된 CDR 또는 HVR의 일부 또는 전부를 함유할 수 있는 반면, 항체의 프레임워크 영역 및 불변 영역은 인간 항체 서열로부터 유래된 아미노산 잔기가를 함유할 수 있다.

[0117] 용어 "예시적인 항체(illustrative antibody)" 또는 "예시적인 항체(exemplary antibody)"는 본 발명에 기술되고 표 3A-6에 나열된 것으로 지정된 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편 중 어느 하나를 의미한다. 이러한 항체는 임의의 클래스(예를 들어, IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM)일 수 있다. 따라서, 상기 확인된 각 항체는 VL 및 VH 영역에 대해 동일한 아미노산 서열을 갖는 5가지 클래스 모두의 항체를 포함한다. 또한, IgG 클래스의 항체는 임의의 서브클래스(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4)일 수 있다. 따라서, IgG 서브클래스에서 상기 확인된 각 항체는 VL 및 VH 영역의 동일한 아미노산 서열을 갖는 4가지 서브클

래스 모두의 항체를 포함한다. 5가지 클래스와 4가지 IgG 서브클래스의 인간 항체의 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열은 당업계에 공지되어 있다. 본 발명에서는 표 6에 나타낸 바와 같은 각각의 예시적인 항체의 IgG4 및 IgG1 서브클래스의 전장 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열을 제공한다.

[0118] 용어 "분리된 항체" 또는 "분리된 결합 분자"는 본원에 정의된 바와 같은 항체 또는 결합 분자를 의미하며, 이는 (1) 천연 상태에서 동반되는 자연 결합 성분과 연관되지 않고; (2) 동일한 종의 다른 단백질을 포함하지 않으며; (3) 상이한 종으로부터 유래되는 세포에 의해 발현되고; 또는 (4) 자연에서는 존재하지 않는다. 분리된 항체의 구현예는 CD47을 사용하여 친화성 정제된 CD47 항체, 시험관 내에서 하이브리도마 또는 다른 세포주에 의해 생성된 CD47 항체, 및 형질전환 동물로부터 유래된 CD47 항체를 포함한다.

[0119] 용어 "분리된 핵산" 또는 "분리된 폴리뉴클레오티드"는 핵산의 천연 공급원에 존재하는 다른 핵산 분자 및 폴리뉴클레오티드로부터 분리된 게놈, cDNA 또는 합성 공급원, 또는 이들의 조합으로터 유래된 핵산 분자 또는 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 예를 들어, 게놈 DNA와 관련하여, "분리된"이라는 용어에는 게놈 DNA가 자연적으로 결합되어 있는 염색체로부터 분리된 핵산 분자 및 폴리뉴클레오티드가 포함된다. 바람직하게는, "분리된" 핵산 또는 폴리뉴클레오티드는 자연적으로 핵산 또는 폴리뉴클레오티드의 측면에 위치한 서열(즉, 관심 핵산의 5' 및 3' 말단에 위치한 서열)을 포함하지 않는다.

[0120] 용어 "k_a"는 특정 결합 분자-항원 상호작용의 결합 속도 상수를 의미하며, 여기서, 용어 "k_d"는 특정 결합 분자-항원 상호작용의 해리 속도 상수를 의미한다.

[0121] 용어 "K_D"는 특정 항체-항원 상호작용의 평형 해리 상수를 의미하며 k_d 대 k_a의 비율(즉, k_d/k_a)로부터 얻어지며 몰 농도(M)로 표시된다. K_D는 결합 파트너에 대한 항체의 결합 친화도를 측정하는 기준으로 사용된다. K_D가 작을수록 항체가 더 단단하게 결합하거나 항체와 항원 간의 결합 친화도가 더 높아진다. 예를 들어, 나노몰(nM) 해리 상수를 갖는 항체는 마이크로몰(μM) 해리 상수를 갖는 항체보다 특정 항원에 더 단단하게 결합한다(즉, 더 높은 결합 친화도를 가짐). 당업계에 널리 확립된 방법을 사용하여 항체의 K_D 값을 측정할 수 있다. 항체의 K_D를 결정하는 한 가지 방법은 일반적으로 Biacore® 시스템 또는 Octet® RED96 시스템과 같은 바이오센서 시스템을 사용하는 표면 플라스몬 공명을 사용하는 것이다. Octet® RED96 시스템을 사용하는 검정 절차는 본 발명의 구현예에 설명되어 있다.

[0122] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "대상체", "환자" 및 "개체"는 상호교환적으로 사용되며, 인간 또는 비인간 동물을 의미할 수 있다. 일부 구현예에서, "대상체", "환자" 또는 "개체"는 질환 또는 장애로 인해 치료가 필요한 대상체, 환자 또는 개체를 의미한다. "비인간 동물"은 가축, 농장 또는 동물원의 동물, 스포츠용 동물, 애완 동물(예를 들어, 개, 말, 고양이, 소 등), 및 연구용 동물과 같은 인간에 속하지 않는 임의의 동물을 의미할 수 있다. 연구용 동물은 선충류, 절지동물, 척추동물, 포유동물, 개구리, 설치류(예를 들어, 마우스 또는 랫트), 어류(예를 들어, 제브라피시 또는 복어), 조류(예를 들어, 닭), 개, 고양이 및 비인간 영장류(예를 들어, 붉은털 원숭이, 사이노몰거스 원숭이, 침팬지 등)일 수 있지만 이에 한정되지 않느다. 일부 실시예에서, 대상체, 환자 또는 개체는 인간이다.

[0123] 포유동물의 특정 질환 상태와 관련하여 용어 "예방(prevent/preventing)"은 질환의 발병을 예방 또는 지연시키거나 이의 임상적 또는 준임상적 증상의 발현을 예방하는 것을 의미한다.

[0124] 본원에 사용된 바와 같이, 2개의 폴리펩티드 서열 사이의 "서열 동일성"은 서열 사이에 동일한 아미노산의 백분율을 나타낸다. 폴리펩티드의 아미노산 서열 동일성은 컴퓨터 프로그램(예를 들어, Bestfit, FASTA 또는 BLAST)을 사용하여 통상적으로 결정될 수 있다(예를 들어, Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990); Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219 (2000); Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990); Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997) 참조). Bestfit 또는 임의의 다른 서열 정렬 프로그램을 사용하여 특정 서열이 참조 아미노산 서열과 예를 들어 95% 동일성을 갖는지 여부를 결정하는 경우, 매개변수를 설정하여 참조 아미노산 서열의 전체 길이 범위 내에서 동일성 백분율을 계산하고, 참조 서열 중 아미노산 잔기 전체 수의 최대 5%까지 상동성 차이를 허용한다. 폴리펩티드 사이의 동일성 백분율을 결정하는 상기 방법은 본원에 개시된 모든 단백질, 단편 또는 이의 변이체에 적용 가능하다.

[0125] 포유동물의 특정 질환 상태와 관련하여 용어 "치료(treat/treating/treatment)"는 상기 질환 상태를 갖는 포유동물에서 바람직하거나 유익한 효과를 일으키는 것을 의미한다. 바람직하거나 유익한 효과는 질환의 하나 이상의 증상(즉, 종양 성장 및/또는 전이 또는 면역 세포의 수 및/또는 활성에 의해 매개되는 다른 효과 등)의 빈도

또는 중증도를 감소시키는 것, 또는 질환, 상태 또는 병증의 추가 발병을 저지하거나 억제하는 것을 포함할 수 있다. 포유동물에서 암을 치료하는 경우, 바람직하거나 유익한 효과는 암세포의 추가 성장 또는 확산 억제, 암세포 사멸, 암 재발 억제, 암과 관련된 통증 감소, 또는 포유동물의 생존 개선을 포함할 수 있다. 효과는 주관적이거나 객관적일 수 있다. 예를 들어, 포유동물이 인간인 경우, 인간은 활기 또는 활력의 개선, 또는 통증 감소를 개선 치료에 대한 반응의 주관적 증상으로 느낄 수 있다. 또는, 임상의는 신체 검사, 실험실 매개변수, 종양 표지자 또는 방사선학적 소견에 기초하여 종양 크기 또는 종양 부하의 감소를 관찰할 수 있다. 치료에 대한 반응을 위해 임상의가 관찰할 수 있는 일부 실험실 징후에는 백혈구 수, 적혈구 수, 혈소판 수, 적혈구 침강 속도 및 다양한 효소 수준과 같은 검사의 정상화가 포함된다. 또한, 임상의는 검출 가능한 종양 표지자의 감소를 관찰할 수 있다. 또는, 음향 녹음, 핵 자기 공명 테스트 및 양전자 방출 테스트와 같은 다른 테스트를 사용하여 객관적인 개선을 평가할 수 있다.

[0126] 용어 "CD47-양성 질환" 또는 "CD47-양성 상태"는 하나 이상의 세포에서 CD47의 비정상적인 발현, 양, 활성 또는 기능과 관련된 질환 또는 상태, 및/또는 CD47과 하나 이상의 결합 파트너의 결합을 조절하여 치료할 수 있는 질환 또는 상태를 의미한다. 예를 들어, CD47-양성 질환은 건강한 조직에 비해 높은 수준의 CD47을 발현하는 종양을 특징으로 하는 암을 포함하며, CD47과 이의 결합 파트너 중 하나(예를 들어, SIRPα)의 결합을 억제하여 치료할 수 있다. CD47-양성 암은 림프종(예를 들어, 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL) 및 림프성 신생물 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBC)), 백혈병(예를 들어, 급성 골수성 백혈병(AML)), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSC)), 위암(예를 들어, 위암(GC) 및 HER2+위식도접합부암(GEJ)), 유방암(예를 들어, 유방 침윤성 암종(BRCA), HER2+유방암, 호르몬 수용체 양성 유방암 및 삼중 음성 유방암(TNBC)), 자궁경부암(예를 들어, 자궁경부 편평상피세포암종 및 자궁경관내막선암(CESC)), 담관암종(CHOL), 결장암(예를 들어, 결장 선암종(COAD)), 난소암(예를 들어, 난소 장액성 낭선암종(OV)), 갑상선암(예를 들어, 갑상선암(THCA)), 자궁암(예를 들어, 자궁내막암(UCEC)), 자궁내막암, 폐암(예를 들어, 폐 선암종(LUAD), 폐 편평 세포 암종(LUSC) 및 소세포 폐암(SCLC)), 중피종(MESO) 및 췌장암(예를 들어, 췌장 선암종(PAAD))을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0127] 용어 "벡터"는 외래 핵산 분자를 운반할 수 있는 핵산 분자를 의미한다. 외래 핵산 분자는 재조합 기술(예를 들어, 라이게이션 또는 재조합)에 의해 벡터 핵산 분자에 연결된다. 이는 외래 핵산 분자가 조작, 선택되고 숙주 세포 또는 유기체에서 추가 조작 또는 발현되도록 허용한다. 벡터는 플라스미드, 파지, 트랜스포존, 코스미드, 염색체, 바이러스 또는 비리온일 수 있다. 한 가지 유형의 벡터는 숙주 세포 내로 도입 시 숙주 세포의 게놈에 융합될 수 있고 이에 의해 숙주 게놈과 함께 복제될 수 있다(예를 들어, 비에피솜 포유동물 벡터). 또 다른 유형의 벡터는 이것이 도입되는 숙주 세포에서 자발적인 복제가 가능하다(예를 들어, 박테리아 복제 기점을 갖는 박테리아 벡터 및 에피솜 포유동물 벡터). 작동 가능하게 연결된 발현 가능한 외래 핵산의 발현을 지시할 수 있는 또 다른 특정 유형의 벡터는 일반적으로 "발현 벡터"로 지칭된다. 발현 벡터는 일반적으로 발현 가능한 외래 핵산의 발현을 유도하는 제어 서열을 갖는다. "전사 벡터"로 알려진 더 간단한 벡터는 전사만 가능하지만 번역은 불가능한데, 즉, 표적 세포에서 복제될 수 있지만 발현할 수는 없다. 용어 "벡터"는 기능에 관계없이 모든 유형의 벡터를 포함한다. 작동 가능하게 연결된 발현 가능한 핵산의 발현을 지시할 수 있는 벡터는 일반적으로 "발현 벡터"로 지칭된다.

[0128] 달리 명시되지 않는 한, 본 발명의 방법 및 기술은 일반적으로 당업계에 잘 알려져 있고 본 명세서 전반에 걸쳐 인용되고 논의된 다양한 일반적이고 보다 구체적인 참고문헌에 기술된 방법에 따라 수행된다. 이러한 참고문헌은 예를 들어 Sambrook 및 Russell, Molecular Cloning, A Laboratory Approach, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001); Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (2002); 및 Harlow 및 Lane Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990)를 포함한다. 효소 반응 및 정제 기술은 당업계에서 일반적으로 수행되거나 본원에 기술된 바와 같이 제조업체의 사양에 따라 수행된다. 본원에 따른 분석 화학, 합성 유기 화학, 의약 및 약학 화학과 관련하여 사용된 용어, 분석 화학, 합성 유기 화학, 의약 및 약학 화학의 실험실 절차 및 기술은 당업계에 잘 알려져 있고 일반적으로 사용된다. 표준 기술은 화학 합성, 화학 분석, 의약품 준비, 제제화, 전달 및 환자 치료에 사용된다.

[0129] B. 인간 CD47에 결합하는 항체, 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체

[0130] 본 발명은 인간 CD47에 결합하는 분리된 결합 분자(예를 들어, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체))를 제공하며, 이는 CD47 항체, 활성화 가능 CD47 항체, CD47 항체의 항원 결합 단편 및 CD47 항체의 유도체를 포함한다. 일부 실시예에서, 결합 분자는 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체), 에피토프 결합을 참조하여 설명된 항원 결합 단편, 및 CDRs, 가변 영역(VL, VH) 및 IgG (예를 들어,

IgG1 및 IgG4) 경쇄 및 중쇄의 구체적인 아미노산 서열과 관련하여 설명된 항체를 비롯한 본원에 따른 임의의 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 및 항원 결합 단편이다. 일부 실시예에서, 본 발명은 인간 CD47에 결합하는 항체, 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)에 관한 것이며, 이는, (a) 500 nm 이하의 K_D로 인간 CD47에 결합함; (b) 원숭이, 랫트 또는 개 CD47과 교차 반응함; (c) 종양 세포 성장을 억제할 수 있음; (d) 암에 대해 치료 효과가 있음; (e) CD47과 SIRP 단백질(예를 들어, SIRPα) 사이의 결합을 차단함; 및 (f) CD47을 발현하는 종양 세포에 대한 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP)을 유도함; 중 적어도 하나(예를 들어, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개 또는 6개 모두)의 기능적 특성을 갖는다. 일부 실시예에서, 본원에 개시된 항체, 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 예를 들어 CD47과 이의 리간드 SIRPα 사이의 결합을 완전히 차단할 수도 있다. 본원은 또한 인간 CD47에 결합하기 위해 본원에 따른 하나 이상의 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)와 교차 경쟁하는 하나 이상의 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 제공한다.

[0131] 일부 실시예에서, 인간 CD47을 발현하는 세포(예를 들어, 인간 세포)가 항체 또는 항원 결합 단편과 접촉할 때, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 인간 CD47의 하나 이상(예를 들어, 하나 이상, 둘 이상, 셋 이상 등)의 인간 CD47의 활성을 변화(예를 들어, 억제 또는 향상)시킨다. 다양한 CD47 활성이 당업계에 공지되어 있으며, 이는 면역 세포(예를 들어, 대식세포)에 의한 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP)의 억제; 자연 살해(NK) 세포에 의한 ADCC의 억제; 세포-세포 융합, T 세포 활성화, T 세포 증식, 세포 사멸, 세포 증식, 세포 생존 및 세포 부착의 자극을 포함할 수 있지만 이에 한정되지 않는다(Sick et al.. "CD47 update: a multifaceted actor in the tumor microenvironment of potential therapeutic interest." Br J Pharmacol. 2012; 167(7):1415-1430). 일부 실시예에서, 하나 이상의 CD47 활성은 CD47과 이의 리간드(예를 들어, SIRPα)의 결합과 무관하다. CD47 활성(예를 들어, 식균작용 억제, ADCC 억제 등)을 측정하는 방법은 예를 들어 하기 구현예 9 및 10에 기술된 방법을 비롯한 당업계에 공지된 방법이다.

[0132] 일부 실시예에서, 본원에 따른 항체, 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP)을 향상시키는 기능을 갖는다. 항체 및 항원 결합 단편의 ADCC를 측정하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 관심 분자의 시험관 내 ADCC 활성을 평가하기 위한 비제한적인 구현예는 미국 특허 제5,500,362호(예를 들어, Hellstrom, I. et al.. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986) 참조) 및 Hellstrom, I. et al.., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82: 1499-1502 (1985); 제5,821,337호 미국 특허(Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166: 1351-1361 (1987) 참조)에 기술되어 있다. 또는, 비방사성 측정 방법을 사용할 수 있다(예를 들어, 유세포 분석을 위한 비방사성 세포독성 측정(ACTI™ non-radioactive cytotoxicity assay for flow cytometry)(Cell Technology, Inc. Mountain View, Calif 및 CytoTox 96™ 비방사성 세포독성 측정(Promega, Madison, Wis.) 참조). 이러한 측정에 사용되는 유용한 효과기 세포는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 및 자연 살해 세포(NK)를 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, Clynes et al.. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998)에 개시된 동물 모델과 같은 생체 내에서 관심 분자의 ADCC 활성을 평가할 수 있다. 종양 세포 사멸에 대한 ADCC의 기여는 예를 들어 고친화도 FcR-형질감염된 NK-92 세포를 사용하는 특정 테스트로 측정할 수 있다. 결과를 FcR을 발현하지 않는 야생형 NK-92 세포와 비교하였다. 대안적으로 또는 추가적으로, Clynes et al.. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998)에 개시된 동물 모델과 같은 생체 내에서 관심 분자의 ADCC 활성을 평가할 수 있다.항체 및 항원 결합 단편의 ADCC를 측정하는 방법은 예를 들어 하기 구현예 10에 기술된 방법을 포함한다. 항체 및 항원 결합 단편의 ADCP를 측정하는 방법도 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 관심 분자의 ADCP 활성을 평가하기 위해 시험관 내 ADCP 측정을 수행할 수 있다(예를 들어, Bracher et al.., 2007, J. Immunol. Methods 323:160-71 참조). 유용한 식균 세포는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), PBMC로부터 정제된 단핵구 또는 단핵 유형으로 분화된 U937 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 동물 모델과 같은 생체 내에서 관심 분자의 ADCP 활성을 평가할 수 있다(예를 들어, Wallace et al.., 2001, J. Immunol. Methods 248:167-82 참조). 항체 및 항원 결합 단편의 ADCP를 측정하는 방법은 예를 들어 하기 구현예 9에 기술된 방법을 포함한다.

[0133] 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 시험관 내에서 적혈구(RBCs)(예를 들어, 인간 적혈구) 응집(예를 들어, 클러스터링)을 유발하지 않는다. 일부 실시예에서, 최대 약 50 nM, 최대 약 100 nM, 최대 약 500 nM, 최대 약 1000 nM 또는 최대 약 5000 nM의 농도로 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 제공하는 경우, 시험관 내에서 인간 적혈구 응집을 유발하지 않는다.

[0134] 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 암에 대한 치료 효과를 갖는다. 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 암의 하나 이상의 징후 또는 증상을 감소시킨다. 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 투여할 때, 암을 앓고 있는 대상체는 부분적 또는 완전 관해에 들어간다. 일부 실시예에서, 암은 B 세포 림프종, T 세포 림프종 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시예에서, 암은 B 세포 림프종이다. 다른 실시예에서, 암은 T 세포 림프종이다. 일부 실시예에서, 암은 림프종(예를 들어, 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL) 및 림프성 신생물 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBC)), 백혈병(예를 들어, 급성 골수성 백혈병(AML)), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSC)), 위암(예를 들어, 위암(GC) 및 HER2+위식도접합부암(GEJ)), 유방암(예를 들어, 유방암(BRCA), HER2+유방암, 호르몬 수용체 양성 유방암 및 삼중 음성 유방암(TNBC)), 자궁경부암(예를 들어, 자궁경부 편평상피세포암종 및 자궁경관내막선암(CESC)), 담관암종(CHOL), 결장암(예를 들어, 결장 선암종(COAD)), 난소암(예를 들어, 난소 장액성 낭선암종(OV)), 갑상선암(예를 들어, 갑상선암(THCA)), 자궁암(예를 들어, 자궁내막암(UCEC)), 자궁내막암, 폐암(예를 들어, 폐 선암종(LUAD), 폐 편평 세포 암종(LUSC) 및 소세포폐암(SCLC)), 중피종(MESO) 또는 췌장암(예를 들어, 췌장 선암종(PAAD))이다.

[0135] 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 다른 항체와는 상이한 인간 CD47의 에피토프에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)가 인간 CD47의 상이한 에피토프에 결합하면, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 트랜스 구성이 아닌 시스 구성으로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)가 시스 구성으로 인간 CD47의 상이한 에피토프에 결합하면 트랜스 구성으로 인간 CD47에 결합한 항체보다 적혈구 응집이 더 낮다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 CD47의 K39, W40, K41, F50, D51, G52, T99, E100, L101 및 T102로 이루어진 군으로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 모두의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시예에서, 이는 전술한 실시예와 조합될 수 있으며, 마스킹된 항체는 인간 CD47의 L2, L3, F4, K6, N27, E29, A30, Q31, T34, E35, V36, Y37, D46, T49, A53, E97, R103, E104, G105 및 E106으로 이루어진 군으로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개 모두의 아미노산 잔기에 결합하지 않는다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 CD47의 아미노산 잔기 K39, W40, K41, F50, D51, G52, T99, E100, L101 및 T102에 결합하고, 인간 CD47의 아미노산 잔기 L2, L3, F4, K6, N27, E29, A30, Q31, T34, E35, V36, Y37, D46, T49, A53, E97, R103, E104, G105 및 E106 중 어느 하나에도 결합하지 않는다.

[0136] 다른 측면에서, 본 출원은 인간 CD47에 결합하기 위해 본 출원의 임의의 예시적인 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)와 경쟁하거나 교차 경쟁하는 분리된 항체, 예를 들어 TY25031, TY25034, TY25040, TY21446, TY21447, TY26294 (CM이 절단될 때), TY26896, TY26897, TY26898(CM이 절단될 때) 및 TY26899(CM이 절단될 때)를 제공한다. 특정 실시예에서, 본 출원은 분리된 항체를 제공하며, 상기 분리된 항체는 인간 CD47의 동일한 에피토프에 결합하기 위해 본 출원의 임의의 예시적인 항체와 경쟁하거나 교차 경쟁한다. 항체가 결합을 위해 다른 항체와 경쟁하거나 교차 경쟁하는 능력은 당업계에 공지된 표준 결합 검정법, 예를 들어 BIAcore 분석, ELISA 분석법 또는 유세포 분석을 사용하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 예시적인 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 포화 조건에서 인간 CD47에 결합시킨 다음 CD47에 대한 시험 항체의 결합 능력을 측정할 수 있다. 시험 항체가 예시적인 항체와 동시에 CD47에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체와 예시적인 항체는 상이한 에피토프에 결합한다. 그러나, 시험 항체가 동시에 CD47에 결합할 수 없는 경우, 시험 항체는 동일한 에피토프, 중복되는 에피토프 또는 예시적인 항체에 의해 결합된 에피토프에 근접한 에피토프에 결합한다. 이 실험은 ELISA, RIA, FACS 또는 표면 플라스몬 공명과 같은 다양한 방법을 사용하여 수행할 수 있다.

[0137] 일 측면에서, 본 발명은 특정 상보성 결정 영역(CDRs)을 갖는 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 제공한다. 상기 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 본원에 따른 임의의 CDRs 중 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개)의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0138] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 항체 중쇄 가변 영역(VH), 항체 경쇄 가변 영역(VL) 또는 둘 모두를 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 제1 상보성 결정 영역(CDR-H1), 제2 상보성 결정 영역(CDR-H2) 및 제3 상보성 결정 영역(CDR-H3)을 포함한다.

[0139] 일부 실시예에서, CDR-H1은 식 (I)에 따른 아미노산 서열: X1YX2IH(서열번호 182)을 포함하며, 여기서, X1은 D,

G, N, R 또는 S이고, X2는 A, G 또는 W이다.

[0140] 일부 실시예에서, CDR-H1은 식 (II)에 따른 아미노산 서열: SGX1X2WX3(서열번호 183)을 포함하며, 여기서, X1 및 X2는 각각 독립적으로 H 또는 Y이고, X3은 D, G, N, S 또는 T이다.

[0141] 일부 실시예에서, CDR-H2는 식 (III)에 따른 아미노산 서열: X1IX2X3X4GX5X6X7YX8PSLKS(서열번호 184)을 포함하며, 여기서, X1은 A, E 또는 R이고, X2는 S 또는 Y이며, X3은 H, W 또는 Y이고, X4는 D 또는 S이며, X5는 D, N 또는 S이고, X6은 K 또는 T이며, X7은 R 또는 Y이고, X8은 N 또는 S이다.

[0142] 일부 실시예에서, CDR-H2는 식 (IV)에 따른 아미노산 서열: X1IX2X3X4X5X6X7X8X9YAX10X11X12X13G(서열번호 185)을 포함하며, 여기서, X1은 A, G, I, R 또는 W이고, X2는 I, N, S 또는 Y이며, X3은 G 또는 P이고, X4는 A, N, S 또는 V이며, X5는 F, G 또는 S이고, X6은 G 또는 S이며, X7은 G, S 또는 T이고, X8은 A, P 또는 T이며, X9는 K, N 또는 Y이고, X10은 D 또는 Q이며, X11은 K 또는 S이고, X12는 F 또는 V이며, X13은 K 또는 Q이다.

[0143] 일부 실시예에서, CDR-H3은 식 (V)에 따른 아미노산 서열: X1X2X3X4X5X6FX7X8(서열번호 186)을 포함하며, 여기서, X1은 Q, R, S 또는 Y이고, X2는 G, R, V 또는 Y이며, X3은 G, H, I, P 또는 Y이고, X4는 A, G, L 또는 Y이며, X5는 A, G, P 또는 Y이고, X6은 A, D, G, R, S 또는 V이며, X7은 A 또는 D이고, X8은 V 또는 Y이다.

[0144] 일부 실시예에서, CDR-H3은 식 (VI)에 따른 아미노산 서열: X1X2X3GX4X5X6X7DX8(서열번호 187)을 포함하며, 여기서, X1 및 X4는 각각 독립적으로 G 또는 Y이고, X2는 A 또는 G이며, X3은 R 또는 Y이고, X5 및 X6은 각각 독립적으로 A 또는 Y이며, X7은 F 또는 L이고, X8은 V 또는 Y이다.

[0145] 일부 실시예에서, CDR-H3은 식 (VII)에 따른 아미노산 서열: X1X2X3X4X5X6GX7FDX8(서열번호 188)을 포함하며, 여기서, X1은 G 또는 R이고, X2는 G 또는 V이며, X3은 R 또는 S이고, X4는 G 또는 Y이며, X5는 G 또는 S이고, X6은 F 또는 Y이며, X7은 A 또는 W이고, X8은 V 또는 Y이다.

[0146] 일부 실시예에서, CDR-H3은 식 (VIII)에 따른 아미노산 서열: X1X2X3X4X5X6SX7X8YDX9FDX10(서열번호 189)을 포함하며, 여기서, X1은 D 또는 H이고, X2는 R 또는 Y이며, X3은 A 또는 L이고, X4는 F 또는 P이며, X5 및 X9는 각각 독립적으로 A 또는 G이고, X6은 G 또는 S이며, X7은 G 또는 T이고, X8은 S 또는 Y이며, X10은 I 또는 Y이다.

[0147] 일부 실시예에서, CDR-L1은 식 (IX)에 따른 아미노산 서열: SASSX1VX2YX3Y(서열번호 190)을 포함하며, 여기서, X1은 R 또는 S이고, X2는 G, S 또는 T이며, X3은 I 또는 V이다.

[0148] 일부 실시예에서, CDR-L1은 식 (X)에 따른 아미노산 서열: RASQX1IX2X3X4LX5(서열번호 191)을 포함하며, 여기서, X1은 G 또는 T이고, X2는 G 또는 S이며, X3은 R 또는 S이고, X4는 V 또는 Y이며, X5는 A 또는 N이다.

[0149] 일부 실시예에서, CDR-L1은 식 (XI)에 따른 아미노산 서열: RASQX1VX2X3RX4LA(서열번호 192)을 포함하며, 여기서, X1은 S 또는 T이고, X2는 I 또는 R이며, X3은 G 또는 S이고, X4는 L 또는 Y이다.

[0150] 일부 실시예에서, CDR-L1은 식 (XII)에 따른 아미노산 서열: RASX1SVDFX2GX3SFLX4(서열번호 193)을 포함하며, 여기서, X1은 E 또는 Q이고, X2는 H, V 또는 Y이며, X3은 F, I 또는 K이고, X4는 A, D 또는 H이다.

[0151] 일부 실시예에서, CDR-L2는 식 (XIII)에 따른 아미노산 서열: X1ASX2X3X4X5(서열번호 194)을 포함하며, 여기서, X1은 A 또는 D이고, X2는 N, S 또는 T이며, X3은 L 또는 R이고, X4는 A, E 또는 Q이며, X5는 S 또는 T이다.

[0152] 일부 실시예에서, CDR-L3은 식 (XIV)에 따른 아미노산 서열: X1QX2X3X4X5PX6T(서열번호 195)을 포함하며, 여기서, X1은 A, H, Q 또는 V이고, X2는 A, G, R, S 또는 Y이며, X3은 G, I, L, S, T 또는 Y이고, X4는 A, E, P, Q, R, S, T 또는 Y이며, X5는 A, I, L, S, T 또는 W이고, X6은 F, H, L, W 또는 Y이다.

[0153] 일부 실시예에서, CDR-L3은 식 (XV)에 따른 아미노산 서열: QX1YX2SX3PX4X5X6T(서열번호 196)을 포함하며, 여기서, X1은 H 또는 Q이고, X2는 A, T 또는 V이며, X3은 S 또는 W이고, X4는 P 또는 R이며, X5는 G 또는 V이고, X6은 F 또는 Y이다.

[0154] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 서열번호 182-196으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개)의 CDRs를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 각각 서열번호 182-196으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 2

개 이상(예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개)의 CDRs를 포함할 수 있다.

[0155] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 일부 실시예에서, CDR-H1은 서열번호 182 또는 183의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, CDR-H2는 서열번호 184 또는 185의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, CDR-H3은 서열번호 186-189로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 VL은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, CDR-L1은 서열번호 190-193으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, CDR-L2는 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, CDR-L3은 서열번호 195 또는 196의 아미노산 서열을 포함한다.

[0156] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 아미노산 서열이 서열번호 182 또는 183인 CDR-H1; 아미노산 서열이 서열번호 184 또는 185인 CDR-H2; 아미노산 서열이 서열번호 186-189로 이루어진 군으로부터 선택된 CDR-H3; 아미노산 서열이 서열번호 190-193으로 이루어진 군으로부터 선택된 CDR-L1; 아미노산 서열이 서열번호 194인 CDR-L2; 및/또는 아미노산 서열이 서열번호 195 또는 196인 CDR-L3을 포함할 수 있다.

[0157] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, 1) 상기 VH는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하며, 여기서, CDR-H1은 서열번호 182 또는 183의 아미노산 서열을 포함하고; CDR-H2는 서열번호 184 또는 185의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CDR-H3은 서열번호 186-189로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 2) 상기 VL은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하며, CDR-L1은 서열번호 190-193으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고; CDR-L2는 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 CDR-L3은 서열번호 195 또는 196의 아미노산 서열을 포함한다.

[0158] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, 1) 상기 VH는 서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; 서열번호 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및/또는 서열번호 188의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하며; 및/또는 b) 상기 VL은 서열번호 191의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및/또는 서열번호 195의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, 1) 상기 VH는 서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 188의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하며; 및 b) 상기 VL은 서열번호 191의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 195의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.

[0159] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, VH는 서열번호 182-189로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하며, 및/또는 VL은 서열번호 190-196으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, VH는 서열번호 182-189로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하며, VL은 서열번호 190-196으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0160] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, 1) 상기 VH는 서열번호 182-183으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 서열번호 184-185로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 및/또는 서열번호 186-189로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하며; 및/또는 2) VL은 서열번호 190-193으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 서열번호 194의 아미노산 서열, 및/또는 서열번호 195-196으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, 1) VH는 서열번호 182-183으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 서열번호 184-185로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 및 서열번호 186-189로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하고, 2) VL은 서열번호 190-193으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 서열번호 194의 아미노산 서열, 및 서열번호 195-196으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이

상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0161] 일부 실시예에서, 1) VH는 서열번호 182의 아미노산 서열; 서열번호 185의 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 188의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 2) VL은 서열번호 191의 아미노산 서열; 서열번호 194의 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 195의 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시예에서, 1) VH는 서열번호 182의 아미노산 서열, 서열번호 185의 아미노산 서열, 및 서열번호 188의 아미노산 서열을 포함하고; 및 2) VL은 서열번호 191의 아미노산 서열, 서열번호 194의 아미노산 서열 및 서열번호 195의 아미노산 서열을 포함한다.

[0162] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 서열번호 35-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개)의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 각각 서열번호 35-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 2개 이상(예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개)의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체, 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 하나 이상의 예시적인 항체의 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개)의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0163] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 일부 실시예에서, CDR-H1은 서열번호 35-51로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, CDR-H2는 서열번호 52-68로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, CDR-H3은 서열번호 69-85로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, VL은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, CDR-L1은 서열번호 86-102로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, CDR-L2는 서열번호 103-119로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, CDR-L3은 서열번호 120-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0164] 일부 실시예에서, 항체는, 서열번호 35-51로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 52-68로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 69-85로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 86-102로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 103-119로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 120-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함할 수 있다.

[0165] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, 1) 상기 VH는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하며, 여기서, CDR-H1은 서열번호 35-51로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; CDR-H2는 서열번호 52-68로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 CDR-H3은 서열번호 69-85로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 VL은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하며, CDR-L1은 서열번호 86-102로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; CDR-L2는 서열번호 103-119로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산

치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 CDR-L3은 서열번호 120-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0166] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, VH는 서열번호 35-85로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 VL은 서열번호 86-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, 1) 상기 VH는, 서열번호 35-51로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 52-68로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 69-85로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 2) VL은, 서열번호 86-102로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 103-119로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 120-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, 1) VH는 서열번호 35-51로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 서열번호 52-68로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 및 서열번호 69-85로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하고; 및 2) VL은 서열번호 86-102로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 서열번호 103-119로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 및 서열번호 120-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, 1) VH는 표 3A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체의 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개)의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 2) VL은 표 3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체의 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개)의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0167] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 서열번호 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31 및 33으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 VH, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 서열번호 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32 및 34로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 VL, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 서열번호 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31 및 33으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 VH, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체, 및 서열번호 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32 및 34로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 VL, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 본원에 따른 임의의 VH 및 임의의 VL의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0168] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 경쇄 및/또는 중쇄(예를 들어, IgG1 또는 IgG4와 같은 IgG)를 포함한다. 일부 실시예에서, 중쇄는 서열번호 35-85로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 경쇄는 서열번호 86-136으로 이루어진 군으로부터 선택

된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서, 1) 중쇄는, 서열번호 35-51로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 52-68로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 69-85로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 2) 경쇄는 서열번호 86-102로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 103-119로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 120-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0169] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및/또는 VL을 포함하고, VH는 서열 NYAIH(서열번호 48)를 포함하는 CDR-H1, 서열 AISGSGSSTYYADSVKG(서열번호 65)를 포함하는 CDR-H2, 및 서열 RGSYGFGAFDY(서열번호 82)를 포함하는 CDR-H3, 또는 CDR-H1 서열, CDR-H2 서열 및/또는 CDR-H3 서열의 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; VL은 서열 RASQTIGRYLN(서열번호 99)을 포함하는 CDR-L1, 서열 DASNRAT(서열번호 116)를 포함하는 CDR-L2, 및 서열 QQRYPWPYT(서열번호 133)를 포함하는 CDR-L3, 또는 CDR-H1 서열, CDR-H2 서열 및/또는 CDR-H3 서열의 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0170] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; b) VL은 서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는 서열번호 48의 아미노산 서열, 서열번호 65의 아미노산 서열 및 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하고; b) VL은 서열번호 99의 아미노산 서열, 서열번호 116의 아미노산 서열 및 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0171] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 27과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또

는 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 28과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 28과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0172] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) VH는, 서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 49의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 66의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 83의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 100의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 117의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 134의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21447의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0173] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 29와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 30과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 29의 아미노산 서열, 또는 서열번호 29와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 30의 아미노산 서열, 또는 서열번호 30과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 가는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21447의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21447의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0174] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 118의 아

미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 50의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 67의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 84의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 101의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 118의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 135의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21449의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0175] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 31과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 32와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 31의 아미노산 서열, 또는 서열번호 31과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 32의 아미노산 서열, 또는 서열번호 32와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21449의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21449의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0176] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 120의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 35의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 52의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 69의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 86의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 103의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 120의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25029의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0177] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 1과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 2와 적

어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 1의 아미노산 서열, 또는 서열번호 1과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 2의 아미노산 서열, 또는 서열번호 2와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25029의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25029의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0178] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 121의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 36의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 53의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 70의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 87의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 104의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 121의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25030의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0179] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 3과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 4와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 3의 아미노산 서열, 또는 서열번호 3과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 4의 아미노산 서열, 또는 서열번호 4와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25030의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25030의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0180] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 105의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 37의 아

미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 54의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 71의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 88의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 105의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 122의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25031의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0181] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 5와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 6과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 5의 아미노산 서열, 또는 서열번호 5와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 6의 아미노산 서열, 또는 서열번호 6과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25031의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25031의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0182] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 106의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 123의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 38의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 55의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 72의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 89의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 106의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 123의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25032의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0183] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 7과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 8과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 7의 아미노산 서열, 또는 서열번호 7과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 8의 아미노산 서열, 또는 서열번호 8과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%;

또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25032의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25032의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0184] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 90의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 39의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 56의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 73의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 90의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 107의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 124의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25033의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0185] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 9와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 10과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 9의 아미노산 서열, 또는 서열번호 9와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 10의 아미노산 서열, 또는 서열번호 10과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25033의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25033의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0186] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 40의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 57의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 74의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치

환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 91의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 108의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 125의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25034의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0187] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 11과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 12와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 11의 아미노산 서열, 또는 서열번호 11과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 12의 아미노산 서열, 또는 서열번호 12와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25034의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25034의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0188] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 109의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 41의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 58의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 75의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 92의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 109의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 126의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25035의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0189] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 13과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 14와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 13의 아미노산 서열, 또는 서열번호 13과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 14의 아미노산 서열, 또는 서열번호 14와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체

TY25035의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25035의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0190] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 42의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 59의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 76의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 93의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 110의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 127의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25036의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0191] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 15와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 16과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 15의 아미노산 서열, 또는 서열번호 15와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 16의 아미노산 서열, 또는 서열번호 16과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25036의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25036의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0192] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 111의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 43의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 60의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 77의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 94의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를

들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 111의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 128의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25037의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0193] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 17과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 18과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 17의 아미노산 서열, 또는 서열번호 17과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 18의 아미노산 서열, 또는 서열번호 18과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25037의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25037의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0194] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 112의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 129의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 44의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 61의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 78의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 95의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 112의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 129의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25038의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0195] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 19와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 20과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 19의 아미노산 서열, 또는 서열번호 19와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 20의 아미노산 서열, 또는 서열번호 20과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25038의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25038의 VH 또는 VL과 적어도 80%

(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0196] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 113의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 45의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 62의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 79의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 96의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 113의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 130의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25039의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0197] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 21과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 22와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 21의 아미노산 서열, 또는 서열번호 21과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 22의 아미노산 서열, 또는 서열번호 22와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25039의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25039의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0198] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 114의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 131의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 46의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 63의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 80의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 97의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 114의 아미노산 서열, 또는 최

대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 131의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25040의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0199] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 23과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 24와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 23의 아미노산 서열, 또는 서열번호 23과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 24의 아미노산 서열, 또는 서열번호 24와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25040의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25040의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0200] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, a) 상기 VH는, 서열번호 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하며; 및/또는 b) VL은, 서열번호 98의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 115의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 132의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) VH는, 서열번호 47의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 64의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 81의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) VL은, 서열번호 98의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 115의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 132의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25041의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0201] 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는, 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 VH의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH, 또는 서열번호 25와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및/또는 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 VL의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL, 또는 서열번호 26과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, VH는 서열번호 25의 아미노산 서열, 또는 서열번호 25와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 VL은 서열번호 26의 아미노산 서열, 또는 서열번호 26과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25041의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY25041의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서

열을 포함한다.

[0202] B-1. 분리된 항체

[0203] 일부 측면에서, 본 발명은 인간 CD47에 결합하는 분리된 항체를 제공한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 항체는 시험관 내에서 약 100 nM 이하의 EC_{50}으로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 항체는 시험관 내에서 약 100 nM 이하의 IC_{50}으로 인간 CD47과 인간 SIRPÐ 사이의 결합을 차단한다. 일부 실시예에서, 항체는 표면 플라스몬 공명으로 측정된 바와 같이 50 nM 이하의 K_D로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체는 사이노몰거스 원숭이, 랫트 및 개로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 비인간 종과 교차 반응한다. 본원에 따른 분리된 항체는 CD47-양성 질환 또는 병증(예를 들어, 암)의 치료에 사용될 수 있다. 본 발명의 분리된 항체는 본원에 따른 임의의 CDR, VH, VL, 중쇄 및/또는 경쇄 서열을 포함할 수 있다.

[0204] 본원에 따른 CD47 항체는 IgG, IgM, IgE, IgA 또는 IgD와 같은 임의의 클래스에 속할 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 CD47 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 서브클래스와 같은 IgG 클래스에 속한다. 당업계에 공지된 방법을 사용하여 CD47 항체를 하나의 클래스 또는 서브클래스에서 다른 클래스 또는 서브클래스로 전환할 수 있다. 원하는 클래스 또는 서브클래스의 항체를 생산하기 위한 예시적인 방법은, CD47 항체의 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 CD47 항체의 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 분리하는 단계, VH 영역을 코딩하는 서열을 분리하는 단계, 상기 VH 서열을 원하는 클래스 또는 서브클래스의 중쇄 불변 영역을 코딩하는 서열에 연결하는 단계, 세포에서 경쇄 유전자 및 중쇄 구축물을 발현하는 단계, 및 CD47 항체를 수집하는 단계를 포함한다.

[0205] 본원에 따른 분리된 항체는 인간 IgG, IgM, IgE, IgA 또는 IgD의 Fc 영역을 포함할 수 있다. 바람직한 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG의 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 서브클래스의 Fc 영역을 포함한다. 인간 항체 클래스 또는 서브클래스의 Fc 영역의 공지된 서열에 비해, 상기 Fc 영역은 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 10 또는 다수)의 아미노산 치환을 포함할 수 있다.

[0206] 일부 실시예에서, 분리된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, Fc 영역은 IgG4 Fc 영역이다. 일부 실시예에서, Fc 영역은 IgG1 Fc 영역이다. 일부 실시예에서, Fc 영역은 IgG1 Fc 영역이고, 상기 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함하며, 여기서, Kabat에 따라 넘버링한다. 일부 실시예에서, Fc 영역은 IgG1 Fc 영역이고, 상기 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및 I332E 치환을 포함하며, 여기서, Kabat에 따라 넘버링한다. S239D 치환 및 I332E 치환을 포함하는 IgG1 Fc 영역은 Lazar et al.(Engineered antibody Fc variants with enhanced effector function." PNAS 103.11 (2006): 4005-4010)에 자세히 설명되어 있다. 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 본원에 따른 임의의 CDR, VH, VL, 중쇄 및/또는 경쇄 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 190-196으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 182-189로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 변이체에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 191, 194 및/또는 195의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 182, 185 및/또는 188의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 31-85로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 86-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 변이체에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은, 서열번호 86-102로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 103-119로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 120-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는, 서열번호 35-51로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 52-68로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 69-85로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에

서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 99의 아미노산 서열, 서열번호 116의 아미노산 서열 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 48의 아미노산 서열, 서열번호 65의 아미노산 서열 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 표 3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 표 3A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 28의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0207] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 VH 및 VL을 포함하되, a) VH는 서열번호 48의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체, 및 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; b) VL은 서열번호 99의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및 서열번호 133의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 VH 및 VL을 포함하되, a) VH는 서열번호 48의 아미노산 서열, 서열번호 65의 아미노산 서열 및 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 서열번호 48, 서열번호 65 및/또는 서열번호 82 각각의 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; b) VL은 서열번호 99의 아미노산 서열, 서열번호 116의 아미노산 서열 및 서열번호 133의 아미노산 서열, 또는 서열번호 99, 서열번호 116, 및/또는 서열번호 133 각각의 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는, 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 VL, 또는 서열번호 28의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 항-CD47 항체는, 서열번호 145의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 또는 서열번호 145의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 서열번호 144의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄, 또는 서열번호 144의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 항-CD47 항체는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26896의 중쇄 및/또는 경쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26896의 중쇄 또는 경쇄와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은

S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일부 실시예에서, 항-CD47 항체는, 서열번호 147의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 또는 서열번호 147의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 서열번호 146의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄, 또는 서열번호 146의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 항-CD47 항체는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26897의 중쇄 및/또는 경쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26897의 중쇄 또는 경쇄와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 기능을 갖는다.

[0208] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 VH 및 VL을 포함하되, a) VH는 서열번호 49의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 66의 아미노산 서열 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체, 및 서열번호 83의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; b) VL은 서열번호 100의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 117의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및 서열번호 134의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 VH 및 VL을 포함하되, a) VH는 서열번호 49의 아미노산 서열, 서열번호 66의 아미노산 서열 및 서열번호 83의 아미노산 서열, 또는 서열번호 49, 서열번호 66 및/또는 서열번호 83 각각의 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; b) VL은 서열번호 100의 아미노산 서열, 서열번호 117의 아미노산 서열 및 서열번호 134의 아미노산 서열, 또는 서열번호 100, 서열번호 117, 및/또는 서열번호 134 각각의 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21447의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는, 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 또는 서열번호 29의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 VL, 또는 서열번호 30의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21447의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21447의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 기능을 갖는다.

[0209] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 VH 및 VL을 포함하되, a) VH는 서열번호 50의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 67의 아미노산 서열 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체, 및 서열번호 84의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; b) VL은 서열번호 101의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 118의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및 서열번호 135의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5

개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 VH 및 VL을 포함하되, a) VH는 서열번호 50의 아미노산 서열, 서열번호 67의 아미노산 서열 및 서열번호 84의 아미노산 서열, 또는 서열번호 50, 서열번호 67 및/또는 서열번호 84 각각의 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; b) VL은 서열번호 101의 아미노산 서열, 서열번호 118의 아미노산 서열 및 서열번호 135의 아미노산 서열, 또는 서열번호 101, 서열번호 118, 및/또는 서열번호 135 각각의 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21449의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는, 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 또는 서열번호 31의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 VL, 또는 서열번호 32의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21449의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21449의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 기능을 갖는다.

[0210] 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG4 Fc 영역을 포함한다. 본 발명의 분리된 항체는 IgG4 Fc 영역 및 본원에 따른 CDR, VH, VL 및/또는 경쇄 서열의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG4 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 99의 아미노산 서열, 서열번호 116의 아미노산 서열 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 48의 아미노산 서열, 서열번호 65의 아미노산 서열 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 표 3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 표 3A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 서열번호 140의 아미노산 서열, 또는 서열번호 140의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드는 서열번호 141의 아미노산 서열, 또는 서열번호 141의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 6에 나타낸 바와 같은 항체 TY21446의 경쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 경쇄의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드는 표 6에 나타낸 바와 같은 TY21446의 중쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 중쇄의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0211] 일부 실시예에서, 분리된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 본 발명의 분리된 항체는 IgG1 Fc 영역 및 본원에 따른 CDR, VH, VL 및/또는 경쇄 서열의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 99의 아미노산 서열, 서열번호 116의 아미노산 서열 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 48의 아미노산 서열, 서열번호 65의 아미노산 서열 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 서열번호 144의 아미노산 서열, 또는 서열번호 144의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드는 서열번호 145의 아미노산 서열, 또는 서열번호 145의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 6에 나타낸 바와 같은 항체 TY26896의 경쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26896의 경쇄의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드는 표 6에 나타낸 바와 같은 TY26896의 중쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26896의 중쇄의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0212] 일부 실시예에서, 분리된 항체는 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 상기 IgG1 Fc 영역은 IgG1 Fc 영역을 갖는 항체에 원하는 특성을 부여하기 위해 당업계에 공지된 임의의 아미노산 치환을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 기능을 갖는다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 본 발명의 분리된 항체는 IgG1 Fc 영역을 포함할 수 있고, 상기 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환 및 본원에 따른 CDR, VH, VL 및/또는 경쇄 서열의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 향상된 ADCC 활성을 갖는다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 99의 아미노산 서열, 서열번호 116의 아미노산 서열 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 48의 아미노산 서열, 서열번호 65의 아미노산 서열 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 서열번호 146의 아미노산 서열, 또는 서열번호 146의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드는 서열번호 147의 아미노산 서열, 또는 서열번호 147의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 6에 나타낸 바와 같은 항체 TY26897의 경쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 항체 TY26897의 경쇄의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드는 표 6에 나타낸 바와 같은 TY26897의 중쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 TY26897의 중쇄의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0213] 또한, 본 발명에 의해 제공된 항체는 단클론성 또는 다클론성일 수 있다. 바람직한 실시예에서, 분리된 항체는 단클론성이다.

[0214] 본 발명에 의해 제공된 특정 분리된 항체의 구현예는 표 3A-6에 나열된 항체를 포함한다. 또한 이들 항체의 중쇄 가변 영역, IgG1 및 IgG4 서브클래스의 전장 중쇄, 경쇄 가변 영역 및 전장 경쇄의 아미노산 서열을 제공한다.

[0215] 또한 표 3A-6에 나열된 항체를 포함하여, 본원에 따른 임의의 항-CD47 항체와 동일한 에피토프에 경쟁적으로 결합하는 항-CD47 항체를 제공한다.

[0216] 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 약 500 nM 이하(예를 들어, 약 500 nM 이하, 약 400 nM 이하, 약 300 nM 이하, 약 200 nM 이하, 약 150 nM 이하, 약 100 nM 이하, 약 90 nM 이하, 약 80 nM 이하, 약 75 nM 이하, 약 70 nM 이하, 약 60 nM 이하, 약 50 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 30 nM 이하, 약 25 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 1 nM 이하, 약 0.1 nM 이하 등)의 K_D로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 약 100 nM 이하의 K_D로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 약 50 nM 이하의 K_D로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 약 10 nM 이하의 K_D로 인간 CD47에 결합한다. 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 K_D를 측정하는 방법은 예를 들어 표면 플라스몬 공명, ELISA, 등온 적정 열량측정법, 필터 결합 검정, EMSA 등을 포함한 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용할 수 있다. 일부 실시예에서, K_D는 표면 플라스몬 공명에 의해 측정된다(예를 들어, 하기 구현예 2 참조).

[0217] 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 500 nM 이하(예를 들어, 약 500 nM 이하, 약 400 nM 이하, 약 300 nM 이하, 약 200 nM 이하, 약 150 nM 이하, 약 100 nM 이하, 약 90 nM 이하, 약 80 nM 이하, 약 75 nM 이하, 약 70 nM 이하, 약 60 nM 이하, 약 50 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 30 nM 이하, 약 25 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 1 nM 이하, 약 0.1 nM 이하 등)의 반수 최대 유효 농도(EC_{50})로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 100 nM 이하의 EC_{50}으로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 10 nM 이하의 EC_{50}으로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 1 nM 이하의 EC_{50}으로 인간 CD47에 결합한다. 표적(예를 들어, CD47)에 결합하기 위한 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 EC_{50}을 측정하는 방법은 예를 들어 표면 플라스몬 공명, ELISA, 필터 결합 검정, EMSA 등을 포함한 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용할 수 있다. 일부 실시예에서, EC_{50}은 ELISA에 의해 측정된다(예를 들어, 하기 구현예 2 참조).

[0218] 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 500 nM 이하(예를 들어, 약 500 nM 이하, 약 400 nM 이하, 약 300 nM 이하, 약 200 nM 이하, 약 150 nM 이하, 약 100 nM 이하, 약 90 nM 이하, 약 80 nM 이하, 약 75 nM 이하, 약 70 nM 이하, 약 60 nM 이하, 약 50 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 30 nM 이하, 약 25 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 1 nM 이하, 약 0.1 nM 이하 등)의 반수 최대 억제 농도(IC_{50})로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 100 nM 이하의 IC_{50}으로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 25 nM 이하의 IC_{50}으로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 10 nM 이하의 IC_{50}으로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 5 nM 이하의 IC_{50}으로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단한다. 표적(예를 들어, CD47)에 결합하기 위한 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 IC_{50}을 측정하는 방법은 예를 들어 표면 플라스몬 공명, ELISA, 필터 결합 검정, EMSA 등을 포함한 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용할 수 있다. 일부 실시예에서, IC_{50}은 ELISA에 의해 측정된다(예를 들어, 하기 구현예 2 참조).

[0219] 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 1 nM 이상(예를 들어, 약 1 nM 이상, 약 5 nM 이상, 약 10 nM 이상, 약 20 nM 이상, 약 40 nM 이상, 약 60 nM 이상, 약 80 nM 이상, 약 100 nM 이상, 약 200 nM 이상, 약 400 nM 이상, 약 600 nM 이상, 약 800 nM 이상, 약 1 μM 이상, 약 2 μM 이상, 약 4 μM 이상, 약 6 μM 이상, 약 8 μM 이상, 약 10 μM 이상, 약 20 μM 이상, 약 40 μM 이상, 약 60 μM 이상, 약 80 μM 이상, 약 100 μM 이상 등)의 농도로 제공되는 경우, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 완전히 차단한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 1 μM 이상의 농도로 제공되는 경우, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 완전히 차단한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 100 nM 이상의 농도로 제공되는 경우, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 완전히 차단한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 100 nM 이상의 농도로 제공되는 경우, 항원 결

합 단편은 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 완전히 차단한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 10 nM 이상의 농도로 제공되는 경우, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 완전히 차단한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "완전히 차단(complete blocking)" 또는 "완전히 차단(completely blocks)"은 항체 또는 항원 결합 단편이 제1 단백질과 제2 단백질 사이의 결합을 적어도 약 80%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 99% 등)까지 감소시키는 능력을 의미한다. 항체 또는 항원 결합 단편이 제1 단백질(예를 들어, CD47)과 제2 단백질(예를 들어, SIRPα)의 결합을 차단하는 능력을 측정하는 방법은 당업계에 공지된 것으로, BIAcore 분석, ELISA 분석 및 유세포 분석을 포함하지만 이에 한정되지 않는다(예를 들어, 하기 구현예 2 참조).

[0220] 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 500 nM 이하(예를 들어, 약 500 nM 이하, 약 400 nM 이하, 약 300 nM 이하, 약 200 nM 이하, 약 150 nM 이하, 약 100 nM 이하, 약 90 nM 이하, 약 80 nM 이하, 약 75 nM 이하, 약 70 nM 이하, 약 60 nM 이하, 약 50 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 30 nM 이하, 약 25 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 1 nM 이하, 약 0.1 nM 이하 등)의 반수 최대 유효 농도(EC_{50})로 종양 세포에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 50 nM 이하의 EC_{50}으로 종양 세포에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 10 nM 이하의 EC_{50}으로 종양 세포에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 5 nM 이하의 EC_{50}으로 종양 세포에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 1 nM 이하의 EC_{50}으로 종양 세포에 결합한다. 일부 실시예에서, 종양 세포는 B 세포 림프종 세포주(예를 들어, Raji 세포주)를 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 종양 세포는 T 세포 림프종 세포주(예를 들어, CEM 세포주)를 포함한다. 종양 세포에 결합하기 위한 항체 또는 항원 결합 단편의 EC_{50}을 측정하는 방법은 예를 들어 유세포 분석을 포함한 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용할 수 있다(예를 들어, 하기 구현예 6 참조).

[0221] 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 100 nM 이하(예를 들어, 약 100 nM 이하, 약 90 nM 이하, 약 80 nM 이하, 약 75 nM 이하, 약 70 nM 이하, 약 60 nM 이하, 약 50 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 30 nM 이하, 약 25 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 5 nM 이하, 약 2 nM 이하, 약 1 nM 이하, 약 0.5 nM 이하, 약 0.4 nM 이하, 약 0.3 nM 이하, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 이하 등)의 반수 최대 유효 농도(EC_{50})로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시킨다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 10 nM 이하의 EC_{50}으로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시킨다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 5 nM 이하의 EC_{50}으로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시킨다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 1 nM 이하의 EC_{50}으로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시킨다. 일부 실시예에서, 1 μM 이상의 농도로 제공되는 경우, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내 종양 세포의 최대 대식세포 식균작용을 약 20% 이상(예를 들어, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상 등) 발생시킨다. 일부 실시예에서, 1 μM 이상의 농도로 제공되는 경우, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내 종양 세포의 최대 대식세포 식균작용을 약 50% 이상(예를 들어, 약 50% 이상, 약 2배 이상, 약 3배 이상, 약 4배 이상, 약 5배 이상, 약 10배 이상 등) 발생시키고, 동일한 농도로 제공되는 경우 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 비교했을 때 CD47에 결합하지 않는다. 일부 실시예에서, 종양 세포는 B 세포 림프종 세포주(예를 들어, Raji 세포주)를 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 종양 세포는 T 세포 림프종 세포주(예를 들어, CEM 세포주)를 포함한다. 시험관 내에서 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시키기 위한 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 EC_{50}을 측정하는 방법은 예를 들어 유세포 분석을 포함한 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용할 수 있다(예를 들어, 하기 구현예 9 참조).

[0222] 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 항체 의존성 세포독성(ADCC) 활성을 갖는다. ADCC는 면역 세포(예를 들어, 자연 살해(NK) 세포)에 의해 매개되며, 체액성 면역 반응(예를 들어, 감염, 종양 세포 등에 대한)에서 중요한 역할을 한다. 일부 실시예에서, 0.01 nM 이상의 농도로 제공되는 경우, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 ADCC 활성은 종양 세포 용해를 약 5% 이상(예를 들어, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상 등) 발생시킨다. 일부 실시예에서, 0.1 nM 이상의 농도로 제공되는 경우, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 ADCC 활성은 종양 세포 용해를 약 10% 이상(예를 들어, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상 등) 발

생시킨다. 일부 실시예에서, 1 nM 이상의 농도로 제공되는 경우, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 ADCC 활성은 종양 세포 용해를 약 20% 이상(예를 들어, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상 등) 발생시킨다. 일부 실시예에서, 종양 세포는 B 세포 림프종 세포주(예를 들어, Raji 세포주)를 포함한다. 추가 실시예에서, 종양 세포는 T 세포 림프종 세포주(예를 들어, CEM 세포주)를 포함한다. 항체 및 항원 결합 단편의 ADCC를 측정하는 방법은 당업계에 공지된 것으로, 예를 들어 하기 구현예 10에 기재된 방법을 포함한다.

[0223] 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 활성화 가능 항체는 원숭이(예를 들어, 사이노몰거스 원숭이), 랫트 및/또는 개 CD47과 교차 반응한다. 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 활성화 가능 항체는 원숭이 CD47과 교차 반응한다. 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 활성화 가능 항체는 랫트 CD47과 교차 반응한다. 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 활성화 가능 항체는 개 CD47과 교차 반응한다. 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 활성화 가능 항체는 원숭이 및 랫트 CD47; 원숭이 및 개 CD47; 랫트 및 개 CD47 또는 원숭이, 랫트 및 개 CD47과 교차 반응한다. 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 활성화 가능 항체는 약 100 nM 이하(예를 들어, 약 1 nM, 약 10 nM, 약 25 nM, 약 50 nM, 약 75 nM, 약 100 nM)에서 원숭이(예를 들어, 사이노몰거스 원숭이), 랫트 및/또는 개 CD47과 교차 반응한다. 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 교차 반응성을 측정하는 방법은 당업계에 공지된 것으로, 표면 플라스몬 공명, ELISA, 등온 적정 열량측정법, 필터 결합 검정, EMSA 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 일부 실시예에서, 교차 반응은 ELISA에 의해 측정된다(예를 들어, 하기 구현예 5 참조).

[0224] 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 활성화 가능 항체는 사이노몰거스 원숭이 CD47과 교차 반응한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 100 nM 이하(예를 들어, 약 100 nM 이하, 약 90 nM 이하, 약 80 nM 이하, 약 75 nM 이하, 약 70 nM 이하, 약 60 nM 이하, 약 50 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 30 nM 이하, 약 25 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 5 nM 이하, 약 2 nM 이하, 약 1 nM 이하, 약 0.5 nM 이하, 약 0.4 nM 이하, 약 0.3 nM 이하, 약 0.2 nM 이하, 약 0.1 nM 이하 등)의 반수 최대 유효 농도(EC_{50})로 사이노몰거스 원숭이 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 10 nM 이하의 EC_{50}으로 사이노몰거스 원숭이 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 5 nM 이하의 EC_{50}으로 사이노몰거스 원숭이 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 시험관 내에서 약 1 nM 이하의 EC_{50}으로 사이노몰거스 원숭이 CD47에 결합한다.

[0225] 본 발명의 항체는 표준 체세포 혼성화 기술(예를 들어, Kohler and Milstein, Nature 256:495 (1975) 참조), B 림프구의 바이러스성 또는 발암성 형질전환, 또는 아래에 자세히 설명된 재조합 항체 기술과 같은 통상적인 단클론 항체 방법을 비롯한 당업계에 공지된 기술에 의해 생산될 수 있다.

[0226] 하이브리도마 생산은 매우 잘 확립된 절차이다. 하이브리도마를 제조하기 위한 일반적인 동물 시스템은 뮤린 시스템이다. 융합을 위한 면역화된 비장세포의 분리를 위한 면역화 프로토콜 및 기술은 당업계에 공지되어 있다. 융합 파트너(예를 들어, 뮤린 골수종 세포) 및 융합 절차도 알려져 있다. 본 발명에 의해 제공된 인간 CD47 항체를 제조하기 위해 사용될 수 있는 하나의 잘 알려진 방법은XENOMOUSE™ 동물 시스템의 사용을 포함한다. XENOMOUSE™ 마우스는 인간 면역글로불린 중쇄 및 경쇄 유전자좌의 큰 단편을 포함하고 마우스 항체 생산이 결핍된 조작된 마우스 계통이다. 예를 들어, Green et al., Nature Genetics 7:13-21 (1994) 및 WO2003/040170을 참조한다. CD47 항원으로 동물을 면역화시킨다. CD47 항원은 분리 및/또는 정제된 CD47, 바람직하게는 CD47이다. 이는 CD47 세포외 도메인 단편, 특히 서열번호 1의 아미노산 잔기 34-108 또는 34-93을 포함하는 CD47 세포외 도메인 단편과 같은 CD47의 단편일 수 있다. 동물의 면역화는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 수행될 수 있다. 예를 들어, Harlow 및 Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press, 1990을 참조한다. 마우스, 랫트, 양, 염소, 돼지, 소 및 말과 같은 비인간 동물을 면역화시키는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, Harlow 및 Lane, 상기 문헌 및 미국 특허 제5,994,619호를 참조한다. CD47 항원은 면역 반응을 자극하기 위해 보조제와 함께 투여될 수 있다. 예시적인 보조제는 완전 또는 불완전 프로인트 보조제, RIBI(무라밀 디펩티드) 또는 ISCOM(면역자극 복합체)을 포함한다. CD47 항원으로 동물을 면역화시킨 후, 면역된 동물로부터 분리된 세포로부터 항체를 생산하는 불멸화 세포주를 제조한다. 면역화 후 동물을 희생시키고 림프절 및/또는 비장 B 세포를 불멸화시킨다. 세포를 불멸화시키는 방법은 세포를 종양유전자로 전달하는 것, 세포를 발암성 바이러스로 감염시키는 것, 불멸화 세포를 선택하는 조건 하에서 세포를 배양하는 것, 세포를 발암성 또는 돌연변이 화합물에 노출시키는 것, 세포를 불멸화 세포(예를 들어, 골수종 세포)와 융합시키는 것, 및 종양 억제 유전자를 비활성화시키는 것을 포함한다. 예를 들어, Harlow 및 Lane, 상기 문

헌을 참조한다. 골수종 세포와 융합시키는 방법을 사용하면, 골수종 세포는 면역글로불린 폴리펩티드(비분비성 세포주)를 분비하지 않는 것이 바람직하다. CD47, 이의 일부 또는 CD47을 발현하는 세포를 사용하여 불멸화 세포를 스크리닝한다. CD47 항체를 생산하는 세포(예를 들어, 하이브리도마)를 선택하고 클로닝한 후, 아래에 추가로 논의되는 바와 같이 견고한 성장, 높은 항체 생산 및 원하는 항체 특징을 비롯한 원하는 특징에 대해 추가로 스크리닝한다. 하이브리도마는 동계 동물, 면역 체계가 결여된 동물(예를 들어, 누드 마우스) 또는 시험관내 세포 배양에서 생체 내에서 확장될 수 있다. 하이브리도마를 선택, 클로닝 및 확장하는 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0227] 파지 디스플레이 또는 효모 디스플레이 방법을 사용하여 본 발명의 항체를 제조할 수도 있다. 인간 항체를 분리하기 위한 이러한 디스플레이 방법은 예를 들어 Achim Knappik et al., "Fully Synthetic Human Combinatorial Antibody Libraries (HuCAL) Based on Modular Consensus Frameworks and CDRs Randomized with Trinucleotides." J. Mol. Biol. (2000) 296, 57-86; 및 Michael J. Feldhaus, et al., "Flow-cytometric isolation of human antibodies from a non-immune Saccharomyces cerevisiae surface display library" Nat Biotechnol (2003) 21:163-170과 같이 당업계에 잘 확립되어 있다.

[0228] B-2. 마스킹된 항체

[0229] 일부 측면에서, 본원은 CD47에 결합하는 마스킹된 항체를 제공한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결된다. 바람직한 실시예에서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁한다. TBM은 본원에 따른 항-CD47 항체 또는 항원 결합 단편의 하나 이상의 서열을 포함할 수 있고, CDRs의 특정 아미노산 서열, 가변 영역(VL, VH) 및/또는 경쇄 및 중쇄(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG4)를 참조하여 설명된 상기 항체 또는 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시예에서, TBM은 본원에 따른 하나 이상의 항-CD47 항체의 전장 항체 경쇄 및/또는 전장 항체 중쇄를 포함한다.

[0230] 일부 실시예에서, 본 발명은 인간 CD47에 결합하는 마스킹된 항체에 관한 것이며, 이는, (a) 동일한 TBM을 갖지만 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체와 비교하여, 인간 CD47에 대한 결합에 대해 더 큰 K_D를 가짐: (b) 동일한 TBM을 갖지만 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체와 비교하여, 인간 CD47에 대한 결합에 대한 반수 최대 유효 농도(EC_{50})가 더 높음; (c) 동일한 TBM을 갖지만 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체와 비교하여, 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단하기 위한 반수 최대 억제 농도(IC_{50})가 더 높음; (d) 마스킹된 항체가 약 1 nM 이상의 농도로 제공되는 경우, 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 완전히 차단함; (e) 동일한 TBM을 갖지만 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체와 비교하여, 시험관 내에서 종양 세포에 대한 결합에 대한 EC_{50}이 더 높음; (f) 동일한 TBM을 갖지만 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체와 비교하여, 시험관 내에서 적혈구(RBC)에 대한 결합이 감소함; (g) 동일한 TBM을 갖지만 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체와 비교하여, 시험관 내 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시키기 위한 EC_{50}이 더 높음; (h) 500 nM 이하의 K_D로 인간 CD47에 결합함; (i) 원숭이, 랫트 또는 개 CD47과 교차 반응함; (j) 종양 세포 성장을 억제할 수 있음; (k) 암에 대해 하나 이상의 치료 효과가 있음; (l) CD47과 SIRP 단백질(예를 들어, SIRPα) 사이의 결합을 차단함; 및 (m) CD47을 발현하는 종양 세포에 대한 항체 의존성 세포독성(ADCC)을 유도함; 중 적어도 하나(예를 들어, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 또는 13개 모두)의 기능적 특성을 갖는다.

[0231] 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 CD47 발현 수준이 높은 조직 및 세포에 선택적으로 결합한다. 이론에 얽매이지 않고, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하기 때문에, CD47 발현 수준이 충분히 높은 세포 및 조직에서 마스킹된 항체는 CD47에 선택적으로 결합하므로 세포 표면의 CD47의 국소 농도가 충분히 높다. 표적(예를 들어, CD47)의 발현이 높은 조직 및 세포에서 표적(예를 들어, CD47)에 선택적으로 결합하는 이러한 현상을 선택적 표적화라고 할 수 있다. 일부 실시예에서, 동일한 TBM을 갖지만 마스킹 모이어티를 포함하는 마스킹 펩티드가 결여된 항-CD47 항체와 비교하여, 본원에 따른 항-CD47 마스킹된 항체의 선택적 표적화는 표적화된 비종양 효과(예를 들어, 항원 침강 효과, 빈혈)를 감소시킨다.

[0232] 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함한다. 일부 실시예에서, TBM은 항체 경쇄 가변 영역 및/또는 항체 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, TBM은 항체 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, TBM은 항체 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, TBM은 항체 경쇄 가변 영역 및 항

체 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 중쇄 가변 영역은 항체 경쇄 가변 영역의 C-말단이다. 일부 실시예에서, 상기 항체 경쇄 가변 영역은 항체 중쇄 가변 영역의 C-말단이다. 일부 실시예에서, 본 발명의 TBM은 CD47에 특이적인 항체 경쇄 가변 영역 및/또는 항체 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, TBM은 전장 항체 경쇄 및/또는 전장 항체 중쇄를 포함한다. 항체 경쇄는 κ 또는 λ 경쇄일 수 있다. 항체의 중쇄는 IgG, IgM, IgE, IgA 또는 IgD와 같은 임의의 클래스에 속할 수 있다. 일부 실시예에서, 항체 중쇄는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 서브클래스와 같은 IgG 클래스에 속한다. 당업계에 공지된 방법을 사용하여 항체 중쇄를 하나의 클래스 또는 서브클래스에서 다른 클래스 또는 서브클래스로 전환할 수 있다. 본원에 따른 임의의 하나 이상의 TBMs는 본원에 따른 임의의 항-CD47 항체의 임의의 CDR 서열(예를 들어, 1개, 2개 또는 3개 중쇄 가변 영역의 CDR 서열, 및/또는 1개, 2개 또는 3개의 경쇄 가변 영역의 CDR 서열), 중쇄 가변 영역 서열 및/또는 본원의 경쇄 가변 영역 서열을 포함할 수 있다.

[0233] 일부 실시예에서, 마스킹된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VH(예를 들어, Fab 단편)를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 다른 실시예에서, 마스킹된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VH를 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VL(예를 들어, Fab 단편)을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 다른 실시예에서, 마스킹된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드, VL 및 VH(예를 들어, scFv)를 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함한다. 또 다른 실시예에서, 마스킹된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드, VH 및 VL(예를 들어, scFv)을 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함한다.

[0234] 일부 실시예에서, 마스킹된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, VH를 포함하는 제2 폴리펩티드, 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제3 폴리펩티드, 및 VH를 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, VH 및 제1 Fc 영역을 포함하는 제2 폴리펩티드, 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제3 폴리펩티드, 및 VH 및 제2 Fc 영역을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역은 동일하다. 다른 실시예에서, 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역은 상이하다. 일부 실시예에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역 둘 모두 IgG4 Fc 영역(예를 들어, 인간 IgG4 Fc 영역)이다. 제1 IgG4 Fc 영역과 제2 IgG4 Fc 영역은 동일하거나 상이할 수 있다. 다른 실시예에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역 둘 모두 IgG1 Fc 영역(예를 들어, 인간 IgG1 Fc 영역)이다. 제1 IgG1 Fc 영역과 제2 IgG1 Fc 영역은 동일하거나 상이할 수 있다. 일부 실시예에서, 제1 IgG1 Fc 영역 및 제2 IgG1 Fc 영역은 각각 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 IgG1 Fc 영역 및 제2 IgG1 Fc 영역은 각각 S239D 치환 및 I332E 치환을 포함한다.

[0235] 일부 실시예에서, 마스킹된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 N-말단에서 C-말단까지 MM 및 LM을 포함하는 마스킹 펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 식 (XVI)에 따른 아미노산 서열: X1X2X3X4X5X6CX7DDX8X9X10CX11X12(서열번호 197)을 포함하며, 여기서, X1은 D, H, N 또는 Y이고, X2는 A, D, F, P, T 또는 Y이며, X3은 A, L, N, P, T 또는 Y이고, X4는 A, D, H 또는 S이며, X5는 A, D, F, H 또는 N이고, X6은 D, S 또는 T이며, X7은 D, S 또는 Y이고, X8은 D, F 또는 Y이며, X9 및 X11은 각각 독립적으로 A, D 또는 Y이고, X10은 A, D, F 또는 P이며, X12는 D, F, I, T 또는 Y이다. 일부 실시예에서, MM은 식 (XVII)에 따른 아미노산 서열: X1X2X3X4X5DCPX6X7DX8X9CX10X11(서열번호 198)을 포함하며, 여기서, X1은 A, N 또는 P이며, X2는 A, N, P 또는 Q이고, X3은 A, D 또는 S이며, X4는 A, D, S 또는 V이고, X5는 D, F 또는 P이며, X6은 A, D 또는 T이고, X7은 A, H 또는 Y이며, X8은 A, D 또는 V이고, X9는 F 또는 Y이며, X10은 D, N, S 또는 Y이고, X11은 D, P 또는 V이다. 일부 실시예에서, MM은 식 (XVIII)에 따른 아미노산 서열: X1X2X3X4X5X6CDX7X8X9X10X11CX12A(서열번호 199)을 포함하며, 여기서, X1은 A 또는 L이고, X2는 A 또는 T이며, X3은 S 또는 V이고, X4는 D 또는 P이며, X5는 A 또는 Y이고, X6은 F 또는 T이며, X7은 D 또는 I이고, X8은 D 또는 T이며, X9는 L 또는 P이고, X10은 F 또는 L이며, X11은 F 또는 Y이고, X12는 N 또는 P이다. 다른 실시예에서, MM은 식 (XIX)에 따른 아미노산 서열: X1X2CX3X4X5X6X7X8X9FCX10X11(서열번호 200)을 포함하며, 여기서, X1은 D, F 또는 V이고, X2는 A, S 또는 Y이며, X3은 P, R 또는 T이고, X4는 A, G 또는 I이며, X5는 A, E 또는 F이고, X6은 A, D 또는 V이며, X7은 D 또는 V이고, X8은 D 또는 G이며, X9는 I 또는 P이고, X10은 I 또는 S이며, X11은 A, Q 또는 V이다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137 및 167-181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체의 MM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는

이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 MM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 MM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0236] 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 또한 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개 또는 다수)의 링커를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 또한 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개 또는 다수)의 링커를 포함한다. 예를 들어 글리신 중합체(G)n(여기서 n은 1 이상(예를 들어, 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상 등)의 정수); 글리신-세린 중합체(GS)n(여기서 n은 1 이상(예를 들어, 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상 등)의 정수); 글리신-알라닌 중합체; 알라닌-세린 중합체; 등을 포함한 당업계에 공지된 임의의 적합한 링커(예를 들어, 유연한 링커)를 사용할 수 있다. 링커 서열은 약 1개의 아미노산(예를 들어, 글리신 또는 세린) 내지 약 20개의 아미노산(예를 들어, 20개의 아미노산의 글리신 중합체 또는 글리신-세린 중합체), 약 1개의 아미노산 내지 약 15개의 아미노산, 약 3개의 아미노산 내지 약 12개의 아미노산, 약 4개의 아미노산 내지 약 10개의 아미노산, 약 5개의 아미노산 내지 약 9개의 아미노산, 약 6개의 아미노산 내지 약 8개의 아미노산 등과 같은 임의의 길이일 수 있다. 일부 실시예에서, 링커의 길이는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산 중 어느 하나이다.

[0237] 일부 실시예에서, 본원에 따른 마스킹 펩티드 중 어느 하나는 하나 이상의 추가 아미노산 서열(예를 들어, 하나 이상의 폴리펩티드 태그)을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 추가 아미노산 서열의 구현예는 정제 태그(예를 들어, his-태그, flag-태그, 말토스 결합 단백질 및 글루타티온-S-트랜스퍼라제 태그), 검출 태그(예를 들어, 광도계로 검출 가능한 태그(예를 들어, 적색 또는 녹색 형광 단백질 등)), 검출 가능한 효소 활성을 갖는 태그(예를 들어, 알칼리성 포스파타제 등), 분비 서열, 리더 서열 및/또는 안정화 서열을 포함하는 태그, 프로테아제 절단 부위(예를 들어, 푸린(furin) 절단 부위, TEV 절단 부위, 트롬빈 절단 부위) 등을 포함할 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 일부 실시예에서, 하나 이상의 추가 아미노산 서열은 마스킹 펩티드의 N-말단에 있다.

[0238] 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함하지 않는다. 다른 실시예에서, 마스킹 펩티드는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함한다. 일부 실시예에서, CM은 적어도 하나의 절단 부위를 포함한다. 상기 절단 부위는 당업계에 공지되거나 본원에 따른 임의의 절단 부위일 수 있다.

[0239] 일부 실시예에서, 연결 모이어티(LM)는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함하지 않는다. 다른 실시예에서, 연결 모이어티(LM)는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함한다. 일부 실시예에서, CM은 적어도 하나의 절단 부위를 포함한다. 상기 절단 부위는 당업계에 공지되거나 본원에 따른 임의의 절단 부위일 수 있다.

[0240] 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VH를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 제2 폴리펩티드는 Fc 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, Fc 영역은 IgG4 Fc 영역이다. 일부 실시예에서, Fc 영역은 IgG1 Fc 영역이다. 일부 실시예에서, Fc 영역은 IgG1 Fc 영역이고, 상기 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함하며, 여기서, Kabat에 따라 넘버링한다. 일부 실시예에서, Fc 영역은 IgG1 Fc 영역이고, 상기 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및 I332E 치환을 포함하며, 여기서, Kabat에 따라 넘버링한다. 일부 실시예에서, S239D 치환 및 I332E 치환을 포함하는 IgG1 Fc 영역은 Lazar et al.(Engineered antibody Fc variants with enhanced effector function." PNAS 103.11 (2006): 4005-4010)에 자세히 설명되어 있다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 190-196으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 182-189로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 변이체에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 191, 194 및/또는 195의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 182, 185 및/또는 188의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 31-85로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 86-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 변이체에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은, 서열번호 86-102로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 103-119로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 120-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는

이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는, 서열번호 35-51로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 52-68로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 69-85로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 표 3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 표 3A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 28의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0241] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 2) VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 LM을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 TBM을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 LM을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 TBM을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 최대

5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 2) VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 MM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 LM을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 TBM을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 2) VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 28의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 기능을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 IgG4 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 IgG4 Fc 영역을 포함한다.

[0242] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는, 서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 2) VL은, 서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 LM을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 TBM을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 LM을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 TBM을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는, 서열번호 49의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 66의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 83의 아미노산 서열,

또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 2) VL은, 서열번호 100의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 117의 아미노산 서열 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 134의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21447의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 MM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 LM을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 TBM을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 29의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 2) VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 30의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 가는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21447의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21447의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 기능을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 IgG4 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 IgG4 Fc 영역을 포함한다.

[0243] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는, 서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 2) VL은, 서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 LM을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 TBM을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 LM을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 TBM을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는, 서열번호 50의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 67의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 84의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 2)

VL은, 서열번호 101의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 118의 아미노산 서열 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 135의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21449의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 MM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 LM을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 TBM을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁하며; 여기서, 1) VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 31의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 2) VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 32의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21449의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21449의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 기능을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 IgG4 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 IgG4 Fc 영역을 포함한다.

[0244] 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 IgG4 Fc 영역을 포함한다. 본 발명의 마스킹된 항체는 IgG4 Fc 영역 및 본원에 따른 CDR, VH, VL 및/또는 경쇄 서열의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG4 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 표 3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 표 3A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 28의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드

및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG4 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0245] 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 본 발명의 마스킹된 항체는 IgG1 Fc 영역 및 본원에 따른 CDR, VH, VL 및/또는 경쇄 서열의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 표 3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 표 3A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 28의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0246] 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 상기 IgG1 Fc 영역은 IgG1 Fc 영역을 갖는 항체에 원하는 특성을 부여하기 위해 당업계에 공지된 임의의 아미노산 치환을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 본 발명의 마스킹된 항체는 IgG1 Fc 영역을 포함할 수 있고, 상기 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환 및 본원에 따른 CDR, VH, VL 및/또는 경쇄 서열의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 표 3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 표 3A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최

대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 28의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0247] 또한, 본 발명에 의해 제공된 마스킹된 항체는 단클론성 또는 다클론성일 수 있다. 바람직한 실시예에서, 마스킹된 항체는 단클론성이다.

[0248] 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, 마스킹 모이어티(MM))는 표적(예를 들어, CD47))에 결합하기 위해 표적 결합 모이어티(TBM)를 방해하거나, 저지하거나, 이의 능력을 감소시키거나, 방지하거나, 억제하거나, 이와 경쟁한다. 일부 실시예에서, TBM에 결합하기 위한 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)의 해리 상수는 표적(예를 들어, CD47)에 대한 마스킹된 항체 또는 이의 일부(예를 들어, TBM)의 해리 상수보다 (예를 들어, 적어도 약 1.5배, 적어도 약 2배, 적어도 약 2.5배, 적어도 약 3배, 적어도 약 3.5배, 적어도 약 4배, 적어도 약 4.5배, 적어도 약 5배, 적어도 약 10배, 적어도 약 100배, 적어도 약 500배 등) 더 크다.

[0249] 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, 마스킹 모이어티(MM))는 측정 가능한 마스킹 효율을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹 효율은 표적에 대한 마스킹 펩티드를 포함하는 마스킹된 항체의 결합 친화도와 표적에 대한 마스킹 펩티드가 결여된 폴리펩티드의 결합 친화도의 차이(예를 들어, 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체와 비교하여 마스킹 펩티드를 포함하는 마스킹된 항체의 표적 항원(예를 들어, CD47)에 대한 친화도의 차이)에 의해 측정된다. 일부 실시예에서, 마스킹 효율은 마스킹 펩티드를 포함하는 마스킹된 항체의 EC_{50}을 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체의 EC_{50}으로 나눔으로써(예를 들어, ELISA에 의해 EC_{50}을 측정함; 예를 들어 구현예 5의 방법 참조) 측정될 수 있다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)는 표적 결합 모이어티(TBM)에 결합하고, 마스킹된 항체가 표적 항원(예를 들어, CD47)에 결합하는 것을 저지한다. 일부 실시예에서, 표적 결합 모이어티(TBM)에 대한 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)의 해리 상수는 표적 항원(예를 들어, CD47)에 대한 TBM의 해리 상수보다 크다. 해리 상수는 예를 들어 ELISA, 표면 플라스몬 공명 또는 생물층 간섭계(BLI) 또는 유세포 분석 등과 같은 기술을 통해 측정될 수 있다.

[0250] 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, 마스킹 모이어티(MM))는 미국 특허 제16/966,848호에 기술된 바와 같이 예를 들어 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정했을 때 적어도 약 2.0(예를 들어, 적어도 약 2.0, 적어도 약 3.0, 적어도 약 4.0, 적어도 약 5.0, 적어도 약 6.0, 적어도 약 7.0, 적어도 약 8.0, 적어도 약 9.0, 적어도 약 10, 적어도 약 25, 적어도 약 50, 적어도 약 75, 적어도 약 100, 적어도 약 150, 적어도 약 200, 적어도 약 300, 적어도 약 400, 적어도 약 500 등)의 마스킹 효율을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, 마스킹 모이어티(MM))는 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정했을 때 적어도 50의 마스킹 효율을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, 마스킹 모이어티(MM))는 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정했을 때 적어도 100의 마스킹 효율을 갖는다.

[0251] 일부 실시예에서, 동일한 TBM을 갖지만 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체와 비교하여, 마스킹 펩티드 및 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하는 마스킹된 항체는 시험관 내에서 적혈구(RBC)에 대한 결합이 감소한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드, VH 및 VL을 갖는 마스킹된 항체는 시험관 내에서 100 nM 초과(예를 들어, 약 110 nM, 약 120 nM, 약 130 nM, 약 140 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 EC_{50}으로 적혈구에 결합하고, 동일한 VH 및 VL을 갖고 마스킹 펩티드가 결여된 항체는 동일한 측정 조건 하에 시험관 내에서 10 nM 미만(예를 들어, 약 9 nM, 약 8 nM, 약 7 nM, 약 7 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 EC_{50}으로 적혈구에 결합한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드, VH 및 VL을 갖는 마스킹된 항체는 시험관 내에서 동일한

VH 및 VL을 갖고 마스킹 펩티드가 결여된 항체의 약 10배, 약 50배, 약 100배, 약 200배, 약 300배, 약 400배, 약 500배, 약 600배, 약 700배, 약 800배, 약 900배, 약 1000배, 약 1500배, 약 2000배 또는 약 2500배의 EC_{50}으로 적혈구에 결합한다.

[0252] 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 활성화 가능 항체가 아니다. 다른 실시예에서, 마스킹된 항체는 활성화 가능 항체이다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 활성화 가능 항체이고, 연결 모이어티(LM)는 절단 가능 모이어티(CM)를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹된 항체는 활성화 가능 항체이고, LM은 CM을 포함하며, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높다.

[0253] B-3. 활성화 가능 항체

[0254] 일부 측면에서, 본원은 CD47에 결합하는 활성화 가능 항체를 제공한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 절단 가능 모이어티(CM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결된다. 바람직한 실시예에서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높다. TBM은 본원에 따른 항-CD47 항체 또는 항원 결합 단편의 하나 이상의 서열을 포함할 수 있고, CDRs의 특정 아미노산 서열, 가변 영역(VL, VH) 및/또는 경쇄 및 중쇄(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG4)를 참조하여 설명된 상기 항체 또는 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시예에서, TBM은 본원에 따른 하나 이상의 항-CD47 항체의 전장 항체 경쇄 및/또는 전장 항체 중쇄를 포함한다.

[0255] 일부 실시예에서, 본 발명은 인간 CD47에 결합하는 활성화 가능 항체에 관한 것이며, 이는, (a) CM이 절단될 때보다 CM이 절단되지 않을 때 인간 CD47에 대한 결합에 대해 더 큰 K_D를 가짐; (b) CM이 절단될 때보다 CM이 절단되지 않을 때 인간 CD47에 대한 결합에 대한 반수 최대 유효 농도(EC_{50})가 더 높음; (c) CM이 절단될 때보다 CM이 절단되지 않을 때 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단하기 위한 반수 최대 억제 농도(IC_{50})가 더 높음; (d) CM이 절단될 때 활성화 가능 항체가 약 1 nM 이상의 농도로 제공되는 경우, 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 완전히 차단함; (e) CM이 절단될 때보다 CM이 절단되지 않을 때 시험관 내에서 종양 세포에 대한 결합에 대한 EC_{50}이 더 높음; (f) CM이 절단될 때보다 CM이 절단되지 않을 때 시험관 내에서 적혈구(RBC)에 대한 결합이 감소함; (g) CM이 절단될 때보다 CM이 절단되지 않을 때 시험관 내 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시키기 위한 EC_{50}이 더 높음; (h) CM이 절단될 때 500 nM 이하의 K_D로 인간 CD47에 결합함; (i) CM이 절단될 때 원숭이, 랫트 또는 개 CD47과 교차 반응함; (j) CM이 절단될 때 종양 세포 성장을 억제할 수 있음; (k) 암에 대해 하나 이상의 치료 효과가 있음; (l) CM이 절단될 때 CD47과 SIRP 단백질(예를 들어, SIRPα) 사이의 결합을 차단함; 및 (m) CM이 절단될 때 CD47을 발현하는 종양 세포에 대한 항체 의존성 세포독성(ADCC)을 유도함; 중 적어도 하나(예를 들어, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 또는 13개 모두)의 기능적 특성을 갖는다.

[0256] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함한다. 일부 실시예에서, TBM은 항체 경쇄 가변 영역 및/또는 항체 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, TBM은 항체 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, TBM은 항체 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, TBM은 항체 경쇄 가변 영역 및 항체 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 중쇄 가변 영역은 항체 경쇄 가변 영역의 C-말단이다. 일부 실시예에서, 상기 항체 경쇄 가변 영역은 항체 중쇄 가변 영역의 C-말단이다. 일부 실시예에서, 본 발명의 TBM은 CD47에 특이적인 항체 경쇄 가변 영역 및/또는 항체 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, TBM은 전장 항체 경쇄 및/또는 전장 항체 중쇄를 포함한다. 항체 경쇄는 κ 또는 λ 경쇄일 수 있다. 항체의 중쇄는 IgG, IgM, IgE, IgA 또는 IgD와 같은 임의의 클래스에 속할 수 있다. 일부 실시예에서, 항체 중쇄는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 서브클래스와 같은 IgG 클래스에 속한다. 당업계에 공지된 방법을 사용하여 항체 중쇄를 하나의 클래스 또는 서브클래스에서 다른 클래스 또는 서브클래스로 전환할 수 있다. 본원에 따른 임의의 하나 이상의 TBMs는 본원에 따른 임의의 항-CD47 항체의 임의의 CDR 서열(예를 들어, 1개, 2개 또는 3개 중쇄 가변 영역의 CDR 서열, 및/또는 1개, 2개 또는 3개 경쇄 가변 영역의 CDR 서열), 중쇄 가변 영역 서열 및/또는 본원의 경쇄 가변 영역 서열을 포함할 수 있다.

[0257] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VH(예를 들어, Fab 단편)를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 다른 실시예에

서, 활성화 가능 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VH를 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VL(예를 들어, Fab 단편)을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 다른 실시예에서, 활성화 가능 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드, VL 및 VH(예를 들어, scFv)를 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함한다. 또 다른 실시예에서, 활성화 가능 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드, VH 및 VL(예를 들어, scFv)을 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함한다.

[0258] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 N-말단에서 C-말단까지 MM 및 CM을 포함하는 마스킹 펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 식 (XVI)에 따른 아미노산 서열: X1X2X3X4X5X6CX7DDX8X9X10CX11X12(서열번호 197)을 포함하며, 여기서, X1은 D, H, N 또는 Y이고, X2는 A, D, F, P, T 또는 Y이며, X3은 A, L, N, P, T 또는 Y이고, X4는 A, D, H 또는 S이며, X5는 A, D, F, H 또는 N이고, X6은 D, S 또는 T이며, X7은 D, S 또는 Y이고, X8은 D, F 또는 Y이며, X9 및 X11은 각각 독립적으로 A, D 또는 Y이고, X10은 A, D, F 또는 P이며, X12는 D, F, I, T 또는 Y이다. 일부 실시예에서, MM은 식 (XVII)에 따른 아미노산 서열: X1X2X3X4X5DCPX6X7DX8X9CX10X11(서열번호 198)을 포함하며, 여기서, X1은 A, N 또는 P이고, X2는 A, N, P 또는 Q이며, X3은 A, D 또는 S이고, X4는 A, D, S 또는 V이며, X5는 D, F 또는 P이고, X6은 A, D 또는 T이며, X7은 A, H 또는 Y이고, X8은 A, D 또는 V이며, X9는 F 또는 Y이고, X10은 D, N, S 또는 Y이며, X11은 D, P 또는 V이다. 일부 실시예에서, MM은 식 (XVIII)에 따른 아미노산 서열: X1X2X3X4X5X6CDX7X8X9X10X11CX12A(서열번호 199)을 포함하며, 여기서, X1은 A 또는 L이고, X2는 A 또는 T이며, X3은 S 또는 V이고, X4는 D 또는 P이며, X5는 A 또는 Y이고, X6은 F 또는 T이며, X7은 D 또는 I이고, X8은 D 또는 T이며, X9는 L 또는 P이고, X10은 F 또는 L이며, X11은 F 또는 Y이고, X12는 N 또는 P이다. 다른 실시예에서, MM은 식 (XIX)에 따른 아미노산 서열: X1X2CX3X4X5X6X7X8X9FCX10X11(서열번호 200)을 포함하며, 여기서, X1은 D, F 또는 V이고, X2는 A, S 또는 Y이며, X3은 P, R 또는 T이고, X4는 A, G 또는 I이며, X5는 A, E 또는 F이고, X6은 A, D 또는 V이며, X7은 D 또는 V이고, X8은 D 또는 G이며, X9는 I 또는 P이고, X10은 I 또는 S이며, X11은 A, Q 또는 V이다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137 및 167-181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체의 MM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 MM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 MM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0259] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 N-말단에서 C-말단까지 MM 및 CM을 포함하는 마스킹 펩티드를 포함하고, 여기서, CM은 적어도 하나(예를 들어, 1개, 2개, 3개 또는 그 이상)의 절단 부위를 포함한다. 일부 실시예에서, 절단 부위는 프로테아제 절단 부위이다. 당업계에 공지된 임의의 프로테아제(예를 들어, CM을 포함하는 활성화 가능 항체의 표적과 동일 위치에 있는 것으로 알려진 프로테아제)에 의해 인식 및/또는 절단된 임의의 적합한 프로테아제 절단 부위를 사용할 수 있으며, 예를 들어, 우로키나아제형 플라스미노겐 활성화 인자(uPA), 매트릭스 메탈로프로테아제(예를 들어, MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-19, MMP-20, MMP-23, MMP-24, MMP-26, 및/또는 MMP-27), 담배 식각 바이러스(TEV) 프로테아제, 플라스민, 트롬빈, PSA, PSMA, ADAMS/ADAMTS(예를 들어, ADAM 8, ADAM 9, ADAM 10, ADAM 12, ADAM 15, ADAM 17/TACE, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS4, 및/또는 ADAMTS5), 카스파제(예를 들어, 카스파제-1, 카스파제-2, 카스파제-3, 카스파제-4, 카스파제-5, 카스파제-6, 카스파제-7, 카스파제-8, 카스파제-9, 카스파제-10, 카스파제-11, 카스파제-12, 카스파제-13, 및/또는 카스파제-14), 아스파르트산 프로테아제(예를 들어, RACE 및/또는 레닌(Renin)); 아스파르트산 카텝신(예를 들어, 카텝신 D 및/또는 카텝신 E), 시스테인 카텝신(예를 들어, 카텝신 B, 카텝신 C, 카텝신 K, 카텝신 L, 카텝신 S, 카텝신 V/L2, 및/또는 카텝신 X/Z/P), 시스테인 프로테아제(예를 들어, Cruzipain, Legumain 및/또는 Otubain-2), KLK(예를 들어, KLK4, KLK5, KLK6, KLK7, KLK8, KLK10, KLK11, KLK13, 및/또는 KLK14), 메탈로프로테아제(예를 들어, Meprin, 네프릴리신(Neprilysin), PSMA, 및/또는 BMP-1), 세린 프로테아제(예를 들어, 활성화된 단백질 C, 카텝신 A, 카텝신 G, 키마아제(Chymase), 및/또는 응고 인자 프로테아제(예를 들어, FVIIa, FIXa, Fxa, FXIa, FXIIa)), 엘라스타아제, 그랜자임 B, 구아니디노벤조아타제(guanidino-benzoatase), HtrA1, 인간 호중구 엘라스타아제, 락토페린(lactoferrin), marapsin, NS3/4A, PACE4, tPA, 트립타제(tryptase), II형 막횡단 세린 프로테아제(TTSP)(예를 들어, DESC1, DPP-4, FAP, 헵신(Hepsin), 매트립타제(Matriptase)-2, MT-SP1/매트립타제, TMPRSS2, TMPRSS3 및/또는 TMPRSS4) 등에 의해 인식 및/또는 절단된 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 일부 실시예에서, 하나 이상은 우로키나아제형 플라스미노겐 활성화 인자(uPA), 매트릭스 메탈로프로테아제-1(MMP-1), MMP-2, MMP-3, MMP-

8, MMP-9, MMP-14, 담배 식각 바이러스(TEV) 프로테아제, 플라스민, 트롬빈, 인자 X, PSA, PSMA, 카텝신 D, 카텝신 K, 카텝신 S, ADAM 10, ADAM 12, ADAMTS, 카스파제-1, 카스파제-2, 카스파제-3, 카스파제-4, 카스파제-5, 카스파제-6, 카스파제-7, 카스파제-8, 카스파제-9, 카스파제-10, 카스파제-11, 카스파제-12, 카스파제-13, 카스파제-14 및 TACE로부터 선택된 프로테아제의 절단 부위이다. 일부 실시예에서, CM은 MMP-9에 의해 절단되는 MMP-9의 절단 부위를 포함한다. 일부 실시예에서, CM은 서열번호 138의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 특정 실시예에서, CM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 CM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0260] 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 또한 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개 또는 다수)의 링커를 포함한다. 일부 실시예에서, CM은 또한 C-말단에서 절단 부위까지 또는 N-말단에서 절단 부위까지일 수 있는 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개 또는 다수)의 링커를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 또한 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개 또는 다수)의 링커를 포함한다. 예를 들어, 글리신 중합체(G)n(여기서 n은 1 이상(예를 들어, 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상 등)의 정수); 글리신-세린 중합체(GS)n(여기서 n은 1 이상(예를 들어, 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상 등)의 정수); 글리신-알라닌 중합체; 알라닌-세린 중합체; 등을 포함한 당업계에 공지된 임의의 적합한 링커(예를 들어, 유연한 링커)를 사용할 수 있다. 링커 서열은 약 1개의 아미노산(예를 들어글리신 또는 세린) 내지 약 20개의 아미노산(예를 들어, 20개의 아미노산의 글리신 중합체 또는 글리신-세린 중합체), 약 1개의 아미노산 내지 약 15개의 아미노산, 약 3개의 아미노산 내지 약 12개의 아미노산, 약 4개의 아미노산 내지 약 10개아미노산, 약 5개의 아미노산 내지 약 9개의 아미노산, 약 6개의 아미노산 내지 약 8개의 아미노산 등과 같은 임의의 길이일 수 있다. 일부 실시예에서, 링커의 길이는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산 중 어느 하나이다.

[0261] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 서열번호 139 및 152-166으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 마스킹 펩티드, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 서열번호 139의 아미노산 서열을 포함하는 마스킹 펩티드, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 표 5B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체의 마스킹 펩티드의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 표 5B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 마스킹 펩티드의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다.

[0262] 일부 실시예에서, 본원에 따른 마스킹 펩티드 중 어느 하나는 하나 이상의 추가 아미노산 서열(예를 들어, 하나 이상의 폴리펩티드 태그)을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 추가 아미노산 서열의 구현예는 정제 태그(예를 들어, his-태그, flag-태그, 말토스 결합 단백질 및 글루타티온-S-트랜스퍼라제 태그), 검출 태그(예를 들어, 광도계로 검출 가능한 태그(예를 들어, 적색 또는 녹색 형광 단백질 등)), 검출 가능한 효소 활성을 갖는 태그(예를 들어, 알칼리성 포스파타제 등), 분비 서열, 리더 서열 및/또는 안정화 서열을 포함하는 태그, 프로테아제 절단 부위(예를 들어, 푸린(furin) 절단 부위, TEV 절단 부위, 트롬빈 절단 부위) 등을 포함할 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 일부 실시예에서, 하나 이상의 추가 아미노산 서열은 마스킹 펩티드의 N-말단에 있다.

[0263] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 제1 폴리펩티드, 및 VH를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 제2 폴리펩티드는 Fc 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, Fc 영역은 IgG4 Fc 영역이다. 일부 실시예에서, Fc 영역은 IgG1 Fc 영역이다. 일부 실시예에서, Fc 영역은 IgG1 Fc 영역이고, 상기 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함하며, 여기서, Kabat에 따라 넘버링한다. 일부 실시예에서, Fc 영역은 IgG1 Fc 영역이고, 상기 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및 I332E 치환을 포함하며, 여기서, Kabat에 따라 넘버링한다. S239D 치환 및 I332E 치환을 포함하는 IgG1 Fc 영역은 Lazar et al.(Engineered antibody Fc variants with enhanced effector function." PNAS 103.11 (2006): 4005-4010)에 자세히 설명되어 있다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 190-196으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 182-189로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 변이체에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 191, 194 및/또는 195의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 182, 185 및/또는 188의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 31-85로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4

또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 86-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 변이체에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은, 서열번호 86-102로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 103-119로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 120-136으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는, 서열번호 35-51로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 52-68로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 69-85로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 표 3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 표 3A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 28의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0264] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 절단 가능 모이어티(CM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며; 여기서, 1) VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 2) VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 CM(적어도 하나의 절단 부위를 포함)을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하는 TBM을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능

항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며; 여기서, 1) VH는 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 CM(적어도 하나의 절단 부위를 포함)을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하는 TBM을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며; 여기서, 1) VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 2) VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 MM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, CM은 서열번호 138의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, CM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 CM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 표 5B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 마스킹 펩티드의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 CM(적어도 하나의 절단 부위를 포함)을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하는 TBM을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며; 여기서, 1) VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 2) VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 28의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 여기서, 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 148의 아미노산 서열, 또는 서열번호 148의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 여기서, 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 포함하며, 여기서, 제2 폴리펩티드는 서열번호 149의 아미노산 서열, 또는 서열번호 149의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY2689의 중쇄 및/또는 경쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY2689의 중쇄 또는 경쇄와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을

포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 여기서, 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 150의 아미노산 서열, 또는 서열번호 150의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 여기서, 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 포함하되, 제2 폴리펩티드는 서열번호 151의 아미노산 서열, 또는 서열번호 151의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 중쇄 및/또는 경쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 중쇄 또는 경쇄와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 기능을 갖는다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 IgG4 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 인간 IgG4 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 여기서, 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하되, 제1 폴리펩티드는 서열번호 142의 아미노산 서열, 또는 서열번호 142의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 여기서, 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG4 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 포함하되, 제2 폴리펩티드는 서열번호 143의 아미노산 서열, 또는 서열번호 143의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 중쇄 및/또는 경쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 중쇄 또는 경쇄와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0265] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 절단 가능 모이어티(CM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며; 여기서, 1) VH는, 서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 2) VL은, 서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 CM(적어도 하나의 절단 부위를 포함)을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하는 TBM을 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며; 여기서, 1) VH는 서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 CM(적어도 하나의 절단 부위를 포함)을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하는 TBM을 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며; 여기서, 1) VH는, 서열번호 49의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 66의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 83의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 2) VL은, 서열번호 100의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 117의 아미노산 서열 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산

치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 134의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21447의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 MM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, CM은 서열번호 138의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, CM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 CM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 표 5B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 마스킹 펩티드의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 CM(적어도 하나의 절단 부위를 포함)을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하는 TBM을 포함하며,여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며; 여기서, 1) VH는 서열번호 29의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 2) VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 30의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 가는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21447의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21447의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 기능을 갖는다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 IgG4 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 인간 IgG4 Fc 영역을 포함한다.

[0266] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 절단 가능 모이어티(CM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며; 여기서, 1) VH는, 서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 2) VL은, 서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 CM(적어도 하나의 절단 부위를 포함)을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하는 TBM을 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며; 여기서, 1) VH는 서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하고; 2) VL은 서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함

한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 CM(적어도 하나의 절단 부위를 포함)을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하는 TBM을 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며; 여기서, 1) VH는, 서열번호 50의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 67의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 84의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 2) VL은, 서열번호 101의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 118의 아미노산 서열 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 135의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표 3A-3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21449의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 서열번호 137의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, MM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 MM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, CM은 서열번호 138의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, CM은 표 5A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 CM의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 139의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드는 표 5B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 마스킹 펩티드의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 MM 및 CM(적어도 하나의 절단 부위를 포함)을 포함하는 마스킹 펩티드, 및 (b) VH 및 VL을 포함하는 TBM을 포함하며,여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고; 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며; 여기서, 1) VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 31의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 2) VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 32의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21449의 VH 및/또는 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21449의 VH 또는 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 기능을 갖는다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 IgG4 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 인간 IgG4 Fc 영역을 포함한다.

[0267] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 인간 IgG4 Fc 영역을 포함한다. 본 발명의 활성화 가능 항체는 IgG4 Fc 영역 및 본원에 따른 CDR, VH, VL 및/또는 경쇄 서열의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG4 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의

변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 표 3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 표 3A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 28의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG4 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 서열번호 142의 아미노산 서열, 또는 서열번호 142의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드는 서열번호 143의 아미노산 서열, 또는 서열번호 143의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 중쇄 및/또는 경쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 중쇄 또는 경쇄와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0268] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 본 발명의 활성화 가능 항체는 IgG1 Fc 영역 및 본원에 따른 CDR, VH, VL 및/또는 경쇄 서열의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 표 3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 표 3A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 28의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간

IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 서열번호 148의 아미노산 서열, 또는 서열번호 148의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드는 서열번호 149의 아미노산 서열, 또는 서열번호 149의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 중쇄 및/또는 경쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 중쇄 또는 경쇄와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0269] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 상기 IgG1 Fc 영역은 IgG1 Fc 영역을 갖는 항체에 원하는 특성을 부여하기 위해 당업계에 공지된 임의의 아미노산 치환을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환(예를 들어, S239D 치환 및 I332E 치환)을 포함한다. 본 발명의 활성화 가능 항체는 IgG1 Fc 영역을 포함할 수 있고, 상기 영역은 S239D 치환 및/또는 I332E 치환 및 본원에 따른 CDR, VH, VL 및/또는 경쇄 서열의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 VL을 포함하는 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시예에서, a) 제1 폴리펩티드의 VL은, 서열번호 99의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 116의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 133의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 b) 제2 폴리펩티드의 VH는, 서열번호 48의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 서열번호 65의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및/또는 서열번호 82의 아미노산 서열, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 표 3B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 표 3A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개 또는 3개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드의 VL은 서열번호 28의 아미노산 서열, 또는 서열번호 28의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드의 VH는 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VL과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH, 또는 표 4A에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 VH과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 마스킹 펩티드 및 VL을 포함하는 경쇄를 포함하고, 및/또는 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단까지 VH 및 S239D 치환 및/또는 I332E 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시예에서, 제1 폴리펩티드는 서열번호 150의 아미노산 서열, 또는 서열번호 150의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 제2 폴리펩티드는 서열번호 151의 아미노산 서열, 또는 서열번호 151의 아미노산 서열과 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 중쇄 및/또는 경쇄, 또는 표 6에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 중쇄 또는 경쇄와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0270] 또한, 본 발명에 의해 제공된 활성화 가능 항체는 단클론성 또는 다클론성일 수 있다. 바람직한 실시예에서, 활

성화 가능 항체는 단클론성이다.

[0271] 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, 마스킹 모이어티(MM))는 표적(예를 들어, CD47))에 결합하기 위해 표적 결합 모이어티(TBM)를 방해하거나, 저지하거나, 이의 능력을 감소시키거나, 방지하거나, 억제하거나, 이와 경쟁한다. 일부 실시예에서, 폴리펩티드가 활성화되지 않은 경우에만(예를 들어, pH 변화(증가 또는 감소)에 의해 활성화됨, 온도 변화(증가 또는 감소)에 의해 활성화됨, 제2 분자(예를 들어, 소분자 또는 단백질 리간드)와 접촉한 후 활성화됨 등), 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)는 표적에 결합하기 위해 TBM을 방해하거나, 저지하거나, 감소시키거나, 방지하거나, 억제하거나, 이와 경쟁한다. 일부 실시예에서, 폴리펩티드가 활성화된 경우에만(예를 들어, 절단 가능 모이어티(CM)에 의해 절단될 수 있는 하나 이상의 프로테아제의 투여에 의해 활성화됨, pH 변화(증가 또는 감소)에 의해 활성화됨, 온도 변화(증가 또는 감소)에 의해 활성화됨, 제2 분자(예를 들어, 효소)와 접촉한 후 활성화됨 등), 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)는 표적(예를 들어, CD47))에 결합하기 위해 표적 결합 모이어티(TBM)를 방해하지 않거나, 표적 결합 모이어티의 능력을 감소시키지 않거나, 저지하지 않거나, 방지하지 않거나, 억제하지 않거나, 이와 경쟁하지 않는다. 일부 실시예에서, CM이 CM 내에서 절단되는 하나 이상의 프로테아제에 의해 절단된 후, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)는 표적에 결합하기 위해 TBM을 방해하지 않거나, 표적 결합 모이어티의 능력을 감소시키지 않거나, 저지하지 않거나, 방지하지 않거나, 억제하지 않거나, 이와 경쟁하지 않는다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)는 활성화되기 전(예를 들어, 절단 가능 모이어티(CM)에 의해 절단되는 하나 이상의 프로테아제를 투여하기 전, pH가 (국소적으로) 변화(증가 또는 감소)되기 전, 온도가 변화(증가 또는 감소)되기 전, 제2 분자(예를 들어, 소분자 또는 단백질 리간드)와 접촉하기 전 등)에 TBM에 결합하고 TBM과 표적(예를 들어, CD47)의 결합을 억제하지만, 활성화된 후(예를 들어, 절단 가능 모이어티(CM)에 의해 절단되는 하나 이상의 프로테아제를 투여한 후, pH가 (국소적으로) 변화(증가 또는 감소)된 후, 온도가 변화(증가 또는 감소)된 후, 제2 분자(예를 들어, 소분자 또는 단백질 리간드)와 접촉한 후 등)에 TBM에 결합하지 않고 및/또는 폴리펩티드와 표적(예를 들어, CD47)의 결합을 억제한다. 일부 실시예에서, 활성화는 CM 내에서 폴리펩티드의 절단을 유도한다. 일부 실시예에서, 활성화는 폴리펩티드의 형태 변화(예를 들어, MM 또는 마스킹 펩티드의 치환)를 유도하여, 마스킹 펩티드가 활성화 가능 항체가 표적(예를 들어, CD47)에 결합하는 것을 더 이상 저지하지 않게 한다. 일부 실시예에서, CM이 CM 내에서 절단되는 하나 이상의 프로테아제에 의해 절단되는 않는 경우에만, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)는 표적(예를 들어, CD47))에 결합하기 위해 TBM을 방해하거나, 저지하거나, 이의 능력을 감소시키거나, 방지하거나, 억제하거나, 이와 경쟁한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)는 활성화 가능 항체와 표적(예를 들어, CD47)의 결합을 억제하지만, CM이 절단될 때, 활성화 가능 항체와 표적(예를 들어, CD47)의 결합을 억제하지 않는다.

[0272] 일부 실시예에서, 표적 결합 모이어티(TBM)에 결합하기 위한 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)의 해리 상수는 표적(예를 들어, CD47)에 대한 활성화 가능 항체 또는 이의 일부(예를 들어, TBM)의 해리 상수 보다 (예를 들어, 적어도 약 1.5배, 적어도 약 2배, 적어도 약 2.5배, 적어도 약 3배, 적어도 약 3.5배, 적어도 약 4배, 적어도 약 4.5배, 적어도 약 5배, 적어도 약 10배, 적어도 약 100배, 적어도 약 500배 이상, 등) 더 크다.

[0273] 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, 마스킹 모이어티(MM))는 측정 가능한 마스킹 효율을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹 효율은 표적에 대한 마스킹 펩티드를 포함하는 활성화 가능 항체(활성화 전)의 결합 친화도와 표적에 대한 마스킹 펩티드가 결여된 폴리펩티드의 결합 친화도의 차이(예를 들어, 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체와 비교하여 마스킹 펩티드를 포함하는 활성화 가능 항체의 표적 항원(예를 들어, CD47)에 대한 친화도 차이, 또는 활성화 후 활성화 가능 항체와 비교하여 마스킹 펩티드를 포함하는 활성화 가능 항체(활성화 전)의 표적 항원에 대한 친화도 차이)에 의해 측정된다. 일부 실시예에서, 마스킹 효율은 마스킹 펩티드(활성화 전)를 포함하는 활성화 가능 항체의 EC_{50}을 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체의 EC_{50}으로 나눔으로써(예를 들어, ELISA에 의해 EC_{50}을 측정함; 예를 들어 구현예 5의 방법 참조) 측정될 수 있다. 일부 실시예에서, 마스킹 효율은 활성화 전에 표적에 대한 마스킹 펩티드를 포함하는 활성화 가능 항체의 결합 친화도와 활성화 후 표적에 대한 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)를 포함하는 활성화 가능 항체의 결합 친화도의 차이(예를 들어, 활성화 후 활성화 가능 항체와 비교하여 활성화 전 활성화 가능 항체의 표적 항원(예를 들어, CD47)에 대한 친화도의 차이)에 의해 측정될 수 있다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, MM)는 표적 결합 모이어티(TBM)에 결합하고, 활성화 가능 항체가 표적 항원(예를 들어, CD47)에 결합하는 것을 저지한다. 일부 실시예에서, 표적 결합 모이어티(TBM)에 대한 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들

어, MM)의 해리 상수는 표적 항원(예를 들어, CD47)에 대한 TBM의 해리 상수보다 크다. 해리 상수는 예를 들어 ELISA, 표면 플라스몬 공명 또는 생물층 간섭계(BLI) 또는 유세포 분석 등과 같은 기술을 통해 측정될 수 있다.

[0274] 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, 마스킹 모이어티(MM))는 미국 특허 제16/966,848호에 기술된 바와 같이 예를 들어 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정했을 때 적어도 약 2.0(예를 들어, 적어도 약 2.0, 적어도 약 3.0, 적어도 약 4.0, 적어도 약 5.0, 적어도 약 6.0, 적어도 약 7.0, 적어도 약 8.0, 적어도 약 9.0, 적어도 약 10, 적어도 약 25, 적어도 약 50, 적어도 약 75, 적어도 약 100, 적어도 약 150, 적어도 약 200, 적어도 약 300, 적어도 약 400, 적어도 약 500 등)의 마스킹 효율을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, 마스킹 모이어티(MM))는 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정했을 때 적어도 약 50의 마스킹 효율을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, 마스킹 모이어티(MM))는 Jurkat NFAT 리포터 분석으로 측정했을 때 적어도 약 100의 마스킹 효율을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, 마스킹 모이어티(MM))는 활성화 전에 적어도 약 2.0(예를 들어, 적어도 약 2.0, 적어도 약 3.0, 적어도 약 4.0, 적어도 약 5.0, 적어도 약 6.0, 적어도 약 7.0, 적어도 약 8.0, 적어도 약 9.0, 적어도 약 10, 적어도 약 25, 적어도 약 50, 적어도 약 75, 적어도 약 100, 적어도 약 150, 적어도 약 200, 적어도 약 300, 적어도 약 400, 적어도 약 500 등)의 마스킹 효율을 갖는다. 일부 실시예에서, 마스킹 펩티드 또는 이의 일부(예를 들어, 마스킹 모이어티(MM))는 활성화 후(모 항체의 친화도와 비교하여 활성화 후 활성화 가능 항체의 상대적 친화도) 최대 약 1.75(예를 들어, 최대 약 1.75, 최대 약 1.5, 최대 약 1.4, 최대 약 1.3, 최대 약 1.2, 최대 약 1.1, 최대 약 1.0, 최대 약 0.9, 최대 약 0.8, 최대 약 0.7, 최대 약 0.6, 최대 약 0.5 등)의 마스킹 효율을 갖는다.

[0275] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 CM이 절단될 때보다 CM이 절단되지 않을 때 CD47(예를 들어, 인간 CD47)에 대한 결합에 대해 더 큰 K_D를 갖는다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 50 nM 초과(예를 들어, 약 60 nM, 약 70 nM, 약 80 nM, 약 90 nM, 약 100 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 K_D로 인간 CD47에 결합하고, 및/또는 CM이 절단될 때, 50 nM 미만(예를 들어, 약 40 nM, 약 30 nM, 약 20 nM, 약 10 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM, 또는 그 이하)의 K_D로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 50 nM 초과(예를 들어, 약 60 nM, 약 70 nM, 약 80 nM, 약 90 nM, 약 100 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 K_D로 인간 CD47에 결합하고, 및/또는 CM이 절단될 때, 10 nM 미만(예를 들어, 약 9 nM, 약 8 nM, 약 7 nM, 약 7 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM, 또는 그 이하)의 K_D로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 100 nM 초과(예를 들어, 약 110 nM, 약 120 nM, 약 130 nM, 약 140 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 K_D로 인간 CD47에 결합하고, 및/또는 CM이 절단될 때, 10 nM 미만(예를 들어, 약 9 nM, 약 8 nM, 약 7 nM, 약 7 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 K_D로 인간 CD47에 결합한다.

[0276] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 CM이 절단될 때보다 CM이 절단되지 않을 때 CD47(예를 들어, 인간 CD47)에 대한 결합에 대한 반수 최대 유효 농도(EC_{50})가 더 높다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 50 nM 초과(예를 들어, 약 60 nM, 약 70 nM, 약 80 nM, 약 90 nM, 약 100 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 EC_{50}으로 인간 CD47에 결합하고, 및/또는 CM이 절단될 때, 시험관 내에서 50 nM 미만(예를 들어, 약 40 nM, 약 30 nM, 약 20 nM, 약 10 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 EC_{50}으로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 50 nM 초과(예를 들어, 약 60 nM, 약 70 nM, 약 80 nM, 약 90 nM, 약 100 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 EC_{50}으로 인간 CD47에 결합하고, 및/또는 CM이 절단될 때, 시험관 내에서 10 nM 미만(예를 들어, 약 9 nM, 약 8 nM, 약 7 nM, 약 7 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 EC_{50}으로 인간 CD47에 결합한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 100 nM 초과(예를 들어, 약 110 nM, 약 120 nM, 약 130 nM, 약 140 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM,

약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 EC_{50}으로 인간 CD47에 결합하고, 및/또는 CM이 절단될 때, 시험관 내에서 10 nM 미만(예를 들어, 약 9 nM, 약 8 nM, 약 7 nM, 약 7 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 EC_{50}으로 인간 CD47에 결합한다.

[0277] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 CM이 절단될 때보다 CM이 절단되지 않을 때 시험관 내에서 CD47(예를 들어, 인간 CD47)과 SIRPα(예를 들어, 인간 SIRPα) 사이의 결합을 차단하기 위한 반수 최대 억제 농도(IC_{50})가 더 높다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 시험과 내에서 50 nM 초과(예를 들어, 약 60 nM, 약 70 nM, 약 80 nM, 약 90 nM, 약 100 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 IC_{50}으로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단하고, 및/또는 CM이 절단될 때, 시험관 내에서 50 nM 미만(예를 들어, 약 40 nM, 약 30 nM, 약 20 nM, 약 10 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 IC_{50}으로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 시험과 내에서 50 nM 초과(예를 들어, CM이 절단되지 않을 때, 약 60 nM, 약 70 nM, 약 80 nM, 약 90 nM, 약 100 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 IC_{50}으로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단하고, 및/또는 CM이 절단될 때, 시험관 내에서 10 nM 미만(예를 들어, 약 9 nM, 약 8 nM, 약 7 nM, 약 7 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 IC_{50}으로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 100 nM 초과(예를 들어, 약 110 nM, 약 120 nM, 약 130 nM, 약 140 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 IC_{50}으로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단하고, 및/또는 CM이 절단될 때, 시험관 내에서 10 nM 미만(예를 들어, 약 9 nM, 약 8 nM, 약 7 nM, 약 7 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 IC_{50}으로 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 차단한다.

[0278] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체가 약 1 nM 이상(예를 들어, 약 1 nM 이상, 약 5 nM 이상, 약 10 nM 이상, 약 20 nM 이상, 약 40 nM 이상, 약 60 nM 이상, 약 80 nM 이상, 약 100 nM 이상, 약 200 nM 이상, 약 400 nM 이상, 약 600 nM 이상, 약 800 nM 이상, 약 1 μM 이상, 약 2 μM 이상, 약 4 μM 이상, 약 6 μM 이상, 약 8 μM 이상, 약 10 μM 이상, 약 20 μM 이상, 약 40 μM 이상, 약 60 μM 이상, 약 80 μM 이상, 약 100 μM 이상 등)의 농도로 제공되고 CM이 절단될 때, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 완전히 차단한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체가 약 1 μM 이상의 농도도 제공되고 CM이 절단될 때, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 인간 CD47과 인간 SIRPα 사이의 결합을 완전히 차단한다.

[0279] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 CM이 절단될 때보다 CM이 절단되지 않을 때 시험관 내에서 종양 세포에 대한 결합에 대한 반수 최대 유효 농도(EC_{50})가 더 높다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 10 nM 초과(예를 들어, 약 15 nM, 약 20 nM, 약 30 nM, 약 40 nM, 약 50 nM, 약 100 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 EC_{50}으로 종양 세포에 결합하고, 및/또는 CM이 절단될 때 시험관 내에서 10 nM 미만(예를 들어, 약 9 nM, 약 8 nM, 약 7 nM, 약 7 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 EC_{50}으로 종양 세포에 결합한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 10 nM 초과(예를 들어, 약 15 nM, 약 20 nM, 약 30 nM, 약 40 nM, 약 50 nM, 약 100 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 EC_{50}으로 종양 세포에 결합하고, 및/또는 CM이 절단될 때 시험관 내에서 1 nM 미만(예를 들어, 약 0.9 nM, 약 0.8 nM, 약 0.7 nM, 약 0.6 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 EC_{50}으로 종양 세포에 결합한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 50 nM 초과(예를 들어, 약 60 nM, 약 70 nM, 약 80 nM, 약 90 nM, 약 100 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 EC_{50}으로 종양 세포에 결합하고, 및/또는 CM이 절단될 때 시험관 내에서 1 nM 미만(예를 들어, 약 0.9 nM, 약 0.8 nM, 약 0.7 nM, 약 0.6 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 EC_{50}으로 종양 세포에 결합한다. 일부 실시예에서, 종양 세포는 B 세포 림프종 세포주(예를 들어, Raji 세포주)를 포함한다.

추가 실시예에서, 상기 종양 세포는 T 세포 림프종 세포주(예를 들어, CEM 세포주)를 포함한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 10 nM 초과의 EC_{50}으로 B 세포 림프종 세포주(예를 들어, Raji 세포주)를 포함하는 종양 세포에 결합하고, 및/또는 CM이 절단될 때 시험관 내에서 1 nM 미만의 EC_{50}으로 B 세포 림프종 세포주를 포함하는 종양 세포(예를 들어, Raji 세포주)에 결합한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 50 nM 초과의 EC_{50}으로 T 세포 림프종 세포주(예를 들어, CEM 세포주)를 포함하는 종양 세포에 결합하고, 및/또는 CM이 절단될 때 시험관 내에서 1 nM 미만의 EC_{50}으로 T 세포 림프종 세포주(예를 들어, CEM 세포주)를 포함하는 종양 세포에 결합한다.

[0280] 일부 실시예에서, 동일한 TBM을 갖지만 마스킹 펩티드가 결여된 모 항체와 비교하여, 마스킹 펩티드 및 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하는 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 적혈구(RBC)에 대한 결합이 감소한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 동일한 TBM(예를 들어, 동일한 VH 및 VL)을 갖지만 마스킹 펩티드가 결여된 항체와 비교하여, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 적혈구에 대한 결합에 대해 반수 최대 유효 농도(EC_{50})가 더 높다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 마스킹 펩티드, VH 및 VL을 갖는 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 100 nM 초과(예를 들어, 약 110 nM, 약 120 nM, 약 130 nM, 약 140 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 EC_{50}으로 적혈구에 결합하고, 동일한 VH 및 VL을 갖고 마스킹 펩티드가 결여된 항체는 동일한 측정 조건 하에 시험관 내에서 10 nM 미만(예를 들어, 약 9 nM, 약 8 nM, 약 7 nM, 약 7 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 EC_{50}으로 적혈구에 결합한다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 마스킹 펩티드, VH 및 VL을 갖는 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 동일한 VH 및 VL을 갖고 마스킹 펩티드가 결여된 항체의 약 10배, 약 50배, 약 100배, 약 200배, 약 300배, 약 400배, 약 500배, 약 600배, 약 700배, 약 800배, 약 900배, 약 1000배, 약 1500배, 약 2000배 또는 약 2500배의 EC_{50}으로 적혈구에 결합한다.

[0281] 일부 실시예에서, 동일한 활성화 가능 항체는 절단 가능 모이어티(CM)가 절단될 때보다 절단되지 않을 때 시험관 내에서 적혈구에 대한 결합이 감소한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 CM이 절단될 때보다 CM이 절단되지 않을 때 시험관 내에서 적혈구에 대한 결합에 대해 반수 최대 유효 농도(EC_{50})가 더 높다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 100 nM 초과(예를 들어, 약 110 nM, 약 120 nM, 약 130 nM, 약 140 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 EC_{50}으로 적혈구에 결합하고, 및/또는 CM이 절단될 때, 시험관 내에서 50 nM 미만(예를 들어, 약 40 nM, 약 30 nM, 약 20 nM, 약 10 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 EC_{50}으로 적혈구에 결합한다. 일부 실시예에서, 약 1 mM 이하(예를 들어, 약 1 mM 이하, 약 0.5 mM 이하, 약 0.1 mM 이하, 약 50 μM 이하, 약 10 μM 이하, 약 5 μM 이하, 약 4 μM 이하, 약 3 μM 이하, 약 2 μM 이하, 약 1 μM 이하, 약 500 μM 이하, 약 100 μM 이하, 또는 약 50 μM 또는 그 이하)의 농도로 제공되는 경우, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 RBCs 응집을 유도하지 않는다.

[0282] 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 CM이 절단될 때보다 CM이 절단되지 않을 때 시험관 내에서 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시키기 위한 반수 최대 유효 농도(EC_{50})가 더 높다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 20 nM 초과(예를 들어, 약 20 nM, 약 30 nM, 약 40 nM, 약 50 nM, 약 60 nM, 약 70 nM, 약 80 nM, 약 90 nM, 약 100 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 EC_{50}으로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시키고, 및/또는 CM이 절단될 때 시험관 내에서 20 nM 미만(예를 들어, 약 15 nM, 약 10 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 반수 최대 유효 농도(EC_{50})로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시킨다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 20 nM 초과(예를 들어, 약 20 nM, 약 30 nM, 약 40 nM, 약 50 nM, 약 60 nM, 약 70 nM, 약 80 nM, 약 90 nM, 약 100 nM, 약 150 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μM 또는 그 이상)의 EC_{50}으로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시키고, 및/또는 CM이 절단될 때 시험관 내에서 10 nM 미만(예를 들어, 약 9 nM, 약 8 nM, 약 7 nM, 약 7 nM, 약 5 nM, 약 4 nM, 약 3 nM, 약 2 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.4 nM, 약 0.3 nM, 약 0.2 nM, 약 0.1 nM 또는 그 이하)의 EC_{50}으로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시킨다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 약 20 nM 이상의 EC_{50}으로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시키고; 및/또는 CM

이 절단될 때 시험관 내에서 약 1 nM 이하의 EC_{50}으로 종양 세포의 대식세포 식균작용을 증가시킨다. 일부 실시예에서, CM이 절단되지 않을 때, 활성화 가능 항체를 약 1 μM 이상의 농도로 제공하여 시험관 내 종양 세포의 최대 대식세포 식균작용을 약 20% 이하(예를 들어, 약 20%, 약 19%, 약 18%, 약 17%, 약 16%, 약 15%, 약 10%, 약 5% 또는 그 이하) 발생시키고, 및/또는 CM이 절단될 때, 시험관 내 종양 세포의 최대 대식세포 식균작용약 50% 이상(예를 들어, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95% 또는 그 이상) 발생시킨다.

[0283] B-4. 항원 결합 단편

[0284] 다른 일부 측면에서, 본 발명은 본원에 따른 CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 중 어느 하나의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0285] 항원 결합 단편은 본원에 따른 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 중 어느 하나의 임의의 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 항원 결합 단편은, (1) CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 경쇄; (2) CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 중쇄; (3) CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 경쇄로부터의 가변 영역; (4) CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 중쇄로부터의 가변 영역; (5) CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 하나 이상의 CDRs(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDRs); 또는 (6) CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 경쇄로부터의 3개의 CDRs 및 CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 중쇄로부터의 3개의 CDRs; 또는 (7) CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 표적 결합 모이어티(TBM) 등의 아미노산 서열을 포함한다.

[0286] 일부 특정 실시예에서, 본 발명은 표 3A-6에 나열된 것들로부터 선택된 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0287] 일부 실시예에서, CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 항원 결합 단편은, (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 구성된 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 이황화 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 $F(ab')_2$ 단편; (iii) VH 및 CH1 도메인으로 구성된 Fd 단편; (iv) 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 단일 팔의 VL 및 VH 도메인으로 구성된 Fv 단편; (v) VH 도메인으로 구성된 dAb 단편(Ward et al., (1989) Nature 341:544-546); (vi) 단리된 CDR, 및 (vii) 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 VH 영역에 연결된 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 VL 영역을 포함하는 폴리펩티드인 단일 사슬 항체(scFv)(예를 들어, Bird et al.(1988) Science 242:423-426; Huston et al.(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 참조)를 포함한다.

[0288] B-5. 예시적인 항-CD47 항체, 마스킹된 항체 및 항원 결합 단편

[0289] 본원은 표 3A-6에 나타낸 바와 같은 CD47(예를 들어, 인간 CD47)을 표적으로 하는 예시적인 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체를 포함) 및 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0290] 표 3A. 예시적인 항-CD47 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 및 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 상보성 결정 영역(VH-CDRs) 서열.

예시적인 항체	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
TY25029	NYWIH (서열번호 35)	IIYPSSGSTKYAQKFQG (서열번호 52)	DRAPGSSGYYDGFDY (서열번호 69)
TY25030	SGYYWS (서열번호 36)	EIYHSGNTYYNPSLKS (서열번호 53)	RVPLGAFDY (서열번호 70)
TY25031	SGYHWG (서열번호 37)	RIYPSSGSTKYAQKFQG (서열번호 54)	GVRGSYGWFDV (서열번호 71)
TY25032	SYGIH (서열번호 38)	AISGSGGSTYYADSVKG (서열번호 55)	SGHAYDFDY (서열번호 72)
TY25033	SYAIH (서열번호 39)	IINPNFGSTNYAQKFQG (서열번호 56)	YYYGASFDV (서열번호 73)
TY25034	SGHYWN (서열번호 40)	IISPSGGGTKYAQKFQG (서열번호 57)	GARGYYALDY (서열번호 74)
TY25035	SGYHWD (서열번호 41)	RIYWDGDKRYSPSLKS (서열번호 58)	FSDGFDP (서열번호 75)
TY25036	GYAIH (서열번호 42)	WISPSSGSTKYAQKFQG (서열번호 59)	YGYGPVFDY (서열번호 76)
TY25037	SGHYWT (서열번호 43)	GIIPVFGTPNYAQKFQG (서열번호 60)	YGYGGAYFDV (서열번호 77)
TY25038	RYAIH (서열번호 44)	GIIPVFGTANYAQKFQG (서열번호 61)	QGILGGFAY (서열번호 78)
TY25039	SGYYWG (서열번호 45)	AISYSGSTYYSPSLKS (서열번호 62)	HYLFAGSTSYDAFDI (서열번호 79)
TY25040	DYGIH (서열번호 46)	RIYPSGGSTNYAQKFQG (서열번호 63)	QRGYGRFAY (서열번호 80)
TY25041	SGHHWN (서열번호 47)	AISYSGSTYYSPSLKS (서열번호 64)	QGYYGGEGYAVDY (서열번호 81)
TY21446	NYAIH (서열번호 48)	AISGSGSSTYYADSVKG (서열번호 65)	RGSYGFGAFDY (서열번호 82)
TY21447	NYAIH (서열번호 49)	AISGSGSSTYYADSVKG (서열번호 66)	RGSYGFGAFDY (서열번호 83)
TY21449	GYAIH (서열번호 50)	AISGSGSSTYYADSVKG (서열번호 67)	RGSYGFGAFDY (서열번호 84)
TY21451	DYWIH (서열번호 51)	GISGAGGSTYYADSVKG (서열번호 68)	LGDY (서열번호 85)

[0291]

[0292] 표 3B. 예시적인 항-CD47 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 및 항원 결합 단편의 경쇄 가변 영역 상보성 결정 영역(VL-CDRs) 서열.

예시적인 항체	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
TY25029	RASQSVDFHGISFLH (서열번호 86)	DASSLES (서열번호 103)	HQRSTTPLT (서열번호 120)
TY25030	RASQTVISRYLA (서열번호 87)	DASNLET (서열번호 104)	QQYYAWPLT (서열번호 121)
TY25031	SASSRVSYVY (서열번호 88)	AASTLQS (서열번호 105)	QHYVSSPRVYT (서열번호 122)
TY25032	RASQSVDFYGISFLD (서열번호 89)	AASTLQS (서열번호 106)	QQGGTSPWT (서열번호 123)
TY25033	KSGQSLLHGDVKTYLY (서열번호 90)	DASNRAT (서열번호 107)	QQYASWPPGFT (서열번호 124)
TY25034	RASQSVRGRLLA (서열번호 91)	AASSLQS (서열번호 108)	AQYLELPYT (서열번호 125)
TY25035	RASQSVDFVGISFLH (서열번호 92)	DASNRAT (서열번호 109)	VQGLQWPHT (서열번호 126)
TY25036	SASSSVTYIY (서열번호 93)	DASNRAT (서열번호 110)	QQYTSSPRGFT (서열번호 127)
TY25037	RASQSVDFHGISFLH (서열번호 94)	DASNRAT (서열번호 111)	VQGIQWPWT (서열번호 128)
TY25038	RASESVDFHGKSFLA (서열번호 95)	AASSLQS (서열번호 112)	QQYLELPFT (서열번호 129)
TY25039	RASQSVDFYGFSFLA (서열번호 96)	DASNRAT (서열번호 113)	QQSYRTPLT (서열번호 130)
TY25040	SASSSVGYVY (서열번호 97)	DASSLES (서열번호 114)	QQYTYAPFT (서열번호 131)
TY25041	RASQSVDFYGISFLH (서열번호 98)	DASNRAT (서열번호 115)	VQATQTPFT (서열번호 132)
TY21446	RASQTIGRYLN (서열번호 99)	DASNRAT (서열번호 116)	QQRYPWPYT (서열번호 133)
TY21447	RASQTIGRYLN (서열번호 100)	DASNRAT (서열번호 117)	QQRYPWPYT (서열번호 134)
TY21449	RASQTIGRYLN (서열번호 101)	DASNRAT (서열번호 118)	QQRYPWPYT (서열번호 135)
TY21451	RASQGISSVLA (서열번호 102)	AASTLQS (서열번호 119)	QQYYSIPFT (서열번호 136)

[0293]

[0294] 표 4A. 예시적인 항-CD47 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 및 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL) 서열.

[0295]

SEQ ID NO	예시적인 항체 및 영역	아미노산 서열
서열번호 1	TY25029-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSNYWIHWVRQAPGKGLEWIGII YPSSGSTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARDRAP GSSGYYDGFDYWGQGTLVTVSS
서열번호 2	TY25029-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAPKLL IYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQRSTTPLTF GQGTKVEIKR
서열번호 3	TY25030-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGYYWSWIRQAPGKGLEWIGE IYHSGNTYYNPSLKSRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARRVPL GAFDYWGQGTLVTVSS
서열번호 4	TY25030-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTVISRYLAWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYAWPLTFGQG TKVEIKR
서열번호 5	TY25031-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGYHWGWIRQAPGKGLEWIGR IYPSSGSTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARGVR GSYGWFDVWGQGTLVTVSS
서열번호 6	TY25031-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSRVSYVYWYQQKPGKAPKLLIYAAS TLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYVSSPRVYTFGQG TKVEIKR
서열번호 7	TY25032-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYGIHWVRQAPGKGLEWVSAI SGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARSGHA YDFDYWGQGTLVTVSS
서열번호 8	TY25032-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGISFLDWYQQKPGKAPKLL IYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGGTSPWTF AQGTKVEIKR
서열번호 9	TY25033-VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFTSYAIHWVRQAPGQGLEWIGII NPNFGSTNYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYYYG ASFDVWGQGTLVTVSS
서열번호 10	TY25033-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKSGQSLLHGDVKTYLYWYQQKPGKAPKL LIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYASWPPG FTFGQGTKVEIKR
서열번호 11	TY25034-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGHYWNWIRQAPGKGLEWIGI ISPSGGGTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARGAR

[0296]

SEQ ID NO	예시적인 항체 및 영역	아미노산 서열
		GYYALDYWGQGTLVTVSS
서열번호 12	TY25034-VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRGRLLAWYQQKPGQAPRLLIYA ASSLQSGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCAQYLELPYTFGQG TKVEIKR
서열번호 13	TY25035-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYHWDWIRQAPGKGLEWLAR IYWDGDKRYSPSLKSRLTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARFSDG FDPWGQGTLVTVSS
서열번호 14	TY25035-VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDFVGISFLHWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCVQGLQWPHTF GQGTKVEIKR
서열번호 15	TY25036-VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTGYAIHWVRQAPGQGLEWIGWI SPSSGSTKYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYGYG PVFDYWGQGTLVTVSS
서열번호 16	TY25036-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVTYIYWYQQKPGKAPKLLIYDAS NRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYTSSPRGFTFGQG TKVEIKR
서열번호 17	TY25037-VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYSITSGHYWTWIRQAPGQGLEWIGG IIPVFGTPNYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASYGY GGAYFDVWGQGTLVTVSS
서열번호 18	TY25037-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAPKLL IYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQGIQWPWTF GQGTKVEIKR
서열번호 19	TY25038-VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFSRYAIHWVRQAPGQGLEWLGGI IPVFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQGIL GGFAYWGQGTLVTVSS
서열번호 20	TY25038-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDFHGKSFLAWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLELPFTF GQGTKVEIKR
서열번호 21	TY25039-VH	QVQPAQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYSISSGYYWGWIRQAPGQGLEWIGA ISYSGSTYYSPSLKSRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHYLF AGSTSYDAFDIWGQGTLVTVSS
서열번호 22	TY25039-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGFSFLAWYQQKPGKAPKLL IYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYRTPLTF GQGTKVEIKR
서열번호 23	TY25040-VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFSDYGIHWVRQAPGQGLEWIGRI YPSGGSTNYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQRGY GRFAYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO	예시적인 항체 및 영역	아미노산 서열
서열번호 24	TY25040-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVGYVYWYQQKPGKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYTYAPFTFGQGTK VEIKR
서열번호 25	TY25041-VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYSISSGHHWNWIRQAPGQGLEWIGA ISYSGSTYYSPSLKSRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQGYY GGEGYAVDYWGQGTLVTVSS
서열번호 26	TY25041-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGISFLHWYQQKPGKAPKLL IYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQATQTPFTF GQGTKVEIKR
서열번호 27	TY21446-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNYAIHWVRQAPGKGLEWVSAI SGSGSSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARRGSY GFGAFDYWGQGTLVTVSS
서열번호 28	TY21446-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIGRYLNWYQQKPGKAPKLLIYDA SNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQRYPWPYTFGQGT KVEIKR
서열번호 29	TY21447-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAIHWVRQAPGKGLEWVSAI SGSGSSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARRGSY GFGAFDYWGQGTLVTVSS
서열번호 30	TY21447-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIGRYLNWYQQKPGKAPKLLIYDA SNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQRYPWPYTFGQGT KVEIKR
서열번호 31	TY21449-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAIHWVRQAPGKGLEWVSAI SGSGSSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARRGSY GFGAFDYWGQGTLVTVSS
서열번호 32	TY21449-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIGRYLNWYQQKPGKAPKLLIYDA SNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQRYPWPYTFGQGT KVEIKR
서열번호 33	TY21451-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWIHWVRQAPGKGLEWVSGI SGAGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARLGDY WGQGTLVTVSS
서열번호 34	TY21451-VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSVLAWYQQKPGKAPKLLIYAA STLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSIPFTFGQGT KVEIKR

[0297]

[0298] 표 4B. 벤치마크 항-CD47 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL) 서열.

SEQ ID NO	벤치마크 항체 및 영역	아미노산 서열
서열번호 201	TAC2407_VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGLTFERAWMNWVRQAPGKGLEWVGRI KRKTDGETTDYAAPVKGRFSISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCAGSN RAFDIWGQGTMVTVSS
서열번호 202	TAC2407_VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYAGNNRNYLAWYQQKPGQPPK LLINQASTRASGVPDRFSGSGSGTEFTLIISSLQAEDVAIYYCQQYYTPPL AFGGGTKLEIK
서열번호 203	TAC2204_VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYNMHWVRQAPGQRLEWMGTI YPGNDDTSYNQKFK$_D$RVTITADTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYRA MDYWGQGTLVTVSS
서열번호 204	TAC2204_VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSIVYSNGNTYLGWYLQKPGQSPQL LIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPYT FGQGTKLEIK

[0299]

[0300] 표 5A. 예시적인 항-CD47 활성화 가능 항체 및 이의 항원 결합 단편의 마스킹 모이어티(MM) 및 절단 가능 모이어티(CM) 서열.

SEQ ID NO	예시적인 항체 및 영역	아미노산 서열
서열번호 137	TY26294_MM	LTVDYFCDIDPLYCNA
서열번호 138	TY26294_CM	GGGPLGLAGSGGS
서열번호 167	TY26137_MM	NNAAPDCPAADVYCNV
서열번호 168	TY26138_MM	DDTAFDCDDDFDDCAT
서열번호 169	TY26139_MM	HAYHNDCSDDDDFCAY
서열번호 170	TY26292_MM	PADDFDCPAADVFCSP
서열번호 171	TY26293_MM	APSVDDCPTYDDFCYD
서열번호 172	TY26294_MM	LTVDYFCDIDPLYCNA
서열번호 173	TY26295_MM	NYNDDDCYDDDYACDY
서열번호 174	TY26296_MM	DTADHDCYDDDDFCYD
서열번호 175	TY26297_MM	DFLSASCDDDYAPCAF
서열번호 176	TY26298_MM	YPPDDTCDDDYDPCAI
서열번호 177	TY26299_MM	AQSSFDCPDHDAFCDP
서열번호 178	TY26300_MM	AASPATCDDTLFFCPA
서열번호 179	TY26140_MM	DSCPAEVVGIFCIQ
서열번호 180	TY26141_MM	FYCTGAAVGIFCSA
서열번호 181	TY26301_MM	VACRIFDDDPFCIV

[0301]

[0302] 표 5B. 예시적인 항-CD47 활성화 가능 항체 및 이의 항원 결합 단편의 마스킹 펩티드 서열.

SEQ ID NO	예시적인 항체	아미노산 서열
서열번호 139	TY26294	EVGSYLTVDYFCDIDPLYCNAGGGPLGLAGSGGS
서열번호 152	TY26137	EVGSYNNAAPDCPAADVYCNVGGGPLGLAGSGGS
서열번호 153	TY26138	EVGSYDDTAFDCDDDFDDCATGGGPLGLAGSGGS
서열번호 154	TY26139	EVGSYHAYHNDCSDDDDFCAYGGGPLGLAGSGGS
서열번호 155	TY26292	EVGSYPADDFDCPAADVFCSPGGGPLGLAGSGGS
서열번호 156	TY26293	EVGSYAPSVDDCPTYDDFCYDGGGPLGLAGSGGS
서열번호 157	TY26294	EVGSYLTVDYFCDIDPLYCNAGGGPLGLAGSGGS
서열번호 158	TY26295	EVGSYNYNDDDCYDDDYACDYGGGPLGLAGSGGS
서열번호 159	TY26296	EVGSYDTADHDCYDDDDFCYDGGGPLGLAGSGGS
서열번호 160	TY26297	EVGSYDFLSASCDDDYAPCAFGGGPLGLAGSGGS
서열번호 161	TY26298	EVGSYYPPDDTCDDDYDPCAIGGGPLGLAGSGGS
서열번호 162	TY26299	EVGSYAQSSFDCPDHDAFCDPGGGPLGLAGSGGS
서열번호 163	TY26300	EVGSYAASPATCDDTLFFCPAGGGPLGLAGSGGS
서열번호 164	TY26140	EVGSYDSCPAEVVGIFCIQGGGPLGLAGSGGS
서열번호 165	TY26141	EVGSYFYCTGAAVGIFCSAGGGPLGLAGSGGS
서열번호 166	TY26301	EVGSYVACRIFDDDPFCIVGGGPLGLAGSGGS

[0303]

[0304] 표 6A. 예시적인 항-CD47 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 및 항원 결합 단편의 경쇄(LC) 및 중쇄(HC) 서열.

[0305]

SEQ ID NO	예시적인 항체 및 사슬	항체 유형	아미노산 서열
서열번호 140	TY21446_LC	활성화 불가	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIGRYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQRYPWPYTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK$_D$S TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
서열번호 141	TY21446_HC	활성화 불가	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNYAI HWVRQAPGKGLEWVSAISGSGSSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARRGSY GFGAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVK$_D$YFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS VFLFPPKPK$_D$TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LGK
서열번호 142	TY26294_LC	활성화 가능	EVGSYLTVDYFCDIDPLYCNAGGGPLGLAGSGGS DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIGRYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQRYPWPYTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK$_D$S TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
서열번호 143	TY26294_HC	활성화 가능	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNYAI HWVRQAPGKGLEWVSAISGSGSSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARRGSY

[0306]

SEQ ID NO	예시적인 항체 및 사슬	항체 유형	아미노산 서열
			GFGAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVK$_D$YFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS VFLFPPKPK$_D$TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LGK
서열번호 144	TY26896_LC	활성화 불가	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIGRYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQRYPWPYTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK$_D$S TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
서열번호 145	TY26896_HC	활성화 불가	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNYAI HWVRQAPGKGLEWVSAISGSGSSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARRGSY GFGAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVK$_D$YFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPK$_D$TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
서열번호 146	TY26897_LC	활성화 불가	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIGRYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQRYPWPYTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK$_D$S

SEQ ID NO	예시적인 항체 및 사슬	항체 유형	아미노산 서열
			TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
서열번호 147	TY26897_HC	활성화 불가	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNYAI HWVRQAPGKGLEWVSAISGSGSSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARRGSY GFGAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVK$_D$YFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPDVFLFPPKPK$_D$TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
서열번호 148	TY26898_LC	활성화 가능	EVGSYLTVDYFCDIDPLYCNAGGGPLGLAGSGGS DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIGRYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQRYPWPYTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK$_D$S TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
서열번호 149	TY26898_HC	활성화 가능	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNYAI HWVRQAPGKGLEWVSAISGSGSSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARRGSY GFGAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVK$_D$YFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPK$_D$TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL

[0307]

SEQ ID NO	예시적인 항체 및 사슬	항체 유형	아미노산 서열
			SLSPGK
서열번호 150	TY26899_LC	활성화 가능	EVGSYLTVDYFCDIDPLYCNAGGGPLGLAGSGGS DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIGRYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQRYPWPYTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSK TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
서열번호 151	TY26899_HC	활성화 가능	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAASGFTFTNYAI HWVRQAPGKGLEWVSAISGSGSSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARRGSY GFGAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK

[0308]

[0309] 표 6B. 예시적인 항-CD47 항체 및 활성화 가능 항체 서열.

Ab	마스킹 여부?	마스킹 되지 않은 모체	Fc	SEQ ID NOs												
				CDRs						VH	VL	중쇄	경쇄	MM	CM	마스킹 펩티드
				H1	H2	H3	L1	L2	L3							
TY21446	아니오	NA*	hIgG4	48	65	82	99	116	133	27	28	141	140	NA	NA	NA
TY26294	예	TY21446	hIgG4	48	65	82	99	116	133	27	28	143	142	137	138	139
TY26896	아니오	NA	hIgG1	48	65	82	99	116	133	27	28	145	144	NA	NA	NA
TY26898	예	TY26896	hIgG1	48	65	82	99	116	133	27	28	149	148	137	138	139
TY26897	아니오	NA	hIgG1 S239D 및 I332E	48	65	82	99	116	133	27	28	147	146	NA	NA	NA
TY26899	예	TY26897	hIgG1 S239D 및 I332E	48	65	82	99	116	133	27	28	151	150	137	138	139

[0310]

[0311] *NA=해당 없음

[0312] 일부 실시예에서, 본원은 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공하며, 여기서, 항-CD47 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원은 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공하며, 여기서, 항-CD47 항체는, 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 VH, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 VL, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원은 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공하며, 여기서, 항-CD47 항체는, 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26896 또는 TY26897의 중쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26896 또는 TY26897의 경쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0313] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 다중특이적 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 다중특이적 항체는, 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 VH, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 VL, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 이중특이적 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 이중특이적 항체는, 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 VH, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 VL, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0314] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG4 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG4 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는, 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 항체 중쇄 가변 영역(VH), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 항체 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG4 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는, 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 중쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446의 경쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항-CD47 항체는 다중특이적(예를 들어, 이중특이적) 항체이다.

[0315] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG4 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26896의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG4 Fc 영역을

포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는, 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26896의 항체 중쇄 가변 영역(VH), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26896의 항체 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는, 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26896의 중쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26896의 경쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항-CD47 항체는 다중특이적(예를 들어, 이중특이적) 항체이다.

[0316] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG4 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26897의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG4 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는, 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26897의 항체 중쇄 가변 영역(VH), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26897의 항체 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 분리된 항-CD47 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 S239D 및 I332E 치환을 포함하는 IgG1 Fc 영역을 포함하고, 여기서, 항-CD47 항체는, 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26897의 중쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열; 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26897의 경쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항-CD47 항체는 다중특이적(예를 들어, 이중특이적) 항체이다. 일부 실시예에서, 인간 IgG1 Fc 영역은 2개의 Fc 도메인을 포함하되, 2개의 Fc 도메인 각각은 S239D 치환 및 I332E 치환을 포함한다. 일부 실시예에서, IgG1 Fc 영역은 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 기능을 갖는다.

[0317] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는 (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 절단 가능 모이어티(CM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며, 여기서, 활성화 가능 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 절단 가능 모이어티(CM)(적어도 하나의 절단 부위를 포함)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 항체 중쇄 가변 영역(VH), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 항체 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)을 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높다.

[0318] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294, TY26898 또는 TY26899의 마스킹 모이어티(MM) 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294, TY26898 또는 TY26899의 절단 가능 모이어티(CM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며, 여기서, 활성화 가능 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26898 또는 TY26899의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어,

1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294, TY26898 또는 TY26899의 마스킹 모이어티(MM) 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294, TY26898 또는 TY26899의 절단 가능 모이어티(CM)를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 항체 중쇄 가변 영역(VH), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26898 또는 TY26899의 항체 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며; 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높다.

[0319] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는 (a) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294, TY26898 또는 TY26899의 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26898 또는 TY26899의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는, (a) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294, TY26898 또는 TY26899의 마스킹 펩티드; 및 (b) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26294, TY26896, TY26897, TY26898 또는 TY26899의 항체 중쇄 가변 영역(VH), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY21446, TY26898 또는 TY26899의 항체 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함한다.

[0320] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 마스킹 모이어티(MM), 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 절단 가능 모이어티(CM), 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며, 여기서, 활성화 가능 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 마스킹 모이어티(MM), 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 절단 가능 모이어티(CM), 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는 (a) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 마스킹 펩티드, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 마스킹 펩티드, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및 (b) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결된다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는,

표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 중쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26294의 경쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 다중특이적(예를 들어, 이중특이적) 항체이다.

[0321] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 마스킹 모이어티(MM), 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 절단 가능 모이어티(CM), 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며, 여기서, 활성화 가능 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 마스킹 모이어티(MM), 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 절단 가능 모이어티(CM), 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는 (a) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 마스킹 펩티드, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 마스킹 펩티드, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및 (b) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결된다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 중쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26898의 경쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 다중특이적(예를 들어, 이중특이적) 항체이다.

[0322] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 마스킹 모이어티(MM), 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 절단 가능 모이어티(CM), 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높으며, 여기서, 활성화 가능 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 마스킹 모이어티(MM), 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 절단 가능 모이어티(CM), 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3,

4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 마스킹 펩티드; 및 (b) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 시험관 내에서 CM 절단 전보다 CM 절단 시 인간 CD47에 대한 결합 친화도가 더 높다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는 (a) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 마스킹 펩티드, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및 (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서, 활성화 가능 항체는 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDRs, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, (a) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 마스킹 펩티드, 또는 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체; 및 (b) 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 표적 결합 모이어티(TBM)를 포함하며, 여기서, 마스킹 펩티드는 VL의 N-말단에 연결된다. 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 활성화 가능 항체는, 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 중쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 및 표 6B에 나타낸 바와 같은 예시적인 항체 TY26899의 경쇄, 또는 이와 적어도 80%(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%; 또는 100%)의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 분리된 항체는 다중특이적(예를 들어, 이중특이적) 항체이다.

[0323] B-6. 변이체

[0324] 일부 실시예에서, 본 발명에 의해 제공된 항-CD47 결합 분자(예를 들어, 항체, 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체))의 아미노산 서열 변이체를 구상해 보았다. 예를 들어, 항체, 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선하는 것이 바람직할 수 있다. 일부 특정 실시예에서, 본 발명은 표 3A-6에 나열된 것으로부터 선택된 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 변이체를 제공한다.

[0325] 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체))의 아미노산 서열 변이체는 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체))를 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 적절한 변형을 도입하거나 펩티드 합성을 통해 제조될 수 있다. 이러한 변형은 예를 들어 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 아미노산 서열에서 잔기의 결실 및/또는 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합은 모두 최종 구축물을 얻을 수 있는데, 전제 조건은 최종 구축물이 항원 결합과 같은 원하는 특성을 갖는 것이다.

[0326] 일부 실시예에서, 본원에 따른 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체, 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 변이체가 제공된다. 치환 돌연변이 유발을 위한 관심 부위는 초가변 영역(HVR), 상보성 결정 영역(CDR), 중쇄 가변 영역(VH), 경쇄 가변 영역(VL), 중쇄 불변 영역(CH), 경쇄 불변 영역(CL) 및 결정화 가능 단편(Fc 영역)을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 아미노산 치환을 관심 있는 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 및 원하는 활성에 대해 스크리닝된 생성물에 도입할 수 있으며, 이러한 원하는 활성은 예를 들어 유지/개선된 항원 결합, 감소된 면역원성, 개선 또는 감소된 ADCC 또는 CDC이다.

[0327] 보존적 아미노산 치환은 하기 표 2에 나타낸 바와 같다.

[0328] 표 2. 보존적 아미노산 치환.

원래의 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

[0329]

[0330] 아미노산은 일반적인 측쇄 특성에 따라 다음과 같이 분류될 수 있다.

[0331] a. 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0332] b. 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0333] c. 산성: Asp, Glu;

[0334] d. 알칼리성: His, Lys, Arg;

[0335] e. 사슬 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro;

[0336] f. 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0337] 비보존적 치환은 이러한 클래스 중 하나의 구성원을 다른 클래스로 교환하는 것을 초래한다.

[0338] 예시적인 치환 변이체는 예를 들어 파지 디스플레이 기반 친화성 성숙 기술을 사용하여 편리하게 생성될 수 있는 친화성 성숙된 항체 모이어티이다. 간략하게, 하나 이상의 CDR 잔기가 돌연변이되고, 항체 변이체 모이어티가 파지 상에 표시되며 특정 생물학적 활성(예를 들어, 결합 친화도)에 대해 스크리닝된다. 예를 들어, 항체 모이어티 친화성을 향상시키기 위해 변경(예를 들어, 치환)이 HVR 내에서(예를 들어, CDR 내에서) 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟", 즉 체세포 성숙 과정 동안 높은 빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 코딩된 잔기 및/또는 특이성 결정 잔기(SDR)에서 이루어질 수 있으며(예를 들어, Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207: 179-196 (2008) 참조), 생성된 변이체 VH 또는 VL은 결합 친화도 테스트에 사용된다. 이차 라이브러리로부터의 구축 및 재선택에 의한 친화도 성숙은 예를 들어 Hoogenboom et al.in Methods in Molecular Biology 178: 1-37(O'Brien et al., Human Press, Totowa, NJ, (2001)에 기술되어 있다. 친화성 성숙의 일부 구현예에서, 다양한 방법(예를 들어, 오류 유발 PCR, 사슬 셔플링 또는 올리고뉴클레오티드의 부위 지정 돌연변이 유발)에 의해 성숙을 위해 선택된 가변 유전자에 다양성이 도입된다. 그런 다음 이차 라이브러리가 생성된다. 그런 다음 라이브러리를 스크리닝하여 원하는 친화도를 갖는 임의의 항체 모이어티 변이체를 인식합니다.

[0339] 다양성을 도입하는 또 다른 방법은 여러 HVR 잔기(예를 들어, 한 번에 4~6개 잔기)가 무작위화되는(예를 들어, CDR 내에서) HVR 지정 또는 CDR 지정 방법을 포함한다. 항원 결합에 관여하는 HVR 및/또는 CDR 잔기는 예를 들어 알라닌 스캐닝 돌연변이 유발 또는 모델링을 사용하여 구체적으로 인식될 수 있다. 특히 CDR-H3 및 CDR-L3이 표적이 되는 경우가 많다.

[0340] 일부 실시예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 그러한 변경이 항원에 결합하는 항체의 능력을 현저히 감소시키지 않는 한 하나 이상의 HVR 내에서(예를 들어, CDR 내에서) 발생할 수 있다. 예를 들어, 결합 친화도를 현저히 감소시키지 않는 보존적 변경(예를 들어, 본원에 의해 제공된 보존적 치환)은 HVR 내에서(예를 들어, CDR 내에서) 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟" 또는 SDR 외부에 있을 수 있다. 위에 제공된 VH 및 VL 서열 변이체의 일부 구현예에서, 각각의 HVR 또는 CDR은 변경되지 않거나, 1개, 2개 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.

[0341] Cunningham 및 Wells (1989) Science, 244: 1081-1085에 기술된 바와 같이, 돌연변이 유발의 표적이 될 수 있는 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 잔기 또는 영역을 인식하는 데 유용한 방법을 "알라닌 스캐닝 돌연변이 유발"이라고 한다. 이 방법에서는 잔기 또는 표적 잔기(예를 들어, arg, asp, his, lys 및 glu와 같은 하전된 잔기)를 인식하고 중성 또는 음전하를 띤 아미노산(예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 대체하여, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)와 항원의 상호작용이 영향을 받는지 여부를 결정한다. 초기 치환에 대한 기능적 민감성을 입증하는 아미노산 위치에 추가 치환이 도입될 수 있다.

[0342] 대안적으로 또는 추가적으로, 항원-항체 복합체의 결정 구조를 결정하여 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)와 항원 사이의 접촉점을 확인할 수 있다. 이러한 접촉 잔기 및 인접 잔기는 치환 후보로서 표적화되거나 제거될 수 있다. 변이체를 선별하여 이들이 원하는 특성을 포함하는지 여부를 결정할 수 있다.

[0343] 아미노산 서열 삽입에는 1개의 잔기부터 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드까지 길이 범위의 아미노 및/또는 카르복실-말단 융합뿐만 아니라 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입이 포함된다. 말단 삽입의 예에는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체가 포함된다. 항체 분자 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 분자의 다른 삽입 변이체는 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 N-말단 또는 C-말단을 효소(예를 들어, ADEPT의 경우)에 융합시키거나 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩티드를 포함한다.

[0344] Fc 영역 변이체

[0345] 일부 실시예에서, 본 발명에 의해 제공된 항-CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 단백질의 Fc 영역에 하나 이상의 아미노산 변형을 도입함으로써 Fc 영역 변이체를 생성할 수 있다. 일부 실시예에서, Fc 영역 변이체는 일반적으로 Fc 수용체(FcRs)에 대한 결합과 관련된 향상된 ADCC 이펙터 기능을 갖는다. 일부 실시예에서, Fc 영역 변이체는 감소된 ADCC 이펙터 기능을 갖는다. 이펙터 기능을 변경할 수 있는 Fc 서열 변화 또는 돌연변이에 대한 많은 예가 있다. 예를 들어, WO 00/42072 및 Shields et al.J Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)에는 FcR에 대한 결합이 향상되거나 감소된 항체 변이체가 기술되어 있다. 이들 간행물의 내용은 참조로서 본원에 인용된다.

[0346] 항체 의존성 세포독성(ADCC)은 종양 세포에 대한 치료 항체의 작용 메커니즘이다. ADCC는 세포 매개 면역 방어로, 면역 체계의 효과기 세포가 특정 항체(예를 들어, 항-CD47 항체)에 의해 막 표면 항원이 결합된 표적 세포(예를 들어, 암세포)를 적극적으로 용해한다. 전형적인 ADCC는 항체에 의한 NK 세포의 활성화를 포함한다. NK 세포는 Fc 수용체인 CD16을 발현한다. 이 수용체는 표적 세포의 표면에 결합된 항체의 Fc 부분을 인식하고 결합한다. NK 세포 표면의 가장 일반적인 Fc 수용체는 CD16 또는 FcγRIII이라고 한다. 항체의 Fc 영역에 Fc 수용체가 결합하면 NK 세포 활성화, 세포용해성 과립의 방출 및 그에 따른 표적 세포의 세포사멸이 발생한다. 종양 세포 사멸에 대한 ADCC의 기여는 예를 들어 고친화도 FcR로 형질감염된 NK-92 세포를 사용하는 특정 테스트를 통해 측정할 수 있다. 결과는 FcR을 발현하지 않는 야생형 NK-92 세포와 비교된다.

[0347] 일부 실시예에서, 본 발명은 이펙터 기능의 전부는 아니지만 일부를 보유하는 Fc 영역을 포함하는 항-CD47 항체 또는 마스킹된(예를 들어, 활성화 가능) 항체 변이체(예를 들어, 분리된 항-CD47 항체 변이체 또는 마스킹된(예를 들어, 활성화 가능) 항-CD47 항체 변이체)를 고려하며, 이는 예를 들어 항-CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 생체 내 반감기가 중요하지만 특정 이펙터 기능(예를 들어, CDC 및 ADCC)이 불필요하거나 유해한 특정 응용 분야에 적합한 후보가 된다. CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인하기 위해 시험관 내 및/또는 생체 내 세포독성을 측정할 수 있다. 예를 들어, Fc 수용체(FcR) 결합을 측정하여 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)에 FcγR 결합이 결여되어 있지만(따라서 ADCC 활성이 결여될 가능성이 있음) FcRn 결합 능력은 유지하는지 확인할 수 있다. ADCC를 매개하는 일차 세포인 NK 세포는 FcγRIII만을 발현하는 반면, 단핵구는 FcγRI, FcγRI I 및 FcγRIII을 발현한다. Ravetch 및 Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)의 제464페이지의 표 3에 조혈 세포 세포에서의 FcR 발현이 요약되어 있다. 관심 분

자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관 내 측정의 비제한적인 구현예는 미국 특허 제5,500,362호(예를 들어, Hellstrom, I. et al.. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)) 및 Hellstrom, I. et al.., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82: 1499-1502 (1985); 미국 특허 제5,821,337호(Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166: 1351-1361 (1987) 참조)에 기술되어 있다. 대안적으로, 비방사성 측정법을 사용할 수도 있다(예를 들어, 유세포 분석을 위한 ACTI™ 비방사성 세포독성 측정(CellTechnology, Inc. Mountain View, Cali 및 CytoTox 96™ 비방사성 세포독성 측정(Promega, Madison, Wis.) 참조). 이러한 측정에 유용한 효과기 세포는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 및 자연 살해(NK) 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, Clynes et al..Proc. Nat'l Acad. Sci.USA 95:652-656 (1998)에 개시된 동물 모델과 같은 생체 내에서 관심 분자의 ADCC 활성을 평가할 수 있다. C1q 결합 측정은 또한 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)가 C1q에 결합할 수 없어 CDC 활성이 결여되어 있음을 확인하기 위해 수행될 수 있다. 예를 들어, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402의 C1q 및 C3c ELISA 결합을 참조한다. 보체 활성화를 평가하기 위해 CDC 측정을 수행할 수 있다(예를 들어, Gazzano- Santoro et al., J. Immunol. Methods 202: 163 (1996); Cragg, M. S. et al., Blood 101: 1045-1052 (2003) 및 Cragg, M. S. 및 M. J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004) 참조). FcRn 결합 및 생체 내 제거/반감기 측정은 또한 당업계에 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다(예를 들어, Petkova, S. B. et al., Int'l. Immunol. 18(12): 1759- 1769 (2006) 참조).

[0348] 이펙터 기능이 감소된 항체(예를 들어, 분리된 항체 및 활성화 가능 항체)는 Fc 영역 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 잔기 중 하나 이상이 치환된 항체를 포함한다(미국 특허 제6,737,056호). 이러한 Fc 돌연변이체는 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327 중 2개 이상에 치환이 있는 Fc 돌연변이체를 포함하며, 이는 265 및 297 잔기가 알라닌으로 치환된 "DANA" Fc 돌연변이체를 포함한다(미국 특허 제7,332,581호).

[0349] FcRs에 대한 결합이 증가되거나 감소된 특정 항체 변이체가 기술되어 있다(예를 들어, 미국 특허 제6,737,056호; WO 2004/056312, 및 Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001). 참조).

[0350] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 항-CD47 항체 또는 마스킹된(예를 들어, 활성화 가능) 항체 변이체(예를 들어, 분리된 항-CD47 항체 변이체 또는 마스킹된(예를 들어, 활성화 가능) 항-CD47 항체 변이체)는 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 Fc 영역 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, Fc 영역 변이체는 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서, 치환은 Fc 영역 변이체의 298, 333 및/또는 334 잔기(EU 잔기 넘버링)에 위치한다. 일부 실시예에서, 항-CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 변이체는 이의 Fc 영역 변이체에 S298A, E333A 및/또는 K334A와 같은 아미노산 치환을 포함한다.

[0351] 일부 실시예에서, 예를 들어, 미국 특허 제6,194,551호, WO 99/51642 및 Idusogie et al.,J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)에 기술된 바와 같이, C1q 결합 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC)의 변화(예를 들어, 증가 또는 감소)를 초래하는 변화가 Fc 영역에서 이루어진다.

[0352] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 항-CD47 항체 또는 마스킹된(예를 들어, 활성화 가능) 항체 변이체(예를 들어, 분리된 항-CD47 항체 변이체 또는 마스킹된(예를 들어, 활성화 가능) 항-CD47 항체 변이체)는 반감기를 증가시키거나 및/또는 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 대한 결합을 향상시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 Fc 영역 변이체를 포함한다. 반감기가 증가되고 FcRn에 대한 결합이 향상된 항체는 미국 특허 제2005/0014934A1호(Hinton et al.)에 기술되어 있다. 이러한 항체는 Fc 영역을 포함하며, 여기서, Fc 영역은 Fc 영역과 FcRn의 결합을 향상시키는 하나 이상의 치환을 갖는다. 이러한 Fc 변이체는 하나 이상의 Fc 영역의 잔기 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434, 예를 들어, Fc 영역의 잔기 434에서의 치환을 포함한다(미국 특허 제7,371,826호).

[0353] Fc 영역 변이체의 다른 예에 대해서는 Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988); 미국 특허 제5,648,260호; 미국 특허 제5,624,821호; 및 WO 94/29351을 참조한다 .

[0354] 항-CD47 항체 또는 마스킹된(예를 들어, 활성화 가능) 항체 변이체(예를 들어, 분리된 항-CD47 항체 변이체 또는 마스킹된(예를 들어, 활성화 가능) 항-CD47 항체 변이체)는 본원에 따른 임의의 Fc 변이체 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0355] 글리코실화 변이체

[0356] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가

능 항체)는 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 글리코실화 정도를 증가 또는 감소시키기 위해 변화된다. 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 이의 폴리펩티드 부분의 아미노산 서열을 변화시켜 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 글리코실화 부위를 편리하게 추가 또는 삭제함으로써, 하나 이상의 글리코실화 부위를 생성하거나 제거할 수 있다.

[0357] 여기서, 항-CD47 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)가 Fc 영역을 포함하는 경우, 이에 부착된 당이 변경될 수 있다. 포유동물 세포에 의해 생산된 천연 항체는 일반적으로 N에 의해 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에 연결된 분지형 바이안테너리 올리고당을 포함한다. 예를 들어, Wright et al., TIBTECH 15:26-32 (1997)를 참조한다. 올리고당은 만노스, N-아세틸글루코사민(GlcNAc), 갈락토스 및 시알산과 같은 다양한 당, 및 바이안테너리 올리고당의 "줄기"에 있는 GlcNAc에 부착된 푸코스도 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 본 발명의 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 올리고당을 변형시켜, 특정 개선된 특성을 갖는 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 변이체를 구축한다.

[0358] Fc의 CH2 도메인에 연결된 N-글리칸은 이종성이다. CHO 세포에서 생성된 Fc 융합 단백질은 푸코실트랜스퍼라제 활성에 의해 푸코실화된다. Shoji-Hosaka et al., J. Biochem. 2006, 140:777-83을 참조한다. 일반적으로 소량의 자연 발생 어푸코실화 IgG가 인간 혈청에서 검출될 수 있다. Fc의 N-글리코실화는 FcγR에 대한 결합에 중요하며; N-글리칸의 어푸코실화 변형은 FcγRIIIa에 대한 Fc의 결합 능력을 증가시킨다. 증가된 FcγRIIIa 결합은 ADCC를 향상시킬 수 있으며, 이는 세포독성을 요구하는 특정 항체 치료 적용에 유리할 수 있다.

[0359] 일부 실시예에서, Fc 매개 세포독성이 바람직하지 않은 경우 향상된 이펙터 기능이 해로울 수 있다. 일부 실시예에서, Fc 단편 또는 CH2 도메인은 글리코실화되지 않는다. 일부 실시예에서, CH2 도메인의 N-글리코실화 부위는 글리코실화를 방지하기 위해 돌연변이된다.

[0360] 일부 실시예에서, Fc 영역을 포함하는 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 변이체가 제공되며, 여기서, Fc 영역에 연결된 당 구조의 푸코스는 환원되거나 결어되너 ADCC 기능을 향상시킬 수 있다. 구체적으로, 야생형 CHO 세포에서 생산된 동일한 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 푸코스의 양과 비교하여, 본원에서 고려되는 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 감소된 푸코스를 갖는다. 즉, 이들은 천연 CHO 세포((예를 들어, 천연 글리코실화 패턴을 생성하는 CHO 세포, 예를 들어, 천연 FUT8 유전자를 함유하는 CHO 세포)에 의해 생성된 푸코스 함량보다 낮은 양의 푸코스를 갖는 것을 특징으로 한다. 일부 실시예에서, 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 그 위의 N-연결 글리칸의 약 50%, 40%, 30%, 20%, 10% 또는 5% 미만이 푸코스를 포함하는 항체이다. 예를 들어, 이러한 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)에서 푸코스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40%일 수 있다. 일부 실시예에서, 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 그 위의 N-연결 글리칸 중 어느 것도 푸코스를 포함하지 않는 항체인데, 즉, 여기서, 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 푸코스가 전혀 포함하지 않거나, 푸코스가 없거나 어푸코실화되어 있다. 푸코스의 양은 MALDI-TOF 질량 분석법으로 측정한 바와 같이 Asn297에 연결된 모든 당 구조(예를 들어, 복합체, 하이브리드 및 고 만노스 구조)의 합계에 대해 Asn297의 당 사슬 내 푸코스의 평균 양을 계산하여 결정되며, 예를 들어 WO 2008/077546에 기술된 바와 같다. 예를 들어, Asn297은 Fc 영역의 297 위치(EFc 잔기의 EU 넘버링)에 위치한 아스파라긴 잔기를 의미한다. 그러나, Asn297은항체 서열의 약간의 변화로 인해 위치 297 위 또는 아래, 즉 위치 294와 300 사이에 약 ±3개의 아미노산이 위치할 수도 있다. 이러한 푸코실화 변이체는 ADCC를 향상시키는 기능을 가질 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 공개 제US 2003/0157108호(Presta, L.); 미국 특허 공개 제US 2004/0093621호(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)를 참조한다. "탈푸코실화" 또는 "푸코스 결핍" 항체 변이체와 관련된 출판물의 구현예는 미국 특허 공개 제US 2003/0157108호; WO 2000/61739; WO 2001/29246; 미국 특허 공개 제US 2003/0115614호; 미국 특허 공개 제US 2002/0164328호; 미국 특허 공개 제US 2004/0093621호; 미국 특허 공개 제US 2004/0132140호; 미국 특허 공개 제US 2004/0110704호; 미국 특허 공개 제US 2004/0110282호; 미국 특허 공개 제US 2004/0109865호; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al.. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)를 포함한다. 탈푸코실화 항체를 생산할 수 있는 세포주의 구현예는 단백질 푸코실화가 결핍된 Lec13 CHO 세포(Ripka et al.. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); 미국 특허 출원 제2003/0157108 A1호, Presta, L 및 WO

2004/056312 A1, Adams et al., 특히 구현예 11) 및 녹아웃 세포주, 예를 들어 α-1, 6-푸코실트랜스퍼라제 유전자, FUT8, 녹아웃 CHO 세포(예를 들어, Yamane-Ohnuki et al.. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng. 94(4):680-688 (2006); 및 WO2003/085107 참조)를 포함한다.

[0361] 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 변이체는 이등분된 올리고당을 추가로 제공하며, 예를 들어, 여기서, 항-GPC3 구축물의 Fc 영역에 연결된 바이안테너리 올리고당은 GlcNAc에 의해 이등분된다. 이러한 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 변이체는 감소된 푸코실화 및/또는 향상된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체의 구현예는 WO 2003/011878(Jean-Mairet et al.); 미국 특허 제6,602,684호(Umana et al.); 미국 특허 제2005/0123546호(Umana et al.), 및 Ferrara et al., Biotechnology and Bioengineering, 93(5): 851-861 (2006)에 기술되어 있다. 또한 Fc 영역에 연결된 올리고당에 적어도 하나의 갈락토스 잔기를 갖는 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 변이체가 제공된다. 이러한 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 변이체는 CDC 기능을 향상시킬 수 있다. 이러한 항체는 예를 들어 WO 1997/30087(Patel et al.), WO 1998/58964(Raju, S.) 및 WO 1999/22764(Raju, S.)에 기술되어 있다.

[0362] 일부 실시예에서, 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 변이체는 FcγRIII에 결합할 수 있는 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 인간 야생형 IgG1 Fc 영역을 포함하는 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)과 비교하여, 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 변이체는 인간 효과기 세포(예를 들어, T 세포)의 존재 하에 ADCC 활성을 갖거나 인간 효과기 세포의 존재 하에 향상된 ADCC 활성을 갖는 Fc 영역을 포함한다.

[0363] 시스테인 조작된 변이체

[0364] 일부 실시예에서, 하나 이상의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기에 의해 치환된 시스테인 조작된 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 변이체를 구축하는 것이 바람직할 수 있다. 일부 실시예에서, 치환된 잔기는 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 접근 가능한 부위에서 발생한다. 이러한 잔기를 시스테인으로 치환함으로써, 반응성 티올기는 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 접근 가능한 부위에 위치하게 되고, 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 본원에 추가로 기술된 바와 같이 항-CD47 면역접합체를 생성하기 위해 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티와 같은 다른 모이어티에 접합시킬 수 있다. 시스테인 조작된 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 변이체는 미국 특허 제7,521,541호에 기술된 바와 같이 생성될 수 있다.

[0365] 유도체

[0366] 일부 실시예에서, 본원에 의해 제공된 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 당업계에 공지되어 있고 쉽게 얻을 수 있는 추가적인 비단백질성 모이어티를 포함하도록 추가로 변형될 수 있다. 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 수용성 중합체의 비제한적인 구현예는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜 공중합체, 카르복시메틸셀룰로오스, 덱스트란, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산(단독 중합체 또는 랜덤 공중합체), 및 덱스트란 또는 폴리(N-비닐피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 단독 중합체, 프로리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올(예를 들어, 글리세롤), 폴리비닐 알코올 및 이들의 혼합물을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드는 물에 대한 안정성으로 인해 제조 시 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있으며, 분지되거나 분지되지 않을 수 있다. 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)에 부착된 중합체의 수는 다양할 수 있으며, 두 개 이상의 중합체가 연결된 경우 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용되는 중합체의 수 및/또는 유형은 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 유도체가 특정 조건에서 치료에 사용 가능할지 여부에 관계없이 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 특정 특성 또는 기능을 향상시키는 것을 포함하지만 이에 한정되지 않는 고려 사항에 따라 결정될 수 있다.

[0367] 일부 실시예에서, 방사선 노출에 의해 선택적으로 가열될 수 있는 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)와 비단백질성 모이어티의 접합체가 제공된다. 일부 실시예에서, 비단백질성 모이어티는 탄소 나노튜브이다(Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). 방사선은

일반 세포에 해를 끼치지 않지만 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)와 비단백질성 모이어티의 접합체에 근접한 세포의 온도까지 비단백질성 모이어티를 가열하는 파장을 포함하지만 이에 한정되지 않는 임의의 파장을 가질 수 있다.

[0368] D. 항-CD47 항체 및 마스킹된 항체를 생산하기 위한 폴리뉴클레오티드, 벡터, 숙주 세포 및 재조합 방법

[0369] 본 발명의 다른 측면은 본 발명에 의해 제공된 결합 분자(예를 들어, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편)의 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩된 아미노산 서열은 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 임의의 부분(예를 들어, CDR, 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함하는 서열, 중쇄 가변 영역, 경쇄 가변 영역, 마스킹 펩티드, 마스킹 모이어티(MM), 연결 모이어티(LM), 절단 가능 모이어티(CM) 또는 표적 결합 모이어티(TBM)), 또는 전장 중쇄 또는 전장 경쇄일 수 있다. 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 예를 들어 DNA 또는 RNA일 수 있으며, 인트론 서열을 함유할 수도 있고 함유하지 않을 수도 있다. 일반적으로, 폴리뉴클레오티드는 cDNA 분자이다.

[0370] 일부 실시예에서, 본 발명은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하거나 이로 이루어진 단리된 폴리뉴클레오티드를 제공한다. (1) 예시적인 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 CDR의 아미노산 서열; (2) 예시적인 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 중쇄 가변 영역(VH) 또는 경쇄 가변 영역(VL); 또는 (3) 예시적인 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 전장 중쇄 또는 전장 경쇄.

[0371] 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 임의의 적합한 분자 생물학 기술을 사용하여 얻어질 수 있다. 하이브리도마에 의해 발현된 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 경우, 하이브리도마에 의해 제조된 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 경쇄 및 중쇄를 코딩하는 cDNA는 PCR 증폭 또는 cDNA 클로닝 기술을 통해 얻을 수 있다. 면역글로불린 유전자 라이브러리(예를 들어, 파지 디스플레이 기술을 사용하여)로부터 얻은 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 경우, 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 상기 라이브러리에서 회수될 수 있다.

[0372] VH를 코딩하는 DNA를 중쇄 불변 영역(CH1, CH2 및 CH3)을 포함하는 단편 결정화 가능(Fc) 영역을 코딩하는 다른 DNA 분자에 작동 가능하게 연결하여 VH 영역을 코딩하는 분리된 DNA를 전장 중쇄 유전자로 전환시킬 수 있다. 인간 중쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당업계에 공지되어 있으며(예를 들어, Kabat et al.(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 제5판, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 참조), 이들 영역을 포함하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 얻어질 수 있다. Fc 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM 또는 IgD 불변 영역일 수 있지만, 가장 바람직하게는 IgG4 또는 IgG1 불변 영역이다. IgG4 또는 IgG1 불변 영역 서열은 다양한 개체에서 발생하는 것으로 알려진 다양한 대립유전자 또는 동종이형 중 어느 하나일 수 있다. 이러한 동종이형은 IgG4 및 IgG1 불변 영역에서 자연적으로 발생하는 아미노산 치환을 나타낸다. Fab 단편 중쇄 유전자의 경우, VH를 코딩하는 DNA를 중쇄 CH1 불변 영역만을 코딩하는 다른 DNA 분자에 작동 가능하게 연결할 수 있다.

[0373] VL을 코딩하는 DNA를 경쇄 불변 영역 CL을 코딩하는 다른 DNA 분자에 작동 가능하게 연결하여 VL 영역을 코딩하는 분리된 DNA를 전장 경쇄 유전자(및 Fab 경쇄 유전자)로 전환시킬 수 있다. 인간 경쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당업계에 공지되어 있으며(예를 들어, Kabat et al.(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 제5판, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 참조), 이들 영역을 포함하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 얻어질 수 있다. 경쇄 불변 영역은 κ 또는 λ 불변 영역일 수 있다.

[0374] scFv 유전자를 구축하기 위해, VH- 및 VL-를 코딩하는 DNA 단편을 유연한 링커(예를 들어, 아미노산 서열(Gly4-Ser)3)을 코딩하는 다른 단편에 작동 가능하게 연결하여 이러한 VH 및 VL 서열이 연속적인 단일 사슬 단백질로 나타나도록 할 수 있으며, 여기서, 이러한 VL 및 VH 영역은 유연한 링커로 연결된다(예를 들어, Bird et al., Science242:423-426 (1988); Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA85:5879-5883 (1988); 및 McCafferty et al., Nature348:552-554 (1990) 참조).

[0375] 본 발명은 본원에 따른 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 추가로 제공한다. 폴리뉴클레오티드는 경쇄 또는 중쇄의 일부(예를 들어, CDR 또는 HVR), 전장 경쇄 또는 중쇄, 중쇄 또는 경쇄의 일부 또는 전장을 포함하는 폴리펩티드, 또는 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 유도체 또는 항원 결합 단편의 아미노

산 서열을 코딩할 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 벡터는 결합 분자(예를 들어, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 이의 항원 결합 단편)의 발현에 사용될 수 있는 발현 벡터이다. 일부 실시예에서, 본원은 벡터를 제공하며, 여기서, 제1 벡터는 본원에 따른 중쇄 가변 영역을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하고, 및 제2 벡터는 본원에 따른 경쇄 가변 영역을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 단일 벡터는 본원에 따른 중쇄 가변 영역 및 본원에 따른 경쇄 가변 영역을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다.

[0376] 본 발명의 결합 분자(예를 들어, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편)를 발현하기 위해, 부분 또는 전체 길이의 경쇄 및 중쇄를 코딩하는 DNA를 발현 벡터에 삽입하여 DNA 분자를 전사 및 번역 제어 서열에 작동 가능하게 연결시킨다. 이러한 맥락에서, 용어 "작동 가능하게 연결"은 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편 유전자를 벡터에 연결하여 상기 벡터 내의 전사 및 번역 제어 서열이 DNA 분자의 전사 및 번역의 조절에 필요한 기능을 제공하도록 하는 것을 의미한다. 발현 벡터 및 발현 제어 서열은 사용된 발현 숙주 세포와 접합하도록 선택된다. 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편 경쇄 유전자 및 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편 중쇄 유전자를 별도의 벡터에 삽입할 수 있거나, 2가지 유전자를 동일한 발현 벡터에 삽입할 수 있다. 임의의 적합한 방법(예를 들어, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편 유전자 단편 및 벡터의 상보적 제한 부위 라이게이션, 또는 상동 재조합 기반 DNA 라이게이션)을 통해 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편 유전자를 발현 벡터에 삽입한다. 본원에 따른 항체, 항원 결합 단편 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 사용하여 코딩에 필요한 이소형 및 서브클래스의 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역의 발현 벡터에 삽입하여 VH 세그먼트를 상기 벡터 내의 CH 세그먼트에 작동 가능하게 연결하고 VL 세그먼트를 상기 벡터 내의 CL 세그먼트에 작동 가능하게 연결함으로써 임의의 항체 이소형 및 서브클래스의 전장 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 유전자를 구축할 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 재조합 발현 벡터는 숙주 세포로부터 유래되는 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 사슬의 분비를 촉진하는 신호 펩티드를 코딩할 수 있다. 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 사슬 유전자를 벡터 내로 클로닝하여 신호 펩티드가 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 사슬 유전자의 아미노 말단에 인프레임으로 연결되도록 할 수 있다. 상기 신호 펩티드는 면역글로불린 신호 펩티드 또는 이종 신호 펩티드(즉, 비면역글로불린으로부터 유래된 신호 펩티드)일 수 있다.

[0377] 항체 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 사슬 유전자에 더하여, 본 발명의 발현 벡터는 일반적으로 숙주 세포에서 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 사슬 유전자의 발현을 제어하는 조절 서열을 운반한다. 용어 "조절 서열"은 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 사슬 유전자의 전사 또는 번역을 제어하는 프로모터, 인핸서 및 다른 발현 제어 요소(예를 들어, 폴리아데닐화 신호)를 포함하도록 의도된다. 이러한 조절 서열은 예를 들어 Goeddel (Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990))에 기술되어 있다. 당업자라면 발현 벡터의 설계(조절 서열의 선택을 포함)는 형질전환될 숙주 세포의 선택, 원하는 단백질의 발현 수준 등과 같은 요인에 따라 달라질 수 있음을 이해해야 한다. 포유동물 숙주 세포 발현을 위한 조절 서열의 구현예에는 거대세포바이러스(CMV), 유인원 바이러스(Simian Virus) 40 (SV40), 아데노바이러스(예를 들어, 아데노바이러스 주요 후기 프로모터(AdMLP)) 및 폴리마로부터 유래된 것과 같은 포유동물 세포에서 높은 수준의 단백질 발현을 지시하는 바이러스 요소의 프로모터 및/또는 인핸서를 포함한다. 또는, 유비퀴틴(ubiquitin) 프로모터 또는 β-글로빈 프로모터와 같은 비바이러스 조절 서열이 사용될 수 있다. 또한, 조절 요소는 SV40 초기 프로모터의 서열과 인간 T 세포 백혈병 바이러스 1형의 긴 말단 반복 서열을 포함하는 SR 프로모터 시스템과 같은 다양한 소스의 서열로 구성된다(Takebe, Y. et al.(1988)Mol. Cell. Biol.8:466-472).

[0378] 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 사슬 유전자 및 조절 서열 외에도, 발현 벡터는 숙주 세포에서 벡터의 복제를 조절하는 서열(예를 들어, 복제 기원) 및 선택적 마커 유전자와 같은 추가 서열을 보유할 수 있다. 선택적 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포의 선택을 용이하게 한다(예를 들어, 미국 특허 제4,399,216호, 제4,634,665호 및 제5,179,017호, 모두 Axel et al. 참조). 예를 들어, 일반적으로 선택적 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포에 약물(예를 들어, G418, 하이그로마이신(hygromycin) 또는 메토트렉세이트)에 대한 내성을 부여한다. 선택적 마커 유전자에는 디히드로엽산 환원효소(DHFR) 유전자(메토트렉세이트를 함유한 dhfr-숙주 세포 선택/증폭용) 및 neo 유전자(G418 선택용)가 포함된다.

[0379] 경쇄 및 중쇄의 발현을 위해, 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 발현 벡터는 임의의 적합한 기술에 의해 숙주 세포 내로

형질감염된다. 용어 "형질감염"의 다양한 형태는 외인성 DNA를 원핵 또는 진핵 숙주 세포에 도입하기 위해 일반적으로 사용되는 다양한 기술, 예를 들어 전기천공, 인산칼슘 침전, DEAE-덱스트란 형질감염 등을 포괄하도록 의도된다. 원핵 또는 진핵 숙주 세포에서 본 발명의 항체 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 발현하는 것이 가능하지만, 진핵 세포 및 일반적으로 포유동물 숙주 세포에서 항체 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 발현은 가장 전형적이다.

[0380] 본 발명은 본 발명에 의해 제공된 폴리뉴클레오티드를 함유하는 숙주 세포를 더 제공한다. 숙주 세포는 발현 벡터를 이용할 수 있는 사실상 모든 세포일 수 있다. 예를 들어, 이는 고등 진핵 숙주 세포(예를 들어, 포유동물 세포), 하등 진핵 숙주 세포(예를 들어, 효모 세포)일 수 있고, 원핵 세포(예를 들어, 박테리아 세포)일 수 있다. 숙주 세포 내로의 재조합 폴리뉴클레오티드의 도입 방법은 인산칼슘 예를 들어 형질감염, DEAE, 덱스트란 매개 형질감염, 전기천공 또는 파지 감염을 포함한 당업계에 공지된 방법이다.

[0381] 형질전환에 적합한 원핵 숙주에는 대장균, 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis), 살모넬라 티피뮤리움(Salmonella typhimurium) 및 슈도모나스(Pseudomonas), 연쇄상구균(Streptomyces) 및 포도상구균(Staphylococcus) 속의 당야한 종이 포함된다.

[0382] 본 발명의 결합 분자(예를 들어, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편)를 발현하기 위한 포유동물 숙주 세포는 예를 들어 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포(Urlaub 및 Chasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220 (1980)에 기술되어 있으며, 예를 들어 Kaufman 및 Sharp, J. Mol. Biol. 159:601-621 (1982)에 기술된 바와 같이 DHFR 선택적 마커와 함께 사용되는 dhfr-CHO 세포를 포함), NSO 골수종 세포, COS 세포 및 Sp2 세포를 포함한다. 구체적으로, NSO 골수종 또는 CHO 세포와 함께 사용하기 위한 다른 발현 시스템은 WO 87/04462, WO 89/01036 및 EP 338,841에 개시된 GS(글루타민 합성효소) 유전자 발현 시스템이다. 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 유전자를 코딩하는 발현 벡터를 포유동물 숙주 세포에 도입하는 경우, 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)가 숙주 세포에서 발현되거나 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)가 숙주 세포가 성장하는 배지로 분비되도록 하기에 충분한 시간 동안 숙주 세포를 배양하여 항체 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 생산한다. 임의의 적합한 단백질 정제 방법을 사용하여 배지에서 항체 및 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 회수할 수 있다.

[0383] 본 발명은 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편의 제조 방법을 더 제공하며, 상기 방법은, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편을 생산하기에 적합한 조건에서 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 방법은 상기 세포에 의해 생산된 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체), 또는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 회수하는 단계를 더 포함한다.

[0384] E. 항-CD47 항체 및 마스킹된 항체를 포함하는 조성물

[0385] 다른 측면에서, 본 출원은 본원에 따른 결합 분자(예를 들어, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편)를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 측면에서, 상기 조성물은 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물이다. 이러한 조성물은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0386] 용어 "약학적으로 허용 가능한 담체"는 결합 분자(예를 들어, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편)의 전달을 위한 제제에 사용하기에 적합한 임의의 불활성 물질을 의미한다. 담체는 항부착제, 결합제, 코팅제, 붕해제, 충진제 또는 희석제, 방부제(예를 들어, 항산화제, 항균제 또는 항진균제), 감미제, 흡수 지연제, 습윤제, 유화제, 완충제 등일 수 있다. 적합한 약학적으로 허용 가능한 담체의 구현예는 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등), 포도당, 식물성 기름(예를 들어, 올리브 오일), 식염수, 완충액, 완충 식염수 및 등장화제, 예를 들어, 설탕, 폴리알코올, 소르비톨, 염화나트륨을 포함한다.

[0387] 상기 조성물은 액체, 반고체 및 고체 제형과 같은 임의의 적합한 형태일 수 있다. 액체 제형의 구현예는 용액(예를 들어, 주사 가능 및 주입 가능 용액), 마이크로에멀젼, 리포솜, 분산액 또는 현탁액을 포함한다. 고체 제형의 구현예는 정제, 환제, 캡슐, 마이크로캡슐 및 산제를 포함한다. 결합 분자(항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편)를 전달하는 데 적합한 조성물의 특정 형태는 주사 또는 주입을

위한 용액, 현탁액 또는 분산액과 같은 멸균 액체이다. 적절한 담체에 필요한 양의 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편을 통합한 후 멸균 정밀여과를 수행하여 멸균 용액을 제조할 수 있다. 일반적으로, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편을 기본 분산 매질 및 다른 담체를 함유한 멸균 비히클에 통합하여 분산액을 제조한다. 멸균 액체 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 제조 방법은 진공 건조 및 냉동 건조(동결 건조)시켜 활성 성분과 이전에 멸균 여과된 용액으로부터 임의의 다른 원하는 성분의 분말을 생성하는 것을 포함한다. 조성물의 다양한 제형은 당업계에 공지된 통상적인 기술에 의해 제조될 수 있다.

[0388] 조성물에 포함된 결합 분자(예를 들어, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편)의 상대적인 양은 특정 결합 분자 및 사용된 담체, 제형, 원하는 방출 및 약력학적 특성과 같은 다양한 요인에 따라 달라질 것이다. 단일 제형 내 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편의 양은 일반적으로 치료 효과를 생성하는 양이지만 더 적은 양일 수도 있다. 일반적으로, 이 양은 제형의 총 중량에 대해 약 0.01% 내지 약 99%, 약 0.1% 내지 약 70% 또는 약 1% 내지 약 30% 범위일 것이다.

[0389] 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편 외에, 하나 이상의 추가 치료제가 조성물에 포함될 수 있다. 추가 치료제의 구현예는 본원에 설명되어 있다. 조성물에 포함될 추가 치료제의 적합한 양은 당업자에 의해 용이하게 선택될 수 있으며, 사용되는 특정 제제 및 담체, 제형 및 원하는 방출 및 약력학적 특성과 같은 다양한 요인에 따라 달라질 것이다. 방출 및 약력학적 특성. 단일 제형에 포함된 추가 치료제의 양은 일반적으로 치료 효과를 생성하는 제제의 양이지만, 더 적은 양일 수도 있다.

[0390] F. 항-CD47 항체 및 마스킹된 항체의 사용 방법

[0391] 본 발명에 의해 제공된 결합 분자(예를 들어, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)) 및 약학적 조성물은 치료, 진단 또는 면역 반응 조절, 암 치료 및 다른 암 치료 효능 강화와 같은 다른 목적으로 사용될 수 있다. 따라서, 다른 측면에서, 본 발명은 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체), 항원 결합 단편 또는 이의 약학적 조성물의 사용 방법을 제공한다. 일 측면에서, 본 발명은 본 발명에 의해 제공된 치료적 유효량의 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편을 치료가 필요한 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 대상체에서 병증을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시예에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시예에서, 유효량의 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편의 투여는 대상체에서 적혈구(RBCs)(예를 들어, 인간 적혈구)의 응집(예를 들어, 클러스터링)을 유발하지 않는다. 일부 실시예에서, 유효량의 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편의 투여는 대상체에서 빈혈을 유발하지 않는다.

[0392] 일부 실시예에서, 치료적 유효량의 본 발명에 의해 제공된 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 대상체에서 암(예를 들어, CD47-양성 암)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시예에서, 치료적 유효량의 마스킹된 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 대상체에서 암(예를 들어, CD47-양성 암)을 치료하는 방법이 제공되며, 상기 마스킹된 항체는, (a) N-말단에서 C-말단까지 마스킹 모이어티(MM) 및 연결 모이어티(LM)를 포함하는 마스킹 펩티드; (b) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고 인간 CD47에 결합하는 표적 결합 모이어티(TBM); (c) IgG1 Fc 영역 또는 향상된 항체 의존성 세포독성(ADCC) 활성을 갖는 IgG Fc 영역을 포함하고, 여기서, 마스킹 펩티드는 VH 또는 VL의 N-말단에 연결되며, 여기서, 상기 MM은 TBM에 결합하기 위해 인간 CD47과 경쟁한다. 일부 실시예에서, TBM은 본원에 따른 임의의 항-CD47 항체의 에피토프에 경생적으로 결합한다. 일부 실시예에서, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편은 CD47 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 이의 항원 결합 단편이고 대상체는 인간이다. 악성이든 양성이든, 원발성이든 이차성이든 다양한 CD47-양성 암(즉, CD47과 관련된 암)은 모두 본 발명에 의해 제공된 방법으로 치료 또는 예방될 수 있다. 이러한 암의 구현예는 림프종(예를 들어, 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL), 림프성 신생물 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBC), 맨틀 세포 림프종, 변연 세포 림프종, 비호지킨 림프종, 다발성 B 세포 비호지킨 림프종 아형(NHL)(예를 들어, 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL), B 세포 만성 림프구성 백혈병(B-CLL), 맨틀 세포 림프종(MCL), 여포성 림프종(FL), 변연부 림프종(MZL) 및 pre-B 급성 림프구성 백혈병(Pre-B ALL)), 백혈병(예를 들어, 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병 및 만성 골수성 백혈병(CML)), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종 (HNSC)), 위암(예를 들어, 위암, 엡스타인-바 바이러스 관련 위암종(EBVaGC), 및 Her2+위식도접합부암(GEJ)암), 유방암(예를 들어, 유방 침윤성 암종(BRCA), HER2+유방암, 호르몬 수용체 양성 유방암, 삼중 음성 유방암(TNBC)), 자궁경부암(예를 들어, 자궁경부 편평상피세포암종 및 자궁경관내막선암(CESC)), 담관암종(CHOL), 결장암(예를 들어, 결장 선암종(COAD)), 난소

암(예를 들어, 난소 장액성 낭선암종(OV), 난소 투명 세포 암종, 상피성 난소암), 갑상선암(예를 들어, 갑상선암(THCA)), 자궁암(예를 들어, 자궁내막암(UCEC)), 자궁내막암, 폐암(예를 들어, 폐 선암종(LUAD), 폐 편평 세포 암종 (LUSC), 소세포폐암(SCLC) 및 비소세포폐암(NSCLC)), 중피종, 췌장암(예를 들어, 췌장 선암종(PAAD) 및 췌장 관 선암종(PDAC)), 방광암(예를 들어, 근육 침습성 방광암(MIBC), 비근육 침습성 방광암(NMIBC)), 뇌암(예를 들어, 신경교종), 식도암, 신장암, 간암(예를 들어, 간세포암종(HCC)), 흑색종, 전립선암, 골수종(예를 들어, 다발성 골수종), 골암(예를 들어, 골육종), 근육암(예를 들어, 평활근육종) 및 골수이형성증후군(MDS)을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0393] 다른 측면에서, 본 발명은 대상체의 면역 반응을 강화시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의 본 발명에 의해 제공된 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편은 CD47 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 이의 항원 결합 단편이고 상기 대상체는 인간이다. 용어 "면역 반응 강화" 또는 그 문법적 변형은 대상체의 면역 체계의 임의의 반응을 자극, 유발, 증가, 향상 또는 강화시키는 것을 의미한다. 상기 면역 반응은 세포성 반응(즉, 세포독성 T 림프구 매개와 같은 세포 매개) 또는 체액성 반응(즉, 항체 매개)일 수 있으며, 1차 또는 2차 면역 반응일 수 있다. 면역 반응 강화의 구현예는 CD4+조절 T 세포 활성 증가 및 세포용해 T 세포의 생성을 포함한다. 면역 반응의 강화는 당업자에게 공지된 많은 시험관 내 또는 생체 내 측정을 통해 평가할 수 있으며, 이러한 측정은 세포독성 T 림프구 검정, 사이토카인 방출(예를 들어, IL-2 생성), 종양 퇴행, 종양 보유 동물의 생존, 항체 생산, 면역 세포 증식, 세포 표면 마커의 발현, 및 세포독성(예를 들어, 항체 의존성 세포독성(ADCC)을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 일반적으로, 처리되지 않은 대상체 또는 상기 방법으로 처리되지 않은 대상체의 면역 반응과 비교하여, 본 발명의 방법은 대상체의 면역 반응을 강화시킨다. 일 실시예에서, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편은 미생물 병원체(예를 들어, 바이러스)에 대한 인간의 면역 반응을 강화시키는 데 사용된다. 다른 실시예에서, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편은 백신에 대한 인간의 면역 반응을 강화시키는 데 사용된다. 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편은 미생물 병원체(예를 들어, 바이러스) 또는 백신에 대한 인간의 면역 반응을 강화시키는 데 사용될 수 있다.

[0394] 치료 방법을 실시함에 있어서, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편은 단독 요법으로서 단독으로 투여되거나 하나 이상의 추가 치료제 또는 요법과 조합하여 투여될 수 있다. 따라서, 다른 측면에서, 본 발명은 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편과 하나 이상의 추가 요법 또는 치료제를 조합하여 별도의, 순차적 또는 동시 투여하는 것을 포함하는 병용 요법을 제공한다. 용어 "추가 요법"은 본 발명에 의해 제공된 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편을 치료제로 사용하지 않는 요법을 의미한다. 용어 "추가 치료제"는 본 발명에 의해 제공된 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편을 제외한 임의의 치료제를 의미할 수 있다. 특정 측면에서, 본 발명은 대상체에서 암을 치료하기 위한 병용 요법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의 본원에 의해 제공된 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편과 하나 이상의 추가 치료제의 조합을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 대상체는 인간이다.

[0395] 본 발명에 의해 제공된 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편은 다양한 암 치료제와 조합하여 사용될 수 있다. 당업자는 본 발명에 의해 제공된 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편과 조합하여 사용될 수 있는 암의 다양한 요법의 존재 및 개발을 인식할 것이며, 본원에 명시된 요법 형태로 제한되지 않는다. 암을 치료하기 위해 사용된 이전 요법(표준 요법 포함)의 부류의 구현예는 (1) 화학요법제, (2) 면역요법제, 및 (3) 호르몬 치료제를 포함한다.

[0396] 용어 "화학요법제"는 암세포 사멸을 유발하거나 암세포의 성장, 분열, 복구 및/또는 기능을 방해할 수 있는 화학적 또는 생물학적 물질을 의미한다. 화학요법제의 구현예는 WO 2006/129163 및 US 20060153808에 개시된 화학요법제를 포함하며, 이 특허들의 개시 내용은 참조로서 본원에 인용된다. 특정 화학요법제의 구현예는, (1) 클로람부실(LEUKERAN), 사이클로포스파미드(CYTOXAN), 이포스파미드(IFEX), 메클로레타민 염산염(MUSTARGEN), 티오테파(THIOPLEX), 스트렙토조토신(ZANOSAR), 카르무스틴(BICNU, GLIADEL WAFER), 로무스틴(CEENU) 및 다카르바진(DTIC-DOME)과 같은 알킬화제; (2) 세포독성 항생제를 포함한 알칼로이드 또는 식물성 빈카 알칼로이드, 예를 들어, 독소루비신(ADRIAMYCIN), 에피루비신(ELLENCE, PHARMORUBICIN), 다우노루비신(CERUBIDINE, DAUNOXOME), 네모루비신, 이다루비신(IDAMYCIN PFS, ZAVEDOS), 미톡산트론(DHAD, NOVANTRONE), 닥티노마이신(악티노마이신 D, COSMEGEN), 플리카마이신(MITHRACIN), 미토마이신(MUTAMYCIN), 블레오마이신(BLENOXANE), 비

노렐빈 타르트레이트(NAVELBINE), 빈블라스틴(VELBAN), 빈크리스틴(ONCOVIN) 및 빈데신(ELDISINE); (3) 카페시타빈(XELODA), 시타라빈(CYTOSAR-U), 플루다라빈(FLUDARA), 젬시타빈(GEMZAR), 수산화요소(HYDRA), 메토트렉세이트(FOLEX, MEXATE, TREXALL), 넬라라빈(ARRANON), 트리메트렉세이트(NEUTREXIN) 및 페메트렉시드(ALIMTA)와 같은 항대사물질; (4) 5-플루오로우라실(5-FU); 카페시타빈(XELODA), 랄티트렉세드(TOMUDEX), 테가푸르우라실(UFTORAL) 및 젬시타빈(GEMZAR)과 같은 피리미딘 길항제; (5) 도세탁셀(TAXOTERE), 파클리탁셀(TAXOL)과 같은 탁산; (6) 시스플라틴(PLATINOL) 및 카보플라틴(PARAPLATIN) 및 옥살리플라틴(ELOXATIN)과 같은 백금 약물; (7) 이리노테칸(CAMPTOSAR), 토포테칸(HYCAMTIN), 에토포사이드(ETOPOPHOS, VEPESSID, TOPOSAR) 및 테니포사이드(VUMON)와 같은 토포이소머라제 억제제; (8) 에토포사이드(ETOPOPHOS, VEPESSID, TOPOSAR)와 같은 에피포도필로톡신(포도필로톡신 유도체); (9) 류코보린(WELLCOVORIN)과 같은 엽산 유도체; (10) 카르무스틴(BiCNU), 로무스틴(CeeNU)과 같은 니트로소우레아; (11) 표피 성장 인자 수용체(EGFR), 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 인슐린 수용체, 인슐린 유사 성장 인자 수용체(IGFR), 간세포 성장 인자 수용체(HGFR) 및 혈소판 유래 성장 인자 수용체(PDGFR)를 포함한 수용체 티로신 키나제 억제제, 예를 들어, 게피티닙(IRESSA), 에를로티닙(TARCEVA), 보르테조밉(VELCADE), 이마티닙 메실레이트(GLEEVEC), 제네피티닙, 라파티닙, 소라페닙, 탈리도마이드, 수니티닙(SUTENT), 악시티닙, 리툭시맙(RITUXAN, MABTHERA), 트라스투주맙(HERCEPTIN), 세툭시맙(ERBITUX), 베바시주맙(AVASTIN) 및 라니비주맙(LUCENTIS), LYM-1(ONCOLYM), WO2002/053596에 개시된 인슐린 유사 성장 인자-1 수용체(IGF-1R)에 대한 항체); (12) 베바시주맙(AVASTIN), 수라민(GERMANIN), 안지오스타틴, SU5416, 탈리도마이드, 및 매트릭스 메탈로프로테아제 억제제(예를 들어, 바티마스타트 및 마리마스타트), 및 WO2002055106에 개시된 것들과 같은 혈관 신생 억제제; 및 (13) 보르테조밉(VELCADE)과 같은 프로테아좀 억제제를 포함한다.

[0397] 용어 "면역요법제"는 포유동물의 면역 반응을 강화시킬 수 있는 화학적 또는 생물학적 물질을 의미한다. 면역요법제의 구현예는 바실러스 칼메트-구에린(BCG); 인터페론과 같은 사이토카인; MyVax 맞춤형 면역요법, Onyvax-P, Oncophage, GRNVAC1, FavId, Provenge, GVAX, LovaxinC, BiovaxID, GMXX, 및 NeuVax와 같은 백신; 및 알렘투주맙(alemtuzumab)(CAMPATH), 베바시주맙(AVASTIN), 세툭시맙(ERBITUX), 젬투주맙 오조가미신(gemtuzunab ozogamicin)(MYLOTARG), 이브리투모맙 티욱세탄(ibritumomab tiuxetan)(ZEVALIN), 파니투무맙(VECTIBIX), 리툭시맙(RITUXAN, MABTHERA), 트라스투주맙(HERCEPTIN), 토시투모맙(tositumomab)(BEXXAR), 이필리무맙(ipilimumab; YERVOY), 트레멜리무맙(tremelimumab), CAT-3888, OX40 수용체에 대한 작용제 항체(예를 들어, WO2009/079335에 개시된 것들), CD40 수용체에 대한 작용제 항체(예를 들어, WO2003/040170에 개시된 것들, 및 TLR-9 작용제(예를 들어, WO2003/015711, WO2004/016805, 및 WO2009/022215에 개시된 것들)와 같은 항체를 포함한다.

[0398] 용어 "호르몬 치료제"는 호르몬의 생성을 억제 또는 제거하거나, 암세포의 성장 및/또는 생존에 대한 호르몬의 효과를 억제 또는 방해하는 화학적 또는 생물학적 물질을 의미합니다. 본원의 방법에 적합한 이러한 시약의 구현예는 US20070117809에 개시된 것들을 포함한다. 특정 호르몬 치료제의 구현예는 타목시펜(tamoxifen)(NOLVADEX), 토레미펜(toremifene)(FARESTON), 풀베스트란트(fulvestrant)(FASLODEX), 아나스트로졸(anastrozole)(ARIMIDEX), 엑세메스탄(exemestane)(AROMASIN), 레트로졸(letrozole)(FEMARA), 메게스트롤 아세테이트(MEGACE), 고세렐린(goserelin)(ZOLADEX) 및 류프롤리드(leuprolide)(LUPRON)를 포함한다. 본 발명의 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편은 또한 (1) 난소, 고환, 부신 및 뇌하수체 등 호르몬 생산에 참여하는 기관이나 분비샘의 전부 또는 일부를 제거하는 수술 방법; 및 (2) 환자의 기관이나 분비샘에 표적 호르몬의 생성을 억제하거나 제거하기에 충분한 양의 방사선을 조사하는 방사선 치료와 같은 비약물 호르몬 요법과 조합하여 사용될 수 있다.

[0399] 암 치료를 위한 병용 요법은 또한 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편과 종양 제거 수술의 조합을 포함한다. 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편은 수술 전, 수술 도중 또는 수술 후에 대상체에게 투여될 수 있다.

[0400] 암 치료를 위한 병용 요법은 또한 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편과 방사선 요법(예를 들어, 이온화(전자기) 방사선 요법(예를 들어, X-선 또는 감마선) 및 입자빔 방사선 요법(예를 들어, 고선형 에너지 방사선))의 조합을 포함한다. 방사선원은 대상체의 외부일 수도 있고 내부일 수도 있다. 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편은 방사선 요법 전, 도중 또는 후에 대상체에게 투여될 수 있다.

[0401] 본 발명에 의해 제공된 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편 및 조성물은 임의의 적합한 장내 경로 또는 비경구 투여 경로를 통해 투여될 수 있다. 투여의 "장내 경로"라는 용어는 위장

관의 임의의 부분을 통한 투여 경로를 의미한다. 장내 경로의 구현예는 경구, 점막, 협측 및 직장 경로 또는 위내 경로를 포함한다. 투여의 "비경구 투여 경로"라는 용어는 장내 경로 이외의 투여 경로를 의미한다. 비경구 투여 경로의 구현예는 정맥내, 근육내, 피내, 복강내, 종양내, 방광내, 동맥내, 경막내, 피막내, 안와내, 심장내, 경기관, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내, 피하 또는 국소 투여 경로를 포함한다. 본 발명의 항체, 항원 결합 단편, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 및 조성물은 경구, 비위관, 위루관, 주사, 주입, 이식형 주입 펌프 및 삼투압 펌프와 같은 임의의 적합한 방법으로 사용하여 투여될 수 있다. 적합한 투여 경로 및 방법은 사용 중인 특정 항체, 항원 결합 단편, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체), 원하는 흡수 속도, 사용된 특정 제제 또는 제형, 치료 중인 병증의 유형 또는 중증도, 특정 작용 부위 및 환자 상태와 같은 다양한 요인에 따라 달라질 수 있으며, 당업자에 의해 용이하게 선택될 수 있다.

[0402] 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편의 "치료적 유효량"이라는 용어는 의도된 치료 목적에 효과적인 양을 의미한다. 예를 들어, 면역 반응을 강화시키는 맥락에서, "치료적 유효량"은 대상체의 면역 체계의 임의의 반응을 자극, 유발, 증가, 향상 또는 강화시키는 데 효과적인 임의의 양일 수 있다. 질환을 치료하는 맥락에서, "치료적 유효량"은 치료되는 대상체에게 바람직하거나 유익한 임의의 효과를 유발하기에 충분한 임의의 양일 수 있다. 구체적으로, 암 치료에 있어서 바람직하거나 유익한 효과의 구현예는 암세포의 추가 성장 또는 확산 억제, 암세포의 사멸, 암 재발 억제, 암과 관련된 통증 감소, 또는 대상체의 생존 향상을 포함한다. CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 치료적 유효량 범위는 일반적으로 약 0.001 내지 약 500 mg/kg, 예를 들어 약 0.01 내지 약 100 mg/kg 대상체(예를 들어, 사이노몰거스 원숭이)의 체중이다. 일부 실시예에서, CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 약 0.01 내지 60 mg/kg 대상체(예를 들어, 사이노몰거스 원숭이)의 체중, 예를 들어 약 0.01-1 mg/kg, 1-10 mg/kg 또는 10-60 mg/kg 대상체(예를 들어, 사이노몰거스 원숭이)의 체중 중 어느 하나의 용량으로 투여된다. 예를 들어, CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 적어도 약 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.6 mg/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg 또는 30 mg/kg 대상체(예를 들어, 사이노몰거스 원숭이)의 체중 중 어느 하나의 용량으로 투여된다. 일부 실시예에서, CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 0.6 mg/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 40 mg/kg, 50 mg/kg 또는 60 mg/kg 대상체(예를 들어, 사이노몰거스 원숭이)의 체중 중 어느 하나를 초과하지 않는 용량으로 투여된다. 일부 실시예에서, CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 적어도 0.6 mg/kg 대상체의 체중의 용량으로 투여된다. 투여될 정확한 용량 수준은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며 치료할 병증의 유형 및 중증도, 특정 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편, 투여 경로, 투여 시간, 치료 기간, 사용된 특정 추가 요법, 치료 중인 환자의 나이, 성별, 체중, 상태, 일반적인 건강 상태 및 이전 병력과 같은 많은 요인, 및 의료 기술 분야에서 잘 알려진 유사한 요인에 따라 달라질 것이다.

[0403] 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체), 또는 항원 결합 단편 또는 조성물은 일반적으로 다양한 경우에 투여된다. 단일 투여 사이의 간격은 예를 들어 매주, 매월, 3개월마다 또는 매년일 수 있다. 예시적인 치료 요법은 1주에 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 1개월에 1회, 3개월에 1회 또는 3~6개월에 1회 투여를 필요로 한다. CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)에 대한 일반적인 투여 요법은 정맥 투여를 통해 체중 kg당 1mg 또는 체중 kg당 3mg을 투여하는 것을 포함하고, (i) 6회 투여량의 경우 4주마다, 그 다음에는 3개월마다; (ii) 3주마다; (iii) 3주마다 체중 kg당 3mg을 1회 투여한 후 3주마다 체중 kg당 1mg을 투여; 중 하나의 투여 일정을 사용한다. 일부 실시예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)는 적어도 3주마다 1회 투여된다. 일부 실시예에서, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편은 적어도 2주마다 1회 투여된다. 일부 실시예에서, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편를 포함하는 약학적 조성물은 적어도 3주마다 1회 투여된다. 일부 실시예에서, 항체, 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 항원 결합 단편를 포함하는 약학적 조성물은 적어도 2주마다 1회 투여된다.

[0404] G.제품 및 키트

[0405] 본 발명의 일부 실시예에서, CD47-양성 질환(예를 들어, 암)을 치료하기 위한 물질을 함유하는 제품이 제공된다. 상기 물질은 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 표면에 CD47을 발현하는 세포에 전달하기 위해 사용된다. 제품은 용기 및 용기 상에 있거나 용기와 관련된 라벨 또는 포장 삽입물을 포함할 수 있다. 적합한 용기는 예를 들어 병, 바이알, 주사기 등을 포함한다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 형성될 수 있다. 일반적으로, 용기는 본원에 따른 암 치료에 효과적인 조

성물을 수용하고 멸균 접근 포트를 가질 수 있다(예를 들어, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개가 있는 바이알일 수 있음). 조성물 중 적어도 하나의 활성제는 본 발명의 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)구축물이다. 상기 라벨 또는 포장 삽입물에는 상기 조성물이 상기 특정 병증을 치료하는 데 사용된다는 내용이 나와 있다. 라벨 또는 포장 삽입물은 또한 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 조성물을 환자에게 투여하기 위한 지침을 포함한다. 본원에 따른 병용 요법을 포함하는 제품 및 키트도 고려된다.

[0406] 포장 삽입물은 해당 치료 제품의 사용과 관련된 적응증, 사용법, 용량, 투여, 금기 사항 및/또는 경고에 관한 정보를 포함하는 치료 제품의 상업용 패키지에 관례적으로 포함된 지침을 의미한다. 일부 실시예에서, 포장 삽입물에는 해당 조성물이 암을 치료하는 데 사용된다는 것을 내용이 나와 있다.

[0407] 또한, 상기 제품은 정균 주사용수(BWFI), 인산염 완충 식염수, 링거 용액 및 포도당 용액과 같은 약학적으로 허용 가능한 완충액을 포함하는 제2 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이는 다른 완충액, 희석제, 필터, 바늘 및 주사기를 포함하여 상업적 및 사용자 관점에서 원하는 다른 재료를 추가로 포함할 수 있다.

[0408] 또한 키트가 제공되며, 상기 키트는 본원에 따른 CD47-양성 질환 또는 장애를 치료하는 것, 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 표면에 CD47을 발현하는 세포에 전달하는 것과 같은 다양한 목적으로 사용할 수 있고, 선택적으로 제품과 조합하여 사용된다. 본 출원의 키트는 하나 이상의 용기를 포함하고, 상기 용기는 본원에 따른 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 조성물(또는 단위 제형 및/또는 제품)을 포함하며, 일부 실시예에서, 키트는 본원에 따른 임의의 방법에 따른 다른 제제(예를 들어, 하나 이상의 추가 치료제) 및/또는 지침을 추가로 포함한다. 키트는 치료를 위해 선택된 개체에 대한 설명을 추가로 포함할 수 있다. 본 출원의 키트에 제공된 지침은 일반적으로 라벨 또는 포장 삽입물(예를 들어, 키트에 포함된 종이 시트)에 작성된 지침이지만, 기계 판독 가능 지침(예를 들어, 자기 또는 광학 저장 디스크에 담긴 지침)도 허용된다.

[0409] 예를 들어, 일부 실시예에서, 키트는 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 포함하는 조성물을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 키트는, a) 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 포함하는 조성물, 및 b) 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 효과(예를 들어, 치료 효과)를 강화시키기 위한 유효량의 적어도 하나의 다른 시약을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 키트는, a) 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 포함하는 조성물, 및 b) CD47-양성 질환(예를 들어, 암)을 치료하기 위해 개체에게 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 조성물을 투여하기 위한 지침을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 키트는, a) 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 포함하는 조성물, b) 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 효과(예를 들어, 치료 효과)를 강화시키기 위한 유효량의 적어도 하나의 다른 시약, 및 c) CD47-양성 질환(예를 들어, 암)을 치료하기 위해 개체에게 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 조성물 및 다른 시약을 투여하기 위한 지침을 포함한다. 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 및 다른 시약은 별도의 용기 또는 단일 용기에 존재할 수 있다. 예를 들어, 상기 키트는 하나의 별개의 조성물 또는 2개 이상의 조성물을 포함할 수 있으며, 여기서, 하나의 조성물은 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 포함하고, 다른 하나의 조성물은 다른 시약을 포함한다.

[0410] 일부 실시예에서, 키트는 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 이의 하나 이상의 폴리펩티드 부분(예를 들어, CDR, VH, VR, 중쇄, 경쇄, 마스킹 펩티드, Fc 영역 등)을 코딩하는 핵산(또는 핵산 세트)을 포함한다. 일부 실시예에서, 키트는, a) 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 이의 하나 이상의 폴리펩티드 부분을 코딩하는 핵산(또는 핵산 세트), 및 b) 핵산(또는 핵산 세트)을 발현하기 위한 숙주 세포를 포함한다. 일부 실시예에서, 키트는, a) 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 이의 하나 이상의 폴리펩티드 부분을 코딩하는 핵산(또는 핵산 세트), 및 b) i) 숙주 세포에서 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 발현시키고, ii) 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체), 또는 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 발현하는 숙주 세포를 포함하는 조성물을 준비하며, iii) 암과 같은 CD47-양성 질환을 치료하기 위해 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체), 또는 상기 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 발현하는 숙주 세포를 포함하는 조성물을

투여하기 위한 지침을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 숙주 세포는 개체로부터 유래된다. 일부 실시예에서, 키트는, a) 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 이의 하나 이상의 폴리펩티드 부분을 코딩하는 핵산(또는 핵산 세트), b) 핵산(또는 핵산 세트)을 발현하기 위한 숙주 세포, 및 c) i) 숙주 세포에서 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 발현시키고, ii) 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체), 또는 상기 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 발현하는 숙주 세포를 포함하는 조성물을 준비하며, iii) 암과 같은 CD47-양성 질환을 치료하기 위해 상기 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체), 또는 상기 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)를 발현하는 숙주 세포를 포함하는 조성물을 투여하기 위한 지침을 포함한다. 일부 실시예에서, 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 이의 하나 이상의 폴리펩티드 부분의 발현은 유도 가능하다. 일부 실시예에서, 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 또는 이의 하나 이상의 폴리펩티드 부분을 코딩하는 핵산(또는 핵산 세트)은 유도성 프로모터의 제어를 받는다.

[0411] 본 출원의 키트는 적합한 포장에 들어 있다. 적합한 포장에는 바이알, 병, 단지, 유연한 포장(예를 들어, 밀봉된 마일라 또는 비닐 봉지) 등이 포함되지만 이에 한정되지 않는다. 키트는 선택적으로 다른 성분(예를 들어, 완충액) 및 해석 정보를 제공한다. 따라서, 본 출원은 또한 바이알(예를 들어, 밀봉된 바이알), 병, 단지, 유연한 포장 등을 포함하는 제품을 제공한다.

[0412] 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체) 조성물의 사용과 관련된 지침에는 일반적으로 의도된 치료를 위한 투여량, 투여 계획 및 투여 경로에 대한 정보가 포함된다. 용기는 단위 용량, 벌크 패키지(예를 들어, 다중 용량 패키지) 또는 하위 단위 용량일 수 있다. 예를 들어, 1주, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 3개월, 4개월, 5개월, 7개월, 8개월, 9개월 또는 그 이상 중 어느 하나와 같은 연장된 기간 동안 개체의 효과적인 치료를 제공하기 위해 본 발명에 개시된 바와 같은 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 충분한 용량을 함유하는 키트가 제공될 수 있다. 키트는 또한 항-CD47 항체, 항원 결합 단편 또는 마스킹된 항체(예를 들어, 활성화 가능 항체)의 다중 단위 용량 및 약학적 조성물 및 사용 지침을 포함할 수 있으며, 병원 약국, 조제 약국 등 약국에서 보관 및 사용하기에 충분한 양으로 포장되어 있다.

[0413] 본 발명은 하기 구현예를 참조하여 더욱 완전하게 이해될 것이다. 그러나 구현예는 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본원에 따른 구현예 및 실시예는 단지 예시의 목적일 뿐이고, 이에 비추어 다양한 수정 또는 변경이 당업자에게 제안될 것이며, 본 출원의 정신과 범위 및 첨부된 청구범위의 범위 내에 포함되는 것으로 이해해야 한다. 본 발명 전반에 걸쳐 인용된 모든 도면 및 모든 참고문헌, 특허 및 공개된 특허 출원의 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 명시적으로 인용된다.

[0414] 구현예

[0415] 구현예 1. 인간 CD47에 특이적으로 결합하는 항체의 생성

[0416] 여러 전유 파지미드 라이브러리를 인간 CD47-Fc항원(Sinobiological)을 선별하였다. 항원은 Maxisorp 마이크로플레이트(Thermo Scientific 446469)에 직접 고정되거나, 비오티닐화되고 Dynabeads(M280, Streptavidin, Invitrogen #60210)에 의해 포획될 수 있으며, 제조사의 지침에 따라 KingFisher(Thermo Scientific)를 사용하여 선별한다. 이 과정에서는 표준 파지 패닝 프로토콜을 채택하였다. 각 항원에 대해 총 3회의 선별을 수행하였고, 10~100배의 정제된 인간 Fc를 첨가하여 배경 결합을 감소시켰다. 최종 선별 라운드 후, 단일 콜로니 상층액 ELISA를 수행하여 인간 CD47을 특이적으로 인식하는 1차 히트를 동정하였다. 1차 히트는 ELISA 신호가 배경의 두 배 이상인 것으로 정의되었다. 표 7에 나타낸 바와 같이, 총 17개의 독특한 히트가 확인되었고, Fab의 중쇄와 경쇄가 IgG4 이소형을 갖는 포유동물 발현 벡터 pcDNA3.3 (Thermo Fisher Scientific)에 클로닝되었다. 제조업체의 지침에 따라 한 쌍의 플라스미드를 HEK293 세포에 일시적으로 형질감염시켰다. 7일 후, 상층액을 수집하고, 투명해지도록 원심분리 및 여과였으며, 표준 단백질 A 친화성 크로마토그래피(MabSelect SuRe, GEHealthcare)를 사용하여 IgG를 정제하였다. 단백질을 용출하고 중화시킨 후 완충액을 PB 완충액(20 mM 인산나트륨, 150 mM 염화나트륨, pH 7.0)으로 교환하였다. UV-분광광도법으로 단백질 농도를 측정하고, 변성, 환원 및 비환원 조건에서 IgG 순도를 분석하였다.

[0417] 표 7. 파지 디스플레이에 의해 선별된 항-CD47 항체 아미노산 서열.

항체 식별 번호	중쇄 가변 영역 아미노산 서열 SEQ ID Nos				경쇄 가변 영역 아미노산 서열 SEQ ID Nos			
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
TY25029	1	35	52	69	2	86	103	120
TY25030	3	36	53	70	4	87	104	121
TY25031	5	37	54	71	6	88	105	122
TY25032	7	38	55	72	8	89	106	123
TY25033	9	39	56	73	10	90	107	124
TY25034	11	40	57	74	12	91	108	125
TY25035	13	41	58	75	14	92	109	126
TY25036	15	42	59	76	16	93	110	127
TY25037	17	43	60	77	18	94	111	128
TY25038	19	44	61	78	20	95	112	129
TY25039	21	45	62	79	22	96	113	130
TY25040	23	46	63	80	24	97	114	131
TY25041	25	47	64	81	26	98	115	132
TY21446	27	48	65	82	28	99	116	133
TY21447	29	49	66	83	30	100	117	134
TY21449	31	50	67	84	32	101	118	135
TY21451	33	51	68	85	34	102	119	136

[0418]

[0419] 구현예 2. 항-CD47 모 항체의 시험관 내 선별

[0420] ELISA 기술을 사용한 인간 CD47(hCD47) 결합 친화도 측정

[0421] 96웰 플레이트를 2 μg/mL hCD47-ECD/Fc 단백질(Sinobiological)로 4℃에서 밤새 코팅하였다. 인간화 항-CD47 항체 TAC2204(5F9라고도 함, 표 4B 및 미국 특허 번호 9,017,675에 기술됨)를 벤치마크 대조군으로 사용하였다. 차단 후, 플레이트를 3회 세척하고 시험 항체의 연속 희석액과 함께 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. 그런 다음 플레이트를 3회 세척하고 HRP-표지된 항-인간 Fab 2차 항체(Sigma)와 함께 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. 3회 세척 후, 플레이트를 실온에서 TMB 기질과 함께 15분 동안 배양하였다. H_2SO_4 정지 용액을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 마이크로플레이트 리더를 사용하여 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 데이터는 GraphPad Prism 7.0 소프트웨어로 분석되었다.

[0422] 표 8에 나타낸 바와 같이, TY25032 및 TY21451을 제외한 모든 시험 항체는 인간 CD47세포외 도메인에 높은 친화도로 결합하였다.

[0423] 표 8. hCD47에 대한 ELISA 결합 EC_{50} 값 요약. 동일한 항체에 대한 중복 값은 해당 항체에 대한 2개의 독립적인 측정 값을 나타낸다.

항체 식별 번호	EC_{50}(nM)
TY25029	0.58
TY25030	2.42
TY25031	0.59
TY25032	ND
TY25033	6.11
TY25034	0.47
TY25035	2.55
TY25036	1.71
TY25037	0.95
TY25038	0.78
TY25039	3.66
TY25040	0.46
TY25041	1.17
TY21446	0.41
TY21447	0.33
TY21451	ND
TY25031	0.60
TY25034	0.41
TY25040	0.39
TAC2204	0.34
TAC2204	0.34

[0424]

[0425] 리간드 차단

[0426] 96웰 플레이트(100ng/웰)를 재조합 hCD47-ECD/Fc(Sinobiological)로 4℃에서 밤새 코팅하였다. 차단 후, 플레이트를 3회 세척하고 0.5 μg/mL의 비오티닐화된 hSIRPα-ECD/His(Sinobiological)와 시험 항체의 혼합물의 연속 희석액과 함께 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. 그런 다음 플레이트를 3회 세척하고 HRP-표지된 스트렙타비딘과 함께 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. 세척 후, 플레이트를 실온에서 TMB 기질과 함께 15분 동안 배양하였다. H_2SO_4 정지 용액을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 마이크로플레이트 리더를 사용하여 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 데이터는 GraphPad Prism 7.0 소프트웨어로 분석되었다.

[0427] 표 9A-9B에 나타낸 바와 같이, TAC2204, TY25031, TY25034, TY25040, TY21446, TY21447 및 TY21449는 hSIRPα/hCD47 상호작용을 차단하는 비슷한 능력을 보여준다.

[0428] 표 9A. 리간드 차단의 IC_{50} 값 요약; 첫 번째 독립적인 실험.

항체 식별 번호	IC_{50} (nM)
TY25029	>100
TY25030	21.68
TY25031	4.55
TY25033	>100
TY25034	3.53
TY25035	60.56
TY25036	>100
TY25037	>100
TY25038	>100
TY25039	>100
TY25040	3.30
TY25041	>100
TAC2204	2.95

[0429]

[0430] 표 9B. 리간드 차단IC_{50} 값 요약-두 번째 실험.

항체 식별 번호	IC_{50} (nM)
TY21446	2.86
TY21447	3.12
TY21449	3.18
TY21451	>100
TAC2204	3.12

[0431]

[0432] 친화도 순위 연구

[0433] Octet® RED96 시스템(ForteBio)을 통해 항체와 인간 CD47 사이의 결합 친화도를 측정하였다. TAC2204 및 항-CD47 항체 TAC2407(13H3 및 TJC4(렘조파리맙)라고도 함; 표 4B 및 미국 특허 번호 US20210095019에 기술됨)을 벤치마크 대조군으로 사용하였다. SA 센서(ForteBio)에는 비오티닐화된 hCD47-ECD/Fc(Sinobiological)가 로딩되어 있다. 세척 후, 센서를 시험 항체가 포함된 용액에 300초 동안 담가서 결합 단계를 모니터링한 다음, 런닝 버퍼에 300초 동안 담가서 해리 단계를 모니터링하였다. 획득한 ForteBio 데이터는 소프트웨어 7.1(Data Acquisition software 7.1)을 사용하여 처리되었으며, 운동학적 데이터는 1:1 Langmuir 결합 모델에 맞춰졌다.

[0434] 표 10에 나타낸 바와 같이, TY21446 및 TAC2204는 유사한 평형 해리 상수를 나타낸다.

[0435] 표 10. ForteBio에 의해 측정된 hCD47에 대한 항체의 결합 친화도 순위 연구. TY25034의 중복 값은 2개의 독립적인 측정 값을 나타낸다.

샘플 식별 번호	K_D	K_{on}	K_{off}
	(nM)	(1/Ms)	(1/s)
TAC2204	0.3475	6.76E+05	2.35E-04
TAC2407	1.404	5.20E+05	7.29E-04
TY25029	1.515	4.17E+05	6.31E-04
TY25030	4.616	3.61E+05	1.66E-03
TY25031	0.4834	1.68E+05	8.10E-05
TY25032	2.729	2.95E+05	8.06E-04
TY25033	< 0.001	5.89E+04	<1.0E-07
TY25034	0.8256	8.13E+05	6.71E-04
TY25035	< 0.001	1.71E+05	<1.0E-07
TY25036	< 0.001	9.37E+04	<1.0E-07
TY25037	0.6109	5.60E+04	3.42E-05
TY25038	4.467	2.49E+05	1.11E-03
TY25039	0.1407	9.73E+04	1.37E-05
TY25040	0.4739	4.22E+05	2.00E-04
TY21446	0.1937	6.42E+05	1.24E-04
TY25034	0.8697	8.09E+05	7.04E-04

[0436]

[0437] 구현예 3. 항-CD47 활성화 가능 항체의 생성

[0438] TY21446의 IgG 이소형을 인간 IgG4에서 인간 IgG1 및 S239D와 I332E 치환을 갖는 IgG1로 추가로 전환시켜 TY26896 및 TY26897을 각각 생성하여 종양 세포에 대한 ADCC 및/또는 CDC 효과를 유도하였다. 항-CD47 항체에 의한 면역 세포의 종양 특이적 활성화를 달성하기 위해 활성화 가능 항체 TY21446, TY26896 및 TY26897를 추가로 개발하였다. 재조합 DNA 기술을 사용하여 마스킹 모이어티(MM), 및 효소 특이적 절단 부위를 포함하는 절단 가능 모이어티(CM) 링커를 모 항체 TY21446, TY26896 및 TY26897 경쇄의 N-말단에 연결하여 활성화 가능 항체 TY26294, TY26898 및 TY26899를 각각 생성하였다. 표 11은 활성화 가능 항체와 모(비활성화) 항체의 식별자(ID) 및 IgG 이소형을 보여준다.

[0439] 표 11. 항-CD47 항체 및 활성화 가능 항체.

활성화 가능 항체 식별 번호	모 항체 식별 번호	IgG
TY26294	TY21446	hIgG4
TY26898	TY26896	hIgG1
TY26899	TY26897	hIgG1 S239D 및 I332E

[0440]

[0441] 일부 프로테아제는 인간 종양에서 특이적으로 높게 발현된다. 항-CD47 활성화 가능 항체의 마스킹 펩티드는 종양 미세환경에서 MMP 프로테아제 절단에 의해 제거되어 CD47에 대한 항체의 결합 친화도를 회복시키고, hSIRPα/hCD47 경로를 차단함으로써 종양 특이적 대식세포를 활성화시킬 수 있다. TY26898 및 TY26899의 경우 NK 세포도 종양 특이적인 방식으로 종양 세포를 죽인다. 모든 항-CD47 활성화 가능 항체의 제한된 활성화는 암 환자의 표적 비종양 독성, 특히 RBC 감소를 감소시키고, 감소된 항원 침강 효과로 인해 반감기를 증가시킬 수 있다.

[0442] 구현예 4. 항-CD47 활성화 가능 항체의 안정성 연구

[0443] 다양한 스트레스 조건 하에서 항체 안정성을 조사하였다.

[0444] 표 12A-12C에 나타낸 바와 같이, SEC-HPLC로 분석한 결과, 1 mg/mL 농도의 TY26294, TY26898 및 TY26899는 6회의 냉동(-80℃) 및 해동(실온) 후에도 안정적인 상태를 유지하였다. 4 또는 40℃에서 28일 후 또는 25℃에서 7일 후, TY26294, TY26898 및 TY26899에 대한 고분자량(HMW) 응집체 또는 저분자량(LMW) 단편에는 거의 변화가 없었다. TY26294, TY26898 및 TY26899는 pH 3.6에서 실온에서 2시간 동안, 그리고 300 mM NaCl을 함유한 고염 완충액 환경에서 24시간 동안 여전히 안정적이었다. 사용 안정성 연구에 따르면 1 mg/kg의 TY26294, TY26898 및 TY26899는 실온에서 30시간 동안 여전히 안정적이었다. 종합하면, 이러한 결과는 제제 최적화 없이도 TY26294,

TY26898 및 TY26899가 뛰어난 개발성을 가짐을 나타낸다.

[0445] 표 12A. 다양한 스트레스 조건 하에서 SEC-HPLC 분석에서 TY26294의 HMW % 변화.

조건	완충액	미처리			처리 후		
		HMW %	주피크 %	LMW %	HMW %	주피크 %	LMW %
냉동-해동 6주기	20 mM히스티딘, pH 5.5	3.2%	94.4%	2.4%	3.6%	94.6%	1.8%
4℃에서 28일 동안 보관 안정성	20 mM 히스티딘, pH 5.5	2.9%	96.9%	0.3%	2.9%	96.9%	0.3%
25℃에서 7일 동안 보관 안정성	20 mM 히스티딘, pH 5.5	3.2%	94.4%	2.4%	3.9%	93.4%	2.7%
40℃에서 28일 동안 보관 안정성	20 mM 히스티딘, pH 5.5	3.5%	96.5%	0.1%	3.3%	96.6%	0.1%
pH 3.6에서 2시간 동안 pH 안정성, 실온	50 mM NaAc/Hac, pH 3.6	1.4%	97.5%	1.1%	1.2%	96.9%	1.9%
24시간 동안 고염 안정성, 실온	50 mM 히스티딘, 300 mM NaCl, pH 7.0	2.7%	97.3%	0.0%	1.6%	98.4%	0.0%
30시간 동안 1 mg/mL 사용 안정성	0.9% NaCl	2.8%	97.2%	0.0%	2.8%	97.0%	0.2%

[0446]

[0447] 표 12B. 다양한 스트레스 조건 하에서 SEC-HPLC 분석에서 TY26898의 HMW % 변화.

조건	완충액	미처리			처리 후		
		HMW %	주피크 %	LMW %	HMW %	주피크 %	LMW %
냉동-해동 6주기	20 mM 히스티딘, pH 5.5	3.0%	95.9%	1.1%	3.3%	96.1%	0.7%
4℃에서 28일 동안 보관 안정성	20 mM 히스티딘, pH 5.5	3.2%	96.0%	0.7%	1.7%	97.6%	0.8%
25℃에서 7일 동안 보관 안정성	20 mM히스티딘, pH 5.5	3.2%	96.0%	0.7%	1.8%	97.2%	0.9%
40℃에서 28일 동안 보관 안정성	20 mM히스티딘, pH 5.5	3.2%	96.0%	0.7%	1.3%	96.9%	1.7%
pH 3.6에서 2시간 동안 pH 안정성, 실온	50 mM NaAc/Hac, pH 3.6	1.1%	98.0%	0.8%	1.1%	97.9%	1.0%
24시간 동안 고염 안정성, 실온	50 mM 히스티딘, 300 mM NaCl, pH 7.0	2.0%	97.4%	0.6%	2.5%	96.9%	0.6%
30시간 동안 1 mg/mL 사용 안정성	0.9% NaCl	1.9%	97.4%	0.7%	2.3%	97.0%	0.7%

[0448]

[0449] 표 12C. 다양한 스트레스 조건 하에서 SEC-HPLC 분석에서 TY26898의 HMW % 변화.

조건	완충액	미처리			처리 후		
		HMW %	주피크 %	LMW %	HMW %	주피크 %	LMW %
냉동-해동 6주기	20 mM 히스티딘, pH 5.5	2.2%	96.8%	1.0%	3.4%	95.6%	1.0%
4℃에서 28일 동안 보관 안정성	20 mM 히스티딘, pH 5.5	2.3%	96.9%	0.8%	1.2%	98.0%	0.9%
25℃에서 7일 동안 보관 안정성	20 mM 히스티딘, pH 5.5	2.3%	96.9%	0.8%	1.3%	97.6%	1.1%
40℃에서 28일 동안 보관 안정성	20 mM 히스티딘, pH 5.5	2.3%	96.9%	0.8%	1.3%	96.6%	2.1%
pH 3.6에서 2시간 동안 pH 안정성, 실온	50 mM NaAc/Hac, pH 3.6	1.4%	97.6%	1.0%	1.3%	97.8%	1.0%
24시간 동안 고염 안정성, 실온	50 mM 히스티딘, 300 mM NaCl, pH 7.0	1.6%	97.7%	0.7%	1.8%	97.5%	0.7%
30시간 동안 1 mg/mL 사용 안정성	0.9% NaCl	1.7%	97.4%	0.9%	2.0%	97.2%	0.8%

[0450]

[0451] 구현예 5. 인간, 사이노몰거스 원숭이 및 마우스 CD47에 대한 항-CD47 항체의 결합 친화도

[0452] ELISA를 통해 인간, 사이노몰거스 원숭이(cyno) 및 마우스(m) CD47에 대한 결합 친화도를 측정하였다. 96웰 플레이트를 100 ng/웰의 hCD47-ECD/Fc 또는 cynoCD47-ECD/His 또는 mCD47-ECD/His 단백질(Sinobiological)로 4℃에서 밤새 코팅하였다. 차단 후, 플레이트를 3회 세척하고 시험 항체의 연속 희석액과 함께 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. 그런 다음 플레이트를 3회 세척하고 HRP-표지된 항-인간 Fab 2차 항체(Sigma)와 함께 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. 3회 세척 후, 플레이트를 실온에서 TMB 기질과 함께 15분 동안 배양하였다. H_2SO_4 정지 용액을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 마이크로플레이트 리더를 사용하여 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 데이터는 GraphPad Prism으로 분석되었다. 인간 CD47에 대한 결합 친화도는 3개의 개별 배치에서 측정되었다.

[0453] 표 13에 나타낸 바와 같이, 모 항체 TY21446, TY26896 및 TY26897은 인간 및 사이노몰거스 원숭이 CD47에 대해 유사한 결합 친화도를 나타냈지만, 마우스 CD47에는 8 μM 만큼 높게 결합하지 않았다. 활성화 가능 항체의 마스킹 효율은 활성화 가능 항체의 EC_{50} 값을 모 항체의 EC_{50} 값으로 나누어 계산되었다. 인간 CD47을 사용하여 계산된 TY26294, TY26898 및 TY26899의 마스킹 효율은 마스킹된 항체 대 모항체에 대해 계산할 때 190~696배 범위였으며, 절단되지 않은 대 절단된 마스킹된 항체에 대해 계산할 때 266~572배 범위였다. 그러나 인간 CD47에 대한 활성화 가능 항체의 결합 친화도는 시험관 내에서 MMP9 효소에 의한 절단 후에 완전히 복원되었다.

[0454] 표 13. 인간, 원숭이 및 마우스 CD47 단백질에 대한 ELISA 결합의 EC_{50} 값 요약.

항체 식별 번호	인간 CD47 EC_{50}(nM)			원숭이 CD47 EC_{50}(nM)	마우스 CD47 EC_{50}(nM)
	배치 1	배치 2	배치 3		
TAC2204	0.35	NT	0.54	NT	NT
TY21446	0.23	0.35	0.62	0.46	ND
TY26896	0.19	0.33	0.5315	0.43	ND
TY26897	0.34	0.34	NT	0.58	ND
TY26294	160.1	185.6	146.3	*	ND
TY26898	42.8	158.1	202	*	ND
TY26899	64.6	160.3	NT	*	ND
TY26294 절단 후	NT	0.34	0.55	NT	NT
TY26898 절단 후	NT	0.32	0.55	NT	NT
TY26899 절단 후	NT	0.28	NT	NT	NT

[0455]

[0456] ND: 검출되지 않음 *: 확실하지 않음 NT: 테스트되지 않음

[0457] 구현예 6. 항-CD47 항체와 종양 세포 표면 CD47의 결합

[0458] 유세포 분석법을 통해 CD47+ 종양 세포주에 대한 활성화 가능 항체 및 모 항체의 결합 능력을 테스트하였다. Raji 및 CEM은 각각 세포 표면에서 CD47 발현 수준이 다양한 B 세포 및 T 세포 림프종 세포주이다. 간략하게, 시험 항체를 연속적으로 희석하고 얼음 위에서 종양 세포와 함께 배양하였다. 세척 후, 이들 세포를 이어서 얼음 위에서 APC-표지된 항-인간 Fc 2차 항체와 함께 배양하였다. 그런 다음 세포를 CytoFLEX 유세포 분석기(Beckman Coulter)로 분석하기 전에 PBS로 세척하였다. 데이터를 FlowJo 소프트웨어 10으로 분석하였다. CEM 세포에 대한 결합 친화도는 2개의 별도 배치로 측정되었고(표 14A), Raji 세포에 대한 결합 친화도는 3개의 별도 배치로 측정되었다(표 14B). CEM 세포 결합을 위해 배치 2 및 Raji 세포 결합을 위해 배치 3에 사용된 2차 항체는 염소 항인간 IgG(H+L) APC(Jackson Immunoresearch)인 반면, CEM 세포 결합을 위해 배치 1 및 Raji 세포 결합을 위해 배치 1 및 2에 사용된 2차 항체는 APC 항인간 IgG Fc (BioLegend)이다.

[0459] 표 14A 및 표 14B에 나타낸 바와 같이, 모 항체 TY21446, TY26896 및 TY26897, 및 벤치마크 TAC2204 및 TAC2407은 Raji 및 CEM 세포에 대한 높은 결합을 보여주었다. 활성화 가능 항체 TY26294, TY26898 및 TY26899는 모 항체보다 낮은 결합을 나타냈다. 그러나 활성화 가능 항체 TY26294, TY26898 및 TY26899의 결합은 마스킹 펩티드를 제거하기 위해 시험관 내에서 MMP9 절단 후 거의 완전히 복원되었다. CEM 세포에 결합하기 위한 활성화 가능 항체의 계산된 마스킹 효율은 마스킹된 항체 대 모 항체에 대해 계산할 때 139~1507배 범위였으며, 절단되지 않은 대 절단된 마스킹된 항체에 대해 계산할 때 174~341배 범위였다. 유사하게, Raji 세포에 결합하기 위한 활성화 가능 항체의 계산된 마스킹 효율은 마스킹된 항체 대 모 항체에 대해 계산할 때 35~774배 범위였으며, 절단되지 않은 대 절단된 마스킹된 항체에 대해 계산할 때 64~891배 범위였다.

[0460] 표 14A. CEM 종양 세포 CD47에 결합하는 항체의 EC_{50} 값 요약.

[0461]

항체 식별 번호	배치 1	배치 2	
	EC_{50}(nM)	EC_{50}(nM)	최대 MFI
TY21446	0.41	0.51	301403
TY26896	0.27	0.52	333719
TY26897	0.64	0.44	324966
TY26294	520	71.2	303589
TY26898	407	153.6	324074
TY26899	446	106.1	387032
TY26294 절단 후	NT	0.41	287019
TY26898 절단 후	NT	0.45	305769
TY26899 절단 후	NT	0.43	323020
TAC2204	0.44	0.36	262989
TAC2407	NT	1.18	224357
hIgG1 이소형 대조군	ND	ND	2895

[0462] MFI=평균 형광 강도 ND: 검출되지 않음 NT: 테스트되지 않음

[0463] 표 14B. Raji 종양 세포 CD47에 결합하는 항체의 EC_{50} 값 요약.

항체 식별 번호	배치 1	배치 2	배치 3	
	EC_{50}(nM)	EC_{50}(nM)	EC_{50}(nM)	최대 MFI
TY21446	0.48	0.48	0.24	144862
TY26896	0.49	0.46	0.26	173834
TY26897	0.39	0.33	0.42	212761
TY26294	272	334.8	27.6	150303
TY26898	274	356.2	31.1	118330
TY26899	156	165.8	14.8	118354
TY26294 절단 후	NT	0.48	0.26	156700
TY26898 절단 후	NT	0.40	0.19	164413
TY26899 절단 후	NT	0.34	0.23	190675
TAC2204	0.29	0.33	0.14	116619
TAC2407	NT	NT	1.97	65859
hIgG1 이소형 대조군	ND	ND	ND	6411

[0464]

[0465] MFI=평균 형광 강도 ND: 검출되지 않음 NT: 테스트되지 않음

[0466] 구현예 7. 항-CD47 항체와 RBC CD47의 결합

[0467] 유세포 분석법을 통해 세포 표면에서 CD47을 발현하는 인간 적혈구(RBCs)에 대한 항체의 결합 능력을 테스트하였다. 인간 RBCs는 원심분리를 통해 인간 말초 혈액으로부터 수집하고 DPBS/EDTA 완충액으로 2회 세척한 후 DPBS/EDTA 완충액으로 재현탁하였다. 마지막으로 RBCs를 시험 항체의 연속 희석액과 함께 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. RBCs를 2회 세척하고 APC-표지된 항-인간 IgG Fc 2차 항체(BioLegend)와 함께 37℃에서 30분 동안 배양하였다. 2회 세척 후, RBCs를 CytoFLEX유세포 분석기(Beckman Coulter)로 분석하고, 데이터를 FlowJo 소프트웨어 10으로 분석하였다. 인간 RBCs에 대한 결합은 두 상이한 RBCs 공여체에 해당하는 두 개의 상이한 배치로 측정되었다.

[0468] 표 15는 인간 RBCs 상의 CD47에 결합하는 항체의 EC_{50} 값 요약을 나타낸다. 활성화 가능 항체에서는 RBCs에 대한 결합이 크게 감소되었다. RBCs에 결합하기 위한 활성화 가능 항체의 계산된 마스킹 효율은 마스킹된 항체 대 모 항체에 대해 계산할 때 344~2007배 범위였다.

[0469] 표 15. CD47-양성 인간 RBCs에 결합하는 항체의 EC_{50} 값 요약.

항체 식별 번호	배치 1	배치 2	
	EC_{50}(nM)	EC_{50}(nM)	최대 MFI
TY21446	0.37	0.55	18016
TY26896	0.20	0.44	14043
TY26897	0.36	0.43	13110
TY26294	482.4	1104	8257
TY26898	185.1	653	2805
TY26899	123.7	329	4862
TAC2204	0.76	0.33	14564
TAC2407	NT	ND	2219
이소형 대조군	ND	ND	105

[0470]

[0471] MFI=평균 형광 강도 ND: 검출되지 않음 NT: 테스트되지 않음

[0472] 구현예 8. 항-CD47 항체에 의한 적혈구 응집 연구

[0473] 인간 적혈구 응집을 유도하는 후보 항-CD47 항체의 능력을 테스트하고 벤치마크 항체와 비교하였다. 상이한 두 공여체로부터 얻은 인간 말초 혈액 샘플로부터 정제된 인간 RBCs를 U-바닥 96-웰 플레이트에서 시험 항체의 연속 희석액과 함께 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. 배양 후, 응집되지 않은 RBCs의 점 모양의 붉은색 입자와는 대조적으로, 덩어리 같은 탁도의 출현은 RBCs의 응집을 증명하였다.

[0474] 도 1에 도시된 바와 같이, TAC2204 및 TAC2407은 인간 RBC 응집을 유발한 반면, TY21446, TY26896 및 TY26897은 그렇지 않았다(항체 농도 0.003 내지 66.7 nM). 활성화 가능 항체 TY26294, TY26898 및 TY26899는 8000 nM만큼 높은 수준에서도 인간 RBC 응집을 유발하지 않았다. 도 1은 두 공여체 중 하나의 공여체의 적혈구 응집을 보여주며; 다른 하나의 공여체에서도 유사한 적혈구 응집이 관찰되었다.

[0475] 구현예 9. 항-CD47 항체에 의한 CEM 세포에 대한 인간 대식세포의 식균작용 유도

[0476] CD47은 대식세포와 같이 식균작용 능력을 가진 세포에서 SIRPα와 상호작용하여 CD47 발현 세포의 식균작용을 막는 "나를 먹지 마세요" 신호로 간주된다. 대식세포에 의한 종양 세포에 대한 대식세포의 식균작용을 증가시키는 시험 항체의 능력을 평가하였다. 간략하게, 인간 대식세포는 CSF-1(Sinobiological)의 존재 하에 8일 동안 인간 PBMCs로부터 정제된 말초 단핵구로부터 유래되었다. 대식세포를 1×10^5 세포/웰의 농도로 24웰 플레이트에 다시 플레이팅하고 37℃에서 24시간 동안 부착되도록 하였다. 5(6)-카르복시플루오레세인 디아세테이트 N-숙신이미딜 에스테르(CFSE, Sigma)로 표지된 CEM 세포를 3.2×10^5 세포/웰의 농도로 대식세포 배양에 첨가하였다. 연속 희석된 시험 항체를 표적 세포와 효과기 세포의 혼합물에 즉시 첨가하고 37℃에서 2시간 동안 배양하였다. 배양 후, 식균되지 않은 CEM 세포를 PBS로 2회 세척하여 제거하였다. 그런 다음 나머지 세포를 트립신 처리하고 인간 대식세포의 마커인 항-인간 CD206 항체(BioLegend)로 표지하였다. CytoFLEX 유세포 분석기(Beckman Coulter)로 세포를 분석하고 데이터를 FlowJo 소프트웨어 및 GraphPad Prism 7.0 소프트웨어로 분석하였다.

[0477] 표 16에 나타낸 바와 같이, TY21446은 TAC2204와 비슷한 식균작용 활성을 보여준다. 그러나, TY26896 및 TY26897은 TY21446, TAC2204 및 TAC2407에 비해 식균작용의 효능이 크게 증가한 것으로 나타났다. 활성화 가능 항체 TY26294, TY26898 및 TY26899의 식균작용 활성은 기준선에서 20 nM이었다. 그러나, 활성화 가능 항체를 시험관 내에서 MMP9 절단으로 전처리한 후에 식균작용 활성이 완전히 복원되었다.

[0478] 표 16. 항-CD47 항체의 대식세포 식균작용 연구 요약.

항체 식별 번호	공여체 A		공여체 B	
	EC_{50}(nM)	최대 식균작용 (%)	EC_{50}(nM)	최대 식균작용(%)
TY21446	0.90	48.0%	0.54	56.1%
TY26896	0.22	78.8%	0.16	92.2%
TY26897	0.20	75.9%	0.13	85.9%
TY26294	NA	15.2%	NA	5.2%
TY26898	NA	21.2%	NA	17.8%
TY26899	NA	18.6%	NA	14.4%
TY26294 절단 후	1.04	55.6%	0.79	57.0%
TY26898 절단 후	0.28	88.3%	0.18	87.9%
TY26899 절단 후	0.17	87.3%	0.16	85.3%
TAC2204	1.07	58.3%	1.17	76.1%
TAC2407	4.40	29.7%	0.83	29.0%
IgG1이소형 대조군	NA	14.3%	NA	2.8%

[0479]

[0480] 구현예 10. 항체의 ADCC 활성

[0481] NK 세포를 효과기 세포로, CD47+ CEM 세포를 표적 세포로 사용하여 시험 항체의 ADCC 활성을 평가하였다. 인간 NK 세포 분리 키트(StemCell)를 사용하여 PBMCs로부터 인간 NK 세포를 정제하였다. 1×10^4 세포/웰의 칼세인-AM 표지된 CEM 세포를 다양한 농도의 시험 항체와 함께 37℃에서 30분 동안 배양하였다. 5×10^4 세포/웰(E/T 비율 5:1)의 인간 NK 세포를 첨가하고 혼합물을 37℃에서 2시간 동안 추가로 배양하였다. 배양 후, SpectraMax i3x (Molecular Devices)로 상층액의 칼세인-AM을 측정하였다. 그런 다음 용해율은 공식: 용해율=[(실험 방출)-평균(표적+NK)]/[평균(표적 최대 방출 값)-평균(표적만)]×100%에 따라 계산하였다.

[0482] 도 2에 도시된 바와 같이, TY21446 및 TAC2204는 ADCC 활성을 나타내지 않은 반면, TY26896 및 TY26897은 ADCC 활성을 나타냈다. TY26897의 ADCC 활성은 TY26896보다 높다.

[0483] 구현예 11. 마우스 이종이식 모델에서 항-CD47 항체의 생체 내 항종양 효능

[0484] B-NDG/Raji-Luc 마우스 전신 모델

[0485] B-NDG 마우스(Biocytogen)에 루시퍼라제(Raji-Luc)를 발현하는 Raji 세포를 접종하여 시험 항체의 생체 내 항종양 효능을 테스트하였다. B-NDG 마우스는 심각한 면역결핍 표현형을 갖는 NOD-scid 마우스에서 IL2rg 유전자를 삭제하여 생성된다. 이러한 마우스에는 성숙한 T 세포, B 세포 및 기능성 NK 세포가 부족하고 결함이 있는 대식세포가 있다. PBS에 주사당 1×10^5개 세포의 Raji-Luc 세포를 B-NDG 마우스에 정맥 주사하였다. 형광 신호가 ~1×10^6 p/sec에 도달하면, 마우스를 총 4회 용량으로 주당 2회 시험 항체 또는 대조군 IgG(각 그룹 N=6)를 복강내 주사하기 시작하였다. 연구가 끝날 때까지 형광 신호와 체중을 주당 2회 측정하였다. 운동 장애(예를 들어, 뒷다리 마비)가 관찰되거나 체중 감소가 20%를 초과하는 경우 마우스를 안락사시켰다. 종양 성장 억제는 공식 $TGI\%=(1-T_{RTV}/C_{RTV})\times100\%$에 따라 계산하였다. T_{RTV} 및 C_{RTV}는 각각 특정 시점에서 치료군과 대조군의 상대적인 종양 부피를 나타낸다.

[0486] 도 3a 및 표 17A에 나타낸 바와 같이, TAC2204는 B-NDG/Raji-Luc 마우스 전신 모델에서 0.1 mg/kg 용량에서 99.6%의 종양 성장 억제를 나타냈다. TY21446은 0.1 mg/kg 용량에서 81.8%의 종양 성장 억제를 나타냈다. 활성화 가능 항체 TY26294는 0.1 mg/kg 및 0.3 mg/kg 용량에서 각각 87.4% 및 97.5%의 종양 성장 억제를 나타냈다. 따라서, TAC2204, TY21446 및 TY26294는 B-NDG/Raji-Luc 마우스 전신 모델에서 비슷한 항종양 효능을 나타냈다. 독립적인 연구(도 3b 및 표 17B)에서, TAC2204 및 모 항체 TY21446은 0.3 mg/kg에서, 활성화 가능 항체 TY26294는 1 mg/kg에서 완전한 종양 억제를 나타냈다.

[0487] 표 17A. B-NDG/Raji-Luc 마우스 전신 모델에서 14일째 항체의 종양 성장 억제; 첫 번째 독립적인 연구.

[0488]

항체 식별 번호	용량 (mg/kg)	TGI (%)	P 값		
			vs 이소형 대조군	vs TAC2204 (0.1 mg/kg)	vs TAC2407 (0.1 mg/kg)
TY21446	0.03	12.5%	*p<0.01*		
	0.1	81.8%	*p<0.0001*	*ns*	*ns*
TY26294	0.03	9.6%	*ns*		
	0.1	87.4%	*p<0.0001*	*ns*	*ns*
	0.3	97.5%	*p<0.0001*		
TAC2204	0.03	54.6%	*p<0.01*		
	0.1	99.6%	*p<0.0001*		*ns*
TAC2407	0.1	70.1%	*p<0.001*	*ns*	
이소형 대조군	0.3	0.0%			

[0489] 표 17B. B-NDG/Raji-Luc 마우스 전신 모델에서 14일째 항체의 종양 성장 억제; 두 번째 독립적인 연구.

항체 식별 번호	용량(mg/kg)	TGI (%)	P 값 vs 이소형 대조군
TY21446	0.3	100.0%	*p<0.0001*
	1	100.0%	*p<0.0001*
TY26294	1	100.0%	*p<0.0001*
	10	100.0%	*p<0.0001*
TAC2204	0.3	100.0%	*p<0.0001*
	1	100.0%	*p<0.0001*
이소형 대조군	1	0.0%	

[0490]

[0491] B-NDG/Raji 마우스 고형 종양 모델

[0492] B-NDG 마우스(Biocytogen)에 Raji 세포를 피하 접종하여 시험 항체의 생체 내 항종양 효능을 테스트하였다. PBS에 주사당 5×10^5개 세포의 Raji 세포를 B-NDG 마우스에 피하 주사하였다. 종양 부피가 ~100 mm^3에 도달했을 때, 마우스를 총 6회 용량으로 주당 2회 시험 항체 또는 대조군 IgG(각 그룹 N=5)를 복강내 주사하기 시작하였다. 연구가 끝날 때까지 종양 부피와 체중을 주당 2회 측정하였다. 종양 부피가 3000 mm^3보다 크거나 운동 장애(예를 들어, 뒷다리 마비)가 관찰되거나 체중 감소가 20%를 초과하는 경우 마우스를 안락사시켰다. 종양 성장 억제는 공식 $TGI\%=(1-T_{RTV}/C_{RTV})\times100\%$에 따라 계산하였다. T_{RTV} 및 C_{RTV}는 각각 특정 시점에서 치료군과 대조군의 상대적인 종양 부피를 나타낸다.

[0493] 도 4a 및 표 18A에 나타낸 바와 같이, 모 항체 TY21446과 TAC2204는 마우스 고형 종양 모델에서 비슷한 항종양 효능을 나타냈다. 두 항체 모두 3 mg/kg에서는 종양 성장을 부분적으로 억제하였고, 10 mg/kg에서는 종양 성장을 거의 완전히 억제하였다. 독립적인 연구(도 4b)에서도 TY21446과 TAC2204가 유사한 항종양 효능을 갖는 것으로 관찰되었다. 표 18B에 나타낸 바와 같이, 활성화 가능 항체 TY26294는 10 mg/kg 및 30 mg/kg에서 10 mg/kg에서의 TAC2204 및 모 항체 TY21446에 필적하는 종양 성장 억제를 나타냈다.

[0494] 표 18A. B-NDG/Raji-Luc 피하 모델에서 17일째 항체의 종양 성장 억제; 첫 번째 독립적인 연구.

항체 식별 번호	용량 (mg/kg)	TGI (%)	P 값		
			vs PBS	vs TAC2204 (3 mg/kg)	vs TAC2204 (10 mg/kg)
TAC2204	3	44.2%	*p<0.01*		
	10	101.6%	*p<0.0001*		
TY21446	3	25.0%	*p<0.05*	*ns*	
	10	97.5%	*p<0.0001*		*ns*
PBS	-	0.0%			

[0495]

[0496] 표 18B. B-NDG/Raji-Luc 피하 모델에서 17일째 항체의 종양 성장 억제; 두 번째 독립적인 연구.

항체 식별 번호	용량 (mg/kg)	TGI (%)	P 값			
			vs 이소형 대조군	vs TAC2204 (3 mg/kg)	vs TAC2204 (10 mg/kg)	Vs TAC2407 (10 mg/kg)
TAC2204	3	33.0%	*p<0.05*			
	10	56.0%	*p<0.001*			*ns*
TY21446	3	24.0%	*ns*	*p<0.01*		
	10	45.0%	*p<0.001*		*ns*	*ns*
TY26294	10	45.0%	*p<0.001*		*p<0.05*	*ns*
	30	42%	*p<0.01*			
TAC2407	10	48%	*p<0.001*		*ns*	
이소형 대조군	10	0%				

[0497]

[0498] SCID/Raji-Luc 마우스 전신 모델

[0499] CB17 SCID 마우스 (Biocytogen)에 루시퍼라제(Raji-Luc)를 발현하는 Raji 세포를 접종하여 시험 항체의 생체 내 항종양 효능을 테스트하였다. CB17 SCID 마우스에는 기능성 T 세포 및 B 세포가 부족하지만 정상적인 NK 세포, 대식세포 및 과립구가 있다. PBS에 주사당 5×10^5개 세포의 Raji-Luc 세포를 CB17 SCID 마우스에 정맥 주사하였다. 형광 신호가 ~1×10^6 p/sec에 도달하면, 마우스를 총 4회 용량으로 주당 2회 시험 항체 또는 대조군 IgG(각 그룹 N=8)를 복강내 주사하기 시작하였다. 연구가 끝날 때까지 형광 신호와 체중을 주당 2회 측정하였다. 운동 장애(예를 들어, 뒷다리 마비)가 관찰되거나 체중 감소가 20%를 초과하는 경우 마우스를 안락사시켰다. 종양 성장 억제는 공식TGI%=$(1-T_{RTV}/C_{RTV})\times100\%$에 따라 계산하였다. T_{RTV} 및 C_{RTV}는 각각 특정 시점에서 치료군과 대조군의 상대적인 종양 부피를 나타낸다.

[0500] 도 5 및 표 19에 나타낸 바와 같이, TAC2204와 모 항체 TY21446, TY26896 및 TY26897은 SCID/Raji-Luc 마우스 전신 모델에서 0.03 mg/kg에서 비슷한 항종양 효능을 나타냈다. 활성화 가능 항체 TY26294는 0.03~0.1 mg/kg 용량 범위에서 효능을 나타내지 않았다. 활성화 가능 항체 TY26898 및 TY26899는 0.1 mg/kg 용량에서 각각 81.2% 및 91.8%의 종양 성장 억제를 나타냈다.

[0501] 표 19. SCID/Raji-Luc 마우스 전신 모델에서 13일째 항체의 종양 성장 억제.

항체 식별 번호	용량 (mg/kg)	TGI (%)	P 값			
			vs 이소형 대조군	vs TAC2204(0.03 mg/kg)	vs TY26294(0.03 mg/kg)	vs TY26294(0.1 mg/kg)
TY21446	0.03	89.7%	*p<0.0001*	*ns*		
TY26294	0.03	-20.7%	*ns*	*p<0.0001*		
	0.1	-26.7%	*ns*	*p<0.0001*		
TY26896	0.03	95.6%	*p<0.0001*	*ns*		
TY26898	0.01	7.6%	*ns*			
	0.03	8%	*ns*	*p<0.0001*	*ns*	*p<0.0001*
	0.1	81%	*p<0.0001*	*ns*		
TY26897	0.03	87%	*p<0.0001*	*ns*		
TY26899	0.01	48.60%	*ns*			
	0.03	39.70%	*ns*	*p<0.0001*	*p<0.0001*	*p<0.0001*
	0.1	91.80%	*p<0.0001*	*ns*		
TAC2204	0.03	99.30%	*p<0.0001*			
TAC2407	0.03	66.30%	*p<0.01*	*ns*		
이소형 대조군	0.3	0%				

[0502]

[0503] 구현예 12. 마우스에 대한 항-CD47 항체의 독성 연구

[0504] B-hSIRPα/hCD47 인간화 마우스(Biocytogen)를 사용하여 TY21446의 독성을 테스트하였다. 5~8주령의 암컷 마우스에게 TAC2204, TY21446 또는 PBS(각 그룹 N=5)를 복강내 주사하였다. 말초 혈액 내 RBC 및 헤모글로빈 수준을 투여 전, 1일, 3일, 5일, 7일, 9일 및 11일에 모니터링하였다. 운동 장애(예를 들어, 뒷다리 마비)가 관찰되거나 체중 감소가 20%를 초과하는 경우 마우스를 안락사시켰다.

[0505] 도 6a-6b에 나타낸 바와 같이, 벤치마크 대조군TAC2204 및 TY21446은 동일한 투여량 수준에서 말초 혈액 내 RBC 수(도 6a) 및 헤모글로빈 농도(도 6b)의 유사한 감소를 보였다.

[0506] 구현예 13. 항-CD47 항체 독성 및 약동학 연구

[0507] 사이노몰거스 원숭이의 독성 및 약동학

[0508] 사이노몰거스 원숭이를 대상으로 단일 용량 연구를 수행하였다. 12마리의 사이노몰거스 원숭이를 12개 그룹(각 그룹당 1마리씩)으로 나누었다. 동물에게 TAC2204(10 mg/kg), TY21446(10 mg/kg), TY26294(10, 30 및 60 mg/kg), TY26896(10 mg/kg), TY26898(10, 30 및 60 mg/kg), TY26897(10 mg/kg) 또는 TY26899(10 및 30 mg/kg)(표 20A)를 정맥 투여하였다. 일반적인 건강 상태 및 외모에 대한 케이지 측 관찰을 정기적으로 수행하였다. 전체 약물에 대해 혈액학 및 혈액 화학을 위한 혈액 샘플을 투여 전(-7일, -3일 및 0일), 2일, 4일, 7일, 10일, 14일 및 21일에 수집하였다. 약동학을 위한 혈장 샘플을 투여 전(0시간), 0.5시간, 3시간, 8시간, 24시간, 2일, 3일, 4일, 7일, 14일 및 21일에 수집하였다. 염소 항-인간 IgG 항체(SouthernBiotech)를 통해 항체를 포획하고, HRP-표지된 염소 항-인간 IgG(Fab 특이적) 항체(Sigma)를 통해 항체를 검출하였다. 연구 결과는 도 7a-7e에 도시된 바와 같다.

[0509] 표 20A. 사이노몰거스 원숭이를 대상으로 한 단일 용량 독성 연구 그룹화 및 용량.

항체 식별 번호	동물 수	용량 수준	용량 전략
TAC2204	수컷 1마리	10 mg/kg	단일 IV
TY21446	수컷 1마리	10 mg/kg	단일 IV
TY26294	수컷 1마리	10 mg/kg	단일 IV
TY26294	수컷 1마리	30 mg/kg	단일 IV
TY26294	수컷 1마리	60 mg/kg	단일 IV
TY26896	수컷 1마리	10 mg/kg	단일 IV
TY26898	수컷 1마리	10 mg/kg	단일 IV
TY26898	수컷 1마리	30 mg/kg	단일 IV
TY26898	수컷 1마리	60 mg/kg	단일 IV
TY26897	수컷 1마리	10 mg/kg	단일 IV
TY26899	수컷 1마리	10 mg/kg	단일 IV
TY26899	수컷 1마리	30 mg/kg	단일 IV

[0510]

[0511] 초기 항체 투여 후, 10 mg/kg 용량으로 TY26897을 투여한 동물을 제외한 모든 동물은 정상적인 전반적인 건강 상태와 외모를 보였다. 10 mg/kg 용량으로 TY26897을 투여한 동물은 투여 후 5일 만에 사망했는데, 이는 아마도 도 7a-7b에 나타낸 바와 같이 순환하는 RBCs 및 HGB의 심각한 손실 때문일 것이다.

[0512] 도 7a-7b에 도시된 바와 같이, 사이노몰거스 원숭이에게 10 mg/kg의 TAC2204, TY21446 및 TY26896을 단일 투여하면 RBC 및 HGB의 비슷한 감소를 일으켰다. TY26897의 단일 투여는 심각한 RBC 및 HGB 감소를 일으켰고 동물은 5일째에 사망하였다. 10, 30 및 60 mg/kg에서 TY26294의 단일 투여는 벤치마크 TAC2204 및 모 항체 TY21446에 비해 RBC 및 HGB 감소가 더 적은 것으로 나타났다. 10 mg/kg에서 TAC2204는 RBCs의 최대 49% 감소를 일으켰고, 60 mg/kg에서 TY26294는 RBCs의 최대 23% 감소를 나타냈다(도 7a). TY26898의 단일 투여는 용량 의존적 혈액학적 독성을 나타냈다. 10 및 30 mg/kg에서 TY26898은 동일한 용량의 TAC2204, TY21446 및 TY26896보다 RBC 및 HGB의 감소를 덜 일으킨 반면, 60 mg/kg에서 TY26898은 10 mg의 TAC2204, TY21446 및 TY26896보다 RBC 및 HGB의 더 강한 감소를 일으켰다. 10 및 30 mg/kg에서 TY26899의 단일 투여는 10 mg/kg에서 TAC2204, TY21446 및 TY26896에 비해 RBC 및 HGB가 비슷한 수준으로 감소한 것으로 나타났다. 종합해 보면, 활성화 가능 항체 TY26294, TY26898 및 TY26899는 벤치마크 TAC2204 및 모 항체보다 더 나은 혈액학적 안전성을 나타냈다.

[0513] 사이노몰거스 원숭이에서 항-CD47 항체의 약동학 특성은 도 7f에 도시된 바와 같다. 비구획 분석(NCA)을 통해 사이노몰거스 원숭이에서 테스트된 분자의 혈장 PK 특성을 평가하였다. 3가지 활성화 가능 항-CD47 항체의 계산된 반감기(예를 들어, ≥10 mg/kg 용량≥5일)는 모두 일반적으로 단일 IV 투여 후 모 항체(예를 들어, <1일)보다 10배 이상 증가되었다. 10 mg/kg 용량에서 TY26898의 곡선하 면적(AUC)은 TY26896에 비해 20배 증가하였고, 10 mg/kg 용량에서 TY26294의 곡선하 면적(AUC)은 TY21446에 비해 약 3배 증가하였다. 활성화 가능 항-CD47 항체에 대한 AUC_{last} 비교 결과, TY26898과 비교하여 TY26294는 10 및 30 mg/kg에서 약간의 AUC 이점(예를 들어, 70~80% 더 높은 AUC)이 있지만 60 mg/kg에서는 그렇지 않은 것으로 나타났다. 또한, 10 mg/kg 용량에서 TAC2204는 약 1일의 반감기를 가졌다. TAC2204와 비교하여 TY26898은 10 및 30 mg/kg에서 AUC가 각각 ~5~6배 및 ~2.5배 증가한 반면, TY26294는 10 및 30 mg/kg에서 AUC가 각각 ~9~10배 및 ~4.4배 증가하였다.

[0514] 표 20B. 상이한 용량으로 투여된 항-CD47 항체의 반감기 및 AUC 값.

항체	용량(mg/kg)	반감기(일)	AUC_{last}(시간*μg/mL)
TAC2204	10	0.6	4395.0
TY21446	10	0.8	12067.0
TY26294	10	4.7	38026.5
	30	6.4	131897.2
	60	8.2	120453.2

[0515]

[0516] 마우스의 약동학

[0517] CB17 SCID 마우스에서 단일 용량 약동학(PK) 연구(CB17 SCID, 분자당 N=3)를 수행하였으며, 혈장 PK 특성(전체 약물 농도)은 도 8에 도시된 바와 같다. ELISA 방법으로 전체 약물에 대한 항체 농도를 측정하였다. 염소 항-인간 IgG 항체(SouthernBiotech)를 사용하여 항체를 포획하고, HRP-표지된 염소 항-인간 IgG(Fab 특이적) 항체(Sigma)를 사용하여 항체를 검출하였다. 비구획 분석(NCA)을 통해 마우에서 테스트된 분자의 PK 특성을 평가하였다.

[0518] 평균 AUC_{last}를 기준으로 TY26898은 TY26294의 ~70%를 차지하는 반면, TY26294에 비해 TY26899의 비율은 ~33%로 떨어졌다. 이는 Clast(336시간 데이터)에도 반영되어 있다. 평균 AUC_{inf}를 기준으로 TY26898은 TY26294의 ~81%를 차지하는 반면, TY26294에 비해 TY26899의 비율은 ~17%로 떨어졌다. 측정된 $C_{max,\ 3\text{-}hour}$의 경우 TY26898과 TY26294 사이에 차이가 없는 반면, TY26899는 TY26294에 비해 평균값이 약간 낮았다(예를 들어, ~89%). TY26898(~18±2일)과 TY26294(~15±4일)의 평균(SD) 최종 반감기는 유사하지만(P 값=0.3) 약간의 수치 차이가 있다. 그러나 TY26899는 최종 반감기가 크게 감소하였다(~3.4±0.5일).

[0519] 구현예 14. 항-CD47 항체의 시스/트랜스 결합 연구

[0520] 후보 항체에 대해 세포 표면의 CD47에 시스 또는 트랜스 결합하는 선호도를 테스트하였다.

[0521] 첫번 째 연구에서, 2,3,6,7-테트라히드로-9-브로모메틸-1H,5H-퀴놀리지노(9,1-gh) 쿠마린(BMQC) 표지된 Jurkat 세포와 CFSE-표지된 Raji 세포를 TAC2204, TY21446, 음성 대조군 또는 양성 대조군(CD3xCD20 이중특이적 항체)과 함께 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. 유세포 분석법을 통해 형광 염료 표지된 Jurkat 및 Raji 세포의 항체 매개 가교결합을 검출하였다. 연구 결과는 도 9a-9d에 도시된 바와 같다.

[0522] 두번 째 연구에서, BMQC 또는 CFSE로 인간 RBCs를 표지하였다. BMQC-표지된 RBCs와 CFSE-표지된 RBCs를 혼합한 후 TAC2204 또는 TY21446과 함께 37℃에서 4시간 동안 배양하였다. 그런 다음 유세포 분석법을 통해 분석하였다. 연구 결과는 도 10a-10c에 도시된 바와 같다.

[0523] 세번 째 연구에서, 인간 RBCs를 TAC2204, TAC2407, TY21446 및 TY26294와 함께 37℃에서 4시간 동안 배양하였다. 그런 다음 유세포 분석법을 통해 분석하였다. FSC-A/FSC-H 게이팅 전략을 통해 RBCs의 항체 매개 가교결합을 측정하였다. 연구 결과는 도 11a-11c에 도시된 바와 같다.

[0524] 도 9A-11c에 나타낸 바와 같이, TAC2204는 CD47-양성 종양 세포(도 9d) 및 인간 RBCs(도 10b-10c 및 도 11b-11c) 음성 대조군과 비교하여 세포의 클러스터링을 증가시켰는데, 이는 세포 표면에서의 트랜스 결합을 나타낸다. 모 항체 TY21446(hIgG4 Fc 포맷)은 종양 세포(도 9c) 및 인간 RBCs(도 10b-10c 및 도 11b-11c)에서 증가된 세포 클러스터링을 나타내지 않았는데, 이는 세포 표면에서의 시스 결합을 나타낸다. 활성화 가능 항체 TY26294(hIgG1 Fc 포맷)는 아마도 마스킹 모이어티와 시스 결합의 조합으로 인해 인간 RBCs(도 10b-10c 및 도 11b-11c)에서 증가된 세포 클러스터링을 나타내지 않았다.

[0525] 구현예 15. 항-CD47 항체와 RBCs 및 CD47-양성 Raji 종양 세포의 생체 내 결합

[0526] hSIRPα/hCD47 유전자 녹인 마우스에 Raji 종양 세포를 꼬리 정맥을 통해 피하 주사하여 모 항체 TY21446, 활성화 가능 항체 TY26294 및 벤치마크 분자 TAC2204와 마우스 혈액 세포 및 Raji 종양 세포의 생체 내 결합을 평가하였다. 이러한 유전자 녹인 마우스에서, 마우스 CD47의 세포외 도메인(ECD)은 인간 CD47의 세포외 도메인(ECD)으로 대체되므로, 인간 CD47의 ECD는 마우스 RBCs를 포함하여 마우스 CD47이 발현되는 모든 조직에서 발현된다. TAC2204(0.5, 2.5 또는 7.5 mg/kg), TY21446(0.5, 2.5 또는 7.5 mg/kg) 또는 TY26294(0.5, 2.5 또는 15 mg/kg)를 복강내 주사한 후, 수용체 점유율(RO) 분석을 통해 항체와 RBCs, RBCs 이외의 혈액 세포("WBC"), 마우스 골수의 Raji 종양 세포, 및 피하 종양의 Raji 종양 세포의 생체 내 결합을 평가하였다. 간단히 말하면, 투여 후 4, 24 또는 72시간에 마우스 전혈 샘플을 채취하고, 투여 후 72시간에 마우스 골수 샘플 및 피하 종양을 채취하였다. 마우스 전혈을 희석하고 세척한 후 3개의 분취액으로 나누었다. 또는, 마우스 전혈을 RBC 용해("WBC" 제조)하고, 나머지 세포는 세척한 후 3개의 분취액으로 나누었다. 마우스골수 세포를 세척한 후 3개의 분취액으로 나누었다. 피하 종양으로부터 단일 세포 현탁액을 제조한 후 3개의 분취액으로 나누었다. 각 조직 유형에 대해, 첫 번째 분취액은 시험 항체로 염색하지 않았고, 두 번째 분취액은 10 nM의 인간 IgG4 이소형 대조군과 함께 37℃에서 30분 동안 배양하였으며, 세 번째 분취액은 10 nM의 TY21446 또는 TAC2204와 함께 37℃에서 30분 동안 배양하였다. 두 번째 및 세 번째 분취액을 마우스 항-hCD20 항체 및 APC-표지된 항-인간 IgG2 차 항체와 함께 추가로 배양하였다. 샘플을 CytoFLEX 유세포 분석기(Beckman Coulter)로 분석하고, 데이터를 FlowJo 소프트웨어로 분석하였다. 각 조직 세포 유형에 대한 RO 비율은 두 번째 분취액에 대한 표적 모집단의 평균 형광 강

도(MFI)에서 첫 번째 분취액의 MFI를 뺀 값을 세 번째 분취액의 MFI에서 첫 번째 분취액의 MFI를 뺀 값으로 나누어 계산하였다.

[0527] TAC2204 및 모 항체 TY21446과 hCD47 유전자 녹인 마우스 RBCs의 결합은 시간 및 용량 의존 방식으로 관찰되었으며, RO는 테스트된 최고 용량에서 100%에 접근했다(도 12a). 반면, 활성화 가능 항체 TY26294는 생체 내에서 RBCs에 결합하지 않았으며 모든 용량 및 시점에서 RO는 5% 미만이었다(도 12a). 마찬가지로, 도 12b는 마우스 WBC에 대한 TAC2204 및 모 항체 TY21446의 결합이 시간 및 용량 의존적으로 증가하는 것을 보여주는 반면, 활성화 가능 항체 TY26294는 이들 마우스 세포에 대해 단지 최소의 결합만을 나타냈다. TAC2204 처리된 마우스와 TY21446 부모 처리된 마우스의 RBC 및 혈액 세포 생존율 수치는 TY26294 활성화 가능 항체 처리된 동물의 수치와 비교하여 유의하게 감소하였는데(도 12e, 표 21), 이는 마스킹되지 않은 항-CD47 항체와 RBCs의 결합이 RBC 수를 감소시킨다는 소견과 일치하다. 흥미롭게도 RO는 골수 및 피하 종양의 종양 세포에 대한 TAC2204 및 모 항체 TY21446에 비해 활성화 가능 항체 TY26294의 경우 더 높았다. 도 12c 및 12d에 도시된 바와 같이, TY26294가 마우스 골수의 Raji 세포 및 피하 종양의 Raji 세포에 대해 TAC2204 및 모 항체 TY21446보다 더 높은 결합을 나타냈다.

[0528] 표 21. 항-CD47 항체가 주사된 마우스 샘플에서 혈액 세포 생존율 및 전체 혈액 세포 수.

[0529]

군별	혈액 세포 생존율(%)			전체 혈액 세포 수($\times 10^{12}$/L)		
7.5 mg/kg TY21446	81.5	85.4	86.0	2.70	5.18	3.85
15 mg/kg TY26294	93.3	94.7	94.2	11.05	10.48	11.80
7.5 mg/kg TAC2204	84.7	85.6	88.3	8.10	5.55	4.85

[0530] 구현예 16. 항-CD47 항체의 예비 인간 약동학 및 용량 예측

[0531] 인간 약동학(PK) 매개변수(예를 들어, 청소율, 분포 용적 및 반감기)는 체중 기반 상대성장 척도 방법을 사용하여 사이노몰거스 원숭이의 PK(총 PK만)로부터 예측되었다(Mahmood, 2021. "A Single Animal Species-Based Prediction of Human Clearance and First-in-Human Dose of Monoclonal Antibodies: Beyond Monkey." Antibodies 10.3: 35.). TY26898 또는 TY26294는 사이노몰거스 원숭이에 약 10~60 mg/kg의 단일 정맥 투여 후 최종 반감기≥5일이라는 점을 고려하면, 예상되는 최소 환자 투여 빈도는 Q2W(2주에 1회)이며, Q3W(3주에 1회) 투여도 달성 가능할 수 있다. 반복 투여 PK는 사이노몰거스 원숭이에서 완료될 것이며, 이는 다른 항-CD47 분자와 비교하여 TY26898 또는 TY26294에 대한 임의의 잠재적인 PK 기반 투여 이점을 추가로 설명할 수 있다. 메커니즘 기반 모델링 및 시뮬레이션(M&S)은 현재 이용 가능한 다양한 시험관 내(예를 들어, ADCC, ADCP) 및 생체 내(예를 들어, 마우스 효능) 데이터를 사용하여 다른 항-CD47 약물에 사용되는 방법(예를 들어, 수용체 점유율 기반 방법; 시험관 내 실험에서 특정 농도를 표적으로 하는 PK 기반 방법)을 활용하여 수행되었다. M&S에는 Phoenix® WinNonlin®, NONMEM®7.5 및 GraphPad Prism과 같은 업계 표준 소프트웨어가 사용되었다. TY26898의 예상 잠재적 유효 용량≤10 mg/kg(Q2W 또는 Q3W용량은 인간 PK 예측에 따라 다름)이며, 안전성은 초기 단일 용량 사이노몰거스 원숭이 독성학 데이터에 의해 뒷받침된다. 최초의 인간 시작 용량은 현재 독성학 데이터를 기준으로 최소 ~0.6 mg/kg일 가능성이 높으며 사이노몰거스 원숭이를 대상으로 한 향후 반복 투여 독성학 연구에서 무독성량(no-observed-adverse-effect level, NOAEL)이 결정된 후에 증가할 가능성이 높다. 이는 잠재적 유효 용량범위 내에서 시작 용량을 달성하기 위해 신속한 용량 증량(예를 들어, 2-3 코호트)을 허용한다.

[0532] 구현예 17. 에피토프 매핑

[0533] 아미노산 잔기 수준에서 TY21446의 결합 영역을 결정하기 위해, 일련의 인간 CD47 돌연변이체(표 22)를 제조하였다. 유세포 분석으로 인간 CD47 돌연변이체에 대한 TY21446의 결합을 평가하였다. 결과는 표 22에 요약되어 있다. 데이터는 인간 CD47의 C 내지 C' 영역(39K, 40W, 41K, 50F, 51D 및 52G)의 39-41 및 50-52 아미노산 잔기에 직접 결합하고 FG 영역(99T, 100E, 101L 및 102T)의 99-102 아미노산 잔기에 결합함을 보여준다(표 22). 도 13a-13b에 나타낸 바와 같이, TY21446과 인간 CD47의 결합 영역은 인간 CD47 결정 구조에 매핑되었으며, 마그롤리맙 및 SIRPα와 인간 CD47의 복합체 결정 구조에 따라 이들의 접촉 영역도 인간 CD47에 매핑되었다. 마그롤리맙과 비교하여 TY21446은 독특한 에피토프에 결합한다. TY21446의 에피토프는 SIRPα와 부분적으로 겹치는 반면, 마그롤리맙과 SIRPα의 에피토프는 크게 겹친다.

[0534] 표 21. TY21446과 인간 CD47 돌연변이체의 결합; "+"는 결합을 나타내고, "-"는 결합되지 않음을 나타낸다.

돌연변이	TY21446	돌연변이	TY21446
LL2AA	-	IY47AA	-
NK5AA	-	FD50AA	+
EF11AA	-	DG51AA	+
VT25AA	-	NK55AA	-
TN26AA	-	ST57AA	-
NME27AAA	-	TD61AA	-
ME28AA	-	FS63AA	-
QN31AA	-	LK74AA	-
TE34AA	-	TE99AA	+
KW39AA	+	EL100AA	+
WK40AA	+	LT101AA	+
FK42AA	-	RE103AA	-
RD45AA	-	ET106AA	-

[0535]

[0536] 마그롤리맙의 결합 에피토프는 SIRPα와 CD47 사이의 결합 에피토프와 유사하므로, 이는 SIRPα와 CD47 사이의 트랜스 결합과 유사하게 마그롤리맙이 트랜스 방식으로 결합하여 두 개의 서로 다른 세포에 두 개의 고정된 단백질을 함께 가져오는 경향이 있는 반면, TY21446은 다르며 시스 형태일 가능성이 있음을 시사한다(구현예 14의 트랜스 및 시스 결합 모드 및 다이어그램에 대한 정의를 참조).

[0537] 구현예 18. B-NDG hCD47/hSIRPα 형질전환 마우스 MDA-MB-231 TNBC 이종이식 모델의 정상 조직 및 종양에서의 CD47 수용체 점유율(RO)

[0538] B-NDG hCD47/hSIRPα 형질전환 마우스는 Biocytogen에서 구입하였다. MDA-MB-231 삼중 음성 유방암(TNBC) 세포를 마우스의 오른쪽 상부 옆구리에 피하 접종하였다. 종양 부피가 평균 약 200 mm^3에 도달하면 마우스를 그룹화한 다음 PBS, TY26898 또는 TAC2204를 세 가지 용량으로 투여하였다. 첫 번째 및 두 번째 투여 후 24시간에 혈액 세포 수, 생존력 및 CD47 RO 분석을 위해 혈액을 채취하였다. 세 번째 투여 후 24시간 및 72시간에 마우스를 희생시키고 RBC, 골수, 비장, 신장, 간 및 종양을 채취하였다. CD47 RO 분석을 위해 이들 조직을 단일 세포로 분리하였다. 도 14a-14b에 도시된 바와 같이, 마스킹된 항체 TY26898은 TAC2204에 비해 표적 종양 조직에서 RO가 증가하고 표적 외 조직에서 RO가 감소한 것으로 나타났다. 또한, TY26898에 의한 치료는 TAC2204와 비교하여 표적 외 결합으로 인한 독성을 감소시켰는데, 이는 TAC2204와 비교하여 증가된 총 혈액 세포 수 및 혈액 세포 생존율에 의해 입증될 수 있다(도 14c-14d).

[0539] 구현예 19. 고형 종양 이종이식 모델에서 TY26898의 생체 내 효능 및 수용체 점유율(RO)

[0540] CB17 SCID 마우스 OE19 HER2+위식도접합부암(GEJ), MDA-MB-231 TNBC, SHP-77 소세포폐암(SCLC) 및 OV90 난소암 이종이식 모델 및 OE19 HER2+ GEJ 암 이종이식 모델을 통해 TY26898의 생체 내 항종양 효능을 평가하였다(도 15a-15e). 또한 SHP-77 SCLC 모델을 통해 TY26896의 생체 내 항종양 효능을 평가하였다(도 15c). 종양 부피가 평균 70~80 mm^3에 도달하면, 마우스에게 주당 2회(BIW) 복강내 주사하였다. 연구가 끝날 때까지 종양 부피와 체중을 주당 2회 측정하였다. 종양 부피가 2000 mm^3을 초과하거나 체중 감소가 20%를 초과하는 경우 마우스를 안락사시켰다. TY26898을 사용한 치료는 평가된 모든 암 모델에서 종양 성장을 억제할 수 있었다(도 15a-15e). 또한, TY26898은 MDA-MB-231 TNBC 및 SHP-77 SCLC 모델에서 TAC2204에 비해 더 강력한 종양 성장 억제를 나타냈다(도 15b 및 15c). TY26896은 또한 SCLC 모델에서 TAC2204에 비해 유의하게 증가된 종양 성장 억제를 나타냈다(도 15c).

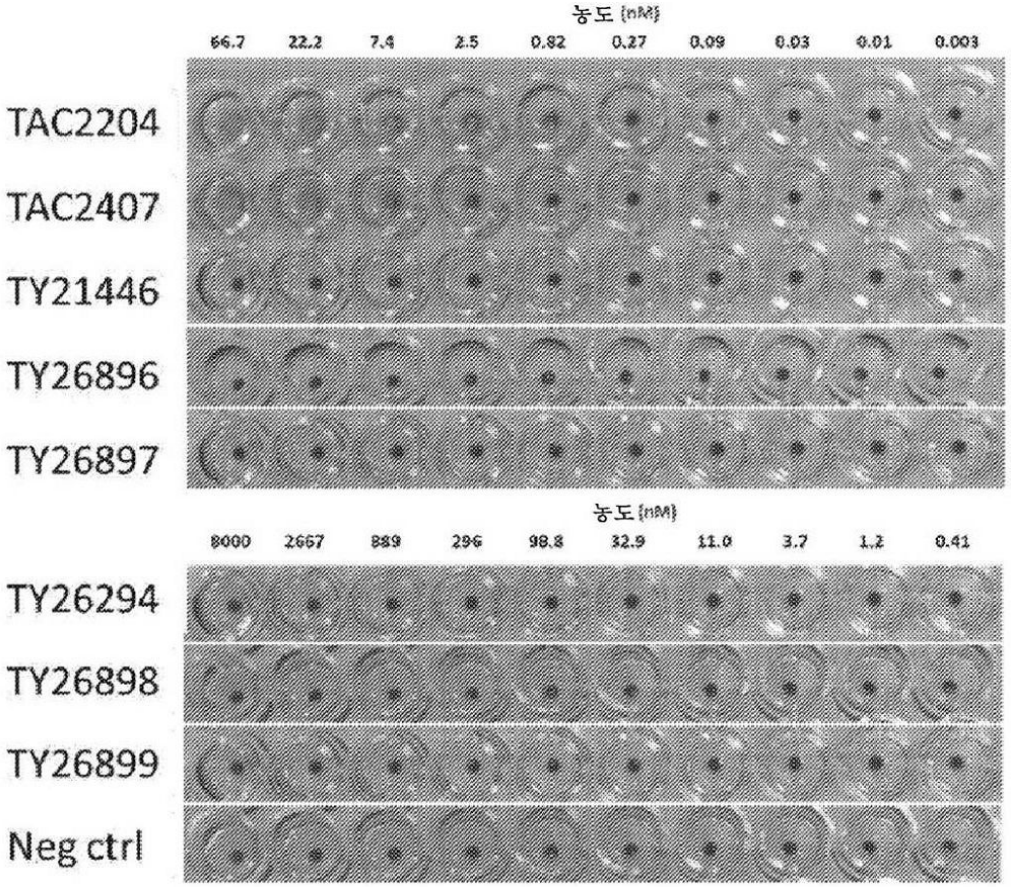
[0541] 고형 종양 모델의 효능 연구에서 마지막 투여 후 72시간에 종양을 수집하여 단일 종양 세포로 분리하였다. 단일 종양 세포를 두 부분으로 나눈 후 각각 TY26898, TAC2204 또는 이소형 항체로 염색한 후 APC-항-인간 IgG 2차 항체로 염색하였다. 유세포 분석기로 염색된 샘플을 분석한 후 CD47 RO 값을 계산하였다(도 16a-16b). 도 16a에 도시된 바와 같이, TY26898은 OE19 모델, MDA-MB-231 및 OV90 모델에서 TAC2204와 유사한 RO를 보였다.

[0542] 구현예 20. 상이한 고형 종양 이종이식 모델에서 TY26898의 절단

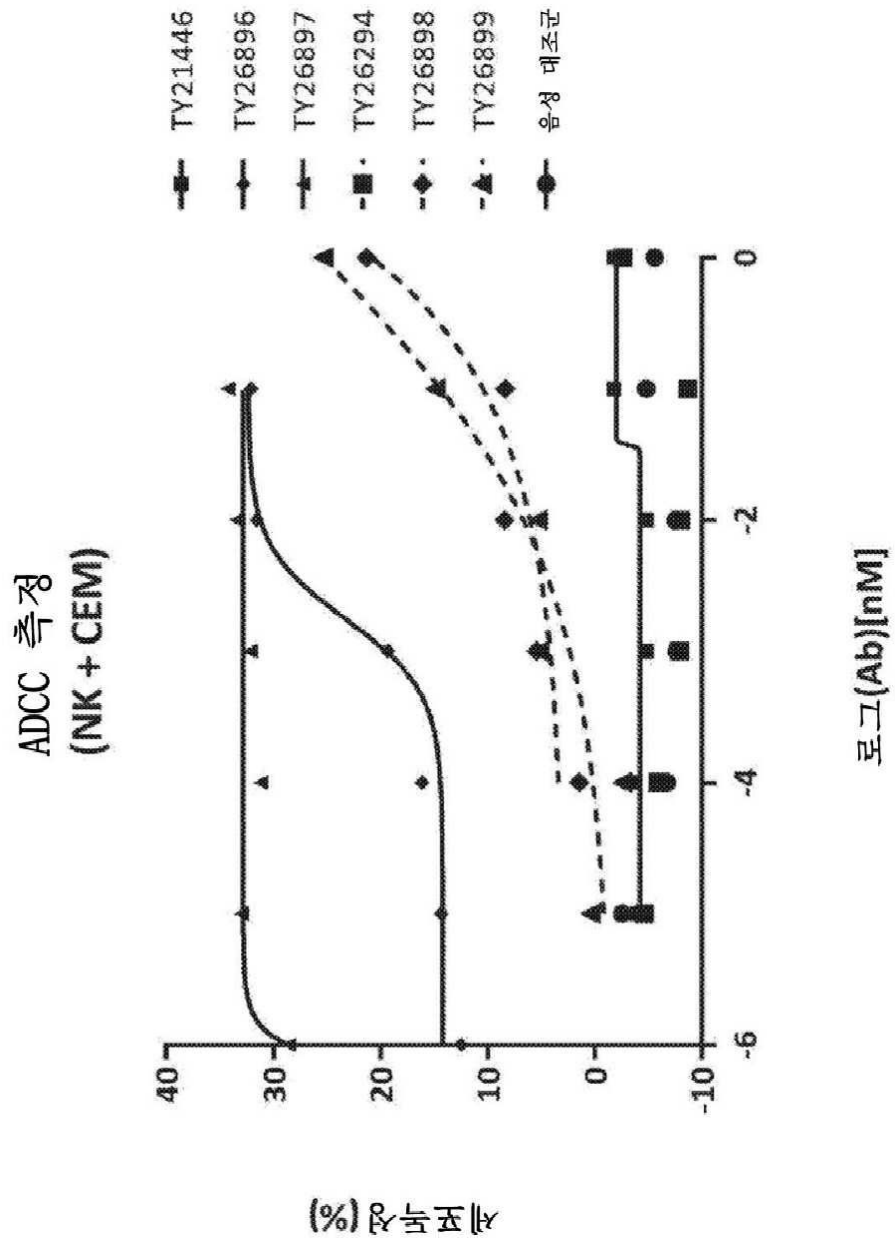
[0543] 도 15a 및 15d에 도시된 효능 연구의 마지막 투여 후 72시간에 종양을 수집하여 냉동 보관하였다. 그런 다음, 종양을 RIPA 완충액에서 균질화하고 단백질을 추출하였다. 단백질 A에 의한 인간 IgG 농축을 위해 총 단백질 2 mg을 취하였다. 모든 농축된 단백질 샘플은 환원성 SDS-PAGE 젤에서 실행되었다. 인간 IgG의 중쇄 및 경쇄는 상응하는 1차 및 2차 항체에 의해 검출되었다. 200 ng의 온전하거나 절단된 TY26898을 빈 종양 샘플에 첨가하고 종양 샘플과 동일한 방법으로 처리한 다음 대조군으로 테스트 종양 샘플과 함께 실행하였다. 도 17a-17b에 도시된 바와 같이, OE19 모델에서는 TY26898의 약 15%~25%가 절단되었고, OV90 모델에서는 TY26898의 약 20%~25%가 절단되었다.

도면

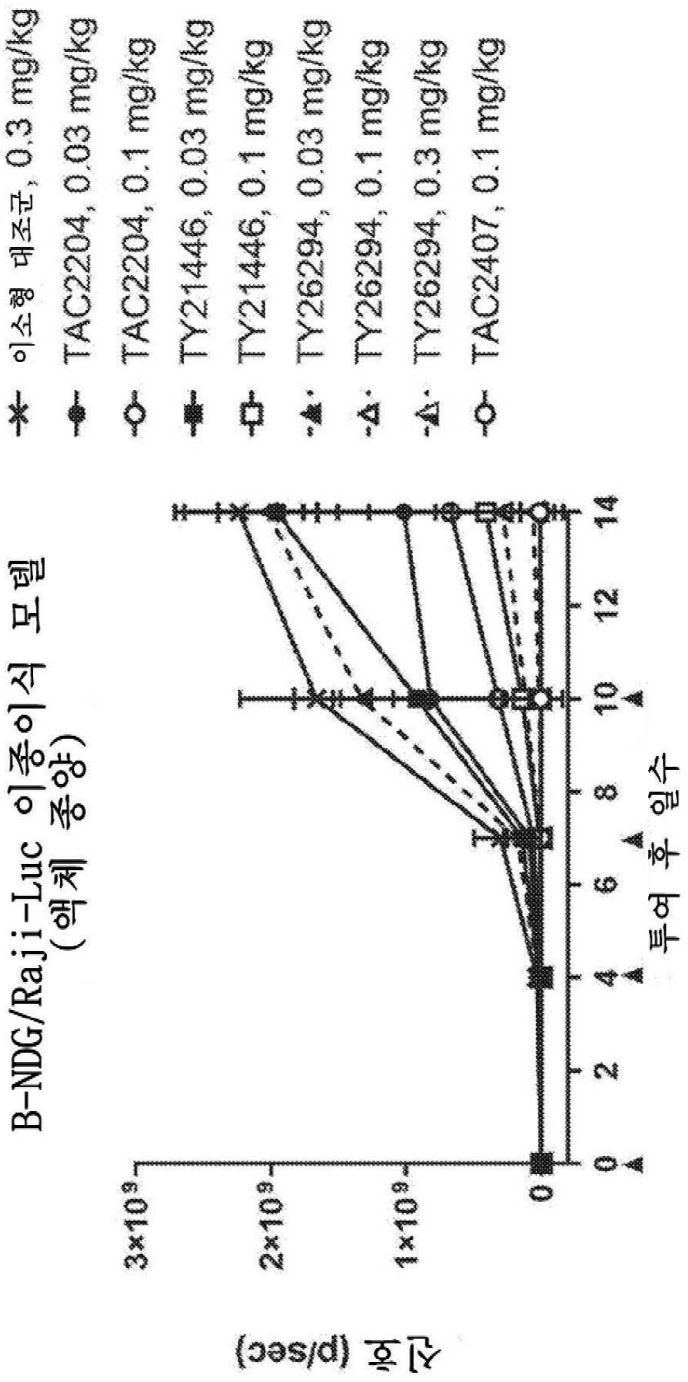
도면1



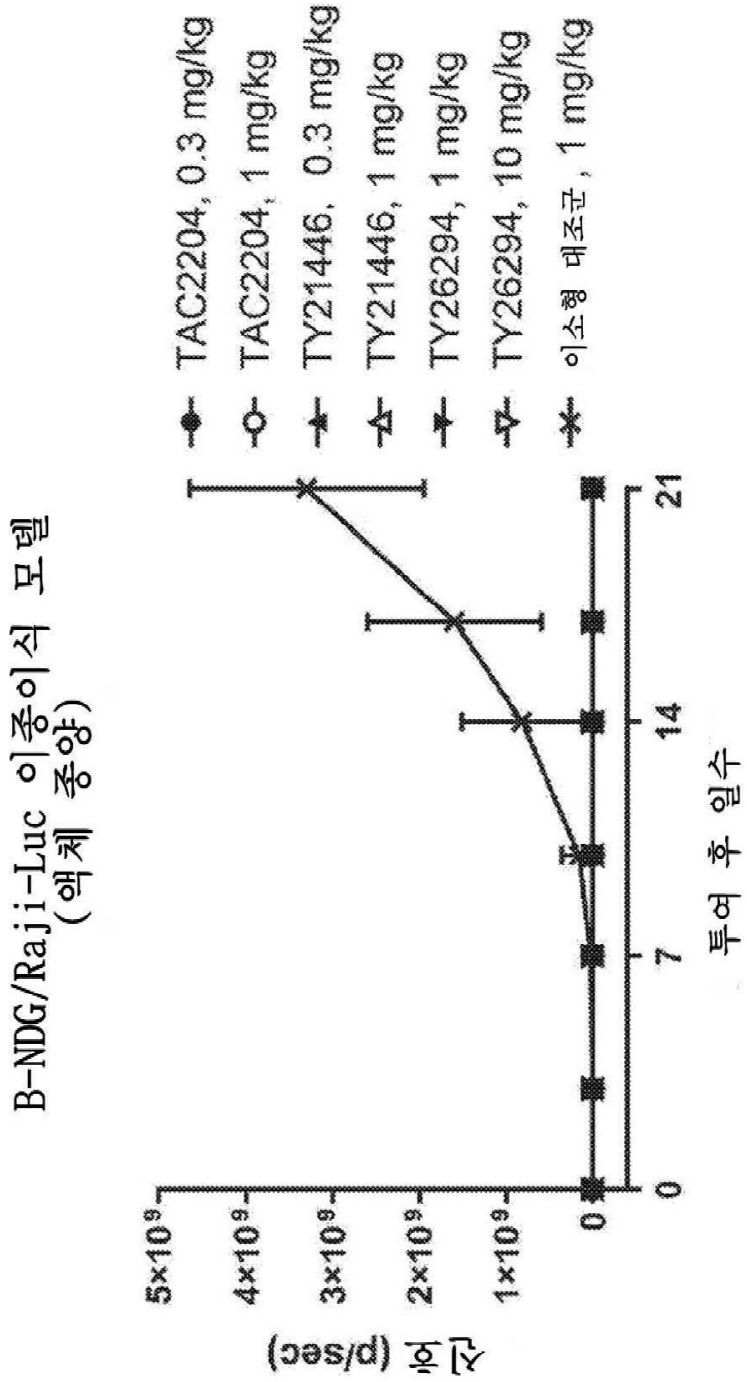
도면2


ADCC 측정
(NK + CEM)
TY21446
TY26896
TY26897
TY26294
TY26898
TY26899
음성 대조군
세포독성 (%)
40
30
20
10
0
-10
-6
-4
-2
0
로그(Ab)[nM]

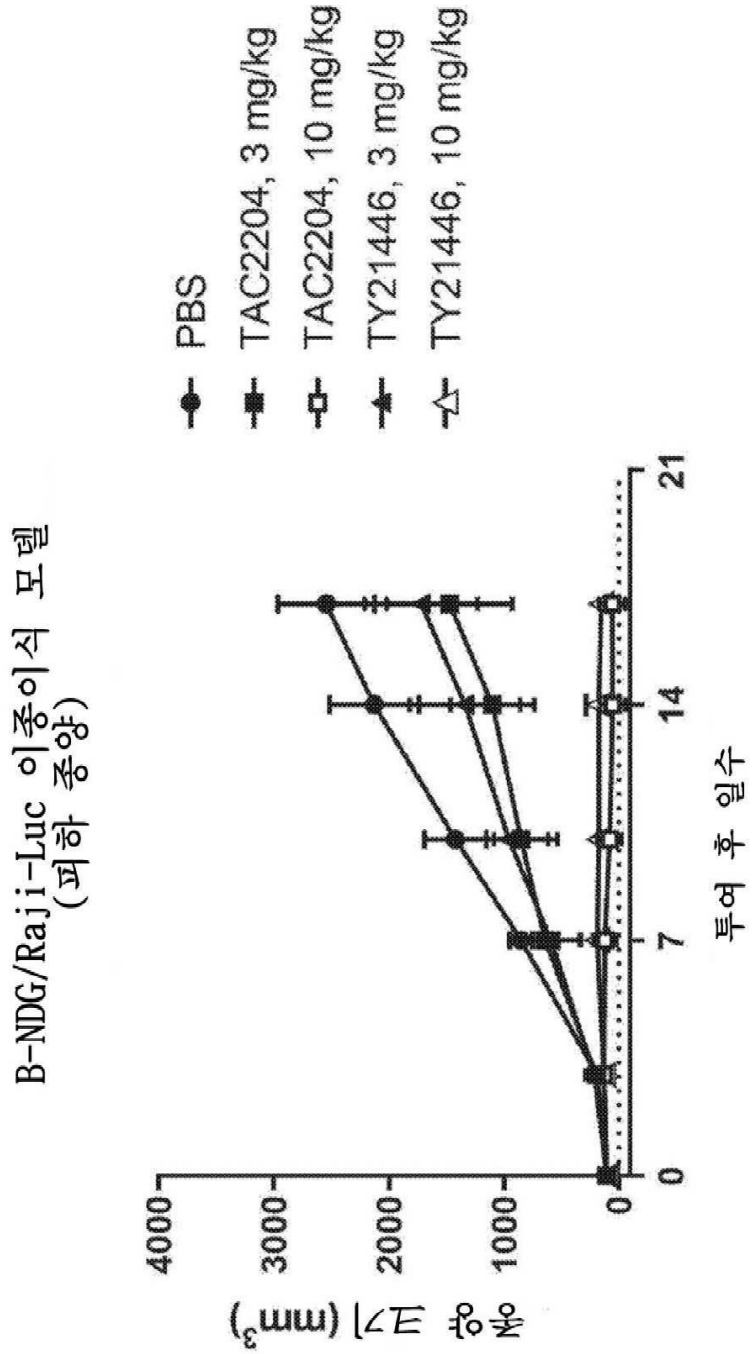
도면3a


B-NDG/Raji-Luc 이종이식 모델
(액체 종양)
이소형 대조군, 0.3 mg/kg
TAC2204, 0.03 mg/kg
TAC2204, 0.1 mg/kg
TY21446, 0.03 mg/kg
TY21446, 0.1 mg/kg
TY26294, 0.03 mg/kg
TY26294, 0.1 mg/kg
TY26294, 0.3 mg/kg
TAC2407, 0.1 mg/kg
신호 (p/sec)
3×10⁹
2×10⁹
1×10⁹
0
0
2
4
6
8
10
12
14
투여 후 일수

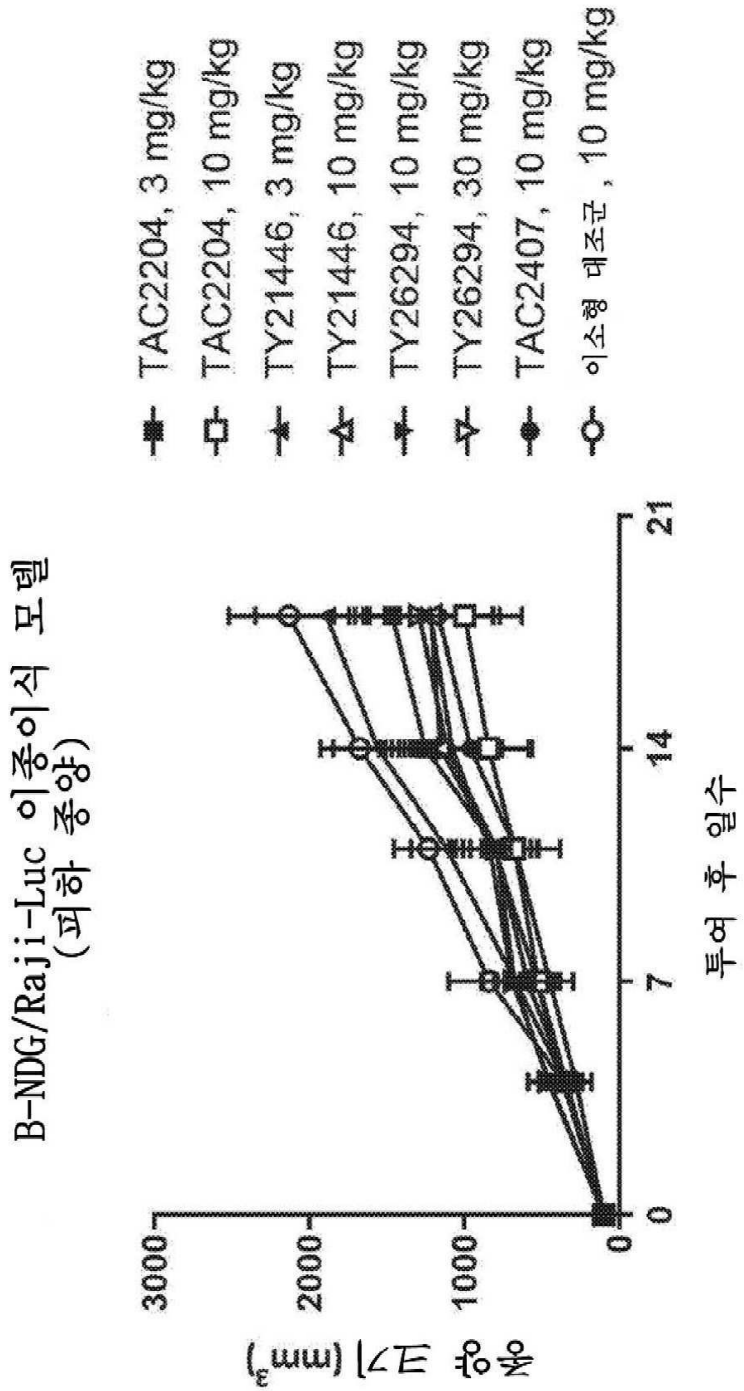
도면3b


B-NDG/Raji-Luc 이종이식 모델
(액체 종양)
TAC2204, 0.3 mg/kg
TAC2204, 1 mg/kg
TY21446, 0.3 mg/kg
TY21446, 1 mg/kg
TY26294, 1 mg/kg
TY26294, 10 mg/kg
이소형 대조군, 1 mg/kg
신호 (p/sec)
5×10⁹
4×10⁹
3×10⁹
2×10⁹
1×10⁹
0
0
7
14
21
투여 후 일수

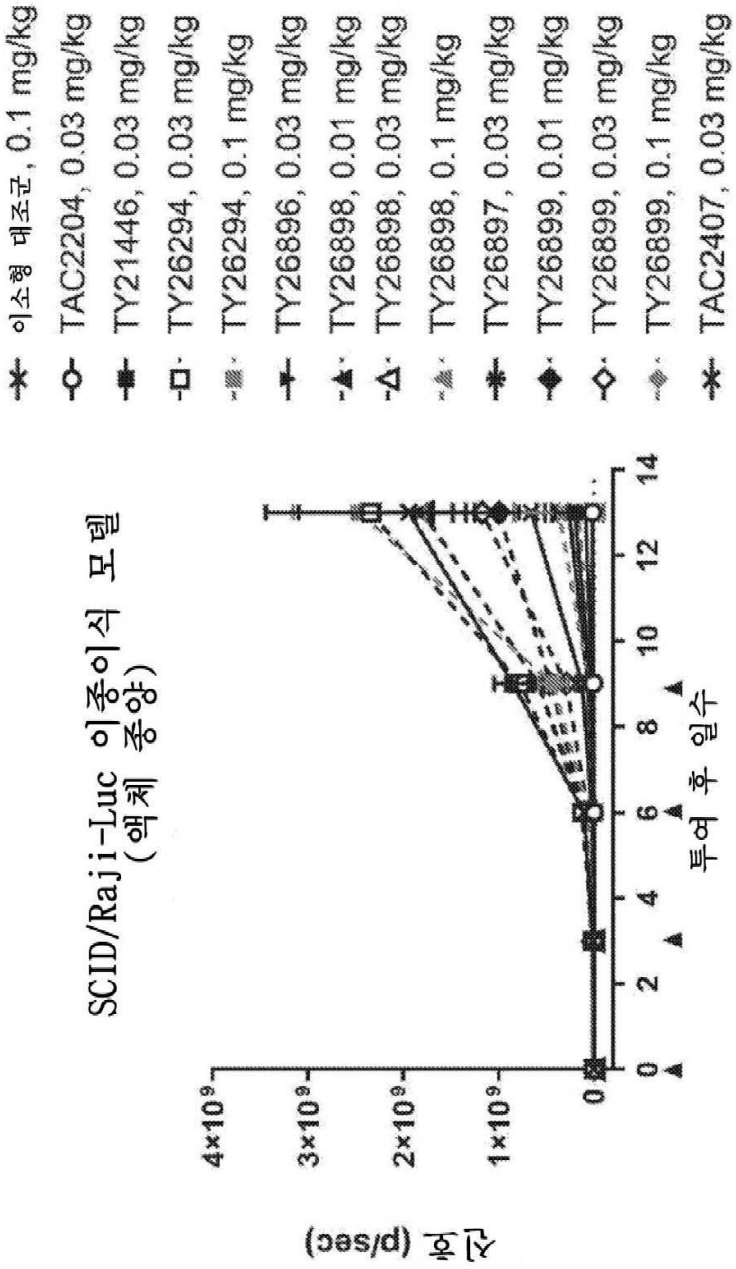
도면4a


B-NDG/Raji-Luc 이종이식 모델
(피하 종양)
PBS
TAC2204, 3 mg/kg
TAC2204, 10 mg/kg
TY21446, 3 mg/kg
TY21446, 10 mg/kg
종양 크기 (mm³)
4000
3000
2000
1000
0
0
7
14
21
투여 후 일수

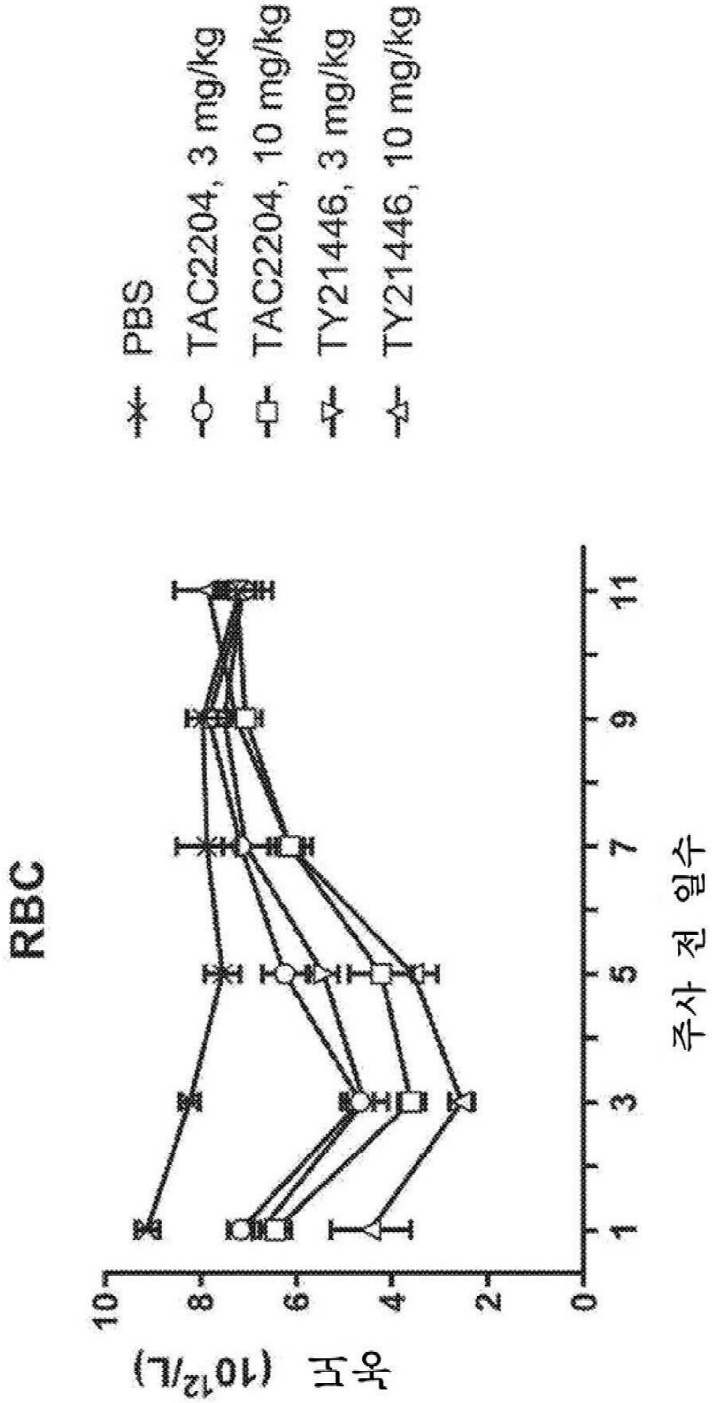
도면4b


B-NDG/Raji-Luc 이종이식 모델
(피하 종양)
TAC2204, 3 mg/kg
TAC2204, 10 mg/kg
TY21446, 3 mg/kg
TY21446, 10 mg/kg
TY26294, 10 mg/kg
TY26294, 30 mg/kg
TAC2407, 10 mg/kg
이소형 대조군 , 10 mg/kg
종양 크기 (mm³)
3000
2000
1000
0
0
7
14
21
투여 후 일수

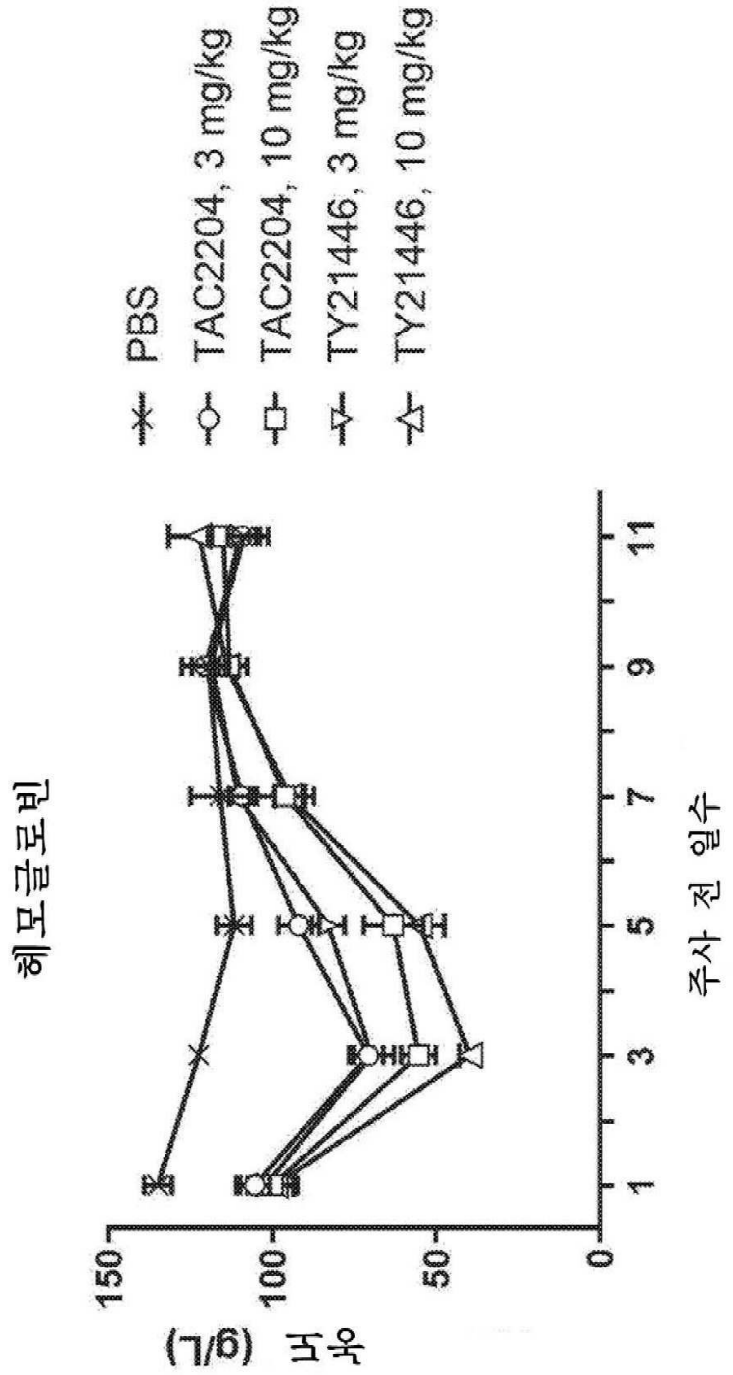
도면5


이소형 대조군, 0.1 mg/kg
TAC2204, 0.03 mg/kg
TY21446, 0.03 mg/kg
TY26294, 0.03 mg/kg
TY26294, 0.1 mg/kg
TY26896, 0.03 mg/kg
TY26898, 0.01 mg/kg
TY26898, 0.03 mg/kg
TY26898, 0.1 mg/kg
TY26897, 0.03 mg/kg
TY26899, 0.01 mg/kg
TY26899, 0.03 mg/kg
TY26899, 0.1 mg/kg
TAC2407, 0.03 mg/kg
SCID/Raji-Luc 이종이식 모델
(액체 종양)
신호 (p/sec)
4×10⁹
3×10⁹
2×10⁹
1×10⁹
0
0
2
4
6
8
10
12
14
투여 후 일수

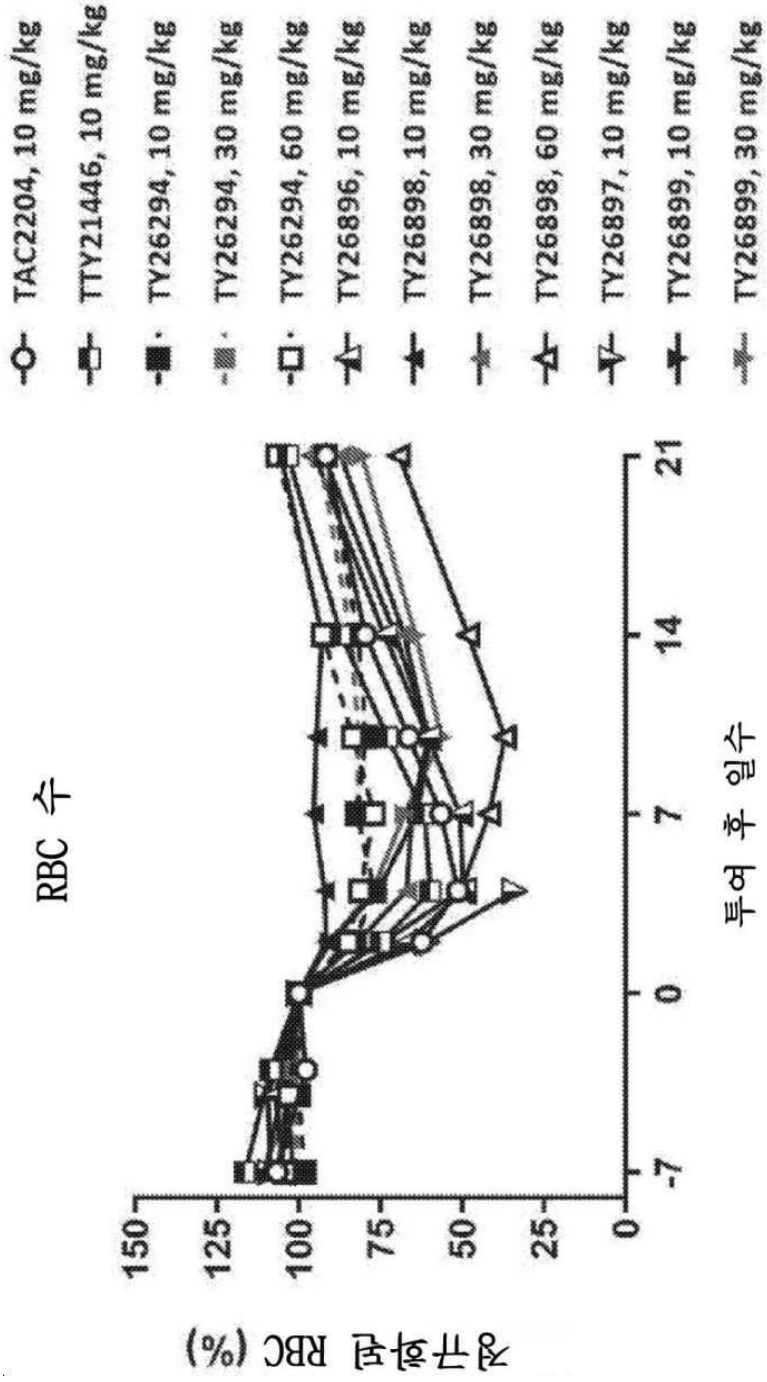
도면6a


RBC
PBS
TAC2204, 3 mg/kg
TAC2204, 10 mg/kg
TY21446, 3 mg/kg
TY21446, 10 mg/kg
농도 (10¹²/L)
0
2
4
6
8
10
1
3
5
7
9
11
주사 전 일수

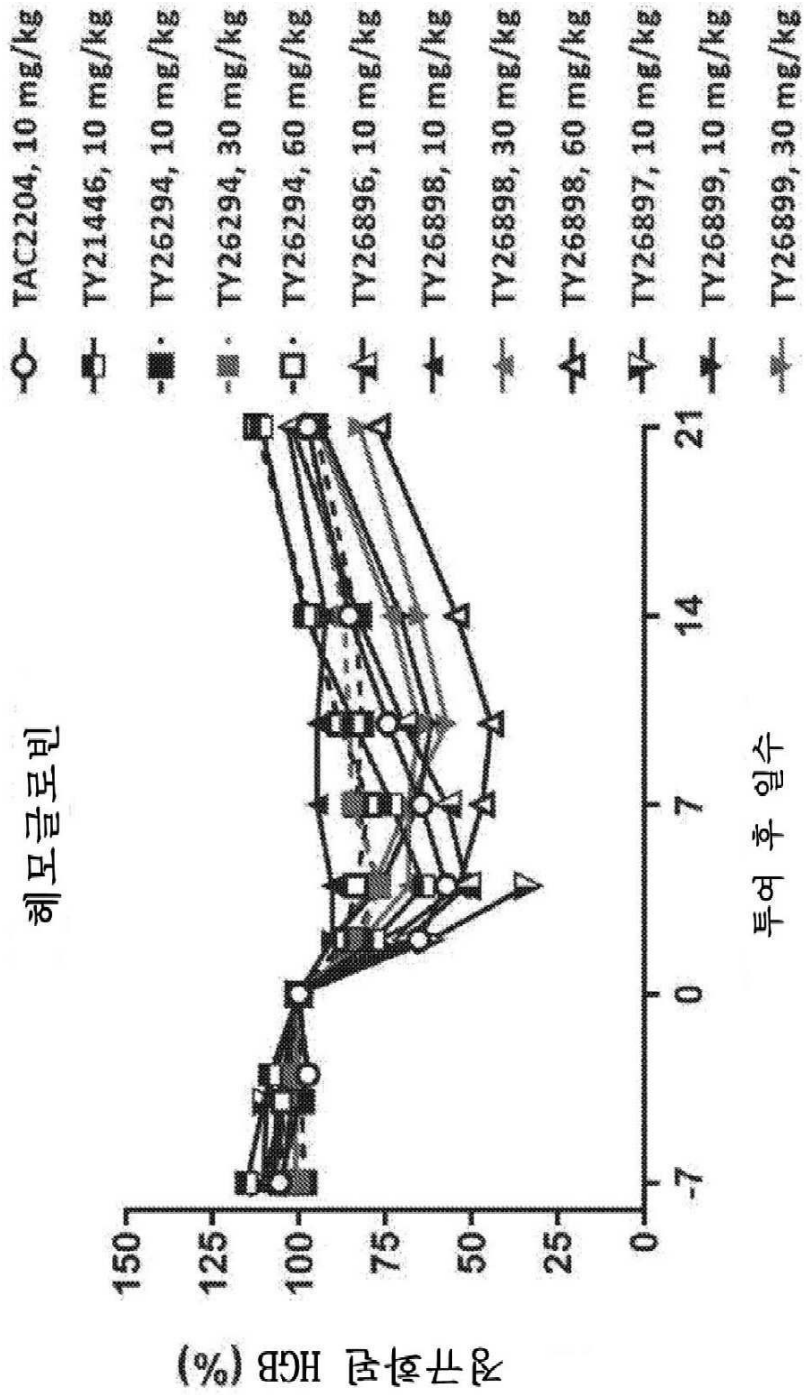
도면6b


PBS
TAC2204, 3 mg/kg
TAC2204, 10 mg/kg
TY21446, 3 mg/kg
TY21446, 10 mg/kg
헤모글로빈
농도 (g/L)
150
100
50
0
1
3
5
7
9
11
주사 전 일수

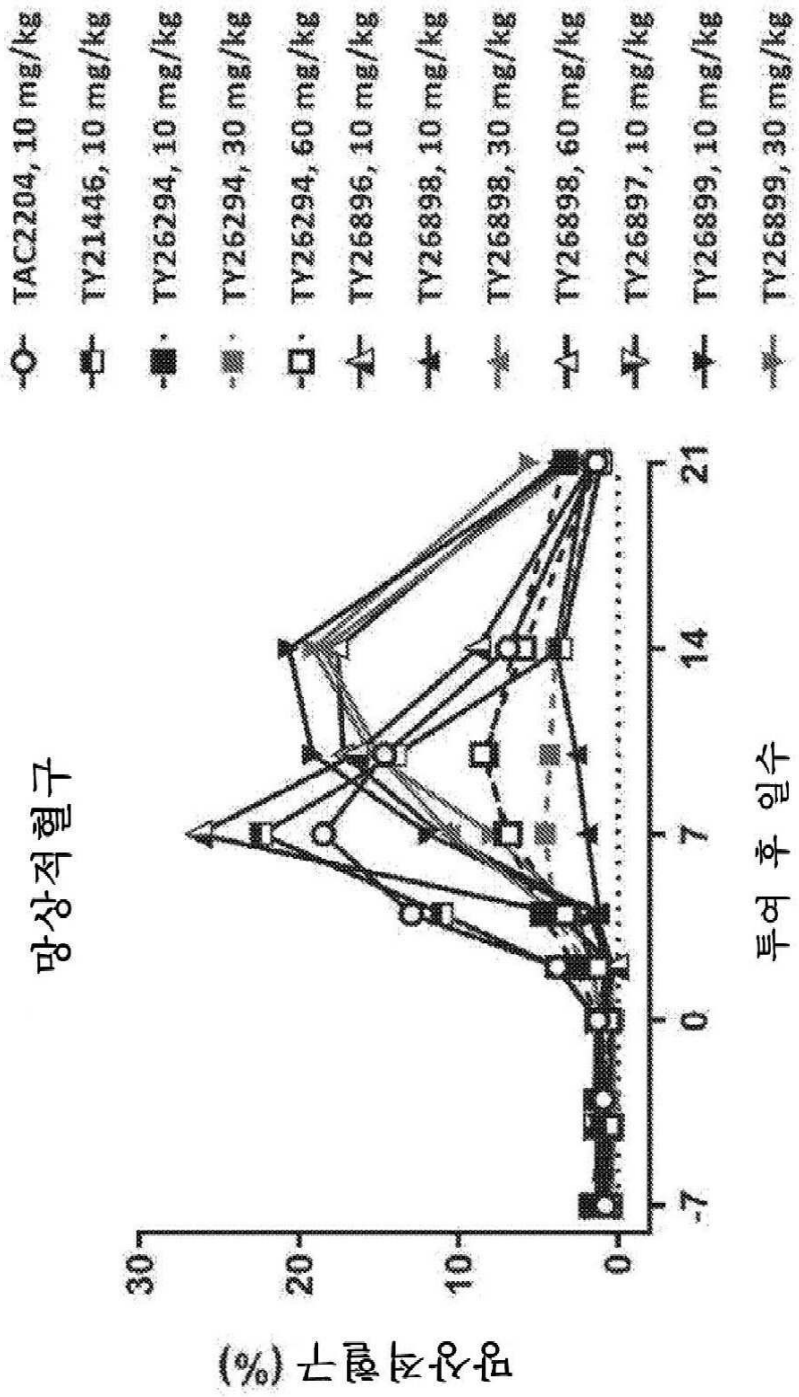
도면7a


TAC2204, 10 mg/kg
TTY21446, 10 mg/kg
TY26294, 10 mg/kg
TY26294, 30 mg/kg
TY26294, 60 mg/kg
TY26896, 10 mg/kg
TY26898, 10 mg/kg
TY26898, 30 mg/kg
TY26898, 60 mg/kg
TY26897, 10 mg/kg
TY26899, 10 mg/kg
TY26899, 30 mg/kg
RBC 수
정규화된 RBC (%)
150
125
100
75
50
25
0
-7
0
7
14
21
투여 후 일수

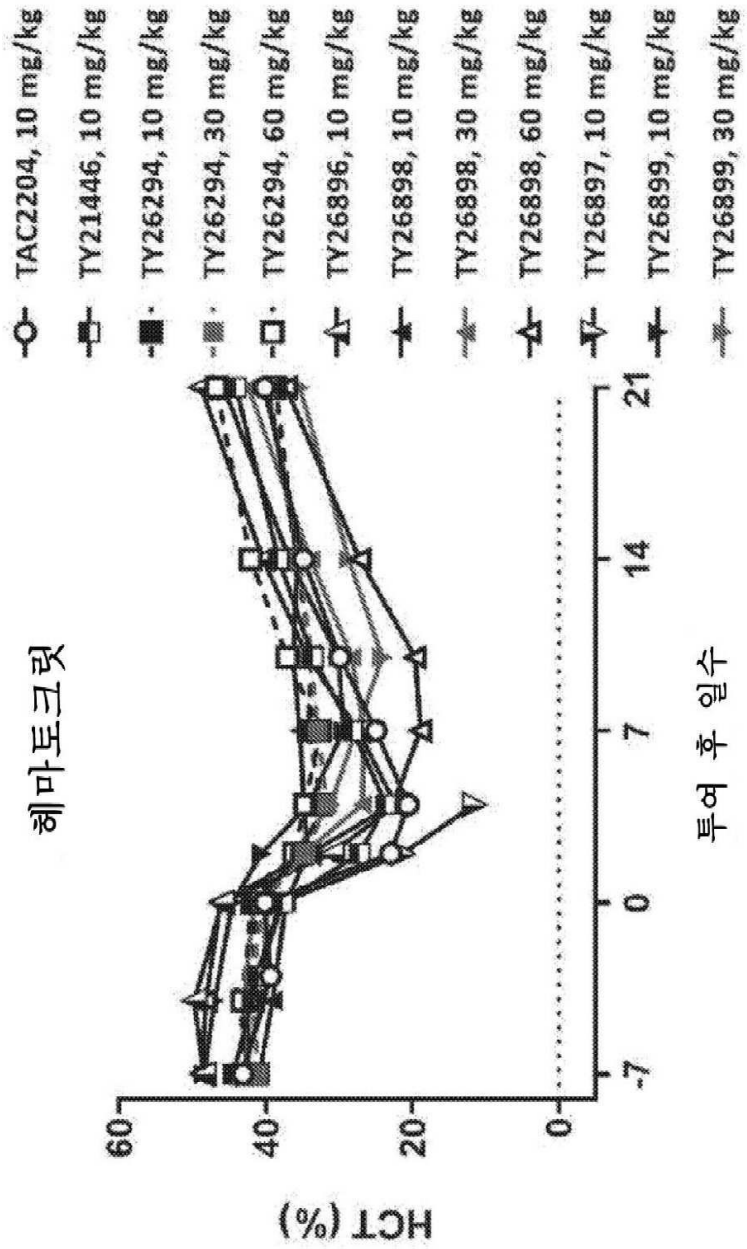
도면7b


TAC2204, 10 mg/kg
TY21446, 10 mg/kg
TY26294, 10 mg/kg
TY26294, 30 mg/kg
TY26294, 60 mg/kg
TY26896, 10 mg/kg
TY26898, 10 mg/kg
TY26898, 30 mg/kg
TY26898, 60 mg/kg
TY26897, 10 mg/kg
TY26899, 10 mg/kg
TY26899, 30 mg/kg
헤모글로빈
정규화된 HGB (%)
150
125
100
75
50
25
0
-7
0
7
14
21
투여 후 일수

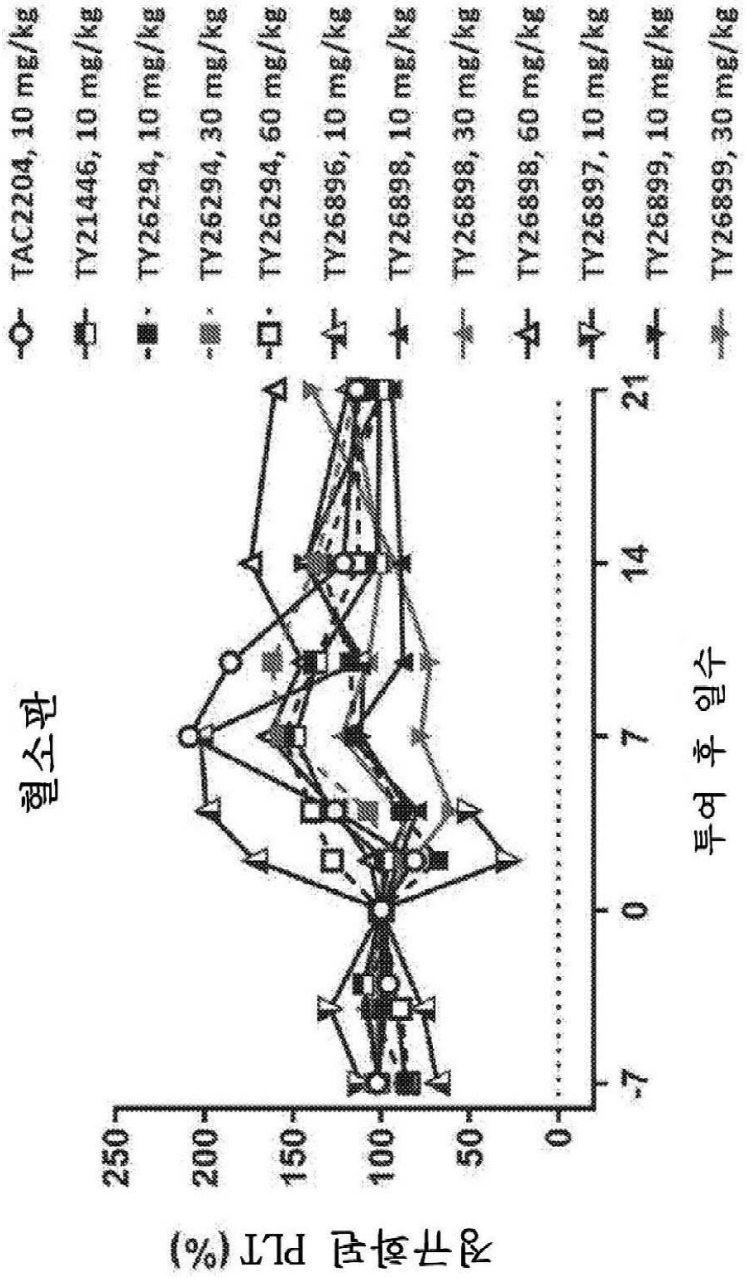
도면7c


TAC2204, 10 mg/kg
TY21446, 10 mg/kg
TY26294, 10 mg/kg
TY26294, 30 mg/kg
TY26294, 60 mg/kg
TY26896, 10 mg/kg
TY26898, 10 mg/kg
TY26898, 30 mg/kg
TY26898, 60 mg/kg
TY26897, 10 mg/kg
TY26899, 10 mg/kg
TY26899, 30 mg/kg
망상적혈구 (%)
30
20
10
0
-7
0
7
14
21
투여 후 일수
망상적혈구

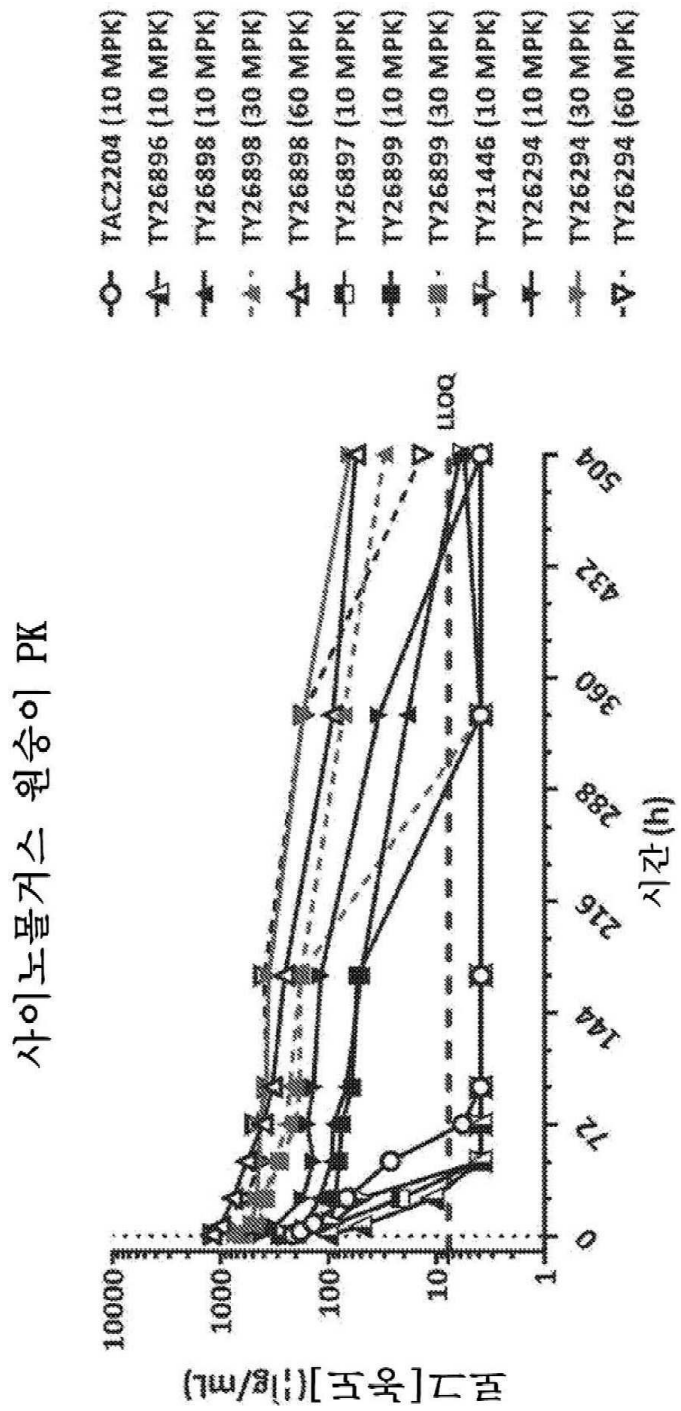
도면7d


TAC2204, 10 mg/kg
TY21446, 10 mg/kg
TY26294, 10 mg/kg
TY26294, 30 mg/kg
TY26294, 60 mg/kg
TY26896, 10 mg/kg
TY26898, 10 mg/kg
TY26898, 30 mg/kg
TY26898, 60 mg/kg
TY26897, 10 mg/kg
TY26899, 10 mg/kg
TY26899, 30 mg/kg
헤마토크릿
HCT (%)
60
40
20
0
-7
0
7
14
21
투여 후 일수

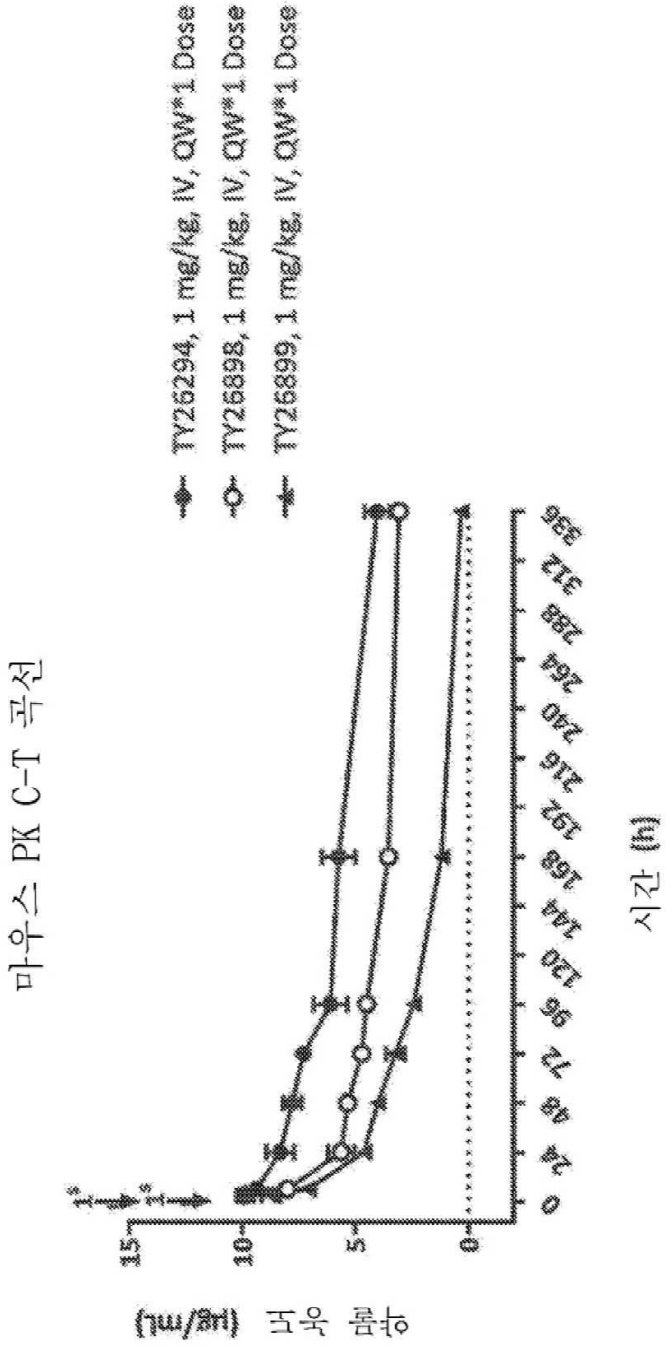
도면7e


TAC2204, 10 mg/kg
TY21446, 10 mg/kg
TY26294, 10 mg/kg
TY26294, 30 mg/kg
TY26294, 60 mg/kg
TY26896, 10 mg/kg
TY26898, 10 mg/kg
TY26898, 30 mg/kg
TY26898, 60 mg/kg
TY26897, 10 mg/kg
TY26899, 10 mg/kg
TY26899, 30 mg/kg
혈소판
정규화된 PLT (%)
250
200
150
100
50
0
-7
0
7
14
21
투여 후 일수

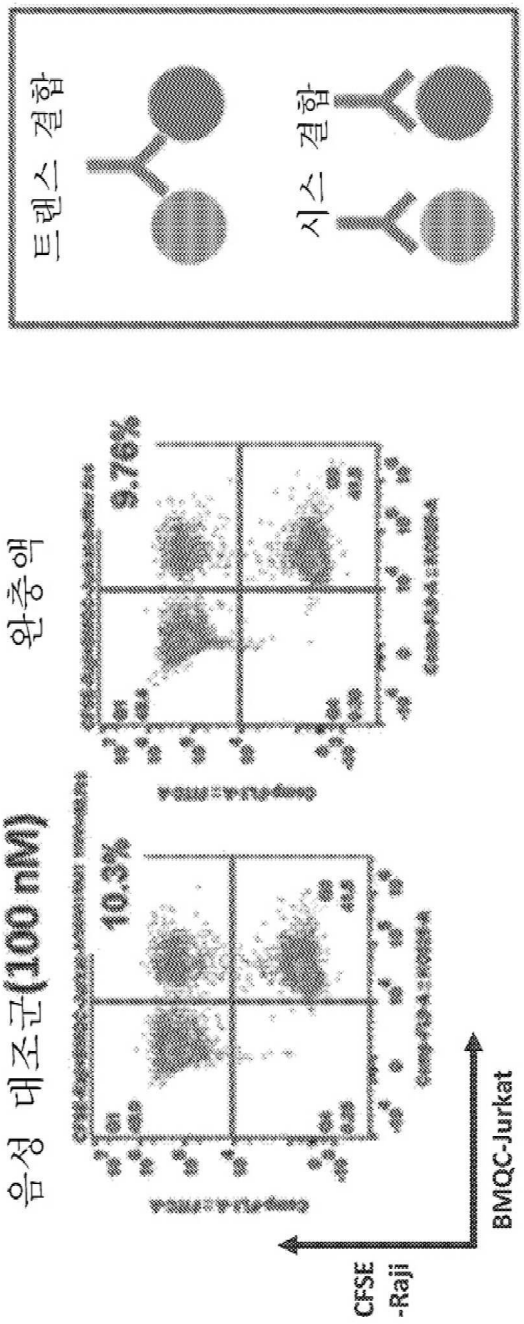
도면7f


사이노몰거스 원숭이 PK
TAC2204 (10 MPK)
TY26896 (10 MPK)
TY26898 (10 MPK)
TY26898 (30 MPK)
TY26898 (60 MPK)
TY26897 (10 MPK)
TY26899 (10 MPK)
TY26899 (30 MPK)
TY21446 (10 MPK)
TY26294 (10 MPK)
TY26294 (30 MPK)
TY26294 (60 MPK)
LLOQ
10000
1000
100
10
1
0
72
144
216
288
360
432
504
시간 (h)
로그[농도](ng/mL)

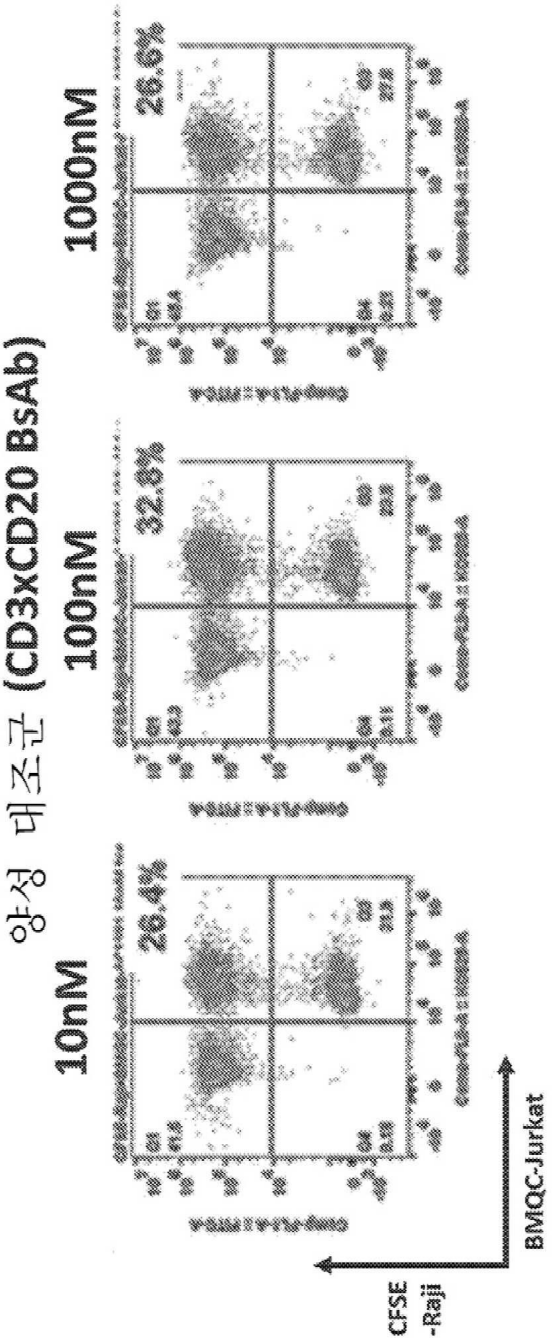
도면8


마우스 PK C-T 곡선
TY26294, 1 mg/kg, IV, QW*1 Dose
TY26898, 1 mg/kg, IV, QW*1 Dose
TY26899, 1 mg/kg, IV, QW*1 Dose
약물 농도 (μg/mL)
15
10
5
0
0
24
48
72
96
120
144
168
192
216
240
264
288
312
336
시간 (h)

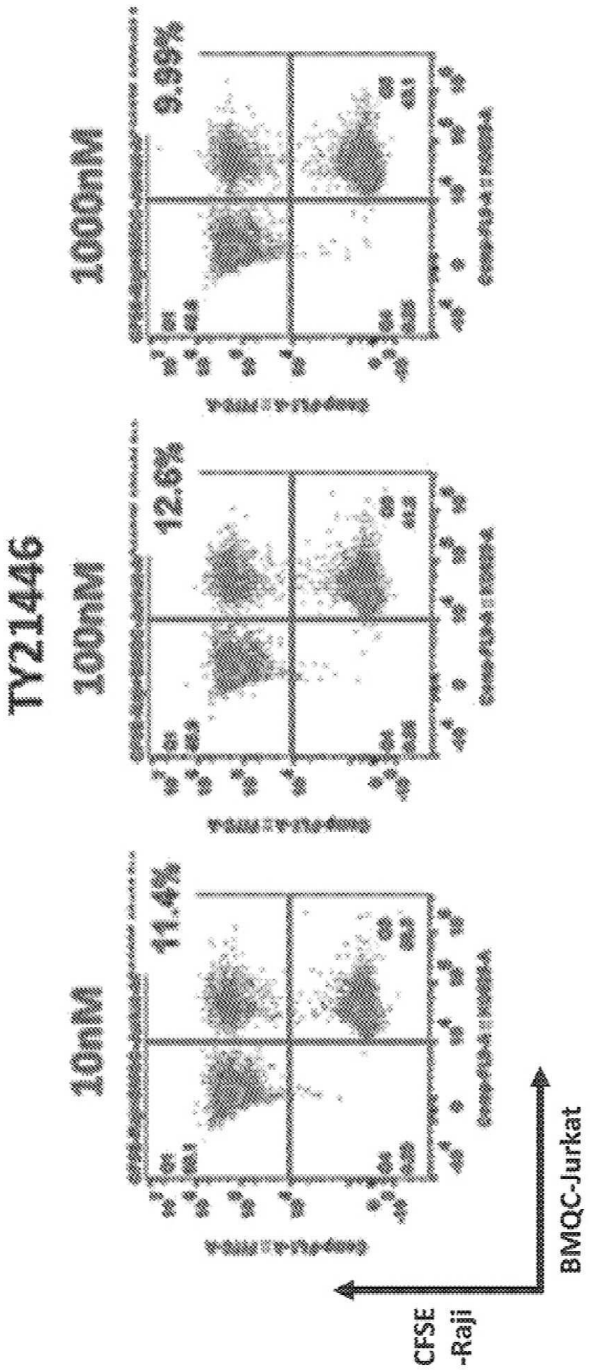
도면9a



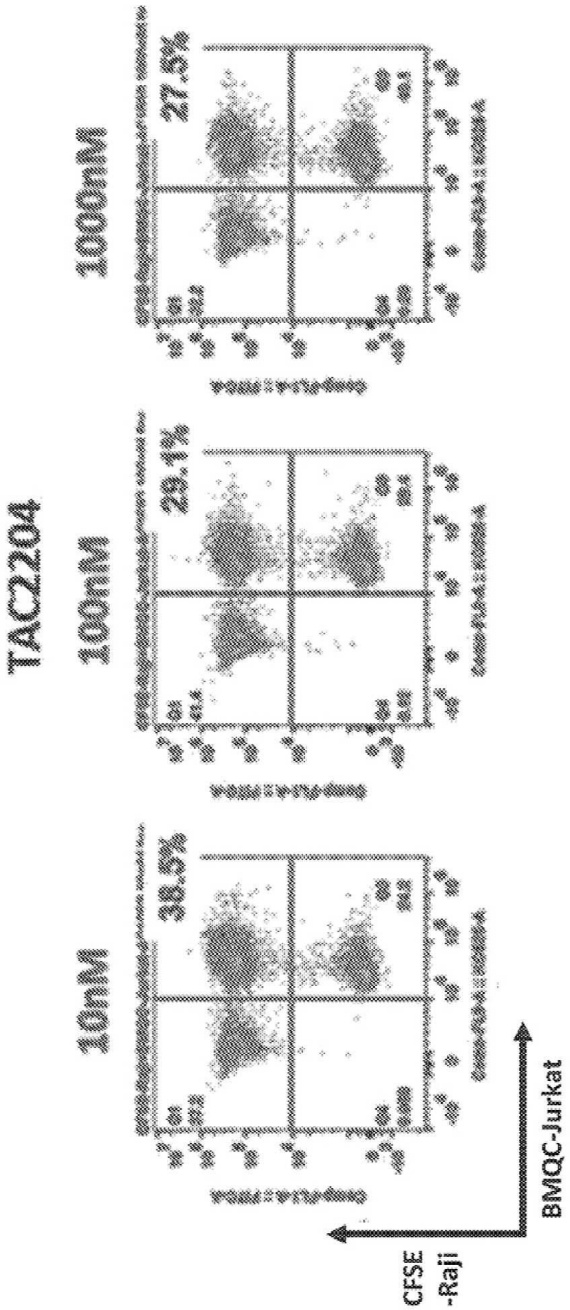
도면9b


양성 대조군 (CD3xCD20 BsAb)
10nM
100nM
1000nM
26.4%
32.6%
26.6%
CFSE
-Raji
BMQC-Jurkat

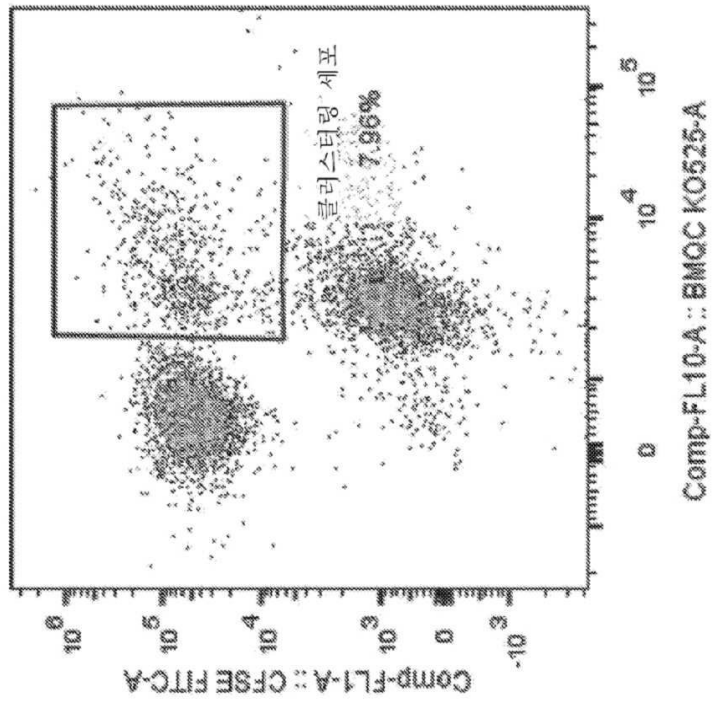
도면9c



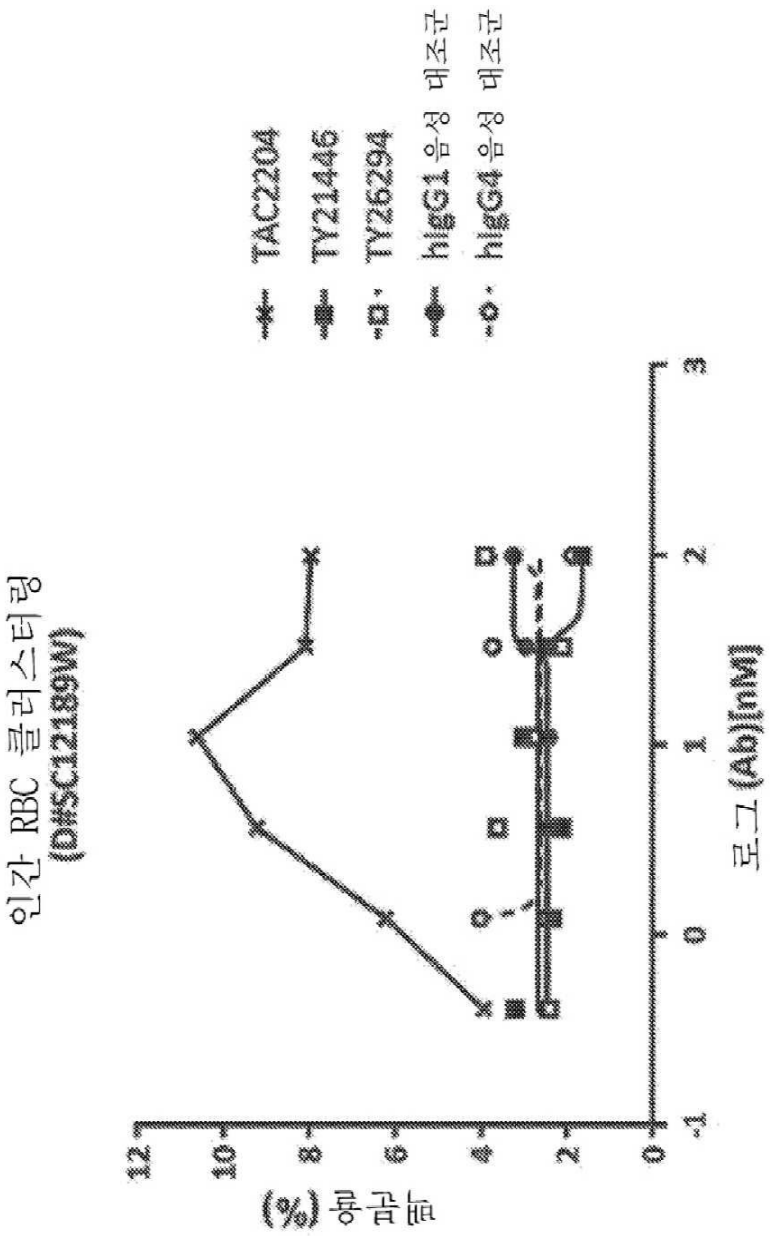
도면9d



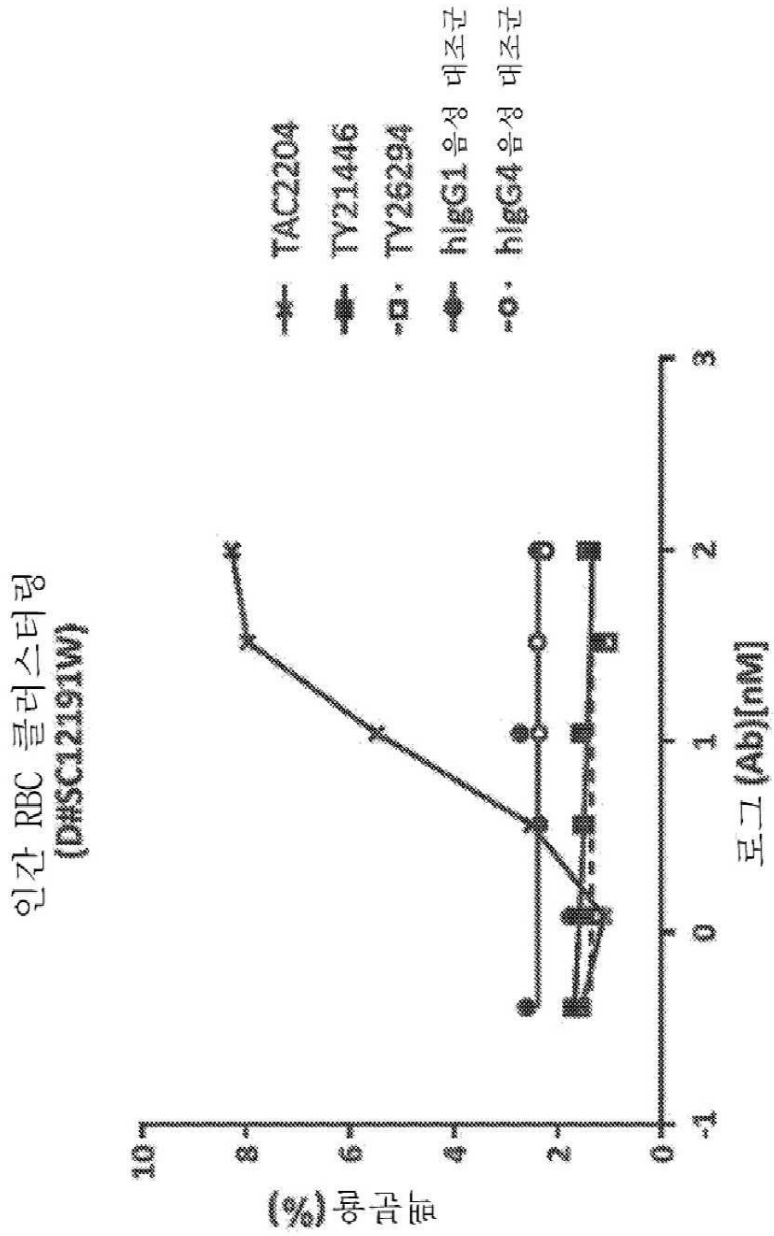
도면10a



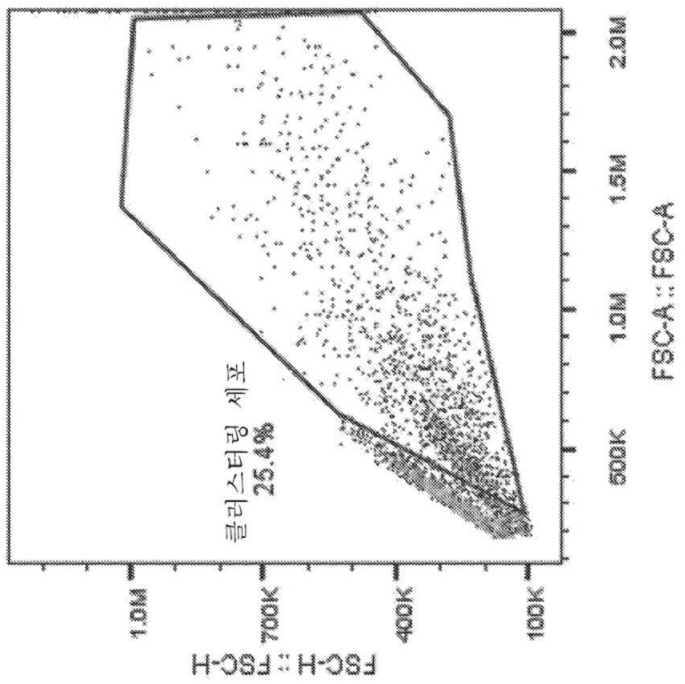
도면10b


인간 RBC 클러스터링
(DHSC12189W)
TAC2204
TY21446
TY26294
hIgG1 음성 대조군
hIgG4 음성 대조군
용혈율 (%)
12
10
8
6
4
2
0
-1
0
1
2
3
로그 (Ab)[nM]

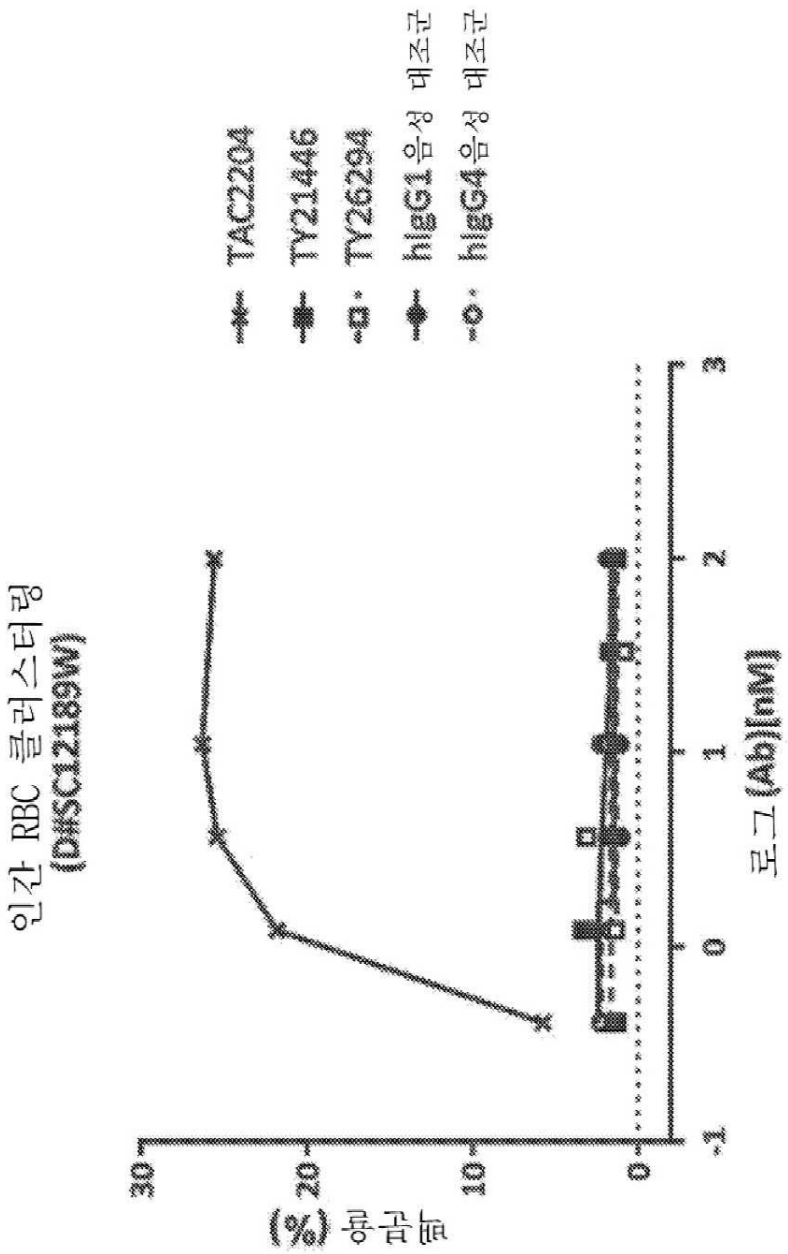
도면10c


인간 RBC 클러스터링
(D#SC12191W)
TAC2204
TY21446
TY26294
hIgG1 음성 대조군
hIgG4 음성 대조군
백분율 (%)
10
8
6
4
2
0
-1
0
1
2
3
로그 [Ab][nM]

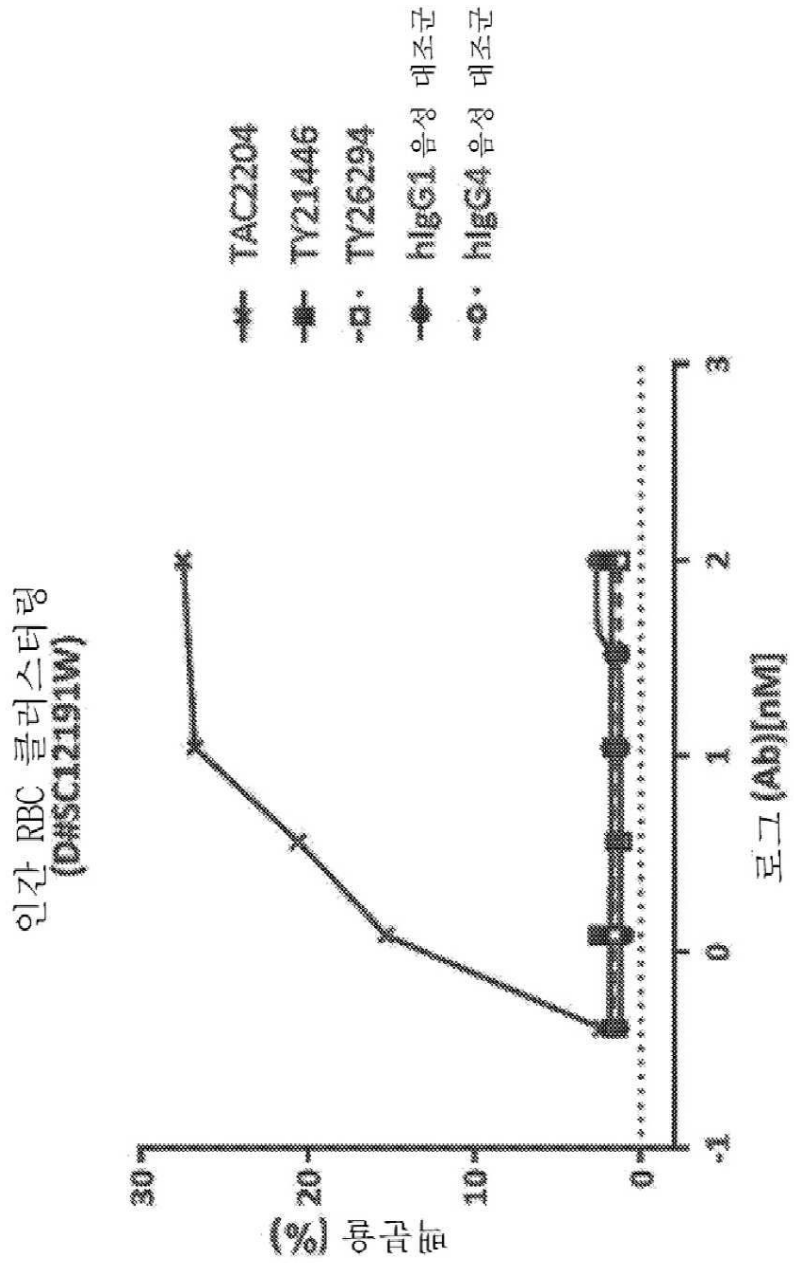
도면11a


클러스터링 세포
25.4%
FSC-A :: FSC-A
600K
1.0M
1.5M
2.0M
FSC-H :: FSC-H
100K
400K
700K
1.0M

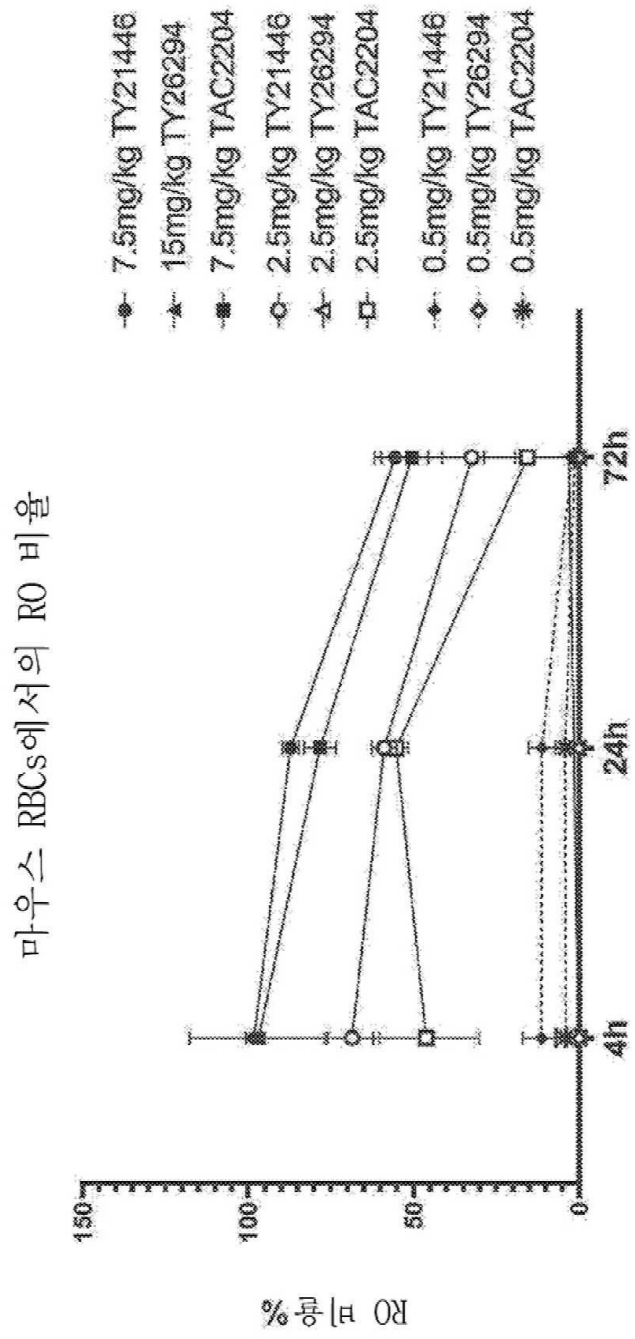
도면11b


인간 RBC 클러스터링
(DHSC12189W)
TAC2204
TY21446
TY26294
hIgG1 음성 대조군
hIgG4 음성 대조군
30
20
10
0
-1
0
1
2
3
로그 [Ab][nM]
백분율 (%)

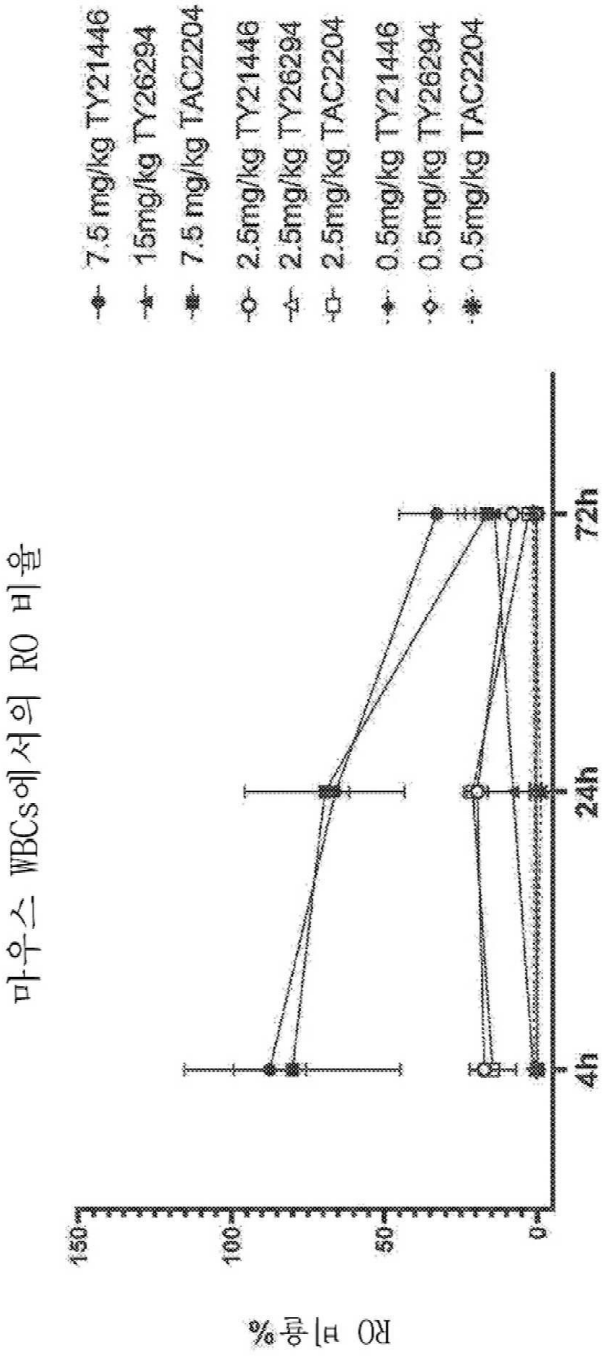
도면11c


인간 RBC 클러스터링
(DMSC12191W)
TAC2204
TY21446
TY26294
hIgG1 음성 대조군
hIgG4 음성 대조군
30
20
10
0
-1
0
1
2
3
로그 [Ab][nM]
백분율 (%)

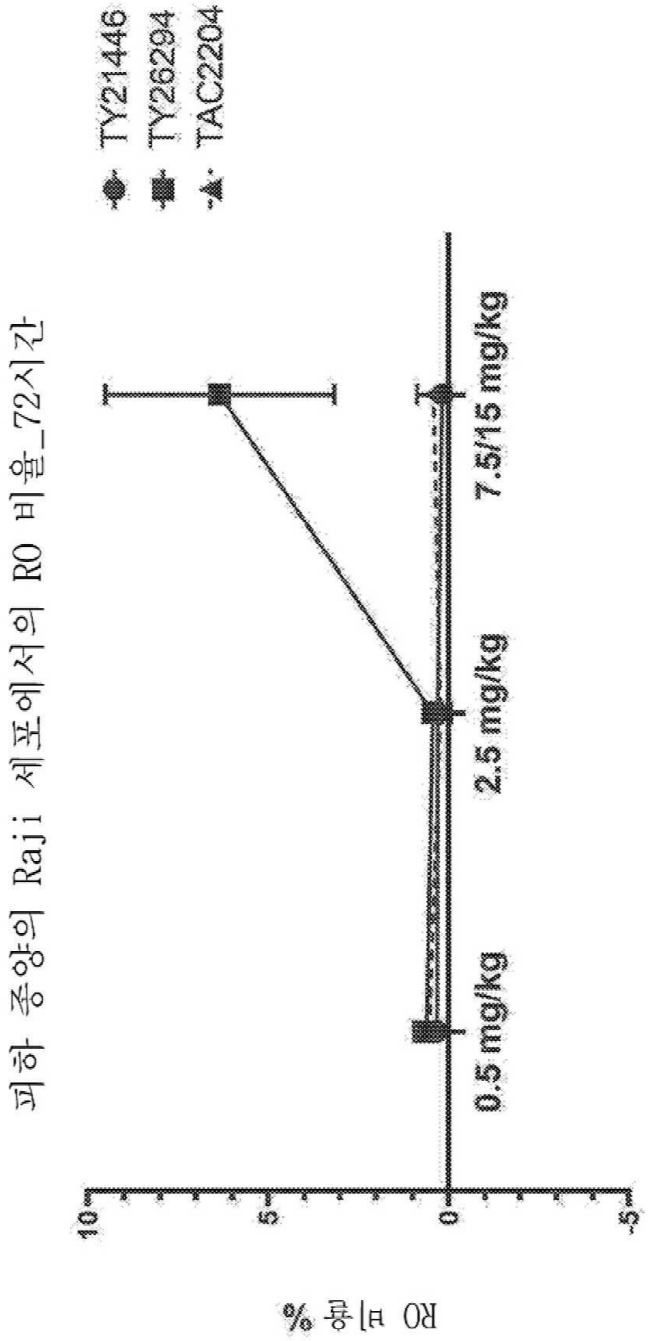
도면12a


마우스 RBCs에서의 RO 비율
RO 비율%
150
100
50
0
4h
24h
72h
7.5mg/kg TY21446
15mg/kg TY26294
7.5mg/kg TAC2204
2.5mg/kg TY21446
2.5mg/kg TY26294
2.5mg/kg TAC2204
0.5mg/kg TY21446
0.5mg/kg TY26294
0.5mg/kg TAC2204

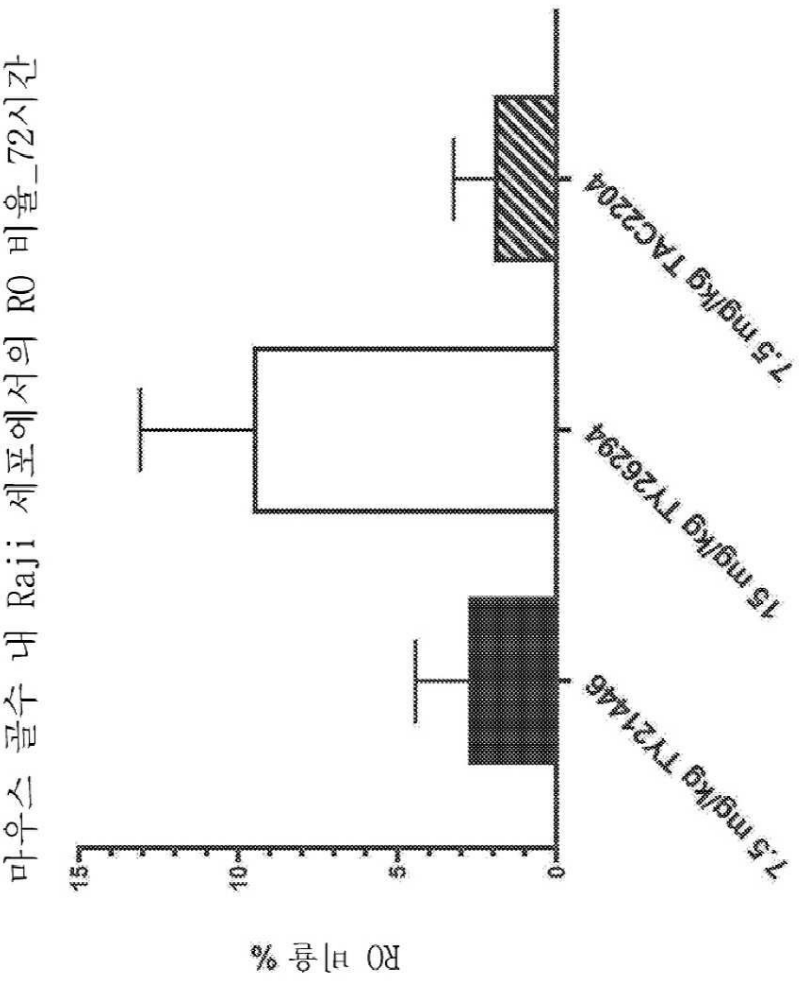
도면12b


마우스 WBCs에서의 RO 비율
RO 비율%
150
100
50
0
4h
24h
72h
7.5 mg/kg TY21446
15mg/kg TY26294
7.5 mg/kg TAC2204
2.5mg/kg TY21446
2.5mg/kg TY26294
2.5mg/kg TAC2204
0.5mg/kg TY21446
0.5mg/kg TY26294
0.5mg/kg TAC2204

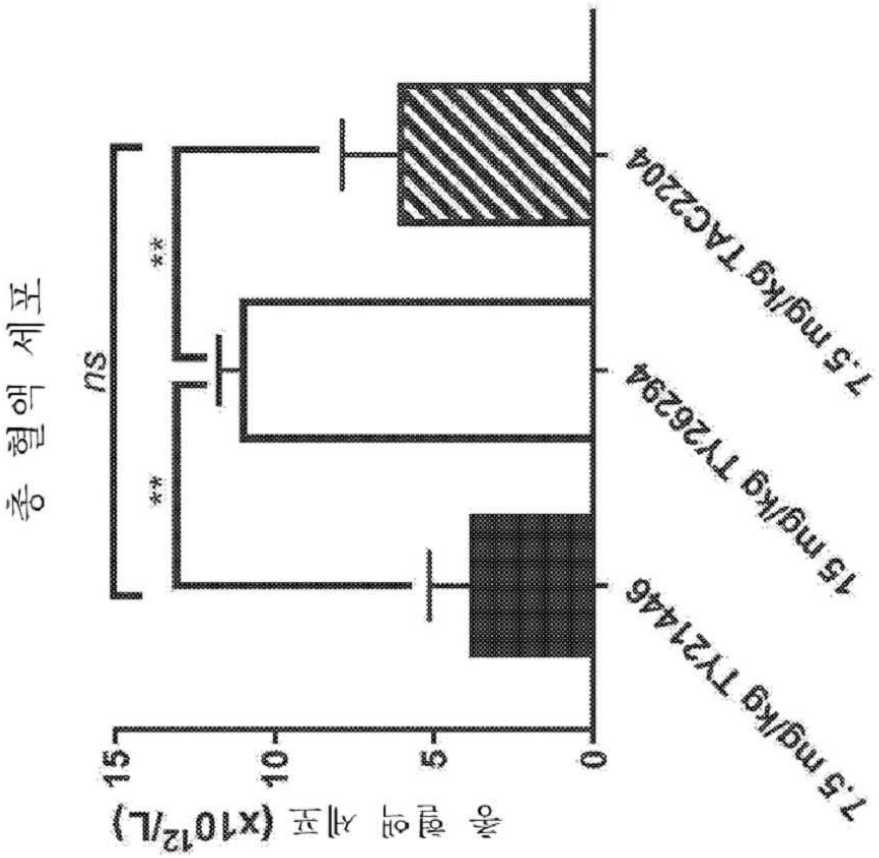
도면12c


TY21446
TY26294
TAC22204
피하 종양의 Raji 세포에서의 RO 비율_72시간
RO 비율 %
10
5
0
-5
0.5 mg/kg
2.5 mg/kg
7.5/15 mg/kg

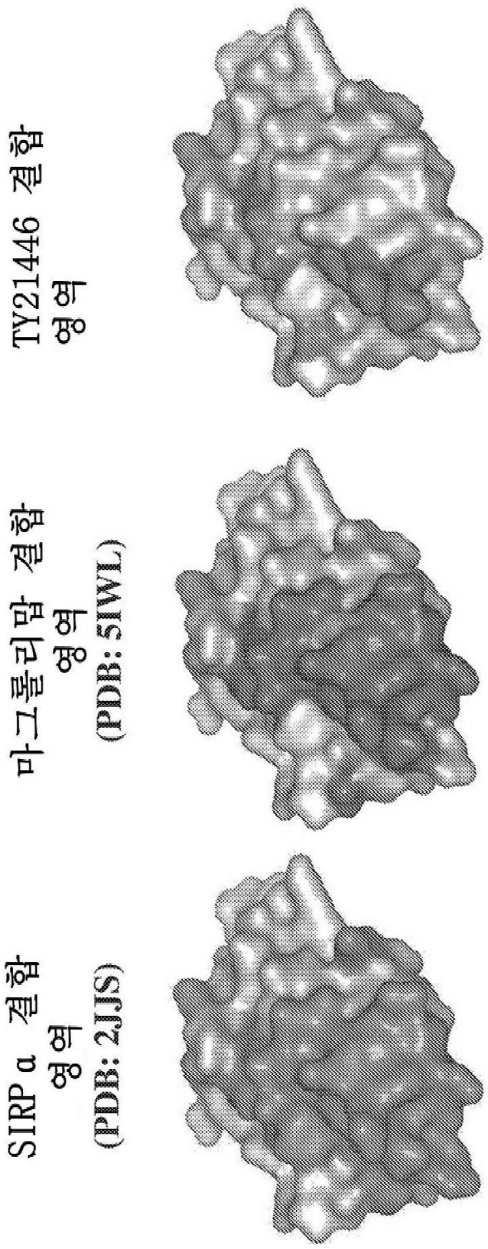
도면12d


마우스 골수 내 Raji 세포에서의 RO 비율_72시간
RO 비율 %
15
10
5
0
7.5 mg/kg TY21446
15 mg/kg TY26294
7.5 mg/kg TAC2204

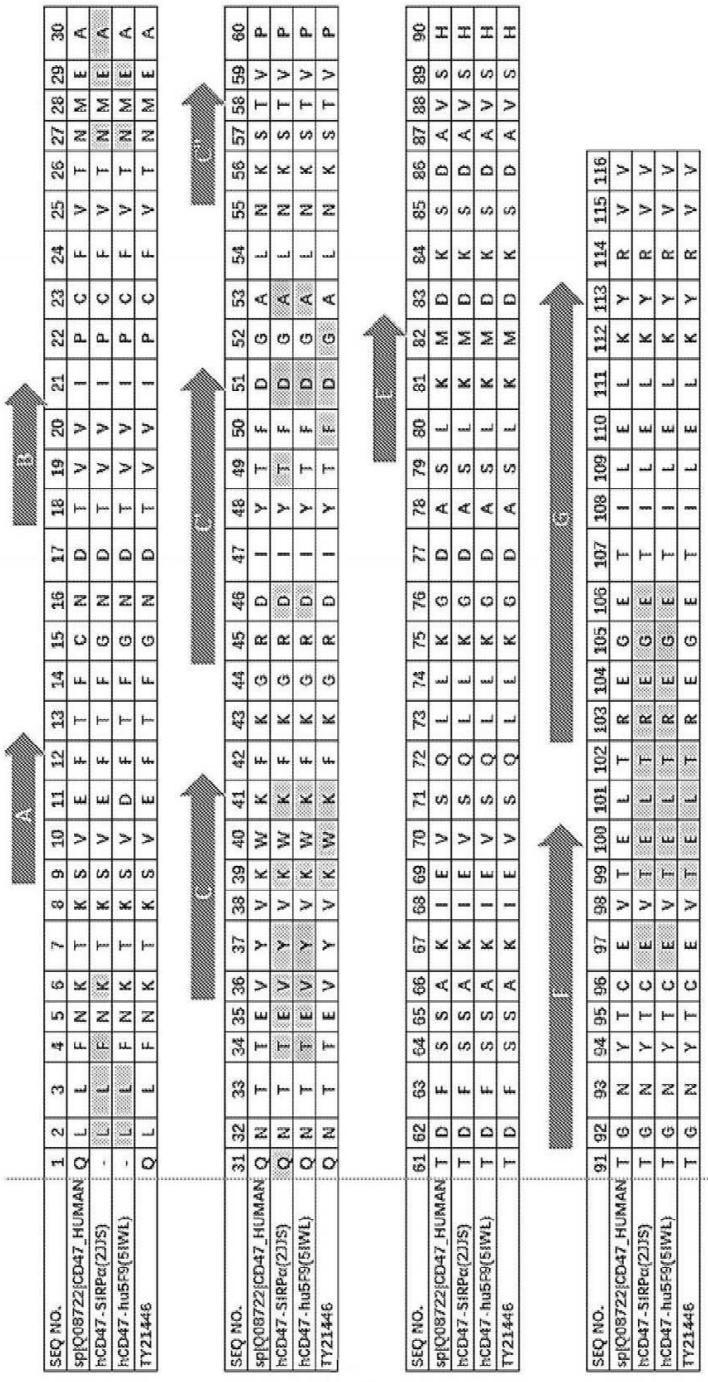
도면12e


총 혈액 세포
ns
**
**
총 혈액 세포 (x10^12/L)
15
10
5
0
7.5 mg/kg TAC2204
15 mg/kg TY26294
7.5 mg/kg TY21446

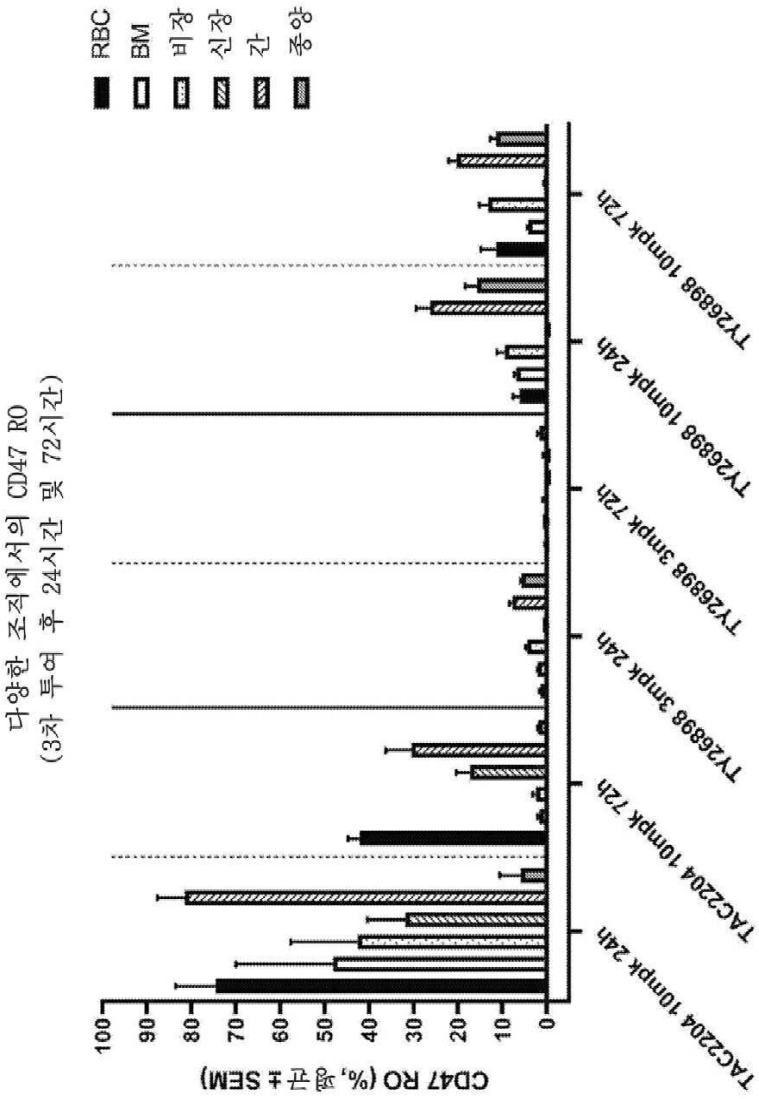
도면13a



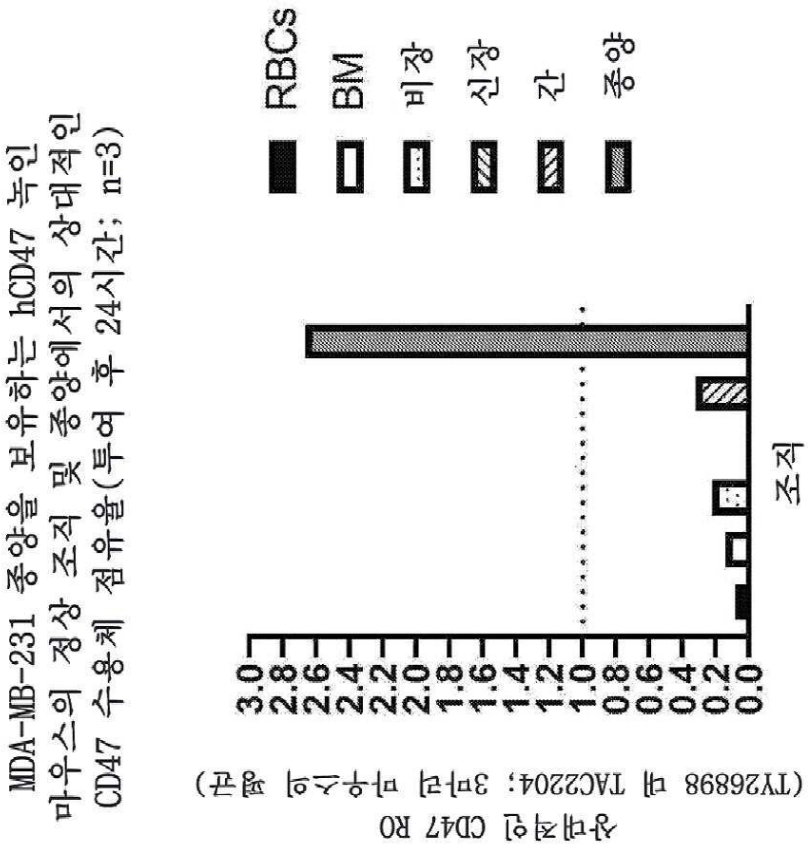
도면13b



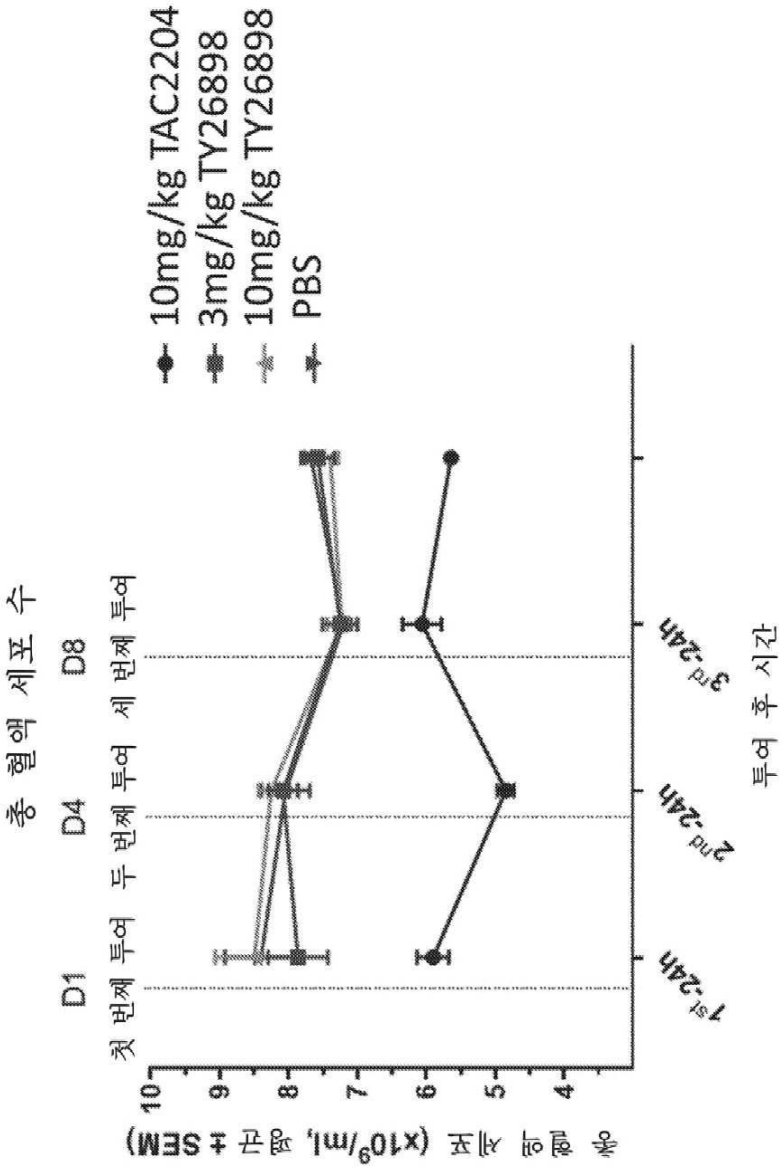
도면14a


다양한 조직에서의 CD47 RO
(3차 투여 후 24시간 및 72시간)
RBC
BM
비장
신장
간
종양
CD47 RO (%, 평균 ± SEM)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
TAC2204 10mpk 24h
TAC2204 10mpk 72h
TY26898 3mpk 24h
TY26898 3mpk 72h
TY26898 10mpk 24h
TY26898 10mpk 72h

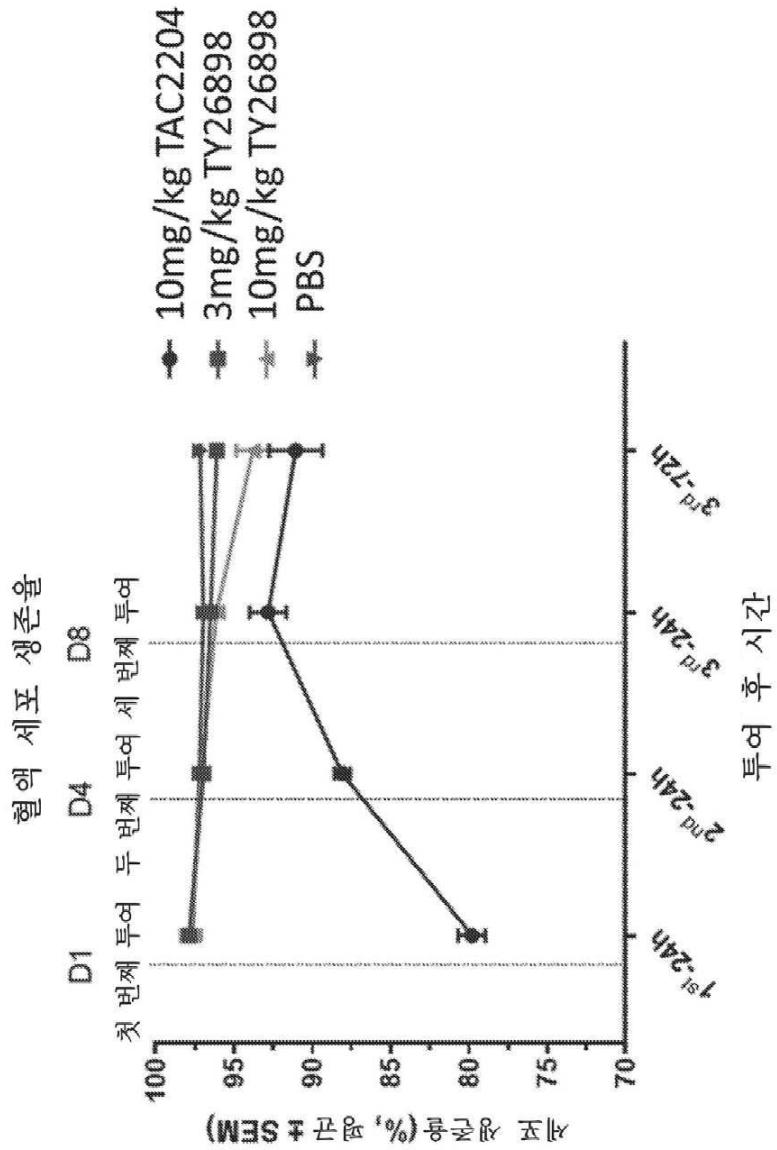
도면14b


MDA-MB-231 종양을 보유하는 hCD47 녹인
마우스의 정상 조직 및 종양에서의 상대적인
CD47 수용체 점유율(투여 후 24시간; n=3)
RBCs
BM
비장
신장
간
종양
조직
3.0
2.8
2.6
2.4
2.2
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
상대적인 CD47 RO
(TY26898 및 TAC2204; 3마리 마우스의 평균)

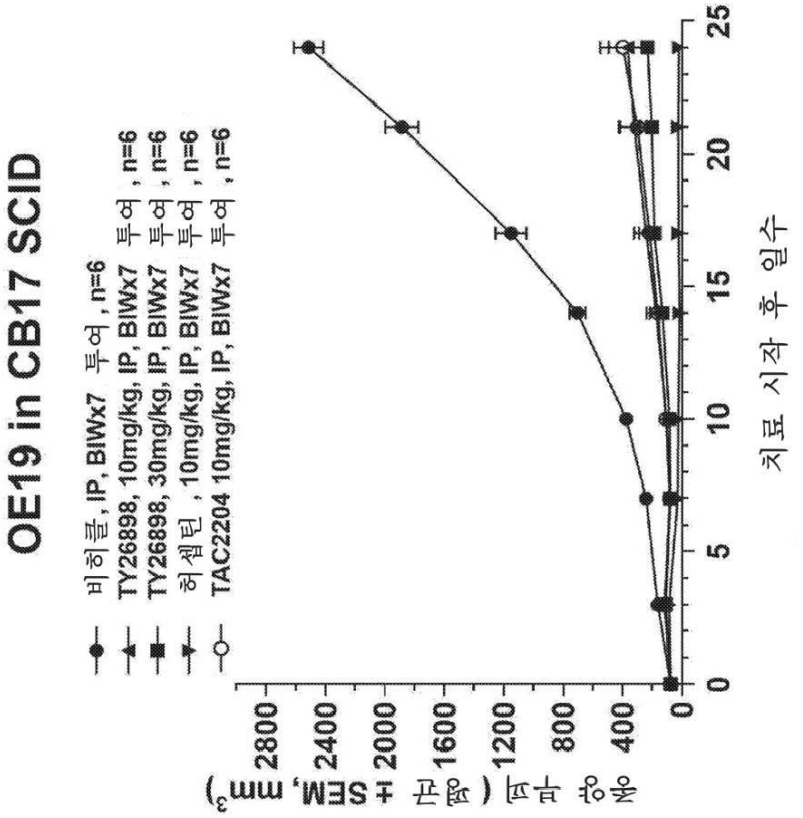
도면14c


총 혈액 세포 수
D1
D4
D8
첫 번째 투여
두 번째 투여
세 번째 투여
10mg/kg TAC2204
3mg/kg TY26898
10mg/kg TY26898
PBS
총 혈액 세포 (x10⁹/ml, 평균 ± SEM)
10
9
8
7
6
5
4
1st 24h
2nd 24h
3rd 24h
투여 후 시간

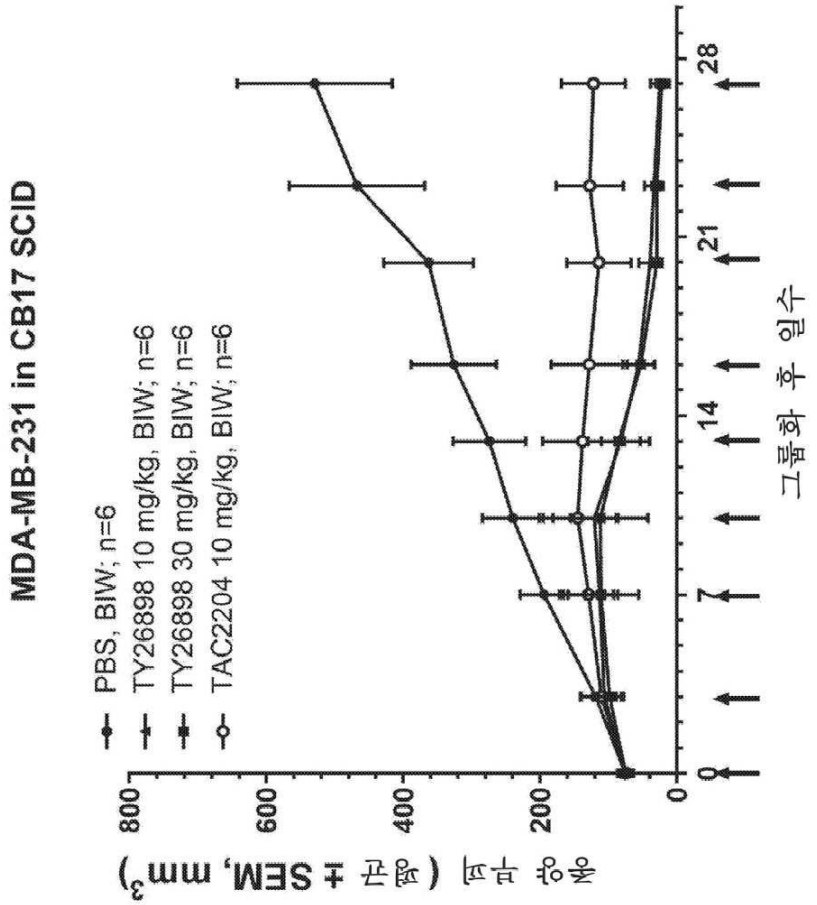
도면14d


혈액 세포 생존율
첫 번째 투여
두 번째 투여
세 번째 투여
D1
D4
D8
10mg/kg TAC2204
3mg/kg TY26898
10mg/kg TY26898
PBS
세포 생존율 (%, 평균 ± SEM)
100
95
90
85
80
75
70
1st 24h
2nd 24h
3rd 24h
3rd 72h
투여 후 시간

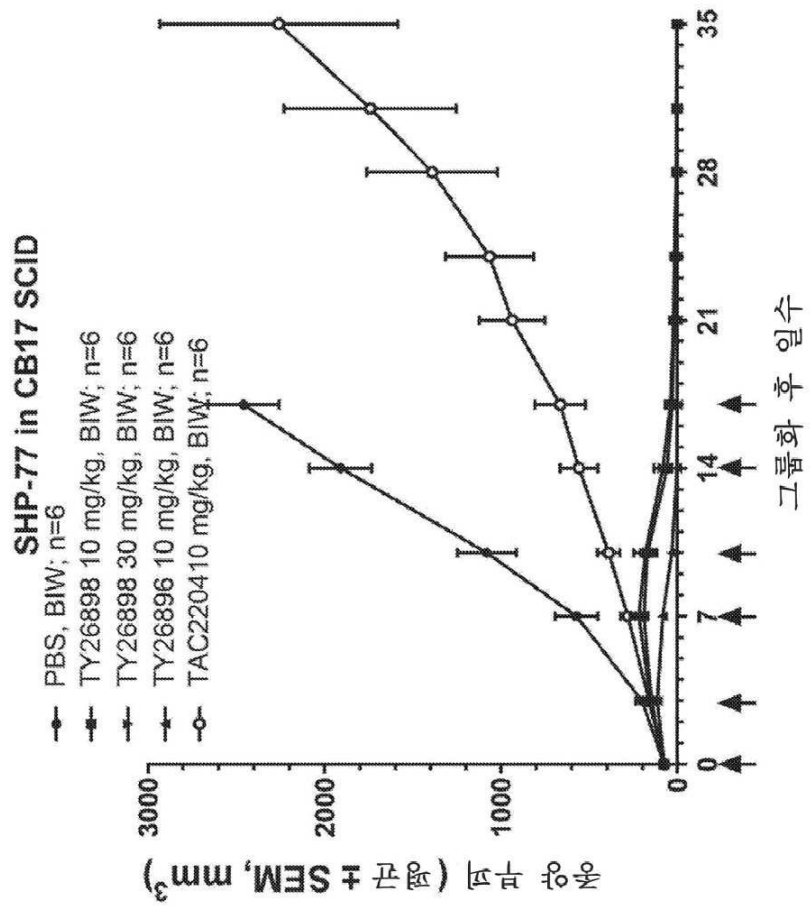
도면15a


OE19 in CB17 SCID
비히클, IP, BIWx7 투여, n=6
TY26898, 10mg/kg, IP, BIWx7 투여, n=6
TY26898, 30mg/kg, IP, BIWx7 투여, n=6
허셉틴, 10mg/kg, IP, BIWx7 투여, n=6
TAC2204 10mg/kg, IP, BIWx7 투여, n=6
종양 부피 (평균 ± SEM, mm³)
2800
2400
2000
1600
1200
800
400
0
0
5
10
15
20
25
치료 시작 후 일수

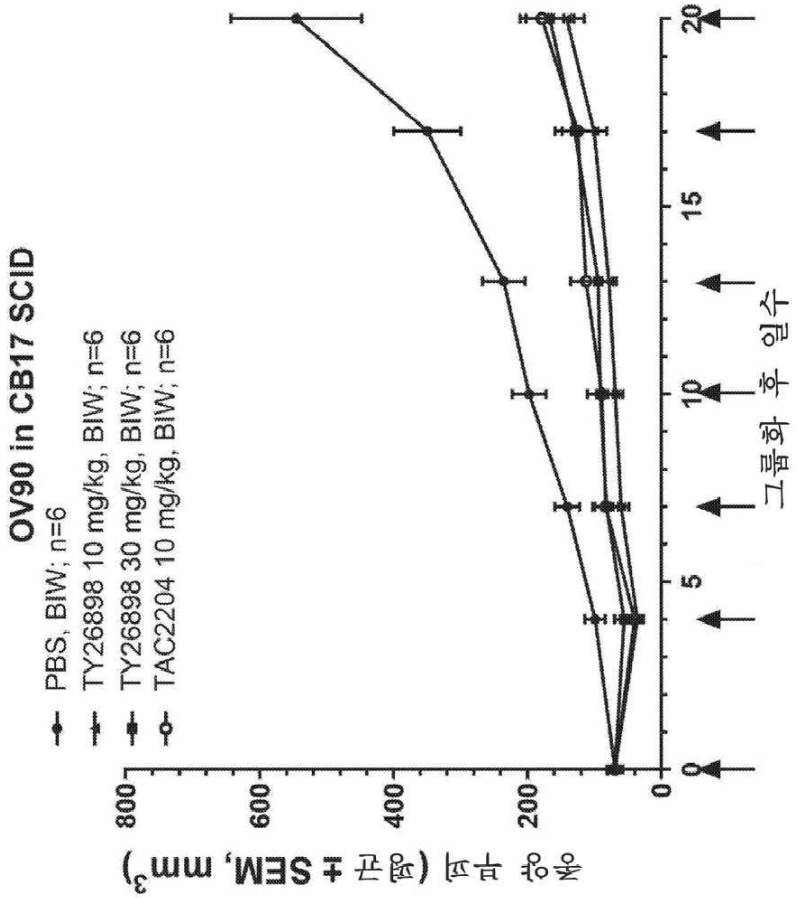
도면15b


MDA-MB-231 in CB17 SCID
PBS, BIW; n=6
TY26898 10 mg/kg, BIW; n=6
TY26898 30 mg/kg, BIW; n=6
TAC2204 10 mg/kg, BIW; n=6
종양 부피 (평균 ± SEM, mm³)
800
600
400
200
0
0
7
14
21
28
그룹화 후 일수

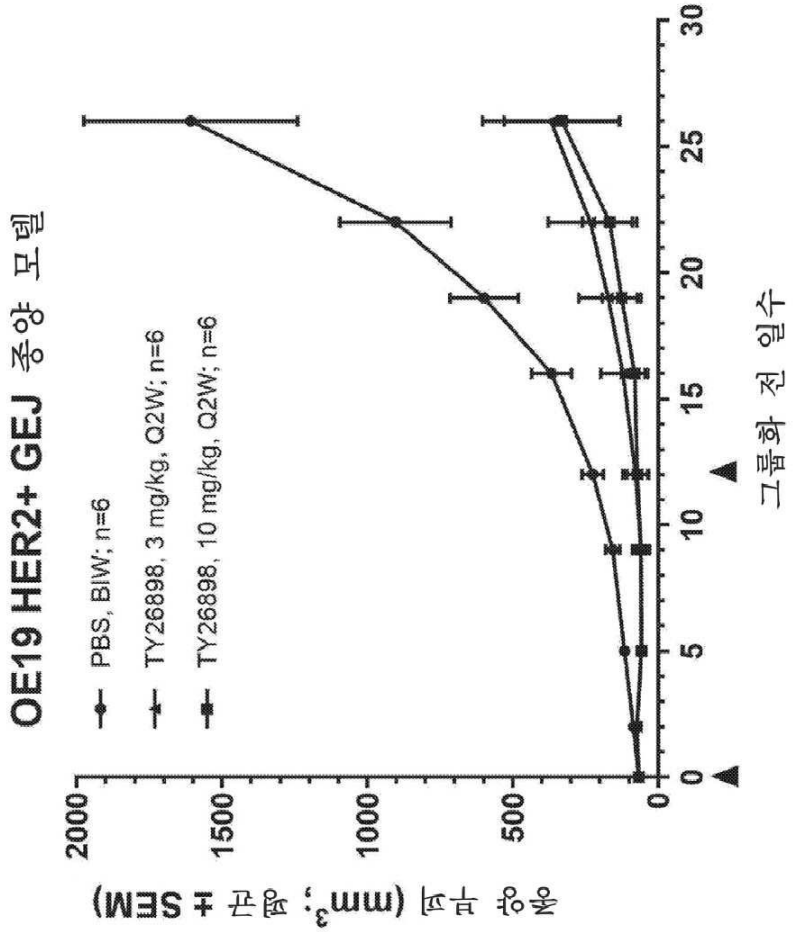
도면15c


SHP-77 in CB17 SCID
PBS, BIW; n=6
TY26898 10 mg/kg, BIW; n=6
TY26898 30 mg/kg, BIW; n=6
TY26896 10 mg/kg, BIW; n=6
TAC220410 mg/kg, BIW; n=6
종양 부피 (평균 ± SEM, mm³)
3000
2000
1000
0
0
7
14
21
28
35
그룹화 후 일수

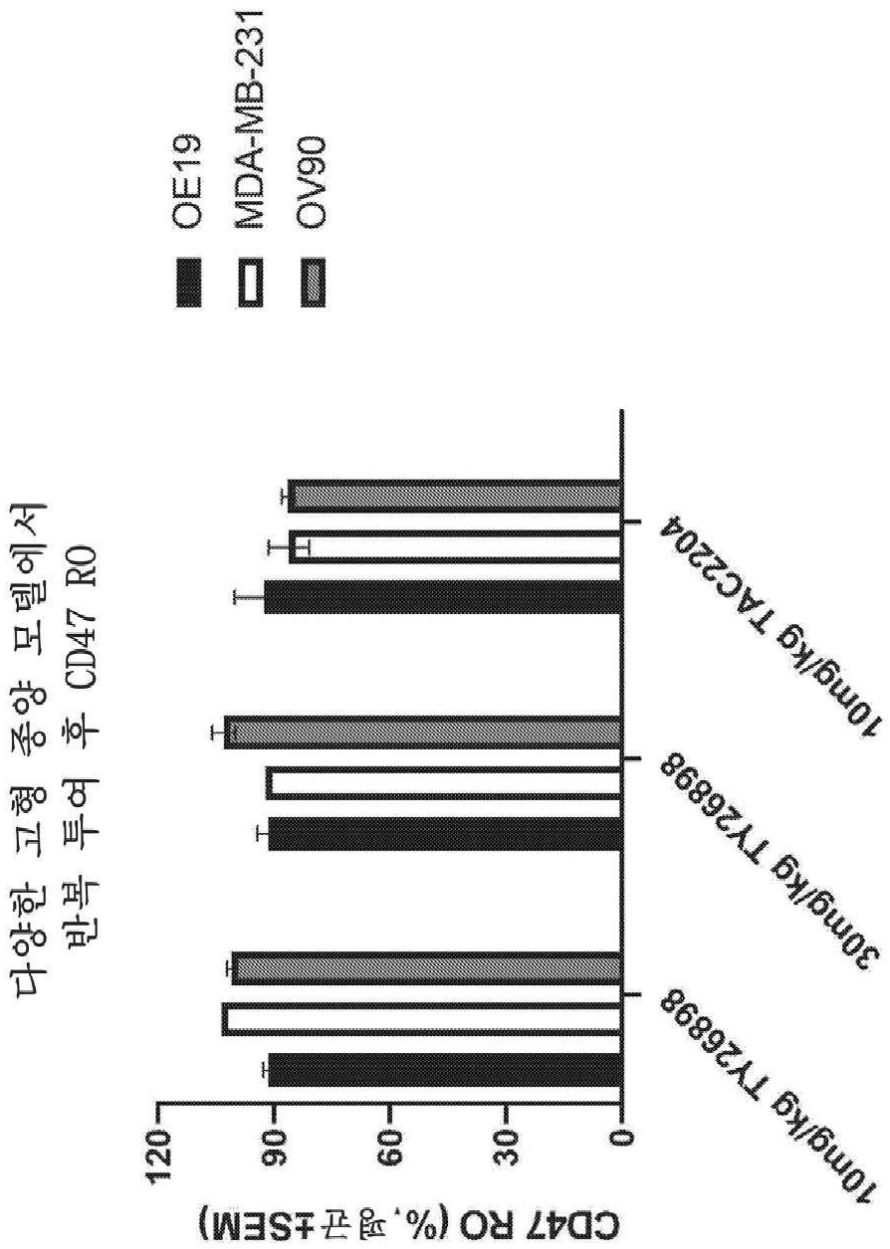
도면15d


OV90 in CB17 SCID
PBS, BIW; n=6
TY26898 10 mg/kg, BIW; n=6
TY26898 30 mg/kg, BIW; n=6
TAC2204 10 mg/kg, BIW; n=6
종양 부피 (평균 ± SEM, mm³)
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
그룹화 후 일수

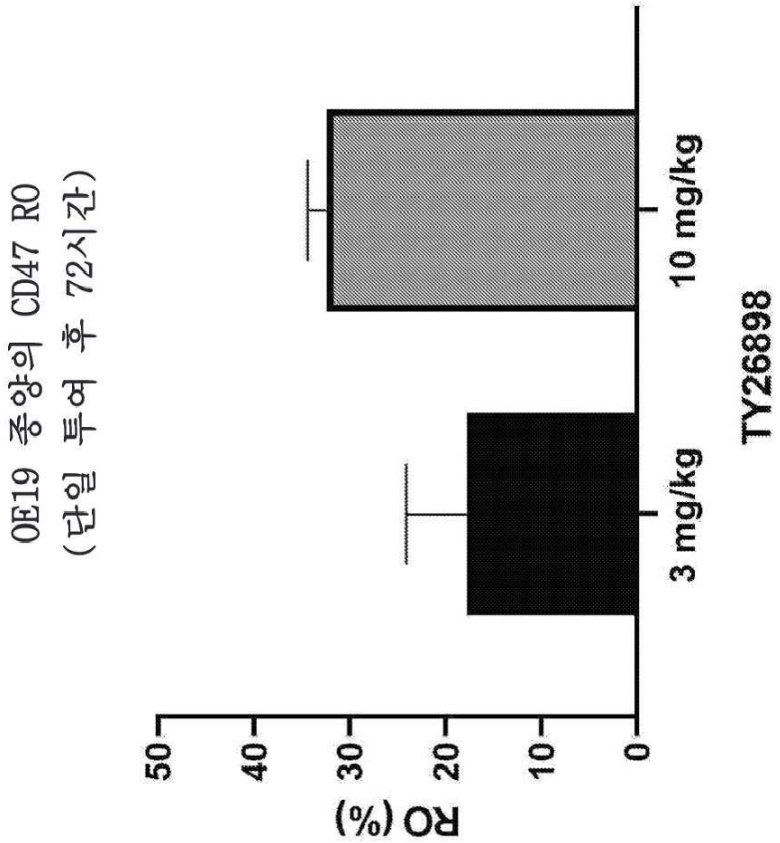
도면15e


OE19 HER2+ GEJ 종양 모델
PBS, BIW; n=6
TY26898, 3 mg/kg, Q2W; n=6
TY26898, 10 mg/kg, Q2W; n=6
종양 부피 (mm³; 평균 ± SEM)
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
그룹화 전 일수

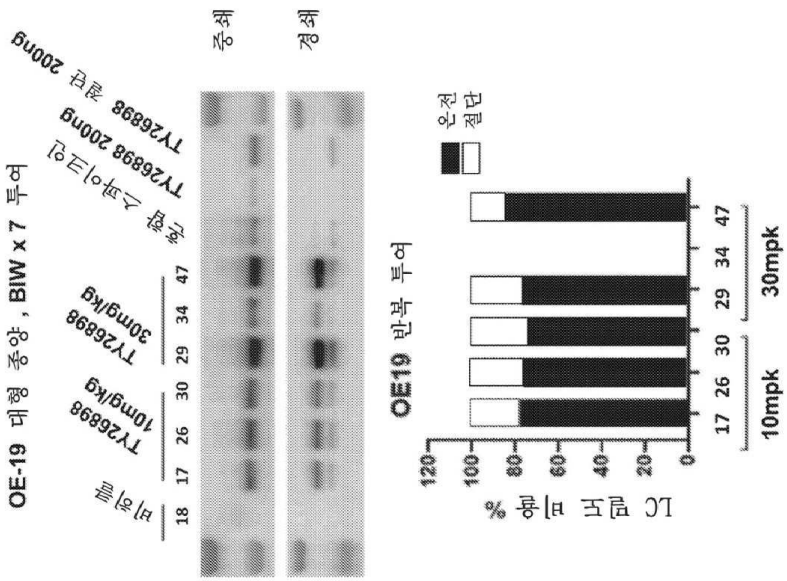
도면16a


다양한 고형 종양 모델에서
반복 투여 후 CD47 RO
OE19
MDA-MB-231
OV90
CD47 RO (%, 평균±SEM)
120
90
60
30
0
10mg/kg TY26898
30mg/kg TY26898
10mg/kg TAC2204

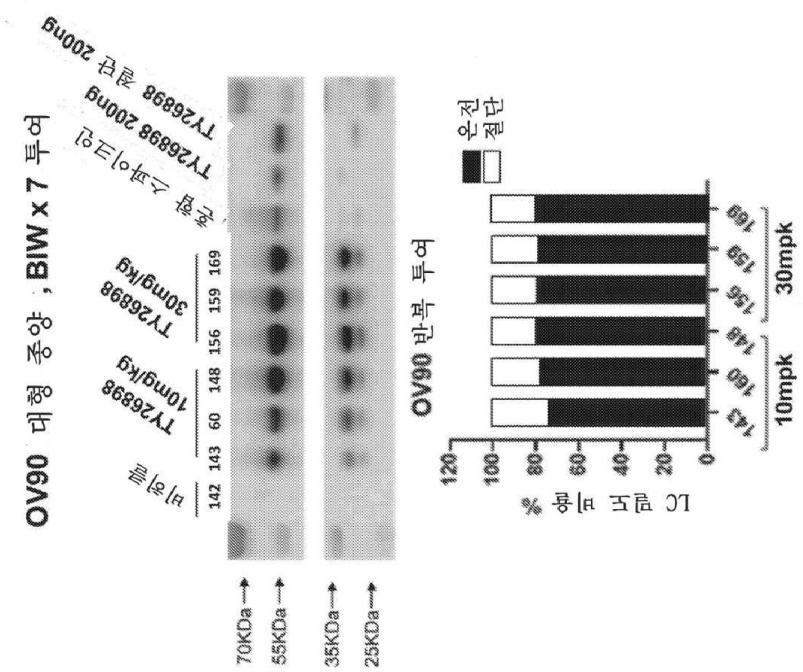
도면16b


OE19 종양의 CD47 RO
(단일 투여 후 72시간)
RO (%)
50
40
30
20
10
0
3 mg/kg
10 mg/kg
TY26898

도면17a


OE-19 대형 종양, BIW x 7 투여
비히클
TY26898 10mg/kg
TY26898 30mg/kg
조합 요법
TY26898 200ng
TY26898 관련 200ng
종괴
정괴
OE19 반복 투여
온전
절단
LC 펩도 비율 %
120
100
80
60
40
20
0
17 26 30 29 34 47
10mpk
30mpk

도면17b


OV90 대형 종양 , BIW x 7 투여
비히클
TY26898 10mg/kg
TY26898 30mg/kg
리포좀 스파이크인
TY26898 200ng
TY26898 결합 200ng
142
143
60
148
156
159
169
70KDa
55KDa
35KDa
25KDa
OV90 반복 투여
온전
절단
LC 펩도 비율 %
120
100
80
60
40
20
0
143
160
148
156
159
169
10mpk
30mpk

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.