



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0127981  
(43) 공개일자 2024년08월23일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/30 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07K 16/30 (2013.01)  
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7021279
- (22) 출원일자(국제) 2022년12월15일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년06월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2022/053065
- (87) 국제공개번호 WO 2023/114430  
국제공개일자 2023년06월22일
- (30) 우선권주장  
63/290,353 2021년12월16일 미국(US)

- (71) 출원인  
더 존스 홉킨스 유니버시티  
미국 메릴랜드주 21218 볼티모어 노쓰 찰스 스트리트 3400
- (72) 발명자  
보겔스타인 베르트  
미국 메릴랜드 21208 볼티모어 브레튼 웨이 3700  
킨즐러 케네쓰 더블유.  
미국 델라웨어 19945 프랭크포드 큐란 코트 33322  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
강명구

전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 P53 종양 항원을 표적화하는 MANA바디 및 이의 사용 방법

(57) 요약

암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 포유동물을 평가하고/거나 암을 갖는 포유동물을 치료하기 위한 방법 및 조성물이 본원에 기재된다. 예를 들어, 변형된 펩티드 (예를 들어, 종양 항원)에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, 단일-사슬 가변 단편 (scFv))을 포함하는 분자, 뿐만 아니라 이러한 분자를 사용하는 방법이 제공된다.

대표도 - 도1

영역 (513개 변이체)	중첩 (646개 변이체)
1	1
2	2
3	3
4	4
5	5
6	6
7	7
8	8
9	9
10	10
11	11
12	12
13	13
14	14
15	15
16	16
17	17
18	18
19	19
20	20
21	21
22	22
23	23
24	24
25	25
26	26
27	27
28	28
29	29
30	30
31	31
32	32
33	33
34	34
35	35
36	36
37	37
38	38
39	39
40	40
41	41
42	42
43	43
44	44
45	45
46	46
47	47
48	48
49	49
50	50
51	51
52	52
53	53
54	54
55	55
56	56
57	57
58	58
59	59
60	60
61	61
62	62
63	63
64	64
65	65
66	66
67	67
68	68
69	69
70	70
71	71
72	72
73	73
74	74
75	75
76	76
77	77
78	78
79	79
80	80
81	81
82	82
83	83
84	84
85	85
86	86
87	87
88	88
89	89
90	90
91	91
92	92
93	93
94	94
95	95
96	96
97	97
98	98
99	99
100	100
101	101
102	102
103	103
104	104
105	105
106	106
107	107
108	108
109	109
110	110
111	111
112	112
113	113
114	114
115	115
116	116
117	117
118	118
119	119
120	120
121	121
122	122
123	123
124	124
125	125
126	126
127	127
128	128
129	129
130	130
131	131
132	132
133	133
134	134
135	135
136	136
137	137
138	138
139	139
140	140
141	141
142	142
143	143
144	144
145	145
146	146
147	147
148	148
149	149
150	150
151	151
152	152
153	153
154	154
155	155
156	156
157	157
158	158
159	159
160	160
161	161
162	162
163	163
164	164
165	165
166	166
167	167
168	168
169	169
170	170
171	171
172	172
173	173
174	174
175	175
176	176
177	177
178	178
179	179
180	180
181	181
182	182
183	183
184	184
185	185
186	186
187	187
188	188
189	189
190	190
191	191
192	192
193	193
194	194
195	195
196	196
197	197
198	198
199	199
200	200
201	201
202	202
203	203
204	204
205	205
206	206
207	207
208	208
209	209
210	210
211	211
212	212
213	213
214	214
215	215
216	216
217	217
218	218
219	219
220	220
221	221
222	222
223	223
224	224
225	225
226	226
227	227
228	228
229	229
230	230
231	231
232	232
233	233
234	234
235	235
236	236
237	237
238	238
239	239
240	240
241	241
242	242
243	243
244	244
245	245
246	246
247	247
248	248
249	249
250	250
251	251
252	252
253	253
254	254
255	255
256	256
257	257
258	258
259	259
260	260
261	261
262	262
263	263
264	264
265	265
266	266
267	267
268	268
269	269
270	270
271	271
272	272
273	273
274	274
275	275
276	276
277	277
278	278
279	279
280	280
281	281
282	282
283	283
284	284
285	285
286	286
287	287
288	288
289	289
290	290
291	291
292	292
293	293
294	294
295	295
296	296
297	297
298	298
299	299
300	300
301	301
302	302
303	303
304	304
305	305
306	306
307	307
308	308
309	309
310	310
311	311
312	312
313	313
314	314
315	315
316	316
317	317
318	318
319	319
320	320
321	321
322	322
323	323
324	324
325	325
326	326
327	327
328	328
329	329
330	330
331	331
332	332
333	333
334	334
335	335
336	336
337	337
338	338
339	339
340	340
341	341
342	342
343	343
344	344
345	345
346	346
347	347
348	348
349	349
350	350
351	351
352	352
353	353
354	354
355	355
356	356
357	357
358	358
359	359
360	360
361	361
362	362
363	363
364	364
365	365
366	366
367	367
368	368
369	369
370	370
371	371
372	372
373	373
374	374
375	375
376	376
377	377
378	378
379	379
380	380
381	381
382	382
383	383
384	384
385	385
386	386
387	387
388	388
389	389
390	390
391	391
392	392
393	393
394	394
395	395
396	396
397	397
398	398
399	399
400	400
401	401
402	402
403	403
404	404
405	405
406	406
407	407
408	408
409	409
410	410
411	411
412	412
413	413
414	414
415	415
416	416
417	417
418	418
419	419
420	420
421	421
422	422
423	423
424	424
425	425
426	426
427	427
428	428
429	429
430	430
431	431
432	432
433	433
434	434
435	435
436	436
437	437
438	438
439	439
440	440
441	441
442	442
443	443
444	444
445	445
446	446
447	447
448	448
449	449
450	450
451	451
452	452
453	453

(52) CPC특허분류

*C07K 16/2809* (2013.01)  
*C07K 16/2833* (2013.01)  
*A61K 2039/505* (2013.01)  
*C07K 2317/31* (2013.01)  
*C07K 2317/55* (2013.01)  
*C07K 2317/569* (2013.01)  
*C07K 2317/622* (2013.01)  
*C07K 2317/626* (2013.01)  
*C07K 2317/92* (2013.01)

(72) 발명자

**파파도포올로스 니콜라스**

미국 메릴랜드 21204 토우슨 혼크레스트 로드 606

**쥬우 쉼빈**

미국 메릴랜드 21117 오웬스 밀스 크리스탈 팰리스  
코트 820

**디나폴리 사라**

미국 메릴랜드 21231 볼티모어 에스 앤 스트리트  
511

**시우에 에밀리 한-청**

미국 메릴랜드 21205, 볼티모어 앤 울프 스트리트  
929 아파트먼트 1101

**모그 브라이언 제이.**

미국 메릴랜드 21231 볼티모어 펠 스트리트 951 아  
파트먼트 539

**화이트 캐서린 엠.**

미국 메릴랜드 21230 볼티모어 사우쓰 찰스 스트리  
트 611 유닛 112

**가벨리 산드라 비.**

미국 메릴랜드 21042 엘리콧 시티 엑셀시어 스프링  
스 코트 2933

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

다음을 포함하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 분자:

- (i) 서열 번호: 8을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR1;
- (ii) 서열 번호: 9 또는 서열 번호: 23을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR2;
- (iii) 서열 번호: 10을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR3;
- (iv) 서열 번호: 17을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR1;
- (v) 서열 번호: 18 또는 서열 번호: 27을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR2; 및
- (vi) 서열 번호: 19를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR3.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 제1 항원-결합 도메인이 다음을 포함하는, 분자:

- (a) 서열 번호: 23을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR2; 또는
- (b) 서열 번호: 27을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR2; 또는
- (c) 서열 번호: 23을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR2 및 서열 번호: 27을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR2.

#### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 제1 항원-결합 도메인이 다음을 포함하는, 분자:

- (i) 서열 번호: 7 또는 서열 번호: 22와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄; 및
- (ii) 서열 번호: 16 또는 서열 번호: 26과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄.

#### 청구항 4

제3항에 있어서, 제1 항원-결합 도메인이 다음을 포함하는, 분자:

- (a) 서열 번호: 7과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄; 또는
- (b) 서열 번호: 22와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄 및 서열 번호: 16과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄; 또는
- (c) 서열 번호: 22와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄.

#### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 도메인이 다음을 포함하는, 분자:

- (i) 서열 번호: 7 또는 서열 번호: 22와 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄; 및
- (ii) 서열 번호: 16 또는 서열 번호: 26과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄.

#### 청구항 6

제5항에 있어서, 제1 항원-결합 도메인이 다음을 포함하는, 분자:

- (a) 서열 번호: 7과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄; 또는
- (b) 서열 번호: 22와 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄 및 서열 번호: 16과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄; 또는
- (c) 서열 번호: 22와 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄.

**청구항 7**

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 도메인이 다음을 포함하는, 분자:

- (i) 서열 번호: 7 또는 서열 번호: 22를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄; 및
- (ii) 서열 번호: 16 또는 서열 번호: 26을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄.

**청구항 8**

제7항에 있어서, 제1 항원-결합 도메인이 다음을 포함하는, 분자:

- (a) 서열 번호: 7을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄; 또는
- (b) 서열 번호: 22를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 및 서열 번호: 16을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄; 또는
- (c) 서열 번호: 22를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄.

**청구항 9**

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 분자가 항체, 항체 단편, 단일 사슬 가변 단편 (scFv), 키메라 항원 수용체 (CAR), T 세포 수용체 (TCR), TCR 모방체, 탠덤 scFv, 이중특이적 T 세포 인게이지(engager), 디아바디, 단일-사슬 디아바디 (scDb), scFv-Fc, 이중특이적 항체, 및 이중-친화도 재표적화 항체 (DART)로 이루어진 군으로부터 선택되는, 분자.

**청구항 10**

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 분자가 CD3, CD28, CD4, CD8, CD16a, NKG2D, PD-1, CTLA-4, 4-1BB, OX40, ICOS, 및 CD27로 이루어진 군으로부터 선택된 이펙터 세포 수용체에 결합할 수 있는 제2 항원-결합 도메인을 추가로 포함하는, 분자.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 제2 항원-결합 도메인이 CD3에 결합할 수 있는, 분자.

**청구항 12**

제11항에 있어서, CD3에 결합할 수 있는 제2 항원-결합 도메인이 표 3에 나타난 것들로부터 선택된 가변 경쇄 및 가변 중쇄를 포함하는, 분자.

**청구항 13**

제12항에 있어서, CD3에 결합할 수 있는 제2 항원-결합 도메인이 표 2에 나타난 것들 (서열 번호: 38, 서열 번호: 39, 서열 번호: 40, 서열 번호: 41, 서열 번호: 42, 서열 번호: 43, 서열 번호: 44, 서열 번호: 45, 서열 번호: 46, 서열 번호: 47, 서열 번호: 48, 서열 번호: 49, 서열 번호: 50, 서열 번호: 51) 중 어느 하나를 포함하거나 이것으로 이루어지는, 분자.

**청구항 14**

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 분자가 단일-사슬 디아바디 (scDb)인, 분자.

**청구항 15**

제14항에 있어서, 단일-사슬 디아바디가, N- 에서 C- 말단 순서로, 다음을 포함하는, 분자:

(i) 다음을 포함하는 scFv 경쇄:

- (a) 서열 번호: 8을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR1;
- (b) 서열 번호: 9 또는 서열 번호: 23을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR2;
- (c) 서열 번호: 10을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR3

(ii) CD3, CD28, CD4, CD8, CD16a, NKG2D, PD-1, CTLA-4, 4-1BB, OX40, ICOS, 및 CD27로 이루어진 군으로부터 선택된 이펙터 세포 수용체에 결합할 수 있는 항원 결합 도메인; 및

(iii) 다음을 포함하는 scFv 중쇄:

- (a) 서열 번호: 17을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR1;
- (b) 서열 번호: 18 또는 서열 번호: 27을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR2; 및
- (c) 서열 번호: 19를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR3.

**청구항 16**

제15항에 있어서, 단일-사슬 디아바디가 다음을 포함하는, 분자:

- (a) 서열 번호: 23을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR2; 또는
- (b) 서열 번호: 27을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR2; 또는
- (c) 서열 번호: 23을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR2 및 서열 번호: 27을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR2.

**청구항 17**

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 단일-사슬 디아바디가, N- 에서 C- 말단 순서로, 다음을 포함하는, 분자:

(i) 서열 번호: 7 또는 서열 번호: 22를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄;

(ii) CD3, CD28, CD4, CD8, CD16a, NKG2D, PD-1, CTLA-4, 4-1BB, OX40, ICOS, 및 CD27로 이루어진 군으로부터 선택된 이펙터 세포 수용체에 결합할 수 있는 항원 결합 도메인; 및

(iii) 서열 번호: 16 또는 서열 번호: 26을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄.

**청구항 18**

제17항에 있어서, 단일-사슬 디아바디가 다음을 포함하는, 분자:

- (a) 서열 번호: 7을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄; 또는
- (b) 서열 번호: 22를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 및 서열 번호: 16을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄; 또는
- (c) 서열 번호: 22를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄.

**청구항 19**

제15항 또는 제17항에 있어서, 항원 결합 도메인이 CD3 항원 결합 도메인인, 분자.

**청구항 20**

제19항에 있어서, CD3 항원 결합 도메인이 표 3에 나타난 것들로부터 선택된 가변 경쇄 및 가변 중쇄를 포함하는, 분자.

**청구항 21**

제20항에 있어서, 항원 결합 도메인의 가변 경쇄 및 가변 중쇄가 링커, 바람직하게는 3xG<sub>4</sub>S 링커 (서열 번호: 13)에 의해 분리되는, 분자.

**청구항 22**

제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, CD3에 결합할 수 있는 항원-결합 도메인이 표 2에 나타난 것들 (서열 번호: 38, 서열 번호: 39, 서열 번호: 40, 서열 번호: 41, 서열 번호: 42, 서열 번호: 43, 서열 번호: 44, 서열 번호: 45, 서열 번호: 46, 서열 번호: 47, 서열 번호: 48, 서열 번호: 49, 서열 번호: 50, 서열 번호: 51) 중 어느 하나를 포함하거나 이것으로 이루어지는, 분자.

**청구항 23**

제15항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, scFv 경쇄와 항원 결합 도메인 사이의 제1 링커 및 항원 결합 도메인과 scFv 중쇄 사이의 제2 링커를 추가로 포함하는, 분자.

**청구항 24**

제23항에 있어서, 제1 링커가 G4S (서열 번호: 11)를 포함하거나 이것으로 이루어지고 제2 링커가 G4S (서열 번호: 15)를 포함하거나 이것으로 이루어지는, 분자.

**청구항 25**

HMTEVVRHC (서열 번호: 1)를 포함하거나 이것으로 이루어진 돌연변이 펩티드를 발현하는 암을 갖는 포유동물을 치료하는 방법으로서, 상기 방법이

포유동물에게 제1항 내지 제24항 중 어느 한 항의 분자를 투여하는 것을 포함하는, 방법.

**청구항 26**

제25항에 있어서, 상기 포유동물이 인간인, 방법.

**청구항 27**

제25항 또는 제26항에 있어서, 상기 암이 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 급성 골수성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군 (MDS), 골수증식성 질환, 폐암, 췌장암, 위암, 대장암, 난소암, 자궁내막암, 담도암, 간암, 유방암, 전립선암, 식도암, 위암, 신장암, 골암, 연조직암, 두경부암, 다형성 교모세포종, 성상세포종, 갑상선암, 생식 세포 종양, 또는 흑색종인, 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] **관련 출원의 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2021년 12월 16일에 출원된 미국 특허 가출원 번호 63/290,353에 대한 우선권을 주장하며, 이 출원은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0003] **서열 목록**

[0004] 본 출원은 XML 파일명 "44807-0407W01\_SL\_ST26.XML."로서 전자적으로 제출된 서열 목록을 함유한다. 2022년 12월 8일에 생성된 XML 파일은 크기가 82,067 바이트이다. XML 파일의 자료는 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0005] **연방 정부 후원 연구 또는 개발**

[0006] 본 발명은 국립보건원(National Institutes of Health)이 부여한 보조금 CA006973 하에 정부 지원을 받아 이루어졌다. 정부는 본 발명에 대한 특정 권리를 갖는다.

[0007] **기술 분야**

[0008] 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 포유동물을 평가하고/거나 암을 갖는 포유동물을 치료하기 위한 방법 및 조성물이 본원에 기재된다. 예를 들어, 변형된 펩티드 (예를 들어, 종양 항원)에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, 단일-사슬 가변 단편 (scFv))을 포함하는 분자, 뿐만 아니라 이러한 분자를 사용하는 방법이 제공된다.

**배경 기술**

[0009] 최근, 항체 및 세포-기반 면역요법이 유망한 암 치료로서 떠오르고 있다. 그러나, 종양 세포 상에서 상승된 발현을 갖는 항원을 표적화하는 많은 면역요법은 정상 조직에서 동일한 표적의 낮은 발현으로 인해 상당한 독성을 갖는다. 이상적인 면역요법체는 정상 세포를 그대로 두면서 필수적 구동자 돌연변이를 갖고 있는 암 세포를 특이적으로 식별할 수 있다. 이들 돌연변이를 함유하는 세포의 표적화는 면역요법에 대해 직접 접근가능하지 않은 세포내 단백질을 인코딩하는 구동자 유전자에 많은 통상적 돌연변이가 있기 때문에 종종 어렵다.

[0010] 암에서의 체세포 돌연변이는 이들이 종양 세포에서만 발현되고 정상 세포에서는 발현되지 않기 때문에 암 요법에 대한 이상적인 표적이다. 구동자 유전자 단백질 (광범위하게 종양유전자 단백질 및 종양 억제자 단백질로 세분됨)의 표적화는 추가적 이점을 갖는다. 첫째, 이들 돌연변이는 전형적으로 종양 발달 동안 초기에 나타나고, 그에 따라 본질적으로 모든 딸 암 세포는 돌연변이를 함유할 것이다. 둘째, 종양의 그의 종양발생-부여 능력에 대한 의존성은 저항 가능성을 낮게 만든다. 마지막으로, 구동자 유전자 단백질은 많은 환자 사이에서 공유되는 핫스팟 돌연변이를 갖는 경향이 있고, 그에 따라 단일 돌연변이를 표적화하는 요법은 광범위한 환자 집단에 적용될 수 있다.

[0011] 대부분의 돌연변이 구동자 유전자 단백질을 포함한 대부분의 돌연변이 단백질은 세포내의 것이다. 소분자가 세포내 단백질을 표적화할 수 있지만, 그의 야생형 (WT) 대응물이 아닌 돌연변이 구동자 유전자의 활성을 특이적으로 억제할 수 있는 소분자의 개발은 대부분의 이러한 구동자 유전자 단백질에 대해 도달되지 않고 남아 있다. 단일 아미노산 돌연변이를 구별하는 능력을 가질 수 있는 항체는 전형적으로 단지 세포외 에피토프만을 표적화할 수 있다.

[0012] 면역 시스템은 항원 프로세싱 및 제시를 통해 세포의 세포내 내용물을 샘플링한다. 단백질의 단백질분해 후, 생성된 펩티드의 일부가 인간 백혈구 항원 (HLA)상에 로딩되고 세포 표면으로 보내져 여기서 이들은 그의 T 세포 수용체 (TCR)를 통해 자신을 비-자신 펩티드와 구별하기 위한 T 세포에 대한 길 역할을 한다. 예를 들어, 바이러스-감염된 세포는 그의 HLA에서 바이러스 펩티드를 제시하여, T 세포가 그 세포를 사멸시키도록 촉발한다. 유사하게, 암에서, 돌연변이 펩티드는 돌연변이-관련-신항원(Mutation-Associated Neo-Antigen)에 대해 MANA로서 언급되는 암 세포 표면 상의 HLA에서 제시될 수 있다. 일부 경우에, 또한 다양한 정도로, 환자는 이들 돌연변이-펩티드-HLA 신항원에 대해 항암 T 세포 반응을 일으킬 수 있고, 체크포인트 차단 항체는 이 반응을 더욱 강화할 수 있다. 그러나, 많은 환자, 특히 낮은 돌연변이 부담을 갖는 환자는, 충분한 항암 T 세포 반응을 일으킬 수 없다. 따라서, MANA를 특이적으로 표적화하는 요법 또는 진단은 암을 진단하거나 치료하기 위한 진정한 종양-특이적 방법을 제공할 수 있다.

[0013] HLA 클래스 I 단백질은 모든 유핵 세포 상에 존재한다. 3개의 고전적인 HLA 클래스 I 유전자, A, B, 및 C가 존재하며, 이들 각각은 고도로 다형성이다. 각각의 HLA 대립유전자는 특정 펩티드-결합 모티프를 가지며, 그 결과, 단지 특정 펩티드만이 특정 HLA 대립유전자에 결합할 것이다.

[0014] 암을 진단하고, 모니터링하고, 효과적으로 치료하기 위한 새롭고 개선된 방법을 개발하는 것에 대한 지속적 필요성이 당업계에 존재한다.

**발명의 내용**

[0015] **요약**

[0016] 암 세포에 대해 고도로 특이적인 치료적 표적의 식별은 효과적인 암 요법을 개발하기 위한 가장 큰 과제 중 하

나이다.

- [0017] 암을 갖는 포유동물을 치료하기 위한 방법 및 조성물이 본원에 기재된다. 예를 들어, 본 문서는 암 (예를 들어, 변형된 펩티드를 발현하는 암)을 갖는 포유동물을 치료하기 위해 변형된 펩티드 (예를 들어, 펩티드-HLA- 베타-2 마이크로글로불린 (b2M 또는  $\beta$ 2M) 복합체 중에 존재하는 변형된 펩티드)에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 사용하기 위한 방법 및 물질을 제공한다. 일부 경우에, 암 (예를 들어, 변형된 펩티드를 발현하는 암)을 갖는 포유동물에게 변형된 펩티드 (예를 들어, 펩티드-HLA- $\beta$ 2M 복합체 중에 존재하는 변형된 펩티드)에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자가 투여되어 포유동물을 치료할 수 있다.
- [0018] 본원에서 입증되는 바와 같이, 통상적인 암 구동자 돌연변이 p53 R175H ("R175H")로부터 유래된 HLA-제한 MANA 중에 존재하는 수많은 MANA를 표적화하는 (예를 들어, 그에 결합하는) scFv가 식별되었다. 또한, 본원에서 입증되는 바와 같이, scFv는 MANA를 발현하는 세포 (예를 들어, 암 세포)의 인식 및 사멸로 이어질 수 있는 MANA-의존적 T 세포 활성화 유도가 가능한 이중특이적 항체를 설계하는 데 사용되었다.
- [0019] MANA는 이들이 정상 조직(들)에는 존재하지 않기 때문에 고도로 특이적인 암 표적으로서 사용될 수 있다. MANA를 특이적으로 표적화하는 능력은 암을 진단하고/거나 치료하기 위한 종양-특이적 방법을 제공한다. 예를 들어, MANA를 특이적으로 표적화하는 scFv는 암을 갖는 포유동물을 진단하고/거나 치료하기 위해 전장 항체 또는 그의 단편, 항체 약물 컨쥬게이트 (ADC), 항체 방사성핵종 컨쥬게이트, 키메라 항원 수용체 (CART)를 발현하는 T 세포, 또는 이중특이적 항체에서 사용될 수 있다. 또한, MANA에 결합할 수 있는 항체 (MANA바디), 또는 MANA에 결합할 수 있는 그의 단편은, 폭넓게 적용가능하고 유전적으로 예측가능한 상용(off-the-shelf) 표적화 암 면역요법이 될 가능성이 있다.
- [0020] 최근, 항체 및 세포-기반 면역요법이 유망한 암 치료로서 떠오르고 있다. 그러나, 종양 세포 상에서 상승된 발현을 갖는 항원을 표적화하는 많은 면역요법은 정상 조직에서 동일한 표적의 낮은 발현으로 인해 상당한 독성을 갖는다. 이상적인 면역요법체는 정상 세포를 그대로 두면서 필수적 구동자 돌연변이를 갖고 있는 암 세포를 특이적으로 식별할 수 있다. 이들 돌연변이를 함유하는 세포의 표적화하는 면역요법에 대해 직접 접근가능하지 않은 세포내 단백질을 인코딩하는 구동자 유전자에 많은 통상적 돌연변이가 있기 때문에 종종 어렵다. 세포의 주요 조직적합성 복합체에 결합된 돌연변이 펩티드 (pMHC)로서 제시된 암-특이적 돌연변이를 표적화할 가능성이 입증되었다. 이들 돌연변이 펩티드를 제시하는 세포를 표적화하기 위한 이중특이적 항체 또는 키메라 항원 수용체 (CAR) T 세포의 사용은, 다른 경우에는 면역 감시로부터 숨겨져 있을 돌연변이 단백질을 함유하는 세포를 식별하는 유전적으로 특이적인 요법을 제공한다.
- [0021] 그러나, 이들 돌연변이 펩티드에 대한 높은 친화도를 갖는 개선된 항체에 대한 필요성이 남아 있다.
- [0022] 따라서, 다음을 포함하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 분자가 본원에 기재된다: (i) 서열 번호: 8을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR1; (ii) 서열 번호: 9 또는 서열 번호: 23을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR2; (iii) 서열 번호: 10을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR3; (iv) 서열 번호: 17을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR1; (v) 서열 번호: 18 또는 서열 번호: 27을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR2; 및 (vi) 서열 번호: 19를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR3.
- [0023] 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인은 다음을 포함한다: (a) 서열 번호: 23을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR2; 또는 (b) 서열 번호: 27을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR2; 또는 (c) 서열 번호: 23을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR2 및 서열 번호: 27을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR2.
- [0024] 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인은 다음을 포함한다: (i) 서열 번호: 7 또는 서열 번호: 22와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄; 및 (ii) 서열 번호: 16 또는 서열 번호: 26과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄. 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인은 다음을 포함한다: (a) 서열 번호: 7과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄; 또는 (b) 서열 번호: 22와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄 및 서열 번호: 16과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄; 또는 (c) 서열 번호: 22와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄.
- [0025] 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인은 다음을 포함한다: (i) 서열 번호: 7 또는 서열 번호: 22와 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄; 및 (ii) 서열 번호: 16 또는 서열 번호: 26과 적어도 98% 동일한 서열

을 포함하는 scFv 중쇄. 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인은 다음을 포함한다: (a) 서열 번호: 7과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄; 또는 (b) 서열 번호: 22와 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄 및 서열 번호: 16과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄; 또는 (c) 서열 번호: 22와 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26과 적어도 98% 동일한 서열을 포함하는 scFv 중쇄.

[0026] 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인은 다음을 포함한다: (i) 서열 번호: 7 또는 서열 번호: 22를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄; 및 (ii) 서열 번호: 16 또는 서열 번호: 26을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄. 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인은 다음을 포함한다: (a) 서열 번호: 7을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄; 또는 (b) 서열 번호: 22를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 및 서열 번호: 16을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄; 또는 (c) 서열 번호: 22를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄.

[0027] 일부 구현예에서, 분자는 항체, 항체 단편, 단일 사슬 가변 단편 (scFv), 키메라 항원 수용체 (CAR), T 세포 수용체 (TCR), TCR 모방체, 탠덤 scFv, 이중특이적 T 세포 인게이지(engager), 디아바디, 단일-사슬 디아바디 (scDb), scFv-Fc, 이중특이적 항체, 및 이중-친화도 재표적화 항체 (DART)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0028] 일부 구현예에서, 분자는 CD3, CD28, CD4, CD8, CD16a, NKG2D, PD-1, CTLA-4, 4-1BB, OX40, ICOS, 및 CD27로 이루어진 군으로부터 선택된 이펙터 세포 수용체에 결합할 수 있는 제2 항원-결합 도메인을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 항원-결합 도메인은 CD3에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, CD3에 결합할 수 있는 제2 항원-결합 도메인은 표 3에 나타난 것들로부터 선택된 가변 경쇄 및 가변 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, CD3에 결합할 수 있는 제2 항원-결합 도메인은 표 2에 나타난 것들 (서열 번호: 38, 서열 번호: 39, 서열 번호: 40, 서열 번호: 41, 서열 번호: 42, 서열 번호: 43, 서열 번호: 44, 서열 번호: 45, 서열 번호: 46, 서열 번호: 47, 서열 번호: 48, 서열 번호: 49, 서열 번호: 50, 서열 번호: 51) 중 어느 하나를 포함하거나 이것으로 이루어진다.

[0029] 일부 구현예에서, 분자는 단일-사슬 디아바디 (scDb)이다. 일부 구현예에서, 단일-사슬 디아바디는, N- 에서 C- 말단 순서로, 다음을 포함한다: (i) 다음을 포함하는 scFv 경쇄: (a) 서열 번호: 8을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR1, (b) 서열 번호: 9 또는 서열 번호: 23을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR2, (c) 서열 번호: 10을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR3; (ii) CD3, CD28, CD4, CD8, CD16a, NKG2D, PD-1, CTLA-4, 4-1BB, OX40, ICOS, 및 CD27로 이루어진 군으로부터 선택된 이펙터 세포 수용체에 결합할 수 있는 항원 결합 도메인; 및 (iii) 다음을 포함하는 scFv 중쇄: (a) 서열 번호: 17을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR1; (b) 서열 번호: 18 또는 서열 번호: 27을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 19를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR3.

[0030] 일부 구현예에서, 단일-사슬 디아바디는 다음을 포함한다: (a) 서열 번호: 23을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR2; 또는 (b) 서열 번호: 27을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR2; 또는 (c) 서열 번호: 23을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 CDR2 및 서열 번호: 27을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄 CDR2. 일부 구현예에서, 단일-사슬 디아바디는, N- 에서 C- 말단 순서로, 다음을 포함한다: (i) 서열 번호: 7 또는 서열 번호: 22를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄; (ii) CD3, CD28, CD4, CD8, CD16a, NKG2D, PD-1, CTLA-4, 4-1BB, OX40, ICOS, 및 CD27로 이루어진 군으로부터 선택된 이펙터 세포 수용체에 결합할 수 있는 항원 결합 도메인; 및 (iii) 서열 번호: 16 또는 서열 번호: 26을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄. 일부 구현예에서, 단일-사슬 디아바디는 다음을 포함한다: (a) 서열 번호: 7을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄; 또는 (b) 서열 번호: 22를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 및 서열 번호: 16을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄; 또는 (c) 서열 번호: 22를 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 경쇄 및 서열 번호: 26을 포함하거나 이것으로 이루어진 scFv 중쇄.

[0031] 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 CD3 항원 결합 도메인이다. 일부 구현예에서, CD3 항원 결합 도메인은 표 3에 나타난 것들로부터 선택된 가변 경쇄 및 가변 중쇄를 포함한다.

[0032] 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인의 가변 경쇄 및 가변 중쇄는 링커, 바람직하게는 3xG4S 링커 (서열 번호: 13)에 의해 분리된다. 일부 구현예에서, CD3에 결합할 수 있는 항원-결합 도메인은 표 2에 나타난 것들 (서열 번호: 38, 서열 번호: 39, 서열 번호: 40, 서열 번호: 41, 서열 번호: 42, 서열 번호: 43, 서열 번호: 44, 서

열 번호: 45, 서열 번호: 46, 서열 번호: 47, 서열 번호: 48, 서열 번호: 49, 서열 번호: 50, 서열 번호: 51) 중 어느 하나를 포함하거나 이것으로 이루어진다.

- [0033] 일부 구현예에서, 분자는 scFv 경쇄와 항원 결합 도메인 사이의 제1 링커 및 항원 결합 도메인과 scFv 중쇄 사이의 제2 링커를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 링커는 G4S (서열 번호: 11)를 포함하거나 이것으로 이루어지고 제2 링커는 G4S (서열 번호: 15)를 포함하거나 이것으로 이루어진다.
- [0034] HMTEVVRHC (서열 번호: 1)을 포함하거나 이것으로 이루어진 돌연변이 펩티드를 발현하는 암을 갖는 포유동물을 치료하는 방법이 또한 본원에서 제공되며, 상기 방법은 포유동물에게 청구범위 제1항 내지 제24항 중 어느 한 항의 분자를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 포유동물은 인간이다. 일부 구현예에서, 상기 암은 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 급성 골수성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군 (MDS), 골수증식성 질환, 폐암, 췌장암, 위암, 대장암, 난소암, 자궁내막암, 담도암, 간암, 유방암, 전립선암, 식도암, 위암, 신장암, 골암, 연조직암, 두경부암, 다형성 교모세포종, 정상세포종, 갑상선암, 생식 세포 종양, 또는 흑색종이다.
- [0035] 본 출원 전반에 걸쳐, 다양한 구현예가 범위 형식으로 제시될 수 있다. 범위 형식의 기재는 단지 편의 및 간결성을 위한 것이며 본 개시내용의 범위에 대한 융통성 없는 제한으로 해석되어서는 안 된다는 것을 이해해야 한다. 따라서, 범위의 기재는 가능한 모든 하위범위 뿐만 아니라 그 범위 내의 개별 수치를 구체적으로 개시한 것으로 고려되어야 한다. 예를 들어, 1 내지 6과 같은 범위의 기재는 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 6, 3 내지 6 등과 같은 하위범위 뿐만 아니라 그 범위 내의 개별 숫자, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 및 6을 구체적으로 개시한 것으로 고려되어야 한다. 이는 범위의 폭에 관계없이 적용된다.
- [0036] 명세서 및 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수형 "a", "an" 및 "the"는 문맥에서 달리 명백히 지시하지 않는 한 복수 지시대상을 포함한다. 예를 들어, 용어 "샘플"은 이들의 혼합물을 포함한 복수의 샘플을 포함한다.
- [0037] 용어 "결정", "측정", "평가(evaluating)", "평가(assessing)", "검정" 및 "분석"은 본원에서 종종 측정 형태를 지칭하기 위해 상호교환가능하게 사용된다. 용어는 요소가 존재하는지 아닌지의 여부를 결정하는 것 (즉, 검출)을 포함한다. 이들 용어는 정량적, 정성적 또는 정량적 및 정성적 결정을 포함할 수 있다. 검정은 상대적 또는 절대적일 수 있다. "~의 존재의 검출"은 문맥에 따라 존재 또는 부재를 결정하는 것에 추가로 존재하는 어떤 것의 양을 결정하는 것을 포함할 수 있다.
- [0038] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약" 숫자는 그 숫자 플러스 또는 마이너스 그 숫자의 10%를 지칭한다. 용어 "약" 범위는 그 범위 마이너스 그의 최저값의 10% 및 플러스 그의 최대값의 10%를 지칭한다.
- [0039] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 발명에서의 사용을 위한 방법 및 물질이 본원에 기재되며; 당업계에 공지된 다른 적합한 방법 및 물질이 사용될 수도 있다. 물질, 방법, 및 예는 단지 예시적이며 제한되도록 의도되지 않는다. 본원에서 언급된 모든 공개물, 특히 출원, 특허, 서열, 데이터베이스 항목, 및 다른 참조문헌은 그 전체가 참조로 포함된다. 상충되는 경우, 정의를 포함한 본 명세서가 우선될 것이다.
- [0040] 본 발명의 다른 특징 및 이점은 하기 상세한 설명 및 도면으로부터, 또한 청구범위로부터 명백해질 것이다.

**도면의 간단한 설명**

- [0041] 도 1은 변이체 라이브러리 설계를 나타낸다. 원래의 H2 scFv가 총 1159개 변이체에 대해 각각 19개 아미노산으로 모든 6개 CDR에 걸쳐 61개 부위에서 변형되었다. scFv 라이브러리는 직접 합성되었고 파지 디스플레이에 의한 패닝을 위해 pADL-10b 벡터로 클로닝되었다.
- 도 2는 선발된 패닝 콜로니에서의 아미노산 변형 부위를 나타낸다. SS320 수용(competent) 세포를 패닝의 라운드 4 및 라운드 5 종료로부터 파지 풀(pool)로 감염시키고 단일 콜로니 선발을 위해 플레이트링하였다. 라운드 당 100개의 콜로니에 대해 Sanger 시퀀싱을 수행하고 개별 변이체를 식별하였다. 패닝 종료시 높은 다양성이 유지되었으며 반복 변이체는 거의 없었고 모든 CDR이 시퀀싱된 콜로니에서 나타났다.
- 도 3은 암모늄 티오시아네이트 및 우레아로의 변이체 스크리닝 결과를 나타낸다. 예측된 구조적으로 관련된 파지 클론을 R175H/A2 pMHC 또는 R175WT pMHC로 코팅된 ELISA 플레이트에 적용하였다. 초기 세척 후, 플레이트를 다양한 농도의 NH<sub>4</sub>SCN 또는 우레아로 처리하여 낮은 친화도의 결합체를 용출시켰다. 변이체를 ELISA 흡광도

(A<sub>450</sub>) vs. 세척 농도의 선형 회귀 분석에 의해 평가하였다. 원래의 H2보다 더 크거나 그와 동등한 R175H:R175WT 결합을 갖는 변이체에 대한 기울기가 표시되어 있다.

도 4는 폴딩된 파지에 대한 티오시아나이드-기반 스크리닝 결과를 나타낸다. 패닝의 라운드 4로부터의 파지 풀에 대해 0.5M NH<sub>4</sub>SCN 세척 또는 대조 세척 (HBSPE)과 함께 스크리닝을 수행하였다. 파지를 R175H/A2 단량체로 코팅된 ELISA 플레이트에 적용하고 TBST, 그 후 시험 세척 완충제 (SCN 또는 HBSPE)로 세척하였다. 결합된 파지를 용출시키고 이를 사용하여 SS320 세포를 감염시켜 보다 많은 파지를 생성하였다. 이 단일-풍부화된 파지 풀 상에서 동일한 프로토콜을 반복하였다. 차세대 시퀀싱을 사용하여 변이체 풍부화를 추적하였다. 시작 라운드 4 파지 풀로부터의 적어도 2배 풍부화 및 상위 50번째 백분위수에서의 판독 비율을 갖는 변이체가 표시되어 있다. 이어서, 선택된 풍부화된 변이체를 구조적으로 예측된 변이체와 유사하게 scDb로서 스크리닝하였다.

도 5는 변이체 scDb가 원래의 H2 scDb와 비교하여 R175H/HLA-A2 단량체에 대해 증가된 상대적 결합을 가졌음을 보여준다. 발현된 scDb가 R175H/A2 단량체에 특이적으로 결합하고 CD3에 결합할 수 있음을 확인하기 위해, scDb를 R175H/A2 단량체, R175WT/A2 단량체 또는 CD3 델타/엡실론 이중이량체로 코팅된 플레이트에 적용하였다. CD3 결합 신호에 대해 정규화시, 대부분의 변이체 scDb는 ELISA에 의해 원래의 H2-scDb와 비교하여 R175H/HLA-A2 단량체에 대한 증가된 상대적 결합을 나타내었다. 모든 변이체는 R175WT/HLA-A2 결합을 갖지 않았다.

도 6은 펩티드-펄스화 공동-배양에서의 scDb 민감도 시험 결과를 나타낸다. TAP-결핍 T2A3 세포를 다양한 농도의 R175H 9mer 또는 R175WT 9mer로 펄스화하였다. scDb를 낮은 펄스화 농도에서 펩티드-펄스화 세포에 대해 T 세포를 활성화하는 그의 능력에 대해 시험하였다. T 세포를 모든 조건에서 1nM scDb와 2:1 이펙터:표적 세포 비율로 공동-배양하였다. T 세포는 모든 scDb에서 R175H-펄스화된 세포에 대하여 높은 수준의 IFN $\gamma$ 를 생산하였지만 R175WT 세포에 대해서는 아니었다. Y57I 및 F53S scDb는 이중 돌연변이 및 원래의 H2 scDb와 비교하여 1nM의 펩티드에서 증가된 IFN $\gamma$  반응을 생성하였다.

도 7a-7b는 H2 변이체가 KMS26 세포와의 공동-배양에서 원래의 H2 scDb보다 더 낮은 EC<sub>50</sub>을 가짐을 보여준다.

내인성 p53<sup>R175H</sup> (TP53 R175H, 흑색 기호) 또는 p53 녹아웃 (TP53 KO, 백색 기호)을 갖는 5 x 10<sup>4</sup>개 일차 인간 T 세포 및 2.5 x 10<sup>4</sup>개 KMS26 표적 세포를 밤새 10 nM 내지 0.169 pM의 scDb의 3배 희석액의 존재 하에 공동-배양하였다. H2 변이체는 동일한 농도의 scDb에서 원래의 H2 scDb와 비교하여 증가된 세포독성 (도 7a) 및 인터페론 감마 반응 (도 7b)을 생성한다. R175H 세포주에 대한 EC<sub>50</sub> 값을 5-매개변수 로지스틱 곡선 피팅에 의해 결정하였다 (R175H 실선, p53 KO 점선).

도 8a-8d는 H2 변이체가 내인성 R175H 돌연변이를 갖는 표적 세포주에 대하여 강한 세포독성을 생성함을 보여준다. 변이체 scDb를 2:1 이펙터 대 표적 세포 비율로 내인성 R175H HLA-A2+ 세포주와 인간 T 세포의 공동-배양에서 0.01 nM, 0.1 nM 및 1 nM에서 시험하였다. 모든 표적 세포주 (TYKnu, 도 8a; KMS26, 도 8b; KLE, 도 8c; Nalm6, 도 8d)에 대하여, 변이체 scDb는 원래의 H2 scDb에 비해 증가된 활성을 가졌다. 각 scDb 농도에서의 세포독성을 Tukey의 다중 비교 시험으로 일방적인 양방향 ANOVA에 의해 비교하였다. Nalm6 R175H는 CRISPR 편집에 의해 TP53 R175H 돌연변이를 갖도록 조작된 HLA-A2 양성 세포주이다. 도 8a-8c: 좌측에서 우측으로 각 scDb에 대한 막대: R175H, 0.01nM; R175H, 0.1nM; R175H, 1 nM; p53 KO, 0.01 nM; p53 KO, 0.1 nM; p53 KO, 1 nM; 도 8d: 좌측에서 우측으로 각 scDb에 대한 막대: R175H, 0.01nM; R175H, 0.1nM; R175H, 1 nM; p53 KO, 0.01 nM; p53 KO, 0.1 nM; p53 KO, 1 nM.

도 9a-9d는 F53S, Y57I 및 F53S/Y57I가 SPR에 의해 R175H/HLA-A2에 대한 증가된 친화도를 가졌음을 보여준다. 원래의 H2 (도 9a), F53S (도 9b), Y57I (도 9c) 및 F53S/Y57I (도 9d) scDb에 대한 결합 친화도를 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 측정하였다. R175H/A2 (흑색 파선) 또는 R175WT/A2 (밝은 회색 파선) 단량체로 코팅된 칩을 증가하는 농도의 scDb에 노출시켰다. 원래의 H2 (도 9a), F53S (도 9b), Y57I (도 9c) 및 F53S/Y57I (도 9d)에 대한 측정된 친화도 (K<sub>D</sub>)는 각각 29.5 nM, 12.9 nM, 6.8 nM 및 3.3 nM이다.

도 10a-10i는 H2 변이체가 생체내에서 종양 성장을 제어할 수 있음을 보여준다. 도 10a: 변이체 scDb가 원래의 H2 scDb와 비교하여 개선된 생체내 효능을 갖는지의 여부를 시험하기 위해, 13-15주령 암컷 NSG 마우스를 scDb를 함유하는 연속 주입 펌프로의 치료 (14일 동안 scDb 용량 0.15mg/kg/일) 2일 전에 1 x 10<sup>6</sup>개 루시페라제-양성 KMS26 세포 및 1 x 10<sup>7</sup>개 인간 T 세포로 접종하였다. 치료 그룹을 제-1일에 무작위화하였다. 종양 부담을 IVIS 시스템을 사용하는 생물발광 이미징에 의해 3일마다 추적하였다. 그룹 당 N = 6 마우스. 도 10b-10f: 총

플럭스 측정을 각 마우스에 대해 흉부 상에서 측정된 주입 대조 형광 염료에 대해 정규화하였다: 도 10b, 원래의 H2; 도 10c, F53S; 도 10d, Y57I; 도 10e, F53S/Y57I; 도 10f: L2 이소타입 대조군. 도 10g: 각 시점에서의 생물발광 이미지가 표시되어 있다. 모든 시점에 60s 노출 시간에 걸쳐 발광이 검출되었다. 도 10h는 Y57I 및 F53S/Y57I가 생체내에서 KMS26 종양 성장을 제어함을 보여준다. 각 시점에 각 치료 scDb를 원래의 H2 scDb와 비교하는 Geissner-Greenhouse 보정 및 Dunnett의 다중 비교 시험으로의 양방향 반복 측정 ANOVA는 Y57I 및 F53S/Y57I가 치료 제5일 및 제8일에 H2보다 종양 성장을 더 잘 제어함 ( $P < 0.05$ )을 나타낸다. 총 플럭스 측정을 각 마우스에 대해 흉부 상에서 측정된 주입 대조 형광 염료에 대해 정규화하였다. 도 10i는 Y57I가 생체내에서 KMS26 종양 성장을 제어함을 보여준다. 도 9a-9g로부터의 생물발광 데이터의 다중 Mann-Whitney 시험은 Y57I가 원래의 H2 scDb와 비교하여 제8일에 개선된 종양 제어를 가짐 ( $P = 0.019$ )을 나타낸다. 치료 후 2주 내에, Y57I-치료된 마우스는 종양 재발을 갖지 않았다. 그룹 당  $N = 6$  마우스. 총 플럭스 측정을 각 마우스에 대해 흉부 상에서 측정된 주입 대조 형광 염료에 대해 정규화하였다.

도 11a-11g는 H2 변이체가 생체내에서  $\text{Nalm6}^{\text{R175H}}$  종양 성장을 제어함을 나타낸다. 도 11a: H2 변이체가 보다 낮은 scDb 용량에서 보다 빠르게 성장하는  $\text{Nalm6}^{\text{R175H}}$  세포주를 더 잘 제어할 수 있는지의 여부를 시험하기 위해, 7-8주령 암컷 NSG 마우스를 scDb를 함유하는 연속 주입 펌프로의 치료 (14일 동안 scDb 용량 0.075 mg/kg/일) 2일 전에  $5 \times 10^5$  개 루시퍼라제-양성  $\text{Nalm6}^{\text{R175H}}$  세포 및  $1 \times 10^7$  개 인간 T 세포로 접종하였다. 치료 그룹을 제-1일에 무작위화하였다. 종양 부담을 IVIS 시스템을 사용하는 생물발광 이미징에 의해 추적하였다. 2개의 독립적 실험을 수행하였으며, scDb 당  $N = 6$ 이었다. 결과는 종합적으로 보고되며, 총  $N = 12$ 이다. 도 11b-11f: 평균 휘도 값: 도 11b, 원래의 H2; 도 11c, F53S; 도 11d, Y57I; 도 11e, F53S/Y57I; 도 11f: 이소타입 대조군. 도 11g: Geissner-Greenhouse 보정 및 Dunnett의 다중 비교 시험으로의 양방향 반복 측정 ANOVA는 치료 제7일에 모든 H2 변이체가 개선된 종양 제어를 가졌고 (H2 vs. F53S  $P = 0.0093$ , Y57I  $P = 0.0126$ , F53S/Y57I  $P = 0.0030$ ) H2가 이소타입 대조군 scDb보다 더 우수하였음 ( $P < 0.0001$ )을 나타낸다. F53S/Y57I는 Dunnett의 다중 비교 시험에 의해 제14일에 H2와 비교하여 더 우수한 종양 제어를 가졌다 (2-방향 RM ANOVA,  $P = 0.0295$ ).

도 12a-12e는 Y57I scDb가 생체내에서 지연 치료 모델에서 KMS26을 제어함을 나타낸다. 도 12a: 확립된 종양 모델에서 scDb Y57I의 항-종양 효능을 비교하기 위해, 7-9주령 암컷 NSG 마우스를  $3.5 \times 10^5$  개 KMS26 세포로 접종하고 6일 후 치료 제-1일에 무작위화하였다. 종양 접종 7일 후, 마우스를 마우스 복막 공간에 수술적으로 배치된 14-일 연속 방출 펌프를 사용하여 0.075 mg/kg/d scDb 및 정맥내로  $1 \times 10^7$  개 인간 T 세포로 치료하였다. 그룹 당  $N = 5$ . 도 12b-12d: 평균 휘도 값: 도 12b: 원래의 H2; 도 12c: Y57I; 도 12d: 이소타입. 도 12e: 그룹 평균 휘도. 제14일에 치료 종료시, H2 scDb와 Y57I scDb를 비교하는 Mann-Whitney 시험은 Y57I scDb로 치료된 마우스가 보다 낮은 종양 부담을 가졌음 ( $P = 0.0079$ )을 나타내었다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0042]

#### 상세한 설명

[0043]

본 문서는 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 포유동물을 평가하고/거나 암을 갖는 포유동물을 치료하기 위한 방법 및 물질에 관한 것이다. 예를 들어, 본 문서는 암을 갖는 포유동물을 치료하기 위해 변형된 펩티드 (예를 들어, 종양 항원)에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, 단일-사슬 가변 단편 (scFv))을 포함하는 분자를 사용하기 위한 방법 및 물질을 제공한다.

[0044]

세포내 구동자 유전자를 표적화하는 이중특이적 항체의 일례는 다음을 표적화하는 H2 이중특이적 항체이다: 9mer 펩티드로서 제시되는 *TP53* R175H 돌연변이 (돌연변이 펩티드 HMTEVVRHC (서열 번호: 1); 서열 번호: 3의 위치 168-176에 상응함, 위치 175에서 R→H 돌연변이를 가짐); HLA-A2 상의 WT 펩티드 HMTEVVRRC (서열 번호: 2; 서열 번호: 3의 위치 168-176에 상응함)). Hsiue 등, "Targeting a Neoantigen Derived from a Common *TP53* Mutation," *Science* 371(6533):eabc8697 (2021) 참조; 또한 W02021/12784 참조, 이는 그 전체가 본원에 참조로 포함됨. H2 이중특이적은 분자의 한쪽 말단의 항-CD3 결합 도메인 및 반대쪽 말단의 pMHC-결합 도메인을 포함한다. T 세포의 T 세포 수용체 복합체 내의 표적 세포 pMHC 및 CD3에 결합함에 따라, 이중특이적 항체는 T 세포를 활성화시켜 시토키인 방출 및 표적 세포의 T 세포-매개된 사멸 둘 다를 유도한다. 이 H2 이중특이적 항체는 시험관내에서 항암 세포 사멸을 구동하고 생체내에서 종양 성장을 제한할 수 있지만, 추가의 개선은 생체내에서 개선된 종양 클리어런스 및 성능을 가능하게 할 수 있다. 실로, 다른 사람들은 이중특이적 항체의 결합 친화도 증가가 그의 효력을 유의하게 개선할 수 있음을 보여주었다.

- [0045] 무엇보다도, pMHC 결합 도메인 내의 단일 아미노산 변화를 함유하는 변이체를 선택하고 이어서 특이적 변이체를 상대적 친화도에 의해 구별하기 위한 스크리닝 방법에 의해 식별된 시험관내 및 생체내 둘 다에서 개선된 성능을 갖는 R175H 돌연변이 펩티드에 대한 특이성을 유지하는 친화도 성숙된 H2 변이체가 본원에 기재된다. 이 방법에 의해 식별된 높은 상대적 친화도를 갖는 변이체는 시험관내 및 생체내 둘 다에서 원래의 H2 변이체를 능가한다. 이들 변이체 이중특이적 항체는 R175H 돌연변이 펩티드에 대한 동일한 특이성을 유지하면서 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 측정시 보다 높은 친화도를 갖는다. 이들 친화도 성숙된 H2 변이체는 또한 키메라 항원 수용체 (CAR) 또는 다른 scFv-기반 요법으로서의 사용에 적합화될 수 있다.
- [0046] 또한, 암을 갖거나 암을 갖는 것으로 의심되는 포유동물을 평가하고/거나 암을 갖는 포유동물을 치료하기 위한 방법 및 조성물이 본원에 기재된다. 암을 갖거나 암을 갖는 것으로 의심되는 포유동물을 평가하고/거나 암 (예를 들어, 하나 이상의 변형된 펩티드를 발현하는 암)을 갖는 포유동물을 치료하기 위해 TP53 R175H 돌연변이 펩티드를 표적화 (예를 들어, 그에 결합)할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자가 사용될 수 있다. 일부 경우에는, 암을 갖거나 암을 갖는 것으로 의심되는 포유동물로부터 얻어진 샘플 중의 하나 이상의 변형된 펩티드의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 TP53 R175H 돌연변이 펩티드를 표적화 (예를 들어, 그에 결합)할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자가 사용될 수 있다. 일부 경우에는, TP53 R175H 돌연변이 펩티드를 표적화 (예를 들어, 그에 결합)할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 암 (예를 들어, 변형된 펩티드를 발현하는 암)을 갖는 포유동물에게 투여하여 포유동물을 치료할 수 있다.
- [0047] 본원에서 사용되는 바와 같이, 변형된 펩티드는 변형된 폴리펩티드로부터 유래된 펩티드이다. 변형된 폴리펩티드는 임의의 적절한 변형된 폴리펩티드 (예를 들어, 종양발생에서의 돌연변이 또는 종양 억제자 유전자에서의 돌연변이와 같은 질환-유발 돌연변이를 갖는 폴리펩티드)일 수 있다. 변형된 펩티드는 WT 펩티드 (예를 들어, 변형된 폴리펩티드가 유래되는 WT 폴리펩티드로부터 유래된 펩티드)에 비해 하나 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 가질 수 있다. 변형된 펩티드는 또한 돌연변이 펩티드로서 언급될 수 있다. 일부 경우에, 변형된 펩티드는 종양 항원일 수 있다. 종양 항원의 예는, 제한 없이, MANA, 종양-관련 항원, 및 종양-특이적 항원을 포함한다.
- [0048] 변형된 펩티드는 임의의 적절한 길이일 수 있다. 일부 경우에, 변형된 펩티드는 약 7개 아미노산 내지 약 25개 아미노산 (예를 들어, 약 8개 아미노산 내지 약 25개 아미노산, 약 9개 아미노산 내지 약 25개 아미노산, 약 10개 아미노산 내지 약 25개 아미노산, 약 11개 아미노산 내지 약 25개 아미노산, 약 12개 아미노산 내지 약 25개 아미노산, 약 13개 아미노산 내지 약 25개 아미노산, 약 15개 아미노산 내지 약 25개 아미노산, 약 18개 아미노산 내지 약 25개 아미노산, 약 20개 아미노산 내지 약 25개 아미노산, 약 7개 아미노산 내지 약 22개 아미노산, 약 7개 아미노산 내지 약 20개 아미노산, 약 7개 아미노산 내지 약 18개 아미노산, 약 7개 아미노산 내지 약 15개 아미노산, 약 7개 아미노산 내지 약 12개 아미노산, 약 7개 아미노산 내지 약 10개 아미노산, 약 7개 아미노산 내지 약 9개 아미노산, 약 8개 아미노산 내지 약 22개 아미노산, 약 10개 아미노산 내지 약 18개 아미노산, 약 12개 아미노산 내지 약 15개 아미노산, 약 8개 아미노산 내지 약 12개 아미노산, 약 12개 아미노산 내지 약 18개 아미노산, 약 18개 아미노산 내지 약 22개 아미노산, 또는 약 9개 아미노산 내지 약 10개 아미노산) 길이일 수 있다. 예를 들어, 변형된 펩티드는 약 9개 아미노산 길이일 수 있다. 예를 들어, 변형된 펩티드는 약 10개 아미노산 길이일 수 있다. 변형된 펩티드는 임의의 변형된 폴리펩티드로부터 유래될 수 있다. 본원에 기재된 변형된 펩티드가 유래될 수 있는 변형된 폴리펩티드의 예는, 제한 없이, p53을 포함한다.
- [0049] 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드는 임의의 적절한 HLA와의 복합체로 존재할 수 있다. HLA는 임의의 적절한 HLA 대립유전자일 수 있다. 일부 경우에, HLA는 클래스 I HLA (예를 들어, HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C) 대립유전자일 수 있다. 일부 경우에, HLA는 클래스 II HLA (예를 들어, HLA-DP, HLA-DM, HLA-DOA, HLA-DOB, HLA-DQ, 및 HLA-DR) 대립유전자일 수 있다. 본원에 기재된 변형된 펩티드와 복합체를 이룰 수 있는 HLA 대립유전자의 예는, 제한 없이, HLA-A1 및 HLA-A2를 포함한다. 특정 변형된 펩티드에 대한 예시적 HLA 대립유전자가 표 1에 나타나 있다. 예를 들어 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드는 HLA-A2 및  $\beta$ 2M과 복합체로 존재할 수 있다.
- [0050] 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 분자가 본원에 기재된다. 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인을 포함하는 분자는 복합체화되지 않은 본원에 기재

된 (예를 들어, 예를 들어 복합체 (예를 들어, 펩티드-HLA-β2M 복합체)로 존재하지 않는 본원에 기재된 변형된 펩티드를 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 펩티드를 표적화하지 않는다 (예를 들어, 그에 결합하지 않는다). 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인을 포함하는 분자는 WT 펩티드 (예를 들어, 변형된 폴리펩티드가 유래되는 WT 폴리펩티드로부터 유래된 펩티드)를 표적화하지 않는다 (예를 들어, 그에 결합하지 않는다).

[0051] 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 분자는 임의의 적절한 유형의 분자일 수 있다. 일부 경우에, 분자는 1가 분자 (예를 들어, 단일 항원-결합 도메인을 함유함)일 수 있다. 일부 경우에, 분자는 다가 분자 (예를 들어, 2개 이상의 항원-결합 도메인을 함유하고 동시에 2개 이상의 항원을 표적화함)일 수 있다. 예를 들어, 이중특이적 분자는 2개의 항원-결합 도메인을 포함할 수 있고, 삼중특이적 분자는 3개의 항원-결합 도메인을 포함할 수 있고, 사중특이적 분자는 4개의 항원-결합 도메인을 포함할 수 있고, 기타 등등이다. 항원-결합 도메인을 함유하는 분자의 예는, 제한 없이, 항체, 항체 단편, scFv, 키메라 항원 수용체 (CAR), T 세포 수용체 (TCR), TCR 모방체, 탠덤 scFv, 이중특이적 T 세포 인계이저, 디아바디, scDb, scFv-Fc, 이중특이적 항체, 이중특이적 단일-사슬 Fc, 이중-친화도 재표적화 항체 (DART), 및 적어도 하나의 가변 중쇄 (VH) 및 적어도 하나의 가변 경쇄 (VL)를 포함하는 임의의 다른 분자를 포함한다. 이들 분자 중 임의의 것이 본원에 기재된 물질 및 방법에 따라 사용될 수 있다. 일부 경우에, 항원-결합 도메인은 scFv일 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 변형된 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, 하나 이상의 scFv)을 포함하는 분자는 CAR일 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 변형된 펩티드에 결합할 수 있는 2개의 scFv를 포함하는 분자는 단일-사슬 디아바디 (scDb)일 수 있다.

[0052] 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 분자가 다가 분자 (예를 들어, 이중특이적 분자)인 경우, 제1 항원-결합 도메인은 본원에 기재된 변형된 펩티드에 결합할 수 있고 제2 항원-결합 도메인은 이펙터 세포 (예를 들어, 이펙터 세포 상에 존재하는 항원)에 결합할 수 있다. 이펙터 세포의 예는, 제한 없이, T 세포, 자연 킬러 (NK) 세포, 자연 킬러 T (NKT) 세포, B 세포, 형질 세포, 대식세포, 단핵구, 미세아교세포, 수지상 세포, 호중구, 섬유아세포, 및 비만 세포를 포함한다. 이펙터 세포 상에 존재하는 항원의 예는, 제한 없이, CD3, CD4, CD8, CD28, NKG2D, PD-1, CTLA-4, 4-1BB, OX40, ICOS, CD27, Fc 수용체 (예를 들어, CD16a), 및 임의의 다른 이펙터 세포 표면 수용체를 포함한다. 일부 경우에, 본원에 기재된 분자는 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 제1 항원-결합 도메인 및 T 세포 상에 존재하는 항원 (예를 들어, CD3)에 결합할 수 있는 제2 항원-결합 도메인을 포함할 수 있다. 일부 경우에, CD3에 결합할 수 있는 서열 (예를 들어, scFv 서열)은 표 2 또는 표 3에 나타난 바와 같을 수 있다. 일부 경우에, CD3에 결합할 수 있는 서열 (예를 들어, scFv 서열)은 다른 부분에 기재된 바와 같을 수 있다 (예를 들어, Rodrigues 등, 1992 *Int J Cancer Suppl.* 7:45-50; Shalaby 등, 1992 *J Exp Med.* 175:217-25; Brischwein 등, 2006 *Mol Immunol.* 43:1129-43; Li 등, 2005 *Immunology.* 116:487-98; W02012162067; US20070065437; US20070065437; US20070065437; US20070065437; US20070065437; 및 US20070065437 참조). 일부 경우에, 본원에 기재된 분자는 본원에 기재된 변형된 펩티드에 결합할 수 있는 제1 항원-결합 도메인 및 NK 세포 상에 존재하는 항원 (예를 들어, CD16a 또는 NKG2D)에 결합할 수 있는 제2 항원-결합 도메인을 포함할 수 있다. 일부 경우에, CD16a에 결합할 수 있는 서열 (예를 들어, scFv 서열)은 표 4에 나타난 바와 같을 수 있다. 변형된 펩티드 및 이펙터 세포 둘 다에 결합함으로써, 다가 분자는 (예를 들어, HLA 복합체의 부분으로서) 변형된 펩티드를 발현하는 세포를 이펙터 세포와 근접하게 하여, 이펙터 세포가 변형된 펩티드를 발현하는 세포 상에 작용하도록 허용할 수 있다.

[0053] 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 분자가 다가 분자 (예를 들어, 이중특이적 분자)인 경우, 분자는 적어도 하나의 VH 및 적어도 하나의 VL을 포함하는 임의의 적절한 형식으로 존재할 수 있다. 예를 들어, VH 및 VL은 임의의 적절한 배향으로 존재할 수 있다. 일부 경우에, VH는 VL에 대해 N-말단일 수 있다. 일부 경우에, VH는 VL에 대해 C-말단일 수 있다. 일부 경우에, 링커 아미노산 서열이 VH와 VL 사이에 위치할 수 있다.

[0054] 일부 경우에, 이중특이적 분자가 탠덤 scFv를 포함하는 경우, 탠덤 scFv는 임의의 적절한 배향으로 존재할 수 있다. scFv-A 및 scFv-B를 포함하는 탠덤 scFv 배향의 예는, 제한 없이, VLA-LL-VHA-SL-VLB-LL-VHB, VLA-LL-

VHA-SL-VHB-LL-VLB, VHA-LL-VLA-SL-VLB-LL-VHB, VHA-LL-VLA-SL-VHB-LL-VLB, VLB-LL-VHB-SL-VLA-LL-VHA, VLB-LL-VHB-SL-VHA-LL-VLA, VHB-LL-VLB-SL-VLA-LL-VHA, 및 VHB-LL-VLB-SL-VHA-LL-VLA를 포함하며, 여기서 SL은 짧은 링커이고 LL은 긴 링커이다. 짧은 링커는 약 3개 아미노산 내지 약 10개 아미노산 길이일 수 있다. 짧은 링커는 임의의 적절한 아미노산 (예를 들어, 글리신 및 세린)을 임의의 적절한 조합으로 포함할 수 있다. 긴 링커는 약 10개 아미노산 내지 약 25개 아미노산 길이일 수 있다. 긴 링커는 임의의 적절한 아미노산 (예를 들어, 글리신 및 세린)을 임의의 적절한 조합으로 포함할 수 있다.

[0055] 일부 경우에, 이중특이적 분자가 디아바딘인 경우, 디아바딘은 임의의 적절한 배향으로 존재할 수 있다. scFv-A 및 scFv-B를 포함하는 디아바딘 배향의 예는, 제한 없이, VLA-SL-VHB 및 VLB-SL-VHA, VLA-SL-VLB 및 VHB-SL-VHA, VHA-SL-VLB 및 VHB-SL-VLA, VLB-SL-VHA 및 VLA-SL-VHB, VLB-SL-VLA 및 VHA-SL-VHB, 및 VHB-SL-VLA 및 VHA-SL-VLB를 포함하며, 여기서 SL은 짧은 링커이다. 짧은 링커는 약 3개 아미노산 내지 약 10개 아미노산 길이일 수 있다. 짧은 링커는 임의의 적절한 아미노산 (예를 들어, 글리신 및 세린)을 임의의 적절한 조합으로 포함할 수 있다.

[0056] 일부 경우에, 이중특이적 분자가 scDb인 경우, scDb는 임의의 적절한 배향으로 존재할 수 있다. scFv-A 및 scFv-B를 포함하는 scDb 배향의 예는, 제한 없이, VLA-SL-VHB-LL-VLB-SL-VHA, VHA-SL-VLB-LL-VHB-SL-VLA, VLA-SL-VLB-LL-VHB-SL-VHA, VHA-SL-VHB-LL-VLB-SL-VLA, VLB-SL-VHA-LL-VLA-SL-VHB, VHB-SL-VLA-LL-VHA-SL-VLB, VLB-SL-VLA-LL-VHA-SL-VHB, 및 VHB-SL-VHA-LL-VLA-SL-VLB를 포함하며, 여기서 SL은 짧은 링커이고 LL은 긴 링커이다. 짧은 링커는 약 3개 아미노산 내지 약 10개 아미노산 길이일 수 있다. 짧은 링커는 임의의 적절한 아미노산 (예를 들어, 글리신 및 세린)을 임의의 적절한 조합으로 포함할 수 있다. 긴 링커는 약 10개 아미노산 내지 약 25개 아미노산 길이일 수 있다. 긴 링커는 임의의 적절한 아미노산 (예를 들어, 글리신 및 세린)을 임의의 적절한 조합으로 포함할 수 있다.

[0057] 일부 경우에, 이중특이적 분자가 scFv-Fc인 경우, scFv-Fc는 임의의 적절한 배향으로 존재할 수 있다. scFv-Fc-A, scFv-Fc-B, 및 Fc 도메인을 포함하는 scFv-Fc 배향의 예는, 제한 없이, VLA-LL-VHA-힌지-Fc 및 VLB-LL-VHB-힌지-Fc, VHA-LL-VLA-힌지-Fc 및 VHB-LL-VLB-힌지-Fc, VLA-LL-VHA-힌지-Fc 및 VHB-LL-VLB-힌지-Fc, VHA-LL-VLA-힌지-Fc 및 VLB-LL-VHB-힌지-Fc를 포함하며, 여기서 LL은 긴 링커이다. 긴 링커는 약 10개 아미노산 내지 약 25개 아미노산 길이일 수 있다. 긴 링커는 임의의 적절한 아미노산 (예를 들어, 글리신 및 세린)을 임의의 적절한 조합으로 포함할 수 있다. 일부 경우에, scFv-Fc 내의 Fc 도메인은 scFv-Fc의 이중이량체화를 증가시키고/거나 동중이량체화를 감소시키기 위한 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다. 일부 경우에, scFv-Fc 내의 Fc 도메인은 힌지 도메인을 제외할 수 있다. 일부 경우에, scFv-Fc 내의 Fc 도메인은 scFv의 N-말단에 존재할 수 있다.

[0058] 일부 경우에, 이중특이적 분자가 이중특이적 단일-사슬 Fc인 경우, 이중특이적 단일-사슬 Fc는 임의의 적절한 배향으로 존재할 수 있다. 이중특이적 단일-사슬 Fc 배향의 예는, 제한 없이, VLA-LL-VHA-SL-VHB-LL-VLB-SL-힌지-CH2-CH3-LL-힌지-CH2-CH3, VLA-LL-VHA-SL-VLB-LL-VHB-SL-힌지-CH2-CH3-LL-힌지-CH2-CH3, VHA-LL-VLA-SL-VLB-LL-VHB-SL-힌지-CH2-CH3-LL-힌지-CH2-CH3, VHA-LL-VLA-SL-VHB-LL-VLB-SL-힌지-CH2-CH3-LL-힌지-CH2-CH3, 및 VLA-SL-VHB-LL-VLB-VHA-SL-힌지-CH2-CH3-LL-힌지-CH2-CH3를 포함하며, 여기서 SL은 짧은 링커이고 LL은 긴 링커이다. 짧은 링커는 약 3개 아미노산 내지 약 8개 아미노산 길이일 수 있다. 짧은 링커는 임의의 적절한 아미노산 (예를 들어, 글리신 및 세린)을 임의의 적절한 조합으로 포함할 수 있다. 긴 링커는 약 10개 아미노산 내지 약 25개 아미노산 길이일 수 있다. 긴 링커는 임의의 적절한 아미노산 (예를 들어, 글리신 및 세린)을 임의의 적절한 조합으로 포함할 수 있다. 임의의 적절한 Fc 도메인이 이중특이적 단일-사슬 Fc에서 사용될 수 있다. 일부 경우에, Fc 도메인은 IgG (예를 들어, 자연 IgG)로부터 유래된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 경우에, Fc 도메인은 하나 이상의 변형 (예를 들어, 분자의 안정성을 증가시키고/거나 하나 이상의 Fc 수용체에 대한 결합을 증가 또는 감소시키기 위한 하나 이상의 변형)을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 이중특이적 단일-사슬 Fc에서 사용될 수 있는 Fc 도메인은 힌지 도메인을 제외할 수 있다. 일부 경우에, 이중특이적 단일-사슬 Fc에서 사용될 수 있는 Fc 도메인은 scFv의 N-말단에 존재할 수 있다. 일부 경우에, 이중특이적 단일-사슬 Fc에서 사용될 수 있는 Fc 도메인은 다른 부분에 기재된 바와 같을 수 있다 (예를 들어, 국제 특허 출원 공개 번호 WO 2017/134134 A1, 예를 들어, 서열 번호: 25-32에서; 및 국제 특허 출원 공개 번호 WO 2017/134158 A1, 예를 들어, 표 38; 및 서열 번호: 25-32에서 참조).

[0059] 본원에 기재된 (예를 들어 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 분자는 임의의 적절한 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 변형된 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항

원-결합 도메인을 포함하는 분자는 3개의 VH 상보성 결정 영역을 갖는 가변 중쇄 (VH) (CDR-VH) 및 3개의 VL CDR을 갖는 가변 경쇄 (VL) (CDR-VL)를 포함할 수 있다.

- [0060] 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 *TP53* R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 분자는 Y57I, S92N, A31S, S95T, S92E, S95D, S95K, R24D, V29D, F53S, S26P, V29E, Q90D, 및 Y57L로 이루어진 군으로부터 선택된 H2 (서열 번호: 4)에 대한 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 *TP53* R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 분자는 Y57I, S92N, A31S, S95T, S92E, S95D, S95K, R24D, V29D, F53S, S26P, V29E, Q90D, 및 Y57L로 이루어진 군으로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 14개의 돌연변이 (H2, 서열 번호: 4에 대하여)를 포함한다. 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 *TP53* R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 분자는, 분자가 Y57I, S92N, A31S, S95T, S92E, S95D, S95K, R24D, V29D, F53S, S26P, V29E, Q90D, 및 Y57L로 이루어진 군으로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 14개 돌연변이 (H2, 서열 번호: 4에 대하여)를 포함하는 한, H2 CDR (CDR-VL1: 서열 번호: 8; CDR-VL2: 서열 번호: 9; CDR-VL3: 서열 번호: 10; CDR-VH1: 서열 번호: 17; CDR-VH2: 서열 번호: 18; 및 CDR-VH3: 서열 번호: 19) 각각 중 하나를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 돌연변이(들)는 F53S 및/또는 Y57I이다.
- [0061] 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 *TP53* R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 분자는 하기에 기재된 CDR 각각 중 하나를 포함할 수 있다:
- [0062] CDR-VL1: 서열 번호: 8;
- [0063] CDR-VL2: 서열 번호: 9 또는 서열 번호: 23;
- [0064] CDR-VL3: 서열 번호: 10;
- [0065] CDR-VH1: 서열 번호: 17;
- [0066] CDR-VH2: 서열 번호: 18 또는 서열 번호: 27; 및
- [0067] CDR-VH3: 서열 번호: 19,
- [0068] 여기서:
- [0069] i) CDR-VL2는 서열 번호: 23이거나; 또는
- [0070] ii) CDR-VH2는 서열 번호: 27이거나; 또는
- [0071] iii) CDR-VL2는 서열 번호: 23이고 CDR-VH2는 서열 번호: 27임.
- [0072] 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 *TP53* R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 분자는 하기에 기재된 CDR 각각 중 하나를 포함할 수 있다:
- [0073] CDR-VL1: 서열 번호: 8;
- [0074] CDR-VL2: 서열 번호: 23;
- [0075] CDR-VL3: 서열 번호: 10;
- [0076] CDR-VH1: 서열 번호: 17;
- [0077] CDR-VH2: 서열 번호: 18 또는 서열 번호: 27; 및
- [0078] CDR-VH3: 서열 번호: 19.
- [0079] 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 *TP53* R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 분자는 하기에 기재된 CDR 각각 중 하나를 포함할 수 있다:
- [0080] CDR-VL1: 서열 번호: 8;
- [0081] CDR-VL2: 서열 번호: 23;

- [0082] CDR-VL3: 서열 번호: 10;
- [0083] CDR-VH1: 서열 번호: 17;
- [0084] CDR-VH2: 서열 번호: 18; 및
- [0085] CDR-VH3: 서열 번호: 19.
- [0086] 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 *TP53* R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 분자는 하기에 기재된 CDR 각각 중 하나를 포함할 수 있다:
- [0087] CDR-VL1: 서열 번호: 8;
- [0088] CDR-VL2: 서열 번호: 23;
- [0089] CDR-VL3: 서열 번호: 10;
- [0090] CDR-VH1: 서열 번호: 17;
- [0091] CDR-VH2: 서열 번호: 27; 및
- [0092] CDR-VH3: 서열 번호: 19.
- [0093] 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 *TP53* R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 분자는 하기에 기재된 CDR 각각 중 하나를 포함할 수 있다:
- [0094] CDR-VL1: 서열 번호: 8;
- [0095] CDR-VL2: 서열 번호: 9 또는 서열 번호: 23;
- [0096] CDR-VL3: 서열 번호: 10;
- [0097] CDR-VH1: 서열 번호: 17;
- [0098] CDR-VH2: 서열 번호: 27; 및
- [0099] CDR-VH3: 서열 번호: 19.
- [0100] 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 *TP53* R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 분자는 하기에 기재된 CDR 각각 중 하나를 포함할 수 있다:
- [0101] CDR-VL1: 서열 번호: 8;
- [0102] CDR-VL2: 서열 번호: 9;
- [0103] CDR-VL3: 서열 번호: 10;
- [0104] CDR-VH1: 서열 번호: 17;
- [0105] CDR-VH2: 서열 번호: 27; 및
- [0106] CDR-VH3: 서열 번호: 19.
- [0107] 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 *TP53* R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 분자는 하기에 기재된 CDR 각각 중 하나를 포함할 수 있다:
- [0108] CDR-VL1: 서열 번호: 8;
- [0109] CDR-VL2: 서열 번호: 23;
- [0110] CDR-VL3: 서열 번호: 10;
- [0111] CDR-VH1: 서열 번호: 17;
- [0112] CDR-VH2: 서열 번호: 27; 및
- [0113] CDR-VH3: 서열 번호: 19.
- [0114] 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 *TP53* R175H 돌

연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 분자는 임의의 적절한 CDR 서열의 세트 (예를 들어, 본원에 기재된 CDR 서열 세트 중 임의의 것)를 포함할 수 있다.

[0115] 본원에 기재된 (예를 들어 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 분자는 임의의 적절한 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 분자는, 제한 없이, 서열 번호: 20, 서열 번호: 24, 또는 서열 번호: 28 중 어느 하나에 기재된 scFv 서열을 포함할 수 있다. 특정 변형된 펩티드에 결합할 수 있는 서열 (예를 들어, scFv 서열)의 예가 표 1에 나타나 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 분자는, 때로는 변이체 서열로서 언급되는, 표 1에 나타난 서열로부터 벗어난 서열을 가질 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 변형된 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인을 포함하는 분자는 표 1에 나타난 서열 중 임의의 것과 적어도 75% 서열 동일성 (예를 들어, 적어도 80% 서열 동일성, 적어도 85% 서열 동일성, 적어도 90% 서열 동일성, 적어도 95% 서열 동일성, 적어도 96% 서열 동일성, 적어도 97% 서열 동일성, 적어도 98% 서열 동일성, 적어도 99% 서열 동일성, 또는 그 초과)을 가질 수 있으며, 단 변이체 서열은 본원에 기재된 변형된 펩티드에 결합하는 능력을 유지한다. 예를 들어, 본원에 기재된 변형된 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인을 포함하는 분자는 표 1에 나타난 서열과 비교하여 하나 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 초과)의 변형 (예를 들어, 하나 이상의 아미노산 치환)을 가질 수 있으며, 단 변이체 서열은 본원에 기재된 변형된 펩티드에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 경우에, 본원에 기재된 변형된 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인을 포함하는 분자는 본원에 기재된 임의의 적절한 CDR 서열의 세트를 포함할 수 있고, 표 1에 나타난 서열로부터의 임의의 서열 편차가 스캐폴드 서열(들)에 존재할 수 있다.

[0116] 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 분자는 라벨 (예를 들어, 검출 가능 라벨)에 부착 (예를 들어, 공유 또는 비-공유 부착)될 수 있다. 검출 가능 라벨은 임의의 적절한 라벨일 수 있다. 일부 경우에, 라벨은 본원에 기재된 하나 이상의 변형된 펩티드의 존재 또는 부재를 검출하는 데 도움을 주기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 라벨링된 본원에 기재된 분자는 포유동물로부터 얻어진 샘플 중의 암 세포 (예를 들어, 본원에 기재된 변형된 펩티드를 발현하는 암 세포)를 검출하기 위해 시험관내에서 사용될 수 있다. 일부 경우에, 라벨 (예를 들어, 검출 가능 라벨)은 본원에 기재된 하나 이상의 변형된 펩티드의 위치를 결정하는 데 도움을 주기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 라벨링된 본원에 기재된 분자는 포유동물에서 항-종양 요법을 모니터링하기 위해 및/또는 암 세포 (예를 들어, 본원에 기재된 변형된 펩티드를 발현하는 암 세포)를 검출하기 위해 생체내에서 사용될 수 있다. 본원에 기재된 분자에 부착될 수 있는 라벨의 예는, 제한 없이, 방사성핵종, 자기 공명 이미징 (MRI), 컴퓨터 단층촬영 (CT), 초음파 (US), 및 다른 이미징 기법에 사용되는 조영제, 발색단, 효소, 및 형광 분자 (예를 들어, 녹색 형광 단백질 및 근-IR 형광)를 포함한다.

[0117] 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 분자는 치료적 작용제에 부착 (예를 들어, 공유 또는 비-공유 부착)될 수 있다. 치료적 작용제는 임의의 치료적 작용제일 수 있다. 일부 경우에, 치료적 작용제는 항암 작용제일 수 있다. 본원에 기재된 분자에 부착될 수 있는 치료적 작용제의 예는, 제한 없이, 항암 작용제, 예컨대 모노메틸 아우리스타틴 E (MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 F (MMAF), 메이탄신, 메르탄신/엠탄신 (DM1), 라브탄신/소라브탄신 (DM4), SN-38, 칼리케아미신, D6.5, 이량체 피롤로벤조디아제핀 (PBD),  $\alpha$ -아만틴 (AAMT), PNU-159682, 리신, 슈도모나스 외독소 A, 디프테리아 독소, 및 젤로닌을 포함한다.

[0118] 본 문서는 또한, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 사용하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드를 표적화 (예를 들어, 그에 결합)할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자는 암을 갖거나 암을 갖는 것으로 의심되는 포유동물을 평가 및/또는 암 (예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드를 발현하는 암)을 갖는 포유동물을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인을 포함하는 하나 이상의 분자는 암을 갖거나 암을 갖는

것으로 의심되는 포유동물로부터 얻어진 샘플 중의 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 일부 경우에는, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인을 포함하는 하나 이상의 분자를 암 (예를 들어, 변형된 펩티드를 발현하는 암)을 갖는 포유동물에게 투여하여 포유동물을 치료할 수 있다. 암을 갖는 포유동물 (예를 들어, 인간)에 대한 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인을 포함하는 하나 이상의 분자의 투여는 포유동물을 치료하는 데 유효할 수 있다.

[0119] 임의의 유형의 포유동물이 본원에 기재된 바와 같이 평가되고/거나 치료될 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이 평가되고/거나 치료될 수 있는 포유동물의 예는, 제한 없이, 영장류 (예를 들어, 인간 및 비-인간 영장류, 예컨대 침팬지, 개코원숭이, 또는 원숭이), 개, 고양이, 돼지, 양, 토끼, 마우스, 및 래트를 포함한다. 일부 경우에, 포유동물은 인간일 수 있다.

[0120] 포유동물은 임의의 적절한 암에 대하여 평가되고/거나 치료될 수 있다. 일부 경우에, 암은 본원에 기재된 (예를 들어 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드를 발현할 수 있다. 암은 원발성 암일 수 있다. 암은 전이성 암일 수 있다. 암은 하나 이상의 고형 종양을 포함할 수 있다. 암은 하나 이상의 비-고형 종양을 포함할 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이 평가 (예를 들어, 적어도 부분적으로 본원에 기재된 하나 이상의 변형된 펩티드의 존재에 기초하여, 예를 들어, 이를 포함하거나 이것으로 이루어짐)될 수 있고/거나 본원에 기재된 바와 같이 치료 (예를 들어, 본원에 기재된 변형된 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 투여함으로써, 예를 들어, 이를 포함하거나 이것으로 이루어짐)될 수 있는 암의 예는, 제한 없이, 혈액암 (예를 들어, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 급성 골수성 백혈병 (AML), 급성 림프구성 백혈병 (ALL), 다발성 골수종, MDS, 및 골수증식성 질환), 폐암, 췌장암, 위암, 결장암 (예를 들어, 대장암), 난소암, 자궁내막암, 담도암, 간암, 골 및 연조직암 (예를 들어, 육종), 유방암, 전립선암, 식도암, 위암, 신장암, 두경부암, 뇌암 (예를 들어, 다형성 교모세포종 및 성상세포종), 갑상선암, 생식 세포 종양, 및 흑색종을 포함한다.

[0121] 암을 갖거나 암을 갖는 것으로 의심되는 포유동물 평가시, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자가 본원에 기재된 하나 이상의 변형된 펩티드의 존재 또는 부재에 대한 평가에 사용될 수 있다. 예를 들어, 인간으로부터 얻어진 샘플 중의 본원에 기재된 (예를 들어 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드의 존재, 부재, 또는 수준이 인간이 암을 갖는지 아닌지의 여부를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 일부 경우에, 포유동물로부터 얻어진 샘플 중의 본원에 기재된 (예를 들어 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드의 존재가 암을 갖는 포유동물을 식별하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 포유동물로부터 얻어진 샘플이 본원에 기재된 (예를 들어 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드를 가질 때 포유동물이 암을 갖는 것으로 식별될 수 있다.

[0122] 포유동물로부터 얻어진 임의의 적절한 샘플이 본원에 기재된 (예를 들어 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드의 존재, 부재, 또는 수준에 대해 평가될 수 있다. 예를 들어, 조직 샘플 (예를 들어, 유방 조직, 및 파파니콜로(Papanicolaou) (Pap) 시험으로부터의 것과 같은 자궁경부 조직), 체액 샘플 (예를 들어, 혈액, 혈청, 혈장, 소변, 타액, 가래, 및 뇌척수액), 및 고체 샘플 (예를 들어, 대변) 등의 생물학적 샘플이 포유동물로부터 얻어질 수 있고 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드의 존재, 부재, 또는 수준에 대해 평가될 수 있다. 임의의 적절한 방법이 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드의 존재, 부재, 또는 수준을 검출하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, Sanger 시퀀싱, 화학적 시퀀싱, 나노기공 시퀀싱, 결정에 의한 시퀀싱 (SOLiD 시퀀싱), 질량 분광측정법을 사용한 시퀀싱, 전체 엑솜 시퀀싱, 전체 게놈 시퀀싱, 및/또는 차세대 시퀀싱을 포함하나 이에 제한되지 않는 시퀀싱 기술이 포유동물로부터 얻어진 샘플 중의 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드의 존재, 부재, 또는 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0123] 암을 갖는 포유동물 치료시, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 암을 갖는 포유동물에게 투여하여 포유동물을 치료할 수 있다. 일부 경우에, 포유동물은 본원

에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드를 발현하는 암을 가질 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인을 포함하는 하나 이상의 분자를 그 변형된 펩티드를 발현하는 암을 갖는 포유동물에게 투여하여 포유동물을 치료할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 scFv를 포함하는 하나 이상의 분자 (예를 들어, 하나 이상의 scDb)를 그 변형된 펩티드를 발현하는 암을 갖는 포유동물에게 투여하여 포유동물을 치료할 수 있다.

[0124] 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자는 포유동물 (예를 들어, 암을 갖는 포유동물)에게 며칠 내지 몇 주 범위의 기간에 걸쳐 1회 또는 다수회 투여될 수 있다.

[0125] 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자는 포유동물 (예를 들어, 암을 갖는 포유동물)에 대한 투여를 위한 조성물 (예를 들어, 제약상 허용가능한 조성물)로 제제화될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인은 하나 이상의 제약상 허용가능한 담체 (첨가제), 부형제, 및/또는 희석제와 함께 제제화될 수 있다. 일부 경우에, 제약상 허용가능한 담체, 부형제, 또는 희석제는 자연 발생 제약상 허용가능한 담체, 부형제, 또는 희석제일 수 있다. 일부 경우에, 제약상 허용가능한 담체, 부형제, 또는 희석제는 비-자연 발생 (예를 들어, 인공 또는 합성) 제약상 허용가능한 담체, 부형제, 또는 희석제일 수 있다. 본원에 기재된 조성물에서 사용될 수 있는 제약상 허용가능한 담체, 부형제, 및 희석제의 예는, 제한 없이, 다음을 포함한다: 수크로스, 락토스, 전분 (예를 들어, 전분 글리콜레이트), 셀룰로스, 셀룰로스 유도체 (예를 들어, 변형된 셀룰로스, 예컨대 미세결정질 셀룰로스 및 셀룰로스 에테르, 예컨대 히드록시프로필 셀룰로스 (HPC) 및 셀룰로스 에테르 히드록시프로필 메틸셀룰로스 (HPMC)), 자일리톨, 소르비톨, 만니톨, 젤라틴, 중합체 (예를 들어, 폴리비닐피롤리돈 (PVP), 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 가교 폴리비닐피롤리돈 (크로스포비돈), 카르복시메틸 셀룰로스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 및 가교 나트륨 카르복시메틸 셀룰로스 (크로스카르멜로스 나트륨)), 산화티타늄, 아조 염료, 실리카 겔, 발연 실리카, 활석, 탄산마그네슘, 식물성 스테아린, 스테아르산마그네슘, 스테아르산알루미늄, 스테아르산, 항산화제 (예를 들어, 비타민 A, 비타민 E, 비타민 C, 레티닐팔미테이트, 및 셀레늄), 시트르산, 시트르산나트륨, 벤질 알콜, 리신 히드록클로라이드, 트레할로스 이수화물, 수산화나트륨, 파라벤 (예를 들어, 메틸파라벤 및 프로필 파라벤), 바셀린, 디메틸 술폭시드, 미네랄 오일, 혈청 단백질 (예를 들어, 인간 혈청 알부민), 글리신, 소르브산, 소르브산칼륨, 물, 염 또는 전해질 (예를 들어, 식염수, 황산프로타민, 인산수소이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 및 아연 염), 콜로이드 실리카, 삼규산마그네슘, 폴리아크릴레이트, 왁스, 양모 지방, 레시틴, 및 옥수수 오일. 일부 경우에, 제약상 허용가능한 담체, 부형제, 또는 희석제는 향부착제, 결합제, 착색제, 봉해제, 향미제 (예를 들어, 과일 추출물 등의 천연 향미제 또는 인공 향미제), 활택제, 윤활제, 방부제, 흡착제, 및/또는 감미제일 수 있다.

[0126] 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 함유하는 조성물 (예를 들어, 제약 조성물)은 임의의 적절한 투여 형태로 제제화될 수 있다. 투여 형태의 예는, 제한 없이, 검, 캡슐, 정제 (예를 들어, chewable 정제, 및 장용 코팅 정제), 좌약, 액체, 관장제, 현탁액, 용액 (예를 들어, 멸균 용액), 지속-방출 제제, 지연-방출 제제, 환제, 분말, 및 과립을 포함한 고체 또는 액체 형태를 포함한다.

[0127] 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 함유하는 조성물은 경구, 비경구 (피하, 근육내, 정맥내, 및 피내 포함), 또는 종양내 투여를 위해 설계될 수 있다. 비경구 투여에 적합한 조성물은 항산화제, 완충제, 정균제, 및 제제를 의도된 수용자의 혈액과 등장성으로 만드는 용질을 함유할 수 있는 수성 및 비-수성 멸균 주사 용액을 포함한다. 제제는 단위-용량 또는 다중-용량 용기, 예를 들어 밀봉된 앰플 및 바이알 내에 존재할 수 있고, 사용 직전에, 멸균 액체 담체, 예를 들어 주사를 위한 물의 첨가만을 필요로 하는 냉동 건조된 (동결건조된) 조건에서 저장될 수 있다. 즉석 주사 용액 및 현탁액은 멸균 분말, 과립, 및 정제로부터 제조될 수 있다.

[0128] 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 함유하는 조성물은 임의의 적절한 기술을 사용하여, 또한 임의의 적절한 위치로 투여될 수 있다. 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 포함하는 조성물은 국소 (예를 들어, 종양내) 또는 전신 투여될 수 있다. 예를 들어, 본원에서 제공된 조성물은 종양내 투여 (예를 들어, 종양으로의 주사)에 의해 또는 종양에 의해 침투된 생물학적 공간으로의 투여 (예를 들어, 척수내 투여, 소뇌내 투여, 복강내 투여 및/또는 흉막 투여)에 의해 국소 투여될 수 있다. 예를 들어, 본원에서 제공된 조성물은 포유동물 (예를 들어, 인간)에게 경구 투여에 의해 또는 정맥내 투여 (예를 들어, 주사 또는 주입)에 의해 전신 투여될 수 있다.

[0129] 유효 용량은 암의 위험 및/또는 중증도, 투여 경로, 대상체의 연령 및 일반적인 건강 상태, 부형제 사용, 다른 치료적 치료와의 병용, 예컨대 다른 작용제의 사용 가능성, 및 치료 의사의 판단에 따라 달라질 수 있다. 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 함유하는 유효량의 조성물은 대상체에게 유의미한 독성을 생성하지 않고 대상체 내에 존재하는 암을 치료하는 임의의 양일 수 있다. 특정 대상체가 특정량에 대해 반응하지 못하는 경우, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자의 양이 증가될 수 있다 (예를 들어, 2배, 3배, 4배, 또는 그 초과만큼). 이러한 보다 높은 양의 수용 후, 포유동물은 치료에 대한 반응성 및 독성 증상 둘 다, 및 그에 따라 이루어진 조정에 대해 모니터링될 수 있다. 유효량은 일정하게 유지되거나 치료에 대한 대상체의 반응에 따라 슬라이딩 스케일 또는 가변 용량으로서 조정될 수 있다. 다양한 요인이 특정 응용을 위해 사용되는 실제 유효량에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 투여 빈도, 치료 지속기간, 다중 치료 작용제의 사용, 투여 경로, 및 병태 (예를 들어, 암)의 중증도가 투여되는 실제 유효량의 증가 또는 감소를 필요로 할 수 있다.

[0130] 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자의 투여 빈도는 포유동물에게 유의미한 독성을 생성하지 않고 암을 갖는 포유동물을 유효하게 치료하는 임의의 빈도일 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자의 투여 빈도는 주당 약 2 내지 약 3회 내지 연간 약 2 내지 약 3회일 수 있다. 일부 경우에, 암을 갖는 대상체는 본원에 기재된 하나 이상의 항체의 단일 투여를 수용할 수 있다. 본원에 기재된 (예를 들어 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자의 투여 빈도는 일정하게 유지될 수 있거나 치료 지속기간 동안 가변적일 수 있다. 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 함유하는 조성물로의 치료 과정은 휴지기를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 함유하는 조성물은 2년 기간에 걸쳐 격일로 투여된 후 6개월 휴지기가 이어질 수 있고, 이러한 레지멘은 다수회 반복될 수 있다. 유효량과 마찬가지로, 다양한 요인이 특정 응용을 위해 사용되는 실제 투여 빈도에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 유효량, 치료 지속기간, 다중 치료 작용제의 사용, 투여 경로, 및 병태 (예를 들어, 암)의 중증도가 투여 빈도의 증가 또는 감소를 필요로 할 수 있다.

[0131] 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 함유하는 조성물의 투여를 위한 유효 지속기간은 포유동물에게 유의미한 독성을 생성하지 않고 포유동물 내에 존재하는 암을 유효하게 치료하는 임의의 지속기간일 수 있다. 일부 경우에, 유효 지속기간은 몇 개월에서 몇 년으로 다양할 수 있다. 일반적으로, 암을 갖는 포유동물의 치료를 위한 유효 지속기간은 약 1 또는 2개월 내지 5년 이상의 지속기간 범위일 수 있다. 다양한 요인이 특정 치료를 위해 사용되는 실제 유효 지속기간에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 유효 지속기간은 투여 빈도, 유효량, 다중 치료 작용제의 사용, 투여 경로, 및 치료되는 병태의 중증도에 따라 달라질 수 있다.

- [0132] 특정 경우에, 포유동물 내의 암은 암 치료의 유효성 평가를 위해 모니터링될 수 있다. 암을 갖는 포유동물이 치료되는지 아닌지의 여부를 결정하기 위해 임의의 적절한 방법이 사용될 수 있다. 예를 들어, 포유동물 내에 존재하는 암 세포의 수 및/또는 종양의 크기를 평가하기 위해 이미징 기술 또는 실험실 검정이 사용될 수 있다. 예를 들어, 포유동물 내에 존재하는 암 세포 및/또는 종양의 위치를 평가하기 위해 이미징 기술 또는 실험실 검정이 사용될 수 있다.
- [0133] 일부 경우에, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자는 하나 이상의 추가의 암 치료 (예를 들어, 항암 작용제)와 조합 요법으로서 암을 갖는 포유동물에게 투여될 수 있다. 암 치료는 임의의 적절한 암 치료를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 암 치료는 수술을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 암 치료는 방사선 요법을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 암 치료는 하나 이상의 치료적 작용제 (예를 들어, 하나 이상의 항암 작용제)의 투여를 포함할 수 있다. 항암 작용제의 예는, 제한 없이, 다음을 포함한다: 백금 화합물 (예를 들어, 시스플라틴 또는 카르보플라틴), 타산 (예를 들어, 파클리탁셀, 도세탁셀, 또는 알부민 결합 파클리탁셀, 예컨대 nab-파클리탁셀), 알트레타민, 카페시타빈, 시클로포스파미드, 에토포시드 (vp-16), 켈시타빈, 이포스파미드, 이리노테칸 (cpt-11), 리포솜 독소루비신, 멜팔란, 페메트렉시드, 토폠테칸, 비노렐린, 황체형성-호르몬-방출 호르몬 (LHRH) 작용제 (예를 들어, 고세렐린 및 류프롤리드), 항에스트로겐 (예를 들어, 타목시펜), 아로마타제 억제제 (예를 들어, 레트로졸, 아나스트로졸, 및 엑세메스탄), 혈관신생 억제제 (예를 들어, 베바시주맵), 폴리(ADP)-리보스 폴리머라제 (PARP) 억제제 (예를 들어, 올라파립, 루카파립, 및 니라파립), 방사성 인, 항-CTLA-4 항체, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, IL-2 및 다른 시토키인, 다른 이중특이적 항체, 및 이들의 임의의 조합. 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자가 하나 이상의 추가의 암 치료와 조합되어 사용되는 경우, 하나 이상의 추가의 암 치료는 동시에 또는 독립적으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 포함하는 조성물이 먼저 투여되고, 하나 이상의 추가의 암 치료는 두 번째로 투여될 수 있거나, 또는 그 반대이다.
- [0134] 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 포함하는 키트가 또한 본원에서 제공된다. 예를 들어, 키트는 본원에 기재된 (예를 들어, 서열 번호: 1을 포함하거나 이것으로 이루어진) 변형된 TP53 R175H 돌연변이 펩티드에 결합할 수 있는 하나 이상의 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)을 포함하는 하나 이상의 분자를 함유하는 조성물 (예를 들어, 제약상 허용가능한 조성물)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 키트는 본원에 기재된 방법 중 임의의 것을 수행하기 위한 지침을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 키트는 본원에 기재된 조성물 (예를 들어, 제약 조성물) 중 임의의 것의 적어도 하나의 용량을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 키트는 본원에 기재된 조성물 (예를 들어, 제약 조성물) 중 임의의 것의 투여를 위한 수단 (예를 들어, 시린지)을 제공할 수 있다.
- [0135] 본 발명은 청구범위에 기재된 본 발명의 범위를 제한하지 않는 하기 실시예에서 추가로 기재될 것이다.
- [0136] **실시예**
- [0137] 본 발명은 청구범위에 기재된 본 발명의 범위를 제한하지 않는 하기 실시예에서 추가로 기재된다.
- [0138] **실시예 1: 개선된 결합 특성에 대한 단일 돌연변이 변이체의 스크리닝**
- [0139] 원래의 H2 R175H-표적화 scFv (서열 번호: 4)로부터 각각 단일 아미노산 변화를 갖는 1159개 단일 사슬 가변 단편 (scFv)으로 이루어진 파지 디스플레이 라이브러리를 사용하여 개선된 R175H/HLA-A2 표적화 변이체에 대해 스크리닝을 수행하였다. 6개의 상보성 결정 영역 (CDR)에 걸쳐 총 61개 부위가 단일 돌연변이 라이브러리에 포함되었으며, 각 부위에 모든 20개 아미노산 (야생형 제외)이 나타나 있다 (도 1). R175H/HLA-A2 pMHC에 대한 높은 특이성을 갖는 클론을 식별하기 위해, R175WT pMHC 및 TP53 R175WT HLA-A2-양성 세포주에 대한 음성 선택 후 R175H pMHC에 대한 양성 선택을 갖는 패닝 5 라운드를 완료하였다. 초기 시험은 패닝 5 라운드 후, 파지 풀이 모든 6개 CDR에 걸쳐 존재하는 변이체로 다양하게 유지되었음을 나타내었다 (도 2).
- [0140] HLA-A2에 결합된 H2 Fab의 결정 구조로부터의 데이터를 사용하여, 잠재적 구조적 관련성을 갖는 패닝 클론을 선택하여 보다 엄격한 결합 조건 하에 스크리닝하였다. 암모늄 티오시아네이트 (NH<sub>4</sub>SCN) 및 우레아 세척을 사용하

여 R175H 단량체에 대한 약한 결합을 갖는 scFv를 제거하고 R175WT에 비해 R175H에 대해 특이적인 클론을 식별하였다 (도 3). 패닝 라운드 4 및 5로부터의 풀링된 파지의 추가의 NH<sub>4</sub>SCN-기반 스크리닝은 티오시아네이트 세척으로 풍부화된 여러 변이체를 식별하였다 (도 4).

[0141] **실시예 2: SCN-저항성 변이체는 R175H/HLA-A2 단량체에 대한 강한 상대적 결합을 갖는다**

[0142] 엄격한 세척 조건 하에 R175H 단량체에 대한 강한 결합을 유지한 변이체를 이어서 기능 시험을 위해 단일-사슬 디아바디 (scDb) 이중특이적 항체 형식으로 전환시켰다. 순서대로, 각 scDb는 다음을 포함한다: IL-2 신호 서열 (서열 번호: 6), pHLA-표적화 scFv 경쇄 (서열 번호: 7의 돌연변이), GGGGS (G4S) 링커 (서열 번호: 11), 항-CD3 scFv 중쇄 (서열 번호: 12), 3 x G4S 링커 (서열 번호: 13), 항-CD3 scFv 경쇄 (서열 번호: 14), G4S (서열 번호: 15), pHLA-표적화 scFv 중쇄 (서열 번호: 16의 돌연변이), 및 정제를 위한 5xHis 친화도 태그. scDb는 HEK293FT 세포에서 발현되었고 NiNTA 수지를 사용하여 정제되었다.

[0143] 발현된 scDb가 R175H/A2 단량체에 특이적으로 결합하고 CD3에 결합할 수 있는지 확인하기 위해, scDb를 R175H/A2 단량체, R175WT/A2 단량체 또는 CD3델타/엡실론 이중이량체로 코팅된 플레이트에 적용하였다. CD3 결합 신호에 대해 정규화시, 대부분의 변이체 scDb는 ELISA에 의해 원래의 H2-scDb와 비교하여 R175H/HLA-A2 단량체에 대한 증가된 상대적 결합을 나타내었다 (도 5).

[0144] **실시예 3: 시험관내에서 R175H-HLA-A2에 대한 개선된 민감도 및 활성을 갖는 변이체 식별**

[0145] 가장 강력한 2개의 단일 돌연변이를 조합하는 이중 돌연변이를 포함한 3개의 후보 변이체 (F53S (서열 번호: 21), Y57I (서열 번호: 25), 및 F53S/Y57I (서열 번호: 29))에 대해 시험관내 및 생체내에서 scDb로서 기능 시험을 수행하였다. 변이체 발현 플라스미드를 부위 지향 돌연변이유발에 의해 생성하였고 이를 사용하여 HEK293FT 세포에서 각 scDb를 발현시켰다. 생체내 시험을 위한 scDb를 보다 큰 스케일로 생산하였고 크기 배제 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 변이체 scDb를, 다양한 수준의 R175H 또는 R175WT 9mer 펩티드로 펄스화된 TAP-결핍 T2A3 세포와 공동-배양에서 인간 T 세포를 활성화시키는 그의 능력에 대해 시험하였다. 변이체 Y57I 및 F53S는 원래의 H2 scDb와 비교하여 낮은 펩티드 펄스화 농도 (1nM)에서 개선된 민감도를 나타내었다 (도 6). 모든 H2 변이체는 다양한 농도의 scDb의 존재 하에 KMS26 세포 및 인간 T 세포와 암세포 공동-배양에서 원래의 H2 scDb에 비해 증가된 세포독성, 인터페론 감마 반응 및 보다 낮은 EC<sub>50</sub> 값을 가졌다 (도 7a-7b). KMS26-p53<sup>R175H</sup>에 대한 F53S, Y57I 및 F53S/Y57I의 세포독성 EC<sub>50</sub> 값은, H2 scDb에 대한 3.061 x 10<sup>-11</sup> M과 비교하여 7.864 x 10<sup>-12</sup> M, 4.749 x 10<sup>-12</sup> M 및 4.154 x 10<sup>-12</sup> M이었다. 낮은 scDb 농도 (13.7 pM 및 4.57 pM)에서, Tukey의 다중 비교 시험으로의 일상적인 양방향 ANOVA는 모든 H2 변이체가 H2 scDb와 비교하여 증가된 세포독성을 갖고 (P < 0.0001) Y57I 및 F53S/Y57I가 H2 scDb와 비교하여 증가된 인터페론 감마를 생성하였음 (P < 0.0001)을 나타낸다. H2 변이체는 또한, 내인성 TP53 R175H 돌연변이를 갖는 다양한 HLA-A2-양성 세포주에 대하여 공동-배양에서 개선된 활성을 갖는다 (도 8a-8d). 실로, Y57I 및 F53S/Y57I는 원래의 H2 scDb와 비교하여 10배 더 낮은 이중 특이적 항체 농도에서 KMS26 세포주에 대하여 유사한 또는 더 큰 활성을 나타낸다.

[0146] **실시예 4: 변이체 scDb는 보다 높은 친화도로 R175H/HLA-A2 복합체에 결합한다**

[0147] H2 변이체가 원래의 H2 scDb와 상이한 친화도로 R175H 펩티드-MHC 복합체에 결합하는지의 여부를 결정하기 위해, R175H/A2 단량체에 결합하는 F53S, Y57I 및 F53S/Y57I scDb를 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 측정하였다 (도 9a-9d). 모든 변이체가 원래의 H2 scDb에 비해 더 높은 친화도로 R175H pMHC 복합체에 결합하였다. 변이체에 대한 KD는 원래의 H2 scDb에 대한 29.5 nM과 비교하여 F53S, Y57I 및 F53S/Y57I에 대하여 12.9 nM, 6.8 nM 및 3.3 nM이다. 변이체는 p53 WT/A2 pMHC에 대한 증가된 결합을 갖지 않았다.

[0148] **실시예 5: 변이체 scDb는 생체내에서 원래의 H2 scDb를 능가한다**

[0149] 3개의 H2 변이체 F53S, Y57I 및 F53S/Y57I의 생체내 항-종양 효능을 원래의 H2 scDb와 비교하기 위해, 13-15주령 암컷 NSG 마우스 (NOD scid IL2rg)를 루시퍼라제 발현 1 x 10<sup>6</sup>개 KMS26 세포 (TP53 R175H, HLA-A2) 및 1 x 10<sup>7</sup>개 인간 T 세포로 정맥내 접종하였다. 2일 후, 마우스를 마우스 복막 공간에 수술적으로 배치된 14-일 연속 방출 펌프를 사용하여 0.15 mg/kg/일 scDb로 치료하였다 (도 10a-10g). 그룹 당 N = 6 마우스. 종양 부담을 생물발광 이미징에 의해 모니터링하였다. 총 플럭스 측정을 각 마우스에 대해 흉부 상에서 측정된 주입 대조 형광 염료에 대해 정규화하였다. 도 10h는 F53S, Y57I 및 F53S/Y57I가 치료 제2일에 원래의 H2 scDb와 비교하여 개선

된 종양 제어를 가졌고 Y57I 및 F53S/Y57I가 치료 제5일 및 제8일에 원래의 H2 scDb와 비교하여 개선된 종양 제어를 가졌음을 나타낸다 ( $P < 0.05$ , Geissner-Greenhouse 보정 및 Dunnett의 다중 비교 시험으로의 양방향 반복 측정 ANOVA). 도 10i는 Y57I가 생체내에서 KMS26 종양 성장을 제어하였음을 보여준다. 도 10a-10g로부터의 생물발광 데이터의 다중 Mann-Whitney 시험은 Y57I가 원래의 H2 scDb와 비교하여 제8일에 개선된 종양 제어를 가졌음 ( $P = 0.019$ )을 나타낸다. 치료 후 2주 내에, Y57I-치료된 마우스는 종양 재발을 갖지 않았다.

[0150] 변이체 scDb 및 원래의 H2는 0.15 mg/kg/d 투여 레지멘에서 KMS26에 대해 항-종양 효능을 가졌기 때문에, 변이체 scDb를 보다 빠른 성장 동역학을 갖는 제2 종양 모델 (Nalm6)에 대한 항-종양 효능에 대하여 보다 낮은 50% 용량에서 시험하였다. 루시퍼라제-발현 Nalm6 세포를 동형접합성 p53<sup>R175H</sup> 돌연변이를 갖고 있도록 CRISPR에 의해 유전적으로 변형시켰다. 7-8주령 NSG (NOD *scid IL2rg*) 마우스를  $5 \times 10^5$ 개 Nalm6<sup>R175H</sup> 세포 및  $1 \times 10^7$ 개 인간 T 세포로 정맥내 접종하였다 (도 11a). 2일 후, 마우스를 마우스 복막 공간에 수술적으로 배치된 14-일 연속 방출 펌프를 사용하여 0.075 mg/kg/d scDb로 치료하였다 (도 11b-11g). 종양 부담을 생물발광 이미징에 의해 모니터링하였다. 2개의 독립적 실험 (scDb 당 N = 6)으로부터의 생물발광 데이터를 scDb 당 총 N = 12를 위해 조합하였다. 치료 제7일에, H2 scDb에 대한 Geissner-Greenhouse 보정 및 Dunnett의 다중 비교 시험으로의 양방향 반복 측정 ANOVA는 모든 H2 변이체가 개선된 종양 제어를 가졌고 (H2 vs. F53S  $P = 0.0093$ , Y57I  $P = 0.0126$ , F53S/Y57I  $P = 0.0030$ ) H2가 이소타입 대조군 scDb보다 더 우수하였음 ( $P < 0.0001$ )을 나타내었다. F53S/Y57I는 Dunnett의 다중 비교 시험에 의해 제14일에 H2와 비교하여 더 우수한 종양 제어를 가졌다 (2-방향 RM ANOVA,  $P = 0.0295$ ).

[0151] Y57I가 확립된 종양 모델에서 원래의 H2 scDb보다 성능이 더 좋은지의 여부를 결정하기 위해, Y57I scDb를 KMS26 세포를 사용한 지연 치료 모델에서 시험하였다. 7-9주령 NSG (NOD *scid IL2rg*) 마우스를  $3.5 \times 10^5$ 개 루시퍼라제-발현 KMS26 세포로 정맥내 접종하였다. 7일 후, 마우스를 마우스 복막 공간에 수술적으로 배치된 14-일 연속 방출 펌프를 사용하여 0.075 mg/kg/d scDb 및 정맥내로  $1 \times 10^7$ 개 인간 T 세포로 치료하였다 (도 12a-12e). 종양 부담을 생물발광 이미징에 의해 모니터링하였다. 그룹 당 N = 5. Mann-Whitney 시험은 Y57I 치료된 마우스가 제14일에 치료 종료시 원래의 H2 scDb로 치료된 마우스보다 더 낮은 종양 부담을 가졌음 ( $P = 0.0079$ )을 나타내었다.

[0152] **서열**

서열 번호: 1 P53 R175H 돌연변이 펩티드

HMTEVVRRHC

서열 번호: 2 P53 R175 야생형 펩티드

HMTEVVRRRC

서열 번호: 3 p53

>sp|P04637|P53\_인간 세포 종양 항원 p53 OS=호모 사피엔스 OX=9606 GN=TP53 PE=1 SV=4

MEEPQSDPSVEPPLSQETFSDLWKLLENVLSPLPSQAMDDMLSPDDIEQWFTEDPGPDEAPRMEAAAPPVAP  
 APAAPTAAAPAPAPSWPLSSVPSQKTYQGSYGFRLLGFLHSGTAKSVTCTYSPALNKMFCQLAKTQCPVQLWVDST  
 PPPGTRVRAMAIYKQSQHMTEVVRRCPHHERCSDSDGLAPPQHILIRVEGNLRVEYLDLDRNTFRHSVVVPEPPEV  
 GSDCTTIHNYMCNSSCMGMNRRPILTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRVCAACPGRRDRTEENLRKKGEPHHELP  
 PGSTKRALPNNTSSSPQPKKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDQAQAKKEPFGGSRAHSSHLKSKKGQ  
 STSRHKKLMFKTEGPDSD

서열 번호: 4 H2 scFv

DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYFLYSGVPSRFRSGSRSGTDFTLTI  
 SSLQPEDFATYCCQQYSRYSPTVFGQGTKVEIKRTGGGSGGGGGGASEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLAAAG  
 FNVYASGMHWVRQAPGKGLEWAKIYPDSYTYAYDSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSLRAEDTAVYYCSRDS  
 FYYVYAMDYWGQGTLLTVSS

[0153]

서열 번호: 5 H2 scDb

MYRMQLLSCIALSLALVTNSDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYFLY  
SGVPSRFRSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSRYSPTVFGQGTKVEIKGGGGSEVQLQQSGPELVKPGAS  
MKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLEWMGLINPYKGVSTYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSA  
VYYCARSYYGDSWDYFDVWAGTTTVTVSSGGGGGGGGGGGGSDIQMTQTTSSLSASLGDVRTISCRASQDIR  
NYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSKFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFAGGKLE  
IKEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIVYASGMHWVRQAPGKGLEWVAKIYPDSYTYADSVKGRFTISAD  
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRDSFFYYVYAMDYWGQGLVTVSSHHHHHH

서열 번호: 6 H2 IL-2 신호 서열

MYRMQLLSCIALSLALVTNS

서열 번호: 7 H2 R175H 펩티드-표적화 scFv 경쇄

DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYFLYSGVPSRFRSGSRSGTDFTLTI  
SSLQPEDFATYYCQQYSRYSPTVFGQGTKVEIK

서열 번호: 8 H2 R175H 펩티드-표적화 scFv 경쇄 CDR1

RASQDVNTAVA

[0154]

서열 번호: 9 H2 R175H 펩티드-표적화 scFv 경쇄 CDR2

SAYFLYS

서열 번호: 10 H2 R175H 펩티드-표적화 scFv 경쇄 CDR3

QQYSRYSFV

서열 번호: 11 링커

GGGGS

서열 번호: 12 H2 CD3-표적화 중쇄

EVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLEWMGLINPYKGVSTY  
NQKFKDKATLTVDRSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARSYYGDSWDYFDVWAGTTTVTV  
SS

서열 번호: 13 링커

GGGSGGGSGGGSGGGGS

서열 번호: 14 H2 CD3-표적화 경쇄

DIQMTQTTSSLSASLGDVRTISCRASQDIRNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPS  
KFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFAGGKLEIK

서열 번호: 15 링커

GGGGS

[0155]

서열 번호: 16 H2 R175H 펩티드-표적화 scFv 중쇄

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIVYASGMHWVRQAPGKGLEWVAKIYPDSYTY  
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRDSFFYYVYAMDYWGQGLVTVS  
S

서열 번호: 17 H2 R175H 펩티드-표적화 scFv 중쇄 CDRH1

FNIVYASGMH

서열 번호: 18 H2 R175H 펩티드-표적화 scFv 중쇄 CDRH2

VAKIYPDSYTY

서열 번호: 19 H2 R175H 펩티드-표적화 scFv 중쇄 CDRH3

SRDSSFYVYAM

서열 번호: 20 F53S scFv

DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYSLYSGVPSRFRSGSRSGTDFTLTI  
SSLQPEDFATYYCQQYSRYSPTVFGQGTKVEIKRTGGGSGGGGGGGGASEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS  
CAASGFNIVYASGMHWVRQAPGKGLEWVAKIYPDSYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRDS  
FFYYVYAMDYWGQGLVTVSS

[0156]

서열 번호: 21 F53S R175H 펩티드-표적화 scDb(신호 서열 또는 His 태그 없음)

MYRMQLLSICIALSLALVTNSDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYSLSYSGVPSRFRSGRSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYSRYSFVTFGQGTKEIKGGGSEVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSTGYTMNWKQSHGKNLEWMGLINPYKGVSTYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARSGYYGSDWYFDVWGAGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDIRNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSKFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFAGGTKLEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNVYASGMHWVRQAPGKGLEWVAKIYPDSITYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRDSFFYYVYAMDYWGQGTLVTVSS

서열 번호: 22 F53S R175H 펩티드-표적화 scFv 경쇄

DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYSLSYSGVPSRFRSGRSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYSRYSFVTFGQGTKEIK

서열 번호: 23 F53S R175H 펩티드-표적화 scFv 경쇄 CDR2

SAYSLSY

서열 번호: 24 Y57I scFv

DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYFLYSGVPSRFRSGRSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYSRYSFVTFGQGTKEIKRTGGGGGGGGGGGGGGASEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNVYASGMHWVRQAPGKGLEWVAKIYPDSITYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRDSFFYYVYAMDYWGQGTLVTVSS

서열 번호: 25 Y57I R175H 펩티드-표적화 scDb(신호 서열 또는 His 태그 없음)

MYRMQLLSICIALSLALVTNSDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYFLYSGVPSRFRSGRSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYSRYSFVTFGQGTKEIKGGGSEVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSTGYTMNWKQSHGKNLEWMGLINPYKGVSTYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARSGYYGSDWYFDVWGAGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDIRNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSKFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFAGGTKLEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNVYASGMHWVRQAPGKGLEWVAKIYPDSITYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRDSFFYYVYAMDYWGQGTLVTVSS

서열 번호: 26 Y57I R175H 펩티드-표적화 scFv 중쇄

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNVYASGMHWVRQAPGKGLEWVAKIYPDSITYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRDSFFYYVYAMDYWGQGTLVTVSS

서열 번호: 27 Y57I R175H 펩티드-표적화 scFv 중쇄 CDR2

VAKIYPDSITYY

서열 번호: 28 F53S/Y57I scFv

DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYSLSYSGVPSRFRSGRSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYSRYSFVTFGQGTKEIKRTGGGGGGGGGGGGGGASEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNVYASGMHWVRQAPGKGLEWVAKIYPDSITYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRDSFFYYVYAMDYWGQGTLVTVSS

서열 번호: 29 F53S/Y57I R175H 펩티드-표적화 scDb(신호 서열 또는 His 태그 없음)

MYRMQLLSICIALSLALVTNSDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYSLSYSGVPSRFRSGRSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYSRYSFVTFGQGTKEIKGGGSEVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSTGYTMNWKQSHGKNLEWMGLINPYKGVSTYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARSGYYGSDWYFDVWGAGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDIRNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSKFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFAGGTKLEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNVYASGMHWVRQAPGKGLEWVAKIYPDSITYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRDSFFYYVYAMDYWGQGTLVTVSS

[0157]

[0158]

[0159]

[0160]

표 1. R175H 펩티드-표적화 scFv

scFv 명칭	가변 경쇄 (AA)	서열 번호:	가변 증쇄 (AA)	서열 번호:
H2	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYFLYSGVPSRFRSGRSRGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSRYSFVTFGGQGTKVEIK	서열 번호: 30	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIVYASGMHWVRQAPGKGLWEVAKIYPDSYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRDSSTFYVYAMDYWGQGTLVTVSS	서열 번호: 31
F53S	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYSLYSGVPSRFRSGRSRGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSRYSFVTFGGQGTKVEIK	서열 번호: 32	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIVYASGMHWVRQAPGKGLWEVAKIYPDSYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRDSSTFYVYAMDYWGQGTLVTVSS	서열 번호: 33
Y57I	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYFLYSGVPSRFRSGRSRGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSRYSFVTFGGQGTKVEIK	서열 번호: 34	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIVYASGMHWVRQAPGKGLWEVAKIYPDSITYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRDSSTFYVYAMDYWGQGTLVTVSS	서열 번호: 35
F35S/Y57I	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAYSLYSGVPSRFRSGRSRGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSRYSFVTFGGQGTKVEIK	서열 번호: 36	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIVYASGMHWVRQAPGKGLWEVAKIYPDSITYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRDSSTFYVYAMDYWGQGTLVTVSS	서열 번호: 37

[0161]

[0162]

표 2. 항-인간 CD3 scFv 서열

클론 명칭 및 서열 번호:	클론 scFv 서열
서열 번호: 38 인간화된 UCHT1 (hUCHT1v9)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSLRLESGVPSRFRSGSGSDTYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGGQTKVEIKGGGGGGGGGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPARGYTNADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSLRSEDATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
서열 번호: 39 뮤린 UCHT1 (mUCHT1)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSLRHSVPSKFRSGSGSDTYSLTIINLEAEDAATYYCQWSSNPLTFGGGKLEIKGGGGGGGGGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPARGYTNADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSLRSEDATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
서열 번호: 40 dIL2K	DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFRSGSGSDTYSLTIINLEAEDAATYYCQWSSNPLTFGGGKLEIKGGGGGGGGGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPARGYTNADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSLRSEDATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
서열 번호: 41 hXR32	QAVVTQEPFSLTVSPGGTIVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGINKRAPWTPARFRSGSLGGKAALITGAQAEDAATYYCALWYINLWVFGGKLEIKGGGGGGGGGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLWEVVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNSLYLQMNLSLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGTTLVTVSS
서열 번호: 42 L2K-07/TR66	DIQLTQSPFAIMASAPGKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPIYRFRSGSGSDTYSLTISSMEAEDAATYYCQWSSNPLTFGAGTKLEIKGGGGGGGGGGGGSDIKLQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPARGYTNADSVKGRFTITTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
서열 번호: 43 OKT3	QIVLTQSPFAIMASAPGKVTMTCSRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPAHFRSGSGSDTYSLTISGMEAEDAATYYCQWSSNPLTFGSGTKLEINGGGGGGGGGGGGGSDIKLQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPARGYTNADSVKGRFTITTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
서열 번호: 44 PSMA-CD3	QTVVVTQEPFSLTVSPGGTIVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTTPARFRSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAATYYCALWYINLWVFGGKLEIKGGGGGGGGGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLWEVVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNSLYLQMNLSLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYISYWAYWGQGTTLVTVSS

[0163]

서열 번호: 45 28F11	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGI PARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPPLTFGGGTKVEIKGGGSGGG GSGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFKFSGYGMHWVRQAPGKGLEWVAVI WYDGSKKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQMGYWHFDLWG RGTLLVTVSS
서열 번호: 46 27H5-VL1	EIVLTQSPRTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLDPEDFAVYYCQYQYGSPIITFGQGRLEIKGGGSGGG GSGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFRSYGMHWVRQAPGKGLEWVAII WYDGSKKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGTGYNWFDPWG QGTLVTVSS
서열 번호: 47 27H5-VL2	DILMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYASSLQSGV PSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQYYSTLTFGGGTKVEIKGGGSGGGGS GGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFRSYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIWY DGSKKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGTGYNWFDPWGQ TLVTVSS
서열 번호: 48 23F10	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGI PARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPPLTFGGGTKVEIKGGGSGGG GSGGGGSQVQLVQSGGGVVSQGRSLRLSCAASGFKFSGYGMHWVRQAPGKGLEWVAVI WYDGSKKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRGEDTAVYYCARQMGYWHFDLWG RGTLLVTVSS
서열 번호: 49 15C3-VL1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGI PARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPWTFGGGTKVEIKGGGSGGG SGGGGSQVQLVQSGGGVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIW YNGRKQDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGTGYNWFDPWGQ GTLVTVSS
서열 번호: 50 15C3-VL2	AIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLES PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSTYPIITFGQGRLEIKGGGSGGG SGGGGSQVQLVQSGGGVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIW YNGRKQDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGTGYNWFDPWGQ GTLVTVSS
서열 번호: 51 hu12F6	QIVLSQSPAILLSASVGEKVTMTCRASSSVSYMHYQQKPGSSPKPIYATSNLASGVP ARFSGSGSGTSTYSLTISRVEAEDAATYYCQWSSNPPTFGGGTKLETKRGGGSGGG SGGGGSQVQLQSGAELARPGASVKMSCKASGYFTFTSYTMHWVKRPPGQGLEWIGYIN PSSGYTKYNQKFKDKATLTADKSSSTAYMQLSLSLTSEDSAVYYCARWQDYDVFYDWG QGTLTVTVSS

[0164]

[0165] 표 3. 항-인간 CD3 scFv 서열. 선택 항-CD3 클론의 친화도를 문헌으로부터 수집하였다.

scFv 명칭	항원	친화도 (nM)	가변 경쇄 (AA)	서열 번호	가변 중쇄 (AA)	서열 번호
UCHT1 "U"	인간 CD3	1.4 - 2.2	DIQMTQTSSLSASLGDRVTI SCRASQDIRNYLNWYQQKPDG TVKLLIYYTSRLHSGVPSKFS GSGSGTDYSLTIISNLEQEDIA TYFCQQGNTLPWTFAGGKLE IK	서열 번호: 52	EVQLQQSGPELVKPGASKMISC KASGYSTFGYTMNWVKQSHGKN LEWMGLINPYKGVSTYNQKFKD KATLTVDKSSSTAYMELLSLTS EDSAVYYCARSGYVGDSDWYFD VWGAGTIVTVSS	서열 번호 : 53
UCHT1.v 9 "U2"	인간 CD3	2.5 - 4.7	DIQMTQSPSSLSASVGDRTI TCRASQDIRNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLHSGVPSRFS GSGSGTDYSLTIISLQPEDFA TYCQQGNTLPWTFGQGTKE IK	서열 번호: 54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGYSFTGYIMNWVRQAPGKG LEWVALINPYKGVSTYNQKFKD RFTISVDKSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARSGYVGDSDWYFD VWGQGTLLTVSS	서열 번호 : 55
diL2K	인간 CD3	87	DIVLTQSPATLSLSPGERATL SCRASQSVSYMNYQQKPGKA PKRWIYDTSKVASGVPARFSG SGSGTDYSLTIINSLEAEDAAT YYCQQWSSNPLTFGGGKVEI K	서열 번호: 56	DVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTRYTMHWVRQAPGKG LEWIGYINPSRGYINYNADSVK RFTITTDKSTSTAYMELSSLSR EDTATYYCARYYDDHYCLDYWG QGTTITVTVSS	서열 번호 : 57
hXR32	인간 CD3	3.6 - 6.1	QAVVTQEPFLTVSPGGTIVLT CRSSTGAVITSNYANWVQKPK GQAPRGLIGGTNKRAFWT PAR FSGSLLGGKAALITGAQAED EADYYCALWYSNLWVFGGK LTVL	서열 번호: 58	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFNTYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYADSV KDRFTISRDDSKNSLYLQMNSL KTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVS WFAYWQGTLLTVSS	서열 번호 : 59
L2K	인간 CD3	-	DIQLTQSPAIMSASPGEKVTM TCRASSSVSYMNYQQKSGTS PKRWIYDTSKVASGVPARFSG SGSGTYSYSLTISSMEAEDAAT YYCQQWSSNPLTFGAGTKLEL K	서열 번호: 60	DIKLQSGGAELARPGASVKMSC KTSGYTFTRYTMHWVRQAPGKG LEWIGYINPSRGYINYNQKFKD KATLITDKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCARYYDDHYCLDYWG QGTTITVTVSS	서열 번호 : 61
OKT3	인간 CD3	1.2 - 1.5	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTM TCRASSSVSYMNYQQKSGTS PKRWIYDTSKVASGVPARFSG SGSGTYSYSLTISSMEAEDAAT YYCQQWSSNPLTFGSGTKLEI N	서열 번호: 62	QVQLQQSGAELARPGASVKMSC KASGYTFTRYTMHWVRQAPGKG LEWIGYINPSRGYINYNQKFKD KATLITDKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCARYYDDHYCLDYWG QGTTITVTVSS	서열 번호 : 63
28F11	인간 CD3	-	EIVLTQSPATLSLSPGERATL SCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASNRAATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQRSNWPPLTFGGGKVEI EIK	서열 번호: 64	QVQLVESGGGVVQPGSRSLRLSC AASGFKFSGYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWYDGSKKYYVDSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARQMGYWHFDLWGR GTLVTVSS	서열 번호 : 65

[0166]

27H5- VL1	인간 CD3	-	EIVLTQSPRTLSPGERATL SCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRF SGSGSDFTLTIISRLDPEDF AVYYCQQYGSPPITFGQGTRE EIK	서열 번호: 66	QVQLVESGGGVVQPGSRSLRLSC AASGFTFRSYGMHWVRQAPGKG LEWVAIIWYDGSKKNYADSVK RFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGTGYNWFDWPGQ GTLVTVSS	서열 번호 : 67
23F10	인간 CD3	-	EIVLTQSPATLSLSPGERATL SCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASNRAATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQRSNWPPLTFGGGKVEI EIK	서열 번호: 68	QVQLVQSGGGVVQSGSRSLRLSC AASGFKFSGYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWYDGSKKYYVDSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRG EDTAVYYCARQMGYWHFDLWGR GTLVTVSS	서열 번호 : 69
15C3- VL1	인간 CD3	-	EIVLTQSPATLSLSPGERATL SCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASNRAATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQRSNWPWTFGQGTKE IK	서열 번호: 70	QVQLVQSGGGVVQPGSRSLRLSC VASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAIIWYNGRQDYADSVK RFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCTRGTGYNWFDWPGQ GTLVTVSS	서열 번호 : 71
15C3- VL2	인간 CD3	-	AIQLTQSPSSLSASVGDRTI TCRASQGISALAWYQQKPGK APKLLIYDASSLESVPSRFS GSGSGTDFTLTIISLQPEDFA TYCQQQFNSYPITFGQGTRE IK	서열 번호: 72	QVQLVQSGGGVVQPGSRSLRLSC VASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAIIWYNGRQDYADSVK RFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCTRGTGYNWFDWPGQ GTLVTVSS	서열 번호 : 73
hu12F6	인간 CD3	-	QIVLSQSPAILSASPGEKVTM TCRASSSVSYMHWYQQKPGSS PKRWIYATSNLASGVPARFSG SGSGTYSYSLTISRVEAEDAAT YYCQQWSSNPLTFGGGKLET KR	서열 번호: 74	QVQLQQSGAELARPGASVKMSC KASGYTFTRYTMHWVRQAPGKG LEWIGYINPSRGYINYNQKFKD KATLITADKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCARWQDYDYVFDYWG QGTTITVTVSS	서열 번호 : 75

[0167]

[0168] 표 4. 항-인간 CD16a scFv 서열

클론 명칭 및 서열 번호:	클론 scFv 서열
서열 번호: 76 3G8	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDFDGDSEFMNWFYQQKPGQPPKLLIYTTSNLESG IPARFASAGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQQSNEDPYTFGGGTKLEIKGGGSGGGGSG GGGSQVTLKESGPGILQPSQTLTLTCSFSGFSLRTSGMGVWIRQPSGKLEWLAHIWWDD DKRYNPALKSRLTISKDTSSNQVFLKIASVDTADTATYYCAQINPAWFAYWGQGLVTVSA
서열 번호: 77 인간화된 3G8 클론 Mu 3	DIVLTQSPDLSLAVSLGERATINCKASQSVDFDGDSEFMNWFYQQKPGQPPKLLIYTTSNLESG VPDRFSGSGGTDFTLIRPLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGGGTKLEIKGGGSGGGGSG GGGSQVTLKESGPAVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGMGVWIRQPPGKALEWLAHIWWDD DKRYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLTMTNMDPVDTATYYCAQINPAWFAYWGQGLVTVSS
서열 번호: 78 muA9	DIELTQESALTTSPGETVTLTCSRNTGTVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGHTNNRAPGVP ARFSGSLIGDKAALTIITGAQTEDEAIYFCALWYNNHWVFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGG GSEVQLQESGAEELVPRGTSVKISCKASGYTFITNYLWGWKQRPGHGLEWIGDIYPGGGYTN YNEKFKGKATVTADTSSRTAYVQVRSLTSEDSAVYFCARSASWYFDVWGQGTITVTVSS
서열 번호: 79 huA9	DIELTQSPSSLSASVGDVVTITCSRNTGTVTTSNYASWYQQKPGKAPGGLIGHTNNRAPGV PSRFSGSLSGADATLTISLKPEDLATYYCALWYNNHWVFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGG GSEVQLQESGGGLVQPGDSLRLSCAASGFTFSNYLWGWIRQAPGKPEWVGDIIYPGGGYTN YNEKFKGRFTISADTSKNIAYLQVNSLRAEDTAVYYCARSASWYFDVWGQGLVTVSS
서열 번호: 80 LSIV21	SYVLTQPSSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERF SGNSGNTATLTISGTQAMDEADYCYQVWDNYSVLFGGGKLTVLGGGSGGGGSGGGGSGQ VQLVQSGAEVKKPGESLKVSKASGYTFITSYMHVWRQAPGQGLEWMIINPSGGSTSYAQ KFGQGRVTMTTRDTSTVYMELSLRSLEDTAVYYCARGSAYYDFADYWGQGLVTVSS

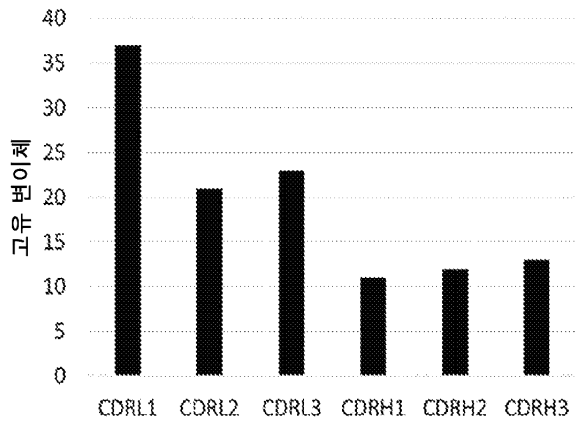
[0169]

[0170] 다른 구현예

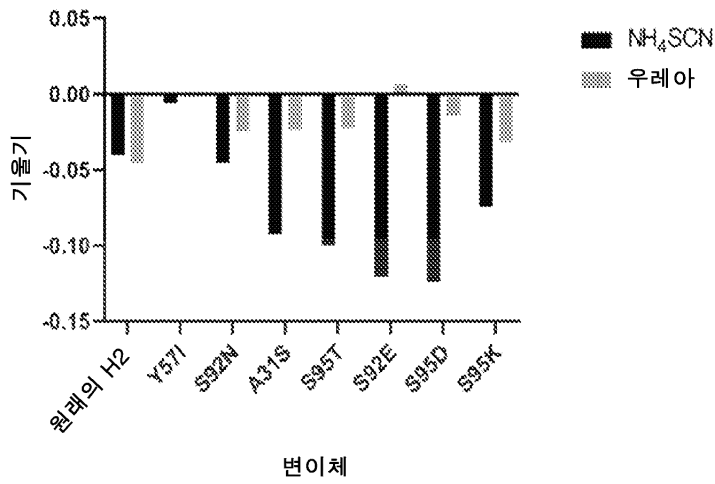
[0171] 본 발명이 그의 상세한 설명과 함께 기재되었지만, 상기 설명은 첨부된 청구범위의 범위에 의해 정의되는 본 발명의 범위를 제한하는 것이 아니라 예시하도록 의도됨이 이해되어야 한다. 다른 측면, 이점, 및 변형은 하기 청구범위의 범위 내에 있다.



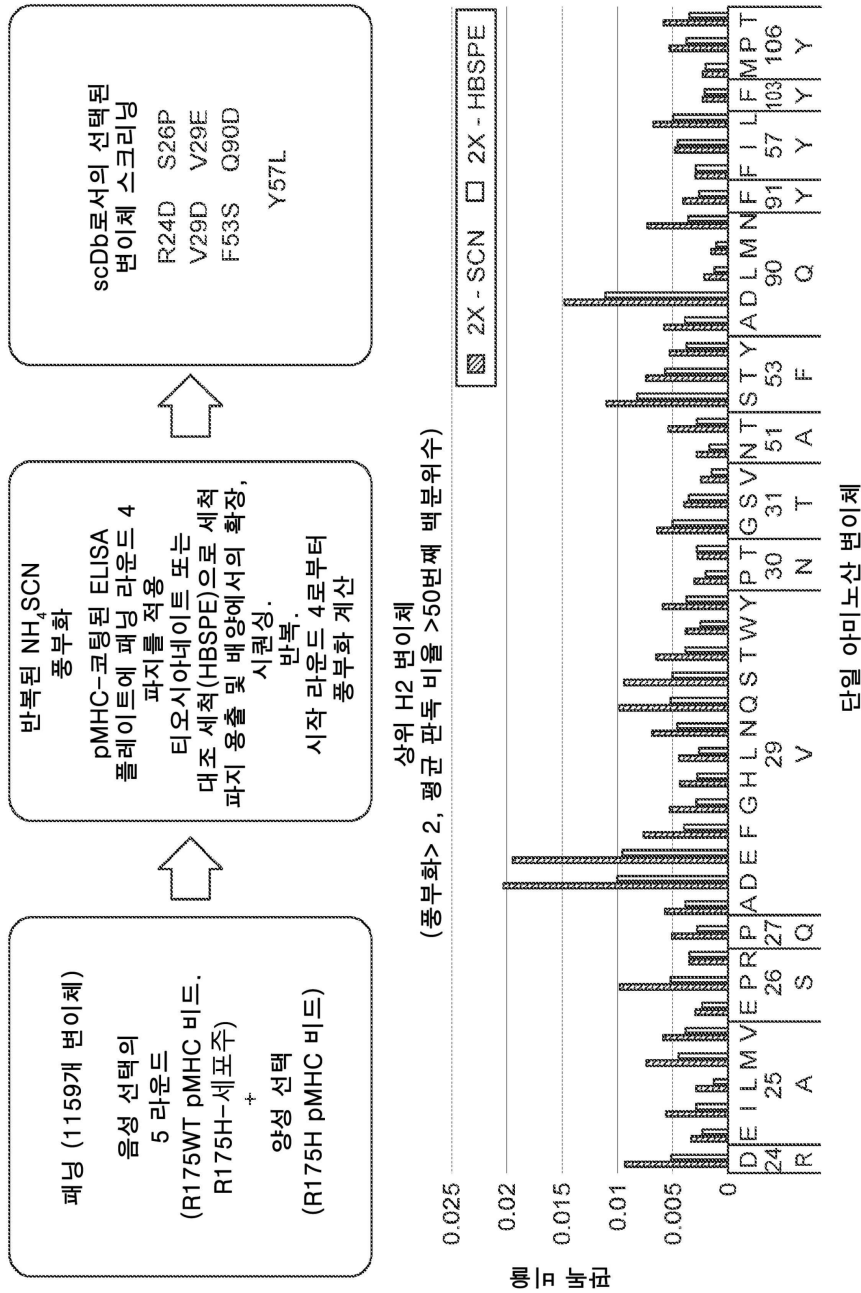
도면2



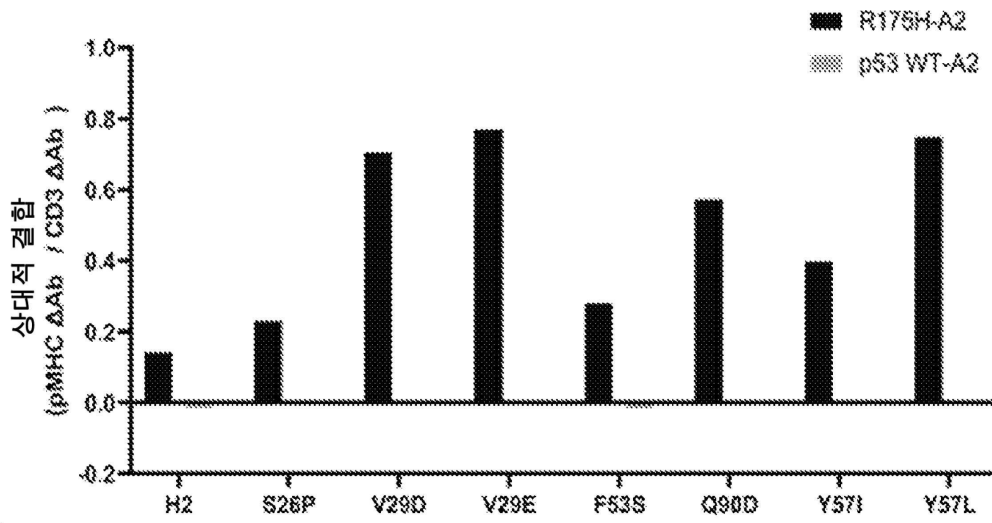
도면3



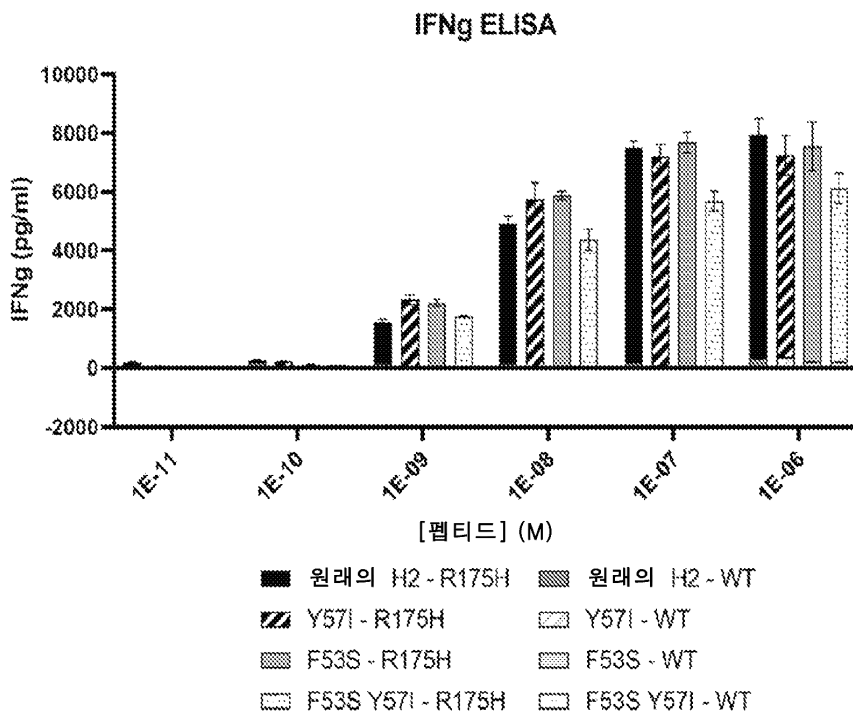
도면4



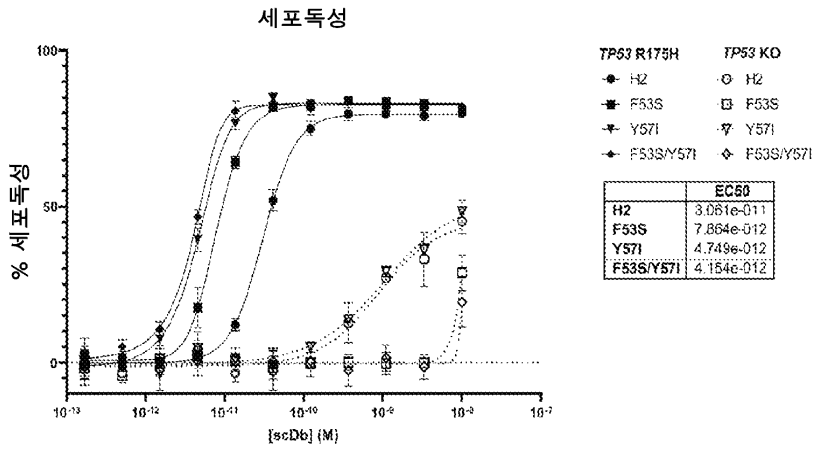
도면5



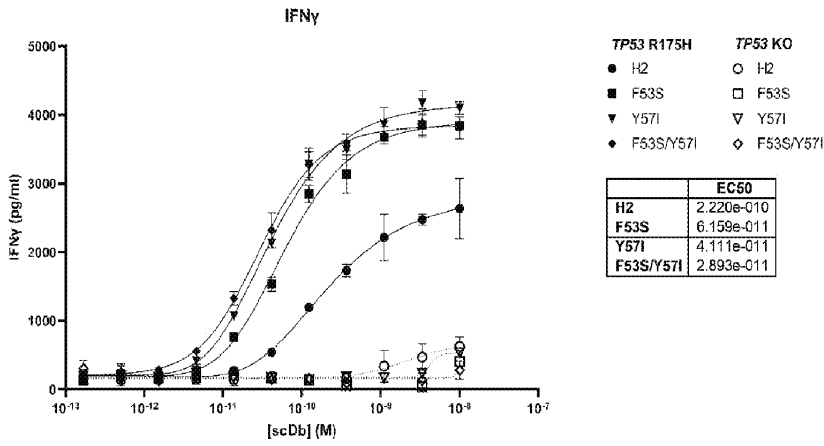
도면6



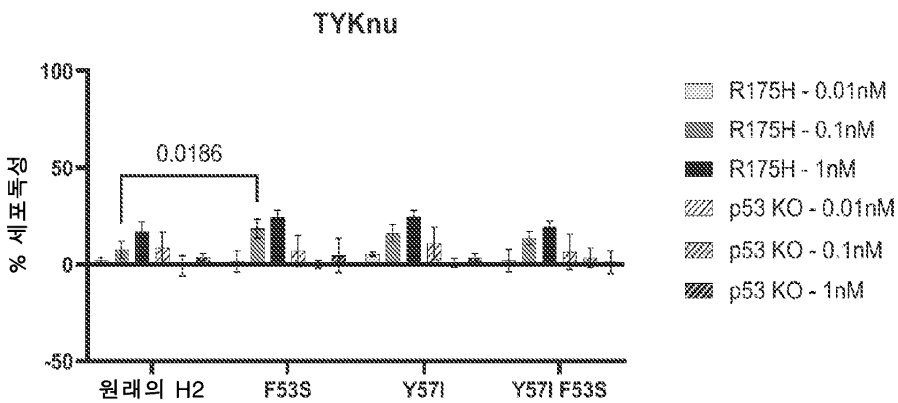
도면7a



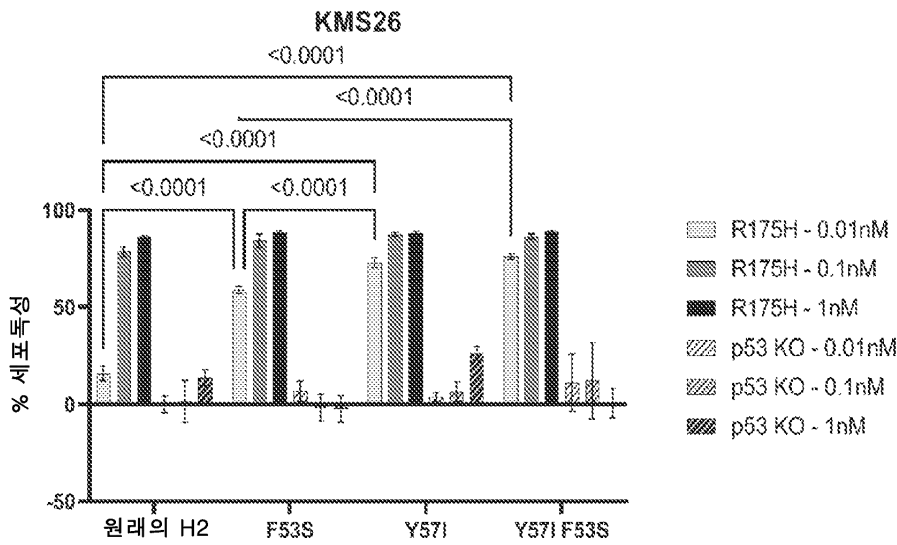
도면7b



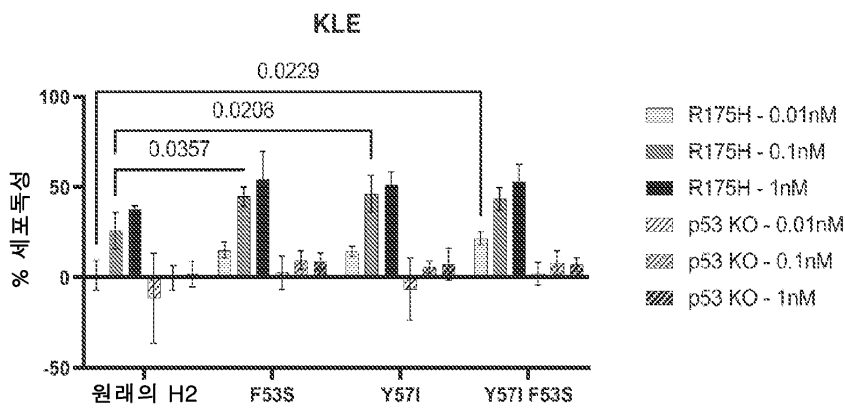
도면8a



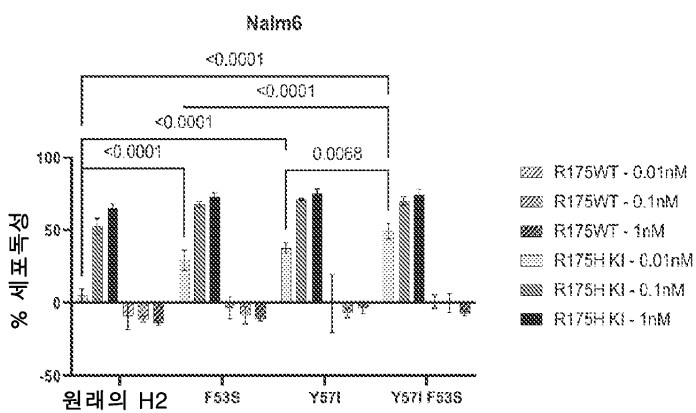
도면8b



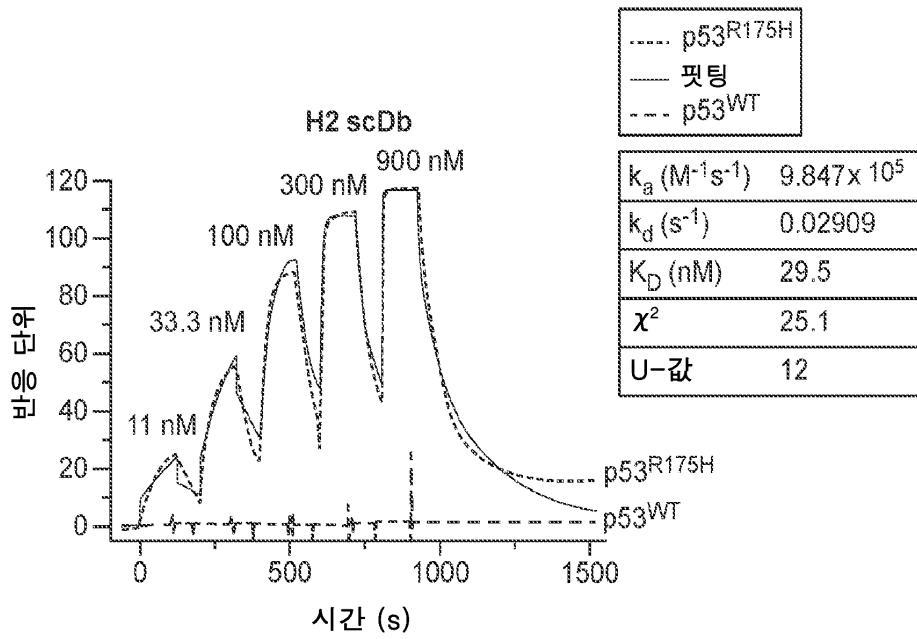
도면8c



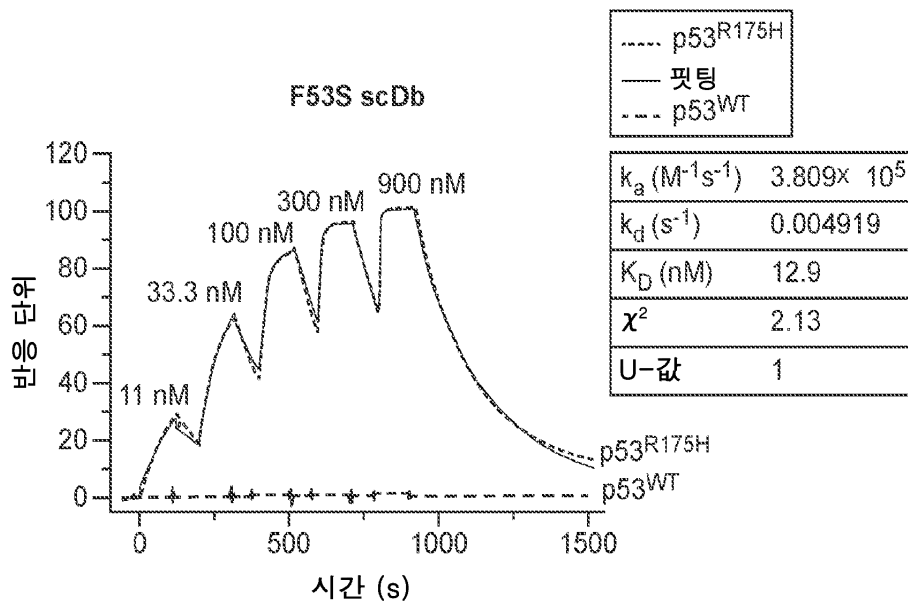
도면8d



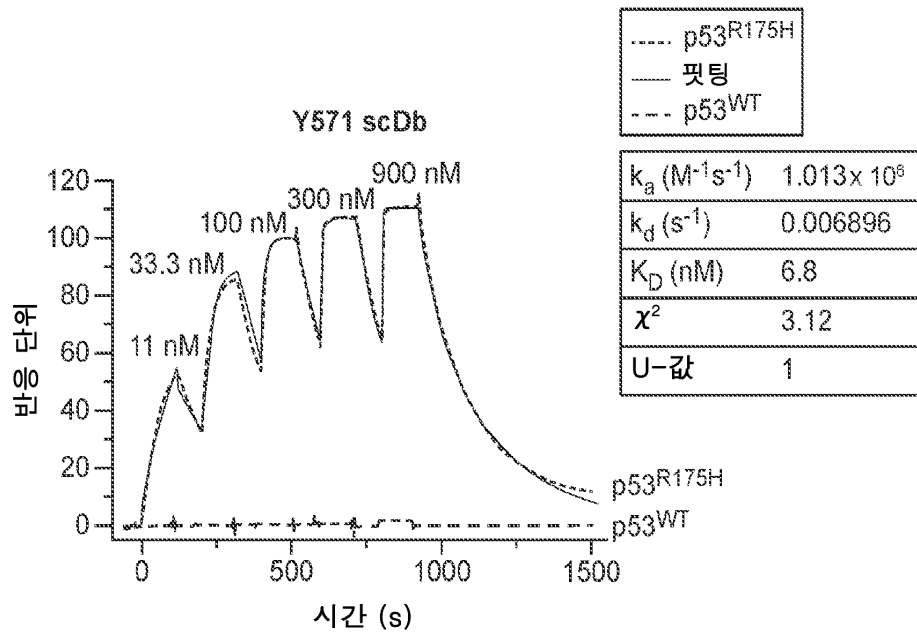
도면9a



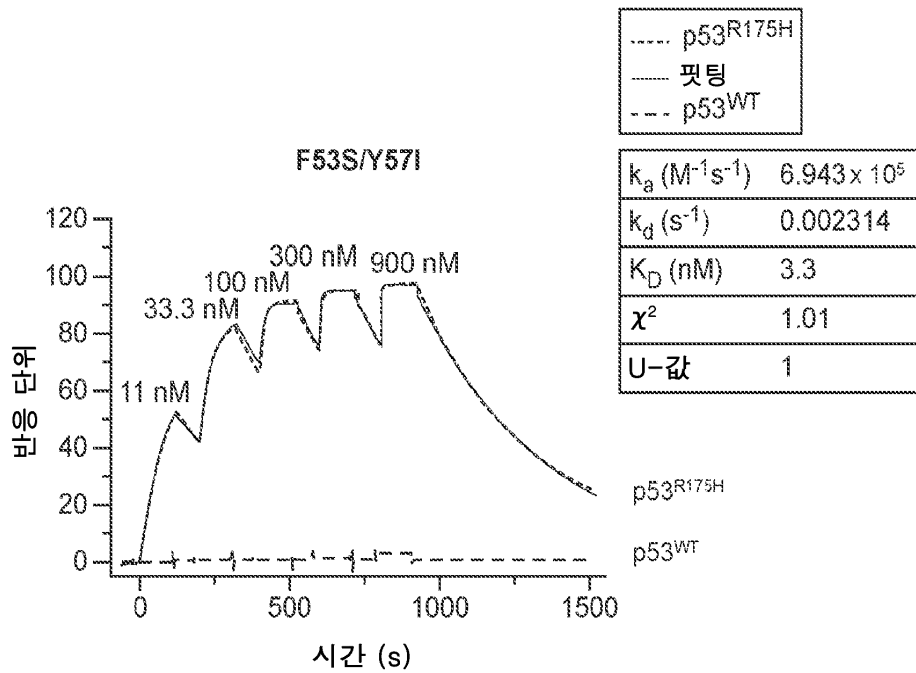
도면9b



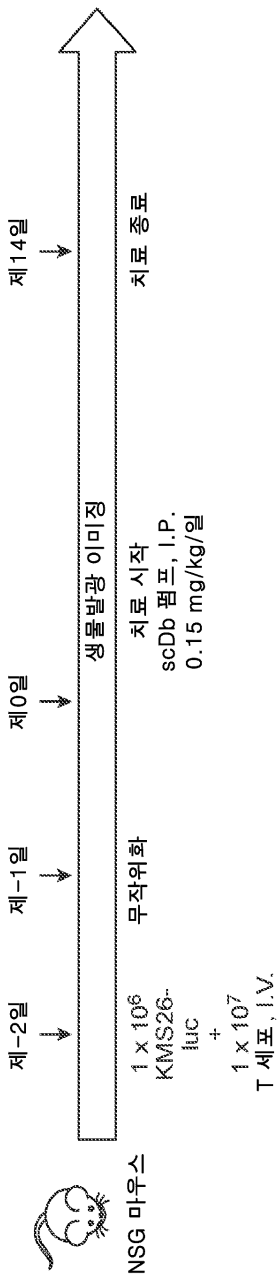
도면9c



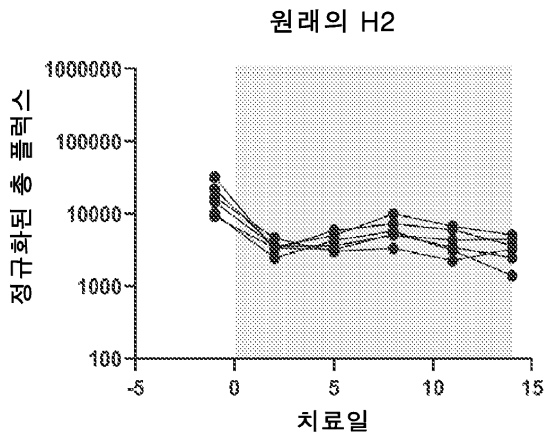
도면9d



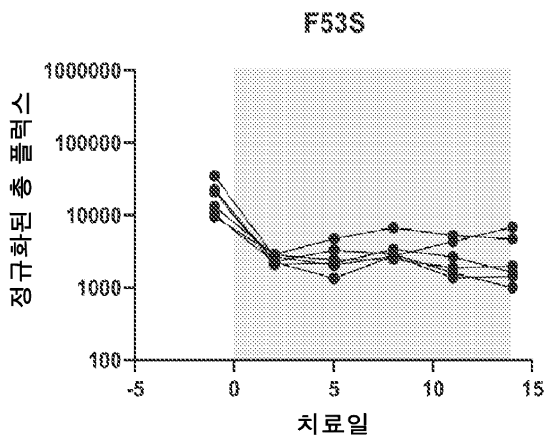
도면10a



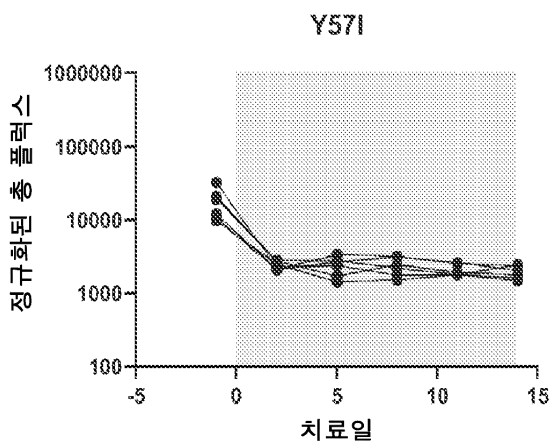
도면10b



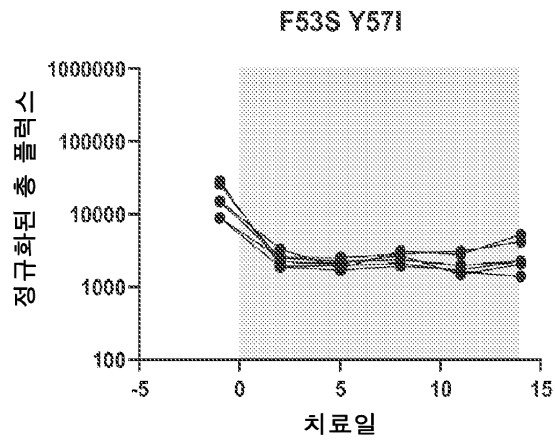
도면10c



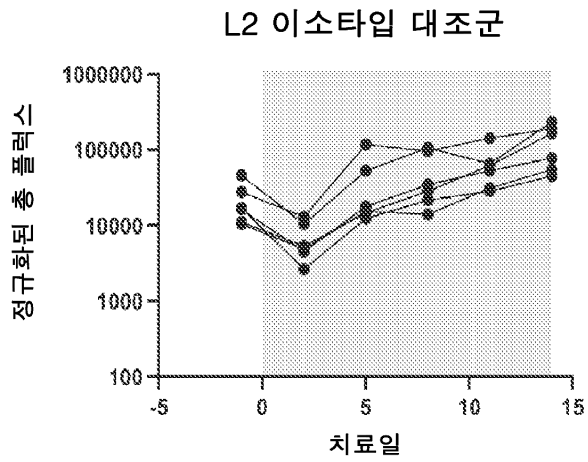
도면10d



도면10e

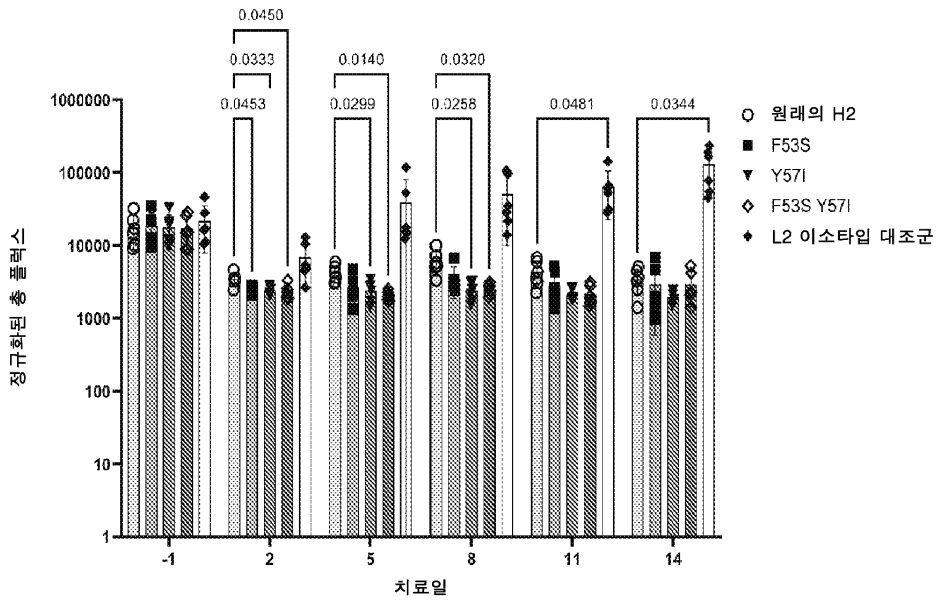


도면10f

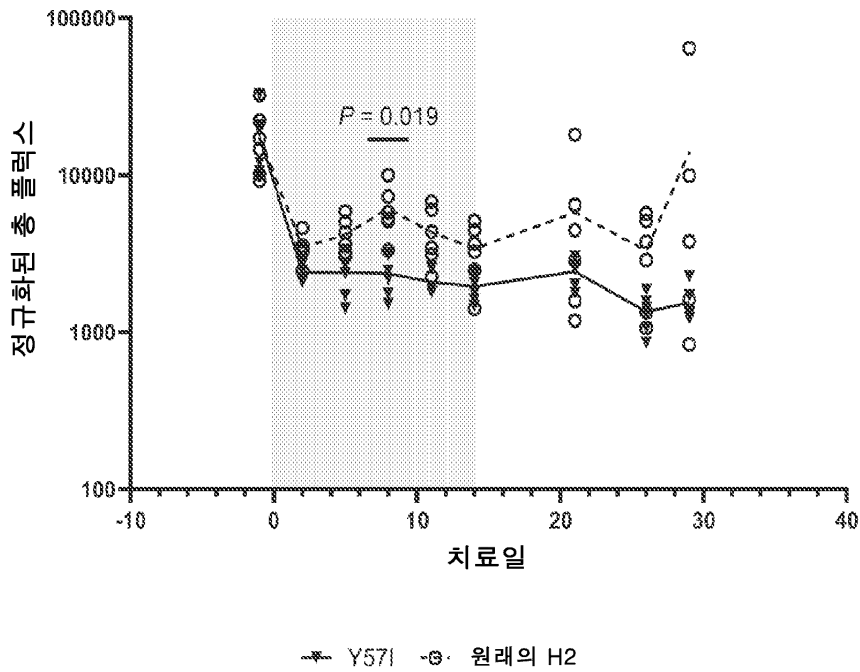




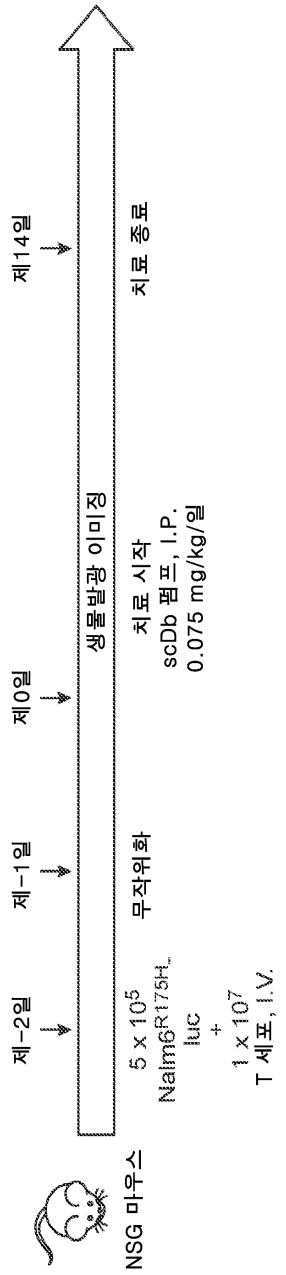
도면10h



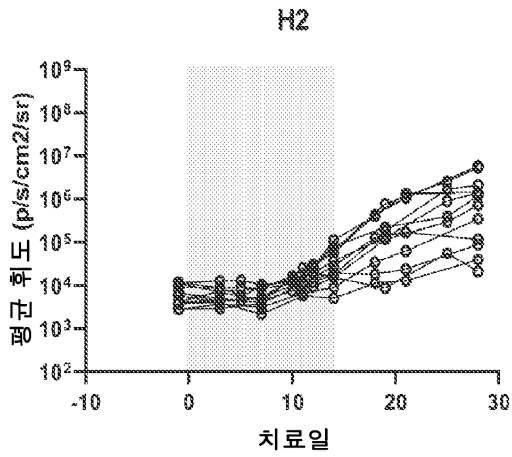
도면10i



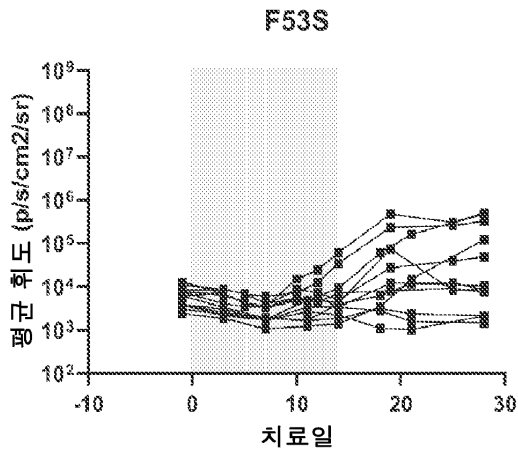
도면11a



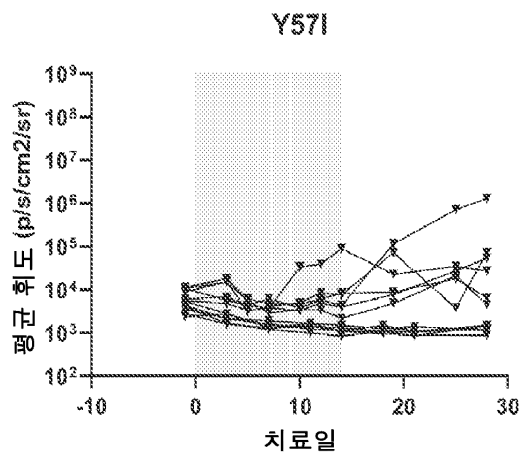
도면11b



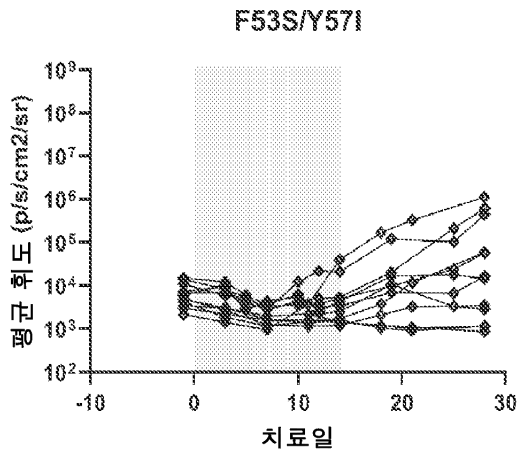
도면11c



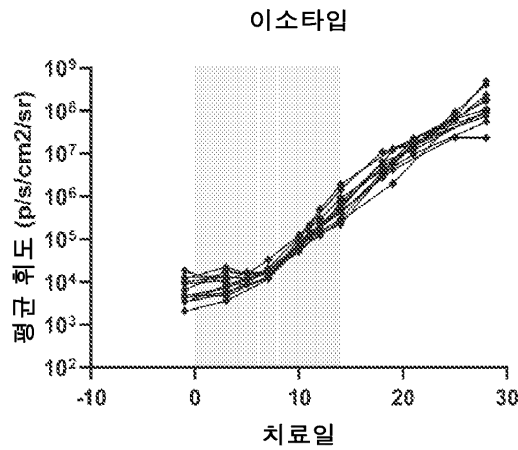
도면11d



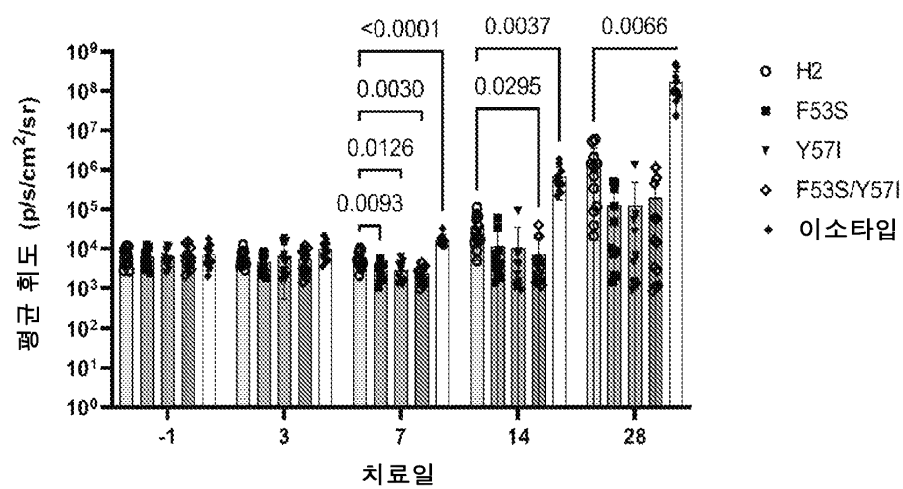
도면11e



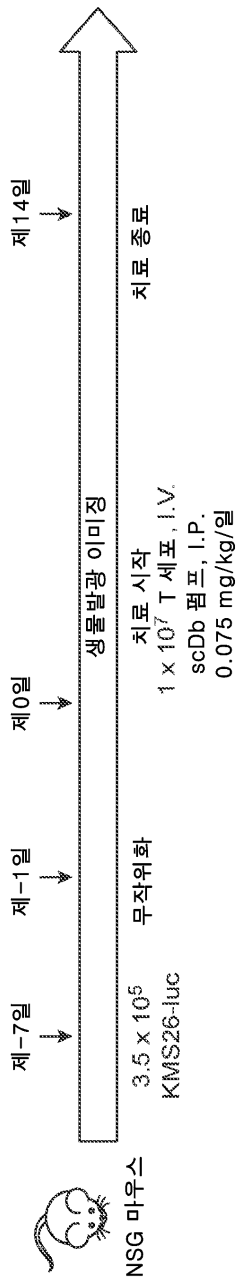
도면11f



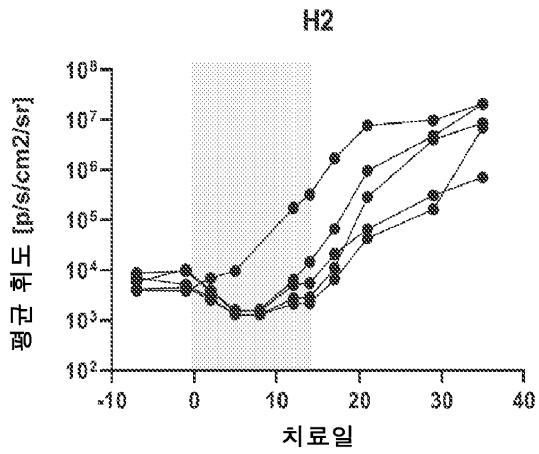
도면11g



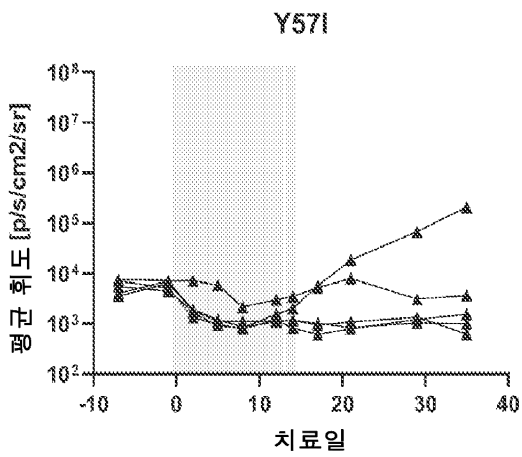
도면12a



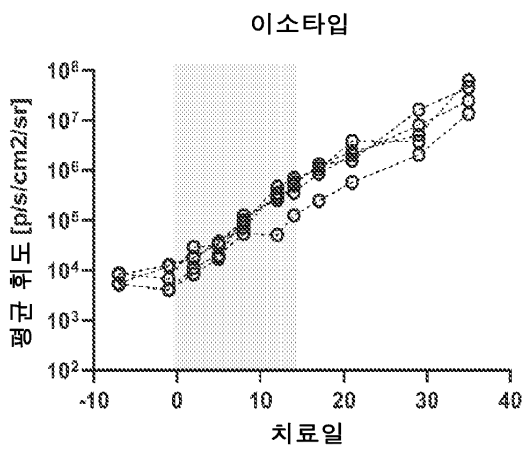
도면12b



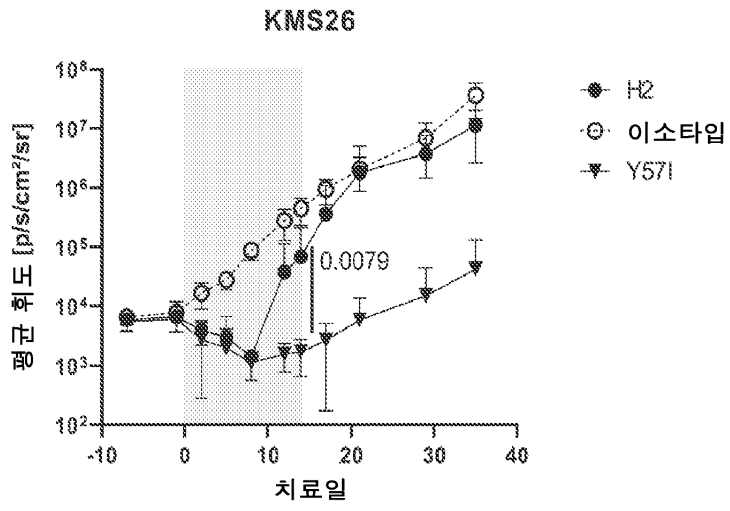
도면12c



도면12d



도면12e



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.