



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0032889
(43) 공개일자 2024년03월12일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2866 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7003377
(22) 출원일자(국제) 2022년07월13일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년01월29일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/073671
(87) 국제공개번호 WO 2023/288241
국제공개일자 2023년01월19일
- (30) 우선권주장
63/221,734 2021년07월14일 미국(US)
63/253,676 2021년10월08일 미국(US)

- (71) 출원인
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
- (72) 발명자
감파, 가우탐
미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코
디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
호세이니, 이라즈
미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코
디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
장덕순, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 92 항

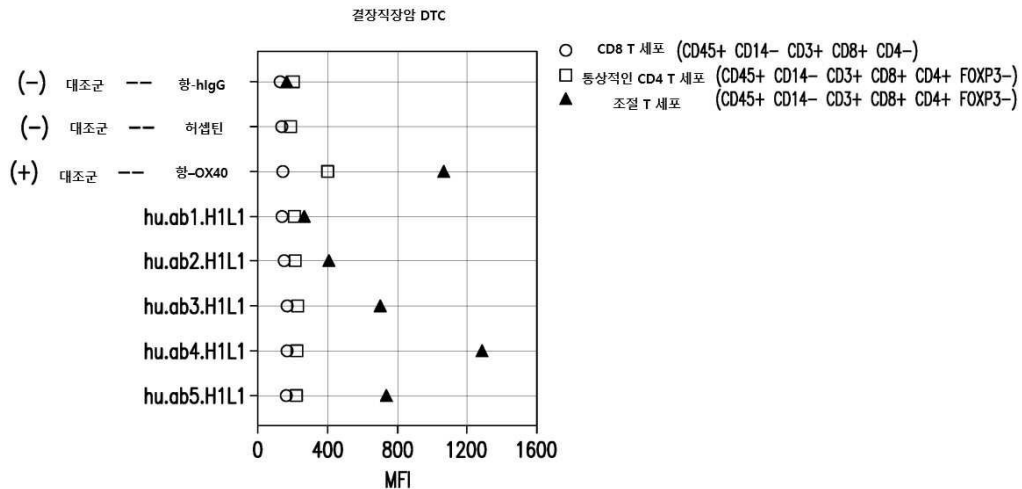
(54) 발명의 명칭 항-C-C 모티프 케모카인 수용체 8(CCR8) 항체 및 사용 방법

(57) 요약

본 개시는 항-CCR8 항체, 및 조성물, 그리고 이의 제조 방법 및 사용 방법을 제공한다.

대표도 - 도1

중양내 조절 T 세포 염색 대 통상적인 CD4 또는 CD8 T 세포 염색



(52) CPC특허분류

C07K 16/2827 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/41 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

후제니, 마루크

미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코
디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

콰르버, 제임스, 토마스

미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코
디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

파얀테, 지안, 페르-딘

미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코
디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

루츠, 사샤

미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코
디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

선, 용리안

미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코
디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

치우, 세실리아, 푸이 치

미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코
디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

델피노, 테레시타, 아렌자나

미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코
디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

명세서

청구범위

청구항 1

C-C 모티프 케모카인 수용체 8(CCR8)에 결합하는 단일클론 항체로서,

- (a) 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,
- (b) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및
- (c) 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3

을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및

- (d) 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,
- (e) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및
- (f) 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3

을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)

을 포함하는 단일클론 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, CCR8의 황산화와 무관하게 CCR8에 결합하는 항체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 서열번호 106의 아미노산 잔기 2-6 중 하나 이상으로 구성된 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

- (a) 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열,
- (b) 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열, 및
- (c) 상기 (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및

상기 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열

로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 항체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열, 및

서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열

을 포함하는 항체.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) 서열번호 47의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열,

(b) 서열번호 48의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열, 및

(c) 상기 (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및

상기 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열

로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는, 항체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 47의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열, 및

서열번호 48의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열

을 포함하는 항체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, VL은 V4M 돌연변이, P43A 돌연변이, F46L 돌연변이, C90Q 돌연변이, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인 항체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, VH는 G49S 돌연변이, K71R 돌연변이, S73N 돌연변이, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인 항체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 55의 중쇄 아미노산 서열, 및

서열번호 56의 경쇄 아미노산 서열

을 포함하는 항체.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 60의 중쇄 아미노산 서열, 및

서열번호 56의 경쇄 아미노산 서열

을 포함하는 항체.

청구항 12

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 111의 중쇄 아미노산 서열, 및

서열번호 56의 경쇄 아미노산 서열

을 포함하는 항체.

청구항 13

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,
서열번호 113의 중쇄 아미노산 서열, 및
서열번호 56의 경쇄 아미노산 서열
을 포함하는 항체.

청구항 14

CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열, 및
서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열
을 포함하는 단일클론 항체.

청구항 15

CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
서열번호 47의 VH 서열 및
서열번호 48의 VL 서열
을 포함하는 단일클론 항체.

청구항 16

CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
(a) 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,
(b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및
(c) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3
을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및
(d) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,
(e) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및
(f) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)
을 포함하는 단일클론 항체.

청구항 17

제16항에 있어서, CCR8의 황산화와 무관하게 CCR8에 결합하는 항체.

청구항 18

제16항 또는 제17항에 있어서, 서열번호 106의 아미노산 잔기 91-104 및 172-193 중 하나 이상으로 구성된 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 19

제16항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서,

- (a) 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열,
- (b) 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%,

적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열, 및

(c) 상기 (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및

상기 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열

로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 항체.

청구항 20

제16항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열, 및

서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열

을 포함하는 항체.

청구항 21

제16항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) 서열번호 21의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열,

(b) 서열번호 24의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열, 및

(c) 상기 (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및

상기 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열

로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 항체.

청구항 22

제16항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 21의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열, 및

서열번호 24의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열

을 포함하는 항체.

청구항 23

제16항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, VL은 Y2I 돌연변이를 포함하는 것인 항체.

청구항 24

제16항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, VH는 S73N 돌연변이, V78L 돌연변이, T76N 돌연변이, F91Y 돌연변이, 및 P105Q 돌연변이, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인 항체.

청구항 25

제16항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 57의 중쇄 아미노산 서열, 및

서열번호 58의 경쇄 아미노산 서열

을 포함하는 항체.

청구항 26

제16항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서,
서열번호 61의 중쇄 아미노산 서열, 및
서열번호 58의 경쇄 아미노산 서열
을 포함하는 항체.

청구항 27

제16항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서,
서열번호 112의 중쇄 아미노산 서열, 및
서열번호 58의 경쇄 아미노산 서열
을 포함하는 항체.

청구항 28

제16항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서,
서열번호 114의 중쇄 아미노산 서열, 및
서열번호 58의 경쇄 아미노산 서열
을 포함하는 항체.

청구항 29

CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열, 및
서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열
을 포함하는 단일클론 항체.

청구항 30

CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
서열번호 21의 VH 서열 및
서열번호 24의 VL 서열
을 포함하는 단일클론 항체.

청구항 31

CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
(a) 서열번호 82 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,
(b) 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및
(c) 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3
을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및
(d) 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,
(e) 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및
(f) 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)
을 포함하는 단일클론 항체.

청구항 32

제31항에 있어서,

- (a) 서열번호 95의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열,
- (b) 서열번호 94의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열, 및
- (c) 상기 (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및

상기 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열

로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 항체.

청구항 33

제31항 또는 제32항에 있어서,

서열번호 95의 VH 서열 및

서열번호 94의 VL 서열

을 포함하는 항체.

청구항 34

제31항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 101의 중쇄 아미노산 서열, 및

서열번호 100의 경쇄 아미노산 서열

을 포함하는 항체.

청구항 35

제31항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 115의 중쇄 아미노산 서열, 및

서열번호 100의 경쇄 아미노산 서열

을 포함하는 항체.

청구항 36

CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,

(a) 서열번호 86 또는 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

(b) 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

(c) 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3

을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및

(d) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

(e) 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

(f) 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3

을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)

을 포함하는 단일클론 항체.

청구항 37

제36항에 있어서,

- (a) 서열번호 97의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열,
- (b) 서열번호 96의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열, 및
- (c) 상기 (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및

상기 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열

로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 항체.

청구항 38

제36항 또는 제37항에 있어서,

서열번호 97의 VH 서열 및

서열번호 96의 VL 서열

을 포함하는 항체.

청구항 39

제36항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 103의 중쇄 아미노산 서열, 및

서열번호 102의 경쇄 아미노산 서열

을 포함하는 항체.

청구항 40

제36항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 116의 중쇄 아미노산 서열, 및

서열번호 102의 경쇄 아미노산 서열

을 포함하는 항체.

청구항 41

CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,

(a) 서열번호 90 또는 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,

(b) 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

(c) 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3

을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및

(d) 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,

(e) 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

(f) 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3

을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)

을 포함하는 단일클론 항체.

청구항 42

제41항에 있어서,

- (a) 서열번호 99의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열,
- (b) 서열번호 98의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열, 및
- (c) 상기 (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및

상기 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열

로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 항체.

청구항 43

제41항 또는 제42항에 있어서,

서열번호 99의 VH 서열 및

서열번호 98의 VL 서열

을 포함하는 항체.

청구항 44

제41항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 105의 중쇄 아미노산 서열, 및

서열번호 104의 경쇄 아미노산 서열

을 포함하는 항체.

청구항 45

제41항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 117의 중쇄 아미노산 서열, 및

서열번호 104의 경쇄 아미노산 서열

을 포함하는 항체.

청구항 46

CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서, CCR8의 황산화와 무관하게 CCR8에 결합하는 단일클론 항체.

청구항 47

제46항에 있어서, 서열번호 106의 아미노산 잔기 2-6 중 하나 이상으로 구성된 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 48

제46항에 있어서, 서열번호 106의 아미노산 잔기 91-104 및 172-193 중 하나 이상으로 구성된 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 49

마우스 CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,

- (a) 서열번호 65 또는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1,
- (b) 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및

- (c) 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3
을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및
- (d) 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1,
- (e) 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및
- (f) 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3
을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)
을 포함하는 단일클론 항체.

청구항 50

제49항에 있어서,

- (a) 서열번호 70의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열,
- (b) 서열번호 69의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열, 및
- (c) 상기 (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및
상기 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열
로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 항체.

청구항 51

제49항 또는 제50항에 있어서,
서열번호 70의 VH 서열 및
서열번호 69의 VL 서열
을 포함하는 항체.

청구항 52

제49항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서,
서열번호 72의 중쇄 아미노산 서열, 및
서열번호 71의 경쇄 아미노산 서열
을 포함하는 항체.

청구항 53

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 항체인 항체.

청구항 54

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 인간화 항체인 항체.

청구항 55

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 키메라 항체인 항체.

청구항 56

제1항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, CCR8에 결합하는 항체 단편인 항체.

청구항 57

제1항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 전장 항체인 항체.

청구항 58

제57항에 있어서, 전장 IgG1 항체인 항체.

청구항 59

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 53 또는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인을 포함하는 항체.

청구항 60

제1항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 카파 불변 도메인을 포함하는 항체.

청구항 61

제1항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 약 1×10^{-12} M 내지 약 1×10^{-11} M의 결합 친화도(K_d)로 CCR8에 결합하는 항체.

청구항 62

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, CCR8은 인간 CCR8인 항체.

청구항 63

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 비푸코실화된 항체.

청구항 64

제1항 내지 제63항 중 어느 한 항의 항체를 암호화하는 단리된 핵산.

청구항 65

제64항의 핵산을 포함하는 숙주 세포.

청구항 66

CCR8에 결합하는 항체를 생성하는 방법으로서,
제65항의 숙주 세포를 항체 발현에 적합한 조건하에 배양하는 단계
를 포함하는 방법.

청구항 67

제66항에 있어서,
항체를 숙주 세포로부터 회수하는 단계
를 추가로 포함하는 방법.

청구항 68

제67항의 방법에 의해 생성되는 항체.

청구항 69

제1항 내지 제63항 중 어느 한 항의 항체 및
약학적으로 허용가능한 담체
를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 70

제69항에 있어서,
추가 치료제
를 추가로 포함하는 약학적 조성물.

청구항 71

약제로서 사용하기 위한, 제1항 내지 제63항 중 어느 한 항의 항체 또는 제69항 내지 제70항 중 어느 한 항의 약학적 조성물.

청구항 72

암을 치료하는데 사용하기 위한, 제1항 내지 제63항 중 어느 한 항의 항체 또는 제69항 내지 제70항 중 어느 한 항의 약학적 조성물.

청구항 73

암을 치료하는 약제를 제조하기 위한, 제1항 내지 제63항 중 어느 한 항의 항체 또는 제69항 내지 제70항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 사용.

청구항 74

조절 T 세포를 고갈시키는 약제를 제조하기 위한, 제1항 내지 제63항 중 어느 한 항의 항체 또는 제69항 내지 제70항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 사용.

청구항 75

암 치료가 필요한 대상체의 암을 치료하기 위한 방법으로서,
제1항 내지 제63항 중 어느 한 항의 항체 또는 제69항 내지 제70항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 76

암을 갖는 대상체에서 종양 미세환경 내 조절 T 세포를 고갈시키는 방법으로서,
종양 미세환경 내 조절 T 세포를 고갈시키기에 충분한 제1항 내지 제63항 중 어느 한 항의 항체 또는 제69항 내지 제70항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 77

암을 갖는 대상체에서 종양 미세환경 밖 조절 T 세포를 고갈시키는 방법으로서,
종양 미세환경 밖 조절 T 세포를 고갈시키기에 충분한 제1항 내지 제63항 중 어느 한 항의 항체 또는 제69항 내지 제70항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 78

암 세포 모집단으로부터 조절 T 세포를 고갈시키는 시험관내 방법으로서,
세포 모집단으로부터 조절 T 세포를 고갈시키기에 충분한 양으로 세포 모집단을 제1항 내지 제63항 중 어느 한 항의 항체 또는 제69항 내지 제70항 중 어느 한 항의 약학적 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 79

제73항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 방광암, 모세포종, 혈액암, 골암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 자궁내막암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 폐암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 육종, 피부암, 고환암, 및 자궁암으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 사용 또는 방법.

청구항 80

제74항, 제76항, 제78항 및 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 암의 종양 미세환경 내 존재하는 조절 T 세포가 고갈되는 것인 사용 또는 방법.

청구항 81

제74항, 제77항, 제78항 및 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 암의 종양 미세환경 밖 조절 T 세포가 고갈되는 것인 사용 또는 방법.

청구항 82

제73항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 추가 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는 것인 사용 또는 방법.

청구항 83

제82항에 있어서, 추가 치료제는 항암제인 사용 또는 방법.

청구항 84

제83항에 있어서, 항암제는 미세소관 파괴제, 항대사물질, 토포이소머라제 억제제, DNA 삽입제, 알킬화제, 호르몬 요법, 키나제 억제제, 수용체 길항제, 종양 세포 아폽토시스의 활성화제, 항혈관형성제, 면역조절제, 세포 부착 억제제, 세포독성 또는 세포증식 억제제, 세포 아폽토시스의 활성화제, 아폽토시스 유도제에 대한 세포의 감수성을 증가시키는 제제, 사이토카인, 항암 백신 또는 종양분해 바이러스, 톨-유사 수용체(TLR) 제제, 이중특이적 항체, 세포 요법, 및 면역 세포 결합제로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 사용 또는 방법.

청구항 85

제83항 또는 제84항에 있어서, 항암제는 PD-L1 결합 길항제인 사용 또는 방법.

청구항 86

제85항에 있어서, PD-L1 결합 길항제는 아테졸리주맙인 사용 또는 방법.

청구항 87

제73항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 인간인 사용 또는 방법.

청구항 88

제73항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 마우스인 사용 또는 방법.

청구항 89

마우스의 질병을 치료하는 방법으로서,

질병을 치료하기 위해 제49항 내지 제52항 중 어느 한 항의 단일클론 항체의 유효량을 마우스에게 투여하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 90

제89항에 있어서, 마우스는 이중이식을 포함하는 것인 방법.

청구항 91

제63항에 있어서, 비푸코실화의 비율은 약 80% 내지 약 95% 사이인 항체.

청구항 92

제1항 내지 제15항 및 제46항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 1일차에 정맥내 투여된 단일 10 mg/kg 용량

이후의 평균 청소율은 35일의 기간에 걸쳐 약 3 내지 약 5 mL/일/kg 사이인 항체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2021년 10월 8일에 출원한 미합중국 가출원 제63/253,676호 및 2021년 7월 14일에 출원한 미합중국 가출원 제63/221,734호의 우선권을 주장하고, 이들 모두는 그 전체가 본원에 원용되며, 이의 우선권이 청구된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 서열 목록을 포함하며, 이는 EFS-Web을 통해 xml 형식으로 제출되었고 그 전체가 본원에 원용된다. 2022년 7월 12일에 생성된 상기 xml 사본의 명칭은 00B206.1290.xml이다.

배경 기술

[0005] 전사인자 Foxp3을 발현하는 조절T(Treg) 세포는 말초 면역 관용을 유지하고 자가면역을 예방하는데 중요하다. 예를 들어, Sakaguchi *et al.*, *Cell* (2008) 133:775-787을 참조한다. Treg 세포는 또한 면역억제성 종양 미세 환경을 확립함으로써 종양 발달 및 진행을 촉진하고 항-종양 면역 반응을 감소시키는 고형 암의 면역 침윤의 주요 성분을 구성한다. 예를 들어, Plitas and Rudensky, *Annu. Rev. Cancer Biol.* (2020) 4:459-477을 참조한다. Treg 세포는 또한 면역요법의 효능을 저해한다. 예를 들어, Nishikawa and Sakaguchi, *Curr. Opin. Immunol.* (2014) 27:1-7을 참조한다. 종양-침윤 림프구 중 Treg 세포의 증가된 비율은 여러 암 적응증에서 더 불량한 결과와 관련이 있다. 예를 들어, Fu *et al.*, *Gastroenterology* (2007) 132:2328-2339; Petersen *et al.*, *Cancer* (2006) 107:2866-2872; Shang *et al.*, *Nature - Scientific Reports* (2015) 5:15179 (9 pages); Shen *et al.*, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* (2010) 136:1585-1595; 및 Tanaka and Sakaguchi, *Eur. J. Immunol.* (2019) 49:1140-1146을 참조한다.

[0006] Treg 세포 고갈 또는 억제에 관한 몇몇 전략은 항-종양 면역을 향상시키고 전임상 유방, 흑색종, 및 결장암 모델에서 종양 성장 억제를 발생시키는 것으로 나타났다. 예를 들어, Bos *et al.*, *J. Exp. Med.* (2013) 2435-2446; Klages *et al.*, *Cancer Res.* (2010) 70:7788-7799; 및 Pastille *et al.*, *Cancer Res.* (2014) 74:4258-4269을 참조한다. 하지만, Treg 세포 및 효과기 T 세포 둘 모두 상에서 발현되는 표면 수용체, 예컨대, CD25를 표적화하는 전략은 아마도 항-종양 면역에 중요한 효과기 T 세포의 부수적인 고갈로 인해 확립된 종양에서 제한된 효능을 나타낸다. 예를 들어, Onizuka *et al.*, *Cancer Res.* (1999) 59:3128-3133을 참조한다.

[0007] 케모카인 수용체 CCR8은 7개의 막관통 G-단백질 결합 수용체(GPCR)이고, 높은 친화도로 인간/마우스 CCL1에 의해 결합되고, 이는 종양 미세환경 내에서 Treg 세포에 의해 선택적으로 및 고도로 발현되지만, 말초 Treg 세포 또는 효과기 T 세포에는 대부분 부재한다. Treg 세포 상의 높은 CCR8 발현은 유방암 환자에서 진행성 질환 단계 및 전반적인 생존율 감소와 관련이 있다. 예를 들어, Plitas *et al.*, *Immunity* (2016) 45:1122-1134를 참조한다. 따라서, CCR8은 암 치료에서 Treg 세포 고갈에 대한 유망하고 더 안전한 표적을 나타낸다. 따라서, CCR8을 인식하는 제제 및 상기 제제를 사용하는 방법이 바람직하다.

발명의 내용

[0008] 본 개시는 항-CCR8 항체, 조성물, 및 이의 제조 방법과 사용 방법을 제공한다.

[0009] 구현예 1. 특정 비제한적인 구현예들에서, 본 개시된 주제는 C-C 모티프 케모카인 수용체 8(CCR8)에 결합하는 단일클론 항체로서,

[0010] 항체는 (a) 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및 (d) 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는, 단일클론 항체를 제공한다.

[0011] 구현예 2. 구현예 1에 있어서,

- [0012] CCR8의 황산화와 무관하게 CCR8에 결합하는, 전술한 항체.
- [0013] 구현예 3. 구현예 1 또는 구현예 2에 있어서,
- [0014] 항체는 서열번호 106의 아미노산 잔기 2-6 중 하나 이상으로 구성된 에피토프에 결합하는, 전술한 항체.
- [0015] 구현예 4. 구현예 1 내지 구현예 3 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0016] (a) 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열; (b) 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열; 및 (c) (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0017] 구현예 5. 구현예 1 내지 구현예 4 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0018] 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열, 및 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0019] 구현예 6. 구현예 1 내지 구현예 5 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0020] (a) 서열번호 47의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열; (b) 서열번호 48의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열; 및 (c) (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0021] 구현예 7. 구현예 1 내지 구현예 6 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0022] 서열번호 47의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열, 및 서열번호 48의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0023] 구현예 8. 구현예 1 내지 구현예 7 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0024] VL은 V4M 돌연변이, P43A 돌연변이, F46L 돌연변이, C90Q 돌연변이, 또는 이들의 조합을 포함하는, 전술한 항체.
- [0025] 구현예 9. 구현예 1 내지 구현예 8 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0026] VH는 G49S 돌연변이, K71R 돌연변이, S73N 돌연변이, 또는 이들의 조합을 포함하는, 전술한 항체.
- [0027] 구현예 10. 구현예 1 내지 구현예 9 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0028] 서열번호 55의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 56의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0029] 구현예 11. 구현예 1 내지 구현예 9 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0030] 서열번호 60의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 56의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0031] 구현예 12. 구현예 1 내지 구현예 9 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0032] 서열번호 111의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 56의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0033] 구현예 13. 구현예 1 내지 구현예 9 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0034] 서열번호 113의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 56의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0035] 구현예 14. 특정 비제한적인 구현예들에서, 본 개시된 주제는 CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
- [0036] 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열, 및 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열을 포함하는, 단일클론 항체를 제공한다.
- [0037] 구현예 15. 특정 비제한적인 구현예들에서, 본 개시된 주제는 CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,

- [0038] 서열번호 47의 VH 서열 및 서열번호 48의 VL 서열을 포함하는, 단일클론 항체를 제공한다.
- [0039] 구현예 16. 특정 비제한적인 구현예들에서, 본 개시된 주제는 CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
- [0040] 항체는 (a) 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및 (d) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는, 단일클론 항체를 제공한다.
- [0041] 구현예 17. 구현예 16에 있어서,
- [0042] CCR8의 황산화와 무관하게 CCR8에 결합하는, 전술한 항체.
- [0043] 구현예 18. 구현예 16 또는 구현예 17에 있어서,
- [0044] 항체는 서열번호 106의 아미노산 잔기 91-104 및 172-193 중 하나 이상으로 구성된 에피토프에 결합하는, 전술한 항체.
- [0045] 구현예 19. 구현예 16 내지 구현예 18 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0046] (a) 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열; (b) 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열; 및 (c) (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0047] 구현예 20. 구현예 16 내지 구현예 19 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0048] 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열, 및 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0049] 구현예 21. 구현예 16 내지 구현예 20 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0050] (a) 서열번호 21의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열; (b) 서열번호 24의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열; 및 (c) (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0051] 구현예 22. 구현예 16 내지 구현예 21 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0052] 서열번호 21의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열, 및 서열번호 24의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0053] 구현예 23. 구현예 16 내지 구현예 22 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0054] VL은 Y2I 돌연변이를 포함하는, 전술한 항체.
- [0055] 구현예 24. 구현예 16 내지 구현예 23 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0056] VH는 S73N 돌연변이, V78L 돌연변이, T76N 돌연변이, F91Y 돌연변이, 및 P105Q 돌연변이, 또는 이들의 조합을 포함하는, 전술한 항체.
- [0057] 구현예 25. 구현예 16 내지 구현예 24 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0058] 서열번호 57의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 58의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0059] 구현예 26. 구현예 16 내지 구현예 24 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0060] 서열번호 61의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 58의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0061] 구현예 27. 구현예 16 내지 구현예 24 중 어느 한 구현예에 있어서,

- [0062] 서열번호 112의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 58의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0063] 구현예 28. 구현예 16 내지 구현예 24 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0064] 서열번호 114의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 58의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0065] 구현예 29. 특정 비제한적인 구현예들에서, 본 개시된 주제는 CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
- [0066] 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열, 및 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열을 포함하는, 단일클론 항체를 제공한다.
- [0067] 구현예 30. 특정 비제한적인 구현예들에서, 본 개시된 주제는 CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
- [0068] 서열번호 21의 VH 서열 및 서열번호 24의 VL 서열을 포함하는, 단일클론 항체를 제공한다.
- [0069] 구현예 31. 특정 비제한적인 구현예들에서, 본 개시된 주제는 CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
- [0070] 항체는 (a) 서열번호 82 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH), 및 (d) 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는, 단일클론 항체를 제공한다.
- [0071] 구현예 32. 구현예 31에 있어서,
- [0072] (a) 서열번호 95의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열; (b) 서열번호 94의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열; 및 (c) (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0073] 구현예 33. 구현예 31 또는 구현예 32에 있어서,
- [0074] 서열번호 95의 VH 서열 및 서열번호 94의 VL 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0075] 구현예 34. 구현예 31 내지 구현예 33 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0076] 서열번호 101의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 100의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0077] 구현예 35. 구현예 31 내지 구현예 33 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0078] 서열번호 115의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 100의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0079] 구현예 36. 특정 비제한적인 구현예들에서, 본 개시된 주제는 CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
- [0080] 항체는 (a) 서열번호 86 또는 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH), 및 (d) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는, 단일클론 항체를 제공한다.
- [0081] 구현예 37. 구현예 36에 있어서,
- [0082] (a) 서열번호 97의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열; (b) 서열번호 96의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열; 및 (c) (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0083] 구현예 38. 구현예 36 또는 구현예 37에 있어서,
- [0084] 서열번호 97의 VH 서열 및 서열번호 96의 VL 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0085] 구현예 39. 구현예 36 내지 구현예 38 중 어느 한 구현예에 있어서,

- [0086] 서열번호 103의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 102의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0087] 구현예 40. 구현예 36 내지 구현예 38 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0088] 서열번호 116의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 102의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0089] 구현예 41. 특정 비제한적인 구현예들에서, 본 개시된 주제는 CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
- [0090] 항체는 (a) 서열번호 90 또는 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH), 및 (d) 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는, 단일클론 항체를 제공한다.
- [0091] 구현예 42. 구현예 41에 있어서,
- [0092] (a) 서열번호 99의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열; (b) 서열번호 98의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열; 및 (c) (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0093] 구현예 43. 구현예 41 또는 구현예 42에 있어서,
- [0094] 서열번호 99의 VH 서열 및 서열번호 98의 VL 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0095] 구현예 44. 구현예 41 내지 구현예 43 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0096] 서열번호 105의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 104의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0097] 구현예 45. 구현예 41 내지 구현예 44 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0098] 서열번호 117의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 104의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0099] 구현예 46. 특정 비제한적인 구현예들에서, 본 개시된 주제는 CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
- [0100] 항체는 CCR8의 황산화와 무관하게 CCR8에 결합하는, 단일클론 항체를 제공한다.
- [0101] 구현예 47. 구현예 46에 있어서,
- [0102] 항체는 서열번호 106의 아미노산 잔기 2-6 중 하나 이상으로 구성된 에피토프에 결합하는, 전술한 항체.
- [0103] 구현예 48. 구현예 46에 있어서,
- [0104] 항체는 서열번호 106의 아미노산 잔기 91-104 및 172-193 중 하나 이상으로 구성된 에피토프에 결합하는, 전술한 항체.
- [0105] 구현예 49. 특정 비제한적인 구현예들에서, 본 개시된 주제는 마우스 CCR8에 결합하는 단일클론 항체로서,
- [0106] 항체는 (a) 서열번호 65 또는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH), 및 (d) 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는, 단일클론 항체를 제공한다.
- [0107] 구현예 50. 구현예 49에 있어서,
- [0108] (a) 서열번호 70의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VH 서열; (b) 서열번호 69의 아미노산 서열에 대하여 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 VL 서열; 및 (c) (a)에서 정의된 바와 같은 VH 서열 및 (b)에서 정의된 바와 같은 VL 서열로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0109] 구현예 51. 구현예 49 또는 구현예 50에 있어서,

- [0110] 서열번호 70의 VH 서열 및 서열번호 69의 VL 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0111] 구현예 52. 구현예 49 내지 구현예 51 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0112] 서열번호 72의 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 71의 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 전술한 항체.
- [0113] 구현예 53. 구현예 1 내지 구현예 48 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0114] 인간 항체인, 전술한 항체.
- [0115] 구현예 54. 구현예 1 내지 구현예 48 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0116] 인간화 항체인, 전술한 항체.
- [0117] 구현예 55. 구현예 1 내지 구현예 52 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0118] 키메라 항체인, 전술한 항체.
- [0119] 구현예 56. 구현예 1 내지 구현예 55 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0120] CCR8에 결합하는 항체 단편인, 전술한 항체.
- [0121] 구현예 57. 구현예 1 내지 구현예 56 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0122] 전장 항체인, 전술한 항체.
- [0123] 구현예 58. 구현예 57에 있어서,
- [0124] 전장 IgG1 항체인, 전술한 항체.
- [0125] 구현예 59. 구현예 1 내지 또는 구현예 58 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0126] 서열번호 53 또는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인을 포함하는, 전술한 항체.
- [0127] 구현예 60. 구현예 1 내지 또는 구현예 59 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0128] 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 카파 불변 도메인을 포함하는, 전술한 항체.
- [0129] 구현예 61. 구현예 1 내지 구현예 60 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0130] 항체는 약 1×10^{-12} M 내지 약 1×10^{-11} M의 결합 친화도(Kd)로 CCR8에 결합하는, 전술한 항체.
- [0131] 구현예 62. 구현예 1 내지 구현예 48 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0132] CCR8은 인간 CCR8인, 전술한 항체.
- [0133] 구현예 63. 구현예 1 내지 구현예 62 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0134] 항체는 비푸코실화된, 전술한 항체.
- [0135] 구현예 64. 특정 비제한적인 구현예들에서,
- [0136] 본 개시된 주제는 구현예 1 내지 구현예 63 중 어느 한 구현예의 전술한 항체를 암호화하는 단리된 핵산을 제공한다.
- [0137] 구현예 65. 특정 비제한적인 구현예들에서,
- [0138] 본 개시된 주제는 구현예 64의 핵산을 포함하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0139] 구현예 66. 특정 비제한적인 구현예들에서,
- [0140] 본 개시된 주제는 CCR8에 결합하는 항체를 생성하는 방법으로서, 항체의 발현에 적합한 조건하에서 구현예 65의 전술한 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 방법을 제공한다.
- [0141] 구현예 67. 구현예 66에 있어서,
- [0142] 항체를 숙주 세포로부터 회수하는 단계를 추가로 포함하는, 전술한 방법.
- [0143] 구현예 68. 특정 비제한적인 구현예들에서,

- [0144] 본 개시된 주제는 구현예 67의 전술한 방법에 의해 생성되는 항체를 제공한다.
- [0145] 구현예 69. 특정 비제한적인 구현예들에서,
- [0146] 본원에서 개시된 주제는 구현예 1 내지 구현예 63 중 어느 한 구현예의 전술한 항체 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.
- [0147] 구현예 70. 구현예 69에 있어서,
- [0148] 추가 치료제를 추가로 포함하는, 전술한 약학적 조성물.
- [0149] 구현예 71. 약제로서 사용하기 위한, 구현예 1 내지 구현예 63 중 어느 한 구현예의 전술한 항체 또는 구현예 69 내지 구현예 70 중 어느 한 구현예의 전술한 약학적 조성물.
- [0150] 구현예 72. 암을 치료하는데 사용하기 위한, 구현예 1 내지 구현예 63 중 어느 한 구현예의 전술한 항체 또는 구현예 69 내지 구현예 70 중 어느 한 구현예의 전술한 약학적 조성물.
- [0151] 구현예 73. 특정 비제한적인 구현예들에서,
- [0152] 본원에서 개시된 주제는 암을 치료하는 약제를 제조하기 위한, 구현예 1 내지 구현예 63 중 어느 한 구현예의 전술한 항체 또는 구현예 69 내지 구현예 70 중 어느 한 구현예의 전술한 약학적 조성물의 사용을 제공한다.
- [0153] 구현예 74. 특정 비제한적인 구현예들에서,
- [0154] 본원에서 개시된 주제는 조절 T 세포를 고갈시키는 약제를 제조하기 위한, 구현예 1 내지 구현예 63 중 어느 한 구현예의 전술한 항체 또는 구현예 69 내지 구현예 70 중 어느 한 구현예의 전술한 약학적 조성물의 사용을 제공한다.
- [0155] 구현예 75. 특정 비제한적인 구현예들에서,
- [0156] 본원에서 개시된 주제는 치료가 필요한 대상체의 암을 치료하기 위한 방법으로서, 구현예 1 내지 구현예 63 중 어느 한 구현예의 전술한 항체 또는 구현예 69 내지 구현예 70 중 어느 한 구현예의 전술한 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법을 제공한다.
- [0157] 구현예 76. 특정 비제한적인 구현예들에서,
- [0158] 본원에서 개시된 주제는 암을 갖는 대상체에서 종양 미세환경 내 조절 T 세포를 고갈시키는 방법으로서, 종양 미세환경 내 조절 T 세포를 고갈시키기에 충분한 구현예 1 내지 구현예 63 중 어느 한 구현예의 전술한 항체 또는 구현예 69 내지 구현예 70 중 어느 한 구현예의 전술한 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법을 제공한다.
- [0159] 구현예 77. 특정 비제한적인 구현예들에서,
- [0160] 본원에서 개시된 주제는 암을 갖는 대상체에서 종양 미세환경 밖 조절 T 세포를 고갈시키는 방법으로서, 종양 미세환경 밖에서 조절 T 세포를 고갈시키기에 충분한 양으로 세포 모집단을 구현예 1 내지 구현예 63 중 어느 한 구현예의 전술한 항체 또는 구현예 69 내지 구현예 70 중 어느 한 구현예의 전술한 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법을 제공한다.
- [0161] 구현예 78. 특정 비제한적인 구현예들에서,
- [0162] 본원에서 개시된 주제는 암 세포 모집단으로부터 조절 T 세포를 고갈시키는 시험관내 방법으로서, 세포 모집단으로부터 조절 T 세포를 고갈시키기에 충분한 양으로 세포 모집단을 구현예 1 내지 구현예 63 중 어느 한 구현예의 전술한 항체 또는 구현예 69 내지 구현예 70 중 어느 한 구현예의 전술한 약학적 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 방법을 제공한다.
- [0163] 구현예 79. 구현예 73 내지 구현예 78 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0164] 암은 방광암, 모세포종, 혈액암, 골암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 자궁내막암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 폐암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 육종, 피부암, 고환암, 및 자궁암으로 구성된 군으로부터 선택되는, 전술한 사용 또는 방법.
- [0165] 구현예 80. 구현예 74, 구현예 76, 구현예 78, 및 구현예 79 중 어느 한 구현예에 있어서,

- [0166] 암의 종양 미세환경 내 존재하는 조절 T 세포가 고갈되는, 전술한 사용 또는 방법.
- [0167] 구현예 81. 구현예 74, 구현예 77, 구현예 78, 및 구현예 79 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0168] 암의 종양 미세환경 밖 조절 T 세포가 고갈되는, 전술한 사용 또는 방법.
- [0169] 구현예 82. 구현예 73 내지 구현예 81 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0170] 추가 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 전술한 사용 또는 방법.
- [0171] 구현예 83. 구현예 82에 있어서,
- [0172] 추가 치료제는 항암제인, 전술한 사용 또는 방법.
- [0173] 구현예 84. 구현예 83에 있어서,
- [0174] 항암제는 미세소관 파괴제, 항대사물질, 토포이소머라제 억제제, DNA 삽입제, 알킬화제, 호르몬 요법, 키나제 억제제, 수용체 길항제, 종양 세포 아포토시스의 활성화제, 항혈관형성제, 면역조절제, 세포 부착 억제제, 세포 독성 또는 세포증식 억제제, 세포 아포토시스의 활성화제, 아포토시스 유도제에 대한 세포의 감수성을 증가시키는 제제, 사이토카인, 항암 백신 또는 종양분해 바이러스, 툴-유사 수용체(TLR) 제제, 이중특이적 항체, 세포 요법, 및 면역 세포 결합제로 구성된 군으로부터 선택되는, 전술한 사용 또는 방법.
- [0175] 구현예 85. 구현예 83 또는 구현예 84에 있어서,
- [0176] 항암제는 PD-L1 결합 길항제인, 전술한 사용 또는 방법.
- [0177] 구현예 86. 구현예 85에 있어서,
- [0178] PD-L1 결합 길항제는 아테졸리주맙인, 전술한 사용 또는 방법.
- [0179] 구현예 87. 구현예 73 내지 구현예 85 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0180] 대상체는 인간인, 전술한 사용 또는 방법.
- [0181] 구현예 88. 구현예 73 내지 구현예 85 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0182] 대상체는 마우스인, 전술한 사용 또는 방법.
- [0183] 구현예 89. 특정 비제한적인 구현예들에서,
- [0184] 본원에서 개시된 주제는 마우스의 질병을 치료하는 방법으로서, 질병을 치료하기 위해 전술한 구현예 49 내지 구현예 52 중 어느 한 구현예의 단일클론 항체의 유효량을 마우스에 투여하는 단계를 포함하는, 방법을 제공한다.
- [0185] 구현예 90. 구현예 89에 있어서,
- [0186] 마우스는 이중이식을 포함하는, 전술한 방법.
- [0187] 구현예 91. 구현예 63에 있어서,
- [0188] 비푸코실화의 비율은 약 80% 내지 약 95% 사이인, 전술한 항체.
- [0189] 구현예 92. 구현예 1 내지 구현예 15 및 구현예 46 내지 구현예 48 중 어느 한 구현예에 있어서,
- [0190] 1일차에 정맥내 투여된 단일 10 mg/kg 용량 이후의 평균 청소율은 35일의 기간에 걸쳐 약 3 내지 약 5 mL/일/kg 사이인, 전술한 항체.

도면의 간단한 설명

- [0191] 도 1은 인간 결장직장암 해리 종양 세포(DTC)(Discovery Life Sciences로부터 입수)로부터의 Treg 세포(Treg)에 선택적으로 결합하는 항-CCR8 단일클론 항체(mAb)의 스크리닝 결과를 도시한다. CD8 T 세포(CD45+ CD14- CD3+ CD8+ CD4-로서 정의됨)(원, ○), 통상적인 CD4 T 세포(CD45+ CD14- CD3+ CD8- CD4+ FOXP3-로서 정의됨)(사각형, □), 및 Treg 세포(CD45+ CD14- CD3+ CD8- CD4+ FOXP3+로서 정의됨)(삼각형, ▲)에 대한 평균 형광 강도(MFI) 값이 도시되어 있다. 5개의 항-CCR8 mAb 클론 Ab1-Ab5 중 3개는 종양내 Treg 세포를 특이적으로 염색하고, 통상적인 CD4 또는 CD8 T 세포는 염색하지 않고, CCR8 MFI에 기초하여 등급화하였다: hu.Ab4.H1L1 >

hu.Ab5.H1L1 > hu.Ab3.H1L1.

도 2a-도 2b는 중앙-침윤 CCR8-발현 Treg의 고갈을 발생시키고(도 2a), 인간/시노 교차-반응성 항-CCR8 mAb의 ADCC 활성이 추가 연구를 제기하는(도 2B) 자연 살해(NK) 세포-매개 항체-의존성 세포독성(ADCC)의 제안된 작용 메커니즘을 도시한다. EC₅₀ 값은 항-CCR8 mAbs hu.Ab3.H1L1, hu.Ab5.H1L1 및 hu.Ab4.H1L1에 대해 각각 0.02 nM, 0.02 nM 및 0.08 nM로 결정하였다.

도 3a-도 3d는 인간/시노 교차-반응성 항-CCR8 mAb hu.Ab4.H1L1, hu.Ab5.H1L1, 및 hu.Ab3.H1L1, 뿐만 아니라 비교기 항-CCR8 mAb(인간화 항-인간 요시다 항-CCR8 항체, 무린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈), 및 무린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드))의 작용제 및 길항제 활성을 도시한다. 도 3a에 도시된 바와 같이, CCR8에 대한 공지된 리간드인 CCL1은 작용제 활성을 나타내지만, 항-CCR8 시험 mAb 중 어느 것도 작용제 효과를 나타내지 않는다. 도 3b의 데이터는 항-CCR8 mAb hu.Ab4.H1L1이 CCR8 리간드 CCL1(20 nM의 리간드)에 대해 길항(중화) 활성을 나타내는 반면, 항-CCR8 mAb hu.Ab5.H1L1 및 hu.Ab3.H1L1은 연구된 농도에서 어떠한 리간드 차단(비-중화) 활성도 나타내지 않는다. 도 3c의 데이터는 비교기 항-CCR8 mAb(인간화 항-인간 요시다 항-CCR8 항체, 무린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈), 및 무린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드))가 작용제 효과를 나타내지 않는 반면, CCR8 리간드 CCL1은 작용제 효과를 나타내지 않는다는 것을 도시한다. 도 3d의 데이터는 비교기 항-CCR8 mAb(인간화 항-인간 요시다 항-CCR8 항체, 무린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈), 및 무린 항-인간 바이오레전드 L263G8(바이오레전드))가 CCR8 리간드 CCL1에 대한 길항(중화) 활성을 나타낸다는 것을 도시한다. 리간드 차단 활성에 대한 IC₅₀ 값은 실시예에 제공된다.

도 4a-도 4f는 hu.Ab3.H1L1(도 4a), hu.Ab4.H1L1(도 4b), 및 hu.Ab5.H1L1(도 4c), 뿐만 아니라 상업적인 항-CCR8 mAbs 무린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈)(도 4d), 및 무린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드)(도 4e), 및 인간화 항-인간 요시다 항-CCR8 mAb(도 4f)의 HEK293 세포에 대한 결합 데이터를 도시한다. 여기서, HEK293 세포는 인간 GPCR(CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR8, CXCR4, ACKR2 및 ACKR4), hCCR8 구조체를 암호화하는 N-말단 FLAG-표지된 플라스미드 또는 transIT X2를 사용하는 모의 구조체(시약:DNA=3:1)로 일시적으로 형질감염되었다. 각 GPCR의 세포 표면 발현은 항-FLAG 항체 대조군(5 ug/mL)으로 염색하여 확인하였다. mAbs hu.Ab4.H1L1 및 hu.Ab5.H1L1은 hCCR8에 대한 특이성을 확인하면서 hCCR8 함유 세포만을 염색하였다. mAb hu.Ab3.H1L1은 다중의 다른 GPCR의 염색을 나타내어 특이성이 부족함을 보였다. 최상의 ADCC 활성을 나타내는 CCR8 선택적 hu.Ab4.H1L1 및 hu.Ab5.H1L1 mAb(도 2에 도시됨)를 추가 연구를 위해 제시하였다.

도 5a-도 5d는 연구된 토끼(rb.Ab4) 및 인간화 Ab4(L1-L4 및 H1-H12) CCR8 mAbs에 대한 경쇄 가변 영역(도 5a) 및 중쇄 가변 영역(도 5b-도 5d)의 정렬을 도시한다. 경쇄(L3) 상의 Y2 및 중쇄(H12) 상의 S73, T76, V78, F91 및 P105는 변이체 항체의 결합 평가에 기초하여 핵심 토끼 버니어(Vernier) 잔기인 것으로 결정되었다. CDR, 가변 영역, 불변 영역, 및 전장 서열은 실시예에 제공되어 있다.

도 6a-도 6d는 연구된 토끼(rb.Ab5) 및 인간화 Ab5(L1-L5 및 H1-H13) CCR8 mAbs에 대한 서열의 경쇄 가변 영역(도 6a) 및 중쇄 가변 영역(도 6b-도 6d)의 정렬을 도시한다. CDR L3에서 C90Q 돌연변이를 도입하여 제조 동안 문제가 될 짝이 없는 시스템을 제거하였다. 경쇄(L1) 상의 V4, P43 및 F46 및 중쇄 상의 G49, K71 및 S73(H13)는 변이체 항체의 결합 평가에 기초하여 핵심 토끼 버니어 잔기인 것으로 결정되었다. CDR, 가변 영역, 불변 영역, 및 전장 서열은 실시예에 제공되어 있다.

도 7a-도 7d는 인간 CCR8 또는 시노몰구스 원숭이("시노") CCR8을 안정적으로 발현하는 방사성 표지된 IgG 및 CHO 세포주를 사용하여 hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab4.H12L3 mAb에 대한 세포 기반 친화도 측정의 결과를 도시한다. 데이터는 hu.Ab4.H12L3 및 hu.Ab5.H13L1 mAb가 인간 및 시노 CCR8 둘 모두에 대해 유사한 친화도를 가지며, 이는 바람직한 교차-반응성을 나타냄을 도시한다(도 7a를 도 7b와 비교하고, 도 7c를 도 7d와 비교한다). 이들 연구로부터의 Kd(nM) 친화도 데이터가 실시예에 제공된다.

도 8a-도 8b는 hu.Ab4.H12L3(도 8a) 및 hu.Ab5.H13L1(도 8b) mAb의 황산화된 GPCR의 패널에 대한 결합 데이터를 도시하고, 도 4b 및 도 4c에 제공된 Ab4 및 Ab5 데이터와 유사한 이들 Ab4 및 Ab5 변이체가 CCR8에 대한 선택성을 나타냄을 재확인한다. hCCR8의 N-말단 FLAG 태그에 대한 더 약한 결합(Ab5에 대한 N-말단 에피토프에 대한 결합에 영향을 미침; 도 16을 참조)으로 인해, C-말단 FLAG를 갖는 CCR8 구조체가 또한 도 4c에 제공된다.

도 9a-도 9b는 Ca²⁺ 유입 분석(도 9a) 및 CCR8 CCL1 리간드 결합(도 9b)에 의해 결정된 바와 같이 CCR8 활성화에 대한 항-CCR8 mAbs hu.Ab4.H12L3 및 hu.Ab5.H13L1의 효과를 도시한다. 도 3a 데이터와 유사하게, 도 9a는 Ab4 또는 Ab5 항-CCR8 mAbs 변이체가 CCR8 리간드 CCL1의 부재하에 작용제 효과를 나타내지 않는다는 것을 재확인

인한다. 도 3b 데이터와 유사하게, 도 9b는 Ab4 변이체가 CCR8 리간드 CCL1(20 nM의 리간드)에 대한 길항 효과를 나타내는 반면, Ab5 변이체는 연구된 농도에서 어떠한 리간드 차단 활성도 나타내지 않는다는 것을 재확인한다. 리간드 차단 활성에 대한 IC₅₀ 값은 실시예에 제공된다.

도 10a-도 10e는 (hCCR8.TPST1/2 NTC)가 있고 티로실 단백질 설포트랜스퍼라제(TPST) 1 및 티로실 단백질 설포트랜스퍼라제(TPST) 2(hCCR8.TPST1/2 KO)가 없는 CCR8+ HEK293 세포에 대한 인간화 항-인간 요시다 CCR8 mAb 및 상업적 항체 무린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈) 및 무린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드)과 비교하여 hu.Ab4.H12L3 및 hu.Ab5.H13L1의 염색에서의 차이를 도시한다. hu.Ab4.H12L3(도 10a) 및 hu.Ab5.H13L1(도 10b)는 양쪽 세포주(hCCR8.TPST1/2 NTC 및 hCCR8.TPST1/2 KO)에 대해 유사한 결합/염색을 나타내는데, 이는 이들이 티로신 황산화와 무관하게("황산화 비의존성") CCR8에 결합함을 나타낸다. 이와 대조적으로, 인간화 항-인간 요시다 CCR8 항체(도 10c) 및 상업적 항체를 무린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈)(도 10d) 및 무린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드)(도 10e)은 TPST1/2 KO 세포들에 결합하는데 실패하였으며, 이는 이들이 결합을 위해 CCR8의 티로신 황산화가 필요함을 나타내며, 따라서 "황산화 의존성"으로 간주된다.

도 11a-도 11d는 효과기 세포로서 NK-92 F158(도 11a) 및 NK-92 V158(도 11b)을 사용하여 hCCR8을 안정적으로 발현하는 CHO 세포에 대해 비푸코실화된 CCR8 mAbs Afuc.hu.Ab5.H13L1 및 Afuc.hu.Ab4.H12L3이 이들의 푸코실화된 CCR8 대응물 hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab4.H12L3과 비교하여 향상된(10배 초과로 개선된) ADCC 활성을 나타내고, 또한 인간화 항-인간 요시다 항-CCR8 항체(도 11c)와 비교하여 ADCC 활성에서 10-20배 개선을 나타냄을 도시한다. 사용된 분석과 같이 ADCC 활성이 없는 것으로 입증된(예상된 바와 같이) 상업적 항-CCR8 mAb 무린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈) 및 무린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드)은 주로 인간 Fc 영역을 포함하는 항체에 관련된다(도 11c). 도 11d는 무린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈) 및 무린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드)이 무린 Fc 영역 및 인간 항-CCR8 활성을 포함하는 항체에 특이적인 검정을 사용하여 ADCC 활성을 가짐을 도시한다. 활성 데이터가 또한 실시예에서 제공된다.

도 12a-도 12d는 효과기 세포로서 비푸코실화된, 푸코실화된(hIgG1), 및 비푸코실화된 동형 대조군 mAb("gD.afuc") 및 일차 NK 세포와 함께 인큐베이션될 때 CCR8 발현을 유도하기 위해 NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) 마우스로 옮긴 후 회수된 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로부터의 통상적인 인간 CD4 T 세포와 비교하여 인간 Treg 세포에 대한 선택적 ADCC 활성을 도시한다. Treg 세포에 대한 ADCC 활성은 회수된 Treg 세포 대 회수된 CD8 세포의 비(Treg/CD8) 또는 통상적인 CD4 T 세포 대 회수된 CD8 T 세포의 비(CD4conv/CD8)를 계산하여 측정하였다. CCR8 mAbs Afuc.hu.Ab4.H12L3 및 hu.Ab4.H12L3은 통상적인 CD4 T 세포(도 12b)와 비교하여 Treg 세포에 대한 ADCC 활성을 선택적으로 매개하였고(도 12a), 비푸코실화된 변이체는 증가된 ADCC 활성을 입증하였다. 유사하게, CCR8 mAbs Afuc.hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab5.H13L1은 통상적인 CD4 T 세포(도 12d)와 비교하여 Treg 세포에 대한 ADCC 활성을 선택적으로 매개하였고(도 12c), 비푸코실화된 변이체는 증가된 ADCC 활성을 입증하였다.

도 13a-도 13d는 인간 해리된 신장 세포 암종(RCC) 세포를 비푸코실화, 푸코실화(hIgG1), 및 비푸코실화된 동형 대조군 mAb("gD.afuc") 및 일차 NK 세포와 함께 이펙터 세포로서 인큐베이션하였을 때, 통상적인 CD4 T 세포와 비교하여 Treg 세포에 대한 선택적 ADCC 활성을 도시한다. Treg 세포에 대한 ADCC 활성은 회수된 Treg 세포 대 회수된 CD8 세포의 비(Treg/CD8) 또는 통상적인 CD4 T 세포 대 회수된 CD8 T 세포의 비(CD4conv/CD8)를 계산하여 측정하였다. CCR8 mAbs Afuc.hu.Ab4.H12L3 및 hu.Ab4.H12L3은 통상적인 CD4 T 세포(도 13b)와 비교하여 Treg 세포에 대한 ADCC 활성을 선택적으로 매개하였고(도 13a), 비푸코실화된 변이체는 증가된 ADCC 활성을 입증하였다. 유사하게, CCR8 mAbs Afuc.hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab5.H13L1은 통상적인 CD4 T 세포(도 13d)와 비교하여 Treg 세포에 대한 ADCC 활성을 선택적으로 매개하였고(도 13c), 비푸코실화된 변이체는 증가된 ADCC 활성을 입증하였다.

도 14a-도 14e는 HR/FF(도 14a), RR/FF(도 14b), HR/VF(도 14c), 및 RR/VF(도 14d)의 FcgRIIa(H131R)/FcgRIIa(V158F) 유전자형을 갖는 4개의 상이한 공여체로부터의 CD14⁺ 단핵구-유래 대식세포에서 비푸코실화된 항-CCR8 mAbs Afuc.hu.Ab5.H13L1 및 Afuc.hu.Ab4.H12L3이 푸코실화된 mAbs hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab4.H12L3에 비해 향상된 ADCC 활성을 도시하고, 또한 인간화 항-인간 요시다 항-CCR8 항체(도 14e)에 비해 ADCC 활성에서 3-4배 개선을 도시한다. 활성 데이터가 또한 실시예에서 제공된다.

도 15a-도 15d는 HR/FF(도 15a), RR/FF(도 15b), HR/VF(도 15c) 및 RR/VF(도 15d)의 유전자형의

FcγRIIa(H131R)/FcγRIIIa(V158F) 유전자형을 갖는 4개의 상이한 공여체로부터의 CD14⁺ 단핵구-유래 대식세포에서 비푸코실화된 항-CCR8 mAb **Afuc.hu.Ab5.H13L1**은 FcγRIIa-항상된 G236A.I332E 변이체 **Afuc.hu.Ab5.H13L1.G236A.I332E**와 비교하여 유사한 개선된 ADCP 활성을 나타냄을 도시한다.

도 16a-도 16b는 **hu.Ab5.H13L1(도 16a)** 및 **hu.Ab4.H12L3(도 16b)** mAb에 대한 에피토프 맵을 도시한다. C-말단 FLAG 태그를 갖는 hCCR8에서 위치 2-24에서의 개별 알려진 점 돌연변이에 대해 암호화하는 구조체가 생성된 **도 16a**에 도시된 바와 같이, **hu.Ab5.H13L1**은 D2A, Y3A, L5A 및 D6A에 결합하지 않는데, 이는 에피토프가 적어도 인간 CCR8 N-말단의 DYTLD 영역을 포함한다는 것을 나타낸다. hCCR8의 상이한 세포의 영역이 C-말단 FLAG 태그를 갖는 CCR5로부터의 상응하는 영역으로 대체된 인간 CCR8.CCR5 키메라(N-말단1, N-말단2, ECL1, ECL2 및 ECL3)에 대하여 암호화하는 구조체가 생성된 **도 16b**에 나타난 바와 같이, **hu.Ab4.H12L3**은 ECL1 및 ECL2 키메라에 결합하지 않음으로써, 이 항체에 대한 에피토프가 적어도 CCR8.huCCR8 N-말단:MDYTLDLSVTTVTDTYYYYPDIFSSP(서열번호 110)의 ECL1 및 ECL2 영역을 포함한다는 것을 나타낸다.

도 17a-도 17i는 단일 용량의 0.003 내지 5 mg/kg 사이의 농도 증가를 갖는 대리 마우스 항-CCR8 mAb의 주사 후 3일차에 CT26 종양-함유 마우스에서 종양의 Treg 세포(CD45⁺ 백혈구를 갖는 Treg 세포의 분획으로서 측정됨)(**도 17a**)의 점진적인 고갈을 도시하지만, 비장(**도 17b**) 또는 종양-배액 림프절(**도 17c**)의 경우에는 그렇지 않음을 도시한다. 항-CCR8 mAb 처리는 CD4 통상적인 T 세포(**도 17d-도 17f**) 또는 CD8 T 세포 고갈(**도 17g-도 17i**)을 발생시키지 않았다. 동형 대조군 항체(항-gp120)를 사용하였다.

도 18a-도 18d는 항-CD25 mAb(**도 18d**) 또는 동형 대조군 mAb(항-gp120)(**도 18a**)를 사용한 치료와 비교하여 확립된 CT26 동계 종양을 갖는 마우스에서 단일 용량(**도 18b**) 또는 매주 2회 대리 마우스 항-CCR8 mAb 투약(**도 18c**)을 사용한 치료 후의 종양 성장 억제를 도시한다. 종양이 150-250 mm³ 사이의 부피에 도달했을 때 치료가 시작되었다. 종양 부피는 시간에 따라 측정한다 회색 선은 개별 마우스를 나타내고, 검은색 선은 군 적합을 나타낸다.

도 19a-도 19e는 종양 접종시(**도 19b**) 또는 종양이 150-250 mm³에 도달했을 때(**도 19d**) 투여된 효과기-적격 대리 마우스 항-CCR8 mAb에 의해 관찰된 CT26 종양의 성장 억제를 도시한다. 동일한 리간드-차단 항-CCR8 mAb의 효과기-비적격 LALAPG 변이체에 의한 종양 성장 억제는 관찰되지 않았다(**도 19c 및 도 19e**). 종양 부피는 시간에 따라 측정한다 회색 선은 개별 마우스를 나타내고, 검은색 선은 군 적합을 나타낸다. 동형 대조군 mAb(항-gp120)를 사용하였다(**도 19a**).

도 20a-도 20d는 대리 마우스 항-CCR8 mAb 및 항-PDL1 mAb의 조합(**도 20d**)이 항-CCR8 mAb 단독(**도 20b**) 또는 항-PDL1 mAb 단독(**도 20c**)보다 EMT6 종양의 성장 억제에 예상치 못하게 더 효과적임을 도시한다. 종양이 150-250 mm³에 도달할 때 치료가 시작되었다. 종양 부피는 시간에 따라 측정한다 회색 선은 개별 마우스를 나타내고, 검은색 선은 군 적합을 나타낸다. 동형 대조군 mAb(항-gp120)를 사용하였다(**도 20a**).

도 21는 단일 용량 10 mg/kg IV 볼루스 주사 후 시노몰구스 원숭이에서 항-gD(대조군) 및 시험 항-CCR8 mAb **Afuc.hu.Ab5.H13L1** 및 **Afuc.hu.Ab4.H12L3**의 혈청 약동학적 프로파일(평균±SD)을 도시한다. **Afuc.hu.Ab5.H13L1**은 투약 후 35일 기간에 걸쳐 원하는 지속된 혈청 농도 수준을 나타내었으며, 이는 더 나은 항암 활성 및 덜 빈번한 투약으로 바뀔 수 있는 더 지속적인 표적 참여를 유도할 것으로 예상된다.

도 22a-도 22c는 정맥내 주사를 통해 10 mg/kg의 비푸코실화된 항-gD(대조군; 군 1, 1001, 1002, 1003으로 지정됨; **도 22a**), **Afuc.hu.Ab5.H13L1**(군 2, 2001, 2002, 2003으로 지정됨; **도 22b**), 또는 **Afuc.hu.Ab4.H12L3**(군 3, 3001, 3002, 3003으로 지정됨; **도 22c**)이 투여된 9마리의 수컷 시노의 총 Treg 세포 수에 대한 전혈 유세포 분석의 결과를 도시한다. 시험 항-CCR8 mAb 둘 모두는 투약 후 최대 840시간 동안 전혈에서 총 T-reg 세포 절대 수를 실질적으로 감소시키지 않았다.

도 23a-도 23i는 비푸코실화된 항-gD가 투여된 9마리의 수컷 시노의 CCR8+FoxP3⁺ Treg 세포의 환원에 대한 전혈 유세포 분석의 결과를 도시한다(대조군; 군 1, 1001(**도 23a**), 1002(**도 23b**), 1003(**도 23c**)으로 지정됨)) **Afuc.hu.Ab4.H12L3**(도 3, 3001(**도 23d**)으로 지정됨), 3002(**도 23e**), 3003(**도 23f**), 또는 **Afuc.hu.Ab5.H13L1**(도 2, 2001(**도 23g**)으로 지정됨), 2002(**도 23h**), 2003(**도 23i**)으로 지정됨). 투약 전("예비-연구") 뿐만 아니라 1 일차에 0시간("예비-투여") 동안 각각의 동물로부터 혈액을 수집하였다. 이어서, 각각의 동물에게 정맥내 주사를 통해 10 mg/kg의 비푸코실화된 항-gD(대조군), **Afuc.hu.Ab5.H13L1**(군 2) 또는 **Afuc.hu.Ab4.H12L3**(도 3)의 단일 용량을 투여하였다. 그런 다음, 동물로부터 혈액을 수집하고, 유동 세포측정 분석 전에 하기의 처리를 적

용하였다: (i) 시험 CCR8 mAb("첨가 없음")를 첨가하지 않은 혈액 샘플, (ii) Afuc.hu.Ab5.H13L1의 포화 농도를 추가로 첨가한 혈액 샘플 및 (iii) Afuc.hu.Ab4.H12L3의 포화 농도를 추가로 첨가한 혈액 샘플. 첨가되지 않은 샘플 및 첨가된 샘플 각각을 후속적으로 표지된 염소 항-인간 IgG 항체로 처리하고 유동 세포측정법에 의해 분석하였다. 도 23a-도 23c에서 알 수 있는 바와 같이, 초기에 대조군(군 1)으로 처리되었지만 첨가되지 않은 혈액의 유동 세포측정은 총 CCR8+ T-reg 세포의 조절을 나타내지 않았다. 또한, 첨가된 혈액의 유동 세포측정은 또한 총 CCR8+ T-reg 세포 수에 매우 적은 영향을 미쳤다. 군 3에 관하여, 도 23d-도 23f에서 알 수 있는 바와 같이, 3마리 동물 각각에서 분석된 혈액의 유동 세포측정은 투여 후 168시간까지 CCR8+ T-reg 세포에서 감소를 입증하였다. 군 2에 관하여, 도 23g-도 23i에서 알 수 있는 바와 같이, 분석된 혈액의 유동 세포측정법은 동물 2002 및 2003에서 CCR8+ T-reg 세포의 감소를 입증하였다. 군 2 및 군 3의 동물 모두가 전체 Treg 세포 수에 거의 또는 전혀 영향을 미치지 않는 것으로 입증되었으나(도 22a-도 22c), 투여 후 첨가되거나 첨가되지 않은 말초 혈액 CCR8+ T-reg 세포의 수가 감소한 것으로 입증되었으며(도 23d-도 23i), 이는 제안된 작용 기전과 일치한다(도 2a를 참조).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 정의

본원의 목적에 있어서 "수용자 인간 프레임워크"는 아래에 정의된 바와 같이, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크로부터 유래된 경쇄 가변 도메인(VL) 프레임워크 또는 중쇄 가변 도메인(VH) 프레임워크의 아미노산 서열을 포함하는 프레임워크이다. 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크"로부터 유래된" 수용자 인간 프레임워크는 이의 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있거나, 또는 이는 아미노산 서열 변화를 포함할 수 있다. 일부 양태들에서, 아미노산 변화의 개수는 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하, 또는 2개 이하이다. 일부 양태들에서, VL 수용자 인간 프레임워크는 VL 인간 면역글로불린 프레임워크 서열 또는 인간 공통 프레임워크 서열과 서열에서 동일하다.

"친화도"는 분자(예컨대, 항체)의 단일 결합 부위 및 이의 결합 상대(예컨대, 항원) 사이에 비공유 상호작용의 총계의 강도를 지칭한다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에서 사용된 바와 같이, "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성원들(예컨대, 항체 및 항원) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 고유 결합 친화도를 말한다. 분자 X의 그 짝 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수(K_D)로 나타낼 수 있다. 친화도는 본원에 기재된 것을 포함하여 해당 분야에 공지된 일반적인 방법에 의해 측정할 수 있다. 결합 친화도를 측정하기 위한 구체적인 설명적 및 예시적 방법이 본원에 기재되어 있다.

"친화성 성숙된" 항체는 변형을 갖지 않는 부모 항체와 비교하여, 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)에서 하나 이상의 변형을 갖는 항체를 지칭하는데, 이러한 변형은 항원에 대한 항체의 친화성에서 개선을 발생시킨다.

용어 "항-CCR8 항체" 및 "CCR8에 결합하는 항체"는 항체가 CCR8를 표적으로 하는 데 있어서 진단 시약 및/또는 치료제로서 유용할 만큼 충분한 친화성으로 CCR8에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 일 양태에서, 관련 없는 비 CCR8 단백질에 대한 항-CCR8 항체의 결합 정도는, 예컨대, 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해 측정될 때 CCR8에 대한 상기 항체의 결합의 약 10%보다 적다. 특정 양태들에서, CCR8에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 nM$, $\leq 10 nM$, $\leq 1 nM$, $\leq 0.1 nM$, $\leq 0.01 nM$, 또는 $\leq 0.001 nM$ (예를 들어, $10^{-8} M$ 이하, 예를 들어, $10^{-13} M$ 내지 $10^{-8} M$, 예를 들어, $10^{-13} M$ 내지 $10^{-9} M$)의 해리 상수 (K_D)를 갖는다. 특정 양태들에서, CCR8에 결합하는 항체는 약 $1 \times 10^{-12} M$ 내지 약 $1 \times 10^{-10} M$, 약 $1 \times 10^{-12} M$ 내지 약 $1 \times 10^{-11} M$, 또는 약 $1 \times 10^{-11} M$ 내지 약 $5 \times 10^{-11} M$ 의 K_D 를 갖는다. 특정 양태들에서, CCR8에 결합하는 항체는 약 $2 \times 10^{-11} M$ 의 K_D 를 갖는다. 특정 양태들에서, CCR8에 결합하는 항체는 약 $5 \times 10^{-12} M$ 의 K_D 를 갖는다. 항체는 항체가 $1 \mu M$ 이하의 K_D 를 가질 때 CCR8에 "특이적으로 결합하는" 것으로 일컬어진다. 특정 구현예들에서, 항-CCR8 항체는 적어도 2개의 상이한 중(예를 들어, 인간 및 시노)에서 CCR8의 에피토프에 결합한다.

본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미에서 사용되고, 단일클론 항체, 다중클론 항체, 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체), 및 항체 단편(이들이 원하는 항원 결합 활성을 나타내기만 하면)을 포함하지만 이들에 제한되지 않는 다양한 항체 구조를 포괄한다.

"항체 단편"은 이에 원형 항체가 결합하는 항원에 결합하는 원형 항체의 부분을 포함하는, 원형 항체 이외의 분

자를 지칭한다. 항체 단편의 예로는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단일쇄 항체 분자(예컨대, scFv, 및 scFab); 단일 도메인 항체들(dAbs); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 특정 항체 단편에 관한 검토를 위해, Holliger and Hudson, *Nature Biotechnology* 23:2005-1136 (1126)을 참조한다.

[0199] 용어 "에피토프"는 항-CCR8 항체가 결합하는, 단백질성 또는 비단백질성 중 어느 한 가지인 항원 상에서 부위를 표시한다. 에피토프는 인접한 아미노산 스트레치들 모두(선형 에피토프)로부터 형성될 수 있거나, 예를 들어, 항원의 접힘으로 인해, 즉, 단백질성 항원의 3차 접힘에 의해 공간적으로 근접하게 되는 비연속 아미노산(입체형 에피토프)을 포함할 수 있다. 선형 에피토프는 전형적으로, 변성제에 대한 단백질성 항원의 노출 이후에도 항-CCR8 항체에 의해 여전히 결합되는 반면, 입체형태적 에피토프는 전형적으로, 변성제로 처리 시에 파괴된다. 에피토프는 독특한 공간 형태로 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 10, 적어도 15, 적어도 20, 적어도 30, 또는 적어도 35, 또는 3-25, 3-20, 3-15, 3-10, 3-5, 30-40, 35-40, 또는 5-10개의 아미노산을 포함한다.

[0200] 특정 에피토프에 결합하는 항체(즉, 동일한 에피토프에 결합하는 항체)에 대한 선별 검사는, 예컨대, 제한 없이, 알려진 선별검사, 펩티드 블롯(예를 들어, Kobeissy *et al.*, *Meth. Mol. Biol.* (2004) 248: 443-463), 펩티드 절단 분석, 에피토프 절제, 에피토프 추출, 항원의 화학적 변형(Hochleitner *et al.*, *Prot. Sci.* 9 (2000) 487-496을 참조), 및 교차 차단("Antibodies", Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY를 참조)과 같은 당업계의 일반적인 방법을 사용하여 실시할 수 있다.

[0201] 변형 보조 프로파일링(MAP)으로서 또한 공지된 항원 구조 기반 항체 프로파일링(ASAP)은 화학적으로 또는 효소적으로 변형된 항원 표면에 대한 군집으로부터 획득된 항체 각각의 결합 프로필에 근거하여, CCR8에 특이적으로 결합하는 다수의 단일클론 항체를 비닝하는 것을 가능하게 한다(예를 들어, US 2004/0101920을 참조). 각 빈의 항체는 동일한 에피토프에 결합하는데, 이는 다른 다른 빈으로 나타내어지는 에피토프와 뚜렷하게 상이하거나 부분적으로 중첩되는 독특한 에피토프일 수 있다.

[0202] 또한 경쟁적 결합이 항체가 참조 항-CCR8 항체와 동일한 CCR8의 에피토프에 결합하거나, 또는 참조 항-CCR8 항체와 결합에 대해 경쟁하는지를 쉽게 결정하는 데 이용될 수 있다. 예를 들어, 참조 항-CCR8 항체와 "동일한 에피토프에 결합하는 항체"는 경쟁 검정에서 이의 항원에 대한 참조 항-CCR8 항체의 결합을 50% 이상 차단하는 항체를 지칭하고, 이와 반대로, 참조 항체는 경쟁 검정에서 이의 항원에 대한 항체의 결합을 50% 이상 차단한다. 또한 예를 들어, 항체가 참조 항-CCR8 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지를 결정하기 위해, 참조 항체는 포화 조건하에 CCR8에 결합하도록 허용된다. 과량의 기준 항-CCR8 항체를 제거한 후, 문제의 항-CCR8 항체가 CCR8에 결합하는 능력을 평가한다. 상기 항-CCR8 항체가 기준 항-CCR8 항체의 포화 결합 후에 CCR8에 결합할 수 있다면, 문제의 항-CCR8 항체가 기준 항-CCR8 항체와 상이한 에피토프에 결합한다고 결론지을 수 있다. 하지만, 만약 문제되는 항-CCR8 항체가 참조 항-CCR8 항체의 포화 결합 후 CCR8에 결합할 수 없으면, 문제되는 항-CCR8 항체는 참조 항-CCR8 항체에 의해 결합된 에피토프와 동일한 에피토프에 결합할 수 있다. 문제의 항체가 동일한 에피토프에 결합하는지 또는 입체적인 이유로 인해 결합이 방해받는지 확인하기 위해 관례적인 실험을 사용할 수 있다(예를 들어, ELISA, RIA, 표면 플라즈몬 공명, 유세포 분석 또는 당업계에서 입수가 가능한 기타 정량적 또는 정성적 항체-결합 검정). 상기 분석은 두 가지 설정, 즉, 두 항체가 모두 포화 항체인 상태에서 실시되어야 한다. 만약 양쪽 설정에서, 단지 제1(포화) 항체만 CCR8에 결합할 수 있으면, 문제되는 항-CCR8 항체 및 참조 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합에 대해 경쟁하는 것으로 결론지을 수 있다.

[0203] 일부 양태들에서, 하나의 항체의 1배, 5배, 10배, 20배 또는 100배의 과잉이 다른 항체의 결합을 적어도 50%, 적어도 75%, 적어도 90%, 또는 심지어 99% 이상 억제하는 경우 2개의 항체는 동일하거나 중첩되는 에피토프에 결합하는 것으로 간주된다(예컨대, Junghans *et al.*, *Cancer Res.* 50 (1990) 1495-1502를 참조).

[0204] 일부 양태들에서, 하나의 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 항원 내의 본질적으로 모든 아미노산 돌연변이가 또한 다른 하나의 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 경우, 2개의 항체는 동일한 에피토프에 결합하는 것으로 간주된다. 한 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 아미노산 돌연변이의 하위집합만이 다른 하나의 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 경우, 2개 항체는 "중복되는 에피토프"를 갖는 것으로 간주된다.

[0205] 용어 "키메라" 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부분이 특정 공급원 또는 종으로부터 유래되고, 반면 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지 부분이 상이한 공급원 또는 종으로부터 유래되는 항체를 지칭한다.

[0206] 항체의 "부류"는 이의 중쇄에 의해 소유된 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 항체에는 5가지 주

요 분류가 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM, 그리고 이들 중 몇몇은 하위부류(동형), 예컨대, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, 및 IgA₂로 추가로 세분화될 수 있다. 특정 양태들에서, 항체는 IgG₁ 동형이다. 특정 양태들에서, 항체는 Fc-영역 효과기 기능을 감소시키는 P329G, L234A 및 L235A 돌연변이를 갖는 IgG₁ 동형이다. 다른 양태들에서, 항체는 IgG₂ 동형이다. 특정 양태들에서, 항체는 IgG₄ 항체의 안정성을 개선하기 위해 힌지 영역 내 S228P 돌연변이를 갖는 IgG₄ 동형이다. 면역글로불린의 상이한 부류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각, α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 불린다. 항체의 경쇄는 이의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라 카파(κ) 및 람다(λ)라고 하는 두 가지 유형 중 하나로 지정될 수 있다.

[0207] 본 출원에서 사용되는 용어 "인간 기원으로부터 유래된 불변 영역" 또는 "인간 불변 영역"은 하위부류 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 또는 IgG₄의 인간 항체의 불변 중쇄 영역 및/또는 불변 경쇄 카파 또는 람다 영역을 표시한다. 이러한 불변 영역은 당업계에 일반적으로 공지되어 있으며, 예를 들어, Kabat, E.A., *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)에 기재되어 있다(또한, 예를 들어, Johnson, G., and Wu, T.T., Nucleic Acids Res. 28 (2000) 214-218; Kabat, E.A., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72 (1975) 2785-2788을 참조). 본원에서 달리 특정되지 않으면, 불변 영역 내 아미노산 잔기의 넘버링은 Kabat, E.A. *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991), NIH Publication 91-3242에 기재된 바와 같이 카바트의 EU 인덱스로도 불리는 EU 넘버링 시스템에 따른다.

[0208] "효과기 기능"은 항체의 Fc 영역에 기인한 생물학적 활성을 지칭하는데, 이들은 항체 동형에 따라서 가변된다. 항체 효과기 기능의 예로는 다음이 포함된다: C1q 결합 및 보체 의존적 세포독성(CDC); Fc 수용체 결합; 항체 의존적 세포 매개된 세포독성(ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체의 하향 조절(예컨대, B 세포 수용체); 및 B 세포 활성화.

[0209] 작용제, 예컨대, 약학적 조성물의 "유효량"은 원하는 치료적 또는 예방적 결과를 달성하는 데 필요한 용량에서 및 기간 동안 효과적인 양을 지칭한다.

[0210] 본원에서 용어 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 포함하는, 면역글로불린 중쇄의 C 말단 영역을 정의하는데 이용된다. 상기 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 일 양태에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226, 또는 Pro230에서 중쇄의 카르복실-말단까지 연장된다. 하지만, 숙주 세포에 의해 생성된 항체는 중쇄의 C-말단으로부터 하나 이상, 특히 1개 또는 2개의 아미노산의 번역후 절단을 거칠 수 있다. 따라서, 전장 중쇄를 암호화하는 특이적 핵산 분자의 발현에 의해 숙주 세포에 의해 생성되는 항체는 전장 중쇄를 포함할 수 있거나, 또는 이는 전장 중쇄의 개열된 변이체를 포함할 수 있다. 이는 중쇄의 최종 2개의 C-말단 아미노산이 글리신(G446) 및 리신(K447, EU 넘버링 시스템)인 경우에 그러할 수 있다. 따라서, Fc 영역의 C-말단 리신(Lys447), 또는 C-말단 글리신(Gly446) 및 리신(Lys447)은 존재하거나 존재하지 않을 수 있다. 일 양태에서, 본 발명에 따른 항체 내 포함된, 본원에서 특정된 바와 같은 Fc 영역을 포함하는 중쇄는 추가의 C-말단 글리신-리신 디펩티드(G446 및 K447, EU 넘버링 시스템)를 포함한다. 일 양태에서, 본 발명에 따른 항체 내 포함된, 본원에서 특정된 바와 같은 Fc 영역을 포함하는 중쇄는 추가의 C-말단 글리신 잔기(G446, EU 인덱스에 따른 넘버링)를 포함한다. 본원에서 다르게 명시되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역에서 아미노산 잔기의 넘버링은 Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991에 기재된 바와 같이 EU 인덱스라고도 하는 EU 넘버링 시스템에 따른다.

[0211] "프레임워크" 또는 "FR"은 상보성 결정 영역(CDR) 이외에 가변 도메인 잔기를 지칭한다. 가변 도메인의 FR은 일반적으로 4개의 FR 도메인들로 구성된다: FR1, FR2, FR3, 및 FR4. 이에 따라, CDR 및 FR 서열들은 일반적으로 VH(또는 VL)에서 다음의 순서로 나타난다: FR1-CDR-H1(CDR-L1)-FR2- CDR-H2(CDR-L2)-FR3- CDR-H3(CDR-L3)-FR4.

[0212] 용어 "전장 항체", "원형 항체" 및 "전체 항체"는 선천적 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖는 또는 본원에 정의된 바와 같은 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환가능하게 이용된다. 전장 항체는 본원에 정의된 바와 같은 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인, 및 본원에 정의된 바와 같은 Fc 영역을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0213] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주", 및 "숙주 세포 배양물"은 상호교환적으로 이용되며, 내부에 외인성 핵산이 도입되어 있는 세포를 지칭하고 이러한 세포들의 자손을 포함한다. 숙주 세포에는 "형질전환체" 및 "형질전환된

세포"가 포함되는데, 이들은 일차 형질전환된 세포 및 계대(passage)의 횟수에 상관없이, 이로부터 유래된 자손을 포함한다. 자손은 핵산 함량에서 부모 세포와 완전하게 동일하지 않을 수도 있지만, 돌연변이를 포함할 수도 있다. 최초 형질전환된 세포에 대해 스크리닝되거나 선별된 것과 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손은 본원에 포함된다.

- [0214] "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 생성되거나, 또는 인간 항체 레퍼토리 또는 다른 인간 항체-암호화 서열을 활용하는 비인간 공급원으로부터 유래된 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 소유하는 것이다. 인간 항체의 이러한 정의는 비인간 항원 결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 특이적으로 배제한다.
- [0215] "인간 공통 프레임워크"는 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택에서 가장 흔히 발생하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 유래된다. 일반적으로, 서열들의 하위군은 Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3에서와 같은 하위군이다. 일 양태에서, VL의 경우에, 하위군은 상기 Kabat *et al.*에서와 같은 하위군 카파 I이다. 일 양태에서, VH의 경우에, 하위군은 상기 Kabat *et al.*에서와 같은 하위군 III이다.
- [0216] "인간화" 항체는 비인간 CDR로부터 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 지칭한다. 특정 양태들에서, 인간화 항체는 적어도 1개, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것인데, 여기서 CDR의 전부 또는 실질적으로 전부가 비인간 항체의 것들에 상응하고, FR의 전부 또는 실질적으로 전부가 인간 항체의 것들에 상응한다. 인간화 항체는 선택적으로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들어, 비인간 항체의 "인간화 형태"는 인간화를 겪은 항체를 지칭한다.
- [0217] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열에서 초가변성이고 항원 결합 특이성을 결정하는 항체 가변 도메인의 각 영역, 예를 들어, "상보성 결정 영역"("CDR")을 지칭한다.
- [0218] 특정 양태들에서, 항체는 6개의 CDR을 포함한다: VH에서 3개(CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3), 및 VL에서 3개(CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). 특정 양태들에서, 6개의 CDR을 포함하는 항체는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 6개의 CDR을 포함하는 항체는 항체 단편이다.
- [0219] 본원에서 예시적인 CDR은 하기를 포함한다:
- [0220] (a) 아미노산 잔기 26-32(L1), 50-52(L2), 91-96(L3), 26-32(H1), 53-55(H2), 및 96-101(H3)에서 발생하는 초가변 루프(Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987));
- [0221] (b) 아미노산 잔기 24-34(L1), 50-56(L2), 89-97(L3), 31-35b(H1), 50-65(H2), 및 95-102(H3)에서 발생하는 CDR(Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)); 및
- [0222] (c) 아미노산 잔기 27c-36(L1), 46-55(L2), 89-96(L3), 30-35b(H1), 47-58(H2), 및 93-101(H3)에 나타나는 항원 접촉(MacCallum *et al.* *J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996)).
- [0223] 달리 명시되지 않는 한, CDR들은 상기 Kabat *et al.* 및 상기 코티아(Chothia)의 문헌에 따라 결정된다. 당업자는 CDR 표시가 또한 상기 McCallum의 문헌, 또는 임의의 다른 과학적으로 허용되는 명명법에 따라 결정될 수 있음을 이해할 것이다.
- [0224] 일 양태에서, CDR 잔기는 도 5a-도 5d 및 도 6a-도 6d 및 표 C1, C2, D1 및 D2에서 확인된 것들을 포함한다. 다른 양태들에서, CDR 잔기는 표 N1, N2, O1, 및 O2에서 확인된 것들을 포함한다.
- [0225] "대상체"는 포유동물이다. 포유동물에는 가축(예컨대, 소, 양, 고양이, 개 및 말), 영장류(예컨대, 인간 및 비인간 영장류, 예컨대, 원숭이), 토끼, 및 설치류(예컨대, 마우스 및 랫트)가 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다. 일부 양태들에서, 대상체는 인간이다.
- [0226] "단리된" 항체는 이의 자연 환경의 구성요소로부터 분리된 것이다. 일부 양태들에서, 항체는, 예를 들어, 전기영동(예: SDS-PAGE, 등전위 초점조절(IEF), 모세관 전기이동) 또는 크로마토그래피(예: 이온 교환 또는 역상 HPLC) 방법에 의해 측정되었을 때 95% 또는 99% 순도를 초과하여 정제된다. 항체 순도를 평가하는 방법들을 검토하려면, 예컨대, Flatman *et al.*, *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007)을 참조한다.
- [0227] 용어 "핵산 분자" 또는 "폴리뉴클레오타이드"는 뉴클레오타이드의 중합체를 포함하는 임의의 화합물 및/또는 물질을

포함한다. 각 뉴클레오티드는 염기, 특히 퓨린- 또는 피리미딘 염기(즉, 시토신(C), 구아닌(G), 아데닌(A), 티민(T) 또는 우라실(U)), 당(즉, 데옥시리보스 또는 리보스) 및 포스페이트 기로 구성된다. 종종, 핵산 분자는 염기 서열로 기재되며, 이 염기는 핵산 분자의 1차 구조(선형 구조)를 나타낸다. 염기의 서열은 전형적으로 5'에서 3'로 나타낸다. 본원에서, 용어 핵산 분자는, 예를 들어, 상보적 DNA(cDNA) 및 유전체 DNA를 포함한 데옥시리보핵산(DNA), 리보핵산(RNA), 특히, 전령 RNA(mRNA), DNA 또는 RNA의 합성 형태들, 그리고 둘 이상의 이러한 분자들을 포함하는 혼합 중합체를 포함한다. 핵산 분자는 선형 또는 원형일 수 있다. 이에 더하여, 용어 핵산 분자는 센스와 안티센스 가닥뿐만 아니라 단일 가닥과 이중 가닥 형태 둘 모두를 포함한다. 게다가, 본원에 기재된 핵산 분자는 자연 발생 또는 비-자연 발생 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 비-자연 발생 뉴클레오티드의 예는 유도된 당 또는 포스페이트 골격 연쇄 또는 화학적으로 변형된 잔기를 갖는 변형된 뉴클레오티드 염기를 포함한다. 핵산 분자는 또한, 시험관내에서 및/또는 생체내에서, 예를 들면, 숙주 또는 대상체에서 본원에 기재된 항체의 직접적인 발현을 위한 벡터로서 적합한 DNA와 RNA 분자를 포괄한다. 이러한 DNA(예를 들어, cDNA) 또는 RNA(예를 들어, mRNA) 벡터는 비변형 또는 변형될 수 있다. 예를 들어, mRNA는 RNA 벡터의 안정성 및/또는 암호화된 분자의 발현을 개선하기 위하여 화학적으로 변형될 수 있으며, 이러한 mRNA는 대상체에 주사되어 생체내에서 항체를 생성할 수 있다(예를 들어, 2017년 6월 12일 온라인으로 공개된 Stadler et al, Nature Medicine 2017, doi:10.1038/nm.4356 또는 EP 2 101 823 B1을 참조).

- [0228] "단리된" 핵산은 이의 자연 환경의 구성요소로부터 분리된 핵산 분자를 지칭한다. 단리된 핵산은 핵산 분자를 보통 포함하는 세포 안에 함유된 핵산 분자를 포함하지만, 상기 핵산 분자는 이의 자연 염색체 위치와는 상이한 염색체 위치에 존재하거나 또는 염색체외부에 존재한다.
- [0229] "항-CCR8 항체를 암호화하는 단리된 핵산"은 항-CCR8 항체 중쇄와 경쇄(또는 이들의 단편)를 암호화하는 하나 이상의 핵산 분자, 예컨대, 단일 벡터 또는 별개의 벡터에서 이러한 핵산 분자(들), 그리고 숙주 세포 내 하나 이상의 위치에서 존재하는 이러한 핵산 분자(들)를 지칭한다.
- [0230] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "단일클론 항체"는 실질적으로 동질성 항체의 모집단으로부터 획득된 항체를 지칭한다. 다시 말하면, 상기 모집단을 포함하는 개별 항체는, 예를 들어, 자연 발생 돌연변이를 내포하거나 또는 단일클론 항체 제조물의 생성 동안 발생하는 가능한 변이체 항체(이러한 변이체는 일반적으로 미량으로 존재한다)를 제외하고, 동일하고 및/또는 동일한 에피토프에 결합한다. 상이한 결정인자(에피토프)에 대해 지향된 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 다중클론 항체 제조물과 대조적으로, 단일클론 항체 제조물의 각 단일클론 항체는 항원 상에서 단일 결정인자에 대해 지향된다. 따라서, 수식어 "단일클론"은 항체의 실질적으로 동질성 모집단으로부터 획득되는 것으로서 항체의 특징을 표시하고, 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생성을 필요로 하는 것으로 해석되지 않는다. 예를 들어, 본 개시에 따른 단일클론 항체는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파지-디스플레이 방법, 그리고 인간 면역 글로불린 좌위의 전부 또는 일부를 포함하는 유전자삽입 동물을 활용하는 방법들을 포함하지만(이에 제한되지 않음) 다양한 기술에 의해 제조될 수 있으며, 이러한 방법 및 단일클론 항체를 제조하는 다른 예시적인 방법이 본원에 기재되어 있다.
- [0231] "네이키드(naked) 항체"는 이질성 모이어티(예컨대, 세포독성 모이어티) 또는 방사능표지에 접합되지 않은 항체를 나타낸다. 네이키드 항체는 약학적 조성물 내 존재할 수 있다.
- [0232] "선천적 항체"는 가변되는 구조를 갖는 자연 발생 면역글로불린 분자를 지칭한다. 예를 들어, 천연 IgG 항체는 이중사량체 당단백질로써, 약 150,000 달톤이며, 2개의 동일한 경쇄와 2개의 동일한 중쇄를 포함하며, 이들은 다이설파이드 결합에 의해 연결되어 있다. N-말단으로부터 C-말단으로, 각각의 중쇄는 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 도메인이라고도 불리는 가변 도메인(VH), 이어서 3개의 불변 중쇄 도메인(CH1, CH2, 및 CH3)을 갖는다. 유사하게, N-말단으로부터 C-말단으로, 각각의 경쇄는 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 도메인이라고도 불리는 가변 도메인(VL), 이어서 불변 경쇄(CL) 도메인을 갖는다.
- [0233] 용어 "포장 삽입물"은 치료 제품의 상업적인 패키지 내 통상적으로 포함되는 사용설명서를 지칭하는 데 이용되는데, 이는 이러한 치료 제품의 사용에 관련된 적응증, 용법, 용량, 투여, 병용 요법, 금기 및/또는 주의사항에 관한 정보를 포함한다.
- [0234] 참조 폴리펩티드 서열에 대하여 "퍼센트(%) 아미노산 서열 동일성"은 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해 서열을 정렬하고 필요하면, 갭을 도입한 후에, 그리고 정렬의 목적으로 임의의 보존성 치환을 서열 동일성의 일부로서 고려하지 않고, 참조 폴리펩티드 서열 내 아미노산 잔기와 동일한, 후보 서열 내 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 아미노산 서열 동일성 퍼센트를 결정하기 위한 정렬은 해당 분야의 기술 범위에 속하는 다양한 방식으로, 예를 들어, BLAST, BLAST-2, Clustal W, Megalign(DNASTAR) 소프트웨어 또는 FASTA 프로그램 패

키지와 같은 공개적으로 입수가 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 이루어질 수 있다. 당업자는 비교되는 서열들의 전체 길이에 걸쳐 최대 정렬을 구현하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여, 서열들을 정렬하기 위한 적절한 매개변수를 결정할 수 있다. 대안적으로, 동일성 퍼센트 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 사용하여 생성될 수 있다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 Genentech, Inc.에서 제작되었으며 소스 코드는 미국 워싱턴 D.C., 20559에 소재한 미국 저작권청에 사용자 문서와 함께 제출되었으며, 미국 저작권 등록 번호 TXU510087로 등록되었으며, WO 2001/007611에 기재되어 있다.

[0235] 달리 명시되지 않는 한, 본원의 목적을 위해 아미노산 서열 동일성 퍼센트 값은 FASTA 패키지 버전 36.3.8c 이상의 ggsearch 프로그램을 사용하여 또한 이후 BLOSUM50 비교 매트릭스를 사용하여 생성된다. 상기 FASTA 프로그램 패키지는 W. R. Pearson and D. J. Lipman (1988), "Improved Tools for Biological Sequence Analysis", *PNAS* 85:2444-2448; W. R. Pearson (1996) "Effective protein sequence comparison" *Meth. Enzymol.* 266:227- 258; 및 Pearson et. al. (1997) *Genomics* 46:24-36에 의해 제작되었으며, fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/fasta_down.shtml 또는 ebi.ac.uk/Tools/sss/fasta에서 공개적으로 입수 가능하다. 대안적으로, fasta.bioch.virginia.edu/fasta_ www2/index.cgi에서 액세스할 수 있는 공용 서버를 사용하여 ggsearch(global protein : protein) 프로그램 및 기본 옵션(BLOSUM50; open: -10; ext: -2; Ktup = 2)을 사용하여 서열을 비교함으로써 로컬이 아닌 글로벌 정렬이 실시되도록 할 수 있다. 아미노산 동일성 퍼센트는 출력 정렬 헤더에 제공된다.

[0236] 용어 "약학적 조성물" 또는 "약학적 제형"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되며, 이에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적일 발휘하도록 허용하는 형태이고, 해당 약학적 조성물이 투여되는 대상체에게 수용불가능한 독성을 주는 추가 성분들은 함유하지 않는다.

[0237] "약학적으로 허용되는 담체"는 대상체에게 비독성인, 약학적 조성물 또는 제형에서 활성 성분 이외의 성분을 지칭한다. 약학적으로 허용되는 담체에는 완충액, 부형제, 안정제 또는 보존제가 포함되지만 이들에 제한되지 않는다.

[0238] 본원에서 사용되는 용어 "CCR8"는 달리 명시되지 않는 한 영장류(예를 들어, 인간, 시노몰구스 원숭이("시노")) 및 설치류(예를 들어, 마우스 및 래트)와 같은 포유동물을 포함한 임의의 척추동물 출처로부터 얻은 임의의 천연 CCR8를 지칭한다. 이 용어는 "전장"의, 비처리 CCR8 뿐만 아니라 세포에서 처리된 임의의 형태의 CCR8를 포함한다. 상기 용어는 또한 CCR8의 자연 발생 변이체, 예를 들어, 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포함한다. 특정 양태들에서, CCR8는 인간 CCR8("hCCR8" 또는 "huCCR8")이다. 예시적인 인간 CCR8의 아미노산 서열은 하기의 표에 나타난 바와 같이 서열번호 106에 제시되어 있다. 특정 양태들에서, CCR8는 시노몰구스 원숭이("시노") CCR8이다. 예시적인 시노 CCR8의 아미노산 서열은 하기의 표에 나타난 바와 같이 서열번호 107에 제시되어 있다. 특정 양태들에서, CCR8는 마우스 CCR8("mCCR8")이다. 예시적인 마우스 CCR8의 아미노산 서열은 하기의 표에 나타난 바와 같이 서열번호 108에 제시되어 있다.

표 1

[0239]

예시적인 CCR8 서열	
설명	서열
인간 CCR8 서열번호 106	MDYTLDSLVTVTDDYYPDIFSSPCDAELIQTNGLKLLAVFYCLLFVFSLLGNSLVILVLVCKKLRISITDYLLNLA LSDLLFVFSFPFQTYLLDQWVFGTVMCKVVSFGYYIGFYSSMFFITLMSVDRYLAVVHAVYALKVVRTIRMGTTCLA VWLTAIMATIPLLVFYQVASEDGLVCYSFYNNQTLKWKIFTNFKMNLGLLIPFTIFMFCYIKILHQLKRCQNHNT KAIRLVLIIVIASLLFWVPFNVVFLFTSLHSMHILDGCSISQQLTYATHVTEISFTHCCVNPVIYAFVGEKFKKHL EIFQKSCSQIFNYLGRQMPRESCEKSSSCQHQHSSRSSVDYIL
시노 CCR8서열번호 107	MDYTLDPSTMTMTDYYPDLSLSPCDGELIQRNDKLLAVFYCLLFVFSLLGNSLVILVLVCKKLRNITDIYLLNLA LSDLLFVFSFPFQTYQLDQWVFGTVMCKVVSFGYYIGFYSSMFFITLMSVDRYLAVVHAVYAIKVRTIRMGTTSLV VWLTAIMATIPLLVFYQVASEDGLVCYSFYNNQTLKWKIFTNFEMNIGLLIPFTIFMFCYIKILHQLKRCQNHNT KAIRLVLIIVIASLLFWVPFNVVFLFTSLHSMHILDGCSISQQLNYATHVTEISFTHCCVNPVIYAFVGEKFKKHL EIFQKSCSHIFLYLGRQMPRESCEKSSSCQHQHSSRSSIDYIL
마우스 CCR8서열번호 108	MDYTMENVTMTDYYPDFFTAQDAEFLRGSMLYLAILYCVFLVGLLGNLSVILVLVCKKLRISITDIYLLNLAAS DLLFVLSIPFQTHNLLDQWVFGTAMCKVVSGLYYIGFYSSMFFITLMSVDRYLAVVHAVYAIKVRTASVGTALSLTVW LAAVTATIPLMVFYQVASEDGLVCYFQYEEQSLRWKLFTHFEINALGLLLPFAILLFCYVIRILQQLRGCLNHNRTA IKLVLTVVIVSLLFWVPFNVVFLFTSLHDLHILDGCATRQLALAIHVTEISFTHCCVNPVIYAFVGEKFKKHLMDV FQKSCSHIFLYLGRQMPVGALEQLSSNQSSSHSTLDDIL

[0240] 본원에서 사용된 바와 같이, "치료"(및 이의 문법적 변형, 예컨대 "치료하다" 또는 "치료하는")는 치료되는 대

상체에서 질병의 자연 경과를 변경하려는 시도에서 임상적 개입을 지칭하고, 임상 병리의 예방을 위해 또는 임상 병리의 경과 동안 실시할 수 있다. 바람직한 치료 효과에는 증상의 경감, 질병의 임의의 직접적인 또는 간접적인 병리학적 결과의 축소, 암의 전이 예방, 질병 진행의 속도 감소, 질병 상태의 개선 또는 완화, 및 관해 또는 개선된 예후가 포함되지만, 이에 제한되지 않는다. 예방 치료의 바람직한 효과는 질병의 발생 또는 재발의 방지를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예들에서, 본원에 개시된 항체는 질병의 발병을 지연시키거나 질병의 진행을 늦추는 데 사용된다.

[0241] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체를 항원에 결합시키는 데 관련되는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 선천적 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인(각각, VH 및 VL)은 일반적으로 유사한 구조를 갖는데, 각 도메인이 4개의 보존된 프레임워크 영역(FR) 및 3개의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. (예를 들어, Kindt *et al. Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)을 참조.) 단일 VH 또는 VL 도메인은 항원-결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 더욱이, 특정 항원에 결합하는 항체는 상보성 VL 또는 VH 도메인의 라이브러리를 스크리닝하기 위하여 항원에 결합하는 항체의 VH 또는 VL 도메인을 이용하여 단리될 수 있다. 예를 들어, Portolano *et al.*, *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson *et al.*, *Nature* 352:624-628 (1991)을 참조한다.

[0242] 본원에 사용된 용어 "백터"는 이것이 연결되는 다른 핵산을 증식시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 이 용어에는 자가-복제 핵산 구조체로서의 백터 그리고 그것이 도입되는 숙주 세포의 유전체에 통합된 백터가 포함된다. 특정 백터는 이에 작동가능하게 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 백터는 본원에서 "발현 백터"로 지칭된다.

[0243] II. 조성물 및 방법

[0244] 일 양태에서, 본 개시는 부분적으로, CCR8에 대한 독특하고 개선된 결합 및 선택성을 갖는 신규한 항-CCR8 항체의 발견에 기초한다. 본원에 개시된 항-CCR8 항체는 또한 개선된 항체 안정성(예를 들어, 낮은 응집, 양호한 용해도, 및 낮은 점도)을 갖는다. 본 개시는 부분적으로, 본원에 개시된 항체의 비푸코실화된 형태가 증가된 항체-의존성 세포독성(ADCC) 및 항체-의존성 세포 식균 작용(ADCP) 활성을 갖는다는 발견에 추가로 기초한다. 특정 양태들에서, CCR8에 결합하는 항체가 제공된다. 본원에 기재된 바와 같은 항체는, 예를 들어, 암의 치료에 유용하다.

[0245] A. 예시적인 항-CCR8 항체

[0246] 일 양태에서, 본 개시는 CCR8에 결합하는 항체를 제공한다. 일 양태에서, 제공된 항체는 CCR8에 결합하는 단리된 항체이다. 일 양태에서, 본 개시는 CCR8에 구체적으로 결합하는 항체를 제공한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 106의 아미노산 잔기 2-6 중 하나 이상으로 구성된 에피토프에 결합한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 106의 아미노산 잔기 91-104 및 172-193 중 하나 이상으로 구성된 에피토프에 결합한다. 특정 양태들에서, CCR8은 인간 CCR8, 마우스 CCR8 또는 시아노 CCR8이다. 특정 양태들에서, CCR8은 인간 CCR8이다. 일 양태에서, 본 개시는 CCR8의 티로신 황산화와 무관하게("황산화 비의존성") CCR8에 결합하는 항체를 제공한다. 본 발명자들이 발견한 예시적인 항체들은 황산화 비의존성이며, 하기에 더욱 상세하게 기재되는 Ab4 및 Ab5를 포함한다.

[0247] 특정 양태들에서, 본원에서 제공된 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어, 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예를 들어, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수(K_D)를 갖는다. 특정 양태들에서, CCR8에 결합하는 항체는 약 $1 \times 10^{-12} \text{ M}$ 내지 약 $1 \times 10^{-10} \text{ M}$, 약 $1 \times 10^{-12} \text{ M}$ 내지 약 $1 \times 10^{-11} \text{ M}$, 또는 약 $1 \times 10^{-11} \text{ M}$ 내지 약 $5 \times 10^{-11} \text{ M}$ 의 K_D 를 갖는다. 특정 양태들에서, CCR8에 결합하는 항체는 약 $2 \times 10^{-11} \text{ M}$ 의 K_D 를 갖는다. 특정 양태들에서, CCR8에 결합하는 항체는 약 $5 \times 10^{-12} \text{ M}$ 의 K_D 를 갖는다. 일 양태에서, K_D 는 방사성 표지된 IgG 및 항원을 안정하게 발현하는 CHO 세포주를 사용하여 측정한다. 항원을 발현하는 안정한 CHO 세포를 웰당 50,000개의 세포로 저온 결합 완충액(Opti-MEM + 2% FBS + 50 mM HEPES, pH 7.2 + 0.1% 나트륨 아지드)에 접종한다. NEX244 아이오도젠 방법(퍼킨 엘머)을 사용하여 고정된 농도의 관심 ^{125}I 방사성표지된 항원을 20 nM 또는 50 nM에서 시작하여 연속적으로 희석된 관심 항체와 혼합하였다. 항체 혼합물을 세포에 첨가하고 부드러운 교반하에 실온에서 12시간 동안 인큐베이션한다. 이어서, 세

포 및 항체를 밀리포어(Millipore) 다중스크린 필터 플레이트로 옮긴다. 필터 플레이트를 250 μ L의 냉 결합 완충액으로 4회 세척하고, 적어도 30분 동안 건조시키고, 필터를 5 mL 폴리스티렌 튜브 내로 편칭한다. 0.8 계수 효율로 분당 1 카운트로 설정된 퍼킨 엘머 왈락 위자드(Perkin Elmer Wallac Wizard) 2470 감마 카운터(Gamma Counter)를 사용하여 방사능을 측정한다. 데이터는 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism)의 이중 단일-부위 맞춤 Ki 경쟁적 결합 모델을 사용하여 맞춤한다.

[0248] 특정 양태들에서, 본원에 제공된 항체는 1일차에 정맥내 투여된 단일 10 mg/kg 용량 이후의 평균 청소율이 35일의 기간에 걸쳐 약 3 내지 약 5 mL/일/kg 사이인 것으로 나타낸다. 예를 들어, 하지만 제한 없이, 상기 투여는 mAb의 단일 10 mg/kg IV 일시 투여를 포함할 수 있다. 분석을 위한 혈액 샘플을, 예를 들어, 투여 후 0.25, 2, 6시간; 1, 2, 7, 14, 21, 28 및 35일에 수집할 수 있고, 혈청은 다양한 수단, 예를 들어, 적격 ELISA 분석 방법을 사용하여 mAb의 농도에 대해 검정될 수 있다. 특정 양태들에서, 투여는 포유동물에 대한 것이다. 특정 양태들에서, 투여는 영장류에 대한 것이다. 특정 양태들에서, 투여는 비인간 영장류, 예를 들어, 시아노에 대한 것이다. 특정 양태들에서, 투여는 인간에 대한 것이다.

[0249] (i) Ab5 및 이의 단편의 구현예

[0250] 일 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 또는 6개 모두의 CDR들을 포함하는 항-CCR8 항체를 제공한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전술한 CDR들 중 6개 모두를 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8 및 시아노 CC8 둘 모두에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간화 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 키메라 항체인 전장 항체이다.

[0251] 일 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다. 다른 양태에서, 항체는 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 및 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 추가의 양태에서, 항체는 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2를 포함한다. 추가의 양태에서, 항체는 (a) 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다.

[0252] 다른 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 일 양태에서, 항체는 (a) 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.

[0253] 다른 양태에서, 본원에 기재된 항체는 (a) (i)서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (ii) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (iii) 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전술한 CDR들 중 6개 모두를 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8 및 시아노 CC8 둘 모두에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간화 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 키메라 항체인 전장 항체이다.

- [0254] 다른 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 그리고 (d) 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는 항체를 제공한다.
- [0255] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 구현예에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 구현예에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열의 CDR 서열들, 및 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열의 CDR 서열들을 포함한다.
- [0256] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 47의 VH 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 구현예에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 48의 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 구현예에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 47의 VH 서열의 CDR 서열들을 포함한다. 다른 구현예에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 48의 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다.
- [0257] 추가의 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 아미노산 서열들 및 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 아미노산 서열들을 포함한다.
- [0258] 추가의 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 47의 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 아미노산 서열들 및 서열번호 48의 VL 도메인의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 아미노산 서열들을 포함한다.
- [0259] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 중쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열들 및 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.
- [0260] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 47의 VH 도메인의 중쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 47의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 47의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열들 및 서열번호 47의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 47의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 47의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 47의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 47의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.
- [0261] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 경쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열들 및 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는

서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도, 특히 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.

[0262] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 48의 VL 도메인의 경쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 48의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 48의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열들 및 서열번호 48의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 48의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 48의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 48의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 48의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도, 특히 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.

[0263] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 (a) 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함한다. 일 양태에서, VH 도메인은 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, VL 도메인은 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열 및 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열을 포함하는 항체의 해리 상수(K_D)와 비교할 때, 10배까지 감소된 또는 10배까지 증가된 해리 상수(K_D)를 갖는 CCR8에 결합한다.

[0264] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 (a) 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 47의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열번호 48의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함한다. 일 양태에서, VH 도메인은 서열번호 47의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, VL 도메인은 서열번호 48의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 47의 VH 서열 및 서열번호 48의 VL 서열을 포함하는 항체의 해리 상수(K_D)와 비교할 때, 10배까지 감소된 또는 10배까지 증가된 해리 상수(K_D)를 갖는 CCR8에 결합한다.

[0265] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 나타난다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열을 포함하며, 해당 서열의 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VH는: (a) 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되는데, 여기서 항체는 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도

90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VL은: (a) 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (b) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (c) 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0266] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 47의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH)을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 47의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 47의 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 나타난다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 47의 VH 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VH는: (a) 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 서열번호 48의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 48의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 48의 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 48의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VL은: (a) 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (b) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (c) 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0267] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 상기 제공된 양태들 중 임의의 것에서와 같이 VH 서열, 및 상기 제공된 양태들 중 임의의 것에서와 같이 VL 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 35-47로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열 및 서열번호 48-52로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 47의 VH 서열 및 서열번호 48의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다.

[0268] 일 양태에서, VL 서열은 V4M 돌연변이, P43A 돌연변이, F46L 돌연변이, C90Q 돌연변이, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일 양태에서, VH는 G49S 돌연변이, K71R 돌연변이, S73N 돌연변이, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0269] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 서열번호 53 또는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인을 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 카파 불변 도메인을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 (a) 서열번호 53 또는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인, 및 (b) 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 카파 불변 도메인을 포함한다.

[0270] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 (a) 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및 (d) 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-

L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 47의 VH 서열 및 서열번호 48의 VL 서열을 포함한다.

[0271] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 55의 중쇄 및 서열번호 56의 경쇄를 포함한다.

[0272] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 60의 중쇄 및 서열번호 56의 경쇄를 포함한다.

[0273] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체의 중쇄는 C 말단 아미노산 잔기 중 1개 또는 2개가 제거된 단축된 C-말단을 포함한다. 일 양태에서, 중쇄의 C-말단은 PG로 끝나는 단축된 C-말단이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 111의 중쇄 및 서열번호 56의 경쇄를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 113의 중쇄 및 서열번호 56의 경쇄를 포함한다.

[0274] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 CCR8 리간드에 결합하지 않는다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 CCR8 리간드 차단 활성을 갖지 않는다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 비-중화 항체이다. 일 양태에서, CCR8 리간드는 CCL1이다.

[0275] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 결합을 위한 CCR8의 티로신 황산화와 무관하게(즉, 황산화 비의존성) CCR8에 결합한다.

[0276] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 비푸코실화된 항체 변이체이다. 일 양태에서, 비푸코실화된 항체 변이체는 향상된 FcγRIIIa 수용체 결합을 갖는다. 일 양태에서, 비푸코실화된 항-CCR8 항체 변이체는 향상된 항체-의존성 세포독성(ADCC)을 갖는다. 일 양태에서, 항-CCR8 비푸코실화된 항체 변이체는 항체-의존성 세포 식균 작용(ADCP) 활성을 갖는다.

[0277] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 개선된 항체 안정성이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 낮은 응집, 양호한 용해도, 및/또는 낮은 점도를 갖는다. 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 약 1×10^{-12} M 내지 약 1×10^{-11} M의 K_D 를 갖는다. 특정 양태들에서, CCR8에 결합하는 항체는 약 5×10^{-12} M의 K_D 를 갖는다. 특정 양태들에서, CCR8에 결합하는 항체는 약 4×10^{-12} M의 K_D 를 갖는다. 특정 양태들에서, CCR8에 결합하는 항체는 약 3×10^{-12} M의 K_D 를 갖는다.

[0278] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 본 개시에서 "hu.Ab5.H13L1"로 명명되고, 이는 푸코실화 또는 비푸코실화될 수 있고, 이는 선택적으로 G236A 및 I331E에서 하나 이상의 중쇄 돌연변이를 함유하고, 선택적으로 C 말단 아미노산 잔기 중 1개 또는 2개가 제거된 중쇄의 단축된 C-말단을 포함한다.

[0279] 추가의 양태에서, 상기 양태들 중 임의의 것에 따른 항-CCR8 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 항체 단편, 예를 들어, Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디, 또는 F(ab')₂ 단편이다.

[0280] (ii) Ab4 및 이의 단편의 구현예들

[0281] 일 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 또는 6개 모두의 CDR들을 포함하는 항-CCR8 항체를 제공한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전술한 CDR들 중 6개 모두를 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8 및 시아노 CC8 둘 모두에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간화 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 키메라 항체인 전장 항체이다.

[0282] 일 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 적어도 3개 VH CDR 서열들을 포함하는 항체를 제공한다. 일 양태

에서, 항체는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다. 다른 양태에서, 항체는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 추가의 양태에서, 항체는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2를 포함한다. 추가의 양태에서, 항체는 (a) 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다.

[0283] 다른 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 적어도 3개 VL CDR 서열들을 포함하는 항체를 제공한다. 일 양태에서, 항체는 (a) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.

[0284] 다른 양태에서, 본원에 기재된 항체는 (a) (i)서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (ii) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (iii) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전술한 CDR들 중 6개 모두를 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8 및 시아노 CC8 둘 모두에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간화 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 키메라 항체인 전장 항체이다.

[0285] 다른 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 그리고 (d) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는 항체를 제공한다.

[0286] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열의 CDR 서열들, 및 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열의 CDR 서열들을 포함한다.

[0287] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 21의 VH 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 24의 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 21의 VH 서열의 CDR 서열들을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 24의 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다.

[0288] 추가의 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 아미노산 서열들 및 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 아미노산 서열들을 포함한다.

[0289] 추가의 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 21의 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 아미노산 서열들 및 서열번호 24의 VL 도메인의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 아미노산 서열들을 포함한다.

[0290] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 중쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열들 및 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 프레임워크

크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.

[0291] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 21의 VH 도메인의 중쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 21의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 21의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열들 및 서열번호 21의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 21의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 21의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 21의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 21의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.

[0292] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 경쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도, 특히 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.

[0293] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 24의 VL 도메인의 경쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 24의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 24의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 24의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 24의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 24의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 24의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 24의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도, 특히 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.

[0294] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 (a) 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함한다. 일 양태에서, VH 도메인은 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, VL 도메인은 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열 및 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열을 포함하는 항체의 해리 상수(K_D)와 비교할 때, 10배까지 감소된 또는 10배까지 증가된 해리 상수(K_D)를 갖는 CCR8에 결합한다.

[0295] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 (a) 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호

호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 21의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열번호 24의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함한다. 일 양태에서, VH 도메인은 서열번호 21의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, VL 도메인은 서열번호 24의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 21의 VH 서열 및 서열번호 24의 VL 서열을 포함하는 항체의 해리 상수(K_D)와 비교할 때, 10배까지 감소된 또는 10배까지 증가된 해리 상수(K_D)를 갖는 CCR8에 결합한다.

[0296]

다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 나타난다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VH는: (a) 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되는데, 여기서 항체는 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VL은: (a) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (b) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (c) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0297]

다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 21의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 21의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 21의 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 나타난다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 21의 VH 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VH는: (a) 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 서열번호 24의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 24의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8

항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 24의 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 24의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VL은: (a) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (b) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (c) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0298] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 상기 제공된 양태들 중 임의의 것에서와 같이 VH 서열, 및 상기 제공된 양태들 중 임의의 것에서와 같이 VL 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 10-21로 구성된 군으로부터 선택된 VH 서열 및 서열번호 22-25로 구성된 군으로부터 선택된 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 21의 VH 서열 및 서열번호 24의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다.

[0299] 일 양태에서, VL 서열은 Y2I 돌연변이를 포함한다. 일 양태에서, VH 서열은 S73N 돌연변이, V78L 돌연변이, T76N 돌연변이, F91Y 돌연변이, 및 P105Q 돌연변이, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0300] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 서열번호 53 또는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인을 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 카파 불변 도메인을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 (a) 서열번호 53 또는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인, 및 (b) 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 카파 불변 도메인을 포함한다.

[0301] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 (a) 서열번호 4 또는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및 (d) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 21의 VH 서열 및 서열번호 24의 VL 서열을 포함한다.

[0302] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 57의 중쇄 및 서열번호 58의 경쇄를 포함한다.

[0303] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 61의 중쇄 및 서열번호 58의 경쇄를 포함한다.

[0304] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체의 중쇄는 C 말단 아미노산 잔기 중 1개 또는 2개가 제거된 단축된 C-말단을 포함한다. 일 양태에서, 중쇄의 C-말단은 PG로 끝나는 단축된 C-말단이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 112의 중쇄 및 서열번호 58의 경쇄를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 114의 중쇄 및 서열번호 58의 경쇄를 포함한다.

[0305] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 CCR8 리간드에 결합한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 CCR8 리간드에 대해 길항 효과를 갖는다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 CCR8 리간드 차단 활성을 갖는다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 중화 항체이다. 일 양태에서, CCR8 리간드는 CCL1이다.

[0306] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 결합을 위한 CCR8의 티로신 황산화와 무관하게(즉, 황산화 비의존성) CCR8에 결합한다.

[0307] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 비푸코실화된 항체 변이체이다. 일 양태에서, 비푸코실화된 항체 변이체는 향상된 FcγRIIIa 수용체 결합을 갖는다. 일 양태에서, 비푸코실화된 항-CCR8 항체 변이체는 향상된 항체-의존성 세포독성(ADCC)을 갖는다. 일 양태에서, 항-CCR8 비푸코실화된 항체 변이체는 항체-의존성 세포 식균 작용(ADCP) 활성을 갖는다.

[0308] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 개선된 항체 안정성이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 낮은 응집, 양호한 용해도, 및/또는 낮은 점도를 갖는다. 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 특정 양태들에서,

[0309] 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 약 1×10^{-11} M 내지 약 5×10^{-11} M의 K_D 를 갖는다. 특정

양태들에서, CCR8에 결합하는 항체는 약 2×10^{-11} M의 K_D 를 갖는다.

- [0310] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 본 개시에서 "hu.Ab4.H12L3"로 명명되고, 이는 푸코실화 또는 비푸코실화될 수 있고, 이는 선택적으로 G236A 및 I331E에서 하나 이상의 중쇄 돌연변이를 함유하고, 선택적으로 C 말단 아미노산 잔기 중 1개 또는 2개가 제거된 중쇄의 단축된 C-말단을 포함한다.
- [0311] 추가의 양태에서, 상기 양태들 중 임의의 것에 따른 항-CCR8 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 항체 단편, 예를 들어, Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디, 또는 F(ab')₂ 단편이다.
- [0312] (iii) Ab1 및 이의 단편의 구현예들
- [0313] 일 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 82 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 또는 6개 모두의 CDR들을 포함하는 항-CCR8 항체를 제공한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전술한 CDR들 중 6개 모두를 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간화 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 키메라 항체인 전장 항체이다.
- [0314] 일 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 82 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다. 다른 양태에서, 항체는 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 추가의 양태에서, 항체는 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2를 포함한다. 추가의 양태에서, 항체는 (a) 서열번호 82 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다.
- [0315] 다른 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 일 양태에서, 항체는 (a) 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.
- [0316] 다른 양태에서, 본원에 기재된 항체는 (a) (i)서열번호 82 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (ii) 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (iii) 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전술한 CDR들 중 6개 모두를 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간화 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 키메라 항체인 전장 항체이다.
- [0317] 다른 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 82 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 그리고 (d) 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는 항체를 제공한다.

- [0318] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 95의 VH 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 94의 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 95의 VH 서열의 CDR 서열들을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 94의 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다.
- [0319] 추가의 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 95의 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 아미노산 서열들 및 서열번호 94의 VL 도메인의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 아미노산 서열들을 포함한다.
- [0320] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 95의 VH 도메인의 중쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 95의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 95의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 95의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 95의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 95의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 95의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 95의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.
- [0321] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 94의 VL 도메인의 경쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 94의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 94의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 94의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 94의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 94의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 94의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 94의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도, 특히 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.
- [0322] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 (a) 서열번호 82 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 95의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열번호 94의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함한다. 일 양태에서, VH 도메인은 서열번호 95의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, VL 도메인은 서열번호 94의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 95의 VH 서열 및 서열번호 94의 VL 서열을 포함하는 항체의 해리 상수(K_D)와 비교할 때, 10배까지 감소된 또는 10배까지 증가된 해리 상수(K_D)를 갖는 CCR8에 결합한다.
- [0323] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 95의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 95의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 95의 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 나타난다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 95의 VH 서열을 포함하며, 해당 서열의 변형후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VH는: (a) 서열번호 82 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 서열번호 94의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8

항체는 서열번호 94의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 94의 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 94의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VL은: (a) 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (b) 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (c) 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0324] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 상기 제공된 양태들 중 임의의 것에서와 같이 VH 서열, 및 상기 제공된 양태들 중 임의의 것에서와 같이 VL 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 95의 VH 서열 및 서열번호 94의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다.

[0325] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 서열번호 53 또는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인을 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 카파 불변 도메인을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 (a) 서열번호 53 또는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인, 및 (b) 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 카파 불변 도메인을 포함한다.

[0326] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 (a) 서열번호 82 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및 (d) 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 95의 VH 서열 및 서열번호 94의 VL 서열을 포함한다.

[0327] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 101의 중쇄 및 서열번호 100의 경쇄를 포함한다.

[0328] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체의 중쇄는 C 말단 아미노산 잔기 중 1개 또는 2개가 제거된 단축된 C-말단을 포함한다. 일 양태에서, 중쇄의 C-말단은 PG로 끝나는 단축된 C-말단이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 115의 중쇄 및 서열번호 100의 경쇄를 포함한다.

[0329] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 본 개시에서 "hu.Ab1.H1L1"로 명명되고, 이는 푸코실화 또는 비푸코실화될 수 있고, 이는 선택적으로 G236A 및 I331E에서 하나 이상의 중쇄 돌연변이를 함유하고, 선택적으로 C 말단 아미노산 잔기 중 1개 또는 2개가 제거된 중쇄의 단축된 C-말단을 포함한다. 추가의 양태에서, 상기 양태들 중 임의의 것에 따른 항-CCR8 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 항체 단편, 예를 들어, Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디, 또는 F(ab')₂ 단편이다.

[0330] (iv) Ab2 및 이의 단편의 구현예들

[0331] 일 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 86 또는 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 또는 6개 모두의 CDR들을 포함하는 항-CCR8 항체를 제공한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전술한 CDR들 중 6개 모두를 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간화 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 키메라 항체인 전장 항체이다.

[0332] 일 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 86 또는 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR들을 포함하는 항체를 제공한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다. 다른 양태에서, 항체는 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 추

가의 양태에서, 항체는 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2를 포함한다. 추가의 양태에서, 항체는 (a) 서열번호 86 또는 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다.

[0333] 다른 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR들을 포함하는 항체를 제공한다. 일 양태에서, 항체는 (a) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.

[0334] 다른 양태에서, 본원에 기재된 항체는 (a) (i)서열번호 86 또는 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (ii) 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (iii) 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전술한 CDR들 중 6개 모두를 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간화 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 키메라 항체인 전장 항체이다.

[0335] 다른 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 86 또는 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 그리고 (d) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는 항체를 제공한다.

[0336] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 97의 VH 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 96의 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 97의 VH 서열의 CDR 서열들을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 96의 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다.

[0337] 추가의 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 97의 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 아미노산 서열들 및 서열번호 96의 VL 도메인의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 아미노산 서열들을 포함한다.

[0338] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 97의 VH 도메인의 중쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 97의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 97의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 97의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 97의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 97의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 97의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 97의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.

[0339] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 96의 VL 도메인의 경쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 96의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 96의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 96의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 96의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 96의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 96의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 96의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도, 특히 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를

포함한다.

[0340] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 (a) 서열번호 86 또는 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 97의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열번호 96의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함한다. 일 양태에서, VH 도메인은 서열번호 97의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, VL 도메인은 서열번호 96의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 97의 VH 서열 및 서열번호 96의 VL 서열을 포함하는 항체의 해리 상수(K_D)와 비교할 때, 10배까지 감소된 또는 10배까지 증가된 해리 상수(K_D)를 갖는 CCR8에 결합한다.

[0341] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 97의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 97의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 97의 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 나타난다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 97의 VH 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VH는: (a) 서열번호 86 또는 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 서열번호 96의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 96의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 96의 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 96의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VL은: (a) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (b) 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (c) 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0342] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 상기 제공된 양태들 중 임의의 것에서와 같이 VH 서열, 및 상기 제공된 양태들 중 임의의 것에서와 같이 VL 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 97의 VH 서열 및 서열번호 96의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다.

[0343] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 서열번호 53 또는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인을 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 카파 불변 도메인을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 (a) 서열번호 53 또는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인, 및 (b) 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 카파 불변 도메인을 포함한다.

[0344] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 (a) 서열번호 86 또는 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및 (d) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다.

[0345] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 97의 VH 서열 및 서열번호 96의 VL 서열을 포함한다.

- [0346] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 103의 중쇄 및 서열번호 102의 경쇄를 포함한다.
- [0347] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체의 중쇄는 C 말단 아미노산 잔기 중 1개 또는 2개가 제거된 단축된 C-말단을 포함한다. 일 양태에서, 중쇄의 C-말단은 PG로 끝나는 단축된 C-말단이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 116의 중쇄 및 서열번호 102의 경쇄를 포함한다.
- [0348] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 본 개시에서 "hu.Ab2.H1L1"로 명명되고, 이는 푸코실화 또는 비푸코실화될 수 있고, 이는 선택적으로 G236A 및 I331E에서 하나 이상의 중쇄 돌연변이를 함유하고, 선택적으로 C 말단 아미노산 잔기 중 1개 또는 2개가 제거된 중쇄의 단축된 C-말단을 포함한다.
- [0349] 추가의 양태에서, 상기 양태들 중 임의의 것에 따른 항-CCR8 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 항체 단편, 예를 들어, Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디, 또는 F(ab')₂ 단편이다.
- [0350] (v) Ab3 및 이의 단편의 구현예들
- [0351] 일 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 90 또는 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 또는 6개 모두의 CDR들을 포함하는 항-CCR8 항체를 제공한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전술한 CDR들 중 6개 모두를 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간화 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 키메라 항체인 전장 항체이다.
- [0352] 일 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 90 또는 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR들을 포함하는 항체를 제공한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다. 다른 양태에서, 항체는 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 및 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 추가의 양태에서, 항체는 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2를 포함한다. 추가의 양태에서, 항체는 (a) 서열번호 90 또는 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다.
- [0353] 다른 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR들을 포함하는 항체를 제공한다. 일 양태에서, 항체는 (a) 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.
- [0354] 다른 양태에서, 본원에 기재된 항체는 (a) (i)서열번호 90 또는 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (ii) 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (iii) 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전술한 CDR들 중 6개 모두를 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 인간화 항체인 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 인간 CCR8에 결합하고 키메라 항체인 전장 항체이다.
- [0355] 다른 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 90 또는 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 그리고 (d) 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및

(f) 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는 항체를 제공한다.

[0356] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 99의 VH 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 98의 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 99의 VH 서열의 CDR 서열들을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 98의 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다.

[0357] 추가의 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 99의 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 아미노산 서열들 및 서열번호 98의 VL 도메인의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 아미노산 서열들을 포함한다.

[0358] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 99의 VH 도메인의 중쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 99의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 99의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 99의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 99의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 99의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 99의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 99의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.

[0359] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 98의 VL 도메인의 경쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 98의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 98의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 98의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 98의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 98의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 98의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 98의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도, 특히 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.

[0360] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 (a) 서열번호 90 또는 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 99의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열번호 98의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함한다. 일 양태에서, VH 도메인은 서열번호 99의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, VL 도메인은 서열번호 98의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 99의 VH 서열 및 서열번호 98의 VL 서열을 포함하는 항체의 해리 상수(K_D)와 비교할 때, 10배까지 감소된 또는 10배까지 증가된 해리 상수(K_D)를 갖는 CCR8에 결합한다.

[0361] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 99의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 99의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 99의 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 나타난다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 99의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 변형후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VH는: 서열번호 90 또는 서열번호 91, (b) 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 서열번호 98의 아미노산

서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 98의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 98의 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 98의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VL은: (a) 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (b) 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (c) 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0362] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 상기 제공된 양태들 중 임의의 것에서와 같이 VH 서열, 및 상기 제공된 양태들 중 임의의 것에서와 같이 VL 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 99의 VH 서열 및 서열번호 98의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다.

[0363] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 서열번호 53 또는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인을 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 카파 불변 도메인을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 (a) 서열번호 53 또는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인, 및 (b) 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 카파 불변 도메인을 포함한다.

[0364] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 (a) 서열번호 90 또는 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및 (d) 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 99의 VH 서열 및 서열번호 98의 VL 서열을 포함한다.

[0365] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 105의 중쇄 및 서열번호 104의 경쇄를 포함한다.

[0366] 상기 기재된 구현예들 중 임의의 것의 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체의 중쇄는 C 말단 아미노산 잔기 중 1개 또는 2개가 제거된 단축된 C-말단을 포함한다. 일 양태에서, 중쇄의 C-말단은 PG로 끝나는 단축된 C-말단이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 117의 중쇄 및 서열번호 104의 경쇄를 포함한다.

[0367] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 본 개시에서 "hu.Ab3.H1L1"로 명명되고, 이는 푸코실화 또는 비푸코실화될 수 있고, 이는 선택적으로 G236A 및 I331E에서 하나 이상의 중쇄 돌연변이를 함유하고, 선택적으로 C 말단 아미노산 잔기 중 1개 또는 2개가 제거된 중쇄의 단축된 C-말단을 포함한다.

[0368] 추가의 양태에서, 상기 양태들 중 임의의 것에 따른 항-CCR8 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 항체 단편, 예를 들어, Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디, 또는 F(ab')₂ 단편이다.

[0369] (vi) 대리 마우스의 구현예들

[0370] 일 양태에서, 본 개시는 마우스 CCR8에 결합하고, (a) 서열번호 65 또는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 또는 6개 모두의 CDR들을 포함하는 항-CCR8 항체를 제공한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전술한 CDR들 중 6개 모두를 포함한다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 마우스 CCR8에 결합하는 전장 항체이다. 특정 양태들에서, 항-CCR8 항체는 마우스 CCR8에 결합하고 키메라 항체(예를 들어, 토끼 및 마우스 키메라)인 전장 항체이다.

[0371] 일 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 65 또는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로 구성된 군

으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR들을 포함하는 항체를 제공한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다. 다른 양태에서, 항체는 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 및 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 추가의 양태에서, 항체는 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2를 포함한다. 추가의 양태에서, 항체는 (a) 서열번호 65 또는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다.

[0372] 다른 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR들을 포함하는 항체를 제공한다. 일 양태에서, 항체는 (a) 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.

[0373] 다른 양태에서, 본원에 기재된 항체는 (a) (i) 서열번호 65 또는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (ii) 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (iii) 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR들을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0374] 다른 양태에서, 본 개시는 (a) 서열번호 65 또는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, 그리고 (d) 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는 항체를 제공한다.

[0375] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 70의 VH 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 69의 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 70의 VH 서열의 CDR 서열들을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 69의 VL 서열의 CDR 서열들 중 하나 이상을 포함한다.

[0376] 추가의 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 70의 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 아미노산 서열들 및 서열번호 69의 VL 도메인의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 아미노산 서열들을 포함한다.

[0377] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 70의 VH 도메인의 중쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 70의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 70의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 70의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 70의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 70의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 70의 VH 도메인의 3개의 중쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 70의 VH 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.

[0378] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 69의 VL 도메인의 경쇄 CDR 아미노산 서열들 중 하나 이상 및 서열번호 69의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 69의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 69의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 69의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 69의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 69의 VL 도메인의 3개의 경쇄 CDR 아미노산 서열 및 서열번호 69의 VL 도메인의 프레임워크 아미노산 서열에 대하여 적어도, 특히 적어도 98% 서열 동일성의 프레임워크를 포함한다.

- [0379] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 (a) 서열번호 65 또는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3, (d) 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3, 및 서열번호 70의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열번호 69의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함한다. 일 양태에서, VH 도메인은 서열번호 70의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, VL 도메인은 서열번호 69의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 70의 VH 서열 및 서열번호 69의 VL 서열을 포함하는 항체의 해리 상수(K_D)와 비교할 때, 10배까지 감소된 또는 10배까지 증가된 해리 상수(K_D)를 갖는 마우스 CCR8에 결합한다.
- [0380] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 70의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 70의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 마우스 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 70의 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 나타난다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 70의 VH 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VH는: 서열번호 65 또는 서열번호 66, (b) 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, (c) 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다. 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 서열번호 69의 아미노산 서열에 대하여 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 69의 아미노산 서열에 대하여 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL) 서열을 포함한다. 특정 양태들에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환(예를 들어, 보존성 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CCR8 항체는 CCR8에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 양태들에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열번호 69의 아미노산 서열에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 양태들에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 항-CCR8 항체는 서열번호 69의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다. 특정 양태에서, VL은: (a) 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (b) 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (c) 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다.
- [0381] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 상기 제공된 양태들 중 임의의 것에서와 같이 VH 서열, 및 상기 제공된 양태들 중 임의의 것에서와 같이 VL 서열을 포함한다. 일 양태에서, 항체는 서열번호 70의 VH 서열 및 서열번호 69의 VL 서열을 포함하며, 해당 서열의 번역후 변형도 포함한다.
- [0382] 다른 양태에서, 항-CCR8 항체가 제공되고, 여기서 항체는 마우스 CCR8에 결합하고, (a) 서열번호 65 또는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 (c) 서열번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH), 및 (d) 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (e) 서열번호 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 (f) 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 70의 VH 서열 및 서열번호 69의 VL 서열을 포함한다.
- [0383] 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 서열번호 72의 중쇄 및 서열번호 71의 경쇄를 포함한다.
- [0384] 추가의 양태에서, 상기 양태들 중 임의의 것에 따른 항-CCR8 항체는 키메라 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는 항체 단편, 예를 들어, Fv, Fab, Fab', scFv, 이량체, 또는 $F(ab')_2$ 단편이다.
- [0385] (vii) 기타 구현예들
- [0386] 추가의 양태에서, 상기 양태들 중 임의의 것에 따른 항-CCR8 항체는 하기의 섹션 1-5에 기재된 바와 같이, 임의의 특질을 단독적으로 또는 조합으로 통합할 수

- [0387] 있다.
- [0388] 1. 항체 단편
- [0389] 특정 양태들에서, 본원에서 제공된 항체는 항체 단편이다.
- [0390] 일 양태에서, 상기 항체 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH 또는 F(ab')₂ 단편, 특히, Fab 단편이다. 원형 항체의 과과인 소화는 중쇄와 경쇄 가변 도메인(각각, VH와 VL), 그리고 또한 경쇄의 불변 도메인(CL) 및 중쇄의 제1 불변 도메인(CH1)을 각각 포함하는, "Fab" 단편으로 불리는 2개의 동일한 항원 결합 단편을 생산한다. 용어 "Fab 단편"은 따라서, VL 도메인 및 CL 도메인을 포함하는 경쇄, 그리고 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하는 중쇄 단편을 포함하는 항체 단편을 지칭한다. "Fab' 단편"은 항체 힌지 영역으로부터 하나 이상의 시스테인을 포함하는 CH1 도메인의 카르복시 말단에서 잔기의 부가에 의해 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)이 유리 티올기를 보유하는 Fab' 단편이다. 펩신 처리는 2개의 항원 결합 부위(2개의 Fab 단편) 및 Fc 영역의 일부를 갖는 F(ab')₂ 단편을 생성한다. 구체 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 증가된 생체내 반감기를 갖는 Fab 및 F(ab')₂ 단편에 관한 논의를 위해, 미국 특허 제5,869,046호를 참조한다.
- [0391] 다른 양태에서, 항체 단편은 이량체, 삼량체 또는 사량체이다. "이량체"는 이가 또는 이중특이적일 수 있는 2개의 항원 결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 예를 들어, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson *et al.*, Nat. Med. 9:129-134 (2003); 및 Hollinger *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)을 참조한다. 삼량체 및 사량체가 또한 Hudson *et al.*, Nat. Med. 9:129-134 (2003)에 기재되어 있다.
- [0392] 추가의 양태에서, 항체 단편은 단일 사슬 Fab 단편이다. "단일 사슬 Fab 단편" 또는 "scFab"는 항체 중쇄 가변 도메인(VH), 항체 중쇄 불변 도메인 1(CH1), 항체 경쇄 가변 도메인(VL), 항체 경쇄 불변 도메인(CL) 및 링커로 구성되는 폴리펩티드이고, 여기서 상기 항체 도메인 및 상기 링커는 N 말단에서 C 말단 방향으로 아래의 순서 중에서 한 가지를 갖는다: a) VH-CH1-링커-VL-CL, b) VL-CL-링커-VH-CH1, c) VH-CL-링커-VL-CH1 또는 d) VL-CH1-링커-VH-CL. 특히, 상기 링커는 적어도 30개 아미노산, 바람직하게는 32개 및 50개 사이의 아미노산의 폴리펩티드이다. 상기 단일 사슬 Fab 단편은 CL 도메인 및 CH1 도메인 사이에 자연 이황화 결합을 통해 안정화된다. 또한, 이들 단일 사슬 Fab 단편은 (예를 들어, 카바트 넘버링에 따라 가변 중쇄에서 위치 44 및 가변 경쇄에서 위치 100) 시스테인 잔기의 삽입을 통한 사슬간 이황화 결합의 생성에 의해 추가로 안정화될 수 있다.
- [0393] 다른 양태에서, 항체 단편은 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. "단일 사슬 가변 단편" 또는 "scFv"는 링커에 의해 연결된, 항체의 중쇄(VH)와 경쇄(VL)의 가변 도메인의 융합 단백질이다. 특히, 링커는 10 내지 25개 아미노산의 짧은 폴리펩티드이고, 통상적으로 유연성을 위한 글리신뿐만 아니라 용해도를 위한 세린 또는 트레오닌이 풍부하며, 그리고 VH의 N 말단을 VL의 C 말단과 연결하거나 또는 그 반대일 수 있다. 상기 단백질은 불변 영역의 제거 및 링커의 도입에도 불구하고, 본래 항체의 특이성을 유지한다. ScFv 단편에 관한 검토를 위해, 예를 들어, Plückthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)를 참조한다; 또한, WO 93/16185; 및 미국 특허 제5,571,894호 및 5,587,458호를 참조한다.
- [0394] 다른 양태에서, 항체 단편은 단일 도메인 항체이다. "단일 도메인 항체"는 항체의 중쇄 가변 도메인 중에서 전부 또는 일부, 또는 항체의 경쇄 가변 도메인 중에서 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 특정 양태들에서, 단일 도메인 항체는 인간 단일 도메인 항체이다(Domantis, Inc., Waltham, MA; 예를 들어, 미국 특허 제6,248,516 B1을 참조).
- [0395] 항체 단편은 본원에 기재된 바와 같이, 원형 항체의 단백질분해성 소화뿐만 아니라 재조합 숙주 세포(예컨대, 대장균(*E. coli*))에 의한 재조합 생산을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 다양한 기술에 의해 만들어질 수 있다.
- [0396] 2. 키메라 및 인간화 항체
- [0397] 특정 양태들에서, 본원에서 제공된 항체는 키메라 항체이다. 특정 키메라 항체는, 예컨대, 미국 특허 제4,816,567호; 및 Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)에 기재되어 있다. 일 예에서, 키메라 항체는 비인간 가변 영역(예를 들어, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼, 또는 비인간 영장류, 예컨대, 원숭이로부터 유래된 가변 영역) 및 인간 불변 영역을 포함한다. 추가의 예에서, 키메라 항체는 "부류 전환된" 항체인데, 여기서 부류 또는 하위부류가 부모 항체의 것으로부터 변화되었다. 키메라 항체는 이들의 항

원 결합 단편을 포함한다.

- [0398] 특정 양태들에서, 키메라 항체는 인간화 항체이다. 전형적으로, 비인간 항체는 부모 비인간 항체의 특이성 및 친화성을 유지하면서, 인간에 대한 면역원성을 감소시키기 위해 인간화된다. 일반적으로, 인간화 항체는 CDRs (또는 이들의 부분)가 비인간 항체로부터 유래되고, FRs(또는 이들의 부분)가 인간 항체 서열로부터 유래되는 하나 이상의 가변 도메인을 포함한다. 인간화 항체는 선택적으로 인간 불변 영역의 적어도 일부를 또한 포함할 것이다. 일부 양태들에서, 인간화 항체에서 일부 FR 잔기는, 예를 들어, 항체 특이성 또는 친화성을 복원하거나 또는 향상시키기 위해, 비인간 항체(예컨대, 이로부터 CDR 잔기가 유래되는 항체)로부터 상응하는 잔기로 치환된다.
- [0399] 인간화 항체 및 그의 제조 방법은, 예컨대, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)에서 검토되고, 예컨대, Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329 (1988); Queen *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); 미국 특허 제5,821,337호, 7,527,791호, 6,982,321호, 및 7,087,409호; Kashmiri *et al.*, *Methods* 36:25-34 (2005)(특이성 결정 영역(SDR) 이식을 기재함); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991)("표면 노출 잔기 변형(resurfacing)"을 기재함); Dall'Acqua *et al.*, *Methods* 36:43-60 (2005)("FR 셔플링(shuffling)"을 기재함); 및 Osbourn *et al.*, *Methods* 36:61-68 (2005) 및 Klimka *et al.*, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000)(FR 셔플링에 대한 "유도된 선택" 접근법을 기재함)에 추가로 기재되어 있다.
- [0400] 인간화를 위해 사용할 수 있는 인간 프레임워크 영역은 하기를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다: "최적 맞춤(best-fit)" 방법을 사용하여 선택된 프레임워크 영역(예를 들어, Sims *et al. J. Immunol.* 151:2296 (1993)을 참조); 특정 하위군의 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 인간 항체의 공통 서열로부터 유래된 프레임워크 영역(예컨대, Carter *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); 및 Presta *et al. J. Immunol.*, 151:2623 (1993)을 참조); 인간 성숙(체세포적으로 돌연변이된) 프레임워크 영역 또는 인간 생식계열 프레임워크 영역(예컨대, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)을 참조); 및 FR 라이브러리 선별로부터 유래된 프레임워크 영역(예컨대, Baca *et al.*, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) 및 Rosok *et al.*, *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)을 참조).
- [0401] 3. 인간 항체
- [0402] 특정 양태들에서, 본원에서 제공된 항체는 인간 항체이다. 인간 항체는 당해 분야에 공지된 다양한 기술을 이용하여 생성될 수 있다. 인간 항체는 일반적으로 van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) 및 Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)에 기재되어 있다.
- [0403] 인간 항체는 항원 공격에 반응하여 원형 인간 항체 또는 인간 가변 영역을 갖는 원형 항체를 생성하도록 변형된 형질전환 동물에 면역원을 투여함으로써 제조될 수 있다. 이러한 동물은 전형적으로 내인성 면역글로불린 좌위를 대체하거나, 또는 염색체외로 존재하거나 동물의 염색체 내로 무작위로 통합되는 인간 면역글로불린 좌위 중에서 전부 또는 일부를 포함한다. 이러한 형질전환 마우스에서, 상기 내인성 면역글로불린 좌위는 일반적으로 비활성화되어 있다. 형질전환 동물로부터 인간 항체를 수득하는 방법을 검토하려면, Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)를 참조한다. 또한, 예컨대, 미국 특허 제6,075,181호 및 6,150,584호에서는 제노마우스(XENOMOUSE)TM 기술을 설명하고; 미국 특허 제5,770,429호에서는 휴맵(HuMab)[®] 기술을 설명하고; 미국 특허 제7,041,870호에서는 K-M 마우스(MOUSE)[®] 기술을 설명하고, 미국 특허출원공보 US 2007/0061900에서는 Veloci마우스[®] 기술을 설명한다. 이러한 동물에 의해 생성된 원형 항체로부터 인간 가변 영역은, 예컨대, 상이한 인간 불변 영역과 조합함으로써 추가로 변형될 수 있다.
- [0404] 인간 항체는 또한 하이브리도마-기반 방법에 의해 만들어질 수 있다. 인간 단일클론 항체의 생성을 위한 인간 골수종 및 마우스-인간 헤테로골수종 세포주가 기재되어 있다. (예를 들어, Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); and Boerner *et al.*, *J. Immunol.*, 147: 86 (1991)을 참조.) 인간 B 세포 하이브리도마 기술을 통해 생성된 인간 항체가 또한 Li *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)에 기재된다. 추가적인 방법들은, 예를 들어, 미국 특허 제 7,189,826호(하이브리도마 세포주로부터 단일클론 인간 IgM 항체의 생성을 기재함) 및 Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006)(인간-인간 하이브리도마를 기재함)에서 기재된 방법들을 포함한다. 인간 하이브리도마 기법(트리오마 기술) 역시 Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) 및 Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005)에 설명된다.

[0405] 인간 항체는 또한 인간-유래된 과지 전시 라이브러리에서 선택되는 가변 도메인 서열을 단리함으로써 생성될 수 있다. 이러한 가변 도메인 서열은 이후, 원하는 인간 불변 도메인과 조합될 수 있다. 항체 라이브러리로부터 인간 항체를 선택하기 위한 기술은 아래에 설명된다.

[0406] 4. 다중특이적 항체

[0407] 특정 양태들에서, 본원에서 제공된 항체는 다중특이적 항체, 예를 들어, 이중특이적 항체이다. "다중특이적 항체"는 적어도 2개의 상이한 부위, 다시 말하면, 상이한 항원 상에서 상이한 에피토프 또는 동일한 항원 상에서 상이한 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 단일클론 항체이다. 특정 양태들에서, 다중특이적 항체는 3개 이상의 결합 특이성을 갖는다. 특정 양태들에서, 결합 특이성 중에서는 하나는 CCR8에 대한 것이고, 다른 특이성은 임의의 다른 항원에 대한 것이다. 특정 양태들에서, 이중특이적 항체는 CCR8의 2개(이상)의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 다중특이적(예를 들어, 이중특이적) 항체는 또한, 세포독성 작용제 또는 세포를, CCR8을 발현하는 세포로 국소화하는 데 이용될 수 있다. 다중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로서 제조될 수 있다.

[0408] 다중특이적 항체를 제조하기 위한 기술은 상이한 특이성을 갖는 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 재조합 동시 발현(Milstein and Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)을 참조), 및 "노브 인 홀(knob-in-hole)" 공학(예를 들어, 미국 특허 제5,731,168호 및 Atwell *et al.*, *J. Mol. Biol.* 270:26 (1997)을 참조)을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 다중특이적 항체는 또한 항체 Fc-이중이량체 분자를 제조하기 위한 정전기 스테어링 효과를 가공하고(예컨대, WO 2009/089004를 참조); 2개 이상의 항체 또는 단편을 가교 결합하고(예컨대, 미국 특허 제 4,676,980호 및 Brennan *et al.*, *Science*, 229: 81 (1985)을 참조); 류신 지퍼를 사용하여 이중특이적 항체를 형성하고(예컨대, Kostelny *et al.*, *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992) 및 WO 2011/034605를 참조); 경쇄 쌍형성 오류 문제를 우회하기 위한 일반적인 경쇄 기술 사용하고(예컨대, WO 98/50431을 참조); 이중특이적 항체 단편을 제조하기 위한 "디아바디" 기술을 사용하고(예컨대, Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)을 참조); 단일 사슬 Fv(sFv) 이량체 사용하며(예컨대, Gruber *et al.*, *J. Immunol.*, 152:5368 (1994)을 참조); 및, 예컨대, Tutt *et al. J. Immunol.* 147: 60 (1991)에 기재된 바와 같이 삼중특이적 항체를 제조함으로써 생성할 수 있다.

[0409] 5. 항체 변이체

[0410] 특정 양태들에서, 본원에 제공된 항체의 아미노산 서열 변이체가 고려된다. 예를 들어, 항체의 상기 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성들을 변화시키는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체들은 상기 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 내부에 적절한 변형을 도입시킴으로써, 또는 펩티드 합성에 의해 만들어질 수 있다. 이러한 변형은, 예를 들어, 항체의 아미노산 서열 내의 잔기의 결실, 및/또는 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 최종 구조체가 원하는 특성, 예를 들어, 항원 결합을 보유하는 한, 최종 구조체에 도달하기 위한 어떠한 결실, 삽입 및 치환의 조합이라도 이루어질 수 있다.

[0411] a) 치환, 삽입, 및 결실 변이체

[0412] 특정 양태들에서, 1개 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체들이 제공된다. 치환 돌연변이유발을 위한 관심 부위에는 CDR들 및 FR들이 포함된다.

[0413] 일 양태에서, 본원에 개시된 항체의 VL 서열은 V4M 돌연변이, P43A 돌연변이, F46L 돌연변이, C90Q 돌연변이, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일 양태에서, 본원에 개시된 항체의 VH 서열은 G49S 돌연변이, K71R 돌연변이, S73N 돌연변이, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일 양태에서, 본원에 개시된 항체의 VL 서열은 Y2I 돌연변이를 포함한다. 일 양태에서, 본원에 개시된 항체의 VH 서열은 S73N 돌연변이, V78L 돌연변이, T76N 돌연변이, F91Y 돌연변이, 및 P105Q 돌연변이, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0414] 보존성 치환은 "보존성 치환"의 표제하에 표 2에서 나타난다. 더 실질적인 변화는 "예시적인 치환"의 표제하에 표 2에서 제공되고, 아미노산 측쇄 부류에 관하여 하기에 더욱 설명된다. 아미노산 치환은 관심 항체 내로 도입될 수 있고, 생성물은 원하는 활성, 예를 들어, 유지된/개선된 항원 결합, 감소된 면역원성, 또는 개선된 ADCC 또는 CDC에 대해 선별검사될 수 있다.

표 2

[0415]

예기된 아미노산 치환		
원래 잔기	예시적 치환	보존된 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

[0416] 아미노산은 공통적인 측쇄 특성에 따라 다음과 같이 그룹화될 수 있다:

[0417] (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0418] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0419] (3) 산성: Asp, Glu;

[0420] (4) 염기성: His, Lys, Arg;

[0421] (5) 사슬 방향에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro;

[0422] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0423] 비-보존성 치환들은 이들 분류 중 하나의 구성요소를 다른 분류의 구성요소로 교환하게 할 것이다.

[0424] 치환 변이체의 한 유형은 부모 항체(예를 들어, 인간화 또는 인간 항체)의 하나 이상의 추가변 영역 잔기를 치환하는 것을 포함한다. 일반적으로, 추가 연구를 위하여 선별된 생성된 변이체(들)은 부모 항체에 대하여 특정 생물학적 특성들(예를 들어, 증가된 친화성, 감소된 면역원성)의 변형(예를 들어, 개선)을 가지거나 그리고/또는 부모 항체의 특정 생물학적 특성들을 실질적으로 보유할 것이다. 예시적인 치환 변이체는 친화성 성숙 항체이며, 이는 예를 들어 본원에 기재된 것과 같은 파지 디스플레이 기반 친화성 성숙 기술을 사용하여 편리하게 생성될 수 있다. 간단히 말하면, 하나 이상의 CDR 잔기가 돌연변이되고, 변이체 항체가 파지에서 전시되고, 특정 생물학적 활성(예를 들어, 결합 친화성)에 대해 스크리닝된다.

[0425] 예를 들어, 항체 친화도를 개선하기 위해, CDR에서 변경 (예를 들어, 치환)이 이루어질 수 있다. 상기 변경은 CDR "핫스팟," 즉, 체세포 성숙 과정 동안 높은 빈도로 돌연변이하는 코돈에 의해 부호화된 잔기(예컨대, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)), 및/또는 항원과 접촉하는 잔기에서 이루어질 수 있으며, 이때 생성된 변이체 VH 또는 VL가 결합 친화도에 대하여 시험된다. 제2 라이브러리를 구축하고 재선별함에 의한 친화성 성숙은, 예컨대, Hoogenboom *et al.* in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37(0' Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))에서 기재되어 있다. 친화도 성숙의 일부 양태들에서, 다양성은 성숙을 위해 선택된 가변 유전자 내부로 임의의 다양한 방법(예를 들어, 에러-프론 PCR, 사슬 서플링, 또는 올리고뉴클레오티드-지정 돌연변이유발)에 의해 도입된다. 이어서 제2 라이브러리가 생성된다. 그런 다음, 라이브러리를 스크리닝하여 원하는 친화성을 가진 항체 변이체를 식별한다. 다양성을 도입시키는 다른 방법은 CDR-지시된 접근법을 포함하는데, 이 때 몇 개의 CDR 잔기(예를 들어, 한번에 4-6개 잔기)가 무작위 배정된다. 항원 결합에 관여하는 CDR 잔기는, 예를 들어, 알려진 스캐닝 돌연변이유발 또는 모델링을 이용하여 특이적으로 동정될 수 있다. 특히 CDR-H3 및 CDR-L3이 표적이 되는 경우가 많다.

- [0426] 특정 양태들에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 이러한 변경으로 이 항체가 항원에 결합하는 능력이 실질적으로 감소되지 않는 한, 하나 또는 그 이상의 CDR들에서 나타날 수 있다. 예를 들어, 결합 친화도를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경(예를 들어, 본원에서 제공된 보존적 치환)이 CDR들에 이루어질 수 있다. 이러한 변경은, 예를 들어, CDR들의 항원 접촉 잔기의 외부에 있을 수 있다. 앞서 제공된 일정한 변이체 VH와 VL 서열에서, 각 CDR은 변형되지 않거나, 또는 단지 1개, 2개 또는 3개의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0427] 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 식별을 위한 유용한 방법은 Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085에 의해 기재된 바와 같이 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"로 불린다. 상기 방법에서, 표적 잔기 또는 표적 잔기들의 군(예를 들어, 하전된 잔기, 예컨대, arg, asp, his, lys, 및 glu)이 식별되고, 중성 또는 음 전하 아미노산(예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 대체되어, 항원과 항체의 상호작용이 영향을 받았는지를 판단한다. 추가 치환은 초기 치환에 대한 기능적 민감성을 나타내는 아미노산 위치에 도입될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 항원-항체 복합체의 결정 구조를 이용하여 항체와 항원 간의 접촉점을 식별할 수 있다. 이러한 접촉 잔기 및 인접 잔기는 치환 후보로서 표적화되거나 제거될 수 있다. 변이체들이 바람직한 특성을 포함하는지 여부를 결정하기 위해 이들을 스크리닝할 수 있다.
- [0428] 아미노산 서열 삽입은 1개 잔기에서 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드에 이르는 길이 범위의 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합, 뿐만 아니라 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예에는 N 말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체가 포함된다. 상기 항체 분자의 다른 삽입 변이체들은 효소(예컨대, ADEPT (항체 지시된 효소 전구약물 요법)의 경우)에 항체의 N- 또는 C-말단의 융합 또는 상기 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩티드에 항체의 N- 또는 C-말단의 융합을 포함한다.
- [0429] *b) 글리코실화 변이체*
- [0430] 특정 양태들에서, 본원에서 제공된 항체는 상기 항체가 당화되는 정도를 증가 또는 감소시키기 위하여 변형된다. 항체에 대한 당화 부위의 부가 또는 결실은 하나 이상의 당화 부위가 생성되거나 제거되도록 아미노산 서열을 변경함으로써 편리하게 이루어질 수 있다.
- [0431] 항체가 Fc 영역을 포함하는 경우, 이에 부착된 올리고당이 변경될 수 있다. 포유동물 세포들에 의해 생성된 천연 항체는 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에 N-연결에 의해 일반적으로 부착된 분지화된, 이촉각성(biantennary) 올리고당을 전형적으로 포함한다. 예를 들어, Wright *et al.* *TIBTECH* 15:26-32 (1997)을 참조한다. 올리고당류는 다양한 탄수화물, 예를 들어, 만노오스, N-아세틸 글루코사민(GlcNAc), 갈락토오스 및 시알산 뿐만 아니라 이촉각성 올리고당류 구조의 "줄기"에서 GlcNAc에 부착된 푸코오스를 포함할 수 있다. 일부 양태들에서, 본원에서 개시된 항체에서 올리고당류의 변형은 일정한 개선된 특성을 갖는 항체 변이체를 창출하기 위해 만들어질 수 있다.
- [0432] 일 양태에서, Fc 영역에 부착된 (직접적으로 또는 간접적으로) 푸코오스를 결여하는 비-푸코실화된 올리고당류, 다시 말하면, 올리고당류 구조를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 이러한 비-코실화된 올리고당류("비푸코실화된" 올리고당류로서 또한 지칭됨)는 특히 N-연결된 올리고당류인데, 이것은 이촉각성 올리고당류 구조의 줄기에서 제1 GlcNAc에 부착된 푸코오스 잔기를 결여하고 있고, 이러한 항체는 본원에서 "비푸코실화된 항체"로 추가로 지칭된다. 일 양태에서, 선천적 또는 모 항체와 비교하여 Fc 영역에서 증가된 비율의 비-푸코실화 올리고당을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 예를 들어, 비-푸코실화 올리고당의 비율은 적어도 약 20%, 적어도 약 40%, 적어도 약 60%, 적어도 약 80%, 또는 심지어 약 100%(즉, 푸코실화 올리고당이 존재하지 않음)일 수 있다. 특정 구현예들에서, 비푸코실화의 비율은 약 65% 내지 약 100%, 약 80% 내지 약 100%, 또는 약 80% 내지 약 95%이다. 비-푸코실화된 올리고당의 백분율은, 예를 들어, WO 2006/082515에 기재되어 있는 바와 같이, MALDI-TOF 질량 분석법에 의해 측정된 Asn 297에 부착된 모든 올리고당(예컨대, 복합체, 하이브리드 및 높은 만노스 구조들)의 합에 대한 푸코스 잔기가 없는 올리고당의 (평균) 양이다. Asn297은 Fc 영역에서 대략 위치 297(Fc 영역 잔기의 EU 넘버링)에 위치한 아스파라긴 잔기를 지칭하지만; Asn297은 항체, 예컨대, Asn 299에서 소수의 서열 변이로 인하여 위치 297의 상류 또는 하류의 약 ± 3 의 아미노산, 예를 들어, 위치 294와 300 사이에 또한 위치할 수 있다. Fc 영역에서 증가된 비-푸코실화된 올리고당류를 갖는 이러한 항체는 개선된 Fc γ RIIIa 수용체 결합 및/또는 개선된 효과기 기능, 특히 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 예를 들어, US 2003/0157108; US 2004/0093621을 참조한다.
- [0433] 일 양태에서, 본 개시는 향상된 Fc γ RIIIa 수용체 결합을 갖는 비푸코실화된 항체 변이체를 제공한다. 일 양태에서, 본 개시는 향상된 항체-의존성 세포독성(ADCC)을 갖는 비푸코실화된 항체 변이체를 제공한다. 일 양태에

서, 본 개시는 항체-의존성 세포독성(ADCP) 활성을 갖는 비푸코실화된 항체 변이체를 제공한다.

- [0434] 푸코실화가 감소된 항체를 생성할 수 있는 세포주의 예는 단백질 푸코실화가 결핍된 Lec13 CHO 세포(Ripka *et al. Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); US 2003/0157108; 및 WO 2004/056312, 특히 실시예 11), 및 녹아웃 세포주, 예컨대, 알파-1,6-푸코실전달효소 유전자, *FUT8*, 녹아웃 CHO 세포(예컨대, Yamane-Ohnuki *et al. Biotech. Bioeng.* 87:614-622 (2004); Kanda, Y. *et al., Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006); 및 WO 2003/085107), GDP-푸코스 합성 또는 수송체 단백질의 활성이 감소되거나 제거된 세포를 포함한다(예컨대, US2004259150, US2005031613, US2004132140, US2004110282를 참조). 또한, Pereira *et al., MABS* (2018) 693-711을 참조한다.
- [0435] 추가 양태에서, 예를 들어, 항체의 Fc 영역에 부착된 이축각성 올리고당이 GlcNAc에 의해 양분되어 있는, 양분된 올리고당을 가진 항체 변이체들이 제공된다. 이러한 항체 변이체는 상기 기재된 바와 같이 감소된 푸코실화 및/또는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체들의 예들은, 예컨대, Umana *et al., Nat Biotechnol* 17, 176-180 (1999); Ferrara *et al., Biotechnol Bioeng* 93, 851-861 (2006); WO 99/54342; WO 2004/065540, WO 2003/011878에 기재되어 있다.
- [0436] Fc 영역에 부착된 올리고당에 최소한 한 개의 갈락토스 잔기를 가진 항체 변이체들이 또한 제공된다. 이러한 항체 변이체들은 개선된 CDC 기능을 보유할 수 있다. 이러한 항체 변이체는, 예를 들어, WO 1997/30087; WO 1998/58964; 및 WO 1999/22764에 설명되어 있다.
- [0437] c) Fc 영역 변이체
- [0438] 특정 양태들에서, 하나 이상의 아미노산 변형이 본원에서 제공된 항체의 Fc 영역 내로 도입되어, Fc 영역 변이체가 생성될 수 있다. Fc 영역 변이체는 하나 또는 그 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형(예를 들어, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열(예를 들어, 인간 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 또는 IgG₄ Fc 영역)을 포함할 수 있다.
- [0439] 특정 양태들에서, 본 발명은 전체 효과기 기능이 아닌 일부만을 보유하는 항체 변이체를 고려하는데, 이들 변이체는 생체내 항체의 반감기도 중요하지만, 특정 효과기 기능(예컨대, 보체-의존적 세포독성(CDC) 및 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC))은 불필요하거나 또는 유해한 용도에 바람직한 후보물질이 될 수 있다. 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 분석을 실시하여 CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인할 수 있다. 예를 들어, 항체가 FcγR 결합을 결여(따라서, ADCC 활성을 아마도 결여)하지만, FcRn 결합 능력을 유지하도록 담보하기 위해, Fc 수용체(FcR) 결합 측정이 실시될 수 있다. ADCC를 매개하는 일차 세포인, NK 세포는 오로지 FcγRIII만을 발현시키는 반면, 단핵구는 FcγRI, FcγRII 및 FcγRIII를 발현시킨다. 조혈 세포상의 Fc 발현은: Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)의 464 페이지 상의 표 3에 요약되어 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관내 분석의 비제한적인 예는 미국 특허 제5,500,362(예컨대, 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); 5,821,337 (Bruggemann, M. *et al., J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)을 참조)에 기재되어 있다. 대안적으로, 비-방사능활성 분석 방법들이 이용될 수 있다(예를 들어, 유동 세포 분석을 위한 ACTI™ 비-방사능활성 세포독성 분석(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA); 및 CytoTox 96® 비-방사능활성 세포독성 분석(Promega, Madison, WI)을 참조). 이러한 분석을 위한 유용한 효과기 세포는 말초혈 단핵 세포(PBMC) 및 자연 살해(NK) 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 관심 분자의 ADCC 활성은, 예컨대, Clynes *et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)에 개시된 바와 같은 동물 모델에서 생체내 평가할 수 있다. 상기 항체가 C1q에 결합할 수 없고, 이로 인하여 CDC 활성이 결여된다는 것을 확인하기 위하여 C1q 결합 분석을 또한 실시할 수 있다. 예를 들어, WO 2006/029879와 WO 2005/100402에서 C1q 및 C3c 결합 ELISA를 참조한다. 보체 활성화를 평가하기 위해, CDC 분석을 실시할 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. and M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)을 참조). FcRn 결합 및 생체내 청소율/반감기 측정은 또한 당업계에 공지된 방법을 사용하여 실시할 수 있다(예컨대, Petkova, S.B. *et al., Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006); WO 2013/120929 A1를 참조).
- [0440] 감소된 효과기 기능을 가진 항체들은 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 중 하나 이상의 치환을 가진 것들을 포함한다(미국 특허 제6,737,056호). 이러한 Fc 돌연변이체는 잔기 265 및 297의 알라닌으로의 치환을 갖는 이른바 "DANA" Fc 돌연변이체를 포함하여, 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327 중 두 개 이상에서 치환을 갖는 Fc 돌연변이체를 포함한다(미국 특허 제7,332,581호).

- [0441] FcR에 개선된 또는 축소된 결합을 갖는 특정 항체 변이체가 기재되어 있다. (예를 들어, 미국 특허 제6,737,056호; WO 2004/056312호, 및 Shields *et al.*, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)를 참조).
- [0442] 특정 양태들에서, 항체 변이체는 ADCC를 개선시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환들, 예를 들어, Fc 영역의 위치 298, 333, 및/또는 334(잔기는 EU 넘버링)에서 치환을 가진 Fc 영역을 포함한다.
- [0443] 특정 양태들에서, 항체 변이체는 Fc γ R 결합을 감소시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환들, 예컨대, Fc 영역의 위치 234 및 235(잔기의 EU 넘버링)에서 치환을 가진 Fc 영역을 포함한다. 일 양태에서, 치환은 L234A 및 L235A(LALA)이다. 특정 양태들에서, 항체 변이체는 인간 IgG₁ Fc 영역으로부터 유래된 Fc 영역에 D265A 및/또는 P329G를 추가로 포함한다. 일 양태에서, 치환은 인간 IgG₁ Fc 영역으로부터 유래된 Fc 영역의 L234A, L235A 및 P329G(LALA-PG)이다. (예를 들어, WO 2012/130831을 참조). 다른 양태에서, 치환은 인간 IgG₁ Fc 영역으로부터 유래된 Fc 영역의 L234A, L235A 및 D265A (LALA-DA)이다.
- [0444] 특정 양태들에서, 항체 변이체는 Fc γ R 결합을 개선시키는 (및 이에 의해 효과기 기능을 개선시키는) 하나 이상의 아미노산 치환, 예를 들어, 위치에서의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 특정 양태들에서, 항체 변이체는 G236A, I332E, S298A, E333A, K334A, S239D, A330L, F243L, R292P, Y300L, V305I, P396L, L235V, L234Y, L235Q, G236W, S239M, H268D, D270E, K326D, A330M, K334E(예를 들어, Liu *et al.*, *Antibodies (Basel)* (2020);9(4):64를 참조)의 적어도 하나의 아미노산 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다.
- [0445] 일부 양태들에서, 변경은, 예컨대, 미국 특허 제6,194,551호, WO 99/51642호, 및 Idusogie *et al.* *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)에 의해 기재된 바와 같이, C1q 결합 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC)을 변경(즉, 개선 또는 감소)시키는 Fc 영역에서 이루어진다.
- [0446] 반감기가 증가되고, 태아로의 모체 IgG의 이동에 원인으로 작용하는 신생아 Fc 수용체(FcRn)로의 결합이 개선된 항체(Guyer *et al.*, *J. Immunol.* 117:587 (1976) 및 Kim *et al.*, *J. Immunol.* 24:249 (1994))가 US2005/0014934(Hinton *et al.*)에 기재되어 있다. 이들 항체는 FcRn에 Fc 영역의 결합을 개선하는, 그 안에 하나 이상의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 이러한 Fc 변이체들에는 다음 중 하나 이상의 Fc 영역 잔기에서 치환을 갖는 것들이 포함된다: 238, 252, 254, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434, 예컨대 Fc 영역 잔기 434의 치환(예컨대, 미국 특허 제 7,371,826호; Dall'Acqua, W.F., *et al.* *J. Biol. Chem.* 281 (2006) 23514-23524를 참조).
- [0447] 마우스 Fc-마우스 FcRn 상호작용에 중요한 Fc 영역 잔기는 부위 지정 돌연변이유발에 의해 식별되었다(예를 들어, Dall'Acqua, W.F., *et al.* *J. Immunol.* 169 (2002) 5171-5180을 참조). 잔기 I253, H310, H433, N434 및 H435(잔기의 EU 넘버링)가 상호작용에 관여한다(Medesan, C., *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 26 (1996) 2533; Firan, M., *et al.*, *Int. Immunol.* 13 (2001) 993; Kim, J.K., *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 24 (1994) 542). 잔기 I253, H310 및 H435는 인간 Fc와 무린 FcRn의 상호 작용에 중요한 것으로 밝혀졌다(Kim, JK, *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 29 (1999) 2819). 인간 Fc-인간 FcRn 복합체에 관한 연구는 잔기 I253, S254, H435, 및 Y436이 이러한 상호작용에 중요함을 보여주었다(Firan, M., *et al.*, *Int. Immunol.* 13 (2001) 993; Shields, R.L., *et al.*, *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 6591-6604). Yeung, Y.A., *et al.* (*J. Immunol.* 182 (2009) 7667-7671)에서는, 잔기 248 내지 259 및 301 내지 317 및 376 내지 382 및 424 내지 437의 다양한 돌연변이체가 보고 및 조사되었다.
- [0448] 특정 양태들에서, 항체 변이체는 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환들, 예로써, Fc-영역의 위치 253, 및/또는 310, 및/또는 435(잔기의 EU 넘버링)에서 치환을 가진 Fc 영역을 포함한다. 특정 양태들에서, 항체 변이체는 위치 253, 310 및 435에서 아미노산 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 일 양태에서, 치환은 인간 IgG₁ Fc 영역으로부터 유래된 Fc 영역에서 I253A, H310A 및 H435A이다. 예를 들어, Grevys, A., *et al.*, *J. Immunol.* 194 (2015) 5497-5508을 참조한다.
- [0449] 특정 양태들에서, 항체 변이체는 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환들, 예를 들어, Fc-영역의 위치 310, 및/또는 433, 및/또는 436(잔기의 EU 넘버링)에서 치환을 가진 Fc 영역을 포함한다. 특정 양태들에서, 항체 변이체는 위치 310, 433 및 436에서 아미노산 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 일 양태에서, 치환은 인간 IgG₁ Fc 영역으로부터 유래된 Fc 영역에서 H310A, H433A 및 Y436A이다. (예를 들어, WO 2014/177460 A1을 참조).
- [0450] 특정 양태들에서, 항체 변이체는 FcRn 결합을 증가시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환들, 예를 들어, Fc

영역의 위치 252, 및/또는 254, 및/또는 256(잔기의 EU 넘버링)에서 치환을 가진 Fc 영역을 포함한다. 특정 양태들에서, 항체 변이체는 위치 252, 254 및 256에서 아미노산 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 일 양태에서, 치환은 인간 IgG₁ Fc 영역으로부터 유래된 Fc 영역에서의 M252Y, S254T 및 T256E이다. Fc 영역 변이체의 다른 실례와 관련하여, Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); 미국 특허 제5,648,260호; 미국 특허 제5,624,821호; 및 WO 94/29351을 또한 참조한다.

[0451] 본원에 보고된 바와 같은 항체의 중쇄의 C 말단은 아미노산 잔기 PGK로 끝나는 완전한 C 말단일 수 있다. 중쇄의 C-말단은 C 말단 아미노산 잔기 중 1개 또는 2개가 제거된 단축된 C-말단일 수 있다. 일 양태에서, 중쇄의 C-말단은 PG로 끝나는 단축된 C-말단이다. 본원에 보고된 모든 양태들 중 일 양태에서, 본원에 명시된 바와 같은 C-말단 CH3 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 항체는 C-말단 글리신-리신 디펩티드(G446 및 K447, 아미노산 위치의 카바트 EU 인덱스 넘버링)를 포함한다. 본원에 보고된 바와 같은 모든 양태들 중 일 양태에서, 본원에서 특정된 바와 같은 C-말단 CH3 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 항체는 C-말단 글리신 잔기(G446, 아미노산 위치의 EU 인덱스 넘버링)를 포함한다. 본원에 보고된 바와 같은 모든 양태들 중 일 양태에서, 본원에서 특정된 바와 같은 C-말단 CH3 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 항체는 C-말단 프롤린 잔기(P445, 아미노산 위치의 EU 인덱스 넘버링)를 포함한다.

[0452] d) 시스테인 가공된 항체 변이체

[0453] 특정한 양태들에서, 시스테인 조작된 항체, 예를 들어, THIOMABTM 항체를 생성하는 것이 바람직할 수 있는데, 여기서 항체의 하나 이상의 잔기가 시스테인 잔기로 치환된다. 특정 양태들에서, 치환된 잔기는 상기 항체의 접근 가능 부위에서 발생한다. 이들 잔기를 시스테인으로 치환함으로써, 반응성 티올기는 이러한 항체의 접근가능한 부위에 위치하게 되고, 다른 모이어티, 예를 들어, 하기에서 설명되는 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티에 이 항체가 접합되어 면역접합체가 생성될 수 있다. 시스테인 조작된 항체는, 예를 들어, 미국 특허 제 7,521,541호, 8,30,930호, 7,855,275호, 9,000,130호, 또는 WO 2016040856에 기재된 바와 같이 생성될 수 있다.

[0454] e) 항체 유도체

[0455] 특정 양태들에서, 본원에서 제공된 항체는 당해 분야에서 공지되고 쉽게 입수 가능한 추가 비단백질성 모이어티를 함유하도록 더 변형될 수 있다. 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 수용성 중합체들의 비-제한적 예들에는, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트라이옥세인, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산(동중중합체 또는 무작위 공중합체), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 동중중합체, 폴리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올(예를 들어, 글리세롤), 폴리비닐 알콜, 및 이의 혼합물이 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데하이드는 물에서의 안정성으로 인하여 제조에 있어 장점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량일 수 있고, 분지형 또는 비-분지형일 수 있다. 상기 항체에 부착된 중합체의 수는 가변적일 수 있으며, 하나 초과 중합체가 부착된 경우, 이들은 동일하거나 또는 상이한 분자들일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 이용된 중합체의 수 및/또는 유형은 개선되는 항체의 특정 성질들 또는 기능들, 상기 항체 유도체가 특정 조건하에서 치료에 이용되는지의 여부 등을 포함하는 고려사항들에 근거하여 결정될 수 있다.

[0456] **B. 재조합 방법 및 조성물**

[0457] 항체는, 예를 들어, US 4,816,567호에 기재된 바와 같은 재조합 방법 및 조성물을 사용하여 생성할 수 있다. 이들 방법을 위해 항체를 암호화하는 하나 이상의 단리된 핵산(들)이 제공된다.

[0458] 천연 항체 또는 천연 항체 단편의 경우, 두 개의 핵산이 필요한데, 하나는 경쇄 또는 이의 단편을 위한 것이고 다른 하나는 중쇄 또는 이의 단편을 위한 것이다. 이러한 핵산(들)은 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 항체의 VH(예를 들어, 항체의 경쇄 및/또는 중쇄(들))를 포함하는 아미노산 서열을 암호화할 수 있다. 이러한 핵산은 동일한 발현 벡터 또는 상이한 발현 벡터 상에 있을 수 있다.

[0459] 이중이량체 중쇄가 있는 이중특이적 항체의 경우에, 4개의 핵산, 즉 제1 경쇄에 1개의 핵산, 제1 이중단량체의 Fc 영역 폴리펩티드를 포함한 제1 중쇄에 1개의 핵산, 제2 경쇄에 1개의 핵산, 및 제2 이중단량체의 Fc 영역 폴리펩티드를 포함한 제2 중쇄에 1개의 핵산이 요구된다. 이들 4개의 핵산은 하나 이상의 핵산 분자 또는 발현 벡

터 내 포함될 수 있다. 이러한 핵산(들)은 제1 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 제1 이중단량체의 Fc 영역을 포함한 제1 VH를 포함하는 아미노산 서열 및/또는 제2 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 상기 항체의 제2 이중단량체의 Fc 영역을 포함한 제2 VH를 포함하는 아미노산 서열을 암호화한다(예컨대, 항체의 제1 및/또는 제2 경쇄 및/또는 제1 및/또는 제2 중쇄들). 이러한 핵산은 동일한 발현 벡터 또는 상이한 발현 벡터 상에 있을 수 있으며, 일반적으로 이러한 핵산은 2개 또는 3개의 발현 벡터 상에 위치한다, 즉, 하나의 벡터는 이러한 핵산 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 이들 이중특이적 항체의 예는 크로스맵(CrossMab)이다(예컨대, Schaefer, W. et al, PNAS, 108 (2011) 11187-1191을 참조). 예를 들어, 이중단량체의 중쇄 중 하나는 EU 인덱스 넘버링에 따라 소위 "돌기 돌연변이"(T366W 및 선택적으로 S354C 또는 Y349C 중 하나)를 포함하고 다른 하나는 소위 "구멍 돌연변이"(T366S, L368A 및 Y407V와 선택적으로 Y349C 또는 S354C)를 포함한다(예컨대, Carter, P. et al., Immunotechnol. 2 (1996) 73을 참조).

- [0460] 일 양태에서, 본원에 보고된 바와 같은 방법에 사용된 항체를 암호화하는 단리된 핵산이 제공된다.
- [0461] 일 양태에서, 항-CCR8 항체를 만드는 방법이 제공되며, 여기서 방법은 상기 제공된 바와 같은 항체의 발현에 적합한 조건하에, 상기 항체를 암호화하는 핵산(들)을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 선택적으로 상기 항체를 숙주 세포(또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 회수하는 단계를 포함한다.
- [0462] 항-CCR8 항체의 재조합 생성의 경우에, 예를 들어, 전술된 바와 같은 항체를 암호화하는 핵산이 단리되고, 숙주 세포에서 추가 클로닝 및/또는 발현을 위해 하나 이상의 벡터 내로 삽입된다. 이러한 핵산은 쉽게 단리될 수 있고, 통상적인 절차를 이용하여(예를 들어, 항체의 중쇄와 경쇄를 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함으로써) 염기서열분석하거나 또는 재조합 방법에 의해 생성하거나 또는 화학적 합성에 의해 수득할 수 있다.
- [0463] 항체-암호화 벡터의 클로닝 또는 발현을 위한 적합한 숙주 세포는 본원에 기재된 원핵 또는 진핵 세포를 포함한다. 예를 들어, 항체는 특히 당화 및 Fc 효과기 기능이 필요하지 않은 경우 박테리아 내에서 생성될 수 있다. 박테리아에서 항체 단편들 및 폴리펩티드 발현과 관련하여, 예를 들어, US 5,648,237, US 5,789,199, 및 US 5,840,523호를 참조한다. (또한, 대장균에서 항체 단편의 발현을 설명하는 Charlton, K.A., In: Methods in Molecular Biology, Vol. 248, Lo, B.K.C. (ed.), Humana Press, Totowa, NJ (2003), pp. 245-254를 참조). 발현 후, 항체는 가용성 분획 중의 박테리아 세포 페이스트로부터 단리될 수 있으며 추가로 정제될 수 있다.
- [0464] 원핵세포 이외에도, 진핵 미생물, 예를 들어, 섬유성 곰팡이 또는 효모는 항체-암호화 벡터의 적절한 클로닝 또는 발현 숙주이며, 이의 당화 경로가 "인간화되고", 결과적으로 부분적으로 또는 온전하게 인간 당화 패턴을 가진 항체가 생산되는 곰팡이 및 효모 균주가 포함된다. Gerngross, T.U., Nat. Biotech. 22 (2004) 1409-1414; 및 Li, H. et al., Nat. Biotech. 24 (2006) 210-215를 참조한다.
- [0465] (당화된)항체의 발현에 적합한 숙주 세포들은 다세포 유기체(무척추동물 및 척추동물)로부터 또한 유래된다. 무척추동물 세포들의 예로는 식물 및 곤충 세포들이 포함된다. 특히, 스포도프테라 푸르기페르다(Spodoptera frugiperda) 세포들의 형질감염을 위하여 곤충 세포들과 병용될 수 있는 많은 벡로로바이러스 균주들이 식별되었다.
- [0466] 식물 세포 배양물 또한 숙주로 이용할 수 있다. 예를 들어, US 5,959,177, US 6,040,498, US 6,420,548, US 7,125,978, 및 US 6,417,429를 참조한다(형질전환 식물에서 항체를 생성하기 위한 PLANTIBODIESTM 을 기재함).
- [0467] 척추동물 세포들 또한 숙주로 이용할 수 있다. 예를 들어, 현탁액에서 성장하도록 개조시킨 포유동물 세포주들이 유용할 수 있다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예에는 SV40(COS-7)에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 주; 인간 배아 신장 세포주(예컨대, Graham, F.L. et al., J. Gen Virol. 36 (1977) 59-74에 기재된 바와 같은 293 또는 293T 세포); 새끼 햄스터 신장 세포(BHK); 마우스 세르톨리 세포(예컨대, Mather, J.P., Biol. Reprod. 23 (1980) 243-252에 기재된 TM4 세포); 원숭이 신장 세포(CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포(VERO-76); 인간 자궁경부 암종 세포(HELA); 개 신장 세포(MDCK; 버팔로 랫트 간 세포(BRL 3A); 인간 폐 세포(W138); 인간 간 세포(Hep G2); 마우스 유방 종양(MMT 060562); TRI 세포(예컨대, Mather, J.P. et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383 (1982) 44-68에 기재됨); MRC 5 세포; 및 FS4 세포가 포함된다. 다른 유용한 포유동물 숙주 세포주로는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 예컨대, DHFR- CHO세포(Urtaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77 (1980) 4216-4220); 및 골수종 세포주, 예컨대, YO, NSO 및 Sp2/0이 포함된다. 항체 생성에 적합한 특정 포유동물 숙주 세포주의 검토를 위해, 예를 들어, Yazaki, P. and Wu, A.M., Methods in Molecular Biology, Vol. 248, Lo, B.K.C. (ed.), Humana Press, Totowa, NJ (2004), pp. 255-268을 참조한다.

[0468] 일 양태에서, 숙주 세포는 진핵세포, 예를 들어, 중국 햄스터 난소(CHO) 또는 림프계 세포(예를 들어, Y0, NS0, Sp20 세포)이다.

C. 분석

[0470] 본원에 제공된 항-CCR8 항체들은 해당 분야에 공지된 다양한 분석법에 의해 이의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대해 확인, 스크리닝 또는 특성화될 수 있다.

1. 결합 검정 및 기타 검정

[0472] 일 양태에서, 본원에 기재된 항체는, 예를 들어, ELISA, 웨스턴 블롯 등과 같은 공지된 방법에 의해 이의 항원 결합 활성에 대해 시험한다.

[0473] 다른 양태에서, 경쟁 검정이 CCR8에 결합하기 위해 본 개시된 주제의 항-CCR8 항체, 예를 들어, Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, 및 Ab5와 경쟁하는 항체를 식별하는 데 이용될 수 있다. 특정 양태들에서, 이러한 경쟁 항체는 본 개시된 주제의 항-CCR8 항체에 의해, 예를 들어, Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, 및 Ab5에 의해 결합되는 동일한 에피토프(예를 들어, 선형 또는 입체형태적 에피토프)에 결합한다. 이에 항체가 결합하는 에피토프를 매핑하기 위한 상술된 예시적인 방법은 Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols", in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)에서 제공된다.

[0474] 예시적인 경쟁 검정에서, 고정된 CCR8은 CCR8에 결합하는 제1 표지화된 항체(예를 들어, 본 개시된 주제의 항-CCR8 항체에 의해, 예를 들어, Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, 및 Ab5) 및 CCR8에 결합하기 위해 제1 항체와 경쟁하는 이의 능력에 대해 시험되는 제2 표지화되지 않은 항체를 포함하는 용액에서 항온처리된다. 두 번째 항체가 하이브리도마 상층액 내 존재할 수 있다. 대조군으로서, 고정된 CCR8은, 제1 표지화된 항체를 포함하지만 제2 표지화되지 않은 항체는 포함하지 않는 용액에서 항온처리된다. CCR8에 대한 제1 항체의 결합을 허용하는 조건하에서 인큐베이션한 후, 과량의 결합되지 않은 항체를 제거하고, 고정된 CCR8과 결합된 표지의 양을 측정한다. 고정된 CCR8과 결합된 표지의 양이 대조 샘플에 비해 시험 샘플에서 실질적으로 감소하면, 이는 이차 항체가 CCR8에 결합하기 위해 일차 항체와 경쟁하고 있음을 나타낸다. Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14(콜드 스프링 하버 연구소(Cold Spring Harbor Laboratory), 뉴욕주의 콜드 스프링 하버 소재)를 참조한다.

2. 활성 검정

[0476] 일 양태에서, 생물학적 활성을 갖는 이의 항-CCR8 항체를 식별하기 위한 분석이 제공된다. 생물학적 활성은, 예를 들어, 항체-의존성 세포독성(ADCC), Treg에 대한 ADCC, 항체-의존성 세포성 식균 작용(ADCP), Treg의 고갈을 포함할 수 있다. 생체내에서 및/또는 시험관내에서 이러한 생물학적 활성을 갖는 항체가 또한 제공된다.

[0477] 특정 양태들에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-CCR8 항체를 상기 항체의 ADCC를 측정하기 위해 시험한다. ADCC 검정은 이전에 Kamen, L., *et al.*, *Development of a kinetic antibody-dependent cellular cytotoxicity assay*. J Immunol Methods, 2019. 468: p. 49-54, 및 Schnueriger, A., *et al.*, *Development of a quantitative, cell-line based assay to measure ADCC activity mediated by therapeutic antibodies*. Mol Immunol, 2011. 48(12-13): p. 1512-17 에 보고된 바와 같이 실시하였고, 일부 변형으로서, CD16 조작된 NK-92_F158을 효과기 세포로서 사용하고, 인간 CCR8 및 Ga 15 아단위(CHO/hCCR8.Gna15)를 표적 세포로서 안정하게 발현하는 CHO 세포를 사용한다. 간략하게, ADCC에 의한 표적 세포의 용해는 칼세인 방출 방법에 의해 측정한다. 표적 세포를 칼세인-AM으로 표지한 다음, 세척하고 3000 세포/웰의 밀도로 384-웰 플레이트 상에 분주한다. 항-CCR8 항체를 0.004 내지 1 µg/mL의 다양한 농도로 첨가한 후, NK-92_F158 세포를 10:1의 효과기:표적(E:T) 비로 첨가한다. 이어서, 플레이트를 37° C에서 2.5시간 동안 인큐베이션한다. 인큐베이션 후, 플레이트를 200 × g에서 3분 동안 원심분리하고, 상청액을 백색 불투명 384-웰 마이크로플레이트로 옮기고, 형광 신호를 상대 형광 단위(RFU)로 측정한다. 표적 세포만을 포함하는 웰의 신호는 표지된 세포로부터(자발적 방출) 칼세인의 자발적 방출을 나타내는 반면, Triton X-100으로 용해된 표적 세포를 포함하는 웰은 입수 가능한 최대 신호(최대 방출)를 제공한다. 항체-비의존성 세포-매개 세포독성(AICC)은 항체의 첨가 없이 표적 및 효과기 세포를 함유하는 웰에서 측정한다. 샘플 및 대조군은 동일한 플레이트에서 적어도 이중으로 시험한다. 특이적 ADCC 활성의 정도는 다음과 같이 계산한다:

[0478] %ADCC =

[0479] 100 x (평균 실험 방출평균 AICC)/(평균 최대 방출평균 자발적 방출)

- [0480] ADCC 활성을 항체 농도의 함수로서 플롯하고, 데이터를 비대칭 S자형 4-매개변수 로지스틱(sigmoidal four-parameter logistic, 4PL) 모델에 맞춤한다.
- [0481] 특정 양태들에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-CCR8 항체를 Treg 세포에 대하여 ADCC를 측정하기 위해 시험한다. 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로부터 T 세포 상에서 CCR8 발현을 유도하기 위해, 10^7 인간 PBMC를 NOD로 복강내 전달한다. Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) 마우스(JAX) 및 비장을 전달 후 2-3주에 수집한다. 인간 T 세포는 NSG 비장세포의 단일 세포 현탁액으로부터 농축하고, 1차 NK 세포는 인간 PBMC로부터 농축한다. 인간 T 세포를 0.001 내지 1 μ g/mL의 항-CCR8 항체와 함께 30분 동안 실온에서 인큐베이션한 후, 효과기:표적 비율 2:1로 1차 NK 세포를 첨가한다. 37° C에서 밤새 인큐베이션한 후, 세포를 수집하고, 표면 염색하고, 세포 내 염색한다. T 세포 모집단을 정의하는 데 사용되는 항체는 CD45(HI30), CD3(SK7), CD8(RPA-T8), 및 CD14(63D3), CD4(RPA-T4), 및 FOXP3(236A/E7)이다. CountBright 절대 카운팅 비드를 획득하기 전에 각 샘플에 첨가한다. 유세포 분석을 실시한다. 절대 세포 수를 계산한다. Treg 세포에 대한 ADCC 활성은 회수된 Treg 세포 대 회수된 CD8 세포의 비(Treg/CD8) 또는 통상적인 CD4 T 세포 대 회수된 CD8 T 세포의 비(CD4conv/CD8)를 계산하여 측정한다.
- [0482] 특정 양태들에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-CCR8 항체는 형광-활성화 세포 분류(FACS) 유세포 분석법에 의해 조절 T 세포(Treg 세포 또는 Treg 세포)에 대한 이의 결합을 측정하기 위해 시험한다. 인간 결합직장 해리된 종양 세포(DTC)를 해동시킨다. 세포를 eFluor 780-접합된 고정성 생존력 염료 및 CCR8, OX40(양성 대조군), 허셉틴(음성 대조군), 또는 항-hIgG(음성 대조군)에 특이적인 2 μ g/mL mAb로 4° C에서 20분 동안 표면 염색한 후, AF647-접합된 아피니퓨어(AffiniPure) F(ab')₂ 단편 염소 항-인간 IgG, Fc γ 단편-특이성으로 4° C에서 10분 동안 2차 검출한다. 그런 다음 세포를 세포 내에서 염색한다. T 세포 모집단을 정의하는 데 사용되는 항체는 BD 바이오사이언시즈의 CD45(HI30), CD3(SK7), CD8(RPA-T8), 및 CD14(63D3), CD4(RPA-T4), 및 FOXP3(236A/E7)이다. 유세포 분석을 실시하고 분석한다.
- [0483] 특정 양태들에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-CCR8 항체를 상기 항체의 ADCP를 측정하기 위해 시험한다. 인간 CD14⁺ 단핵구는 공지된 Fc γ RIIa 및 Fc γ RIIIa 유전자형 정보를 갖는 공여체의 혈액으로부터 먼저 분리된다. 정제된 CD14⁺ 단핵구를 대식세포로 분화시킨다. 이어서, 50 ng/mL의 hIL-10을 첨가하여 ADCP 검정 전에 24시간 동안 대식세포를 분극화시킨다. NucLight Red 형질감염된 CHO/hCCR8.Gna15 표적 세포를 20 mg/mL의 비-특이적 인간 IgG의 존재하에 20분 동안 항-CCR8 항체와 함께 예비-인큐베이션한다. 이어서, 상기 세포 혼합물을 1:1의 E:T 비로 대식세포(효과기 세포) 플레이트에 첨가한다. 세포 이미지는 6시간의 기간 동안 1시간마다 명시야 및 적색 레이저 설정으로 획득한다. 각 웰(나머지 표적 세포) 내의 적색 세포 수는 대식세포 수에 의해 정규화된다. ADCP 활성은 동형 대조군 항체가 존재하는 음성 대조군과 비교하여 각 샘플에서 정규화된 적혈구 수의 감소 백분율로서 계산한다. 그런 다음, ADCP 활성을 항체 농도의 함수로서 플롯하고, 데이터를 비대칭 S자형 4-매개변수 로지스틱(sigmoidal four-parameter logistic, 4PL) 모델에 맞춤한다. 각 항체에 대한 EC₅₀ 값은 50% 표적 세포 사멸에 도달하는 농도로서 결정한다.
- [0484] 특정 양태들에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-CCR8 항체(예를 들어, 대리 마우스 항체)를 생체내에서 Treg 세포의 고갈을 측정하기 위해 시험하고, 확립된 종양을 갖는 마우스를 항-CCR8 항체(예를 들어, 본원에 개시된 대리 마우스 항체)로 처리하고, 종양, 비장 및 종양-배액 림프절에서 백혈구 중의 Treg 세포, 통상적인 CD4 T 세포 및 CD8 T 세포의 비율을 분석한다. 이를 위해, 종양 세포를 대수기(log-phase) 성장으로 회수하고, 1:1 비율로 매트릭셀을 함유하는 HBSS에 재현탁시킨다. 마우스의 옆구리에 100 마이크로리터의 HBSS + 매트릭셀 중의 0.1 백만 개의 종양 세포를 피하 접종한다. 확립되고 130-230 mm³의 평균 종양 부피에 도달할 때까지 종양을 모니터링한다. 이후, 마우스를 처리군으로 무작위화한다. 항-CCR8 또는 항-gp120 동형 대조군 Ab를 사용한 치료가 정맥내로 투여된다. 3일 후 마우스를 희생시키고, 종양, 비장 및 종양-배액 림프절을 분석을 위해 획득한다. 단일 세포 현탁액을 생성하기 위해, 종양을 잘게 부수고 소화시킨다. 단일 세포 현탁액을 형광 표지된 항-CD45, 항-CD4 및 항-CD8 항체로 표면 염색하고, 형광 표지된 항-Foxp3 항체로 세포 내 염색한다. 유세포 분석법은 Fortessa X-20 또는 FACSymphony 상에서 실시하고 FlowJo 소프트웨어로 분석한다.
- [0485] 특정 양태들에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-CCR8 항체(예를 들어, 대리 마우스 항체)는 생체내에서 종양-침윤성 Treg 세포의 항-CCR8-매개된 고갈 후 종양 성장 억제에 대해 시험한다. 종양이 확립된 마우스를 대리 마우스 항-CCR8 항체로 처리하고, 시간 경과에 따른 종양 성장에 대해 모니터링한다.

[0486] **D. 진단 및 검출을 위한 방법 및 조성물**

[0487] 특정 양태들에서, 본원에서 제공된 임의의 항-CCR8 항체들 중 임의의 것은 생물학적 샘플 내에서 CCR8의 존재를 검출하는 데 유용하다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "검출하는"은 정량적 또는 정성적 검출을 포괄한다. 특정 양태들에서, 생물학적 샘플은 세포 또는 조직, 예컨대, 종양을 포함한다.

[0488] 일 양태에서, 진단 또는 검출 방법에 사용하기 위한 항-CCR8 항체가 제공된다. 추가의 양태에서, 생물학적 샘플 중의 CCR8의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 특정 양태들에서, 이러한 방법은 생물학적 샘플을 CCR8에 대한 항-CCR8 항체의 결합을 허용하는 조건하에 본원에 기재된 항-CCR8 항체와 접촉시키는 단계, 및 항-CCR8 항체와 CCR8 사이에 복합체가 형성되는지 여부를 검출하는 단계를 포함한다. 이러한 방법은 시험관내 또는 생체내 방법 일 수 있다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체는, 예를 들어, CCR8가 대상체의 선별을 위한 바이오마커인 경우에, 항-CCR8 항체를 이용한 요법에 적절한 대상체를 선별하는 데 사용한다.

[0489] 특정 양태들에서, 표지된 항-CCR8 항체가 제공된다. 표지는 직접적으로 검출되는 표지 또는 모이어티(예컨대, 형광, 발색, 전자 밀도, 화학발광 및 방사성 표지) 뿐만 아니라, 예컨대, 효소 반응 또는 분자 상호작용을 통해 간접적으로 검출되는 모이어티, 예컨대, 효소 또는 리간드를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 표지는 염료 전구체를 산화시키는 과산화수소를 이용하는 효소, 예컨대, HRP, 락토펙시다아제 또는 마이크로페록시다아제, 비오틴/아비딘, 스핀 표지, 박테리오파지 표지, 안정된 유리 라디칼 등과 연계된 방사성 동위원소 ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H 및 ^{131}I , 형광단, 예컨대, 희토류 킬레이트 또는 플루오레세인 및 이의 유도체, 로다민 및 이의 유도체, 단질, 움벨리페론, 루시페라아제, 예를 들어, 개통벌레 루시페라아제 및 세균 루시페라아제(U.S. 특허 제4,737,456호), 루시페린, 2,3-디히드로프타라진디온, 양고추냉이 과산화효소(HRP), 알칼리 인산분해효소, β -갈락토시다아제, 글루코아미라아제, 라이소자임, 사카라이드 옥시다아제, 예를 들어, 글루코오스 옥시다아제, 갈락토오스 옥시다아제 및 글루코오스-6-인산염 탈수소효소, 헤테로환상 옥시다아제, 예컨대, 요산분해효소 및 크산틴 옥시다아제를 포함하지만 이들에 제한되지 않는다.

[0490] **E. 약학적 조성물**

[0491] 추가 양태에서, 예를 들어, 하기의 치료 방법들 중 임의의 것에 사용하기 위한 본원에 제공된 임의의 항체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 일 양태에서, 약학적 조성물은 본원에 제공된 임의의 항체 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 다른 양태에서, 약학적 조성물은, 예를 들어, 하기에 기재된 바와 같이, 본원에서 제공된 임의의 항체 및 적어도 한 가지의 추가 치료제를 포함한다.

[0492] 본원에 기재된 바와 같은 항-CCR8 항체의 약학적 조성물(제제)은 당업자에게 공지된 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제와 항체를 조합함으로써 제조할 수 있다. 예를 들어, *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980), Shire S., *Monoclonal Antibodies: Meeting the Challenges in Manufacturing, Formulation, Delivery and Stability of Final Drug Product*, 1st Ed., Woodhead Publishing (2015), § 4 and Falconer R.J., *Biotechnology Advances* (2019), 37, 107412를 참조한다. 본원에 기재된 바와 같은 항-CCR8 항체의 예시적인 약학적 조성물은 동결건조, 수성, 동결 등이다.

[0493] 약학적으로 허용되는 운반체는 일반적으로, 이용된 투여량과 농도에서 수용자에게 비독성이고, 그리고: 완충액, 예컨대, 히스티딘, 인산염, 구연산염, 아세트산염, 및 다른 유기 산; 아스코르빈산 및 메티오닌을 포함한 항산화제; 보존제(예컨대, 옥타데실디메틸벤질 염화암모늄; 염화헥사메토늄; 염화벤잘코늄; 염화벤제토늄; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 글루코오스, 만노오스 또는 텍스트린을 포함한 당당류, 이당류 및 다른 탄수화물; 킬레이트화제, 예컨대, EDTA; 당, 예컨대, 수크로오스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대 이온, 예컨대, 나트륨; 금속 착물(예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대, 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0494] 본원의 약학적 조성물은 또한 치료되는 특정 적응증에 필요한 둘 초과 활성 성분, 바람직하게는 서로 불리하게 영향을 미치지 않는 상보적 활성을 갖는 성분을 함유할 수 있다. 예를 들어, 동일한 질병의 치료에 유용한 제2 치료제를 더욱 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 활성 성분은 적절하게는, 의도된 목적에 효과적인 양에서 조합으로 존재한다.

- [0495] 생체내 투여에 사용되는 약학적 조성물은 일반적으로 멸균이다. 무균은, 예를 들어, 무균 여과 막을 통한 여과에 의해 쉽게 달성될 수 있다.
- [0496] **F. 치료 방법 및 투여 경로**
- [0497] 본원에서 제공된 임의의 항-CCR8 항체는 치료 방법에서 사용될 수 있다.
- [0498] 일 양태에서, 약제로서 사용하기 위한 항-CCR8 항체가 제공된다. 추가 양태들에서, 암 치료에 사용하기 위한 항-CCR8 항체가 제공된다. 특정 양태들에서, 본 개시는 유효량의 항-CCR8 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체(예를 들어, 인간 대상체)를 치료하는 방법에 사용하기 위한 항-CCR8 항체를 제공한다. 이러한 일 양태에서, 이러한 방법은, 예를 들어, 하기에 기재된 바와 같은 유효량의 적어도 하나의 추가 치료제(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 추가 치료제)를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 추가의 양태들에서, 본 개시는 중앙 미세환경 내 조절 T 세포("Treg")를 고갈시키는데 사용하기 위한 항-CCR8 항체를 제공한다. 특정 양태들에서, 본 개시는 대상체에게 중앙 미세환경 내 Treg의 고갈에서 유효량의 항-CCR8 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 중앙 미세환경 내 Treg를 고갈시키는 방법에 사용하기 위한 항-CCR8 항체를 제공한다.
- [0499] 추가의 양태에서, 본 개시는 약제의 제조 또는 준비에서 항-CCR8 항체의 사용을 제공한다. 일 양태에서, 약제는 암의 치료를 위한 것이다. 추가의 양태에서, 약제는 유효량의 약제를 치료를 필요로 하는 대상체(예를 들어, 인간 대상체)에 투여하는 단계를 포함하는, 암 치료 방법에 사용하기 위한 것이다. 이러한 일 양태에서, 상기 방법은, 예를 들어, 하기에 기재된 바와 같은 적어도 한 가지 추가 치료제의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 추가의 양태에서, 약제는 중앙 미세환경 내 Treg 세포를 고갈시키기 위한 것이다. 추가의 양태에서, 약제는 중앙 미세환경 내 Treg를 고갈시키기 위한 유효량의 약제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 중앙 미세환경 내 Treg를 고갈시키는 방법에 사용하기 위한 것이다.
- [0500] 추가의 양태에서, 본 개시는 질병을 치료하기 위한 방법을 제공한다. 일 양태에서, 상기 방법은 암을 치료하기 위해 유효량의 항-CCR8 항체를 이를 필요로 하는 대상체(예를 들어, 인간 대상체)에게 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 일 양태에서, 상기 방법은 하기에 기재된 바와 같은 적어도 한 가지 추가 치료제의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0501] 추가의 양태에서, 본 개시는, 예를 들어, 중앙 미세환경의 내부 또는 외부에서 Treg 세포를 고갈시키는데 사용하기 위한 항-CCR8 항체를 제공한다. 예를 들어, 특정 구현예들에서, 본 개시는 이를 필요로 하는 암을 가진 대상체(예를 들어, 인간 대상체)에서 중앙 미세환경 내 Treg 세포를 고갈시키는 방법으로서, 상기 대상체에게 중앙 미세환경 내 Treg 세포를 고갈시키기에 충분한 유효량의 항-CCR8 항체를 투여하여 암을 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 제공한다. 특정 양태들에서, 본 개시는 이를 필요로 하는 암을 가진 대상체(예를 들어, 인간 대상체)에서 중앙 미세환경 밖 Treg 세포를 고갈시키는 방법으로서, 상기 대상체에게 중앙 미세환경 내 Treg 세포를 고갈시키기에 충분한 유효량의 항-CCR8 항체를 투여하여 암을 치료하는 단계를 포함하는, 방법을 제공한다. 임의의 특정 이론에 구속되고자 함이 없이, 중앙 미세환경 밖 Treg 세포의 수를 감소시킴으로써, 중앙 미세환경 내로 침윤하는 Treg 세포의 수가 감소됨에 따라, 중앙 미세환경 내의 Treg 세포의 수가 감소됨에 따라 암이 치료된다.
- [0502] 예시적인 암은 방광암(예를 들어, 요로상피암), 모세포종, 혈액암(예를 들어, 림프종, 예컨대, 비호지킨, 백혈병), 골암, 뇌암, 유방암(예를 들어, 삼중 음성 유방암), 자궁경부암, 결장직장암(예를 들어, 결장암, 직장암), 자궁내막암, 식도암, 위암, 두경부암(예를 들어, 두경부의 편평 세포 암종), 신장암(예를 들어, 신장 세포 암종), 간암(예를 들어, 간세포 암종), 폐암(예를 들어, 비-소세포 폐암, 소세포 폐암종), 난소암, 췌장암, 전립선암, 육종, 피부암(예를 들어, 흑색종, 편평 세포 암종), 고환암 및 자궁암을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0503] 특정 양태들에서, 암은 방광암, 혈액암, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 폐암, 및 피부암이다.
- [0504] 특정 양태들에서, 암은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 두경부암, 간암, 폐암, 또는 피부암이다.
- [0505] 특정 양태들에서, 암은 고형 암종이다.
- [0506] 특정 양태들에서, 암은 CCR8를 발현한다.

- [0507] 특정 양태들에서, 암은 T 세포-염증이 생긴 종양이거나 T 세포-염증이 생긴 종양 미세환경을 포함한다.
- [0508] 특정 양태들에서, 암은 종양 미세환경 내의 조절 T 세포를 포함하고, 이에 대해 본원에 기재된 바와 같이 CCR8 항체에 대한 암의 노출은 종양 미세환경 내의 조절 T 세포의 고갈을 발생시킨다. 추가의 양태에서, 본 개시는, 예를 들어, 상기의 치료 방법들 중 임의의 것에 사용하기 위한, 본원에 기재된 임의의 항-CCR8 항체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 일 양태에서, 약학적 조성물은 본원에서 제공된 임의의 항-CCR8 항체 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 일부 양태에서, 약학적 조성물은, 예를 들어, 하기에 기재된 바와 같이, 본원에서 제공된 임의의 항-CCR8 항체 및 적어도 한 가지의 추가 치료제를 포함한다.
- [0509] 본원에 기재된 바와 같은 항체는 단독으로 투여될 수 있거나, 예를 들어, 암을 치료하는데 유용한 병용 요법으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 병용 요법은 본원에 기재된 항체를 투여하는 단계 및 적어도 하나의 추가 치료제(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 추가 치료제)를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0510] 상기 적어도 하나의 추가의 치료제는 치료를 위해 투여될 수 있는 임의의 작용제를 포함한다. 특정 양태들에서, 추가적인 치료제는 추가적인 항암제이다. 예시적인 항암제는 미세소관 파괴제, 항대사물질, 토포이소머라제 억제제, DNA 삼입제, 알킬화제, 호르몬 요법, 키나제 억제제, 수용체 길항제, 종양 세포 아폽토시스의 활성화제, 항혈관형성제, 면역조절제, 세포 부착 억제제, 세포독성 또는 세포증식 억제제, 세포 아폽토시스의 활성화제, 아폽토시스 유도제에 대한 세포의 감수성을 증가시키는 제제, 사이토카인, 항암 백신 또는 종양분해 바이러스, 툴-유사 수용체(TLR) 제제, 이중특이적 항체, 세포 요법, 및 면역 세포 결합제를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 특정 양태들에서, 추가의 치료제는 면역조절성 항암제, 예를 들어, 관문 억제제(CPI), 예컨대, 항-CTLA4 항체(예를 들어, 이필리무맙), PD-L1 결합 길항제, 또는 PD-1 결합 길항제이다.
- [0511] 용어 "PD-L1 결합 길항제"는 PD-L1의 이의 결합 파트너 중 하나 이상, 예컨대 PD-1 및/또는 B7-1과의 상호작용으로부터 발생하는 신호 전달을 감소시키거나, 차단하거나, 저해하거나, 제거하거나 또는 간섭하는 분자를 지칭한다. 일부 경우들에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1이 이의 결합 짝에 결합하는 것을 억제하는 분자다. 특정 양태에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및/또는 B7-1에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 경우들에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1의 이의 결합 파트너 중 하나 이상, 예를 들어, PD-1 및/또는 B7-1과의 상호작용으로부터 발생하는 신호 전달을 감소시키거나, 차단하거나, 저해하거나, 제거하거나 또는 간섭하는 항-PD-L1 항체, 이들의 항원 결합 단편, 면역부착소, 융합 단백질, 올리고펩티드 및 기타 분자를 포함한다. 일 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1을 통하여 T 림프구 매개된 신호 전달에서 발현된 세포 표면 단백질에 의해 또는 이를 통하여 매개된 음성 공동 자극 신호를 감소시켜, 이상기능 T 세포의 기능 이상을 더 적게 한다(예를 들어, 항원 인지에 대한 효과기 반응을 강화). 일부 경우들에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1에 결합한다. 일부 경우들에서, PD-L1 결합 길항제는 항-PD-L1 항체(예를 들어, 항-PD-L1 길항제 항체)이다. 예시적인 항-PD-L1 길항제 항체는 아테졸리주맙, MDX-1105, MEDI4736(더발루맙), MSB0010718C(아벨루맙), SHR-1316, CS1001, 엔바폴리맙, TQB2450, ZKAB001, LP-002, CX-072, IMC-001, KL-A167, APL-502, 코시벨리맙, 로다폴리맙, FAZ053, TG-1501, BGB-A333, BCD-135, AK-106, LDP, GR1405, HLX20, MSB2311, RC98, PDL-GEX, KD036, KY1003, YBL-007, 및 Hs-636을 포함한다. 일부 양태들에서, 항 PD-L1 항체는 아테졸리주맙, MDX-1105, MEDI4736(더발루맙), 또는 MSB0010718C(아벨루맙)이다. 일 특정 양태에서, PD-L1 결합 길항제는 MDX-1105이다. 다른 특정 양태에서, PD-L1 결합 길항제는 MEDI4736(더발루맙)이다. 다른 특정 양태에서, PD-L1 결합 길항제는 MSB0010718C(아벨루맙)이다. 다른 양태들에서, PD-L1 결합 길항제는 소분자, 예컨대, GS-4224, INCB086550, MAX-10181, INCB090244, CA-170 또는 ABSK041 일 수 있으며, 이는 일부 경우들에서 경구 투여될 수 있다. 다른 예시적인 PD-L1 결합 길항제들은 AVA-004, MT-6035, VXM10, LYN192, GB7003, 및 JS-003을 포함한다. 일 양태에서, PD-L1 결합 길항제는 아테졸리주맙이다.
- [0512] 용어 "PD-1 결합 길항제"는 PD-1의 이의 결합 파트너 중 하나 이상, 예컨대, PD-L1 및/또는 PD-L2와의 상호작용으로부터 발생하는 신호 전달을 감소시키거나, 차단하거나, 저해하거나, 제거하거나 또는 간섭하는 분자를 지칭한다. PD-1(예정된 사멸 1)은 또한, 당해 분야에서 "예정된 세포 사멸 1", "PDCD1", "CD279" 및 "SLEB2"로서 지칭된다. 예시적인 인간 PD-1은 유니프록KB/스위스-프록(Swiss-Prot) 수탁 번호 Q15116에 나타나 있다. 일부 경우들에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1이 이의 하나 이상의 결합 짝에 결합하는 것을 억제하는 분자다. 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및/또는 PD-L2에 대한 PD-1의 결합을 저해한다. 예를 들어, PD-1 결합 길항제는 PD-1의 PD-L1 및/또는 PD-L2와의 상호작용으로부터 발생하는 신호 변환을 감소시키거나, 차단하거나, 억제하거나, 제거하거나 또는 방해하는 항 PD-1 항체, 이의 항원 결합 단편, 면역부착소, 융합 단백질, 올리고펩티드 및 기타 분자를 포함한다. 일 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1을 통하여 T 림프구 매개된 신호 전달에서 발현된 세포 표면 단백질에 의해 또는 이를 통하여 매개된 음성 공동 자극 신호를 감소시켜, 이상기능 T 세포의 기능 이상을 더 적게 한다(예컨대, 항원 인지에 대한 작동체 반응을 강화). 일부 경우들에서, PD-1 결합 길항제

는 PD-1에 결합한다. 일부 경우들에서, PD-1 결합 길항제는 항 PD-1 항체(예컨대, 항 PD-1 길항제 항체)이다. 예시적인 항-PD-1 길항제 항체는 니볼루맙, 펌브롤리주맙, MEDI-0680, PDR001(스파르탈리주맙), REGN2810(세미플리맙), BGB-108, 프로골리맙, 캄렐리주맙, 신틸리맙, 티슬렐리주맙, 토리팔리맙, 도스탈리맙, 레티판리맙, 사산리맙, 펜폴리맙, CS1003, HLX10, SCT-I10A, 짐베렐리맙, 발스틸리맙, 제놀립주맙, BI 754091, 세트렐리맙, YBL-006, BAT1306, HX008, 부디갈리맙, AMG 404, CX-188, JTX-4014, 609A, Sym021, LZM009, F520, SG001, AM0001, ENUM 244C8, ENUM 388D4, STI-1110, AK-103, 그리고 hAb21을 포함한다. 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 MDX-1106(니볼루맙)이다. 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 MK-3475(펌브롤리주맙)이다. 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L2 Fc 융합 단백질, 예컨대, AMP-224이다. 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 MEDI-0680이다. 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 PDR001(스파르탈리주맙)이다. 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 REGN2810(세미플리맙)이다. 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 BGB-108이다. 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 프롤골리맙이다. 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 캄렐리주맙이다. 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 신틸리맙이다. 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 티슬렐리주맙이다. 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 토리팔리맙이다. 다른 예시적인 PD-1 결합 길항제는 BION-004, CB201, AUNP-012, ADG104, 및 LBL-006을 포함한다. 전술된 이러한 병용 요법은 병용 투여(여기서 두 가지 이상의 치료제가 동일한 또는 별개의 약학적 조성물 내 포함됨), 그리고 별개 투여를 포괄하고, 이러한 경우에서, 본원에 기재된 항체의 투여는 추가 치료제 또는 치료제들의 투여에 앞서, 투여와 동시에 및/또는 투여 이후에 발생할 수 있다. 일 양태에서, 항-CCR8 항체의 투여 및 추가 치료제의 투여는 서로 약 1개월 이내에, 또는 약 1, 2 또는 3 주 이내에, 또는 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 6일 이내에 발생한다. 일 양태에서, 상기 항체 및 추가 치료제는 치료 1일차에 대상체에게 투여된다. 본원에 개시된 항체는 또한 방사선 요법과 병용될 수 있다.

[0513] 본원에 기재된 항체(및 임의의 추가 치료제)는 비경구, 폐내 및 비강내를 포함하는 임의의 적합한 수단에 의해 투여될 수 있고, 국소 치료의 경우 필요에 따라 병변내 투여될 수 있다. 비경구 주입에는 근육내, 정맥내, 동맥내, 복막내, 또는 피하 투여가 포함된다. 투약은 투여가 단기 또는 장기인지에 부분적으로 따라서, 임의의 적합한 루트, 예를 들면, 주사, 예컨대 정맥내 또는 피하 주사에 의할 수 있다. 단회 투여 또는 다양한 시점에 걸쳐 복수 투여, 일시 투여, 및 펄스 주입을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 다양한 투약 일정이 본원에서 예기된다.

[0514] 본원에 개시된 항체는 모범 의료행위 지침과 일치하는 방식으로 제형화, 투약 및 투여될 것이다. 이러한 문맥에서 고려되는 인자에는 치료되는 특정 장애, 치료되는 특정 대상체 중, 대상체의 임상적 상태, 장애의 원인, 작용제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 일정, 및 의료 종사자에게 공지된 기타 인자가 포함된다. 항체는 꼭 그럴 필요는 없지만, 문제의 장애를 치료하기 위해 현재 사용되는 하나 이상의 제제와 함께 선택적으로 제형화된다. 이러한 다른 물질들의 유효량은 약학적 조성물에 존재하는 항체의 양, 질병 또는 치료의 유형, 및 상기에서 논의된 다른 인자들에 따라 달라진다. 이들은 일반적으로, 본원에서 기재된 바와 동일한 용량에서 및 투여 경로로, 또는 본원에서 기재된 투여량의 약 1 내지 99%에서, 또는 경험적으로/임상적으로 적합한 것으로 결정되는 임의의 투여량 및 임의의 경로에 의해 이용된다.

[0515] 상기 항체는 한 번에 또는 일련의 치료 일정에 걸쳐 대상체에게 적절하게 투여된다. 수일 또는 보다 장기에 걸친 반복된 투여를 위하여, 병태에 따라, 치료는 일반적으로 질병 증상이 바람직하게 억제될 때까지 지속될 것이다. 하지만, 다른 투여량 요법이 유용할 수 있다. 상기 요법의 진행은 통상적인 기술 및 분석에 의해 용이하게 모니터링된다.

[0516] 추가의 구현예에서, 예를 들어, 시험관내 또는 생체내 도구 분자로서 사용하기 위한 대리 마우스의 사용이 고려된다. 예를 들어, 일 양태에서, 마우스에 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 대리 마우스 항체를 투여하여 질병을 치료하는 단계를 포함하는, 마우스에서 질병을 치료하는 방법이 제공된다. 특정 구현예들에서, 마우스는 이종이식을 포함한다. 특정 구현예들에서, 마우스 모델은 암 모델, 예를 들어, 피부암 모델이다.

[0517] G. 제조 물품

[0518] 다른 양태에서, 전술한 장애의 치료, 예방 및/또는 진단에 유용한 물질을 함유하는 제조 물품이 제공된다. 이러한 제조 물품은 용기 및 용기 위에 또는 용기에 결합된 표지 또는 포장 삽입물을 포함한다. 적합한 용기로는, 예를 들어, 병, 바이알, 주사기, IV 용액 백 등이 포함된다. 상기 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로부터 형성될 수 있다. 용기는 단독으로, 또는 질병을 치료하고, 예방하고 및/또는 진단하는 데 효과적인 다른 조성물과 조합으로 조성물을 보유하고, 무균 접근 포트를 가질 수 있다(예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘에 의해 관통 가능한 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 조성물에서 적어도 하나의 활성제는 본

원에 개시된 항체이다. 표지 또는 포장 삽입물은 조성물이 선택 병태를 치료하는 데 이용된다는 것을 나타낸다. 또한, 제조 물품은 (a) 내부에 본원에 개시된 항체를 포함하는 조성물이 함유된 제1 용기; 및 (b) 내부에 추가의 세포독성제 또는 그렇지 않으면 치료제를 포함하는 조성물이 함유된 제2 용기를 포함할 수 있다. 본 발명의 이러한 양태에서 제조 물품은 상기 조성물이 특정 병태의 치료에 사용될 수 있음이 표시된 약품 설명서를 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 제조 물품은 약학적으로 허용되는 완충액, 예컨대, 정균성 주사용수(BWFI), 인산염 완충 식염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 (또는 제3) 용기를 추가로 포함할 수도 있다. 제조 물품은 다른 완충액, 희석액, 필터, 바늘 및 주사기를 포함하여 상업적으로 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질들을 추가로 포함할 수 있다.

[0519] **예시**

[0520] 다음은 본원에 기재된 바와 같은 항체, 방법 및 조성물의 추가의 비제한적인 예이다. 상기 제공된 일반적인 설명을 고려하여, 다양한 다른 구현예들이 실시될 수 있는 것으로 이해된다.

[0521] 실시예 1. 항-CCR8 단일클론 항체의 발견 및 조작

[0522] 뉴질랜드 백색종 토끼를 재조합 huCCR8, huCCR8+ 토끼 세포주, huCCR8을 함유하는 세포의 소포, 및 huCCR8의 N-말단 영역으로부터 유래된 황산화 및 비황산화 펩티드로 면역화시켰다. 단일 B 세포는 Lin *et al.*, *PLoS ONE* 15(12), 2020에 기재된 프로토콜에 따라 분리하였다. 이어서, B 세포 배양 상청액을 인간 및 시노 CCR8+ CHO 세포 및 대조군 CHO 세포에 결합하기 위한 단일 웰로의 IgG+ B 세포의 직접 유동 활성화 세포 분류(FACS; 유동 세포측정법)에 의해 검정하였다. CCR8 특이적 B 세포를 용해시키고 분자 클로닝 때까지 보관을 위해 80°C에서 즉시 동결시켰다. 토끼 B 세포로부터 각 단일클론 항체의 가변 영역(VH와 VL)이 Lin *et al.*, *PLoS ONE* 15(12), 2020에 기재된 바와 같이 추출된 mRNA로부터 발현 벡터 내로 클로닝되었다. 개별 재조합 토끼 항체를 Expi293 세포에서 발현시킨 다음, 단백질을 A로 정제하였다.

[0523] 인간 또는 시노 CCR8 CHO 세포에 결합된 480개 이상의 항-CCR8 항체를 수득하였다. 항체는 인간 및 시노 CCR8 CHO 세포주 상에서의 상대적인 평균 형광 강도(MFI) 및 서열 다양성에 기초하여 추가로 선택하였다. 인간 및 시노 CCR8 CHO 세포에 대해 5배 미만의 MFI 차이를 나타낸 항체로부터, 5개의 독특한 항체 군을 식별하였다(Ab1-Ab5로 지정됨). 인간화를 위해 각 군에서 하나의 대표 서열을 선택하였다.

[0524] 토끼 단일클론 항체의 인간화 동안 작제된 변이체는 인간 IgG1의 형태에서 평가하였다. 각각의 토끼 항체로부터 추가변 영역(다시 말하면, VL 도메인에서 위치 24-34(L1), 50-56(L2) 및 89-97(L3), 그리고 VH 도메인에서 26-35(H1), 50-65(H2) 및 95-102(H3))이 다양한 수용자 프레임워크 내로 이식되었다. 잔기 번호는 Kabat *et al.*, *Sequences of proteins of immunological interest*, 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)에 따른다. 토끼 항체로부터 모든 VL와 VH 버니어 위치 또한 이들의 개별 인간 생식계열 프레임워크 내로 이식되었다. 버니어 위치에서 모든 토끼 아미노산을 갖는 이식편은 H1L1로서 지칭된다. 인간화된 CCR8 항체의 CHO-huCCR8.Gna15 안정한 세포주에 대한 결합 능력을 이들의 키메라 부모 클론과 비교하였다. 버전 H1L1 항체의 토끼 버니어 위치는 huCCR8에 결합에 대한 각 토끼 버니어 위치의 기여를 평가하기 위해 인간 잔기로 다시 전환되었다.

[0525] 상기 mAb를 형광-활성화 세포 분류(FACS) 유세포 분석법에 의해 조절 T 세포(Treg cell 또는 Tregs)에 대한 결합에 대해 평가하였다. 인간 결합직장 해리 종양 세포(DTC)(디스커버리 라이프 사이언시즈(Discovery Life Sciences))를 공급업체의 프로토콜에 따라 해동하였다. 세포를 eFluor 780-접합된 고정성 생존력 염료(써모피셔 사이언티픽(ThermoFisher Scientific)) 및 CCR8, OX40(양성 대조군), 허셉틴(음성 대조군), 또는 항-hIgG(음성 대조군)에 특이적인 2 ug/mL mAb로 4°C에서 20분 동안 표면 염색한 후, AF647-접합된 아피니퓨어(AffiniPure) F(ab')₂ 2 단편 염소 항-인간 IgG, Fcγ 단편-특이성으로(Jackson ImmunoResearch) 4°C에서 10분 동안 2차 검출한다. 이어서, 세포를 제조업체의 프로토콜에 따라 eBioscience Foxp3/전사 인자 염색 완충액 세트(써모피셔 사이언티픽)를 사용하여 세포 내에서 염색하였다. T 세포 모집단을 정의하는 데 사용된 항체는 BD 바이오사이언시즈의 CD45(HI30), CD3(SK7), CD8(RPA-T8) 및 CD14(63D3), 바이오레전드의 CD4(RPA-T4) 및 써모피셔 사이언티픽의 FOXP3(236A/E7)이었다. 유세포 분석법은 Fortessa X-20(BD 바이오사이언시즈) 상에서 실시하였고, FlowJo 소프트웨어(BD 바이오사이언시즈, 버전 10.5.3)로 분석하였다. 도 1에는 CD8 T 세포(CD45+ CD14- CD3+ CD8+ CD4-로서 정의됨)(원, ○), 통상적인 CD4 T 세포(CD45+ CD14- CD3+ CD8- CD4+ FOXP3-로서 정의됨)(사각형, □), 및 Treg 세포(CD45+ CD14- CD3+ CD8- CD4+ FOXP3+로서 정의됨)(삼각형, ▲)에 대한 평균 형광 강도(MFI) 값이 도시되어 있다. 5개의 CCR8 mAb 클론 중 3개는 Treg 세포를 특이적으로 염색하고 통상적인 CD4 또는 CD8 T 세포는 염색하지 않고 CCR8 MFI, 500 MFI 초과에 따라 등급화하였다: hu.Ab4.H1L1 > hu.Ab5.H1L1 > hu.Ab3.H1L1. 이들

3개의 CCR8 mAb 클론, 즉, **hu.Ab3.H1L1**, **hu.Ab4.H1L1** 및 **hu.Ab5.H1L1**이 또한 인간-시노 교차-반응성(인간 및 시노 CCR8 CHO 세포에서 5배 미만의 차이)을 보유한다는 것을 확인할 때, 이들 항체는 추가의 탐색을 위해 진행하였다.

[0526] 예를 들어, **hu.Ab3.H1L1**, **hu.Ab4.H1L1**, 및 **hu.Ab5.H1L1**은 항체-의존성 세포독성(ADCC)에 대해 추가로 연구하였다. hIgG1 동형을 음성 대조군으로 사용하였다. 도 2를 참조한다. ADCC 검정은 이전에 Kamen, L., *et al.*, *Development of a kinetic antibody-dependent cellular cytotoxicity assay*. J Immunol Methods, 2019. 468: p. 49-54, 및 Schnueriger, A., *et al.*, *Development of a quantitative, cell-line based assay to measure ADCC activity mediated by therapeutic antibodies*. Mol Immunol, 2011. 48(12-13): p. 1512-17 에 보고된 바와 같이 실시하였고, 일부 변형으로서, CD16 조작된 NK-92_F158을 효과기 세포로서 사용하고, 인간 CCR8 및 G-알파 15 아단위(CHO/hCCR8.Gna15)를 표적 세포로서 안정하게 발현하는 CHO 세포를 사용하였다. 간략하게, ADCC에 의한 표적 세포의 용해는 칼세인 방출 방법에 의해 측정하였다. 표적 세포를 칼세인-AM(C3100MP, 써모피셔 사이언티픽)으로 제조사의 프로토콜에 따라 표지한 다음, 세척하고 3000 세포/웰의 밀도로 384-웰 플레이트 상에 분주하였다. 항-CCR8 항체를 0.004 내지 1 $\mu\text{g/mL}$ 의 다양한 농도로 첨가한 후, NK-92_F158 세포를 10:1의 효과기:표적(E:T) 비로 첨가하였다. 이어서, 플레이트를 37° C에서 2.5시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 플레이트를 200 $\times$ g에서 3분 동안 원심분리하고, 상등액을 백색 불투명 384-웰 마이크로플레이트 (OptiPlate-384, PerkinElmer, Waltham, MA)로 옮기고, 485/520 nm에서 여기/방출과 함께 EnSight Multimode Plate Reader(PerkinElmer)를 사용하여 상대 형광 단위(RFU)로 형광 신호를 측정하였다. 표적 세포만을 포함하는 웰의 신호는 표지된 세포로부터(자발적 방출) 칼세인의 자발적 방출을 나타내는 반면, Triton X-100(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)으로 용해된 표적 세포를 포함하는 웰은 입수 가능한 최대 신호(최대 방출)를 제공하였다. 항체-비의존성 세포-매개 세포독성(AICC)은 항체의 첨가 없이 표적 및 효과기 세포를 함유하는 웰에서 측정하였다. 샘플 및 대조군은 동일한 플레이트에서 적어도 이중으로 시험하였다. 특이적 ADCC 활성의 정도는 다음과 같이 계산하였다:

[0527] %ADCC =

[0528] $100 \times (\text{평균 실험 방출평균 AICC}) / (\text{평균 최대 방출평균 자발적 방출})$

[0529] ADCC 활성을 항체 농도의 함수로서 플롯하고, 데이터를 비대칭 S자형 4-매개변수 로지스틱(sigmoidal four-parameter logistic, 4PL) 모델에 프리즘(Prism, Graphpad; La Jolla, Ca)을 사용하여 맞춤하였다. 도 2를 참조한다. EC₅₀ 값은 각 개별 항체의 최대 50% ADCC 활성에 도달하는 농도로서 결정하였다. EC₅₀ 값은 또한 하기와 같은 표로 만들어진다.

표 A. ADCC 활성	
항체	EC ₅₀ (nM)
hu.Ab3.H1L1	0.02
hu.Ab5.H1L1	0.02
hu.Ab4.H1L1	0.08

[0530] **hu.Ab3.H1L1**, **hu.Ab4.H1L1**, 및 **hu.Ab5.H1L1**을 이들의 작용제(CCR8 활성화) 및 길항제(CCL1의 억제; 중화) 활성화에 대해 추가로 분석하였다. hIgG1 동형을 음성 대조군으로 사용하였다. CCR8 활성화를 형광 이미징 플레이트 판독기(FLIPR) FDSS/ μ Cell(일본 하마마츠(Hamamatsu))을 사용하여 Ca^{2+} 유입에 의해 모니터링하였다. 간략히 설명하면, CHO/hCCR8.Gna 15 세포에 형광 Ca^{2+} 염료 Fluo-8 NW(Cat#36307, AAT Bioquest)를 로딩하고 30분 동안 37° C에서 인큐베이션한 다음, 실온에서 추가 30분 동안 인큐베이션하였다. 일련의 희석된 시험 항-CCR8 항체를 투명한 384-웰 플레이트의 HHBS 완충액 중에서 제조하고, HHBS 완충액 중의 hCCL1을 또한 투명한 384-웰 플레이트 중에서 분취하였다. 10초에서 항체 첨가 및 300초에서 hCCL1 첨가로 FDSS/ μ Cell에 대한 FLIPR 분석을 설정하고 총 500초를 모니터링하였다. 여기 및 방출 파장은 각각 485 nm 및 525 nm로 설정하였다. 실험 후, 음성 대조군 보정을 적용하고, 데이터를 hCCL1 신호(100%)에 대해 정규화하고, 프리즘을 사용하여 항체 농도의 함수로서 플롯팅하였다.

[0532] 도 3a에 도시된 바와 같이, CCR8에 대한 공지된 리간드인 CCL1은 작용제 활성을 나타내지만, 항-CCR8 시험 항체 중 어느 것도 작용제 효과를 나타내지 않는다. 도 3b의 데이터는 항-CCR8 항체 **hu.Ab4.H1L1**이 CCR8 리간드 CCL1(20 nM의 리간드)에 대해 길항(중화) 활성을 나타내는 반면, 항-CCR8 항체 **hu.Ab5.H1L1** 및 **hu.Ab3.H1L1**은 연구된 농도에서 어떠한 리간드 차단(비-중화) 활성도 나타내지 않는다. 도 3c의 데이터는 비교기 항-CCR8 항체

(요시다 인간화 항-인간 CCR8 항체, 뮤린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈), 및 뮤린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드))가 또한 CCR8 리간드 CCL1에 의한 CCR8의 활성화를 차단함으로써 길항(중화) 활성을 나타냄을 추가로 입증한다. 리간드 차단 활성화에 대한 IC₅₀ 값은 표 B에 제공된다. Van Damme *et al.*, *J. Immunother. Cancer* (2021), 9:e001749에 언급된 바와 같이, 리간드 차단만으로는 마우스 종양에서 Treg 세포 고갈에 충분하지 않다. 따라서 hu.Ab5.H1L1 및 hu.Ab3.H1L1은 리간드 차단을 나타내지 않았지만, CCR8에 결합하고 Treg 세포를 고갈시키는 선택적 항-CCR8 항체를 찾는 것이 목표였기 때문에 이 두 항체는 여전히 유망한 후보로 간주되었다.

표 B. 항-CCR8 항체의 효능을 차단하는 CCL1			
항체	IC ₅₀ (nM)		
hu.Ab5.H1L1	억제 없음		
hu.Ab4.H1L1	57.9		
hu.Ab3.H1L1	억제 없음		
뮤린 항-인간 CCR8 Ab L263G8(바이오레전드, 상업용 Ab)	23.6		
뮤린 항-인간 CCR8 Ab 433H(BD 바이오사이언시즈, 상업용 Ab)	17.6		
요시다 인간화 항-인간 CCR8 항체(비교기)	13.3		

[0533]

[0534]

CCR8에 대한 선택성을 확인하기 위해, hu.Ab3.H1L1, hu.Ab4.H1L1, 및 hu.Ab5.H1L1 뿐만 아니라 요시다 인간화 항-인간 CCR8, 뮤린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드, 상업용 Ab) 및 뮤린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈, 상업용 Ab)의 결합은 FLAG-태그된 다른 관련 인간 GPCR(CCR2-5, CXCR4, ACKR2, 및 ACKR4)에 대하여 암호화하는 플라스미드로 일시적으로 형질감염된 HEK293 세포 상에서 유동 세포측정법에 의해 특성화되었다. 각 GPCR의 세포 표면 발현은 항-FLAG 항체 대조군으로 염색하여 확인하였다. 도 4a-도 4f를 참조. 특히, HEK293 세포를 N-말단 FLAG-표지된 인간 CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CXCR4, ACKR2, ACKR4, hCCR8 구조체, 또는 transIT X2(시약:DNA=3:1)를 사용하는 모의 구조체로 24시간 동안 형질감염시키고, 다양한 항-hCCR8 단일클론 항체, 또는 토끼 항-Flag pAb(Sigma(시그마))에 이어서 각각 AF647-항-hIgG 또는 AF647-항-RbIgG로 표면 염색하였다. 항체 hu.Ab4.H1L1 및 hu.Ab5.H1L1은 hCCR8 함유 세포만 염색하여 hCCR8에 대한 특이성을 확인하였다. 항체 hu.Ab3.H1L1은 다수의 다른 GPCR의 염색을 나타내어 특이성이 부족함을 나타내었다. 따라서, 최상의 ADCC 활성을 갖는 CCR8 선택적 hu.Ab4.H1L1 및 hu.Ab5.H1L1 항체를 전달하였다.

[0535]

실시예 2. Ab4 및 Ab5 항-CCR8 항체의 돌연변이 분석

[0536]

hu.Ab4.H1L1 및 hu.Ab5.H1L1 항-CCR8 항체의 변이체를 추가로 탐색하고 특성화하였다. 도 5a-도 5d는 연구된 토끼(rb.Ab4) 및 인간화 Ab4(L1-L4 및 H1-H12) CCR8 항체에 대한 서열의 경쇄 가변 영역(도 5a) 및 중쇄 가변 영역(도 5b-도 5d)의 정렬을 도시한다. 도 6a-도 6d는 연구된 토끼(rb.Ab5) 및 인간화 Ab5(L1-L5 및 H1-H13) CCR8 항체에 대한 서열의 경쇄 가변 영역(도 6a) 및 중쇄 가변 영역(도 6b-도 6d)의 정렬을 도시한다. 하기의 표 C1-C3 및 D1-D3을 또한 참조한다. 표 E는 중쇄 및 경쇄 불변 도메인을 제공한다.

표 C1. Ab4 변이체에 대한 경쇄 CDR 영역					
설명	CDR L1 (카바트 코티아)	및	CDR L2 (카바트 코티아)	및	CDR L3 (카바트 코티아)
rb.Ab4	QASQSISSYLS (서열번호 1)		KASTLAS (서열번호 2)		QQGYTSSNIDNI (서열번호 3)
hu.Ab4.L1	QASQSISSYLS (서열번호 1)		KASTLAS (서열번호 2)		QQGYTSSNIDNI (서열번호 3)
hu.Ab4.L2	QASQSISSYLS (서열번호 1)		KASTLAS (서열번호 2)		QQGYTSSNIDNI (서열번호 3)
hu.Ab4.L3	QASQSISSYLS (서열번호 1)		KASTLAS (서열번호 2)		QQGYTSSNIDNI (서열번호 3)
hu.Ab4.L4	QASQSISSYLS (서열번호 1)		KASTLAS (서열번호 2)		QQGYTSSNIDNI (서열번호 3)

[0537]

표 C2. Ab4 변이체에 대한 중쇄 CDR 영역				
설명	CDR H1 (카바트)	CDRH1 (코티아)	CDR H2 (카바트 및 코티아)	CDR H3 (카바트 및 코티아)
rb.Ab4	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)
hu.Ab4.H1	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)
hu.Ab4.H2	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)
hu.Ab4.H3	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)
hu.Ab4.H4	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)
hu.Ab4.H5	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)
hu.Ab4.H6	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)
hu.Ab4.H7	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)
hu.Ab4.H8	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)
hu.Ab4.H9	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)
hu.Ab4.H10	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)
hu.Ab4.H11	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)
hu.Ab4.H12	NYAMI (서열번호 4)	GFSLSNY (서열번호 5)	TISLGGYTYANW AKG (서열번호 6)	ARWSTDSAIYTYA FDP (서열번호 7)

[0538]

표 C3. Ab4 변이체를 위한 중쇄 및 경쇄 가변 영역	
설명	서열
rb.Ab4 중쇄 가변 영역 (서열번호 8)	QSVESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSNYAMIWVRQAPGEGLEWVGTISLGG YTYANWAKGRFTISKSTSTVDLKISSPTTDTATYFCARARWSTDSAIYYAF DPWPGTLVTVSS
rb.Ab4 경쇄 가변 영역 (서열번호 9)	AYDMTQTPASVEVAVGGTVTIKQASQSISSYLSWYQQKPGORPELLIYKASTL ASGVSSRFSGSGSGTQFTLTISDLCEADAATYYCQQGYTSSNIDNIFGGGTEVV VK
hu.Ab4.H1 중쇄 가변 영역 (서열번호 10)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSNYAMIWVRQAPGKLEWVGTISLG GYTYANWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYT YAFDPWPGTLVTVSS
hu.Ab4.H2 중쇄 가변 영역 (서열번호 11)	EVQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSNYAMIWVRQAPGKLEWVGTISLG GYTYANWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYT YAFDPWPGTLVTVSS
hu.Ab4.H3 중쇄 가변 영역 (서열번호 12)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSNYAMIWVRQAPGKLEWVGTISLG GYTYANWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYT YAFDPWPGTLVTVSS
hu.Ab4.H4 중쇄 가변 영역 (서열번호 13)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSNYAMIWVRQAPGKLEWVGTISLG GYTYANWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYT YAFDPWPGTLVTVSS
hu.Ab4.H5 중쇄 가변 영역 (서열번호 14)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSNYAMIWVRQAPGKLEWVGTISLG GYTYANWAKGRFTISRDSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYT YAFDPWPGTLVTVSS
hu.Ab4.H6 중쇄 가변 영역 (서열번호 15)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSNYAMIWVRQAPGKLEWVGTISLG GYTYANWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYT YAFDPWPGTLVTVSS
hu.Ab4.H7 중쇄 가변 영역 (서열번호 16)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSNYAMIWVRQAPGKLEWVGTISLG GYTYANWAKGRFTISKDSSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYT YAFDPWPGTLVTVSS
hu.Ab4.H8 중쇄 가변 영역 (서열번호 17)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSNYAMIWVRQAPGKLEWVGTISLG GYTYANWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYT YAFDPWPGTLVTVSS
hu.Ab4.H9 중쇄 가변 영역 (서열번호 18)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSNYAMIWVRQAPGKLEWVGTISLG GYTYANWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYT YAFDPWPGTLVTVSS
hu.Ab4.H10 중쇄 가변 영역 (서열번호 19)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSNYAMIWVRQAPGKLEWVGTISLG GYTYANWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYT YAFDPWQGTTLVTVSS

hu.Ab4.H11 중쇄 가변 영역 (서열번호 20)	EVQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSNYAMIWVRQAPGKLEWVGTISLG GYTYANWAKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYT YAFDPWQGTTLVTVSS
hu.Ab4.H12 중쇄 가변 영역 (서열번호 21)	EVQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSNYAMIWVRQAPGKLEWVGTISLG GYTYANWAKGRFTISRDSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYT YAFDPWPGTLVTVSS
hu.Ab4.L1 경쇄 가변 영역 (서열번호 22)	DYQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSISSYLSWYQQKPGKRPKLLIYKASTL ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYTSSNIDNIFGGGKVE IK
hu.Ab4.L2 경쇄 가변 영역 (서열번호 23)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSISSYLSWYQQKPGKRPKLLIYKASTL ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYTSSNIDNIFGGGKVE IK
hu.Ab4.L3 경쇄 가변 영역 (서열번호 24)	DYQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSISSYLSWYQQKPGKRPKLLIYKASTL ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYTSSNIDNIFGGGKVE IK
hu.Ab4.L4 경쇄 가변 영역 (서열번호 25)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSISSYLSWYQQKPGKRPKLLIYKASTL ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYTSSNIDNIFGGGKVE IK

표 D1. Ab5 변이체에 대한 경쇄 CDR 영역			
설명	CDR L1 (카바트 코티아) 및	CDR L2 (카바트 코티아) 및	CDR L3 (카바트 코티아) 및
rb.Ab5	QASENIANALA (서열번호 26)	GASNLAS (서열번호 27)	QCAYYGNSFVEGT (서열번호 109)
hu.Ab5.L1	QASENIANALA (서열번호 26)	GASNLAS (서열번호 27)	QQAYYGNSFVEGT (서열번호 28)
hu.Ab5.L2	QASENIANALA (서열번호 26)	GASNLAS (서열번호 27)	QQAYYGNSFVEGT (서열번호 28)
hu.Ab5.L3	QASENIANALA (서열번호 26)	GASNLAS (서열번호 27)	QQAYYGNSFVEGT (서열번호 28)
hu.Ab5.L4	QASENIANALA (서열번호 26)	GASNLAS (서열번호 27)	QQAYYGNSFVEGT (서열번호 28)
hu.Ab5.L5	QASENIANALA (서열번호 26)	GASNLAS (서열번호 27)	QQAYYGNSFVEGT (서열번호 28)

[0541]

표 D2. Ab5 변이체에 대한 중쇄 CDR 영역				
설명	CDR H1 (카바트)	CDR H1 (코티아)	CDR H2 (카바트 및 코티아)	CDR H3 (카바트 및 코티아)
rb.Ab5	TYAMG (서열번호 29)	GIDLSTY (서열번호 30)	LIHRSGRYYATW AKG (서열번호 31)	SYPDYSATASI (서열번호 32)
hu.Ab5.H1	TYAMG (서열번호 29)	GIDLSTY (서열번호 30)	LIHRSGRYYATW AKG (서열번호 31)	SYPDYSATASI (서열번호 32)
hu.Ab5.H2	TYAMG (서열번호 29)	GIDLSTY (서열번호 30)	LIHRSGRYYATW AKG (서열번호 31)	SYPDYSATASI (서열번호 32)
hu.Ab5.H3	TYAMG (서열번호 29)	GIDLSTY (서열번호 30)	LIHRSGRYYATW AKG (서열번호 31)	SYPDYSATASI (서열번호 32)
hu.Ab5.H4	TYAMG (서열번호 29)	GIDLSTY (서열번호 30)	LIHRSGRYYATW AKG (서열번호 31)	SYPDYSATASI (서열번호 32)
hu.Ab5.H5	TYAMG (서열번호 29)	GIDLSTY (서열번호 30)	LIHRSGRYYATW AKG (서열번호 31)	SYPDYSATASI (서열번호 32)
hu.Ab5.H6	TYAMG (서열번호 29)	GIDLSTY (서열번호 30)	LIHRSGRYYATW AKG (서열번호 31)	SYPDYSATASI (서열번호 32)
hu.Ab5.H7	TYAMG (서열번호 29)	GIDLSTY (서열번호 30)	LIHRSGRYYATW AKG (서열번호 31)	SYPDYSATASI (서열번호 32)
hu.Ab5.H8	TYAMG (서열번호 29)	GIDLSTY (서열번호 30)	LIHRSGRYYATW AKG (서열번호 31)	SYPDYSATASI (서열번호 32)
hu.Ab5.H9	TYAMG (서열번호 29)	GIDLSTY (서열번호 30)	LIHRSGRYYATW AKG (서열번호 31)	SYPDYSATASI (서열번호 32)
hu.Ab5.H10	TYAMG (서열번호 29)	GIDLSTY (서열번호 30)	LIHRSGRYYATW AKG (서열번호 31)	SYPDYSATASI (서열번호 32)
hu.Ab5.H11	TYAMG (서열번호 29)	GIDLSTY (서열번호 30)	LIHRSGRYYATW AKG (서열번호 31)	SYPDYSATASI (서열번호 32)

[0542]

표 D3. Ab5 변이체를 위한 중쇄 및 경쇄 가변 영역	
설명	서열
rb.Ab5 중쇄 가변 영역 (서열번호 33)	QSVESGGRLVSPGTPLTLTCTVSGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWIGLIHRS GRYYATWAKGRFTISKTSSTVDLKITSPITTEDATYFCTRSYPDYSATASI WPGTLTVTVSS
rb.Ab5 경쇄 가변 영역 (서열번호 34)	DIWVTQTPASVEAAVGGTVTIKQASENIANALAWYQQKSGQPPMFLIYGASN LASGVPSRFGSGSGTEFTLTISSLQPEDATYTCQAYYGNFVEGTFGGGT KVEIK
hu.Ab5.H1 중쇄 가변 영역 (서열번호 35)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWIGLIHR SGRTYYATWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCTRSYPDYSATA SIWPGTTTVTVSS
hu.Ab5.H2 중쇄 가변 영역 (서열번호 36)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWIGLIHR SGRTYYATWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCTRSYPDYSATA SIWPGTTTVTVSS
hu.Ab5.H3 중쇄 가변 영역 (서열번호 37)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWIGLIHR SGRTYYATWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCTRSYPDYSATA SIWPGTTTVTVSS
hu.Ab5.H4 중쇄 가변 영역 (서열번호 38)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWIGLIHR SGRTYYATWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCTRSYPDYSATA SIWPGTTTVTVSS
hu.Ab5.H5 중쇄 가변 영역 (서열번호 39)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWISLIHR SGRTYYATWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCTRSYPDYSATA SIWPGTTTVTVSS
hu.Ab5.H6 중쇄 가변 영역 (서열번호 40)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWIGLIHR SGRTYYATWAKGRFTISRDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCTRSYPDYSATA SIWPGTTTVTVSS
hu.Ab5.H7 중쇄 가변 영역 (서열번호 41)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWIGLIHR SGRTYYATWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCTRSYPDYSATA SIWPGTTTVTVSS
hu.Ab5.H8 중쇄 가변 영역 (서열번호 42)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWIGLIHR SGRTYYATWAKGRFTISKDSSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYFCTRSYPDYSATA SIWPGTTTVTVSS
hu.Ab5.H9 중쇄 가변 영역 (서열번호 43)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWIGLIHR SGRTYYATWAKGRFTISKDSSKTTLYLQMNSLRAEDTAVYFCTRSYPDYSATA SIWPGTTTVTVSS
hu.Ab5.H10 중쇄 가변 영역 (서열번호 44)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWIGLIHR SGRTYYATWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRSYPDYSATA SIWPGTTTVTVSS
hu.Ab5.H11 중쇄 가변 영역 (서열번호 45)	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWIGLIHR SGRTYYATWAKGRFTISKDSSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCTRSYPDYSATA SIWQGTTVTVSS

hu.Ab5.H12 중쇄 가변 영역 (서열번호 46)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSLIHR SGRTYYATWAKGRFTISRDSSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRSYPDYSATA SIWQGTTVTVSS
hu.Ab5.H13 중쇄 가변 영역 (서열번호 47)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDLSTYAMGWVRQAPGKGLEWVGLIHR SGRTYYATWAKGRFTISKDSSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRSYPDYSATA SIWQGTTVTVSS
hu.Ab5.L1 경쇄 가변 영역 (서열번호 48)	DIQVTQSPSSLASVGDVDTITCOASENIANALAWYQQKPGKPPKFLIYGASN LASGVPSRFGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYTCQAYYGNFVEGTFGGGT KVEIK
hu.Ab5.L2 경쇄 가변 영역 (서열번호 49)	DIQVTQSPSSLASVGDVDTITCOASENIANALAWYQQKPGKPPKFLIYGASN LASGVPSRFGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYTCQAYYGNFVEGTFGGGT KVEIK
hu.Ab5.L3 경쇄 가변 영역 (서열번호 50)	DIQVTQSPSSLASVGDVDTITCOASENIANALAWYQQKPGKAPKFLIYGASN LASGVPSRFGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYTCQAYYGNFVEGTFGGGT KVEIK
hu.Ab5.L4 경쇄 가변 영역 (서열번호 51)	DIQVTQSPSSLASVGDVDTITCOASENIANALAWYQQKPGKPPKLLIYGASN LASGVPSRFGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYTCQAYYGNFVEGTFGGGT KVEIK
hu.Ab5.L5 경쇄 가변 영역 (서열번호 52)	DIQVTQSPSSLASVGDVDTITCOASENIANALAWYQQKPGKAPKLLIYGASN LASGVPSRFGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYTCQAYYGNFVEGTFGGGT KVEIK

표 E. 불변 도메인	
설명	서열
hIgG1 불변 도메인 (중쇄) (서열번호 53)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFPLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSPGK
카파 불변 도메인 (경쇄) (서열번호 54)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0545]

[0546]

hIgG1 Fc를 이용한 인간화 변이체의 CCR8 결합에 대한 평가는 유동 세포측정법에 의한 스크리닝, 및 모체 토끼 항체에 대한 인간 CCR8 CHO 세포 상의 상대적 EC_{50} 및 MFI의 비교를 포함하였다. 구체적으로, 안정한 CHO-huCCR8.Gna15 세포를 4° C에서 30분 동안 다양한 농도(10 ug/ml 또는 66.66 nM에서 시작, 총 8개 농도 지점에 대해 1:4 연속 희석)의 **Ab4** 및 **Ab5** 변이체로 염색한 후, FACS 완충액(0.5% BSA 및 0.2 mM EDTA를 포함하는 PBS)으로 2회 세척하고, 4° C에서 15분 동안 AF647-항-hIgG로 염색하였다. 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척하고, 프로피듐 요오다이드(0.5 ug/ml)를 함유하는 FACS 완충액에 재현탁시키고, iQue3(사토리우스(Sartorius))로 분석하였다.

[0547]

표 F1에 제공된 바와 같이, **Ab4** LC 변이체 L1-L4의 경우, Y2I 돌연변이를 함유하는 변이체 L2 및 L4는 EC_{50} 또는 MFI에서 유의한 변화를 나타내었다. 따라서, 경쇄 상의 Y2가 핵심 토끼 버니어 잔기인 것으로 결정되었다. 변이체 L1 및 L3은 이 Y2 잔기를 함유하고, 변이체 L3은 추가 분석을 위해 선택하였다.

[0548]

[0549]

표 F1. Ab4 LC 변이체에 대한 상대적 EC_{50} 및 MFI		
항체	상대적 EC_{50}	상대적 MFI
rb.Ab4	1.0	1.0
hu.Ab4.H1L1	0.88	0.95
hu.Ab4.H1L2	1.06	0.73
hu.Ab4.H1L3	1.23	1.00
hu.Ab4.H1L4	1.04	0.80

Ab4 HC 변이체 H2-H11에 대해, 표 F2에 제공된 바와 같이, 변이체 H6(S73N 돌연변이를 가짐), 변이체 H7(T76N 돌연변이를 가짐), 변이체 H8(V78L 돌연변이를 가짐), 변이체 H9(F91Y 돌연변이를 가짐), 변이체 H10(P105Q 돌연변이를 가짐), 및 변이체 H11(S73N, V78L, F91Y, 및 P105Q 돌연변이를 가짐)은 EC_{50} 또는 MFI에서 유의한 변화를 나타내었다. 따라서, 중쇄 상의 S73, T76, V78, F91 및 P105가 핵심 토끼 버니어 잔기인 것으로 결정되었다. 이 5개의 잔기를 조합하여 변이체 H12(**hu.Ab4.H12**)를 구축하였다.

[0550]

[0551]

표 F2. Ab4 HC 변이체에 대한 상대적 EC_{50} 및 MFI		
항체	상대적 EC_{50}	상대적 MFI
rb.Ab4	1.0	1.0
hu.Ab4.H2L1	0.99	1.07
hu.Ab4.H3L1	1.00	1.02
hu.Ab4.H4L1	0.96	1.06
hu.Ab4.H5L1	1.02	0.90
hu.Ab4.H6L1	1.06	0.68
hu.Ab4.H7L1	1.05	0.44
hu.Ab4.H8L1	1.03	0.72
hu.Ab4.H9L1	1.04	0.87
hu.Ab4.H10L1	1.07	0.77
hu.Ab4.H11L1	0.88	0.66

Ab5 LC 변이체 L2-L5의 경우, 표 F3에 제공된 바와 같이, 변이체 L2(V4M 돌연변이를 가짐), 변이체 L3(P43A 돌연변이를 가짐), 변이체 L4(F46L 돌연변이를 가짐), 및 변이체 L5(V4M, P43A, 및 F46L 돌연변이를 가짐)는 EC_{50} 또는 MFI에서 유의한 변화를 나타내었다. 따라서, 경쇄 상의 V4, P43 및 F46이 핵심 토끼 버니어 잔기인 것으로 결정되었다. 모든 변이체는 CDR L3에 C90Q 돌연변이를 포함했으며, 이는 제조 동안 문제가 될 쌍을 이루지 않은 시스테인을 제거하기 위해 도입하였다. 3개의 V4, P43 및 F46 잔기 모두를 함유하는 변이체 L1을 추가 연구를 위해 선택하였다.

표 F3. Ab5 LC 변이체에 대한 상대적 EC ₅₀ 및 MFI		
항체	상대적 EC ₅₀	상대적 MFI
rb.Ab5	1.0	1.0
hu.Ab5.H1L2	1.4	0.79
hu.Ab5.H1L3	1.5	0.81
hu.Ab5.H1L4	1.7	0.51
hu.Ab5.H1L5	0.3	0.31

[0552]

[0553]

Ab5 HC 변이체 H2-H12의 경우, 표 F4에 제공된 바와 같이, 변이체 H5(G49S 돌연변이를 가짐), 변이체 H6(K71R 돌연변이를 가짐), 변이체 H7(S73N 돌연변이를 가짐), 및 H12(G49S, K71R, 및 S73N 돌연변이를 가짐)는 EC₅₀ 또는 MFI에서 유의한 변화를 나타내었다. 따라서, 중쇄 상의 G49, K71 및 S73이 핵심 토끼 버니어 잔기인 것으로 결정되었다. 이 3개의 잔기를 조합하여 변이체 H13을 구축하였다.

표 F4. Ab5 HC 변이체에 대한 상대적 EC ₅₀ 및 MFI		
항체	상대적 EC ₅₀	상대적 MFI
rb.Ab5	1	1
hu.Ab5.H2L1	1.1	0.93
hu.Ab5.H3L1	1.5	1.0
hu.Ab5.H4L1	1.5	0.95
hu.Ab5.H5L1	7.6	0.35
hu.Ab5.H6L1	2.4	0.97
hu.Ab5.H7L1	2.2	0.96
hu.Ab5.H8L1	1.4	0.94
hu.Ab5.H9L1	1.3	0.92
hu.Ab5.H10L1	1.2	0.87
hu.Ab5.H11L1	1.3	0.87
hu.Ab5.H12L1	2.3	0.26

[0554]

[0555] 실시예 3. hu.Ab4.H12L3 및 hu.Ab5.H13L1 변이체의 특성화

[0556] (a) 인간-시노 교차 반응성

[0557] hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab4.H12L3에 대해 인간 또는 시노 CCR8을 안정적으로 발현하는 방사성 표지된 IgG 및 CHO 세포주를 사용하여 세포 기반 친화도 측정을 실시하였다.

표 G1. hu.Ab4.H12L3 전장 서열	
설명	서열
hu.Ab4.H12 전장 중쇄 (서열번호 57)	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSNYAMIVVRQAPGKGLEWVSTISLGGYTTY ANWAKGRFTISRDSKTTVYLQMNLSRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYTYAFDPWGP LVTYSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFPL YSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK
hu.Ab4.L3 전장 경쇄 (서열번호 58)	DYQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYKASTLASGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYTSSNIDNIFGGGKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSY LSSITLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0558]

표 G2. hu.Ab5.H13L1 전장 서열	
설명	서열
hu.Ab5.H13 전장 중쇄 (서열번호 55)	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDLSYAMGWVRQAPGKGLEWVGLIHRSGRTY YATWAKGRFTISKDSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCTRSYDPYSATASIWGGGTTVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK
hu.Ab5.L1 전장 경쇄 (서열번호 56)	DIQVTSQSPSSLSASVGDRTITCQASENIANALAWYQQKPGKPKFLIYGASNLASGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIAITYCQQAAYGNSFVGTGGGKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0559]

[0560] 간단하게 설명하면, 인간 또는 시노 CCR8을 발현하는 안정한 CHO 세포를 웰당 50,000개의 세포로 저온 결합 완충액(Opti-MEM + 2% FBS + 50 mM HEPES, pH 7.2 + 0.1% 나트륨 아지드)에 접종하였다. NEX244 아이오도젠 방법(퍼킨 엘머)을 사용하여 방사성 표지된 고정된 농도의 ¹²⁵I-항-CCR8을 20 nM 또는 50 nM에서 시작하여 연속적으로 희석된 항-CCR8 항체와 혼합하였다. 항체 혼합물을 세포에 첨가하고 부드러운 교반하에 실온에서 12시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 세포 및 항체를 밀리포어(Millipore) 다중스크린 필터 플레이트로 옮겼다. 필터 플레이트를 250 µL의 냉 결합 완충액으로 4회 세척하고, 적어도 30분 동안 건조시키고, 필터를 5 mL 폴리스티렌 튜브 내로 편칭하였다. 0.8 계수 효율로 분당 1 카운트로 설정된 퍼킨 엘머 왈락 위자드(Perkin Elmer Wallac Wizard) 2470 감마 카운터(Gamma Counter)를 사용하여 방사능을 측정하였다. 데이터는 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism)의 이중 단일-부위 맞춤 Ki 경쟁적 결합 모델을 사용하여 맞춤하였다. 도 7a 내지 도 7d에 도시된 바와 같이, hu.Ab4.H12L3 및 hu.Ab5.H13L1 둘 모두는 인간 및 시노 CCR8 둘 모두에 대해 유사한 친화도를 가지며, 이는 바람직한 교차-반응성을 나타낸다. 이들 연구로부터의 표로 작성된 친화도 Kd(nM) 데이터는 하기에 제공된다.

[0561]

표 G3. CCR8 인간 및 시노 친화도		
항체	K _D (nM) CCR8 인간	K _D (nM) CCR8 시노
hu.Ab4.H12L3	0.0284	0.0243
hu.Ab5.H13L1	0.0040	0.0034

[0562] (b) CCR8 선택성

[0563] Ab4 및 Ab5 변이체가 상응하는 H1L1 변이체와 비교하여 CCR8에 대해 선택적인 상태를 유지한다는 것을 재확인하기 위해, 결합은 도 4a 및 도 4b에 기재된 바와 같은 하기의 절차에 따라 유세포 분석법에 의해 분석하였다. 이전과 같이, hu.Ab4.H12L3(도 8a) 및 hu.Ab5.H13L1(도 8b) 둘 모두는 CCR8 발현 세포에 선택적으로 결합하였다.

[0564] (c) CCR8 활성화 및 리간드 차단

[0565] Ab4 및 Ab5 변이체가 CCR8 활성화 및 리간드 차단 능력에 관한 이의 특성을 보유함을 재확인하기 위해, 실시예 1 및 도 3a 내지 도 3c에서 이전에 기재된 바와 같이 hu.Ab4.H12L3 및 hu.Ab5.H13L1 항체로 실험을 실시하였다. 도 9a-도 9b를 참조한다. 도 3a와 유사하게, 도 9a의 데이터는 Ab4 또는 Ab5 항-CCR8 항체 변이체가 CCR8 리간드 CCL1의 부재하에 작용제 효과를 나타내지 않는다는 것을 재확인한다. 도 3b와 유사하게, 도 9b는 Ab4 변이체가 CCR8 리간드 CCL1(20 nM의 리간드)에 의한 CCR8의 활성화를 차단함으로써 길항 효과를 나타내는 반면, Ab5 변이체는 연구된 농도에서 리간드 차단 활성을 나타내지 않는다는 것을 재확인한다. 리간드 차단 활성에 대한 IC₅₀ 값은 하기의 표에 제공된다.

[0566]

표 H1. 리간드 차단 활성	
항체	IC ₅₀ (nM)
hu.Ab5.H13L1	억제 없음
hu.Ab4.H12L3	57.9

[0567] (d) 황산화 독립성인간 CCR8은 N-말단 내 4개의 잠재적인 티로신 황산화 부위를 함유하며, 기존의 증거는 이들 부위에서의 변형이 일부 이질성을 보인다는 것을 나타낸다(Gutierrez *et al.* JBC 2004; Jen, *et al.* Biochemistry 2010). 이와 같이, CCR8에서 이러한 황산화 티로신을 인식하는 항체는 CCR8 결합에서 가변성을 나타낼 수 있고, 따라서 가변 Treg 세포 고갈을 매개할 수 있다. 티로신 황산화를 촉매하는 효소인 티로실 단백질 설포트랜스퍼라제(TPST) 1 및 2가 결여된 인간 CCR8+ HEK293 세포가 생성되었다. 이어서, 야생형(293T) 및 TPST1/2 NTC 및 KO 세포에 대한 다양한 항-CCR8 mAb의 결합을 분석하였다.

[0568] 특히, HEK293, HEK293-hCCR8.TPST1/2 NTC 및 HEK293-hCCR8.TPST1/2 KO 안정 세포주를 4° C에서 30분 동안 시험 및 비교기 항-CCR8 항체(1 µg/ml)로 염색한 후, FACS 완충액(0.5% BSA 및 0.2 mM EDTA가 포함된 PBS)으로 2회 세척하고, 4° C에서 15분 동안 AF647-항-hIgG로 염색하였다. 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척하고, 프로피듐 요오다이드(0.5 µg/ml)를 함유하는 FACS 완충액에 재현탁시키고, BD FACSCelesta 유동 세포측정기 또는 iQue3(사르트리우스)로 분석하였다.

[0569] 도 10a-도 10e는(hCCR8.TPST1/2 NTC)가 있고 티로실 단백질 설포트랜스퍼라제(TPST) 1 및 티로실 단백질 설포트랜스퍼라제(TPST) 2(hCCR8.TPST1/2 KO)가 없는 CCR8+ HEK293 세포에 대한 요시다 인간화 항-인간 CCR8 항체 및 상업적 항체 무린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈) 및 무린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드)과 비교하여 hu.Ab4.H12L3 및 hu.Ab5.H13L1의 염색에서의 차이를 도시한다. hu.Ab4.H12L3(도 10a) 및

hu.Ab5.H13L1(도 10b)는 양쪽 세포주(hCCR8.TPST1/2 NTC 및 hCCR8.TPST1/2 KO)에 대해 유사한 결합/염색을 나타내는데, 이는 이들이 티로신 황산화와 무관하게("황산화 비의존성") CCR8에 결합함을 나타낸다. 이와 대조적으로, 요시다 인간화 항-인간 CCR8 항체(도 10c) 및 상업적 항체를 묶인 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈)(도 10d) 및 묶인 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드)(도 10e)은 TPST1/2 KO 세포들에 결합하는데 실패하였으며, 이는 이들이 결합을 위해 CCR8의 티로신 황산화가 필요함을 나타내며, 따라서 "황산화 의존성"으로 간주된다.

실시예 4. hu.Ab4.H12L3 및 hu.Ab5.H13L1 비푸코실화된 변이체

비푸코실화된 hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab4.H12L3 변이체(Fc N-글리칸 위치 Asn 299에서) 및 비푸코실화된 항-gD 대조군을 Wong *et al*, *Biotechnology and Bioengineering* (2010) 106:751-763에 기재된 바와 같이 FUT8 녹아웃(KO) CHO 세포로부터 발현 및 정제에 의해 제조하였다.

(a) 비푸코실화 백분율

CHO FUT8KO의 배지에서 푸코스의 적정은 다양한 수준의 비푸코실화, 예를 들어, 약 14% 내지 약 93% 비푸코실화된 hu.Ab5.H13L1을 갖는 hu.Ab5.H13L1 패널을 생성하였다.

하기의 표에 나타난 바와 같이, 비푸코실화 수준을 14%에서 49%로 증가시키면, ADCC 활성을 4배 초과 증가시키고 ADCP 활성을 3배 초과 증가시켰다.

비푸코실화된 hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab4.H12L3은 시험관내 및 생체내 실험에서 연구되어 약 80% 내지 약 95% 비푸코실화를 함유하였다.

표 H2. ADCC 및 ADCP 활성에 대한 비푸코실화 백분율의 효과		
% 비푸코실화	ADCC EC ₅₀ (pM)	ADCP EC ₅₀ (pM)
93	3.53	0.049
89	4.63	0.052
73	5.42	0.047
62	6.61	0.068
53	8.45	0.093
49	9.24	0.075
14	39.7	0.25

(b) 비푸코실화된 변이체의 향상된 FcγRIIIa 결합 ELISA에 의한 hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab4.H12L3의 푸코실화 및 비푸코실화 변이체의 FcγR3a 단백질 둘 모두에 대한 결합을 연구하였다. 간략히 설명하면, 항-GST 항체를 Nunc Maxisorp 플레이트 상에 코팅하였다. GST-FcγR3a.V158 및 GST-FcγR3a.F158을 500 ng/mL에서 포획하였다. 이어서, 플레이트를 세척한 다음, 100 ug/mL에서 시작하여 연속 희석된 항-CCR8 항체를 실온에서 1시간 동안 플레이트 상에서 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척하고, 결합된 항체를 HRP-접합된 항-인간 IgG 2차 항체에 의해 검출하였다. 450 nm에서의 흡광도를 플레이트 판독기로 측정하였다. 데이터는 Softmax Pro에서 4-매개변수 로지스틱 곡선을 사용하여 맞춤하였다. 하기의 표에 나타난 바와 같이, 비푸코실화된 IgG1 항-CCR8 항체 Afuc.hu.Ab5.H13L1 및 Afuc.hu.Ab4.H12L3은 이의 푸코실화된 대응물 hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab4.H12L3과 비교하여 향상된 FcγRIIIa 결합 활성(결합 효능의 대략 10배 증가)을 나타내었다.

표 I. FcγRIIIa 결합 활성		
항체	FcγR3a.F158 단백질 EC ₅₀ (ug/mL)	FcγR3a.V158 단백질 EC ₅₀ (ug/mL)
hu.Ab5.H13L1	4.107 ± 1.036	0.39 ± 0.049
Afuc.hu.Ab5.H13L1	0.101 ± 0.057	0.035 ± 0.006
hu.Ab4.H12L3	3.74 ± 2.03	0.388 ± 0.178
Afuc.hu.Ab4.H12L3	0.08 ± 0.025	0.033 ± 0.006

(c) 비푸코실화된 변이체의 향상된 ADCC 활성

Afuc.hu.Ab4.H12L3, hu.Ab4.H12L3, Afuc.hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab5.H13L1을 항체-의존성 세포독성(ADCC)에 대해 분석하였다. ADCC 검정은 이전에 Kamen *et al.*, *Development of a kinetic antibody-dependent cellular cytotoxicity assay. J Immunol Methods* (2019)468:49-54, 및 Schnueriger *et al.*, *Development of a quantitative, cell-line based assay to measure ADCC activity mediated by therapeutic antibodies. Mol Immunol* (2011) 48:1512-17에 보고된 바와 같이 실시하였고, 일부 변형으로서, CD16 조작된 NK-92_F158을 효과기 세포로서 사용하고, 인간 CCR8 및 Ga 15 아단위(CHO/hCCR8.Gna15)를 표적 세포로서 안정하게 발현하는 CHO

세포를 사용한다. 간략하게, ADCC에 의한 표적 세포의 용해는 칼세인 방출 방법에 의해 측정하였다. 표적 세포를 칼세인-AM(C3100MP, 써모피셔 사이언티픽)으로 제조사의 프로토콜에 따라 표지한 다음, 세척하고 3000 세포/웰의 밀도로 384-웰 플레이트 상에 분주하였다. 항-CCR8 항체를 0.004 내지 1 $\mu\text{g/mL}$ 의 다양한 농도로 첨가한 후, NK-92_F158 세포를 10:1의 효과기:표적(E:T) 비로 첨가하였다. 이어서, 플레이트를 37° C에서 2.5시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 플레이트를 200 $\times$ g에서 3분 동안 원심분리하고, 상등액을 백색 불투명 384-웰 마이크로플레이트(OptiPlate-384, PerkinElmer, Waltham, MA)로 옮기고, 485/520 nm에서 여기/방출과 함께 EnSight Multimode Plate Reader(PerkinElmer)를 사용하여 상대 형광 단위(RFU)로 형광 신호를 측정하였다. 표적 세포만을 포함하는 웰의 신호는 표지된 세포로부터(자발적 방출) 칼세인의 자발적 방출을 나타내는 반면, Triton X-100(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)으로 용해된 표적 세포를 포함하는 웰은 입수 가능한 최대 신호(최대 방출)를 제공하였다. 항체-비의존성 세포-매개 세포독성(AICC)은 항체의 첨가 없이 표적 및 효과기 세포를 함유하는 웰에서 측정하였다. 샘플 및 대조군은 동일한 플레이트에서 적어도 이중으로 시험하였다. 특이적 ADCC 활성의 정도는 다음과 같이 계산하였다:

%ADCC =

100 x (평균 실험 방출평균 AICC)/(평균 최대 방출평균 자발적 방출)

ADCC 활성을 항체 농도의 함수로서 플롯하고, 데이터를 비대칭 S자형 4-매개변수 로지스틱(sigmoidal four-parameter logistic, 4PL) 모델에 프리즘(Prism, Graphpad; La Jolla, Ca)을 사용하여 맞춤하였다. 도 11a-도 11b는 비푸코실화된 CCR8 항체 **Afuc.hu.Ab5.H13L1** 및 **Afuc.hu.Ab4.H12L3**은 효과기 세포로서 NK-92 F158(도 11a) 및 NK-92 V158(도 11b)를 사용하여 hCCR8을 안정적으로 발현하는 CHO 세포에 대한 이의 푸코실화된 대응물 **hu.Ab5.H13L1** 및 **hu.Ab4.H12L3**과 비교하여 향상된(>10배 개선된) ADCC 활성을 갖는다. **Afuc.hu.Ab5.H13L1** 및 **Afuc.hu.Ab4.H12L3**에 대한 ADCC 활성을 또한 요시다 인간화 항-인간 CCR8 항체 및 상업적 항체인 무린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈) 및 무린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드)에 대해 측정하였다. 도 11c를 참조한다. 데이터는 요시다 인간화 항-인간 CCR8 항체가 항-CCR8 항체 **Afuc.Ab5.H13L1**, **Afuc.Ab4.H12L3**보다 더 약한 ADCC 활성(10-20배 미만의 ADCC 활성)을 나타냄을 입증한다. 본 예에서 사용된 분석이 인간 Fc 도메인을 포함하는 항체에 일차적으로 적절함에 따라, 예상된 바와 같이, 무린 Fc 도메인을 포함하는, 상업적으로 입수가능한 항체 무린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈) 및 무린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드)은 ADCC 활성 없음을 입증한다.

무린 항-인간 CCR8 mAb 433H(BD 바이오사이언시즈) 및 무린 항-인간 CCR8 mAb L263G8(바이오레전드)을 무린 Fc 영역을 포함하지만 항-인간 CCR8 활성을 포함하지 않는 항체에 관련된 검정에서, 즉, 효과기 세포로서 저칼/mFcγR4 안정한 라인을 사용하고 표적 세포로서 CHO/hCCR8을 사용하여 ADCC 활성에 대해 시험하였다. 인간 CCR8(hCCR8)을 사용하여 인간 임상 설정을 모방하였다. 구체적으로, 분석은 마우스 FcγRIV 수용체를 발현하는 유전적으로 조작된 저칼 T 세포주 및 NFAT-반응 요소(NFAT-RE)에 의해 구동되는 루시퍼라제 리포터로 구성된다. 표적 세포 및 관련 항체와 공동-배양될 때, mFcγRIV 효과기 세포는 항체의 Fc 도메인에 결합하여, mFcγRIV 신호 전달 및 NFAT-RE-매개된 루시퍼라제 활성을 발생시킨다. 자료 및 시약: 분석 완충액: 4% 저 IgG로 보충된 페놀 레드가 없는 RPMI1640; 96-웰 백색 플랫 바텀 폴리스티렌 TC-처리된 마이크로플레이트, 코닝 #3601; 바이오-글로 시약. 검정 절차: 분석 완충액에 25 μL /웰 희석된 항체를 첨가한다(3x 제조, 10점 동안 1:4로 희석된 30 $\mu\text{g/mL}$ 연속 희석에서 시작함). 분석 완충액에 표적 세포를 재현탁시키고, 최종 밀도를 1 x 10⁶/mL로 조정하고; 25 μL 세포를 각각의 웰에 분배하여 25,000/웰의 표적 세포 밀도를 획득하고; 플레이트를 실온에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 25 μL /웰 저칼/mFcγRIV 세포(5 x 10⁶ 세포/mL)를 125,000/웰의 효과기 세포 밀도를 위해 각 웰에 첨가하고; 세포가 바닥으로 침전되는 것을 방지하기 위해 공정 동안 저장조에서 세포를 규칙적으로 재혼합한다. 분석 플레이트를 뚜껑으로 덮고 5% CO₂ 인큐베이터에서 37° C에서 16시간 동안 플레이트를 인큐베이션한다. 인큐베이터 안에 플레이트를 쌓아 놓지 않는다. 인큐베이터에서 분석 플레이트를 제거하고 15분 동안 주위 온도로 평형화시킨다. 다중 채널 피펫을 사용하여 거품이 생성되지 않도록 주의하면서 분석 플레이트에 75 μL 의 바이오-글로(Bio-Glo)TM 시약을 첨가한다. 실온에서 15분 동안 플레이트를 인큐베이션한다. EnSight 발광 플레이트 판독기를 사용하여 발광을 측정한다. mIgG2a 동형, hIgG1 및 래트IgG2b를 대조군으로서 시험하였다. 인간 CCR8(hCCR8)을 사용하여 인간 임상 설정을 모방하였다. 데이터로부터 알 수 있는 바와 같이, 시험된 각각의 항-hCCR8 mAb-L263G8(바이오레전드) 및 433H(BD 바이오사이언시즈)-약 1 nM의 항체 농도 수준에서 높은 유도 배수 결과를 나타내었으며-각각 약 10 및 약 12 초과의 유도 배수 결과를 나타내었다. 이들 항체 각각에 대한 높은 유도 배수는 각각 약 11 및 13의 유도 배수 값으로 약 40 nM의 항체 농도 수준에서 정제된다. 이 실험의 결

과는 도 11d에 제공된다.

[0585] 이러한 연구의 활성 데이터는 또한 하기의 표에 제공된다. 요약하면, 인간화 또는 무린 Fc 영역을 갖는지의 여부에 관계없이, 연구된 각각의 항체는 항체 동형이 관련 효과기 리포터 세포에 중-매칭되는 검정에서 ADCC 활성을 입증하였다.

표 J. ADCC 활성				
Ab 시험	NK-92 세포 EC ₅₀ (nM) 도 11a	F158 NK-92 세포 EC ₅₀ (nM) 도 11b	V158 NK-92 세포 EC ₅₀ (nM) 도 11c	CHO/hCCR8 EC ₅₀ (nM)을 갖는 mFcγRIV 저각 세포 도 11d
hu.Ab5.H13L1	0.14	0.094		
Afuc.hu.Ab5.H13L1	0.0047	0.0073	0.003	
hu.Ab4.H12L3	0.27	0.21		
Afuc.hu.Ab4.H12L3	0.006	0.011	0.006	
요시다 Ab			0.060	
L263G8(바이오레전드)			활성 없음*	0.28
433H(BD 바이오사이언시즈)			활성 없음*	0.26

[0586]

[0587] *활성 없음 = 특정 Ab 동형과 관련이 없는 분석 조건(d) Treg 세포에 대한 ADCC 향상

[0588] 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로부터 Treg 세포 상에서 CCR8 발현을 유도하기 위해, 10⁷ 인간 PBMC를 NOD로 복강내 전달하였다. Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG) 마우스(JAX) 및 비장을 전달 후 2-3주에 수집하였다. 인간 T 세포는 마우스 계통 세포 고갈 키트(밀테니 바이오텍(Miltenyi Biotec))를 사용하여 NSG 비장세포의 단일 세포 현탁액으로부터 농축하였고, 개별적으로 1차 NK 세포는 제조업자의 프로토콜에 따라 인간 NK 세포 분리 키트(밀테니 바이오텍)를 사용하여 인간 PBMC로부터 농축하였다. 인간 T 세포를 0.001 내지 1 μg/mL의 CCR8 mAb와 함께 30분 동안 실온에서 인큐베이션한 후, 효과기:표적 비율 2:1로 1차 NK 세포를 첨가하였다. 37° C에서 밤새 인큐베이션한 후, 세포를 수집하고, 표면 염색하고, 제조업체의 프로토콜에 따라 e바이오사이언스(eBioscience) Foxp3/전사 인자 염색 완충액 세트(써모피셔 사이언티픽)를 사용하여 세포내 염색하였다. T 세포 모집단을 정의하는 데 사용된 항체는 BD 바이오사이언시즈의 CD45(HI30), CD3(SK7), CD8(RPA-T8) 및 CD14(63D3), 바이오레전드의 CD4(RPA-T4) 및 써모피셔 사이언티픽의 FOXP3(236A/E7)이었다. CountBright 절대 카운팅 비드(써모피셔 사이언티픽)를 획득하기 전에 각 샘플에 첨가하였다. 유세포 분석법은 Fortessa X-20(BD 바이오사이언시즈) 상에서 실시하였고, FlowJo 소프트웨어(BD 바이오사이언시즈, 버전 10.5.3)로 분석하였다. 절대 세포 수는 제조업체의 프로토콜에 따라 계산하였다.

[0589] Treg 세포에 대한 ADCC 활성은 회수된 조절 T 세포 대 회수된 CD8 세포의 비(Treg/CD8) 또는 통상적인 CD4 T 세포 대 회수된 CD8 T 세포의 비(CD4conv/CD8)를 계산하여 측정하였다. 회수된 CD8 T 세포의 수는 시험된 CCR8 mAb 및 동형 대조군 mAb의 모든 농도에 걸쳐 유사하였다("gD.afuc"). 도 12a-도 12d에 도시된 바와 같이, 비푸코실화된 CCR8 항체 Afuc.hu.Ab5.H13L1 및 Afuc.hu.Ab4.H12L3 및 푸코실화된 CCR8 항체 hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab4.H12L3은 통상적인 CD4 T 세포(도 12b 및 도 12d)와 비교하여 생체내 혼합 림프구 반응(MLR)-활성화된 인간 PBMC로부터의 Treg의 증가된 고갈과 함께(도 12a 및 도 12c), 및 증가된 ADCC 활성을 매개하는 비푸코실화된 변이체와 함께 ADCC 활성을 선택적으로 매개하였다. 낮은 수준의 비푸코실화된 항-CCR8-매개된 ADCC가 통상적인 CD4 T 세포에서 관찰되었으며, 이는 NSG 마우스로 옮겼을 때 통상적인 CD4 T 세포 상의 CCR8의 적당한 상향조절과 일치한다(데이터는 제시되지 않음).

[0590] 추가 데이터는 비푸코실화된 CCR8 mAb Afuc.hu.Ab5.H13L1 및 Afuc.hu.Ab4.H12L3이 RCC 종양으로부터의 Treg에 대해 선택적인 ADCC를 나타냄을 입증한다. 간단하게 설명하면, 인간 해리 종양 세포(신장 세포 암종, 디스커버리 라이프 사이언시즈)를 공급업체의 프로토콜에 따라 해동하였다. 1차 NK 세포는 제조자의 프로토콜에 따라 인간 NK 세포 분리 키트(밀테니 바이오텍)를 사용하여 인간 PBMC로부터 농축하였다. 인간 해리 종양 세포를 0.001 내지 1 μg/mL의 CCR8 mAb와 함께 30분 동안 실온에서 인큐베이션한 후, 효과기:표적 비율 2:1로 1차 NK 세포를 첨가하였다. 37° C에서 밤새 인큐베이션한 후, 세포를 상기와 같이 처리하여 CD8, 통상적인 CD4, 및 조절 T 세

포에 대한 절대 세포 수를 결정하였다.

[0591] 도 13a-도 13d에 도시된 바와 같이, 비푸코실화된 CCR8 항체 Afuc.hu.Ab5.H13L1 및 Afuc.hu.Ab4.H12L3 및 푸코실화된 CCR8 항체 hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab4.H12L3은 통상적인 CD4 T 세포(도 13b 및 도 13d)와 비교하여 생체내 혼합 림프구 반응(MLR)-활성화된 인간 PBMC로부터의 Treg의 증가된 고갈과 함께(도 13a 및 도 13c), 및 증가된 ADCC 활성을 매개하는 비푸코실화된 변이체와 함께 ADCC 활성을 선택적으로 매개하였다. 종양내 통상적인 CD4 T 세포에 대한 CCR8 염색의 부재와 일치하게, CCR8 mAb-매개 ADCC 활성은 통상적인 CD4 T 세포에서 관찰되지 않았고, 이는 종양내 조절 T 세포에 대한 CCR8 mAb-매개 ADCC의 선택성을 입증하였다.

[0592] (e) ADCP 향상

[0593] ADCP에 대한 비푸코실화의 영향에 대한 상반된 보고서가 존재한다. 예를 들어, Herter, *et al.* *J Immunol* (2014) 192: 2252-2260; Silence *et al.*, *mAbs* (2013) 6:523-532; 및 Kwiatkowski *et al.*, *mAbs* (2020) 12:e1803645 (9 pages)를 참조한다. 또한, G236A.I332E 돌연변이체는 향상된 FcγR2a 결합을 통해 ADCP를 증가시키는 것으로 이전에 나타났다. Richards *et al.*, *Molecular Cancer Therapeutics* (2008) 7:2517-2527을 참조한다. 따라서, ADCP 활성이 관찰되는지 여부를 조사하기 위해 hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab4.H12L3 둘 모두의 푸코실화 및 비푸코실화된 hIgG1.G236A.I332E Fc 버전을 제조하였다. G236A.I332E 돌연변이체 hIgG1 불변 도메인은 Ab4 및 Ab5 G236A.I332E 변이체의 전장 중쇄 서열과 함께, 밀줄친 정상 hIgG1 불변 도메인과의 돌연변이적 차이를 갖는 것으로 하기의 표에 제공된다.

표 K. hIgG1.G236A.I332E 변이체	
설명	서열
hIgG1.G236A.I332E 불변 도메인 (서열번호 59)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPKEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Afuc.hu.Ab5.H13.G236A.I332E 전장 중쇄 (서열번호 60) ^a	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDLSYAMGWVRQAPGKLEWVGLIHRSGRTYYATWAKGRFTISKDSSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRSYDPYSATASINGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPKEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Afuc.hu.Ab4.H12.G236A.I332E 전장 중쇄 (서열번호 61) ^b	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSNYAMIVRQAPGKLEWVSTISLGGYTYANWAKGRFTISRDSKNTVYLYQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDIAITYAFDPWGPGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPKEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0594]

[0595] ^a Ab5 G236A.I332E 변이체에 대한 경쇄 전장 서열은 hu.Ab5.L1(서열번호 56)에 상응한다. ^b Ab4 G236A.I332E 변이체에 대한 경쇄 전장 서열은 hu.Ab4.L3(서열번호 58)에 상응한다. 인간 CD14⁺ 단핵구를 EasySep 인간 단핵구 강화 키트(줄기 세포 기술(Stem Cell Technologies))를 사용하여 공지된 FcγRIIa 및 FcγRIIIa 유전자형 정보를 갖는 제넨텍(Genentech) 공여체의 혈액으로부터 먼저 분리하였다. 정제된 CD14⁺ 단핵구를 5일 동안 100 ng/mL hM-CSF(PeproTech, Inc)를 갖는 RPMI + 10% FBS에서 대식세포로 분화시켰다. 이어서, 50 ng/mL의 hIL-10(PeproTech, Inc)을 첨가하여 ADCP 검정 전에 24시간 동안 대식세포를 분극화시켰다. NucLight Red 형질감염된 CHO/hCCR8.Gna15 표적 세포를 20 mg/mL의 비-특이적 인간 IgG의 존재하에 20분 동안 항-CCR8 항체와 함께 예비-인큐베이션하였다. 이어서, 상기 세포 혼합물을 1:1의 E:T 비로 대식세포(효과기 세포) 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 IncuCyte Zoom 기기(에센 바이오사이언시즈(Essen Biosciences); 미시간주, 앤아버 소재) 내부에 위치시킨 후, 6시간의 기간 동안 매 1시간마다 명시야 및 적색 레이저 설정으로 세포 이미지를 획득하였다. 각 웰(남은 표적 세포)의 적혈구 수는 기기가 내장된 소프트웨어를 사용하여 동일한 웰의 대식세포 수에 의해 표준화되었다. ADCP 활성은 동형 대조군 항체가 존재하는 음성 대조군과 비교하여 각 샘플에서 정규화된 적혈구 수의 감소 백분율로서 계산하였다. 그런 다음, ADCP 활성을 항체 농도의 함수로서 플롯하고, 데이터를 프리즘(Prism)을 사용한 비대칭 S자형 4-매개변수 로지스틱(sigmoidal four-parameter logistic, 4PL) 모

텔에 맞추하였다. 각 항체에 대한 EC₅₀ 값은 50% 표적 세포 사멸에 도달하는 농도로서 결정하였다.

[0596] 도 14a-도 14d에 도시된 바와 같이, 비푸코실화된 항-CCR8 항체 Afuc.hu.Ab5.H13L1 및 Afuc.hu.Ab4.H12L3은 HR/FF(도 14a), RR/FF(도 14b), HR/VF(도 14c), 및 RR/VF(도 14d)의 FcγRIIa(H131R)/FcγRIIIa(V158F) 유전자형을 갖는 4개의 상이한 공여체로부터 수득한 CD14⁺ 단핵구-유래 대식세포에서 푸코실화된 항체 hu.Ab5.H13L1 및 hu.Ab4.H12L3에 비해 향상된 ADCP 활성을 나타내었다. 결과는 CCR8을 표적화하는 항체의 맥락에서, 비푸코실화가 향상된 ADCP를 발생시킨다는 것을 나타낸다.

[0597] 비푸코실화된 항-CCR8 항체 Afuc.hu.Ab5.H13L1 및 Afuc.hu.Ab4.H12L3가 또한 요시다 인간화 항-인간 CCR8 항체에 비해 향상된 ADCP 활성을 나타내었다(3-4배 향상)(도 14e).

[0598] 이러한 연구의 활성 데이터는 또한 하기의 표에 제공된다.

표 L. ADCP 활성					
항체	HR/FF EC ₅₀ (nM) 도 14a	RR/FF EC ₅₀ (nM) 도 14b	HR/VF EC ₅₀ (nM) 도 14c	RR/VF EC ₅₀ (nM) 도 14d	HR/FF EC ₅₀ (nM) 도 14e
hu.Ab5.H13L1	결정되지 않음	결정되지 않음	결정되지 않음	결정되지 않음	
Afuc.hu.Ab5.H13L1	0.017	0.2	0.01	0.50	0.022
hu.Ab4.H12L3	0.35	0.81	결정되지 않음	0.41	
Afuc.hu.Ab4.H12L3	0.025	0.12	0.017	0.079	0.035
요시다 Ab					0.096

[0599] 결정되지 않음 = 결정되지 않음또한, 도 15a-도 15d에 도시된 바와 같이, HR/FF(도 15a), RR/FF(도 15b), HR/VF(도 15c) 및 RR/VF(도 15d)의 FcγRIIa(H131R)/FcγRIIIa(V158F) 유전자형을 갖는 4개의 상이한 공여체로부터 수득한 CD14⁺ 단핵구-유래 대식세포에서 비푸코실화된 항-CCR8 항체 Afuc.hu.Ab5.H13L1은 FcγRIIa-향상된 G236A.I332E 변이체 Afuc.hu.Ab5.H13L1G236A.I332E와 비교하여 유사하게 개선된 ADCP 활성을 나타내었다. 비푸코실화된 hIgG1 변이체와 G236A.I332E 돌연변이체 사이의 ADCP 활성의 유사성은 G236A.I332E를 혼입하는 것이 항-EPCAM mAb를 사용하기는 하지만 실질적으로 더 높은 수준의 ADCP를 매개한다는 이전 보고서를 고려할 때 놀랍다. Richards *et al.*, *Molecular Cancer Therapeutics* (2008) 7:2517-2527을 참조한다.

[0601] (f) Ab4 및 Ab5 항체의 물리적 특성화

[0602] Afuc.hu.Ab5.H13L1 및 Afuc.hu.Ab4.H12L3 둘 모두의 열 응력(저장 수명 안정성) 하에서의 용해도, 점도 및 거동을 높은 농도에서 평가하였다. 하기의 표에 나타난 바와 같이, 두 항체 모두 이의 제조 및 제형에 유용한 유리한 화학적 및 물리적 특성을 나타내어, 낮은 응집, 양호한 용해도, 낮은 점도, 및 양호한 저장 수명 안정성을 입증하였다.

표 M. 항체 물리적 특성화		
분석	Afuc.hu.Ab5.H13L1	Afuc.hu.Ab4.H12L3
열 스트레스 (200 mM 아르기닌 숙시네이트 중 150 mg/mL, pH 5.5)	2.0% SEC 단량체 손실	1.9% SEC 단량체 손실
PBS 중의 용해도, pH 7.4(OD)	0.383	0.376
점도(200 mM 아르기닌 숙시네이트 중, pH 5.5)	9.6 cP(180.3 mg/mL)	12.4 cP(187.1 mg/mL)

[0603] 열 스트레스 조건: 항체 샘플을 40° C에서 2주 동안 200 mM 아르기닌 숙시네이트(pH 5.5)에서 150 mg/mL로 인큐베이션하였다. 대조군 샘플은 -70° C에서 저장하였다. 크기 배제 크로마토그래피(SEC)를 사용하여 대조군 및 스트레스 샘플에 대해 크기 변이체를 평가하였다. TSKgel® UP-SW3000 컬럼, 4.6 x 300 mm(토소 바이오사이언시스(Tosoh Biosciences), 펜실베이니아, 킹 오브 프루시아 소재)을 사용하여 Waters Acquity UPLC H-Class(워터스(Waters), 매사추세츠 밀퍼드 소재)로 SEC를 실시하였다. 이동상은 0.25 M 염화칼륨을 포함하는 0.2 M 인산칼륨 완충액(pH 6.2)이었다. 0.3 mL/분의 유속으로 주위 온도에서 분리를 실시하였고, 컬럼 유출물을 280 nm UV 파장에서 모니터링하였다. 인산염 완충 식염수(PBS)에서의 용해도: 항체를 200 mM 아르기닌 숙시네이트 중, pH 5.5,

150 mg/mL로 제형화하고, PBS 중에서, pH 7.4, 37° C에서 24시간 동안 투석하여 이의 용해도를 결정하였다. 투석 후, 샘플을 가시적인 미립자에 대해 육안으로 검사하고, 340, 345, 350, 355 및 360 나노미터에서 흡광도를 측정하기 위해 스펙트라맥스(SpectraMax) M2/M2e 플레이트 판독기(몰레큘라 디바이시스(Molecular Devices), 미국 캘리포니아주 산호세 소재)를 사용하여 탁도를 결정하였다. 5개 파장에서의 값을 평균하여 최종 용해도 값을 도출하였다.

[0605] 점도 결정: AR G2 레오미터(Rheometer, TA 인스트루먼트(TA Instruments), 델라웨어주 뉴캐슬 소재)를 사용하여 200 mM 아르기닌 숙시네이트 중에서, pH 5.5, 100, 150, 및 180 mg/mL에서 샘플의 점도를 결정하였다. 20 mm 원뿔 기하구조를 사용하고 1,000 역초의 일정한 전단 속도에서 2.5분에 걸쳐 측정을 실시하였다.

[0606] (g) *hu.Ab5.H13L1*의 에피토프 매핑

[0607] 푸코실화된 **hu.Ab5.H13L1**에 대한 에피토프 매핑을 하기 위해, 인간 CCR8의 알라닌 점 돌연변이에 대한 결합을 유세포 분석으로 분석하였다.

[0608] C-말단 FLAG 태그를 갖는 hCCR8에서 위치 2-24에서의 개별 알라닌 점 돌연변이를 암호화하는 구조체를 생성하였다. HEK 293 세포를 돌연변이체 hCCR8을 암호화하는 구조체 또는 transIT X2(시약:DNA=3:1)를 사용하는 모의 구조체로 24시간 동안 형질감염시키고, huCCR8 항체 **hu.Ab5.H13L1**(hIgG1)로 표면 염색한 다음, 고정시키고 투과시키고, 이어서 FITC-항-플래그(시그마 F4049)를 적용하였다.

[0609] 도 16a에 도시된 바와 같이, **hu.Ab5.H13L1**은 D2A, Y3A, L5A, 및 D6A에 결합하지 않고, 이는 에피토프가 인간 CCR8 N-말단의 DYTLD 영역의 적어도 하나의 아미노산 잔기를 포함함을 나타낸다.

[0610] (h) *hu.Ab4.H12L3*의 에피토프 매핑

[0611] 푸코실화된 **hu.Ab4.H12L3**에 대한 에피토프 매핑을 하기 위해, 인간 CCR8의 키메라 형태에 대한 결합을 유동 세포측정으로 분석하였다.

[0612] 인간 CCR8.CCR5 키메라(N-말단1(인간 CCR8의 아미노산 잔기 1-23), N-말단2(인간 CCR8의 아미노산 잔기 1-36), ECL1(인간 CCR8의 아미노산 잔기 91-104), ECL2(인간 CCR8의 아미노산 잔기 172-193), 및 ECL3(인간 CCR8의 아미노산 잔기 264-271)을 암호화하는 구조체를 생성하고, 여기서 CCR8의 상이한 세포외 영역이 C-말단 FLAG 태그를 갖는 CCR5로부터의 상응하는 영역으로 대체되었다. ECL은 세포외 루프로 정의된다. 293 세포를 돌연변이체 hCCR8을 암호화하는 구조체 또는 transIT X2(시약:DNA=3:1)를 사용하는 모의 구조체로 24시간 동안 형질감염시키고, **huCCR8-Ab4.H12L3**.hIgG1로 표면 염색한 다음, 고정시키고 투과시키고, 이어서 FITC-항-플래그(시그마 F4049)를 적용하였다.

[0613] 도 16b에 도시된 바와 같이, **hu.Ab4.H12L3**은 ECL1 및 ECL2 키메라에 결합하지 않고, 이는 에피토프가 CCR8의 ECL1 및 ECL2 영역의 적어도 하나의 아미노산 잔기를 포함한다는 것을 나타낸다.

[0614] 실시예 5. 무린 결합암 모델 CT26에서의 대리 마우스 항-CCR8 단일클론 항체(mAb)

[0615] (a) Treg 세포 고갈

[0616] 생체내에서 종양-침윤성 Treg 세포를 고갈시키는 항-CCR8 Ab의 능력을 입증하기 위해, 확립된 CT26 종양을 갖는 BALB/c 마우스를 대리 마우스 항-CCR8 mAb로 처리하고, 종양, 비장 및 종양-배액 림프절에서 백혈구 중의 Treg 세포, 통상적인 CD4 T 세포 및 CD8 T 세포의 비율을 유세포 분석법에 의해 분석하였다.

[0617] 대리 마우스 항-CCR8 mAb의 경쇄 및 중쇄 CDR 영역, 경쇄 및 중쇄 가변 영역, 및 전장 중쇄 및 경쇄 서열이 하기의 표에 제공된다.

표 N1. 대리 마우스에 대한 경쇄 CDR 영역			
설명	CDR L1 (카바트 코티아)	CDR L2 (카바트 코티아)	CDR L3 (카바트 코티아)
항-CCR8	RSSKSVYSNYLS (서열번호 62)	RASTLTPT (서열번호 63)	AGGYSSGSDNT (서열번호 64)

표 N2. 대리 마우스에 대한 중쇄 CDR 영역				
설명	CDR H1 (카바트)	CDR H1 (코티아)	CDR H2 (카바트 및 코티아)	CDR H3 (카바트 및 코티아)
항-mCCR8	EYSMA (서열번호 65)	RIDLNEY (서열번호 66)	YIDAGSGSAYYAS WAKG (서열번호 67)	DVYPGYTTGTNLG L (서열번호 68)

표 N3. 대리 마우스에 대한 경쇄 및 중쇄 가변 영역	
설명	서열
항-mCCR8 가변 경쇄 (서열번호 69)	AAVLTQTPASVSAAVGGTVSISCRSSKSVYSNYLSWYQQKPGQPPKLLIYRAST LTPGVPSRFKSGSGTQFSLTIRDVQSADAGSYTCAGGYSSGSDNTFGGGTKLE IK
항-mCCR8 가변 중쇄 (서열번호 70)	QSVKESGGRVTPGGSLTLTCTVSRIDLNEYSMWVRQAPGKLEWIGYIDAGS GSAYYASWAKGRFTISKTSSTVDLEMTLTITDGTATYFCARDVYPGYTTGTNL GLWGPGLVTVSS

표 N4. 전장 경쇄 및 중쇄 대리 마우스 서열	
설명	서열
항-mCCR8 전장 경쇄 (서열번호 71)	AAVLTQTPASVSAAVGGTVSISCRSSKSVYSNYLSWYQQKPGQPPKLLIYRASTLTPG VPSRFKSGSGTQFSLTIRDVQSADAGSYTCAGGYSSGSDNTFGGGTKLEIKRADAAP TVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKIDINVKWKIDGSEKQNGVLNWTQDQSKDS TYSMSSTLTLTDEYERHNSYTCEATHKSTSTSPIVKSFNNEC
항-mCCR8 전장 중쇄 (서열번호 72)	QSVKESGGRVTPGGSLTLTCTVSRIDLNEYSMWVRQAPGKLEWIGYIDAGSGSAY YASWAKGRFTISKTSSTVDLEMTLTITDGTATYFCARDVYPGYTTGTNLGLWGPGL VTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYPPEPVTLTWNSGSLSSGVHTF PAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPNLLGGPSVFIKPKIKDVLMSLSPIVTCVVDVSEDDPDWQISWFWNNVEVHT AQQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMGKFEKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSR APQVYVLPPEEEMTKQVTLTCNVTDMPEDIVVEWTNNGKTELNYKNTPEVLDSDG SYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLNHHHTKSPSRTPGK

CT26 종양 세포를 대수기 성장으로 회수하고, 1:1 비율로 매트릭젤을 함유하는 HBSS에 재현탁시켰다. BALB/c 마우스의 옆구리에 100 마이크로리터의 HBSS + 매트릭젤 중의 0.1 백만 개의 CT26 세포를 피하 접종하였다. 확립되고 130-230 mm³의 평균 종양 부피에 도달할 때까지 종양을 모니터링하였다. 그런 다음, 마우스를 처리군으로 무작위화하였다. 대리 마우스 항-CCR8(mIgG2a) 또는 항-gp120 동형 대조군 Ab를 사용한 치료는 히스티딘 완충액 #08: 20 mM 히스티딘 아세테이트, 240 mM 수크로스, 0.02% 폴리소르베이트 20(트윈-20) 중에서 pH 5.5, 0.003 mg/kg 내지 5 mg/kg 항-CCR8 Ab의 용량으로 정맥내 투여하였다. 3일 후 마우스를 희생시키고, 종양, 비장 및 종양-배액 림프절을 분석을 위해 수득하였다. 단일 세포 현탁액을 생성하기 위해, 종양을 잘게 부스고 37° C에서 교반하면서 30분 동안 1% 소 태아 혈청(FBS), 0.2 U/mL 리베라제(Liberase) DL(시그마), 및 0.2 mg/mL DNaseI(시그마)를 함유하는 RPMI-1640 배지에서 소화시켰다. 종양 세포를 100 mm 필터에 통과시키고, 10% FBS를 함유하는 RPMI-1640 배지로 세척하였다. 단일 세포 현탁액을 4° C에서 15분 동안 형광 표지된 항-CD45, 항-CD4 및 항-CD8 항체로 표면 염색하고, e바이오사이언시스 Foxp3/전사인자 염색 완충액 세트(써모피셔)를 사용하여 제조업체의 프로토콜에 따라 형광 표지된 항-Foxp3으로 세포 내 염색하였다. 유세포 분석법은 Fortessa X-20(BD 바이오사이언시스) 또는 FACSymphony(BD 바이오사이언시스) 상에서 실시하였고, FlowJo 소프트웨어(BD 바이오사이언시스)로 분석하였다.

도 17a-도 17i는 동형-처리군에 대한 CT26 종양-함유 마우스의 비장 또는 종양-배액 림프절에서 아닌(도 17a-도 17c), 종양에서 Treg 세포(CD45+ 백혈구 중에서 Treg 세포의 분획으로 그래프화됨)의 용량-의존적 고갈을 도시한다. 동형 대조군에 대하여 통상적인 CD4 T 세포(도 17d-도 17f) 또는 CD8 T 세포(도 17g-도 17i)의 비율의 감소는 항-CCR8 처리에서 관찰되지 않았다. 이러한 관찰은 종양내 Treg 세포의 항-CCR8-매개 고갈의 특이성을 입증한다.

(b) 종양 성장 억제

생체내에서 종양-침윤성 Treg 세포의 항-CCR8-매개 고갈 후 종양 성장 억제를 입증하기 위해, 확립된 CT26 종양을 갖는 BALB/c 마우스를 대리 마우스 항-CCR8 mAb로 처리하고 시간 경과에 따른 종양 성장을 모니터링하였다.

CT26 종양 세포를 대수기 성장으로 회수하고, 1:1 비율로 매트릭젤을 함유하는 HBSS에 재현탁시켰다. BALB/c 마우스의 옆구리에 100 마이크로리터의 HBSS + 매트릭젤 중의 0.1 백만 개의 CT26 세포를 피하 접종하였다. 확립

되고 130-230 mm³의 평균 종양 부피에 도달할 때까지 종양을 모니터링하였다. 그런 다음, 마우스를 처리군으로 무작위화하였다. 마우스를 히스티딘 완충액 #08: 20 mM 히스티딘 아세테이트, 240 mM 수크로스, 0.02% 폴리소르베이트 20(트윈-20) 중에서 pH 5.5, 0.1 mg/kg의 항-CCR8(mIgG2a), 0.1 mg/kg의 항-CD25 항체(클론 PC61 mIgG2a) 또는 항-gp120 동형 대조군 Ab를 1회 또는 2회 매주 투여(정맥내 1회 투여, 이어서 복강내 투여)로 정맥내 처리하였다. 종양 부피는 울트라(Ultra) Cal-IV 캘리퍼스(Fred V. Fowler Co.)를 사용하여 2차원(길이 및 폭)으로 측정하고, 부피를 하기의 화학식을 사용하여 계산하였다: 종양 크기(mm³) = (길이 x 너비²) x 0.5.

[0627] **도 18a-도 18d**는 개별 마우스(회색 선) 및 처리군(적합 곡선, 검은색 선)에 대한 시간에 따른 종양 부피의 변화를 도시한다. CT26 결장암 모델에서 단일 용량으로 투여하거나(**도 18b**) 또는 매주 2회(**도 18c**) 투여한 대리 마우스 항-CCR8 mAb를 사용하여 강력한 종양 성장 억제를 관찰하였다. 두 치료 요법 모두 8/9 쥐에서 완전한 종양 퇴화를 발생시켰다. 항-CCR8 mAb를 사용한 처리는 항-CD25 Ab 처리보다 더 효과적이었으며(**도 18d**), 이는 3/9 마우스에서 종양 퇴화를 발생시켰다. 동형 대조군 mAb(항-gp120)를 사용하였다(**도 18a**).

[0628] 실시예 6. 효과기-적격 및 효과기가 없는 대리 마우스 항-CCR8 Ab의 비교

[0629] 항-CCR8 Ab 치료가 주로 ADCC- 및 ADCP-매개된 Treg 세포 고갈을 촉진하거나 또한 CCR8의 리간드-의존성 활성화를 억제함으로써 작용하는지 여부를 평가하기 위해, 본 발명자들은 리간드 차단 효과기-적격 mIgG2a 대리 마우스 항-CCR8 Ab를 CT26 종양 모델에서 동일한 항-CCR8 클론의 리간드 차단 효과기가 없는 mIgG2a.LALAPG 돌연변이체와 비교하였다.

[0630] CT26 종양 세포를 대수기 성장으로 회수하고, 1:1 비율로 매트릭셀을 함유하는 HBSS에 재현탁시켰다. BALB/c 마우스의 옆구리에 100 마이크로리터의 HBSS + 매트릭셀 중의 0.1 백만 개의 CT26 세포를 피하 접종하였다. 제1 처리군에서, 대리 마우스 항-CCR8 mAb(mIgG2a) 또는 효과기가 없는 mIgG2a.LALAPG 돌연변이체 항-CCR8 또는 항-gp120 동형 대조군 mAb를 히스티딘 완충액 #08: 20 mM 히스티딘 아세테이트, 240 mM 수크로스, 0.02% 폴리소르베이트 20(트윈-20) 중에서, pH 5.5, 종양 접종일에 시작하여 주당 2회 5 mg/kg의 용량(제1 용량을 정맥내로 제공하고, 모든 후속 용량을 복강내로 제공함)으로 투여하였다. 20 mM 히스티딘 아세테이트, 240 mM 수크로스, 0.02% 폴리소르베이트 20(트윈-20) 중에서 pH 5.5, 0.1 mg/kg의 항-CCR8(mIgG2a), 0.1 mg/kg의 항-CD25 항체(클론 PC61 mIgG2a) 또는 항-gp120 동형 대조군 Ab를 1회 또는 2회 매주 투여(정맥내 1회 투여, 이어서 복강내 투여)로 정맥내 처리하였다. 2차 처리군의 경우, 종양이 확립되고 평균 종양 부피가 130-230 mm³에 도달할 때까지 종양을 모니터링한 다음, 마우스를 처리군으로 무작위화하고, 히스티딘 완충액 #08: 20 mM 히스티딘 아세테이트, 240 mM 수크로스, 0.02% 폴리소르베이트 20(트윈-20) 중에서, pH 5.5, 주당 2회 5 mg/kg으로 투여된(정맥내 제1 투여, 이어서 모두 복강내 투여)로 항-CCR8(mIgG2a) 또는 효과기가 없는 mIgG2a.LALAPG 돌연변이체 항-CCR8 Ab로 처리하였다. 종양 부피는 울트라(Ultra) Cal-IV 캘리퍼스(Fred V. Fowler Co.)를 사용하여 2차원(길이 및 폭)으로 측정하고, 부피를 하기의 화학식을 사용하여 계산하였다: 종양 크기(mm³) = (길이 x 너비²) x 0.5. Adventura Pro AV812 저울(Ohaus Corporation)을 사용하여 마우스 체중을 측정하였다.

[0631] **도 19a-도 19e**는 개별 마우스(회색 선) 및 처리군(적합 곡선, 검은색 선)에 대한 시간에 따른 종양 부피의 변화를 도시한다. 종양 성장 억제는 효과기-적격 mIgG2a 대리 마우스 항-CCR8 mAb에서는 관찰되지만(**도 19b 및 도 19d**), 리간드-차단 효과기가 없는 mIgG2a.LALAPG 돌연변이체 항-CCR8 mAb에서는 관찰되지 않는다(**도 19c 및 도 19e**). mIgG2a 항-CCR8 Ab는 종양 접종시(**도 19b**) 또는 확립된 종양에서(**도 19d**) 주었을 때 효과적이다. 이러한 발견은 CCR8 수용체에 대한 리간드 결합의 차단이 항-CCR8 mAb 처리 후 종양 성장 억제를 매개하기에 충분하지 않다는 것을 입증한다. 동형 대조군 mAb(항-gp120)를 사용하였다(**도 19a**).

[0632] 실시예 7. 항-CCR8 및 항-PDL1 mAb 치료의 병용 효능

[0633] 항-CCR8 mAb 및 관문 억제제의 병용에 의한 증가된 종양 성장 억제의 가능성을 평가하기 위해, 확립된 EMT6 종양을 갖는 마우스를 항-CCR8 및 항-PDL1 mAb로 개별적으로 또는 병용하여 처리하였다.

[0634] EMT6 종양 세포를 대수기 성장으로 회수하고, 1:1 비율로 매트릭셀을 함유하는 HBSS에 재현탁시켰다. BALB/c 마우스에 100 마이크로리터의 HBSS + 매트릭셀 중의 0.1 백만 개의 EMT6 세포를 갖는 5번째 유지방내에 피하 접종하였다. 확립되고 130-230 mm³의 평균 종양 부피에 도달할 때까지 종양을 모니터링하였다. 그런 다음, 마우스를 처리군으로 무작위화하였다. 대리 마우스 항-CCR8(mIgG2a) 또는 동형 대조군 Ab를 0.1 mg/kg의 단일 용량으로서 정맥내 투여하였다. 효과기가 없는 항-PDL1(mIgG2a · LALAPG) Ab를 제1 투여에 대해 10 mg/kg으로 정맥내 투여하고, 후속 투여에 대해 5 mg/kg으로 주 2회 복강내 투여하였다. 항체를 히스티딘 완충액 #08: 20 mM 히스티딘 아

세테이트, 240 mM 수크로스, 0.02% 폴리소르베이트 20(트윈-20) 중에서 pH 5.5로 희석하였다. 종양 부피 및 체중은 주당 2회 측정하였다. 종양 부피는 울트라(Ultra) Cal-IV 캘리퍼스(Fred V. Fowler Co.)를 사용하여 2차원(길이 및 폭)으로 측정하고, 부피를 하기의 화학식을 사용하여 계산하였다: 종양 크기(mm³) = (길이 x 너비²) x 0.5. Adventura Pro AV812 저울(Ohaus Corporation)을 사용하여 마우스 체중을 측정하였다.

[0635] 도 20a-도 20d는 개별 마우스(회색 선) 및 처리군(적합 곡선, 검은색 선)에 대한 시간에 따른 종양 부피의 변화를 도시한다. 대리 마우스 항-CCR8 및 항-PDL1 mAb는 단일 처리로서 부분적 종양 성장 억제를 발생시키는 반면(도 20b-도 20c), 두 mAb의 조합(도 20d)은 예상외로 완전한 종양 거부를 발생시킨다. 동형 대조군 mAb(항-gp120)를 사용하였다(도 20a).

[0636] 실시예 8. Ab1-Ab3 H1L1 변이체 및 항-CCR8 항체 비교기

[0637] (i) Ab1-Ab3 H1L1 변이체

[0638] Ab1-Ab3 H1L1 변이체의 경쇄 및 중쇄 CDR 영역, 경쇄 및 중쇄 가변 영역, 및 전장 중쇄 및 경쇄 서열이 하기의 표에 제공된다.

[0639]

표 01. Ab1, Ab2, 및 Ab3 변이체에 대한 경쇄 CDR 영역			
설명	CDR L1 (카바트 코티아)	CDR L2 (카바트 코티아)	CDR L3 (카바트 코티아)
hu.Ab1.H1L1	QASQRIGNALA (서열번호 73)	RASTLES (서열번호 74)	LGGYISIGNVYT (서열번호 75)
hu.Ab2.H1L1	QSSKSVNNNLA (서열번호 76)	PASALAS (서열번호 77)	QGAYSGGSDSYA (서열번호 78)
hu.Ab3.H1L1	QASQSISNALA (서열번호 79)	EVSKVAS (서열번호 80)	QSAYYGNISYVWGA (서열번호 81)

[0640]

표 02. Ab1, Ab2, 및 Ab3 변이체에 대한 중쇄 CDR 영역				
설명	CDR H1 (카바트)	CDR H1 (코티아)	CDR H2 (카바트 코티아)	CDR H3 (카바트 코티아)
hu.Ab1.H1L1	SNYYMC (서열번호 82)	GFDFSSN (서열번호 83)	CIHISSVTNTWYA SWATG (서열번호 84)	VGNSDYRYFNL (서열번호 85)
hu.Ab2.H1L1	YGYDMC (서열번호 86)	GFSPSYG (서열번호 87)	CISAGSSDNTWYA SWAKG (서열번호 88)	YLGL (서열번호 89)
hu.Ab3.H1L1	SYAMS (서열번호 90)	GFSLSSY (서열번호 91)	VISASGRITATW AKG (서열번호 92)	GVPSYSLVMSD (서열번호 93)

[0641]

표 03. Ab1, Ab2, 및 Ab3 변이체를 위한 중쇄 및 경쇄 가변 영역	
설명	서열
hu.Ab1.H1L1 경쇄 가변 영역 (서열번호 94)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCQASQRIGNALAWYQQKPGKPKLLIYRAS TLESGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGGYISIGNVYTFGGG TKVEIK
hu.Ab1.H1L1 중쇄 가변 영역 (서열번호 95)	EQQLVESAGGLVQPGGSLRLSCAASGFDSSNYMCWVRQAPGKLEWIGCI HISSVTNTWYASWATGRFTISKDTSSITVYLQMISLKTEDTAVYFCTRVGNS DYRYFNLWPGTLTVSS
hu.Ab2.H1L1 경쇄 가변 영역 (서열번호 96)	EQVLTQSPGTLSLSPGERATLSCQSSKSVNNNLAWYQQKPGQPRLLIYFA SALASGVPRFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQGAYSGGSDSYAFGG GTKVEIK
hu.Ab2.H1L1 중쇄 가변 영역 (서열번호 97)	EQQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFSFSYGYDMCWVRQAPGKLEWIACI SAGSSDNTWYASWAKGRFTISKDTSKTTVYLQMNSLRADTAVYFCSRYLGL WPGTLTVSS
hu.Ab3.H1L1 경쇄 가변 영역 (서열번호 98)	EPVMTQSPATLSVSPGERATLSCQASQSISNALAWYQQKPGQPRLLIYEV KVASGVPARFGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQSAYYGNISYVWGA GTKVEIK
hu.Ab3.H1L1 중쇄 가변 영역 (서열번호 99)	EQQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMSWVRQAPGKLEWIGVIS ASGRITATWAKGRFTISKDSAKTSVYLQMNSLRDEDTAVYFCARGVPSYSL VMSDWPGTLTVSS

표 04. Ab1, Ab2, 및 Ab3 변이체를 위한 중쇄 및 경쇄 전장 서열	
설명	서열
hu.Ab1.H1L1 전장 경쇄 (서열번호 100)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCQASQRIGNALAWYQQKPGKPKLLIYRASTLESQV PSRFGSGSGTDFLTITSSLPEDVATYYCLGGYISIGNVYTFGGGKVEIKRTVAAP SVFIPPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
hu.Ab1.H1L1 전장 중쇄 (서열번호 101)	EQQLVESAGGLVQPGGSLRLSCAASGFDSSNYMCWVRQAPGKGLEWIGCIHISST NTWYASWATGRFTISKDTSTTVYLQMISLKTEDTAVYFCTRVGNSDYRYFNLWGP LTVVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMHHEALHNHYTQKSLSLSPGK
hu.Ab2.H1L1 전장 경쇄 (서열번호 102)	EQVLTSQPGTSLSPGERATLSCQSSKSVNNNNLAWYQQKPGQPPRLIYFASALASG VPDRFSGSGSGTDFLTITSLRLEPEDFAVYYCQAGYSGGSDSYAPGGGKVEIKRTVAA PSVFIPTSPDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
hu.Ab2.H1L1 전장 중쇄 (서열번호 103)	EQQLVESGGGVQPGSRSLRLSCAASGFSFSGYDMCWVRQAPGKLEWIACTISAGSSD NTWYASWAKGRFTISKDTSKTTVYLMNSLRADTAVYFCSRYLGLWPGTLTVVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMHHEALHNHYTQKSLSLSPGK
hu.Ab3.H1L1 전장 경쇄 (서열번호 104)	EPVMTQSPATLSVSPGERATLSCQASQSISNALAWYQQKPGQPPRLIYEVSKVASGV PARFSGSGSGTEFTLTITSLQSEDFAVYYCQASATYNSVYWGAFGGGKVEIKRTVAA PSVFIPTSPDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
hu.Ab3.H1L1 전장 중쇄 (서열번호 105)	EQQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMSVWRQAPGKLEWIGVISASGRII YATWAKGRFTISKDSAKTSVYLMNSLRDEDTAVYFCARGVPSYSLVMSDWGPGTTVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMHHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0642]

[0643]

(ii) 항-CCR8 항체 비교기본원에서 연구된 요시다 인간화 항-인간 CCR8 항체의 전장 중쇄 및 전장 경쇄 서열은 USSN 16/183,216(US 2019/0071508으로 공개되고, 나중에 US 10,550,191로 승인됨)의 기소 동안 2019년 10월 30일에 출원한 미국 선언서에 개시되어 있다. 이러한 동일한 항체의 경쇄 가변 영역, 경쇄 불변 영역, 중쇄 가변 영역, 및 중쇄 불변 영역은 서열 59, 52, 41 및 53으로서 PCT 출원 공보 제W02020138489호에 개시되어 있다. 요시다 항체를 인간 hIgG1 항체(즉, 인간 Fc 영역을 가짐)로서 발현시켰다. 상업적으로 입수가능한 뮤린 항-인간 CCR8 항체 433H(BD 바이오사이언시즈), 및 뮤린 항-인간 CCR8 항체 L263G8(바이오레전드)을 이들 연구를 위해 구입하였다. 433H(BD 바이오사이언시즈) 및 L263G8(바이오레전드)은 마우스 IgG2a 동형 Fc 영역을 포함하는 마우스 단일클론 항체이다. 또한, Mutalithas *et al.*, *Clinical & Experimental Allergy* (2010) 40:1175 (433H, BD Biosciences), Mitson-Salazar *et al.*, *J. Allergy Clin. Immunol.* (2016) 907-918 (L263G8, Biologend) 및 www.labome.com/review/gene/human/CCR8-antibody.html (L263G8, Biologend)를 참조한다.

[0644]

실시예 9: Ab1-Ab5의 말단 리신 변이체

[0645]

본원에 개시된 항-CCR8 항체의 추가의 Fc 변이체가 고려되며, 여기서 모 항체의 중쇄의 C-말단은 C-말단 리신이 제거되어 단축된 C-말단 종결 PG를 발생시키는 단축된 C-말단이다. Ab1-Ab-5의 말단 리신 변이체가 하기의 표 P에 제공된다.

[0646]

Ab5 말단 리신 변이체에 대한 경쇄 전장 서열은 **hu.Ab5.L1**(서열번호 56)에 상응한다.

[0647]

Ab4 말단 리신 변이체에 대한 경쇄 전장 서열은 **hu.Ab4.L3**(서열번호 58)에 상응한다.

[0648]

Ab5 G236A.I332E 말단 리신 변이체에 대한 경쇄 전장 서열은 **hu.Ab5.L1**(서열번호 56)에 상응한다.

[0649]

Ab4 G236A.I332E 말단 리신 변이체에 대한 경쇄 전장 서열은 **hu.Ab4.L3**(서열번호 58)에 상응한다.

[0650]

Ab1 말단 리신 변이체에 대한 경쇄 전장 서열은 **hu.Ab1.L1**(서열번호 100)에 상응한다.

- [0651] Ab2 말단 리신 변이체에 대한 경쇄 전장 서열은 **hu.Ab2.L1**(서열번호 102)에 상응한다.
- [0652] Ab3 말단 리신 변이체에 대한 경쇄 전장 서열은 **hu.Ab3.L1**(서열번호 104)에 상응한다.

표 P. Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, 및 Ab5 변이체에 대한 중쇄 말단 리신 변이체 서열	
설명	서열
hu.Ab5.H13 말단 리신 변이체 중쇄 (서열번호 111)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDLSYAMGWVRQAPGKGLEWVGLIHRSGRTY YATWAKGRFTISKDSSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRSPDYSATASIWGQGITVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
hu.Ab4.H12 말단 리신 변이체 중쇄 (서열번호 112)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSNYAMIVWRQAPGKGLEWVSTISLGGYTY YANWAKGRFTISRDSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYTAFPDWGP GTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
Afuc.hu.Ab5.H13.G236A.I332E 말단 리신 변이체 중쇄 (서열번호 113)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDLSYAMGWVRQAPGKGLEWVGLIHRSGRTY YATWAKGRFTISKDSSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRSPDYSATASIWGQGITVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCP APELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
Afuc.hu.Ab4.H12.G236A.I332E 말단 리신 변이체 중쇄 (서열번호 114)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSNYAMIVWRQAPGKGLEWVSTISLGGYTY YANWAKGRFTISRDSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARARWSTDSAIYTAFPDWGP GTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHT CPPCPAPELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPEEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0653]

hu.Ab1.H1L1 말단 리신 변이체 중쇄 (서열번호 115)	EQQLVESAGGLVQPGGSLRLSCAASGDFSSNYMCMVVRQAPGKLEWIGCIHISVT NTWYASWATGRFTISKDTSSITVYLQMISLKTEDTAVYFCTRVGNSDYRYFNLWGP LTVVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
hu.Ab2.H1L1 말단 리신 변이체 중쇄 (서열번호 116)	EQQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFSYGYDMCVVRQAPGKLEWIAICISAGSSD NTWYASWATGRFTISKDTSSITVYLQMNSLRAEDTAVYFCSRYLGLWGPGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LQSSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
hu.Ab3.H1L1 말단 리신 변이체 중쇄 (서열번호 117)	EQQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYAMSVWRQAPGKLEWIGVISAGRII YATWAKGRFTISKDSAKTSVYLQMNSLRDEDTAVYFCARGVPSYSLVMSDWGPGTITVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0654]

- [0655] 실시예 10. 시노에서 시험 항-CCR8 mAb의 혈청 농도 및 ADA항-CCR8 항체 Afuc.hu.Ab5.H13L1, Afuc.hu.Ab4.H12L3 및 대조군 항-gD를 본 연구에 사용하였다. 3개의 투여군 각각에 3마리의 수컷 시노물구스 원숭이가 있었다 - 대조군: 1001, 1002, 1003으로 지정됨; Afuc.hu.Ab5.H13L1: 2001, 2002, 2003으로 지정됨; 및 Afuc.hu.Ab4.H12L3: 3001, 3002, 3003으로 지정됨. 각각에 항-gD 또는 시험 항-CCR8 mAb의 단일 10 mg/kg IV

볼루스를 제공하였다. 분석을 위한 혈액 샘플을 투여 후 0.25, 2 및 6시간; 1, 2, 7, 14, 21, 28 및 35일에 수집하고, 혈청을 인증된 ELISA 분석 방법을 사용하여 항-gD(대조군) 및 항-CCR8 항체의 농도에 대해 분석하였다. 검정의 정량 하한(LLOQ)은 0.015625 µg/mL이었다. PK 매개변수는 IV 볼루스 투여와 일치하는 비구획 분석을 사용하여 피닉스(Phoenix) 1.4(윈논린(WinNonlin) 약동학 소프트웨어 버전 6.4)(세르타라(Certara), 미국)를 사용하여 추정하였다. 항-약물 항체(ADA) 분석을 위한 혈액 샘플을 투여전 및 1, 8, 15, 22, 29 및 36일차에 수집하고, 혈청을 검정된 ELISA 검정을 사용하여 시험 항목에 대한 항체에 대해 분석하였다.

[0656] 단일 10 mg/kg IV 용량을 투여한 후 시노물구스 원숭이에서 항-gD, **Afuc.hu.Ab5.H13L1** 또는 **Afuc.hu.Ab4.H12L3**의 혈청 농도 프로파일을 도 21에 나타내었다. 전신 노출은 3.96 ± 0.412 mL/일/kg 및 4.38 ± 0.291 mL/일/kg의 각각의 평균 청소율로 35일 투약 후 기간에 걸쳐 지속적인 혈청 농도 수준을 나타내는 항-gD 및 **Afuc.hu.Ab5.H13L1** 군 간에 필적하는 것으로 나타났다. 이와 대조적으로, **Afuc.hu.Ab4.H12L3**은 동일한 35일 투여 후 기간에 비해 더 낮은 노출을 나타내었으며, 평균 청소율은 9.00 ± 1.01 mL/일/kg이었다. **Afuc.hu.Ab5.H13L1**에 의해 나타나는 바와 같이, 더 느린 청소율로 더 긴 기간에 걸쳐 혈청 농도 수준을 유지하는 것은 더 지속적인 표적 참여를 이끌어내어 더 양호한 항암 활성 및 덜 빈번한 투여로 바뀔 수 있을 것으로 예상된다.

[0657] 항-gD 및 **Afuc.hu.Ab5.H13L1** 군과 비교하여 **Afuc.hu.Ab4.H12L3**에서 관찰된 전신 노출의 차이는 나중에 **Afuc.hu.Ab4.H12L3** 처리군에서 항-약물 항체(ADA)의 존재에 의해 부분적으로 설명될 수 있다. 예를 들어, 항-gD가 투여된 동물 1001, 1002 및 1003은 ADA의 존재에 대해 음성이었다. **Afuc.hu.Ab5.H13L1**의 투여 후, 동물 2001은 ADA-양성이었지만, ADA의 존재는 ADA-음성이었던 다른 2개의 **Afuc.hu.Ab5.H13L1** 투약 동물(번호 2002 및 2003)과 비교할 때 노출에 영향을 미치지 않는 것으로 보였다. **Afuc.hu.Ab4.H12L3**의 투여 후, 동물 3002 및 3003은 ADA-양성인 것으로 밝혀졌고, ADA의 존재는 ADA-음성 동물 3001과 비교할 때 전신 노출에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

[0658] 실시예 11. 시노에서 CCR8+ T-reg 세포의 모니터링 수준

[0659] 항-CCR8 항체 **Afuc.hu.Ab5.H13L1**, **Afuc.hu.Ab4.H12L3** 및 대조군 항-gD를 본 연구에 사용하였다. 3개의 투여군 각각에 3마리의 수컷 시노물구스 원숭이가 있었다 - 대조군: 1001, 1002, 1003으로 지정됨; **Afuc.hu.Ab5.H13L1** 군 2: 2001, 2002, 2003으로 지정됨; 및 **Afuc.hu.Ab4.H12L3** 군 3: 3001, 3002, 3003으로 지정됨. 1일차에 투약 전("예비-연구") 뿐만 아니라 1일차에 0시간("예비-투여") 동안 각각의 동물로부터 혈액을 수집하였다. 이어서, 각각의 동물에게 정맥내 주사를 통해 10 mg/kg의 비푸코실화된 항-gD(대조군), **Afuc.hu.Ab5.H13L1**(군 2) 또는 **Afuc.hu.Ab4.H12L3**(군 3)의 단일 용량을 투여하였다. 시험 CCR8 mAb의 초기 용량을 함유하는 혈액을 1일차에 시작하여 투여후 다음 시점에서: 6, 24, 48, 168, 336, 504, 668 및 840 시간에 수집하고, 유세포 분석 전에 하기의 처리를 실시하였다: (i) 시험 CCR8 mAb("첨가 없음")를 첨가하지 않은 혈액 샘플, (ii) **Afuc.hu.Ab5.H13L1**의 포화 농도를 추가로 첨가한 혈액 샘플 및 (iii) **Afuc.hu.Ab4.H12L3**의 포화 농도를 추가로 첨가한 혈액 샘플. 이어서, 첨가되지 않은 샘플 및 첨가된 샘플 각각을 시험 항-CCR8 mAb의 시노CCR8에 대한 결합을 검출하는 표지된 염소 항-인간 IgG 항체로 처리하고, 유동 세포측정법에 의해 분석하였다.

[0660] 표현형 마커 항원에 대한 특이적 항체를 사용하여 T 세포 아단위를 식별하였다. 구체적으로, T 조절(T-reg) 세포를 CD3+CD4+Foxp3+ 세포로 식별하였다. 약물 결합된 CCR8+ T-reg 세포는 첨가되지 않은 혈액 샘플을 사용하여 식별하였다.

[0661] 첨가되지 않은 샘플에서 관찰되는 바와 같이, 시험 항-CCR8 mAb 둘 모두는 투약 후 최대 840시간 동안 전혈에서 총 T-reg 세포 절대 수를 실질적으로 감소시키지 않았다. 도 22a-도 22c를 참조한다. 시험 항-CCR8 mAb 둘 모두는 총 투약 후 최대 840시간 동안 전혈에서 총 림프구 수를 실질적으로 감소시키지 않았다(데이터는 제시되지 않음).

[0662] 상기 기재된 바와 같이, **Afuc.hu.Ab5.H13L1** 및 **Afuc.hu.Ab4.H12L3** 둘 모두는 CCR8에 결합하고, **Afuc.hu.Ab4.H12L3** 및 **Afuc.hu.Ab5.H13L1**은 둘 모두 서로 비-경쟁적 CCR8 결합제로 작용하고, **Afuc.hu.Ab4.H12L3**은 인간 및 시노 CCR8에 대해 약간 더 높은 친화성을 갖는다. 예를 들어, 도 16a-도 16b, 및 표 G3에 제공된 친화도 Kd(nM) 데이터를 참조한다. **Afuc.hu.Ab4.H12L3**은 또한 나중의 시점에서 ADA 형성에 대한 증가된 경향을 갖는다. 실시예 10을 참조한다.

[0663] 도 23a-도 23c에서 알 수 있는 바와 같이, 초기에 대조군(군 1)으로 처리된 시노의 첨가되지 않은 혈액에 대한 유동 세포 분석은 총 CCR8+ T-reg 세포의 조절을 나타내지 않았다. 또한, 첨가되지 않은 혈액(즉, 초기에 대조

군으로 처리된 혈액(군 1), 그 후 Afuc.hu.Ab5.H13L1의 포화 농도로 첨가된 혈액 또는 초기에 대조군으로 처리된 혈액(군 1), 그 후 Afuc.hu.Ab4.H12L3의 포화 농도로 첨가된 혈액)의 유동 세포측정은 또한 총 CCR8+ T-reg 세포 수에 매우 적은 영향을 미쳤다. 상대 백분율은 각각의 시험 항-CCR8 mAb에 의해 검출된 바와 같은 CCR8+ T-reg 세포의 백분율을 지칭한다. Afuc.hu.Ab4.H12L3은 Afuc.hu.Ab5.H13L1에 비해 약간 더 높은 친화도를 갖기 때문에, 첨가된 Afuc.hu.Ab4.H12L3 샘플의 상대적 백분율은 더 높은 검출 백분율을 갖는다.

[0664] 군 3에 관하여, 도 23d-도 23f에서 알 수 있는 바와 같이, 3마리 동물 각각에서, (i) 초기에 Afuc.hu.Ab4.H12L3으로 처리된 혈액("첨가 없음"), (ii) 초기에 Afuc.hu.Ab4.H12L3으로 처리된 후 Afuc.hu.Ab5.H13L1로 첨가된 혈액, 또는 (iii) 초기에 Afuc.hu.Ab4.H12L3으로 처리된 후 Afuc.hu.Ab4.H12L3으로 첨가된 혈액의 유동 세포측정법은 투여 후 168시간까지 CCR8+ T-reg 세포에서 감소를 입증하였다. CCR8+ Treg 세포 빈도의 부분적 회복은 투여 후 336시간에서 시작하여 동물 중 2마리에서 관찰되었으며, 이는 아마도 Afuc.hu.Ab4.H12L3에 대한 ADA의 증가된 존재 때문일 수 있다.

[0665] 군 2에 관하여, 도 23g-도 23i에서 알 수 있는 바와 같이, (i) 초기에 Afuc.hu.Ab5.H13L1으로 처리된 혈액("첨가 없음"), (ii) 초기에 Afuc.hu.Ab5.H13L1으로 처리된 후 Afuc.hu.Ab5.H13L1의 포화 농도로 첨가된 혈액, 또는 (iii) 초기에 Afuc.hu.Ab5.H13L1으로 처리된 후 Afuc.hu.Ab4.H12L3의 포화 농도로 첨가된 혈액의 유동 세포 측정법은 동물 2002 및 2003에서 CCR8+ T-reg 세포의 감소를 입증하였다.

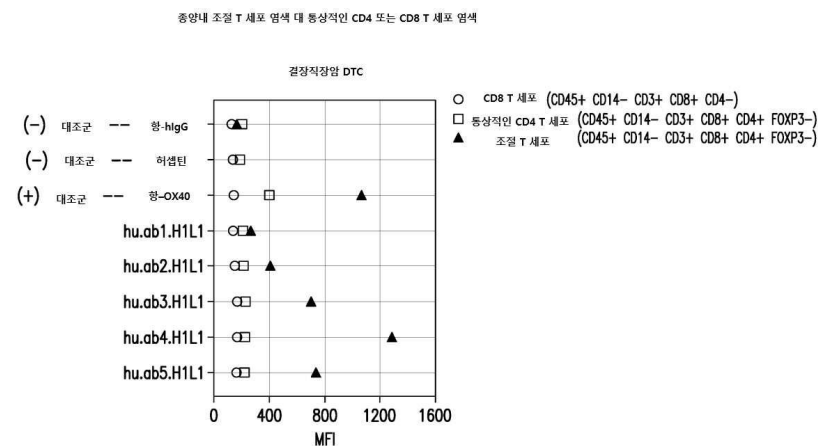
[0666] 군 2 및 군 3의 동물 모두가 전체 Treg 세포 수에 거의 또는 전혀 영향을 미치지 않는 것으로 입증되었으나(도 22a-도 22c), 투여 후 첨가되거나 첨가되지 않은 말초 혈액 CCR8+ T-reg 세포의 수가 감소한 것으로 입증되었으며(도 23d-도 23i), 이는 제안된 작용 기전과 일치한다(도 2a).

[0667] 기타 구현예들

[0668] 비록 전술된 개시가 이해의 명료함을 위해 예시와 실례에 의하여 일부 상세하게 설명되긴 했지만, 이들 설명과 실례는 본원 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 본원에 인용된 모든 특허 및 과학 문헌의 내용은 그 전체가 원용된다.

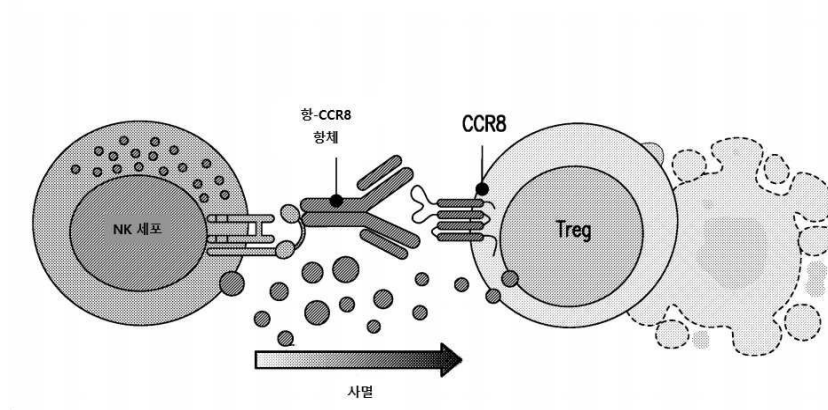
도면

도면1



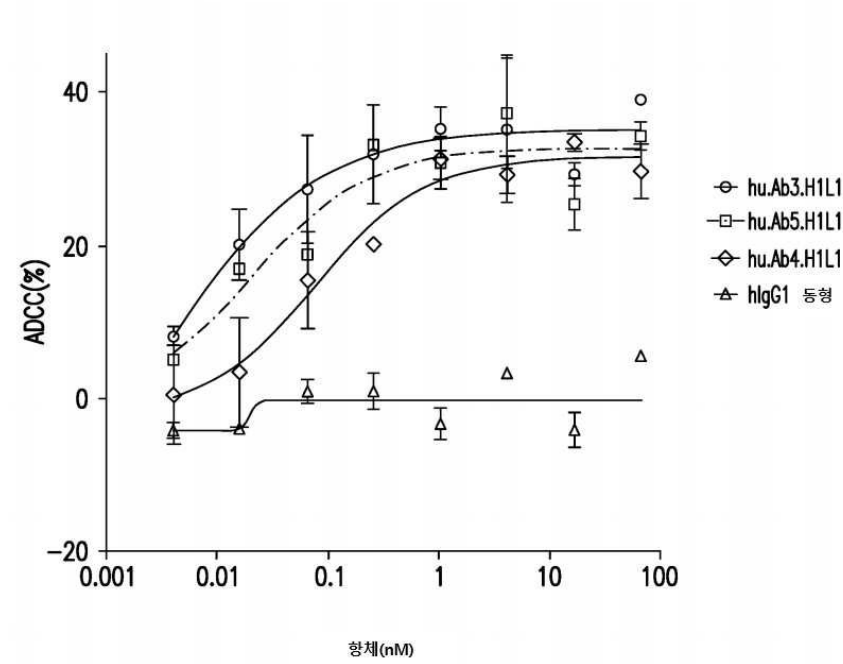
도면2a

NK-매개 항체 의존성 세포독성(ADCC) 작용 메커니즘

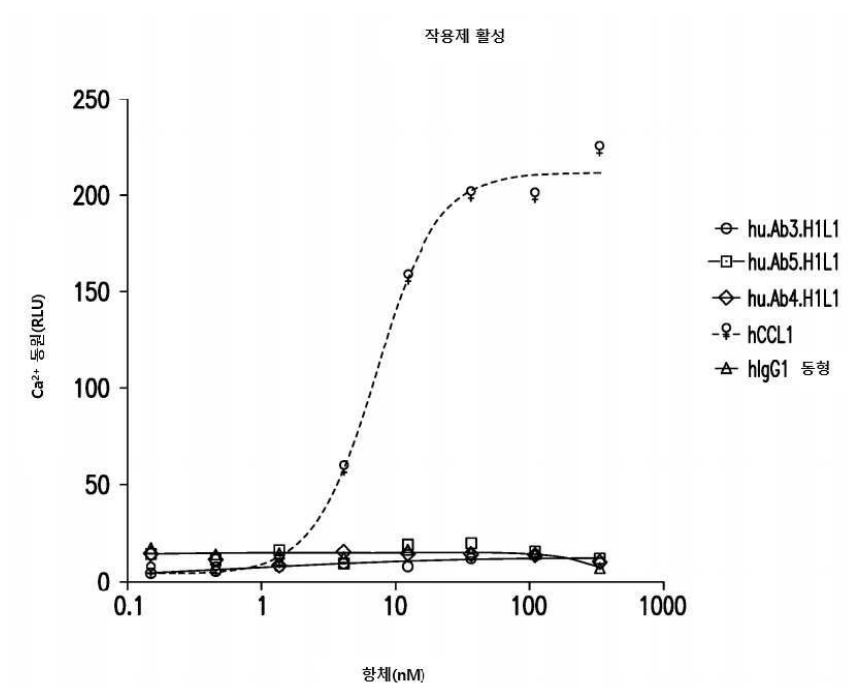


도면2b

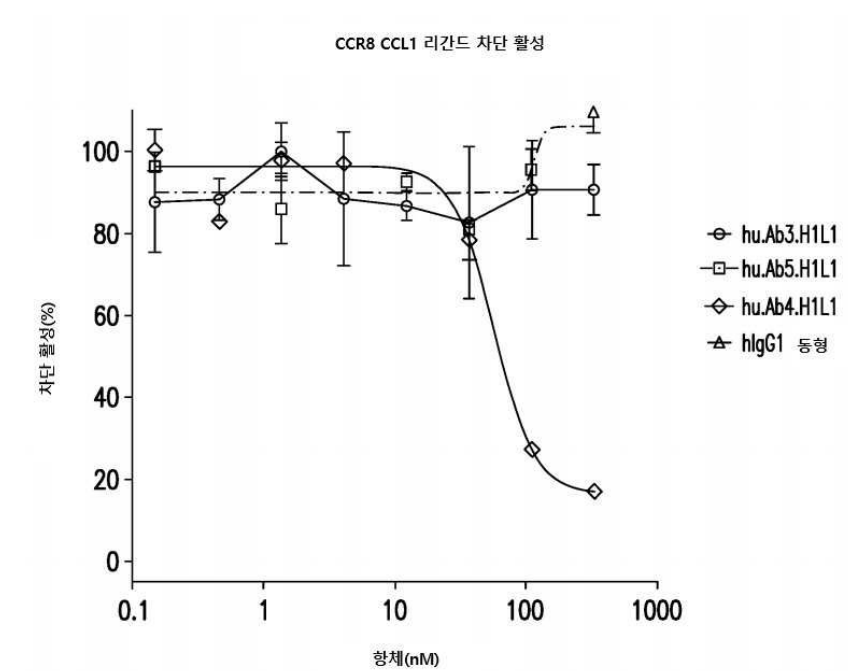
항체-의존성 세포독성(ADCC)



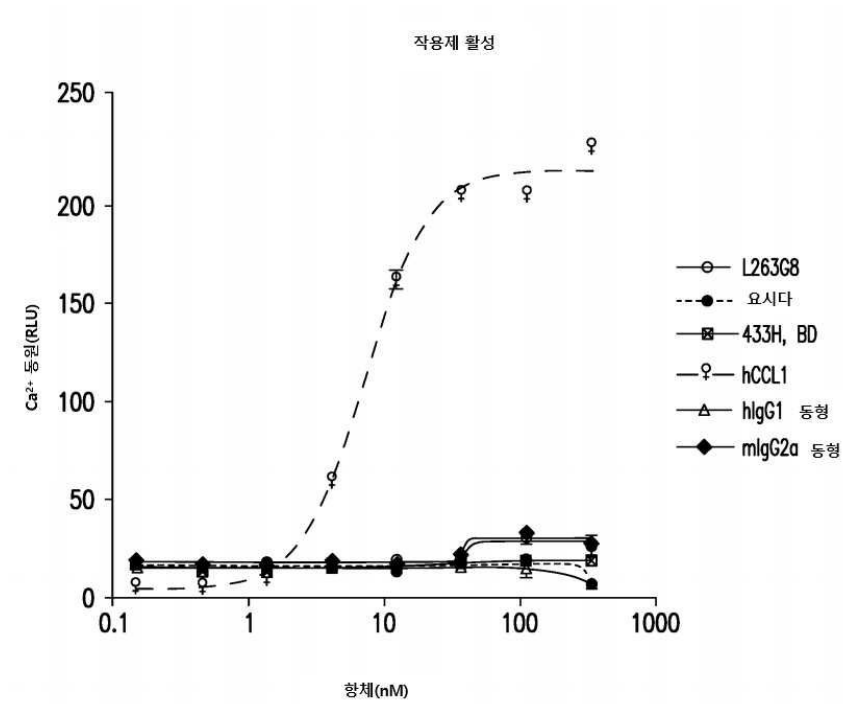
도면3a



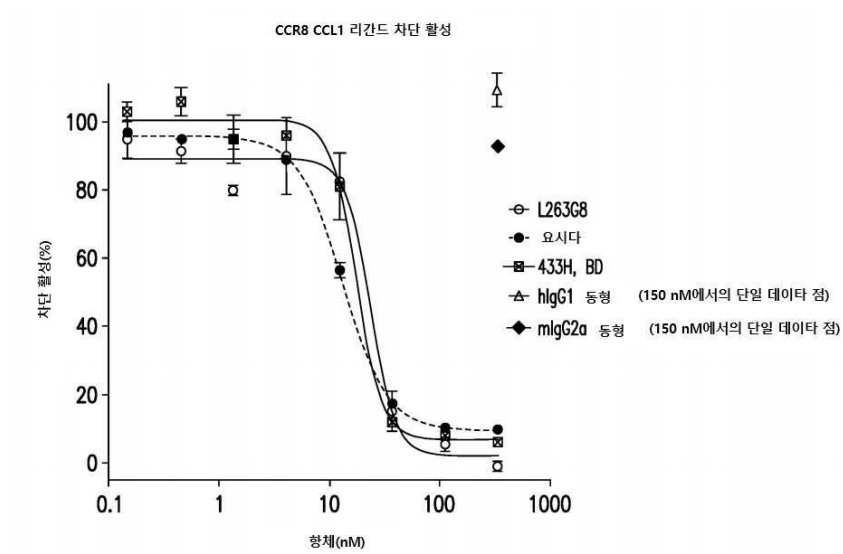
도면3b



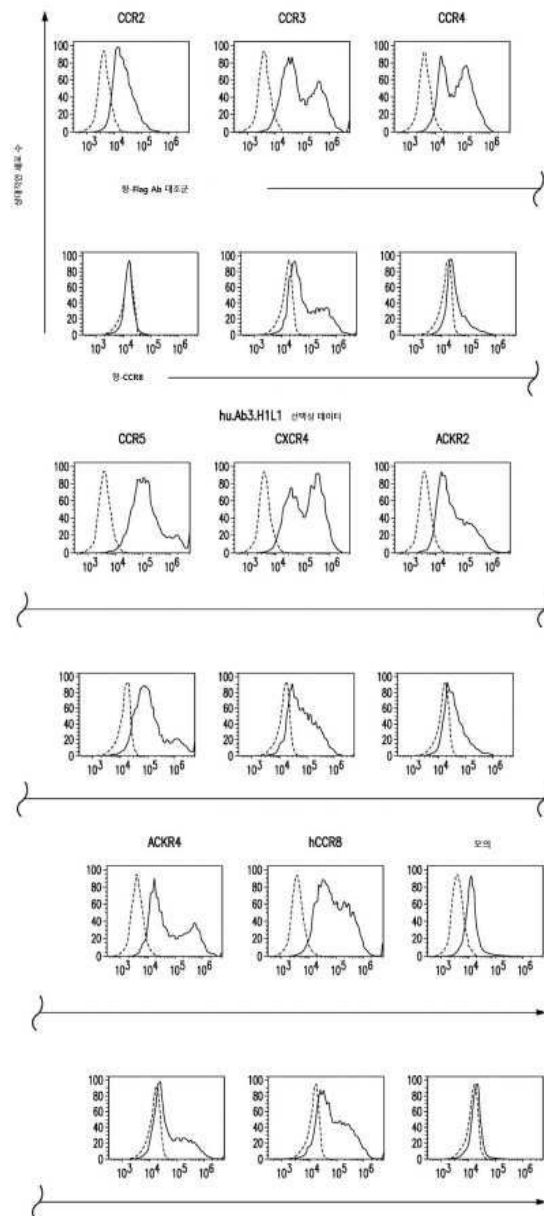
도면3c



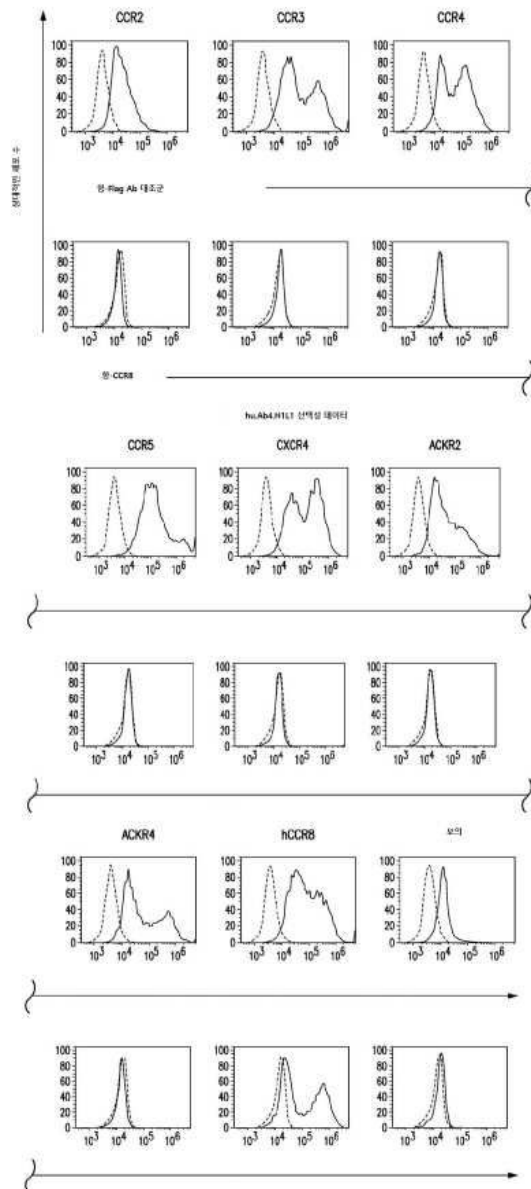
도면3d



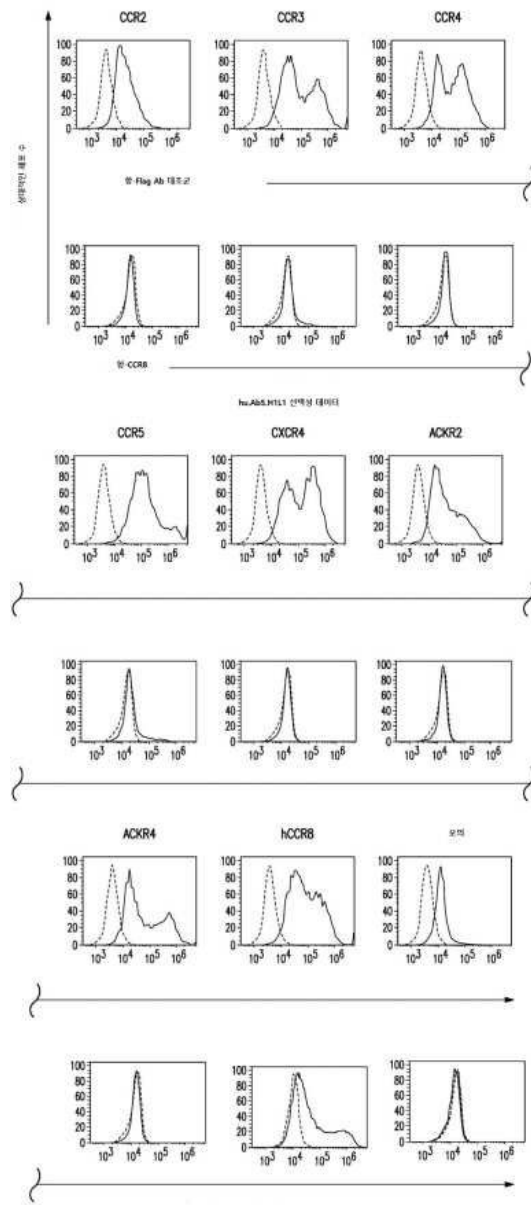
도면4a



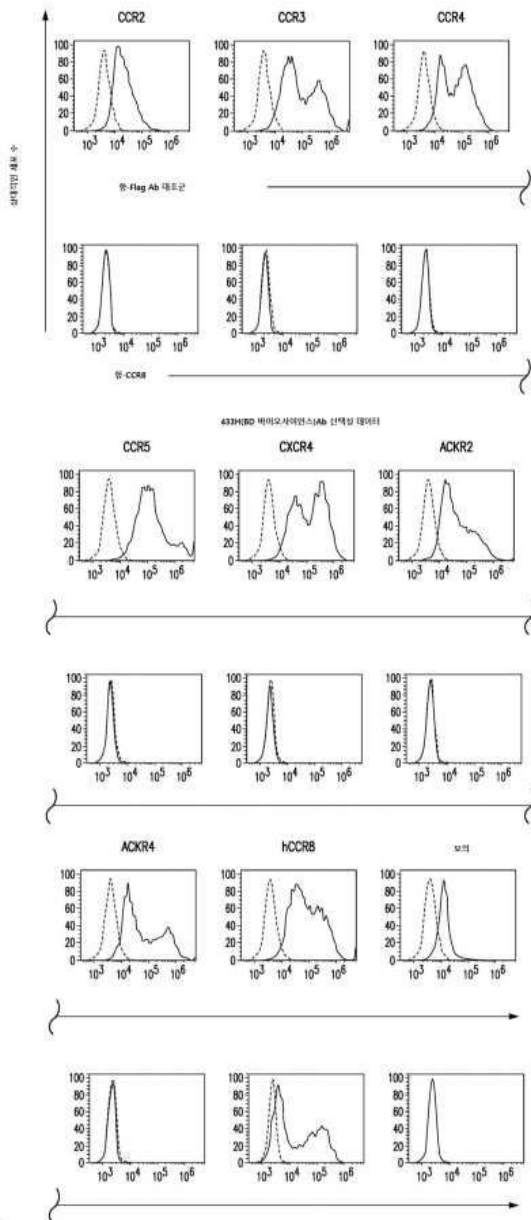
도면4b



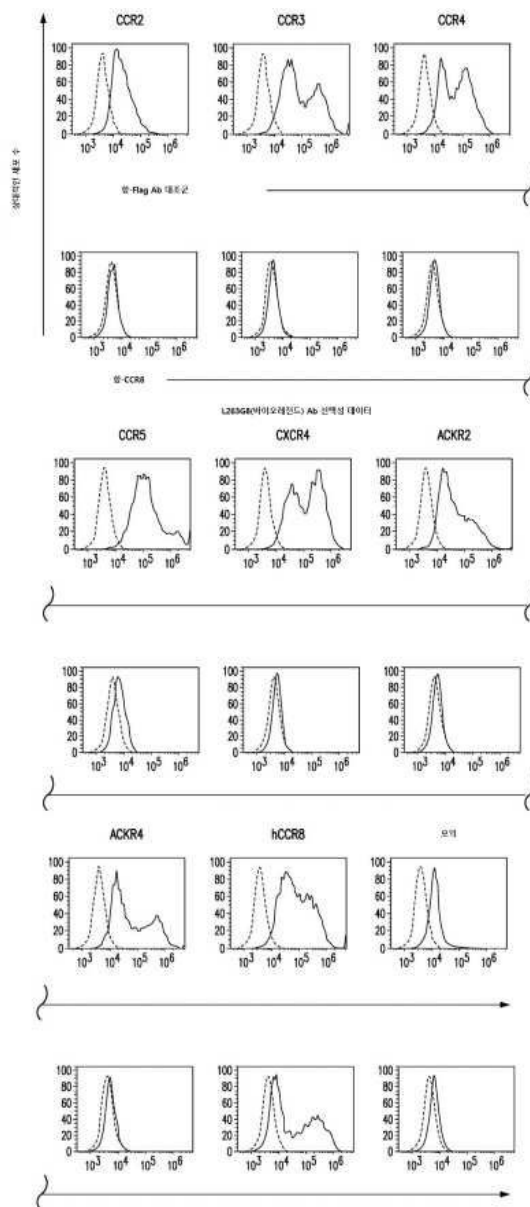
도면4c



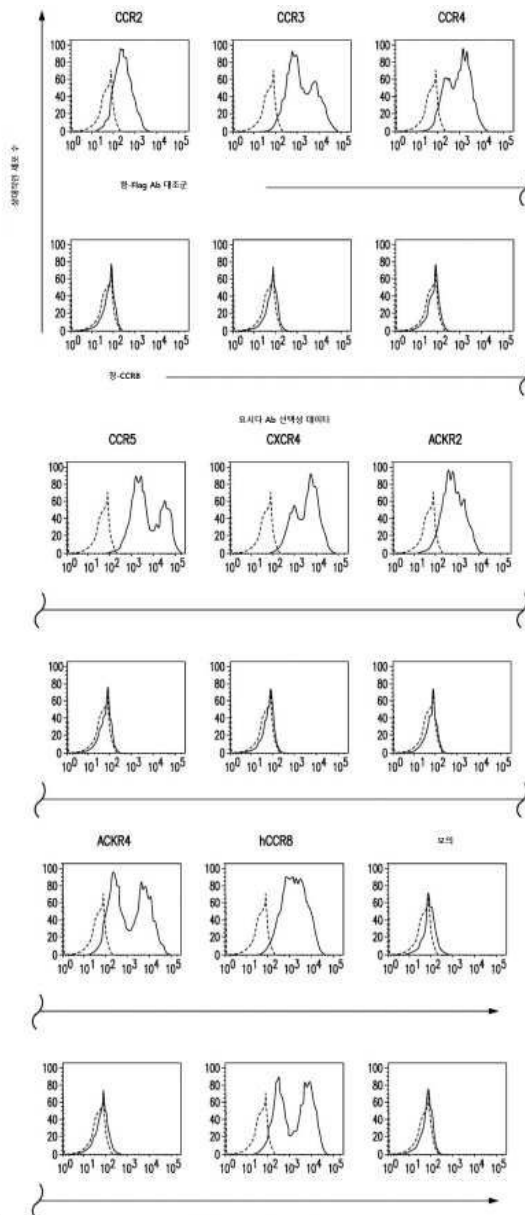
도면4d



도면4e



도면4f



도면5a

결핵 기변 영역(Ab4)

도면5b

중쇄 가변 영역(Ab4)

CDR H1—**보색**

CDR H1—**코리어**

CDR H1—**가이드**

카타 번트

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
rb.Ab4	S	V	F	E	G	G	R	L	V	T	P	G	T	P	L	T	L	T	C	T	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G				
hu.Ab4.H1	Q	Q	L	L	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R	L	S	C	A	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G				
hu.Ab4.H2	E	V	Q	L	L	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R	L	S	C	A	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G			
hu.Ab4.H3	Q	Q	L	L	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R	L	S	C	A	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G				
hu.Ab4.H4	Q	Q	L	L	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R	L	S	C	A	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G				
hu.Ab4.H5	Q	Q	L	L	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R	L	S	C	A	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G				
hu.Ab4.H6	E	V	Q	L	L	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R	L	S	C	A	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G			
hu.Ab4.H7	E	V	Q	L	L	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R	L	S	C	A	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G			
hu.Ab4.H8	E	V	Q	L	L	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R	L	S	C	A	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G			
hu.Ab4.H9	E	V	Q	L	L	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R	L	S	C	A	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G			
hu.Ab4.H10	E	V	Q	L	L	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R	L	S	C	A	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G			
hu.Ab4.H11	E	V	Q	L	L	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R	L	S	C	A	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G			
hu.Ab4.H12	E	V	Q	L	L	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R	L	S	C	A	V	S	G	F	S	L	N	Y	A	M	I	W	V	R	Q	A	P	G			

도면5c

중쇄 가변 영역(Ab4), 계속

CDR H2— 콘텍

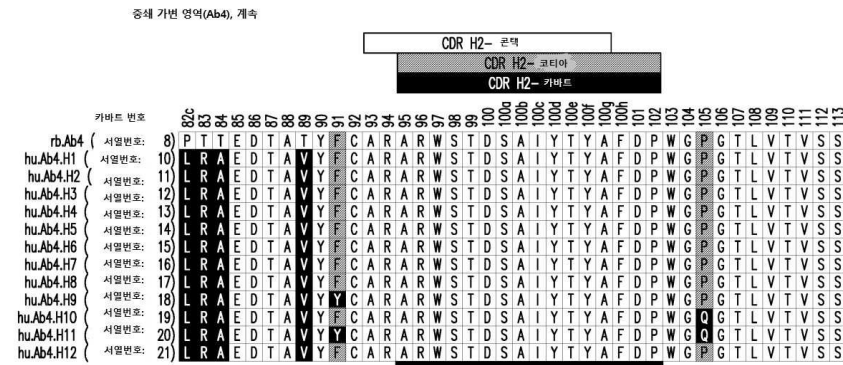
CDR H2— 코티아

CDR H2— 카바트

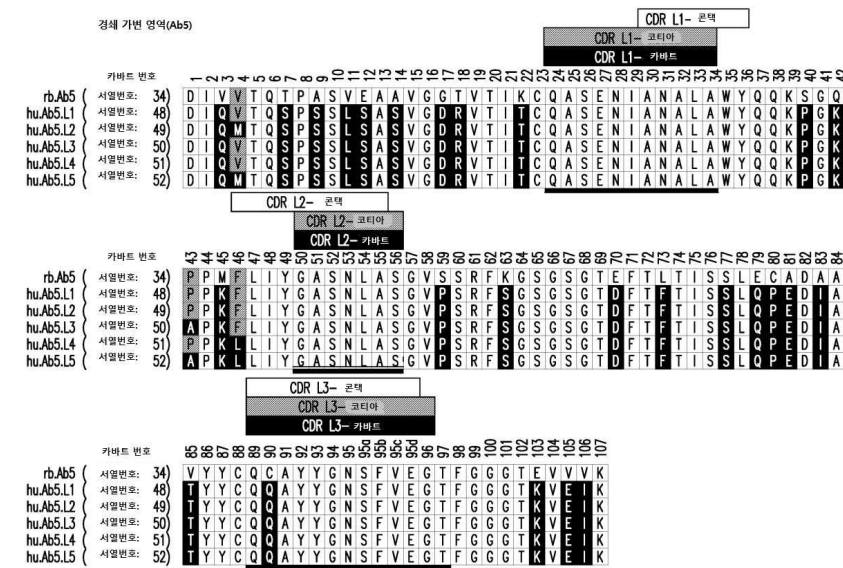
카바트 변소

rb.Ab4	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83
rb.Ab4	8)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	K	T	S												
hu.Ab4.H1	10)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	K	D	S	S	K	T	T	V	Y	L	Q	W	M	S	S
hu.Ab4.H2	11)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	K	D	S	S	K	T	T	V	Y	L	Q	W	M	S	S
hu.Ab4.H3	12)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	K	D	S	S	K	T	T	V	Y	L	Q	W	M	S	S
hu.Ab4.H4	13)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	K	D	S	S	K	T	T	V	Y	L	Q	W	M	S	S
hu.Ab4.H5	14)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	K	D	S	S	K	T	T	V	Y	L	Q	W	M	S	S
hu.Ab4.H6	15)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	K	D	S	S	K	T	T	V	Y	L	Q	W	M	S	S
hu.Ab4.H7	16)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	K	D	S	S	K	T	T	V	Y	L	Q	W	M	S	S
hu.Ab4.H8	17)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	K	D	S	S	K	T	T	V	Y	L	Q	W	M	S	S
hu.Ab4.H9	18)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	K	D	S	S	K	T	T	V	Y	L	Q	W	M	S	S
hu.Ab4.H10	19)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	K	D	S	S	K	T	T	V	Y	L	Q	W	M	S	S
hu.Ab4.H11	20)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	K	D	S	S	K	T	T	V	Y	L	Q	W	M	S	S
hu.Ab4.H12	21)	F	G	L	E	W	V	G	T	S	L	G	G	Y	T	Y	A	N	W	A	K	G	R	F	T	S	R	D	S	S	K	T	T	V	Y	L	Q	W	M	S	S

도면5d



도면6a



도면 6c

중쇄 가변 영역(Ab5), 계속

CDR H2- 콘텍

CDR H2- 코어어:

CDR H2- 카바트

카바트 번호

CDR H2- 카바트	CDR H2- 콘텍	CDR H2- 코어어	CDR H2- 카바트
43	K	G	L
44	G	L	E
45	L	E	W
46	W	E	I
47	I	E	G
48	G	L	H
49	H	L	R
50	R	H	S
51	S	R	H
52	H	S	R
53	R	H	S
54	S	R	H
55	H	S	R
56	R	H	S
57	S	R	H
58	H	S	R
59	R	H	S
60	S	R	H
61	H	S	R
62	R	H	S
63	S	R	H
64	H	S	R
65	R	H	S
66	S	R	H
67	H	S	R
68	R	H	S
69	S	R	H
70	H	S	R
71	R	H	S
72	S	R	H
73	H	S	R
74	R	H	S
75	S	R	H
76	H	S	R
77	R	H	S
78	S	R	H
79	H	S	R
80	R	H	S
81	S	R	H
82	H	S	R
83	R	H	S
84	S	R	H
85	H	S	R
86	R	H	S

rbA5.5 (서열번호: 33) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H1 (서열번호: 35) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H2 (서열번호: 36) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H3 (서열번호: 37) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H4 (서열번호: 38) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H5 (서열번호: 39) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H6 (서열번호: 40) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H7 (서열번호: 41) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H8 (서열번호: 42) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H9 (서열번호: 43) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H10 (서열번호: 44) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H11 (서열번호: 45) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H12 (서열번호: 46) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S
 hu.A5.5.H13 (서열번호: 47) K G L E W I G L I H R S G R T Y Y A T W A K G R F T I S K D S S K T T V Y L Q M N S

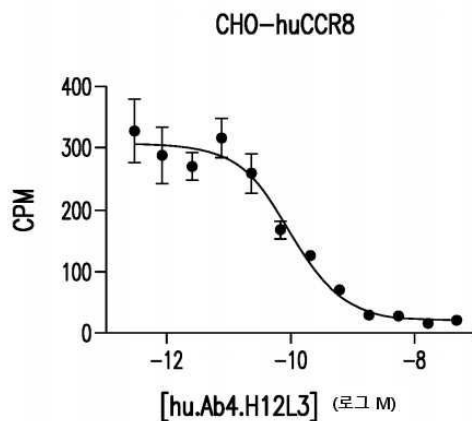
도면 6d

중쇄 가변 영역(Ab5), 계속

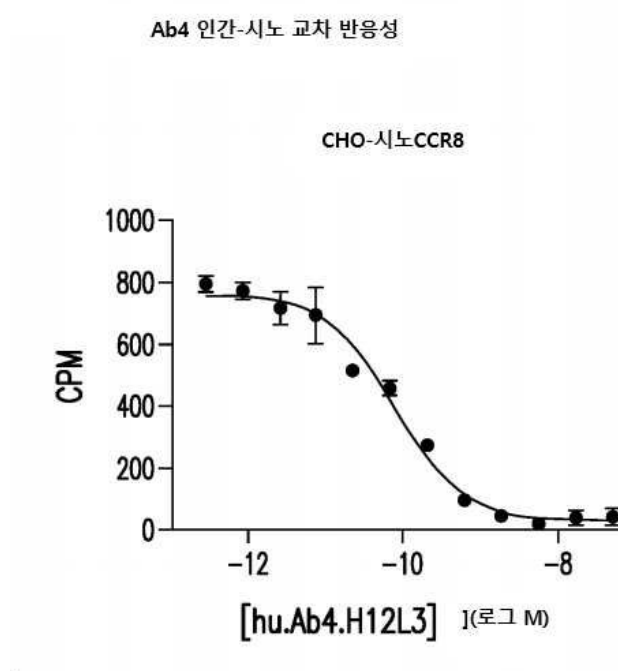
[illegible]

도면 7a

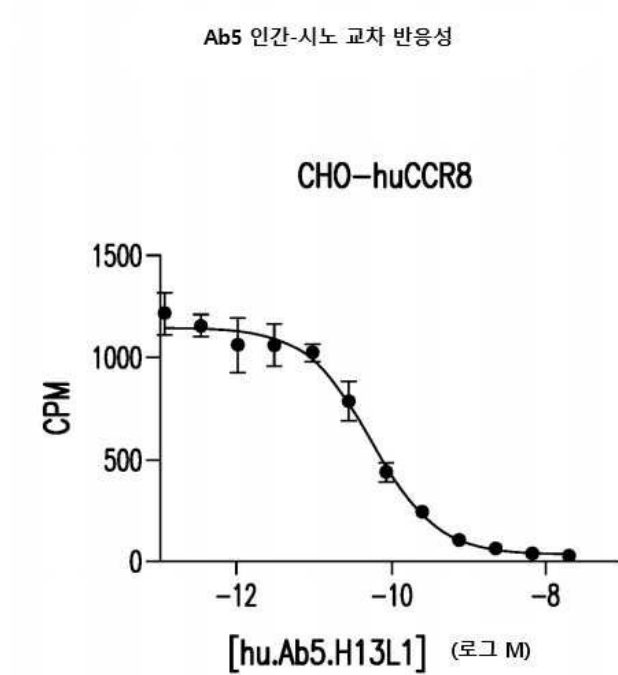
Ab4 인간-시노 교차 반응성



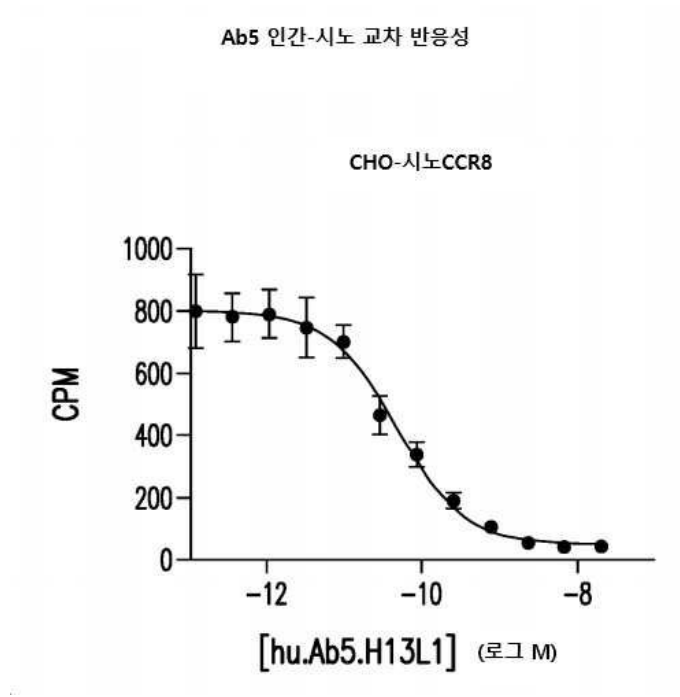
도면7b



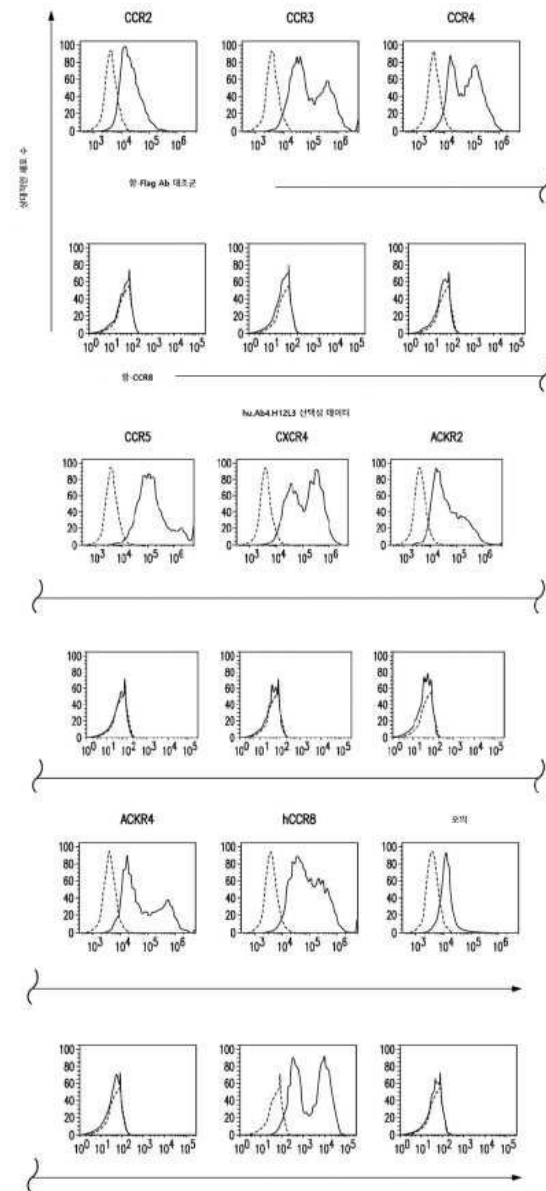
도면7c



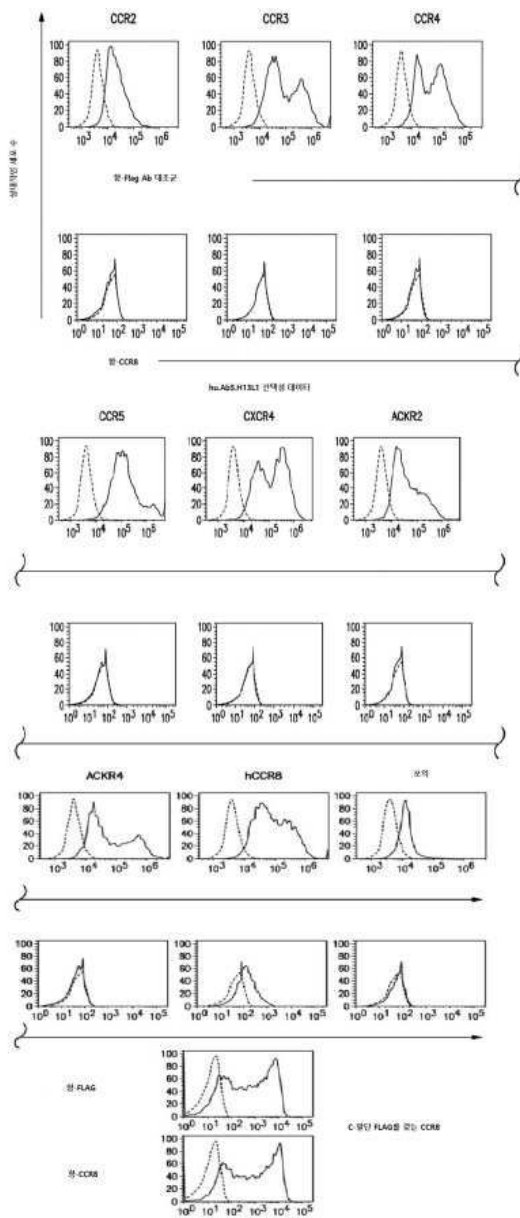
도면7d



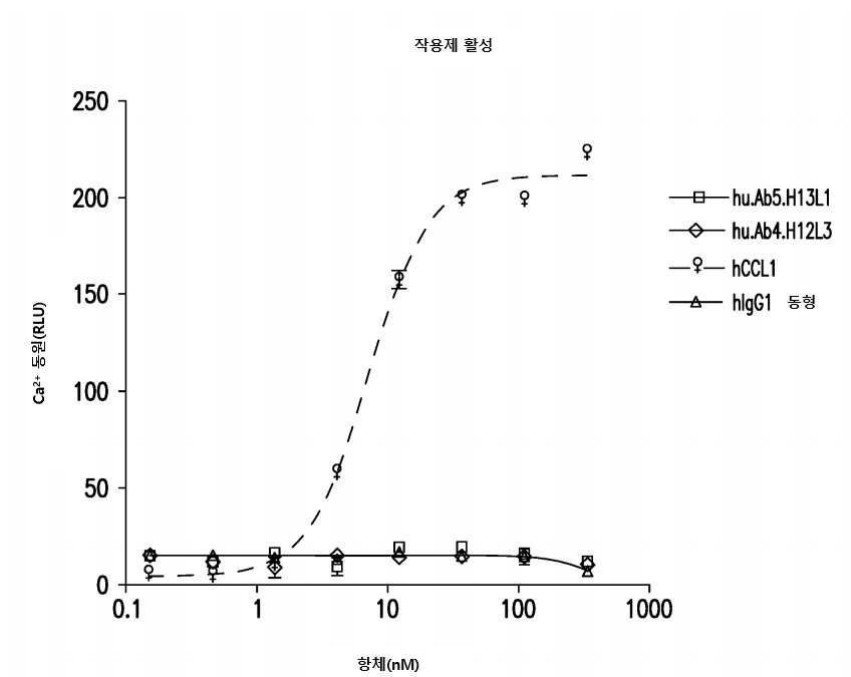
도면8a



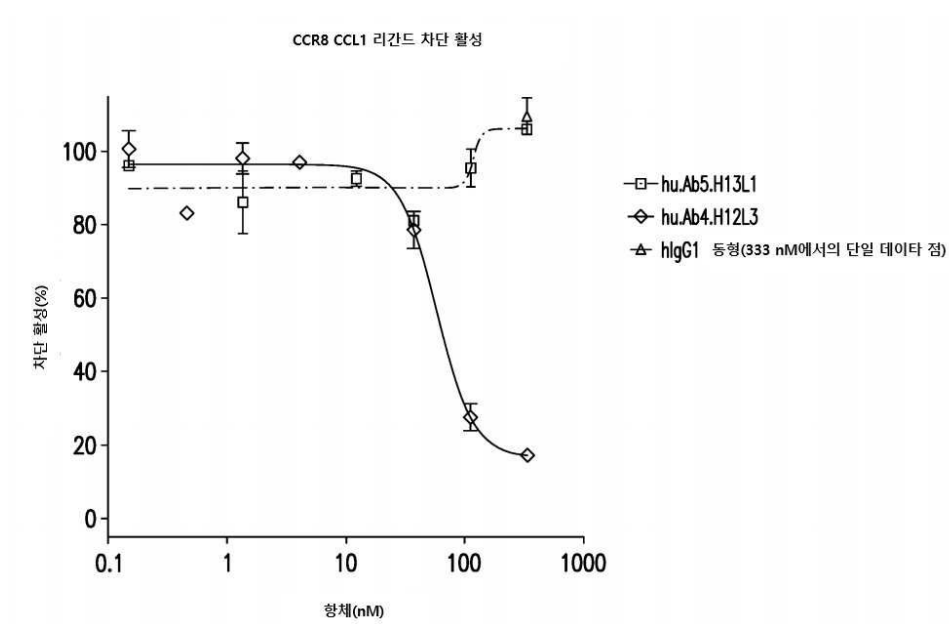
도면 8b



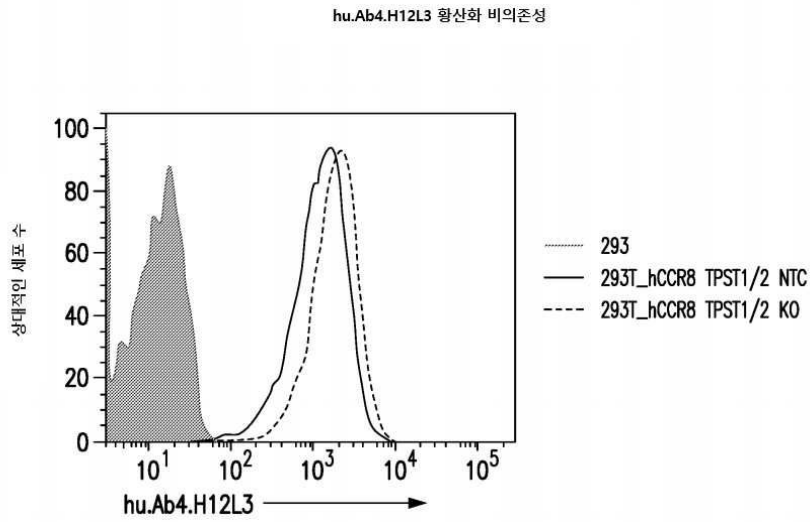
도면9a



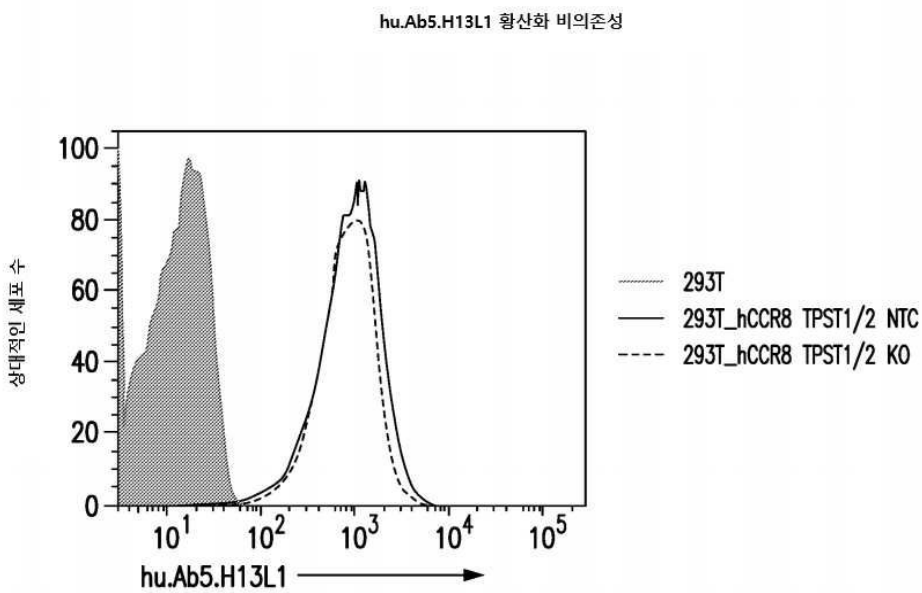
도면9b



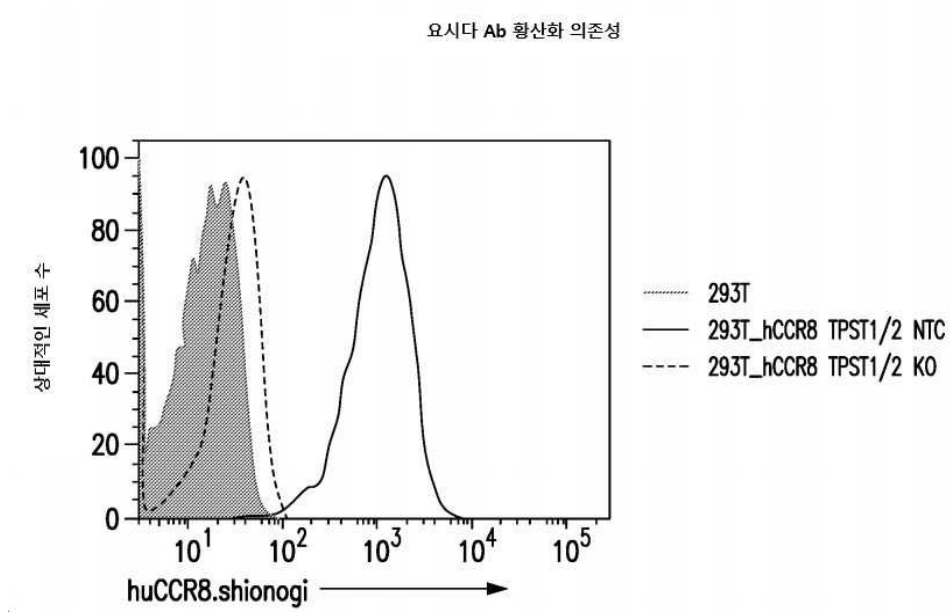
도면10a



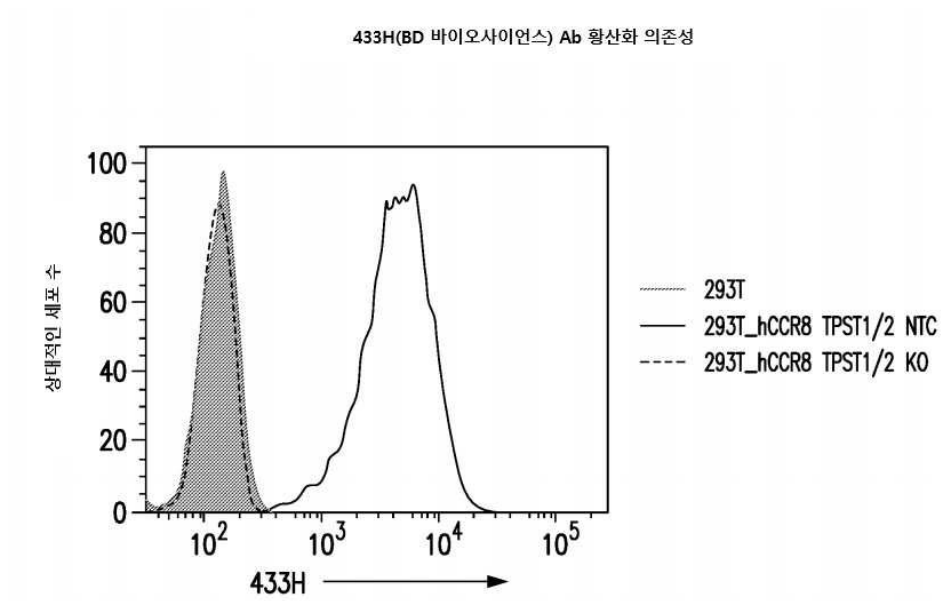
도면10b



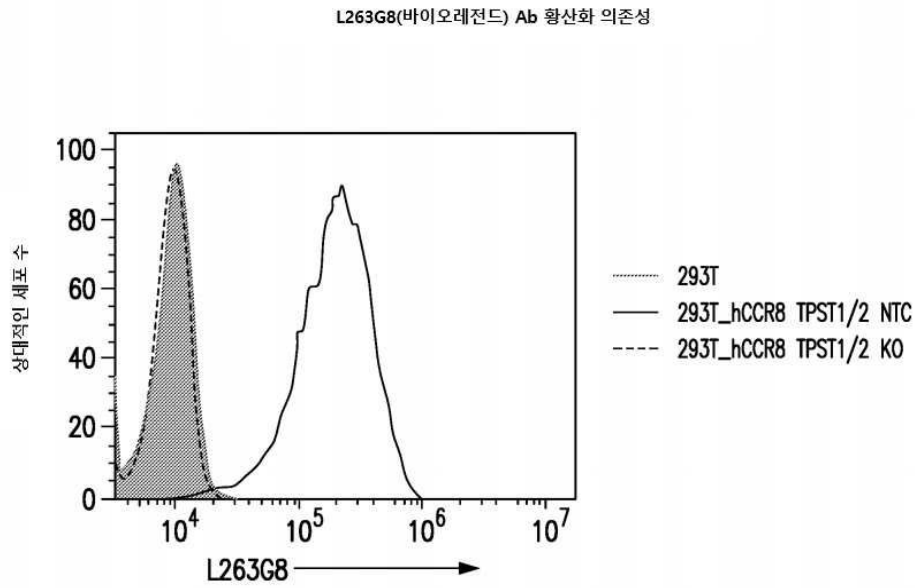
도면10c



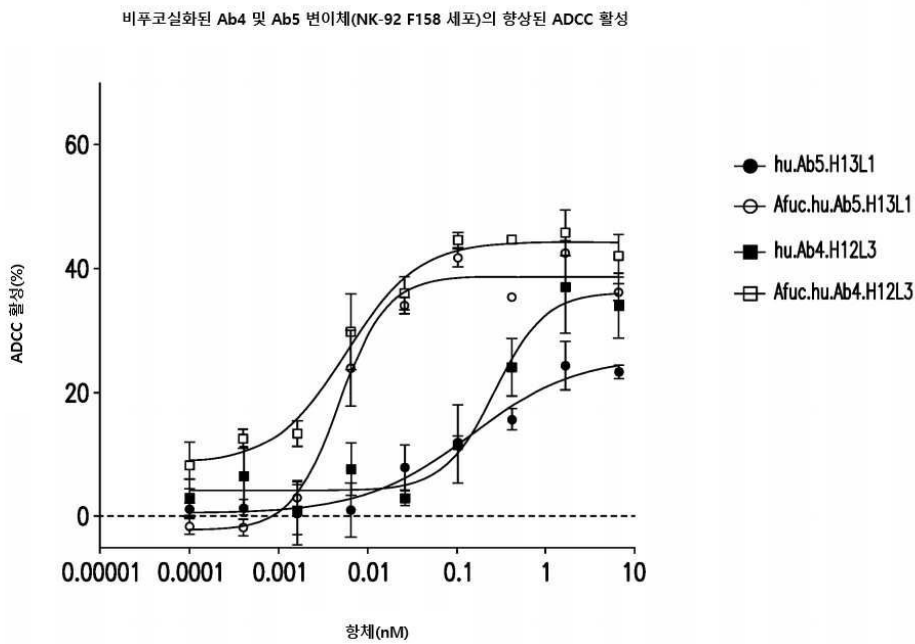
도면10d



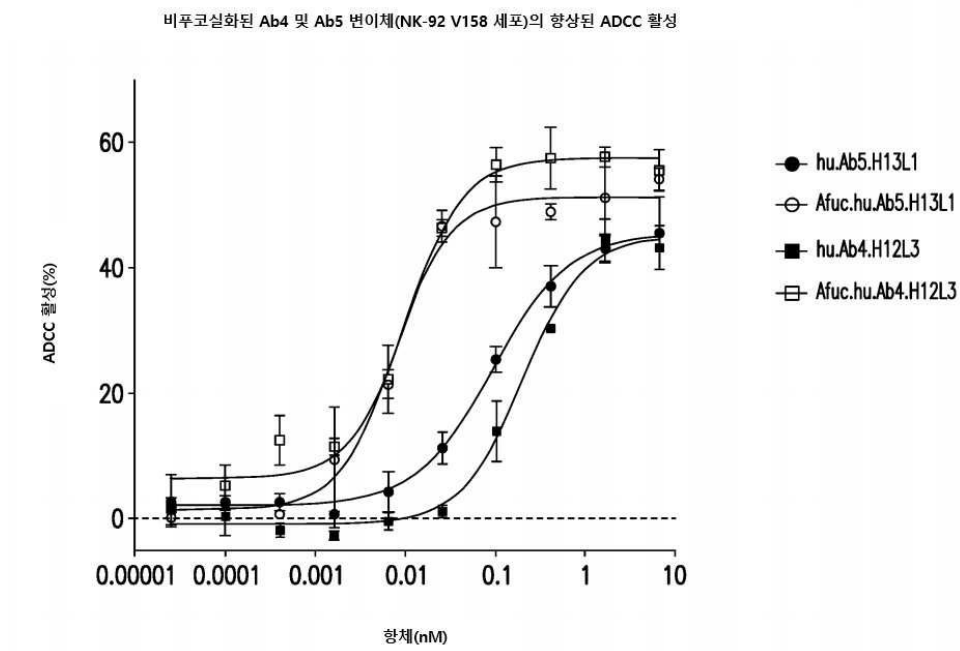
도면10e



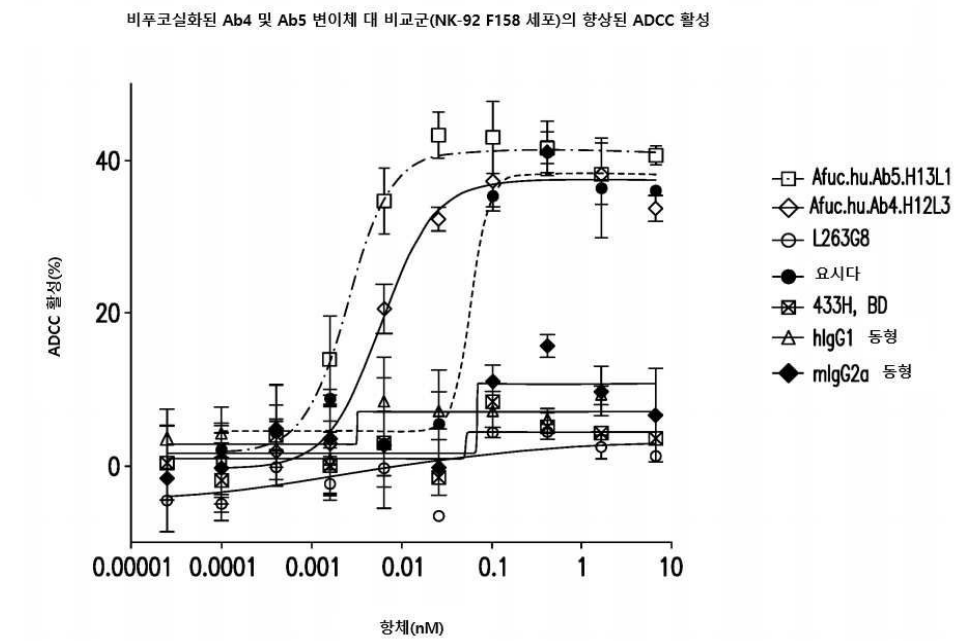
도면11a



도면11b

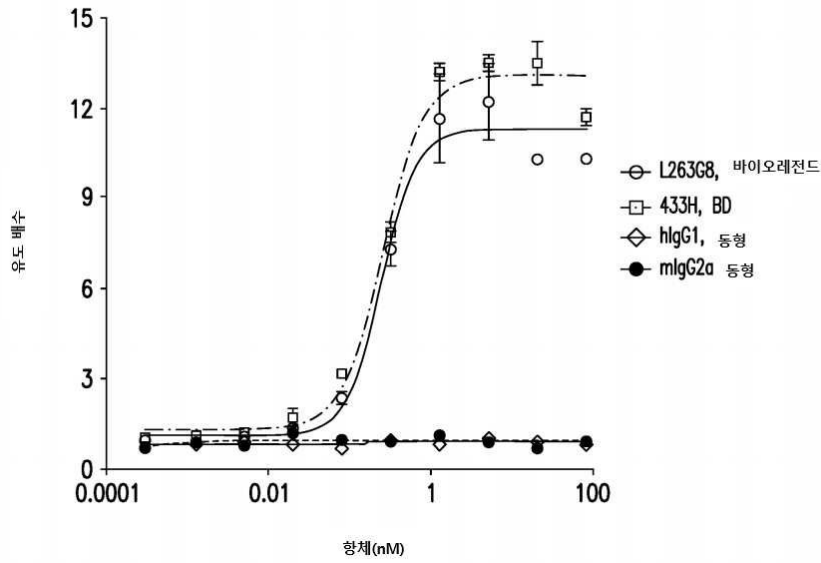


도면11c



도면11d

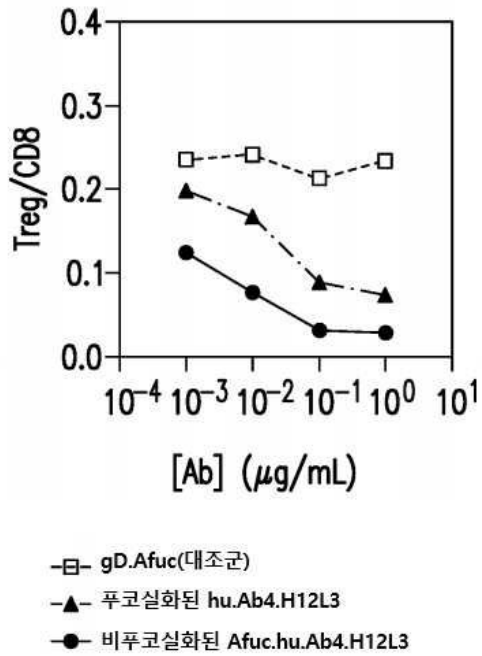
뮤린 검정에서 비교기 L263G8 및 433H의 ADCC 활성



도면12a

MLR-활성화된 인간 PBMC에서 Treg에 대한 ADCC 활성

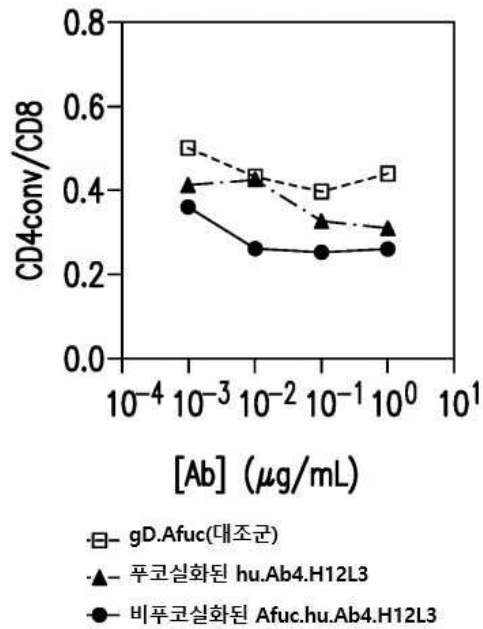
hu.Ab4.H12L3 푸코실화된 변이체 대 비푸코실화된 변이체



도면12b

MLR-활성화된 인간 PBMC에서 Treg에 대한 ADCC 활성

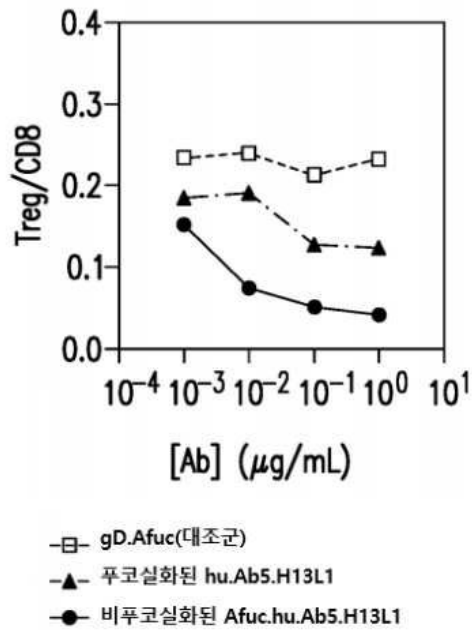
hu.Ab4.H12L3 푸코실화된 변이체 대 비푸코실화된 변이체



도면12c

MLR-활성화된 인간 PBMC에서 Treg에 대한 ADCC 활성

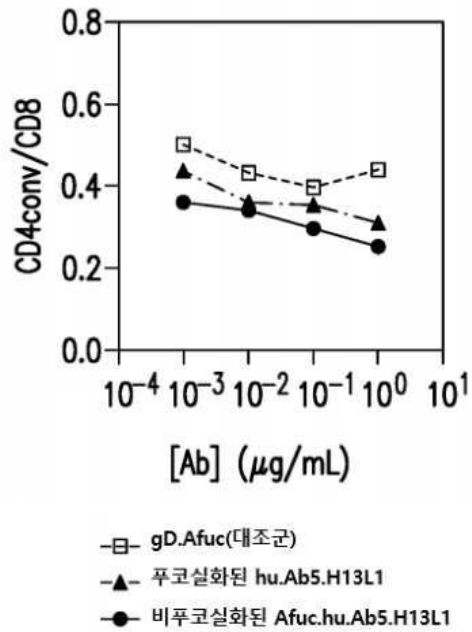
hu.Ab5.H13L1 푸코실화된 변이체 대 비푸코실화된 변이체



도면12d

MLR-활성화된 인간 PBMC에서 Treg에 대한 ADCC 활성

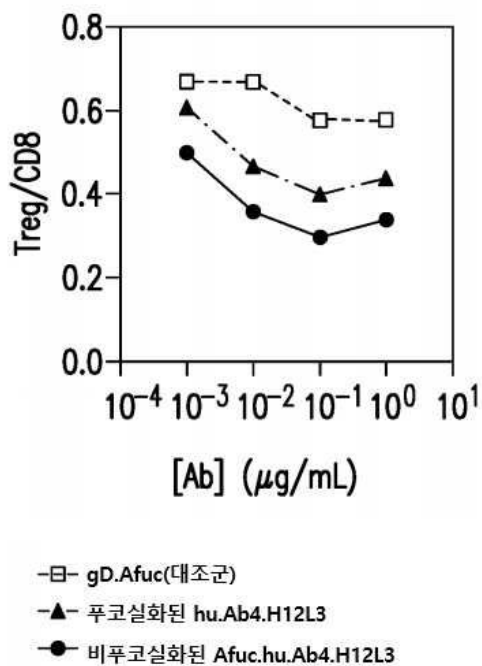
hu.Ab5.H13L1 푸코실화된 변이체 대 비푸코실화된 변이체



도면13a

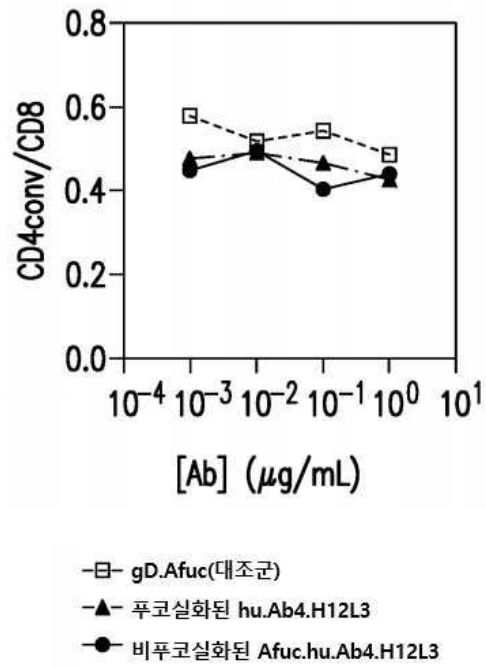
인간 RCC 세포에서 Treg에 대한 ADCC 활성

hu.Ab4.H12L3 푸코실화된 변이체 대 비푸코실화된 변이체



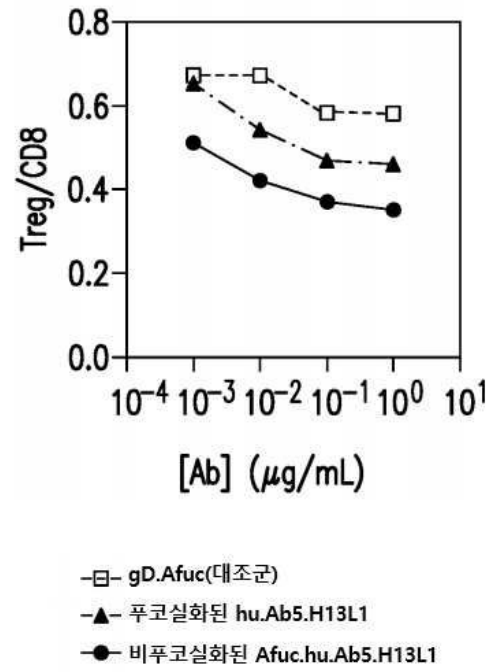
도면13b

인간 RCC 세포에서 Treg에 대한 ADCC 활성
hu.Ab4.H12L3 푸코실화된 변이체 대 비푸코실화된 변이체



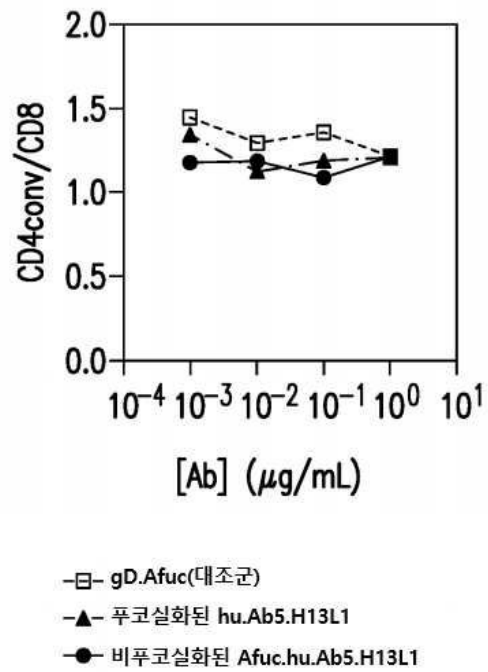
도면13c

인간 RCC 세포에서 Treg에 대한 ADCC 활성
hu.Ab5.H13L1 푸코실화된 변이체 대 비푸코실화된 변이체



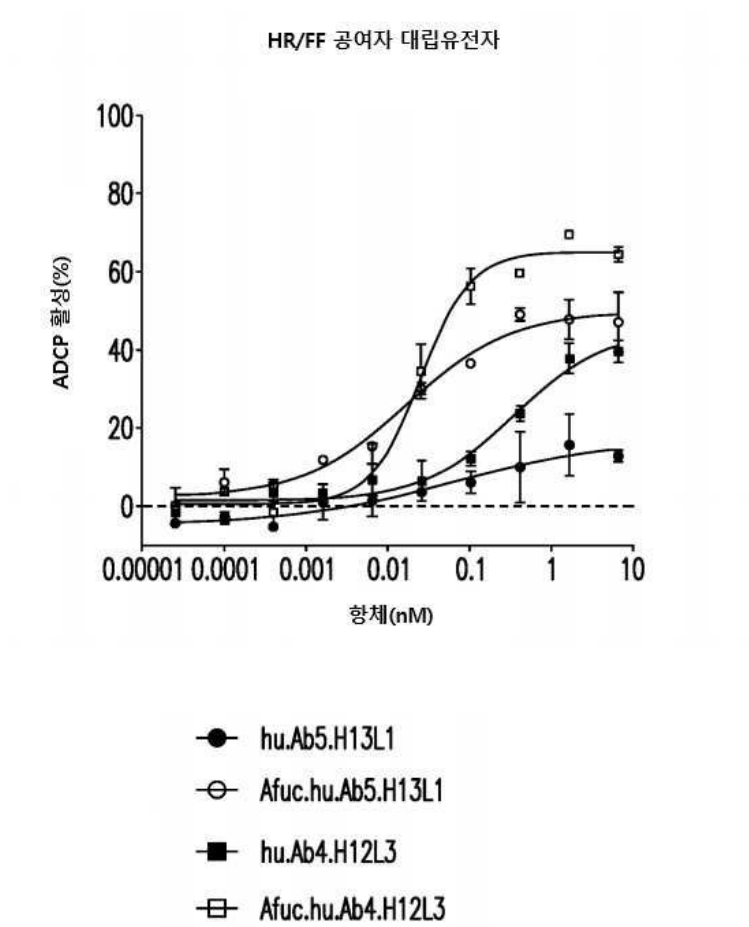
도면13d

인간 RCC 세포에서 Treg에 대한 ADCC 활성
hu.Ab5.H13L1 푸코실화된 변이체 대 비푸코실화된 변이체

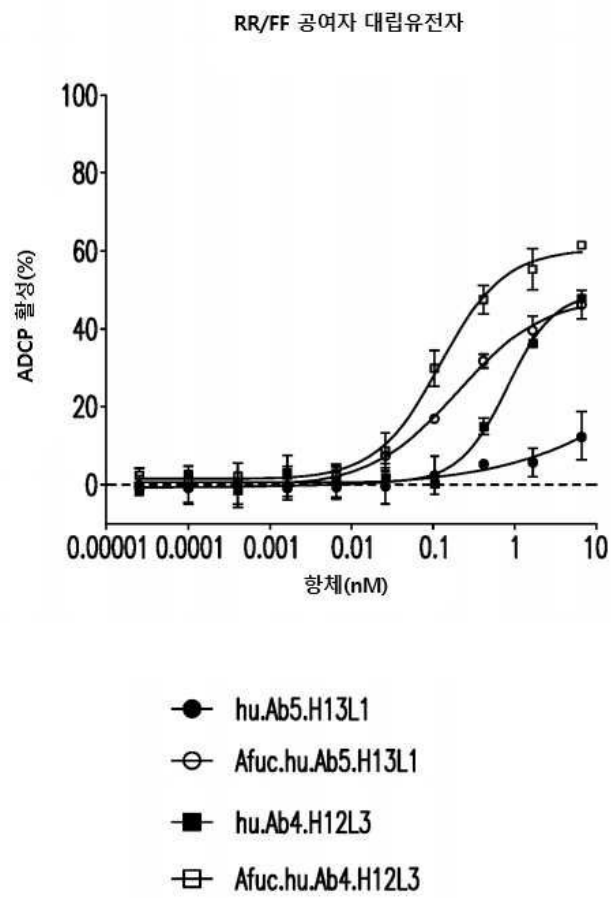


도면14a

HR/FF 및 RR/FF 유전자형에서 비푸코실화된 변이체의 향상된 ADCP 활성

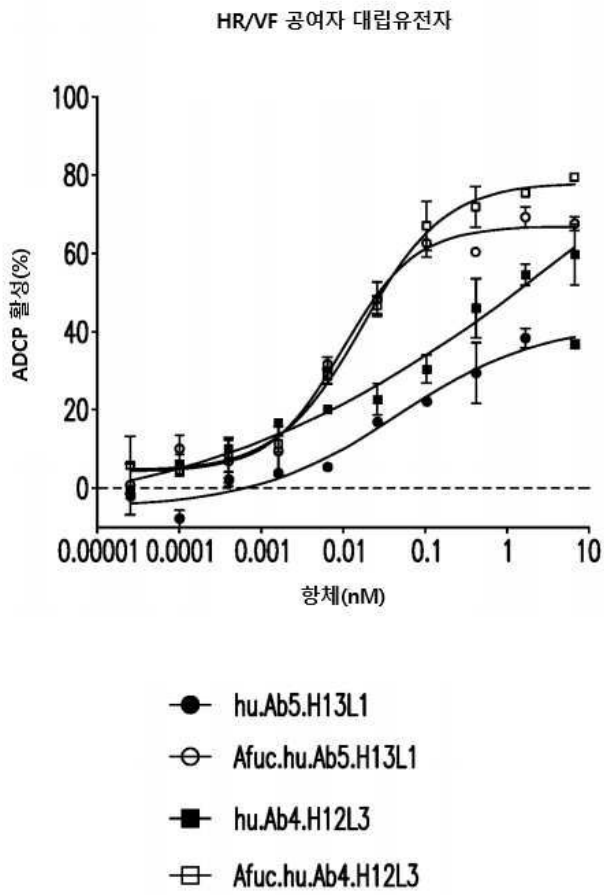


도면14b

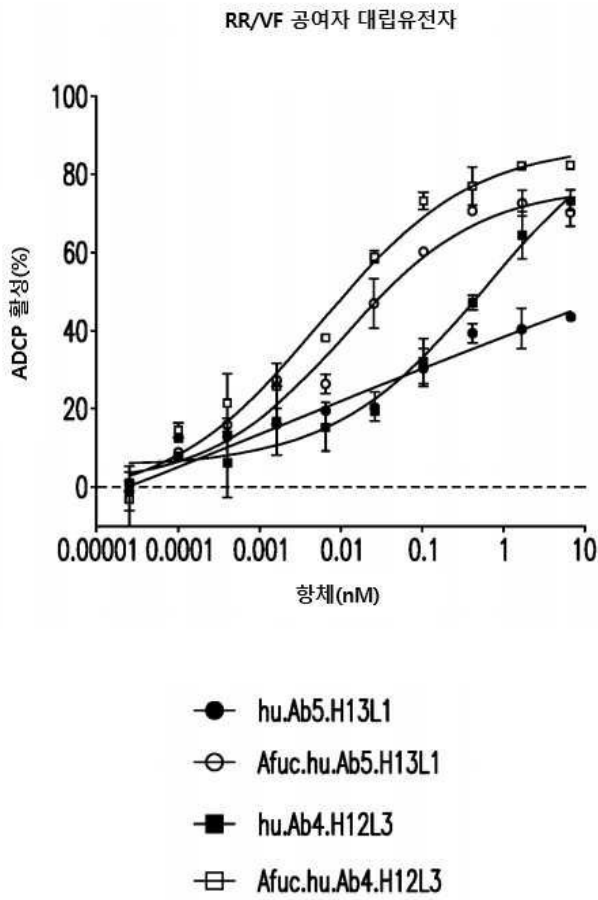


도면14c

HR/VF 및 RR/VF 유전자형에서 비포코실화된 변이체의 향상된 ADCP 활성

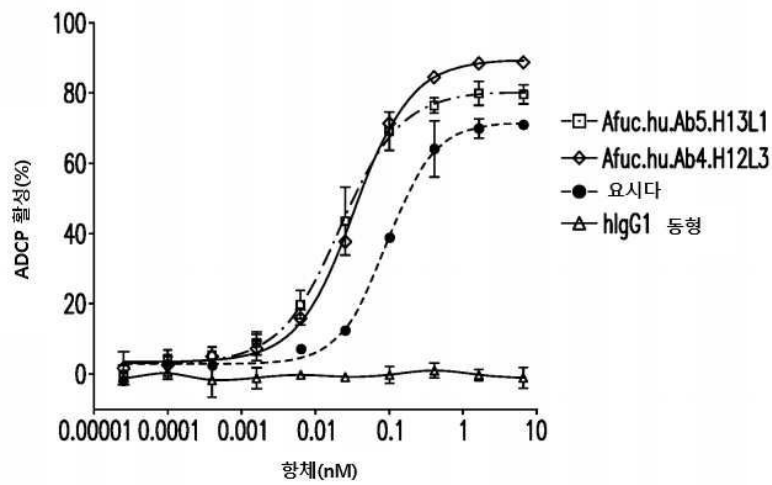


도면14d



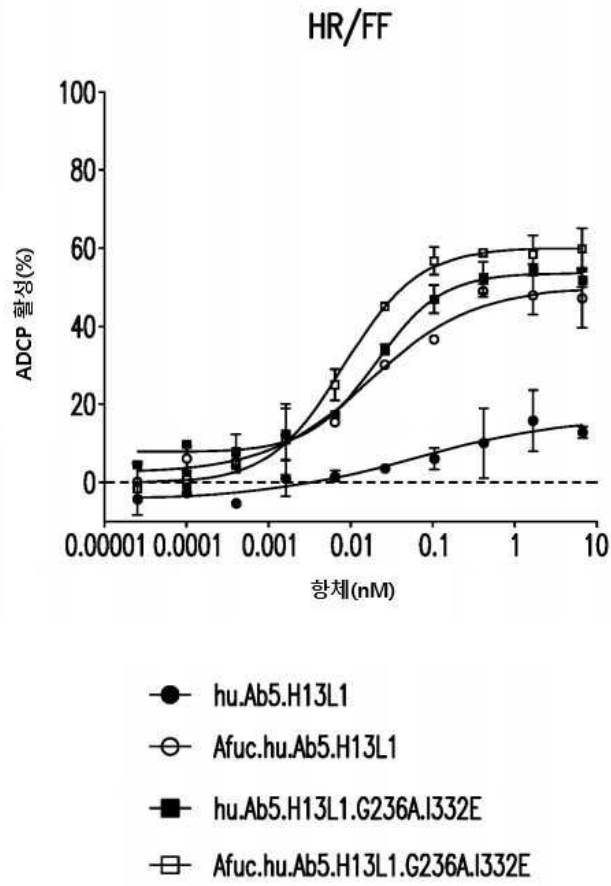
도면14e

Afuc Ab4 및 Ab5 변이체 대 요시다 Ab(HR/FF 공여자 대립유전자)의 향상된 ADCP 활성

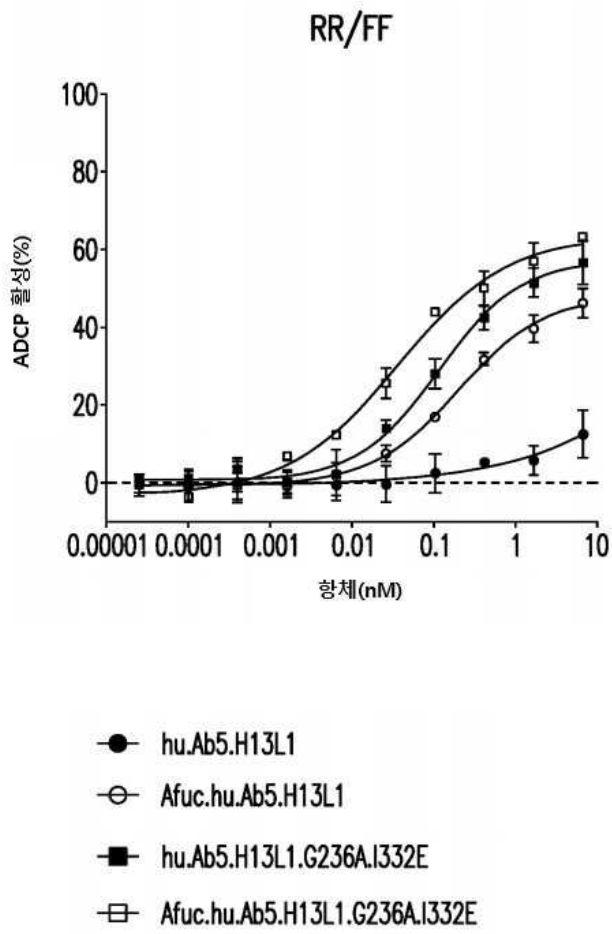


도면15a

HR/FF 및 RR/FF 유전자형에서 G236A.I332E 돌연변이체를 포함하는 푸코실화된
Ab5 변이체의 향상된 ADCP 활성

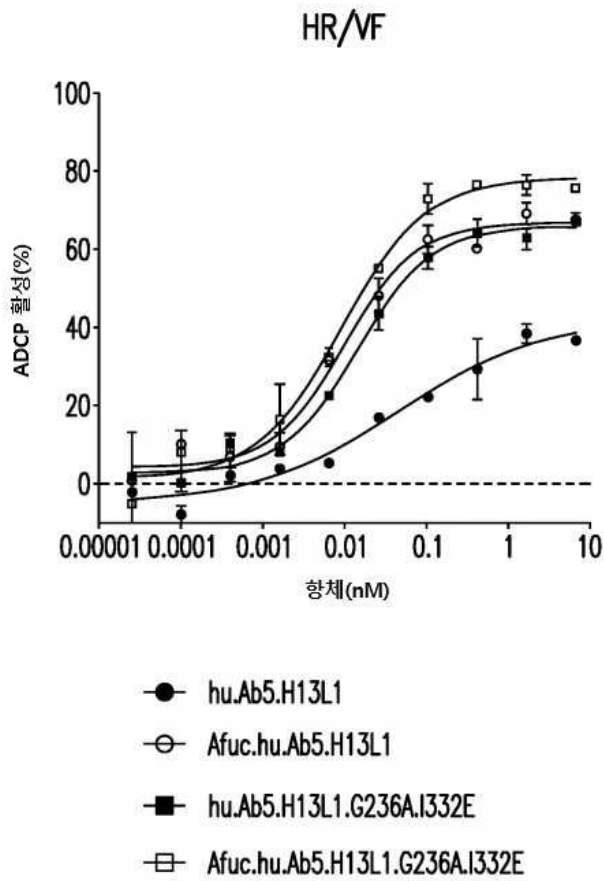


도면15b

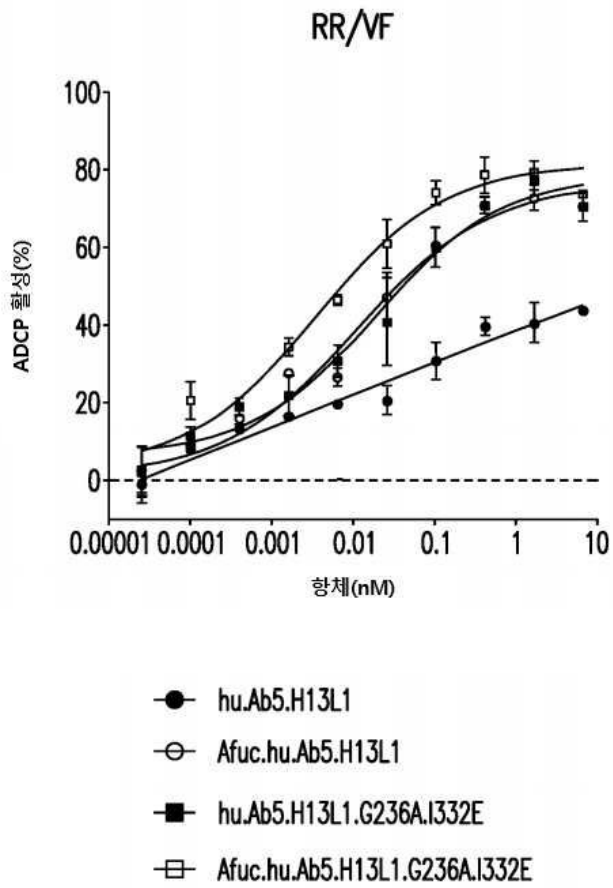


도면15c

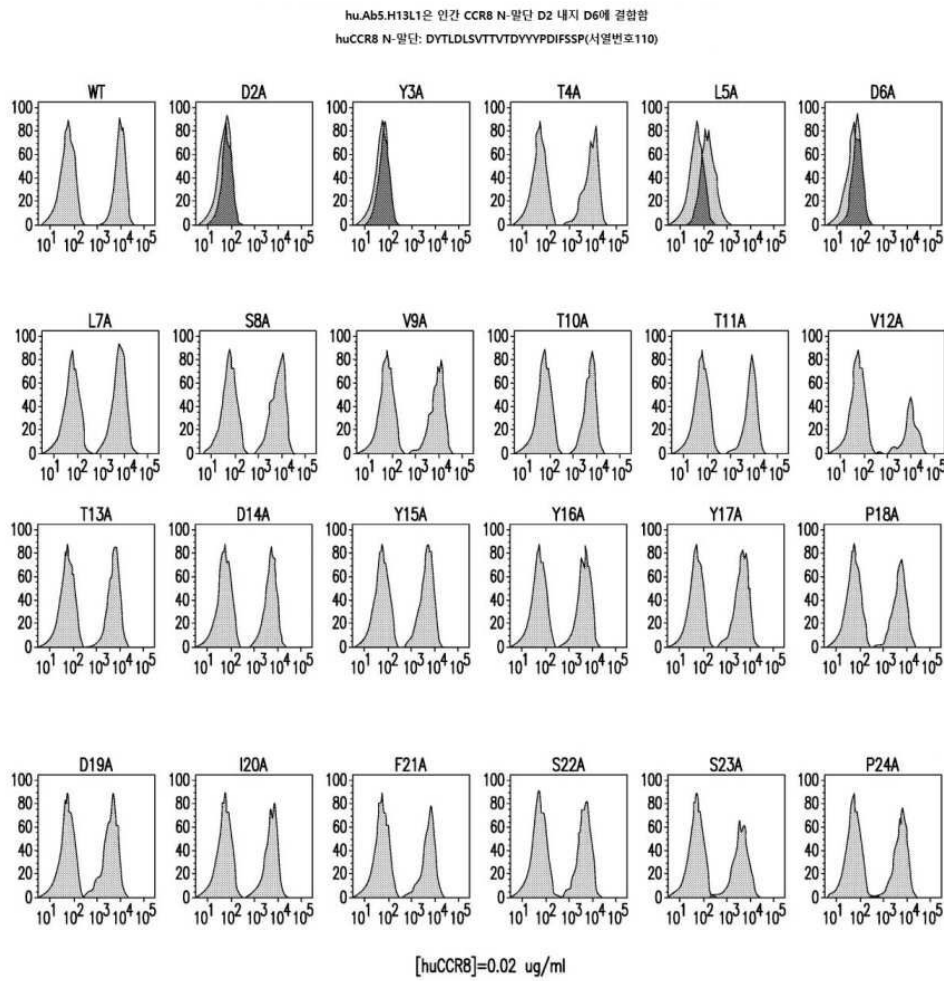
HR/VF 및 RR/VF 유전자형에서 G236A, I332E 돌연변이체를 포함하는 푸코실화된
Ab5 변이체의 향상된 ADCP 활성



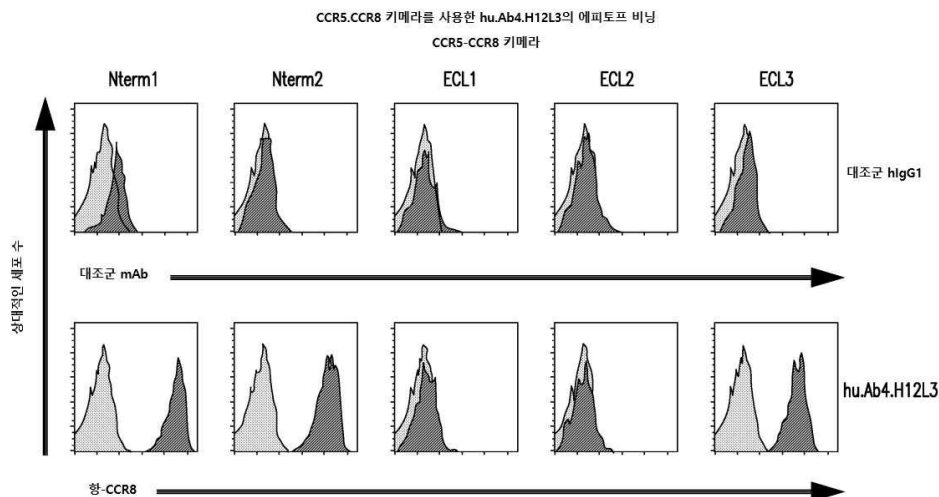
도면15d



도면16a

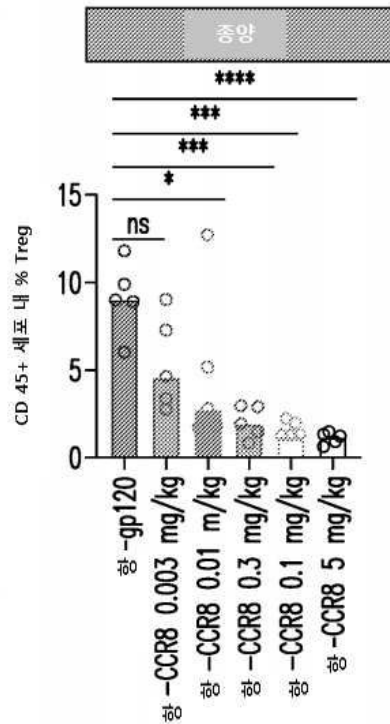


도면16b

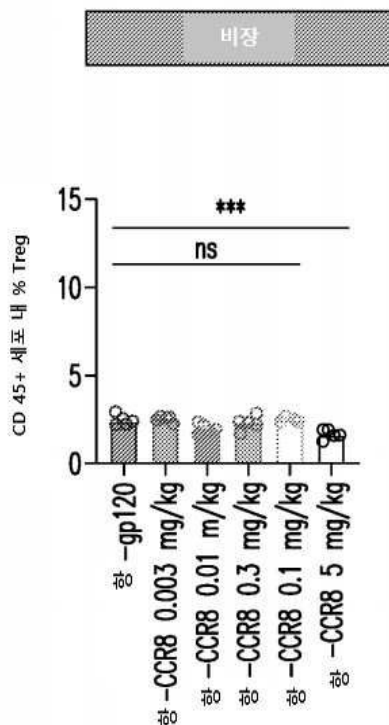


도면17a

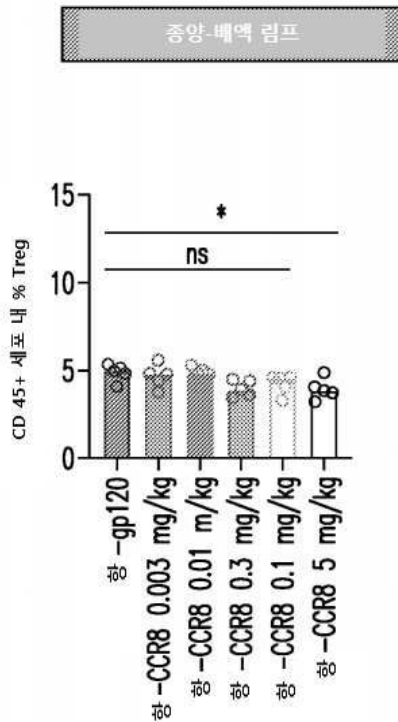
대리 마우스 항-mCCR8 Ab의 용량 적정에 의한 Treg 세포 고갈



도면17b

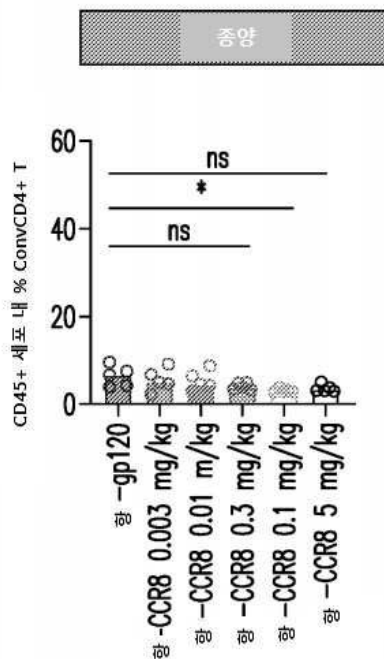


도면17c

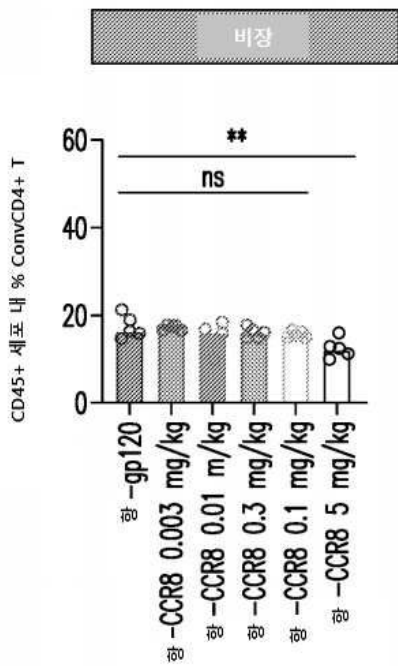


도면17d

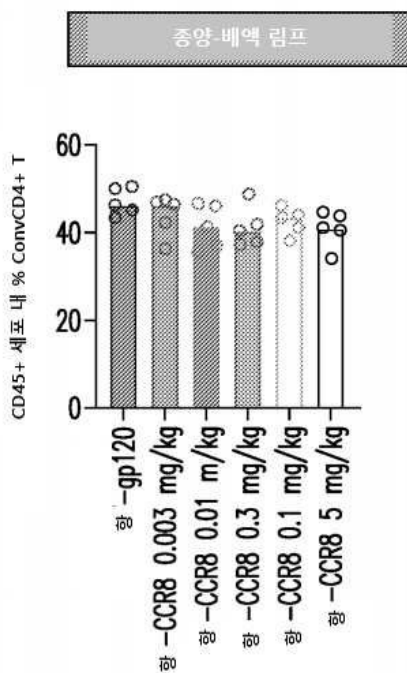
대리 마우스 항-mCCR8 Ab의 용량 적정에 의한 CD4
정상적인 T 세포 고갈 없음



도면17e

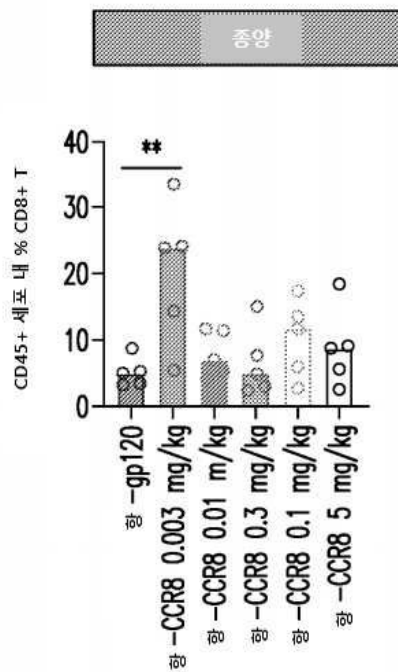


도면17f

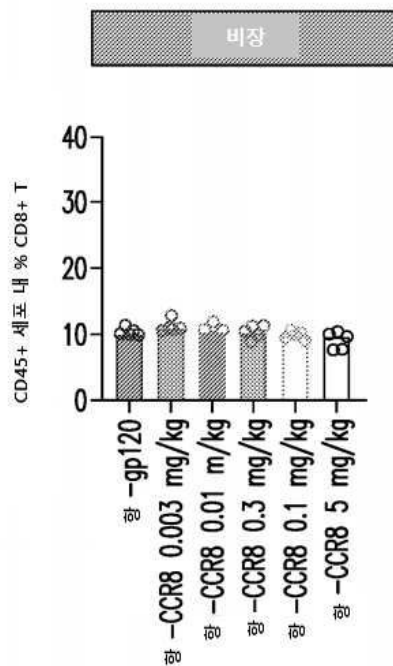


도면17g

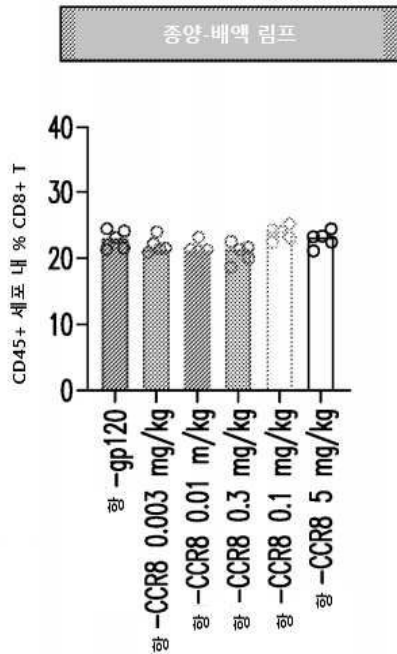
대리 마우스 항-mCCR8 Ab의 용량 적정에 의한
CD8 T 세포 고갈 없음



도면17h

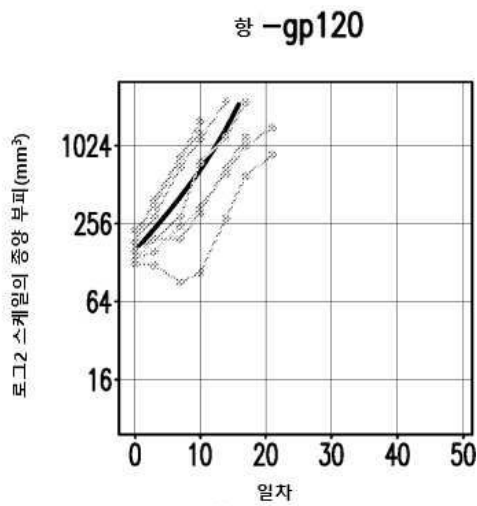


도면17i



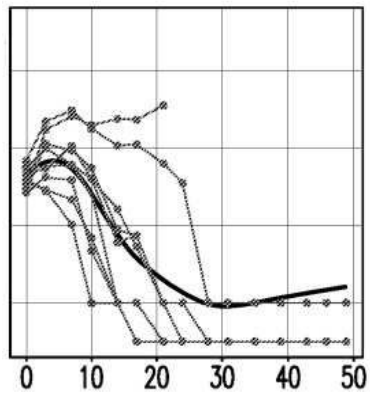
도면18a

CT26 결장암 모델에서 대리 마우스 항-CCR8에 의한 강력한 종양 성장 억제



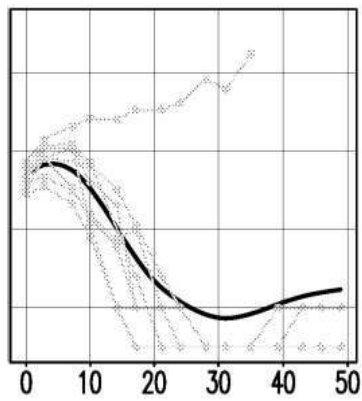
도면18b

항-CCR8
(0.1 mg/kg)



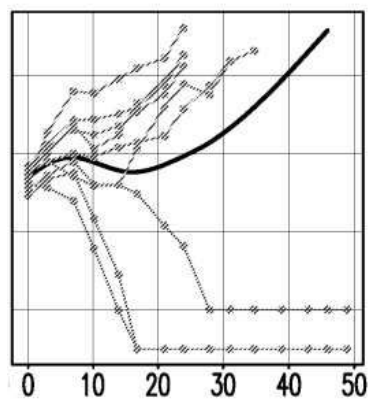
도면18c

항-CCR8
(0.1 mg/kg BIWx2)



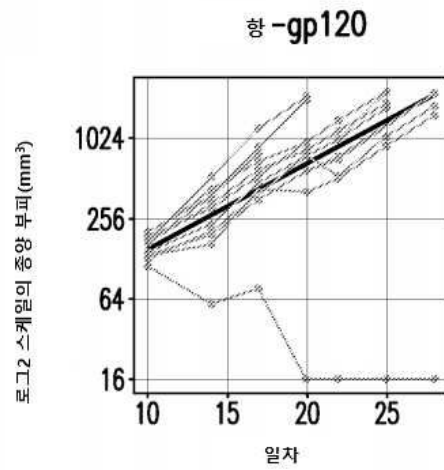
도면18d

항-CD25
(0.1 mg/kg)

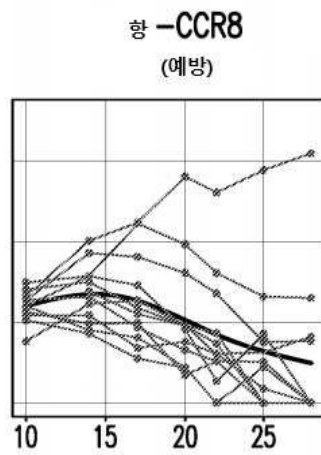


도면19a

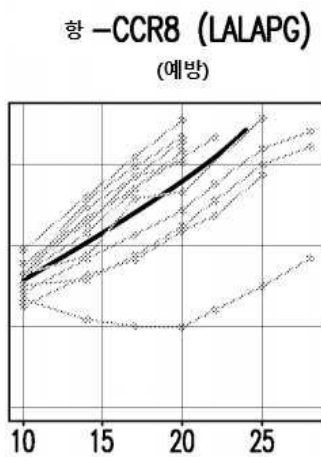
대리 마우스 항-mCCR8 Ab에 의한 종양 성장 억제는
Treg 세포 억제제가 아닌 Treg 세포 고갈에 의존함



도면19b

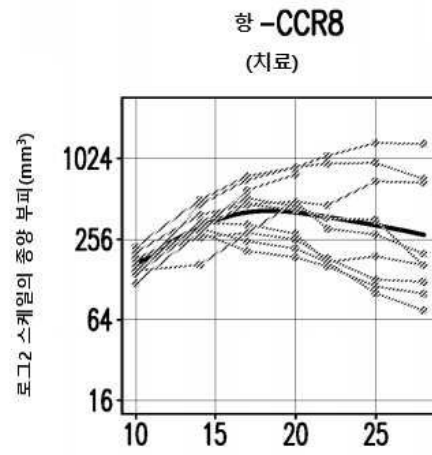


도면19c



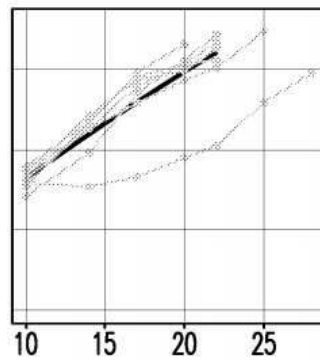
도면19d

대리 마우스 항-mCCR8 Ab에 의한 종양 성장 억제는
Treg 세포 억제제가 아닌 Treg 세포 고갈에 의존함



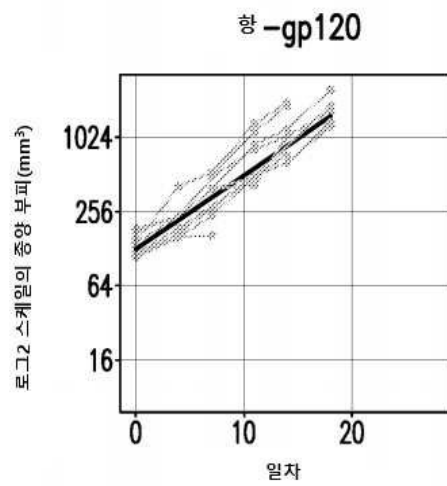
도면19e

항-CCR8 (LALAPG)
(치료)

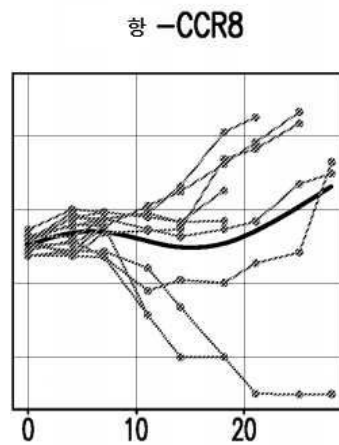


도면20a

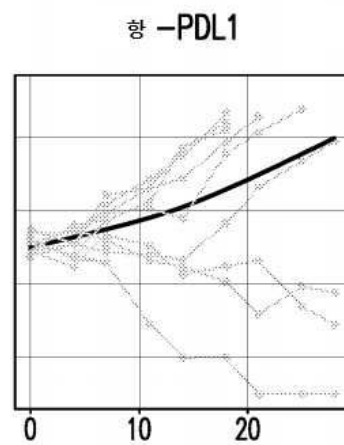
EMT6 유방암 모델에서 항-PDL1 Ab와 병용한 대리
마우스 항-mCCR8 Ab에 의한 강력한 종양 성장 억제



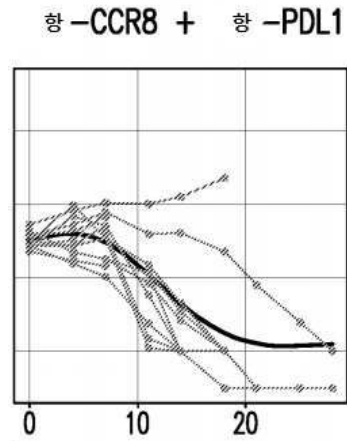
도면20b



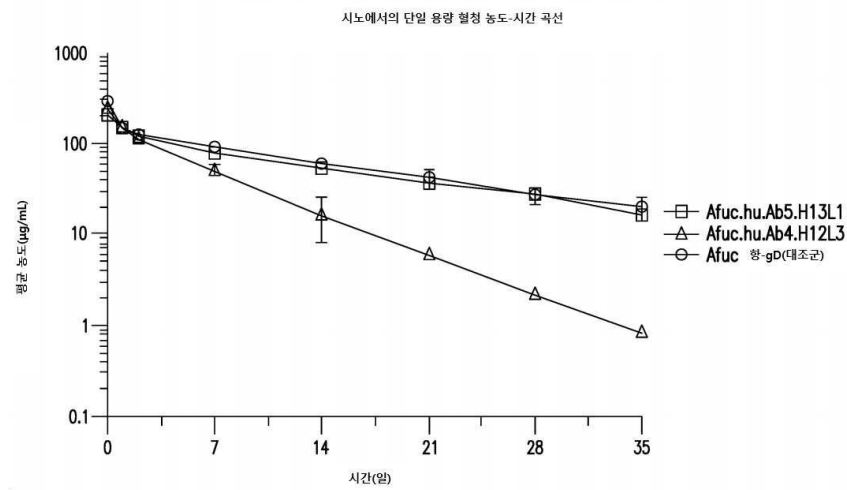
도면20c



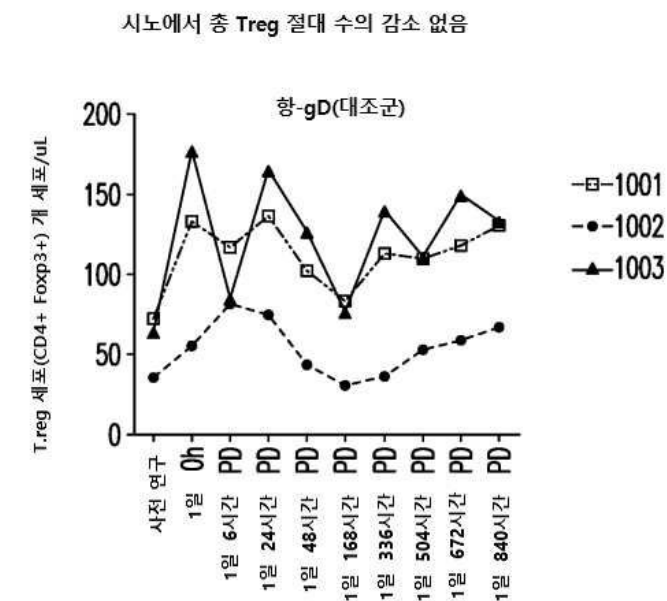
도면20d



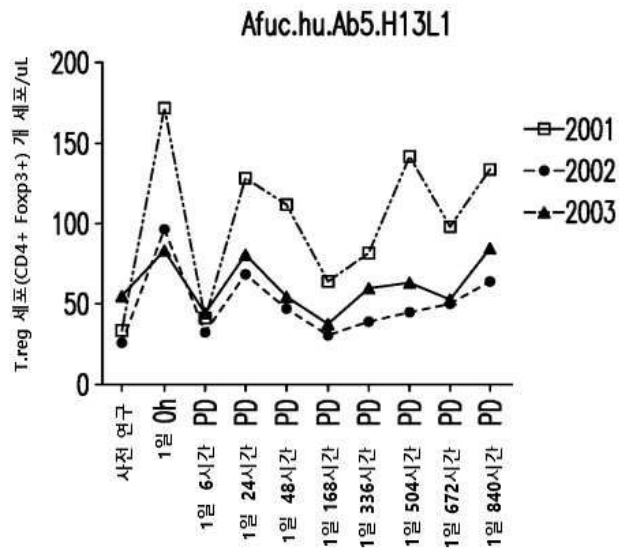
도면21



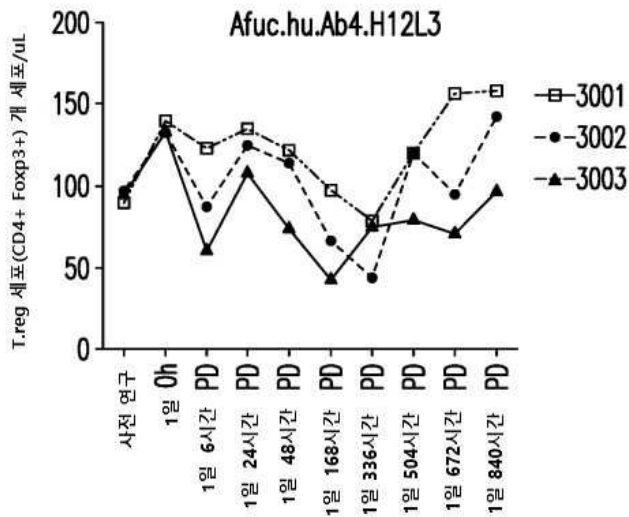
도면22a



도면22b

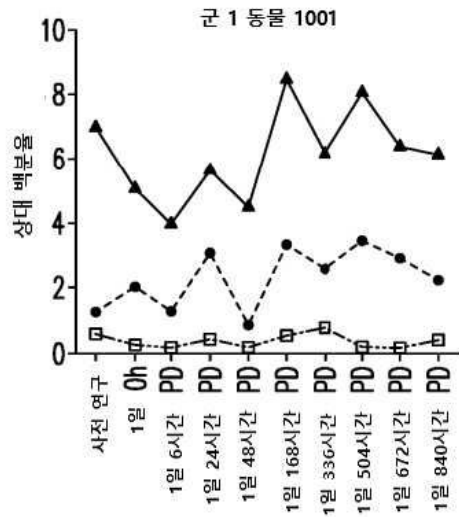


도면22c

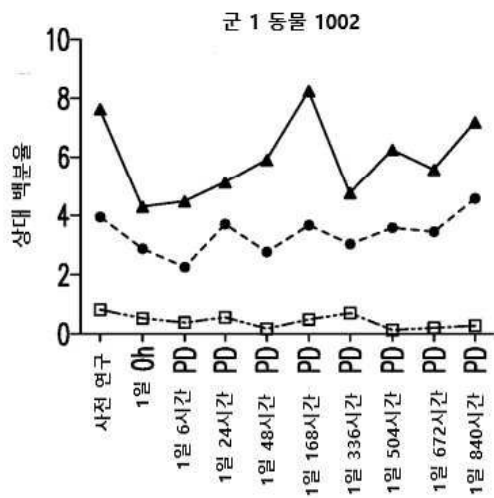


도면23a

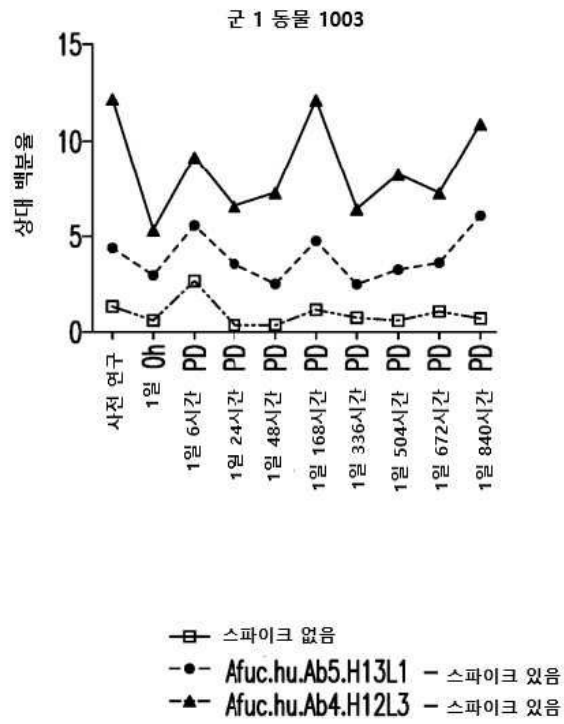
대조군 1 - 시노에서 CCR8+FoxP3+ Treg 세포의
조절 없음



도면23b

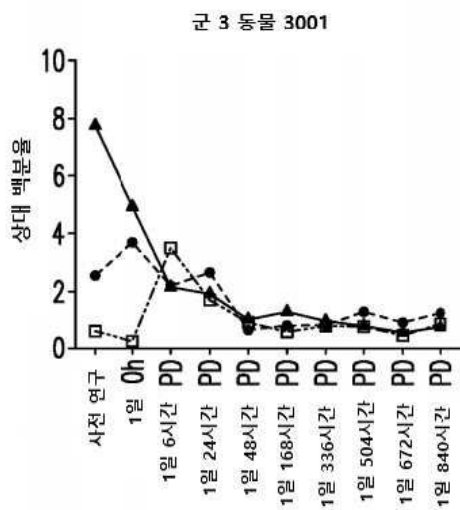


도면23c

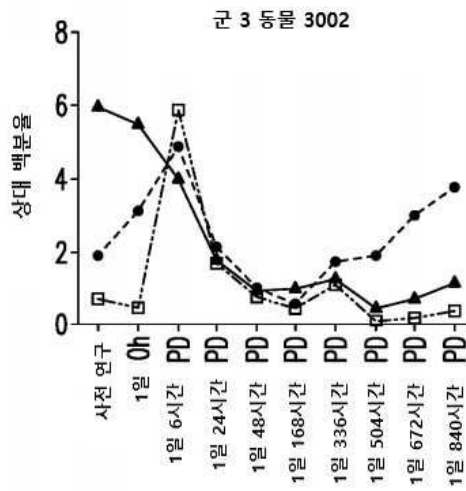


도면23d

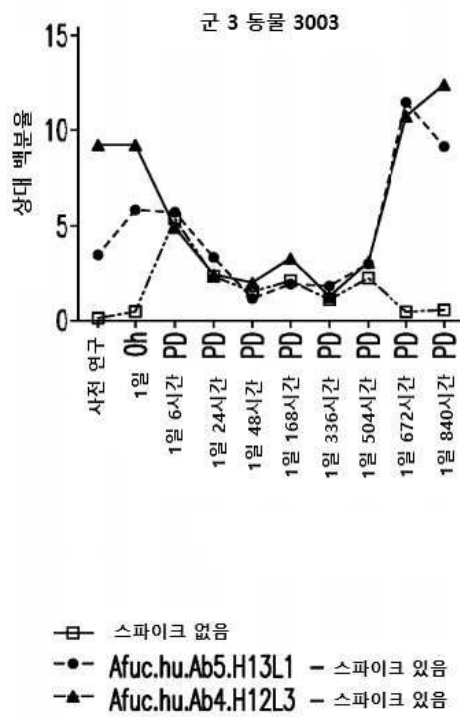
Afuc.hu.Ab4.H12L3 - 시노에서
 CCR8 + FoxP3 + Treg 세포의 감소된 빈도



도면23e

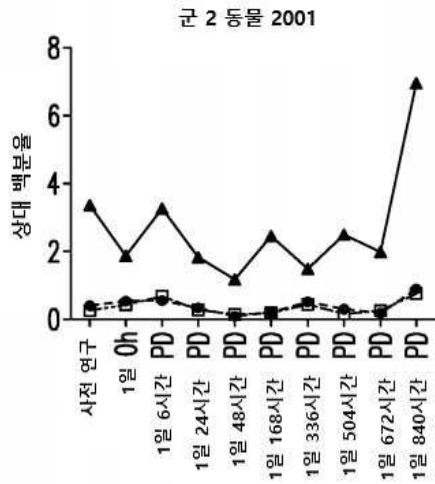


도면23f

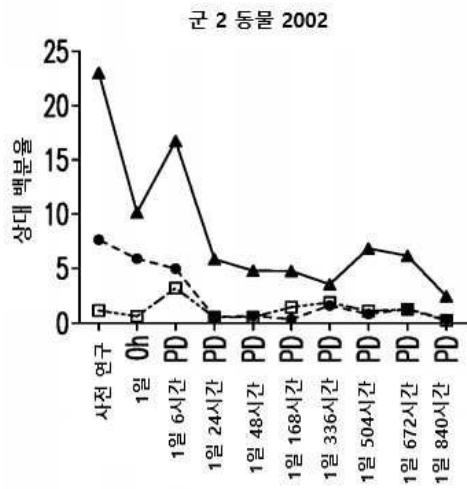


도면23g

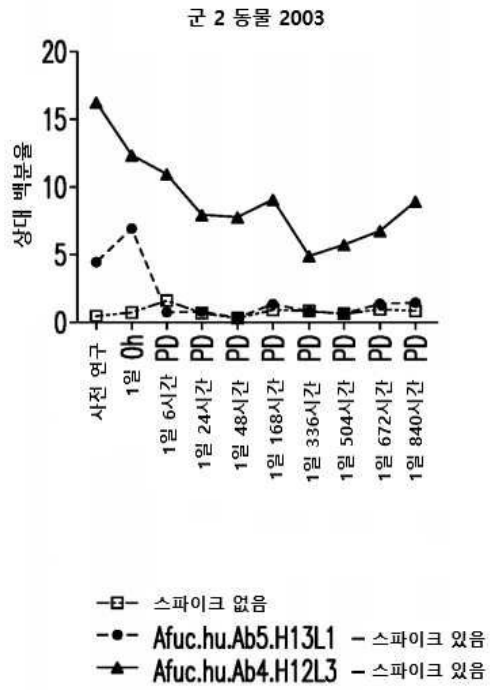
Afuc.hu.Ab5.H13L1 - 시노에서
CCR8 + FoxP3 + Treg 세포의 감소된 빈도



도면23h



도면23i



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.