

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2024-0161081
(43) 공개일자 2024년11월12일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/54 (2024.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01) C07K 16/40 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/5434 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7012576
(22) 출원일자(국제) 2022년09월16일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년04월16일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/043762
(87) 국제공개번호 WO 2023/043978
국제공개일자 2023년03월23일
(30) 우선권주장
63/245,523 2021년09월17일 미국(US)
- (71) 출원인
비카라 테라퓨틱스 인크.
미국 02116 매사추세츠 헌팅턴 애비뉴 116 스위트 703
- (72) 발명자
바트나가르, 자야
인도 411060 마하라슈트라 푸네 비하인드 코린티 안스 클럽 모하메드 와디 운드리 마르그 나티 에 토스 유콘 504
고스와미, 아르빈드 비탈
인도 560105 방갈로르 지가니 라자푸라 로드 디엘 에프 메이든 하이츠 엘52
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 이상남

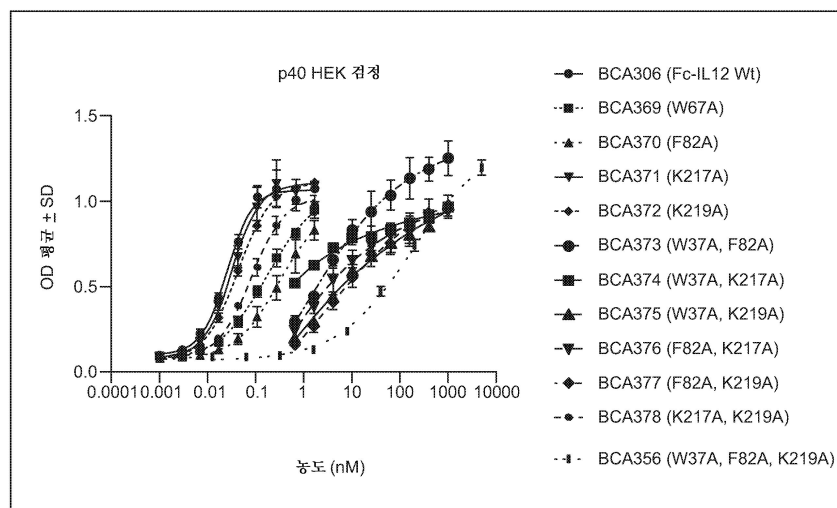
전체 청구항 수 : 총 169 항

(54) 발명의 명칭 CAIX 표적화 IL-12 융합 단백질 및 그의 사용 방법

(57) 요약

IL-12p40 및 IL-12p35 폴리펩티드 및 그를 포함하는 조성물 (예를 들어, 제약 조성물); 뿐만 아니라 IL-12p40 및 IL-12p35 폴리펩티드 및 조성물의 제조 방법이 본원에 제공된다. 추가로, IL-12p40 폴리펩티드 (예를 들어, 본원에 기재된 IL-12p40 폴리펩티드) 및/또는 IL-12p35 폴리펩티드 (예를 들어, 본원에 기재된 IL-12p35 폴리펩티드)를 포함하는 융합 단백질 (예를 들어, 항체 융합 단백질)이 본원에 제공된다. 본원에 제공된 IL-12p40 폴리펩티드, IL-12p35 폴리펩티드 및 융합 단백질은 질환 (예를 들어, 암)을 치료하는 제약 조성물 및 방법에 유용하다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/30 (2013.01)
C07K 16/40 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/526 (2013.01)
C07K 2319/02 (2013.01)

(72) 발명자

트리푸라나, 하리쉬 쿠마르

인도 562106 카르나타카 방갈로르 아네칼 탈루크
 찬다푸라 아네칼 로드 브이비에이치씨 아파트먼트
 블록 넘버 14 플랫 넘버 103

나이르, 프라딧

인도 76 방갈로르 오프 바네르가타 메인 로드 아이
 키아 아파트먼트즈 303

수바라만, 라마크리슈난 멜라르코데

인도 560035 방갈로르 사르자푸라 로드 레인보우
 드라이브 레이아웃 8번 크로스 4번 메인 288

크리슈, 시브 람

인도 305001 라자스탄 아즈메르 시빌 라인 하르빌
 라스 샤르다 마르그 아가르왈 콜로니 '캄라이탄'
 11

보레디, 스리니바스 레디

인도 560100 카르나타카 벵갈루루 일렉트로닉 시티
 페이즈-1 닐라드리 로드 피에스알 크리슈카말
 이526

나이르, 레슈미

인도 560105 지가니 호블리 일렉트로닉 시티 페이
 즈1 마라곤다나할리 마헨드라 엘레나5 씨305

마르슈니, 아바니쉬 케이.

미국 01886 매사추세츠 웨스트포드 로웰 로드 122

탄, 쉐-라이

미국 01776 매사추세츠 서드베리 보스턴 포스트 로
 드 192 유닛 20

명세서

청구범위

청구항 1

(a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 아미노산 위치 (i) W37, F82 및 K219; (ii) W37, F82 및 K217; (iii) K106, K217 및 K219; (iv) W37 및 F82; (v) W37 및 K217; (vi) W37 및 K219; (vii) W37 및 K106; (viii) F82 및 K106; (xiv) F82 및 K217; (xv) F82 및 K219; (xvi) K217 및 K219; (xvii) K106 및 K217; 또는 (xviii) K106 및 K219에서의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진 인간 인터류킨 12 p40 (hIL-12p40) 폴리펩티드.

청구항 2

제1항에 있어서, 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환 (i) W37A, F82A 및 K219A; (ii) W37A, F82A 및 K217A; (iii) K106A, K217A 및 K219A; (iv) W37A 및 F82A; (v) W37A 및 K217A; (vi) W37A 및 K219A; (vii) W37A 및 K106A; (viii) F82A 및 K106A; (xiv) F82A 및 K217A; (xv) F82A 및 K219A; (xvi) K217A 및 K219A; (xvii) K106A 및 K217A; 또는 (xviii) K106A 및 K219A를 포함하거나 또는 그로 이루어진 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 아미노산 위치 W37, F82 및 K219에서의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환 W37A, F82A 및 K219A를 포함하거나 또는 그로 이루어진 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 표 5에 제시된 어느 하나의 폴리펩티드의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 표 5에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38-65 중 어느 하나의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38-65 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38-51 중 어느 하나의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38-51 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 52-65 중 어느 하나의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 52-65 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38 또는 52의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38 또는 52에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38의 아미노산 서열에 대해 100% 동일한 것인 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12 수용체 (hIL-12R)에 특이적으로 결합하는 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질이 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 더 낮은 증가를 매개하는 것인 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질이 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개하는 것인 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질이 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 인터페론 감마 (IFN- γ)의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 더 낮은 증가를 매개하는 것인 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질이 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))의 존재 하에 생산된, 표면 상에

hIL-12R을 발현하는 세포에 의해 생산된 IFN- γ 의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개하는 것인 hIL-12p40 폴리펩티드.

청구항 17

(a) 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; (b) 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 위치 E60, F61, P63, K150, F188, Y189A 중 1개 이상에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가, 결실 (예를 들어, 치환))을 포함하거나 또는 그로 이루어진 인간 인터류킨 12 p35 (hIL-12p35) 폴리펩티드.

청구항 18

제17항에 있어서, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 위치 (i) F188; (ii) Y189; (iii) F188 및 Y189; 또는 (iv) E60, F61, P63, K150 및 F188에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가, 결실 (예를 들어, 치환))을 포함하거나 또는 그로 이루어진 hIL-12p35 폴리펩티드.

청구항 19

제17항 또는 제18항에 있어서, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: E60K, F61H, P63S, K150H, F188P, F188A 및/또는 Y189A 중 1개 이상을 포함하거나 또는 그로 이루어진 hIL-12p35 폴리펩티드.

청구항 20

제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 111-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 111-114 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 hIL-12p35 폴리펩티드.

청구항 21

제17항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환: (i) F188A; (ii) Y189A; (iii) F188A 및 Y189A; 또는 (iv) E60K, F61H, P63S, K150H 및 F188P를 포함하거나 또는 그로 이루어진 hIL-12p35 폴리펩티드.

청구항 22

hIL-12p35 폴리펩티드로서, 여기서 hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 아미노산 A55-K92, N50-K92, M51-K92, L52-K92, Q53-K92, K54-K92, N50-N93, M51-N93, L52-N93, Q53-N93, K54-N93, N50-E94, M51-E94, L52-E94, Q53-E94, K54-E94, N50-S95, M51-S95, L52-S95, Q53-S95, K54-S95, N50-C96, M51-C96, L52-C96, Q53-C96, K54-C96, N50-L97, M51-L97, L52-L97, Q53-L97, K54-L97, N50-P87, M51-P87, L52-P87, Q53-P87, K54-P87, N50-L88, M51-L88, L52-L88, Q53-L88, K54-L88, N50-E89, M51-E89, L52-E89, Q53-E89, K54-E89, N50-L90, M51-L90, L52-L90, Q53-L90, K54-L90, N50-T91, M51-T91, L52-T91, Q53-T91, K54-T91, R56-K92, Q57-K92, T58-K92, L59-K92, E60-K92, A55-N93, R56-N93, Q57-N93, T58-N93, L59-N93, E60-N93, A55-E94, R56-E94, Q57-E94, T58-E94, L59-E94, E60-E94, A55-S95, R56-S95, Q57-S95, T58-S95, L59-S95, E60-S95, A55-C96, R56-C96, Q57-C96, T58-C96, L59-C96, E60-C96, A55-L97, R56-L97, Q57-L97, T58-L97, L59-L97, E60-L97, A55-P87, R56-P87, Q57-P87, T58-P87, L59-P87, E60-P87, A55-L88, R56-L88, Q57-L88, T58-L88, L59-L88, E60-L88, A55-E89, R56-E89, Q57-E89, T58-E89, L59-E89, E60-E89, A55-L90, R56-L90, Q57-L90, T58-L90, L59-L90, E60-L90, A55-T91, R56-T91, Q57-T91, T58-T91, L59-T91 또는 E60-T91의 결실 (서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시)을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 아미노산 A55-K92, N50-K92, M51-K92, L52-K92, Q53-K92, K54-K92, N50-N93, M51-N93, L52-N93, Q53-N93, K54-N93, N50-E94, M51-E94, L52-E94, Q53-E94, K54-E94, N50-S95, M51-S95, L52-S95, Q53-S95, K54-S95, N50-C96, M51-C96, L52-C96, Q53-C96, K54-C96, N50-L97, M51-L97, L52-L97, Q53-L97, K54-L97, N50-P87, M51-P87, L52-P87, Q53-

P87, K54-P87, N50-L88, M51-L88, L52-L88, Q53-L88, K54-L88, N50-E89, M51-E89, L52-E89, Q53-E89, K54-E89, N50-L90, M51-L90, L52-L90, Q53-L90, K54-L90, N50-T91, M51-T91, L52-T91, Q53-T91, K54-T91, R56-K92, Q57-K92, T58-K92, L59-K92, E60-K92, A55-N93, R56-N93, Q57-N93, T58-N93, L59-N93, E60-N93, A55-E94, R56-E94, Q57-E94, T58-E94, L59-E94, E60-E94, A55-S95, R56-S95, Q57-S95, T58-S95, L59-S95, E60-S95, A55-C96, R56-C96, Q57-C96, T58-C96, L59-C96, E60-C96, A55-L97, R56-L97, Q57-L97, T58-L97, L59-L97, E60-L97, A55-P87, R56-P87, Q57-P87, T58-P87, L59-P87, E60-P87, A55-L88, R56-L88, Q57-L88, T58-L88, L59-L88, E60-L88, A55-E89, R56-E89, Q57-E89, T58-E89, L59-E89, E60-E89, A55-L90, R56-L90, Q57-L90, T58-L90, L59-L90, E60-L90, A55-T91, R56-T91, Q57-T91, T58-T91, L59-T91 또는 E60-T91의 결실 이외에, 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것인 hIL-12p35 폴리펩티드.

청구항 23

제22항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 아미노산 A55-K92의 결실 (서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시)을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 아미노산 A55-K92의 결실 이외에, 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것인 hIL-12p35 폴리펩티드.

청구항 24

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 110의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 결실의 세트 (서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 결실의 세트 이외에, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 110에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 hIL-12p35 폴리펩티드.

청구항 25

hIL-12p35 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함하는 단일쇄 hIL-12 (schIL-12) 폴리펩티드.

청구항 26

제25항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 표 6에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 schIL-12.

청구항 27

제25항 또는 제26항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 31 또는 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 sch-IL12 폴리펩티드.

청구항 28

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드가 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드인 schIL-12 폴리펩티드.

청구항 29

hIL-12p40 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함하는 schIL-12 폴리펩티드.

청구항 30

제29항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 표 10에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 schIL-12.

청구항 31

제29항 또는 제30항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38-51 또는 90-109 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 sch-IL12 폴리펩티드.

청구항 32

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드가 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드인 schIL-12 폴리펩티드.

청구항 33

제17항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드가 펩티드 링커를 통해 hIL-12p35 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된 것인 schIL-12 폴리펩티드.

청구항 34

제17항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p40 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함하는 schIL-12 폴리펩티드.

청구항 35

제17항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p35 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함하는 schIL-12 폴리펩티드.

청구항 36

- a. 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드,
 - b. hIL-12p35 폴리펩티드; 및
 - c. 이중 모이어티
- 를 포함하는 융합 단백질.

청구항 37

- a. hIL-12p40 폴리펩티드;
 - b. 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드; 및
 - c. 이중 모이어티
- 를 포함하는 융합 단백질.

청구항 38

제36항 또는 제37항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 표 6에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 융합 단백질.

청구항 39

제36항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 31 또는 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 융합 단백질.

청구항 40

제36항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또

는 100% 동일한 것인 융합 단백질.

청구항 41

제36항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 표 10에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 융합 단백질.

청구항 42

제36항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 33 또는 38-51 또는 90-109 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 융합 단백질.

청구항 43

제36항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 33 또는 38의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 융합 단백질.

청구항 44

제36항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드 및 hIL-12p35 폴리펩티드가 schIL-12 폴리펩티드로서 작동가능하게 연결된 것인 융합 단백질.

청구항 45

제44항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드가 펩티드 링커를 통해 hIL-12p35 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된 것인 융합 단백질.

청구항 46

제44항 또는 제45항에 있어서, 폴리펩티드가 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p40 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 47

제44항 또는 제45항에 있어서, 폴리펩티드가 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p35 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 48

제36항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 더 낮은 증가를 매개하는 융합 단백질.

청구항 49

제36항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개하는 융합 단백질.

청구항 50

제36항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 인터페론 감마 (IFN- γ)의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 더 낮은 증가를 매개하는 융합 단백질.

청구항 51

제36항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 IFN- γ 의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개하는 융합 단백질.

청구항 52

제36항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 모이어티가 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인) 및/또는 1개 이상의 Fc 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 53

제36항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 모이어티가 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)를 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 54

제36항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 모이어티가 전장 항체, scFv, (scFv)₂, scFv-Fc, Fab, Fab', F(ab')₂, Fab-Fc, 단일 도메인 항체 (예를 들어, VHH) 또는 단일 도메인 항체-Fc (예를 들어, VHH-Fc)를 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 55

제54항에 있어서, 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)가 3개의 가변 중쇄 영역 (VH) 상보성 결정 영역 (VH CDR): VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 제1 VH; 및 3개의 가변 경쇄 영역 (VL) CDR: VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 제1 VL을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 56

제36항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 모이어티가 전장 항체를 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 57

제36항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)가 인간 종양 연관 항원 (hTAA)에 특이적으로 결합하는 것인 융합 단백질.

청구항 58

제36항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)가 인간 탄산 안하이드라제 IX (hCAIX)에 특이적으로 결합하는 것인 융합 단백질.

청구항 59

제36항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3의 아미노산 서열이 각각 표 17에 제시된 항체의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 60

제55항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, VH CDR1의 아미노산 서열이 서열식별번호: 237의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 237의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR2의 아미노산 서열이 서열식별번호: 238의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 238의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR3의 아미노산 서열이 서열식별번호: 239의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 239의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR1의 아미노산 서열이 서열식별번호: 240의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 240의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR2의 아미노산 서열이 서열식별번호: 241의 아미노산 서

열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 242의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR3의 아미노산 서열이 서열식별번호: 243의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 243의 아미노산 서열을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 61

제55항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, VH의 아미노산 서열이 표 17에 제시된 임의의 VH 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열이 표 17에 제시된 임의의 VL 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 62

제55항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, VH의 아미노산 서열이 서열식별번호: 7, 246, 256, 264, 274 또는 284 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열이 서열식별번호: 12, 247, 257, 265, 275 또는 285 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 63

제55항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, VH의 아미노산 서열이 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열이 서열식별번호: 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 64

제55항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, VH의 아미노산 서열이 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열이 서열식별번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 65

제36항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제1 Fc 영역; 및 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제2 Fc 영역을 포함하는 융합 단백질.

청구항 66

제65항에 있어서, (a) 제1 Fc 영역이 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하고; 제2 Fc 영역이 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하거나; 또는 (b) 제1 Fc 영역이 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하고; 제2 Fc 영역이 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 67

제65항 또는 제66항에 있어서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역이 각각 hIgG1 또는 hIgG4 Fc 영역 또는 그의 기능적 변이체인 융합 단백질.

청구항 68

제65항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역이 전장 항체의 일부인 융합 단백질.

청구항 69

제65항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역의 CH3 영역 및 제2 Fc 영역의 CH3 영역이 각각 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 70

제65항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366, L368 및 Y407에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 71

제65항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366S, L368A 및 Y407V를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 72

제65항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 Y349에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 73

제65항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 Y349C를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 74

제65항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366, L368, Y407 및 Y349에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 75

제65항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 76

제65항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 77

제65항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366W를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 78

제65항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 S354에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 79

제65항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 S354C를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 80

제65항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366 및 S354에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 81

제65항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366W 및 S354C를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 82

제65항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 제1 Fc 영역이 하기 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함하고, 제2 Fc 영역이 하기 아미노산 치환 T366W 및 S354C를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 83

제65항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366, L368 및 Y407에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 84

제65항 내지 제69항 및 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366S, L368A 및 Y407V를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 85

제65항 내지 제69항, 제83항 및 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 Y349에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 86

제65항 내지 제69항 및 제83항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 Y349C를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 87

제65항 내지 제69항 및 제83항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366, L368, Y407 및 Y349에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 88

제65항 내지 제69항 및 제83항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 89

제65항 내지 제69항 및 제83항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 90

제65항 내지 제69항 및 제83항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366W를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 91

제65항 내지 제69항 및 제83항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 S354에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 92

제65항 내지 제69항 및 제83항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 S354C를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 93

제65항 내지 제69항 및 제83항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366 및 S354에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 94

제65항 내지 제69항 및 제83항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역이 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366W 및 S354C를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 95

제65항 내지 제69항 및 제83항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 제2 Fc 영역이 하기 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함하고, 제1 Fc 영역이 하기 아미노산 치환 T366W 및 S354C를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 96

제65항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역이 각각, Fc 영역 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 함유하지 않는 참조 Fc 영역과 비교하여, 상기 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 97

제65항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 이펙터 기능이 Fc 영역의 항체-의존성 세포성 세포독성 (ADCC), 항체-의존성 세포성 식세포작용 (ADCP) 또는 보체 의존성 세포독성 (CDC) 유도 능력, Fc 수용체 (예를 들어, Fc γ 수용체)에 대한 결합 능력 또는 그의 임의의 조합을 포함하는 것인 융합체.

청구항 98

제65항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역이 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 L234, L235 및/또는 P329 중 1, 2 또는 3개에서의 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 99

제65항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역이 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: L234A, L235A 및/또는 P329G 또는 P329A 중 1, 2 또는 3개를 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 100

제65항 내지 제99항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역이 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, L234A 및 L235A 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 101

제65항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역이 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, L234A, L235A 및 P329A 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 102

제65항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역이 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, L234A, L235A 및 P329G 아미노산 치환을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 103

제65항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단이 제1 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되고; hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단이 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된 것인 융합 단백질.

청구항 104

제65항 내지 제103항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드가 제1 펩티드 링커를 통해 제1 Fc 영역에 작동가능하게 연결되고; hIL-12p40 폴리펩티드가 제2 펩티드 링커를 통해 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결된 것인 융합 단백질.

청구항 105

제104항에 있어서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열이 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열이 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 106

제104항 또는 제105항에 있어서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 66-81, 88-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 107

제104항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 108

제65항 내지 제107항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단이 제1 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되고; hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단이 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된 것인 융합 단백질.

청구항 109

제108항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드가 제1 펩티드 링커를 통해 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결되고; hIL-12p40 폴리펩티드가 제2 펩티드 링커를 통해 제1 Fc 영역에 작동가능하게 연결된 것인 융합 단백질.

청구항 110

제109항에 있어서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열이 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열이 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 111

제108항 내지 제110항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 112

제108항 내지 제111항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 113

제108항 내지 제112항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드 및 hIL-12p35 폴리펩티드가 schIL-12 폴리펩티드로서 작동가능하게 연결되고, schIL-12 폴리펩티드의 N-말단이 제1 Fc 영역의 C-말단 또는 제2 Fc 영역

의 C-말단에 작동가능하게 연결된 것인 융합 단백질.

청구항 114

제113항에 있어서, schIL-12 폴리펩티드가 제1 펩티드 링커를 통해 제1 Fc 영역 또는 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결된 것인 융합 단백질.

청구항 115

제114항에 있어서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열이 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 116

제114항 또는 제115항에 있어서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 117

제114항 내지 제116항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 118

융합 단백질로서,

a. i. N-말단에서 C-말단으로 경쇄 가변 영역 (VL) 영역 및 경쇄 불변 영역 (CL) 영역을 포함하는 제1 경쇄;

ii. N-말단에서 C-말단으로 중쇄 가변 영역 (VH) 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제1 중쇄;

iii. N-말단에서 C-말단으로 VH 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제2 중쇄;

iv. N-말단에서 C-말단으로 VL 영역 및 VH 영역을 포함하는 제2 경쇄를 포함하며,

여기서 제1 경쇄 및 제1 중쇄는 회합되어 제1 항원 결합 도메인을 형성하고;

여기서 제2 경쇄 및 제2 중쇄는 회합되어 제2 항원 결합 도메인을 형성하고;

여기서 제1 중쇄 및 제2 중쇄는 회합되어 이량체를 형성하는 것인

hTAA에 특이적으로 결합하는 전장 항체,

b. 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드,

c. hIL-12p35 폴리펩티드

를 포함하며,

여기서 전장 항체의 제1 중쇄의 CH3 영역은 1개 이상의 아미노산 변형을 함유하지 않는 참조 CH3 영역의 아미노산 서열 (예를 들어, 야생형 CH3 영역, 예를 들어 서열식별번호: 122)에 비해 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하고;

여기서 전장 항체의 제2 중쇄의 CH3 영역은 1개 이상의 아미노산 변형을 함유하지 않는 참조 CH3 영역의 아미노산 서열 (예를 들어, 야생형 CH3 영역, 예를 들어 서열식별번호: 122)에 비해 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하고;

여기서 전장 항체의 제1 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형은 전장 항체의 제2 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형과 상이하고;

여기서 전장 항체의 제1 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형 및 전장 항체의 제2 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형은 전장 항체의 제1 및 제2 중쇄의 이중이량체화를 촉진하고;

여기서 hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단은 제1 펩티드 링커를 통해 제1 중쇄의 CH3 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되고;

여기서 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단은 제2 펩티드 링커를 통해 제2 중쇄의 CH3 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된 것인

융합 단백질.

청구항 119

제118항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드가 (a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 아미노산 위치 W37, F82 및 K219에 서의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 120

제118항 또는 제119항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환 W37A, F82A 및 K219A를 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 121

제118항 내지 제120항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 융합 단백질.

청구항 122

제118항 내지 제121항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 123

제118항 내지 제122항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 31 또는 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 융합 단백질.

청구항 124

제118항 내지 제123항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 125

제118항 내지 제124항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원 결합 도메인이 hCAIX에 특이적으로 결합하고, 제2 항원 결합 도메인이 hCAIX에 특이적으로 결합하는 것인 융합 단백질.

청구항 126

제118항 내지 제125항 중 어느 한 항에 있어서, VH CDR1의 아미노산 서열이 서열식별번호: 237의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 237의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR2의 아미노산 서열이 서열식별번호: 238의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개

의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 238의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR3의 아미노산 서열이 서열식별번호: 239의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 239의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR1의 아미노산 서열이 서열식별번호: 240의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 240의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR2의 아미노산 서열이 서열식별번호: 241의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 242의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR3의 아미노산 서열이 서열식별번호: 243의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 243의 아미노산 서열을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 127

제118항 내지 제126항 중 어느 한 항에 있어서, VH의 아미노산 서열이 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열이 서열식별번호: 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 128

제118항 내지 제127항 중 어느 한 항에 있어서, VH의 아미노산 서열이 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열이 서열식별번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 129

제118항 내지 제128항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 중쇄 및 제2 중쇄가 각각, Fc 영역 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 함유하지 않는 참조 Fc 영역과 비교하여, 상기 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 130

제129항에 있어서, 적어도 1종의 이펙터 기능이 ADCC, ADCP 또는 CDC 유도 능력, Fc 수용체에 대한 결합 능력 또는 임의의 조합을 포함하는 것인 융합체.

청구항 131

융합 단백질로서,

- a. N-말단에서 C-말단으로 VL 영역 및 CL 영역을 포함하는 제1 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드;
- b. N-말단에서 C-말단으로: (i) N-말단에서 C-말단으로 VH 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제1 중쇄; (ii) 제1 펩티드 링커 및 (iii) 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함하는 제2 폴리펩티드;
- c. N-말단에서 C-말단으로: (i) N-말단에서 C-말단으로 VH 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제2 중쇄, (ii) 제2 펩티드 링커; 및 (iii) hIL-12p35 폴리펩티드를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및
- d. N-말단에서 C-말단으로 VL 영역 및 CL 영역을 포함하는 제2 경쇄를 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함하며,

여기서 제1 경쇄의 VL 및 제1 중쇄의 VH는 회합되어 제1 hTAA에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 형성하고;

여기서 제1 중쇄의 CH3 영역은 1개 이상의 아미노산 변형을 함유하지 않는 참조 CH3 영역의 아미노산 서열 (예를 들어, 야생형 CH3 영역, 예를 들어 서열식별번호: 122)에 비해 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치

환)을 포함하고;

여기서 제2 중쇄의 CH3 영역은 1개 이상의 아미노산 변형을 함유하지 않는 참조 CH3 영역의 아미노산 서열 (예를 들어, 야생형 CH3 영역, 예를 들어 서열식별번호: 122)에 비해 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하고;

여기서 전장 항체의 제1 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형은 전장 항체의 제2 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형과 상이하고;

여기서 전장 항체의 제1 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형 및 전장 항체의 제2 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형은 전장 항체의 제1 및 제2 중쇄의 이중이량체화를 촉진하는 것인

융합 단백질.

청구항 132

제131항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드가 (a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 아미노산 위치 W37, F82 및 K219에 서의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 133

제131항 또는 제132항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환 W37A, F82A 및 K219A를 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 134

제131항 내지 제133항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 융합 단백질.

청구항 135

제131항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 136

제131항 내지 제135항 중 어느 한 항에 있어서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 서열식별번호: 31 또는 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 융합 단백질.

청구항 137

제131항 내지 제136항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열이 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 138

제131항 내지 제137항 중 어느 한 항에 있어서, 전장 항체가 hCAIX에 특이적으로 결합하는 것인 융합 단백질.

청구항 139

제131항 내지 제138항 중 어느 한 항에 있어서, VH CDR1의 아미노산 서열이 서열식별번호: 237의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 237의 아

미노산 서열을 포함하고; VH CDR2의 아미노산 서열이 서열식별번호: 238의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 238의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR3의 아미노산 서열이 서열식별번호: 239의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 239의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR1의 아미노산 서열이 서열식별번호: 240의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 240의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR2의 아미노산 서열이 서열식별번호: 241의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 242의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR3의 아미노산 서열이 서열식별번호: 243의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 243의 아미노산 서열을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 140

제131항 내지 제139항 중 어느 한 항에 있어서, VH의 아미노산 서열이 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열이 서열식별번호: 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 141

제131항 내지 제140항 중 어느 한 항에 있어서, VH의 아미노산 서열이 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열이 서열식별번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진 것인 융합 단백질.

청구항 142

제131항 내지 제141항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 중쇄 및 제2 중쇄가 각각, Fc 영역 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 함유하지 않는 참조 Fc 영역과 비교하여, 상기 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 143

제142항에 있어서, 적어도 1종의 이펙터 기능이 ADCC, ADCP 또는 CDC 유도 능력, Fc 수용체에 대한 결합 능력 또는 임의의 조합을 포함하는 것인 융합체.

청구항 144

hCAIX에 특이적으로 결합하고, VH 및 VL을 포함하며, 여기서 VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 3-9 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 10-17 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인).

청구항 145

제144항에 있어서, VH의 아미노산 서열이 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열이 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 항체.

청구항 146

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드, 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드, 제25항 내지 제35항 중 어느 한 항의 schIL-12 폴리펩티드, 제36항 내지 제143항 중 어느 한 항의 융

합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드) 또는 제144항 또는 제145항의 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 147

제146항에 있어서, RNA (예를 들어, mRNA) 또는 DNA인 폴리뉴클레오티드.

청구항 148

제146항 또는 제147항에 있어서, 코돈 최적화된 폴리뉴클레오티드.

청구항 149

제146항 내지 제148항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 발현 벡터.

청구항 150

제149항에 있어서, 바이러스 벡터 또는 플라스미드인 발현 벡터.

청구항 151

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드, 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드, 제25항 내지 제35항 중 어느 한 항의 schIL-12 폴리펩티드, 제36항 내지 제143항 중 어느 한 항의 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제144항 또는 제145항의 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제146항 내지 제148항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드 또는 제149항 또는 제150항의 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 152

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드, 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드, 제25항 내지 제35항 중 어느 한 항의 schIL-12 폴리펩티드, 제36항 내지 제143항 중 어느 한 항의 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제144항 또는 제145항의 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제146항 내지 제148항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드 또는 제149항 또는 제150항의 발현 벡터를 포함하는 담체.

청구항 153

제152항에 있어서, 지질 나노입자, 리포솜, 리포플렉스 또는 나노리포솜인 담체.

청구항 154

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드, 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드, 제25항 내지 제35항 중 어느 한 항의 schIL-12 폴리펩티드, 제36항 내지 제143항 중 어느 한 항의 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제144항 또는 제145항의 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제146항 내지 제148항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드, 제149항 또는 제150항의 발현 벡터, 제151항의 숙주 세포 또는 제152항 또는 제153항의 담체 및 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 155

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드, 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드, 제25항 내지 제35항 중 어느 한 항의 schIL-12 폴리펩티드, 제36항 내지 제143항 중 어느 한 항의 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제144항 또는 제145항의 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제146항 내지 제148항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드, 제149항 또는 제150항의 발현 벡터, 제151항의 숙주 세포, 제152항 또는 제153항의 담체 또는 제154항의 제약 조성물을 포함하는 키트.

청구항 156

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드, 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드, 제25항 내지 제35항 중 어느 한 항의 schIL-12 폴리펩티드, 제36항 내지 제143항 중 어느 한 항의 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드) 또는 제131항 또는 제132항의 항체 (또는 그의 폴리펩티드)를 제

조하는 방법으로서,

- a. 제146항 내지 제148항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드 또는 제149항 또는 제150항의 발현 벡터를 시험관 내 또는 생체의 세포의 집단 내로 도입하는 단계;
- b. 세포의 집단이 다중특이적 단백질을 발현하기에 충분한 조건 하에 세포의 집단을 배양하는 단계; 및
- c. 임의로 hIL-12p40 폴리펩티드, hIL-12p35 폴리펩티드, schIL-12 폴리펩티드 또는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)을 분리 및/또는 정제하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 157

대상체에게 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드, 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드, 제25항 내지 제35항 중 어느 한 항의 schIL-12 폴리펩티드, 제36항 내지 제143항 중 어느 한 항의 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제144항 또는 제145항의 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제146항 내지 제148항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드, 제149항 또는 제150항의 발현 벡터, 제151항의 숙주 세포, 제152항 또는 제153항의 담체 또는 제154항의 제약 조성물을, 대상체에게 hIL-12p40 폴리펩티드, hIL-12p35 폴리펩티드, schIL-12 폴리펩티드, 융합 단백질, 폴리뉴클레오티드, 발현 벡터, 숙주 세포, 담체 또는 제약 조성물을 전달하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 것을 포함하는, 대상체에게 폴리펩티드, 융합 단백질, 항체, 폴리뉴클레오티드, 발현 벡터, 숙주 세포, 담체 또는 제약 조성물을 전달하는 방법.

청구항 158

대상체에게 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드, 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드, 제25항 내지 제35항 중 어느 한 항의 schIL-12 폴리펩티드, 제36항 내지 제143항 중 어느 한 항의 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제144항 또는 제145항의 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제146항 내지 제148항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드, 제149항 또는 제150항의 발현 벡터, 제151항의 숙주 세포, 제152항 또는 제153항의 담체 또는 제154항의 제약 조성물을, 대상체에서 T-세포 또는 NK 세포 이펙터 기능을 자극하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 T-세포 또는 NK 세포 이펙터 기능을 자극하는 방법.

청구항 159

암의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에게 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드, 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드, 제25항 내지 제35항 중 어느 한 항의 schIL-12 폴리펩티드, 제36항 내지 제143항 중 어느 한 항의 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제144항 또는 제145항의 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제146항 내지 제148항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드, 제149항 또는 제150항의 발현 벡터, 제151항의 숙주 세포, 제152항 또는 제153항의 담체 또는 제154항의 제약 조성물을, 대상체에서 암을 예방 또는 치료하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 암을 예방 또는 치료하는 방법.

청구항 160

제159항에 있어서, 암이 고형 종양인 방법.

청구항 161

제159항 또는 제160항에 있어서, 암이 폐암, 중추 신경계 암 (예를 들어, 뇌암 또는 척수암, 예를 들어 성상세포종, 교모세포종), 유방암, 결장직장암, 결장암, 직장암, 식도암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 위암, 피부암, 방광암, 자궁암, 뇌암, 자궁내막암, 구순암, 구강암, 중피종, 육종, 갑상선암, 흉선암, 신암, 항문암, 두부암, 경부암 또는 두경부암인 방법.

청구항 162

제159항 내지 제161항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 신암 (예를 들어, 신세포 암종), 방광암, 결장직장암, 소

장암, 식도/식도위 접합부 (GEJ) 암, 중추 신경계 암 (예를 들어, 뇌암 또는 척수암, 예를 들어 교모세포종), 자궁경부암, 위암, 폐암 (예를 들어, 소세포 폐암) 또는 위장암인 방법.

청구항 163

대상체의 암 (예를 들어, 고형 암) 세포에서 CAIX의 발현을 결정하는 방법으로서,

- a. 대상체로부터 암 세포를 함유하지 않는 (또는 상당수의 암 세포를 함유하지 않는) 샘플을 수득하는 단계, 및
- b. 샘플 중 가용성 CAIX (또는 그의 단편 또는 변이체)의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 164

CAIX를 발현하는 암 세포를 포함하는 암 (예를 들어, 고형 암)을 갖는 대상체를 진단하는 방법으로서,

- a. 대상체로부터 암 세포를 함유하지 않는 (또는 상당수의 암 세포를 함유하지 않는) 샘플을 수득하는 단계;
- b. 샘플 중 가용성 CAIX (또는 그의 단편 또는 변이체)의 존재 또는 부재를 결정하는 단계; 및
- c. 가용성 CAIX가 샘플에 존재하는 것으로 결정된 경우에, 대상체를 CAIX를 발현하는 암 세포를 포함하는 암 (예를 들어, 고형 암)을 갖는 것으로 진단하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 165

대상체에서 암 (예를 들어, 고형 암)을 치료하는 방법으로서,

- a. 대상체로부터의 암 세포를 함유하지 않는 (또는 상당수의 암 세포를 함유하지 않는) 샘플 중 가용성 CAIX의 존재를 결정한 시험 결과를 받는 단계;
- b. 대상체가 CAIX를 발현하는 암 세포를 포함하는 암 (예를 들어, 고형 암)을 갖는 것으로 진단하는 단계; 및
- c. 암 (예를 들어, 고형 암)의 치료를 필요로 하는 대상체에게 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 hIL-12p40 폴리펩티드, 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항의 hIL-12p35 폴리펩티드, 제25항 내지 제35항 중 어느 한 항의 schIL-12 폴리펩티드, 제36항 내지 제143항 중 어느 한 항의 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제144항 또는 제145항의 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 제146항 내지 제148항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드, 제149항 또는 제150항의 발현 벡터, 제151항의 숙주 세포, 제152항 또는 제153항의 담체 또는 제154항의 제약 조성물을, 대상체에서 암 (예를 들어, 고형 암)을 치료하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 166

제163항 내지 제165항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플이 혈액, 혈청 또는 혈장인 방법.

청구항 167

제163항 내지 제166항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 인간인 방법.

청구항 168

제163항 내지 제167항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 (예를 들어, 고형 암)인 방법.

청구항 169

제163항 내지 제168항 중 어느 한 항에 있어서, 고형 암이 신암 (예를 들어, 신세포 암종), 방광암, 결장직장암, 소장암, 식도/식도위 접합부 (GEJ) 암, 중추 신경계 암 (예를 들어, 뇌암 또는 척수암, 예를 들어 교모세포종), 자궁경부암, 위암, 폐암 (예를 들어, 소세포 폐암) 또는 위장암인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2021년 9월 17일에 출원된 미국 가출원 번호 63/245,523의 이익 및 우선권을 주장하며, 이의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 1. 분야

[0004] 본 개시내용은 IL-12p40 변이체, IL-12p35 변이체, IL-12 융합 단백질 및 그의 사용 방법에 관한 것이다. 본 개시내용은 추가로 IL-12를 세포 표면 상에 표적 단백질 (예를 들어, hCAIX)을 발현하는 세포로 표적화하는 다중특이적 IL-12 융합 단백질 및 그의 사용 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 2. 배경기술

[0006] 인간 IL-12 (hIL-12)는 α 서브유닛, 인간 IL-12p35 (hIL-12p35) 및 β 서브유닛, 인간 IL-12p40 (hIL-12p40)으로 구성된 다면발현성 분비 시토카인이다. 자연 발생 hIL-12p35 및 hIL-12p40 서브유닛은 디설피드 결합을 통해 연결되어 생물활성 hIL12-p70 시토카인을 형성한다. hIL-12는 특히 염증유발성이고, hIL-12 수용체 (hIL-12R)에 대한 결합을 통해 그의 기능을 매개한다. 고친화도 hIL-12R은 hIL-12R β 1 서브유닛 및 hIL-12R β 2 서브유닛을 포함하는 이종이량체이다. hIL-12R은 자연 킬러 (NK) 세포, T-세포 및 B-세포를 포함한 다양한 면역 세포에서 구성적 또는 유도성 방식으로 발현된다. 예를 들어 활성화된 T 세포, NK 세포 및 수지상 세포 상에 발현된 hIL-12R에 대한 hIL-12의 결합은 TYK2, JAK2 및 STAT 신호전달 경로를 활성화시킨다. hIL-12의 주요 역할 중 하나는 T-세포 및 NK 세포를 활성화시켜 증가된 INF- γ 생산, 증식 및 세포독성 잠재력을 유도하는 것이다.

발명의 내용

[0007] 3. 발명의 내용

[0008] 특히, IL-12p40 변이체 및 IL-12p35 폴리펩티드 및 그를 코딩하는 폴리뉴클레오티드; IL-12 융합 단백질 및 접합체; 제조 방법; 제약 조성물; 및 예를 들어 질환 (예를 들어, 암)의 치료 방법을 포함한 사용 방법이 본원에 제공된다.

[0009] 한 측면에서, (a) 서열식별번호(SEQ ID NO): 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 아미노산 위치 (i) W37, F82 및 K219; (ii) W37, F82 및 K217; (iii) K106, K217 및 K219; (iv) W37 및 F82; (v) W37 및 K217; (vi) W37 및 K219; (vii) W37 및 K106; (viii) F82 및 K106; (xiv) F82 및 K217; (xv) F82 및 K219; (xvi) K217 및 K219; (xvii) K106 및 K217; 또는 (xviii) K106 및 K219에서의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진 인간 인터류킨 12 p40 (hIL-12p40) 폴리펩티드가 본원에 제공된다.

[0010] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환 (i) W37A, F82A 및 K219A; (ii) W37A, F82A 및 K217A; (iii) K106A, K217A 및 K219A; (iv) W37A 및 F82A; (v) W37A 및 K217A; (vi) W37A 및 K219A; (vii) W37A 및 K106A; (viii) F82A 및 K106A; (xiv) F82A 및 K217A; (xv) F82A 및 K219A; (xvi) K217A 및 K219A; (xvii) K106A 및 K217A; 또는 (xviii) K106A 및 K219A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0011] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 아미노산 위치 W37, F82 및 K219에서의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0012] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환 W37A, F82A 및 K219A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0013] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 5에 제시된 어느 하나의 폴리펩티드의 아미노

산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 5에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0014] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38-65 중 어느 하나의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38-65 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0015] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38-51 중 어느 하나의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38-51 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0016] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 52-65 중 어느 하나의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 52-65 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0017] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38 또는 52의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38 또는 52에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0018] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0019] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38의 아미노산 서열에 대해 100% 동일하다.

[0020] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 hIL-12 수용체 (hIL-12R)에 특이적으로 결합한다.

[0021] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다.

[0022] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개한다.

[0023] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 인터페론 감마 (IFN- γ)의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다.

[0024] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에 의해 생산된 IFN- γ 의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배,

0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개한다.

- [0025] 한 측면에서, (a) 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; (b) 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 위치 E60, F61, P63, K150, F188, Y189A 중 1개 이상에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가, 결실 (예를 들어, 치환))을 포함하거나 또는 그로 이루어진 인간 인터류킨 12 p35 (hIL-12p35) 폴리펩티드가 본원에 제공된다.
- [0026] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 위치 (i) F188; (ii) Y189; (iii) F188 및 Y189; 또는 (iv) E60, F61, P63, K150 및 F188에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가, 결실 (예를 들어, 치환))을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0027] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: E60K, F61H, P63S, K150H, F188P, F188A 및/또는 Y189A 중 1개 이상을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0028] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 111-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 111-114 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0029] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환: (i) F188A; (ii) Y189A; (iii) F188A 및 Y189A; 또는 (iv) E60K, F61H, P63S, K150H 및 F188P를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0030] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 아미노산 A55-K92, N50-K92, M51-K92, L52-K92, Q53-K92, K54-K92, N50-N93, M51-N93, L52-N93, Q53-N93, K54-N93, N50-E94, M51-E94, L52-E94, Q53-E94, K54-E94, N50-S95, M51-S95, L52-S95, Q53-S95, K54-S95, N50-C96, M51-C96, L52-C96, Q53-C96, K54-C96, N50-L97, M51-L97, L52-L97, Q53-L97, K54-L97, N50-P87, M51-P87, L52-P87, Q53-P87, K54-P87, N50-L88, M51-L88, L52-L88, Q53-L88, K54-L88, N50-E89, M51-E89, L52-E89, Q53-E89, K54-E89, N50-L90, M51-L90, L52-L90, Q53-L90, K54-L90, N50-T91, M51-T91, L52-T91, Q53-T91, K54-T91, R56-K92, Q57-K92, T58-K92, L59-K92, E60-K92, A55-N93, R56-N93, Q57-N93, T58-N93, L59-N93, E60-N93, A55-E94, R56-E94, Q57-E94, T58-E94, L59-E94, E60-E94, A55-S95, R56-S95, Q57-S95, T58-S95, L59-S95, E60-S95, A55-C96, R56-C96, Q57-C96, T58-C96, L59-C96, E60-C96, A55-L97, R56-L97, Q57-L97, T58-L97, L59-L97, E60-L97, A55-P87, R56-P87, Q57-P87, T58-P87, L59-P87, E60-P87, A55-L88, R56-L88, Q57-L88, T58-L88, L59-L88, E60-L88, A55-E89, R56-E89, Q57-E89, T58-E89, L59-E89, E60-E89, A55-L90, R56-L90, Q57-L90, T58-L90, L59-L90, E60-L90, A55-T91, R56-T91, Q57-T91, T58-T91, L59-T91 또는 E60-T91의 결실 (서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시)을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 아미노산 A55-K92, N50-K92, M51-K92, L52-K92, Q53-K92, K54-K92, N50-N93, M51-N93, L52-N93, Q53-N93, K54-N93, N50-E94, M51-E94, L52-E94, Q53-E94, K54-E94, N50-S95, M51-S95, L52-S95, Q53-S95, K54-S95, N50-C96, M51-C96, L52-C96, Q53-C96, K54-C96, N50-L97, M51-L97, L52-L97, Q53-L97, K54-L97, N50-P87, M51-P87, L52-P87, Q53-P87, K54-P87, N50-L88, M51-L88, L52-L88, Q53-L88, K54-L88, N50-E89, M51-E89, L52-E89, Q53-E89, K54-E89, N50-L90, M51-L90, L52-L90, Q53-L90, K54-L90, N50-T91, M51-T91, L52-T91, Q53-T91, K54-T91, R56-K92, Q57-K92, T58-K92, L59-K92, E60-K92, A55-N93, R56-N93, Q57-N93, T58-N93, L59-N93, E60-N93, A55-E94, R56-E94, Q57-E94, T58-E94, L59-E94, E60-E94, A55-S95, R56-S95, Q57-S95, T58-S95, L59-S95, E60-S95, A55-C96, R56-C96, Q57-C96, T58-C96, L59-C96, E60-C96, A55-L97, R56-L97, Q57-L97, T58-L97, L59-L97, E60-L97, A55-P87, R56-P87, Q57-P87, T58-P87, L59-P87, E60-P87, A55-L88, R56-L88, Q57-L88, T58-L88, L59-L88, E60-L88, A55-E89, R56-E89, Q57-E89, T58-E89, L59-E89, E60-E89, A55-L90, R56-L90, Q57-L90, T58-L90, L59-L90, E60-L90, A55-T91, R56-T91, Q57-T91, T58-T91, L59-T91 또는 E60-T91의 결실 이외에, 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하다.
- [0031] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 아미노산 A55-K92의 결실 (서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시)을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 아미노산 A55-K92의 결실

이외에, 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0032] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 110의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 결실의 세트 (서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 결실의 세트 이외에, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 110에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0033] 한 측면에서, hIL-12p35 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함하는 단일쇄 hIL-12 (schIL-12) 폴리펩티드가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 6에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31 또는 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드이다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 펩티드 링커를 통해 hIL-12p35 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p40 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p35 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함한다.

[0034] 한 측면에서, hIL-12p40 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함하는 schIL-12 폴리펩티드가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 10에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38-51 또는 90-109 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드이다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 펩티드 링커를 통해 hIL-12p35 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p40 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p35 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함한다.

[0035] 한 측면에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드 (예를 들어, 변이체 hIL-12p40 폴리펩티드), hIL-12p35 폴리펩티드; 및 이중 모이어티를 포함하는 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0036] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 6에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0037] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31 또는 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 10에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 33 또는 38-51 또는 90-109 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 33 또는 38의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0038] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드 및 hIL-12p35 폴리펩티드는 schIL-12 폴리펩티드로서 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 펩티드 링커를 통해 hIL-12p35 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p40 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p35 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함한다.

- [0039] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 인터페론 감마 (IFN- γ)의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 IFN- γ 의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개한다.
- [0040] 일부 실시양태에서, 이중 모이어티는 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인) 및/또는 1개 이상의 Fc 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 이중 모이어티는 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 이중 모이어티는 전장 항체, scFv, (scFv)₂, scFv-Fc, Fab, Fab', F(ab')₂, Fab-Fc, 단일 도메인 항체 (예를 들어, VHH) 또는 단일 도메인 항체-Fc (예를 들어, VHH-Fc)를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)는 3개의 가변 중쇄 영역 (VH) 상보성 결정 영역 (VH CDR): VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 제1 VH; 및 3개의 가변 경쇄 영역 (VL) CDR: VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 제1 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중 모이어티는 전장 항체를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0041] 일부 실시양태에서, 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)는 인간 종양 연관 항원 (hTAA)에 특이적으로 결합한다.
- [0042] 일부 실시양태에서, 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)는 인간 탄산 안하이드라제 IX (hCAIX)에 특이적으로 결합한다.
- [0043] 일부 실시양태에서, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3의 아미노산 서열은 각각 표 17에 제시된 항체의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0044] 일부 실시양태에서, VH CDR1의 아미노산 서열은 서열식별번호: 237의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 237의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR2의 아미노산 서열은 서열식별번호: 238의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 238의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR3의 아미노산 서열은 서열식별번호: 239의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 239의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR1의 아미노산 서열은 서열식별번호: 240의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 240의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR2의 아미노산 서열은 서열식별번호: 241의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 242의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR3의 아미노산 서열은 서열식별번호: 243의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 243의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0045] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 표 17에 제시된 임의의 VH 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 표 17에 제시된 임의의 VL 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0046] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7, 246, 256, 264, 274 또는 284 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12, 247, 257, 265, 275 또는 285 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0047] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0048] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0049] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제1 Fc 영역; 및 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제2 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, (a) 제1 Fc 영역은 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하고; 제2 Fc 영역은 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하거나; 또는 (b) 제1 Fc 영역은 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하고; 제2 Fc 영역은 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 hIgG1 또는 hIgG4 Fc 영역 또는 그의 기능적 변이체이다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 전장 항체의 일부이다.

[0050] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 CH3 영역 및 제2 Fc 영역의 CH3 영역은 각각 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함한다.

[0051] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366, L368 및 Y407에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366S, L368A 및 Y407V를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 Y349에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 Y349C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366, L368, Y407 및 Y349에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366W를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 S354에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 S354C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366W 및 S354C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 제1 Fc 영역은 하기 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함하고, 제2 Fc 영역은 하기 아미노산 치환 T366W 및 S354C를 포함한다.

[0052] 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366, L368 및 Y407에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366S, L368A 및 Y407V를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 Y349에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 Y349C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366, L368, Y407 및 Y349에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366W를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 S354에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서,

제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 S354C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366 및 S354에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366W 및 S354C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 제1 Fc 영역은 하기 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함하고, 제1 Fc 영역은 하기 아미노산 치환 T366W 및 S354C를 포함한다.

[0053] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각, Fc 영역 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 함유하지 않는 참조 Fc 영역과 비교하여, 상기 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 이펙터 기능은 Fc 영역의 항체-의존성 세포성 세포독성 (ADCC), 항체-의존성 세포성 식세포작용 (ADCP) 또는 보체 의존성 세포독성 (CDC) 유도 능력, Fc 수용체 (예를 들어, Fcγ 수용체)에 대한 결합 능력 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0054] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 L234, L235 및/또는 P329 중 1, 2 또는 3개에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: L234A, L235A 및/또는 P329G 또는 P329A 중 1, 2 또는 3개를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, L234A 및 L235A 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, L234A, L235A 및 P329A 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, L234A, L235A 및 P329G 아미노산 치환을 포함한다.

[0055] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단은 제1 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되고; hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단은 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 제1 펩티드 링커를 통해 제1 Fc 영역에 작동가능하게 연결되고; hIL-12p40 폴리펩티드는 제2 펩티드 링커를 통해 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81, 88-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0056] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단은 제1 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되고; hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단은 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 제1 펩티드 링커를 통해 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결되고; hIL-12p40 폴리펩티드는 제2 펩티드 링커를 통해 제1 Fc 영역에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0057] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드 및 hIL-12p35 폴리펩티드는 schIL-12 폴리펩티드로서 작동가능하게 연결되고, schIL-12 폴리펩티드의 N-말단은 제1 Fc 영역의 C-말단 또는 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 제1 펩티드 링커를 통해 제1 Fc 영역 또는 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는

그로 이루어진다.

- [0058] 한 측면에서, hIL-12p40 폴리펩티드; 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드 (예를 들어, 변이체 hIL-12p35 폴리펩티드); 및 이중 모이어티를 포함하는 융합 단백질이 본원에 제공된다.
- [0059] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 6에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0060] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31 또는 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 10에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 33 또는 38-51 또는 90-109 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 33 또는 38의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0061] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드 및 hIL-12p35 폴리펩티드는 schIL-12 폴리펩티드로서 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 펩티드 링커를 통해 hIL-12p35 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p40 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p35 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함한다.
- [0062] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 인터페론 감마 (IFN- γ)의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 IFN- γ 의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개한다.
- [0063] 일부 실시양태에서, 이중 모이어티는 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인) 및/또는 1개 이상의 Fc 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 이중 모이어티는 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 이중 모이어티는 전장 항체, scFv, (scFv)₂, scFv-Fc, Fab, Fab', F(ab')₂, Fab-Fc, 단일 도메인 항체 (예를 들어, VHH) 또는 단일 도메인 항체-Fc (예를 들어, VHH-Fc)를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)는 3개의 가변 중쇄 영역 (VH) 상보성 결정 영역 (VH CDR): VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 제1 VH; 및 3개의 가변 경쇄 영역 (VL) CDR: VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 제1 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이중 모이어티는 전장 항체를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0064] 일부 실시양태에서, 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)는 인간 종양 연관 항원 (hTAA)에 특이적으로 결합한다.
- [0065] 일부 실시양태에서, 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)는 인간 탄산 안하이드라제 IX (hCAIX)에 특이적으로 결합한다.

- [0066] 일부 실시양태에서, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3의 아미노산 서열은 각각 표 17에 제시된 항체의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0067] 일부 실시양태에서, VH CDR1의 아미노산 서열은 서열식별번호: 237의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 237의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR2의 아미노산 서열은 서열식별번호: 238의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 238의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR3의 아미노산 서열은 서열식별번호: 239의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 239의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR1의 아미노산 서열은 서열식별번호: 240의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 240의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR2의 아미노산 서열은 서열식별번호: 241의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 242의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR3의 아미노산 서열은 서열식별번호: 243의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 243의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0068] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 표 17에 제시된 임의의 VH 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 표 17에 제시된 임의의 VL 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0069] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7, 246, 256, 264, 274 또는 284 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12, 247, 257, 265, 275 또는 285 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0070] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0071] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0072] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제1 Fc 영역; 및 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제2 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, (a) 제1 Fc 영역은 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하고; 제2 Fc 영역은 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하거나; 또는 (b) 제1 Fc 영역은 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하고; 제2 Fc 영역은 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 hIgG1 또는 hIgG4 Fc 영역 또는 그의 기능적 변이체이다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 전장 항체의 일부이다.
- [0073] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 CH3 영역 및 제2 Fc 영역의 CH3 영역은 각각 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함한다.
- [0074] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366, L368 및 Y407에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366S, L368A 및 Y407V를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 Y349에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은

카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 Y349C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366, L368, Y407 및 Y349에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366W를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 S354에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 S354C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366 및 S354에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366W 및 S354C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 제1 Fc 영역은 하기 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함하고, 제2 Fc 영역은 하기 아미노산 치환 T366W 및 S354C를 포함한다.

[0075] 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366, L368 및 Y407에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366S, L368A 및 Y407V를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 Y349에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 Y349C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366, L368, Y407 및 Y349에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366W를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 S354에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 S354C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 T366 및 S354에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역은 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 T366W 및 S354C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 제1 Fc 영역은 하기 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함하고, 제1 Fc 영역은 하기 아미노산 치환 T366W 및 S354C를 포함한다.

[0076] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각, Fc 영역 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 함유하지 않는 참조 Fc 영역과 비교하여, 상기 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 이펙터 기능은 Fc 영역의 항체-의존성 세포성 세포독성 (ADCC), 항체-의존성 세포성 식세포작용 (ADCP) 또는 보체 의존성 세포독성 (CDC) 유도 능력, Fc 수용체 (예를 들어, Fcγ 수용체)에 대한 결합 능력 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0077] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 아미노산 위치 L234, L235 및/또는 P329 중 1, 2 또는 3개에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: L234A, L235A 및/또는 P329G 또는 P329A 중 1, 2 또는 3개를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, L234A 및 L235A 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, L234A, L235A 및 P329A 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 카바트의 EU 인덱스에 따른 넘버링 시, L234A, L235A 및 P329G 아미노산 치환을 포함한다.

[0078] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단은 제1 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되고; hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단은 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 제1 펩티드 링커를 통해 제1 Fc 영역에 작동가능하게 연결되고; hIL-12p40 폴리펩티드는 제2 펩티드 링커를 통해 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미

노산 서열은 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81, 88-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0079] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단은 제1 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되고; hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단은 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 제1 펩티드 링커를 통해 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결되고; hIL-12p40 폴리펩티드는 제2 펩티드 링커를 통해 제1 Fc 영역에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0080] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드 및 hIL-12p35 폴리펩티드는 schIL-12 폴리펩티드로서 작동가능하게 연결되고, schIL-12 폴리펩티드의 N-말단은 제1 Fc 영역의 C-말단 또는 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 제1 펩티드 링커를 통해 제1 Fc 영역 또는 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 18에 제시된 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0081] 한 측면에서, 융합 단백질로서, N-말단에서 C-말단으로 경쇄 가변 영역 (VL) 영역 및 경쇄 불변 영역 (CL) 영역을 포함하는 제1 경쇄; N-말단에서 C-말단으로 중쇄 가변 영역 (VH) 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제1 중쇄; N-말단에서 C-말단으로 VH 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제2 중쇄; N-말단에서 C-말단으로 VL 영역 및 VH 영역을 포함하는 제2 경쇄를 포함하며, 여기서 제1 경쇄 및 제1 중쇄는 회합하여 제1 항원 결합 도메인을 형성하고; 여기서 제2 경쇄 및 제2 중쇄는 회합하여 제2 항원 결합 도메인을 형성하고; 여기서 제1 중쇄 및 제2 중쇄는 회합하여 이량체를 형성하는 것인, hTAA에 특이적으로 결합하는 전장 항체; 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드 (예를 들어, 변이체 hIL-12p40), hIL-12p35 폴리펩티드를 포함하며, 여기서 전장 항체의 제1 중쇄의 CH3 영역은 1개 이상의 아미노산 변형을 함유하지 않는 참조 CH3 영역의 아미노산 서열 (예를 들어, 야생형 CH3 영역, 예를 들어 서열식별번호: 122)에 비해 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하고; 여기서 전장 항체의 제2 중쇄의 CH3 영역은 1개 이상의 아미노산 변형을 함유하지 않는 참조 CH3 영역의 아미노산 서열 (예를 들어, 야생형 CH3 영역, 예를 들어 서열식별번호: 122)에 비해 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하고; 여기서 전장 항체의 제1 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형은 전장 항체의 제2 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형과 상이하고; 여기서 전장 항체의 제1 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형 및 전장 항체의 제2 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형은 전장 항체의 제1 및 제2 중쇄의 이중이량체화를 촉진하고; 여기서 hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단은 제1 펩티드 링커를 통해 제1 중쇄의 CH3 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되고; 여기서 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단은 제2 펩티드 링커를 통해 제2 중쇄의 CH3 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되는 것인 융합 단백질이 본원에 제공된다.

[0082] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 (a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 아미노산 위치 W37, F82 및 K219에서 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0083] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노

산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환 W37A, F82A 및 K219A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

- [0084] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0085] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0086] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31 또는 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0087] 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0088] 일부 실시양태에서, 제1 항원 결합 도메인은 hCAIX에 특이적으로 결합하고, 제2 항원 결합 도메인은 hCAIX에 특이적으로 결합한다.
- [0089] 일부 실시양태에서, VH CDR1의 아미노산 서열은 서열식별번호: 237의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 237의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR2의 아미노산 서열은 서열식별번호: 238의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 238의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR3의 아미노산 서열은 서열식별번호: 239의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 239의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR1의 아미노산 서열은 서열식별번호: 240의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 240의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR2의 아미노산 서열은 서열식별번호: 241의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 242의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR3의 아미노산 서열은 서열식별번호: 243의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 243의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0090] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0091] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0092] 일부 실시양태에서, 제1 중쇄 및 제2 중쇄는 각각, Fc 영역 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 함유하지 않는 참조 Fc 영역과 비교하여, 상기 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 이펙터 기능은 ADCC, ADCP 또는 CDC 유도 능력, Fc 수용체에 대한 결합 능력 또는 임의의 조합을 포함한다.
- [0093] 한 측면에서, 융합 단백질로서, N-말단에서 C-말단으로 VL 영역 및 CL 영역을 포함하는 제1 경쇄를 포함하는 제1 폴리펩티드; N-말단에서 C-말단으로: (i) N-말단에서 C-말단으로 VH 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제1 중쇄; (ii) 제1 펩티드 링커 및 (iii) 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드 (예를 들어, 변이체 hIL-12p40)를 포함하는 제2 폴리펩티드; N-말단에서 C-말단으로: (i) N-말단에서 C-말단으로 VH 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제2 중쇄, (ii) 제2 펩티드 링커; 및 (iii) hIL-12p35 폴리펩티드를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단으로 VL 영역 및 CL 영역을 포함하는 제2

경쇄를 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함하며, 여기서 제1 경쇄의 VL 및 제1 중쇄의 VH는 회합하여 제1 hTAA에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 형성하고; 여기서 제1 중쇄의 CH3 영역은 1개 이상의 아미노산 변형을 함유하지 않는 참조 CH3 영역의 아미노산 서열 (예를 들어, 야생형 CH3 영역, 예를 들어 서열식별번호: 122)에 비해 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하고; 여기서 제2 중쇄의 CH3 영역은 1개 이상의 아미노산 변형을 함유하지 않는 참조 CH3 영역의 아미노산 서열 (예를 들어, 야생형 CH3 영역, 예를 들어 서열식별번호: 122)에 비해 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하고; 여기서 전장 항체의 제1 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형은 전장 항체의 제2 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형과 상이하고; 여기서 전장 항체의 제1 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형 및 전장 항체의 제2 중쇄의 CH3 영역 내의 1개 이상의 아미노산 변형은 전장 항체의 제1 및 제2 중쇄의 이중이량체화를 촉진하는 것인 융합 단백질이 본원에 제공된다.

- [0094] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 (a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 아미노산 위치 W37, F82 및 K219에 서의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0095] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환 W37A, F82A 및 K219A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0096] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 아미노산 치환)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0097] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0098] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31 또는 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0099] 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 제2 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0100] 일부 실시양태에서, 전장 항체는 hCAIX에 특이적으로 결합한다.
- [0101] 일부 실시양태에서, VH CDR1의 아미노산 서열은 서열식별번호: 237의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 237의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR2의 아미노산 서열은 서열식별번호: 238의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 238의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR3의 아미노산 서열은 서열식별번호: 239의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 239의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR1의 아미노산 서열은 서열식별번호: 240의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 240의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR2의 아미노산 서열은 서열식별번호: 241의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 242의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR3의 아미노산 서열은 서열식별번호: 243의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 243의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0102] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0103] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%,

88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0104] 일부 실시양태에서, 제1 중쇄 및 제2 중쇄는 각각, Fc 영역 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 함유하지 않는 참조 Fc 영역과 비교하여, 상기 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 이펙터 기능은 ADCC, ADCP 또는 CDC 유도 능력, Fc 수용체에 대한 결합 능력 또는 임의의 조합을 포함한다.

[0105] 한 측면에서, hCAIX에 특이적으로 결합하고, VH 및 VL을 포함하며, 여기서 VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 3-9 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 10-17 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)가 본원에 제공된다.

[0106] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0107] 한 측면에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드, 본원에 기재된 schIL-12 폴리펩티드, 본원에 기재된 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드) 또는 본원에 기재된 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 RNA (예를 들어, mRNA) 또는 DNA이다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 코돈 최적화된다.

[0108] 한 측면에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 발현 벡터가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 발현 벡터는 바이러스 벡터 또는 플라스미드이다.

[0109] 한 측면에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드, 본원에 기재된 schIL-12 폴리펩티드, 본원에 기재된 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 본원에 기재된 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포가 본원에 제공된다.

[0110] 한 측면에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드, 본원에 기재된 schIL-12 폴리펩티드, 본원에 기재된 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 본원에 기재된 발현 벡터를 포함하는 담체가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 담체는 지질 나노입자, 리포솜, 리포플렉스 또는 나노리포솜이다.

[0111] 한 측면에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드, 본원에 기재된 schIL-12 폴리펩티드, 본원에 기재된 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 본원에 기재된 발현 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포 또는 본원에 기재된 담체 및 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물이 본원에 제공된다.

[0112] 한 측면에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드, 본원에 기재된 schIL-12 폴리펩티드, 본원에 기재된 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 본원에 기재된 발현 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포, 본원에 기재된 담체 또는 본원에 기재된 제약 조성물을 포함하는 키트가 본원에 제공된다.

[0113] 한 측면에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 본원에 기재된 발현 벡터를 시험관내 또는 생체의 세포의 집단 내로 도입하는 단계; 세포의 집단이 다중특이적 단백질을 발현하기에 충분한 조건 하에 세포의 집단을 배양하는 단계; 및 임의로 hIL-12p40 폴리펩티드, hIL-12p35 폴리펩티드, schIL-12 폴리펩티드 또는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)을 분리 및/또는 정제하는 단계를 포함하는, 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드, 본원에 기재된 schIL-12 폴리펩티드, 본원에 기재된 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)를 제조하는 방법

이 본원에 제공된다.

- [0114] 한 측면에서, 대상체에게 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드, 본원에 기재된 schIL-12 폴리펩티드, 본원에 기재된 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 본원에 기재된 발현 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포, 본원에 기재된 담체 또는 본원에 기재된 제약 조성물을, 대상체에서 hIL-12p40 폴리펩티드, hIL-12p35 폴리펩티드, schIL-12 폴리펩티드, 융합 단백질, 폴리뉴클레오티드, 발현 벡터, 숙주 세포, 담체 또는 제약 조성물을 전달하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 것을 포함하는, 대상체에게 폴리펩티드, 융합 단백질, 항체, 폴리뉴클레오티드, 발현 벡터, 숙주 세포, 담체 또는 제약 조성물을 전달하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0115] 대상체에게 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드, 본원에 기재된 schIL-12 폴리펩티드, 본원에 기재된 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 본원에 기재된 발현 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포, 본원에 기재된 담체 또는 본원에 기재된 제약 조성물을, 대상체에서 T-세포 또는 NK 세포 이펙터 기능을 자극하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 T-세포 또는 NK 세포 이펙터 기능을 자극하는 방법.
- [0116] 암의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에게 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드, 본원에 기재된 schIL-12 폴리펩티드, 본원에 기재된 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 본원에 기재된 발현 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포, 본원에 기재된 담체 또는 본원에 기재된 제약 조성물을, 대상체에서 암을 예방 또는 치료하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 암을 예방 또는 치료하는 방법.
- [0117] 일부 실시양태에서, 암은 고형 종양이다. 일부 실시양태에서, 암은 폐암, 중추 신경계 암 (예를 들어, 뇌암 또는 척수암, 예를 들어 성상세포종, 교모세포종), 유방암, 결장직장암, 결장암, 직장암, 식도암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 위암, 피부암, 방광암, 자궁암, 뇌암, 자궁내막암, 구순암, 구강암, 중피종, 육종, 갑상선암, 흉선암, 신암, 항문암, 두부암, 경부암 또는 두경부암이다.
- [0118] 일부 실시양태에서, 암은 신암 (예를 들어, 신세포 암종), 방광암, 결장직장암, 소장암, 식도/식도위 접합부 (GEJ) 암, 중추 신경계 암 (예를 들어, 뇌암 또는 척수암, 예를 들어 교모세포종), 자궁경부암, 위암, 폐암 (예를 들어, 소세포 폐암) 또는 위장암이다.
- [0119] 한 측면에서, 대상체로부터 암 세포를 함유하지 않는 (또는 상당수의 암 세포를 함유하지 않는) 샘플을 수득하는 단계, 및 샘플 중 가용성 CAIX (또는 그의 단편 또는 변이체)의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하는, 대상체의 암 (예를 들어, 고형 암)의 세포에서 CAIX의 발현을 결정하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0120] 일부 실시양태에서, 샘플은 혈액, 혈청 또는 혈장이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다.
- [0121] 일부 실시양태에서, 암은 (예를 들어, 고형 암)이다. 일부 실시양태에서, 고형 암은 신암 (예를 들어, 신세포 암종), 방광암, 결장직장암, 소장암, 식도/식도위 접합부 (GEJ) 암, 중추 신경계 암 (예를 들어, 뇌암 또는 척수암, 예를 들어 교모세포종), 자궁경부암, 위암, 폐암 (예를 들어, 소세포 폐암) 또는 위장암이다.
- [0122] 한 측면에서, 대상체로부터 암 세포를 함유하지 않는 (또는 상당수의 암 세포를 함유하지 않는) 샘플을 수득하는 단계; 샘플 중 가용성 CAIX (또는 그의 단편 또는 변이체)의 존재 또는 부재를 결정하는 단계; 및 가용성 CAIX가 샘플에 존재하는 것으로 결정된 경우에, 대상체가 CAIX를 발현하는 암 세포를 포함하는 암 (예를 들어, 고형 암)을 갖는 것으로 진단하는 단계를 포함하는, CAIX를 발현하는 암 세포를 포함하는 암 (예를 들어, 고형 암)을 갖는 대상체를 진단하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0123] 일부 실시양태에서, 샘플은 혈액, 혈청 또는 혈장이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다.
- [0124] 일부 실시양태에서, 암은 (예를 들어, 고형 암)이다. 일부 실시양태에서, 고형 암은 신암 (예를 들어, 신세포 암종), 방광암, 결장직장암, 소장암, 식도/식도위 접합부 (GEJ) 암, 중추 신경계 암 (예를 들어, 뇌암 또는 척수암, 예를 들어 교모세포종), 자궁경부암, 위암, 폐암 (예를 들어, 소세포 폐암) 또는 위장암이다.
- [0125] 한 측면에서, 대상체로부터의 암 세포를 함유하지 않는 (또는 상당수의 암 세포를 함유하지 않는) 샘플 중 가용성 CAIX의 존재를 결정한 시험 결과를 받는 단계; 대상체를 CAIX를 발현하는 암 세포를 포함하는 암 (예를

들어, 고행 암)을 갖는 것으로 진단하는 단계; 및 암 (예를 들어, 고행 암)의 치료를 필요로 하는 대상체에게 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드, 본원에 기재된 schIL-12 폴리펩티드, 본원에 기재된 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 항체 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 본원에 기재된 발현 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포, 본원에 기재된 담체 또는 본원에 기재된 제약 조성물을, 대상체에서 암 (예를 들어, 고행 암)을 치료하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암 (예를 들어, 고행 암)을 치료하는 방법이 본원에 제공된다.

[0126] 일부 실시양태에서, 샘플은 혈액, 혈청 또는 혈장이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0127] 일부 실시양태에서, 암은 (예를 들어, 고행 암)이다. 일부 실시양태에서, 고행 암은 신암 (예를 들어, 신세포 암종), 방광암, 결장직장암, 소장암, 식도/식도위 접합부 (GEJ) 암, 중추 신경계 암 (예를 들어, 뇌암 또는 척수암, 예를 들어 교모세포종), 자궁경부암, 위암, 폐암 (예를 들어, 소세포 폐암) 또는 위장암이다.

도면의 간단한 설명

[0128] 4. 도면의 간단한 설명

도 1은 본원에 기재된 예시적인 항체 (예를 들어, 항-CAIX 항체) IL-12 융합 단백질의 그래픽 도시이다. 도시된 구체적 실시양태에서, 융합 단백질은 전장 항체, 전장 항체의 제1 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된 IL-12p35 (예를 들어, 본원에 기재된 IL-12p35 폴리펩티드) 및 전장 항체의 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된 IL-12p40 (예를 들어, 본원에 기재된 IL-12p40 폴리펩티드)을 포함한다. 도시된 구체적 실시양태에서, 제1 및 제2 Fc 영역은 이중이량체이며, 여기서 각각의 Fc 영역은 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 1종 이상의 Fc 이펙터 기능 (예를 들어, 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC), 항체-의존성 세포성 식세포작용 (ADCP), 보체 의존성 세포독성 (CDC), Fc 수용체 결합)을 제거하거나 감소시키는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다.

도 2는 본원에 기재된 예시적인 항체 (예를 들어, 항-CAIX 항체) IL-12 융합 단백질의 그래픽 도시이다. 도시된 구체적 실시양태에서, 융합 단백질은 전장 항체 및 전장 항체의 제1 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된 scIL-12 (예를 들어, 본원에 기재된 scIL-12 폴리펩티드)를 포함한다. 도시된 구체적 실시양태에서, 제1 및 제2 Fc 영역은 이중이량체이며, 여기서 각각의 Fc 영역은 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 1종 이상의 Fc 이펙터 기능 (예를 들어, ADCC, ADCP, CDC, Fc 수용체 결합)을 제거하거나 감소시키는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다.

도 3은 본원에 기재된 예시적인 항체 (예를 들어, 항-CAIX 항체) IL-12 융합 단백질의 그래픽 도시이다. 도시된 구체적 실시양태에서, 융합 단백질은 2개의 scFv (여기서 1개의 scFv는 제1 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결되고, 제2 scFv는 제2 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결됨); 제1 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된 IL-12p35 (예를 들어, 본원에 기재된 IL-12p35 폴리펩티드); 및 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된 IL-12p40 (예를 들어, 본원에 기재된 IL-12p40 폴리펩티드)을 포함한다. 도시된 구체적 실시양태에서, 제1 및 제2 Fc 영역은 이중이량체이며, 여기서 각각의 Fc 영역은 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 1종 이상의 Fc 이펙터 기능 (예를 들어, ADCC, ADCP, CDC, Fc 수용체 결합)을 제거하거나 감소시키는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다.

도 4는 본원에 기재된 예시적인 항체 (예를 들어, 항-CAIX 항체) IL-12 융합 단백질의 그래픽 도시이다. 도시된 구체적 실시양태에서, 융합 단백질은 2개의 scFv (여기서 1개의 scFv는 제1 Fc의 N-말단에 작동가능하게 연결되고, 제2 scFv는 제2 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결됨); 및 제1 또는 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된 scIL-12 (예를 들어, 본원에 기재된 sc-IL-12 폴리펩티드)를 포함한다. 도시된 구체적 실시양태에서, 제1 및 제2 Fc 영역은 이중이량체이며, 여기서 각각의 Fc 영역은 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 1종 이상의 Fc 이펙터 기능 (예를 들어, ADCC, ADCP, CDC, Fc 수용체 결합)을 제거하거나 감소시키는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다.

도 5는 본원에 기재된 예시적인 항체 (예를 들어, 항-CAIX 항체) IL-12 융합 단백질의 그래픽 도시이다. 도시

된 구체적 실시양태에서, 융합 단백질은 전장 항체 및 전장 항체의 제1 또는 제2 Fc 영역 중 하나의 C-말단에 작동가능하게 연결된 IL-12p35 (예를 들어, 본원에 기재된 IL-12p35 폴리펩티드)를 포함한다. 도시된 구체적 실시양태에서, 제1 및 제2 Fc 영역은 이중이량체이며, 여기서 각각의 Fc 영역은 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 1종 이상의 Fc 이펙터 기능 (예를 들어, ADCC, ADCP, CDC, Fc 수용체 결합)을 제거하거나 감소시키는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다.

도 6은 본원에 기재된 예시적인 항체 (예를 들어, 항-CAIX 항체) IL-12 융합 단백질의 그래픽 도시이다. 도시된 구체적 실시양태에서, 융합 단백질은 코일 도메인 (예를 들어, 본원에 기재된 코일 도메인)을 통해 제1 Fc 영역에 작동가능하게 연결된 제1 DART 및 제2 Fc 영역 (예를 들어, 본원에 기재된 코일 도메인)에 작동가능하게 연결된 제2 DART; 제1 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된 IL-12p35 (예를 들어, 본원에 기재된 IL-12p35 폴리펩티드); 및 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된 IL-12p40 (예를 들어, 본원에 기재된 IL-12p40 폴리펩티드)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-천연 디설피드 결합이 제1 및 제2 DART의 중쇄 내로 도입된다. 도시된 구체적 실시양태에서, 제1 및 제2 Fc 영역은 이중이량체이며, 여기서 각각의 Fc 영역은 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 1종 이상의 Fc 이펙터 기능 (예를 들어, ADCC, ADCP, CDC, Fc 수용체 결합)을 제거하거나 감소시키는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다.

도 7은 본원에 기재된 예시적인 항체 (예를 들어, 항-CAIX 항체) IL-12 융합 단백질의 그래픽 도시이다. 도시된 구체적 실시양태에서, 융합 단백질은 제1 Fc 영역의 N-말단에 탠덤으로 작동가능하게 연결된 2개의 scFv; 및 제2 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결된 scIL-12 (예를 들어, 본원에 기재된 scIL-12 폴리펩티드)를 포함한다. 도시된 구체적 실시양태에서, 제1 및 제2 Fc 영역은 이중이량체이며, 여기서 각각의 Fc 영역은 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 1종 이상의 Fc 이펙터 기능 (예를 들어, ADCC, ADCP, CDC, Fc 수용체 결합)을 제거하거나 감소시키는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다.

도 8은 본원에 기재된 예시적인 항체 (예를 들어, 항-CAIX 항체) IL-12 융합 단백질의 그래픽 도시이다. 도시된 구체적 실시양태에서, 융합 단백질은 제1 Fc 영역의 N-말단에 탠덤으로 작동가능하게 연결된 2개의 scFv; 및 제2 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결된 단일 도메인 항체에 작동가능하게 연결된 scIL-12 (예를 들어, 본원에 기재된 scIL-12 폴리펩티드)를 포함한다. 도시된 구체적 실시양태에서, 제1 및 제2 Fc 영역은 이중이량체이며, 여기서 각각의 Fc 영역은 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 1종 이상의 Fc 이펙터 기능 (예를 들어, ADCC, ADCP, CDC, Fc 수용체 결합)을 제거하거나 감소시키는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함한다.

도 9는 나타낸 농도의 나타낸 구축물로 처리된 HEK-블루 세포로부터의 pSTAT4 신호전달 (SEAP 생산을 통해 측정됨)을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 분석하고, 광학 밀도의 평균 $\pm$ SD로서 제시하였다.

도 10a는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 활성화된 T 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 10b는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 활성화된 T 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 10c는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 활성화된 T 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 10d는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 활성화된 T 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 10e는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 활성화된 T 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 10f는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 활성화된 T 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다.

도 11a는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 풍부화된 hIL-2 프라이밍된 NK 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 11b는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 풍부화된 hIL-2 프라이밍된 NK 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 11c는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 풍부화된 hIL-2 프라이밍된 NK 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 11d는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 풍부화된 hIL-2 프라이밍된 NK 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 11e는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 풍부화된 hIL-2 프라이밍된 NK 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 11f는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 풍부화된 hIL-2 프라이밍된 NK 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다.

도 12는 나타낸 농도의 나타낸 구축물과 함께 배양된 HEK-블루 세포로부터의 시험관내 hIL-12R 신호전달의 수준 (SEAP 생산을 통해 측정됨)을 보여주는 선 그래프이다. 보고된 값 (평균 $\pm$ SD)은 3회의 독립적 반복실험의 평균이다.

도 13은 나타낸 농도의 나타낸 구축물과 함께 배양된 PHA 자극된 인간 PBMC (hPBMC)에 의해 시험관내 생산된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 각각의 데이터 포인트는 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이고, 선 그래프는 3회의 독립적 실험으로부터의 대표적인 데이터이다.

도 14는 나타낸 농도의 나타낸 구축물과 함께 배양된 IL-2 프라이밍된 NK 세포에 의해 시험관내 생산된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 각각의 데이터 포인트는 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이고, 선 그래프는 3회의 독립적 실험으로부터의 대표적인 데이터이다.

도 15는 나타낸 농도의 나타낸 구축물과 함께 배양된 항 CD3 및 항 CD28 자극된 hPBMC를 사용하여 게이팅된 CD8+ T 세포에 의해 시험관내 발현된 pSTAT4의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 각각의 포인트는 단일 웰로부터의 데이터이고, 선 그래프는 3회의 독립적 실험으로부터의 대표적인 데이터이다.

도 16은 나타낸 농도의 각각의 나타낸 구축물로 처리된 SEB 자극된 hPBMC에 의한 CAIX 발현 SNU16 중앙 세포의 퍼센트 사멸을 보여주는 선 그래프이다. 각각의 데이터 포인트는 단일 웰로부터의 값이고, 선 그래프는 2회의 독립적 실험으로부터의 대표적인 데이터이다.

도 17a는 나타낸 농도의 각각의 나타낸 구축물로 처리된 SEB 자극된 hPBMC에 의한 그랜자임 B 방출을 보여주는 막대 그래프이다. 도 17b는 나타낸 농도의 각각의 나타낸 구축물로 처리된 SEB 자극된 hPBMC에 의한 IFN- γ 방출을 보여주는 막대 그래프이다. 도 17c는 나타낸 농도의 각각의 나타낸 구축물로 처리된 SEB 자극된 hPBMC에 의한 TNF- α 방출을 보여주는 막대 그래프이다. 도 17d는 나타낸 농도의 각각의 나타낸 구축물로 처리된 SEB 자극된 hPBMC에 의한 IL-10 방출을 보여주는 막대 그래프이다. 도 17e는 나타낸 농도의 각각의 나타낸 구축물로 처리된 SEB 자극된 hPBMC에 의한 MIP-3알파 방출을 보여주는 막대 그래프이다. 도 17f는 나타낸 농도의 각각의 나타낸 구축물로 처리된 SEB 자극된 hPBMC에 의한 CD40-L 방출을 보여주는 막대 그래프이다. 도 17g는 나타낸 농도의 각각의 나타낸 구축물로 처리된 SEB 자극된 hPBMC에 의한 Flt3-L 방출을 보여주는 막대 그래프이다. 도 17h는 나타낸 농도의 각각의 나타낸 구축물로 처리된 SEB 자극된 hPBMC에 의한 GMCSF 방출을 보여주는 막대 그래프이다. 도 17a - 17h의 경우, 각각의 막대는 단일 웰로부터의 값이고, 선 그래프는 24, 72 및 120시간에 평가된 실험으로부터의 대표적인 데이터이다.

도 18은 NK-세포에 의한 HCT116 CAIX 발현 타원체에 대한 각각의 나타낸 구축물의 세포독성을 보여주는 박스 플롯이다. 세포독성 데이터는 4회의 독립적 실험에 걸쳐 3명의 공여자로부터의 풀링된 데이터이다. 일원 ANOVA, 크루스칼 월리스 검정을 사용하여 통계적 분석을 수행하고, 모든 군을 서로 비교하였다 (* p 값<0.05, **<0.01은 유의한 것으로 간주됨).

도 19는 형질감염된 A549 세포에 의한 eGFP-CAIX의 발현을 보여주는 도트 플롯 (좌측) 및 히스토그램 (우측)이다.

도 20은 시테이션(Cytation) 5로부터 포착된 영상인, CAIX-eGFP 융합 단백질 발현 A459 타원체의 명시야 및 형광 영상을 보여준다.

도 21a는 나타낸 구축물로 처리된 단일 CAIX-eGFP 융합 단백질 발현 A459 타원체의 강도 밀도를 보여주는 막대 그래프이다. 각각의 막대는 단일 타원체로부터의 값이고, 막대 그래프는 2회의 독립적 실험으로부터의 대표적인 데이터이다. 도 21b는 CAIX-eGFP 융합 단백질 발현 A549 모델에서 각각의 나타낸 구축물에 의해 유도된 세포독성을 보여주는 막대 그래프이다. IgG 처리된 타원체를 100% 생존율로 간주하여 세포독성을 계산하였다. 각각의 막대는 단일 타원체로부터의 값이고, 막대 그래프는 2회의 독립적 실험으로부터의 대표적인 데이터이다.

도 22는 나타낸 구축물로 처리된 마우스 (n=6)에서의 HCT116-CAIX 종양의 종양 성장 프로파일을 보여주는 선 그래프이다. X-축 상의 화살표는 투여일을 나타낸다.

도 23은 나타낸 구축물로 처리된 hIL-12 및 hIL-12 수용체 유전자 녹-인 트랜스제닉 마우스에서 인간 CAIX를 발현하는 B16F10 동종이식편 (n=6)의 종양 성장 프로파일을 보여주는 선 그래프이다. X-축 상의 화살표는 투여일을 나타낸다.

도 24a는 나타낸 정상 또는 암성 조직에서의 CAIX 발현을 보여주는 면역조직화학 영상을 디스플레이한다. 상부 패널: 정상 방광 (a), 결장 (b), 자궁경부 (c), 신장 (d) 및 뇌 (e)에서의 CAIX 발현 (10x 배율). 하부 패널: 상이한 암 유형에서의 이질적 CAIX 발현의 대표적인 영상: 낮은 발현 (f, j, n, r, v), 중간 발현 (g, k, o, s, w), 높은 발현 (h, l, p, t, x) (10x 배율). 투명 세포 암종 (f, g, h, i), 방광암 (j, k, l, m), 소장암 (n, o, p, q), 결장직장암 (r, s, t, u) 및 위암 (v, w, x, y)에서의 이질적 CAIX 발현의 대표적인 영상. 각각 패널 h, l, p, t, x에 제시된 상응하는 종양 유형의 종양 세포 (i, m, q, u, y; 30x 배율)에서의 CAIX의 막 염색. 도 24b는 각각의 암 유형에 대해 (Y-축), CAIX-고 (201-300), CAIX-중 (101-200), CAIX-저 (1-100) 및 CAIX-부재 (0) H 점수 카테고리 (X-축)에 상응하는 사례의 백분율을 보여주는 막대 그래프이다. BC(ER+): 유방암(ER+); BLC: 방광암; BC(Her2+): 유방암(Her2+); CC: 자궁경부암; CRC: 결장직장암; DLBCL: 미만성 대 B-세포 림프종; EnC: 자궁내막암; EsC: 식도/GEJ 암; GBM: 교모세포종; GC: 위암; GIST: 위장 기질 종양; HCC: 간세포성 암종; HNC: 두경부암; MEL: 흑색종; NHL: 비-호지킨 림프종; NSCLC: 비소세포 폐암; OC: 난소암; PC: 췌장암; PrC: 전립선암; RCC: 신세포 암종; SARC: 육종; SBC: 소장암; SCLC: 소세포 폐암; TC: 갑상선암; TNBC: 삼중 음성 유방암.

도 25a는 헤마톡실린 & 에오신-염색된 종양 조직 코어에서 림프구의 낮은 (1-199; 좌측 패널), 중간 (200-499, 중간 패널) 및 높은 (≥ 500 , 우측 패널) 침윤을 보여주는 대표적인 현미경검사 영상을 디스플레이한다. 적색 화살촉: 종양 세포; 녹색 화살촉: 림프구. 도 25b는 각각의 종양 유형에 대해 (Y-축), 높은 림프구 침윤, 중간 림프구 침윤, 낮은 림프구 침윤 및 림프구 침윤 부재 (X-축)에 상응하는 사례의 백분율을 보여주는 막대 그래프이다. BC(ER+): 유방암(ER+); BLC: 방광암; BC(Her2+): 유방암(Her2+); CC: 자궁경부암; CRC: 결장직장암; DLBCL: 미만성 대 B-세포 림프종; EnC: 자궁내막암; EsC: 식도/GEJ 암; GBM: 교모세포종; GC: 위암; GIST: 위장 기질 종양; HCC: 간세포성 암종; HNC: 두경부암; MEL: 흑색종; NSCLC: 비소세포 폐암; OC: 난소암; PC: 췌장암; PrC: 전립선암; RCC: 신세포 암종; SARC: 육종; SBC: 소장암; SCLC: 소세포 폐암; TC: 갑상선암; TNBC: 삼중 음성 유방암. 도 25c는 CAIX-발현 종양에서의 림프구 침윤의 밀도 [평균 점수 (0-3), X-축]를 보여주는 그래프이다 (평균 H 점수, Y-축). BC(ER+): 유방암(ER+); BC(Her2+): 유방암(Her2+); BLC: 방광암; CC: 자궁경부암; CRC: 결장직장암; DLBCL: 미만성 대 B-세포 림프종; EnC: 자궁내막암; EsC: 식도/GEJ 암; GBM: 교모세포종; GC: 위암; GIST: 위장 기질 종양; HCC: 간세포성 암종; HNC: 두경부암; MEL: 흑색종; NSCLC: 비소세포 폐암; OC: 난소암; PC: 췌장암; PrC: 전립선암; RCC: 신세포 암종; SARC: 육종; SBC: 소장암; SCLC: 소세포 폐암; TC: 갑상선암; TNBC: 삼중 음성 유방암.

도 26a는 결장직장 선암종 조직에 대한 단일 세포 RNA-서열분석에 의해 확인된 상이한 세포 유형 (총 10468개 세포)의 백분율을 보여주는 파이 차트이다. 도 26b는 결장직장 선암종에서의 상이한 세포 유형의 클러스터링 및 이들 세포 클러스터에서의 CA9, IL12RB1 및 IL12RB2의 발현을 보여주는 t-분포 확률적 이웃 임베딩(t-distributed stochastic neighbor embedding; t-SNE) 플롯이다. 도 26c는 결장직장 선암종 조직에 대한 단일 세포 RNA-서열분석 분석에 의해 확인된 세포 유형 (X-축)에서의 CA9, IL12RB1 및 IL12RB2 유전자 발현 (Y-축)을 보여주는 막대 그래프이다. 도 26d는 상이한 유전자 조합 (X-축)으로 CA9, IL12RB1 및 IL12RB2를 발현하는 세포 유형의 백분율 (Y-축)을 보여주는 막대 그래프이다.

도 27은 나타낸 농도의 나타낸 구축물로 처리된 HEK-블루 세포로부터의 pSTAT4 신호전달 (SEAP 생산을 통해 측정됨)을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 분석하고, 광학 밀도의 평균 $\pm$ SD로서 제시하였

다. BCA307.16은 원액 농도에 대한 제한으로 인해 100 nM 농도에서 시험할 수 없었다.

도 28a는 나타낸 농도의 나타낸 hIL-12 구축물의 존재 하에 활성화된 T 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터는 4-PL 모델에 의해 플롯팅되며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 28b는 나타낸 농도의 나타낸 hIL-12 구축물의 존재 하에 활성화된 T 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터는 4-PL 모델에 의해 플롯팅되며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 28c는 나타낸 농도의 나타낸 hIL-12 구축물의 존재 하에 활성화된 T 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터는 4-PL 모델에 의해 플롯팅되며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다.

도 29a는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 풍부화된 hIL-2 프라이밍된 NK 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 29b는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 풍부화된 hIL-2 프라이밍된 NK 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다. 도 29c는 나타낸 농도의 나타낸 구축물의 존재 하에 풍부화된 hIL-2 프라이밍된 NK 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 보여주는 선 그래프이다. 데이터를 4-PL 모델에 의해 플롯팅하였으며, 각각의 데이터 포인트는 단일 실험으로부터의 삼중 값의 평균 (평균 $\pm$ SD)이다.

도 30은 암 환자 (n=86)에서, 종양 조직에서의 면역조직화학적 H 점수로서 정량화된 세포 CAIX (X-축)와 ELISA에 의해 정량화된 종양-매칭 혈장 중 가용성 CAIX (pg/mL) (Y-축) 사이의 피어슨 상관 계수 분석을 보여주는 도트 플롯이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

5. 상세한 설명

hIL-12는 암의 치료를 위한 치료제로서 평가되었지만, 제한된 임상 성공을 나타냈다. 치료 효과를 달성하기 위해, hIL-12는 비교적 높은 수준으로 투여되어야 하고, 고도로 강력하여 중증의 방어할 수 없는 부작용을 초래하였다. 특히 전신 투여되는 경우에, hIL-12는 hIL-12R을 발현하는 혈류 내의 면역 세포 (예를 들어, T 세포, 예를 들어 CD8+ T 세포)의 활성화를 유발하여, 전신 염증 반응을 생성할 수 있으며, 이는 hIL-12 기반 요법과 연관된 심각한 부작용에 기여할 수 있다. 본 발명자들은 특히 면역 세포 (예를 들어, T-세포 및 NK 세포)의 활성화를 통해 종양 세포 사멸을 매개하는 능력을 유지하면서 감소된 효력을 나타내는 변형된 hIL-12 (예를 들어, hIL-12p40, hIL-12p35) 단백질을 제조하였다. 따라서, 본원에 기재된 신규 hIL-12 단백질 및 그를 함유하는 융합 단백질 (예를 들어, 항-CAIX 융합 단백질)은 질환 (예를 들어, 암)의 치료를 위한 우수한 후보이다. 따라서, 본 개시내용은 특히 질환 (예를 들어, 암)의 치료를 위한 제약 조성물에 사용하기 위한 hIL-12 단백질 및 그를 함유하는 융합 단백질 (예를 들어, 항-CAIX 융합 단백질)을 제공한다.

5.1 정의

본원에 사용된 섹션 표제는 단지 조직화 목적을 위한 것이며, 기재된 대상을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 청구된 대상이 속하는 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 상기 일반적 설명 및 하기 상세한 설명은 단지 예시적이고 설명적이며, 청구된 임의의 대상을 제한하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

본 출원에서, 단수의 사용은 달리 구체적으로 언급되지 않는 한 복수를 포함한다. 예를 들어, 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용된 단수 형태는 문맥이 달리 명확하게 지시하지 않는 한 복수 지시대상을 포함한다. 추가로, 용어 "포함한" 뿐만 아니라 다른 형태, 예컨대 "포함하다", "포함한다" 및 "포함된"의 사용은 제한적이지 않다.

측면이 용어 "포함하는"과 함께 본원에 기재된 모든 경우에, "로 이루어진" 및 "로 본질적으로 이루어진"의 용어로 기재된 것 외에 다른 것은 유사한 측면이 또한 제공되는 것으로 이해된다.

본원에 사용된 용어 "및/또는"은 2개의 명시된 특색 또는 성분 각각을 다른 것과 함께 또는 다른 것 없이 구체적으로 개시하는 것으로서 여겨져야 한다. 따라서, 본원에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에 사용된 용어 "및/또

는 "은 "A 및 B", "A 또는 B", "A" (단독) 및 "B" (단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B 및/또는 C"와 같은 어구에 사용된 용어 "및/또는"은 각각의 하기 측면을 포괄하는 것으로 의도된다: A, B 및 C; A, B 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A (단독); B (단독); 및 C (단독).

[0137] 본원에 기재된 바와 같이, 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비 범위 또는 정수 범위는 달리 나타내지 않는 한 언급된 범위 내의 임의의 정수의 값 및 적절한 경우 그의 분율 (예컨대 정수의 1/10 및 1/100)을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0138] 용어 "약" 또는 "본질적으로 포함하는"은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정된 바와 같은 특정한 값 또는 조성에 대한 허용 오차 범위 내에 있는 값 또는 조성을 지칭하며, 이는 부분적으로 값 또는 조성이 측정 또는 결정되는 방법, 즉 측정 시스템의 한계에 좌우될 것이다. 특정한 값 또는 조성이 본 출원 및 청구범위에 제공되는 경우에, 달리 언급되지 않는 한, "약" 또는 "본질적으로 포함하는"의 의미는 그 특정한 값 또는 조성 에 대한 허용 오차 범위 내에 있는 것으로 가정되어야 한다.

[0139] 달리 나타내지 않는 한 또는 문맥으로부터 명확하지 않는 한, 본원에서 "제1 및 제2" 또는 "(a) 및 (b)" 또는 "(i) 및 (ii)"와 유사한 용어의 사용은 순서 또는 배향을 나타내는 것이 아니라, 조성물 또는 방법의 다수의 성분을 확인하는 데 사용된다. 이들 용어가 순서 또는 배향을 나타내는 것으로 의도되는 경우는 문맥으로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명확할 것이다.

[0140] 단백질 및/또는 폴리펩티드가 본원에 기재된 경우에, 단백질 또는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, RNA (예를 들어, mRNA) 또는 DNA 폴리뉴클레오티드)가 또한 본원에 제공된 것으로 이해된다.

[0141] 단백질, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 세포, 발현 벡터 등이 본원에 기재된 경우에, 단백질, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 세포, 발현 벡터 등의 단리된 형태가 또한 본원에 제공된 것으로 이해된다.

[0142] 단백질, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드 등이 본원에 기재된 경우에, 단백질, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드 등의 제조합 형태가 또한 본원에 제공된 것으로 이해된다.

[0143] 폴리펩티드 또는 폴리펩티드의 세트가 본원에 기재된 경우에, 그의 3차원 구조 (즉, 3차 또는 4차 구조)로 폴딩된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드의 세트를 포함하는 단백질이 또한 본원에 제공되고, 그 반대의 경우도 마찬가지인 것으로 이해된다.

[0144] 본원에 사용된 용어 "투여하는"은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다양한 방법 및 전달 시스템 중 임의의 것을 사용하여 대상체에게 작용제, 예를 들어 치료제 (또는 시험관내에서 치료제를 생산하기 위해 대상체의 신체 내에서 대사되거나 변경되는 치료제의 전구체)를 물리적으로 도입하는 것을 지칭한다. 투여는, 예를 들어 1회, 복수회 및/또는 1회 이상의 연장된 기간에 걸쳐 수행될 수 있다.

[0145] 본원에 사용된 용어 "항체 의존성 세포 매개된 세포독성" 또는 "ADCC"는 면역 이펙터 세포 (예를 들어, NK 세포)에 의한 항체 (또는 Fc 영역 함유 폴리펩티드 또는 단백질) (예를 들어, 본원에 기재된 Ig Fc 함유 융합 단백질 또는 폴리펩티드)-코팅된 표적 세포의 용해로 이어지는 면역 메커니즘을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "감소된 ADCC" 등은 상기 정의된 ADCC의 메커니즘에 의해, 표적 세포 주위의 배지에서 주어진 농도의 항체 (또는 Ig Fc 영역 함유 폴리펩티드 또는 단백질) (예를 들어, 본원에 기재된 Fc 영역 함유 융합 단백질 또는 폴리펩티드)로 주어진 시간 내에 용해되는 표적 세포의 수의 감소, 및/또는 상기 정의된 ADCC의 메커니즘에 의해, 주어진 시간 내에 주어진 수의 표적 세포의 용해를 달성하는 데 요구되는, 표적 세포 주위의 배지에서 항체 (또는 Fc 영역 함유 폴리펩티드 또는 단백질) (예를 들어, 본원에 기재된 Fc 함유 융합 단백질 또는 폴리펩티드)의 농도의 증가를 지칭한다. ADCC의 감소는 조작되지 않은 (예를 들어, ADCC의 감소를 매개하는 1개 이상의 아미노산 변형, 예를 들어 아미노산 치환을 포함하지 않는) 것을 제외하고는, 동일한 표준 생산, 정제, 제제화 및 저장 방법 (관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지됨)을 사용하여 동일한 유형의 숙주 세포에 의해 생산된 동일한 항체 (또는 Fc 영역 함유 폴리펩티드 또는 단백질) (예를 들어, 본원에 기재된 Fc 함유 융합 단백질 또는 폴리펩티드)에 의해 매개되는 ADCC에 대한 것이다. 예를 들어, Fc 영역에 ADCC를 감소시키는 아미노산 치환을 포함하는 항체 (또는 Fc 영역 함유 폴리펩티드 또는 단백질) (예를 들어, 본원에 기재된 Fc 함유 융합 단백질 또는 폴리펩티드)에 의해 매개되는 ADCC의 감소는 Fc 영역에 상기 아미노산 치환이 없는 동일한 항체 (또는 Fc 영역 함유 폴리펩티드 또는 단백질) (예를 들어, 본원에 기재된 Fc 함유 융합 단백질 또는 폴리펩티드)에 의해 매개되는 ADCC에 대한 것이다.

[0146] 본원에 사용된 용어 "친화도"는 한 단백질 (예를 들어, 항체)의 또 다른 단백질 (예를 들어, 항원)에 대한 결합의 강도를 지칭한다. 단백질의 친화도는 [항체] x [항원] / [항체-항원] (여기서 [항체-항원]은 항체-항원 복

합체의 몰 농도이고, [항체]는 미결합 항체의 몰 농도이고, [리간드]는 미결합 항원의 몰 농도임)으로 정의되는 해리 상수 K_d 에 의해 측정된다. 친화도 상수 K_a 는 $1/K_d$ 로 정의된다. 친화도를 측정하는 표준 방법은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 친화도를 측정하는 예시적인 방법은 본원에 기재되어 있으며, 예를 들어 § 5.2.25.2.3을 참조한다.

[0147] 본원에 사용된 용어 "항체" 또는 "항체들"은 가장 넓은 의미로 사용되고, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다중특이적 (예를 들어, 이중특이적, 삼중특이적) 항체 및 목적하는 항원-결합 활성을 나타내는 한 항체 단편 (즉, 항원 결합 단편 또는 변이체)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 이뮤노글로불린 (Ig) (예를 들어, 인간 Ig (hIg)) 구조를 포괄한다. 따라서, 용어 항체는, 예를 들어 전장 항체; 전장 항체의 항원-결합 단편; 항체 CDR, VH 영역 및/또는 VL 영역을 포함하는 분자; 및 항체-유사 스캐폴드 (예를 들어, 피브로넥틴)를 포함한다. 항체의 예는 비제한적으로 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 단일특이적 항체, 다중특이적 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 낙타화 항체, 인트라바디, 아피바디, 디아바디, 트리바디, 이중접합체 항체, 항체-약물 접합체, 단일 도메인 항체 (예를 들어, VHH, (VHH)₂), 단일 쇄 항체, 단일-쇄 Fv (scFv; (scFv)₂), Fab 단편 (예를 들어, Fab, 단일 쇄 Fab (scFab), F(ab')₂ 단편, 디섀피드-연결된 Fv (sdFv), Fc 융합체 (예를 들어, Fab-Fc, scFv-Fc, VHH-Fc, (scFv)₂-Fc, (VHH)₂-Fc) 및 상기 중 임의의 것의 항원-결합 단편 및 상기 중 임의의 것을 포함하는 접합체 또는 융합 단백질을 포함한다. 항체는 Ig 이소형 (예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD 또는 IgA), Ig의 임의의 부류 (예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 또는 IgA₂) 또는 임의의 하위부류 (예를 들어, IgG_{2a} 또는 IgG_{2b})일 수 있다. 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 IgG 항체 또는 그의 부류 (예를 들어, 인간 IgG₁ 또는 IgG₄) 또는 하위부류이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간, 인간화 또는 키메라 IgG₁ 또는 IgG₄ 모노클로날 항체이다. 일부 실시양태에서, 용어 항체는 모노클로날 또는 폴리클로날 항체 집단을 지칭한다. 본원에 기재된 항체는 관련 기술분야에 공지된 임의의 표준 방법, 예를 들어 숙주 세포에서의 재조합 생산 (예를 들어, § 5.4 참조); 또는 합성 생산에 의해 생산될 수 있다.

[0148] "항체-유사 스캐폴드"는 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어 피브로넥틴 및 설계된 안키린 반복 단백질 (DARPin)이 항원-결합 도메인에 대한 대안적 스캐폴드로서 사용되어 왔으며, 예를 들어, 문헌 [Gebauer and Skerra, Engineered protein scaffolds as next-generation antibody therapeutics. Curr Opin Chem Biol 13:245-255 (2009) 및 Stumpp et al., Darpins: A new generation of protein therapeutics. Drug Discovery Today 13: 695-701 (2008)] (이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨)을 참조한다. 예시적인 항체-유사 스캐폴드 단백질은 리포칼린 (안티칼린), 단백질 A-유래 분자, 예컨대 단백질 A의 Z-도메인 (아피바디), A-도메인 (아비머/맥시바디), 혈청 트랜스페린 (트랜스-바디); 설계된 안키린 반복 단백질 (DARPin), VNAR 단편, 피브로넥틴 (애드넥틴), C-유형 렉틴 도메인 (테트라넥틴); 새로운 항원 수용체 베타-락타마제의 가변 도메인 (VNAR 단편), 인간 감마-크리스탈린 또는 유비퀴틴 (아필린 분자); 인간 프로테아제 억제제의 쿠니츠 유형 도메인, 마이크로바디, 예컨대 노틴 패밀리로부터의 단백질, 펩티드 압타머 및 피브로넥틴 (애드넥틴)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0149] 용어 "항원 결합 도메인"은 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 폴리펩티드 또는 단백질 또는 폴리펩티드 또는 단백질의 부분을 지칭한다. 예시적인 항원 결합 도메인은 단일 도메인 항체 (예를 들어, VHH, (VHH)₂), 단일-쇄 Fv (예를 들어, scFv; (scFv)₂), Fab 단편 (예를 들어, Fab, 단일 쇄 Fab (scFab), F(ab')₂) 및 디섀피드-연결된 Fv (sdFv)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 항원 결합 도메인은 보다 큰 폴리펩티드 또는 단백질, 예를 들어 전장 항체, Fc 융합체의 일부일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 전장 항체의 일부이다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 Fc 영역에 작동가능하게 연결된다. 항원 결합 도메인이 표적 단백질 또는 폴리펩티드를 사용하여 지칭되는 경우에, 용어 "항원"은 표적 단백질 또는 항원의 명칭으로 대체될 수 있다. 예를 들어, hCAIX에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인은 본원에서 "hCAIX 결합 도메인"으로 또한 지칭될 수 있다.

[0150] 용어 "암" 및 "종양"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 신체 내 비정상 세포의 비제어된 성장을 특징으로 하는 다양한 질환의 광범위한 군을 지칭한다. 비조절된 세포 분열 및 성장은 이웃 조직을 침습할 수 있는 악성 종양의 형성을 유발하고, 또한 예를 들어 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 원위 부분으로 전이할 수 있다.

[0151] 본원에 사용된 용어 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역"은 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드 둘 다의 가변 영역 내에서 발견되는 비인접 항원 결합 부위를 지칭한다. 이들 특정한 영역은 문헌 [Kabat et al., J. Biol. Chem. 252,

6609-6616 (1977) 및 Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest. (1991)]에 기재되었으며, 이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다. 달리 명시되지 않는 한, 용어 "CDR"은 문헌 [Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 및 Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest. (1991)]에 정의된 바와 같은 CDR이다.

- [0152] 용어 "CH1" 및 "CH1 영역"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 이뮤노글로불린 중쇄의 제1 불변 영역을 지칭한다. 예시적인 참조 hIgG1 CH1 영역의 아미노산 서열은 서열식별번호: 119에 제시되고; 예시적인 참조 hIgG4 CH1 영역의 아미노산 서열은 서열식별번호: 132에 제시된다.
- [0153] 용어 "CH2" 및 "CH2 영역"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 이뮤노글로불린 중쇄의 제2 불변 영역을 지칭한다. 예시적인 참조 hIgG1 CH2 영역의 아미노산 서열은 서열식별번호: 121에 제시되고; 예시적인 참조 hIgG4 CH2 영역의 아미노산 서열은 서열식별번호: 134에 제시된다.
- [0154] 용어 "CH3" 및 "CH3 영역"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 이뮤노글로불린 중쇄의 제3 불변 영역을 지칭한다. 예시적인 참조 hIgG1 CH3 영역의 아미노산 서열은 서열식별번호: 122에 제시되고; 예시적인 참조 hIgG4 CH3 영역의 아미노산 서열은 서열식별번호: 135에 제시된다.
- [0155] 용어 "불변 영역" 및 "불변 도메인"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 항체의 항원에 대한 결합에 직접 수반되지는 않지만 다양한 이펙터 기능, 예컨대 Ig Fc 수용체 (예를 들어, Fc 감마 수용체)와의 상호작용을 나타낼 수 있는 전장 항체의 경쇄 및/또는 중쇄의 카르복실 말단 부분을 지칭한다. Ig 분자의 불변 영역은 일반적으로 Ig 가변 도메인에 비해 더 보존된 아미노산 서열을 갖는다.
- [0156] 폴리뉴클레오티드와 관련하여 본원에 사용된 용어 "로부터 유래된"은 참조 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 자연 발생 폴리뉴클레오티드) 또는 그의 단편에 대해 적어도 70% (예를 들어, 적어도 85%) 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 폴리펩티드 또는 단백질과 관련하여 용어 "로부터 유래된"은 참조 폴리펩티드 또는 단백질 (예를 들어, 자연 발생 폴리펩티드 또는 단백질)의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% (예를 들어, 적어도 85%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 또는 단백질을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "로부터 유래된"은 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드 또는 단백질을 수득하기 위한 임의의 구체적 과정 또는 방법을 나타내지 않는다. 예를 들어, 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드 또는 단백질은 재조합적으로 생산되거나 또는 화학적으로 합성될 수 있다.
- [0157] 본원에 사용된 용어 "진단하는" 또는 "진단"은 질환 (예를 들어, 암, 예를 들어 CAIX를 발현하는 암 세포를 포함하는 암)의 존재, 부재, 중증도 또는 치료 과정의 결정을 지칭한다. 용어 "진단하는"은 초기 결정뿐만 아니라 초기 결정 후의 후속 결정 (예를 들어, 모니터링)을 포괄한다.
- [0158] 본원에 사용된 용어 "질환"은 생리학적 기능을 손상시키는 임의의 비정상적 상태를 지칭한다. 상기 용어는 병인의 성질에 관계없이 생리학적 기능이 손상된 임의의 장애, 질병, 이상, 병리상태, 병, 상태 또는 증후군을 포괄하는 것으로 광범위하게 사용된다.
- [0159] 용어 "힌지" 또는 "힌지 영역"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 이뮤노글로불린 중쇄의 힌지 영역을 지칭한다. 예시적인 참조 hIgG1 힌지 영역의 아미노산 서열은 서열식별번호: 120에 제시되고; 예시적인 참조 hIgG4 힌지 영역의 아미노산 서열은 서열식별번호: 133에 제시된다.
- [0160] 용어 "DNA" 및 "폴리데옥시리보뉴클레오티드"는 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 포스포디에스테르 결합을 통해 중합된 다수의 데옥시리보뉴클레오티드를 포함하는 거대분자를 지칭한다. 데옥시리보뉴클레오티드는 당이 데옥시리보스인 뉴클레오티드이다.
- [0161] 용어 "이펙터 기능"은 항체와 관련하여 사용되는 경우에 항체의 Fc 영역에 기인할 수 있는 생물학적 활성을 지칭하며, 따라서 이는 항체 이소형에 따라 달라진다. 항체 이펙터 기능은 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC), 항체-의존성 세포성 식세포작용 (ADCP), 보체 의존성 세포독성 (CDC), Fc 수용체 결합 (예를 들어, Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa 및/또는 Fc γ RIIIb (예를 들어, Fc γ RI, Fc γ IIa 및/또는 Fc γ IIIa)) 및 C1q 결합을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0162] 본원에 사용된 용어 "EU 넘버링 시스템"은 문헌 [Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969) 및 Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health and Human Services, 5th edition, 1991] (이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같은 항체의 불변 영역에 대한 EU 넘버링 규정을 지칭한다.

- [0163] 본원에 사용된 용어 "Fab"는 N-말단에서 C-말단으로 VH 영역 및 CH1 영역을 포함하는 Fab 중쇄; 및 N-말단에서 C-말단으로 VL 영역 및 CL 영역을 포함하는 경쇄를 포함하는 항원 결합 도메인을 지칭하며; 여기서 Fab 중쇄 및 경쇄는 회합하여 항원 결합 도메인을 형성한다.
- [0164] 본원에 사용된 용어 "Fab-Fc"는 Fc 영역에 작동가능하게 연결된 Fab를 포함하는 항체를 지칭한다. 예를 들어, 전장 항체는 제1 Fc 영역에 작동가능하게 연결된 제1 Fab 및 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결된 제2 Fab를 포함한다.
- [0165] 본원에 사용된 용어 "Fc 영역"은 N-말단에서 C-말단으로 적어도 CH2 영역이 CH3 영역에 작동가능하게 연결된 것을 포함하는 hIg 중쇄의 C-말단 영역을 지칭한다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 CH2 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결된 Ig 힌지 영역 또는 Ig 힌지 영역의 적어도 한 부분을 포함한다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 참조 Fc 영역에 대해 조작되며 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 변형을 포함함), 예를 들어 § 5.3.2.1을 참조한다. 조작된 Fc 영역을 갖는 단백질의 추가의 예는 문헌 [Saunders 2019 (K. O. Saunders, "Conceptual Approaches to Modulating Antibody Effector Functions and Circulation Half-Life," 2019, *Frontiers in Immunology*, V. 10, Art. 1296, pp. 1-20)] (이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨)에서 찾아볼 수 있다.
- [0166] 본원에 사용된 용어 "Fc 변형된 융합 단백질 또는 폴리펩티드"는 Fc 영역을 포함하며, 여기서 Fc 영역은 변형된 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 부가)을 포함하는) 것인 융합 폴리펩티드 또는 단백질을 지칭한다.
- [0167] Fc 영역 등과 관련하여 본원에 사용된 용어 "제1" 및 "제2"는 1가지 초과와 각각의 유형의 모이어티가 존재하는 경우에 구별의 편의를 위해 사용된다. 이들 용어의 사용은 명백하게 언급되지 않는 한 융합 단백질에서 특정 순서 또는 배향을 부여하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0168] 본원에 사용된 용어 "프레임워크 영역" 또는 "FR 영역"은 항체의 가변 영역의 일부이지만 CDR의 일부는 아닌 아미노산 잔기를 지칭한다 (예를 들어, CDR의 카바트 정의를 사용함).
- [0169] 본원에 사용된 용어 "전장 항체"는 천연 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖는 항체로서, (i) N-말단에서 C-말단으로 경쇄 가변 영역 (VL) 영역 및 경쇄 불변 영역 (CL) 영역을 포함하는 제1 Ig 경쇄; (ii) N-말단에서 C-말단으로 중쇄 가변 영역 (VH) 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제1 Ig 중쇄; (iii) N-말단에서 C-말단으로 VH 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제2 Ig 중쇄; (iv) N-말단에서 C-말단으로 VL 영역 및 VH 영역을 포함하는 제2 Ig 경쇄를 포함하며; 여기서 상기 제1 경쇄 및 상기 제1 중쇄는 회합하여 제1 항원 결합 도메인을 형성하고; 여기서 상기 제2 경쇄 및 상기 제2 중쇄는 회합하여 제2 항원 결합 도메인을 형성하고; 여기서 상기 제1 중쇄 및 상기 제2 중쇄는 회합하여 이량체를 형성하는 것인 항체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 2개의 중쇄는 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 2개의 경쇄는 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 2개의 중쇄의 아미노산 서열은 상이할 수 있으며, 예를 들어 2개의 중쇄의 이중이량체화를 촉진하는 1개 이상의 아미노산 변형을 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 2개의 중쇄는 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은) 정확한 중쇄의 이중이량체화를 촉진하는 1개 이상의 아미노산 변형을 제외하고는 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 2개의 경쇄는 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 항체 쌍은 실질적으로 동일할 수 있지만, 이들이 번역후 변형, 예컨대 리신 잔기의 C-말단 절단, 대안적 글리코실화 패턴 등으로 인해 상이한 경우에 완전히 동일하지 않을 수 있다. 전장 항체의 쌍 중 어느 하나의 아미노산 서열은 참조 (예를 들어, 야생형 항체 서열)에 비해 1개 이상의 아미노산 변형을 함유할 수 있다.
- [0170] 폴리펩티드 또는 단백질과 관련하여 본원에 사용된 용어 "기능적 변이체"는 참조 폴리펩티드 또는 단백질의 아미노산 서열과 비교하여 적어도 1개이지만 15% 이하, 12% 이하, 10% 이하, 8% 이하인 아미노산 변이 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)를 포함하는 폴리펩티드 또는 단백질로서, 참조 폴리펩티드 또는 단백질의 적어도 1종의 특정한 기능을 보유하는 폴리펩티드 또는 단백질을 지칭한다. 참조 폴리펩티드 또는 단백질 (예를 들어, 야생형)의 모든 기능이 단백질의 기능적 변이체에 의해 보유될 필요는 없다. 일부 경우에, 1종 이상의 기능이 선택적으로 감소되거나 제거된다. 일부 실시양태에서, 참조 폴리펩티드 또는 단백질은 야생형 단백질이다. 예를 들어, hIL-12p40 폴리펩티드 또는 단백질의 기능적 변이체는 hIL-12R에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 야생형)과 비교하여 아미노산 치환을 포함하는 hIL-12p40 단백질을 지칭할 수 있다.

- [0171] 폴리펩티드 또는 단백질과 관련하여 본원에 사용된 용어 "기능적 단편"은 적어도 1종의 특정한 기능을 보유하는 참조 폴리펩티드 또는 단백질의 단편을 지칭한다. 참조 폴리펩티드 또는 단백질의 모든 기능이 폴리펩티드 또는 단백질의 기능적 단편에 의해 보유될 필요는 없다. 일부 경우에, 1종 이상의 기능이 선택적으로 감소되거나 제거된다. 일부 실시양태에서, 참조 폴리펩티드 또는 단백질은 야생형 단백질이다. 예를 들어, hIL-12p40의 기능적 단편은 IL-12R에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 hIL-12p40의 단편을 지칭할 수 있다.
- [0172] 본원에 사용된 용어 "융합" 및 그의 문법적 등가물은 제1 폴리펩티드로부터 유래된 적어도 하나의 폴리펩티드와 제2 폴리펩티드로부터 유래된 또 다른 폴리펩티드의 작동가능한 연결을 지칭하며, 여기서 제1 및 제2 폴리펩티드는 상이하다. 용어 융합은 펩티드 결합을 통한 적어도 2개의 폴리펩티드의 직접 연결 및 링커 (예를 들어, 펩티드 링커)를 통한 간접 연결 둘 다를 포괄한다.
- [0173] 본원에 사용된 용어 "융합 폴리펩티드" 또는 "융합 단백질" 및 그의 문법적 등가물은 제1 폴리펩티드로부터 유래된 적어도 하나의 폴리펩티드를 제2 폴리펩티드로부터 유래된 또 다른 폴리펩티드에 작동가능하게 연결되도록 포함하는 폴리펩티드 또는 단백질을 지칭하며, 여기서 제1 및 제2 폴리펩티드는 상이하다. 융합 폴리펩티드 또는 단백질의 적어도 2개의 폴리펩티드는 펩티드 결합을 통해 직접적으로 작동가능하게 연결될 수 있거나; 또는 링커 (예를 들어, 펩티드 링커)를 통해 간접적으로 작동가능하게 연결될 수 있다. 따라서, 예를 들어 용어 융합 폴리펩티드는 폴리펩티드 A가 펩티드 결합을 통해 폴리펩티드 B에 직접 작동가능하게 연결된 것인 실시양태 (폴리펩티드 A - 폴리펩티드 B) 및 폴리펩티드 A가 펩티드 링커를 통해 폴리펩티드 B에 작동가능하게 연결된 것인 실시양태 (폴리펩티드 A - 펩티드 링커 - 폴리펩티드 B)를 포괄한다.
- [0174] 본원에 사용된 용어 "중쇄"는 전형적으로 N-말단에서 C-말단으로 중쇄 가변 영역 (VH), CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 이뮤노글로불린 (예를 들어, 인간 Ig)의 부분을 지칭한다. 중쇄의 불변 영역 (즉, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역)은 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초하여 임의의 별개의 이소형, 예를 들어 인간 알파 (α), 델타 (δ), 엡실론 (ϵ), 감마 (γ) 및 뮤 (μ)일 수 있으며, 이는 각각 인간 항체의 hIgA, hIgD, IgE, hIgG 및 hIgM 부류 (hIgG의 하위부류, 예를 들어 hIgG₁, hIgG₂, hIgG₃ 및 hIgG₄ 포함)를 생성한다. 본원에 사용된 용어 "중쇄"는 인간 항체와 관련하여 사용되는 경우에 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초하여 임의의 별개의 유형, 예를 들어 알파 (α), 델타 (δ), 엡실론 (ϵ), 감마 (γ) 및 뮤 (μ)를 지칭할 수 있으며, 이는 각각 항체의 인간 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM 부류 (인간 IgG의 하위부류, 예를 들어 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 및 IgG₄ 포함)를 생성한다.
- [0175] 본원에 사용된 용어 "반감기 연장 모이어티"는 폴리펩티드 또는 단백질 (대상 폴리펩티드 또는 단백질)에 접합되거나 또는 달리 작동가능하게 연결 (예를 들어, 융합)된 경우에 대상체 (예를 들어, 인간 대상체)에게 투여되었을 때 시험관내 대상 폴리펩티드 또는 단백질의 반감기를 증가시키는 모이어티 (예를 들어, 소분자, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 탄수화물, 지질, 합성 중합체 (예를 들어, PEG의 중합체) 등)를 지칭한다. 폴리펩티드 또는 단백질의 약동학적 특성은 관련 기술분야에 공지된 시험관내 모델을 이용하여 평가될 수 있다.
- [0176] 본원에 사용된 용어 "반감기 연장 폴리펩티드" 또는 "반감기 연장 단백질"은 또 다른 폴리펩티드 (대상 폴리펩티드 또는 단백질)에 작동가능하게 연결된 경우에 대상체 (예를 들어, 인간 대상체)에게 투여되었을 때 시험관내 대상 폴리펩티드의 반감기를 증가시키는 폴리펩티드를 지칭한다. 폴리펩티드 또는 단백질의 약동학적 특성은 관련 기술분야에 공지된 시험관내 모델을 이용하여 평가될 수 있다.
- [0177] 본원에 사용된 용어 "이중"은, 제1 요소를 제2 요소와 관련하여 기재하는 데 사용되는 경우에, 기재된 바와 같이 배치되는 제1 요소 및 제2 요소가 자연에 존재하지 않는다는 것을 의미한다. 예를 들어, "이중 모이어티"를 포함하는 폴리펩티드는 자연에서 폴리펩티드에 연결되지 않는 모이어티 (예를 들어, 소분자, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 탄수화물, 지질, 합성 중합체 (예를 들어, PEG의 중합체) 등)에 연결된 폴리펩티드를 의미한다. 예를 들어, 이중 모이어티의 비제한적 예는 이중 폴리펩티드 (본원에 정의된 바와 같음)이다.
- [0178] 본원에 사용된 용어 "이중 신호 펩티드"는 자연에서 대상 폴리펩티드 또는 단백질에 작동가능하게 연결되지 않은 신호 펩티드를 지칭한다. 예를 들어, hIL-12p40에 작동가능하게 연결된 인간 IL-2 (hIL-2)로부터의 신호 펩티드를 포함하는 폴리펩티드와 관련하여, hIL-2 신호 펩티드는 이중 신호 펩티드를 구성할 것이다.
- [0179] 본원에 사용된 용어 "상동 신호 펩티드"는 자연에서 대상 폴리펩티드 또는 단백질에 작동가능하게 연결된 신호 펩티드를 지칭한다. 예를 들어, hIL-2에 작동가능하게 연결된 인간 IL-2로부터의 신호 펩티드를 포함하는 폴리펩티드와 관련하여, hIL-2 신호 펩티드는 상동 신호 펩티드를 구성할 것이다.

- [0180] 용어 "인간 탄산 안하이드라제 IX" 또는 "CAIX"는 위장관에서 산 분비를 용이하게 하는 인간 탄산 안하이드라제 막 횡단 이량체 금속효소를 지칭한다. CAIX는 관련 기술분야에서 "카르보네이트 데하이드라타제 IX", "탄산 안하이드라제 9", "CA9" 및 "CA-IX"로도 또한 지칭된다. 예시적인 참조 성숙 hCAIX 단백질의 아미노산 서열은 유니프롯 (Uniprot) 수탁 번호 Q16790 하에 찾아볼 수 있고, 본원에서 서열식별번호: 1에 제시된다.
- [0181] 본원에 사용된 용어 "인간 종양 연관 항원" 또는 "hTAA"는 본원에 기재된 다중특이적 단백질의 인간 암 세포로의 동원을 가능하게 하는, 인간 암 세포의 표면 상에 발현된 단백질을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 종양 연관 항원은 정상 세포 및 암 세포 둘 다에 의해 발현된다. 일부 실시양태에서, 종양 연관 항원은 정상 세포와 비교하여 암 세포에 의해 과다발현되며, 예를 들어 정상 세포와 비교하여 1배 과다발현, 2배 과다발현, 3배 과다발현 또는 그 초과이다. 일부 실시양태에서, 종양 연관 항원, 예를 들어 정상 세포에 의해 발현된 단백질과 비교하여 아미노산 변형 (예를 들어, 아미노산 결실, 부가 및/또는 치환)을 함유하는 단백질은 암 세포에 의해 부적절하게 합성된다. 일부 실시양태에서, 종양 연관 항원은 암 세포에 의해서만 발현되고, 정상 세포에 의해서는 검출가능한 수준으로 발현되지 않는다. 종양-연관 단백질을 확인 및 검증하는 방법은 통상의 기술자에게 공지되어 있고, 문헌에 기재되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Bornstein, AAPS J. (2015), vol. 17(3), p. 525-534; Hong et al., BMC Syst Biol. (2018), vol. 12 (Suppl 2), p.17] 참조).
- [0182] 용어 "인간 인터류킨 12" 또는 "hIL-12"는 인간 IL-12 단백질 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0183] 용어 "인터류킨 12" 및 "IL-12"는 본원에서 상호교환가능하게 사용되며, IL-12p35 서브유닛 및 IL-12p40 서브유닛을 포함하는 기능적 IL-12 단백질 복합체를 의미하고 포괄하는 것으로 의도된다. 일부 실시양태에서, IL-12p35 서브유닛 및 IL-12p40 서브유닛은 단일 폴리펩티드 쇠, 예를 들어 단일 쇠 IL-12 (scIL-12) (예를 들어, 본원에 기재된 scIL-12)로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, IL-12p35 서브유닛 및 IL-12p40 서브유닛은 단일 폴리펩티드 쇠로 작동가능하게 연결되는 것이 아니라, 2개의 개별 폴리펩티드로 코딩된다.
- [0184] 용어 "단일 쇠 IL-12" 및 "scIL-12"는 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, IL-12p35 폴리펩티드에 직접적으로 또는 펩티드 링커를 통해 간접적으로 융합된 IL-12p40 폴리펩티드를 발현하도록 조작되어 IL-12p40/IL-12p35 분자가 단일 폴리펩티드 쇠 (즉, 융합 폴리펩티드)로서 생산되도록 하는 IL-12의 형태를 지칭한다. scIL-12는 scIL-12의 카르복실-말단 ("C-말단") 부분으로서의 IL-12p35 폴리펩티드에 직접적으로 또는 펩티드 링커를 통해 간접적으로 융합된 아미노-말단 ("N-말단") 부분으로서의 IL-12p40 폴리펩티드로 시작하여 단일 폴리펩티드가 생산되도록 어느 순서로든 구성될 수 있다. 이러한 구성은 펩티드 링커가 이용되는 경우에 "IL-12p40-링커-IL-12p35"로서 약칭 명칭에 의해 나타내어질 수 있다. 반대로, scIL-12 구축물에서, IL-12p35 폴리펩티드는 또한 scIL-12의 C-말단 부분으로서의 IL-12p40에 직접적으로 또는 펩티드 링커를 통해 융합된 N-말단 부분일 수 있다. 이러한 구성은 펩티드 링커가 이용되는 경우에 "IL-12p35-링커-IL-12p40"으로서 약칭 명칭에 의해 나타내어질 수 있다.
- [0185] 본원에 사용된 용어 "hIL-12p35"는 이종이량체 IL-12 단백질의 인간 알파 서브유닛을 지칭한다. 예시적인 참조 IL-12p35의 아미노산 서열은 유니프롯 수탁 번호 P29459 하에 찾아볼 수 있고, 본원에서 서열식별번호: 30에 제시된다. 본 개시내용의 목적상, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드의 모든 아미노산의 넘버링 (및 예를 들어, 아미노산 치환)은 천연 신호 펩티드를 함유하는 hIL-12p35의 미성숙 형태의 아미노산 서열 (즉, 서열식별번호: 30)에 대해 제시된다. 본원에 기재된 바와 같이, 서열식별번호: 30의 아미노산 1-22는 천연 신호 펩티드이며, 이는 생체내에서 절단되어 성숙 단백질 (서열식별번호: 31)을 형성한다. 아미노산 넘버링을 지정하기 위한 hIL-12p35의 미성숙 형태의 사용은 단지 일관성을 위한 것이고, 이 넘버링을 이용하는 실시양태의 범주를 hIL-12p35의 신호 펩티드를 함유하는 폴리펩티드로 제한하지 않는다. 예를 들어, Y189A 아미노산 치환을 갖는 서열식별번호: 31의 아미노산 서열 (hIL-12p35의 성숙 형태)을 포함하는 것으로서 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드는 hIL-12p35의 신호 펩티드가 요구되지 않으며, 다만 아미노산 위치 Y189의 넘버링은 단백질의 미성숙 형태에 기초한다. 변이체 및 융합 단백질을 생산하기 위해 단백질의 성숙 형태를 이용하는 것은 관련 기술분야에서 통상적이다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 hIL-12p35의 미성숙 형태에 대한 아미노산 넘버링에 기초하여 hIL-12p35의 성숙 형태 (서열식별번호: 31) 내의 아미노산 위치를 용이하게 결정할 수 있다. 상기 제시된 바와 같이, hIL-12p35 단백질의 미성숙 형태의 아미노산 1-22는 신호 서열이다. 따라서, hIL-12p35 단백질의 성숙 형태 내의 특정한 아미노산의 아미노산 위치는 hIL-12p35의 미성숙 형태에 대해 지정된 특정한 아미노산의 아미노산 위치로부터 22를 차감으로써 결정될 수 있다. 예를 들어, 아미노산 위치 Y189 (서열식별번호: 30에 대한 넘버링)는 단백질의 성숙 형태 (서열식별번호: 32) 내의 아미노산 위치 Y167에 상응할 것이다.
- [0186] 본원에 사용된 용어 "hIL-12p40"은 이종이량체 IL-12 단백질의 인간 베타 서브유닛을 지칭한다. 예시적인 참조

IL-12p40의 아미노산 서열은 유니프록 수탁 번호 P29460 하에 찾아볼 수 있고, 본원에서 서열식별번호: 32에 제시된다. 본 개시내용의 목적상, 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드의 모든 아미노산 (및 예를 들어, 아미노산 치환)의 넘버링은 천연 신호 펩티드를 함유하는 hIL-12p40의 미성숙 형태의 아미노산 서열 (즉, 서열식별번호: 32)에 대해 제시된다. 본원에 기재된 바와 같이, 서열식별번호: 32의 아미노산 1-22는 천연 신호 펩티드이며, 이는 생체내에서 절단되어 성숙 단백질 (서열식별번호: 33)을 형성한다. 아미노산 넘버링을 지정하기 위한 hIL-12p40의 미성숙 형태의 사용은 단지 일관성을 위한 것이고, 이 넘버링을 이용하는 실시양태의 범주를 hIL-12p40의 신호 펩티드를 함유하는 폴리펩티드로 제한하지 않는다. 예를 들어, W37A 아미노산 치환을 갖는 서열식별번호: 33의 아미노산 서열 (hIL-12p40의 성숙 형태)을 포함하는 것으로서 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드는 hIL-12의 신호 펩티드가 요구되지 않으며, 다만 아미노산 위치 W37의 넘버링은 단백질의 미성숙 형태에 기초한다. 변이체 및 융합 단백질을 생산하기 위해 단백질의 성숙 형태를 이용하는 것은 관련 기술분야에서 통상적이다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 hIL-12p40의 미성숙 형태에 대한 아미노산 넘버링에 기초하여 hIL-12p40의 성숙 형태 (서열식별번호: 33) 내의 아미노산 위치를 용이하게 결정할 수 있다. 상기 제시된 바와 같이, hIL-12p40 단백질의 미성숙 형태의 아미노산 1-22는 신호 서열이다. 따라서, hIL-12p40 단백질의 성숙 형태 내의 특정한 아미노산의 아미노산 위치는 hIL-12p40의 미성숙 형태에 대해 지정된 특정한 아미노산의 아미노산 위치로부터 22를 차감으로써 결정될 수 있다. 예를 들어, 아미노산 위치 W37 (서열식별번호: 32에 대한 넘버링)은 단백질의 성숙 형태 (서열식별번호: 33) 내의 아미노산 위치 W15에 상응할 것이다.

[0187] 폴리펩티드, 단백질 또는 폴리뉴클레오티드와 관련하여 본원에 사용된 용어 "단리된"은 자연 상태에서 회합되어 있는 다른 세포 성분 또는 다른 오염물이 실질적으로 없는 폴리펩티드, 단백질 또는 폴리뉴클레오티드를 지칭한다.

[0188] 본원에 사용된 용어 "카바트 넘버링 시스템"은 항체의 가변 영역에 대한 카바트 넘버링 규정을 지칭하며, 예를 들어 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health and Services, 5th edition, 1991] (이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨)을 참조한다. 달리 나타내지 않는 한, 항체의 가변 영역의 넘버링은 카바트 넘버링 시스템에 따라 표시된다.

[0189] 본원에 사용된 용어 "링커"는 2개의 요소 (예를 들어, 폴리펩티드 또는 단백질 도메인) 사이의 연결을 지칭한다. 링커는 공유 결합 또는 펩티드 링커일 수 있다. 용어 "결합"은 화학 결합 (예를 들어, 아미드 결합, 디설피드 결합 또는 화학 반응으로부터 생성된 임의의 종류의 결합 (예를 들어, 화학 접합))을 지칭한다. 용어 "펩티드 링커"는 2개의 폴리펩티드 또는 단백질 도메인을 연결하는 데 사용될 수 있는 아미노산 또는 폴리펩티드를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 2개의 폴리펩티드 또는 단백질 도메인 사이에 공간 및/또는 가요성을 제공하는 데 사용될 수 있다.

[0190] 본원에 사용된 용어 "경쇄"는 N-말단에서 C-말단으로 경쇄 가변 영역 (VL)이 경쇄 불변 영역 (CL)에 작동가능하게 연결된 것을 포함하는 이뮤노글로불린 (예를 들어, 인간 이뮤노글로불린)의 부분을 지칭한다. CL은 CL의 아미노산 서열에 기초하여 임의의 별개의 유형, 예를 들어 카파 (κ) 또는 람다 (λ)일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 다중특이적 단백질은 1개 이상의 경쇄를 포함한다.

[0191] 본원에 사용된 용어 "메신저 RNA" 또는 "mRNA"는 적어도 1개의 펩티드 또는 단백질을 코딩하는 임의의 RNA를 지칭하고, 시험관내, 시험관내, 계내 또는 생체외에서 번역되어 코딩된 펩티드 또는 단백질을 생산할 수 있다.

[0192] 폴리뉴클레오티드와 관련하여 본원에 사용된 용어 "변형"은 참조 폴리뉴클레오티드와 비교하여 뉴클레오티드의 적어도 1개의 치환, 변경, 역위, 부가 또는 결실 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환)을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 변형은 비-자연 발생 뉴클레오티드 잔기의 포함을 포함할 수 있다. 아미노산 서열과 관련하여 본원에 사용된 용어 "변형"은 참조 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 잔기의 적어도 1개의 치환, 변경, 역위, 부가 또는 결실을 포함하는 아미노산 서열을 지칭한다. 변형은 비-자연 발생 아미노산 잔기의 포함을 포함할 수 있다. 2개의 아미노산 서열의 퍼센트 동일성을 결정하기 위한 목적상 자연 발생 아미노산 유도체는 변형된 아미노산으로 간주되지 않는다. 예를 들어, 2개의 아미노산 서열의 퍼센트 동일성을 결정하기 위한 목적상 글루타메이트 아미노산 잔기의 피로글루타메이트 아미노산 잔기로의 자연 발생 변형은 아미노산 변형으로 간주되지 않을 것이다. 추가로, 예를 들어 글루타메이트 아미노산 잔기의 피로글루타메이트 아미노산 잔기로의 자연 발생 변형은 본원에 정의된 바와 같은 아미노산 "변형"으로 간주되지 않을 것이다.

[0193] "제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 변형" (또는 유사한 어구)은 Fc 영역을 구성하는 폴리펩티드와 동일한 폴리펩티드와의 회합으로 동중이량체를 형성하는 것을 감소시키거나 방지하는 Fc 영역의 펩티드 백본 조작 또는 번역후 변형이다. 본원에 사용된 바와 같은 회합을 촉진하는 변형은 특히 회합시키기를 원

하는 2개의 Fc 영역 (즉, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역) 각각에 대해 이루어진 개별 변형을 포함하며, 여기서 변형은 2개의 Fc 영역의 회합을 촉진하도록 서로에 대해 상보적이다. 예를 들어, 회합을 촉진하는 변형은 각각 그의 회합이 입체적으로 또는 정전기적으로 유리해지도록 Fc 영역 중 하나 또는 둘 다의 구조 또는 전하를 변경시킬 수 있다. 따라서, 이중이량체화는 제1 Fc 영역을 구성하는 폴리펩티드와 제2 Fc 영역을 구성하는 폴리펩티드 사이에 발생하며, 이는 각각의 Fc 영역에 융합된 추가의 성분 (예를 들어, 항원 결합 도메인)이 동일하지 않다는 점에서 동일하지 않을 수 있다. 일부 실시양태에서, 회합을 촉진하는 변형은 Fc 영역에 아미노산 돌연변이, 구체적으로 아미노산 치환을 포함한다. 특정한 실시양태에서, 회합을 촉진하는 변형은 각각의 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역에 개별 아미노산 돌연변이, 구체적으로 1개 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 예를 들어, § 5.3.2.2를 참조한다.

[0194] 본원에 사용된 용어 "모이어티"는 본원에 기재된 폴리펩티드 또는 단백질에 작동가능하게 연결될 수 있는 임의의 거대 또는 마이크로 분자를 기재하기 위해 일반적으로 사용된다. 예시적인 모이어티는 소분자, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, DNA, RNA), 탄수화물, 지질, 합성 중합체 (예를 들어, PEG의 중합체)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0195] 본원에 사용된 용어 "작동가능하게 연결된"은 2개의 모이어티 (예를 들어, 2개의 폴리펩티드 또는 2개의 폴리뉴클레오티드)의 기능적 관계로의 연결을 지칭한다. 예를 들어, 폴리펩티드는 또 다른 폴리펩티드에, 둘 다의 폴리펩티드가 기능적하도록 (예를 들어, 본원에 기재된 융합 단백질 또는 폴리펩티드) 이들이 인 프레임으로 (직접적으로 또는 펩티드 링커를 통해 간접적으로) 연결되는 경우에 작동가능하게 연결된다. 또는 예를 들어, 전사 조절 폴리뉴클레오티드, 예를 들어 프로모터, 인핸서 또는 다른 발현 제어 요소는 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 전사에 영향을 미치는 경우에 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드에 작동가능하게 연결된다. 용어 "작동가능하게 연결된"은 또한, 예를 들어 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드에 대한 모이어티의 접합 (예를 들어, 단백질 또는 폴리펩티드에 대한 PEG 중합체의 접합)을 지칭할 수 있다.

[0196] 2개의 서열 (예를 들어, 펩티드 또는 단백질 (아미노산 서열) 또는 폴리뉴클레오티드 (핵산 서열)) 사이의 "퍼센트 동일성"의 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다. 2개의 서열의 비교에 이용되는 수학적 알고리즘의 구체적인 비제한적 예는 문헌 [Karlin S & Altschul SF (1993) PNAS 90: 5873-5877]에서와 같이 변형된 문헌 [Karlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87: 2264-2268]의 알고리즘이며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 이러한 알고리즘은 문헌 [Altschul SF et al., (1990) J Mol Biol 215: 403] (이는 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램에 포함된다. BLAST 뉴클레오티드 검색은 본원에 기재된 핵산 분자에 상동인 뉴클레오티드 서열을 수득하기 위해, 예를 들어 점수=100, 워드길이=12로 설정된 NBLAST 뉴클레오티드 프로그램 파라미터를 사용하여 수행될 수 있다. BLAST 단백질 검색은 본원에 기재된 단백질 분자에 상동인 아미노산 서열을 수득하기 위해, 예를 들어 점수=50, 워드길이=3으로 설정된 XBLAST 프로그램 파라미터를 사용하여 수행될 수 있다. 비교 목적을 위한 갭이 있는 정렬을 수득하기 위해, 갭드(Gapped) BLAST가 문헌 [Altschul SF et al., (1997) Nuc Acids Res 25: 3389-3402] (이는 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이 이용될 수 있다. 대안적으로, 분자 사이의 먼 관계를 검출하는 반복 검색을 수행하기 위해 PSI BLAST가 사용될 수 있다 (상기 동일 문헌). BLAST, 갭드 BLAST 및 PSI Blast 프로그램을 이용하는 경우에, 각각의 프로그램 (예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 파라미터가 사용될 수 있다 (예를 들어, 국립 생물 정보 센터 (NCBI), 월드와이드 웹, ncbi.nlm.nih.gov 참조). 서열의 비교에 이용되는 수학적 알고리즘의 또 다른 구체적인 비제한적 예는 문헌 [Myers and Miller, 1988, CABIOS 4:11-17]의 알고리즘이며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 이러한 알고리즘은 GCG 서열 정렬 소프트웨어 패키지의 일부인 ALIGN 프로그램 (버전 2.0)에 포함된다. 아미노산 서열을 비교하기 위해 ALIGN 프로그램을 이용하는 경우에, PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4가 사용될 수 있다. 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성은 갭을 허용하거나 허용하지 않으면서 상기 기재된 것과 유사한 기술을 사용하여 결정될 수 있다. 퍼센트 동일성을 계산하는 데 있어서, 전형적으로 정확한 매치만이 카운팅된다.

[0197] 본원에 사용된 용어 "제약 조성물"은 동물, 예를 들어 인간 대상체에게 투여하기에 적합하고 치료제 및 제약상 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 의미한다. "제약상 허용되는 담체 또는 희석제"는 합리적인 치료 이익/위험 비에 상응하는, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 인간 및/또는 비-인간 동물의 조직과 접촉하여 사용하기 위한 물질을 의미한다.

[0198] 용어 "폴리뉴클레오티드" 및 "핵산 분자"는 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, DNA 또는 RNA의 중합체를 지칭한다. 핵산 분자는 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있고; 천연, 비-천연 또는 변형된 뉴클레오티드를 함유할 수 있으며; 비변형된 핵산 분자의 뉴클레오티드들 사이에서 발견되는 포스포디에스테르 대신에, 천연, 비-천연

또는 변경된 뉴클레오타이드간 연결, 예컨대 포스포로아미데이트 연결 또는 포스포로티오에이트 연결을 함유할 수 있다. 핵산 분자는 재조합 수단, 예를 들어 통상의 클로닝 기술 및 폴리머라제 연쇄 반응 등을 사용하는 재조합 라이브러리 또는 세포 계놈으로부터의 핵산 분자의 클로닝 및 합성 수단을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 관련 기술분야에서 이용가능한 임의의 수단에 의해 수득된 모든 핵산 분자를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 통상의 기술자는 달리 언급된 경우를 제외하고, 본 출원에 제시된 핵산 서열이 대표적인 DNA 서열에서 티미딘 (T)을 열거할 것이지만, 서열이 RNA (예를 들어, mRNA)를 나타내는 경우에, 티미딘 (T)은 우라실 (U)로 치환될 것임을 인지할 것이다. 따라서, 특정한 서열 식별 번호에 의해 확인된 DNA에 의해 코딩된 임의의 RNA 폴리뉴클레오타이드는 또한 DNA에 의해 코딩된 상응하는 RNA (예를 들어, mRNA) 서열을 포함할 수 있으며, 여기서 DNA 서열의 각각의 티미딘 (T)은 우라실 (U)로 치환된다.

[0199] 본원에 사용된 용어 "폴리펩티드"는 펩티드 결합에 의해 연결된 적어도 2개 (예를 들어, 적어도 5개)의 아미노산의 중합체를 지칭한다. 용어 "폴리펩티드"는 특정 길이의 아미노산의 중합체 체를 나타내지 않는다. 아미노산의 보다 짧은 중합체 (예를 들어, 대략 2-50개의 아미노산)를 펩티드로서 지칭하고; 아미노산의 보다 긴 중합체 (예를 들어, 대략 50개 초과)의 아미노산)를 폴리펩티드로서 지칭하는 것이 관련 기술분야에서 통상적이다. 그러나, 용어 "펩티드" 및 "폴리펩티드"는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.

[0200] 본원에 사용된 용어 "단백질"은 폴리펩티드 또는 폴리펩티드의 세트 (즉, 적어도 2개)를 지칭한다. 단백질이 폴리펩티드의 세트를 포함하는 실시양태에서, 폴리펩티드의 세트는 회합하여 기능적 단위 (즉, 4차 구조)를 형성한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드 또는 폴리펩티드의 세트는 그의 3차원 구조 (즉, 3차 또는 4차 구조)로 폴딩된다. 폴리펩티드 또는 폴리펩티드의 세트가 본원에서 고려되는 경우에, 그의 3차원 구조 (즉, 3차 또는 4차 구조)로 폴딩된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드의 세트를 포함하는 단백질이 또한 본원에 제공되고, 그 반대의 경우도 마찬가지임을 이해하여야 한다.

[0201] "예방적" 치료는 병리상태가 발생할 위험을 감소시킬 목적으로 질환의 징후를 나타내지 않거나 또는 초기 징후만을 나타내는 대상체에게 투여되는 치료이다.

[0202] 용어 "RNA" 및 "폴리리보뉴클레오타이드"는 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 포스포디에스테르 결합을 통해 중합된 다수의 리보뉴클레오타이드를 포함하는 거대분자를 지칭한다. 리보뉴클레오타이드는 당이 리보스인 뉴클레오타이드이다. RNA는 변형된 뉴클레오타이드를 함유할 수 있고; 비변형된 핵산 분자의 뉴클레오타이드들 사이에서 발견되는 포스포디에스테르 대신에, 천연, 비-천연 또는 변경된 뉴클레오타이드간 연결, 예컨대 포스포로아미데이트 연결 또는 포스포로티오에이트 연결을 함유할 수 있다.

[0203] 본원에 사용된 용어 "샘플"은 대상체로부터 수득된 다양한 생물학적 시편을 포괄한다. 예시적인 샘플 유형은, 예를 들어 혈액 및 생물학적 기원의 다른 액체 샘플 (전혈, 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC), 혈청, 혈장, 소변, 타액, 양수, 대변, 활액 등을 포함하나 이에 제한되지는 않음), 비인두 스왑, 고체 조직 샘플, 예컨대 생검 (또는 그로부터 유래된 세포 및 그의 자손), 조직 배양물 (또는 그로부터 유래된 세포 및 그의 자손) 및 세포 배양물 (또는 그로부터 유래된 세포 및 그의 자손)을 포함한다. 상기 용어는 또한 대상체로부터의 그의 입수 후에 임의의 방식으로, 예컨대 원심분리, 여과, 세척, 침전, 투석, 크로마토그래피, 용해, 시약으로의 처리, 특정 세포 집단의 풍부화, 냉장, 동결, 염색 등에 의해 조작된 샘플을 포함한다.

[0204] 용어 "scFv" 또는 "단일 체 가변 단편"은 VL 영역에 펩티드 링커를 통해 작동가능하게 연결된 VH 영역을 포함하는 항체를 지칭하며, 여기서 VH 및 VL 영역은 회합하여 항원에 특이적으로 결합한다 (예를 들어, 항원 결합 도메인을 형성함). 일부 실시양태에서, scFv는 N-말단에서 C-말단으로 VH 영역, 펩티드 링커 및 VL 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, scFv는 N-말단에서 C-말단으로 VL 영역, 펩티드 링커 및 VH 영역을 포함한다.

[0205] 본원에 사용된 용어 "(scFv)₂"는 제2 scFv에 (예를 들어, 펩티드 링커를 통해) 작동가능하게 연결된 제1 scFv를 포함하는 항체를 지칭한다. 제1 및 제2 scFv는 동일하거나 상이한 항원에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 scFv는 펩티드 링커를 통해 작동가능하게 연결된다.

[0206] 본원에 사용된 용어 "scFv-Fc"는 Fc 영역에 (예를 들어, 펩티드 링커를 통해) 작동가능하게 연결된 scFv를 포함하는 항체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, scFv는 제1 및 제2 Fc 영역을 포함하는 단백질의 제1 Fc 영역에만 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 scFv는 제1 Fc 영역에 작동가능하게 연결되고, 제2 scFv는 제1 및 제2 Fc 영역을 포함하는 단백질의 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결된다.

[0207] 본원에 사용된 용어 "(scFv)₂-Fc"는 Fc 영역에 (예를 들어, 펩티드 링커를 통해) 작동가능하게 연결된 (scFv)₂

를 지칭한다. 일부 실시양태에서, (scFv)₂는 제1 및 제2 Fc 영역을 포함하는 단백질의 제1 Fc 영역에만 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 (scFv)₂는 제1 Fc 영역에 작동가능하게 연결되고, 제2 (scFv)₂는 제1 및 제2 Fc 영역을 포함하는 단백질의 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결된다.

[0208] 본원에 사용된 용어 "단일 도메인 항체" 또는 "sdAb"는 단일 단량체 가변 항체 도메인을 갖는 항체를 지칭한다. sdAb는 특이적 항원에 특이적으로 결합할 수 있다. VHH (본원에 정의된 바와 같음)는 sdAb의 예이다.

[0209] 본원에 사용된 용어 "신호 펩티드" 또는 "신호 서열"은 단백질의 특정 소기관, 세포 구획으로의 수송 또는 국제화 또는 세포의 외수송을 지시할 수 있는 서열 (예를 들어, 아미노산 서열)을 지칭한다. 상기 용어는 신호 서열 펩티드 및 신호 펩티드를 코딩하는 핵산 서열 둘 다를 포괄한다. 따라서, 핵산과 관련하여 신호 펩티드에 대한 언급은 신호 펩티드를 코딩하는 핵산 서열을 지칭한다.

[0210] 본원에 사용된 용어 "특이적으로 결합한다"는 다른 아미노산 서열에 비해 제1 단백질 (예를 들어, 리간드)과 제2 단백질 (예를 들어, 리간드의 동족 수용체) 사이의 우선적인 상호작용, 즉 유의하게 더 높은 결합 친화도를 지칭한다. 본원에서, 제1 단백질 또는 폴리펩티드가 제2 단백질 또는 폴리펩티드에 "특이적으로 결합하는" 것으로 언급되는 경우에, 제1 단백질 또는 폴리펩티드는 제2 단백질 또는 폴리펩티드의 에피토프에 특이적으로 결합하는 것으로 이해된다. 용어 "에피토프"는 제1 단백질 또는 폴리펩티드가 특이적으로 인식하는 제2 단백질 또는 폴리펩티드의 부분을 지칭한다. 용어 특이적으로 결합한다는 상이한 종의 동일한 에피토프와 교차 반응성인 분자를 포함한다. 예를 들어, 인간 CAIX에 특이적으로 결합하는 항체는 또 다른 종 (예를 들어, 시노몰구스, 뮤린 등)의 CAIX와 교차 반응성일 수 있고, 여전히 본원에서 인간 CAIX에 특이적으로 결합하는 것으로 간주된다.

[0211] 본원에 사용된 용어 "대상체"는 임의의 동물, 예컨대 인간 또는 다른 동물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 척추동물 (예를 들어, 포유동물, 조류, 어류, 파충류 또는 양서류)이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시양태에서, 방법 대상체는 비-인간 포유동물이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 비-인간 포유동물, 예컨대 비-인간 영장류 (예를 들어, 원숭이, 유인원), 유제류 (예를 들어, 소, 버팔로, 양, 염소, 돼지, 낙타, 라마, 알파카, 사슴, 말, 당나귀), 육식동물 (예를 들어, 개, 고양이), 설치류 (예를 들어, 래트, 마우스) 또는 토끼류 (예를 들어, 토끼)이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 조류, 예컨대 조류 분류군 갈리포르메스(Galliformes) (예를 들어, 닭, 칠면조, 꿩, 메추라기), 안세리포르메스(Anseriformes) (예를 들어, 오리, 거위), 팔레아오그나타에(Paleognathae) (예를 들어, 타조, 에뮤), 콜럼비포르메스(Columbiformes) (예를 들어, 비둘기, 도브) 또는 프시타시포르메스(Psittaciformes) (예를 들어, 앵무새)의 구성원이다.

[0212] 본원에 사용된 용어 치료제의 "치료 유효량"은 단독으로 또는 또 다른 치료제와 조합되어 사용되는 경우에, 대상체를 질환의 발병에 대해 보호하거나 또는 질환 또는 감염 증상의 중증도의 감소, 질환 또는 감염 무증상 기간의 빈도 및 지속기간의 증가, 또는 질환 또는 감염 고통으로 인한 손상 또는 장애의 방지에 의해 입증되는 질환 퇴행을 촉진하는 치료제의 임의의 양을 지칭한다. 질환 퇴행을 촉진하는 치료제의 능력은 숙련된 진료의에게 공지된 다양한 방법을 사용하여, 예컨대 임상 시험 동안 인간 대상체에서, 인간에서의 효능을 예측하는 동물 모델 시스템에서, 또는 시험관내 검정에서 작용제의 활성을 검정함으로써 평가될 수 있다.

[0213] 본원에 사용된 용어 "치료하다", "치료하는", "치료" 등은 그와 연관된 질환 및/또는 증상(들)을 감소 또는 호전시키거나 또는 목적하는 약리학적 및/또는 생리학적 효과를 수득하는 것을 지칭한다. 질환의 치료는 질환 또는 그와 연관된 증상(들)이 완전히 제거되는 것을 배제하지는 않지만 요구하지 않는 것으로 인지될 것이다. 일부 실시양태에서, 효과는 치료적이며, 즉 비제한적으로 효과는 질환 및/또는 질환에 기인하는 유해 증상을 부분적으로 또는 완전히 감소시키거나, 경감시키거나, 제거하거나, 약화시키거나, 완화시키거나, 그의 강도를 감소시키거나 또는 치유한다. 일부 실시양태에서, 효과는 예방적이며, 즉 효과는 질환의 발생 또는 재발에 대해 보호하거나 또는 그를 예방한다. 이를 위해, 본원에 개시된 방법은 치료 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

[0214] 본원에 사용된 용어 "가변 영역"은 항체의 부분, 일반적으로 경쇄 또는 중쇄의 부분, 전형적으로 성숙 중쇄에서 대략 아미노-말단 110 내지 120개 아미노산 또는 110 내지 125개 아미노산 및 성숙 경쇄에서 약 90 내지 115개 아미노산을 지칭하며, 이는 항체들 사이에서 서열이 광범위하게 상이하고, 특정한 항체의 그의 특정한 항원에 대한 결합 및 특이성에 사용된다. 서열의 가변성은 상보성 결정 영역 (CDR)으로 불리는 영역에 집중되는 반면 가변 도메인 내의 보다 고도로 보존된 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 불린다. 임의의 특정한 메카니즘 또는 이론에 얽매는 것을 원하지는 않지만, 경쇄 및 중쇄의 CDR은 주로 항체와 항원의 상호작용 및 특이성을 담당

하는 것으로 여겨진다. 특정 실시양태에서, 가변 영역은 인간 가변 영역이다. 특정 실시양태에서, 가변 영역은 설치류 또는 무린 CDR 및 인간 프레임워크 영역 (FR)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, 가변 영역은 영장류 (예를 들어, 비-인간 영장류) 가변 영역이다. 특정 실시양태에서, 가변 영역은 설치류 또는 무린 CDR 및 영장류 (예를 들어, 비-인간 영장류) 프레임워크 영역 (FR)을 포함한다.

[0215] 용어 "VL" 및 "VL 영역"은 이뮤노글로불린 경쇄 가변 영역을 지칭하는 것으로 상호교환가능하게 사용된다. VL 영역은 항체, 예를 들어 scFv, Fab, 전장 항체 내로 혼입될 수 있다. 예를 들어, scFv는 VH 영역에 펩티드 링커를 통해 작동가능하게 연결된 VL 영역을 포함한다.

[0216] 용어 "VH" 및 "VH 영역"은 이뮤노글로불린 중쇄 가변 영역을 지칭하는 것으로 상호교환가능하게 사용된다. VH 영역은 항체, 예를 들어 scFv, Fab, 전장 항체 내로 혼입될 수 있다. 예를 들어, scFv는 VL 영역에 펩티드 링커를 통해 작동가능하게 연결된 VH 영역을 포함한다.

[0217] 본원에 사용된 용어 "VHH"는 단일 단량체 중쇄 가변 항체 도메인 (VH)을 갖는 단일 도메인 항체 (sdAb)의 유형을 지칭한다. 이러한 항체는 자연적으로 경쇄가 없는 또는 합성적으로 생산된 낙타류 포유동물 (예를 들어, 낙타, 라마)에서 발견되거나 또는 그로부터 생산될 수 있다.

[0218] 본원에 사용된 용어 "(VHH)₂"는 제2 VHH에 (예를 들어, 펩티드 링커를 통해) 작동가능하게 연결된 제1 VHH를 포함하는 항체를 지칭한다. 제1 및 제2 VHH는 동일하거나 상이한 항원에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 VHH는 펩티드 링커에 의해 작동가능하게 연결된다.

[0219] 본원에 사용된 용어 "VHH-Fc"는 Fc 영역에 (예를 들어, 펩티드 링커를 통해) 작동가능하게 연결된 VHH를 포함하는 항체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, VHH는 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역을 포함하는 단백질의 제1 Fc 영역에만 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 VHH는 제1 Fc 영역에 작동가능하게 연결되고, 제2 VHH는 제1 및 제2 Fc 영역을 포함하는 단백질의 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결된다.

[0220] 본원에 사용된 용어 "(VHH)₂-Fc"는 Fc 영역에 (예를 들어, 펩티드 링커를 통해) 작동가능하게 연결된 (VHH)₂를 지칭한다. 일부 실시양태에서, (VHH)₂는 제1 및 제2 Fc 영역을 포함하는 단백질의 제1 Fc 영역에만 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 (VHH)₂는 제1 영역에 작동가능하게 연결되고, 제2 (VHH)₂는 제1 및 제2 Fc 영역을 포함하는 단백질의 제2 Fc 도메인에 작동가능하게 연결된다.

[0221] 5.1.1 인간화 항-CAIX 항체

[0222] 인간 CAIX (hCAIX)는 위장관에서의 산 분비를 용이하게 하는 세포의 활성 부위를 갖는 막횡단 이량체성 금속효소이고, 인간에서 발견되는 14종의 탄산 안하이드라제 이소형 중 하나이다. 예시적인 성숙 (서열식별번호: 1) 및 미성숙 (서열식별번호: 2) 참조 hCAIX 폴리펩티드의 아미노산 서열이 표 1에 제공된다. 서열식별번호: 2의 N-말단 아미노산 1-37 (밑줄표시)은 신호 펩티드를 나타낸다.

[0223] 표 1. 예시적인 hCAIX 폴리펩티드의 아미노산 서열

설명	SEQ ID NO	아미노산 서열
hCAIX 성숙 (신호 서열 부재) 세포의 도메인 볼드체 유니프روت ID: Q16790	1	QRLPRMQEDSPLGGGSSGEDDPLGEEDLPSEEDSPREEDPPG EEDLPGEEDLPGEEDLPEVKPKSEEEGSLKLEDLPTVEAPGD PQEPQNNNAHRDKEGDDQSHWRYGGDPWPVRVSPACAGRFQSP VDIRPQLAAFCPALRPLELLGFLPPLPELRLRNNGHVSQLT LPPGLEMALGPGREYRALQLHLHWGAAGRPGSEHTVEGHRFP AEIHVVHLSTAFARVDEALGRPGGLAVLAFLAEEGPEENSAY EQLLSRLEEIAEEGSETQVPGLDISALLPSDFSRYFYEGSL TTPPCAQGVITVFNQTVMLSAKQLHTLSDTLWGPDSRLQL NFRATQPLNGRVIEASFPAVDSSPRAAEFPVQLNSCLAAGDI LALVFGLLFAVTSVAFLVQMRRQHRRGTKGGVSYRPAEVAET GA
hCAIX 미성숙 (신호 서열 밑줄표시) 세포의 도메인 볼드체 유니프روت ID: Q16790	2	MAPLCPSFWLPLLIAPAPGLTVQLLLSLLLVVPHQRLPR MQEDSPLGGGSSGEDDPLGEEDLPSEEDSPREEDPPGEEDLP GEEDLPGEEDLPEVKPKSEEEGSLKLEDLPTVEAPGDPQEPQ NNAHRDKEGDDQSHWRYGGDPWPVRVSPACAGRFQSPVDIRP QLAAFCPALRPLELLGFLPPLPELRLRNNGHVSQLTLPGL EMALGPGREYRALQLHLHWGAAGRPGSEHTVEGHRFP AEIHVVHLSTAFARVDEALGRPGGLAVLAFLAEEGPEENSAYEQLLS RLEEIAEEGSETQVPGLDISALLPSDFSRYFYEGSLTTPPC AQGVITVFNQTVMLSAKQLHTLSDTLWGPDSRLQLNFRAT QPLNGRVIEASFPAVDSSPRAAEFPVQLNSCLAAGDI LALVFGLLFAVTSVAFLVQMRRQHRRGTKGGVSYRPAEVAETGA

[0224]

[0225] 한 측면에서, hCAIX에 특이적으로 결합하는 항체 (및 그의 기능적 단편 및 변이체 (예를 들어, 그의 항원 결합 도메인))가 본원에 제공되며, 이러한 항체는 본원에서 항-CAIX 항체로 또한 지칭된다.

[0226] 예시적인 항-hCAIX 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열이 표 2에 제공된다.

[0227] 표 2. 예시적인 항-hCAIX VH 및 VL 폴리펩티드의 아미노산 서열

설명	아미노산 서열	SEQ ID NO
VH		
HC1	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYMSWVRQAPGKGLEWVSA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHR SGYFSDYWGQGTTVTVSS	3
HC2	LVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPGKGLEWVSA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHR SGYFSDYWGQGTTLTVTVSS	4
HC3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWVRQAPGKGLEWVAA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHR SGYFSDYWGQGTTLTVTVSS	5
HC4	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWVRQAPGKGLEWVSAINSDG GITYYLDTVKGRFTISRDDSNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARHRSYFSDYWG QGTTLTVTVSS	6
HC5	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPGKLELVSA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHR SGYFSDYWGQGTSTVTVSS	7
HC5 변이체 3	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPGKLELVSA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHR SGYFSDYWGQGTSTVTVSS	7
HC5 변이체 27	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPGKLELVSA INSDGATYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHR SGYFSDYWGQGTSTVTVSS	8
HC5 변이체 29	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAVSGFTFSNYMSWIRQAPGKLELVSA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHR SGYFSDYWGQGTSTVTVSS	9
HC5 변이체 36	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAVSGFTFSNYMSWIRQAPGKLELVSA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHR SGYFSDYWGQGTSTVTVSS	9
HC5 변이체 74	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPGKLELVSA INSDGATYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHR SGYFSDYWGQGTSTVTVSS	8
VL		
LC1	DIVMTQSPATLSLSPGDRATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQAPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDAFVYYCQQYSNPWTFGG GTKVEIK	10
LC2	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQAPRLLVYS ASNRYTGIPDRFSGSGSGTEFTLTISLQSEDAFVYYCQQYSNPWTFGQ GTKLEIK	11
LC3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDAFVYYCQQYSNPWTFGG GTKVEIK	12
LC4	DIQMTQSPFSLASVGDRTITCKASQNVVSAVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASNRYTGVPSPRFGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYFCQQYSNPWTFGG GTKLEIK	13
LC5	AIQLTQSQRFSLASVGDRTITCRASQNVVSAVAWYQQKPGQSPKLLIYS ASNRYTGVPSPRFGSGSGTEFTLTISLQPEDFADFFCQQYSNPWTFGG GTKLEIK	14

LC3 변이체 3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDAFVYYCQQYRNPWTFGG GTKVEIK	15
LC3 변이체 27	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDAFVYYCQQYRNPWTFGG GTKVEIK	15
LC3 변이체 29	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDAFVYYCQQYRNPWTFGG GTKVEIK	15
LC3 변이체 36	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVWYQQKPGQSPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDAFVYYCQQYSNPWTFGG GTKVEIK	16
LC3 변이체 74	EIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCASQNVVSAVWYQKPGQSPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDAFVYYCQQYNNYPWTFGG GTKVEIK	17

[0229] 일부 실시양태에서, 항-hCAIX 항체 (또는 그의 기능적 단편 또는 변이체)는 VH 및 VL을 포함한다.

[0231] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 표 2에 제시된 임의의 VH 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도

85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 표 2에 제시된 임의의 VL 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0232] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 표 2에 제시된 임의의 VH 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하고; VL의 아미노산 서열은 표 2에 제시된 임의의 VL 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함한다.

[0233] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 3-9 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 10-17 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[illegible]

[0235] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

98%, 99% 또는 100% 동일하고, VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 13에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 14에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 16에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 17에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[illegible]

[0237] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도

[illegible]

[0238]

[illegible]

[0239]

[illegible]

[0240]

[illegible]

88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 16에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 17에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

예시적인 항-hCAIX 항체의 VH 및 VL 영역의 뉴클레오티드 서열이 표 3에 제공된다.

표 3. 예시적인 항-CAIX VH 및 VL 폴리펩티드의 뉴클레오티드 서열

설명	뉴클레오티드 서열	SEQ ID NO
VH		
HC1	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGAGGCCTTGTGCAACCTGGAGGCAGCCTGAAGCTGAGCTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTCAGCAACTACTACATGAGCTGGGTGAGACAAGCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCTGCCATCAACTCTGATGGAGGCATCACCTACTACCTGGACACAGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCAGAGATAATAGCAAAAACACCCTGTACCTGCAGATGACAGCCTGAGAGCTGAGGACACAGCTGTGTACTACTGTGCTAGACACAGATCTGGCTACTTCAGCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACCACAGTGACTGTGAGCTCT	18
HC2	CTGGTGCAACTGGTAGAATCTGGAGGAGGCCTTGTGAAACCTGGAGGCAGCCTGAGACTGAGCTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTCAGCAACTACTACATGAGCTGGATCAGACAAGCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCTGCCATCAACTCTGATGGAGGCATCACCTACTACCTGGACACAGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCAGAGATAATGCCAAAAACAGCCTGTACCTGCAGATGACAGCCTGAGAGCTGAGGACACAGCTGTGTACTACTGTGCTAGACACAGATCTGGCTACTTCAGCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTGAGCTCT	19
HC3	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGAGGCCTTGTGCAGCCTGGAGGCAGCCTGAGACTGAGCTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTCAGCAACTACTACATGAGCTGGGTGAGACAAGCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGTGCCATCAACTCTGATGGAGGCATCACCTACTACCTGGACACAGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCAGAGATAATGCCAAAAACAGCCTGTACCTGCAGATGACAGCCTGAGAGCTGAGGACACAGCTGTGTACTACTGTGCTAGACACAGATCTGGCTACTTCAGCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTGAGCTCT	20
HC4	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGAGGCCTTGTGCAACCTGGAGGCAGCCTGAGACTGAGCTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTCAGCAACTACTACATGAGCTGGGTGAGACAAGCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCTGCCATCAACTCTGATGGAGGCATCACCTACTACCTGGACACAGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCAGAGATGACAGCAAAAACACCCTGTACCTGCAGATGACAGCCTGAGAGCTGAGGACACAGCTGTGTACTACTGTGCTAGACACAGATCTGGCTACTTCAGCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACCACAGTGACTGTGAGCTCT	21
HC5	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGAGGCCTTGTGAAACCTGGAGGCAGCCTGAGACTGAGCTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTCAGCAACTACTACATGAGCTGGATCAGACAAGCCCTGAGAAGAGACTGGAGCTGGTGTCTGCCATCAACTCTGATGGAGGCATCACCTACTACCTGGACACAGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCAGAGATAATGCCAAAAACAGCCTGTACCTGCAGATGACAGCCTGAGAGCTGAGGACACAGCCTGTCTACTGTGCTAGACACAGATCTGGCTACTTCAGCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACCCTGTGTGACTGTGAGCTCT	22
HC5 코돈 최적화됨	GAAGTCCGTCTGGTCGAGAGCGGGGGGGCCTGGTGAAGCCTGGCGGCAGCCTGAGGCTGTCTTGCGCCGCTTCCGGCTTCACCTTTTCTAACTACTATATGTCCTGGATCAGACAGGCCCCAGAGAAGAGGCTGGAGCTGGTGTCCGCCATCAACTCTGACGGCGGCATCACATACTATCTGGATACCGTGAAGGGCAGATTCACAATCTCTCGCGATAACGCCAAGAAGTCCCTGTACCTCCAGATGACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCTCTGTTCTATTGCGCTAGGCACCGG	23

	TCCGGCTACTTTAGCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCTCCGTCACAGTGTCCAGC	
VL		
LC1	GACATTGTGATGACACAGTCTCCTGCCACCCTGAGCCTGAGCCCTGGAGACAGAGCTACCCCTGAGCTGCAAGGCTTCTCAGAATGTGGTGTCTGCTGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAAGCCCCCTAGACTGCTGATCTACTCTGGTAGCAACAGATACACTGGAATCCCTGCTAGATTCTCTGGCTCTGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAGGACTTTGCTGTGTACTACTGTGTCAGCAGTACAGCAACTACCCTTGGACCTTTGGAGGAGGCACCAAGGTGGAGATCAAG	24
LC2	GAGATTGTGATGACACAGTCTCCTGCCACCCTGTCTGTGAGCCCTGGAGAGAGAGCTACCCCTGAGCTGCAAGGCTTCTCAGAATGTGGTGTCTGCTGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAAGCCCCCTAGACTGCTGGTGTACTCTGCTAGCAACAGATACACTGGAATCCCTGACAGATTCTCTGGCTCTGGCTCTGGCACAGAGTTTACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAGGACTTTGCTGTGTACTACTGTGTCAGCAGTACAGCAACTACCCTTGGACCTTTGGACAAAGGCACCAAGCTGGAGATCAAG	25
LC3	GAGATTGTGATGACACAGTCTCCTGCCACCCTGTCTGTGAGCCCTGGAGAGAGAGCTACCCCTGAGCTGCAAGGCTTCTCAGAATGTGGTGTCTGCTGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAGAGCCCCTAGACTGCTGATCTACTCTGCTAGCAACAGATACACTGGAATCCCTGCTAGATTCTCTGGCTCTGGCTCTGGCACAGAGTTTACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAGGACTTTGCTGCCTACTACTGTGTCAGCAGTACAGCAACTACCCTTGGACCTTTGGAGGAGGCACCAAGGTGGAGATCAAG	26
LC3 코돈 최적화됨	GAAATTGTGATGACTCAGAGCCCCGCAACTCTGAGCGTGTCTCCCGCGCAGAGAGCCACCCTGTCTTGCAAGGCTTCCCAGAAGCTGGTGTCTGCCGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGGCTGCTGATCTACTCCGCCAGCAATAGGTATACCGGCATCCCTGCTCGGTTCTCTGGCTCCGGCAGCGGCACAGAGTTTACCCTGACCATCTCCTCCCTCCAGAGCGAGGACTTCGCCGTTACTATTGCCAGCAGTACTCTAACTATCCTTGGACCTTTGGCGGC	27
LC4	GACATTTCAGATGACACAGTCTCCTTTTCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGCAAGGCTTCTCAGAATGTGGTGTCTGCTGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACTCTGCTAGCAACAGATACACTGGAGTGCCTAGCAGATTCTCTGGCTCTGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTTGCCACCTACTTCTGTGTCAGCAGTACAGCAACTACCCTTGGACCTTTGGAGGAGGCACCAAGCTGGAGATCAAG	28
LC5	GCCATTTCAGCTGACACAGTCTCAGAGATTCTGTCTGCCTCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGCAGAGCTTCTCAGAATGTGGTGTCTGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAGAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTCTGCTAGCAACAGATACACTGGAGTGCCTAGCAGATTCTCTGGCTCTGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTTGCTGACTTCTTCTGTGTCAGCAGTACAGCAACTACCCTTGGACCTTTGGAGGAGGCACCAAGCTGGAGATCAAG	29

[0244]

[0245]

일부 실시양태에서, VH의 뉴클레오타이드 서열은 표 3에 제시된 임의의 VH의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; VL의 뉴클레오타이드 서열은 표 3에 제시된 임의의 VL의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0246]

일부 실시양태에서, VH의 뉴클레오타이드 서열은 서열식별번호: 18-23 중 어느 하나에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VH의 뉴클레오타이드 서열은 서열식별번호: 24-29 중 어느 하나에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0247]

일부 실시양태에서, VH의 뉴클레오타이드 서열은 서열식별번호: 23에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 뉴클레오타이드 서열은 서열식별번호: 27에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0248]

일부 실시양태에서, VH의 뉴클레오타이드 서열은 서열식별번호: 18에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 뉴클레오타이드 서열은 서열식별번호: 24에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0249]

일부 실시양태에서, VH의 뉴클레오타이드 서열은 서열식별번호: 18에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 뉴

- [illegible]

[0284] 5.2 hIL-12 단백질 및 폴리펩티드

[0285] hIL-12는 α 서브유닛, hIL-12p35 및 β 서브유닛, hIL-12p40으로 구성된 다면발현성 분비 시토카인이다. 자연 발생 hIL-12p35 및 hIL-12p40 서브유닛은 디설피드 결합을 통해 연결되어 생물활성 hIL12-p70 시토카인을 형성한다. 예를 들어, 문헌 [Sun, Lin et al. "Interleukin 12 (IL-12) family cytokines: Role in immune pathogenesis and treatment of CNS autoimmune disease," Cytokine, 75(2): 249-55 (2015) (이하 "Sun 2015")]을 참조하며, 이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다. hIL-12는 특히 염증유발성이고, hIL-12 수용체 (hIL-12R)에 대한 결합을 통해 그의 기능을 매개한다. 고친화도 hIL-12R은 hIL-12R β 1 서브유닛 및 hIL-12R β 2 서브유닛을 포함하는 이종이량체이다. hIL-12R은 NK 세포, T-세포 및 B-세포를 포함한 다양한 면역 세포에서 구성적 또는 유도성 방식으로 발현된다. 예를 들어 활성화된 T 세포, NK 세포 및 DC 상에 발현된 hIL-12R에 대한 hIL-12의 결합은 TYK2, JAK2 및 STAT 경로를 활성화시킨다. STAT 패밀리의 전사 인자 중에서, STAT4는 hIL-12에 의해 도출된 세포 반응의 가장 특이적인 매개자인 것으로 간주된다. 예를 들어, 문헌 [Sun 2015]을 참조한다.

[0286] 참조 미성숙 hIL-12p35 폴리펩티드 및 성숙 hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 각각 서열식별번호: 30 및 31에 제시된다. 참조 미성숙 hIL-12p40 폴리펩티드 및 성숙 hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 각각 서열식별번호: 32 및 33에 제시된다. 참조 미성숙 인간 IL-12R β 1 (hIL-12R β 1) 폴리펩티드 및 성숙 hIL-12R β 1 폴리펩티드의 아미노산 서열은 각각 서열식별번호: 34 및 35에 제시된다. 참조 미성숙 인간 IL-12R β 2 (hIL-12R β 2) 폴리펩티드 및 성숙 hIL-12R β 2 폴리펩티드의 아미노산 서열은 각각 서열식별번호: 36 및 37에 제시된다. 본원의 표 4를 참조한다.

[0287]

표 4. 참조 hIL-12p35, hIL-12p40, hIL-12Rβ1; 및 hIL-12Rβ2 폴리펩티드의 아미노산 서열

설명	아미노산 서열	SEQ ID NO
hIL-12p35 (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) 유니프룻 ID: P29459	MCPARSLLLVATLVLLDHLSLARNLPVATPDPGMFPCLLHHSQN LLRAVSNNMLQKARQTLEFYFCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACL PLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSMFMMALCLSSIYE DLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNF NSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSY LNAS	30
hIL-12p35 (성숙 - 신호 펩티드 부재) 유니프룻 ID: P29459	RNLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLEFYFCT SEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNG SCLASRKTSMFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKR QIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIK LCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	31
hIL-12p40 (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) 유니프룻 ID: P29460	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWYPDAPG EMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTKHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFL RCEAKNYSGRFTCWWTITISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAV HKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQKPLKNSRQVEVSWEY PDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICR KNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS	32
hIL-12p40 (성숙 - 신호 펩티드 부재) 유니프룻 ID: P29460	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQS SEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTKHKGGEVLSSHLLLLHKKKE DGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWTITISTD LTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PKNLQKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGK SKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWA SVPCS	33
hIL-12Rβ1 (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) 유니프룻 ID: P42701	MEPLVTWVVPPLLFLFLLSRQGAACRTSECCFQDPPYPDADSGS ASGPRDLRCYRISSDRYECSSWQYEGPTAGVSHFLRCCLSSGRC CYFAAGSATRLQFSDQAGVSVLYTVTLWVESWARNQTEKSPEV TLQLYNSVKYEPPLGDIKVSCLAGQLRMEWETPDNQVGAEVQF RHRT PSSPWKLGDGCPQDDDTESCLCPLMNVAQEFQLRRRQL GSQGSWSKWSPPVCVPPENPPQPQVRFVSVEQLGQDGRRLTL KEQPTQLELPEGCQGLAPGTEVTYRLQLHMLSCPCAKATRIL HLGKMPYLSGAAYNVAVISSNQFGPGLNQTHIPADTHTEPVA LNISVGTNGTTMYWPARAQSMTCIEWQPVGQDGGGLATCSLTA PQDPDPAGMATYSWSRESGAMGQEKCYIITIFASAHPEKLTW STVLSTYHFGGNASAGTPHHVSVKNHSLDSVSVDWAPSLLST CPGVLKEYVVRCDREDSKQVSEHPVQPTETQVTL SGLRAGVAY TVQVRADTAWLRGVWSQPQRFSIEVQVSDWLIFFASLGSFLSI LLVGVLGYLGLNRAARHLCPPLPTPCASSAIEFPGGKETWQWI NPVDFQEEASLQEALVVEMSWDKGERTEPLEKTELPEGAPELA LDTELSLEDGDRCKAKM	34

[0288]

hIL-12Rβ1 (성숙 - 신호 펩티드 부재) 유니프루트 ID: P42701	CRTSECCFQDPPYPDADSGSASGPRDLRCYRISSDRYECWQY EGPTAGVSHFLRCCLSSGRCCYFAAGSATRLQFSDQAGVSVLY TVTLWVESWARNQTEKSPEVTLQLYNSVKYEPPLGDIKVSCLA GQLRMEWETPDNQVGAEVQFRHRTPSSPWKLGDGCGPDDDDTES CLCPLEMNVAQEFQLRRRQLGSQSSWSKSSPVCVPPENPPQ YQVRFSEQLGQDGRRLTLKEQPTQLELPEGCQGLAPGTEVT YRLQLHMLSCPCAKATRTHLHGMPYLSGAAYNVAVISSNQF GPGLNQTHWIPADTHTEPVALNISVGTNGTMYWPARAQSMY CIEWQPVGQDGLATCSLTAPQDPPDAGMATYSWSRESGAMGQ EKCYITIFASAHPEKLTWSTVLSTYHFGGNASAACTPHHVS VKNHSLDSVSDWAPSLSTCPGVLKEYVVRCDDESKQVSEH PVQPTETQVTLSGLRAGVAYTVQVRADTAWLRGVWSQPFQFSI EVQVSDWLIFFASLGSFLSILLVGVLYLGLNRAARHLCPPLP TPCASSAIEFPGGKETWQWINPVDVFQEEASLQEALVEMSWDK GERTEPLEKTELPEGAPELALDTELSLEDGDRCKAKM	35
hIL-12Rβ2 (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) 유니프루트 ID: Q99665	MAHTFRGCSLAFMFIITWLLIKAKIDACKRGDVTVKPSHVILL GSTVNITCSLKPRQGC FHYSSRNKLILYKFDRRINFHHGSLN SQVTGLPLGTTLFVCKLACINSDEIQICGAEIFVGVAPEQPQN LSCIQKGEQGT VACTWGERGRDTHLYTEYTLQLSGPKNLTWQKQ CKDIYCDYLDLFGINLTPESPESNFTAKVTAVNSLGSSSSLPST FTFLDIVRPLPPWDIRIKFQKASVSRCTLYWRDEGLVLLNRLR YRPSNSRLWNMNVNTKAKGRHDLDLKPFTEYEFQISSKLHLY KGSWSDWSESLRAQTPEEPTGMLDVWYMKRHIDYSRQQISLF WKNLSVSEARGKILHYQVTLQELTGKAMTQNITGHTSWTTVI PRTGNWAVAVSAANSKGSLLPTRINIMNLCEAGLLAPRQVSAN SEGMDNILVTWQPPRKDPQSAVQYVVEWRELHPGGDTQVPLNW LRSRPNVNSALISENIKSYICYEIRVYALSGDQGGCSSILGNS KHKAPLSGPHINAITEEKGSILISWNSIPVQEQMGCLLHYRIY WKERDSNSQPQLCEIPYRVSQNSHPINSLQPRVTYVLWMTALT AAGESHGNEREFCQLQKANWMAFVAPSICIAIIMVGFSTHY FQQKVFVLLAALRPQWCSREIPDPANSTCAKKYPIAEKQTLP LDRLLDWPTPEDPEPLVISEVLHQVTVPVFRHPPCSNWPQREK GIQGHQASEKMMHSASSPPPRALQAESRQLVDLYKVLESRG SDPKPENPACPWTVLPAGDLPTHGDLPSNIDDLPSHEAPLAD SLEELEPQHISLSVFPSSSLHPLTFSCGDKLTLDQLKMRCDSL ML	36
hIL-12Rβ2 (성숙 - 신호 펩티드 부재) 유니프루트 ID: Q99665	KIDACKRGDVTVKPSHVILLGSTVNITCSLKPRQGC FHYSSRN KLILYKFDRRINFHHGSLNSQVTGLPLGTTLFVCKLACINS DEIQICGAEIFVGVAPEQPQNLSICIQKGEQGT VACTWGERGRDTH LYTEYTLQLSGPKNLTWQKQCKDIYCDYLDLFGINLTPESPESN FTAKVTAVNSLGSSSSLPSTFTFLDIVRPLPPWDIRIKFQKAS VSRCTLYWRDEGLVLLNRLRYRPSNSRLWNMNVNTKAKGRHDL DLKPFTEYEFQISSKLHLYKGSWSDWSESLRAQTPEEPTGM LDVWYMKRHIDYSRQQISLFWKNLSVSEARGKILHYQVTLQEL TGKAMTQNITGHTSWTTVIPRTGNWAVAVSAANSKGSLLPTR INIMNLCEAGLLAPRQVSANSEGMDNILVTWQPPRKDPQSAVQY VVEWRELHPGGDTQVPLNWLRSRPNVNSALISENIKSYICYE IRVYALSGDQGGCSSILGNSKHKAPLSGPHINAITEEKGSILI SWNSIPVQEQMGCLLHYRIYWKERDSNSQPQLCEIPYRVSQNS HPINSLQPRVTYVLWMTALT AAGESHGNEREFCQLQKANWMA	37

	FVAPSICIAIIMVGFSTHYFQQKVFVLLAALRPQWCSREIPD PANSTCAKKYPIAEKQTLPDLRLLDWPTPEDPEPLVISEVL HQVTVPVFRHPPCSNWPQREKGIQGHQASEKMMHSASSPPPR ALQAESRQLVDLYKVLESRGSDPKPENPACPWTVLPAGDLPTH DGYLPSNIDDLPSHEAPLADSLEELEPQHISLSVFPSSSLHPL TFSCGDKLTLDQLKMRCDSLML	
--	---	--

5.2.1 hIL-12p40 단백질 및 폴리펩티드

한 측면에서, 참조 hIL-12p40 폴리펩티드 (예를 들어, 서열식별번호: 33)와 비교하여 약화된 활성을 갖는 hIL-12p40 폴리펩티드가 본원에 제공된다. 본원에 기재된 바와 같이, 본원에 기재된 임의의 hIL-12p40 폴리펩티드는 단리되고/거나 재조합될 수 있다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 hIL-12R에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 hIL-12Rβ1에 특이적으로 결합한다 (또한 § 5.2.3 참조). 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 hIL-12Rβ2에 특이적으로 결합한다 (또한, § 5.2.2 참조).

상기 제시된 바와 같이, 본 개시내용의 목적상, 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드의 모든 아미노산 (및 예를 들어, 아미노산 치환)의 넘버링은 천연 신호 펩티드를 함유하는 hIL-12p40의 미성숙 형태의 아미노산 서열 (즉, 서열식별번호: 32)에 대해 제시된다. 아미노산 번호 (예를 들어, W37)를 지정하기 위한 hIL-12p40의 미성숙 형태의 사용은 단지 일관성을 위한 것이고, 이 넘버링 스킴을 이용하는 실시양태의 범주를 hIL-12p40의 신호 펩티

드를 함유하는 폴리펩티드로 제한하지 않는다. 예를 들어, W37A 아미노산 치환을 갖는 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 것으로서 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드는 hIL-12p40의 신호 펩티드가 요구되지 않으며, 다만 아미노산 위치 W37의 넘버링은 단백질의 미성숙 형태에 기초한다. 변이체 및 융합 단백질을 생산하기 위해 단백질의 성숙 형태를 이용하는 것은 관련 기술분야에서 통상적이다.

[0294] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 hIL-12p40의 미성숙 형태에 대한 아미노산 넘버링에 기초하여 hIL-12p40의 성숙 형태 (서열식별번호: 33) 내의 아미노산 위치를 용이하게 결정할 수 있다. 상기 제시된 바와 같이, hIL-12p40 단백질의 미성숙 형태의 아미노산 1-22는 신호 서열 (밑줄표시)이다. 따라서, hIL-12p40 단백질의 성숙 형태 내의 특정한 아미노산의 아미노산 위치는 hIL-12p40의 미성숙 형태에 대해 지정된 특정한 아미노산의 아미노산 위치로부터 22를 차감으로써 결정될 수 있다. 예를 들어, 아미노산 위치 W37 (서열식별번호: 32에 대한 넘버링)은 단백질의 성숙 형태 (서열식별번호: 33) 내의 아미노산 위치 W15에 상응할 것이다.

[0295] 한 측면에서, (a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 아미노산 위치 (i) W37, F82 및 K219; (ii) W37, F82 및 K217; (iii) K106, K217 및 K219; (iv) W37 및 F82; (v) W37 및 K217; (vi) W37 및 K219; (vii) W37 및 K106; (viii) F82 및 K106; (xiv) F82 및 K217; (xv) F82 및 K219; (xvi) K217 및 K219; (xvii) K106 및 K217; 또는 (xviii) K106 및 K219에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가, 결실 (예를 들어, 치환))을 포함하거나 또는 그로 이루어진 hIL-12p40 폴리펩티드가 본원에 제공된다.

[0296] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 (a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 아미노산 위치 (i) W37, F82 및 K219; (ii) W37, F82 및 K217; (iii) K106, K217 및 K219; (iv) W37 및 F82; (v) W37 및 K217; (vi) W37 및 K219; (vii) W37 및 K106; (viii) F82 및 K106; (xiv) F82 및 K217; (xv) F82 및 K219; (xvi) K217 및 K219; (xvii) K106 및 K217; 또는 (xviii) K106 및 K219에서의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 각각의 아미노산 치환은 천연 아미노산 잔기의 알라닌으로의 대체이다.

[0297] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 (a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환 (i) W37A, F82A 및 K219A; (ii) W37A, F82A 및 K217A; (iii) K106A, K217A 및 K219A; (iv) W37A 및 F82A; (v) W37A 및 K217A; (vi) W37A 및 K219A; (vii) W37A 및 K106A; (viii) F82A 및 K106A; (xiv) F82A 및 K217A; (xv) F82A 및 K219A; (xvi) K217A 및 K219A; (xvii) K106A 및 K217A; 또는 (xviii) K106A 및 K219A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0298] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 (a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 아미노산 위치 (i) W37, F82 및 K219에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0299] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 (a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환 (i) W37A, F82A 및 K219A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0300] 본원에 기재된 예시적인 hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 표 5에 제공된다.

[0301] 표 5. 예시적인 hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열

설명	SEQ ID NO	아미노산 서열
hIL-12p40 변이체 O (성숙 - 신호 펩티드 부재) (W37A/F82A/K219A)	38	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLAYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 N (성숙 - 신호 펩티드 부재) (W37A/F82A/K217A)	39	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHALKYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 P (성숙 - 신호 펩티드 부재) (K106A/K217A/K219 A)	40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHALAYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 T (성숙 - 신호 펩티드 부재) (W37A/F82A)	41	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 U (성숙 - 신호 펩티드 부재) (W37A/K217A)	42	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHALKYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 V (성숙 - 신호 펩티드 부재) (W37A/K219A)	43	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLAYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS

[0302]

hIL-12p40 변이체 W (성숙 - 신호 펩티드 부재) (W37A/K106A)	44	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTILTQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSF FIRDI IKPDPPKKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 X (성숙 - 신호 펩티드 부재) (F82A/K106A)	45	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTILTQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSF FIRDI IKPDPPKKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 Y (성숙 - 신호 펩티드 부재) (F82A/K217A)	46	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTILTQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSF FIRDI IKPDPPKKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 Z (성숙 - 신호 펩티드 부재) (F82A/K219A)	47	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTILTQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLAYENYTSSF FIRDI IKPDPPKKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 AA (성숙 - 신호 펩티드 부재) (K217A/K219A)	48	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTILTQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHALAYENYTSSF FIRDI IKPDPPKKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 BB (성숙 - 신호 펩티드 부재) (K106A/K217A)	49	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTILTQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSF FIRDI IKPDPPKKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 CC	50	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTILTQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL

[0303]

(성숙 - 신호 펩티드 부재) (K106A/K219A)		TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSSFF FIRDI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEY PDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYSSSSWEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 H (성숙 - 신호 펩티드 부재) (K217+L218 - I로 치환됨)	51	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHIKYENYTSSFF IRDI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEY PDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRA QDRYSSSSWEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 O (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (W37A/F82A/K219A)	52	MCHQQLVISWFSVLFLASPLVAIWELKKDVYVVELDAYPDA PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEA GDAGQYCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEY PDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 N (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (W37A/F82A/K217A)	53	MCHQQLVISWFSVLFLASPLVAIWELKKDVYVVELDAYPDA PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEA GDAGQYCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHALKYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEY PDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 P (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (K106A/K217A/K219 A)	54	MCHQQLVISWFSVLFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWYPDA PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYCHKGGEVLSHSLLLLHAKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHALAYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEY PDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 T (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (W37A/F82A)	55	MCHQQLVISWFSVLFLASPLVAIWELKKDVYVVELDAYPDA PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEA GDAGQYCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEY PDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 U (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (W37A/K217A)	56	MCHQQLVISWFSVLFLASPLVAIWELKKDVYVVELDAYPDA PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHALKYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL

[0304]

		KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 V (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (W37A/K219A)	57	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDAYPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMDAVHKLAYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 W (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (W37A/K106A)	58	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDAYPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHAKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMDAVHKLKYEYNTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 X (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (F82A/K106A)	59	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEA GDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHAKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMDAVHKLKYEYNTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 Y (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (F82A/K217A)	60	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEA GDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMDAVHKLKYEYNTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 Z (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (F82A/K219A)	61	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEA GDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMDAVHKLAYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 AA (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (K217A/K219A)	62	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMDAVHALAYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS

hIL-12p40 변이체 BB (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (K106A/K217A)	63	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHAKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMDAVHALKYEYNTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 CC (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (K106A/K219A)	64	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHAKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMDAVHKLAYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 H (미성숙 - 신호 펩티드 밀출표시) (K217+L218 - I로 치환됨)	65	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMDAVHIKYEYNTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPL NSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDR VFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS

일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 5에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호:

38-65 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0308] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 5에 제시된 어느 하나의 폴리펩티드의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 5에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0309] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38-65 중 어느 하나의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38-65 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0310] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 치환의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 치환의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0311] 5.2.2 hIL-12p40 단백질 및 폴리펩티드의 효력 및 친화도

[0312] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 STAT4의 수준의 증가에 비해, STAT4의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다.

[0313] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 약 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배, 100배 또는 1000배 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 적어도 약 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배, 100배 또는 1000배 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개한다.

[0314] 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드의 EC50을 측정하는 데 적합한 검정은 표준이고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 예를 들어, EC50은 용량-반응 곡선을 구축하고, 특정한 기능적 검정에서의 활성 (예를 들어, STAT4 신호전달, STAT4 인산화, STAT4 유도성 SEAP 발현 (예를 들어, 실시예 4 참조))을 유도하는 데 있어서 상이한 농도의 hIL-12p40 단백질 또는 폴리펩티드의 효과를 조사함으로써 결정될 수 있다. § 6.4는 hIL-12 HEK블루 리포터 세포주 (인비보젠(InvivoGen) #hkb-IL12)를 이용하여 본원에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드 또는 단백질 (본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 포함)의 EC50을 결정하는 예시적인 방법을 기재한다. hIL-12 HEK블루 리포터 세포주는 hIL-12Rβ1 및 hIL-12Rβ2 서브유닛, 인간 STAT4 및 STAT4-유도성 SEAP (분비 배아 알칼리성 포스파타제) 리포터를 발현한다. 이에 의해, 단백질의 hIL-12R에 대한 결합은 JAK2/STAT4 신호 전달 및 후속 SEAP 생산을 촉발하며, 이는 관련 기술분야에 공지된 표준 방법을 사용하여 정량화될 수 있다. 추가적으로, 예를 들어 인산화 STAT4의 수준은 hIL-12R을 발현하는 세포를 1개 이상의 농도의 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질 또는 폴리펩티드와 접촉시키고, 세포를 용해시키고, 인산화 STAT4의 수준을, 예를 들어 ELISA, 웨스턴 블롯, FRET-기반 검정 또는 화학발광 검정 (예를 들어, ELISA-기반 검정)에 의해 평가함으로써

평가될 수 있다. 세포-기반 검정에서의 세포는 hIL-12R 및/또는 인간 STAT4를 재조합적으로 발현하는 세포, 예컨대 HEK293 세포; 또는 hIL-12R 및 인간 STAT4를 자연적으로 발현하는 세포일 수 있다.

- [0315] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 인터페론 감마 (IFN- γ)의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다.
- [0316] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에 의해 생산된 IFN- γ 의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배, 100배 또는 1000배 더 낮은 증가를 매개한다.
- [0317] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에 의해 생산된 IFN- γ 의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 적어도 약 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배, 100배 또는 1000배 더 낮은 증가를 매개한다.
- [0318] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에 의해 생산된 IFN- γ 의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개한다.
- [0319] 배양된 세포로부터 생산된 단백질 (예를 들어, IFN- γ)의 수준을 측정하는 데 적합한 검정은 표준이고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 예를 들어, IFN- γ 의 수준은 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA)을 사용하여 결정될 수 있다 (예를 들어, 실시예 5 참조). § 6.5는 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질 또는 참조 hIL-12p40 단백질로 처리된 배양된 세포로부터 생산된 IFN- γ 의 수준을 결정하는 예시적인 방법을 기재한다.
- [0320] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 단백질은 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))에 비해 더 낮은 친화도로 hIL-12R β 1에 결합한다. 결합 친화도는 관련 기술분야에 공지된 표준 검정에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, 결합 친화도는 관련 기술분야에 공지된 통상적인 방법인 표면 플라즈몬 공명 (SPR) (예를 들어, 비아코어(BIAcore)®-기반 검정)에 의해 측정될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Wilson, Science 295:2103, 2002; Wolff et al., Cancer Res. 55:2560, 1993]; 및 미국 특허 번호 5,283,173, 5,468,614 참조, 이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨). SPR은 분자가 표면에 결합하거나 또는 표면으로부터 해리될 때 센서 표면에서 분자의 농도 변화를 측정한다. SPR 신호의 변화는 표면에 근접한 질량 농도의 변화에 정비례하며, 이에 의해 2개의 분자 (예를 들어, 단백질) 사이의 결합 동역학의 측정을 가능하게 한다. 복합체에 대한 해리 상수는 완충제가 칩 위를 통과할 때 시간에 따른 굴절률의 변화를 모니터링함으로써 결정될 수 있다.
- [0321] 한 단백질의 또 다른 단백질과의 결합 (예를 들어, 본원에 기재된 단백질의 hIL-12R β 1과의 결합)을 측정하기 위한 다른 적합한 검정은, 예를 들어 면역검정, 예컨대 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA) 및 방사선면역검정 (RIA), 또는 형광, UV 흡수, 원형 이색성 또는 핵 자기 공명 (NMR)을 통해 단백질의 분광학적 또는 광학적 특성의 변화를 모니터링함으로써 결합을 결정하는 것을 포함한다. 다른 예시적인 검정은 웨스턴 블롯, 분석용 초원심분리, 분광분석법, 유동 세포측정법, 서열분석 및 단백질의 결합의 검출을 위한 다른 방법을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0322] **5.2.3 hIL-12p35 단백질 및 폴리펩티드**
- [0323] 한 측면에서, 참조 hIL-12p35 폴리펩티드 (예를 들어, 서열식별번호: 31)와 비교하여 약화된 활성을 갖는 hIL-12p35 폴리펩티드가 본원에 제공된다. 본원에 기재된 바와 같이, 본원에 기재된 임의의 hIL-12p35 폴리펩티드는 단리되고/거나 재조합될 수 있다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 hIL-12R에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 hIL-12R β 1에 특이적으로 결합한다 (또한 § 5.2.3 참조). 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 hIL-12R β 2에 특이적으로 결합한다 (또한 § 5.2.3 참조).
- [0324] 상기 제시된 바와 같이, 본 개시내용의 목적상, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드의 모든 아미노산 (및 예를 들어, 아미노산 치환)의 넘버링은 천연 신호 펩티드를 함유하는 hIL-12p35의 미성숙 형태의 아미노산 서열 (즉, 서열식별번호: 30)에 대해 제시된다. 아미노산 번호 (예를 들어, Y189)를 지정하기 위한 hIL-12p35의 미성숙 형태의 사용은 단지 일관성을 위한 것이고, 이 넘버링 스킴을 이용하는 실시양태의 범주를 hIL-12p35의 신호 펩

티드를 함유하는 폴리펩티드로 제한하지 않는다. 예를 들어, Y189A 아미노산 치환을 갖는 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 것으로서 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드는 hIL-12p35의 신호 펩티드가 요구되지 않으며, 다만 아미노산 위치 Y189의 넘버링은 단백질의 미성숙 형태에 기초한다. 변이체 및 융합 단백질을 생산하기 위해 단백질의 성숙 형태를 이용하는 것은 관련 기술분야에서 통상적이다.

[0325] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 hIL-12p35의 미성숙 형태에 대한 아미노산 넘버링에 기초하여 hIL-12p35의 성숙 형태 (서열식별번호: 31) 내의 아미노산 위치를 용이하게 결정할 수 있다. 상기 제시된 바와 같이, hIL-12p35 단백질의 미성숙 형태의 아미노산 1-22는 신호 서열이다. 따라서, hIL-12p35 단백질의 성숙 형태 내의 특정한 아미노산의 아미노산 위치는 hIL-12p35의 미성숙 형태에 대해 지정된 특정한 아미노산의 아미노산 위치로부터 22를 차감으로써 결정될 수 있다. 예를 들어, 아미노산 위치 Y189 (서열식별번호: 30에 대한 넘버링)는 단백질의 성숙 형태 (서열식별번호: 31) 내의 아미노산 위치 Y167에 상응할 것이다.

[0326] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 (a) 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 위치 E60, F61, P63, K150, F188, Y189A 중 1개 이상에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가, 결실 (예를 들어, 치환))을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0327] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 (a) 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 위치 (i) F188; (ii) Y189; (iii) F188 및 Y189; 또는 (iv) E60, F61, P63, K150 및 F188에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가, 결실 (예를 들어, 치환))을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0328] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 (a) 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: E60K, F61H, P63S, K150H, F188P, F188A 및/또는 Y189A 중 1개 이상을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0329] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 (a) 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환: (i) F188A; (ii) Y189A; (iii) F188A 및 Y189A; 또는 (iv) E60K, F61H, P63S, K150H 및 F188P를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0330] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 (a) 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 A55-K92, N50-K92, M51-K92, L52-K92, Q53-K92, K54-K92, N50-N93, M51-N93, L52-N93, Q53-N93, K54-N93, N50-E94, M51-E94, L52-E94, Q53-E94, K54-E94, N50-S95, M51-S95, L52-S95, Q53-S95, K54-S95, N50-C96, M51-C96, L52-C96, Q53-C96, K54-C96, N50-L97, M51-L97, L52-L97, Q53-L97, K54-L97, N50-P87, M51-P87, L52-P87, Q53-P87, K54-P87, N50-L88, M51-L88, L52-L88, Q53-L88, K54-L88, N50-E89, M51-E89, L52-E89, Q53-E89, K54-E89, N50-L90, M51-L90, L52-L90, Q53-L90, K54-L90, N50-T91, M51-T91, L52-T91, Q53-T91, K54-T91, R56-K92, Q57-K92, T58-K92, L59-K92, E60-K92, A55-N93, R56-N93, Q57-N93, T58-N93, L59-N93, E60-N93, A55-E94, R56-E94, Q57-E94, T58-E94, L59-E94, E60-E94, A55-S95, R56-S95, Q57-S95, T58-S95, L59-S95, E60-S95, A55-C96, R56-C96, Q57-C96, T58-C96, L59-C96, E60-C96, A55-L97, R56-L97, Q57-L97, T58-L97, L59-L97, E60-L97, A55-P87, R56-P87, Q57-P87, T58-P87, L59-P87, E60-P87, A55-L88, R56-L88, Q57-L88, T58-L88, L59-L88, E60-L88, A55-E89, R56-E89, Q57-E89, T58-E89, L59-E89, E60-E89, A55-L90, R56-L90, Q57-L90, T58-L90, L59-L90, E60-L90, A55-T91, R56-T91, Q57-T91, T58-T91, L59-T91 또는 E60-T91의 결실을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0331] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 (a) 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산

노산 A55-K92의 결실을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0332] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 아미노산 A55-K92, N50-K92, M51-K92, L52-K92, Q53-K92, K54-K92, N50-N93, M51-N93, L52-N93, Q53-N93, K54-N93, N50-E94, M51-E94, L52-E94, Q53-E94, K54-E94, N50-S95, M51-S95, L52-S95, Q53-S95, K54-S95, N50-C96, M51-C96, L52-C96, Q53-C96, K54-C96, N50-L97, M51-L97, L52-L97, Q53-L97, K54-L97, N50-P87, M51-P87, L52-P87, Q53-P87, K54-P87, N50-L88, M51-L88, L52-L88, Q53-L88, K54-L88, N50-E89, M51-E89, L52-E89, Q53-E89, K54-E89, N50-L90, M51-L90, L52-L90, Q53-L90, K54-L90, N50-T91, M51-T91, L52-T91, Q53-T91, K54-T91, R56-K92, Q57-K92, T58-K92, L59-K92, E60-K92, A55-N93, R56-N93, Q57-N93, T58-N93, L59-N93, E60-N93, A55-E94, R56-E94, Q57-E94, T58-E94, L59-E94, E60-E94, A55-S95, R56-S95, Q57-S95, T58-S95, L59-S95, E60-S95, A55-C96, R56-C96, Q57-C96, T58-C96, L59-C96, E60-C96, A55-L97, R56-L97, Q57-L97, T58-L97, L59-L97, E60-L97, A55-P87, R56-P87, Q57-P87, T58-P87, L59-P87, E60-P87, A55-L88, R56-L88, Q57-L88, T58-L88, L59-L88, E60-L88, A55-E89, R56-E89, Q57-E89, T58-E89, L59-E89, E60-E89, A55-L90, R56-L90, Q57-L90, T58-L90, L59-L90, E60-L90, A55-T91, R56-T91, Q57-T91, T58-T91, L59-T91 또는 E60-T91의 결실 (서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시)을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 아미노산 A55-K92, N50-K92, M51-K92, L52-K92, Q53-K92, K54-K92, N50-N93, M51-N93, L52-N93, Q53-N93, K54-N93, N50-E94, M51-E94, L52-E94, Q53-E94, K54-E94, N50-S95, M51-S95, L52-S95, Q53-S95, K54-S95, N50-C96, M51-C96, L52-C96, Q53-C96, K54-C96, N50-L97, M51-L97, L52-L97, Q53-L97, K54-L97, N50-P87, M51-P87, L52-P87, Q53-P87, K54-P87, N50-L88, M51-L88, L52-L88, Q53-L88, K54-L88, N50-E89, M51-E89, L52-E89, Q53-E89, K54-E89, N50-L90, M51-L90, L52-L90, Q53-L90, K54-L90, N50-T91, M51-T91, L52-T91, Q53-T91, K54-T91, R56-K92, Q57-K92, T58-K92, L59-K92, E60-K92, A55-N93, R56-N93, Q57-N93, T58-N93, L59-N93, E60-N93, A55-E94, R56-E94, Q57-E94, T58-E94, L59-E94, E60-E94, A55-S95, R56-S95, Q57-S95, T58-S95, L59-S95, E60-S95, A55-C96, R56-C96, Q57-C96, T58-C96, L59-C96, E60-C96, A55-L97, R56-L97, Q57-L97, T58-L97, L59-L97, E60-L97, A55-P87, R56-P87, Q57-P87, T58-P87, L59-P87, E60-P87, A55-L88, R56-L88, Q57-L88, T58-L88, L59-L88, E60-L88, A55-E89, R56-E89, Q57-E89, T58-E89, L59-E89, E60-E89, A55-L90, R56-L90, Q57-L90, T58-L90, L59-L90, E60-L90, A55-T91, R56-T91, Q57-T91, T58-T91, L59-T91 또는 E60-T91의 결실 이외에, 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0333] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 아미노산 A55-K92의 결실 (서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시)을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 아미노산 A55-K92의 결실 이외에, 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0334] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 위치 E60, F61, P63, K150, F188 또는 Y189 중 1개 이상에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 위치 E60, F61, P63, K150, F188 또는 Y189 중 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0335] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 위치 E60, F61, P63, K150 및 F188 중 1개 이상에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 위치 F188 및 Y189 중 1개 이상에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 위치 F188에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 위치 Y189A에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0336] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: E60K, F61H, P63S, K150H, F188P, F188A 또는 Y189A 중 1개 이상을

포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: E60K, F61H, P63S, K150H 및 F188P를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: F188A 및 Y189A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 F188A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 Y189A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0337] 일부 실시양태에서, hIL12-p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 잔기 50-95, 50-94, 50-93, 50-92, 50-91, 50-90, 50-89, 51-95, 51-94, 51-93, 51-92, 51-91, 51-90, 51-89, 52-95, 52-94, 52-93, 52-92, 52-91, 52-90, 52-89, 53-95, 53-94, 53-93, 53-92, 53-91, 53-90, 53-89, 54-95, 54-94, 54-93, 54-92, 54-91, 54-90, 54-89, 55-95, 55-94, 55-93, 55-92, 55-91, 55-90 또는 55-89의 결실을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL12-p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 잔기 A55-K92의 결실을 포함한다.

[0338] 예시적인 hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열이 표 6에 제공된다.

[0339] **표 6. 예시적인 hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열**

설명	아미노산 서열	SEQ ID NO
hIL-12p35 - 변이체 A (ΔA55-K92)	RNLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLMD PKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDPYKTK IKLCILHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	110
hIL-12p35 - 변이체 B (E60K, F61H, P63S, K150H, F188P)	RNLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLKHYSCTS EEDIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSC LASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPHRQIF LDQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDPYKTKIKLCIL LHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	111
hIL-12p35 - 변이체 C (F188A, Y189A)	RNLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCST EEDIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSC LASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIF LDQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDPAATKIKLCIL LHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	112
hIL-12p35 - 변이체 D (F188A)	RNLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCST EEDIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSC LASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIF LDQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDDAYKTKIKLCIL LHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	113
hIL-12p35 - 변이체 E (Y189A)	RNLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCST EEDIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSC LASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIF LDQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDPFAKTKIKLCIL LHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	114

[0340]

[0341] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 6에 제시된 폴리펩티드 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0342] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31 또는 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0343] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 6에 제시된 어느 하나의 폴리펩티드의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 (서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 이외에, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 6에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0344] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 (서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대한 것)

를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 이외에, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 110-114 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0345] 5.2.4 hIL-12p35 단백질 및 폴리펩티드의 효력 및 친화도

[0346] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p35 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p35 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 31))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 STAT4의 수준의 증가에 비해, STAT4의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p35 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p35 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 30))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다.

[0347] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p35 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p35 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 30))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 약 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배, 100배 또는 1000배 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p35 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p35 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 30))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 적어도 약 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배, 100배 또는 1000배 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p40 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p35 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 30))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개한다.

[0348] 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드의 EC50을 측정하는 데 적합한 검정은 표준이고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 예를 들어, EC50은 용량-반응 곡선을 구축하고, 특정한 기능적 검정에서의 활성 (예를 들어, STAT4 신호전달, STAT4 인산화, STAT4 유도성 SEAP 발현 (예를 들어, 실시예 21 참조))을 유도하는 데 있어서 상이한 농도의 hIL-12p35 단백질 또는 폴리펩티드의 효과를 조사함으로써 결정될 수 있다. § 6.4는 hIL-12 HEK블루 리포터 세포주 (인비보젠 #hkb-IL12)를 이용하여 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드 또는 단백질 (본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 포함)의 EC50을 결정하는 예시적인 방법을 기재한다. hIL-12 HEK블루 리포터 세포주는 hIL-12Rβ1 및 hIL-12Rβ2 서브유닛, 인간 STAT4 및 STAT4-유도성 SEAP (분비 배아 알칼리성 포스포타제) 리포터를 발현한다. 이에 의해, 단백질의 hIL-12R에 대한 결합은 JAK2/STAT4 신호전달 및 후속 SEAP 생산을 촉발하며, 이는 관련 기술분야에 공지된 표준 방법을 사용하여 정량화될 수 있다. 추가적으로, 예를 들어 인산화 STAT4의 수준은 hIL-12R을 발현하는 세포를 1개 이상의 농도의 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질 또는 폴리펩티드와 접촉시키고, 세포를 용해시키고, 인산화 STAT4의 수준을, 예를 들어 ELISA, 웨스턴 블롯, FRET-기반 검정 또는 화학발광 검정 (예를 들어, ELISA-기반 검정)에 의해 평가함으로써 평가될 수 있다. 세포-기반 검정에서의 세포는 hIL-12R 및/또는 인간 STAT4를 재조합적으로 발현하는 세포, 예컨대 HEK293 세포; 또는 hIL-12R 및 인간 STAT4를 자연적으로 발현하는 세포일 수 있다.

[0349] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p35 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p35 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 30))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 인터페론 감마 (IFN-γ)의 수준의 증가에 비해, IFN-γ의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다.

[0350] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p35 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p35 단백질 (예를 들어, 참조 hIL-12p35 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 30))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에 의해 생산된 IFN-γ의 수준의 증가에 비해, IFN-γ의 수준의 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배, 100배 또는 1000배 더 낮은 증가를 매개한다.

[0351] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p35 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12p35 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 33))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에 의해 생산된 IFN-γ의 수준의 증가에 비해, IFN-γ의 수준의 적어도 약 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배, 100배 또는 1000배 더 낮은 증가를 매개한다.

[0352] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 단백질과 조합되는 경우에, hIL-12p35 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조

hIL-12p35 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 30))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에 의해 생산된 IFN- γ 의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개한다.

[0353] 배양된 세포로부터 생산된 단백질 (예를 들어, IFN- γ)의 수준을 측정하는 데 적합한 검정은 표준이고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 예를 들어, IFN- γ 의 수준은 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA)을 사용하여 결정될 수 있다 (예를 들어, 실시예 22-23 참조). § 6.5는 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질 또는 참조 hIL-12p40 단백질로 처리된 배양된 세포로부터 생산된 IFN- γ 의 수준을 결정하는 예시적인 방법을 기재한다.

[0354] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 단백질은 참조 hIL-12p35 단백질 (예를 들어, 참조 hIL-12p35 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 30))에 비해 더 낮은 친화도로 hIL-12R β 1에 결합한다. 결합 친화도는 관련 기술분야에 공지된 표준 검정에 의해 측정될 수 있으며, 예를 들어 § 5.2.2를 참조한다.

[0355] 5.2.5 hIL-12 단일쇄 폴리펩티드 및 단백질

[0356] 한 측면에서, 본원 § 5.2.1에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드 및/또는 본원 § 5.2.3에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함하는 schIL-12 폴리펩티드가 본원에 제공된다. schIL-12 폴리펩티드가 본원 § 5.2.1에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함하는 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 본원 § 5.3.1.2에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드이다. schIL-12 폴리펩티드가 본원 § 5.2.1에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함하는 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 본원 § 5.2.3에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드이다.

[0357] schIL-12 폴리펩티드가 본원 § 5.2.3에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함하는 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 본원 § 5.2.1에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드이다. schIL-12 폴리펩티드가 본원 § 5.2.3에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함하는 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 본원 § 5.3.1.1에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드이다.

[0358] 일부 실시양태에서, schIL-12는 hIL-12p40 폴리펩티드에 직접적으로 융합된 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p35 폴리펩티드, 임의적인 펩티드 링커 및 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p40 폴리펩티드, 임의적인 펩티드 링커 및 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다.

[0359] 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 펩티드 결합을 통해 직접적으로 작동가능하게 연결된 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 펩티드 링커를 통해 hIL-12p40 폴리펩티드에 간접적으로 융합된 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p35 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p40 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다.

[0360] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드 및 hIL-12p35 폴리펩티드는 펩티드 링커를 통해 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 hIL-12p35 폴리펩티드 및 hIL-12p40 폴리펩티드가 회합하여 schIL-12가 hIL-12 수용체에 결합할 수 있도록 충분한 길이를 갖는다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 약 5-30, 5-25, 5-20, 5-15, 10-30, 10-25, 10-20 또는 10-15개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 글리신 (G) 및 세린 (S) 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0361] (schIL-12 폴리펩티드의 hIL-12p40 폴리펩티드에 hIL-12p35 폴리펩티드를 작동가능하게 연결하기 위해) schIL-12 폴리펩티드에 사용하기 위한 예시적인 링커의 아미노산 서열이 표 7에 제공된다.

표 7. 예시적인 펩티드 링커의 아미노산 서열

설명	아미노산 서열	SEQ ID NO
링커 A	GGGS	66
링커 B	GGGSGGGS	67
링커 C	GGGSGGGS	68
링커 D	GGGSGGGS	69
링커 E	GGGGS	70
링커 F	GGGSGGGS	71
링커 G	GGGSGGGS	72
링커 H	GGGSGGGS	73
링커 I	GGGSGGGS	74
링커 J	GGGSGGGS	75
링커 K	GGGSGGGS	76
링커 L	GGGSGGGS	77
링커 M	SGGGG	78
링커 N	SGGGSGGGG	79
링커 O	SGGGSGGGG	80
링커 P	SGGGSGGGG	81
링커 EE	GGGGGS	369

일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 7에 제시된 임의의 펩티드 링커의 아미노산 서열; 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실 또는 부가)을 포함하는 표 7에 제시된 임의의 펩티드 링커의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 서열식별번호: 66-81 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실 또는 부가)을 갖는 서열식별번호: 66-81 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실 또는 부가)을 갖는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 서열식별번호: 369의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실 또는 부가)을 갖는 서열식별번호: 369의 아미노산 서열을 포함한다.

5.2.6 신호 펩티드

일부 실시양태에서, hIL-12p40 및/또는 hIL-12p35 폴리펩티드는 hIL-12p40 및/또는 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된 상동 또는 이중 신호 펩티드를 포함한다.

일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 서열식별번호: 38-65 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된 상동 신호 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 서열식별번호: 38-65 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된 이중 신호 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된 상동 신호 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된 이중 신호 펩티드를 포함한다.

일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 서열식별번호: 110-114 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된 상동 신호 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 서열식별번호: 110-114 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된 이중 신호 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 서열식별번호: 110에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된 상동 신호 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드는 서열식별번호: 110에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된 이중 신호 펩티드를 포함한다.

통상적으로 사용되는 신호 펩티드, 예를 들어 인간 인터류킨 2 (hIL-2), 인간 온코스타틴 M (hOSM), 인간 키모트립시노겐 (hCTRB1), 인간 트립시노겐 2 (hTRY2) 및 인간 인슐린 (hINS)의 천연 신호 펩티드는 관련 기술분야에 공지되어 있다. 통상의 기술자는 관련 기술분야에 공지된 표준 방법론을 사용하여 적절한 신호 펩티드를 결정할 수 있다. 예시적인 신호 펩티드의 아미노산 서열이 hIL-12p40의 천연 신호 서열과 함께 표 8에 제공된다.

표 8. 예시적인 신호 펩티드의 아미노산 서열

설명	아미노산 서열	SEQ ID NO
hIL-12p40	MCHQQQLVISWFSVLVFLASPLVA	82
hIL-12p35	MCPARSLLLVATLVLLDHLSLA	394
hIL-2	MYRMQLLSICIALSLALVTNS	83
hOSM	MGVLLTQRTLLSLVLALLFSPMASM	84
hCTRB1	MASLWLLSCFSLVGAAFG	85
hTRY2	MNLLLLILT FVAAAVA	86
hINS	MALWMRLPLLLALLALWGPDPA	87

일부 실시양태에서, 신호 펩티드의 아미노산 서열은 표 8에 제시된 신호 펩티드 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 신호 펩티드의 아미노산 서열은 표 8에 제시된 신호 펩티드 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 1개 이상이지만 15% 미만 (12% 미만, 10% 미만, 8% 미만)인 아미노산 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가)을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 신호 펩티드의 아미노산 서열은 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 포함하는, 표 8에 제시된 신호 펩티드 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

일부 실시양태에서, 신호 펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 82-87 또는 394 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 신호 펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 82-87 또는 394 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 1개 이상이지만 15% 미만 (12% 미만, 10% 미만, 8% 미만)인 아미노산 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가)을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 신호 펩티드의 아미노산 서열은 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 포함하는, 서열식별번호: 82-87 또는 394 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

5.3 hIL-12 융합 단백질 및 접합체

한 측면에서, hIL-12 및 이중 모이어티 (예를 들어, 항체 (예를 들어, 전장 항체), Fc 영역 등)를 포함하는 융합 단백질이 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 항체 및 hIL-12를 포함한다 (예를 들어, § 5.3.3 참조). 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 Fc 영역 및 hIL-12를 포함한다 (예를 들어, § 5.3.2 참조).

일부 실시양태에서, 융합 단백질은 반감기 연장 모이어티를 포함한다. 예시적인 반감기 연장 모이어티는 인간 이뮤노글로불린 (hIg), hIg의 단편, hIg 불변 영역, hIg 불변 영역의 단편, Fc 영역, 인간 트랜스페린, 인간 혈청 알부민 (HSA), HSA 결합 단백질 또는 펩티드 및 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) (및 그의 중합체)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 반감기 연장 폴리펩티드를 포함한다. 예시적인 반감기 연장 폴리펩티드는 hIg, hIg의 단편, 1개 이상의 hIg 중쇄 불변 영역, hIg 불변 영역의 단편, hIg Fc 영역, 인간 트랜스페린, 인간 혈청 알부민 (HSA) 및 HSA 결합 단백질 또는 펩티드를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 반감기 연장 모이어티에 융합 또는 접합된 hIL-12 폴리펩티드 또는 반감기 연장 모이어티는 관련 기술분야에 공지된 표준 시험관내 방법을 이용하여 그의 약동학적 특성에 대해 평가될 수 있다.

5.3.1 hIL-12 단백질 및 폴리펩티드

상기 제시된 바와 같이, 본원에 기재된 융합 단백질은 hIL-12 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 적어도 1개의 서브유닛 (예를 들어, hIL-12p40 또는 hIL-12p35)의 아미노산 서열은 자연 발생 서브유닛 (예를 들어, hIL-12p40 또는 hIL-12p35)의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 서브유닛의 아미노산 서열은 자연 발생 hIL-12p35 단백질의 아미노산 서열 (예를 들어, 서열식별번호: 31)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 IL-12p40의 아미노산 서열은 자연 발생 hIL-12p40 단백질의 아미노산 서열 (예를 들어, 서열식별번호: 33)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p40의 아미노산 서열은 참조 hIL-12p40 단백질의 아미노산 서열 (예를 들어, 자연 발생 hIL-12p40 단백질, 예를 들어 서열식별번호: 33)에 비해 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 서브유닛의 아미노산 서열은 참조 hIL-12p35 단백질의 아미노산 서열 (예를 들어, 자연 발생 hIL-12p35 단백질, 예를 들어 서열식별번호: 31)에 비해 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 서브유닛의 아미노산 서열은 참조 hIL-12p40 단백질의 아미노산 서열 (예를 들어, 자연 발생 hIL-12p40 단백질, 예를 들어 서열식별번호: 33)에

비해 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함하고; hIL-12 단백질의 hIL-12p35 서브유닛의 아미노산 서열은 참조 hIL-12p35 단백질의 아미노산 서열 (예를 들어, 자연 발생 hIL-12p35 단백질, 예를 들어 서열식별번호: 31)에 비해 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함한다.

[0380] 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 서브유닛의 아미노산 서열은 자연 발생 hIL-12p35 단백질의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 서브유닛의 아미노산 서열은 참조 hIL-12p40 단백질의 아미노산 서열 (예를 들어, 자연 발생 hIL-12p40 단백질, 예를 들어 서열식별번호: 31)에 비해 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 서브유닛의 아미노산 서열은 자연 발생 hIL-12p40 단백질의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 서브유닛의 아미노산 서열은 참조 hIL-12p35 단백질의 아미노산 서열 (예를 들어, 자연 발생 hIL-12p35, 예를 들어 서열식별번호: 31)에 비해 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함한다.

[0381] 5.3.1.1 hIL-12p40 서브유닛

[0382] 상기 제시된 바와 같이, 본원에 기재된 융합 단백질 및 폴리펩티드는 hIL-12p40 서브유닛을 포함하는 hIL-12 단백질을 포함한다.

[0383] 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 IL-12p40의 아미노산 서열은 자연 발생 hIL-12p40 단백질의 아미노산 서열 (예를 들어, 서열식별번호: 33)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 IL-12p40의 아미노산 서열은 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 서브유닛의 아미노산 서열은 참조 hIL-12p40 단백질의 아미노산 서열 (예를 들어, 자연 발생 hIL-12p40 단백질, 예를 들어 서열식별번호: 33)에 비해 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함한다.

[0384] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 서브유닛은 본원, 참조로 예를 들어 § 5.2 (예를 들어, §§ 5.2.1, 5.2.2, 5.2.5 및 5.2.6)에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드이다. § 5.2 (예를 들어, §§ 5.2.1, 5.2.2, 5.2.5 및 5.2.6)의 전체 개시내용은 본 출원의 단락번호 [0380] (영문명세서 § [00369])에 참조로 포함된다. § 5.2에 제공된 임의의 hIL-12p40 폴리펩티드 및 실시양태는 본원에 기재된 융합 단백질 (예를 들어, 항체 (예를 들어, 항-CAIX 항체) 융합 단백질) 내로 혼입될 수 있다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 서브유닛은 § 5.2 (예를 들어, §§ 5.2.1, 5.2.2, 5.2.5 및 5.2.6)에 기재된 hIL-12p40 폴리펩티드이다.

[0385] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 (a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 각각의 아미노산 위치 (i) K280, K282, R283, K285, K286 및 R288; (ii) E81, K121 및 K286; (iii) S205, L206, P207, I208, E209 및 V210; (iv) S205, L206, P207, I208, E209 및 V210; (v) S205, L206, P207, I208, E209 및 V210; (vi) K217, L218, K219, Y220 및 E221; (vii) E81 및 F82; (viii) E81, F82 및 K106; (xiv) E81, F82, K106 및 K217; (xv) P39, D40, E81 및 F82; (xvi) W37, F82 및 K217; (xvii) W37, F82 및 K219; 또는 (xviii) K106, K217 및 K219; (xxix) W37, F82, K106 및 K219; (xxx) H216, K217 및 K219; (xxxix) P207; W37 및 F82; (xxxii) W37 및 K217; (xxxiii) W37 및 K219; (xxxiv) W37 및 K106; (xxxv) F82 및 K106; (xxxvi) F82 및 K217; (xxxvii) F82 및 K219; (xxxviii) K217 및 K219; (xxxix) K106 및 K217; (xli) K106 및 K219; (xlii) W37; (xliii) F82; (xliv) K106; (xlv) K217; 또는 (xlv) K219에서의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0386] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 (a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; (b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: (i) K280A, K282A, R283A, K285A, K286A 및 R288A; (ii) E81K, K121E 및 K286E; (iii) S205I, L184E, P207S, I208I, E209K 및 V210S; (iv) S205I, L206V, P207S, I208I, E209K, V210I; (v) S205I, L206Q, P207S, I208I, E209K, V210G; (vi) K217S, L218I, K219T, Y220S, E221A; (vii) E81A 및 F82A; (viii) E81A, F82A, K106A; (xiv) E81A, F82A, K106A 및 K217A; (xv) P39A, D40A, E81A 및 F82A; (xvi) W37A, F82A 및 K217A; (xvii) W37A, F82A 및 K219A; (xviii) K106A, K217A 및 K219A; (xxix) W37A, F82A, K106A 및 K219A; (xxx) H216A, K217A 및 K219A; (xxxix) P207S; W37A 및 F82A; (xxxii) W37 및 K217A; (xxxiii) W37A 및 K219A; (xxxiv) W37A 및 K106A; (xxxv) F82A 및 K106A; (xxxvi) F82A 및 K217A; (xxxvii) F82A 및 K219A; (xxxviii) K217A 및 K219A; (xxxix) K106A 및 K217A; (xli) K106A 및 K219A; (xlii) W37A; (xliii) F82A; (xliv) K106A;

(xlv) K217A; 또는 (xlv) K219A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0387] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하고, 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 잔기 23-127의 결실을 추가로 포함한다.

[0388] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하고, 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 잔기 208-328의 결실 및 각각의 하기 아미노산 위치 S205, L206, P207에서의 아미노산 치환을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하고, 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 잔기 208-328의 결실 및 각각의 하기 아미노산 치환 S205I, L206E, P207S을 추가로 포함한다.

[0389] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하고, 서열식별번호: 32의 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 K217 및 L218의 I로의 치환을 추가로 포함한다.

[0390] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 변형된 헤파린 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 헤파린 결합 도메인에 변형을 함유하지 않는 참조 hIL-12p40 폴리펩티드와 비교하여 헤파린 화합물에 결합하는 hIL-12p40 폴리펩티드의 능력을 파괴, 억제 또는 감소시키는 변형된 헤파린 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 변형된 헤파린 결합 도메인을 포함하고, 헤파린 결합 도메인에 변형을 함유하지 않는 참조 hIL-12p40 폴리펩티드와 실질적으로 동일한, 더 많은 또는 더 적은 면역자극 활성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드는 변형된 헤파린 결합 도메인을 포함하고, 헤파린 결합 도메인에 변형을 함유하지 않는 참조 hIL-12p40 폴리펩티드와 실질적으로 동일한 면역자극 활성을 나타낸다.

[0391] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 비변형된 헤파린 결합 도메인은 하기 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 변형된 헤파린 결합 도메인은 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진다.

[0392] hIL-12p40 참조 헤파린 결합 도메인 및 그의 변이체의 아미노산 서열이 표 9에 제공된다.

[0393] **표 9. hIL-12p40 헤파린 결합 도메인 및 그의 변이체**

설명	아미노산 서열	SEQ ID NO
참조 비변형된 헤파린 결합 도메인	VQVQGKSKREKK	88
변형된 헤파린 결합 도메인	VXIX2QX3K*X4X5X6X7K*X8 여기서 X1은 R 또는 Q이고, X2는 V, A 또는 I이고, X3은 G 또는 R*이고, X4는 S, N 또는 K*이고, X5는 K*, N 또는 E이고, X6은 R 또는 K이고, X7은 E, M 또는 T이고, X8은 K* 또는 E이며, 여기서 "*"로 지정된 1개 이상의 아미노산 잔기는 A, G, I, L, M, F, P 및 V로 이루어진 군으로부터 선택된 비-극성 아미노산 잔기로 치환됨	

[0394]

[0395] 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 89에서 "*"로 지정된 1개 이상의 아미노산 잔기는 알라닌이다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 89에서 "*"로 지정된 각각의 아미노산 잔기는 알라닌이다. 일부 실시양태에서, 아미노산 잔기 X3은 알라닌이다.

[0396] 변형된 헤파린 결합 도메인을 갖는 예시적인 hIL-12p40 폴리펩티드는 US8617557에 기재되어 있으며, 이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다.

[0397] 본원에 기재된 융합 단백질 내로 혼입될 수 있는 예시적인 hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열이 표 10에 제공된다.

[0398] 표 10. 예시적인 hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열

설명	SEQ ID NO	아미노산 서열
hIL-12p40 (성숙 - 신호 펩티드 부재)	33	표 4 참조.
hIL-12p40 변이체 A (K280A, K282A, R283A, K285A, K286A, R288A)	90	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMVDVAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGASAAEAA DAVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 B (Δ23-127)	91	FLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCG AATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDVAV HKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYP DTWSTPHSYFSLTFCVQVQKGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKN ASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 C (Δ208-328; S205I, L206E, P207S)	92	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEEIES
hIL-12p40 변이체 D (E81K, K121E, K286E)	93	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMVDVAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQKGSKREKE DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 E (S205I, L206E, P207S, I208I, E209K, V210S)	94	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEEIESIKSMVDVAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQKGSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 F (S205I, L206V, P207S, I208I, E209K, V210I)	95	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEEIVSIKIMVDVAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQKGSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 G (S205I, L206Q, P207S, I208I, E209K, V210G)	96	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEEIQSIKGMVDVAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ

[0399]

		LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVP
hIL-12p40 변이체 H (성숙 - 신호 펩티드 부재) (K217+L218 - I로 치환됨)	51	표 5 참조.
hIL-12p40 변이체 I (K217S, L218I, K219T, Y220S, E221A)	97	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMDAVHSITSANYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVP
hIL-12p40 변이체 J (E81A, F82A)	98	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVP
hIL-12p40 변이체 K (E81A, F82A, K106A)	99	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVP
hIL-12p40 변이체 L (E81A, F82A, K106A, K217A)	100	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMDAVHALKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVP
hIL-12p40 변이체 M (P39A, D40A, E81A, F82A)	101	IWELKKDVYVVELDWYAAAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVP
hIL-12p40 변이체 N (W37A/F82A/K217A)	39	표 5 참조.
hIL-12p40 변이체 O (W37A/F82A/K219A)	38	표 5 참조.

[0400]

hIL-12p40 변이체 P (K106A/K217A/K219A)	40	표 5 참조.
hIL-12p40 변이체 Q (W37A, F82A, K106A, K219A)	102	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEAGDAQYTCHKGGEVLSHSLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMVDVAHKLAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 R (H216A, K217A, K219A)	103	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMVDVAALAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 S (P207S)	104	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLSIEVMVDVAHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 T (W37A/F82A)	41	표 5 참조.
hIL-12p40 변이체 U (W37A/K217A)	42	표 5 참조.
hIL-12p40 변이체 V (W37A/K219A)	43	표 5 참조.
hIL-12p40 변이체 W (W37A/K106A)	44	표 5 참조.
hIL-12p40 변이체 X (F82A/K106A)	45	표 5 참조.
hIL-12p40 변이체 Y (F82A/K217A)	46	표 5 참조.
hIL-12p40 변이체 Z (F82A/K219A)	47	표 5 참조.
hIL-12p40 변이체 AA	48	표 5 참조.

[0401]

(K217A/K219A)		
hIL-12p40 변이체 BB (K106A/K217A)	49	표 5 참조.
hIL-12p40 변이체 CC (K106A/K219A)	50	표 5 참조.
hIL-12p40 변이체 DD (W37A)	105	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMVDVAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 EE (F82A)	106	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMVDVAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 FF (K106A)	107	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMVDVAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 GG (K217A)	108	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMVDVAVHALKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 HH (K219A)	109	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMVDVAVHKLAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS

[0402]

[0403]

일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 10에 제시된 폴리펩티드 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0404]

일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38-51 또는 90-109 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0405]

일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 10에 제시된 어느 하나의 폴리펩티드의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 10에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0406]

일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38-51 또는 90-109 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 제시된 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38-51 또는 90-109 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0407]

일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열에 제시된 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 (서열식별번호: 33의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 이외에, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0408] 5.3.1.2 hIL-12p35 서브유닛

[0409] 상기 제시된 바와 같이, 본원에 기재된 융합 단백질 및 폴리펩티드는 hIL-12p35 서브유닛을 포함하는 hIL-12 단백질을 포함한다.

[0410] 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 서브유닛의 아미노산 서열은 자연 발생 hIL-12p35 단백질의 아미노산 서열 (예를 들어, 서열식별번호: 31)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 서브유닛의 아미노산 서열은 참조 hIL-12p35 단백질의 아미노산 서열 (예를 들어, 자연 발생 hIL-12p35 단백질, 예를 들어 서열식별번호: 31)에 비해 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함한다.

[0411] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 서브유닛은 본원, 참조로 예를 들어 § 5.2 (예를 들어, §§ 5.2.3, 5.2.4, 5.2.5 및 5.2.6)에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드이다. § 5.2 (예를 들어, §§ 5.2.3, 5.2.4, 5.2.5 및 5.2.6)의 전체 개시내용은 본 발명의 § 5.3.1.2에 참조로 포함된다. § 5.2 (예를 들어, §§ 5.2.3, 5.2.4, 5.2.5 및 5.2.6)에 제공된 임의의 hIL-12p35 폴리펩티드 및 실시양태는 본원에 기재된 융합 단백질 (예를 들어, 항체 (예를 들어, 항-CAIX 항체) 융합 단백질) 내로 혼입될 수 있다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 서브유닛은 § 5.2 (예를 들어, §§ 5.2.3, 5.2.4, 5.2.5 및 5.2.6)에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드이다.

[0412] 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 아미노산 변형은 hIL-12R에 대한 hIL-12p35 서브유닛의 결합 친화도를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 아미노산 변형은 hIL-12Rβ1에 대한 hIL-12p35 서브유닛의 결합 친화도를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 아미노산 변형은 hIL-12Rβ2에 대한 hIL-12p35 서브유닛의 결합 친화도를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개의 아미노산 변형은 hIL-12Rβ1 및 hIL-12Rβ1에 대한 hIL-12p35 서브유닛의 결합 친화도를 감소시킨다.

[0413] 상기 제시된 바와 같이, 본 개시내용의 목적상, 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드의 모든 아미노산 (및 예를 들어, 아미노산 치환)의 넘버링은 천연 신호 펩티드를 함유하는 hIL-12p35의 미성숙 형태의 아미노산 서열 (즉, 서열식별번호: 30)에 대해 제시된다. 아미노산 번호 (예를 들어, Y189)를 지정하기 위한 hIL-12p35의 미성숙 형태의 사용은 단지 일관성을 위한 것이고, 이 넘버링 스킴을 이용하는 실시양태의 범주를 hIL-12p35의 신호 펩티드를 함유하는 폴리펩티드로 제한하지 않는다. 예를 들어, Y189A 아미노산 치환을 갖는 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 것으로서 본원에 기재된 hIL-12p35 폴리펩티드는 hIL-12p35의 신호 펩티드가 요구되지 않으며, 다만 아미노산 위치 Y189의 넘버링은 단백질의 미성숙 형태에 기초한다. 변이체 및 융합 단백질을 생산하기 위해 단백질의 성숙 형태를 이용하는 것은 관련 기술분야에서 통상적이다.

[0414] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 hIL-12p35의 미성숙 형태에 대한 아미노산 넘버링에 기초하여 hIL-12p35의 성숙 형태 (서열식별번호: 31) 내의 아미노산 위치를 용이하게 결정할 수 있다. 상기 제시된 바와 같이, hIL-12p35 단백질의 미성숙 형태의 아미노산 1-22는 신호 서열이다. 따라서, hIL-12p35 단백질의 성숙 형태 내의 특정한 아미노산의 아미노산 위치는 hIL-12p35의 미성숙 형태에 대해 지정된 특정한 아미노산의 아미노산 위치로부터 22를 차감으로써 결정될 수 있다. 예를 들어, 아미노산 위치 Y189 (서열식별번호: 30에 대한 넘버링)는 단백질의 성숙 형태 (서열식별번호: 31) 내의 아미노산 위치 Y167에 상응할 것이다.

[0415] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 위치 E60, F61, P63, K150, F188 또는 Y189 중 1개 이상에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 위치 E60, F61, P63, K150, F188 또는 Y189 중 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0416] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 위치 E60, F61, P63, K150 및 F188 중 1개 이상에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 위치 F188 및 Y189 중 1개 이상에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 위치 F188에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은

서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 위치 Y189A에서의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0417] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: E60K, F61H, P63S, K150H, F188P, F188A 또는 Y189A 중 1개 이상을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: E60K, F61H, P63S, K150H 및 F188P를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환: F188A 및 Y189A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 F188A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 Y189A를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0418] 일부 실시양태에서, hIL12-p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 잔기 50-95, 50-94, 50-93, 50-92, 50-91, 50-90, 50-89, 51-95, 51-94, 51-93, 51-92, 51-91, 51-90, 51-89, 52-95, 52-94, 52-93, 52-92, 52-91, 52-90, 52-89, 53-95, 53-94, 53-93, 53-92, 53-91, 53-90, 53-89, 54-95, 54-94, 54-93, 54-92, 54-91, 54-90, 54-89, 55-95, 55-94, 55-93, 55-92, 55-91, 55-90 또는 55-89의 결실을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIL12-p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열에 대해 아미노산 넘버링 시, 아미노산 잔기 A55-K92의 결실을 포함한다.

[0419] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 6에 제시된 폴리펩티드 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0420] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31 또는 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0421] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 6에 제시된 어느 하나의 폴리펩티드의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 (서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 이외에, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 6에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0422] 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 110-114 중 어느 하나의 아미노산 서열에 제시된 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 (서열식별번호: 31의 아미노산 서열에 대한 것)를 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실)의 세트 이외에, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 110-114 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0423] 5.3.1.3 schIL-12 폴리펩티드

[0424] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 융합 단백질의 hIL-12는 단일 폴리펩티드 쇄의 형태 (본원에서 schIL-12로 지칭됨)이다. schIL-12 폴리펩티드는 본원에 기재된 임의의 hIL-12p40 폴리펩티드 (예를 들어, § 5.2 (예를 들어, § 5.2.1) 및 § 5.3.1.1 참조); 및 본원에 기재된 임의의 hIL-12p35 폴리펩티드 (예를 들어, § 5.2 (예를 들어, § 5.2.3) 및 § 5.3.1.2 참조)를 포함할 수 있다. schIL-12 폴리펩티드는 본원 § 5.2.5에 기재된 schIL-12 폴리펩티드를 포함할 수 있다.

[0425] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 38-51 또는 90-109 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 일부 실시양태에서, hIL-12p35 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 31 또는 110-114 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0426] 일부 실시양태에서, schIL-12는 hIL-12p40 폴리펩티드에 직접적으로 융합된 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다.

일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p35 폴리펩티드, 임의적인 펩티드 링커 및 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p40 폴리펩티드, 임의적인 펩티드 링커 및 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다.

[0427] 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 펩티드 결합을 통해 직접적으로 작동가능하게 연결된 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 펩티드 링커를 통해 hIL-12p40 폴리펩티드에 간접적으로 융합된 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p35 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로 hIL-12p40 폴리펩티드, 펩티드 링커 및 hIL-12p35 폴리펩티드를 포함한다.

[0428] (hIL-12p40 폴리펩티드에 hIL-12p35 폴리펩티드를 작동가능하게 연결하기 위해) schIL-12 폴리펩티드에 사용하기 위한 예시적인 링커의 아미노산 서열이 표 11에 제공된다.

[0429] 일부 실시양태에서, hIL-12p40 폴리펩티드 및 hIL-12p35 폴리펩티드는 펩티드 링커를 통해 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 hIL-12p35 폴리펩티드 및 hIL-12p40 폴리펩티드가 회합하여 schIL-12가 hIL-12 수용체에 결합할 수 있도록 충분한 길이를 갖는다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 약 5-30, 5-25, 5-20, 5-15, 10-30, 10-25, 10-20 또는 10-15개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 글리신 (G) 및 세린 (S) 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0430] 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 서열식별번호: 66-81 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실 또는 부가)을 갖는 서열식별번호: 66-81 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실 또는 부가)을 갖는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함한다.

[0431] 예시적인 schIL-12 폴리펩티드의 아미노산 서열이 표 11에 제공된다.

[0432] 표 11. 예시적인 인간 scIL-12 폴리펩티드의 아미노산 서열

설명	SEQ ID NO	아미노산 서열
야생형 hIL-12p35-링커-야생형 hIL-12p40	115	RNLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLEFYPTCTSEE IDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASR KTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNNML AVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDFYKTKIKLCILHAFRIRA VTIDRVMSYLNASGGGGSGGGSGGGSGGGSIWELKKDVYVVELDWYPD APGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCE AKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAE RVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKLYENYT SSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFS LTFVQVQVGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYS SSWSEWASVPCS
야생형 hIL-12p40-링커-야생형 hIL-12p35	116	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWST DILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSR GSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESL PIEVMDAVHKLKLYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQV EVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQVGKSKREKKDRVFTDKTSATV ICRKNASISVRAQDRYYSWSEWASVPCSGGGSGGGSGGGSGGSR NLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLEFYPTCTSEEI DHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASR KTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNNMLA VIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDFYKTKIKLCILHAFRIRAV TIDRVMSYLNAS
야생형 hIL-12p35-링커-hIL-12p40 변이체 O	117	RNLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLEFYPTCTSEE IDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASR KTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNNML AVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDFYKTKIKLCILHAFRIRA VTIDRVMSYLNASGGGGSGGGSGGGSGGGSIWELKKDVYVVELDAYPD APGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCE AKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAE RVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKLYENYT SSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFS LTFVQVQVGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYS SSWSEWASVPCS
hIL-12p40 변이체 O-링커-야생형 hIL-12p35	118	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWST DILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSR GSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESL PIEVMDAVHKLKLYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQV EVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQVGKSKREKKDRVFTDKTSATV ICRKNASISVRAQDRYYSWSEWASVPCSGGGSGGGSGGGSGGGS RNLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLEFYPTCTSEE IDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASR KTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNNML AVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDFYKTKIKLCILHAFRIRA VTIDRVMSYLNAS

[0433]

[0434] 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드의 아미노산 서열은 표 11에 제시된 폴리펩티드 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0435] 일부 실시양태에서, schIL-12 폴리펩티드의 아미노산 서열은 서열식별번호: 115-118 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0436] 5.3.1.4 hIL-12 융합 단백질 및 폴리펩티드의 효력 및 친화도

[0437] 일부 실시양태에서, hIL-12 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 STAT4의 수준의 증가에 비해, STAT4의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4

(pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 약 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배, 100배 또는 1000배 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 적어도 약 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배, 100배 또는 1000배 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))에 의해 매개된, 표면 상에 hIL-12R을 발현하는 세포에서의 인산화 STAT4 (pSTAT4)의 수준의 증가에 비해, pSTAT4의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개한다. 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질의 EC50을 측정하는 데 적합한 검정은 표준이고, 특히 § 5.2.3에 기재된 바와 같이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다.

[0438] 일부 실시양태에서, hIL-12 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 인터페론 감마 (IFN- γ)의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 IFN- γ 의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배, 100배 또는 1000배 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 IFN- γ 의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 적어도 약 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배, 100배 또는 1000배 더 낮은 증가를 매개한다. 일부 실시양태에서, hIL-12 융합 단백질은 적합한 대조군 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))의 존재 하에 생산된, 표면 상에 hIL-12R을 발현함으로써 생산된 IFN- γ 의 수준의 증가에 비해, IFN- γ 의 수준의 약 0.5-1000배, 0.5-100배, 0.5-10배, 0.5-5배, 0.5-2배, 1-1000배, 1-100배, 1-10배, 1-5배, 1-2배, 10-1000배 또는 100-1000배 더 낮은 증가를 매개한다. 배양된 세포로부터 생산된 단백질 (예를 들어, IFN- γ)의 수준을 측정하는 데 적합한 검정은 표준이고, 특히 § 5.2.3에 기재된 바와 같이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다.

[0439] 일부 실시양태에서, hIL-12 융합 단백질은 참조 hIL-12p40 단백질 (예를 들어, 참조 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 371, 372, 383))에 비해 더 낮은 친화도로 hIL-12R β 1에 결합한다. 결합 친화도는 특히 § 5.2.25.2.3에 기재된 바와 같이 관련 기술분야에 공지된 표준 검정에 의해 측정될 수 있다.

[0440] 5.3.2 Ig 융합 단백질 및 폴리펩티드

[0441] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 1개 이상의 hIg 중쇄 불변 영역 (예를 들어, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역, CH3 영역, Fc 영역)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 중쇄 불변 영역은 항체 (예를 들어, 전장 항체)의 일부이다 (예를 들어, § 5.3.3 참조). 일부 실시양태에서, hIg는 인간 IgG (hIgG)이다. 일부 실시양태에서, hIgG는 hIgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4이다. 일부 실시양태에서, hIgG는 IgG1 또는 IgG4이다. 일부 실시양태에서, hIgG는 hIgG1이다. 일부 실시양태에서, hIgG는 hIgG4이다.

[0442] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 항체의 일부이다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 전장 항체의 일부이다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 힌지 영역의 적어도 한 부분, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 hIgG CH2 영역 및 hIgG CH3 영역의 적어도 한 부분을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 hIgG 힌지 영역의 적어도 한 부분, hIgG CH2 영역 및 hIgG CH3 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 hIgG 힌지 영역, hIgG CH2 영역 및 hIgG CH3 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 hIgG1 CH2 영역 및 hIgG1 CH3 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 hIgG1 힌지 영역의 적어도 한 부분, hIgG1 CH2 영역 및 hIgG1 CH3 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 hIgG4 CH2 영역 및 hIgG4 CH3 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 hIgG4 힌지 영역의 적어도 한 부분, hIgG4 CH2 영역 및 hIgG4 CH3 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 hIgG4 힌지 영역, hIgG4 CH2 영역 및 hIgG4

CH3 영역을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0443] 본원에 기재된 실시양태 중 하나 이상 (예를 들어, 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 항-CAIX 항체 (예를 들어, 전장 항체) hIL-12 융합 단백질) (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드))에 혼입될 수 있는 예시적인 참조 hIgG1 및 hIgG4 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역의 아미노산 서열이 표 12에 제공된다.

[0444] 표 12. 예시적인 hIg 중쇄 및 경쇄 불변 영역 성분의 아미노산 서열

설명	아미노산 서열	SEQ ID NO
hIgG1 CH1 영역	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKV	119
hIgG1 힌지 영역	EPKSCDKTHTCP	120
hIgG1 CH2 영역	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAK	121
hIgG1 CH3 영역	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	122
C-말단 리신 존재		
hIgG1 CH3 영역	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	123
C-말단 리신 부재		
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	124
C-말단 리신 존재		
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG	125
C-말단 리신 부재		
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	126
C-말단 리신 존재		
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	127
C-말단 리신 부재		
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP	128
C-말단 리신 존재		

[0445]

	ENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 C-말단 리신 부재	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSIVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	129
hIgG1 CH1+ 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 C-말단 리신 존재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGLVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	130
hIgG1 CH1 + 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 C-말단 리신 부재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGLVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	131
hIgG4 CH1 영역	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGLVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKRV	132
hIgG4 힌지 영역	ESKYGPPCPSCP	133
hIgG4 CH2 영역	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK	134
hIgG4 CH3 영역 C-말단 리신 존재	GQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	135
hIgG4 CH3 영역 C-말단 리신 부재	GQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSLG	136
hIgG4 CH2 영역 + CH3 영역 C-말단 리신 존재	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSL GK	137
hIgG4 CH2 영역 + CH3 영역 C-말단 리신 부재	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSL G	138

[0446]

hIgG4 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 C-말단 리신 존재	PCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPFVLDSDGSFFLYSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK	139
hIgG4 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 C-말단 리신 부재	PCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPFVLDSDGSFFLYSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG	140
hIgG4 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 C-말단 리신 존재	ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK	141
hIgG4 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 C-말단 리신 부재	ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG	142
hIgG4 CH1 + 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 C-말단 리신 존재	ASTKGPSVFPLAFCRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK	143
hIgG4 CH1 + 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 C-말단 리신 부재	ASTKGPSVFPLAFCRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG	144
Ig 경쇄 카파 불변 영역 (κCL)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	145
Ig 경쇄 카파 불변 영역 (λCL)	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	146

[0447]

[0448]

일부 실시양태에서, 융합 단백질은 1개 이상의 hIg 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 표 12에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0449]

일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 표 12에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 1개 이상이지만 15% 미만 (12% 미만, 10% 미만, 8% 미만)인 아미노산 변이 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가)를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과 아미노산 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가)을 포함하거나 또는 그로 이루어진, 표 12에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과 아미노산 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가)을 포함하거나 또는 그로 이루어진, 표 12에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과 개수 이하의 아미노산 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가)을 포함하거나 또는 그로 이루어진, 표 12에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0450]

일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 표 12에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 1개 이상이지만 15% 미만 (12% 미만, 10% 미만, 8% 미만)인 아미노산 치환을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진, 표 12에 제시된 폴리

펩티드의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진, 표 12에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과 개수 이하의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진, 표 12에 제시된 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0451] 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 서열식별번호: 119-146 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 124-131 또는 137-144 중 어느 하나)에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0452] 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 서열식별번호: 119-146 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 124-131 또는 137-144 중 어느 하나)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 1개 이상이지만 15% 미만 (12% 미만, 10% 미만, 8% 미만)인 아미노산 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가)을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과개의 아미노산 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가)을 포함하거나 또는 그로 이루어진, 서열식별번호: 119-146 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 124-131 또는 137-144 중 어느 하나)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가)을 포함하거나 또는 그로 이루어진, 서열식별번호: 119-146 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 124-131 또는 137-144 중 어느 하나)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 이하의 아미노산 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가)을 포함하거나 또는 그로 이루어진, 서열식별번호: 119-146 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 124-131 또는 137-144 중 어느 하나)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0453] 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 서열식별번호: 119-146 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 124-131 또는 137-144 중 어느 하나)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 1개 이상이지만 15% 미만 (12% 미만, 10% 미만, 8% 미만)인 아미노산 치환을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진, 서열식별번호: 119-146 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 124-131 또는 137-144 중 어느 하나)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진, 서열식별번호: 119-146 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 124-131 또는 137-144 중 어느 하나)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 1개 이상의 hIg 불변 영역의 아미노산 서열은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 이하의 아미노산 치환을 포함하거나 또는 그로 이루어진, 서열식별번호: 119-146 중 어느 하나 (예를 들어, 서열식별번호: 124-131 또는 137-144 중 어느 하나)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0454] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 서열식별번호: 145-146 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0455] 5.3.2.1 Ig 이펙터 기능

[0456] 본원에 기재된 바와 같이, 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 융합 단백질 또는 폴리펩티드의 Fc 영역은 참조 (예를 들어, 야생형) Fc 영역에 비해 1종 이상의 Fc 이펙터 기능의 감소를 나타낸다. 예시적인 Fc 이펙터 기능은 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC), 항체 의존성 세포성 식세포작용 (ADCP), 보체 의존성 세포독성 (CDC) 및 1종 이상의 인간 Fc 수용체 (예를 들어, Fc γ 수용체 (예를 들어, Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa 및/또는 Fc γ RIIIb (예를 들어, Fc γ RI, Fc γ IIa 및/또는 Fc γ IIIa)))에 대한 결합 친화도를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0457] ADCC, CDC, ADCP, Fc 수용체 (예를 들어, Fc γ 수용체) 결합 친화도 및 C1q 결합 친화도 중 어느 하나 이상을

포함한 Fc 이펙터 기능을 평가하기 위해 관련 기술분야에 공지된 표준 시험관내 및/또는 시험관내 검정이 수행될 수 있다.

[0458]

예를 들어, ADCC 활성은 관련 기술분야에 공지된 표준 (방사성 및 비-방사성) 방법을 이용하여 평가될 수 있다 (예를 들어, W02006/082515, W02012/130831 참조, 이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨). 예를 들어, ADCC 활성은 크로뮴-5 (^{51}Cr) 검정을 사용하여 평가될 수 있다. 간략하게, ^{51}Cr 을 CD20을 발현하는 표적 세포 내로 사전-로딩하고, NK 세포를 배양물에 첨가하고, 세포 배양 상청액에서의 방사능을 평가한다 (NK 세포에 의한 표적 세포의 용해를 나타냄). 유사한 방법을 사용하는 유사한 비-방사성 검정이 또한 이용될 수 있지만, 표적 세포는 형광 염료, 예컨대 칼세인-AM, CFSE, BCECF 또는 란타나이드 형광단 (유로퓸)으로 사전-로딩된다. 예를 들어, 문헌 [Parekh, Bhavin S et al. "Development and validation of an antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity-reporter gene assay." *mAbs* vol. 4,3 (2012): 310-8. Doi:10.4161/mabs.19873]을 참조하며, 이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다. 예시적인 상업적으로 입수가 가능한 비-방사성 검정은, 예를 들어 유동 세포측정법을 위한 액티(ACTI)TM 비-방사성 세포독성 검정 (셀 테크놀로지, 인크.(Cell Technology, Inc.), 캘리포니아주 마운틴 뷰); 및 시토크스(CytoTox) 96® 비-방사성 세포독성 검정 (프로메가(Promega), 위스콘신주 매디슨)을 포함한다. 본원에 기재된 융합 단백질의 ADCC 활성을 평가하는 데 사용될 수 있는 시험관내 검정의 추가의 비제한적 예는 US5500362; US5821337; 문헌 [Hellstrom, I., et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83 (1986) 7059-7063; Hellstrom, I., et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82 (1985) 1499-1502; 및 Bruggemann, M., et al., *J. Exp. Med.* 166 (1987) 1351-1361]에 기재된 것을 포함하며, 이들 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다. 대안적으로 또는 추가적으로, 본원에 기재된 융합 단백질의 ADCC 활성은, 예를 들어 문헌 [Clynes, et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95 (1998) 652-656] (이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨)에 개시된 것과 같은 동물 모델에서 시험관내 평가될 수 있다.

[0459]

C1q 결합 검정을 이용하여 본원에 기재된 hIg 융합 단백질 또는 폴리펩티드가 C1q에 결합하고 (또는 참조 융합 단백질보다 더 낮은 친화도로 결합하고) 이에 따라 CDC 활성을 결여시키는 (또는 감소시키는) 능력을 평가할 수 있다. 본원에 기재된 hIg 융합 단백질 또는 폴리펩티드의 C1q에 대한 결합은, 예를 들어 평형 방법 (예를 들어, 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA) 또는 방사선면역검정 (RIA)) 또는 동역학적 방법 (예를 들어, 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 분석) 및 다른 방법, 예컨대 간접적 결합 검정, 경쟁적 억제 검정, 형광 공명 에너지 전달 (FRET), 겔 전기영동 및 크로마토그래피 (예를 들어, 겔 여과)를 포함한, Fc-C1q 상호작용을 결정하기 위한 관련 기술분야에 공지된 다양한 시험관내 검정 (예를 들어, 생화학적 또는 면역학적 기반 검정)에 의해 결정될 수 있다. 이들 및 다른 방법은 검사되는 성분 중 하나 이상 상의 표지를 이용하고/거나 발색, 형광, 발광 또는 동위원소 표지를 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 검출 방법을 사용할 수 있다. 결합 친화도 및 동역학의 상세한 설명은, 예를 들어 문헌 [Paul, W. E., ed., *Fundamental Immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)]에서 찾아볼 수 있으며, 이의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다. 예를 들자면, 예를 들어 W02006/029879 및 W02005/100402 (이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 C1q 및 C3c 결합 ELISA를 참조한다. 추가의 CDC 활성 검정은, 예를 들어 문헌 [Gazzano-Santoro, et al., *J. Immunol. Methods* 202(1996) 163; Cragg, M. S., et al., *Blood* 101(2003) 1045-1052; 및 Cragg, M. S., and Glennie, M. J., *Blood* 103(2004) 2738-2743]에 기재된 것을 포함하며, 이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다.

[0460]

ADCP 활성은 관련 기술분야에 공지된 시험관내 또는 시험관내 방법 및 또한 상업적으로 입수가 가능한 검정에 의해 측정될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [van de Donk NW, Moreau P, Plesner T, et al. "Clinical efficacy and management of monoclonal antibodies targeting CD38 and SLAMF7 in multiple myeloma," *Blood*, 127(6):681-695 (2016)] 참조, 이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨). 예를 들어, 신선한 인간 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 단리하고, 단핵구를 단리하고, 표준 절차를 사용하여 배양물 중에서 대식세포로 분화시키는 1차 세포 기반 ADCP 검정이 사용될 수 있다. 대식세포는 CD20 및 본원에 기재된 융합 단백질을 발현하는 형광 표지된 표적 세포를 함유하는 배양물에 형광 표지되어 첨가된다. 식세포작용 사건은 FACS 스크리닝 및/또는 현미경검사를 사용하여 분석될 수 있다. 이펙터 세포주로서 Fc γ RIIa (CD32a)를 안정하게 발현하는 조작된 세포주 (예를 들어, 조작된 T 세포주, 예를 들어 THP-1)를 사용하여 1차 세포에 대한 요건을 제거하는 상기 기재된 검정의 변형된 리포터 버전이 또한 사용될 수 있다. 예시적인 ADCP 검정은, 예를 들어 문헌 [Ackerman, M. E. et al. A robust, high-throughput assay to determine the phagocytic activity of clinical antibody samples. *J. Immunol. Methods* 366, 8-19 (2011); 및 McAndrew, E. G. et al. Determining

the phagocytic activity of clinical antibody samples. J. Vis. Exp. 3588 (2011). Doi:10.3791/3588]에 기재되어 있으며; 이들 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0461] Fc 수용체에 대한 본원에 기재된 hIg 융합 단백질 또는 폴리펩티드의 결합은 Fc-Fc 수용체 상호작용, 즉 Fc 수용체에 대한 Fc 영역의 특이적 결합을 결정하기 위한 관련 기술분야에 공지된 다양한 시험관내 검정 (예를 들어, 생화학적 또는 면역학적 기반 검정)에 의해 결정될 수 있다. 통상적인 검정은 평형 방법 (예를 들어, 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA) 또는 방사선면역검정 (RIA)) 또는 동역학적 방법 (예를 들어, 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 분석) 및 다른 방법, 예컨대 간접적 결합 검정, 경쟁적 억제 검정, 형광 공명 에너지 전달 (FRET), 겔 전기영동 및 크로마토그래피 (예를 들어, 겔 여과)를 포함한다. 이들 및 다른 방법은 검사되는 성분 중 하나 이상 상의 표지를 이용하고/거나 발색, 형광, 발광 또는 동위원소 표지를 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 검출 방법을 사용할 수 있다. 결합 친화도 및 동역학의 상세한 설명은, 예를 들어 문헌 [Paul, W. E., ed., Fundamental Immunology, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)]에서 찾아볼 수 있으며, 이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다.

[0462] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)의 Fc 영역은 참조 Fc 영역 (예를 들어, 야생형 Fc 영역, 예를 들어 서열식별번호: 124-131 중 어느 하나)의 아미노산 서열에 비해 변형된다 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환, 결실, 부가 등)을 포함함) (본원에서 "변형된 Fc 영역"으로 지칭됨). 일부 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환, 결실, 부가 등)은 변형 (예를 들어, 1개 이상의 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환, 결실, 부가 등))을 포함하지 않는 참조 Fc에 비해 1종 이상의 Fc 이펙터 기능을 감소시키거나 제거한다.

[0463] 일부 실시양태에서, 변형된 Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 Fc 영역 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 부가))을 포함하지 않는 참조 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)과 비교하여 검출가능하지 않은 또는 감소된 ADCC를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 변형된 Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 Fc 영역 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 부가))을 포함하지 않는 참조 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)과 비교하여 검출가능하지 않은 또는 감소된 CDC를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 변형된 Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 Fc 영역 변형 (예를 들어, 1개 이상의 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 부가))을 포함하지 않는 참조 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)과 비교하여 1종 이상의 인간 Fc 수용체 (예를 들어, Fc γ 수용체 (예를 들어, Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa 및/또는 Fc γ RIIIb (예를 들어, Fc γ RI, Fc γ IIa 및/또는 Fc γ IIIa))에 대해 감소된 또는 검출가능하지 않은 특이적 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 변형된 Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 Fc 영역 변형 (예를 들어, 1개 이상의 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 부가))을 포함하지 않는 참조 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)과 비교하여 Fc γ RI, Fc γ IIa 및/또는 Fc γ IIIa에 대해 감소된 또는 검출가능하지 않은 특이적 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질 (또는 그의 폴리펩티드) 또는 변형된 Fc를 포함하는 폴리펩티드는 Fc 변형 (예를 들어, 1개 이상의 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 부가))을 포함하지 않는 참조 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)과 비교하여 Fc γ RI에 대해 감소된 또는 검출가능하지 않은 특이적 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 변형된 Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 참조 융합 단백질 (또는 그의 폴리펩티드) 또는 Fc 영역 변형 (예를 들어, 1개 이상의 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 부가))을 포함하지 않는 폴리펩티드와 비교하여 Fc γ IIa에 대해 감소된 또는 검출가능하지 않은 특이적 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 변형된 Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 참조 융합 단백질 (또는 그의 폴리펩티드) 또는 Fc 영역 변형 (예를 들어, 1개 이상의 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 부가))을 포함하지 않는 참조 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)과 비교하여 Fc γ IIIa에 대해 감소된 또는 검출가능하지 않은 특이적 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 변형된 Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 참조 융합 단백질 (또는 그의 폴리펩티드) 또는 Fc 영역 변형 (예를 들어, 1개 이상의 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 부가))을 포함하지 않는 참조 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)과 비교하여 C1q에 대해 감소된 또는 검출가능하지 않은 특이적 결합 친화도를 나타낸다.

- [0464] 일부 실시양태에서, Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 검출가능한 ADCC를 나타내지 않는다. 일부 실시양태에서, Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 검출가능한 CDC를 나타내지 않는다. 일부 실시양태에서, Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 검출가능한 ADCP를 나타내지 않는다. 일부 실시양태에서, Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 1종 이상의 인간 Fc 수용체 (예를 들어, Fc γ 수용체 (예를 들어, Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa 및/또는 Fc γ RIIIb (예를 들어, Fc γ RI, Fc γ IIa 및/또는 Fc γ IIIa)))에 대해 검출가능한 특이적 결합 친화도를 나타내지 않는다. 일부 실시양태에서, Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 Fc γ RI 및/또는 Fc γ IIa에 대해 검출가능한 특이적 결합 친화도를 나타내지 않는다. 일부 실시양태에서, Fc를 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 폴리펩티드)은 Fc γ RI에 대해 검출가능한 특이적 결합 친화도를 나타내지 않는다. 일부 실시양태에서, Fc를 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 Fc γ IIa에 대해 검출가능한 특이적 결합 친화도를 나타내지 않는다. 일부 실시양태에서, Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 Fc γ IIIa에 대해 검출가능한 특이적 결합 친화도를 나타내지 않는다. 일부 실시양태에서, Fc 영역을 포함하는 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 C1q에 대해 검출가능한 특이적 결합 친화도를 나타내지 않는다.
- [0465] 1종 이상의 Fc 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하는 아미노산 치환은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Saunders Kevin, "Conceptual Approaches to Modulating Antibody Effector Functions and Circulation Half-Life," *Frontiers in Immunology*, v10 (June 7, 2019) DOI=10.3389/fimmu.2019.01296]을 참조하고, 이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함되며, 보다 특히, 예를 들자면, 예를 들어 문헌 [Saunders]의 표 3을 참조한다.
- [0466] 일부 실시양태에서, 변형된 Fc는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환)을 포함하는 hIgG1 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIgG1 Fc 영역은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 아미노산 위치 L234, L235 및/또는 P329에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIgG1 Fc 영역은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 L234A 및/또는 L235A를 포함한다. 일부 실시양태에서, hIgG1 Fc 영역은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 L234A, L235A 및 P329G를 포함한다. 일부 실시양태에서, hIgG1 Fc 영역은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 L234A, L235A 및 P329A를 포함한다.
- [0467] 일부 실시양태에서, 변형된 Fc 영역은 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환)을 포함하는 hIgG4 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIgG4 Fc 영역은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 아미노산 위치 S228, F234 및/또는 L235에서의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIgG4 Fc 영역은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 S228P, F234A 및/또는 L235A를 포함한다. 일부 실시양태에서, hIgG4 Fc 영역은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 S228P, F234A 및/또는 L235E를 포함한다. 일부 실시양태에서, hIgG4 Fc는 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 하기 아미노산 치환 S228P 및/또는 L235E를 포함한다.
- [0468] 1종 이상의 이펙터 기능의 감소를 나타내는 것으로 관련 기술분야에 공지된 예시적인 변형된 Fc 영역의 아미노산 서열이 표 13에 제공된다.

[0469]

표 13. 예시적인 변형된 Fc 영역의 아미노산 서열

설명	아미노산 서열	SEQ ID NO
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A C-말단 리신 존재	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	147
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A C-말단 리신 부재	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG	148
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329A C-말단 리신 존재	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	149
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG	150
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329G C-말단 리신 존재	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	151
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329G C-말단 리신 부재	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG	152
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A C-말단 리신 존재	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	153

[0470]

hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A C-말단 리신 부재	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	154
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329A C-말단 리신 존재	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	155
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	156
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329G C-말단 리신 존재	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	157
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329G C-말단 리신 부재	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	158
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A C-말단 리신 존재	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	159
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A C-말단 리신 부재	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	160
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329A	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	161

[0471]

C-말단 리신 존재		
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	162
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329G C-말단 리신 존재	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	163
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329G C-말단 리신 부재	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	164
hIgG4 CH2 영역 + CH3 영역 S228P/F234A/L235A C-말단 리신 존재	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	165
hIgG4 CH2 영역 + CH3 영역 S228P/F234A/L235A C-말단 리신 부재	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	166
hIgG4 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 S228P/F234A/L235A C-말단 리신 존재	PCPSCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	167
hIgG4 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 S228P/F234A/L235A C-말단 리신 부재	PCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	168
hIgG4 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 S228P/F234A/L235A	ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE	169

C-말단 리신 존재	SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	
hIgG4 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 S228P/F234A/L235A C-말단 리신 부재	ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	170
hIgG4 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 (변형됨) S228P/F234A/L235A C-말단 리신 존재	AESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	171
hIgG4 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 (변형됨) S228P/F234A/L235A C-말단 리신 부재	AESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	172

일부 실시양태에서, hIgG1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 L234에서의 알라닌 아

포함한다. 일부 실시양태에서, hIgG1 Fc 영역의 아미노산 서열은 아미노산 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 L234에서의 알라닌 아미노산, 위치 L235에서의 알라닌 아미노산 및 위치 P329에서의 알라닌을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 서열식별번호: 147-163 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, hIgG1 Fc 영역의 아미노산 서열은 아미노산 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 L234에서의 알라닌 아미노산, 위치 L235에서의 알라닌 아미노산 및 위치 P329에서의 글리신을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; 서열식별번호: 147-163 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

5.3.2.2 이중이량체화의 촉진

본원에 기재된 바와 같이, 일부 실시양태에서, 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 제1 및 제2 Fc 영역을 포함한다. 본원에 기재된 바와 같이, 일부 실시양태에서, 이중 모이어티는 제1 및 제2 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Ig Fc 영역 및 제2 Ig Fc 영역은 각각 이중이량체화를 촉진하기 위해 서로에 대해 1개 이상의 아미노산 변형을 포함한다. Ig (예를 들어, IgG) 유래 이중이량체 포맷은 관련 기술분야에 공지된 방법, 예를 들어 강제 중쇄 이중이량체화에 의해 생성될 수 있다. 강제 중쇄 이중이량체화는 관련 기술분야에 공지된 방법, 예를 들어 노브-인-홀 또는 가닥 교환 조작된 도메인 (SEED)을 사용하여 수득될 수 있으며, 예를 들어 문헌 [Ji-Hee et al., "Immunoglobulin Fc Heterodimer Platform Technology: From Design to Applications in Therapeutic Antibodies and Proteins" Frontiers in Immunology, v7(article 394) (2016) DOI=10.3389/fimmu.2016.00394 (hereinafter "Ji-Hee 2016")] (이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨)을 참조한다.

일부 실시양태에서, 제1 및 제2 Ig Fc 영역의 계면은, 예를 들어 비-변형된 계면, 예를 들어 자연 발생 계면에 비해 이중이량체화를 증가시키기 위해 변형되며, 예를 들어 아미노산 치환이 도입된다. 예를 들어, 제1 및 제2 Ig Fc 영역의 이량체화는, 예를 들어 비-변형된 계면에 비해 이중다량체 대 동종다량체의 더 큰 비가 형성되도록, 제1 및 제2 Fc 영역의 Ig Fc 계면에 쌍형성된 돌출부-공동 ("노브-인-홀"), 정전기적 상호작용 또는 가닥-교환 중 하나 이상을 제공함으로써 증진될 수 있다.

노브-인-홀 아미노산 쌍형성 변형은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어 US5731116; US7476724; 문헌 [Ji-Hee 2016; 및 Ridgway, J. "'Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization" et al. Prot. Engineering 9(7): 617-621 (1996)]에 기재되어 있으며, 이들 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다. 일반적으로, 노브-인-홀은 1) 이중이량체화를 촉진하기 위해 제1 및 제2 대상 Ig Fc 영역 중 하나 또는 둘 다의 CH3 도메인에 1개 이상의 아미노산 치환을 도입하고; 2) 이중이량체화를 촉진하는 조건 하에 변형된 Ig Fc 영역을 합하는 것을 포함한다. "노브"는 전형적으로 모 Ig Fc 영역 내의 작은 아미노산을 보다 큰 아미노산으로 치환함 (예를 들어, T366Y 또는 T366W)으로써 생성되고; "홀"은 모 Ig Fc 영역 내의 보다 큰 잔기를 보다 작은 아미노산으로 치환함 (예를 들어, Y407T, T366S, I1368A 또는 Y407V)으로써 생성된다. 예시적인 노브-인-홀 돌연변이는 "노브" Ig Fc 영역 내의 S354C, T366W 및 "홀" Ig Fc 영역 내의 Y349C, T366S, L368A, Y407V를 포함한다. 실시양태 중 어느 하나 이상 내로 혼입될 수 있는 다른 예시적인 노브-인-홀 돌연변이가 추가의 예시적인 임의적인 안정화 Ig Fc 시스템 돌연변이와 함께 표 14에 제공된다.

표 14. 예시적인 노브-인-홀 및 안정화 시스템 돌연변이

아미노산 위치 (카바트에 따른 EU 넘버링)	노브 Ig Fc 아미노산 치환	홀 Ig Fc 아미노산 치환
<i>노브-인 홀 아미노산 치환</i>		
T366	T366W	T366S
L368	-	L368A
Y407	-	Y407V
<i>안정화 시스템 아미노산 치환</i>		
S354	S354C	-
Y349	-	Y349C

이중이량체화를 촉진하는 것으로 관련 기술분야에 공지된 예시적인 Fc 영역의 아미노산 서열이 표 15에 제공된다.

[0485] 표 15. 변형된 이중이량체 Fc 영역의 예시적인 쌍의 아미노산 서열

설명	아미노산 서열	SEQ ID NO
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W C-말단 리신 존재	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	173
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W C-말단 리신 부재	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	174
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W C-말단 리신 존재	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	175
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W C-말단 리신 부재	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	176
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W C-말단 리신 존재	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	177
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W C-말단 리신 부재	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	178
hIgG1 CH1+ 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W C-말단 리신 존재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTSPSSLSGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS	179

[0486]

	DI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
hIgG1 CH1 + 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W C-말단 리신 부재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	180
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C C-말단 리신 존재	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	181
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C C-말단 리신 부재	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG	182
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C C-말단 리신 존재	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP CRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	183
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C C-말단 리신 부재	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP CRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	184
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C C-말단 리신 존재	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	185
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C C-말단 리신 부재	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	186

[0487]

hlgG1 CH1+ 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C C-말단 리신 존재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	187
hlgG1 CH1 + 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C C-말단 리신 부재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG	188
hlgG1 CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V C-말단 리신 존재	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPGK	189
hlgG1 CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V C-말단 리신 부재	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPG	190
hlgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V C-말단 리신 존재	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPGK	191
hlgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V C-말단 리신 부재	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPG	192
hlgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V C-말단 리신 존재	EPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLSPGK	193
hlgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역	EPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR	194

[0488]

홀 T366S/L368A/Y407V C-말단 리신 부재	VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
hIgG1 CH1+ 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V C-말단 리신 존재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	195
hIgG1 CH1 + 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V C-말단 리신 부재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	196
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V/Y349C C-말단 리신 존재	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	197
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V/Y349C C-말단 리신 부재	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	198
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V/Y349C C-말단 리신 존재	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	199
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	200

[0489]

호 T366S/L368A/Y407V/Y 349C C-말단 리신 부재	VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPG	
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 호 T366S/L368A/Y407V/Y 349C C-말단 리신 존재	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLSPGK	201
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 호 T366S/L368A/Y407V/Y 349C C-말단 리신 부재	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLSPG	202
hIgG1 CH1+ 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 호 T366S/L368A/Y407V/Y 349C C-말단 리신 존재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPSPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPY SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	203
hIgG1 CH1 + 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 호 T366S/L368A/Y407V/Y 349C C-말단 리신 부재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPSPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPY SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG	204

[0490]

[0491]

본원에 기재된 바와 같이, 일부 실시양태에서, 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역을 포함한다.

[0492]

일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, T366W 아미노산 치환을 포함하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환: T366S, L368A 및 Y407V를 포함하며; 각각은 예시적인 참조 Fc 영역 (예를 들어, 표 12에 제시된 참조 Fc 영역)의 아미노산 서열에 대한 것이다. 일부 실시양태에서, 제1 h의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, S354C 아미노산 치환을 추가로 포함하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, Y349C 아미노산 치환을 포함하며; 각각은 예시적인 참조 Fc 영역 (예를 들어, 표 12에 제시된 참조 Fc 영역)의 아미노산 서열에 대한 것이다.

[0493]

일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환: T366W 및 S354C를 포함하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환: T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함하며; 각각은 예시적인 참조 Fc 영역 (예를 들어, 표 12에 제시된 참조 Fc 영역)의 아미노산 서열에 대한 것이다.

[0494]

일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, T366W 아미노산 치환을 포함하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환: T366S, L368A 및 Y407V를 포함하며; 각각은 예시적인 참조 Fc 영역 (예를 들어, 표 12에 제시된 참조 Fc 영역)의 아미노산 서열에 대한 것이다. 일부 실시양태에서, 제2 h의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, S354C 아미노산 치환을 추가로 포함하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, Y349C 아미노산 치환을 포함하며; 각각은 예시적인 참조 Fc 영역 (예를 들어, 표 12에 제시된 참조 Fc 영역)의 아미노산 서열에 대한 것이다.

[0495]

일부 실시양태에서, 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환: T366W 및 S354C를 포함하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 각각의 하기 아미노산 치환: T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함하며; 각각은 예시적인 참조 Fc 영역 (예를 들어, 표 12에 제시

된 참조 Fc 영역)의 아미노산 서열에 대한 것이다.

- [0496] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산을 포함하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산 및 위치 Y407에 발린 아미노산을 포함한다.
- [0497] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산 및 위치 S354에 시스테인 아미노산을 포함하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산, 위치 Y407에 발린 아미노산 및 위치 Y349에 시스테인 아미노산을 포함한다.
- [0498] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 173-180 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산 및 위치 Y407에 발린 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 189-196 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0499] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산 및 위치 S354에 시스테인 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 182-188 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산, 위치 Y407에 발린 아미노산 및 위치 Y349에 시스테인 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 197-204 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0500] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 173에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산 및 위치 Y407에 발린 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 189에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0501] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 174에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산 및 위치 Y407에 발린 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 190에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0502] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 175에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산 및 위치 Y407에 발린 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 191에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0503] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 W 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 176에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산 및 위치 Y407에 발린 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 192에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0504] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 177에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%,

미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0512] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산 및 위치 S354에 시스테인 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 185에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산, 위치 Y407에 발린 아미노산 및 위치 Y349에 시스테인 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 201에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0513] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산 및 위치 S354에 시스테인 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 186에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산, 위치 Y407에 발린 아미노산 및 위치 Y349에 시스테인 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 202에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0514] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산 및 위치 S354에 시스테인 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 187에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산, 위치 Y407에 발린 아미노산 및 위치 Y349에 시스테인 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 203에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0515] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산 및 위치 S354에 시스테인 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 188에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산, 위치 Y407에 발린 아미노산 및 위치 Y349에 시스테인 아미노산을 포함하고, 서열식별번호: 204에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0516] 5.3.2.3 예시적인 변형된 Fc 영역

[0517] 본원에 기재된 바와 같이, 일부 실시양태에서, 융합 단백질 (또는 그의 1개 이상의 폴리펩티드)은 제1 및 제2 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 본원에 기재된 다수의 아미노산 변형, 예를 들어 1종 이상의 Fc 이펙터 기능 (예를 들어, 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC), 항체 의존성 세포성 식세포작용 (ADCP), 보체 의존성 세포독성 (CDC) 및 1종 이상의 인간 Fc 수용체 (예를 들어, Fc γ 수용체 (예를 들어, Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa 및/또는 Fc γ RIIIb (예를 들어, Fc γ RI, Fc γ IIa 및/또는 Fc γ IIIa)))에 대한 결합 친화도를 감소시키거나 제거하는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, § 5.3.2.1 참조); 및 제1 및 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, § 5.3.2.2 참조)을 포함한다.

[0518] 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 Fc 영역은 각각 1종 이상의 Fc 이펙터 기능 (예를 들어, 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC), 항체 의존성 세포성 식세포작용 (ADCP), 보체 의존성 세포독성 (CDC) 및 1종 이상의 인간 Fc 수용체 (예를 들어, Fc γ 수용체 (예를 들어, Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa 및/또는 Fc γ RIIIb (예를 들어, Fc γ RI, Fc γ IIa 및/또는 Fc γ IIIa)))에 대한 결합 친화도를 감소시키거나 제거하는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, § 5.3.2.1 참조); 및 제1 및 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 1개 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, § 5.3.2.2 참조)을 포함한다.

[0519] 예시적인 변형된 Fc 영역의 아미노산 서열이 표 16에 제공된다.

[0520]

표 16. 예시적인 변형된 Fc 영역의 아미노산 서열

설명	아미노산 서열	SEQ ID NO
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 존재	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	205
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	206
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 존재	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	207
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	208
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 존재	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	209
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	210

[0521]

hlgG1 CH1+ 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 존재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	211
hlgG1 CH1 + 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG	212
hlgG1 CH2 영역 + CH3 영역 홉 T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 존재	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPGK	213
hlgG1 CH2 영역 + CH3 영역 홉 T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPG	214
hlgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홉 T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 존재	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPGK	215
hlgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홉 T366S/L368A/Y407V/Y 349C	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPG	216

[0522]

L234A/L235A/P329A		
C-말단 리신 부재		
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	217
C-말단 리신 존재		
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	218
C-말단 리신 부재		
hIgG1 CH1+ 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	219
C-말단 리신 존재		
hIgG1 CH1 + 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 L234A/L235A/P329A 홀 T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	220
C-말단 리신 부재		
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	221
C-말단 리신 존재		

[0523]

hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	222
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 존재	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	223
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	224
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 존재	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	225
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	226
hIgG1 CH1+ 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 존재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	227
hIgG1 CH1 + 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 노브 T366W/S354C L234A/L235A/P329A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPI	228

[0524]

C-말단 리신 부재	EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	229
C-말단 리신 존재		
hIgG1 CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG	230
C-말단 리신 부재		
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	231
C-말단 리신 존재		
hIgG1 부분 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	232
C-말단 리신 부재		
hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 홀 T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	233
C-말단 리신 존재		

[0525]

hIgG1 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 호 T366S/L368A/Y407V/Y349C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPFSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	234
hIgG1 CH1+ 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 호 T366S/L368A/Y407V/Y349C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 존재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPFSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	235
hIgG1 CH1 + 힌지 영역 + CH2 영역 + CH3 영역 호 T366S/L368A/Y407V/Y349C L234A/L235A/P329A C-말단 리신 부재	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPFSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	236

[0526]

[0527]

일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산 잔기, 위치 S354에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 알라닌 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 205-212 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산 및 위치 Y407에 발린 아미노산, 위치 Y349에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 알라닌 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 213-220 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0528]

일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산, 위치 S354에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 알라닌 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 221-228 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산, 위치 Y407에 발린 아미노산 및 위치 Y349에 시스테인 아미노산, 위치 Y349에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 알라닌 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 229-236 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0529]

일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산, 위치 S354에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 알라닌 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 205에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산 및 위치 Y407에 발린 아미노산, 위치 Y349에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 알라닌 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 213에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0530]

일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산, 위치 S354에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔

- [0541] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산, 위치 S354에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 글리신 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 225에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산, 위치 Y407에 발린 아미노산 및 위치 Y349에 시스테인 아미노산, 위치 Y349에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 글리신 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 233에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0542] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산, 위치 S354에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 글리신 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 226에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산, 위치 Y407에 발린 아미노산 및 위치 Y349에 시스테인 아미노산, 위치 Y349에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 글리신 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 234에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0543] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산, 위치 S354에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 글리신 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 227에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산, 위치 Y407에 발린 아미노산 및 위치 Y349에 시스테인 아미노산, 위치 Y349에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 G 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 235에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0544] 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 트립토판 아미노산, 위치 S354에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 글리신 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 228에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; 제2 Fc 영역의 아미노산 서열은 카바트에 따른 EU 넘버링 시, 위치 T366에 세린 아미노산, 위치 L368에 알라닌 아미노산, 위치 Y407에 발린 아미노산 및 위치 Y349에 시스테인 아미노산, 위치 Y349에 시스테인 아미노산 잔기, 위치 L234에 알라닌 아미노산 잔기, 위치 L235에 알라닌 아미노산 잔기 및 위치 P329에 글리신 아미노산 잔기를 포함하고, 서열식별번호: 236에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.
- [0545] **5.3.3 항체 융합 단백질**
- [0546] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인) (예를 들어, 전장 항체)를 포함한다. 융합 단백질의 항체 성분은 hIL-12 단백질 또는 폴리펩티드를, 예를 들어 특이적 세포 표면 단백질을 발현하는 명시된 세포 유형에 추가로 표적화하는 작용을 할 수 있다. 예시적인 항체는 전장 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인), scFv, (scFv)₂, Fab, 단일 도메인 항체 (예를 들어, VHH), scFv-Fc, Fab-Fc, 단일 도메인 항체-Fc (예를 들어, VHH-Fc), 이중-친화성 재표적화 항체 (DART), 미니마디 및 디아바디를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0547] 항체는 본원, 예를 들어 § 5.3.2에 기재된 임의의 Ig 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 § 5.3.2에 기재된 1개 이상의 Ig 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 § 5.3.2에 기재된 1개 이상의 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 § 5.3.2에 기재된 1개 이상의 Ig 영역을 포함하는 전장 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 § 5.3.2에 기재된 1개 이상의 Fc 영역을 포함하는 전장 항체이다.

[0548]

일부 실시양태에서, 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)는 인간 종양 연관 항원 (hTAA)에 특이적으로 결합한다. 예시적인 인간 종양 연관 항원은 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다: 탄산 안히드라제 IX (CAIX), 섬유모세포 활성화 단백질 (FAP), 메소텔린 (MSLN), 테나신-C의 A1 도메인 (TNC A1), 테나신-C의 A2 도메인 (TNC A2), 피브로넥틴의 엑스트라 도메인 B (EDB), 흑색종-연관 콘드로이틴 술페이트 프로테오글리칸 (MCSP), MART-1/멜란-A, gp100, 디펩티딜 펩티다제 IV (DPPIV), 아데노신 데아미나제-결합 단백질 (ADAbp), 시클로필린 b, 결합조직 연관 항원 (CRC)-C017-1A/GA733, 암배아성 항원 (CEA), ETV6, AML1, 전립선 특이적 항원 (PSA), 전립선-특이적 막 항원 (PSMA), 종양 항원의 MAGE-패밀리 (예를 들어, MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A5, MAGE-A6, MAGE-A7, MAGE-A8, MAGE-A9, MAGE-A10, MAGE-A11, MAGE-A12, MAGE-Xp2 (MAGE-B2), MAGE-Xp3 (MAGE-B3), MAGE-Xp4 (MAGE-B4), MAGE-C1, MAGE-C2, MAGE-C3, MAGE-C4, MAGE-C5), 종양 항원의 GAGE-패밀리 (예를 들어, GAGE-1, GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7, GAGE-8, GAGE-9), BAGE, RAGE, LAGE-1, NAG, GnT-V, MUM-1, CDK4, 티로시나제, p53, MUC 패밀리, p21ras, RCAS1, α-태아단백질, E-카드헤린, α-카테닌, β-카테닌 및 γ-카테닌, p120ctn, gp100 Pmel117, PRAME, NY-ESO-1, cdc27, 선종성 결장 폴립증 단백질 (APC), 포드린, 코백신 37, Ig-이디오타입, p15, gp75, GM2 및 GD2 강글리오시드, 바이러스 생성물, 예컨대 인간 유두종 바이러스 단백질, 종양 항원의 Smad 패밀리, Imp-1, P1A, EBV-코딩된 핵 항원 (EBNA)-1, 뇌 글리코겐 포스포릴라제, SSX-1, SSX-2 (HOM-MEL-40), SSX-1, SSX-4, SSX-5, SCP-1 및 CT-7, c-erbB-2, Her2, EGFR, IGF-1R, CD23, CD30, CD33, CD40, IL-6R, MCSP, PDGFβR, EpCAM, EGFR 변이체 III, CD19, 디시알로강글리오시드 GD2, 관-상피 뮤신, gp36, TAG-72, 신경교종-연관 항원, β-인간 융모성 고나도트로핀, 알파태아단백질 (AFP), 렉틴-반응성 AFP, 티로글로불린, MN-CAIX, 인간 텔로머라제 리버스 트랜스크립타제, RU1, RU2, 장 카르복실 에스테라제, mut hsp70-2, M-CSF, LAGA-1a, p53, 프로스테인, 전립선-암종 종양 항원-1 (PCTA-1), ELF2M, 호중구 엘라스타제, 에프린 B2, 인슐린 성장 인자 (IGF1)-I, IGF-II, IGF1 수용체, 5T4, ROR1, Nkp30, NKG2D, 막 관통 4-도메인 A1 (MS4A1; CD20); CD22 (SIGLEC2); CD27 (TNFRSF7); TNFRSF8 (CD30); CD33 (SIGLEC3); CD37; CD38; CD40 (TNFRSF5), CD44; CD47; CD48 (SLAMF2); CD52; CD70 (TNFSF7; CD27L); 5'-뉴클레오티다제 엑토 (NT5E; CD73), 엑토뉴클레오시드 트리포스페이트 디포스포히드롤라제 1 (CD39), CD74; CD79B; CD80; CD86; 인터류킨 3 수용체 서브유닛 알파 (IL3RA), 프로미닌 1 (PROM1; CD133); TNFRSF9 (CD137); 신데칸 1 (SDC1; CD138); CD200 분자 (CD200); 알파 태아단백질 (AFP), BAG 코카페론 6 (BAG6); MET 원종양유전자, 수용체 티로신 키나제 (MET); KIT 원종양유전자, 수용체 티로신 키나제 (KIT); C-유형 렉틴 도메인 패밀리 12 구성원 A (CLEC12A; CD371); C-유형 렉틴 도메인 함유 9A (CLEC9A; CD370); 카드헤린 3 (CDH3); 탄산 안히드라제 6 (CA6); 탄산 안히드라제 9 (CA9); 암배아성 항원 관련 세포 부착 분자 3 (CEACAM3); 암배아성 항원 관련 세포 부착 분자 5 (CEACAM5); 암배아성 항원 관련 세포 부착 분자 6 (CEACAM6); 융모성 소마토마모트로핀 호르몬 1 (CSH1); 응고 인자 III, 조직 인자 (F3); 콜렉틴 서브패밀리 구성원 10 (COLEC10; CLL1); 델타 유사 정규 Notch 리간드 3 (DLL3); 엑토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 3 (ENPP3); 에프린 A1 (EFNA1); 표피 성장 인자 수용체 (EGFR; ERBB; HER1); EGFR 변이체 III (EGFRvIII); EPH 수용체 A2 (EPHA2); 상피 세포 부착 분자 (EPCAM); erb-b2 수용체 티로신 키나제 2 (ERBB2; HER-2/neu); 섬유모세포 성장 인자 수용체 2 (FGFR2); 섬유모세포 성장 인자 수용체 3 (FGFR3); 폴레이트 히드롤라제 1 (FOLH1); 폴레이트 수용체 1 (FOLR1); GD2 강글리오시드; 당단백질 NMB (GPNMB; 오스테오엑티빈); 구아닐레이트 시클라제 2C (GUCY2C); 인간 유두종바이러스 (HPV) E6; HPV E7; 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 부류 I-제시된 신생항원, 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 부류 II-제시된 신생항원, 주요 조직적합성 복합체, 부류 I, E (HLA-E); 주요 조직적합성 복합체, 부류 I, F (HLA-F); 주요 조직적합성 복합체, 부류 I, G (HLA-G); MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 A (MICA); MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 B (MICB); 인테그린 서브유닛 베타 7 (ITGB7); 백혈구 이뮤노글로불린 유사 수용체 B1 (LILRB1; ILT2); 백혈구 이뮤노글로불린 유사 수용체 B2 (LILRB2; ILT4); LY6/PLAUR 도메인 함유 3 (LYPD3); 글리피칸 3 (GPC3); KRAS 원종양유전자, GTPase (KRAS); 뮤신 1 (MUC1) 및 그의 스플라이스 변이체 (예를 들어, MUC1/A, C, D, X, Y, Z 및 REP 포함); 뮤신 16 (MUC16; CA125); 자연 킬러 세포 세포독성 수용체 3 리간드 1 (NCR3LG1; B7-H6); 넥틴, MAGE 패밀리 구성원 (NDN); 넥틴 세포 부착 분자 2 (NECTIN2); 넥틴 세포 부착 분자 4 (NECTIN4); SLIT 및 NTRK 유사 패밀리 구성원 6 (SLITRK6); 전골수구성 백혈병 (PML); 단백질 티로신 키나제 7 (불활성) (PTK7); 폴리오바이러스 수용체 (PVR) 세포 부착 분자 (PVR); SLAM 패밀리 구성원 6 (SLAMF6); SLAM 패밀리 구성원 7 (SLAMF7); 시알산 결합 Ig 유사 렉틴 7 (SIGLEC7); 시알산 결합 Ig 유사 렉틴 9 (SIGLEC9); 시알산 결합 Ig 유사 렉틴 10 (SIGLEC10); 신호 조절 단백질 알파 (SIRPA) 용질 담체 패밀리 34 (인산나트륨), 구성원 2 (SLC34A2); 용질 담체 패밀리 39 구성원 6 (SLC39A6); STEAP 패밀리 구성원 1 (STEAP1); 종양발생 억제제 2 (ST2); TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 4 (TNFRSF4; OX40); TNF 슈퍼패밀리 구성원 9 (TNFSF9; 4-1BB-L, CD137L); TNFRSF10A (DR4, TRAILR1); TNFRSF10B (DR5, TRAILR2); TNFRSF13B (BAFF); TNFRSF17 (BCMA); TNFRSF18 (GITR); 트랜스페린 (TF); 형질전환 성장 인자 베타 1 (TGFB1) 및 그의 이소형; 골

수 세포 상에 발현된 촉발 수용체 1 (TREM1); 골수 세포 상에 발현된 촉발 수용체 2 (TREM2); 영양막 당단백질 (TPBG); 트로피닌 (TRO); 중양 연관 칼슘 신호 전달자 2 (TACSTD2); 푸코실 GM1; 시알릴 루이스 부착 분자 (sLe); 및 루이스 Y 항원.

[0549] 일부 실시양태에서, 항체 (또는 그의 항원 결합 도메인)는 hCAIX에 특이적으로 결합한다. CDR, 가변 중쇄 영역, 가변 경쇄 영역, 중쇄 및 경쇄를 포함한 예시적인 항-CAIX 항체가 본원에 기재되며, 예를 들어 § 5.3.3.1, 표 2, 3 및 17을 참조한다. 일부 실시양태에서, 항-CAIX 항원 결합 도메인은 본원에 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 사용된 항-CAIX 항원 결합 도메인은 § 5.3.3.1, 표 2, 3 및 17에 기재된 것이다.

[0550] 5.3.3.1 CAIX 결합 도메인

[0551] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 융합 단백질은 본원에서 hCAIX 결합 도메인 또는 항-CAIX 도메인으로도 또한 지칭되는, CAIX에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, hCAIX 결합 도메인은 Fab, Fab', F(ab')₂, F(v), scFv, (scFv)₂, scFv-Fc, (scFv)₂-Fc, 단일 도메인 항체 (sdAb), VHH, (VHH)₂, VHH-Fc 또는 (VHH)₂-Fc를 포함한다. 일부 실시양태에서, hCAIX 결합 도메인은 전장 항체의 일부이다. 일부 실시양태에서, hCAIX 결합 도메인은 Ig Fc 융합체의 일부이다 (예를 들어, § 5.3.2 참조). 일부 실시양태에서, hCAIX 결합 도메인은 비-항체 항원 결합 분자, 예를 들어 항원 결합 도메인, 예컨대, 예를 들어 재조합 피브로넥틴 도메인으로서 기능하는 것으로 관련 기술분야에 공지된 대안적 스캐폴드이다.

[0552] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 hCAIX에 대해 1가이다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 hCAIX에 대해 2가이다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 hCAIX에 대해 3가이다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 단일 hCAIX 에피토프에 대해 단일특이적이다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 이중특이적이다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 이중특이적이며, 여기서 융합 단백질 또는 폴리펩티드는 제1 hCAIX 에피토프 및 제2 hCAIX 에피토프에 특이적으로 결합하고, 여기서 제1 및 제2 에피토프는 상이하다. 일부 실시양태에서, 항체는 CAIX (예를 들어, 서열식별번호: 1의 아미노산 1-193)의 세포외 도메인의 에피토프에 결합한다.

[0553] hCAIX에 특이적으로 결합하는 항체는 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, WO2021000017A1, WO2020226612A1, WO2019204939A1, WO2018234463A1, WO2018157147A1, WO2016199097A1, US20180030147A1, WO2016100980A1, WO2014096163A1, WO2012027493A1, WO2011139375A1, WO2011032973A1, WO2008091798A1, WO2008103327A2, WO2007065027, WO2004002526A1, WO2003100029A2, US20090162382A1, US20050031623A1, US20080176258A1, WO2003048328A2, WO2002063010A2, 문헌 [Chang, DK et al. Human anti-CAIX antibodies mediate immune cell inhibition of renal cell carcinoma in vitro and in a humanized mouse model in vitro, Mol Cancer 14, 119 (2015); Ahlskog, J et al. Human monoclonal antibodies targeting carbonic anhydrase IX for the molecular imaging of hypoxic regions in solid tumours. Br J Cancer 101, 645-657 (2009); Oosterwijk-Wakka JC, Boerman OC, Mulders PF, Oosterwijk E. Application of monoclonal antibody G250 recognizing carbonic anhydrase IX in renal cell carcinoma. Int J Mol Sci. 2013;14(6):11402-11423; De Luca R et al. (2019) A Novel Fully-Human Potency-Matched Dual Cytokine-Antibody Fusion Protein Targets Carbonic Anhydrase IX in Renal Cell Carcinomas. Front. Oncol. 9:1228; Heike M. Petrul et al. Therapeutic Mechanism and Efficacy of the Antibody-Drug Conjugate BAY 79-4620 Targeting Human Carbonic Anhydrase 9, Mol Cancer Ther; 11(2); 340-9 (2011)]을 참조하며, 이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다.

[0554] 일부 실시양태에서, 항-CAIX 항체는 기렌톡시맵이다. 기렌톡시맵은, 예를 들어 WO2002063010A2에 기재되어 있으며, 이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, CAIX 결합 도메인은 기렌톡시맵과 동일한 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 기렌톡시맵의 인간화 버전이다. 일부 실시양태에서, TCRV α 결합 도메인은 기렌톡시맵의 키메라 버전이다.

[0555] 기렌톡시맵을 포함하는 예시적인 류린 항-CAIX 항체의 아미노산 서열이 표 17에 제공된다. CDR은 카바트에 따라 정의된다.

[0556] 표 17. 예시적인 항-CAIX 결합 도메인의 아미노산 서열

설명	영역	아미노산 서열	SEQ ID NO
A	VH CDR1	NYYSMS	237
	VH CDR2	AINSDGGITYYLDTVKG	238
	VH CDR3	HRSGYFSMDY	239
	VL CDR1	KASQNVVSAVA	240
	VL CDR2	SASNRYT	241
	VL CDR3	QQYSNYPWT	242
	VH	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAP EKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQ MNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSS	7
	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPG QSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSED FAAYYCQQYSNYPWTFGGGKVEIK	12
	HC (C-말단 리신 존재)	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAP EKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQ MNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	243
	HC (C-말단 리신 부재)	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAP EKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQ MNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	244
	LC	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPG QSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSED FAAYYCQQYSNYPWTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	245
B (기렌톡시맵)	VH CDR1	NYYSMS	237
	VH CDR2	AINSDGGITYYLDTVKG	238
	VH CDR3	HRSGYFSMDY	239
	VL CDR1	KASQNVVSAVA	240
	VL CDR2	SASNRYT	241
	VL CDR3	QQYSNYPWT	242

[0557]

	VH	DVKLVESGGGLVKLGGSLLKSCAASGFTFSNYMSWVRQTP EKRLLEVAAINSDDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANTLYLQ MSSLKSEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGSTSVTVSS	246
	VL	DIVMTQSQRFMSTTVGDRVSITCKASQNVVSAVAWYQQKPG QSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNMQSED LADFFCQQSYNPWTFGGGTKLEIKR	247
	HC	DVKLVESGGGLVKLGGSLLKSCAASGFTFSNYMSWVRQTP EKRLLEVAAINSDDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANTLYLQ MSSLKSEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGSTSVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTCPAPPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	248
	LC	DIVMTQSQRFMSTTVGDRVSITCKASQNVVSAVAWYQQKPG QSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNMQSED LADFFCQQSYNPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	249
C	VH CDR1	SHGMA	250
	VH CDR2	GISNTGRYTNYSAGVKG	251
	VH CDR3	AAVNCVYGCPSIDA	252
	VL CDR1	SGSSGSYG	253
	VL CDR2	YNDKRPS	254
	VL CDR3	GSADRSAGI	255
	VH	AVTLDEPGGLQTPGGTSLVCKASGFDISSHMAWVRQAP GKGLEYVAGISNTGRYTNYSAGVKGGRATISRDNQSTVRLQ LNDLRAEDAGTYFCARAAVNCVYGCPSIDAWGLGTEV IVSS	256
	VL	ALTQPSSVSANLGETVEITCSGSSGSYGWYQQKSPGSAVPT VIYYNDKRPSDIPSRFSGSKSGSTGTLTITGVQAEDEAVYY CGSADRSAGIFGAGTTTLTVL	257
D	VH CDR1	GFTFTSCYIH	258
	VH CDR2	WIYPGNGNTKYNEIFKGR	259
	VH CDR3	GDTTANTMDY	260
	VL CDR1	RASGNIHNYLA	261
	VL CDR2	NTITLAD	262
	VL CDR3	QHFHWIPFT	263
	VH	QVQLQQSGPELVKPGASVRI SCKASGFTFTSCYIHWMKQRP GQGLEWIGWIYPGNGNTKYNEIFKGRATLTIDKSSSTAYMQ LSSLTSEDSAVYFCARGDTTANTMDYWGQGSTSVTVS	264
	VL	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQG KSPQLLVYNTITLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSIQPED FGSYYCQHFHWIPFTFGAGTKLELK	265
	HC	QVQLQQSGPELVKPGASVRI SCKASGFTFTSCYIHWMKQRP GQGLEWIGWIYPGNGNTKYNEIFKGRATLTIDKSSSTAYMQ	266

[0558]

		LSSLTSEDSAVYFCARGDTTANTMDYWGQTSVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
	LC	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQG KSPQLLVYNTITLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSIQPED FGSYCQHFWNIPFTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	267
E	VH CDR1	GFTFNTYAMY	268
	VH CDR2	RIRSKSNYYAIYYADSVKD	269
	VH CDR3	GWDWFAY	270
	VL CDR1	RSSQSLVHSNGNTYLH	271
	VL CDR2	KVSNRFS	272
	VL CDR3	SQNTHPPT	273
	VH	EVQLVESGGRLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMYWIRQAP GKGLEWVARIRSKSNYYAIYYADSVKDRFTISRDDSQSMY LQMNLLKTEDTAMYCVRGWDFAYWGQGPVTVSA	274
	VL	DVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWY LQKPGQSPKLLIYKVSNNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVYFCSQNTHPPTFGGGTKLEIK	275
	HC	EVQLVESGGRLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMYWIRQAP GKGLEWVARIRSKSNYYAIYYADSVKDRFTISRDDSQSMY LQMNLLKTEDTAMYCVRGWDFAYWGQGPVTVSAASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN KPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	276
	LC	DVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWY LQKPGQSPKLLIYKVSNNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVYFCSQNTHPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	277
F	VH CDR1	GYTFTNYGMN	278
	VH CDR2	WINTYTGEPTYADDFKG	279
	VH CDR3	GGIATPTSY	280
	VL CDR1	KSSQSLDSDGKTYLN	281
	VL CDR2	LVSKLDS	282
	VL CDR3	CQGTFFPW	283

	VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVQQAP GKGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQ INNLLKNEEDMATYFCARGGIATPTSYWGQGTTLTVSS	284
	VL	DVMTQTPLTSLVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWL LQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVDPDRFTGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVYCCQGTFFPWTFGGGTKEIK	285
	HC	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVQQAP GKGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQ INNLLKNEEDMATYFCARGGIATPTSYWGQGTTLTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN KPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	286
	LC	DVMTQTPLTSLVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWL LQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVDPDRFTGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVYCCQGTFFPWTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	287

일부 실시양태에서, hCAIX 결합 도메인은 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 VH를 포함한다. 일부 실시

어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 273의 아미노산 서열을 포함한다.

[0567] 일부 실시양태에서, VH CDR1의 아미노산 서열은 서열식별번호: 278의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 278의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR2의 아미노산 서열은 서열식별번호: 279의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 279의 아미노산 서열을 포함하고; VH CDR3의 아미노산 서열은 서열식별번호: 280의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 280의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR1의 아미노산 서열은 서열식별번호: 281의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 281의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR2의 아미노산 서열은 서열식별번호: 282의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 282의 아미노산 서열을 포함하고; VL CDR3의 아미노산 서열은 서열식별번호: 283의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가 등)을 갖는 서열식별번호: 283의 아미노산 서열을 포함한다.

[0568] 일부 실시양태에서, hCAIX 결합 도메인은 VH 및 VL을 포함한다.

[0569] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 표 17에 제시된 임의의 VH 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열은 표 17에 제시된 임의의 VL 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0570] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7, 246, 256, 264, 274 또는 284 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0571] 일부 실시양태에서, VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12, 247, 257, 265, 275 또는 285 중 어느 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0572] 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0573] 일부 실시양태에서, 항-CAIX 항체는 서열식별번호: 246의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 247의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0574] 일부 실시양태에서, 항-CAIX 항체는 서열식별번호: 256의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 257의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0575] 일부 실시양태에서, 항-CAIX 항체는 서열식별번호: 264의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 265의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0576] 일부 실시양태에서, 항-CAIX 항체는 서열식별번호: 274의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 275의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0577] 일부 실시양태에서, 항-CAIX 항체는 서열식별번호: 284의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%,

94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열식별번호: 285의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0578] 일부 실시양태에서, hCAIX 결합 도메인은 본원에 기재된 인간화 항-CAIX 항체의 VH, VL 또는 VH 및 VL을 포함한다 (예를 들어, § 5.1.1 및 표 2 참조). § 5.1.1의 전체 내용은 본 § 5.3.3.1에 참조로 포함된다.

[0579] 예를 들어, 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0580] 예를 들어, 일부 실시양태에서, VH의 아미노산 서열은 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하고; VL의 아미노산 서열은 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0581] 5.3.4 링커

[0582] 본원에 기재된 융합 단백질의 성분은 (예를 들어, 펩티드 결합을 통해) 직접적으로 작동가능하게 연결되거나 또는 (예를 들어, 펩티드 링커를 통해) 간접적으로 작동가능하게 연결될 수 있다 (예를 들어, hIL-12는 전장에 직접적으로 또는 간접적으로 작동가능하게 연결될 수 있음). 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 융합 단백질의 성분 (예를 들어, hIL-12 (또는 그의 서브유닛) 및 항체 (예를 들어, 전장 항체))은 펩티드 결합을 통해 직접적으로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 융합 단백질의 성분 (예를 들어, hIL-12 (또는 그의 서브유닛) 및 항체 (예를 들어, 전장 항체))은 펩티드 링커를 통해 간접적으로 작동가능하게 연결된다.

[0583] 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 가요성 링커, 강성 링커, 나선형 링커 및/또는 비-나선형 링커 중 하나 또는 그의 임의의 조합이다.

[0584] 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 정확히 또는 약 2-30, 5-30, 10-30, 15-30, 20-30, 25-30, 2-25, 5-25, 10-25, 15-25, 20-25, 2-20, 5-20, 10-20, 15-20, 2-15, 5-15, 10-15, 2-10 또는 5-10개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커는 적어도 약 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 또는 30개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 약 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 또는 30개의 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 링커는 약 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 또는 30개 이하의 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0585] 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 글리신, 세린 또는 글리신 및 세린 아미노산 잔기 둘 다를 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 글리신, 세린 및 프롤린 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0586] 일부 실시양태에서, 링커는 코일 도메인을 포함하며, 예를 들어 US9284375 (이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨)를 참조한다. 일부 실시양태에서, 코일 도메인은 US9284375에 개시된 것들로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 코일 도메인은 E-코일 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, E-코일 도메인은 서열식별번호: 302의 아미노산 서열, 또는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 포함하는 서열식별번호: 302의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 코일 도메인은 K-코일 도메인이다. 일부 실시양태에서, K-코일 도메인은 서열식별번호: 303의 아미노산 서열을 포함하고, 서열식별번호: 303의 아미노산 서열은 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 포함한다.

[0587] 본원에 기재된 실시양태 (예를 들어, 융합 단백질 및 폴리펩티드) 중 하나 이상에 혼입될 수 있는 예시적인 펩티드 링커 및 코일 도메인의 아미노산 서열이 표 18에 제공된다.

[0588]

표 18. 예시적인 펩티드 링커의 아미노산 서열

설명	아미노산 서열	SEQ ID NO
링커 A	GGGS	66
링커 B	GGSGGGS	67
링커 C	GGSGGSGGGS	68
링커 D	GGSGGSGGSGGGS	69
링커 E	GGGGS	70
링커 F	GGGSGGGS	71
링커 G	GGGSGGSGGGS	72
링커 H	GGGSGGSGGSGGGS	73
링커 I	GGGGGS	74
링커 J	GGGGSGGSGGGS	75
링커 K	GGGGSGGSGGSGGSGGGS	76
링커 L	GGGGSGGSGGSGGSGGSGGGS	77
링커 M	SGGGG	78
링커 N	SGGGSGGGG	79
링커 O	SGGGSGGGSGGGG	80
링커 P	SGGGSGGGSGGGSGGGG	81
링커 EE	GGGGGS	369
링커 Q	LKGKKG	288
링커 R	LKGKKG	289
링커 S	LQVYYRM	290
링커 T	LQVYYRMC	291
링커 U	VEPKSCGGGS	292
링커 V	VQVHYRM	293
링커 W	YLYLRARV	294
링커 X	FNRGECGGGS	295
링커 Y	LEGEEG	296
링커 Z	LEGEEGC	297
링커 AA	LGEEG	298
링커 BB	LGEEGC	299
링커 CC	LGKKG	300
링커 DD	LGKKGC	301
“E-코일” 양으로 하전됨	EVAALEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK	302
“K-코일” 음으로 하전됨	KVAALKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE	303

[0589]

[0590]

일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 18에 제시된 링커 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 18에 제시된 링커 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 1개 이상이지만 15% 미만 (12% 미만, 10% 미만, 8% 미만)인 아미노산 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가)을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 포함하는, 표 18에 제시된 링커 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 표 18에 제시된 링커 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 1개 이상이지만 15% 미만 (12% 미만, 10% 미만, 8% 미만)인 아미노산 치환을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환을 포함하는, 표 18에 제시된 링커 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0591]

일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81 또는 288-303 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81 또는 288-303 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 1개 이상이지만 15% 미만 (12% 미만, 10% 미만, 8% 미만)인 아미노산 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가)을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 결실, 부가)을 포함하는 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어지고, 1개 이상이지만 15% 미만 (12% 미만, 10% 미만, 8% 미만)인 아미노산 치환을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0592]

일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로

이루어지고, 1개 이상이지만 15% 미만 (12% 미만, 10% 미만, 8% 미만)인 아미노산 치환을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형 (예를 들어, 치환, 부가, 결실)을 포함하는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커의 아미노산 서열은 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.

[0593] 5.3.5 구조 및 배향

[0594] 본원에 기재된 융합 단백질의 성분은 융합 단백질 또는 폴리펩티드의 각각의 성분이 그의 기능을 매개하는 능력을 유지하는 한 임의의 구성 또는 순서로 배열될 수 있다. 예를 들어, hIL-12 단백질은 hIL-12R에 결합하는 능력을 유지할 것이다. 예를 들어, 융합 단백질이 항체 (예를 들어, 항-hCAIX 항체)를 포함하는 실시양태에서, 항체는 그의 동족 항원 (예를 들어, hCAIX)에 결합하는 능력을 유지할 것이다.

[0595] 5.3.6 예시적인 구조 및 배향

[0596] 5.3.6.1 예시적인 전장 항체 융합 단백질

[0597] 일부 실시양태에서, 이중 모이어티는 (i) N-말단에서 C-말단으로 경쇄 가변 영역 (VL) 영역 및 경쇄 불변 영역 (CL) 영역을 포함하는 제1 Ig 경쇄; (ii) N-말단에서 C-말단으로 중쇄 가변 영역 (VH) 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제1 Ig 중쇄; (iii) N-말단에서 C-말단으로 VH 영역, CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 제2 Ig 중쇄; (iv) N-말단에서 C-말단으로 VL 영역 및 VH 영역을 포함하는 제2 Ig 경쇄를 포함하는 전장 항체 (예를 들어, 항-hCAIX 전장 항체)이며; 여기서 상기 제1 경쇄 및 상기 제1 중쇄는 회합하여 제1 항원 결합 도메인을 형성하고; 여기서 상기 제2 경쇄 및 상기 제2 중쇄는 회합하여 제2 항원 결합 도메인을 형성하고; 여기서 상기 제1 중쇄 및 상기 제2 중쇄는 회합하여 이량체를 형성한다.

[0598] 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단은 전장 항체의 제1 Ig 중쇄의 CH3 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되고, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단은 전장 항체의 제2 Ig 중쇄의 CH3 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된다 (예를 들어, 도 1 참조). 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단은 펩티드 결합을 통해 전장 항체의 제1 Ig 중쇄의 CH3 영역의 C-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결되고, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단은 펩티드 결합을 통해 전장 항체의 제2 Ig 중쇄의 CH3 영역의 C-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단은 펩티드 링커를 통해 전장 항체의 제1 Ig 중쇄의 CH3 영역의 C-말단에 간접적으로 작동가능하게 연결되고, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단은 펩티드 링커를 통해 전장 항체의 제2 Ig 중쇄의 CH3 영역의 C-말단에 간접적으로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, (a) 전장 항체의 제1 Ig 중쇄의 CH3 영역의 C-말단은 펩티드 링커의 N-말단에 작동가능하게 연결되고, 펩티드 링커의 C-말단은 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결되고; (b) 전장 항체의 제2 Ig 중쇄의 CH3 영역의 C-말단은 펩티드 링커의 N-말단에 작동가능하게 연결되고, 펩티드 링커의 C-말단은 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된다. 예시적인 펩티드 링커는 본원에 기재되어 있으며, 예를 들어 § 5.3.4, 표 18, 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369를 참조한다.

[0599] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 a) N-말단에서 C-말단으로 제1 경쇄 가변 영역 (VL) 및 제1 경쇄 불변 영역 (CL)을 포함하는 제1 폴리펩티드; N-말단에서 C-말단으로 제1 중쇄 가변 영역 (VH), 제1 중쇄 불변 영역 (CH), 임의적인 펩티드 링커 (예를 들어, 본원에 기재된 펩티드 링커) 및 hIL-12p35를 포함하는 제2 폴리펩티드; N-말단에서 C-말단으로 제2 VH, 제2 CH, 임의적인 펩티드 링커 (예를 들어, 본원에 기재된 펩티드 링커) 및 hIL-12p40을 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단으로 제2 VL 및 제2 CL을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함하는 전장 항체 (예를 들어, 항-hCAIX 전장 항체)를 포함하며; 여기서 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 회합하여 제1 항원 결합 도메인 (예를 들어, hCAIX에 특이적으로 결합함)을 형성하고, 제3 폴리펩티드 및 제4 폴리펩티드는 회합하여 hCAIX에 특이적으로 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 형성한다. 일부 실시양태에서, 제1 CH 영역은 N-말단에서 C-말단으로 CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 CH 영역은 N-말단에서 C-말단으로 CH1 영역, 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제3 폴리펩티드 및 제4 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 중쇄 및 제2 중쇄는 각각 제1 중쇄와 제2 중쇄의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형을

포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 중쇄의 CH3 도메인 및 제2 중쇄의 CH3 도메인은 각각 제1 중쇄와 제2 중쇄의 이중이량체화를 촉진하는 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함한다.

[0600]

일부 실시양태에서, hIL-12 단백질은 schIL-12 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 schIL-12 단백질)이며, 여기서 전장 항체의 제1 또는 제2 Ig 중쇄의 CH3 영역의 C-말단은 hscIL-12 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질은 schIL-12 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 schIL-12 단백질)이며, 여기서 전장 항체의 제1 또는 제2 Ig 중쇄의 CH3 영역의 C-말단은 펩티드 결합을 통해 hscIL-12 폴리펩티드의 N-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결된다 (예를 들어, 도 2 참조). 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질은 schIL-12 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 schIL-12 단백질)이며, 여기서 전장 항체의 제1 또는 제2 Ig 중쇄의 CH3 영역의 C-말단은 펩티드 링커를 통해 hscIL-12 폴리펩티드의 N-말단에 간접적으로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질은 schIL-12 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 schIL-12 단백질)이며, 여기서 전장 항체의 제1 또는 제2 Ig 중쇄의 CH3 영역의 C-말단은 펩티드 링커의 N-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결되고, 펩티드 링커의 C-말단은 hscIL-12 폴리펩티드의 N-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결된다. 예시적인 펩티드 링커는 본원에 기재되어 있으며, 예를 들어 § 5.3.4, 표 18, 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369를 참조한다.

[0601]

일부 실시양태에서, 전장 항체 (예를 들어, 항-hCAIX 전장 항체)는 a) N-말단에서 C-말단으로 제1 경쇄 가변 영역 (VL) 및 제1 경쇄 불변 영역 (CL)을 포함하는 제1 폴리펩티드; N-말단에서 C-말단으로 제1 중쇄 가변 영역 (VH), 제1 중쇄 불변 영역 (CH) 및 scIL-12를 포함하는 제2 폴리펩티드; N-말단에서 C-말단으로 제2 VH 및 제2 CH를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단으로 제2 VL 및 제2 CL을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 CH 영역은 N-말단에서 C-말단으로 CH1 도메인, 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 CH 영역은 N-말단에서 C-말단으로 CH1 도메인, 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제3 폴리펩티드 및 제4 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 CH 및 제2 CH는 각각 제1 CH 및 제2 CH의 이중이량체화를 촉진하는 아미노산 변형을 포함한다.

[0602]

5.3.6.2 예시적인 Fc 융합 단백질

[0603]

일부 실시양태에서, 융합 단백질은 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역을 포함하며, 여기서 제1 및 제2 Fc 영역은 회합되어 이량체를 형성한다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단은 제1 Fc 영역의 CH3 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되고, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단은 제2 Fc 영역의 CH3 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단은 펩티드 결합을 통해 제1 Fc 영역의 CH3 영역의 C-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결되고, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단은 펩티드 결합을 통해 제2 Fc 영역의 CH3 영역의 C-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단은 펩티드 링커를 통해 제1 Fc 영역의 CH3 영역의 C-말단에 간접적으로 작동가능하게 연결되고, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단은 펩티드 링커를 통해 제2 Fc 영역의 CH3 영역의 C-말단에 간접적으로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, (a) 제1 Fc 영역의 CH3 영역의 C-말단은 펩티드 링커의 N-말단에 작동가능하게 연결되고, 펩티드 링커의 C-말단은 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결되고; (b) 제2 Fc 영역의 CH3 영역의 C-말단은 펩티드 링커의 N-말단에 작동가능하게 연결되고, 펩티드 링커의 C-말단은 hIL-12p35 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된다. 예시적인 펩티드 링커는 본원에 기재되어 있으며, 예를 들어 § 5.3.4, 표 18, 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369를 참조한다.

[0604]

일부 실시양태에서, hIL-12 단백질은 schIL-12 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 schIL-12 단백질)이며, 여기서 제1 또는 제2 Fc 영역의 CH3 영역의 C-말단은 hscIL-12 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질은 schIL-12 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 schIL-12 단백질)이며, 여기서 제1 또는 제2 Fc 영역의 CH3 영역의 C-말단은 펩티드 결합을 통해 hscIL-12 폴리펩티드의 N-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질은 schIL-12 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 schIL-12 단백질)이며, 여기서 제1 또는 제2 Fc 영역의 CH3 영역의 C-말단은 펩티드 링커를 통해 hscIL-12 폴리펩티드의 N-말단에 간접적으로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질은 schIL-12 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 schIL-12 단백질)이며, 여기서 제1 또는 제2 Fc 영역의 CH3 영역의 C-말단은 펩티드 링커의 N-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결되고, 펩티드 링커의 C-말단은 hscIL-12 폴리펩티드의 N-말단에

직접적으로 작동가능하게 연결된다. 예시적인 펩티드 링커는 본원에 기재되어 있으며, 예를 들어 § 5.3.4, 표 18, 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369를 참조한다.

[0605] 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 폴리펩티드의 C-말단은 제1 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결되고, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 폴리펩티드의 C-말단은 제2 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 폴리펩티드의 C-말단은 펩티드 결합을 통해 제1 Fc 영역의 N-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결되고, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 폴리펩티드의 C-말단은 펩티드 결합을 통해 제2 Fc 영역의 N-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질의 hIL-12p35 폴리펩티드의 C-말단은 펩티드 링커를 통해 제1 Fc 영역의 N-말단에 간접적으로 작동가능하게 연결되고, hIL-12 단백질의 hIL-12p40 폴리펩티드의 C-말단은 펩티드 링커를 통해 제2 Fc 영역의 N-말단에 간접적으로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, (a) 제1 Fc 영역의 N-말단은 펩티드 링커의 C-말단에 작동가능하게 연결되고, 펩티드 링커의 N-말단은 hIL-12p35 폴리펩티드의 C-말단에 작동가능하게 연결되고; (b) 제2 Fc 영역의 N-말단은 펩티드 링커의 C-말단에 작동가능하게 연결되고, 펩티드 링커의 N-말단은 hIL-12p35 폴리펩티드의 C-말단에 작동가능하게 연결된다. 예시적인 펩티드 링커는 본원에 기재되어 있으며, 예를 들어 § 5.3.4, 표 18, 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369를 참조한다.

[0606] 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질은 schIL-12 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 schIL-12 단백질)이며, 여기서 제1 또는 제2 Fc 영역의 N-말단은 hscIL-12 폴리펩티드의 C-말단에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질은 schIL-12 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 schIL-12 단백질)이며, 여기서 제1 또는 제2 Fc 영역의 N-말단은 펩티드 결합을 통해 hscIL-12 폴리펩티드의 C-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질은 schIL-12 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 schIL-12 단백질)이며, 여기서 제1 또는 제2 Fc 영역의 N-말단은 펩티드 링커를 통해 hscIL-12 폴리펩티드의 C-말단에 간접적으로 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, hIL-12 단백질은 schIL-12 단백질 (예를 들어, 본원에 기재된 schIL-12 단백질)이며, 여기서 제1 또는 제2 Fc 영역의 N-말단은 펩티드 링커의 C-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결되고, 펩티드 링커의 C-말단은 hscIL-12 폴리펩티드의 C-말단에 직접적으로 작동가능하게 연결된다. 예시적인 펩티드 링커는 본원에 기재되어 있으며, 예를 들어 § 5.3.4, 표 18, 서열식별번호: 66-81, 288-303 또는 369를 참조한다.

[0607] 5.3.6.3 예시적인 ScFv-Fc 융합 단백질

[0608] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 제1 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결된 제1 scFv; 및 제2 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결된 제2 scFv를 포함하며; 여기서 hIL-12p35는 제1 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되고; IL-12p40은 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된다. 예를 들어, 도 3을 참조한다.

[0609] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 N-말단에서 C-말단으로 제1 scFv, 제1 Fc 영역, 임의적인 제1 펩티드 링커 및 IL-12p35를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단으로 제2 scFv, 제2 Fc 영역, 임의적인 제2 펩티드 링커 및 IL-12p40을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 아미노산 변형을 포함한다.

[0610] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 N-말단에서 C-말단으로 제1 scFv, 제1 펩티드 링커, 제1 Fc 영역, 제2 펩티드 링커 및 IL-12p35를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단으로 제2 scFv, 제3 펩티드 링커, 제2 Fc 영역, 제4 펩티드 링커 및 IL-12p40을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 아미노산 변형을 포함한다.

[0611] 5.3.6.4 예시적인 Dart Fc 융합 단백질

[0612] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 제1 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결된 DART의 제1 폴리펩티드 (즉, DART의 제1 VH 및 VL을 포함하는 폴리펩티드); 및 제2 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결된 DART의 제2 폴리펩티드 (예를 들어, DART의 제2 VH 및 VL을 포함하는 폴리펩티드)를 포함하며; 여기서 hIL-12p35는 제1 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결되고; IL-12p40은 제2 Fc 영역의 C-말단에 작동가능하게 연결된다. 예를 들어, 도 6을 참조한다.

[0613] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 N-말단에서 C-말단으로 DART의 제1 VL 및 제1 VH, 제1 Fc 영역 및 IL-12p35를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단으로 DART의 제2 VL 및 제2 VH, 제2 Fc 영역 및 IL-

12p40을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하며; 여기서 제1 VL은 제2 VH와 회합하여 제1 항원 결합 도메인을 형성하고, 제2 VL은 제1 VH와 회합하여 제2 항원 결합 도메인을 형성한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 아미노산 변형을 포함한다.

[0614] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 N-말단에서 C-말단으로 DART의 제1 VH 및 제1 VL, 제1 Fc 영역 및 IL-12p35를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단으로 DART의 제2 VH 및 제2 VL, 제2 Fc 영역 및 IL-12p40을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하며; 여기서 제1 VL은 제2 VH와 회합하여 제1 항원 결합 도메인을 형성하고, 제2 VL은 제1 VH와 회합하여 제2 항원 결합 도메인을 형성한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 아미노산 변형을 포함한다.

[0615] 5.3.6.5 예시적인 탠덤 ScFv scIL-12 Fc 융합 단백질

[0616] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 탠덤으로 작동가능하게 연결되고, 추가로 제1 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결된 2개의 scFv 항원 결합 도메인; 및 제2 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결된 scIL-12를 포함한다. 예를 들어, 도 7을 참조한다.

[0617] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 N-말단에서 C-말단으로 제1 scFv, 제2 scFv 및 제1 Fc 영역을 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단으로 scIL-12, 임의적인 펩티드 링커 및 제2 Fc 영역을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 아미노산 변형을 포함한다.

[0618] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 N-말단에서 C-말단으로 제1 scFv, 제1 펩티드 링커, 제2 scFv, 제2 펩티드 링커 및 제1 Fc 영역을 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단으로 scIL-12, 임의적인 제3 링커 및 제2 Fc 영역을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 아미노산 변형을 포함한다.

[0619] 5.3.6.6 예시적인 탠덤 ScFv sdAb scIL-12 Fc 융합 단백질

[0620] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 탠덤으로 작동가능하게 연결되고, 추가로 제1 Fc 영역의 N-말단에 작동가능하게 연결된 2개의 scFv 항원 결합 도메인; 및 제2 Fc 영역에 작동가능하게 연결된 제1 단일 도메인 항체 (sdAb) 및 sdAb의 N-말단에 작동가능하게 연결된 scIL-12를 포함한다. 예를 들어, 도 8을 참조한다.

[0621] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 N-말단에서 C-말단으로 제1 scFv, 제2 scFv 및 제1 Fc 영역을 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단으로 scIL-12, 임의적인 제1 펩티드 링커, 단일 도메인 항체, 임의적인 제2 펩티드 링커 및 제2 Fc 영역을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 아미노산 변형을 포함한다.

[0622] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 N-말단에서 C-말단으로 제1 scFv, 제1 펩티드 링커, 제2 scFv, 제2 펩티드 링커 및 제1 Fc 영역을 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 N-말단에서 C-말단으로 scIL-12, 제3 펩티드 링커, 단일 도메인 항체, 제4 펩티드 링커 및 제2 Fc 영역을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 적어도 1개의 디설피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 Fc 영역 및 제2 Fc 영역은 각각 제1 Fc 영역과 제2 Fc 영역의 이중이량체화를 촉진하는 아미노산 변형을 포함한다.

[0623] 5.3.7 예시적인 융합 단백질 및 폴리펩티드

[0624] 본원에 기재된 예시적인 항-hCAIX hIL-12 융합 폴리펩티드 및 단백질의 아미노산 서열이 표 20에 제공된다. 표 20에 제공된 항-hCAIX hIL-12 융합 폴리펩티드 및 단백질은 단지 예시적이고, 제한적인 것으로 의도되지 않는다.

[0625] 표 20에 제공된 예시적인 항-hCAIX hIL-12 융합 단백질 중 하나 이상에 공통적인 경쇄 및 중쇄 영역의 아미노산 서열이 표 19에 제공된다.

[0626] **표 19. 하나 이상의 예시적인 항-hCAIX hIL-12 융합 단백질 및 폴리펩티드에 공통적인 경쇄 및 중쇄 영역의 아**

미노산 서열

설명	SEQ ID NO	아미노산 서열
중쇄 - 노브 IL-12p40	304	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAIN SDGGITYYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYF SMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGGSGGGSIWEL KKDYYVVELDWDYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDQSEVLGSGKTLTIQ VKEFGDAGQYTCCHKGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDKQKEPKNKTFLR CEAKNYSGRFTCWWTITSTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRG DNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
중쇄 - 홀 IL-12p35	305	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAIN SDGGITYYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYF SMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGGSGGGSRNLP VATPDPMFPCFHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITKDK TSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSMFALCLSSIED LKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNLAVIDELMQALNFNSETVPQKSS LEEDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
중쇄 - 홀	306	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAIN SDGGITYYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYF SMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
경쇄	245	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCSKASQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLIYSAS NRYTGI PARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAAAYCQQYSNYPWTFGGGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC

[0627]

[0628]

상기 기재된 바와 같이, 본원에 기재된 예시적인 항-hCAIX hIL-12 융합 폴리펩티드 및 단백질의 아미노산 서열이 표 20에 제공된다. 표 20에 제공된 항-hCAIX hIL-12 융합 폴리펩티드 및 단백질은 단지 예시적이고, 제한적인 것으로 의도되지 않는다.

[0629]

표 20. 예시적인 항-hCAIX hIL-12 융합 단백질 및 폴리펩티드의 아미노산 서열

설명		SEQ ID NO	아미노산 서열
BCA316 (BCA351) 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (HC) (노브) IL-12p40	304	표 19 참조.
	HC (홀) IL-12p35	305	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDGPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	경쇄 (LC)	245	표 19 참조.
BCA307.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40	304	표 19 참조.
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 A)	307	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDGPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKNESCLNSR ETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMN AKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLE EPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA308.1 6	중쇄 (노브) IL-12p40	304	표 19 참조.
	중쇄 (홀)	308	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS

[0630]

예를 들어, 도 1 참조	IL-12p35 (변이체 B)		VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLKHY SCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPHRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDP YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA323.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브)	304	표 19 참조.
	IL-12p40		
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 C)	309	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKQRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPA AKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA324.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브)	304	표 19 참조.
	IL-12p40		
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 D)	310	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL
	경쇄	245	표 19 참조.

[0631]

			MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDA YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA325.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브)	304	표 19 참조.
	IL-12p40		
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 E)	311	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDDGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELGGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPGMFPCLLHSSQNLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSMFMMALCLSIYEDLKMYQVEFKTMNAKL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF AKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA309.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브)	312	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDDGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELGGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDKQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLT FCVQVQGASAAEAADAVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35		
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA310.1 6:	중쇄 (노브)	313	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDDGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG

[0632]

예를 들어, 도 1 참조			VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQG VTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLP VMVDAVHKLKYNSTSSFFIRDIKPDPPKNLQLKPLKNSRQ VEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDK TSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA311.1 6: 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 C)	314	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCTDTPPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEIES
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA317: 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 D)	315	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCTDTPPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYE

[0633]

			YSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKEDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35 경쇄	245	표 19 참조.
BCA318.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 E)	316	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCTDPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEEIESIKSMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35		
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA319.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 F)	317	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCTDPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEEIVSIKIMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)		
	IL-12p35		
	경쇄		

[0634]

	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35		
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA320.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 G)	318	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYDPAPGEMVLTCTDTPPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQEDSACPAAEEIQSIKGMVDAVHKLYENYTSFFIR DI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35		
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA321.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 H)	319	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYDPAPGEMVLTCTDTPPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHIKYENYTSFFIRD IIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTF CVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY SSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35		
	경쇄	245	표 19 참조.

[0635]

BCA322.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 I)	320	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCTDTPEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDVAVHSITSANYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA326.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 J)	321	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCTDTPEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDVAVHKLKYENYTSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA327.1 6	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 K)	322	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN

[0636]

예를 들어, 도 1 참조			TKVDDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDKQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA328.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 L)	323	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNNGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHHKPSN TKVDDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDKQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDVHALKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA329.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 M)	324	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNNGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHHKPSN TKVDDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ

[0637]

			QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYAAAPGEMVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35 경쇄	245	표 19 참조.
BCA330.1 6(BCA37 6) 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 N)	325	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAP EKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTCPPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHALKYENYTSSFFIR DI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35 경쇄	245	표 19 참조.
BCA331.1 6(BCA356) 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 O)	326	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAP EKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTCPPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE

[0638]

			YSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35 경쇄	245	표 19 참조.
BCA332.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 P)	327	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFMSDYGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCTDPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHALAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35 경쇄	245	표 19 참조.
BCA333.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 Q)	328	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFMSDYGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVLTCTDPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35 경쇄	245	표 19 참조.

[0639]

	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35		
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA334.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 R)	329	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLPIEVMDAVAALAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35		
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA335.1 6 (BCA373) 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 T	330	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.
	IL-12p35		
	경쇄	245	표 19 참조.

[0640]

BCA336.1 6 (BCA374) 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 U	331	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDVAHALKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA337.1 6 (BCA375) 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 V	332	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDVAHKLAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA338.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 W	333	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR

[0641]

			EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA339.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 X	334	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA340.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 Y	335	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT

[0642]

			TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHALKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA341.1 6 (BCA377) 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 Z	336	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCTDPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHALAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA342.1 6 (BCA378) 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 AA	337	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCTDPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHALAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀)	305	표 19 참조.

[0643]

BCA343.1 6 예를 들어, 도 1 참조	IL-12p35		
	경쇄	245	표 19 참조.
	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 BB	338	VRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPEK RLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN LRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQTSVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG SIWELKKDVYVVELDWYDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLH AKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEY SVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHALKYENYTSFFIR D I I K P D P P K N L Q L K P L K N S R Q V E V S W E Y P D T W S T P H S Y F S L T F C V Q V Q G K S K R E K K D R V F T D K T S A T V I C R K N A S I S V R A Q D R Y S S S W S E W A S V P C S
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
BCA344.1 6 예를 들어, 도 1 참조	경쇄	245	표 19 참조.
	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 CC	339	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLH HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLAYENYTSFFIR D I I K P D P P K N L Q L K P L K N S R Q V E V S W E Y P D T W S T P H S Y F S L T F C V Q V Q G K S K R E K K D R V F T D K T S A T V I C R K N A S I S V R A Q D R Y Y S S S W S E W A S V P C S
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA345.1 6 (BCA369)	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 DD	340	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG

[0644]

예를 들어, 도 1 참조			VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWTTL TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSFFIR DI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA346.1 6 (BCA370) 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 EE	341	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWTTL TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSFFIR DI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA347.1 6 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 FF	342	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWTTL TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSFFIR DI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.

[0645]

			GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIR DI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA348.1 6 (BCA371) 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 GG	343	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTCPPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHALKYENYTSFFIR DI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA349.1 6 (BCA372) 예를 들어, 도 1 참조	중쇄 (노브) hIL-12p40 변이체 HH	344	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTCPPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLAYENYTSFFIR DI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT

[0646]

			FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	중쇄 (홀) IL-12p35	305	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA315 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12	345	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDQVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLQSSSEV LGSGLTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWKSTDLKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSFFFIRDIKPD PPKNLQKPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSW EWASVPCS
		306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
BCA307 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p35 변이체 A)	346	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKNECLNSR ETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYEDLKMYQVEFKTMN AKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLE EPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGG IWELKKDQVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLQ SSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLHKK KEDGIWKSTDLKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTI STDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYS VEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSFFFIRDI

[0647]

			IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFC VQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYS SSWSEWASVPCS	
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.	
	경쇄	245	표 19 참조.	
BCA308 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p35 변이체 B)	347	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMGFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLKHY SCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPHRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDP YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLQDQSSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECC EDSACPAAEESLPIEMVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWS EWASVPCS	
		중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
		경쇄	245	표 19 참조.
	BCA323: 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p35 변이체 C)	348	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMGFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDA AKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLQDQSSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECC

[0648]

			EDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA324 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p35 변이체 D)	349	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFEY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSMFMALCLSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDA YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDQVYVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLTDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA325 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p35 변이체 E)	350	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFEY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSMFMALCLSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF AKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDQVYVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLTDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.

[0649]

			TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEEQ EDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA309 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 A)	351	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFEY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDQVYVVELDQWYDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDQSSVE LGSGLTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLHSHLLLLHKKEDG IWSIDLKQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEEQ EDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GASAAEADAVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA310 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 B)	352	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFEY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGFLRC EAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAA TLAERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAV
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.

[0650]

			HKLKYENYTSFFIRDIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWE YPTWSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.	
	경쇄	245	표 19 참조.	
BCA311 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p35 변이체 C)	353	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTFEY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVECQ EDSACPAEEIES	
		중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
		경쇄	245	표 19 참조.
	BCA312 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 S)	354	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTFEY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVECQ EDSACPAEEESLSIEVMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPD PPKNLQLKPLKNSROVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVOVQ
중쇄 (홀)			306	표 19 참조.
		경쇄	245	표 19 참조.

[0651]

			GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA318 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 E)	355	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTFEY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTKHGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQ EDSACPAAEEIESIKSMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPD PPKNLQKPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
		중쇄 (홀)	306
		경쇄	245
	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 F)	356	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTFEY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTKHGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQ EDSACPAAEEIVSIKIMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPD
		경쇄	245

[0652]

			PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWS EWASVPCS	
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.	
	경쇄	245	표 19 참조.	
BCA320 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 G)	357	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMGFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEEIQSIKGMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWS EWASVPCS	
		중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
		경쇄	245	표 19 참조.
	BCA321 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 H)	358	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMGFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQC
중쇄 (홀)			306	표 19 참조.
		경쇄	245	표 19 참조.

[0653]

			EDSACPAAEESLPIEVMVDAVHIKYENYTSFFIRDIKPD PKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQG KSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSE WASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA322 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 I)	359	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSMFALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDQVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLTDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECO EDSACPAAEESLPIEVMVDAVHSITSANYTSFFIRDIKPD PKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQG KSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSE WASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA326 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 J)	360	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSMFALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDQVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLTDSSEV LGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCCHKGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.

[0654]

			TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA327 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 A)	361	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDSSEV LGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHAKEDG IWTSDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA328 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 L)	362	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDSSEV LGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHAKEDG
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.

[0655]

			IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVECQ EDSACPAAEESLPIEVMDAVHALKYENYTSFFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSW EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA329 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 M)	363	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GS RNLPVATPDGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPC TSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFT NGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMD PKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYK TKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWELKK DYYVVELDWYAAAPGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLQSSSEVLG SGKTLTIQVKAAGDAGQYTCCHKGEVLSHSLLLHKKEDGIW STDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVECQED SACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGK SKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEW ASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA330 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 N)	364	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.

[0656]

			YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDYYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQ EDSACPAAEESLPIEVMDAVHALKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA331 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 O)	365	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPGMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSE ITNGSCLASRKTSFMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDYYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQ EDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLAYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA332 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 P)	366	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPGMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY

[0657]

			PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQSSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVECC EDSACPAAEESLPIEVMDAVHALAYENYTSFFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA333.1 6 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 Q)	367	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDDGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGSTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQSSSEV LGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVECC EDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLAYENYTSFFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.
BCA334 예를 들어, 도 2 참조	중쇄 (노브) scIL-12 (IL- 12p40 변이체 R)	368	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDDGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGSTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQ
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.

[0658]

			QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQSSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVECC EDSACPAAEESLPIEVMDAVAALAYENYTSFFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	중쇄 (홀)	306	표 19 참조.
	경쇄	245	표 19 참조.

[0659]

[0660]

일부 실시양태에서, 항-CAIX 항체는 서열식별번호: 245의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산을 포함하는 제1 경쇄; 서열식별번호: 304의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산을 포함하는 제1 중쇄; 서열식별번호: 305의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산을 포함하는 제2 중쇄; 및 서열식별번호: 245의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산을 포함하는 제2 경쇄를 포

98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산을 포함하는 제2 중쇄; 및 서열식별번호: 245의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산을 포함하는 제2 경쇄를 포함한다.

[0723] 5.4 폴리펩티드 및 단백질의 제조 방법

[0724] 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, hIL-12p35 단백질, schIL-12 단백질, 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드) 및 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드)은 관련 기술분야에 공지된 표준 방법을 사용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, 각각은 hIL-12p40 단백질, hIL-12p35 단백질, sch-IL-12 단백질, 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드) 또는 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드)을 코딩하는 핵산 발현 벡터 (예를 들어, 플라스미드, 바이러스 벡터 (예를 들어, 바칼로바이러스 발현 벡터))로 형질감염 또는 형질도입된 숙주 세포 (예를 들어, 곤충 세포, 포유동물 세포, 박테리아)에서 재조합 기술에 의해 생산될 수 있다. 이러한 일반적 방법은 관련 기술분야에서의 통상의 지식이다. 발현 벡터는 전형적으로 관심 단백질 또는 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 분자의 발현을 일으킬 수 있는 핵산 서열, 예컨대 프로모터(들), 인핸서(들), 폴리아데닐화 신호 등을 포함하는 발현 카세트를 함유한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 다양한 프로모터 및 인핸서 요소가 숙주 세포에서 핵산 분자의 발현을 얻기 위해 사용될 수 있다는 것을 알고 있다. 예를 들어, 프로모터는 구성적 또는 조절성일 수 있고, 다양한 공급원, 예를 들어 바이러스, 원핵 또는 진핵 공급원으로부터 취득되거나 또는 인공적으로 설계될 수 있다. 형질감염 또는 형질도입 후, 관심 단백질 또는 폴리펩티드를 코딩하는 발현 벡터를 함유하는 숙주 세포는 항원 펩티드 또는 단백질을 코딩하는 핵산 분자의 발현에 도움이 되는 조건 하에 배양된다. 배양 배지는 다양한 판매업체로부터 입수가능하고, 숙주 세포가 관심 단백질 또는 폴리펩티드를 발현 하도록 적합한 배지가 상용적으로 선택될 수 있다. 숙주 세포는 부착 또는 현탁 배양될 수 있고, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 선택된 특이적 숙주 세포에 대한 배양 방법을 최적화할 수 있다. 예를 들어, 현탁 세포는, 예를 들어 생물반응기에서, 예를 들어 회분식 공정 또는 유가식 공정으로 배양될 수 있다. 다수의 포유동물 세포주가 관련 기술분야에 공지되어 있고, 아메리칸 타입 컬처 콜렉션 (ATCC)으로부터 입수가능한 불멸화 세포주, 예컨대 비제한적으로 차이나이즈 햄스터 난소 (CHO) 세포, CHO-현탁 세포 (CHO-S), HeLa 세포, HEK293, 새끼 햄스터 신장 (BHK) 세포, 원숭이 신장 세포 (COS), VERO, HepG2, 마딘다비(MadinDarby) 소 신장 (MDBK) 세포, NOS, U2OS, A549, HT1080, CAD, P19, NIH3T3, L929, N2a, MCF-7, Y79, SO-Rb50, DUKX-X11 및 J558L을 포함한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 CHO 또는 CHO-S 세포에서 생산된다.

[0725] 생산된 단백질 또는 폴리펩티드는, 예를 들어 유동-관통 또는 결합-및-용리 방식으로의 칼럼 크로마토그래피에 의해 세포 배양물로부터 분리될 수 있다. 예는 이온 교환 수지 및 친화성 수지, 예컨대 렌틸 렉틴 세파로스 및 혼합 모드 양이온 교환-소수성 상호작용 칼럼 (CEX-HIC)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 단백질 또는 폴리펩티드는 농축되고, 한외여과에 의해 완충제 교환될 수 있고, 한외여과로부터의 보유물은 적절한 필터, 예를 들어 0.22 μm 필터를 통해 여과될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Hacker, David (Ed.), Recombinant Protein Expression in Mammalian Cells: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology), Humana Press (2018); 및 McPherson et al., "Development of a SARS Coronavirus Vaccine from Recombinant Spike Protein Plus Delta Inulin Adjuvant," Chapter 4, in Sunil Thomas (ed.), Vaccine Design: Methods and Protocols: Volume 1: Vaccines for Human Diseases, Methods in Molecular Biology, Springer, New York, 2016]을 참조한다. 또한, 미국 특허 5,762,939를 참조하며, 이들 각각의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다.

[0726] 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, 본원에 기재된 sch-IL12 단백질, 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드) 및 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드)은 합성적으로 생산될 수 있다.

[0727] 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, sch-IL12 단백질, 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드) 또는 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드)의 아미노산 서열은, 즉 에드만 분해의 반복 사이클에 이어서 HPLC에 의한 아미노산 분석에 의해 결정될 수 있다. 아미노산 서열분석의 다른 방법이 또한 관련 기술분야에 공지되어 있다. 일단 정제되면, 단백질의 기능성은 관련 기술분야에 공지되고 본원에 기재된 표준 검정 (예를 들어, 면역검정, 예를 들어 ELISA, 세포-기반 검정)을 사용하여 평가될 수 있으며, 예를 들어 실시예 4-15 및 21-23을 참조한다. 예를 들어, 본원에 기재된 항체 hIL-12 융합 단백질의 이중기능성은 이중기능적 ELISA를 사

용/이용하여 평가될 수 있다.

[0728] 5.5 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 담체 및 숙주 세포

[0729] 한 측면에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, 본원에 기재된 sch-IL12 단백질, 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드) 또는 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드)을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, DNA, RNA)가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 DNA 폴리뉴클레오타이드 또는 RNA 폴리뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 mRNA 폴리뉴클레오타이드이다.

[0730] 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 코돈 최적화된다. 코돈 최적화는 적절한 폴딩을 보장하기 위해 표적 및 숙주 유기체에서의 코돈 빈도를 매칭시키거나; 핵산 안정성을 증가시키기 위해 구아노신 (G) 및/또는 시토신 I 함량을 편향시키거나; 유전자 구축 또는 발현을 손상시킬 수 있는 탠덤 반복 코돈 또는 염기 실행을 최소화하거나; 전사 및 번역 제어 영역을 맞춤화하거나; 단백질 트래킹킹 서열을 삽입하거나 제거하거나; 코딩된 단백질에서의 번역후 변경 부위 (예를 들어, 글리코실화 부위)를 제거/부가하거나; 단백질 도메인을 부가, 제거 또는 서폴딩하거나; 제한 부위를 삽입하거나 결실시키거나; 리보솜 결합 부위 및 mRNA 분해 부위를 변형시키거나; 단백질의 다양한 도메인이 적절하게 폴딩되도록 번역 속도를 조정하거나; 또는 폴리뉴클레오타이드 내의 문제 2차 구조를 감소시키거나 제거하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 코돈 최적화된 핵산 서열은 (참조 핵산 서열과 비교하여) 상기 중 하나 이상을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 코돈 최적화된 핵산 서열은 참조 핵산 서열과 비교하여 개선된 시험관내 분해에 대한 저항성, 개선된 시험관내 안정성, 감소된 2차 구조 및/또는 개선된 시험관내 번역가능성 중 하나 이상을 나타낸다. 코돈 최적화 방법, 도구, 알고리즘 및 서비스는 관련 기술 분야에 공지되어 있으며, 비제한적 예는 진아트(GeneArt) (라이프 테크놀로지스(Life Technologies)) 및 DNA2.0 (캘리포니아주 멘로 파크)으로부터의 서비스를 포함한다. 일부 실시양태에서, 오픈 리딩 프레임 (ORF) 서열은 최적화 알고리즘을 사용하여 최적화된다. 일부 실시양태에서, 핵산 서열은 참조 핵산 서열과 비교하여 G 및/또는 C 뉴클레오타이드의 수를 최적화하도록 변형된다. G 및 C 뉴클레오타이드의 수의 증가는 아데노신 (T) 또는 티미딘 (T) (또는 우라실 (U)) 뉴클레오타이드를 함유하는 코돈을 G 또는 C 뉴클레오타이드를 함유하는 코돈으로 치환함으로써 생성될 수 있다.

[0731] 한 측면에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, 본원에 기재된 schIL-12 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드), 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드) 또는 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드)을 포함하는 벡터가 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 일부 실시양태에서, 벡터는 비-바이러스 벡터 (예를 들어, 플라스미드)이다.

[0732] 한 측면에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, 본원에 기재된 sch-IL12 단백질, 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드) 또는 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드 또는 본원에 기재된 벡터를 포함하는 담체가 본원에 제공된다. 담체는 지질-기반 담체, 예컨대 지질 나노입자 (LNP), 리포솜, 리포플렉스 또는 나노리포솜을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 담체는 LNP, 예를 들어 본원에 기재된 LNP이다.

[0733] 한 측면에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, 본원에 기재된 schIL-12 단백질, 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드) 또는 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드, 본원에 기재된 벡터 또는 본원에 기재된 담체를 포함하는 숙주 세포가 본원에 제공된다.

[0734] 5.6 제약 조성물

[0735] 한 측면에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, 본원에 기재된 schIL-12 단백질, 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드) 또는 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드, 본원에 기재된 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포 또는 본원에 기재된 담체 및 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물이 본원에 제공된다 (예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA] 참조, 이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨).

[0736] 한 측면에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, 본원에 기재된 schIL-12 단백

질, 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드) 또는 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드, 본원에 기재된 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포 또는 본원에 기재된 담체를 제공하는 단계, 및 이를 1종 이상의 제약상 허용되는 부형제의 첨가에 의해 제약상 허용되는 조성물로 제제화하는 단계를 포함하는, 본원에 기재된 제약 조성물을 제조하는 방법이 또한 본원에 제공된다.

[0737] 허용되는 부형제 (예를 들어, 담체 및 안정화제)는 바람직하게는 사용되는 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트 또는 다른 유기 산; 항산화제, 예컨대 아스코르브산 또는 메티오닌; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 핵사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 또는 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드 또는 다른 탄수화물, 예컨대 글루코스, 만노스 또는 텍스트린; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대-이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 트윈(TWEEN)TM, 플루로닉스(PLURONICS)TM 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함한다.

[0738] 제약 조성물은 대상체에 대한 임의의 투여 경로를 위해 제제화될 수 있다. 비제한적 실시양태는 비경구 투여, 예컨대 근육내, 피내, 피하, 경피 또는 점막 투여, 예를 들어 흡입, 비강내, 경구 등을 포함한다. 한 실시양태에서, 제약 조성물은 근육내, 피내 또는 피하 주사에 의한 투여를 위해 제제화된다. 한 실시양태에서, 제약 조성물은 근육내 주사에 의한 투여를 위해 제제화된다. 한 실시양태에서, 제약 조성물은 피내 주사에 의한 투여를 위해 제제화된다. 한 실시양태에서, 제약 조성물은 피하 주사에 의한 투여를 위해 제제화된다. 주사제는 액체 용액 또는 현탁액으로서 통상적인 형태로 제조될 수 있다. 주사제는 1종 이상의 부형제를 함유할 수 있다. 예시적인 부형제는, 예를 들어 물, 염수, 텍스트로스, 글리세롤 또는 에탄올을 포함한다. 추가로, 원하는 경우에, 투여될 제약 조성물은 또한 소량의 비-독성 보조 물질, 예컨대 습윤제 또는 유화제, pH 완충제, 안정화제, 용해도 증진제 또는 다른 이러한 작용제, 예컨대, 예를 들어 아세트산나트륨, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올레이트 또는 시클로텍스트린을 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 단일 용량으로 제제화된다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 다중-용량으로 제제화된다.

[0739] 본원에 기재된 비경구 제제에 사용되는 제약상 허용되는 부형제는, 예를 들어 수성 비히클, 비수성 비히클, 항미생물제, 등장화제, 완충제, 항산화제, 국부 마취제, 현탁화제 및 분산제, 유화제, 격리제 또는 킬레이트화제 또는 다른 제약상 허용되는 물질을 포함한다. 본원에 기재된 제제 중 하나 이상에 혼입될 수 있는 수성 비히클의 예는 염화나트륨 주사, 링거 주사, 등장성 텍스트로스 주사, 멸균수 주사, 텍스트로스 또는 락테이트화 링거 주사를 포함한다. 본원에 기재된 제제 중 하나 이상에 혼입될 수 있는 비수성 비경구 비히클은 식물성 기원의 고정 오일, 목화씨 오일, 옥수수 오일, 참깨 오일 또는 땅콩 오일을 포함한다. 정박테리아 또는 정진균 농도의 항미생물제는 본원에 기재된 비경구 제제에 첨가되고, 페놀 또는 크레졸, 수은, 벤질 알콜, 클로로부탄올, 메틸 및 프로필 p-히드록시벤조산 에스테르, 티메로살, 벤즈알코늄 클로라이드 또는 벤제토늄 클로라이드를 포함하는 다중-용량 용기에 포장될 수 있다. 본원에 기재된 제제 중 하나 이상에 혼입될 수 있는 등장화제는 염화나트륨 또는 텍스트로스를 포함한다. 본원에 기재된 제제 중 하나 이상에 혼입될 수 있는 완충제는 포스페이트 또는 시트레이트를 포함한다. 본원에 기재된 제제 중 하나 이상에 혼입될 수 있는 항산화제는 중황산나트륨을 포함한다. 본원에 기재된 제제 중 하나 이상에 혼입될 수 있는 국부 마취제는 프로카인 히드록로라이드를 포함한다. 본원에 기재된 제제 중 하나 이상에 혼입될 수 있는 현탁화제 및 분산제는 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 히드록시프로필 메틸셀룰로스 또는 폴리비닐피롤리돈을 포함한다. 본원에 기재된 제제 중 하나 이상에 혼입될 수 있는 유화제는 폴리소르베이트 80 (트윈® 80)을 포함한다. 본원에 기재된 제제 중 하나 이상에 혼입될 수 있는 금속 이온의 격리제 또는 킬레이트화제는 EDTA이다. 본원에 기재된 제제 중 하나 이상에 혼입될 수 있는 제약 담체는 또한 수산화성 비히클을 위한 에틸 알콜, 폴리에틸렌 글리콜 또는 프로필렌 글리콜; pH 조절을 위한 수산화나트륨, 염산, 시트르산 또는 락트산을 포함한다.

[0740] 제약 조성물에 사용될 정확한 용량은 또한 투여 경로 및 그에 의해 유발된 상태의 심각성에 좌우될 것이며, 진료의 판단 및 각각의 대상체의 상황에 따라 결정되어야 한다. 예를 들어, 유효 용량은 또한 투여 수단, 표적 부위, 대상체의 생리학적 상태 (연령, 체중 및 건강 포함), 투여되는 다른 의약 또는 요법이 예방적인지 치료적인지에 따라 달라질 수 있다. 치료 투여량은 바람직하게는 안전성 및 효능을 최적화하기 위해 적정된다.

[0741] **5.7 사용 방법**

[0742] 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, 본원에 기재된 schIL-12 단백질, 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 본원에 기재된 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포, 본원에 기재된 담체 및 본원에 기재된 제약 조성물을 이용하는 다양한 방법이 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 대상체에게 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, 본원에 기재된 schIL-12 단백질, 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 본원에 기재된 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포, 본원에 기재된 담체 또는 본원에 기재된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 예시적인 대상체는 포유동물, 예를 들어 인간, 비-인간 포유동물, 예를 들어 비-인간 영장류를 포함한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0743] 본원에 기재된 임의의 방법에 따라 대상체에게 투여되는, 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, 본원에 기재된 schIL-12 단백질, 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 본원에 기재된 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포, 본원에 기재된 담체 또는 본원에 기재된 제약 조성물의 투여량은, 투여 경로, 대상체의 연령 및 체중, 및 사용되는 아주반트 (존재하는 경우)의 유형을 포함한, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 표준 기술에 따라 결정될 수 있다.

[0744] **5.7.1 전달 방법**

[0745] 한 측면에서, 대상체에게 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 폴리뉴클레오티드, 벡터, 숙주 세포, 담체 또는 제약 조성물을, 대상체에게 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, 본원에 기재된 schIL-12 단백질, 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 폴리뉴클레오티드, 벡터, 숙주 세포, 담체 또는 제약 조성물을 전달하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 것을 포함하는, 대상체에게 (i) 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, (ii) 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, (iii) 본원에 기재된 schIL-12 단백질, (iv) 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), (v) 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드); (vi) 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드; (vii) 본원에 기재된 벡터; (viii) 본원에 기재된 숙주 세포; (ix) 본원에 기재된 담체; 또는 (x) 본원에 기재된 제약 조성물을 전달하는 방법이 본원에 제공된다.

[0746] **5.7.2 NK 세포 기능의 T-세포를 자극하는 방법**

[0747] 한 측면에서, 대상체에게 (i) 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, (ii) 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, (iii) 본원에 기재된 schIL-12 단백질, (iv) 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), (v) 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드); (vi) 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드; (vii) 본원에 기재된 벡터; (viii) 본원에 기재된 숙주 세포; (ix) 본원에 기재된 담체; 또는 (x) 본원에 기재된 제약 조성물을, 대상체에서 T-세포 또는 NK 세포 이펙터 기능을 자극하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 T-세포 또는 NK 세포 이펙터 기능을 자극하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 실시양태에서, 이펙터 기능은 시토킨 (예를 들어, IFN- γ)의 분비이다. 관련 이펙터 기능은 관련 기술분야에 공지되고 본원에 기재된 통상의 방법에 의해 평가될 수 있으며 (예를 들어, § 6 참조), 예를 들어 IFN- γ 의 분비의 평가는 ELISA를 사용하여 수행될 수 있다 (예를 들어, § 6.5 및 6.6 참조).

[0748] **5.7.3 암을 예방 또는 치료하는 방법**

[0749] 한 측면에서, 대상체에게 (i) 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, (ii) 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, (iii) 본원에 기재된 schIL-12 단백질, (iv) 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), (v) 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드); (vi) 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드; (vii) 본원에 기재된 벡터; (viii) 본원에 기재된 숙주 세포; (ix) 본원에 기재된 담체; 또는 (x) 본원에 기재된 제약 조성물을, 대상체에서 암을 예방 또는 치료하기에 충분

한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 암을 예방 또는 치료하는 방법이 본원에 제공된다.

[0750] 한 측면에서, 대상체로부터의 암 세포를 함유하지 않는 (또는 상당수의 암 세포를 함유하지 않는) 샘플 중 가용성 CAIX의 존재를 결정한 시험 결과를 받는 단계; 대상체가 CAIX를 발현하는 암 세포를 포함하는 암을 갖는 것으로 진단하는 단계; 및 대상체에게 i) 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질, (ii) 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질, (iii) 본원에 기재된 schIL-12 단백질, (iv) 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), (v) 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드); (vi) 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드; (vii) 본원에 기재된 벡터; (viii) 본원에 기재된 숙주 세포; (ix) 본원에 기재된 담체; 또는 (x) 제약 조성물을, 대상체에서 고형 암을 치료하기에 충분한 양으로 및 충분한 시간 동안 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다.

[0751] 일부 실시양태에서, 암은 전이성이다. 일부 실시양태에서, 암은 재발성이다. 일부 실시양태에서, 암은 전이성 및 재발성이다. 일부 실시양태에서, 암은 승인된 표준 관리에 대해 불응성이다. 일부 실시양태에서, 암은 적어도 1종의 승인된 표준 관리에 대해 불응성이다. 일부 실시양태에서, 암은 적어도 모든 승인된 표준 관리 치료제에 대해 불응성이다.

[0752] 일부 실시양태에서, 암은 고형 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 혈액 악성종양이다. 일부 실시양태에서, 질환은 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 혈액 악성종양이다. 예시적인 혈액 악성종양은 백혈병 (예를 들어, 급성 림프구성 백혈병 (ALL), 급성 골수 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 만성 골수 백혈병 (CML)), 림프종 (예를 들어, 비-호지킨 림프종, 호지킨 림프종) 또는 골수종 (예를 들어, 다발성 골수종)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0753] 일부 실시양태에서, 암은 상피 기원의 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 고형 암이다. 예시적인 고형 종양 암은 폐암, 중추 신경계 암 (예를 들어, 뇌암 또는 척수암, 예를 들어 성상세포종, 교모세포종), 유방암, 결장직장암, 결장암, 직장암, 식도암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 위암, 피부암, 방광암, 자궁암, 뇌암, 자궁내막암, 구순암, 구강암, 중피종, 육종, 갑상선암, 흉선암, 신암, 항문암, 두부암, 경부암 및 두경부암을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0754] 일부 실시양태에서, 암은 신세포 암종, 소장암, 결장직장암, 방광암, 위 선암종, 비소세포 폐암, 식도암, 자궁경부암, 소세포 폐암, 두경부암, 흑색종, 교모세포종, 난소암, 육종, 자궁내막암, 위장 기질 종양, 위식도 접합부 암, 삼중 음성 유방암 또는 췌장 선암종이다.

[0755] 일부 실시양태에서, 암은 신암 (예를 들어, 신세포 암종), 방광암, 결장직장암, 소장암, 식도/식도위 접합부 (GEJ) 암, 중추 신경계 암 (예를 들어, 뇌암 또는 척수암, 예를 들어 교모세포종), 자궁경부암, 위암, 폐암 (예를 들어, 소세포 폐암) 또는 위장암이다.

[0756] 일부 실시양태에서, 암 세포는 세포 표면 상에 hCAIX를 발현한다. 일부 실시양태에서, 암은 세포 표면 상에 hCAIX를 발현하는 것으로 확인되었다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 샘플 (예를 들어, 생검)은 샘플 중 세포의 적어도 한 부분이 세포 표면 상에 hCAIX를 발현하는 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 암 조직의 샘플 (예를 들어, 생검) 중 암 세포의 적어도 한 부분이 세포 표면 상에 hCAIX를 발현하는 것을 확인하는 것을 포함한다.

[0757] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 표준 관리 요법 대신에 사용된다. 특정 실시양태에서, 표준 관리 요법은 본원에 개시된 임의의 방법과 조합되어 사용된다. 상이한 유형의 암에 대한 표준 치료 요법은 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 미국 내 21개의 주요 암 센터의 연합인 국립 종합 암 네트워크 (NCCN)는 매우 다양한 암에 대한 표준 관리 치료에 대한 상세한 최신 정보를 제공하는 NCCN 종양학 임상 관리기준 가이드라인 (NCCN 가이드라인즈(NCCN GUIDELINES)®)을 공개한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 표준 관리 요법이 실패한 후에 사용된다.

[0758] 일부 실시양태에서, 융합 단백질은 1종 이상의 예방제 또는 치료제와 조합되어 (예를 들어, 그 전에, 그와 동시에 또는 그 후에) 대상체에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 치료제는 항암제이다. 일부 실시양태에서, 치료제는 화학요법제이다. 이들 치료제는 화합물, 항체, 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드의 형태일 수 있다.

[0759] 5.7.4 진단 방법

[0760] 진단 방법이 본원에 추가로 제공된다. 본원에 기재된 방법 중 일부 (예를 들어, 진단 방법 (예를 들어, §

5.7.4 참조) 및 치료 방법 (예를 들어, § 5.7.3 참조))는 대상체로부터의 샘플을 이용한다. 적합한 샘플 공급원, 크기 등은 선택된 방법에서의 사용에 따라 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정될 수 있다. 예시적인 대상체 샘플은 혈액, 혈장, 세포, 조직, 타액 샘플 및 비강 스왑을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 다른 샘플은 정액, 객담, 점액, 땀, 소변 및 분변을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 샘플은 혈액, 혈장 또는 혈청이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 혈액이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 혈장이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 혈액이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 혈액 샘플로부터 처리된 혈장이다.

[0761] 한 측면에서, 대상체로부터 암 세포를 함유하지 않는 (또는 상당수의 암 세포를 함유하지 않는) 샘플을 수득하는 단계, 및 샘플 중 가용성 CAIX (또는 그의 단편 또는 변이체)의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하는, 대상체의 고형 암의 세포에서 CAIX의 발현을 결정하는 방법이 본원에 제공된다.

[0762] 한 측면에서, 대상체로부터 암 세포를 함유하지 않는 (또는 상당수의 암 세포를 함유하지 않는) 샘플을 수득하는 단계; 샘플 중 가용성 CAIX (또는 그의 단편 또는 변이체)의 존재 또는 부재를 결정하는 단계; 및 가용성 CAIX가 샘플에 존재하는 것으로 결정된 경우에, 대상체가 CAIX를 발현하는 암 세포를 포함하는 고형 암을 갖는 것으로 진단하는 단계를 포함하는, CAIX를 발현하는 암 세포를 포함하는 고형 암을 갖는 대상체를 진단하는 방법이 본원에 제공된다.

[0763] 5.8 키트

[0764] 한 측면에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질; 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질; 본원에 기재된 schIL-12 단백질; 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드); 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드); 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드; 본원에 기재된 벡터; 본원에 기재된 숙주 세포; 본원에 기재된 담체; 또는 본원에 기재된 제약 조성물 (대상체에 대한 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 본원에 기재된 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포, 본원에 기재된 담체 또는 본원에 기재된 제약 조성물)을 포함하는 키트가 본원에 제공된다. 추가로, 키트는 가용화 또는 희석을 위한 액체 비히클 및/또는 기술적 지침서를 포함할 수 있다. 키트의 기술적 지침서는 투여 및 투여량 및 대상체 군에 관한 정보를 함유할 수 있다.

[0765] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 hIL-12p40 단백질; 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질; 본원에 기재된 schIL-12 단백질; 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드); 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 본원에 기재된 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포, 본원에 기재된 담체 또는 본원에 기재된 제약 조성물은 키트의 개별 부분에 제공되며, 여기서 본원에 기재된 다중특이적 단백질 (또는 그의 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 본원에 기재된 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포, 본원에 기재된 담체 또는 본원에 기재된 제약 조성물은 임의로 동결건조, 분무-건조 또는 분무-동결 건조된다. 키트는 본원에 기재된 건조 또는 동결건조된 hIL-12p40 단백질; 본원에 기재된 hIL-12p35 단백질; 본원에 기재된 schIL-12 단백질; 본원에 기재된 항-hCAIX 항체 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드); 본원에 기재된 hIL-12 융합 단백질 (또는 그의 임의의 (예를 들어, 1개 이상의) 폴리펩티드), 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 본원에 기재된 벡터, 본원에 기재된 숙주 세포, 본원에 기재된 담체 또는 본원에 기재된 제약 조성물을 가용화시키기 위한 비히클 (예를 들어, 완충제 용액)을 한 부분으로서 추가로 함유할 수 있다.

[0766] 일부 실시양태에서, 키트는 단일 용량 용기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 다중-용량 용기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 투여 장치 (예를 들어, 피내 주사용 주사기 또는 근육내 주사용 시린지)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 개별 용기에 아주반트를 포함한다.

[0767] 본원에 기재된 임의의 키트는 본원에 기재된 임의의 방법에 사용될 수 있다 (예를 들어, § 5.7 참조).

[0768] 6. 실시예

[0769] 본 섹션 (즉, 섹션 6)의 예는 제한이 아닌 예시로서 제공된다.

[0770] 6.1 실시예 1. 인간화 항-hCAIX 항체의 생성

[0771] 뮤린/인간 키메라 항체 기원특시맵의 5개의 상이한 인간화 경쇄 가변 영역 (VL) 및 5개의 상이한 인간화 중쇄 가변 영역 (VH) (표 21 참조)을 하기 기재된 방법에 따라 생성하였다. 기원특시맵 CDR 서열에 대한 "수용자" 프레임워크로서 사용된 여러 인간 프레임워크 서열이 확인되었다. 그 결과, 인간화 서열은 비-면역원성일 것으로 예상되고, 모 항체의 CDR-루프의 정규 구조를 보유한다. CDR-루프 입체형태의 최적 보유를 위해, IMGT 및

카바트를 사용하여 CDR을 확인하였다.

[0772] 중쇄 및 경쇄 인간화를 위해, 인간 IgG 및 IgG_k 서열의 데이터베이스를 BLAST 검색 알고리즘을 사용하여 각각 무린 VH 도메인 및 무린 VL 도메인과의 비교를 위해 검색하였다. 후보 인간 가변 도메인을 상위 200개의 BLAST 결과로부터 선택하였다. 주요 프레임워크 잔기 및 정규 루프 구조를 유지하는 프레임워크 상동성의 조합에 기초하여, 중쇄에 대해 가장 가까운 인간 배선 IGHV3-11 및 경쇄에 대해 IGKV1D-13을 선택하였다.

[0773] 인간화 중쇄 및 경쇄를 MHC 부류 II 결합 에피토프, Fv 글리코실화 모티프 및 탈아미드화 모티프에 대해 스크리닝하였다. 후속적으로, 경쇄 및 중쇄의 모든 조합을 일시적으로 발현시키고, 발현 산출량, 항원 결합 동역학 및 안정성을 포함한 다양한 파라미터에 대해 시험하였다.

[0774] 인간/무린 키메라 모 항체 기렌톡시맵 (및 그의 성분)의 아미노산 서열이 표 21에 열거된다.

[0775] **표 21. 모 항체 기렌톡시맵의 아미노산 서열**

설명		SEQ ID NO
기렌톡시맵	VH CDR1	237
	VH CDR2	238
	VH CDR3	239
	VL CDR1	240
	VL CDR2	241
	VL CDR3	242
	VH	246
	VL	247
	중쇄	248
	경쇄	249

[0776]

[0777] 생성된 인간화 항-hCAIX 항체의 VH, 중쇄, VL 및 경쇄의 아미노산 서열이 상기 표 2에 제시된다.

[0778] 생성된 인간화 항-hCAIX 항체의 VH, 중쇄, VL 및 경쇄의 뉴클레오티드 서열이 상기 표 3에 제시된다.

[0779] HC5 (서열식별번호: 7) 및 LC3 (서열식별번호: 15)을 포함하는 인간화 항-hCAIX 항체를 합리적 친화도 성숙 플랫폼 (RAMP) 기술을 사용하는 친화도 성숙에 추가로 적용하였다. RAMP는 항체의 체세포 과다돌연변이 공간을 탐구하는 '천연' 라이브러리 설계를 조합하여, 각각의 항체에 특이적인 천연 돌연변이를 생성한다. 개선된 항체 결합 잠재력 및 안정성을 위해 분자 도킹 및 인 실리코 선택을 사용하였다. 친화도 및 개발가능성의 균형을 맞추도록 방법을 설계하였다.

[0780] 복귀 돌연변이를 항체의 CDR 및 프레임워크 영역 둘 다 내로 혼입시키고, 조합 방식으로 통합하여, 초기 라이브러리가 95개 변이체의 풍부화된 '마이크로-라이브러리'로 좁혀질 수 있게 하였으며, 이를 CHO 세포에서 발현시키고, 완전 IgG 포맷으로 특징화하고, 친화도 및 개발가능성 속성에 기초하여 순위화하였다. 개발가능성에 대한 '천연' 설계 접근법 및 고유의 고려사항은 RAMP가 친화도를 개선시키는 데 뿐만 아니라, 추가의 속성, 예를 들어 안정성, 응집, pI 등을 최적화하여 항체의 전체 개발가능성 프로파일을 개선시키는 데 사용될 수 있게 하였다.

[0781] 생성된 친화도 성숙 인간화 항-hCAIX 항체의 VH 및 중쇄 영역의 아미노산 서열이 표 22에 열거 및 기재된다.

[0782] **표 22. 친화도 성숙 인간화 항-hCAIX VH 및 VL 영역의 아미노산 서열**

설명	SEQ ID NO
VH	
HC5 변이체 3	7
HC5 변이체 27	8
HC5 변이체 29	9
HC5 변이체 36	9
HC5 변이체 74	8
VL	
LC3 변이체 3	15
LC3 변이체 27	15
LC3 변이체 29	15
LC3 변이체 36	16
LC3 변이체 74	17

[0783]

[0784] **6.2 실시예 2. 항-hCAIX IL-12 융합 단백질의 생성**

[0785] hCAIX 결합 도메인 및 hIL-12 (예를 들어, hIL-12p35 및 hIL-12p40 또는 schIL-12)를 포함하는 융합 단백질을 하기 기재된 바와 같이 생성하였다.

[0786] BCA316 포맷을 갖는 융합 단백질 (즉, 항-CAIX 항체의 제1 Fc 영역에 융합된 IL-12p35 및 제2 Fc 영역에 융합된 IL-12p40 (예를 들어, 도 2 및 도 4 참조))을 하기 방법에 따라 생성하였다. 간략하게, 3개의 상이한 폴리펩티드를 하기 기재된 바와 같이 시험관내 CHO 세포에서 공동-발현시켰다. 각각의 폴리펩티드는 N-말단 신호 펩티드를 함유하였으며, 이는 절단되어 성숙 단백질을 형성하고 세포외 매질 내로의 적절한 분비를 보장한다. 3개의 폴리펩티드는 하기와 같았다:

[0787] ● 1. 인간화 경쇄 (LC3).

[0788] ● 2. CH3 영역에 노브 돌연변이 (T366W)를 포함하는 제1 인간화 중쇄 (HC5). 중쇄의 C-말단은 펩티드 링커 (GGGGS)₃ (서열식별번호: 72)를 통해 성숙 IL-12p40 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된다. hIL-12p40 서브유닛은 C-말단에 번역을 종결시키는 정지 코돈을 포함한다.

[0789] ● 3. CH3 도메인에 홀 돌연변이의 세트를 포함하는 제2 인간화 중쇄 (HC5). 중쇄의 C-말단은 펩티드 링커 (GGGGS)₃ (서열식별번호: 72)를 통해 성숙 IL-12p35 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된다.

[0790] 각각의 3개의 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 유전자 발현이 최대화되도록 CHO 세포에서 발현시키기 위해 코돈 최적화하고, 후속적으로 적합한 진핵 발현 벡터 내로 클로닝하였다. 인간화 중쇄 노브 및 인간화 중쇄 홀 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 단일 유전자 발현 벡터 내로 클로닝하고; 인간화 경쇄 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 상이한 유전자 발현 벡터 내로 개별적으로 클로닝하였다. 함께, 이들 2개의 벡터를 CHO 세포 내로 공동-형질감염시켜, 목적하는 항-CAIX hIL-12 융합 단백질을 생성하였다 (표준 방법을 사용하여 배양 상청액으로부터 단리 및 정제함). 또 다른 발현 전략에서, 모든 3개의 폴리뉴클레오티드를 단일 유전자 발현 벡터 내로 클로닝하고, 후속적으로 이를 CHO 세포 내로 형질감염시켜, 목적하는 항-CAIX hIL-12 융합 단백질을 생성하였다 (표준 방법을 사용하여 배양 상청액으로부터 단리 및 정제함).

[0791] BCA315 포맷을 갖는 융합 단백질 (즉, schIL-12 (예를 들어, 도 1 및 도 3 참조))을 하기 방법에 따라 생성하였다. 간략하게, 3개의 상이한 폴리펩티드를 하기 기재된 바와 같이 시험관내 CHO 세포에서 공동-발현시켰다. 3개의 폴리펩티드는 하기와 같았다:

[0792] ● 1. 인간화 경쇄 서열 (LC3).

[0793] ● 2. CH3 영역에 노브 돌연변이 (T366W)를 갖는 인간화 중쇄 서열 (HC5). 중쇄의 C-말단은 펩티드 링커 (GGGGS)₃ (서열식별번호: 72)를 통해 성숙 hIL-12p35의 N-말단에 작동가능하게 연결된다. 성숙 hIL-12p35 폴리펩티드의 C-말단은 (i) 짧은 펩티드 링커 (GGGGGS) (서열식별번호: 369) 또는 긴 펩티드 링커 (GGGGS)₃ (서열식별번호: 72)를 통해 성숙 hIL-12p40 폴리펩티드의 N-말단에 작동가능하게 연결된다.

[0794] ● 3. CH3 도메인에 홀 돌연변이의 세트를 포함하는 인간화 중쇄 서열 (HC5).

[0795] 각각의 3개의 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 유전자 발현이 최대화되도록 CHO 세포에서 발현시키기 위해 코돈 최적화하고, 후속적으로 적합한 진핵 발현 벡터 내로 클로닝하였다. 인간화 중쇄 노브 및 인간화 중쇄 홀 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 단일 유전자 발현 벡터 내로 클로닝하고; 인간화 경쇄 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 상이한 유전자 발현 벡터 내로 개별적으로 클로닝하였다. 함께, 이들 2개의 벡터를 CHO 세포 내로 공동-형질감염시켜, 목적하는 항-CAIX hIL-12 융합 단백질을 생성하였다 (표준 방법을 사용하여 배양 상청액으로부터 단리 및 정제함). 또 다른 발현 전략에서, 모든 3개의 폴리뉴클레오티드를 단일 유전자 발현 벡터 내로 클로닝하고, 후속적으로 이를 CHO 세포 내로 형질감염시켜, 목적하는 항-CAIX hIL-12 융합 단백질을 생성하였다 (표준 방법을 사용하여 배양 상청액으로부터 단리 및 정제함).

[0796] 생성된 항-hCAIX hIL-12 융합 단백질의 아미노산 서열이 표 23에 제공된다.

[0797] 표 23. 생성된 항-hCAIX hIL-12 융합 단백질 및 폴리펩티드의 아미노산 서열

설명		SEQ ID NO
BCA316	중쇄 (HC) (노브) IL-12p40	304
	HC (홀) IL-12p35	305
	경쇄 (LC)	245
BCA307.16	중쇄 (노브) IL-12p40	304
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 A)	307
	경쇄	245
BCA308.16	중쇄 (노브) IL-12p40	304
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 B)	308
	경쇄	245
BCA323.16	중쇄 (노브) IL-12p40	304
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 C)	309
	경쇄	245
BCA324.16	중쇄 (노브) IL-12p40	304
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 D)	310
	경쇄	245
BCA325.16	중쇄 (노브) IL-12p40	304
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 E)	311
	경쇄	245
BCA309.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 A)	312
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA310.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 B)	313
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA311.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 C)	314
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA317	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 D)	315
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA318.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 E)	316
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA319.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 F)	317
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA320.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 G)	318
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA321.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 H)	319

[0798]

	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA322.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 I)	320
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA326.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 J)	321
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA327.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 K)	322
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA328.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 L)	323
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA329.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 M)	324
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA330.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 N)	325
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA331.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 O)	326
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA332.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 P)	327
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA333.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 Q)	328
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA334.16	중쇄 (노브) IL-12p40 (변이체 R)	329
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA336.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 U)	331
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA337.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 V)	332
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA338.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 W)	333
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA339.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 X)	334
	중쇄 (홀) IL-12p35	305

[0799]

	경쇄	245
BCA340.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 Y)	335
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA341.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 Z)	336
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA342.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 AA)	337
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA343.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 BB)	338
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA344.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 CC)	339
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA345.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 DD)	340
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA346.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 EE)	341
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA347.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 FF)	342
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA348.16	중쇄 (노브) hIL-12p40 (변이체 GG)	343
	중쇄 (홀) IL-12p35	305
	경쇄	245
BCA315	중쇄 (노브) scIL-12	345
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA307	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p35 변이체 A)	346
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA308	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p35 변이체 B)	347
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA323	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p35 변이체 C)	348
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA324	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p35 변이체 D)	349
	중쇄 (홀)	306

[0800]

	경쇄	245
BCA325	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p35 변이체 E)	350
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA309	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 A)	351
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA310	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 B)	352
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA311	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p35 변이체 C)	353
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA312	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 S)	354
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA318	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 E)	355
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA319	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 F)	356
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA320	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 G)	357
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA321	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 H)	358
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA322	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 I)	359
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA326	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 J)	360
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA327	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 A)	361
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA328	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 L)	362
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA329	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 M)	363
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245

BCA330	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 N)	364
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA331	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 O)	365
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA332	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 P)	366
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA333.16	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 Q)	367
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245
BCA334	중쇄 (노브) scIL-12 (IL-12p40 변이체 R)	368
	중쇄 (홀)	306
	경쇄	245

6.3 실시예 3. 항-hCAIX hIL-12p40 변이체 융합 단백질의 생성

하기 항-hCAIX hIL-12p40 융합 단백질을 표준 방법에 따라 생성하였다. 간략하게, 각각의 융합 단백질 변이체의 상이한 폴리펩티드 서열을 코돈 최적화하여 DNA 폴리뉴클레오티드 대응물을 획득하였으며, 이를 적합한 포유 동물 발현 플라스미드 내로 클로닝하였다. 각각의 플라스미드를 일시적으로 Expi-CHO-S 세포 내로 공동-형질감염시켰다. 형질감염된 세포를 제조업체의 프로토콜에 따라 적절하게 피딩하면서 7-10일 동안 성장시켰다. 세

포 배양물의 상청액을 수거하고, 단백질을 A 및 SEC 친화도 칼럼을 사용하여 융합 단백질을 정제하였다. 정제된 단백질을 적합한 완충제 중에 용리시키고, 후속적으로 작업 농도로 희석하였다. 일부 실험에서, 제조한 인간 IL-12 (rhIL-12) (알앤디 시스템즈(R&D systems) 10018-IL) 및 비표적화 Fc-hIL-12 융합 단백질 (서열식별번호: 384-385)을 포함하는 참조 구축물을 또한 평가하였다.

표 24는 생성된 융합 단백질의 hIL-12 폴리펩티드에 함유된 아미노산 변형의 설명을 제공한다.

표 24. hIL-12p40 변이체 및 대조군의 아미노산 서열

설명	hIL-12p40 아미노산 치환 (SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열에 대해 넘버링)	SEQ ID NO
BCA369	W37A	370-372
BCA370	F82A	371, 372, 373
BCA371	K217A	371, 372, 374
BCA372	K219A	371, 372, 375
BCA373	W37A, F82A	371, 372, 376
BCA374	W37A, K217A	371, 372, 377
BCA375	W37A, K219A	371, 372, 378
BCA376	F82A, K217A	371, 372, 379
BCA377	F82A, K219A	371, 372, 380
BCA378	K217A, K219A	371, 372, 381
BCA356	W37A/F82A/K219A	371, 372, 382
BCA351 (야생형 hIL-12)	없음	371, 372, 383

표 25는 생성된 각각의 융합 단백질의 아미노산 서열을 제공한다. 각각의 폴리펩티드 쇄의 신호 서열은 밑줄표시된다.

[0809]

표 25. hIL-12p40 변이체 및 대조군의 아미노산 서열

설명		SEQ ID NO	아미노산 서열
BCA369 항-hCAIX hIL-12	HC 노브 hIL-12p40	370	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVIYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGEVLSSHLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQEDSAC PAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIIRDI IKPDPPKLNQL KPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
	HC 홀 hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSS IYEDLKMYPVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISSLQSEDFAAAYCQQYRNPWTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNREGC
BCA370 항-hCAIX hIL-12	HC 노브 hIL-12p40	373	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[0810]

BCA371 항-hCAIX hIL-12	HC 홀 hIL-12p35	371	KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGSI WELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSE VLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLPIEVMVDAVHKLYENYTSFFFIRDIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMWSIRQAPEKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMQLKARQTLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSEFMALCLSSIEDLKMYPVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	HC 노브 hIL-12p40	374	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMWSIRQAPEKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGSI WELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLPIEVMVDAVHALKYENYTSFFFIRDIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS

[0811]

BCA372 항-hCAIX hIL-12	HC 홀 hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAEKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSTFITNGSCL ASRKTSFMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLIYASNNRYTGI PARFSGSGSGT EFTLT ISSLQSEDFAAYYCQQYRNY PWTFGGKTKEIKRTVAAP SVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
	HC 노브 hIL-12p40	375	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAEKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLPIEVMDAVHKLAYENYTSFFFIRDI IKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS
	HC 홀 hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAEKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR

[0812]

BCA373 항-hCAIX hIL-12			NLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISSLQSEDFAAAYCQQYRNPWTFGGKTVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
	HC 노브 hIL-12p40	376	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLVLSAINSDDGITYYLDTVKGRFT ISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTCCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVIYVVELDAYDPAGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLQDQSE VLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCCHKGEVLVSHSLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTITISTDLTFS VKSSRSGSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECCQEDSAC PAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSTFFIRDIKPDPPKLNQL KPLKNSRQVEVSWYEDTWTSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
	HC 홀 hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLVLSAINSDDGITYYLDTVKGRFT ISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTCCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISSLQSEDFAAAYCQQYRNPWTFGGKTVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC

[0813]

BCA374 항-hCAIX hIL-12	HC 노브 hIL-12p40	377	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVIYVELDAYPDAPGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSEVCQEDSAC PAAEESLPIEVMVDVAHALKYENYTSFFIIRDIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSWSEWASVPCS
	HC 홉 hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDGPMFPCLLHSSQNLLRAVSNMLQKARQTLFEYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSMFMMALCLSSYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARESGSGSGT EFTLTISLQSEDFAAAYCQQYRNPWTFGGKTKEIKRTVAAP SVFIFPPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
BCA375 항-hCAIX hIL-12	HC 노브 hIL-12p40	378	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI

[0814]

			WELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSFFFIRDI IKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
	HC 홀 hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSYEDLKMVQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVFPQKSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSANRYTGIPARESGSGSGT EFTLTISSLQSEDFAAAYCQQYRNPWTFGGKTVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEHKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
BCA376 항-hCAIX hIL-12	HC 노브 hIL-12p40	379	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGSI WELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSE VLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLPIEVMVDAVHALKYENYTSFFFIRDI IKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
	HC 홀 hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT

[0815]

			VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDDKKEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLNGLKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSTFITNGSCL ASRKTSTFMMALCLSSYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLIYASNNRYTGI PARFSGSGSGT EFTLT ISSLQSEDFAAAYCQQYRNY PWTFGGKTVEIKRTVAAP SVFI FPPSDEQLKSGTASVCLNNFY PREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
BCA377 항-hCAIX hIL-12	HC 노브 hIL-12p40	380	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAEKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDDKKEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLNGLKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVIYVVELDWY PDAPGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLQDSE VLGSGKTLTIQVKEAGDAGQY TCHKGGEVLSSHLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLP I EVMVDAVHKLAYENYTSFFI RDI IKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEY PDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
	HC 홀 hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAEKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDDKKEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLNGLKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSTFITNGSCL ASRKTSTFMMALCLSSYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL

[0816]

			DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISSLQSEDFAAAYCQQYRNYPWTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
BCA378 항-hCAIX hIL-12	HC 노브 hIL-12p40	381	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGS I WELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLPIEVMVDAVHALAYENYTSFFIIRDI IKPDPKPNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPDWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
	HC 홀 hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDGPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSEFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSYEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISSLQSEDFAAAYCQQYRNYPWTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
BCA356	HC 노브 hIL-12p40	382	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGT

[0817]

항-hCAIX hIL-12			SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDYYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSE VLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS VKSSRGSDDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSAC PAAEESLPIEVMVDVHKLAYENYTSFFIRDIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
	HC 홀 hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDGPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMQLKARQTLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSEFITNGSCL ASRKTSEMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISSLQSEDFAAAYCQYRNYPWTFGGKTKEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
BCA351 (야생형) 항-hCAIX hIL-12	HC 노브 hIL-12p40	383	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS

[0818]

Fc-IL-12 (WT)	HC 홀 hIL-12p35	371	VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQEDSAC PAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSFFFIRDIIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMWSIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGG LNPVATPDPGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSMFMALCLSSYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDPFYKTKIKLCIL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLIISASNRYTGIPAREFSGSGGT EFTLTISLQSEDFAAYYCQYRNPWTFGGKTKEIKRTVAAP SVFIIPPSEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKKHVVACEVTHQGL SSPVTKSFNREGC
	Fc-노브-링커 1-p40:	384	MMSFVSLLLVGILFHATQAEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDQVYVVELDWYPADPGEMVVLTCDEEDGKITWTLQ SSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTHKGGEVLSHSLLLHKKKE DGIWSTDILKDKQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQED SACPAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSFFFIRDIIKPDPPKN LQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKRE KKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS MMSFVSLLLVGILFHATQAEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCT TSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNG SCLASRKTSMFMALCLSSYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQ IFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDPFYKTKIKLC ILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
Fc-IL-12 (WT)	Fc-홀-링커 1-p35:	385	MMSFVSLLLVGILFHATQAEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCT TSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNG SCLASRKTSMFMALCLSSYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQ IFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDPFYKTKIKLC ILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS

[0819]

[0820]

표 25에서의 hIL-12p40 변이체를 포함하는 각각의 융합 단백질의 생물학적 활성을 (1) HEK-IL-12 리포터 세포주에서의 STAT4 신호전달의 활성화; (2) PHA 자극된 hPBMC에 의한 IFN- γ 방출; 및 (3) IL-2 프라이밍된 NK 세포에 의한 IFN- γ 방출에 대해 평가하였다. 각각의 검정 및 결과는 각각 실시예 4-7에 완전히 기재되어 있다.

[0821]

6.4 실시예 4. hIL-12p40 변이체 활성 - pSTAT4 신호전달의 평가

[0822]

표 25에 제시된 각각의 hIL-12p40 변이체의 hIL-12 수용체를 통한 신호전달을 HEK-블루™ 리포터 검정 (인비보젠 (#hkb-IL12))을 사용하여 평가하였다. 간략하게, 검정에 이용된 HEK-블루™ IL-12 세포는 STAT4-유도성 SEAP 리포터 유전자를 발현한다. HEK-블루™ IL-12 세포의 표면 상의 IL-12R에 대한 IL-12의 결합은 신호전달 캐스케이드를 촉발하여 STAT-4의 활성화 (및 인산화)와 후속 SEAP 리포터 단백질의 생산으로 이어진다. HEK-블루™ IL-12 세포의 상청액에서의 SEAP의 검출은 퀀티-블루(QUANTI-Blue)™ 용액을 사용하여 용이하게 평가될 수 있다. 여기서, HEK-블루 세포를 다양한 농도의 각각의 나타낸 hIL-12p40 변이체와 함께 세포 배양 플레이트에서 18-24시간 동안 인큐베이션하였다. 퀀티 블루 용액의 첨가 후에 플레이트를 판독하였다. hIL-12p40 변이체의 IL-12 활성이 도 9에 제시되고, 야생형 Fc-IL-12 대비 IL-12 활성의 배수 약화가 표 26에 제시된다.

표 26. Fc-IL-12 대조군 대비 hIL-12p40 변이체의 배수 약화

설명	표준 (EC50)	샘플 (EC50)	배수 약화 (Fc-IL-12 대조군 대비)
BCA371	0.021	0.035	2
BCA372	0.024	0.048	2
BCA378	0.022	0.102	5
BCA369	0.025	0.19	8
BCA370	0.022	0.401	18
BCA374	0.024	1.041	43
BCA373	0.021	4.344	207
BCA376	0.019	4.058	214
BCA375	0.024	7.662	319
BCA377	0.021	9.668	460
BCA356	0.018	131.4	7300

도 9 및 표 26에 제시된 바와 같이, BCA356은 단일 또는 이중 hIL-12p40 변이체와 비교하여 비교적 더 높은 약화 (7300배)를 나타냈다.

6.5 실시예 5. hIL-12p40 변이체 활성화 - PHA 자극된 PBMC에 의한 IFN- γ 방출의 평가

항원 제시 세포에 의해 분비된 IL-12는 STAT4의 인산화를 통한 IFN- γ 의 유도에 의해 활성화된 T-림프구의 이펙터 기능을 자극하여 항종양 면역 반응을 강화시킨다 (예를 들어, 문헌 [Tugues, S et al. "New insights into IL-12-mediated tumor suppression." Cell death and differentiation vol. 22,2(2015): 237-46. doi:10.1038/cdd.2014.134] 참조). 각각의 hIL-12p40 변이체의 존재 하에 자극된 T-세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 평가하였다. 간략하게, hPBMC를 96 웰 플레이트에 십만개 세포/웰로 시딩하고, 100 μ l의 부피의 PHA (1 μ g/ml)로 밤새 자극하였다. 다음 날, PHA를 적정 농도의 나타낸 hIL-12p40 변이체와 함께 동일한 농도로 다시 첨가하였다. 후속적으로 세포를 37°C에서 5% CO₂ 인큐베이터에서 ~48시간 동안 인큐베이션하였다. 표준 IFN- γ ELISA에 의해 배양 상청액에서 IFN- γ 를 측정하였다 (도 10a-10f). 도 10a에 제시된 바와 같이, hIL-12p40 변이체 BCA356은 야생형 IL-12 (BCA351) 및 재조합 인간 IL-12 (rhIL-12)와 비교하여 T-세포 활성화에서 고도로 약화된다.

6.6 실시예 6. hIL-12p40 변이체 활성화 - hIL-2 프라이밍된 인간 NK 세포에 의한 IFN- γ 방출의 평가

IL-12는 NK 세포를 자극하여 IFN- γ 를 분비하고, 그의 증식 및 세포용해 활성을 증대시킨다 (예를 들어, 문헌 [Glassman, Caleb R et al. "Structural basis for IL-12 and IL-23 receptor sharing reveals a gateway for shaping actions on T versus NK cells." Cell vol. 184,4 (2021): 983-999.e24. doi:10.1016/j.cell.2021.01.018] 참조). NK 세포로부터 방출된 IFN- γ 의 수준을 평가하기 위해, hPBMC를 10% HI-FBS 및 100IU/ml hIL-2를 함유하는 RPMI 1640에서 해동시켰다. 밤새 인큐베이션한 후, 세포를 수거하고, NK 세포를 음성 선택에 의해 풍부화하였다. NK 세포를 적정 농도의 hIL-12와 함께 50,000개 세포/웰로서 시딩하고, 37°C에서 5% CO₂ 하에 ~48시간 동안 인큐베이션하였다. 표준 IFN- γ ELISA에 의해 배양 상청액에서 IFN- γ 를 측정하였다 (도 11a-11b). 도 11a에 제시된 바와 같이, hIL-12p40 변이체 BCA356은 야생형 IL-12 (BCA351) 및 rhIL-12와 비교하여 NK 세포 활성화에서 고도로 약화된다.

6.7 실시예 7. hIL-12p40 변이체 활성화의 요약

실시예 3-7에 제시되고 표 27에 요약된 데이터는 hIL-12p40 변이체 BCA356이 야생형 IL-12 (실시예 4)와 비교하여 ~7000x 약화되고, NK (실시예 6) 및 T 세포 (실시예 5) 활성화에서 고도로 약화된다는 것을 보여준다. 그러나, 단일 또는 이중 아미노산 치환을 함유하는 hIL-12p40 변이체는 유사하게 약화되지 않았다 (예를 들어, 표 27 참조). 따라서, hIL-12p40 변이체 BCA356의 특유한 기능적 속성은 모든 3개의 치환 W37A, F82A 및 K219A의 특유한 조합으로 인한 것이다.

[0832] 표 27. hIL-12p40 변이체의 기능적 분석의 요약

		HEK-IL12 리포터 검정	NK 세포에 의한 IFN γ 방출	PHA 자극된 PBMC에 의한 IFN γ 방출
설명	아미노산 치환(들)	약화	*약화의 수준	
BCA371	K217A	2	+	+
BCA372	K219A	2	+	+
BCA378	K217A, K219A	5	++	+
BCA369	W37A	7.6	++	+
BCA370	F82A	18	++	+
BCA374	W37A, K217A	43	++	++
BCA373	W37A, F82A	207	++	++
BCA376	F82A, K217A	214	+++	++
BCA375	W37A, K219A	319	+++	++
BCA377	F82A, K219A	460	+++	+++
BCA356	W37A, F82A, K219A	7300	+++	+++

[0833]

[0834] * 곡선 내 이동에 기초하여 수행된 정성적 순위화, 여기서 +, ++, +++는 야생형 hIL-12와 비교하여 낮은, 중간 및 높은 약화를 나타냄.

[0835] 6.8 실시예 8. 항-CAIX hIL-12 변이체 융합 단백질은 시험관내 약화된 활성을 나타낸다

[0836] 하기 항-hCAIX hIL-12 융합 단백질을 표준 방법에 따라 생성하였다. 간략하게, 각각의 hIL-12p40 변이체의 상이한 폴리펩티드 서열을 코돈 최적화하여 DNA 폴리뉴클레오티드 대응물을 획득하였으며, 이를 적합한 포유동물 발현 플라스미드 내로 클로닝하였다. 각각의 플라스미드를 일시적으로 Expi-CHO-S 세포 내로 공동-형질감염시켰다. 형질감염된 세포를 제조업체의 프로토콜에 따라 적절하게 피딩하면서 7-10일 동안 성장시켰다. 세포 배양물의 상청액을 수거하고, 단백질 A 및 SEC 친화도 칼럼을 사용하여 hIL-12p40 단백질을 정제하였다. 정제된 단백질을 적합한 완충제 중에 용리시키고, 후속적으로 작업 농도로 희석하였다. 일부 실험에서, 재조합 인간 IL-12 (rhIL-12) (알앤디 시스템즈 10018-IL)를 포함하는 참조 구축물을 또한 평가하였다. 생성된 각각의 항-CAIX hIL-12 융합 단백질뿐만 아니라 대조군 항-디프테리아 독소 (DT) hIL-12 항체 융합체의 아미노산 서열이 표 28에 제시된다. 각각의 폴리펩티드의 신호 서열은 밑줄표시된다.

[0837]

표 28. 항-hCAIX hIL-12 융합 단백질의 아미노산 서열

설명		아미노산 서열	SEQ ID NO
BCA313 (Fc-IL-12)	Fc 노브-hIL-12p40	MMSFVSLLLVGILFHATQAEFKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGIWELEKDDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCCHKGEVLSSHLLHKKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTLRCEAKNYSGRFTCWWTITSTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKEDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	386
	Fc 홈-hIL-12p35	MMSFVSLLLVGILFHATQAEFKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGSRNLPVATPDPMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFPCYPC TSEEDHEDITKDKTSTVEACPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	387
BCA350 (인간화 항-CAIX)	항-CAIX HC 노브	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLVSAINS DGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	388
	항-CAIX HC 홈	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLVSAINS DGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	389

[0838]

	항-CAIX LC	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISLQSEDFAAYYCQQYRNPWTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNREGC	372
BCA351 (야생형)	항-CAIX HC 노브- hIL-12p40	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLLELSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDQVYVVELDWYDPAGEMVLTCTDTEEDGITWTLQDSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTHKGGVELSHSLLLHKKEDGI WSTDILKDKQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTITISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSAC PAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSFFIRDI IKPDP PKNLQL KPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKRD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	383
	항-CAIX HC 홀-hIL- 12p35	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLLELSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSMFMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMALAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	371
	항-CAIX LC	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISLQSEDFAAYYCQQYRNPWTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNREGC	372
BCA356	항-CAIX HC 노브- hIL-12p40	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLLELSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI	382

[0839]

BCA380		CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS	
	항-CAIX HC 홀-hIL- 12p35	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPEKRELELVSAINDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSRNLPVATPDGMFPCLLHHSQNLRAVSNMLQKARQTFLEFPCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSMFMAALCSSLIYEDLKMYQVEFKTMNAKLMLDPKRQIFLDQNLMAVIDELMQALNFNSETVPQKSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	371
	항-CAIX LC	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAAAYCQQYRNPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	372
	항-DT HC 노브-hIL- 12p40	MMSFVSLLLVGILFHATQAVQLQSGPGPAKPSQTLSTCAISGDSVSSDSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRYYRSTWYRDYAPSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYCARDKDSFESNGSLYTAKKMGFDPWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGGGSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFI	390

[0840]

BCA382		RDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTF CVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSS SWSEWASVPCS	
	항-DT HC 홀-hIL- 12p35	MMSFVSLLLVGILFHATQAQVQLQQSGGPAKPSQTLSTCAIS GDSVSSDSAAWNWIHQSPSRGLEWLGRTYYRSTWYRDYAPSVKS RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDKDSFESNGSLY TAKKMGFDPWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGG GGSGGGGGGGGSRNLPVATPDPGMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQ KARQTLFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCL NSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSIYEDLKMYQVEFKTM NAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSLEE PDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	391
	항-DT LC	MMSFVSLLLVGILFHATQAETTLTQSPGTLSPGERATLSCRA SQSVRSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPERFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGQGTREIKRTVAA PSVFI'FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	392
BCA382	항-DT HC 노브-hIL- 12p40	MMSFVSLLLVGILFHATQAQVQLQQSGGPAKPSQTLSTCAIS GDSVSSDSAAWNWIHQSPSRGLEWLGRTYYRSTWYRDYAPSVKS RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDKDSFESNGSLY TAKKMGFDPWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGG GGSGGGGGGGGSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVLTCDTP EEDGITWTLDSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVL SHSLLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNK EYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSFFI RDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTF CVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSS SWSEWASVPCS	393
	항-DT HC 홀-hIL- 12p35	MMSFVSLLLVGILFHATQAQVQLQQSGGPAKPSQTLSTCAIS GDSVSSDSAAWNWIHQSPSRGLEWLGRTYYRSTWYRDYAPSVKS RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDKDSFESNGSLY TAKKMGFDPWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV	391

[0841]

		KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGG GGSGGGGGGGGSRNLPVATPDPGMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQ KARQTLFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCL NSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSIYEDLKMYQVEFKTM NAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSLEE PDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	
	항-DT LC	MMSFVSLLLVGILFHATQAETTLTQSPGTLSPGERATLSCRA SQSVRSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPERFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGQGTREIKRTVAA PSVFI'FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	392

[0842]

[0843]

표 28에서의 각각의 단백질의 생물학적 활성을 HEK-IL-12 리포터 검정을 사용하여 제조업체의 지침서 (인비보젠)에 따라 평가하였다. 간략하게, HEK-블루™ IL-12 세포 (인비보젠 (hkb-IL-12))는 인간 IL-12 수용체 (hIL-12R) 및 hIL-12 신호전달 경로를 코딩하는 폴리뉴클레오티드로 안정하게 형질감염된 HEK 세포이며, STAT4-유도성 SEAP 리포터 유전자를 발현한다. HEK-블루™ IL-12 세포의 표면 상의 IL-12R에 대한 IL-12의 결합은 신호전달 캐스케이드를 촉발하여 STAT-4의 활성화 (및 인산화)와 후속 SEAP의 생산으로 이어진다. HEK-블루™ IL-12 세포의 상청액에서의 SEAP의 검출은 퀀티-블루™ 용액을 사용하여 용이하게 이루어질 수 있다. 여

기서, 대략 50,000개의 HEK-블루™ IL-12 세포 (인비보젠 (hkb-IL-12))를 96-웰 플레이트에 플레이팅하고, 밤새 인큐베이션하고 (37℃, 5% CO₂), 이어서 18-24시간 동안 나타난 구조물로 처리하였다. IgG-대조군 구조물은 항-디프테리아 독소 항체 SEAP였으며, 퀀티-블루™ 용액을 제조업체의 지침서에 따라 사용하여 각각의 배양물의 상청액에서 검출하였다.

[0844] 도 12에 제시된 바와 같이, BCA356 IL-12 활성은 BCA351 (야생형 IL-12 융합체)과 비교하여 대략 7000배만큼 약화되었다. 보고된 값은 3회의 독립적 실험의 평균이다.

[0845] 6.9 실시예 9. 항-CAIX hIL-12 변이체 융합 단백질은 시험관내 T-세포 활성화를 매개한다

[0846] 항원 제시 세포에 의해 분비된 IL-12는 STAT4의 인산화를 통한 IFN- γ 의 유도에 의해 활성화된 T-림프구의 이펙터 기능을 자극하여 항종양 면역 반응을 강화시킨다 (예를 들어, 문헌 [Tugues, S et al. "New insights into IL-12-mediated tumor suppression." Cell death and differentiation vol. 22,2(2015): 237-46. doi:10.1038/cdd.2014.134] 참조). 각각의 항-CAIX hIL-12 융합 단백질의 존재 하에 자극된 T-세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준을 평가하였다. 간략하게, hPBMC를 96 웰 플레이트에 십만개 세포/웰로 시딩하고, 100 μ l의 부피의 PHA (1 μ g/ml)로 밤새 자극하였다. 후속적으로, PHA를 적정 농도의 나타난 구조물과 함께 1 μ g/ml의 동일한 농도로 다시 첨가하고, 37℃에서 5% CO₂ 하에 ~48시간 동안 인큐베이션하였다. 표준 IFN- γ ELISA에 의해 배양 상청액에서 IFN- γ 의 수준을 측정하였다. 도 13에 제시된 바와 같이, 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356의 존재 하에서, 활성화된 T 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준은 재조합 hIL-12 및 BCA351의 존재 하에서보다 더 낮았다.

[0847] hIL-12의 그의 수용체 복합체에 대한 결합은 STAT4의 인산화 (pSTAT)를 자극하며, 이는 핵으로 전위되어 IFN- γ 유전자 전사를 촉진한다 (예를 들어, 문헌 [Teng, Michele W L et al. "IL-12 and IL-23 cytokines: from discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory diseases." Nature medicine vol. 21,7 (2015): 719-29. doi:10.1038/nm.3895] 참조). 각각의 항-CAIX IL-12 융합 단백질로 처리된 세포에서의 pSTAT4의 수준을 평가하였다. 간략하게, hPBMC를 플레이트 코팅된 항-CD3 (2.5 μ g/mL) 및 가용성 항-CD28 (5 μ g/mL) 항체로 48시간 동안 활성화시키고, 활성화 후에 밤새 휴식시켰다. 휴식 후, 세포를 항-인간 CD45RA, CD4, CD8, CD25 항체로 30분 동안 염색하고, 이어서 나타난 농도의 rhIL-12, BCA351, BCA356 또는 BCA313과 함께 20분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 세포를 고정시키고, 투과화시키고, 항-pSTAT4 항체로 염색하였다. 도 15에 제시된 판독치는 pSTAT4 발현 CD45RA⁻ CD8⁺ CD25⁺ 세포의 퍼센트 빈도이다. 도 15에 제시된 바와 같이, BCA356의 존재 하에서, 활성화된 CD8⁺ T-세포에 의해 발현된 pSTAT4의 수준은 재조합 hIL-12 또는 BCA351의 존재 하에서보다 더 낮았다.

[0848] 6.10 실시예 10. 항-CAIX hIL-12 변이체 융합 단백질은 시험관내 NK 세포 활성화를 매개한다

[0849] IL-12는 NK 세포를 활성화시켜 IFN- γ 를 분비하고, 그의 증식 및 세포용해 활성을 증대시킨다 (예를 들어, 문헌 [Glassman, Caleb R et al. "Structural basis for IL-12 and IL-23 receptor sharing reveals a gateway for shaping actions on T versus NK cells." Cell vol. 184,4 (2021): 983-999.e24. doi:10.1016/j.cell.2021.01.018] 참조). 각각의 항-CAIX hIL-12 융합 단백질로 처리된 NK 세포로부터 방출된 IFN- γ 의 수준을 평가하였다. 간략하게, hPBMC를 10% HI-FBS 및 100IU/ml IL-2를 함유하는 RPMI 1640에서 배양하였다. 밤새 인큐베이션 (37℃, 5% CO₂)한 후, 세포를 수거하고, NK 세포를 음성 선택에 의해 풍부화하였다. NK 세포를 적정 농도의 나타난 구조물과 함께 96 웰 플레이트에 50,000개 세포/웰로 시딩하였다. 세포를 37℃ 5% CO₂에서 ~48시간 동안 인큐베이션하였다. 표준 IFN- γ ELISA에 의해 배양 상청액에서 IFN- γ 의 수준을 측정하였다. 도 14에 제시된 바와 같이, 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356의 존재 하에서, 활성화된 T 세포에 의해 방출된 IFN- γ 의 수준은 재조합 hIL-12 및 BCA351의 존재 하에서보다 더 낮았다.

[0850] 6.11 실시예 11. 항-CAIX hIL-12 변이체 융합 단백질은 시험관내 상당한 세포독성 및 감소된 시토카인 방출을 나타낸다

[0851] 위암 SNU16 세포 및 활성화된 hPBMC를 포함하는 공동-배양 검정을 사용하여 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356에 의한 실시간 종양 사멸을 평가하였다. 간략하게, CAIX 과다발현 SNU16 암 세포를 렌티바이러스 형질도입을 사용하여 누클라이트 그린으로 표지하였다. 표지된 SNU16 세포를 96웰 플레이트에 5,000개 세포/웰로, 50,000개 세포/웰의 hPBMC와 함께 1:10의 표적(T):이펙터(E) 비로 시딩하였다. hPBMC를 적정 농도의 나타난 구조물과

함께 0.5pg/ml의 SEB (스타필로코쿠스 아우레우스 장독소 B)로 활성화시켰다. 플레이트를 37℃에서 5% CO₂ 하의 인큐사이트(IncuCyte) S3® (에센 바이오사이언스(Essen BioScience)) 인큐베이터에 넣고, 5일 (120시간) 동안 영상화하였다. 형광 신호의 증가는 표적 세포 증식에 상응하고, 형광 신호의 감소는 표적 세포 사멸에 상응한다. % 사멸을 = {(항체/T+E+SEB를 사용한 특정 시점에서의 신호 강도) * 100}으로서 계산하였다. 도 16에 제시된 바와 같이, 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356은 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA351과 비교하여 유사한 세포독성을 나타냈으며, 이는 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356에 의한 감소된 T-세포 활성화가 종양 세포 사멸 활성화에 영향을 미치지 않는다는 것을 시사한다. BCA356은 아마도 CA-IX 표적화로 인해 BCA313에 비해 개선된 세포독성을 나타냈다.

[0852] 추가로, 활성화된 T 세포는 T-세포 트래픽킹, 활성화 및 항종양 면역 반응을 돕는 케모카인 및 시토카인을 분비한다. 나타난 구축물로의 처리 후 24시간, 72시간 및 120시간에 인간 시토카인 루미넥스 검정 (44-플렉스 키트)을 사용하여 시토카인 생산을 평가하였다. 주요 시토카인의 선택에 사용된 기준은 다음과 같았다: 24시간에 인간 IgG에 비해 BCA351의 2배 증가 및 BCA351에 비해 BCA356의 ≥20% 감소. 24시간에 선택된 시토카인/케모카인을 72시간 및 120시간 시점에 걸쳐 비교하였다. 도 17a-h에 제시된 바와 같이, 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356은 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA351 및 rhIL-12와 비교하여 그랜자임-B, IFN-γ, TNF α, IL-10, Flt3-L, GM-CSF, MIP-3 및 CD40-L의 제한된 방출을 나타냈다.

[0853] **6.12 실시예 12. 항-CAIX hIL-12 변이체 융합 단백질은 시험관내 표적 세포의 NK 세포 매개된 세포독성을 나타낸다**

[0854] NK 세포-기반 종양 사멸 활성을 강화시키는 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356의 능력을 평가하였다. 간략하게, HCT116 결장암 세포를 hCAIX로 형질감염시키고, 초저 부착 96 웰 플레이트에 5,000개 세포/웰로 시딩하고, 96시간 동안 3D 타원체가 형성되도록 하였다. 이들 타원체를 20 nM 농도의 나타난 구축물로 처리하고, 1-2시간 동안 인큐베이션한 후, IL-2 프라이밍 및 풍부화된 NK 세포를 1:5의 T:E 비로 첨가하였다. 약어 G250은 항-hCAIX 항체 기린톡시맵을 나타낸다. 세포 (공동배양물)를 24시간 동안 인큐베이션하고, 사멸 세포의 프로테아제를 측정하는 시토크스글로(CytoToxGlo)® 시약을 사용하여 종양 사멸을 평가하였다. 세포독성을 hIgG 대비 구축물의 상대 발광 강도 (RLU)의 배수 변화로서 계산하였다. 도 18에 제시된 바와 같이, 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356은 hCAIX 과다발현 HCT116 세포의 NK 세포 매개된 사멸을 나타낸 반면, FcIL-12 융합 단백질 BCA313은 아마도 구축물의 CAIX 표적화의 결여로 인해 그렇지 않았다. BCA356은 IL-12v와의 조합으로 인해 G250보다 표적 세포의 우수한 NK 세포 매개된 사멸을 나타냈다.

[0855] **6.13 실시예 13. 항-CAIX hIL-12 변이체 융합 단백질은 폐암 모델에서 시험관내 세포독성을 나타낸다**

[0856] A549 폐암 모델의 세포독성을 매개하는 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356의 능력을 평가하였다. 간략하게, A549 폐암 세포를 eGFP 및 CAIX-eGFP 융합 단백질 (CAIX의 C-말단에 융합된 eGFP)을 코딩하는 플라스미드로 안정하게 형질감염시켰다. eGFP-CAIX를 발현하는 단일 세포 클론을 퓨로마이신 저항성에 기초하여 선택하고, 유동 세포측정법에 의해 특징화하였다. eGFP-CAIX 발현을 보여주는 대표적인 히스토그램 및 도트 플롯이 도 19에 제시된다.

[0857] 상기 생성된 A549 CAIX-eGFP 발현 세포를 U-바닥 96-웰 ULA 플레이트에 시딩하고, 4일 동안 인큐베이션하여 타원체를 형성하였다. 제4일에, α-CD3 및 α-CD28 항체 (1 μg/ml 밤새) 자극된 PBMC (1:10의 T:E) 및 나타난 구축물을 타원체 배양물에 첨가하고, 72시간 동안 인큐베이션하였다. 후속적으로, 시테이션 5 영상화기를 사용하여 명시야 및 형광 영상을 포착하였으며, 대표적인 영상이 도 20에 제시된다. 각각의 군으로부터의 단일 eGFP 타원체를 이미지 J 소프트웨어를 사용하여 정량화하고, 테이터를 도 21a (A549 세포주 eGFP 강도 밀도) 및 도 21b (세포독성 - IgG 처리된 타원체를 100% 생존율로 간주하여 계산됨)에 제시하였다. 도 21a-21b에 제시된 바와 같이, eGFP-CAIX 발현 A549 타원체 모델에서 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356 (20 nM)은 BCA382 (비-표적화 IgG-약화 IL-12 융합 단백질) 또는 BCA313 (비-표적화 Fc-약화 IL-12 융합 단백질)과 비교하여 비교적 더 높은 세포독성을 갖는다.

[0858] **6.14 실시예 14. 항-CAIX hIL-12 변이체 융합 단백질은 결장암 모델에서 제한된 독성으로 생체내 종양 성장을 억제한다**

[0859] 결장암 치료에서의 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356의 효능을 HCT116-hCAIX 종양 모델을 사용하여 평가하였다. 간략하게, 대략 5백만개의 hCAIX 형질감염된 HCT116 세포를 NSG 마우스 내로 피하로 주사하였다. 종양이 축적가능하였을 때, 약 1천만개의 hPBMC를 각각의 마우스에 정맥내로 주사하였다. 종양이 약 100 mm³였을 때,

마우스를 시험군 및 대조군으로 무작위화하고, 하기 구축물: 비히클 대조군 (포스페이트 완충 염수 (PBS)), BCA351 (0.3 mg/kg), BCA356 (3 mg/kg) 또는 BCA313 (1.69 mg/kg, 등물 용량) 중 하나로 1주 2회 복강내로 처리하였다. 종양 부피, 체중 및 임상 징후를 1주 2회 측정하였다. 값을 군당 6마리 마우스의 평균 $\pm$ SEM으로 표현하였다 (표 29 및 도 22).

표 29. 종양 성장 억제 및 마우스의 사멸

시험 구축물	%TGI (평균 $\pm$ SD)	%체중 변화	사멸 제17일
BCA351	30 $\pm$ 31	-20	2/6
BCA356	26 $\pm$ 21	-14	0/6
BCA313	16 $\pm$ 26	-13	0/6

표 29 및 도 22에 제시된 바와 같이, 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356은 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA351 (야생형 hIL-12 융합체)과 대등한 종양 성장 억제 (각각 26% 및 30%)를 나타냈지만, 비-표적화 Fc-IL-12 (BCA313)는 BCA351 또는 BCA356과 비교하여 감소된 TGI (16%)를 나타냈다. 제17일에 BCA351 처리군에서는 2마리의 마우스가 사멸한 것으로 발견된 반면, BCA356 또는 BCA313 처리군에서는 어떠한 마우스도 사멸하지 않았다. 따라서, 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356은 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA351만큼 효과적이지만, 감소된 독성을 갖는다. 연구는 GvHD의 발병으로 인해 3회 용량 초과로 연장될 수 없었다.

6.15 실시예 15. 항-CAIX hIL-12 변이체 융합 단백질은 흑색종 모델에서 제한된 독성으로 생체내 종양 성장을 억제한다

흑색종 치료에서의 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356의 효능을 인간 CAIX를 발현하는 B16F10 동종이식편을 보유하는 hIL-12 및 hIL-12 수용체 녹-인 트랜스제닉 마우스 모델에서 평가하였다. 간략하게, 약 십만개의 hCAIX 발현 B16F10 세포를 피하로 트랜스제닉 마우스에 피하로 주사하였다. 종양이 약 80 mm³였을 때, 마우스를 시험군 및 대조군으로 무작위화하고, 하기 구축물: 비히클 대조군 (PBS), BCA356 (1 mg/kg) 또는 등가 용량의 BCA313 (0.5 mg/kg) 중 하나로 1주 2회 복강내로 처리하였다. 종양 부피, 체중 및 임상 징후를 1주 2회 측정하였다. 값을 군당 6마리 마우스의 평균 $\pm$ SEM으로 표현된다 (표 30 및 도 23).

표 30. 종양 성장 억제 및 마우스의 사멸

시험 구축물	%TGI (평균 $\pm$ SD)	%체중 변화	사멸 제9일
BCA356	55 $\pm$ 42	4	0/6
BCA313	11 $\pm$ 69	9	1/6

표 30 및 도 23에 제시된 바와 같이, 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356은 BCA313과 비교하여 더 높은 효능의 경향을 나타냈다 (각각 55% 및 11%). 제9일에 BCA313 처리군에서는 1마리의 마우스가 사멸한 것으로 발견된 반면, BCA356 처리군에서는 어떠한 마우스도 사멸하지 않았다. 따라서, 항-CAIX hIL-12 융합 단백질 BCA356은 트랜스제닉 모델에서 효과적이고 안전하다.

6.16 실시예 16. 정상 및 암 조직에서의 CAIX 발현

인간 정상 및 암 조직에서의 인간 CAIX의 발현 수준을 면역조직화학에 의해 분석하였다. 간략하게, 다수의 종양 조직 유형을 갖는 종양 마이크로어레이 (TMA) 상의 포르말린 고정 파라핀 포매 (FFPE) 4-마이크로미터 종양 조직 절편에서의 CAIX 단백질 발현을 벤타나 벤치마크(Ventana Benchmark) XT 플랫폼 상에서 항-CAIX 항체 [제네텍스(Genetex) (TH22)]를 사용하여 면역조직화학 (IHC)에 의해 평가하였다. 각각의 TMA로부터 포착된 디지털 영상을 셀프로파일러(CellProfiler)TM를 사용하여 분석하고, 각각의 코어 내의 종양 영역을 병리학자가 관심 영역 (ROI)으로서 주석달았다. 종양 세포 막에 대한 CAIX 염색의 강도를 얻기 위해 조정된 막 알고리즘을 사용하여 각각의 코어에 대한 ROI를 분석하였다. 디지털 한계값은 픽셀 염색을 0+ (음성), 1+ (약함), 2+ (중간) 및 3+ (강함)로 나누었다. 하기 식을 사용하여 각각의 카테고리에서의 ROI 염색의 백분율을 사용하여 각각의 코어에 대한 최종 H-점수를 계산하였다: H-점수 = (1 X %1+) + (2 X %2+) + (3 X %3+) (최대 H-점수 = 300).

도 24a 및 24b에 제시된 바와 같이, 면역조직화학적 분석은 CAIX 발현이 정상 방광, 결장, 자궁경부, 신장 및 뇌 조직에 부재하고 (도 24a 상부 패널); 막 CAIX 발현이 상이한 고형 종양 유형에 존재한다는 것 (도 24a 하부 패널, 도 24b)을 밝혀냈다. 상이한 암 유형의 환자들의 평가는 저 (H 점수=1-100), 중 (101-200) 및 고 (201-300)로 카테고리화되는 가변적인 CAIX 발현을 밝혀낸다 (도 24b). 높은 CAIX-발현 사례가 신세포 암종,

방광암, 결장직장암, 소장암, 식도/GEJ 암, 교모세포종, 자궁경부암, 위암, 비소세포 폐암 및 위장 기질 종양에서 관찰된다 (도 24a-24b). CAIX 발현은 ER+ 유방암, 비-호지킨 림프종 및 미만성 대 B-세포 림프종에서 부재하는 것으로 나타났다 (도 24b).

[0871] **6.17 실시예 17. CAIX-발현 종양에서의 림프구 침윤**

[0872] CAIX-발현 종양에서의 림프구 침윤의 수준을 종양 조직 코어의 헤마톡실린 & 에오신 (H&E) 염색을 사용하여 평가하였다. 도 25a 및 25b에 제시된 바와 같이, 상이한 H&E-염색된 종양 조직 코어에서, 이질적 밀도의 림프구 침윤 [부재 (0), 저 (1-199), 중 (200-499) 및 고 (≥ 500)]이 관찰되었다 (도 25a-25b). CAIX-발현 종양 중에서, 분석은 신세포 암종, 방광암, 결장직장암, 식도/GEJ 암, 위장 기질 종양, 교모세포종, 육종, 소세포 폐암, 흑색종 및 난소암에서 저밀도 림프구 침윤을 밝혀냈다 (도 25c). 추가로, 소장암, 위암, 자궁경부암, 비소세포 폐암, 삼중 음성 유방암 및 두경부암에서 중밀도의 림프구 침윤이 관찰되었다 (도 25c).

[0873] **6.18 실시예 18. 결장직장 선암종에서의 CA9, IL12RB1 및 IL12RB2의 세포 특이적 발현**

[0874] 인간 암 조직에서 CA9, IL12RB1 및 IL12RB2를 발현하는 세포의 유형을 인간 결장직장 선암종 조직의 공개된 단일 세포 RNA-서열분석 데이터를 분석함으로써 평가하였으며, 문헌 [Zhang, Lei et al. "Single-Cell Analyses Inform Mechanisms of Myeloid-Targeted Therapies in Colon Cancer." Cell vol. 181,2 (2020): 442-459.e29. doi:10.1016/j.cell.2020.03.048] (이의 전체 내용은 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨)을 참조한다. 도 26a-26d에 제시된 바와 같이, 본원에 제시된 대표적인 예인, 치료 나이브 결장직장 선암종 환자 (n=10)로부터의 10468개 세포의 단일 세포 RNA-서열분석 분석은 CD4+ T 세포 (30.02%), CD8+ T 세포 (22.97%), 골수 세포 (16.33%), B 세포 (9.47%), 선천성 림프성 세포 (9.10%), 상피 세포 (8.22%), 악성 세포 (2.57%) 및 섬유모세포 (1.32%)를 포함한 8종의 상이한 세포 클러스터를 확인하였다 (도 26a 및 26b). 상이한 세포 유형 중에서, CA9 발현은 악성 세포 (32.7%)에서 현저하게 관찰된 반면, 그의 발현은 모든 면역 세포 유형에서 부재하였다 (도 26b 및 26c). IL12RB1의 광범위한 발현이 CD4+ (57.4%), CD8+ (55%) T 세포 및 선천성 림프성 세포 (53.3%)에서 관찰되었다 (도 26b 및 26c). IL12RB2 발현은 CD4+ (39%) 및 CD8+ (33.5%) T 세포에서 관찰되었다 (도 26b 및 26c). 추가의 분석은 IL12RB1 및 IL12RB2의 공동-발현이 25.23%의 CD4+ 및 19.37%의 CD8+ T 세포에 존재한다는 것을 밝혀냈다 (도 26d).

[0875] 추가로, 위 선암종, 교모세포종, 두경부암, 폐암, 흑색종, 비인두 암종 및 난소암 환자에 대한 공중 데이터베이스로부터의 단일 세포 RNA-서열분석으로부터의 데이터의 분석은 악성 상피 세포에서 현저한 CA9 발현을 밝혀냈다. IL12RB1은 다수의 세포 유형에서 구성적으로 발현되며 T 세포, NK 세포, 선천성 림프성 세포 및 골수 세포에서 현저하게 발현되는 것으로 결정되었다. IL12RB1 발현과 비교하여, IL12RB2 발현은 더 낮은 백분율의 T 세포 및 NK 세포에서 관찰되었다. 종양 유형에 걸쳐, 매우 낮은 백분율의 종양 세포가 CAIX, IL12RB1 및 IL12RB2 전사체를 공동-발현한다.

[0876] **6.19 실시예 19. 요약 - 변이체 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함하는 hIL-12 단백질의 약화**

[0877] 표 31은 실시예 4-18에 기재된 검정 중 하나 이상에 의해 평가된 바와 같은, 본원에 기재된 상이한 변이체 hIL-12p40 폴리펩티드를 포함하는 hIL-12 단백질의 약화의 요약을 제공한다.

표 31. hIL-12p40 변이체를 포함하는 hIL-12 단백질의 약화의 요약

설명	HEK IL-12 리포터 검정 (EC50의 비)	PBMC 검정 (PHA-자극됨) 16.9nM에서의 퍼센트 감소	풍부화된 NK 세포 검정- 16.9nM에서의 퍼센트 감소	PSTAT (CD8) 유동 세포측정법- 16.9nM에서의 퍼센트 감소	변형
BCA331.16 (BCA356)	7300.00 (+++)	70.16 (++++)	86.95 (++++)	91.07 (++++)	W37A, F82A, K219A
BCA327.16	9566.00 (+++)	69.34 (++++)	82.88 (++++)	88.19 (+++)	E81A, F82A, K106A
BCA310.16	22740.00 (+++++)	77.04 (+++++)	97.73 (+++++)	98.81 (+++++)	D1 도메인 결실됨
BCA313 (양성 대조군)	4996.00 (+++)	68.66 (++++)	70.16 (+++)	82.50 (+++)	E81K, K121E, K286E
BCA330.16	107.00 (+)	61.98 (+++)	40.98 (++)	NT	W37A, F82A, K217A
BCA329.16	4686.00 (+++)	54.17 (++)	73.31 (+++)	72.86 (++)	P39A, D40A, E81A, F82A
BCA321.16	6594.00 (+++)	74.35 (+++++)	93.45 (+++++)	93.87 (++++)	K217- L218에서 217I로
BCA332.16	141.00 (+)	45.85 (+++++)	NT	NT	K106A, K217A, K219A
BCA326.16	374.00 (+)	34.31 (+)	-13.81 (약화 없음)	50.24 (+)	E81A, F82A

최소 약화는 "+"로 표시되는 반면, 최대 약화는 "++++"로 표시된다. NT는 시험되지 않았음을 나타낸다.

hIL-12p40 서브유닛에 F82A 또는/및 E81A 아미노산 치환을 포함하는 hIL-12 변이체는 hIL-12 약화에 대한 드라 이버 돌연변이가 아니라는 것을 시사한다. 예를 들어, E81A/F82A (BCA326.16)는 최소로 약화된 반면, BCA329.16은 중간 정도로 약화된다. W37A, F82A, K219A 아미노산 치환을 포함하는 hIL-12p40 서브유닛을 포함 하는 hIL-12 단백질 (BCA331.16 (본원에서 BCA356으로도 또한 지칭됨))은 W37A, F82A, K217A 아미노산 치환을 함유하는 것 (BCA330.16)보다 더 약화되며, 이는 예상외로 아미노산 위치 K219에 대한 결정적인 역할을 시사하 는 한편, E81A, F82A, K106A의 상이한 클러스터 (BCA327.16)는 (BCA331.16 (본원에서 BCA356으로도 또한 지칭 됨))과 유사하다.

6.20 실시예 20. 변이체 hIL-12p35 단백질을 포함하는 항-CAIX 융합 단백질의 생성

하기 항-hCAIX hIL-12 융합 단백질을 표준 방법에 따라 생성하였다. 간략하게, 각각의 hIL-12p35 변이체의 상 이한 폴리펩티드 서열을 코돈 최적화하여 DNA 폴리뉴클레오티드 대응물을 획득하였으며, 이를 적합한 포유동물 발현 플라스미드 내로 클로닝하였다. 각각의 플라스미드를 세포주 내로 일시적으로 공동-형질감염시켰다. 형 질감염된 세포를 제조업체의 프로토콜에 따라 적절하게 피당하면서 수일 동안 성장시켰다. 세포 배양물의 상청 액을 수거하고, hIL-12p35 단백질을 정제하였다.

표 32는 생성된 융합 단백질의 hIL-12 폴리펩티드에 함유된 아미노산 변형의 설명을 제공한다.

표 32. hIL-12p35 변이체의 아미노산 서열

설명	hIL-12p35 아미노산 치환 (SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열에 대해 넘버링)	SEQ ID NO
BCA325.16	Y189A	304, 311, 245
BCA324.16	F188A	304, 310, 245
BCA323.16	F188A/Y189A	304, 309, 245
BCA307.16	Δ55-92	304, 307, 245
BCA308.16	E60K/F61H/P63S/K150H/F188P	304, 308, 245

표 33은 생성된 각각의 hIL-12p35 변이체의 설명 및 아미노산 서열을 제공한다. 각각의 폴리펩티드 쇠의 신호 서열은 밑줄표시된다.

표 33. 항-hCAIX hIL-12 융합 단백질의 아미노산 서열

설명	SEQ ID NO
BCA325.16	중쇄 (노브) IL-12p40
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 E)
	경쇄
BCA324.16	중쇄 (노브) IL-12p40
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 D)
	경쇄
BCA323.16	중쇄 (노브) IL-12p40
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 C)
	경쇄
BCA307.16	중쇄 (노브) IL-12p40
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 A)
	경쇄
BCA308.16	중쇄 (노브) IL-12p40
	중쇄 (홀) IL-12p35 (변이체 B)
	경쇄

6.21 실시예 21. hIL-12p35 변이체 활성 - pSTAT4 신호전달의 평가

표 32 및 33에 제시된 각각의 hIL-12p35 변이체의 hIL-12 수용체를 통한 신호전달을 HEK-블루™ 리포터 검정 (인비보젠 (#hkb-IL12))을 사용하여 평가하였다. 간략하게, 검정에 이용된 HEK-블루™ IL-12 세포는 STAT4-유도성 SEAP 리포터 유전자를 발현한다. HEK-블루™ IL-12 세포의 표면 상의 IL-12R에 대한 IL-12의 결합은 신호 전달 캐스케이드를 촉발하여 STAT-4의 활성화 (및 인산화)와 후속 SEAP 리포터 단백질의 생산으로 이어진다. HEK-블루™ IL-12 세포의 상청액에서의 SEAP의 검출은 퀀티-블루™ 용액을 사용하여 용이하게 평가될 수 있다. 여기서, HEK-블루 세포를 다양한 농도의 각각의 나타낸 hIL-12p35 변이체와 함께 세포 배양 플레이트에서 18-24 시간 동안 인큐베이션하였다. 퀀티 블루 용액의 첨가 후에 플레이트를 판독하였다. hIL-12p35 변이체의 IL-12 활성이 도 27에 제시되고, 야생형 Fc-IL-12 대비 IL-12 활성의 배수 약화가 표 34에 제시된다.

표 34. Fc-IL-12 대조군 대비 hIL-12p35 변이체의 배수 약화

설명	*배수 약화 (Fc-IL-12 대조군 대비)
BCA307.16	>10,000*
BCA308.16	1.4
BCA323.16	15.4
BCA324.16	1.0
BCA325.16	4.5

*BCA307.16에 대한 IL-12 활성의 배수 약화는 시험된 농도가 HEK 검정에서 충분한 IL-12 활성을 달성하지 않았기 때문에 결정될 수 없었다.

도 27 및 표 34에 제시된 바와 같이, 각각의 hIL-12p35 변이체는 10,000배 초과 약화를 나타낸 BCA307.16을 제외하고는 1배 내지 15배 범위의 hIL-12 활성 약화를 나타냈다.

6.22 실시예 22. hIL-12p35 변이체 활성 - PHA 자극된 PBMC에 의한 IFN-γ 방출의 평가

각각의 hIL-12p35 변이체의 존재 하에 자극된 T-세포에 의해 방출된 IFN-γ의 수준을 평가하였다. 간략하게, hPBMC를 96 웰 플레이트에 십만개 세포/웰로 시딩하고, 100 μl의 부피의 PHA (1 μg/ml)로 밤새 자극하였다. 다음 날, PHA를 적정 농도의 나타낸 hIL-12p40 변이체와 함께 동일한 농도로 다시 첨가하였다. 후속적으로 세포를 37℃에서 5% CO₂ 인큐베이터에서 ~48시간 동안 인큐베이션하였다. 표준 IFN-γ ELISA에 의해 배양 상청액에

서 IFN- γ 를 측정하였다 (도 28a-28c). 도 28a-28c에 제시된 바와 같이, BCA325.16, BCA323.16 및 BCA307.16은 0.169nM에서 약화된 IFN- γ 방출을 나타냈다 (더 높은 농도에서는 아님). BCA324.16, BCA308.16은 약화된 IFN- γ 방출을 나타내지 않았다. 양성 대조군으로서 사용된 BCA356은 IFN- γ 방출의 최대 약화를 나타냈다.

[0898] 6.23 실시예 23. hIL-12p35 변이체 활성 - hIL-2 프라이밍된 인간 NK 세포에 의한 IFN- γ 방출의 평가

[0899] IL-12는 NK 세포를 자극하여 IFN- γ 를 분비하고, 그의 증식 및 세포용해 활성을 증대시킨다 (예를 들어, 문헌 [Glassman, Caleb R et al. "Structural basis for IL-12 and IL-23 receptor sharing reveals a gateway for shaping actions on T versus NK cells." Cell vol. 184,4 (2021): 983-999.e24. doi:10.1016/j.cell.2021.01.018] 참조). NK 세포로부터 방출된 IFN- γ 의 수준을 평가하기 위해, hPBMC를 10% HI-FBS 및 100IU/ml hIL-2를 함유하는 RPMI 1640에서 해동시켰다. 밤새 인큐베이션한 후, 세포를 수거하고, NK 세포를 음성 선택에 의해 풍부화하였다. NK 세포를 적정 농도의 hIL-12와 함께 50,000개 세포/웰로서 시딩하고, 37°C에서 5% CO₂ 하에 ~48시간 동안 인큐베이션하였다. 표준 IFN- γ ELISA에 의해 배양 상청액에서 IFN- γ 를 측정하였다 (도 29a-29c). 도 29a-29c에 제시된 바와 같이, BCA307.16은 16.95nM에서의 IFN- γ 방출에서 BCA356과 대등한 약화를 나타냈고; BCA325.16, BCA323.16, BCA324.16 및 BCA308.16은 IFN- γ 방출에서 약화를 나타내지 않았다.

[0900] 6.24 실시예 24. hIL-12p35 변이체 활성의 요약

[0901] 실시예 19-22에 제시되고 표 35에 요약된 데이터는 HEK-IL-12 리포터 검정에서 BCA307에서의 hIL-12가 야생형 hIL-12와 비교하여 >1000배 약화된다는 것을 나타낸다. NK 세포-기반 검정에서 BCA307은 다른 hIL-12p35 변이체와 비교하였을 때 고도로 약화된다.

[0902] 표 35. hIL-12p35 변이체의 기능적 분석의 요약

		HEK-IL12 리포터 검정	NK 세포에 의한 IFN γ 방출	PHA 자극된 PBMC에 의한 IFN γ 방출
설명	아미노산 변형	약화	*곡선 내 이동에 기초한 약화의 수준	
BCA307.16	$\Delta 55-92$	+++	+++	+
BCA308.16	E60K/F61H/P63S/K150H/F188P	약화되지 않음	약화되지 않음	약화되지 않음
BCA323.16	F188A/Y189A	+	약화되지 않음	+
BCA324.16	F188A	약화되지 않음	약화되지 않음	약화되지 않음
BCA325.16	Y189A	약화되지 않음	약화되지 않음	+

[0904] * 곡선 내 이동에 기초하여 수행된 정성적 순위화, 여기서 +, ++, +++는 IL-12 WT와 비교하여 낮은, 중간 및 높은 약화를 나타냄.

[0905] 6.25 실시예 25. 대용 바이오마커로서의 가용성 CAIX

[0906] 종양에서의 CAIX 발현의 대용 바이오마커로서의 가용성 CAIX 수준의 유용성을 결정하기 위해, 종양 조직에서의 세포 CAIX 발현 및 종양-매칭 혈장에서의 가용성 CAIX 수준을 위암, 신장암, 결장직장암, 난소암, 비소세포 폐암 및 자궁내막암 사례로부터의 샘플에서 각각 면역조직화학 (IHC) 및 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA)에 의해 결정하였다. 도 30에 제시된 바와 같이, 함께 합한 모든 암의 피어슨 상관 계수 분석에서, 세포 CAIX와 가용성 CAIX 사이에 양의 상관관계 ($r = 0.2086$, $P = 0.0539$)가 관찰되었다.

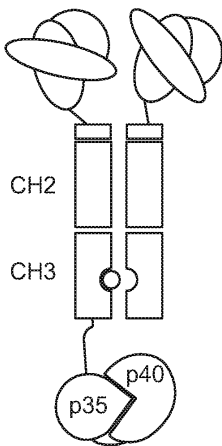
[0907] * * *

[0908] 본 발명은 본원에 기재된 구체적 실시양태에 의해 범주가 제한되지 않아야 한다. 실제로, 기재된 것에 추가로 본 발명의 다양한 변형이 상기 설명 및 첨부 도면으로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 분명해질 것이다. 이러한 변형은 첨부된 청구범위의 범주 내에 속하는 것으로 의도된다.

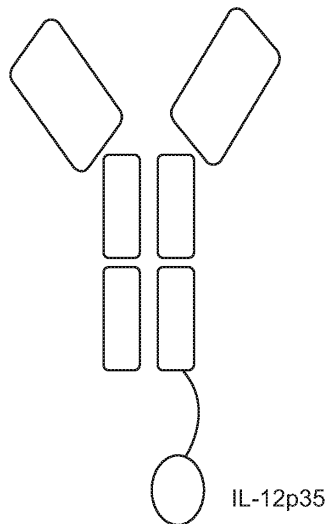
[0909] 본원에 인용된 모든 참고문헌 (예를 들어, 공개 문헌 또는 특허 또는 특허 출원)은, 각각의 개별 참고문헌 (예를 들어, 공개 문헌 또는 특허 또는 특허 출원)이 모든 목적을 위해 그 전문이 참조로 포함되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 나타내어진 것과 동일한 정도로 모든 목적을 위해 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0910] 다른 실시양태는 하기 청구범위 내에 있다.

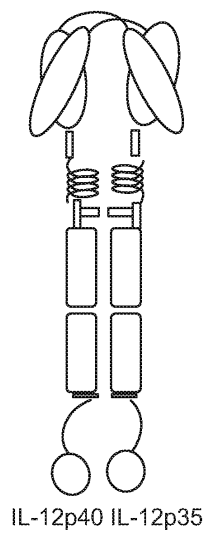
도면4



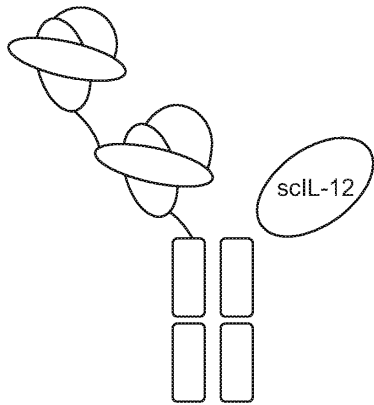
도면5



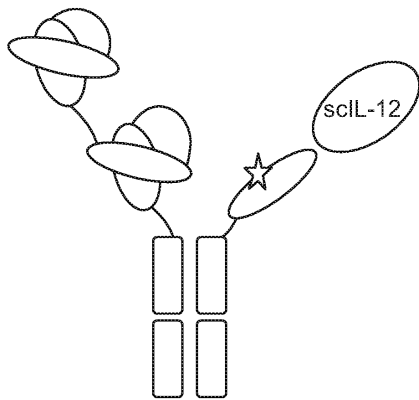
도면6



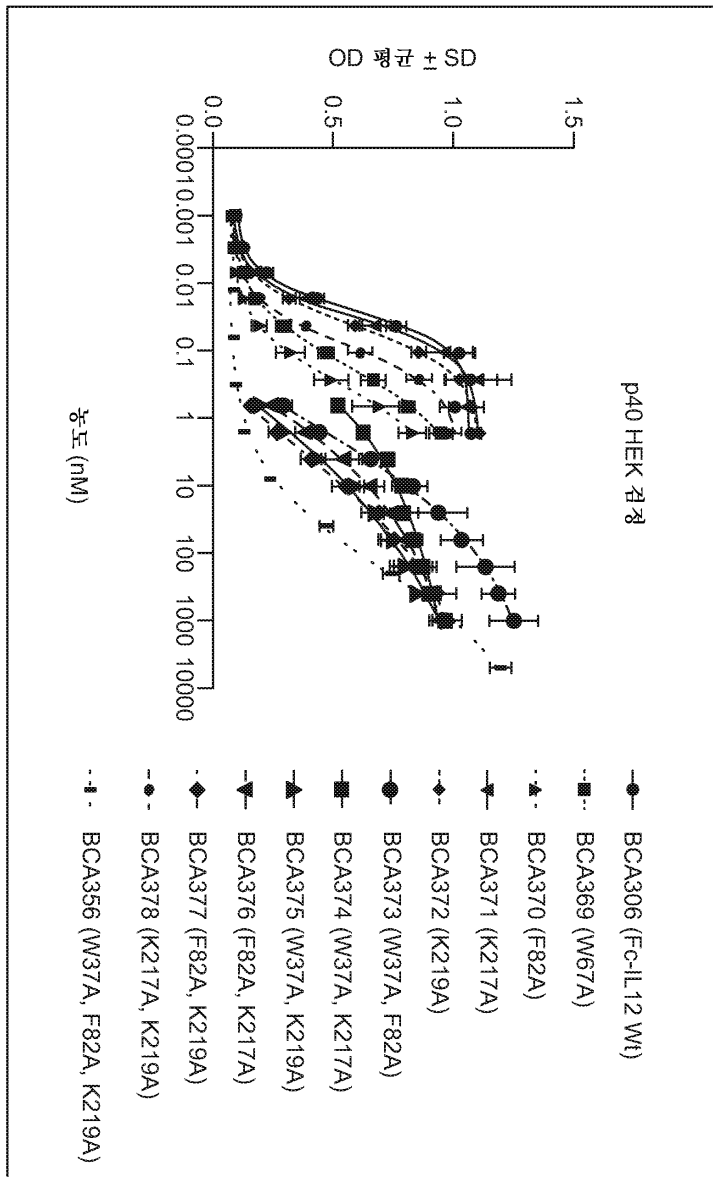
도면7



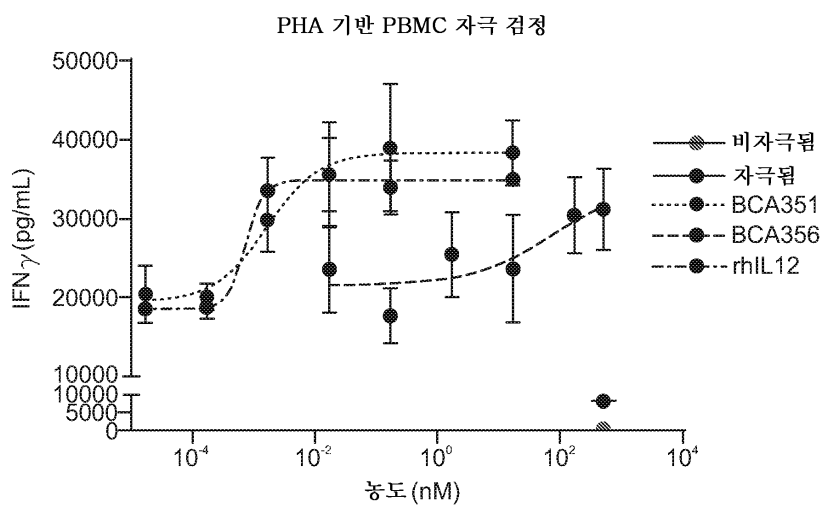
도면8



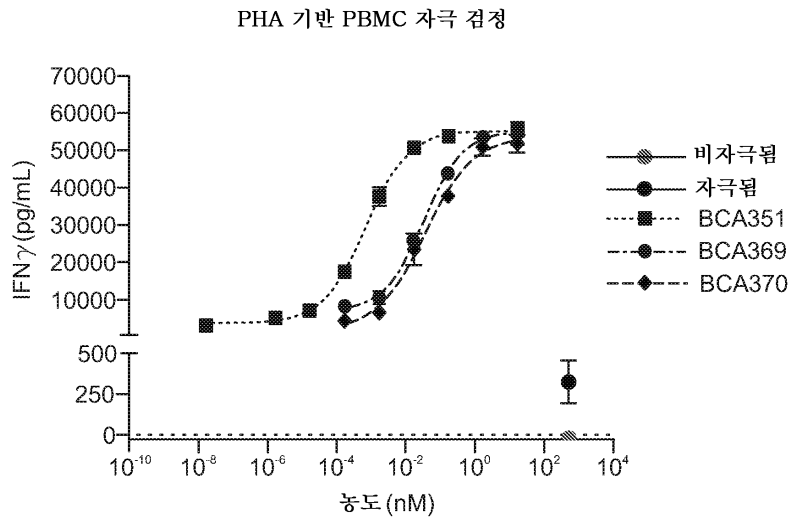
도면9



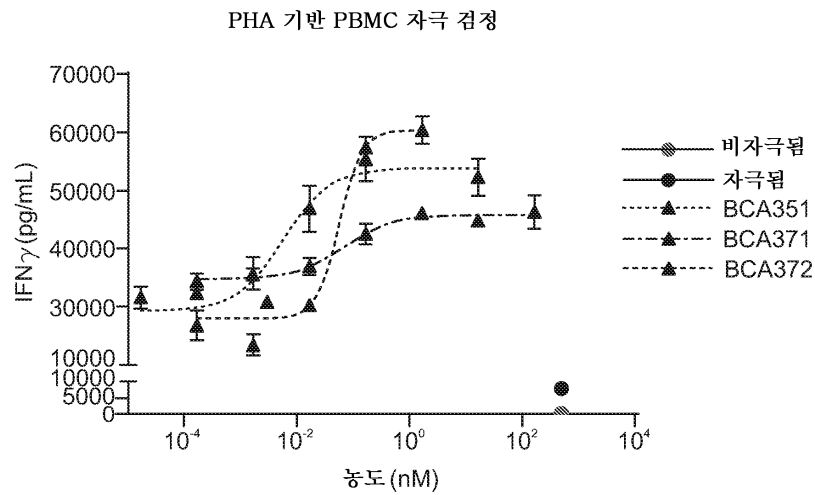
도면10a



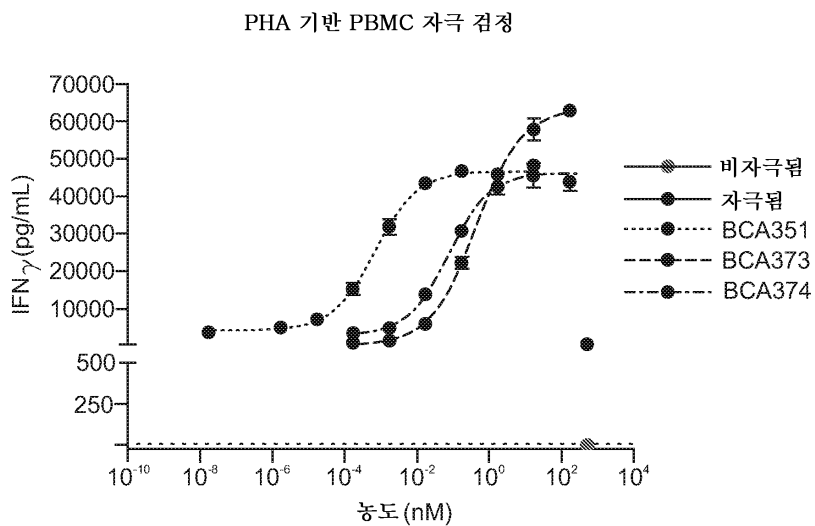
도면10b



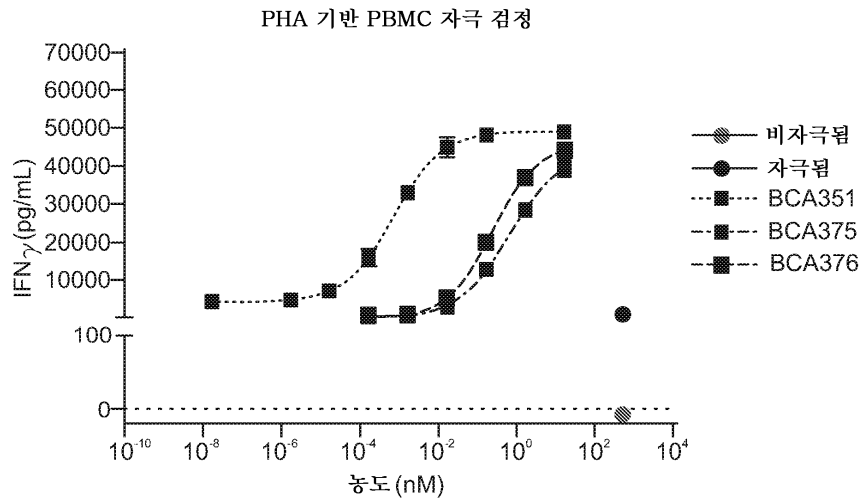
도면10c



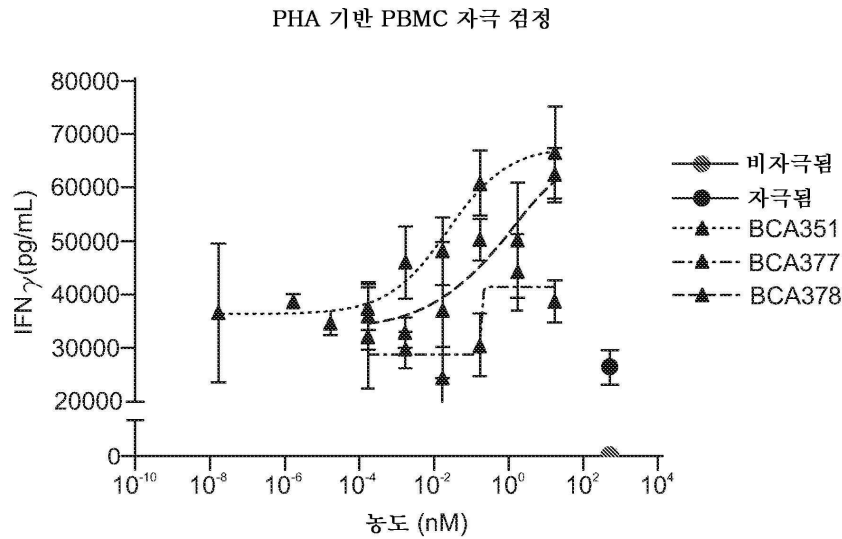
도면10d



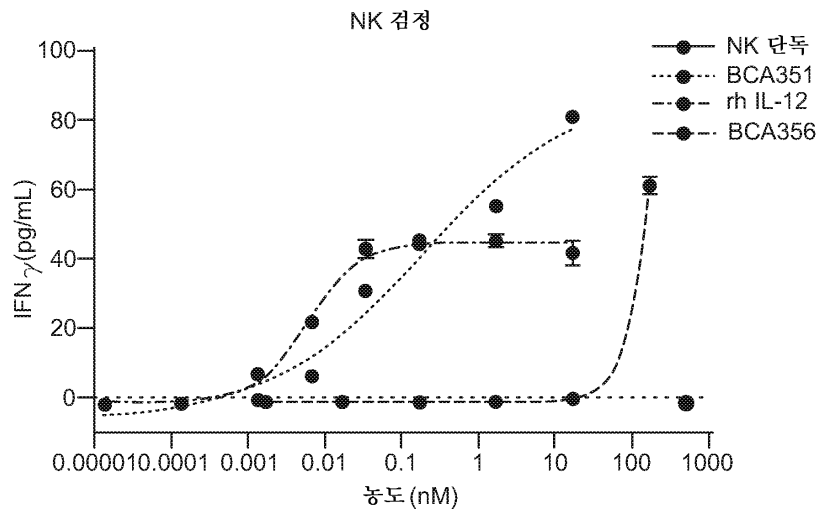
도면10e



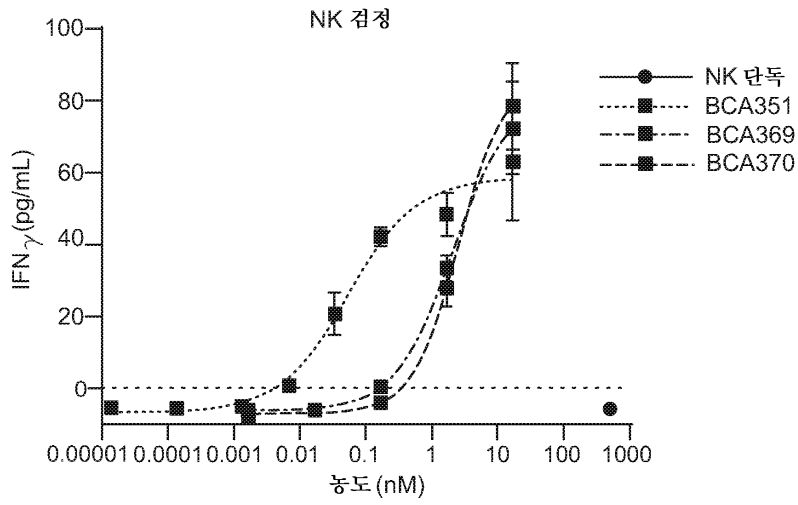
도면10f



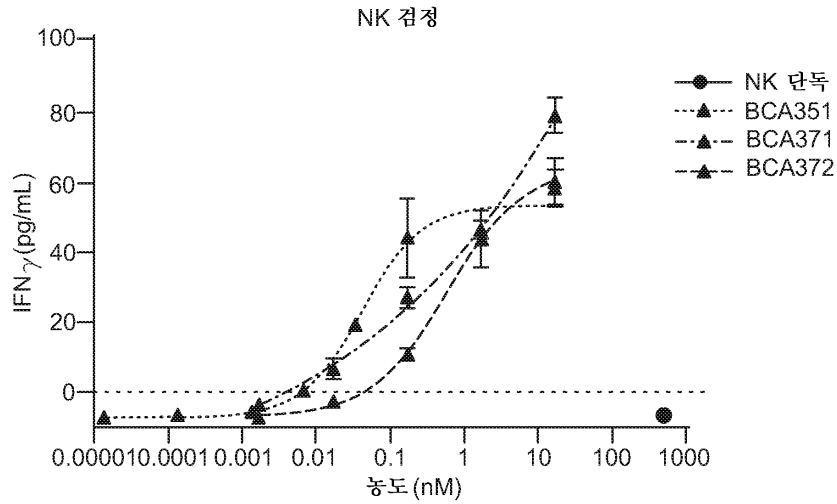
도면11a



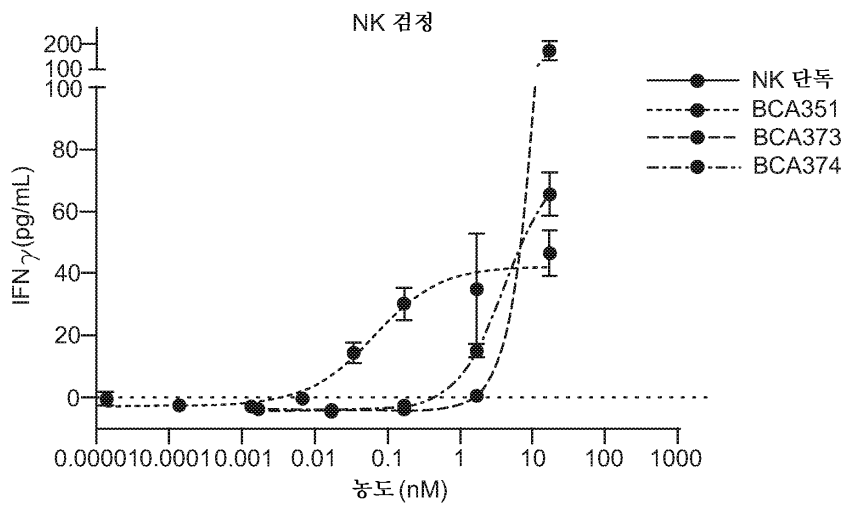
도면11b



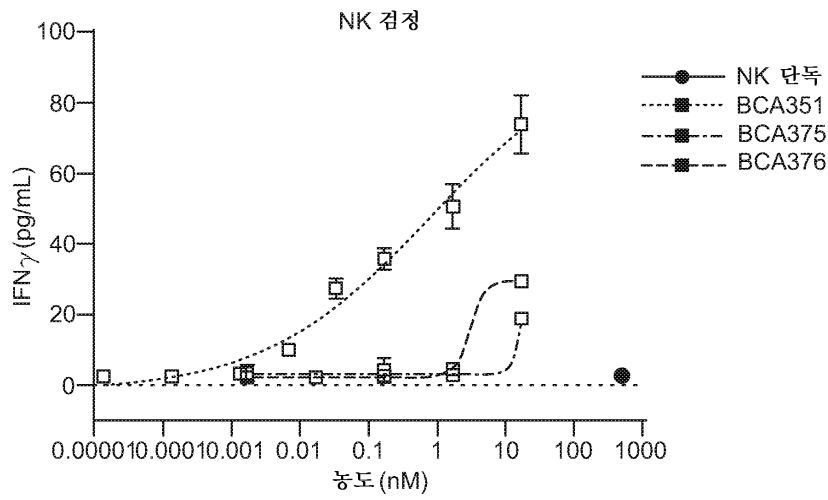
도면11c



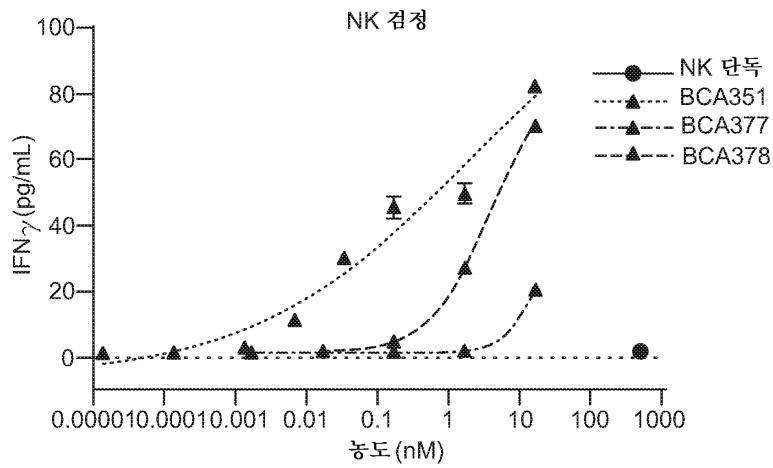
도면11d



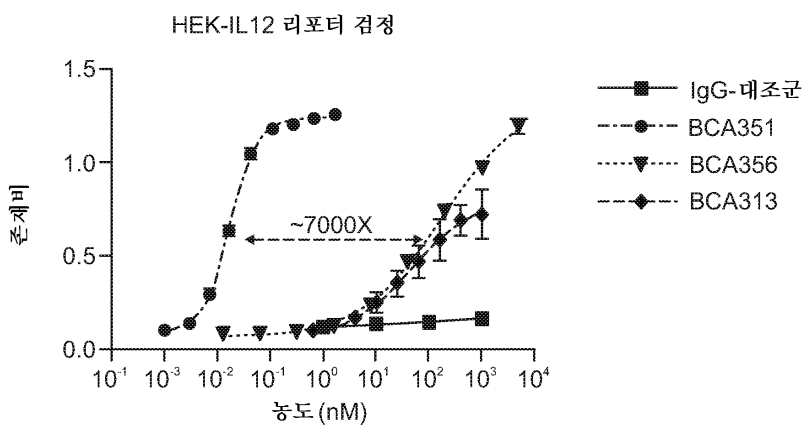
도면11e



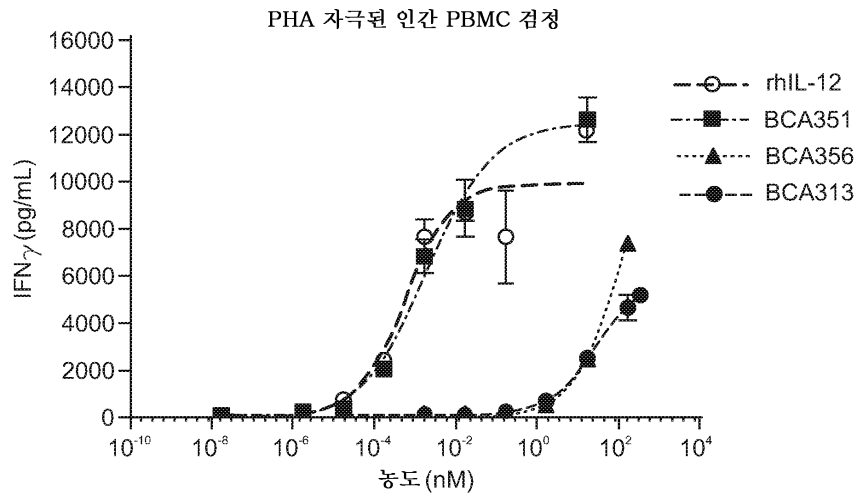
도면11f



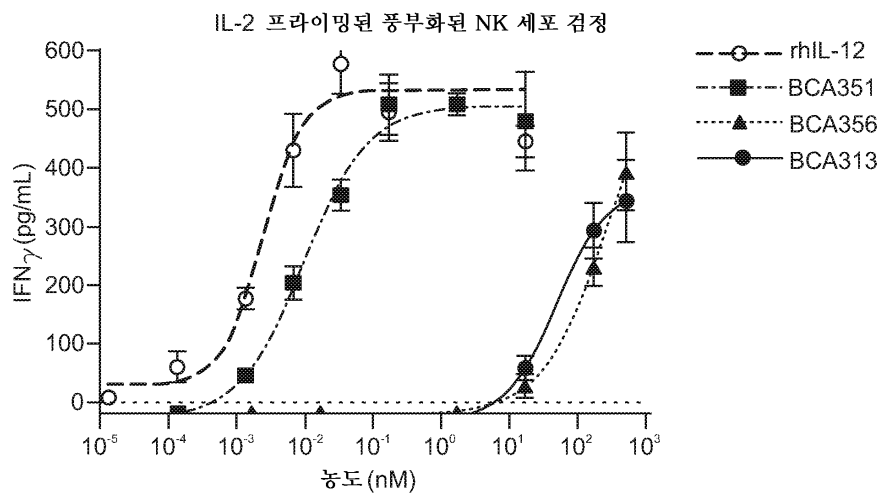
도면12



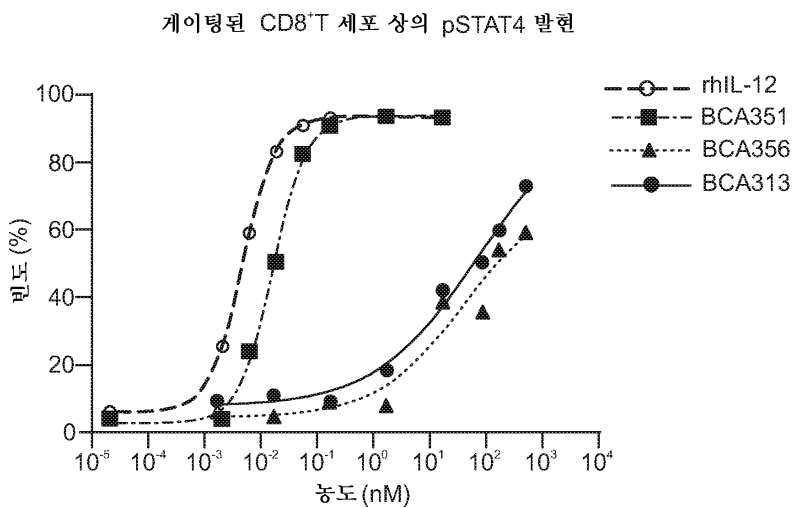
도면13



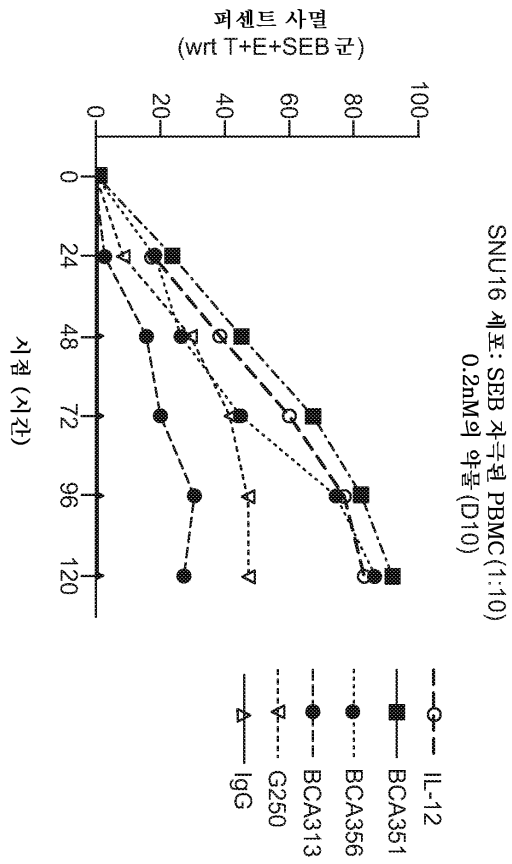
도면14



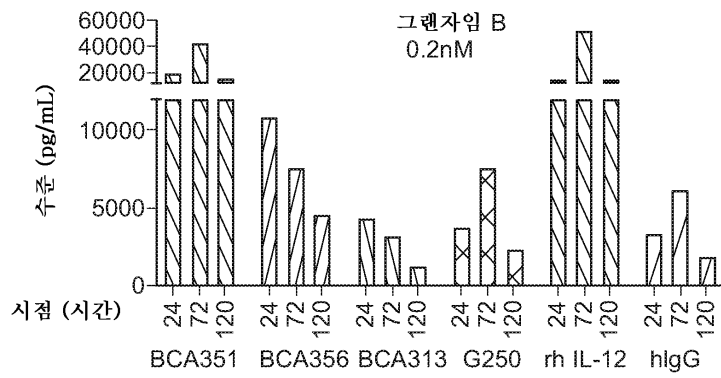
도면15



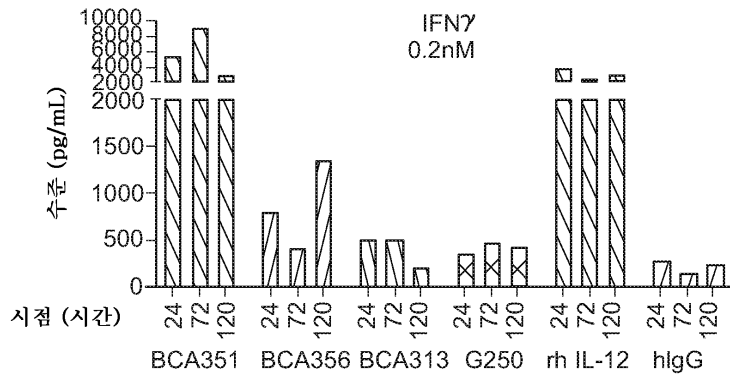
도면16



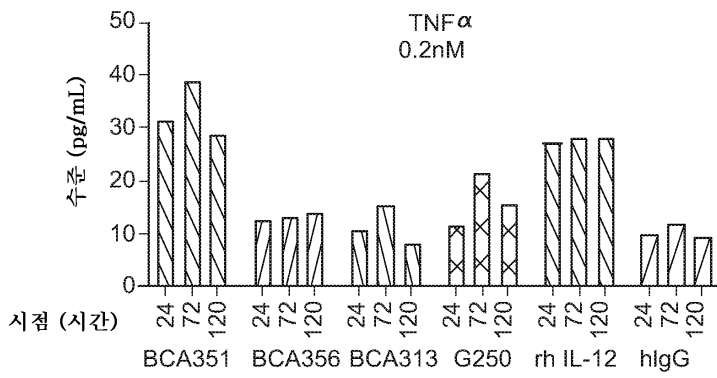
도면17a



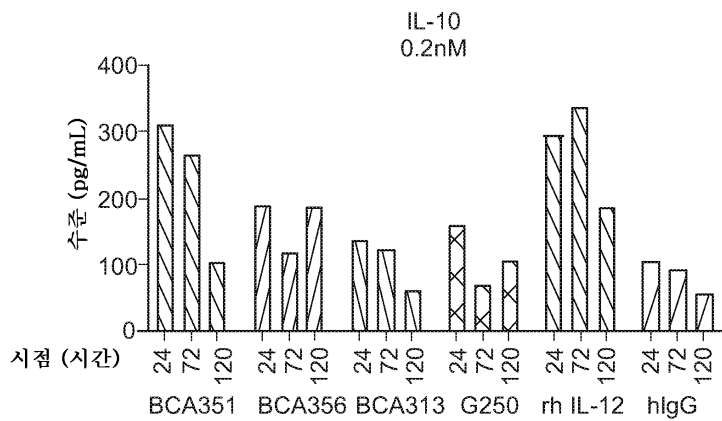
도면17b



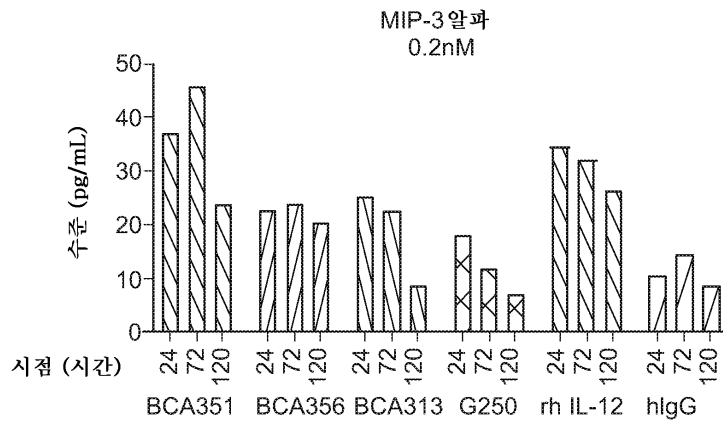
도면17c



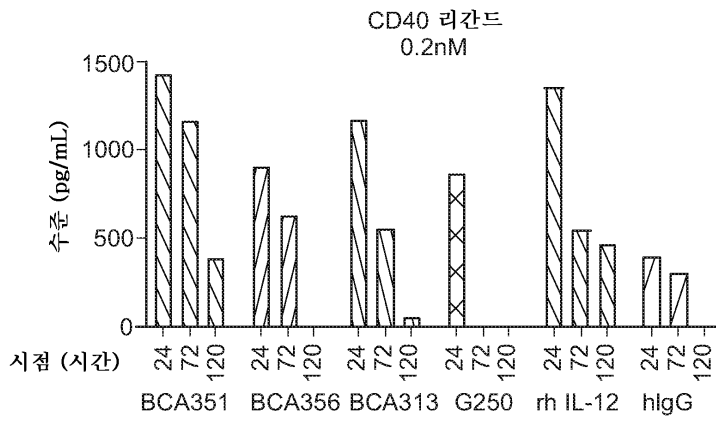
도면17d



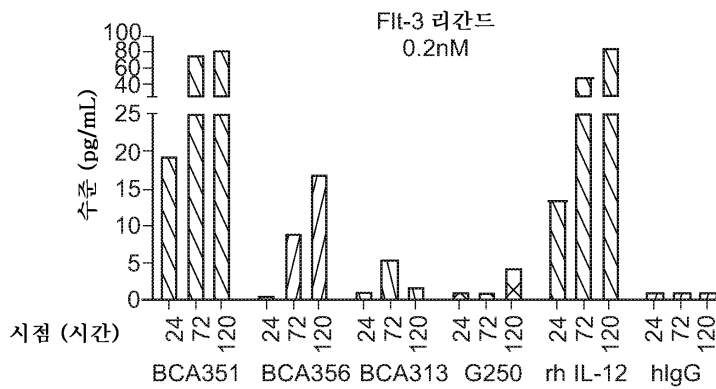
도면17e



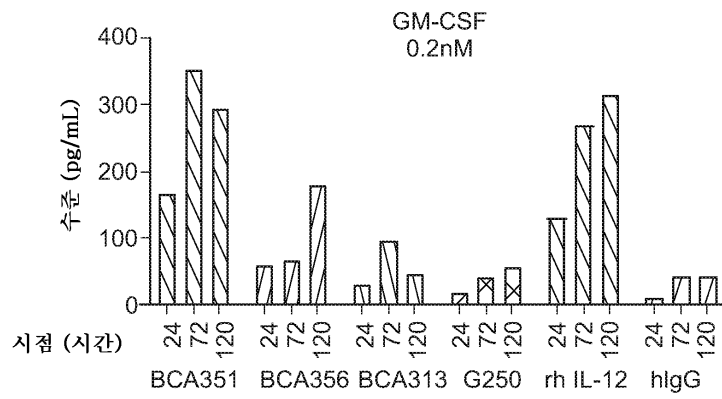
도면17f



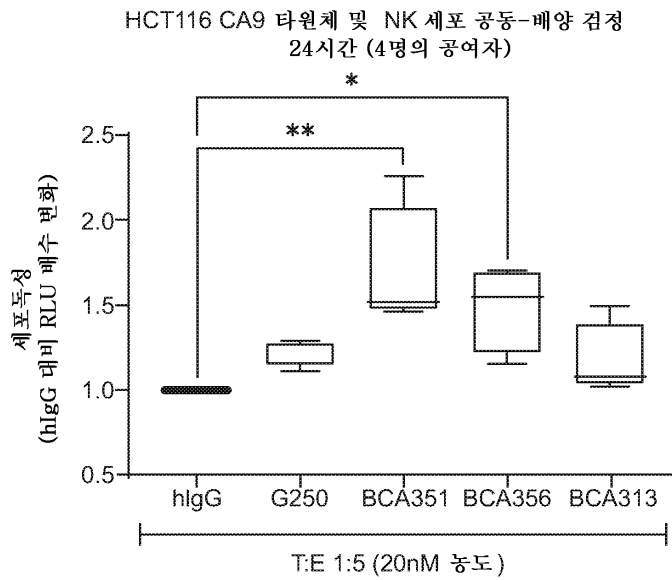
도면17g



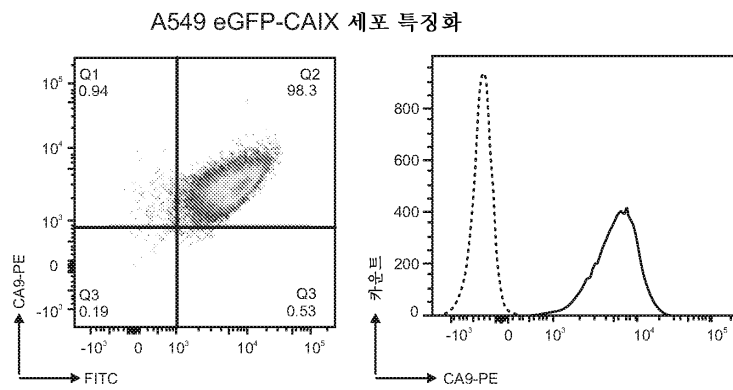
도면17h



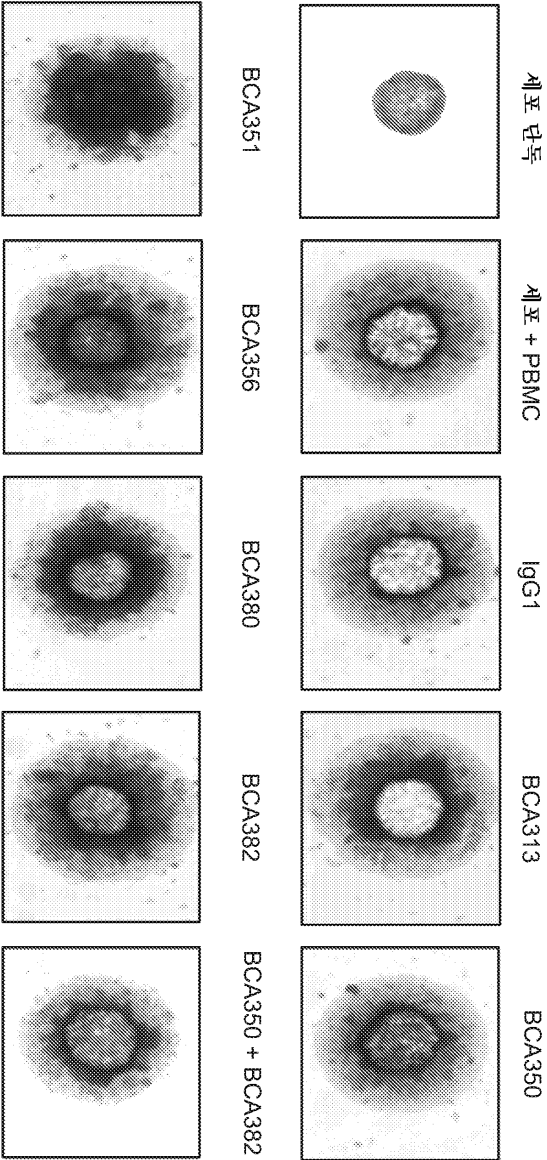
도면18



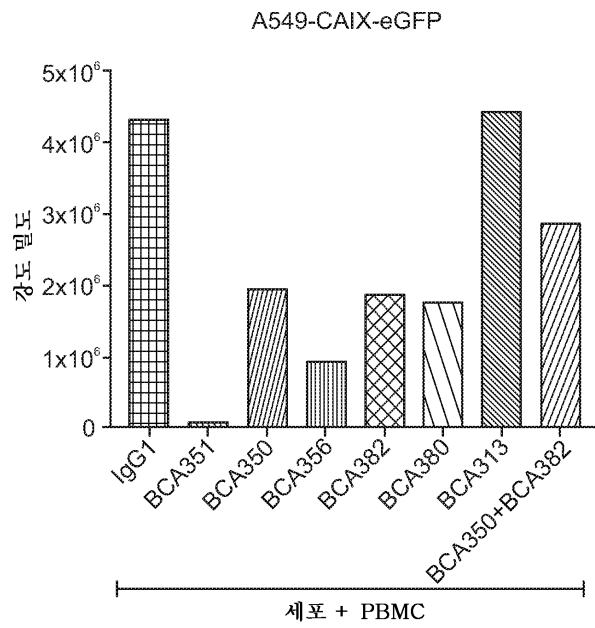
도면19



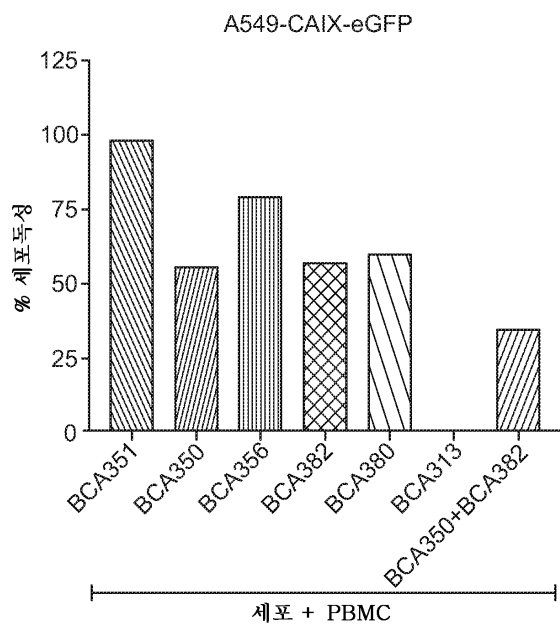
도면20



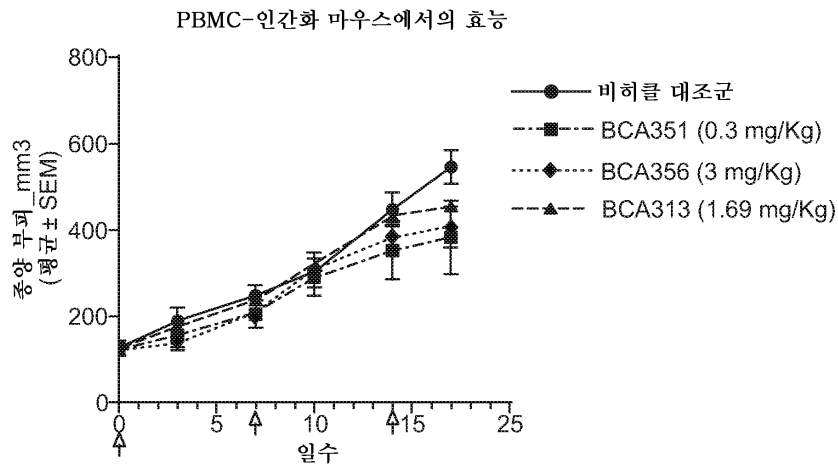
도면21a



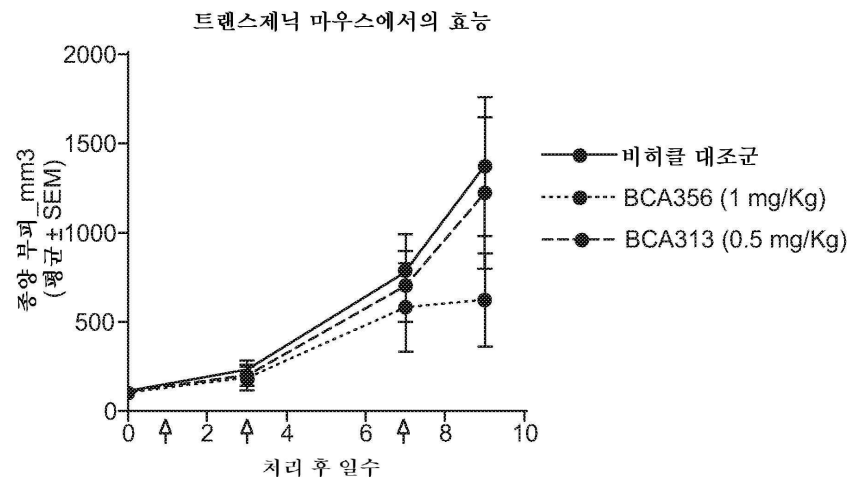
도면21b



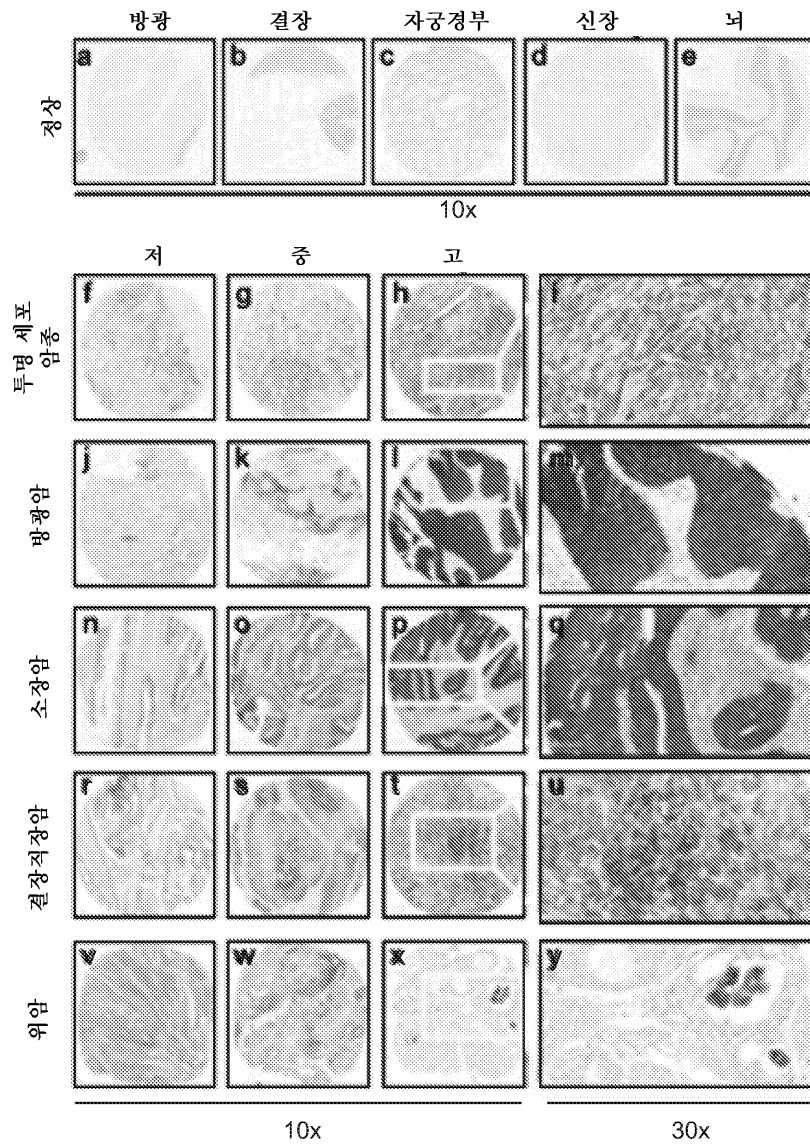
도면22



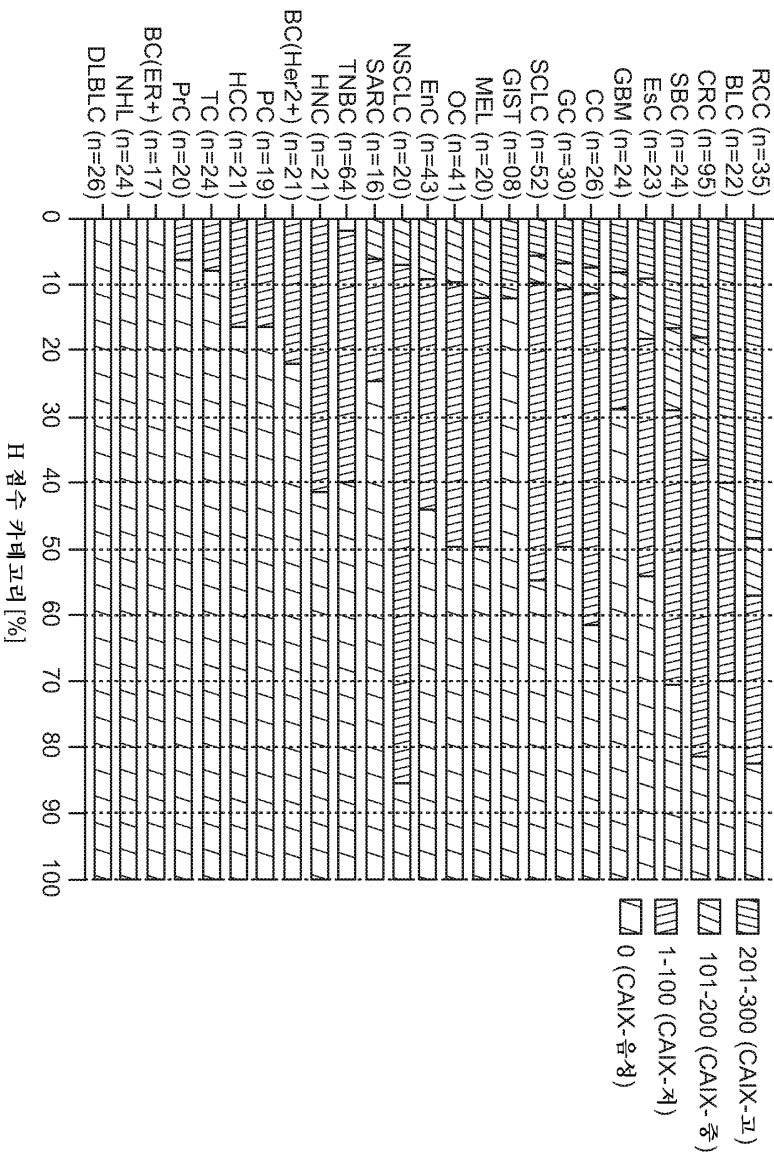
도면23



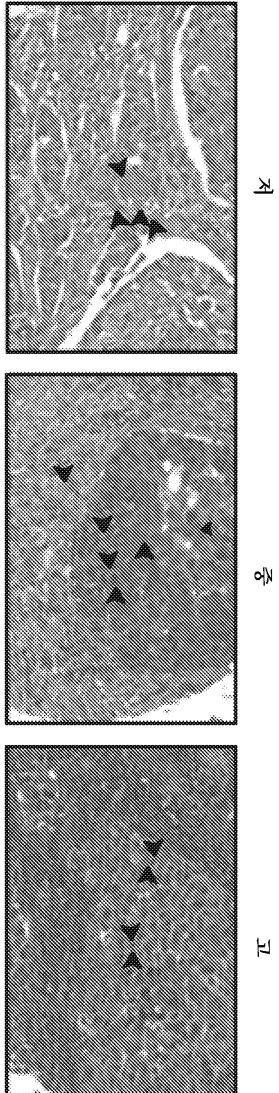
도면24a



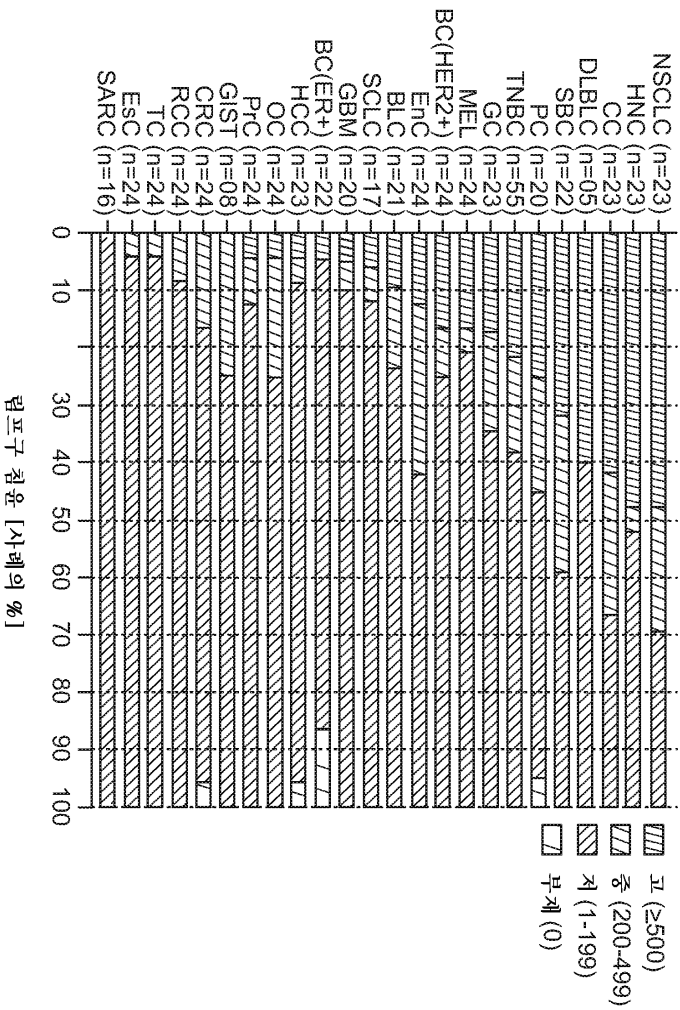
도면24b



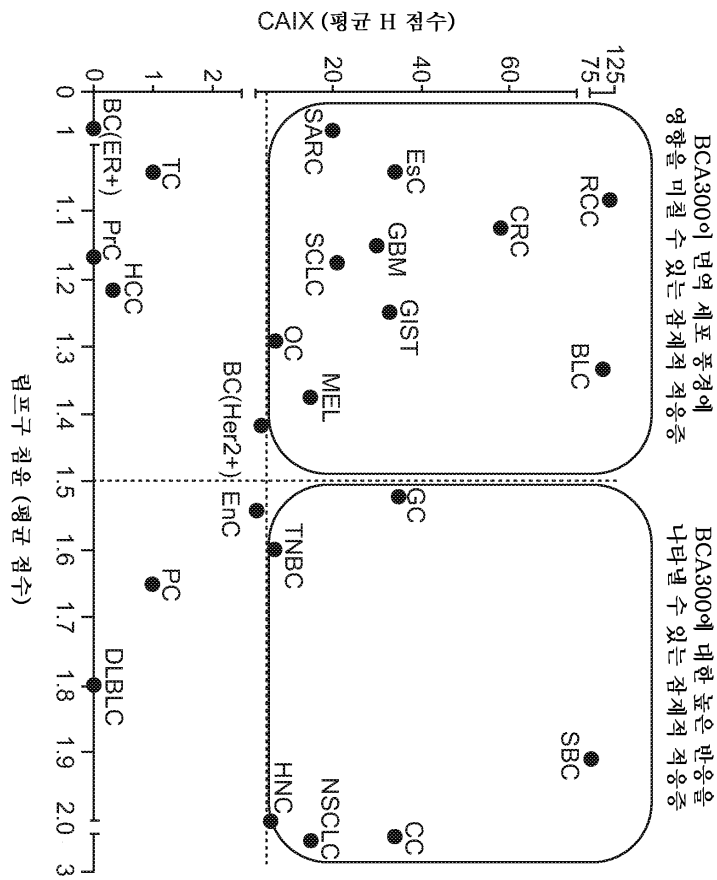
도면25a



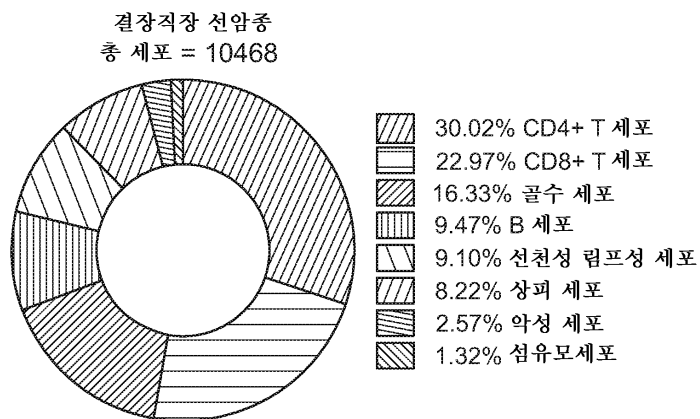
도면25b



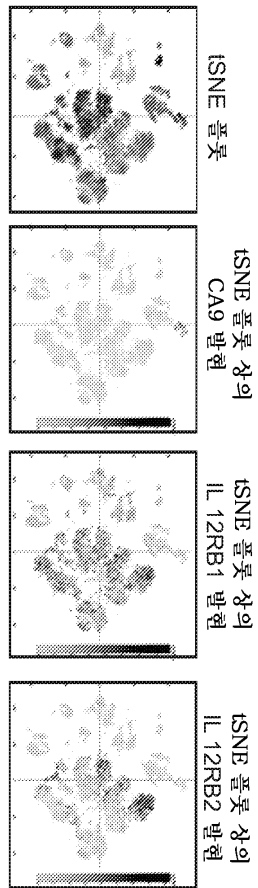
도면25c



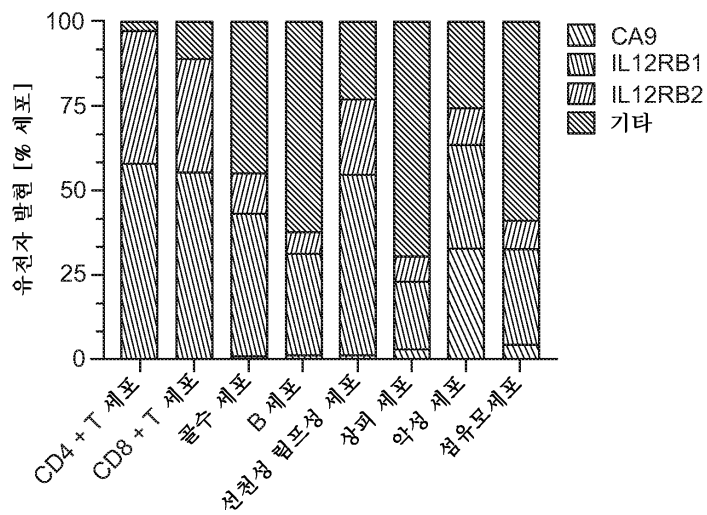
도면26a



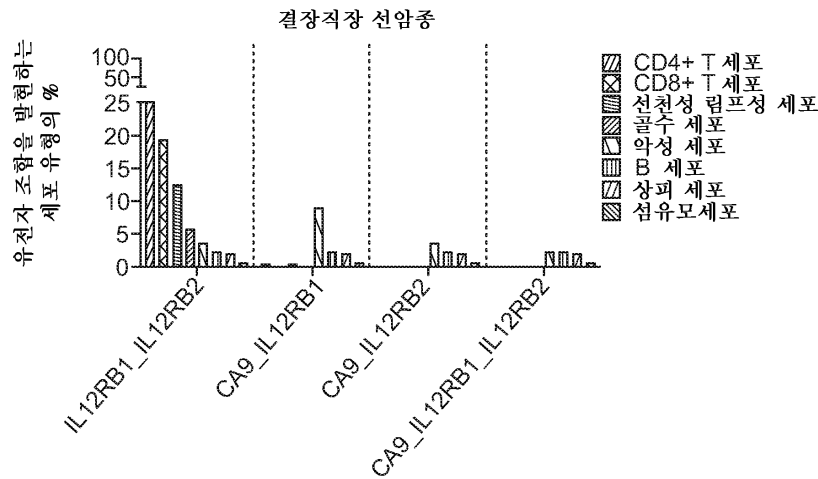
도면26b



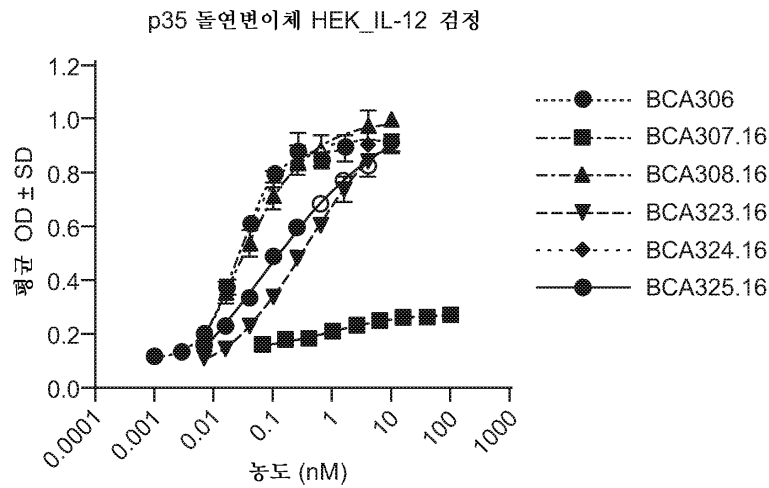
도면26c



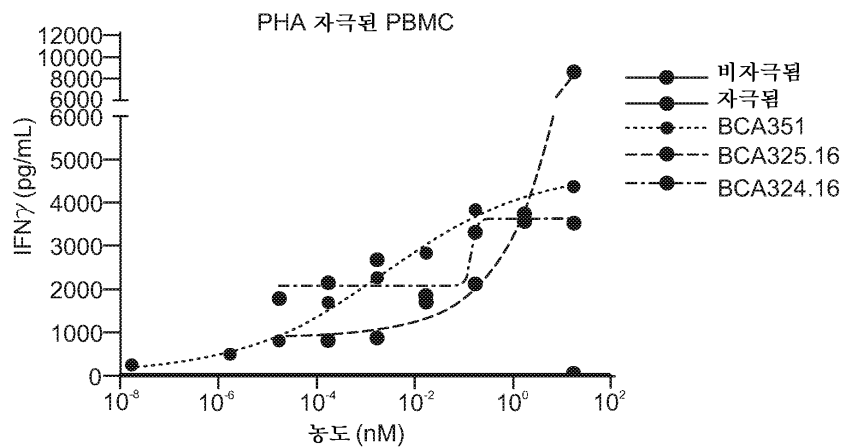
도면26d



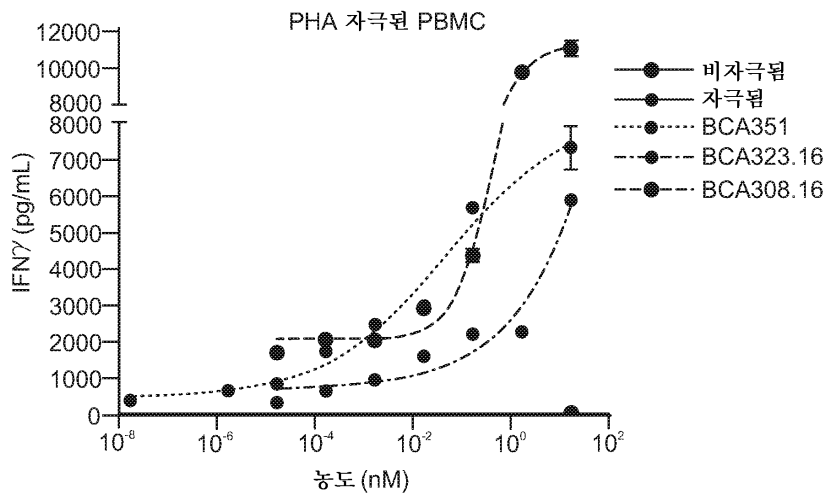
도면27



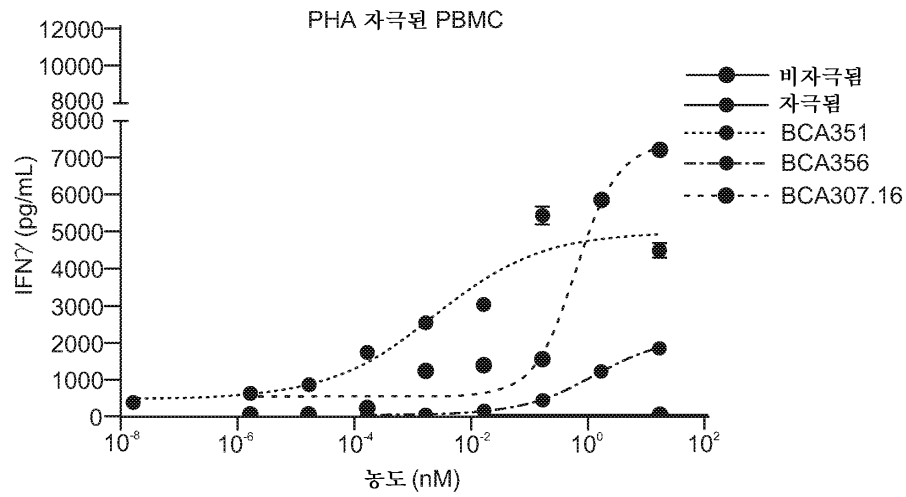
도면28a



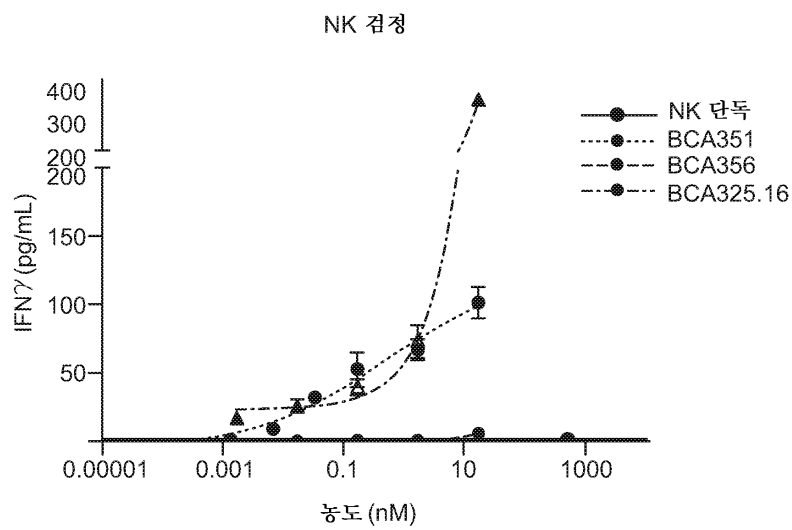
도면28b



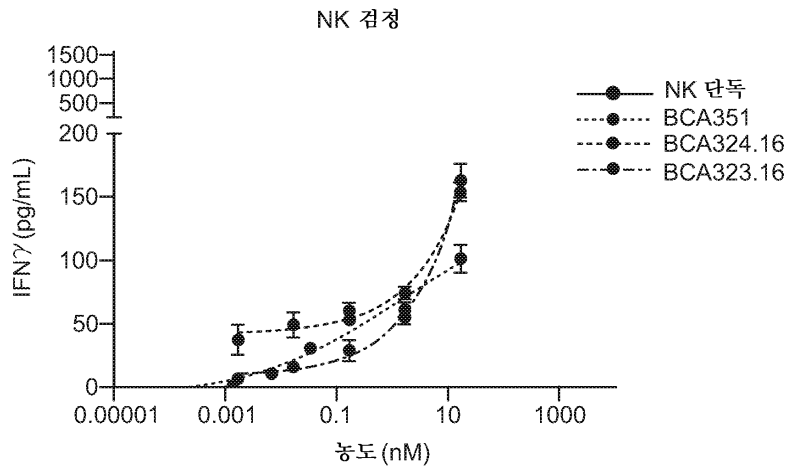
도면28c



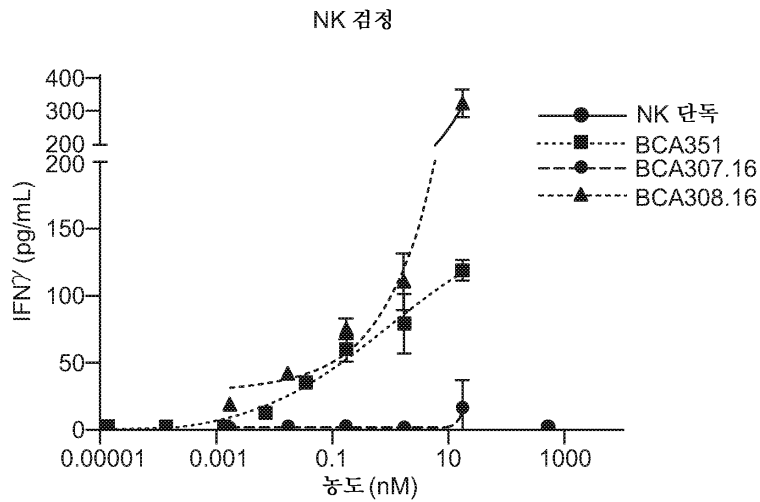
도면29a



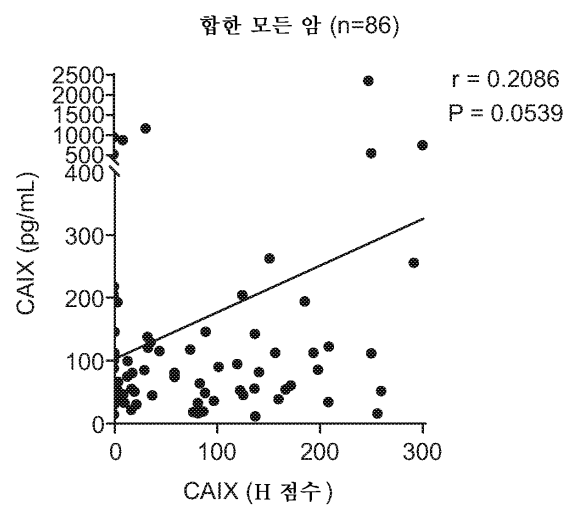
도면29b



도면29c



도면30



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.