



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년11월29일

(11) 등록번호 10-2050082

(24) 등록일자 2019년11월22일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/28 (2013.01)
A61K 39/3955 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7007124
- (22) 출원일자(국제) 2015년08월17일
 심사청구일자 2017년03월15일
- (85) 번역문제출일자 2017년03월15일
- (65) 공개번호 10-2017-0041272
- (43) 공개일자 2017년04월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/045447
- (87) 국제공개번호 WO 2016/028656
 국제공개일자 2016년02월25일
- (30) 우선권주장
 62/038,912 2014년08월19일 미국(US)
 62/126,733 2015년03월02일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 W02009126688 A2*
 Journal of Immunology. Vol. 188, No. 8, pp.
 3869-3875 (2012)
 PNAS. vol. 106, No. 42, pp. 17858-17863
 (2009)
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
 머크 샤프 앤드 돔 코퍼레이션
 미국 뉴저지 (우편번호 07065-0907) 라웨이 이스
 트 랭컨 애비뉴 126
- (72) 발명자
 윌리엄스, 시빌, 엠. 쥐.
 미국 02115-5727 매사추세츠주 보스턴 애비뉴 루
 이 파스퇴르 33
 라페이스, 드레이크
 미국 캘리포니아주 94304 팔로 알토 에스. 캘리포
 니아 애비뉴 901
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 양영준, 심미성

전체 청구항 수 : 총 29 항

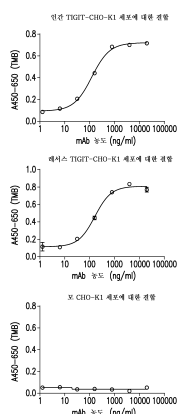
심사관 : 김은영

(54) 발명의 명칭 항-TIGIT 항체

(57) 요약

본 발명은 항-TIGIT 항체뿐만 아니라 질환, 예컨대 암 및 감염성 질환의 치료에 있어서의 이들 항체의 용도에 관
 한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)

C07K 16/2803 (2013.01)

C07K 16/2818 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/565 (2013.01)

C07K 2317/74 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

파야다트-덜만, 로렌스

미국 캘리포니아주 94304 팔로 알토 에스. 캘리포니아 애비뉴 901

라구나탄, 고팔란

미국 캘리포니아주 94304 팔로 알토 에스. 캘리포니아 애비뉴 901

리앙, 린다

미국 94043 캘리포니아주 마운틴 뷰 아다 애비뉴 128 아파트먼트 8

세계지, 블프강

미국 캘리포니아주 94304 팔로 알토 에스. 캘리포니아 애비뉴 901

명세서

청구범위

청구항 1

서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1, 서열식별번호: 89, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2, 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1, 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 인간 TIGIT에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1, 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2, 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3, 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1, 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편.

청구항 3

제1항에 있어서,

- a. 서열식별번호: 94의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역;
- b. 서열식별번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역;
- c. 서열식별번호: 127의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역;
- d. 서열식별번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역;
- e. 서열식별번호: 128에 대해 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 아미노산 서열 동일성을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 132에 대해 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 아미노산 서열 동일성을 포함하는 경쇄 가변 영역이며, 여기서 임의의 서열 변이가 항체의 프레임워크 영역 내에 발생하는 것인, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역;
- f. 서열식별번호: 127에 대해 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 아미노산 서열 동일성을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 130에 대해 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 아미노산 서열 동일성을 포함하는 경쇄 가변 영역이며, 여기서 임의의 서열 변이가 항체의 프레임워크 영역 내에 발생하는 것인, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역; 또는
- g. 서열식별번호: 128에 대해 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 아미노산 서열 동일성을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 133에 대해 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 아미노산 서열 동일성을 포함하는 경쇄 가변 영역이며, 여기서 임의의 서열 변이가 항체의 프레임워크 영역 내에 발생하는 것인, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역

을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편.

청구항 4

제3항에 있어서, 중쇄 가변 영역이 서열식별번호: 128의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역이 서열식별번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 항체.

청구항 5

제3항에 있어서, 중쇄 가변 영역이 서열식별번호: 128의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역이 서열식별번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 항체.

청구항 6

제3항에 있어서, 중쇄 가변 영역이 서열식별번호: 127의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역이 서열식별번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 항체.

청구항 7

제1항에 있어서, 표면 플라스몬 공명에 의해 결정 시에, 1×10^{-9} M 내지 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT에 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편.

청구항 8

제1항에 있어서, 2개의 중쇄와 2개의 경쇄를 포함하는 항체.

청구항 9

제1항에 있어서, 인간 IgG1 불변 도메인 및 인간 카파 불변 도메인을 포함하는 항체.

청구항 10

제1항에 있어서, 인간 IgG4 불변 도메인 및 인간 카파 불변 도메인을 포함하는 항체.

청구항 11

제9항에 있어서, 인간 IgG1 불변 도메인이 서열식별번호: 86의 아미노산 서열을 포함하고, 인간 카파 불변 도메인이 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 항체.

청구항 12

제10항에 있어서, 인간 IgG4 불변 도메인이 서열식별번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고, 인간 카파 불변 도메인이 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 항체.

청구항 13

2개의 중쇄 면역글로불린 및 2개의 경쇄 면역글로불린을 포함하는 단리된 항체이며, 각각의 중쇄 면역글로불린이 (i) 서열식별번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 (ii) 서열식별번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인을 포함하고, 각각의 경쇄 면역글로불린이 (i) 서열식별번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 인간 카파 불변 도메인을 포함하는 것인 항체.

청구항 14

2개의 중쇄 면역글로불린 및 2개의 경쇄 면역글로불린을 포함하는 단리된 항체이며, 각각의 중쇄 면역글로불린이 (i) 서열식별번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 (ii) 서열식별번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인을 포함하고, 각각의 경쇄 면역글로불린이 (i) 서열식별번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 인간 카파 불변 도메인을 포함하는 것인 항체.

청구항 15

2개의 중쇄 면역글로불린 및 2개의 경쇄 면역글로불린을 포함하는 단리된 항체이며, 각각의 중쇄 면역글로불린이 (i) 서열식별번호: 127의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 (ii) 서열식별번호: 86의 아미노산

서열을 포함하는 IgG1 불변 도메인을 포함하고, 각각의 경쇄 면역글로불린이 (i) 서열식별번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 인간 카파 불변 도메인을 포함하는 것인 항체.

청구항 16

제1항에 있어서, CHO 세포에서 생산되는 항체.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원 결합성 단편을 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 18

제17항의 단리된 핵산을 포함하는 발현 벡터.

청구항 19

제18항의 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 20

제19항에 있어서, 피치아 (*Pichia*) 세포 또는 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포인 숙주 세포.

청구항 21

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원 결합성 단편, 및 제약상 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는, 암을 치료하기 위한 조성물.

청구항 22

제21항에 있어서,

- a. 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- b. 항-LAG3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- c. 항-VISTA 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- d. 항-BTLA 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- e. 항-TIM3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- f. 항-CTLA4 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- g. 항-HVEM 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- h. 항-CD27 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- i. 항-CD137 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- j. 항-OX40 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- k. 항-CD28 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- l. 항-PDL1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- m. 항-PDL2 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- n. 항-GITR 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- o. 항-ICOS 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- p. 항-SIRP α 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- q. 항-ILT2 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;

- r. 항-ILT3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편;
- s. 항-ILT4 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 및
- t. 항-ILT5 항체 또는 그의 항원 결합성 단편

으로 이루어진 군으로부터 선택된 작용제를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편이 펙트롤리주맙 또는 그의 항원 결합성 단편 및 니볼루맙 또는 그의 항원 결합성 단편으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서, 항-PD1 항체가 펙트롤리주맙인 조성물.

청구항 25

a. (i) 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 항원 결합성 단편의 중쇄 가변 영역을 코딩하는 뉴클레오타이드; 및

(ii) 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 항원 결합성 단편의 경쇄 가변 영역을 코딩하는 뉴클레오타이드

를 포함하는 숙주 세포를 적절한 조건하에 배양하는 단계; 및

b. 임의로, 상기 숙주 세포 및/또는 배양 배지로부터 상기 항체 또는 항원 결합성 단편을 회수하는 단계

를 포함하는, 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 항원 결합성 단편의 제조 방법.

청구항 26

유효량의 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원 결합성 단편을 포함하고, 임의로 추가의 치료제 또는 치료 과정과 연합하여 사용되는, 인간 대상체에서 암을 치료하기 위한 의약.

청구항 27

제26항에 있어서, 추가의 치료제가 항-PD1 항체 또는 항-PDL1 항체인 의약.

청구항 28

제27항에 있어서, 항-PD1 항체가 펙트롤리주맙 또는 니볼루맙인 의약.

청구항 29

제28항에 있어서, 항-PD1 항체가 펙트롤리주맙인 의약.

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

발명의 설명

기술 분야

서열 목록

[0002] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자적으로 제출되었고 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 서열 목록을 함유한다. 2015년 7월 27일에 창출된, 상기 ASCII 카피는 23808-US-PCT_SL.txt로 명명되고 그 크기가 136,039 바이트이다.

[0003] 본 발명은 항-TIGIT 항체뿐만 아니라 질환, 예컨대 암 및 감염성 질환을 치료하는 데 있어서의 이들 항체의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0004] 종양 면역 요법을 가능하게 하는 주요 요인은, 일반적으로 자기 관용을 유지하기 위한 면역 검사점 (immune checkpoint)으로서 기능하는 억제성 면역 조정 수용체 (IMR)가 면역을 피할 수 있는 종양 미세 환경의 능력에 핵심이라는 발견으로부터 비롯되었다. 억제성 IMR의 봉쇄는 활성화되는 시토카인 또는 종양 백신을 이용하는 종양 면역의 직접적인 자극보다 더 효과적으로 강력한 종양-특이적 면역 반응을 촉발시키는 것으로 보이며, 이러한 접근 방식은 인간 암 요법을 변환시킬 수 있는 잠재력을 갖는다. 이제 종양학 임상 시험에서 반응자의 비율을 증가시킬 뿐만 아니라 종양 면역요법 치료가 유효한 종양학 적응증을 확장하기 위해 다른 IMR에 대한 새로운 항체 길항제를 개발하고 길항제 항체를 하나 초과 IMR과 조합하려는 잠재력에 대해 중요한 의미와 기회가 유발된다.

[0005] 중요하게도, 세포성 면역을 조절하는 리간드 및 억제성 IMR은 통상적으로, 종양 세포 및 종양 관련 대식세포 (TAM) 상에서 과발현된다. 특히, 종양에서의 PD-L1의 과발현은 종양 특이적 T 세포 고갈 및 불량 예후와 연관이 있다. 임상 시험에서 PD-1/PD-L1 라이게이션(ligation)의 차단은 상당한 비율의 환자에서 지속적인 종양 퇴행 반응을 초래하였다. 최근의 한 보고서는 흑색종 환자로부터 유래된 종양-특이적 CD8+ T 세포에서 PD-1과 또 다른 억제성 IMR (TIM-3)의 공동 발현이, IMR을 단독으로 발현하는 세포와 비교해서 더 많은 기능 장애 T 세포 고갈 표현형과 연관이 있다는 것을 명확하게 보여주었다. 더욱이, 전임상 종양 모델을 이용한 몇 가지 보고서는 PD-1, TIM-3, LAG-3 및 CTLA-4를 비롯한 다수의 IMR의 차단이 PD-1 단독으로 길항하는 것보다 더 효과적으로 항-종양 반응을 유도시켰다는 것을 명확하게 보여주었다. 이들 결과는 IMR 경로를 더 자세히 조사해야 하는 중요성을 강조한다.

[0006] TIGIT (Ig 및 ITIM 도메인을 갖는 T 세포 면역 수용체)는 주로 활성화된 T 세포 및 NK 세포 상에서 발현되는 면역 조정 수용체이다. TIGIT는 VSIG9; VSTM3; 및 WUCAM으로서 공지되기도 한다. 그의 구조는 1개의 세포외 면역 글로불린 도메인, 유형 1 막횡단 영역 및 2개의 ITIM 모티프를 나타낸다. TIGIT는 T 세포 상에서의 양성 (CD226) 및 음성 (TIGIT) 면역 조정 수용체, 및 APC 상에서 발현된 리간드 (CD155 및 CD112)로 이루어진 공동-자극성 네트워크의 일부를 형성한다.

[0007] TIGIT의 구조에 있어서 중요한 특징은 그의 세포질성 미부(tail) 도메인에 면역 수용체 티로신-기반 억제 모티프 (ITIM)가 존재한다는 것이다. PD-1 및 CTLA-4와 마찬가지로, TIGIT의 세포질 영역에 있는 ITIM 도메인은 SHP-1 및 SHP-2와 같은 티로신 포스파타제를 동원하고, 이어서 T 세포 수용체 (TCR) 서브유닛 상의 면역 수용체 티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM)를 이용한 티로신 잔기의 탈인산화를 초래하는 것으로 예측된다. 따라서, 종양 세포 또는 TAM에 의해 발현된 수용체-리간드 CD155 및 CD112에 의한 TIGIT의 라이게이션은 효과적인 항-종양 면역을 증가시키는 데 필수적인 T 세포 활성화 및 TCR-시그널링의 저해에 기여할 수 있다. 따라서, TIGIT에 대해 특이적인 길항제 항체가 T 세포 반응의 CD155 및 CD112 유도된 저해를 억제시킬 수 있고 항-종양 면역을 증강시킬 수 있었다. 본 발명의 목적은 암 치료를 위하여 단독으로 사용될 수 있거나 또는 다른 시약과 조합하여 사용될 수 있는 항-TIGIT 항체를 수득하는 것이다.

발명의 내용

- [0008] 본 발명은 다음에 명시된 구조적 및 기능적 특징을 포함하는 항-TIGIT 항체 및 그의 항원 결합성 단편을 제공한다.
- [0009] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호 (SEQ ID NO): 3, 79, 80, 81, 82, 83, 59, 90, 140, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166 또는 167의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 임의로, 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노몰구스(cynomolgous) 및 레서스(rhesus) TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징.
- [0010] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 6, 62, 74, 75, 76, 77, 78 또는 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 임의로, 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노몰구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징.
- [0011] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; 및 (iii) 서열식별번호: 140의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; 및 (iii) 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82 또는 83의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; 및 (iii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 임의로, 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노몰구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징.
- [0012] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (i) 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; 및 (iii) 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 임의로, 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노몰구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징.
- [0013] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1;

[illegible]

특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노물구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징.

[0014] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (i) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (iii) 서열식별번호: 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 또는 73의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (iii) 서열식별번호: 6, 74, 75, 76, 77 또는 78의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (iii) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 임의로, 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노물구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징.

[0015] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (i) 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (iii) 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 임의로, 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노물구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징.

[0016] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (i) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 148의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (iii) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121 또는 122의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (iii) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (iii) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 임의로, 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노물구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징.

[0017] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 140의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82 또는 83의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 또는 73의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6, 74, 75, 76, 77 또는 78의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간화된다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 9-24, 37-47, 143 및 144로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 25-30, 48-52, 146 및 147로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 가변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 임의로, 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노물구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징.

[0018] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82 또는 83의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 또는 73의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6, 74, 75, 76, 77 또는 78의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 제공하는데; 여기서 이러한 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 9-24 또는 37-47로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역과 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 25-30 또는 48-52로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 가변 영역과 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 이러한 전술된 실시양태에서, 서열 변이는 프레임워크 영역에서 일어난다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합한다.

[0019] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 중쇄 CDR (서열식별번호: 1-3) 내에 또는 경쇄 CDR (서열식별번호: 3-6) 내에 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 3의 중쇄 CDR 내에 1개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 위치 13W에서 이루어지고, 잔기 13W는 F, Y, I, V 또는 L로 치환된다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 5의 경쇄 CDR 내에 2개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 위치 3-4에서 이루어지고, 잔기 3N 및 4S는 SN, SS, ST, TT, SY, NQ, GS, SQ 및 DS로 치환된다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 6의 경쇄 CDR 내에 1개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 위치 7에서 이루어지고, 잔기 7W는

F, Y, I, V 또는 L로 치환된다. 서열식별번호: 9-24 및 37-47의 VH 서열은 서열식별번호: 1-3의 CDR을 갖고; 서열식별번호: 25-30 및 48-52의 VL 서열은 서열식별번호: 4-6의 CDR을 갖는다. 일부 실시양태에서, 상기 언급된 CDR 치환은 서열식별번호: 9-24 및 37-47의 VH 서열의 상응하는 CDR 내에서 및 서열식별번호: 25-30 및 48-52의 VL 서열의 CDR 내에서 이루어질 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합한다.

[0020] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (i) 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간화된다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 중쇄 CDR (서열식별번호: 57-59) 내에 또는 경쇄 CDR (서열식별번호: 60-62) 내에 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환을 포함하고, 그의 기능적 특징들 중 한 가지 이상을 보유한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 임의로, 다음 기능적 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노몰구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징.

[0021] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 147의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 148의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166 또는 167의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121 또는 122의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간화된다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간화된다. 한 실시양태

[illegible]

중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간화된다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 165의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간화된다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간화된다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 임의로, 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노몰구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징.

[0022]

한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간 TIGIT와 결합하고, (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 89의 중쇄 CDR2 내에 1개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 위치 7에서 이루어지고, 잔기 D가 R, L, K, F, S, Y 또는 V로 치환된다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 89의 중쇄 CDR2 내에 1개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 위치 8에서 이루어지고, 잔기 G가 R, N, Q, E, L K, S, Y 또는 V로 치환된다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 89의 중쇄 CDR2 내에 1개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 위치 12에서 이루어지고, N이 A 또는 S로 치환된다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 89의 중쇄 CDR2 내에 1개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 위치 13에서 이루어지고, E가 Q로 치환된다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 89의 중쇄 CDR2 내에 1개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 위치 16에서 이루어지고, K가 Q로 치환된다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 89의 중쇄 CDR2 내에 3개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 아미노산 잔기 12가 A 또는 S로 치환되고, 아미노산 잔기 13이 Q로 치환되며 아미노산 잔기 16이 Q로 치환된다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 90의 중쇄 CDR3 내에 1개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 아미노산 잔기 6이 A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V 또는 Y로 치환된다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 92의 경쇄 CDR 내에 1개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 위치 1에서 이루어지고, 잔기 N이 A, Y, W, S, T, R, H, G, I 또는 V로 치환된다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 92의 경쇄 CDR 내에 1개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 위치 2에서 이루어지고, 잔기 A가 N, I, L, T, V로 치환된다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간화된다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 임의로, 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로

인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노몰구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징.

[0023]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, 서열식별번호: 124-129 중 임의의 것의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 130-133 중 임의의 것의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 또한, 서열식별번호: 124-129로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 130-133으로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 서열식별번호: 124-129 중 어느 하나의 위치 56에서의 D 잔기가 R, L, K, F, S, Y 또는 V로 치환될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 124-129 중 어느 하나의 위치 57에서의 G 잔기가 R, N, Q, E, L K, S, Y 또는 V로 치환될 수 있다. 한 실시양태에서, 서열식별번호: 124-129 중 어느 하나의 위치 104에서의 W 잔기가 A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V 또는 Y로 치환될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 130-133 중 어느 하나의 위치 50에서의 N 잔기가 A, Y, W, S, T, I 또는 V로 치환될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 130-133 중 임의의 것의 위치 51에서의 A 잔기가 N, I, L, T 또는 V로 치환될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 128을 포함하는 중쇄 가변 영역 또는 서열식별번호: 132를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 128을 포함하는 중쇄 가변 영역 또는 서열식별번호: 133을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, 서열식별번호: 127을 포함하는 중쇄 가변 영역 또는 서열식별번호: 130을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 128을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 132를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 128을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 133을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, 서열식별번호: 126을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 131을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, 서열식별번호: 128을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 131을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, 서열식별번호: 125를 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 133을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, 서열식별번호: 126을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 130을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, 서열식별번호: 125를 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 132를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 127을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 130을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합한다.

[0024]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, (i) 서열식별번호: 124-129 중 어느 하나의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (여기서, 이러한 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 124-129 중 어느 하나와 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 포함한다) 및/또는 (ii) 서열식별번호: 130-133 중 어느 하나의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (여기서, 이러한 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 130-133 중 어느 하나와 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 포함한다)을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, (i) 서열식별번호: 128의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (여기서, 이러한 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 128과 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 포함한다) 및/또는 (ii) 서열식별번호: 132의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (여기서, 이러한 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 132와 적어도 90%, 95%, 96%,

97%, 98% 또는 99% 동일성을 포함한다)을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, (i) 서열식별번호: 128의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (여기서, 이러한 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 128과 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 포함한다) 및/또는 (ii) 서열식별번호: 133의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (여기서, 이러한 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 133과 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 포함한다)을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한, (i) 서열식별번호: 127의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (여기서, 이러한 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 127과 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 포함한다) 및/또는 (ii) 서열식별번호: 130의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (여기서, 이러한 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 130과 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 포함한다)을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 이들 실시양태에서, 상기 허용된 서열 변이는 가변 쇄의 프레임워크 영역에서 일어난다. 일부 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 표면 플라즈몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합한다.

[0025] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 및/또는 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 이러한 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간 TIGIT와 결합한다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 표면 플라즈몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합한다.

[0026] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 143의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 및/또는 서열식별번호: 145의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 이러한 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간 TIGIT와 결합한다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 표면 플라즈몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합한다.

[0027] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 144의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 및/또는 서열식별번호: 146의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 이러한 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간 TIGIT와 결합한다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 표면 플라즈몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합한다.

[0028] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 및/또는 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 이러한 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간 TIGIT와 결합한다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 표면 플라즈몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합한다.

[0029] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 94의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 및/또는 서열식별번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 이러한 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간 TIGIT와 결합한다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 표면 플라즈몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합한다.

[0030] 한 실시양태에서, 본 발명은 또한, 서열식별번호: 149를 포함하는 중쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 151을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 표면 플라즈몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합한다.

[0031] 한 실시양태에서, 본 발명은 또한, 서열식별번호: 150을 포함하는 중쇄 가변 영역 및/또는 서열식별번호: 152를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다.

한다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합한다.

[0032] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 7의 가변 중쇄 및 서열식별번호: 8의 가변 경쇄를 포함하는 항체와 동일한 인간 TIGIT의 에피토프와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 여기서 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iii) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (iv) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (v) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징. 한 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 7-30 또는 37-52 중 어느 하나의 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 7, 9-24 및 37-47 중 어느 하나의 가변 중쇄 및/또는 서열식별번호: 8, 25-30 및 48-52 중 어느 하나의 가변 경쇄 내에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 아미노산 치환을 포함한다.

[0033] 한 실시양태에서, 본 발명은 다음 영역 중 적어도 하나를 포함하는 인간 TIGIT의 에피토프와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다: 서열식별번호: 31의 잔기 54-57, 서열식별번호: 31의 잔기 68-70 및 서열식별번호: 31의 잔기 76-81. 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 31의 잔기 54-57, 68-70 및 76-81을 포함하는 인간 TIGIT의 에피토프와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다.

[0034] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 63의 가변 중쇄 및 서열식별번호: 64의 가변 경쇄를 포함하는 항체와 동일한 인간 TIGIT의 에피토프와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 여기서 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노몰구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 63의 가변 중쇄 및/또는 서열식별번호: 64의 가변 경쇄와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 63의 가변 중쇄 및/또는 서열식별번호: 64의 가변 경쇄 내에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 아미노산 치환을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 중쇄 CDR (서열식별번호: 57-59) 내에 또는 경쇄 CDR (서열식별번호: 60-62) 내에 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환을 포함한다.

[0035] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 94의 가변 중쇄 및 서열식별번호: 95의 가변 경쇄를 포함하는 항체와 동일한, 인간 TIGIT의 에피토프와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 여기서 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노몰구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 94 또는 124-129 중 어느 하나의 가변 중쇄, 및/또는 서열식별번호: 95 또는 130-133 중 어느 하나의 가변 경쇄와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 94 또는 124-129 중 어느 하나의 가변 중쇄, 및/또는 서열식별번호: 95 또는 130-133 중 어느 하나의 가변 경쇄 내에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28,

29 또는 30개의 아미노산 치환을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 중쇄 CDR (서열식별번호: 88-90) 내에 및/또는 경쇄 CDR (서열식별번호: 91-93) 내에 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 88, 134 및 90의 중쇄 CDR 및/또는 서열식별번호: 91, 92 및 93의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0036] 한 실시양태에서, 본 발명은 다음 영역 중 적어도 하나를 포함하는 인간 TIGIT의 에피토프와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다: 서열식별번호: 31의 잔기 53-57, 잔기 60-65, 잔기 68-70, 잔기 72-81, 잔기 94-95, 및 잔기 109-119. 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 31의 잔기 53-57, 60-65, 68-70, 72-81, 94-95, 및 109-119를 포함하는 인간 TIGIT의 에피토프와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다.

[0037] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 7의 가변 중쇄 및 서열식별번호: 8의 가변 경쇄를 포함하는 항체의 인간 TIGIT에 대한 결합을 교차 차단시키거나 또는 인간 TIGIT와의 결합을 놓고 상기 항체와 경쟁하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 여기서 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노물구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 7-30 또는 37-52의 가변 중쇄 또는 가변 경쇄와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 7, 9-24 및 37-47의 가변 중쇄 또는 서열식별번호: 8, 25-30 및 48-52의 가변 경쇄 내에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 아미노산 치환을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 중쇄 CDR (서열식별번호: 1-3) 내에 또는 경쇄 CDR (서열식별번호: 3-6) 내에 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환을 포함한다.

[0038] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 63의 가변 중쇄 및 서열식별번호: 64의 가변 경쇄를 포함하는 항체의 인간 TIGIT에 대한 결합을 교차 차단시키거나 또는 인간 TIGIT와의 결합을 놓고 상기 항체와 경쟁하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 여기서 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 다음 기능적 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노물구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징. 한 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 63의 가변 중쇄 또는 서열식별번호: 64의 가변 경쇄와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 63의 가변 중쇄 또는 서열식별번호: 64의 가변 경쇄 내에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 아미노산 치환을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 중쇄 CDR (서열식별번호: 57-59) 내에 또는 경쇄 CDR (서열식별번호: 60-62) 내에 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환을 포함한다.

[0039] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 94의 가변 중쇄 및 서열식별번호: 95의 가변 경쇄를 포함하는 항체의 인간 TIGIT에 대한 결합을 교차 차단시키거나 또는 인간 TIGIT와의 결합을 놓고 상기 항체와 경쟁하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 여기서 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 다음 특징들 중 적어도 한 가지를 갖는다: (i) 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특징; (ii) 시노물구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특징; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특징; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특징; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특징; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특징. 한 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 94의 가변 중쇄 또는 서열식

별번호: 95의 가변 경쇄와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 94 또는 124-129 중 어느 하나의 가변 중쇄 또는 서열식별번호: 95 또는 130-133 중 어느 하나의 가변 경쇄 내에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 아미노산 치환을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 중쇄 CDR (서열식별번호: 88-90) 내에 또는 경쇄 CDR (서열식별번호: 91-93) 내에 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 128을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 132를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 127을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 130을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 128을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 133을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0040] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 9-24 및 37-47 중 어느 하나로 이루어진 군으로부터 선택된 가변 중쇄, 및/또는 서열식별번호: 25-30 및 48-52 중 어느 하나로 이루어진 군으로부터 선택된 가변 경쇄를 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 중쇄의 FR4 내에 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 서열식별번호: 9-24 및 37-47의 위치 122에서 이루어지고, 잔기가 M에서 V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W 또는 Y로 대체된다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 중쇄의 FR4 내에 2개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 서열식별번호: 9-24 및 37-47의 위치 122 및 123에서 이루어지고, 잔기가 M 및 V에서 T 및 L로 각각 대체된다.

[0041] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 9-24 및 37-47 중 어느 하나로 이루어진 군으로부터 선택된 가변 중쇄, 및/또는 서열식별번호: 25-30 및 48-52 중 어느 하나로 이루어진 군으로부터 선택된 가변 경쇄를 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 중쇄의 FR4 내에 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 서열식별번호: 9-24 및 37-47의 위치 122에서 이루어지고, 잔기가 M에서 V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W 또는 Y로 대체된다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 중쇄의 FR4 내에 2개의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 이러한 치환은 서열식별번호: 9-24 및 37-47의 위치 122 및 123에서 이루어지고, 잔기가 M 및 V에서 T 및 L로 각각 대체된다.

[0042] 한 실시양태에서, 본 발명은 30개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그의 변이체를 포함하는 중쇄; 및/또는 12개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 단리된 항체 또는 항원 결합성 단편에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 상기 중쇄는 6, 9, 12, 15, 16, 17, 23, 25, 37, 39, 40, 43, 44, 45, 48, 67, 68, 70, 71, 79, 81, 83, 87, 88, 92, 94, 119, 122 및 123으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 중쇄는 6, 9, 12, 15, 16, 17, 23, 25, 37, 39, 40, 43, 44, 45, 48, 67, 68, 70, 71, 79, 81, 83, 87, 88, 92, 94, 110, 119, 122 및 123으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 위치 6에서의 아미노산은 E 또는 Q일 수 있고, 위치 9에서의 아미노산은 P 또는 A일 수 있으며, 위치 12에서의 아미노산은 V 또는 L일 수 있고, 위치 15에서의 아미노산은 S 또는 P일 수 있으며, 위치 16에서의 아미노산은 Q 또는 E 또는 G일 수 있고, 위치 17에서의 아미노산은 S 또는 T일 수 있으며, 위치 23에서의 아미노산은 S 또는 T일 수 있고, 위치 25에서의 아미노산은 T 또는 S일 수 있으며, 위치 37에서의 아미노산은 I 또는 V일 수 있고, 위치 39에서의 아미노산은 K 또는 Q일 수 있으며, 위치 40에서의 아미노산은 F 또는 P일 수 있고, 위치 43에서의 아미노산은 N 또는 K일 수 있으며, 위치 44에서의 아미노산은 K 또는 G일 수 있고, 위치 45에서의 아미노산은 M 또는 L일 수 있으며, 위치 48에서의 아미노산은 M 또는 I일 수 있고, 위치 67에서의 아미노산은 I 또는 V일 수 있으며, 위치 68에서의 아미노산은 S 또는 T일 수 있고, 위치 70에서의 아미노산은 T 또는 S일 수 있으며, 위치 71에서의 아미노산은 R 또는 V일 수 있고, 위치 79에서의 아미노산은 F 또는 S일 수 있으며, 위치 81에서의 아미노산은 Q 또는 K일 수 있고, 위치 83에서의 아미노산은 H 또는 S일 수 있으며, 위치 87에서의 아미노산은 T 또는 A일 수 있고, 위치 88에서의 아미노산은 D 또는 A일 수 있으며, 위치 92에서의 아미노산은 T 또는 V일 수 있고, 위치 94에서의 아미노산은 S 또는 Y일 수 있으며, 위치 110에서의 아미노산은 W, F, Y, I, V 또는 L일 수 있고, 위치 119에서의 아미노산은 P 또는 Q일 수 있으며, 위치 122에서의 아미노산은 M, V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W 또는 Y일 수 있고, 위치 123에서의 아미노산은 V, T 또는 L일 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 경쇄는 10, 21, 22, 40, 42, 46, 52, 53, 58, 77, 83, 87, 95 및 106으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 경쇄는 10, 21, 22, 40, 42, 46, 52,

53, 58, 77, 83, 87, 95 및 106으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 위치 10에서의 아미노산은 L 또는 S일 수 있고, 위치 21에서의 아미노산은 L 또는 I일 수 있으며, 위치 22에서의 아미노산은 N 또는 T일 수 있고, 위치 40에서의 아미노산은 L 또는 P일 수 있으며, 위치 42에서의 아미노산은 E 또는 K일 수 있고, 위치 46에서의 아미노산은 F 또는 L일 수 있으며, 위치 52에서의 아미노산은 N, S, T, G 또는 D일 수 있고, 위치 53에서의 아미노산은 S, N, T, Y 또는 Q일 수 있으며, 위치 58에서의 아미노산은 I 또는 V일 수 있고, 위치 77에서의 아미노산은 G 또는 S일 수 있으며, 위치 83에서의 아미노산은 V 또는 F일 수 있고, 위치 87에서의 아미노산은 F 또는 Y일 수 있으며, 위치 95에서의 아미노산은 W, F, Y, I, V 또는 L일 수 있고, 위치 105에서의 아미노산은 L 또는 I일 수 있다.

[0043] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 항원 결합성 단편에 관한 것인데, 여기서 각각의 가변 쇠는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 아미노산 치환을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 9의 위치 27, 48, 67, 71, 83, 110, 122 및 123에 돌연변이를 포함할 수 있다. 예를 들어, 서열식별번호: 9와 관련하여, 위치 27에서의 아미노산은 G 또는 S일 수 있고; 위치 48에서의 아미노산은 I 또는 M일 수 있으며; 위치 67에서의 아미노산은 V 또는 I일 수 있고; 위치 71에서의 아미노산은 V 또는 R일 수 있으며; 위치 83에서의 아미노산은 S 또는 H일 수 있고; 위치 110에서의 아미노산은 W, F, Y, I, V 또는 L일 수 있으며; 위치 122에서의 아미노산은 M, V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W 또는 Y일 수 있고; 위치 123에서의 아미노산은 V, T 또는 L일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 상기 항체는 서열식별번호: 25의 위치 46, 52, 53, 58 및 95에 돌연변이를 포함할 수 있다. 예를 들어, 서열식별번호: 25와 관련하여, 위치 46에서의 아미노산은 L 또는 F일 수 있고; 위치 52에서의 아미노산은 N, S, T, G 또는 D일 수 있으며; 위치 53에서의 아미노산은 S, N, T, Y 또는 Q일 수 있고; 위치 58에서의 아미노산은 I 또는 V일 수 있으며; 위치 58에서의 아미노산은 V 또는 I일 수 있고; 위치 95에서의 아미노산은 W, F, Y, I, V 또는 L일 수 있다.

[0044] 한 실시양태에서, 본 발명은 30개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 94의 아미노산 서열 또는 그의 변이체를 포함하는 중쇄; 및 18개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 95의 아미노산 서열 또는 그의 변이체를 포함하는 경쇄를 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 항원 결합성 단편에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 상기 중쇄는 5, 9, 11, 12, 16, 20, 38, 40, 44, 56, 57, 61, 62, 65, 67, 68, 72, 74, 76, 79, 85, 87, 89, 91, 92, 104 및 111로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 94의 아미노산 서열의 변이체를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 중쇄는 5, 9, 11, 12, 16, 20, 38, 40, 44, 56, 57, 61, 62, 65, 67, 68, 72, 74, 76, 79, 85, 87, 89, 91, 92, 104 및 111로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 94의 아미노산 서열의 변이체를 포함하며, 여기서 위치 5에서의 아미노산은 Q 또는 V일 수 있고, 위치 9에서의 아미노산은 P 또는 A일 수 있으며, 위치 11에서의 아미노산은 V 또는 L일 수 있고, 위치 12에서의 아미노산은 V 또는 K일 수 있으며, 위치 16에서의 아미노산은 S 또는 A일 수 있고, 위치 20에서의 아미노산은 M 또는 V일 수 있으며, 위치 38에서의 아미노산은 K 또는 R일 수 있고, 위치 40에서의 아미노산은 K 또는 A일 수 있으며, 위치 44에서의 아미노산은 G 또는 R일 수 있고, 위치 56에서의 아미노산은 D, R, L, K, F, S, Y 또는 V일 수 있으며, 위치 57에서의 아미노산은 G, R, N, Q, E, L K, S, Y 또는 V일 수 있고, 위치 61에서의 아미노산은 N, A 또는 S일 수 있으며, 위치 62에서의 아미노산은 E 또는 Q일 수 있고, 위치 65에서의 아미노산은 K 또는 Q일 수 있으며, 위치 67에서의 아미노산은 R 또는 K일 수 있고, 위치 68에서의 아미노산은 A 또는 V일 수 있으며, 위치 72에서의 아미노산은 S 또는 R일 수 있고, 위치 74에서의 아미노산은 K 또는 T일 수 있으며, 위치 76에서의 아미노산은 S, I, A 또는 T일 수 있고, 위치 79에서의 아미노산은 A 또는 V일 수 있으며, 위치 85에서의 아미노산은 R 또는 S일 수 있고, 위치 87에서의 아미노산은 T 또는 R일 수 있으며, 위치 89에서의 아미노산은 D 또는 E일 수 있고, 위치 91에서의 아미노산은 S 또는 T일 수 있으며, 위치 92에서의 아미노산은 A 또는 V일 수 있고, 위치 104에서의 아미노산은 W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V 또는 Y일 수 있으며, 위치 111에서의 아미노산은 A 또는 Q일 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 경쇄는 9, 17, 18, 40, 43, 45, 48, 50, 51, 70, 72, 74, 76, 83, 84, 100, 103 및 106으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 95의 아미노산 서열의 변이체를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 경쇄는 9, 17, 18, 40, 43, 45, 48, 50, 51, 70, 72, 74, 76, 83, 84, 100, 103 및 106으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 95의 아미노산 서열의 변이체를 포함하며, 여기서 위치 9에서의 아미노산은 A 또는 S일 수 있고, 위치 17에서의 아미노산은 E 또는 D일 수 있으며, 위치 18에서의 아미노산은 T 또는 R일 수 있고, 위치 40에서의 아미노산은 Q 또는 P일 수 있으며, 위치 43에서의 아미노산은 S, A 또는 V일 수 있고, 위

치 45에서의 아미노산은 Q 또는 K일 수 있으며, 위치 48에서의 아미노산은 V 또는 I일 수 있고, 위치 50에서의 아미노산은 N, A, Y, W, S, T, I 또는 V일 수 있으며, 위치 51에서의 아미노산은 A, N, I, L, T 또는 V일 수 있고, 위치 70에서의 아미노산은 Q 또는 D일 수 있으며, 위치 72에서의 아미노산은 S 또는 T일 수 있고, 위치 74에서의 아미노산은 K 또는 T일 수 있으며, 위치 76에서의 아미노산은 N 또는 S일 수 있고, 위치 83에서의 아미노산은 F 또는 V일 수 있으며, 위치 84에서의 아미노산은 G 또는 A일 수 있고, 위치 100에서의 아미노산은 A 또는 Q일 수 있으며, 위치 103에서의 아미노산은 T 또는 R일 수 있고, 위치 106에서의 아미노산은 L 또는 I일 수 있다.

[0045] 한 실시양태에서, 본 발명은 10개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 124의 아미노산 서열 또는 그의 변이체를 포함하는 중쇄; 및/또는 5개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 서열식별번호: 130의 아미노산 서열 또는 그의 변이체를 포함하는 경쇄를 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 항원 결합성 단편에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 124 또는 그의 변이체의 가변 중쇄를 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 여기서 상기 변이체는 16, 44, 56, 57, 61, 72, 74, 76, 79, 85, 89, 92 및 104로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에 치환을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 124 또는 그의 변이체의 가변 중쇄를 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 여기서 상기 변이체는 16, 44, 56, 57, 61, 72, 74, 76, 79, 85, 89, 92 및 104로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에 치환을 포함하고; 위치 16에서의 아미노산은 A 또는 S일 수 있고, 위치 44에서의 아미노산은 R 또는 G일 수 있으며, 위치 56에서의 아미노산은 D, R, L, K, F, S, Y 또는 V일 수 있고, 위치 57에서의 아미노산은 G, R, N, Q, E, L, K, S, Y 또는 V일 수 있으며, 위치 61에서의 아미노산은 S 또는 A일 수 있고, 위치 72에서의 아미노산은 R 또는 S일 수 있으며, 위치 74에서의 아미노산은 T 또는 K일 수 있고, 위치 76에서의 아미노산은 A 또는 T 또는 I일 수 있으며, 위치 79에서의 아미노산은 A 또는 V일 수 있고, 위치 85에서의 아미노산은 S 또는 R일 수 있으며, 위치 89에서의 아미노산은 E 또는 D일 수 있고, 위치 92에서의 아미노산은 A 또는 V일 수 있으며, 위치 104에서의 아미노산은 W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V 또는 Y일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 43, 50, 51, 70 및 83으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에 치환을 포함하는 서열식별번호: 130 또는 그의 변이체의 가변 경쇄를 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 43, 50, 51, 70 및 83으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에 치환을 포함하는 서열식별번호: 130 또는 그의 변이체의 가변 경쇄를 포함하는, 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 제공하는데, 여기서 위치 43에서의 아미노산은 S, A 또는 V일 수 있고, 위치 50에서의 아미노산은 N, A, Y, W, S, T, I 또는 V일 수 있으며, 위치 51에서의 아미노산은 A, N, I, L, T 또는 V일 수 있고, 위치 70에서의 아미노산은 Q 또는 D일 수 있으며, 위치 83에서의 아미노산은 F 또는 V일 수 있다.

[0046] 상기 실시양태 중 임의의 것에서, 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 단리된다.

[0047] 상기 실시양태 중 임의의 것에서, 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 재조합 항체이다.

[0048] 상기 실시양태 중 임의의 것에서, 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 완전한 길이의 항체이다.

[0049] 상기 실시양태 중 임의의 것에서, 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간화 항체이다.

[0050] 상기 실시양태 중 임의의 것에서, 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 2개의 중쇄와 2개의 경쇄를 포함하는 인간화 항체이다. 한 실시양태에서, 중쇄는 IgG1 이소형의 것이고, 경쇄는 카파 경쇄이다.

[0051] 상기 언급된 실시양태 중 임의의 것에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (a) 상기 언급된 가변 중쇄 중 임의의 것 및 (b) 리더 펩티드 (예를 들어, 서열식별번호: 53의 리더 펩티드)로 이루어진 가변 중쇄 영역을 포함할 수 있다. 상기 언급된 실시양태 중 임의의 것에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (a) 상기 언급된 가변 경쇄 중 임의의 것 및 (b) 리더 펩티드 (예를 들어, 서열식별번호: 54의 리더 펩티드)로 이루어진 가변 경쇄 영역을 포함할 수 있다.

[0052] 상기 언급된 실시양태 중 임의의 것에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 상기 언급된 가변 중쇄 중 임의의 것 및 임의의 인간 중쇄 불변 도메인을 포함하는 항체이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 IgG 이소형의 것이고, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 인간 중쇄 불변 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간 중쇄 IgG1 불변 도메인 (서열식별번호: 86) 또는 그의 변이체를 포함하며, 여기서 상기 변이체는 20개 이하의 변형된 아미노산 치환을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 86의 아미노산 서열을 포

합하는 인간 중쇄 IgG1 불변 도메인을 포함하는 항체이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간 중쇄 IgG1 불변 도메인을 포함하며, 여기서 이러한 IgG1 불변 도메인은 아푸코실화된다 (afucosylated). 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간 중쇄 IgG4 불변 도메인 또는 그의 변이체를 포함하며, 여기서 상기 변이체는 20개 이하의 변형된 아미노산 치환을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간 중쇄 IgG4 불변 도메인을 포함하며, 여기서 위치 228 (EU 넘버링 도식을 이용한다)에서의 아미노산을 Ser에서 Pro로 대체하였다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 인간 중쇄 IgG4 불변 도메인을 포함한다.

[0053] 상기 언급된 실시양태 중 임의의 것에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 상기 언급된 가변 경쇄 중 임의의 것 및 인간 경쇄 불변 도메인을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간 카파 경쇄 불변 도메인 또는 그의 변이체를 포함하며, 여기서 상기 변이체는 20개 이하의 변형된 아미노산 치환을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 인간 람다 경쇄 불변 도메인 또는 그의 변이체를 포함하며, 여기서 상기 변이체는 20개 이하의 변형된 아미노산 치환을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 인간 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0054] 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체는 2개의 경쇄와 2개의 중쇄를 갖는 완전 사량체 구조를 포함하며, 여기서 각 경쇄는 서열식별번호: 132를 포함하는 가변 영역 및 인간 카파 경쇄 (서열식별번호: 56)를 포함하고; 각 중쇄는 서열식별번호: 128을 포함하는 가변 영역, 인간 IgG1 불변 영역 (서열식별번호: 86)을 포함한다.

[0055] 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체는 2개의 경쇄와 2개의 중쇄를 갖는 완전 사량체 구조를 포함하며, 여기서 각 경쇄는 서열식별번호: 130을 포함하는 가변 영역 및 인간 카파 경쇄 (서열식별번호: 56)를 포함하고; 각 중쇄는 서열식별번호: 127을 포함하는 가변 영역, 인간 IgG1 불변 영역 (서열식별번호: 86)을 포함한다.

[0056] 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체는 2개의 경쇄와 2개의 중쇄를 갖는 완전 사량체 구조를 포함하며, 여기서 각 경쇄는 서열식별번호: 133을 포함하는 가변 영역 및 인간 카파 경쇄 (서열식별번호: 56)를 포함하고; 각 중쇄는 서열식별번호: 128을 포함하는 가변 영역, 인간 IgG1 불변 영역 (서열식별번호: 86)을 포함한다.

[0057] 상기 언급된 실시양태 중 임의의 것에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 적어도 1종의 치료제와 접합될 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 치료제는 제2 항체 또는 그의 단편, 면역조절제, 호르몬, 세포독성제, 효소, 방사성 핵종; 적어도 하나의 면역조절제, 효소, 방사성 표지, 호르몬, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 또는 세포독성제와 접합된 제2 항체, 또는 그의 조합물을 포함한다.

[0058] 본 발명은 또한, 서열식별번호: 1-30, 37-52, 57-83 또는 88-151 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 임의의 상기 서열의 단편을 포함하는 단리된 폴리펩티드를 제공한다.

[0059] 본 발명은 또한, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편 중 어느 하나를 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 1-30, 37-52, 57-64 또는 88-133의 폴리펩티드 중 어느 하나를 코딩하는 단리된 핵산을 제공하는데, 여기서 상기 폴리펩티드는 임의로, 리더 서열을 포함할 수 있다. 본 발명은 또한, 서열식별번호: 1-30, 37-52, 57-83 또는 88-167의 폴리펩티드 (여기서, 이러한 폴리펩티드는 임의로, 리더 서열을 포함할 수 있다) 중 어느 하나를 코딩하는 핵산을 포함하는 발현 벡터를 제공한다. 이들 단리된 핵산 및 이를 포함하는 발현 벡터를 사용하여, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 재조합 숙주 세포에서 발현시킬 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한, 서열식별번호: 1-30, 37-52, 57-83 또는 88-151의 폴리펩티드 (여기서, 이러한 폴리펩티드는 임의로, 리더 서열을 포함할 수 있다) 중 어느 하나를 코딩하는 단리된 핵산을 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 한 실시양태에서, 숙주 세포는 중국 햄스터 난소 세포이다. 한 실시양태에서, 숙주 세포는 효모 세포, 예를 들어 피치아 (*Pichia*) 세포 또는 피치아 파스토리스 (*Pichia pastoris*) 숙주 세포이다.

[0060] 본 발명은 또한, 본 발명의 항체 또는 항원 결합성 단편 및 제약상 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 조성물은 추가의 치료제를 포함한다. 한 실시양태에서, 추가의 치료제는 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-LAG3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-VISTA 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-BTLA 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-TIM3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CTLA4 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-HVEM 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CD27 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CD137 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-OX40 항체 또는 그의 항원 결합성

단편; 항-CD28 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-PDL1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-PDL2 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-GITR 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ICOS 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-SIRP α 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT2 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT4 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 및 항-ILT5 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항 4-1BB 항체 또는 그의 항원 결합성 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 펌브롤리주맙(pembrolizumab) 또는 그의 항원 결합성 단편 및 니볼루맙(nivolumab) 또는 그의 항원 결합성 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82, 83 또는 140의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 또는 141의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6, 74, 75, 76, 77, 78 또는 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 또는 147의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 또는 148의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다.

[0061]

한 실시양태에서, 본 발명은 (i) 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편; 및 (ii) 서열식별번호: 33의 중쇄 서열 및 서열식별번호: 34의 경쇄 가변 서열을 포함하는 항-PD1 항체를 포함하는 조성물을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편; 및 (b) 서열식별번호: 35의 중쇄 서열 및 서열식별번호: 36의 경쇄 가변 서열을 포함하는 항-PD1 항체를 포함하는 조성물을 제공한다. 한 실시양태에서, 항-PD1 항체는 항-TIGIT 항체의 투여 이전에 투여한다. 한 실시양태에서, 항-PD1 항체는 항-TIGIT 항체의 투여 이전 4 내지 10일에 투여한다. 한 실시양태에서, 치료 전에 항-PD1 항체로 처리하는 것은 면역 세포를 조정하여, 항-TIGIT 항체의 Fc-매개된 기능을 증강시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82, 83 또는 140의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 또는 141의 아미노

산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6, 74, 75, 76, 77, 78 또는 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 또는 147의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 또는 148의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다.

[0062]

본 발명은 또한, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편을, 1개, 2개 또는 그 초과 치료제와 조합하여 포함하는 조합물을 포함하며, 여기서 제2의 치료제는 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-LAG3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-VISTA 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-BTLA 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-TIM3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CTLA4 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-HVEM 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CD27 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CD137 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-OX40 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CD28 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-PDL1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-PDL2 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-GITR 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ICOS 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-SIRP α 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT2 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT4 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT5 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 및 항 4-1BB 항체 또는 그의 항원 결합성 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82, 83 또는 140의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 또는 141의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6, 74, 75, 76, 77, 78 또는 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 또는 147의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 또는 148의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함

의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다.

[0064]

본 발명은 또한, 본 발명의 항체 (또는 그의 항원 결합성 단편)의 중쇄 및/또는 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 숙주 세포를, 이러한 폴리뉴클레오타이드의 발현에 유리한 조건하에 배양하는 단계; 및 임의로, 상기 숙주 세포 및/또는 배양 배지로부터 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편을 회수하는 단계를 포함하는, 상기 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편의 생성 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 단일 벡터 내에 있다. 또 다른 실시양태에서, 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 상이한 벡터 내에 있다. 한 실시양태에서, 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82, 83 또는 140의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 또는 141의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6, 74, 75, 76, 77, 78 또는 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 코딩한다. 또 다른 실시양태에서, 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 또는 147의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 또는 148의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 코딩한다. 또 다른 실시양태에서, 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 코딩한다. 또 다른 실시양태에서, 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 코딩한다. 또 다른 실시양태에서, 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 코딩한다. 또 다른 실시양태에서, 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 코딩한다. 또 다른 실시양태에서, 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 서열식별번호: 128을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 132를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 코딩한다. 또 다른 실시양태에서, 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 서열식별번호: 127을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 130을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 코딩한다. 또 다른 실시양태에서, 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 서열식별번호: 128을 포함하는 중쇄

가변 영역 및 서열식별번호: 133을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항원 결합성 단편을 코딩한다.

[0065]

본 발명은 또한, 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편을, 임의로 추가의 치료제 또는 치료 과정과 연합하여 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에게서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 치료받는 대상체는 인간 대상체이다. 한 실시양태에서, 추가의 치료제는 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-LAG3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-VISTA 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-BTLA 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-TIM3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CTLA4 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-HVEM 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CD27 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CD137 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-OX40 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CD28 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-PDL1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-PDL2 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-GITR 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ICOS 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-SIRP α 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT2 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT4 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT5 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 및 항-4-1BB 항체 또는 그의 항원 결합성 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 펌프롤리주맵 또는 그의 항원 결합성 단편 및 니볼루맵 또는 그의 항원 결합성 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82, 83 또는 140의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 또는 141의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6, 74, 75, 76, 77, 78 또는 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 또는 147의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 또는 148의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다.

[0066]

본 발명은 또한, 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편을 투여하고, 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편을 추가로 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에게서

암을 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 캄브롤리주맵 또는 그의 항원 결합성 단편 및 니볼루맵 또는 그의 항원 결합성 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82, 83 또는 140의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 또는 141의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6, 74, 75, 76, 77, 78 또는 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 또는 147의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 또는 148의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다.

[0067]

본 발명은 또한, 대상체에게 유효량의 본 발명의 항체 또는 항원 결합성 단편을, 임의로 추가의 치료제 또는 치료 과정과 연합하여 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에게서 감염 또는 감염성 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 치료받는 대상체는 인간 대상체이다. 한 실시양태에서, 추가의 치료제는 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-LAG3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-VISTA 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-BTLA 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-TIM3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CTLA4 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-HVEM 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CD27 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CD137 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-OX40 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-CD28 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-PDL1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-PDL2 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-GITR 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ICOS 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-SIRP α 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT2 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT3 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT4 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 항-ILT5 항체 또는 그의 항원 결합성 단편; 및 항-4-1BB 항체 또는 그의 항원 결합성 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 캄브롤리주맵 또는 그의 항원 결합성 단편 및 니볼루맵 또는 그의 항원 결합성 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82, 83 또는 140의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄

영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 백신은 항원을 추가로 포함한다.

[0069]

본 발명은 또한, 특정 샘플을 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합성 단편과 접촉시키는 단계; 및 이러한 항체 또는 단편과 TIGIT 펩티드 간의 복합체의 존재를 검출하는 단계를 포함하는 (여기서, 상기 복합체의 검출은 TIGIT 펩티드의 존재를 표시한다), 상기 샘플 중에서 TIGIT 펩티드 또는 그의 단편의 존재를 검출하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82, 83 또는 140의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 또는 141의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6, 74, 75, 76, 77, 78 또는 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 또는 147의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 또는 148의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다.

[0070]

본 발명은 또한, 특정 면역 세포를 본 발명의 항체 또는 항원 결합성 단편 중 어느 하나와 접촉시키는 것을 포함하는, 상기 면역 세포의 활성을 증가시키는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 면역 세포의 활성 증가를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본 발명의 항체 또는 항원 결합성 단편을 투여하는 것을 포함하는, 면

역 세포의 활성을 증가시키는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 방법은 암을 치료하기 위해 사용되거나, 감염 또는 감염성 질환을 치료하기 위해 사용되거나, 또는 백신 아주반트로서 사용된다. 한 실시양태에서, 면역 세포의 활성 상의 증가는 이러한 면역 세포의 증식을 측정함으로써 검출될 수 있다. 예를 들어, T 세포의 활성 상의 증가는 T 세포의 증식을 측정함으로써 검출될 수 있다. 한 실시양태에서, 면역 세포의 활성 상의 증가는 대상체로부터 유래된 샘플 중에서 T 세포 활성화를 생체 외에서 측정함으로써 검출될 수 있다. 한 실시양태에서, T 세포 활성 상의 증가는 (i) IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , IL-1 β , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 및 IL-13으로 이루어진 군으로부터 선택된 시토카인의 생성을 유도시키기 위한 T 세포 수용체 (TCR) 시그널링의 직접적인 항-CD3 mAb 자극 또는 혼합 림프구 반응을 측정하거나; (ii) IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 및 IL-13으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 시토카인의 SEB 유도된 생성을 측정하거나; 또는 (iii) IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 및 IL-13으로 이루어진 군으로부터 선택된 시토카인의 TT 유도된 생성을 측정함으로써 결정된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82, 83 또는 140의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 또는 141의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6, 74, 75, 76, 77, 78 또는 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 또는 147의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 또는 148의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다.

[0071] 본 발명은 또한, 대상체에게 유효량의 길항제 항-TIGIT 항체 및 길항제 항-PD1 항체를 투여하는 것을 포함하는 (여기서, 항-TIGIT 항체는 모 항체와 비교해서 증가된 이펙터 기능을 갖는다), 상기 대상체에게서 암 또는 감염성 질환을 치료하는 방법을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은, "모 항체"는 야생형 Fc 영역 및/또는 야생형 글리코실화 (즉, 조작되지 않은 포유류 숙주 세포에서의 폴리펩티드의 발현으로부터 비롯되는 글리코실화 패턴)를 갖는 항체를 지칭한다. 모 항체의 이펙터 기능은 그의 Fc 영역을 돌연변이시키거나 또는 그의 글리코실화를 변경시킴으로써 증가시킬 수 있다 (다음에 추가로 상세히 논의되는 바와 같음). 한 실시양태에서, 항-PD1 항체는 항-TIGIT 항체의 투여 이전에 투여한다. 한 실시양태에서, 항-PD1 항체는 항-TIGIT 항체의 투여 이전 4

내지 10일에 투여한다. 한 실시양태에서, 치료 전에 항-PD1 항체로 처리하는 것은 면역 세포를 조정하여, 항-TIGIT 항체의 Fc-매개된 기능을 증강시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체는 인간 IgG1 불변 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체와 항-PD1 항체로 처리하는 것이 Tregs의 고갈을 초래하지 않는다. 한 실시양태에서, 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 펙트롤리주맙 및 니볼루맙으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3 (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3 (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다.

[0072] 본 발명은 또한, 대상체에게 유효량의 길항제 항-TIGIT 항체 및 길항제 항-PD1 항체를 투여하는 것을 포함하는 (여기서, 항-TIGIT 항체는 아푸코실화된다), 상기 대상체에게서 암 또는 감염성 질환을 치료하는 방법을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 89, 134 또는 135의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 (i) 서열식별번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (ii) 서열식별번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (iii) 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (iv) 서열식별번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (v) 서열식별번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (vi) 서열식별번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다.

[0073] 본 발명은 또한, 모 항-TIGIT 항체를 수득하는 단계; 및 이러한 모 항-TIGIT 항체의 이펙터 기능을 증가시키는 단계를 포함하는 (이로써 생성되는 항-TIGIT 항체의 활성은 모 항-TIGIT 항체와 비교해서 증가된다), 항-TIGIT 항체의 항종양 활성을 증가시키는 방법을 제공한다. 본원에 사용된 바와 같은, "모 항-TIGIT 항체"는 야생형 Fc 영역 및/또는 야생형 글리코실화 (즉, 조작되지 않은 포유류 숙주 세포에서의 폴리펩티드의 발현으로부터 비롯되는 글리코실화 패턴)를 갖는 항체를 지칭한다. 모 항-TIGIT 항체의 이펙터 기능은 그의 Fc 영역을 돌연변이시키거나 또는 그의 글리코실화를 변경시킴으로써, 예를 들어 아푸코실화된 항체를 만듦으로써 증가시킬 수 있다 (다음에 추가로 상세히 논의되는 바와 같음). 한 실시양태에서, 모 항-TIGIT 항체의 이펙터 기능은 모 항-TIGIT 항체의 Fc 영역 내에 돌연변이를 만듦으로써 증가시킨다. 또 다른 실시양태에서, 모 항-TIGIT 항체의 이펙터 기능은 이러한 항체로부터 푸코스 잔기를 제거하거나, 또는 푸코스를 당단백질에 부가시키는 효소의 활성을 제거하도록 유전적으로 조작한 숙주 세포에서 상기 항체를 발현시킴으로써 증가시킨다.

도면의 간단한 설명

[0074] 도 1은 인간 및 레서스 TIGIT (CHO-K1 세포에서 발현됨)에 대한 항체 14A6의 결합을 도시한 것이다.

도 2는 인간 및 레서스 TIGIT (CHO-K1 세포에서 발현됨)에 대한 항체 28H5의 결합을 도시한 것이다.

도 3은 세포-기반 ELISA 차단 검정에 의해 결정 시에, 항체 14A6 및 28H5가 hCD155와 hTIGIT의 상호 작용을 차단한다는 것을 도시한 것이다.

도 4는 인간 및 레서스 TIGIT (CHO-K1 세포에서 발현됨)에 대한 항체 31C6의 결합을 도시한 것이고, 또한 항체 31C6이 hCD155와 hTIGIT의 상호 작용을 차단한다는 것을 도시한 것이다.

도 5는 시험관내 T 세포 검정에서 항체 14A6 및 28H5의 활성을 도시한 것이다.

도 6은 시험관내 T 세포 검정에서 항체 14A6 및 31C6의 활성을 도시한 것이다.

도 7은 1차 인간 T 세포주에서의 TIGIT, CD226, CD155 및 CD96의 발현을 도시한 것이다. 제3일에, 클론 BC4-49는 TIGIT의 가장 높은 상향 조절 (음성)과 CD226의 하향 조절 (양성)을 나타낸다.

도 8a 및 8b는 시험관내 T 세포 검정에서 각종 항-TIGIT 항체의 활성을 도시한 것이다. MBSA43 및 14A6, 37D10 및 28H5 항-TIGIT 항체가 1차 인간 T 세포에서 IFN γ 반응을 구제한 것으로 나타난다.

도 9a 내지 9d는 CT26 세포주가 체내이식된 마우스의 항-종양 반응에 대한, 단독요법 처리 아암(arm)과 비교한 래트 항-마우스 TIGIT 항체 (GIGD7)와 항-마우스 PD-1 항체의 공동 투여의 효과를 도시한 것이다 (n=10/군). 종양이 75 mm³ 내지 115 mm³에 도달할 때 처리를 시작하였다.

도 10은 동물 종양 모델에서 항-PD-1 항체와 조합한 항-TIGIT 항체 (18G10)의 항-종양 활성에 대한 Fc 이소형의 효과를 도시한 것이다.

도 11a 내지 11c는 동물 종양 모델에서 항-PD-1 항체와 조합한 항-TIGIT 항체 (18G10)의 항-종양 활성에 대한 Fc 이소형의 효과를 도시한 것이다.

도 12는 동물 종양 모델에서 항-PD-1 항체와 조합한 항-TIGIT 항체 (11A11)의 항-종양 활성에 대한 Fc 이소형의 효과를 도시한 것이다.

도 13a 내지 13c는 동물 종양 모델에서 항-PD-1 항체와 조합한 항-TIGIT 항체 (11A11)의 항-종양 활성에 대한 Fc 이소형의 효과를 도시한 것이다.

도 14는 14A6 항체의 결합에 의해 중수소화로부터 강력하게 또는 약하게 보호되는 인간 TIGIT의 영역을 표시하는 히트 맵(heat map)을 도시한 것이다. 이러한 히트 맵에 제시된 아미노산 서열은 서열식별번호: 87에 상응한다.

도 15는 31C6 항체의 결합에 의해 중수소화로부터 강력하게 또는 약하게 보호되는 인간 TIGIT의 영역을 표시하는 히트 맵을 도시한 것이다. 이러한 히트 맵에 제시된 아미노산 서열은 서열식별번호: 87에 상응한다.

도 16은 조작된 T 세포 기능적 검정에서 키메라 및 모 항체와 비교해서 31C6의 각종 인간화 클론의 효과를 도시한 것이다.

도 17은 1차 T 세포 기능적 검정에서 키메라 항체와 비교해서 31C6의 각종 인간화 클론의 효과를 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

약어

본 발명의 상세한 설명 및 실시예 전반에 걸쳐 다음 약어가 사용될 것이다:

ADCC	항체-의존성 세포성 세포독성
CDC	보체-의존성 세포독성
CDR	카바트(Kabat) 넘버링 시스템을 이용하여 정의된, 면역글로불린 가변 영역 내의 상보성 결정 영역
CHO	중국 햄스터 난소
ELISA	효소-결합 면역흡착 검정
FR	항체 프레임워크(architecture) 영역: CDR 영역을 배제한 면역글로불린 가변 영역

- [0083] HRP 서양고추냉이 퍼옥시다제
- [0084] IFN 인터페론
- [0085] IC50 50% 억제를 가져다주는 농도
- [0086] IgG 면역글로불린 G
- [0087] 카바트 문헌 [Elvin A. Kabat (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.]에 최초로 보고된 면역글로불린 정렬 및 넘버링 시스템
- [0088] mAb 또는 Mab 또는 MAb 모노클로날 항체
- [0089] SEB 스태필로코쿠스 장독소 (Staphylococcus Enterotoxin) B
- [0090] TT 과상품 독소이드
- [0091] V 영역 상이한 항체들 간의 서열에 있어서 가변적인 IgG 쇄의 절편. 이는 경쇄 내의 카바트 잔기 109 및 중쇄 내의 잔기 113까지 연장된다.
- [0092] VH 면역글로불린 중쇄 가변 영역
- [0093] VK 면역글로불린 카파 경쇄 가변 영역.
- [0094] 정의
- [0095] 본 발명을 보다 용이하게 이해할 수 있도록 하기 위해, 특정의 기술적 및 과학적 용어가 다음에 구체적으로 정의된다. 본 명세서의 다른 곳에서 구체적으로 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 다른 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 의미를 갖는다.
- [0096] 첨부된 청구범위를 포함하여, 본원에 사용된 바와 같은 단수 형태는, 문맥상 달리 명백하게 표시하지 않는 한은 그의 상응하는 복수의 언급 대상을 포함한다.
- [0097] 동물, 인간, 실험 대상체, 세포, 조직, 기관 또는 생물학적 유체에 적용되는 바와 같은 "투여" 및 "치료"는 외인성 약제, 치료제, 진단제, 또는 조성물을 상기 동물, 인간, 대상체, 세포, 조직, 기관 또는 생물학적 유체와 접촉시키는 것을 지칭한다. 특정 세포의 치료는 특정 시약을 상기 세포와 접촉시키는 것뿐만 아니라 특정 시약을 특정 유체 (이러한 유체는 세포와 접촉되어 있다)와 접촉시키는 것을 포괄한다. "투여" 및 "치료"는 또한, 특정 시약, 진단제, 결합성 화합물 또는 또 다른 세포에 의한, 예를 들어 특정 세포의 시험관내 및 생체의 치료를 의미한다.
- [0098] "치료하다" 또는 "치료하는"은 치료제, 예컨대 본 발명의 항체 또는 항원 결합성 단편 중 임의의 것을 함유하는 조성물을 내적으로 또는 외적으로, 한 가지 이상의 질환 증상을 갖거나 또는 특정 질환 (이에 대해 상기 치료제는 치료 활성을 갖는다)이 있는 것으로 의심되는 대상체 또는 환자에게 투여하는 것을 의미한다. 전형적으로, 상기 치료제는 임의의 임상적으로 측정 가능한 정도로써 한 가지 이상의 질환 증상(들)의 퇴행을 유도하는 것에 의해서든지 아니면 이러한 증상의 진행을 억제하는 것에 의해서든지 간에, 치료받은 대상체 또는 집단에게서 한 가지 이상의 질환 증상을 완화시키는 데 유효한 양으로 투여된다. 임의의 특별한 질환 증상을 완화시키는 데 유효한 치료제의 양은 환자의 질환 상태, 연령 및 체중, 및 대상체에게서 목적하는 반응을 유도시킬 수 있는 약물의 능력과 같은 요인에 따라서 다양할 수 있다. 질환 증상이 완화되었는 지의 여부는 이러한 증상의 중증도 또는 진행 상태를 평가하기 위해 의사 또는 다른 전문 의료 공급자에 의해 전형적으로 사용되고 있는 임의의 임상 측정에 의해 평가할 수 있다.
- [0099] TIGIT
- [0100] 용어 TIGIT는 인간 TIGIT, 시노몰구스 원숭이 TIGIT 및 레서스 TIGIT 뿐만 아니라 그의 단편, 예컨대 시그널 펩티드가 절여된 그의 성숙한 단편을 포함한다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 인간 TIGIT의 아미노산 서열은 유전자은행 고유 번호 NP_776160.2 (서열식별번호: 31)의 아미노산 잔기 25-244에 개시된 아미노산 서열을 포함한다. (서열식별번호: 31의 아미노산 잔기 1-24는 리더 펩티드에 상응한다).
- [0101] 본 발명의 특정 실시양태에서, 시노몰구스 원숭이, 예를 들어 마카카 파스시쿨라리스 (*Macaca fascicularis*) TIGIT의 아미노산 서열은 (서열식별번호: 32)에 개시된 아미노산 서열을 포함한다 (또한, 유전자은행 고유 번호

XP_005548157 참조). 레서스 원숭이 TIGIT의 아미노산 서열은 시노몰구스 원숭이 TIGIT의 아미노산 서열과 동일하다. (서열식별번호: 32의 아미노산 잔기 1-24는 리더 펩티드에 상응한다).

[0102] **항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편**

[0103] 본 발명은 인간 TIGIT와 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합성 단편, 및 이러한 항체 또는 단편의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항-TIGIT 항체는 단리된다.

[0104] 본원에 사용된 바와 같은, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편은 인간 TIGIT와 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 지칭한다. "인간 TIGIT와 특이적으로 결합하는" 항체 또는 그의 항원-결합성 단편은 약 1 nM 또는 그 초과 친화도 (예를 들어, 1 nM-2 pM, 1 nM, 100 pM, 10 pM 또는 2 pM)의 KD로 인간 TIGIT와 결합하지만, 이러한 서열이 결합된 다른 단백질과는 결합하지 않는 항체 또는 그의 항원-결합성 단편이다. 예를 들어, 인간 TIGIT와 "특이적으로 결합하는" 항체는 인간 CD226, 인간 CD155 및 인간 CD112와 결합하지 않는다. 추가의 예로서, 인간 TIGIT와 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합성 단편은 인간 TIGIT의 FLAG®-태그부착된 형태와는 결합할 수 있지만, 인간 TIGIT 에피토프가 결합된 다른 FLAG®-태그부착된 단백질과는 결합하지 않을 것이다. 한 실시양태에서, 인간 TIGIT와 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체는 또한, 시노몰구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응성이다. 본원에 사용된 바와 같은 "교차 반응성"은 다른 종으로부터의 상동 단백질과 반응할 수 있는 항체의 능력을 지칭한다. 항체가 인간 TIGIT와 특이적으로 결합하는지의 여부는 관련 기술분야에 공지된 임의의 검정을 이용하여 결정할 수 있다. 결합 친화도를 결정하는 것으로 관련 기술분야에 공지된 검정의 예는 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)을 포함한다.

[0105] 본 발명은 항-TIGIT 항체 및 그의 사용 방법을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "항체"는 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 임의의 형태의 항체를 지칭한다. 따라서, 이는 가장 광범위한 의미에서 사용되고 구체적으로 모노클로날 항체 (2개의 경쇄와 2개의 중쇄를 포함하는 완전한 길이의 모노클로날 항체 포함), 폴리클로날 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체), 인간화 항체, 완전 인간 항체, 키메라 항체 및 카멜화 단일 도메인 항체를 포괄하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0106] 본 발명은 비-인간 모 (예를 들어, 마우스 및 설치류) 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편 및 그의 사용 방법을 포함한다. 이들 항체는 사용 목적, 예컨대 인간 치료용 항체 또는 단편으로서 사용하기 위하여 항체를 인간화하기 위해 변형될 수 있다.

[0107] 본 발명은 항-TIGIT 항원-결합성 단편 및 그의 사용 방법을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 달리 표시되지 않는 한, "항체 단편" 또는 "항원-결합성 단편"은 항체의 항원-결합성 단편, 즉 완전한 길이의 항체에 의해 결합된 항원과 특이적으로 결합할 수 있는 능력을 보유하고 있는 항체 단편, 예를 들어 하나 이상의 CDR 영역을 보유하고 있는 단편을 지칭한다. 항원-결합성 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂, 및 Fv 단편; 디아보디 (diabody); 선형 항체; 단일 쇄 항체 분자, 예를 들어 sc-Fv; 나노보디 (nanobody), 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0108] 본 발명은 항-TIGIT Fab 단편 및 그의 사용 방법을 포함한다. "Fab 단편"은 1개의 경쇄, 및 1개의 중쇄의 C_H1 및 가변 영역으로 구성된다. Fab 분자의 중쇄는 또 다른 중쇄 분자와 디설피드 결합을 형성할 수 없다. "Fab 단편"은 항체의 파파인 절단 생성물일 수 있다.

[0109] 본 발명은 Fc 영역을 포함하는 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편, 및 그의 사용 방법을 포함한다. "Fc" 영역은 항체의 C_H1 및 C_H2 도메인을 포함하는 2개의 중쇄 단편을 함유한다. 이러한 2개의 중쇄 단편은 2개 이상의 디설피드 결합에 의해 그리고 C_H3 도메인의 소수성 상호 작용에 의해 결합된다.

[0110] 본 발명은 항-TIGIT Fab' 단편 및 그의 사용 방법을 포함한다. "Fab' 단편"은 1개의 경쇄, 및 V_H 도메인과 C_H1 도메인을 함유하고 또한 C_H1 도메인과 C_H2 도메인 사이의 영역을 함유하는 1개 중쇄의 특정 부분 또는 단편을 함유하므로, 쇄간 디설피드 결합이 2개의 Fab' 단편의 2개 중쇄 사이에 형성되어 F(ab')₂ 분자를 형성할 수 있다.

[0111] 본 발명은 항-TIGIT F(ab')₂ 단편 및 그의 사용 방법을 포함한다. "F(ab')₂ 단편"은 2개의 경쇄, 및 C_H1 도메인과 C_H2 도메인 사이의 불변 영역의 특정 부분을 함유하는 2개의 중쇄를 함유하므로, 쇄간 디설피드 결합이 상기 2개의 중쇄 사이에 형성된다. 따라서, F(ab')₂ 단편은 상기 2개의 중쇄 사이의 디설피드 결합에 의해 결합되는

2개의 Fab' 단편으로 구성된다. "F(ab')₂ 단편"은 항체의 펩신 절단 생성물일 수 있다.

- [0112] 본 발명은 항-TIGIT Fv 단편 및 그의 사용 방법을 포함한다. "Fv 영역"은 중쇄와 경쇄 둘 다로부터의 가변 영역을 포함하지만, 불변 영역은 결여되어 있다.
- [0113] 본 발명은 항-TIGIT scFv 단편 및 그의 사용 방법을 포함한다. 용어 "단일-쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체는 항체의 V_H 및 V_L 도메인을 포함하는 항체 단편을 지칭하는데, 이들 도메인은 단일 폴리펩티드 쇠에 존재한다. 일반적으로, Fv 폴리펩티드는 scFv가 항원 결합을 위한 목적하는 구조를 형성할 수 있게 해주는 V_H 도메인과 V_L 도메인 사이의 폴리펩티드 링커를 추가로 포함한다. scFv의 고찰을 위해, 다음 문헌을 참조할 수 있다 [Pluckthun (1994) THE PHARMACOLOGY OF MONOCLONAL ANTIBODIES, vol. 113, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315]. 또한, 국제 특허 출원 공개 번호 WO 88/01649 및 미국 특허 번호 4,946,778 및 5,260,203을 참조할 수 있다.
- [0114] 본 발명은 항-TIGIT 도메인 항체 및 그의 사용 방법을 포함한다. "도메인 항체"는 중쇄의 가변 영역 또는 경쇄의 가변 영역만을 함유하는, 면역학상 기능적 면역글로불린 단편이다. 일부 경우에, 2개 이상의 V_H 영역이 펩티드 링커와 공유적으로 연결되어 2가 도메인 항체를 창출한다. 2가 도메인 항체의 2개의 V_H 영역은 동일하거나 상이한 항원을 표적으로 할 수 있다.
- [0115] 본 발명은 항-TIGIT 2가 항체 및 그의 사용 방법을 포함한다. "2가 항체"는 2개의 항원 결합 부위를 포함한다. 일부 경우에, 이러한 2개의 결합 부위는 동일한 항원 특이성을 갖는다. 그러나, 2가 항체는 이중특이적일 수 있다 (하기 참조).
- [0116] 본 발명은 항-TIGIT 카멜화 단일 도메인 항체 및 그의 사용 방법을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본원의 항체는 또한, 카멜화 단일 도메인 항체를 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Muyldermans et al. (2001) *Trends Biochem. Sci.* 26:230]; [Reichmann et al. (1999) *J. Immunol. Methods* 231:25]; WO 94/04678; WO 94/25591; 미국 특허 번호 6,005,079 참조). 한 실시양태에서, 본 발명은 단일 도메인 항체가 형성되도록 변형시킨 2개의 V_H 도메인을 포함하는 단일 도메인 항체를 제공한다.
- [0117] 본 발명은 항-TIGIT 디아보디 및 그의 사용 방법을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "디아보디"는 2개의 항원 결합 부위를 수반하는 작은 항체 단편을 지칭하는데, 이러한 단편은 동일한 폴리펩티드 쇠 내에 경쇄 가변 도메인 (V_L)과 연결된 중쇄 가변 도메인 (V_H)을 포함한다 (V_H-V_L 또는 V_L-V_H). 동일한 쇠 상의 두 도메인 간에 짝짓기를 허용하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 이들 도메인은 또 다른 쇠의 상보적 도메인과 쌍을 형성하고 2개의 항원 결합 부위를 창출해야만 한다. 디아보디는 예를 들어, EP 404,097; WO 93/11161; 및 문헌 [Holliger et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448]에 보다 상세히 기재되어 있다. 조작된 항체 변이체에 관한 고찰을 위해서는, 일반적으로 문헌 [Holliger and Hudson (2005) *Nat. Biotechnol.* 23:1126-1136]을 참조할 수 있다.
- [0118] 전형적으로, 일부 방식으로 변형되는 본 발명의 항체 또는 항원-결합성 단편은 그의 결합 활성을 몰 기준으로 표현한 경우에, (모 항체와 비교해서) 적어도 10%의 그의 결합 활성을 보유하고 있다. 바람직하게, 본 발명의 항체 또는 항원-결합성 단편은 모 항체와 비교해서 적어도 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100% 또는 그 초과 TIGIT 결합 친화도를 보유하고 있다. 본 발명의 항체 또는 항원-결합성 단편은 그의 생물학적 활성을 실질적으로 변경시키지 않는 보존적 또는 비-보존적 아미노산 치환 (항체의 "보존적 변이체" 또는 "기능 보존된 변이체"로서 지칭됨)을 포함할 수 있는 것으로 또한 고려된다.
- [0119] 본 발명은 단리된 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편 및 그의 사용 방법을 포함한다. "단리된" 항체 또는 그의 항원-결합성 단편은 이들이 생성되는 세포 또는 세포 배양물로부터의 다른 생물학적 분자가 적어도 부분적으로 없다. 이러한 생물학적 분자는 핵산, 단백질, 지질, 탄수화물, 또는 다른 물질, 예컨대 세포 부스러기 및 성장 배지를 포함한다. 단리된 항체 또는 항원-결합성 단편은 추가로, 숙주 세포로부터의 생물학적 분자와 같은 발현 시스템 성분, 또는 그의 성장 배지가 적어도 부분적으로 없을 수 있다. 일반적으로, 용어 "단리된"은 상기 생물학적 분자의 완전한 부재, 또는 물, 완충제 또는 염의 부재, 또는 상기 항체 또는 단편을 포함하는 제약 제형의 성분을 지칭하는 것은 아니다.
- [0120] 본 발명은 모노클로날 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편뿐만 아니라 복수 개의 단리된 모노클로날 항체를 포함하는 모노클로날 조성물을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로

동질적 항체 집단, 즉 집단을 차지하고 있는 항체 분자가, 미량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생적 돌연변이를 제외하고는 아미노산 서열에 있어서 동일한 항체 집단을 지칭한다. 이와는 달리, 통상적인 (폴리클로날) 항체 제제는 전형적으로, 상이한 에피토프에 대해 종종 특이적인 그들의 가변 도메인, 특히 그들의 CDR에 상이한 아미노산 서열을 갖는 다수의 상이한 항체를 포함한다. 수식어 "모노클로날"은 실질적으로 동질적 항체 집단으로부터 취득되는 바와 같은 항체의 형질을 표시하고, 임의의 특별한 방법에 의한 항체의 생성을 요구하는 것으로 추론되지 않는다. 예를 들어, 본 발명에 따라서 사용하고자 하는 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler et al. (1975) *Nature* 256: 495]에 최초로 기재된 하이브리도마 방법에 의해 만들 수 있거나 또는 재조합 DNA 방법에 의해 만들 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567 참조). "모노클로날 항체"는 또한, 예를 들어 문헌 ([Clackson et al. (1991) *Nature* 352: 624-628] 및 [Marks et al. (1991) *J. Mol. Biol.* 222: 581-597])에 기재된 기술을 이용하여 파지(phage) 항체 라이브러리로부터 단리할 수 있다 (또한, 문헌 [Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731] 참조).

[0121] 본 발명은 항-TIGIT 키메라 항체 (예를 들어, 인간 불변 도메인/마우스 가변 도메인) 및 그의 사용 방법을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은, "키메라 항체"는 제1 항체로부터의 가변 도메인과 제2 항체로부터의 불변 도메인을 갖는 항체인데, 여기서 제1 항체와 제2 항체는 상이한 종으로부터 유래된다 (미국 특허 번호 4,816,567; 및 문헌 [Morrison et al., (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 6851-6855]). 전형적으로, 가변 도메인은 실험 동물, 예컨대 설치류로부터의 항체 ("모 항체")로부터 취득되고, 불변 도메인 서열은 인간 항체로부터 취득되므로, 이로써 생성되는 키메라 항체는 모 (예를 들어, 마우스) 항체보다 인간 대상체에게서 불리한 면역 반응을 덜 유발시킬 것으로 예상된다.

[0122] 본 발명은 항-TIGIT 인간화 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 인간화시킨 래트 또는 마우스 항체) 및 그의 사용 방법을 포함한다. 본 발명은 14A6 항체 (서열식별번호: 7 및 8을 포함한다), 28H5 항체 (서열식별번호: 63 및 64를 포함한다) 및 31C6 항체 (서열식별번호: 94-95를 포함한다)의 임의의 인간화 버전을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "인간화 항체"는 인간 항체와 비-인간 (예를 들어, 마우스 또는 래트) 항체 둘 다로부터의 서열을 함유하는 항체의 형태를 지칭한다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것인데, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 초가변 루프는 비-인간 면역글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 프레임워크 (FR) 영역은 인간 면역글로불린 서열의 것이다. 인간화 항체는 임의로, 인간 면역글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 특정 부분을 포함할 수 있다.

[0123] 일반적으로, 기본 항체 구조 단위는 사량체를 포함한다. 각 사량체는 폴리펩티드 쇄의 2개의 동일한 쌍을 포함하는데, 각 쌍은 1개의 "경쇄" (약 25 kDa) 및 1개의 "중쇄" (약 50-70 kDa)를 갖는다. 각 쇄의 아미노-말단 부분은 항원 인식에 대해 주로 책임이 있는 약 100개 내지 110개 또는 그 초과 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 중쇄의 카르복시-말단 부분은 이펙터 기능에 대해 주로 책임이 있는 불변 영역을 규정할 수 있다. 전형적으로, 인간 경쇄는 카파 및 람다 경쇄로서 분류된다. 더욱이, 인간 중쇄는 전형적으로, 뮤, 델타, 감마, 알파 또는 엡실론으로서 분류되고, 항체의 이소형을 IgM, IgD, IgG, IgA, 및 IgE로서 각각 규정한다. 경쇄 및 중쇄 내에서, 가변 영역과 불변 영역은 약 12개 이상의 아미노산의 "J" 영역에 의해 연결되는데, 중쇄는 또한, 약 10개 이상의 아미노산의 "D" 영역을 포함한다 (일반적으로, 문헌 [*Fundamental Immunology* Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))] 참조).

[0124] 각 경쇄/중쇄 쌍의 가변 영역은 항체 결합 부위를 형성한다. 따라서, 일반적으로, 무손상 항체는 2개의 결합 부위를 갖는다. 이관능성 또는 이중특이적 항체를 제외하고는, 이러한 2개의 결합 부위는 일반적으로, 동일하다.

[0125] 전형적으로, 중쇄와 경쇄 둘 다의 가변 도메인은 비교적 보존된 프레임워크 영역 (FR) 내에 위치한, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 부르기도 하는 3개의 초가변 영역을 포함한다. 이러한 CDR은 통상적으로, 특이적 에피토프와 결합할 수 있게 해주는 프레임워크 영역에 의해 정렬된다. 일반적으로, N-말단에서부터 C-말단까지, 경쇄와 중쇄 가변 도메인 둘 다는 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함한다. 아미노산을 각 도메인에 배정하는 것은 일반적으로, 다음 문헌의 정의에 따른다 [*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) *Adv. Prot. Chem.* 32:1-75; Kabat, et al., (1977) *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616; Chothia, et al., (1987) *J Mol. Biol.* 196:901-917 or Chothia, et al., (1989) *Nature* 342:878-883].

[0126] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "초가변 영역"은 항원-결합성에 대해 책임이 있는 항체 또는 그의 항원-결합성 단편의 아미노산 잔기를 지칭한다. 초가변 영역은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR" (즉, 경쇄 가변 도메인 내의

CDRL1, CDRL2 및 CDRL3, 및 중쇄 가변 도메인 내의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3)로부터의 아미노산 잔기를 포함한다 (문헌 [Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.] (항체의 CDR 영역을 서열로써 규정함); [Chothia and Lesk (1987) *J. Mol. Biol.* 196: 901-917] (항체의 CDR 영역을 구조로써 규정함) 참조). 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 CDR 잔기로서 본원에 정의된 초가변 영역 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 지칭한다.

[0127] "단리된 핵산 분자" 또는 "단리된 폴리뉴클레오티드"는 단리된 폴리뉴클레오티드가 자연에서 발견되는 폴리뉴클레오티드의 전부 또는 일부와 연결되지 않거나 또는 자연에서는 이와 연결되지 않는 폴리뉴클레오티드와 연결되는 게놈의 DNA 또는 RNA, mRNA, cDNA, 또는 합성 기원 또는 그의 일부 조합을 의미한다. 본 개시내용의 목적상, 특별한 뉴클레오티드 서열을 "포함하는 핵산 분자"는 무손상 염색체를 포괄하지 않는다는 것을 이해해야 한다. 명시된 핵산 서열을 "포함하는" 단리된 핵산 분자는 명시된 서열 이외에, 10개 이하 또는 심지어 20개 이하 또는 그 초과인 다른 단백질 또는 그의 부분 또는 단편에 대한 코딩 서열을 포함할 수 있거나, 또는 나열된 핵산 서열의 코딩 영역의 발현을 제어하는, 작동적으로 연결된 조절성 서열을 포함할 수 있고/있거나 벡터 서열을 포함할 수 있다.

[0128] "제어 서열"은 특별한 숙주 유기체에서 작동적으로 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 DNA 서열을 지칭한다. 원핵생물에 적합한 제어 서열은, 예를 들어 프로모터, 임의로 작동인자 서열, 및 리보솜 결합 부위를 포함한다. 진핵 세포는 프로모터, 폴리아데닐화 시그널 및 증강인자를 사용하는 것으로 공지되어 있다.

[0129] 특정 핵산 또는 폴리뉴클레오티드가 또 다른 핵산 서열과 기능적 관계가 되도록 배치되는 경우에, 이러한 핵산 또는 폴리뉴클레오티드는 "작동적으로 연결"된다. 예를 들어, 프리서열 또는 분비성 리더에 대한 DNA가 폴리펩티드의 분비에 참여하는 프리단백질로서 발현되는 경우에는, 이러한 DNA가 상기 폴리펩티드에 대한 DNA와 작동적으로 연결되거나; 프로모터 또는 증강인자가 코딩 서열의 전사에 영향을 미치는 경우에는, 이러한 프로모터 또는 증강인자가 상기 코딩 서열과 작동적으로 연결되거나; 또는 리보솜 결합 부위가 번역을 촉진시키도록 위치된 경우에는, 이러한 리보솜 결합 부위가 코딩 서열과 작동적으로 연결된다. 일반적으로, "작동적으로 연결된"이란 연결되는 DNA 서열이 연속되고, 분비성 리더의 경우에는, 연속되고 판독 단계에 있다는 것을 의미하지만, 항상 그런 것은 아니다. 그러나, 증강인자는 연속되지 않아야 한다. 연결은 편리한 제한 부위에서의 라이게이션에 의해 수행된다. 이러한 부위가 존재하지 않는다면, 합성 올리고뉴클레오티드 적응인자 또는 링커를 통상적인 실시예에 따라서 사용한다.

[0130] 본원에 사용된 바와 같은, 표현 "세포", "세포주" 및 "세포 배양물"은 상호 교환적으로 사용되고, 이러한 명칭 모두는 자손을 포함한다. 따라서, 용어 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"는 1차 대상체 세포 및 전이의 수와 상관없이 그로부터 유래된 배양물을 포함한다. 고의적이거나 부주의한 돌연변이로 인해, 모든 자손이 정확하게 동일한 DNA 내용물을 갖지 않을 것으로 또한 이해된다. 최초로 형질전환된 세포에 대해 스크리닝된 바와 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 지닌 돌연변이체 자손이 포함된다. 별개의 명칭을 의도하는 경우, 이는 본 맥락으로부터 명백할 것이다.

[0131] 본원에 사용된 바와 같은, "생식세포 계열 서열"은 재배열되지 않은 면역글로불린 DNA 서열의 특정 서열을 지칭한다. 재배열되지 않은 면역글로불린 서열의 임의의 적합한 공급원을 사용할 수 있다. 인간 생식세포 계열 서열은, 예를 들어 미국 국립 건강 연구소의 관절염 및 근골격계 및 피부 질환의 국립 연구소에 대한 웹사이트 상의 JOINSOLVER 생식세포 계열 데이터베이스로부터 취득할 수 있다. 마우스 생식세포 계열 서열은, 예를 들어 문헌 [Giudicelli et al. (2005) *Nucleic Acids Res.* 33:D256-D261]에 기재된 바와 같이 취득할 수 있다.

[0132] 예시적인 항-TIGIT 항체의 물리적 및 기능적 특성

[0133] 본 발명은 명시된 구조적 및 기능적 특징을 갖는 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편, 및 질환 (예를 들어, 암 또는 감염성 질환)을 치료 또는 예방하는 데 있어서 상기 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 사용하는 방법을 제공한다.

[0134] "본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편"은 본원에 논의되는 임의의 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6, 또는 표 4에 개시된 이들 항체의 인간화 버전) 또는 그의 변이체 (예를 들어, 서열 변이체 또는 기능적 변이체); 표 4에 제시된 CDR 중 임의의 하나 이상을 포함하는 임의의 항체 또는 항원-결합성 단편; 본원에 논의된 항체 (예를 들어, 14A6, 28H5 또는 31C6)와 동일한, 인간 TIGIT 내의 에피토프와 결합하는 임의의 항체 또는 항원-결합성 단편; 및 TIGIT 결합에 대하여 본원에 논의된 항체 (예를 들어,

14A6, 28H5 또는 31C6)를 교차 차단시키거나 (부분적으로 또는 전부) 또는 상기 항체에 의해 교차 차단되는 (부분적으로 또는 전부) 임의의 항체 또는 항원-결합성 단편을 포함한다.

[0135] 교차 차단성 항체 및 그의 항원-결합성 단편은 표준 결합 검정 [예를 들어, 비아코어(Biacore), ELISA, 유동 세포계수법]에서 본 발명의 항체와 교차 경쟁할 수 있는 그들의 능력에 근거하여 확인할 수 있다. 예를 들어, 제조항 TIGIT (예를 들어, 인간 TIGIT) 단백질을 플레이트 상에 고정화시키고, 항체 중 하나를 형광성 표지시키며, 이와 같이 표지된 항체의 결합을 놓고 경쟁할 수 있는 비-표지된 항체의 능력을 평가하는 표준 ELISA 검정을 이용할 수 있다. 부가적으로 또는 또 다른 한편으로, 비아코어 분석을 이용하여, 교차 경쟁할 수 있는 항체의 능력을 평가할 수 있다. TIGIT (예를 들어, 인간 TIGIT)에 대한 또 다른 항체 (예를 들어, 항체 14A6 또는 28H5 또는 31C6)의 결합을 억제할 수 있는 시험 항체의 능력은 이러한 시험 항체가 TIGIT (예를 들어, 인간 TIGIT)와의 결합을 놓고 또 다른 항체 (예를 들어, 14A6 또는 28H5 또는 31C6)와 경쟁할 수 있으므로, 일부 경우에, 항체 14A6 또는 28H5 또는 31C6과 동일한, TIGIT (예를 들어, 인간 TIGIT) 상의 에피토프, 또는 중복 에피토프와 결합할 수 있다는 것을 입증해준다.

[0136] 상기 언급된 바와 같이, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 중 임의의 것과 동일한 에피토프와 결합하는 항체 및 단편이 또한, 본 발명의 일부를 형성한다. 추가로, 본 발명의 항-TIGIT 항체 중 임의의 것에 의해 결합된 에피토프와 중복되는 에피토프와 결합하는 항체가 또한, 본 발명의 일부를 형성한다. 표적 항원 상의 항체 에피토프를 매핑하는 데 이용 가능한 몇 가지 방법이 있는데, 이는 H/D-Ex 질량 분광분석법, X 선 결정학, 펄스스캔(pepscan) 분석 및 부위 유도 돌연변이 유발을 포함한다. 예를 들어, 단백질분해 및 질량 분광분석법과 연계된 HDX (수소 중수소 교환)를 이용하여, 특이적 항원 Y 상의 항체의 에피토프를 결정할 수 있다. HDX-MS는 각종 시간 간격으로 그 자체 및 그의 항체의 존재하에 D₂O에서 인큐베이션한 경우에 항원에 의한 중수소 혼입 정도를 정확하게 측정하고 비교하는 데 의존한다. 중수소는 노출된 부위 내의 단백질의 아미드 주쇄 상의 수소로 교환되는 반면, 항체와 결합된 항원의 영역은 보호될 것이고, 단백질 분해성 단편의 LC-MS/MS에 의한 분석 후에는 거의 교환을 보이지 않을 것이다. 실시예 9는 항체 14A6에 의해 결합된 에피토프를 매핑하기 위해 HDX를 사용하는 것이 예시되어 있다.

[0137] 본 발명의 항-TIGIT 항체의 면역글로불린 쇄뿐만 아니라 그의 CDR의 예는 표 4에 개시된 것 (서열식별번호: 1-30, 37-52, 57-83 또는 88-167)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 본 발명은 서열식별번호: 1-30, 37-52, 57-83 또는 88-167의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 이루어진 임의의 폴리펩티드, 및 이러한 폴리펩티드를 코딩하는 제조항 뉴클레오티드를 포함한다.

[0138] 본 발명의 범위는 본원에 제시된 면역글로불린 쇄의 변이체, 예를 들어 서열식별번호: 7-30, 37-52, 63-64, 94-95 또는 124-133 중 임의의 것을 포함하는, 단리된 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 인간화 항체)을 포함하며, 여기서 상기 변이체는 다음 특성들 중 한 가지 이상을 나타낸다: (i) 인간 TIGIT와 결합하는 특성; (ii) 시노물구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특성; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특성; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특성; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특성; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특성.

[0139] 다른 실시양태에서, 본 발명은 인간 TIGIT와 결합하고 (예를 들어, 인간화 항체), 서열식별번호: 7-30, 37-52, 63-64, 94-95 또는 124-133과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 수반하는 V_L 도메인 및 V_H 도메인을 갖는 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 제공하는데, 여기서 변이체는 목적하는 결합성 및 특성, 예를 들어 (i) 표면 플라즈몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 KD 값으로 인간 TIGIT와 결합하는 특성; (ii) 시노물구스 및 레서스 TIGIT와 교차 반응하는 특성; (iii) 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단하는 특성; (iv) T 세포 활성화를 증가시키는 특성; (v) IL-2 및 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 특성; (vi) 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 활성화의 T 세포 저해의 유도를 차단하는 특성을 나타낸다.

[0140] "보존적으로 변형된 변이체" 또는 "보존적 치환"은 특정 단백질 내의 아미노산을 유사한 특징 (예를 들어, 전하, 측쇄 크기, 소수성/친수성, 주쇄 입체 형태, 및 강직도 등)을 갖는 다른 아미노산으로 치환시킴으로써, 이러한 변화가 상기 단백질의 생물학적 활성을 변경시키지 않고서도 빈번하게 이루어질 수 있다는 것을 지칭한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 일반적으로, 폴리펩티드의 비-필수 영역 내의 단일 아미노산 치환이 생

물학적 활성을 실질적으로 변경시키지 않는다는 것을 인식하고 있다 (예를 들어, 문헌 [Watson et al. (1987) *Molecular Biology of the Gene*, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.)] 참조). 또한, 구조상 또는 기능상 유사한 아미노산의 치환은 생물학적 활성을 붕괴시킬 가능성이 적다. 예시적인 보존적 치환이 표 1에 제시된다.

[0141] <표 1>

[0142] 예시적인 보존적 아미노산 치환

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

[0143]

[0144] 본 발명의 항체의 기능-보존적 변이체가 또한 본 발명에 의해 고려된다. 본원에 사용된 바와 같은, "기능-보존적 변이체"는 1개 이상의 아미노산 잔기를 목적하는 특성, 예컨대 항원 친화성 및/또는 특이성을 변경시키지 않으면서 변화시킨 항체 또는 단편을 지칭한다. 이러한 변이체는 특정 아미노산을 유사한 특성을 갖는 것, 예컨대 표 1의 보존적 아미노산 치환물로 대체시킨 것을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 또한, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개 이하 또는 그 초과 아미노산 치환을 갖는, 본 발명의 항-TIGIT 항체의 V_L 도메인 (예를 들어, 서열식별번호: 8, 25-30 및 48-52)을 포함하는 단리된 폴리펩티드 및 본 발명의 항-TIGIT 항체의 V_H 도메인 (예를 들어, 서열식별번호: 7, 9-24 및 37-47)을 포함하는 단리된 폴리펩티드가 제공된다. 또한, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개 이하 또는 그 초과 아미노산 치환을 갖는, 본 발명의 항-TIGIT 항체의 V_L 도메인 (예를 들어, 서열식별번호: 64)을 포함하는 단리된 폴리펩티드 및 본 발명의 항-TIGIT 항체의 V_H 도메인 (예를 들어, 서열식별번호: 63)을 포함하는 단리된 폴리펩티드가 제공된다. 또한, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개 이하 또는 그 초과 아미노산 치환을 갖는, 본 발명의 항-TIGIT 항체의 V_L 도메인 (예를 들어, 서열식별번호: 95 및 130-133)을 포함하는 단리된 폴리펩티드 및 본 발명의 항-TIGIT 항체의 V_H 도메인 (예를 들어, 서열식별번호: 94 및 124-129)을 포함하는 단리된 폴리펩티드가 제공된다.

[0145] 또 다른 실시양태에서, TIGIT와 결합하고, 본원에 기재된 V_L 도메인 또는 V_H 도메인 중 하나 이상과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% 또는 75% 서열 동일성을 수반하는 V_L 도메인 및 V_H 도메인을 가지며, TIGIT에 대한 특이적 결합성을 나타내는 항체 또는 그의 항원-결합성 단편이 제공된다. 또 다른 실시양태에서 본 발명의 결합성 항체 또는 그의 항원-결합성 단편은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개 이하 또는 그 초과 아미노산 치환을 갖는 V_L 및 V_H 도메인 (시그널 서열을 수반하는 경우 및 수반하지 않은 경우)을 포함하고, TIGIT에 대한 특이적 결합성을

나타낸다.

[0146] **폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드**

[0147] 본 발명은 추가로, 본 발명의 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편의 면역글로불린쇄 또는 폴리펩티드 중 임의의 것을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 서열식별번호: 1-30, 37-52, 57-83 및 88-167에 기재된 아미노산을 코딩하는 폴리뉴클레오티드뿐만 아니라 이와 혼성화되는 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 또한 이러한 혼성화되는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 임의의 폴리펩티드를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 84 또는 서열식별번호: 85를 포함하거나 또는 이로 본질적으로 이루어진 핵산 서열을 포함한다.

[0148] 일반적으로, 폴리뉴클레오티드는 저 수준, 중간 수준 또는 고 수준의 엄격성 조건하에 혼성화되고, TIGIT (인간, 래스스 및/또는 시노몰구스 원숭이, 예를 들어, 마카카 파스시쿨라리스)와 결합할 수 있는 능력을 보유하고 있는 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 코딩한다. 제1 폴리뉴클레오티드 분자는, 이러한 제1 폴리뉴클레오티드 분자의 단일 가닥 형태가 온도 및 용액 이온 강도의 적당한 조건하에 제2 폴리뉴클레오티드 분자와 어닐링될 수 있는 경우에, 이러한 제2 폴리뉴클레오티드 분자와 "혼성화 가능"하다 (상기 문헌 [Sambrook, et al.] 참조). 온도 및 이온 강도의 조건이 혼성화의 "엄격성"을 결정한다. 전형적인 저 수준의 엄격한 혼성화 조건은 55℃, 5X SSC, 0.1% SDS 및 포름아미드 없음; 또는 42℃ 하의 30% 포름아미드, 5X SSC, 0.5% SDS를 포함한다. 전형적인 중간 수준의 엄격한 혼성화 조건은 42℃ 하의 40% 포름아미드, 5X 또는 6X SSC 및 0.1% SDS이다. 고 수준의 엄격한 혼성화 조건은 42℃ 또는 임의로 보다 고온 (예를 들어, 57℃, 59℃, 60℃, 62℃, 63℃, 65℃ 또는 68℃) 하의 50% 포름아미드, 5X 또는 6X SSC이다. 일반적으로, SSC는 0.15 M NaCl 및 0.015 M Na-시트레이트이다. 혼성화하기 위해서는, 두 폴리뉴클레오티드가 상보성 서열을 함유해야 하지만, 혼성화의 엄격성에 따라서, 염기들 간의 미스매치가 가능하다. 폴리뉴클레오티드를 혼성화하는 데 적당한 엄격성은 관련 기술분야에 널리 공지된 변수인 폴리뉴클레오티드의 길이와 상보성의 정도에 좌우된다. 두 뉴클레오티드 서열 간의 유사성 또는 상동성 정도가 더 클수록, 핵산을 혼성화시킬 수 있는 엄격성이 더 높아진다. 길이가 100개 초과인 뉴클레오티드의 혼성체에 대해서는, 융점을 계산하기 위한 방정식이 유도되었다 (상기 문헌 [Sambrook, et al., 9.50-9.51] 참조). 보다 짧은 폴리뉴클레오티드, 예를 들어 올리고뉴클레오티드와 혼성화하는 경우에는, 미스매치의 위치가 더 중요해지고, 이러한 올리고뉴클레오티드의 길이가 그의 특이성을 결정한다 (상기 문헌 [Sambrook, et al., 11.7-11.8] 참조).

[0149] 또 다른 실시양태에서, 본원에 제시된 단리된 항체 또는 항원-결합성 단편의 폴리펩티드쇄를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드, 예를 들어 DNA가 제공된다. 한 실시양태에서, 상기 단리된 폴리뉴클레오티드는 본 발명에 따르는 적어도 1개의 성숙한 면역글로불린 경쇄 가변 (V_L) 도메인 및/또는 본 발명에 따르는 적어도 1개의 성숙한 면역글로불린 중쇄 가변 (V_H) 도메인을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 코딩한다. 일부 실시양태에서 상기 단리된 폴리뉴클레오티드는 단일 폴리뉴클레오티드 분자 상의 경쇄와 중쇄 둘 다를 코딩하고, 다른 실시양태에서 경쇄 및 중쇄는 별도의 폴리뉴클레오티드 분자 상에 코딩된다. 또 다른 실시양태에서 상기 폴리뉴클레오티드는 시그널 서열을 추가로 코딩한다.

[0150] 한 실시양태에서, 본 발명은 CDR-H1 (서열식별번호: 1), CDR-H2 (서열식별번호: 2) 및 CDR-H3 (서열식별번호: 3 또는 79 또는 80 또는 81 또는 82, 83 또는 140)을 포함하는 항체 중쇄 가변 (V_H) 도메인 또는 그의 항원-결합성 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.

[0151] 한 실시양태에서, 본 발명은 CDR-L1 (서열식별번호: 4), CDR-L2 (서열식별번호: 5 또는 65 또는 66 또는 67 또는 68 또는 69 또는 70 또는 71 또는 72 또는 73 또는 141) 및 CDR-L3 (서열식별번호: 6 또는 74 또는 75 또는 76 또는 77 또는 78)을 포함하는 항체 경쇄 가변 (V_L) 도메인 또는 그의 항원-결합성 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.

[0152] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 7의 면역글로불린 중쇄 가변 (V_H) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.

[0153] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 8의 면역글로불린 경쇄 가변 (V_L) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.

[0154] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 9-24 또는 37-47 중 어느 하나의 면역글로불린 중쇄 가변 (V_H) 도메

인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.

- [0155] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 25-30 또는 48-52 중 어느 하나의 면역글로불린 경쇄 가변 (V_L) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0156] 한 실시양태에서, 본 발명은 CDR-H1 (서열식별번호: 57), CDR-H2 (서열식별번호: 58) 및 CDR-H3 (서열식별번호: 59)을 포함하는 항체 중쇄 가변 (V_H) 도메인 또는 그의 항원-결합성 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0157] 한 실시양태에서, 본 발명은 CDR-L1 (서열식별번호: 60), CDR-L2 (서열식별번호: 61) 및 CDR-L3 (서열식별번호: 62)을 포함하는 항체 경쇄 가변 (V_L) 도메인 또는 그의 항원-결합성 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0158] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 63의 면역글로불린 중쇄 가변 (V_H) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0159] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 64의 면역글로불린 경쇄 가변 (V_L) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0160] 한 실시양태에서, 본 발명은 CDR-H1 (서열식별번호: 88), CDR-H2 (서열식별번호: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134 또는 135) 및 CDR-H3 (서열식별번호: 90)을 포함하는 항체 중쇄 가변 (V_H) 도메인 또는 그의 항원-결합성 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0161] 한 실시양태에서, 본 발명은 CDR-L1 (서열식별번호: 91), CDR-L2 (서열식별번호: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 또는 123) 및 CDR-L3 (서열식별번호: 93)을 포함하는 항체 경쇄 가변 (V_L) 도메인 또는 그의 항원-결합성 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0162] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 94의 면역글로불린 중쇄 가변 (V_H) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0163] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 95의 면역글로불린 경쇄 가변 (V_L) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0164] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 124-129 중 어느 하나의 면역글로불린 중쇄 가변 (V_H) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0165] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 130-133 중 어느 하나의 면역글로불린 경쇄 가변 (V_L) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0166] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 127의 면역글로불린 중쇄 가변 (V_H) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0167] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 128의 면역글로불린 중쇄 가변 (V_H) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0168] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 130의 면역글로불린 경쇄 가변 (V_L) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0169] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 132의 면역글로불린 경쇄 가변 (V_L) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0170] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 133의 면역글로불린 경쇄 가변 (V_L) 도메인을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0171] 본 발명은 또한, 본 발명의 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터, 예를 들어 발현 벡터, 예컨대 플라스미

드를 제공하는데, 여기서 폴리뉴클레오티드는 숙주 세포가 상기 벡터로 형질감염되는 경우에 이러한 숙주 세포에 의해 인식되는 제어 서열과 작동적으로 연결된다. 또한, 본 발명의 벡터를 포함하는 숙주 세포; 및 본원에 개시된 항체 또는 그의 항원-결합성 단편의 면역글로불린쇄를 코딩하는 핵산 또는 발현 벡터를 정착시킨 숙주 세포를 배양 배지에서 배양하는 단계; 및 이러한 숙주 세포 또는 배양 배지로부터 상기 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 분리하는 단계를 포함하는, 본원에 개시된 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 또는 폴리펩티드를 생성하는 방법이 제공된다.

[0172] 또한 본 발명에는 본원에 제공된 항체의 아미노산 서열과 적어도 약 75% 동일한, 80% 동일한, 보다 바람직하게 적어도 약 90% 동일한 및 가장 바람직하게 적어도 약 95% 동일한 (예를 들어, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%) 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드, 예를 들어, 면역글로불린 폴리펩티드가 포함되고; 이때 비교는 BLAST 알고리즘에 의해 수행되는데, 여기서 이러한 알고리즘의 파라미터는 각각의 참조 서열의 전체 길이 전반에 걸쳐 각각의 서열들 간의 가장 큰 매치를 제공하도록 선택된다 (예를 들어, 예상 역치: 10; 워드 크기: 3; 조회 범위 내의 최대 매치: 0; BLOSUM 62 매트릭스; 갭 코스트: 실존 11, 연장 1; 조건부 구성 스코어 매트릭스 조정).

[0173] 서열 동일성은 두 서열을 최적으로 정렬시킨 경우에, 두 폴리펩티드의 아미노산이 등가의 위치에서 동일한 정도를 지칭한다.

[0174] 다음 참고문헌은 서열 분석을 위해 종종 사용되는 BLAST 알고리즘에 관한 것이다 [BLAST ALGORITHMS: Altschul et al. (2005) *FEBS J.* 272(20): 5101-5109; Altschul, S.F., et al., (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410; Gish, W., et al., (1993) *Nature Genet.* 3:266-272; Madden, T.L., et al., (1996) *Meth. Enzymol.* 266:131-141; Altschul, S.F., et al., (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402; Zhang, J., et al., (1997) *Genome Res.* 7:649-656; Wootton, J.C., et al., (1993) *Comput. Chem.* 17:149-163; Hancock, J.M. et al., (1994) *Comput. Appl. Biosci.* 10:67-70; ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M.O., et al., "A model of evolutionary change in proteins." in *Atlas of Protein Sequence and Structure*, (1978) vol. 5, suppl. 3. M.O. Dayhoff (ed.), pp. 345-352, *Natl. Biomed. Res. Found.*, Washington, DC; Schwartz, R.M., et al., "Matrices for detecting distant relationships." in *Atlas of Protein Sequence and Structure*, (1978) vol. 5, suppl. 3." M.O. Dayhoff (ed.), pp. 353-358, *Natl. Biomed. Res. Found.*, Washington, DC; Altschul, S.F., (1991) *J. Mol. Biol.* 219:555-565; States, D.J., et al., (1991) *Methods* 3:66-70; Henikoff, S., et al., (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915-10919; Altschul, S.F., et al., (1993) *J. Mol. Evol.* 36:290-300; ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., et al., (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-2268; Karlin, S., et al., (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877; Dembo, A., et al., (1994) *Ann. Prob.* 22:2022-2039; and Altschul, S.F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments." in *Theoretical and Computational Methods in Genome Research* (S. Suhai, ed.), (1997) pp. 1-14, Plenum, New York].

[0175] 결합 친화도

[0176] 제한 없이 한 예로서, 본원에 개시된 항체 및 항원-결합성 단편은 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 적어도 약 1×10^{-9} M의 K_D 값 (즉, 1×10^{-9} M 이하의 K_D 값)으로 인간 TIGIT와 결합할 수 있다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 항체 및 항원-결합성 단편은 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 적어도 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 K_D 값으로 인간 TIGIT와 결합할 수 있다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 항체 및 항원-결합성 단편은 표면 플라스몬 공명 (예를 들어, BIACORE) 또는 유사한 기술 (예를 들어, KinExa 또는 OCTET)에 의해 결정 시에, 약 1×10^{-9} M 내지 약 1×10^{-12} M의 K_D 값으로 인간 TIGIT와 결합할 수 있다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 항체 및 항원-결합성 단편은 BIACORE 또는 유사한 기술에 의해 결정 시에, 적어도 약 50 pM의 K_D 값 (즉, 약 50 pM 이하의 K_D 값)으로 인간 TIGIT와 결합할 수 있다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 항체 및 항원-결합성 단편은 BIACORE 또는 유사한 기술에 의해 결정 시에, 적어도 약 10 pM의 K_D 값 (즉, 약 10 pM 이하의 K_D 값)으로 인간 TIGIT와 결합할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 및 항원-결합성 단편은 BIACORE 또는 유사한 기술에 의해 결정 시에, 약 50 pM 내지 약 1 pM의 K_D 값으로 인간 TIGIT와 결합할 수 있다.

[0177] **면역 세포 활성화**

[0178] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 항원 결합성 단편은 면역 세포의 활성을 증가시킨다. 면역 세포의 활성의 증가는 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법을 이용하여 검출될 수 있다. 한 실시양태에서, 면역 세포의 활성 상의 증가는 면역 세포의 증식을 측정함으로써 검출될 수 있다. 예를 들어, T 세포의 활성 상의 증가는 T 세포의 증식 또는 시그널 변환 사건, 예컨대 시그널을 전사 조절인자에 전달해 주는 면역 수용체 또는 하류 키나제의 티로신 인산화를 측정함으로써 검출될 수 있다. 다른 실시양태에서, 면역 세포의 활성 상의 증가는 항-종양 면역의 자극과 연관되는, 특이적 표적 세포 또는 IFN γ 시토카인 반응에 대한 CTL 또는 NK 세포 세포독성 기능을 측정함으로써 검출될 수 있다. 또한 다른 실시양태에서, 면역 세포의 활성 상의 증가는 대상체로부터 유래된 샘플 중에서 T 세포 활성화를 생체 외에서 측정함으로써 검출될 수 있다. 한 실시양태에서, T 세포 활성 상의 증가는 (i) IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , IL-1 β , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 및 IL-13으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 염증 유발성 시토카인의 SEB (스타필로코쿠스 장독소 B) 유도된 생성을 측정하거나; 또는 (ii) IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , IL-1 β , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 및 IL-13으로 이루어진 군으로부터 선택된 시토카인의 생성을 유도시키기 위한 T 세포 수용체 (TCR) 시그널링의 직접적인 항-CD3 mAb 자극 또는 혼합 림프구 반응을 측정함으로써 결정된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합성 단편은 IL-2 및/또는 IFN γ 의 항원-특이적 T-세포 생성을 적어도 1.5배 자극할 것이다.

[0179] 본 발명은 길항제 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편 및 그의 사용 방법, 예를 들어, 인간화, 길항제 항-TIGIT 항체 및 단편을 포함한다. 길항제 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편은, 예컨대 CD155 및 CD112에 대한 TIGIT 결합을 억제시키고, CD155 및 CD112에 대한 결합시 TIGIT에 의한 기능적 ITIM 시그널 변환을 억제시킴으로써, 인간 TIGIT의 활성을 길항시킨다. 항-TIGIT 길항제 활성의 측정은 동족 리간드 CD155 및 CD112와의 TIGIT 라이게이션에 의해 유도된 TCR 활성화 후 T 세포 저해의 차단을 입증함으로써 평가할 수 있다. 따라서, 증가된 반응의 한 실시양태에서, 길항제 항-TIGIT 항체로 처리하면, TIGIT의 CD155 또는 CD112 유도에 의해서는 억제되지 않는 T 세포에서 관찰된 수준으로 IL-2 반응을 구제할 수 있다. 보다 바람직한 수준의 활성화에서는, 항-TIGIT 길항제 항체로 처리한 후의 반응이, CD155 또는 CD112에 의해서는 억제되지 않았던 T 세포 반응보다 더 높은 수준으로 반응을 증가시킬 수 있다.

[0180] **hCD155 및 hCD112에 대한 결합을 차단시킬 수 있는 항-hTIGIT 항체의 능력**

[0181] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원 결합성 단편은 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단시킬 수 있다. 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단시킬 수 있는 능력은 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법을 이용하여 결정될 수 있다. 한 실시양태에서, 인간 CD155 및 인간 CD112에 대한 인간 TIGIT의 결합을 차단시킬 수 있는 항체의 능력은 실시예 2에 기재된 바와 같은 ELISA 검정을 이용하여 결정된다.

[0182] **항체 및 그의 항원-결합성 단편의 제조 방법**

[0183] 본원에 논의된 모 (예를 들어, 래트 또는 마우스) 모노클로날 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 생산하는 하이브리도마 세포는 관련 기술분야에 통상적으로 공지되어 있는 방법에 의해 생성할 수 있다. 이러한 단리된 하이브리도마가 본 발명의 일부이다. 이들 방법은 문헌 [Kohler, et al., (1975) (Nature 256:495-497)]에 최초로 보고된 하이브리도마 기술뿐만 아니라 트리오마(trioma) 기술 (문헌 [Hering, et al., (1988) Biomed. Biochim. Acta. 47:211-216] 및 [Hagiwara, et al., (1993) Hum. Antibod. Hybridomas 4:15]), 인간 B-세포 하이브리도마 기술 (문헌 [Kozbor, et al., (1983) Immunology Today 4:72] 및 [Cote, et al., (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80:2026-2030]), EBV-하이브리도마 기술 (문헌 [Cole, et al., in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96, 1985]), 및 시토 플러스(Cyto Pulse) 대형 챔버 도태 융합 전기천공기 [시토 플러스 사이언스, 인크. (Cyto Pulse Sciences, Inc.; 미국 메릴랜드주 글렌 버니)]를 이용한 전기장 기반 전기융합을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 바람직하게는, 마우스 비장 세포를 단리하고, 이를 PEG와 융합하거나 또는 표준 프로토콜에 근거하여 전기융합에 의해 마우스 골수종 세포주와 융합시킨다. 이어서, 이로써 생성된 하이브리도마를 대상으로 하여, 항원-특이적 항체의 생성에 관하여 스크리닝할 수 있다. 예를 들어, 면역시킨 마우스로부터의 비장 림프구의 단일 세포 현탁액을, 50% PEG를 이용하여 P3X63-Ag8.653 비분비성 마우스 골수종 세포 (ATCC, CRL 1580) 수의 1/6과 융합시킬 수 있다. 세포를 평저 미세액가 플레이트 내에 대략 2×10^5 개 세포/mL로 플레이팅한 다음, 20% 태아 클론 혈청, 18% "653" 조건화 배지, 5% 오리젠(origen) (IGEN), 4 mM L-글루타민, 1 mM L-글루타민, 1 mM 소듐 피루베이트, 5 mM HEPES, 0.055 mM 2-머캅토에탄올, 50 단위/ml 페니실린, 50 mg/ml 스트렙토마이신, 50 mg/ml 젠타마이신 및 1X HAT

[시그마(Sigma); 이 HAT는 용합 후 24시간에 가한다]를 함유하는 선택적 배지에서 2주 인큐베이션할 수 있다. 2주 후, HAT를 HT로 대체시킨 배지에서 세포를 배양할 수 있다. 이어서, 개개의 웰을 대상으로 하여 항-TIGIT 모노클로날 IgG 항체에 관하여 알아보기 위해 ELISA에 의해 스크리닝할 수 있다. 일단 광범위한 하이브리도마 성장이 일어나면, 통상적으로 10일 내지 14일 후에 배지를 관찰할 수 있다. 항체 분비성 하이브리도마를 재플레이트팅하고, 다시 스크리닝하며, 인간 IgG에 대해 여전히 양성인 경우에는, 항-TIGIT 모노클로날 항체를 제한 희석함으로써 적어도 2회 서브클로닝할 수 있다. 이어서, 안정한 서브클론을 시험관 내에서 배양하여 조직 배양 배지 중에 소량의 항체를 생성시켜 그의 특징을 확인할 수 있다.

[0184] 따라서, 본 발명은 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 발현하는 하이브리도마 세포를, 이러한 발현에 유리한 조건하에 배양하는 단계; 및 임의로, 상기 하이브리도마 및/또는 성장 배지 (예를 들어, 세포 배양 배지)로부터 상기 항체 또는 단편을 분리하는 단계를 포함하는, 상기 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편의 제조 방법을 포함한다.

[0185] 본원에 개시된 항-TIGIT 항체는 또한, 재조합적으로 생성될 수 있다 [예를 들어, 이. 콜라이 (*E. coli*)/T7 발현 시스템, 포유류 세포 발현 시스템 또는 하등 진핵생물 발현 시스템에서 수행된다]. 이 실시양태에서는, 본 발명의 항체 면역글로불린 분자 (예를 들어, V_H 또는 V_L)를 코딩하는 핵산을 pET-기반 플라스미드 내로 삽입하고 상기 이. 콜라이/T7 시스템에서 발현시킬 수 있다. 예를 들어, 본 발명은 T7 프로모터와 작동적으로 연결되는 면역글로불린쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 또한 포함하는 세포에서 T7 RNA 중합효소를 발현시키는 단계를 포함하는, 숙주 세포 (예를 들어, 박테리아 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이, 예컨대 BL21 또는 BL21DE3)에서 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 또는 그의 면역글로불린쇄를 발현시키는 방법을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 특정 실시양태에서, 박테리아 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이는 *lac* 프로모터와 작동적으로 연결된 T7 RNA 중합효소 유전자를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 상기 중합효소 및쇄의 발현은 숙주 세포를 IPTG (이소프로필-베타-D-티오갈락토피라노시드)와 함께 인큐베이션함으로써 유도된다.

[0186] 재조합 항체를 생성시키는 몇 가지 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 항체를 재조합적으로 생성시키기 위한 방법 중 한 가지 예가 미국 특허 번호 4,816,567에 개시되어 있다.

[0187] 형질전환은 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 임의의 공지된 방법에 의해 수행될 수 있다. 이 중 폴리뉴클레오티드를 포유류 세포 내로 도입하기 위한 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 텍스트란-매개된 형질감염, 인산칼슘 침전, 폴리브렌-매개된 형질감염, 원형질체 융합, 전기천공, 폴리뉴클레오티드(들)를 리포솜 내에 피막화하는 방법, 유전자 총 주사, 및 DNA를 핵 내로 직접적으로 미세주사하는 방법을 포함한다. 또한, 핵산 분자를 바이러스 벡터에 의해 포유류 세포 내로 도입할 수 있다. 세포를 형질전환시키는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,399,216; 4,912,040; 4,740,461 및 4,959,455 참조).

[0188] 따라서, 본 발명은 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편의 1개 이상의 면역글로불린쇄 (예를 들어, 중쇄 및/또는 경쇄 면역글로불린)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 도입하는 단계; 숙주 세포 (예를 들어, CHO 또는 피치아 또는 피치아 파스토리스)를, 상기 발현에 유리한 조건하에 배양하는 단계; 및 임의로, 숙주 세포 및/또는 이러한 숙주 세포가 성장하는 배지로부터 상기 항체 또는 단편 또는쇄를 분리하는 단계를 포함하는, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편, 또는 그의 면역글로불린쇄를 제조하는 재조합 방법을 포함한다.

[0189] 항-TIGIT 항체는 또한, 미국 특허 번호 6,331,415에 제시된 방법 중 임의의 것에 의해 합성될 수 있다.

[0190] 본원에 개시된 항체 또는 단편 또는 면역글로불린쇄의 발현을 위한 숙주로서 진핵 및 원핵 숙주 세포 (포유류 세포 포함)는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 아메리칸 타입 컬처 컬렉션 (ATCC)으로부터 입수 가능한 많은 불멸화 세포주를 포함한다. 이들은 특히, 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포, NSO, SP2 세포, HeLa 세포, 어린 햄스터 신장 (BHK) 세포, 원숭이 신장 세포 (COS), 인간 간세포 암종 세포 (예를 들어, Hep G2), A549 세포, 3T3 세포, HEK-293 세포 및 수많은 다른 세포주를 포함한다. 포유류 숙주 세포는 인간, 마우스, 래트, 개, 원숭이, 돼지, 염소, 소, 말 및 햄스터 세포를 포함한다. 특히 선호되는 세포주는 세포주가 고 발현 수준을 나타내는지를 결정함으로써 선택된다. 사용될 수 있는 다른 세포주는 곤충 세포주, 예컨대 Sf9 세포, 양서류 세포, 박테리아 세포, 식물 세포 및 진균 세포이다. 진균 세포는 효모 및 섬유상 진균 세포, 예를 들어, 피치아 파스토리스, 피치아 핀란드카 (*Pichia finlandica*), 피치아 트레할로필라 (*Pichia trehalophila*), 피치아 코콜라마에 (*Pichia koclamae*), 피치아 멤브라나에파시엔스 (*Pichia membranaefaciens*), 피치아 미누타 (*Pichia minuta*) [오가타에아 미누타 (*Ogataea minuta*), 피치아 린드네리 (*Pichia lindneri*)], 피치아 오폴티아에

(*Pichia opuntiae*), 피치아 테르모톨레란스 (*Pichia thermotolerans*), 피치아 살릭타리아 (*Pichia salictaria*), 피치아 구에르쿰 (*Pichia guercuum*), 피치아 피페리 (*Pichia pipperi*), 피치아 스틱티스 (*Pichia stiptis*), 피치아 메탄올리카 (*Pichia methanolica*), 피치아 종, 사카로마이세스 세레비지아에 (*Saccharomyces cerevisiae*), 사카로마이세스 종 (*Saccharomyces sp.*), 한세놀라 폴리모르파 (*Hansenula polymorpha*), 클루이베로마이세스 종 (*Kluyveromyces sp.*), 클루이베로마이세스 락티스 (*Kluyveromyces lactis*), 칸디다 알비칸스 (*Candida albicans*), 아스페르길루스 니둘란스 (*Aspergillus nidulans*), 아스페르길루스 니거 (*Aspergillus niger*), 아스페르길루스 오리자에 (*Aspergillus oryzae*), 트리코데르마 레에세이 (*Trichoderma reesei*), 크리소스포리움 루크노웬세 (*Chrysosporium lucknowense*), 푸사리움 종 (*Fusarium sp.*), 푸사리움 그라미네움 (*Fusarium gramineum*), 푸사리움 베네나툼 (*Fusarium venenatum*), 피스코미트렐라 파텐스 (*Physcomitrella patens*) 및 뉴로스포라 크라사 (*Neurospora crassa*), 피치아 종, 임의의 사카로마이세스 종, 한세놀라 폴리모르파, 임의의 클루이베로마이세스 종, 칸디다 알비칸스, 임의의 아스페르길루스 종 (*Aspergillus sp.*), 트리코데르마 레에세이, 크리소스포리움 루크노웬세, 임의의 푸사리움 종, 야로위아 리폴리티카 (*Yarrowia lipolytica*), 및 뉴로스포라 크라사를 포함한다. 중쇄 또는 그의 항원-결합성 부분 또는 단편, 경쇄 및/또는 그의 항원-결합성 단편을 코딩하는 재조합 발현 벡터를 포유류 숙주 세포 내로 도입하는 경우, 항체는 상기 숙주 세포에서 상기 항체 또는 단편 또는쇄의 발현을 허용하거나 또는 이러한 숙주 세포가 성장하는 배양 배지 내로의 분비를 허용하기에 충분한 기간 동안 숙주 세포를 배양함으로써 생성된다.

[0191] 항체 및 그의 항원-결합성 단편 및 면역글로불린쇄는 표준 단백질 정제 방법을 이용하여 배양 배지로부터 회수할 수 있다. 추가로, 생산 세포주로부터 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합성 단편 및 면역글로불린쇄 (또는 그로부터의 다른 모이어티)를 발현하는 것은 공지된 수많은 기술을 이용하여 증강시킬 수 있다. 예를 들어, 글루타민 합성효소 유전자 발현 시스템 (GS 시스템)이 특정의 조건하에 발현을 증강시키기 위한 통상의 접근 방식이다. 이러한 GS 시스템은 유럽 특허 번호 0 216 846, 0 256 055, 및 0 323 997 및 유럽 특허 출원 번호 89303964.4와 연계해서 전부 또는 부분적으로 논의되어 있다. 따라서, 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유류 숙주 세포 (예를 들어, CHO)에는 글루타민 합성효소 유전자가 결여되고, 이는 배지 중에서 글루타민의 부재 하에 성장되지만, 상기 면역글로불린쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 글루타민 합성 효소 유전자를 포함하여, 숙주 세포에서 상기 유전자의 결여를 보충해 준다.

[0192] 본 발명은 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 포함하는 특정 샘플을 정제 배지 [예를 들어, 양이온 교환 배지, 음이온 교환 배지, 소수성 교환 배지, 친화 정제 배지 (예를 들어, 단백질-A, 단백질-G, 단백질-A/G, 단백질-L)]에 도입하는 단계; 정제된 항체 또는 단편을, 상기 배지와 결합되지 않은 상기 샘플의 관류 분획으로부터 수집하거나 또는 관류 분획을 버리는 단계; 및 결합된 항체 또는 단편을 배지로부터 용출시키는 단계; 및 이러한 용출물을 수집하는 단계를 포함하는, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편의 정제 방법을 포함한다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 상기 배지는 샘플이 적용되는 칼럼 내에 있다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 정제 방법은 상기 항체 또는 단편을 숙주 세포에서 재조합 발현시킨 후에 수행되는데, 예를 들어 숙주 세포를 먼저 용해시키고, 임의로 이러한 용해물을 배지 상에서 정제하기에 앞서 불용성 물질로 정제한다.

[0193] 일반적으로, 특별한 세포주 또는 트랜스제닉 동물에서 생산된 당단백질은 이러한 세포주 또는 트랜스제닉 동물에서 생산된 당단백질에 대해 특징적인 글리코실화 패턴을 가질 것이다. 따라서, 항체의 특별한 글리코실화 패턴은 항체를 생산하기 위해 사용된 특별한 세포주 또는 트랜스제닉 동물에 좌우될 것이다. 그러나, 본원에 제공된 핵산 분자에 의해 코딩되거나 또는 본원에 제공된 아미노산 서열을 포함하는 모든 항체는, 이러한 항체가 가질 수 있는 글리코실화 패턴과 무관하게 본 발명을 포함한다. 유사하게, 특별한 실시양태에서, 비-푸코실화 N-글리칸만을 포함하는 글리코실화 패턴을 수반한 항체가 유리할 수 있는데, 이는 이들 항체가 시험관내와 생체내 둘 다에서 전형적으로, 그들의 푸코실화 대응물보다 더 강력한 효능을 나타내는 것으로 밝혀졌기 때문이다 (예를 들어, 문헌 [Shinkawa et al., *J. Biol. Chem.* 278: 3466-3473 (2003)]; 미국 특허 번호 6,946,292 및 7,214,775 참조). 비-푸코실화 N-글리칸을 수반하는 이들 항체는 면역원성인 것으로 예상되지 않는데, 이는 그들의 탄수화물 구조가 인간 혈청 IgG에 존재하는 집단의 정상 성분이기 때문이다.

[0194] 본 발명은 폴리클로날 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편, 예를 들어 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 중 하나 이상을 포함하는, 복수 개의 항-TIGIT 항체 및 단편을 포함하는 조성물; 및 그의 사용 방법을 포함한다. 폴리클로날 항체는 동일하지 않은 하나 이상의 다른 항체들 중에서 생성되거나 또는 이들 항체의 존재 하에 생성된 항체이다. 일반적으로, 폴리클로날 항체는 상이한 B-림프구의 컬렉션, 예를 들어 상이한 항체 집단을 생성하지만 모두가 관심 면역원에 대해 유도되는, 이러한 관심 면역원으로 처리한 동물의 B-

림프구의 컬렉션으로부터 생성된다. 통상적으로, 폴리클로날 항체는 면역시킨 동물, 예를 들어 비장, 혈청 또는 복수로부터 직접적으로 수득된다.

[0195] 본 발명은 TIGIT 및 또 다른 항원, 예컨대, 예를 들어 PD-1 또는 PD-L1 또는 LAG-3에 대한 결합 특이성을 갖는 이중특이적 및 이관능성 항체 및 항원-결합성 단편, 및 그의 사용 방법을 포함한다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 항-TIGIT쇄는 표 4에 기재된 VH/VL 서열 중 어느 하나를 포함하고, 항-PD1쇄는 서열식별번호: 33 및 34의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 35 및 36의 아미노산 서열 (또는 상기 서열 중 임의의 것의 항원 결합성 단편)을 포함한다. 이중특이적 또는 이관능성 항체는 2개의 상이한 중쇄/경쇄 쌍 및 2개의 상이한 결합 부위를 갖는 인공 혼성체 항체이다. 이중특이적 항체는 하이브리도마의 융합 또는 Fab' 단편의 연결을 포함한 각종 방법에 의해 생성될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Songsivilai, et al., (1990) *Clin. Exp. Immunol.* 79: 315-321], [Kostelny, et al., (1992) *J Immunol.* 148:1547-1553] 참조). 또한, 이중특이적 항체는 "디아보디" (문헌 [Holliger, et al., (1993) *PNAS USA* 90:6444-6448]) 또는 "야누신" (문헌 [Traunecker, et al., (1991) *EMBO J.* 10:3655-3659] 및 [Traunecker, et al., (1992) *Int. J. Cancer Suppl.* 7:51-52])으로서 형성될 수 있다.

[0196] 본 발명은 추가로, 본원에 개시된 항-TIGIT 항체의 항-TIGIT 항원-결합성 단편을 포함한다. 항체 단편은 IgG를, 예를 들어 펩신에 의해 효소적으로 절단시킴으로써 생성될 수 있는 F(ab)₂ 단편을 포함한다. Fab 단편은, 예를 들어 F(ab)₂를 디티오프레이틀 또는 머캅토에틸아민으로 환원시킴으로써 생성시킬 수 있다.

[0197] 면역글로불린은 그의 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라서 상이한 부류로 배정될 수 있다. 적어도 5가지 주요 부류의 면역글로불린, 즉 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 있고, 이들 중 몇 가지는 하위부류 (이소형), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4; IgA1 및 IgA2로 추가로 나뉘질 수 있다. 본 발명은 이들 부류 또는 하위부류의 항체 중 임의의 것의 항체 및 항원-결합성 단편을 포함한다.

[0198] 한 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합성 단편은 중쇄 불변 영역, 예를 들어 인간 불변 영역, 예컨대 $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$ 또는 $\gamma 4$ 인간 중쇄 불변 영역 또는 그의 변이체를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합성 단편은 경쇄 불변 영역, 예를 들어 인간 경쇄 불변 영역, 예컨대 람다 또는 카파 인간 경쇄 영역 또는 그의 변이체를 포함한다. 제한 없이 한 예로서, 인간 중쇄 불변 영역은 $\gamma 4$ 일 수 있고 인간 경쇄 불변 영역은 카파일 수 있다. 대체 실시양태에서, 항체의 Fc 영역은 Ser228Pro 돌연변이를 수반한 $\gamma 4$ 이다 (Schuurman, J et. al., *Mol. Immunol.* 38: 1-8, 2001).

[0199] 한 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합성 단편은 IgG1 하위유형의 중쇄 불변 영역을 포함한다.

[0200] 일부 실시양태에서, 상이한 불변 도메인이, 본원에 제공된 CDR로부터 유래된 인간화 V_L 및 V_H 영역에 첨부될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체 (또는 단편)의 특별한 사용 목적이 변경된 이펙터 기능을 필요로 한 경우에는, 인간 IgG1 이외의 중쇄 불변 도메인을 사용할 수 있거나 또는 혼성체 IgG1/IgG4를 활용할 수도 있다.

[0201] 인간 IgG1 항체가 긴 반감기와 이펙터 기능, 예컨대 보체 활성화 및 항체-의존성 세포성 세포독성을 제공하긴 하지만, 이러한 활성화는 항체의 모든 용도에 바람직하지 않을 수 있다. 이러한 경우에는, 예를 들어 인간 IgG4 불변 도메인을 사용할 수 있다. 본 발명은 IgG4 불변 도메인을 포함하는 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편, 예를 들어, 길항제, 인간화 항-TIGIT 항체 및 단편, 및 그의 사용 방법을 포함한다. 한 실시양태에서, IgG4 불변 도메인은 적당한 쇠내 디설피드 결합 형성을 방해할 수 있었던 Cys106과 Cys109 (EU 시스템에서의 위치 Cys 226과 Cys 229 및 카바트 시스템에서의 위치 Cys 239와 Cys 242에 상응함) 간의 잠재적 쇠내 디설피드 결합을 방지하기 위하여, EU 시스템에서의 위치 228 및 카바트 시스템에서의 위치 241에 상응하는 위치 (여기서, 천연 Ser108이 Pro로 대체된다)에서 천연 인간 IgG4 불변 도메인 [스위스-프로트(Swiss-Prot) 고유 번호 P01861.1]과 상이할 수 있다 (문헌 [Angal et al. (1993) *Mol. Immunol.* 30:105] 참조). 다른 경우에는, 반감기를 증가시키거나 또는 이펙터 기능을 저하시키도록 변형시킨, 변형된 IgG1 불변 도메인을 사용할 수 있다.

[0202] 항체 공학

[0203] 예를 들어, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편의 특성을 개선시키기 위하여, 이러한 항체 및 단편이 모 (예를 들어, 마우스 또는 래트) 모노클로날 항체의 가변 도메인 내의 프레임워크 잔기에 대한 변형을 포함하도록 조작된 항체인 실시양태가 추가로 포함된다. 전형적으로, 이러한 프레임워크 변형은 상기 항체 또는 단편의 면역원성을 저하시켜 준다. 이는 통상적으로, 모 (예를 들어, 설치류) 항체 또는 단편 중의 가변 도메인 내의

비-CDR 잔기 (즉, 프레임워크 잔기)를, 상기 항체가 사용되어야 하는 종의 면역 레퍼토리로부터의 유사한 잔기, 예를 들어 인간 치료제의 경우에 인간 잔기로 대체시킴으로써 달성된다. 이러한 항체 또는 단편이 "인간화" 항체 또는 단편으로서 지칭된다. 일부 경우에는, 조작된 (예를 들어, 인간화) 항체의 친화성을 증가시키거나 또는 특이성을 변경시키는 것이 바람직하다. 한 가지 접근 방식은 1개 이상의 프레임워크 잔기를 상응하는 생식 세포 계열 서열로 "복귀돌연변이"시키는 것이다. 보다 구체적으로 언급하면, 체세포 돌연변이가 진행된 항체 또는 단편은, 이러한 항체가 유래되는 생식세포 계열 서열과 상이한 프레임워크 잔기를 함유할 수 있다. 상기 잔기는 항체 또는 단편 프레임워크 서열을, 이러한 항체 또는 단편이 유래되는 생식세포 계열 서열과 비교함으로써 확인할 수 있다. 또 다른 접근 방식은 조작된 (예를 들어, 인간화) 항체의 1개 이상의 위치에서 원래의 모 (예를 들어, 설치류) 잔기로 복귀시키는 것인데, 예를 들어 프레임워크 잔기를 대체하는 과정에서 상실될 수도 있었던 결합 친화성을 복원시키는 것이다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,693,762, 미국 특허 번호 5,585,089 및 미국 특허 번호 5,530,101 참조).

[0204] 특정 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편은 그들의 특성을 개선시키기 위해 프레임워크 및/또는 CDR에 대한 변형을 포함하도록 조작된다 (예를 들어, 인간화된다). 이러한 조작된 변화는 분자 모델링에 근거할 수 있다. 모 (비-인간) 항체 서열에 대한 가변 영역에 대한 분자 모델을 구축하여 이러한 항체의 구조적 특징을 이해할 수 있고, 항원과 상호 작용할 수 있는 항체 상의 잠재적 영역을 확인하기 위하여 상기 모델을 사용할 수 있다. 통상적인 CDR은 면역글로불린 서열의 정렬과 가변 영역의 확인에 근거한다 [Kabat et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242; Kabat (1978) *Adv. Prot. Chem.* 32:1-75; Kabat, et al., (1977) *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616]. 코티아(Chothia)와 동료들은 항체의 결정 구조에서 루프의 입체 형태 및 제한된 추가변 루프를 신중하게 조사하였다 [Chothia, et al., (1987) *J Mol. Biol.* 196:901-917 or Chothia, et al., (1989) *Nature* 342:878-883]. "CDR" 및 "추가변 루프"로서 분류된 영역들 간에는 변동이 있다. 나중의 연구 (문헌 [Raghunathan et al., (2012) *J. Mol Recog.* 25, 3, 103-113])는 몇 가지 항체-항원 결정성 복합체를 분석하였는데, 그 결과, 항체 내의 항원 결합성 영역이 "CDR" 잔기 또는 "추가변" 루프와 반드시 엄격하게 일치하지 않는다는 것을 관찰하였다. 비-인간 항체의 가변 영역에 대한 분자 모델을 이용하여, 항원과 잠재적으로 결합할 수 있는 영역의 선택을 가이드할 수 있다. 실제로, 모델에 근거한 잠재적 항원 결합성 영역은 통상적인 "CDR" 또는 "추가변" 루프와 상이하다. 분자 모델링을 위해 MOE [케미칼 컴퓨팅 그룹 (Chemical Computing Group)]와 같은 상업용 과학 소프트웨어를 사용할 수 있다. 프레임워크와 CDR 둘 다에서의 비-인간 서열과 가장 잘 매칭되는 것에 근거하여 인간 프레임워크를 선택할 수 있다. VH 내에서의 FR4 (프레임워크 4)의 경우에는, 인간 생식세포 계열에 대한 VJ 영역을 상응하는 비-인간 영역과 비교한다. VL 내에서의 FR4 (프레임워크 4)의 경우에는, 인간 생식세포 계열 서열의 J-카파 및 J-람다 영역을 상응하는 비-인간 영역과 비교한다. 일단 적합한 인간 프레임워크를 확인하면, CDR을 선택된 인간 프레임워크 내로 이식한다. 일부 경우에는, VL-VH 계면 내의 특정의 잔기가 비-인간 (모) 서열 내에서도 같이 보유될 수 있다. CDR 입체 형태를 잠재적으로 변경시킬 수 있으므로 항원에 대한 결합을 변경시킬 수 있는 잔기를 확인하기 위하여 분자 모델을 사용할 수도 있다. 일부 경우에, 이들 잔기가 비-인간 (모) 서열 내에서도 같이 보유될 수 있다. 분자 모델을 또한 사용하여, 불필요한 효과, 예컨대 글리코실화, 탈아미드화 및 산화를 초래할 수 있는, 용매 노출된 아미노산을 확인할 수 있다. 현상성 필터는 이들 잠재적 문제를 없애고/최소화하기 위해 설계 단계에서 초기에 도입할 수 있다.

[0205] 또 다른 유형의 프레임워크 변형은 프레임워크 영역 내의, 또는 심지어 1개 이상의 CDR 영역 내의 1개 이상의 잔기를 돌연변이시켜 T 세포 에피토프를 제거함으로써, 항체의 잠재적 면역원성을 저하시키는 것을 포함한다. 이러한 접근 방식은 "탈면역"으로서 지칭되기도 하고, 미국 특허 번호 7,125,689에 추가로 상세히 기재되어 있다.

[0206] 특별한 실시양태에서, 노출된 측쇄를 함유하는 특정의 아미노산을, 최종 항체의 더 큰 화학적 안정성을 제공하기 위해 또 다른 아미노산 잔기로 변화시켜 탈아미드 또는 이성화를 피하도록 하는 것이 바람직할 것이다. 아스파라긴의 탈아미드화는 NG, DG, NG, NS, NA, NT, QG 또는 QS 서열 상에서 발생할 수 있고, 이로써 이소아스파르트산 잔기가 창출되는데, 이는 킥(kink)을 폴리펩티드 쇄 내로 도입시키고 그의 안정성을 저하시킨다 (이소아스파르트산 효과). 이성화는 DG, DS, DA 또는 DT 서열에서 발생할 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 항체는 탈아미드화 또는 아스파라긴 이성(isomerism) 부위를 함유하지 않는다.

[0207] 예를 들어, 아스파라긴 (Asn) 잔기는 Gln 또는 Ala로 변화시켜, 특히 CDR 내의 임의의 Asn-Gly 서열에서의 이소아스파르테이트의 형성 가능성을 저하시킬 수 있다. 유사한 문제가 Asp-Gly 서열에서 발생할 수도 있다

(Reissner and Aswad (2003) *Cell. Mol. Life Sci.* 60:1281). 이소아스파르테이트 형성은 항체가 그의 표적 항원과 결합하는 것을 약화시키거나 또는 완전히 폐기시킬 수 있다 (문헌 [Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731 at 734] 참조). 한 실시양태에서, 아스파라긴은 글루타민 (Gln)으로 변화시킨다. 아스파라긴 (Asn) 또는 글루타민 (Gln) 잔기에 인접한 아미노산을 변경시켜 탈아미드화 (이는 작은 아미노산이 아스파라긴 또는 글루타민에 인접하여 존재하는 경우에 더 큰 비율로 발생한다)의 가능성을 저하시키는 것이 바람직할 수도 있다 (문헌 [Bischoff & Kolbe (1994) *J. Chromatog.* 662:261] 참조). 또한, CDR 내의 임의의 메티오닌 잔기 (전형적으로, 용매 노출된 Met)는 Lys, Leu, Ala, 또는 Phe 또는 다른 아미노산으로 변화시켜, 메티오닌 황이 산화될 확률 (이는 항원-결합성 친화도를 감소시킬 수 있고, 또한 최종 항체 제제 중의 분자 이질성의 원인이 될 수 있다)을 저하시킬 수 있다 (상기 문헌 참조). 부가적으로, 잠재적으로 절단 가능한 Asn-Pro 펩티드 결합을 방지하거나 또는 최소화하기 위해, 특정 CDR에서 발견된 임의의 Asn-Pro 조합을 Gln-Pro, Ala-Pro, 또는 Asn-Ala로 변경시키는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 치환을 수반한 항체를 대상으로 하여 연속해서, 상기 치환이 TIGIT에 대한 항체의 친화성 또는 특이성, 또는 다른 목적하는 생물학적 활성을 허용되지 않는 수준으로 저하시키지 않는다는 것을 보장하는지에 관하여 스크리닝한다.

[0208] <표 2>

[0209] 예시적인 안정화 CDR 변이체

CDR 잔기	안정화 변이체 서열
Asn-Gly (N-G)	Gln-Gly, Ala-Gly, 또는 Asn-Ala (Q-G), (A-G), 또는 (N-A)
Asp-Gly (D-G)	Glu-Gly, Ala-Gly 또는 Asp-Ala (E-G), (A-G), 또는 (D-A)
Met (전형적으로 용매 노출됨) (M)	Lys, Leu, Ala, 또는 Phe (K), (L), (A), 또는 (F)
Asn (N)	Gln 또는 Ala (Q) 또는 (A)
Asn-Pro (N-P)	Gln-Pro, Ala-Pro, 또는 Asn-Ala (Q-P), (A-P), 또는 (N-A)

[0210]

[0211] 본 발명의 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 3의 CDR3은 위치 110W에서 변형시켜 잠재적 산화를 저하 또는 제거할 수 있다 (여기서, 넘버링은 카바트에 따른다). 따라서, 예를 들어 서열식별번호: 3 (MPSFITLASLSTWEGYFDF)을 변형시켜 다음 서열 중 임의의 것으로 만들 수 있다: MPSFITLASLSTFEGYFDF (서열식별번호: 79), MPSFITLASLSTYEGYFDF (서열식별번호: 80), MPSFITLASLSTIEGYFDF (서열식별번호: 81), MPSFITLASLSTVEGYFDF (서열식별번호: 82) 또는 MPSFITLASLSTLEGYFDF (서열식별번호: 83). 따라서, 본 발명의 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체는 서열식별번호: 1의 CDR1, 서열식별번호: 2의 CDR2 및 서열식별번호: 3, 79, 80, 81, 82 또는 83의 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0212] 본 발명의 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 5의 CDR2는 위치 52N 및 53S에서 변형시켜 잠재적 탈아미드화 부위를 감소 또는 제거할 수 있다 (여기서, 넘버링은 카바트에 따른다). 따라서, 예를 들어 서열식별번호: 5 (YANSLQT)를 변형시켜 다음 서열 중 임의의 것으로 만들 수 있다: YASNLQT (서열식별번호: 65), YASSLQT (서열식별번호: 66), YASTLQT (서열식별번호: 67), YATLQT (서열식별번호: 68), YASYLQT (서열식별번호: 69), YANQLQT (서열식별번호: 70), YAGSLQT (서열식별번호: 71), YASQLQT (서열식별번호: 72), YADSLQT (서열식별번호: 73). 따라서, 본 발명의 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체는 서열식별번호: 4의 CDR1, 서열식별번호: 5, 서열식별번호: 66, 서열식별번호: 67, 서열식별번호: 68, 서열식별번호: 69, 서열식별번호: 70, 서열식별번호: 71, 서열식별번호: 72 또는 서열식별번호: 73의 CDR2, 및 서열식별번호: 6의 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0213] 본 발명의 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 6의 CDR3은 위치 95W에서 변형시켜 잠재적 산화를 저하 또는 제거할 수 있다 (여기서, 넘버링은 카바트에 따른다). 따라서, 예를 들어 서열식별번호: 6 (QQYYSGWT)을 변형시켜 다음 서열 중 임의의 것으로 만들 수 있다: QQYYSGFT (서열식별번호: 74), QQYYSGYT (서열식별번호: 75), QQYYSGIT (서열식별번호: 76), QQYYSGVT (서열식별번호: 77), QQYYSGLT (서열식별번호: 78). 따라서, 본 발명의 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체는 서열식별번호: 4의 CDR1, 서열식별번호: 5의 CDR2 및 서열식

별번호: 6, 서열식별번호: 74, 서열식별번호: 75, 서열식별번호: 76, 서열식별번호: 77 또는 서열식별번호: 78의 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0214] 본 발명의 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체는 서열식별번호: 4의 CDR1, 서열식별번호: 5, 서열식별번호: 66, 서열식별번호: 67, 서열식별번호: 68, 서열식별번호: 69, 서열식별번호: 70, 서열식별번호: 71, 서열식별번호: 72 또는 서열식별번호: 73의 CDR2, 및 서열식별번호: 6, 서열식별번호: 74, 서열식별번호: 75, 서열식별번호: 76, 서열식별번호: 77 또는 서열식별번호: 78의 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0215] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체는 서열식별번호: 7, 9-24 또는 38-47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 FR4 영역을 포함하며, 여기서 위치 122에서의 M을 V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W, 또는 L로 치환하여 잠재적 산화를 피한다.

[0216] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체는 서열식별번호: 7, 9-24 또는 38-47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 FR4 영역을 포함하며, 여기서 위치 122에서의 M 및 위치 123에서의 V를 각각 T 및 L로 치환하여 잠재적 산화를 피한다.

[0217] 본 발명의 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 90의 CDR3을 위치 6에서 변형시켜 잠재적 산화를 저하 또는 제거할 수 있다. 따라서, 예를 들어 서열식별번호: 90 (GGPYGWYFDV)을 변형시켜 다음 서열 중 임의의 것으로 만들 수 있다: 서열식별번호: 154-167.

[0218] Fc 영역의 항체 공학

[0219] 본원에 개시된 항체 (예를 들어, 인간화 항체) 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 또한, 전형적으로 항체의 한 가지 이상의 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합, 및/또는 이펙터 기능 (예를 들어, 항원-의존성 세포성 세포독성)을 변경시키기 위해, Fc 영역 내에 변형을 포함하도록 조작될 수 있다. 더욱이, 본원에 개시된 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 화학적으로 변형될 수 있거나 (예를 들어, 하나 이상의 화학적 모이어티를 항체에 부착시킬 수 있다) 또는 그의 글리코실화를 변경하도록 변형시켜, 항체 또는 단편의 한 가지 이상의 특성을 또한 변경시킬 수 있다. 이들 실시양태 각각이 다음에 추가로 상세히 기재된다. Fc 영역 내의 잔기의 넘버링은 카바트의 EU 지수에 따른다.

[0220] 본원에 개시된 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 또한, 변경된 이펙터 기능을 제공하도록 변형된 (또는 차단된) Fc 영역을 수반한 항체 및 단편을 포함한다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,624,821; WO2003/086310; WO2005/120571; WO2006/0057702 참조). 이러한 변형을 이용하여 면역 체계의 각종 반응을 증강 또는 저해할 수 있는데, 이는 진단 및 요법에서 가능한 이로운 효과를 수반한다. Fc 영역의 변경은 아미노산 변화 (치환, 결실 및 삽입), 글리코실화 또는 탈글리코실화, 및 다중 Fc 영역 부가를 포함한다. Fc에 대한 변화는 또한, 치료용 항체에서 항체의 반감기를 변경시켜, 투여 횟수를 줄이게 해줌으로써 편리성을 증가시키고 물질의 사용을 감소시킬 수 있다 (문헌 [Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731 at 734-35] 참조).

[0221] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 중쇄 불변 영역의 힌지(hinge) 영역 내의 위치 228에 상응하는 위치에서 세린에서 프롤린으로의 돌연변이 (S228P; EU 지수)를 포함하는 IgG4 이소형 항체 또는 단편이다. 이러한 돌연변이는 힌지 영역에서 중쇄 간의 디설피드 브릿지의 이질성을 없애주는 것으로 보고되었다 (상기 문헌 [Angal et al.] 참조; 위치 241은 카바트 넘버링 시스템에 근거한다).

[0222] 본 발명의 한 실시양태에서, CH1의 힌지 영역은 이러한 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수가 증가되거나 감소되도록 변형된다. 이러한 접근 방식은 미국 특허 번호 5,677,425에 추가로 기재되어 있다. CH1의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수는, 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 어셈블리를 촉진시키거나 또는 항체의 안정성을 증가 또는 감소시키도록 변경된다.

[0223] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5 또는 31C6 또는 그의 인간화 버전)의 Fc 힌지 영역은 상기 항체 또는 단편의 생물학적 반감기를 감소시키도록 돌연변이된다. 보다 구체적으로, 1개 이상의 아미노산 돌연변이를 Fc-힌지 단편의 CH2-CH3 도메인 계면 영역 내로 도입하여, 상기 항체 또는 단편이 천연 Fc-힌지 도메인 스태필로코쿠스성 단백질 A (SpA) 결합과 비교해서 손상된 SpA 결합을 갖도록 한다. 이러한 접근 방식은 미국 특허 번호 6,165,745에 추가로 상세히 기재되어 있다.

- [0224] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6 또는 28H5 또는 그의 인간화 버전)은 그의 생물학적 반감기를 증가시키도록 변형된다. 각종의 접근 방식이 가능하다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,277,375에 기재된 바와 같은 다음 돌연변이 중 하나 이상을 도입할 수 있다: T252L, T254S, T256F. 또 다른 한편으로, 생물학적 반감기를 증가시키기 위하여, 상기 항체는 미국 특허 번호 5,869,046 및 6,121,022에 기재된 바와 같이, IgG의 Fc 영역의 CH2 도메인의 2개의 루프로부터 취한 재이용 수용체 결합 에피토프를 함유하도록 CH1 또는 CL 영역 내에서 변경시킬 수 있다.
- [0225] 또한 다른 실시양태에서, Fc 영역은 적어도 1개의 아미노산 잔기를 상이한 아미노산 잔기로 대체시켜 상기 항체 또는 항원-결합성 단편의 이펙터 기능(들)을 변경시킴으로써 변경된다. 예를 들어, 아미노산 잔기 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 및 322로부터 선택된 1개 이상의 아미노산을 상이한 아미노산 잔기로 대체시켜, 항체가 이펙터 리간드에 대한 변경된 친화성을 지니고 있고, 모 항체의 항원-결합 능력을 보유할 수 있게 한다. 그에 대한 친화성을 변경시킨 이펙터 리간드는, 예를 들어 Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 이러한 접근 방식은 미국 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260에 추가로 상세히 기재되어 있다.
- [0226] 또 다른 예에서, 아미노산 잔기 329, 331 및 322로부터 선택된 1개 이상의 아미노산을 상이한 아미노산 잔기로 대체시켜, 상기 항체가 변경된 C1q 결합성 및/또는 저하되거나 또는 없앤 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 갖도록 할 수 있다. 이러한 접근 방식은 미국 특허 번호 6,194,551에 추가로 상세히 기재되어 있다.
- [0227] 또 다른 예에서, 아미노산 위치 231 및 239 내의 1개 이상의 아미노산 잔기를 변경시킴으로써, 보체를 고정시킬 수 있는 상기 항체의 능력을 변경시킨다. 이러한 접근 방식은 PCT 공개 번호 WO 94/29351에 추가로 기재되어 있다.
- [0228] 또한 또 다른 예에서, Fc 영역은 다음 위치에 있는 1개 이상의 아미노산을 변형시킴으로써, 항체 의존성 세포독성 (ADCC)을 매개할 수 있는 본 발명의 항체 또는 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6 또는 28H5 또는 그의 인간화 버전)의 능력을 저하시키고/시키거나 Fc γ 수용체에 대한 상기 항체 또는 단편의 친화성을 저하시키도록 변형시킨다: 238, 239, 243, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 또는 439. 이러한 접근 방식은 PCT 공개 번호 WO 00/42072에 추가로 기재되어 있다. 더욱이, Fc γ R1, Fc γ RII, Fc γ RIII 및 FcRn에 대한 인간 IgG1 상의 결합 부위를 매핑하였고, 개선된 결합성을 나타내는 변이체가 보고되었다 (문헌 [Shields et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276:6591-6604] 참조).
- [0229] 본 발명의 한 실시양태에서, Fc 영역은 잔기 243 및 264를 변형시킴으로써, 이펙터 기능을 매개할 수 있는 본 발명의 항체 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)의 능력을 저하시키고/시키거나 소염 특성을 증가시키도록 변형시킨다. 한 실시양태에서, 상기 항체 또는 단편의 Fc 영역은 위치 243 및 264에서의 잔기를 알라닌으로 변화시킴으로써 변형시킨다. 한 실시양태에서, Fc 영역은 잔기 243, 264, 267 및 328을 변형시킴으로써, 이펙터 기능을 매개할 수 있는 항체 또는 단편의 능력을 저하시키고/시키거나 소염 특성을 증가시키도록 변형시킨다.
- [0230] **이펙터 기능 증강**
- [0231] 일부 실시양태에서, 항-TIGIT 항체의 Fc 영역은 이펙터 기능을 매개할 수 있는 상기 항체 또는 항원-결합성 단편의 능력을 증가시키고/시키거나 Fc γ 수용체 (Fc γ R)에 대한 그의 결합을 증가시키도록 변형시킨다.
- [0232] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "이펙터 기능"은 항체 의존성 세포 매개된 세포독성 활성 (ADCC), 보체-의존성 세포독성 활성 (CDC) 매개된 반응, Fc-매개된 포식작용 또는 항체 의존성 세포성 포식작용 (ADCP) 및 FcRn 수용체를 통한 항체 재순환 중 한 가지 이상을 지칭하는 것을 의미한다.
- [0233] 항원 결합성 단백질의 불변 영역과 각종 Fc 수용체 (FcR) [Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32) 및 Fc γ RIII (CD16) 포함] 간의 상호 작용이 항원 결합성 단백질의 이펙터 기능, 예컨대 ADCC 및 CDC를 매개하는 것으로 여겨진다. Fc 수용체는 또한, 항-종양 면역에 중요할 수 있는 항체 가교 결합에 중요하다.
- [0234] 이펙터 기능은 ADCC 이펙터 기능을 측정하기 위하여, 예를 들어 자연 킬러 세포에 대한 Fc γ RIII의 결합을 통한 방식 또는 단구/대식세포에 대한 Fc γ RI의 결합을 통한 방식을 포함한 수많은 방식으로 측정할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항원 결합성 단백질을 대상으로 하여, 자연 킬러 세포 검정에서 ADCC 이펙터 기능에 관하

여 평가할 수 있다. 이러한 검정의 예는 문헌 [Shields et al., 2001 *J. Biol. Chem.*, Vol. 276, p 6591-6604; Chappel et al., 1993 *J. Biol. Chem.*, Vol 268, p 25124-25131; Lazar et al., 2006 PNAS, 103; 4005-4010]에서 찾을 수 있다.

[0235] 본 발명의 항체의 ADCC 또는 CDC 특성, 또는 그의 가교 결합 특성이 수많은 방식으로 증강될 수 있다.

[0236] 잔기 Asn297 상에서의 변경된 글리코실화 또는 특이적 돌연변이를 함유하는 인간 IgG1 불변 영역이 Fc 수용체에 대한 결합을 증강시키는 것으로 밝혀졌다. 일부 경우에, 이들 돌연변이가 또한, ADCC 및 CDC를 증강시키는 것으로 밝혀졌다 (Lazar et al. PNAS 2006, 103; 4005-4010; Shields et al. *J Biol Chem* 2001, 276; 6591-6604; Nechansky et al. *Mol Immunol*, 2007, 44; 1815-1817).

[0237] 본 발명의 한 실시양태에서, 상기 돌연변이는 239, 332 및 330 (IgG1)으로부터 선택된 위치 중 1개 이상, 또는 다른 IgG 이소형 내의 등가의 위치 내에 존재한다. 적합한 돌연변이의 예는 S239D 및 I332E 및 A330L이다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 본 발명의 항원 결합성 단백질은 위치 239 및 332에서 돌연변이되거나 (예를 들어, S239D 및 I332E) 또는 추가의 실시양태에서는 239 및 332 및 330으로부터 선택된 3개 이상의 위치에서 돌연변이된다 (예를 들어, S239D 및 I332E 및 A330L) (EU 지수 넘버링).

[0238] 본 발명의 대체 실시양태에서, 항원 결합성 단백질이 증강된 이펙터 기능을 갖도록 하기 위해 변경된 글리코실화 프로파일을 수반한 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체가 제공된다. 예를 들어, 여기서 상기 항체는 증강된 ADCC 또는 증강된 CDC를 갖거나 또는 증강된 ADCC와 CDC 이펙터 기능 둘 다를 갖는다. 변경된 글리코실화 프로파일을 수반한 항원 결합성 단백질을 생성시키는 데 적합한 방법론의 예가 W02003011878, W02006014679 및 EP1229125에 기재되어 있다.

[0239] 추가 측면에서, 본 발명은 "비-푸코실화" 또는 "아푸코실화" 항체를 제공한다. 비-푸코실화 항체에는 푸코스 잔기를 수반하지 않는 Fc의 복합체-유형 N-글리칸의 트리-만노실 코어 구조가 정착되어 있다. Fc N-글리칸으로부터의 코어 푸코스 잔기가 결여된 이들 당조작된 항체는 Fc감마RIIIa 결합 능력의 증강으로 인해 푸코실화 등가물보다 더 강력한 ADCC를 나타낼 수 있다.

[0240] 본 발명은 또한, a) 본원에 기재된 바와 같은 단리된 핵산을 포함하는 발현 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포를 배양하는 단계 (여기서, 이러한 재조합 숙주 세포는 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제를 포함하지 않는다); 및 b) 항원 결합성 단백질을 회수하는 단계를 포함하는, 본 발명에 따르는 항체의 생성 방법을 제공한다. 재조합 숙주 세포는 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제를 코딩하는 유전자를 정상적으로 함유하지 않을 수 있거나 (예를 들어, 효모 숙주 세포, 예컨대 피치아 중) 또는 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제를 불활성화시키도록 유전적으로 변형시켰을 수도 있다. 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제를 코딩하는 FUT8 유전자를 불활성화시키도록 유전적으로 변형시킨 재조합 숙주 세포는 입수 가능하다. 예를 들어, FUT8 유전자의 기능적 카피가 결여된 CHOK1SV 세포가, 기능적 FUT8 유전자를 수반한 세포 내에서 생산된 동일한 모노클로날 항체와 비교해서 증가되는, 증강된 항체 의존성 세포 매개된 세포독성 (ADCC) 활성을 갖는 모노클로날 항체를 생산하는 POTEILLIGENT™ 기술 시스템 [바 이오와, 인크. (BioWa, Inc.; 미국 뉴저지주 프린스턴)로부터 입수 가능함]을 참조할 수 있다. POTEILLIGENT™ 기술 시스템의 측면은 US7214775, US6946292, W00061739 및 W00231240에 기재되어 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 다른 적당한 시스템을 또한 인식할 것이다.

[0241] 이러한 변형이 단독으로 사용될 수 있을 뿐만 아니라 이펙터 기능을 추가로 증강시키기 위해 서로 조합하여 사용될 수 있다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다.

[0242] 변형된 글리코실화를 수반한 항체의 생성

[0243] 또한 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 특별한 글리코실화 패턴을 포함한다. 예를 들어, 아푸코실화 또는 아글리코실화 항체 또는 단편이 만들어질 수 있다 (즉, 상기 항체에는 푸코스 또는 글리코실화가 각각 결여된다). 항체 또는 단편의 글리코실화 패턴은, 예를 들어 TIGIT 항원에 대한 항체 또는 단편의 친화도 또는 결합 활성도(avidity)를 증가시키도록 변경시킬 수 있다. 이러한 변형은, 예를 들어 항체 또는 단편 서열 내의 글리코실화 부위 중 1개 이상을 변경시킴으로써 수행될 수 있다. 예를 들어, 1개 이상의 아미노산 치환이 이루어질 수 있는데, 이는 가변 영역 프레임워크 글리코실화 부위 중 1개 이상을 제거함으로써 그 부위에서의 글리코실화를 없애준다. 이러한 아글리코실화는 항원에 대한 항체 또는 단편의 친화도 또는 결합 활성도를 증가시킬 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,714,350 및 6,350,861 참조).

[0244] 본원에 개시된 항체 및 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 포유류- 또는

인간-유사 글리코실화 패턴을 갖는 당단백질을 생산하도록 유전적으로 조작시킨, 하등 진핵생물 숙주 세포, 특히 진균 숙주 세포, 예컨대 효모 및 섬유상 진균에서 생성된 것을 추가로 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Choi et al., (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100: 5022-5027]; [Hamilton et al., (2003) *Science* 301: 1244-1246]; [Hamilton et al., (2006) *Science* 313: 1441-1443]; [Nett et al., *Yeast* 28(3):237-52 (2011)]; [Hamilton et al., *Curr Opin Biotechnol.* Oct;18(5):387-92(2007)] 참조). 이들 유전적으로 변형된 숙주 세포가 현재 사용되고 있는 포유류 세포주에 비해 특별히 갖고 있는 이점은, 상기 세포에서 생산되는 당단백질의 글리코실화 프로파일을 제어할 수 있는 능력인데, 이로써 특별한 N-글리칸 구조가 우세한 당단백질의 조성물이 생성될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 7,029,872 및 미국 특허 번호 7,449,308 참조). 이들 유전적으로 변형된 숙주 세포는, 주로 특별한 N-글리칸 구조를 갖는 항체를 생성하기 위해 사용되어 왔다 (예를 들어, 문헌 [Li et al., (2006) *Nat. Biotechnol.* 24: 210-215] 참조).

[0245] 특별한 실시양태에서, 본원에 개시된 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 추가로, 하등 진핵 숙주 세포에서 생성되고; $\text{GlcNAc}_{(1-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{Gal}_{(1-4)}\text{GlcNAc}_{(1-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{NANA}_{(1-4)}\text{Gal}_{(1-4)}\text{GlcNAc}_{(1-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ 와 같은 N-글리칸을 포함하지만 이에 제한되지 않는 이등분된 및 다중-안테나형 종을 포함한, 푸코실화 및 비-푸코실화 혼성체 및 복합체 N-글리칸을 포함하는 것을 포함한다.

[0246] 특별한 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 $\text{GlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2$; $\text{GalGlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2$; 및 $\text{NANAGalGlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 혼성체 N-글리칸을 갖는 항체 또는 단편을 포함할 수 있다. 특별한 측면에서, 상기 혼성체 N-글리칸이 조성물 중의 우세한 N-글리칸 종이다.

[0247] 특별한 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 $\text{GlcNAcMan}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{GalGlcNAcMan}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{NANAGalGlcNAcMan}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{GalGlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{NANAGal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; 및 $\text{NANA}_2\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 복합체 N-글리칸을 갖는 항체 및 단편을 포함한다. 특별한 측면에서, 상기 복합체 N-글리칸이 조성물 중의 우세한 N-글리칸 종이다. 추가 측면에서, 상기 복합체 N-글리칸은 조성물 중에서 복합체 N-글리칸의 약 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%를 차지하는 특별한 N-글리칸 종이다. 한 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 항원 결합성 단편은 복합체 N-글리칸을 포함하며, 여기서 이러한 복합체 N-글리칸의 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%는 구조 $\text{NANA}_2\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ 를 포함한다 (이러한 구조는 아푸코실화된다). 상기 구조는, 예를 들어 조작된 피치아 파스토리스 숙주 세포에서 생성될 수 있다.

[0248] 특별한 실시양태에서, N-글리칸은 푸코실화된다. 일반적으로, 푸코스는 N-글리칸의 환원성 말단에서 GlcNAc 와의 $\alpha 1,3$ -연쇄, N-글리칸의 환원성 말단에서 GlcNAc 와의 $\alpha 1,6$ -연쇄, N-글리칸의 비-환원성 말단에서 Gal 과의 $\alpha 1,2$ -연쇄, N-글리칸의 비-환원성 말단에서 GlcNAc 와의 $\alpha 1,3$ -연쇄, 또는 N-글리칸의 비-환원성 말단에서 GlcNAc 와의 $\alpha 1,4$ -연쇄 내에 있다.

[0249] 따라서, 상기 당단백질 조성물의 특별한 측면에서, 글리코형은 $\alpha 1,3$ -연쇄 또는 $\alpha 1,6$ -연쇄 푸코스 내에 있어 $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{GlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{GlcNAcMan}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{GalGlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{NANAGal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, 및 $\text{NANA}_2\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 글리코형을 생성시키거나; $\alpha 1,3$ -연쇄 또는 $\alpha 1,4$ -연쇄 푸코스 내에 있어 $\text{GlcNAc}(\text{Fuc})\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$, $\text{GlcNAc}(\text{Fuc})\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{GalGlcNAc}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{NANAGal}_2\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, 및 $\text{NANA}_2\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 글리코형을 생성시키거나; 또는 $\alpha 1,2$ -연쇄 푸코스 내에 있어 $\text{Gal}(\text{Fuc})\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{Gal}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{NANAGal}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, 및 $\text{NANA}_2\text{Gal}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 글리코형을 생성시킨다.

[0250] 추가 측면에서, 상기 항체 (예를 들어, 인간화 항체) 또는 그의 항원-결합성 단편은 $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$, $\text{Man}_7\text{GlcNAc}_2$,

Man₆GlcNAc₂, Man₅GlcNAc₂, Man₄GlcNAc₂를 포함하지만 이에 제한되지 않는 고 만노스 N-글리칸, 또는 Man₃GlcNAc₂ N-글리칸 구조로 이루어지는 N-글리칸을 포함한다.

[0251] 상기의 추가 측면에서, 복합체 N-글리칸은 추가로, 푸코실화 및 비-푸코실화 이등분된 및 다중-안테나형 종을 포함한다.

[0252] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "N-글리칸" 및 "글리코형"은 상호 교환적으로 사용되고; N-연결된 올리고사카라이드, 예를 들어, 아스파라긴-N-아세틸글루코사민 연쇄에 의해 폴리펩티드의 아스파라긴 잔기에 부착되는 것을 지칭한다. N-연결된 당단백질은 이러한 단백질 내의 아스파라긴 잔기의 아미드 질소에 연결된 N-아세틸글루코사민 잔기를 함유한다. 당단백질 상에 발견된 우세 당은 글루코스, 갈락토스, 만노스, 푸코스, N-아세틸갈락토사민 (GalNAc), N-아세틸글루코사민 (GlcNAc) 및 시알산 (예를 들어, N-아세틸-뉴라민산 (NANA))이다. 당 기의 프로세싱은 ER의 루멘에서 공-번역적으로 발생되고, N-연결된 당단백질에 대하여 골지체(Golgi apparatus)에서 번역 후에 지속된다.

[0253] N-글리칸은 Man₃GlcNAc₂의 공통의 펜타사카라이드 코어를 갖는다 ("Man"은 만노스를 지칭하고; "Glc"는 글루코스를 지칭하며; "NAc"는 N-아세틸을 지칭하고; GlcNAc는 N-아세틸글루코사민을 지칭한다). 통상적으로, N-글리칸 구조는 좌측에 비-환원성 말단이 제시되고 우측에 환원성 말단이 제시된다. N-글리칸의 환원성 말단은 단백질 상의 글리코실화 부위를 포함하는 Asn 잔기에 부착되는 말단이다. N-글리칸은 "트리만노스 코어", "펜타사카라이드 코어" 또는 "파우시만노스(paucimannose) 코어"로서 지칭되기도 하는 Man₃GlcNAc₂ ("Man3") 코어 구조에 추가되는 말초 당 (예를 들어, GlcNAc, 갈락토스, 푸코스 및 시알산)을 포함하는 분지 (안테나)의 수와 관련하여 상이하다. N-글리칸은 그의 분지된 구성분에 따라서 분류된다 (예를 들어, 고 만노스, 복합체 또는 혼성체). "고 만노스" 유형 N-글리칸은 5개 이상의 만노스 잔기를 갖는다. "복합체" 유형 N-글리칸은 전형적으로, "트리만노스" 코어의 1,3 만노스 아암(arm)에 부착된 적어도 1개의 GlcNAc 및 1,6 만노스 아암에 부착된 적어도 1개의 GlcNAc를 갖는다. 복합체 N-글리칸은 또한, 시알산 또는 유도체 (예를 들어, "NANA" 또는 "NeuAc"; 여기서, "Neu"는 뉴라민산을 지칭하고 "Ac"는 아세틸을 지칭한다)로 임의로 변형되는 갈락토스 ("Gal") 또는 N-아세틸갈락토사민 ("GalNAc") 잔기를 가질 수 있다. 복합체 N-글리칸은 또한, "이등분" GlcNAc 및 코어 푸코스 ("Fuc")를 포함하는 쇠내 치환을 가질 수 있다. 복합체 N-글리칸은 또한, "트리만노스 코어" 상에 다중 안테나를 가질 수 있는데, 이는 종종 "다중 안테나형 글리칸"으로서 지칭된다. "혼성체" N-글리칸은 트리만노스 코어의 1,3 만노스 아암의 말단 상에 적어도 1개의 GlcNAc, 및 트리만노스 코어의 1,6 만노스 아암 상에 0개 또는 그 초과 만노스를 갖는다. 각종의 N-글리칸이 "글리코형"으로서 지칭되기도 한다.

[0254] 복합체 N-글리칸과 관련하여, 용어 "G-2", "G-1", "G0", "G1", "G2", "A1", 및 "A2"는 다음을 의미한다. "G-2"는 Man₃GlcNAc₂로서 명확히 규명될 수 있는 N-글리칸 구조를 지칭하고; 용어 "G-1"은 GlcNAcMan₃GlcNAc₂로서 명확히 규명될 수 있는 N-글리칸 구조를 지칭하며; 용어 "G0"은 GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂로서 명확히 규명될 수 있는 N-글리칸 구조를 지칭하고; 용어 "G1"은 GalGlcNAc₂Man₃GlcNAc₂로서 명확히 규명될 수 있는 N-글리칸 구조를 지칭하며; 용어 "G2"는 Gal₂GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂로서 명확히 규명될 수 있는 N-글리칸 구조를 지칭하고; 용어 "A1"은 NANAGal₂GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂로서 명확히 규명될 수 있는 N-글리칸 구조를 지칭하며; 용어 "A2"는 NANA₂Gal₂GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂로서 명확히 규명될 수 있는 N-글리칸 구조를 지칭한다. 달리 표시되지 않는 한, 용어 "G-2", "G-1", "G0", "G1", "G2", "A1", 및 "A2"는 N-글리칸의 환원성 말단에서 GlcNAc 잔기에 부착된 푸코스가 결여되는 N-글리칸 종을 지칭한다. 상기 용어가 "F"를 포함하는 경우, 이러한 "F"는 N-글리칸 종이 N-글리칸의 환원성 말단에서 GlcNAc 잔기 상의 푸코스 잔기를 함유한다는 것을 표시한다. 예를 들어, G0F, G1F, G2F, A1F, 및 A2F는 모두, N-글리칸이 이러한 N-글리칸의 환원성 말단에서 GlcNAc 잔기에 부착된 푸코스 잔기를 추가로 포함한다는 것을 표시한다. 하등 진핵생물, 예컨대 효모 및 섬유상 진균은 푸코스를 생성하는 N-글리칸을 정상적으로 생산하지 않는다.

[0255] 다중-안테나형 N-글리칸과 관련하여, 용어 "다중-안테나형 N-글리칸"은 N-글리칸의 1,6 아암 또는 1,3 아암의 비-환원성 말단을 포함하는 만노스 잔기 상의 GlcNAc 잔기, 또는 N-글리칸의 1,6 아암 및 1,3 아암의 비-환원성 말단을 포함하는 각각의 만노스 잔기 상의 GlcNAc 잔기를 추가로 포함하는 N-글리칸을 지칭한다. 따라서, 다중-안테나형 N-글리칸은 식 GlcNAc₍₂₋₄₎Man₃GlcNAc₂, Gal₍₁₋₄₎GlcNAc₍₂₋₄₎Man₃GlcNAc₂, 또는 NANA₍₁₋₄₎Gal₍₁₋₄₎GlcNAc₍₂₋₄₎Man₃GlcNAc₂로써 명확히 규명될 수 있다. 용어 "1-4"는 1, 2, 3, 또는 4개의 잔기를 지칭한다.

- [0256] 이등분된 N-글리칸과 관련하여, 용어 "이등분된 N-글리칸"은 GlcNAc 잔기가 N-글리칸의 환원성 말단에서 만노스 잔기와 연결되는 N-글리칸을 지칭한다. 이등분된 N-글리칸은 식 $\text{GlcNAc}_3\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ 로써 명확히 규명될 수 있는데, 여기서 각 만노스 잔기는 그의 비-환원성 말단에서 GlcNAc 잔기에 연결된다. 이와는 달리, 다중-안테나형 N-글리칸이 $\text{GlcNAc}_3\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ 로써 명확히 규명되는 경우, 상기 식은 2개의 GlcNAc 잔기가 N-글리칸의 2개의 아암 중 1개의 비-환원성 말단에서 만노스 잔기에 연결되고, 1개의 GlcNAc 잔기가 N-글리칸의 다른 아암의 비-환원성 말단에서 만노스 잔기에 연결된다는 것을 표시한다.
- [0257] **항체 물리적 특성**
- [0258] 본원에 개시된 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 추가로, 경쇄 또는 중쇄 면역글로불린 가변 영역 내에 1개 이상의 글리코실화 부위를 함유할 수 있다. 이러한 글리코실화 부위는 변경된 항원-결합성으로 인해 항체의 pK를 변경시켜 주거나 또는 항체 또는 단편의 면역원성을 증가시켜 줄 수 있다 (Marshall et al. (1972) *Annu Rev Biochem* 41:673-702; Gala and Morrison (2004) *J Immunol* 172:5489-94; Wallick et al (1988) *J Exp Med* 168:1099-109; Spiro (2002) *Glycobiology* 12:43R-56R; Parekh et al (1985) *Nature* 316:452-7; Mimura et al. (2000) *Mol Immunol* 37:697-706). 글리코실화는 N-X-S/T 서열을 함유하는 모티프에서 발생하는 것으로 공지되어 있다.
- [0259] 각각의 항체 또는 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 독특한 등전점 (pI)을 가질 것인데, 이는 일반적으로, 6 내지 9.5의 pH 범위 내에 속한다. IgG1 항체에 대한 pI는 전형적으로, 7 내지 9.5의 pH 범위 내에 속하고, IgG4 항체에 대한 pI는 전형적으로, 6 내지 8의 pH 범위 내에 속한다.
- [0260] 각각의 항체 또는 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 특징적인 용점을 가질 것인데, 용점이 보다 높다는 것은 전반적인 생체내 안정성이 더 크다는 것을 표시한다 (Krishnamurthy R and Manning MC (2002) *Curr Pharm Biotechnol* 3:361-71). 일반적으로, T_M [초기 언폴딩(unfolding)의 온도]은 60°C 초과, 65°C 초과, 또는 70°C 초과일 수 있다. 항체 또는 단편의 용점은 시차 주사 열량계 (문헌 [Chen et al (2003) *Pharm Res* 20:1952-60; Ghirlando et al (1999) *Immunol Lett* 68:47-52]) 또는 원편광 이색성 (문헌 [Murray et al. (2002) *J. Chromatogr Sci* 40:343-9])을 이용하여 측정할 수 있다.
- [0261] 추가 실시양태에서, 신속하게 분해되지 않는 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)을 선별한다. 항체 또는 단편의 분해는 모세관 전기영동 (CE) 및 MALDI-MS를 이용하여 측정될 수 있다 (Alexander AJ and Hughes DE (1995) *Anal Chem* 67:3626-32).
- [0262] 추가 실시양태에서, 불필요한 면역 반응의 촉발 및/또는 변경되거나 또는 불리한 약동학적 특성을 초래할 수 있는 응집 효과를 최소한으로 갖는 항체 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전) 및 그의 항원-결합성 단편을 선별한다. 일반적으로, 항체 및 단편은 25% 이하, 20% 이하, 15% 이하, 10% 이하, 또는 5% 이하의 응집은 허용된다. 응집은 크기 배제 칼럼 (SEC), 고 성능 액체 크로마토그래피 (HPLC), 및 광 산란을 포함한 몇 가지 기술에 의해 측정될 수 있다.
- [0263] **항체 접합체**
- [0264] 본원에 개시된 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 또한, 화학적 모이어티와 접합될 수 있다. 화학적 모이어티는 특히, 중합체, 방사성 핵종 또는 세포독성 인자일 수 있다. 특별한 실시양태에서, 화학적 모이어티는 대상체의 체내에서 항체 또는 단편의 반감기를 증가시켜 주는 중합체이다. 적합한 중합체는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) (예를 들어, 2 kDa, 5 kDa, 10 kDa, 12 kDa, 20 kDa, 30 kDa 또는 40 kDa의 분자량을 갖는 PEG), 텍스트란 및 모노메톡시폴리에틸렌 글리콜 (mPEG)을 포함하지만 이에 제한되지 않는 친수성 중합체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 문헌 [Lee, et al., (1999) (*Bioconj. Chem.* 10:973-981)]에는 PEG 접합된 단일쇄 항체가 개시되어 있다. 문헌 [Wen, et al., (2001) (*Bioconj. Chem.* 12:545-553)]에는 방사성 금속 킬레이터 (디에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA))에 부착되는 PEG와 항체를 접합시키는 것이 개시되어 있다.
- [0265] 본원에 개시된 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 또한, 표지, 예컨대 ^{99}Tc , ^{90}Y , ^{111}In , ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H , ^{131}I , ^{11}C , ^{15}O , ^{13}N , ^{18}F , ^{35}S , ^{51}Cr , ^{57}Co , ^{226}Ra , ^{60}Co , ^{59}Fe , ^{57}Se , ^{152}Eu , ^{67}Cu , ^{217}Bi , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{47}Sc , ^{109}Pd , ^{234}Th , 및 ^{40}K , ^{157}Gd , ^{55}Mn , ^{52}Cr , 및 ^{56}Fe 와 접합시킬 수 있다.

- [0266] 본원에 개시된 항체 및 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 또한, 예를 들어 그의 생물학적 (예를 들어, 혈청) 반감기를 증가시키기 위해 PEG화할 수 있다. 항체 또는 단편을 PEG화하기 위하여, 이러한 항체 또는 단편을 전형적으로, 1개 이상의 PEG 기가 항체 또는 항체 단편에 부착되도록 하는 조건하에, 반응성 형태의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 예컨대 PEG의 반응성 에스테르 또는 알데히드 유도체와 반응시킨다. 특별한 실시양태에서, PEG화는 반응성 PEG 분자 (또는 유사한 반응성 수용성 중합체)와의 아실화 반응 또는 알킬화 반응을 통하여 수행된다. 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "폴리에틸렌 글리콜"은 다른 단백질, 예컨대 모노 (C1-C10) 알콕시- 또는 아릴옥시-폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜-말레이미드를 유도체화하기 위해 사용되어 왔던 PEG의 형태 중 임의의 것을 포괄한다. 특정 실시양태에서, PEG화된 항체 또는 단편은 아글리코실화된 항체 또는 단편이다. 단백질을 PEG화하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 이를 본 발명의 항체에 적용할 수 있다 (예를 들어, EP 0 154 316 및 EP 0 401 384 참조).
- [0267] 본원에 개시된 항체 및 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 또한, 형광단, 예컨대 희토류 킬레이트제, 플루오레스세인 및 그의 유도체, 로다민 및 그의 유도체, 이소티오시아네이트, 피코에리트린, 피코시아닌, 알로피코시아닌, α -프탈알데히드, 플루오레스카민, ¹⁵²Eu, 덴실, 움벨리페론, 루시페린, 루미날 표지, 이소루미날 표지, 방향족 아크리디늄 에스테르 표지, 이미다졸 표지, 아크리디늄 염 표지, 옥살레이트 에스테르 표지, 아에쿠오린 표지, 2,3-디히드로프탈라진디온, 비오틴/아비딘, 스핀 표지 및 안정한 유리 라디칼을 포함한, 형광성 또는 화학발광성 표지와 결합될 수 있다.
- [0268] 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 또한, 세포독성 인자, 예컨대 디프테리아 독소, 슈도모나스 아에루기노사 (*Pseudomonas aeruginosa*) 외독소 A 쇄, 리신 A 쇄, 아브린 A 쇄, 모데신 A 쇄, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디이 (*Aleurites fordii*) 단백질 및 화합물 (예를 들어, 지방산), 디안틴 단백질, 피토이아카 아메리카나 (*Phytolacca americana*) 단백질 PAPI, PAPII, 및 PAP-S, 모모르디카 카란티아 (*Momordica charantia*) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사포나리아 오피시날리스 (*Saponaria officinalis*) 억제제, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신 및 에노마이신과 결합될 수 있다.
- [0269] 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)을 각종 모이어티와 접합시키는 것으로 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법을 이용할 수 있는데, 이는 문헌 [Hunter, et al., (1962) *Nature* 144:945; David, et al., (1974) *Biochemistry* 13:1014; Pain, et al., (1981) *J. Immunol. Meth.* 40:219; and Nygren, J., (1982) *Histochem. and Cytochem.* 30:407]에 기재된 방법을 포함한다. 항체 및 단편을 접합시키는 방법은 관련 기술분야에 통상적이고 매우 널리 공지되어 있다.
- [0270] **항-TIGIT 항체의 치료적 용도**
- [0271] 추가로, 본원에 개시된 단리된 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)을 이용한 치료를 필요로 하는 대상체 (인간 대상체 포함)를 치료하는 방법이 제공된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 이러한 대상체는 감염 또는 감염성 질환으로 인해 고통받고 있다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 상기 대상체는 암으로 인해 고통받고 있다. 한 실시양태에서, 암은 TIGIT를 발현하는 종양 침윤성 림프구에 의해 침윤되는 고형 종양이다. 한 실시양태에서 암은, 예를 들어 골육종, 횡문근육종, 신경모세포종, 신장암, 백혈병, 신장 이행 세포암, 방광암, 윌름스 암(Wilm's cancer), 난소암, 췌장암, 유방암, 전립선암, 골암, 폐암 (예를 들어, 비-소세포 폐암), 위암, 결장직장암, 자궁경부암, 활막 육종, 두경부암, 편평 세포 암종, 다발성 골수종, 신장 세포암, 망막모세포종, 간모세포종, 간세포 암종, 흑색종, 신장의 횡문근양 종양, 유방암, 연골육종, 뇌암, 교모세포종, 수막종, 뇌하수체 선종, 전정 신경초종, 원시 신경외배엽 종양, 수모세포종, 성상세포종, 악성 성상세포종, 희돌기교종, 뇌실막세포종, 맥락막종 유두종, 진성 적혈구증가증, 혈소판증가증, 특발성 골수섬유증, 연질 조직 육종, 갑상선암, 자궁내막암, 카르시노이드 암 또는 간암, 유방암 또는 위암이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 암은, 예를 들어 상기 언급된 변종의 전이암이다.
- [0272] 특정 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)을 이용하여 대상체를 치료하는 방법을 제공하는데, 이러한 대상체는 바이러스성 감염으로 인해 고통받고 있다. 한 실시양태에서, 바이러스성 감염은 인간 면역결핍증 바이러스 (HIV), 간염 바이러스 (A형, B형, 또는 C형), 헤르페스 바이러스 [예를 들어, VZV, HSV-I, HAV-6, HSV-II, 및 CMV, 엡스타인 바 바이러스(Epstein Barr virus)], 아데노바이러스, 인플루엔자 바이러스, 플라비바이러스, 에코바이러스, 리노바이러스, 콕사키 바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 합포체 바이러스, 볼거리 바이러스, 로타바이러스, 홍역 바이러스, 풍진 바이러스, 파보바이러스, 백시니아 바이러스, HTLV 바이러스, 탱기 바이러스, 유두종 바이러스, 연속종(molluscum) 바이러스, 폴리오바이러스, 광견병 바이러스, JC 바이러스 또는 아르보바이러스성 뇌염 바이러스

러스로 이루어진 군으로부터 선택된 바이러스로의 감염이다.

[0273] 특정 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 이용하여 대상체를 치료하는 방법을 제공하는데, 이러한 대상체는 박테리아성 감염으로 인해 고통받고 있다. 한 실시양태에서, 박테리아성 감염은 클라미디아 (*Chlamydia*), 리케치아 박테리아, 미코박테리아, 스태필로코쿠스(*Staphylococcus*), 스트렙토코쿠스(*streptococcus*), 뉴모노코쿠스(*pneumonococcus*), 메닝고코쿠스(*meningococcus*) 및 고노코쿠스(*gonococcus*), 클렙시엘라(*klebsiella*), 프로테우스(*proteus*), 세라티아(*serratia*), 슈도모나스(*pseudomonas*), 레지오넬라 (*Legionella*), 코리네박테리움 디프테리아에 (*Corynebacterium diphtheriae*), 살모넬라 (*Salmonella*), 바실루스(*bacillus*), 비브리오 콜레라에 (*Vibrio cholerae*), 클로스트리디움 테타니 (*Clostridium tetani*), 클로스트리디움 보툴리눔 (*Clostridium botulinum*), 바실루스 안트리시스 (*Bacillus anthracis*), 예르시니아 페스티스 (*Yersinia pestis*), 미코박테리움 레프라에 (*Mycobacterium leprae*), 미코박테리움 레프라마토시스 (*Mycobacterium lepromatosis*), 및 보리엘라 (*Borriella*)로 이루어진 군으로부터 선택된 박테리아로의 감염이다.

[0274] 특정 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 이용하여 대상체를 치료하는 방법을 제공하는데, 이러한 대상체는 진균성 감염으로 인해 고통받고 있다. 한 실시양태에서, 진균성 감염은 칸디다 (*Candida*) [알비칸스 (*albicans*), 크루세이 (*krusei*), 글라브라타 (*glabrata*), 트로피칼리스 (*tropicalis*) 등], 크립토코쿠스 네오포르만스 (*Cryptococcus neoformans*), 아스페르길루스 (*Aspergillus*) [푸미가투스 (*fumigatus*), 니저 (*niger*) 등], 속 무코알레스 (*Mucorales*) [무코르 (*mucor*), 압시디아 (*absidia*), 리조푸스 (*rhizopus*)], 스포로트릭스 스펜키이 (*Sporothrix schenkii*), 블라스토마이세스 데르마티티디스 (*Blastomyces dermatitidis*), 파라코시디오이데스 브라질리엔시스 (*Paracoccidioides brasiliensis*), 코시디오이데스 임미티스 (*Coccidioides immitis*) 및 히스토플라스마 캡슐라툼 (*Histoplasma capsulatum*)으로 이루어진 군으로부터 선택된 진균으로의 감염이다.

[0275] 특정 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 이용하여 대상체를 치료하는 방법을 제공하는데, 이러한 대상체는 기생충 감염으로 인해 고통받고 있다. 한 실시양태에서, 기생충 감염은 엔타모에바 히스토리티카 (*Entamoeba histolytica*), 발란티디움 콜리 (*Balantidium coli*), 나에글레리아 포울레리 (*Naegleria fowleri*), 아칸타모에바 (*Acanthamoeba*), 기아르디아 람비아 (*Giardia lamblia*), 크립토스포리디움 (*Cryptosporidium*), 뉴모시스티스 카리니이 (*Pneumocystis carinii*), 플라스모디움 비박스 (*Plasmodium vivax*), 바베시아 미크로티 (*Babesia microti*), 트리파노소마 브루세이 (*Trypanosoma brucei*), 트리파노소마 크루지 (*Trypanosoma cruzi*), 레이슈마니아 도노바니 (*Leishmania donovani*), 톡소플라스마 곤디이 (*Toxoplasma gondii*) 및 님포스트롱길루스 브라질리엔시스 (*Nippostrongylus brasiliensis*)로 이루어진 군으로부터 선택된 기생충으로의 감염이다.

[0276] 또한, 본 발명은 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)의 유효량을, 임의로 추가의 화학요법제와 연합하여 투여하는 것을 포함하는, 특정 대상체 (예를 들어, 인간) [예를 들어, 대상체는 암 또는 감염성 질환 (예를 들어, 본원에 논의된 바와 같음)으로 인해 고통받고 있다]에게서 MHC 부류 II에 대한 TIGIT 결합을 방지 또는 억제하거나, 항원-특이적 T-세포 활성화를 증강시키거나 또는 인터류킨-2의 T-세포 생성을 자극하는 방법을 제공한다.

[0277] "대상체"는 포유류, 예컨대 인간, 개, 고양이, 말, 암소, 마우스, 래트, 원숭이 (예를 들어, 시노몰구스 원숭이, 예를 들어 마카카 파스시쿨라리스) 또는 토끼일 수 있다. 본 발명의 바람직한 실시양태에서, 대상체는 인간 대상체이다.

[0278] 특별한 실시양태에서, 본원에 개시된 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은, 임의의 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게서, 예를 들어 본원에 논의된 바와 같은 임의의 질환, 예컨대 암을 치료 또는 예방하기 위하여, 단독으로 사용될 수 있거나, 또는 다른 추가의 치료제 및/또는 치료 과정과 연합하여 사용될 수 있다. 상기 항체 및 단편을 추가의 치료제와 연합하여 포함하는 조성물, 예를 들어 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이 또한, 본 발명의 일부이다.

[0279] 특별한 실시양태에서, 본원에 개시된 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 단독으로 사용되거나, 또는 종양 백신과 연합하여 사용될 수 있다.

[0280] 특별한 실시양태에서, 본원에 개시된 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 단독으로 사용되거나, 또는 화학요법제와 연합하여 사용될 수 있다.

- [0281] 특별한 실시양태에서, 본원에 개시된 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 단독으로 사용되거나, 또는 방사선 요법과 연합하여 사용될 수 있다.
- [0282] 특별한 실시양태에서, 본원에 개시된 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 단독으로 사용되거나, 또는 표적화된 요법과 연합하여 사용될 수 있다. 표적화된 요법의 예는 호르몬 요법, 시그널 변환 억제제 [예를 들어, EGFR 억제제, 예컨대 세툽시맙 (에르비투스(Erbix)) 및 에를로티닙 (타르세바(Tarceva))]; HER2 억제제 [예를 들어, 트라스투주맙 (헤르셉틴(Herceptin)) 및 페르투주맙 (페르제타(Perjeta))]; BCR-ABL 억제제 [예컨대, 이마티닙 (글리벡(Gleevec)) 및 다사티닙 (스프리셀(Sprycel))]; ALK 억제제 [예컨대, 크리조티닙 (크살코리(Xalkori)) 및 세리티닙 (지카디아(Zykadia))]; BRAF 억제제 [예컨대, 베무라페닙 (젤보라프(Zelboraf)) 및 다브라페닙 (타핀라르(Tafinlar))], 유전자 발현 조정제, 아폽토시스(apoptosis) 유도제 [예를 들어, 보르테오미 (벨카데(Velcade)) 및 카르필로미 (키프롤리스(Kyprolis))], 혈관형성 억제제 [예를 들어, 베바시주맙 (아바스틴(Avastin)) 및 라무시루맙 (시람자(Cyramza))], 독소에 부착된 모노클로날 항체 [예를 들어, 브렌투시맙 베도틴(brentuximab vedotin) (아드세트리스(Adcetris)) 및 아도-트라스투주맙 엠탄신 (카드실라(Kadcyla))]를 포함한다.
- [0283] 특별한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 항암 치료제 또는 면역조정 약물, 예컨대 면역조정 수용체 억제제, 예를 들어 이러한 수용체와 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합성 단편과 조합하여 사용될 수 있다.
- [0284] 따라서, 본 발명은 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)을 펙브롤리주맙과 연합하여 포함하는 조성물; 뿐만 아니라 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편과 펙브롤리주맙의 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 이러한 대상체에게서 암을 치료 또는 예방하는 방법을 포함한다. 임의로, 대상체에게 또한, 추가의 치료제를 투여한다.
- [0285] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는 단리된 항체와 연합된다. 서열식별번호: 33 및 34는 펙브롤리주맙의 중쇄 및 경쇄를 코딩한다.
- [0286] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄 및 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는 단리된 항체와 연합된다. 서열식별번호: 35 및 36은 니볼루맙의 중쇄 및 경쇄를 코딩한다.
- [0287] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 항-PD1 항체 [예를 들어, 펙브롤리주맙, 니볼루맙, 피딜리주맙 (CT-011)], 항-PDL1 항체, 항-CTLA4 항체, 항-CS1 항체 (예를 들어, 엘로투주맙), 항-KIR2DL1/2/3 항체 (예를 들어, 리틸루맙), 항-CD137 항체 (예를 들어, 우렐루맙), 항-GITR 항체 (예를 들어, TRX518), 항-PD-L1 항체 (예를 들어, BMS-936559, MSB0010718C 또는 MPDL3280A), 항-PD-L2 항체, 항-ILT1 항체, 항-ILT2 항체, 항-ILT3 항체, 항-ILT4 항체, 항-ILT5 항체, 항-ILT6 항체, 항-ILT7 항체, 항-ILT8 항체, 항-CD40 항체, 항-OX40 항체, 항-ICOS, 항-SIRP α , 항-KIR2DL1 항체, 항-KIR2DL2/3 항체, 항-KIR2DL4 항체, 항-KIR2DL5A 항체, 항-KIR2DL5B 항체, 항-KIR3DL1 항체, 항-KIR3DL2 항체, 항-KIR3DL3 항체, 항-NKG2A 항체, 항-NKG2C 항체, 항-NKG2E 항체, 항-4-1BB 항체 (예를 들어, PF-05082566), 항-TSLP 항체, 항-IL-10 항체, IL-10 또는 PEG화 IL-10, 또는 이러한 표적의 임의의 작은 유기 분자 억제제 중 하나 이상과 연합된다.
- [0288] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-PD1 항체와 연합된다.
- [0289] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-PDL1 항체 (예를 들어, BMS-936559, MSB0010718C 또는 MPDL3280A)와 연합된다.
- [0290] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-CTLA4 항체와 연합된다.
- [0291] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5,

31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-CS1 항체와 연합된다.

- [illegible]

31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-KIR3DL2 항체와 연합된다.

- [0313] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-KIR3DL3 항체와 연합된다.
- [0314] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-NKG2A 항체와 연합된다.
- [0315] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-NKG2C 항체와 연합된다.
- [0316] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-ICOS 항체와 연합된다.
- [0317] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-SIRP α 항체와 연합된다.
- [0318] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-4-1BB 항체와 연합된다.
- [0319] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-IL-10 항체와 연합된다.
- [0320] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항-TSLP 항체와 연합된다.
- [0321] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 IL-10 또는 PEG화 IL-10과 연합된다.
- [0322] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 억제제 (예를 들어, 작은 유기 분자 또는 항체 또는 그의 항원-결합성 단편), 예컨대 MTOR (라파마이신의 포유류 표적) 억제제, 세포독성제, 백금 작용제, EGFR 억제제, VEGF 억제제, 미세소관 안정화제, 타산, CD20 억제제, CD52 억제제, CD30 억제제, RANK (핵 인자 카파-B의 수용체 활성화제) 억제제, RANKL (핵 인자 카파-B 리간드의 수용체 활성화제) 억제제, ERK 억제제, MAP 키나제 억제제, AKT 억제제, MEK 억제제, PI3K 억제제, HER1 억제제, HER2 억제제, HER3 억제제, HER4 억제제, Bcl2 억제제, CD22 억제제, CD79b 억제제, ErbB2 억제제, 또는 파르네실 단백질 트랜스퍼라제 억제제 중 하나 이상과 연합된다.
- [0323] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 13-시스-레티노산, 3-[5-(메틸sul포닐피페라딘메틸)-인돌릴]-퀴놀론, 4-히드록시타목시펜, 5-데옥시우리딘, 5'-데옥시-5-플루오로우리딘, 5-플루오로우라실, 6-머캅토프린, 7-히드록시스타우로스포르인, A-443654, 아비라테론아세테이트, 아브락산, ABT-578, 아콜비펜, ADS-100380, ALT-110, 알트레타민, 아미포스틴, 아미노글루테티미드, 암루비신, 암사크린, 아나그렐리드, 아나스트로졸, 안지오스타틴, AP-23573, ARQ-197, 아르족시펜, AS-252424, AS-605240, 아스파라기나제, AT-9263, 아트라센탄, 악시티닙, AZD1152, 바실루스 칼메트-게랑 (*Bacillus Calmette-Guerin*) (BCG) 백신, 바타블린, BC-210, 베소두톡스, 베바시주맵, 비칼루타미드, Bio111, BI0140, 블레오마이신, BMS-214662, BMS-247550, BMS-275291, BMS-310705, 보르테지밐, 부세렐린, 부술판, 칼시트리올, 캄프토테신, 카네르티닙, 카페시타빈, 카르보플라틴, 카르무스틴, CC8490, 세디라닙, CG-1521, CG-781, 클라미도신, 클로람부실, 클로로톡신, 실렌기티드, 시미티딘, 시스플라틴, 클라드리빈, 클로드로네이트, COL-3, CP-724714, 시클로포스파미드, 시프로테론, 시프로테론아세테이트, 시타라빈, 시토신아라비노사이드, 다카르바진, 다시노스타트, 닥티노마이신, 달로투주맵, 다누세르티브, 다사타닙, 다우노루비신, 데카타닙, 데구엘린, 데닐류킨, 데옥시코포르마이신, 덤시캡티드, 디아릴프로피오니트릴, 디에틸스티베스트롤, 디프티톡스, 도세탁셀, 도비티닙, 독소루비신, 드롤록시펜, 에도테카린, 이트롬-90 표지된-에도트레오티드, 에도트레오티드, EKB-569, EMD121974, 엔도스타틴, 엔잘루타미드, 엔자스타우린, 에피루비신, 에피틸론 B, ERA-923, 에르비투스, 에를로티닙, 에스트라디올, 에스트라무스틴, 에토포시드, 에베롤리무스, 엑세메스탄, 피클라투주맵, 피나스테리드, 플라보피리돌, 플록수리딘, 플루다라빈, 플루드로코르티손, 플루옥시메스테론, 플루타미드, FOLFOX 요법, 플베스트란트, 갈레테론, 게피티닙, 겐시타빈, 기마테칸, 고세렐린, 고세렐린 아세테이트, 고시폴, GSK461364, GSK690693, HMR-3339, 히드록시프로게스테론카프로에이트, 히드록시우레아, IC87114, 이다루비신, 이독시펜, 이포스파미드, IM862, 이마티닙, IMC-1C11, INCB24360, INO1001, 인터페론, 인터류킨-

12, 이필리무맙, 이리노테칸, JNJ-16241199, 케토코나졸, KRX-0402, 라파티닙, 라소폭시펜, 레트로졸, 류코보린, 류프롤리드, 류프롤리드 아세테이트, 레바미솔, 리포솜 포착된 파클리탁셀, 로무스틴, 로나파르님, 루칸톤, LY292223, LY292696, LY293646, LY293684, LY294002, LY317615, 마리마스타트, 메클로르에타민, 메드록시프로게스테론아세테이트, 메게스트롤아세테이트, 멜팔란, 머캅토프린, 메스나, 메토티렉세이트, 미트라마이신, 미토마이신, 미토탄, 미톡산트론, 토자세르티프, MLN8054, 네오바스타트, 네라티닙, 뉴라디압, 닐로티닙, 닐루티미드, 놀라트렉세드, NVP-BEZ235, 오피메르센, 옥트레오티드, 오파투무맙, 오레고보맙, 오르테로넬, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 팔보시클립, 파미드로네이트, 파니투무맙, 파조파닙, PD0325901, PD184352, PEG-인터페론, 페메트렉세드, 펜토스타틴, 페리포신, 페닐알라닌무스타드, PI-103, 픽틸리십, PIK-75, 피펜독시펜, PKI-166, 플리카마이신, 포르피머, 프레드니손, 프로카르바진, 프로게스틴, PX-866, R-763, 랄록시펜, 랄티트렉세드, 라족신, 리다포롤리무스, 리톡시맙, 로미덱신, RTA744, 루비테칸, 스크립타이드, Sdx102, 셀리시클립, 셀루메티닙, 세막사닙, SF1126, 시롤리무스, SN36093, 소라페닙, 스피로놀락톤, 스쿠알라민, SR13668, 스트렙토조신, SU6668, 수베로일아날리드 히드록삼산, 수니티닙, 합성 에스트로겐, 탈람파넬, 탈리모겐 라헤르파렙백, 타목시펜, 테모졸로미드, 템시롤리무스, 테니포시드, 테스밀리펜, 테스트스테론, 테트란드린, TGX-221, 탈리도미드, 티오구아닌, 티오테파, 티실리무맙, 티피파르닙, 티보자닙, TKI-258, TLK286, 토포테칸, 토레미펜 시트레이트, 트라벵테딘, 트라스투주맙, 트레티노인, 트리코스타틴 A, 트리스리빈포스페이트 일수화물, 트립토텔린 파모에이트, TSE-424, 우라실 무스타드, 발프로산, 발루비신, 반데타닙, 바탈라닙, VEGF 트랩, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 비노렐빈, 비탁신, 비테스판, 보리노스타트, VX-745, 워트만닌, Xr311, 자놀리무맙, ZK186619, ZK-304709, ZM336372, ZSTK474 중 임의의 하나 이상과 결합된다.

[0324] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 다음을 포함하지만, 그에 제한되지 않는 하나 이상의 항구토제와 결합된다: 카소피탄트 [글락소스미스클라인(GlaxoSmithKline)], 네투피탄트 [MGI-헬신(Helsinn)] 및 다른 NK-1 수용체 길항제, 팔로노세트론 [MGI 파르마(Pharma)에 의해 알록시(Aloxi)로서 판매됨], 아프레피탄트 [머크 앤 캄파니(Merck and Co.; 미국 뉴저지주 로웨이)에 의해 에멘드(Emend)로서 판매됨], 디펜히드라민 [화이자 (Pfizer; 미국 뉴욕주 뉴욕)에 의해 베나드릴(Benadryl®)로서 판매됨], 히드록시진 [화이자 (미국 뉴욕주 뉴욕)에 의해 아타락스(Atarax®)로서 판매됨], 메토클로프라미드 [AH 로빈스 캄파니 (AH Robins Co.; 미국 버지니아주 리치몬드)에 의해 레글란(Reglan®)으로서 판매됨], 로라제팜 [와이어스 (Wyeth; 미국 뉴저지주 매디슨)에 의해 아티반(Ativan®)으로서 판매됨], 알프라졸람 [화이자 (미국 뉴욕주 뉴욕)에 의해 제넥스(Xanax®)로서 판매됨], 할로페리돌 [오르토-맥네일 (Ortho-McNeil; 미국 뉴저지주 래리턴)에 의해 할돌(Haldol®)로서 판매됨], 드로페리돌 [이납신(Inapsine®)], 드로나비놀 [솔베이 파마슈티칼스, 인크. (Solvay Pharmaceuticals, Inc.; 미국 조지아주 매리엠타)에 의해 마리놀(Marinol®)로서 판매됨], 텍사메타손 [머크 앤 캄파니 (미국 뉴저지주 로웨이)에 의해 데카드론(Decadron®)으로서 판매됨], 메틸프레드니솔론 [화이자 (미국 뉴욕주 뉴욕)에 의해 메드롤(Medrol®)로서 판매됨], 프로클로르페라진 [글락소스미스클라인 (미국 노스캐롤라이나주 리서치 트라이앵글 파크)에 의해 콤파진(Compazine®)으로서 판매됨], 그라니세트론 [호프만-라 로슈 인크. (Hoffmann-La Roche Inc.; 미국 뉴저지주 너틀리)에 의해 키트릴(Kytril®)로서 판매됨], 온단세트론 [글락소스미스클라인 (미국 노스캐롤라이나주 리서치 트라이앵글 파크)에 의해 조프란(Zofran®)으로서 판매됨], 돌라세트론 [사포니-아벤티스 (Sanofi-Aventis; 미국 뉴욕주 뉴욕)에 의해 안제메트(Anzemet®)로서 판매됨], 트로피세트론 [노바르티스 (Novartis; 미국 뉴저지주 이스트 하노버)에 의해 나보반(Navoban®)으로서 판매됨].

[0325] 암 치료의 다른 부작용은 적혈구 및 백혈구 결핍증이다. 따라서, 본 발명의 특정 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 이러한 결핍증을 치료 또는 예방하는 작용제, 예컨대, 예를 들어 필그라스티프, PEG-필그라스티프, 에리트로포이에틴, 에포에틴 알파 또는 다르베포에틴 알파와 결합된다.

[0326] 본 발명의 특정 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 항암 방사선 요법과 결합하여 투여된다. 예를 들어, 본 발명의 특정 실시양태에서, 방사선 요법은 외부 빔 요법 (EBT)인데, 이는 고-에너지 X선의 빔을 종양 위치에 전달하는 방법이다. 빔은 환자 외부에서 생성되며 (예를 들어, 선형 가속기에 의해), 종양 부위를 표적으로 한다. 이러한 X선은 암세포를 파괴할 수 있고 조심스럽게 치료 계획을 세우면 주변의 정상적인 조직을 보호할 수 있다. 방사성 선원은 환자의 신체 내부에 있지 않다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 방사선 요법은 양성자 빔 요법인데, 이는 X선 대신 양성자를 이용하여 병이 있는 조직을 폭격하는 입체조형 요법의 한 유형이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 방사선 요법은 입체조형 외부 빔 방사선 요법인데, 이는 방사선 요법을 개개의 신체 구조에 맞추기 위해 첨단 기술을 이용하는 과정이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 방사선 요법은 근접조사요법인데, 이는 방사성 물질을

신체 내에 일시적으로 배치하는 것으로, 통상적으로 특정 부위에 방사선의 추가 선량 또는 부스트를 제공하기 위해 이용된다.

[0327] 본 발명의 특정 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)과 연합하여 투여되는 외과적 과정은 외과적 종양절제술이다.

[0328] 용어 "연합되는"은 본 발명의 방법에 투여된 성분 [예를 들어, 항-TIGIT 항체 (예를 들어, 인간화 항체) 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)]을 펩브롤리주맵과 함께 동시에 전달하기 위하여 단일 조성물로 제제화할 수 있거나 또는 2개 이상의 조성물 (예를 들어, 키트)로 별도로 제제화할 수 있다는 것을 표시한다. 각 성분은 다른 성분이 투여되는 시간과 상이한 시간에 대상체에게 투여될 수 있는데, 예를 들어 각 투여는 소정의 기간에 걸쳐 몇 가지 간격으로 비-동시적으로 (예를 들어, 별도로 또는 순차적으로) 제공될 수 있다. 더욱이, 별도의 성분은 동일하거나 또는 상이한 경로에 의해 대상체에게 투여될 수 있다.

[0329] 실험적 및 진단적 용도

[0330] 본원에 개시된 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 진화 정제 작용제로서 사용될 수 있다. 이러한 과정에서는, 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편을 관련 기술분야에 널리 공지된 방법을 이용하여 고체 상, 예컨대 세파텍스, 유리 또는 아가로스 수지 또는 여과지 상에 고정화시킨다. 이와 같이 고정화된 항체 또는 단편을, 정제하고자 하는 TIGIT 단백질 (또는 그의 단편)을 함유하는 샘플과 접촉시킨 후, 지지체를 적합한 용매로 세척하며, 이로써 상기 고정화된 항체 또는 단편과 결합되는 TIGIT 단백질을 제외한 샘플 내의 실질적으로 모든 물질이 제거될 것이다. 최종적으로, 지지체를 용매로 세척하여, 결합된 TIGIT (예를 들어, 단백질 A)를 용출시킨다. 이러한 고정화된 항체 및 단편은 본 발명의 일부를 형성한다.

[0331] 추가로, 예를 들어 웨스턴 블롯 및 본원에 논의된 다른 면역검정을 수행하는 데 유용한 2차 항체를 생성하기 위한 항원이 제공된다. 특히, 본원에 개시된 치료용 항체 (예를 들어, 14A6, 28H5 또는 31C6)의 가변 영역 및/또는 CDR 서열을 포함하고, 예를 들어 치료의 맥락에서 항체의 존재를 특이적으로 검출하는 데 사용하기 위한 항-이디오타입 항체를 생성시키기 위해 사용될 수 있는 폴리펩티드가 개시된다.

[0332] 항-TIGIT 항체 (예를 들어, 인간화 항체) 및 그의 항원-결합성 단편은 또한, TIGIT 단백질에 대한 진단 검정에 유용할 수 있는데, 예를 들어 특이적 세포, 조직 또는 혈청, 예를 들어 종양 세포, 예컨대 흑색종 세포에서의 그의 발현을 검출하는 데 유용할 수 있다. 이러한 진단 방법은 각종 질환 진단에 유용할 수 있다.

[0333] 본 발명은 본원에 개시된 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6 또는 그의 인간화 버전)의 사용을 포함하는 ELISA 검정 (효소 결합 면역흡착 검정)을 포함한다.

[0334] 예를 들어, 이러한 방법은 다음 단계를 포함한다:

[0335] (a) 특정 기질 (예를 들어, 미세역가 플레이트 웰, 예를 들어 플라스틱 플레이트의 표면)을 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편으로 코팅하는 단계;

[0336] (b) TIGIT의 존재를 알아보기 위하여 시험하고자 하는 샘플을 상기 기질에 적용하는 단계;

[0337] (c) 상기 플레이트를 세척하여, 샘플 중의 결합되지 않은 물질을 제거하는 단계;

[0338] (d) TIGIT 항원에 대해 또한 특이적인, 검출 가능하게 표지된 항체 (예를 들어, 효소 결합된 항체)를 적용하는 단계;

[0339] (e) 상기 기질을 세척하여, 결합되지 않은 표지된 항체를 제거하는 단계;

[0340] (f) 이러한 표지된 항체가 효소 결합되는 경우에는, 이 효소에 의해 형광성 시그널로 전환되는 화학물질을 적용하는 단계; 및

[0341] (g) 표지된 항체의 존재를 검출하는 단계.

[0342] 기질과 회합된 표지의 검출은 TIGIT 단백질의 존재를 표시한다.

[0343] 추가 실시양태에서, 표지된 항체 또는 그의 항원-결합성 단편은, ABTS [예를 들어, 2,2'-아지노-비스(3-에틸벤즈티아졸린-6-술폰산)] 또는 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘과 반응하여 검출 가능한 색상 변화를 초래하는 퍼옥시 다제로 표시시킨다. 또 다른 한편으로, 표지된 항체 또는 단편은 신틸런트(scintillant)의 존재하에 신틸레이

선 계수기에 의해 검출될 수 있는, 검출 가능한 방사성 동위원소 (예를 들어, ^3H)로 표시시킨다.

- [0344] 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 웨스턴 블롯 또는 면역단백질 블롯 과정에 사용할 수 있다. 이러한 과정은 본 발명의 일부를 형성하고, 예를 들어 다음을 포함한다:
- [0345] (1) 임의로, TIGIT의 존재를 알아보기 위하여 시험하고자 하는 특정 샘플로부터의 단백질 (예를 들어, 이러한 샘플 중의 단백질의 PAGE 또는 SDS-PAGE 전기영동적 분리로부터 비롯됨)을 관련 기술분야에 공지된 방법 (예를 들어, 반-건조 블롯팅 또는 탱크 블롯팅)을 이용하여 막 또는 다른 고체 기질 상으로 옮기는 단계; 결합된 TIGIT 또는 그의 단편의 존재를 알아보기 위하여 시험하고자 하는 상기 막 또는 다른 고체 기질을, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편과 접촉시키는 단계.
- [0346] 이러한 막은 비-변성 PAGE (폴리아크릴아미드 겔 전기영동) 겔 또는 SDS-PAGE (소듐 도데실 술페이트 폴리아크릴아미드 겔 전기영동) 겔에서 TIGIT의 존재를 알아보기 위하여 시험하고자 한 단백질을 옮겨 놓았던 (예를 들어, 겔에서의 전기영동적 분리 후) 니트로셀룰로소 또는 비닐-기반 [예를 들어, 폴리비닐리덴 플루오라이드 (PVDF)] 막의 형태를 취할 수 있다. 막을 항-TIGIT 항체 또는 단편과 접촉시키기 전에, 이러한 막을 임의로, 예를 들어 탈지 분유 등으로 차단시켜 막 위에 비-특이적 단백질 결합 부위를 결합시킨다.
- [0347] (2) 상기 막을 1회 이상 세척하여 결합되지 않은 항-TIGIT 항체 또는 단편, 및 기타 결합되지 않은 물질을 제거하는 단계; 및
- [0348] (3) 결합된 항-TIGIT 항체 또는 단편을 검출하는 단계.
- [0349] 결합된 항체 또는 단편의 검출은 TIGIT 단백질이 상기 막 또는 기질 상에 및 샘플 내에 존재한다는 것을 표시한다. 결합된 항체 또는 단편의 검출은, 검출 가능하게 표시시킨 2차 항체 (항-면역글로불린 항체)를 상기 항체 또는 단편과 결합시킨 다음, 2차 항체의 존재를 검출함으로써 이루어질 수 있다.
- [0350] 본원에 개시된 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 또한, 면역조직화학에 사용될 수 있다. 이러한 방법은 본 발명의 일부를 형성하고, 예를 들어 다음을 포함한다:
- [0351] (1) TIGIT 단백질의 존재를 알아보기 위하여 시험하고자 한 세포 (예를 들어, 종양 세포, 예컨대 흑색종 세포)를, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편과 접촉시키는 단계; 및
- [0352] (2) 상기 세포 상의 또는 세포 내의 항체 또는 단편을 검출하는 단계.
- [0353] 상기 항체 또는 단편 그 자체가 검출 가능하게 표시된다면, 이를 직접적으로 검출할 수 있다. 또 다른 한편으로, 상기 항체 또는 단편은 검출되는, 검출 가능하게 표시된 2차 항체에 의해 결합될 수 있다.
- [0354] 본원에 개시된 특정의 항-TIGIT 항체 및 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 또한, 생체내 종양 영상화를 위해 사용될 수 있다. 이러한 방법은 방사성 표지된 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을, TIGIT 발현과 연관된 종양 [예를 들어, 종양 세포 표면 상에서, 예를 들어 TIGIT를 발현한다]의 존재를 알아보기 위하여 시험하고자 하는 환자의 체내로 주사한 다음, 이러한 환자의 신체를 핵 영상화하여, 예를 들어 종양과 결합되는 고 농도의 상기 항체 또는 단편을 포함하는 유전자 자리에서 상기 표지된 항체 또는 단편의 존재를 검출하는 것을 포함할 수 있다. 상기 유전자 자리의 검출은 TIGIT⁺ 종양 및 종양 세포의 존재를 표시한다.
- [0355] 영상화 기술은 SPECT 영상화 (단일 광자 방출 전산화 단층 촬영) 또는 PET 영상화 (양전자 방출 단층 촬영)를 포함한다. 표지는, 예를 들어 SPECT 영상화와 연계되는 아이오딘-123 (^{123}I) 및 테크네튬-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), 또는 예를 들어, PET 영상화와 연계되는 ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O 또는 ^{18}F , 또는 인듐-111을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Gordon et al., (2005) International Rev. Neurobiol. 67:385-440] 참조).
- [0356] **제약 조성물 및 투여**
- [0357] 본 발명의 항-TIGIT 항체 및 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)의 제약 또는 멸균성 조성물을 제조하기 위하여, 상기 항체 또는 그의 항원-결합성 단편을 제약상 허용되는 담체 또는 부형제와 혼합한다 (예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences and U.S. Pharmacopeia: National

Formulary, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984)] 참조).

- [0358] 치료제 및 진단제의 제형은 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제와 혼합함으로써, 예를 들어 동결건조된 산제, 슬러리, 수성 용제 또는 현탁제의 형태로 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Hardman, et al. (2001) *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Avis, et al. (eds.) (1993) *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications*, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems*, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) *Excipient Toxicity and Safety*, Marcel Dekker, Inc., New York, NY] 참조).
- [0359] 단독으로 투여되거나 또는 또 다른 치료제와 조합하여 투여되는 본 발명의 항체의 독성 및 치료 효능은, 예를 들어 LD₅₀ (집단의 50%에 치사적인 용량) 및 ED₅₀ (집단의 50%에서 치료상 유효한 용량)을 결정하기 위한, 세포 배양물 또는 실험 동물에서의 표준 제약 과정에 의해 결정될 수 있다. 독성 효과와 치료 효과 간의 용량 비가 치료 지수 (LD₅₀/ED₅₀)이다. 이들 세포 배양 검정 및 동물 연구로부터 수득된 데이터가 인간에게 사용하기 위한 투여량 범위를 공식화하는 데 사용될 수 있다. 상기 화합물의 투여량은 바람직하게, 독성을 거의 나타내지 않거나 전혀 나타내지 않는 ED₅₀을 포함하는 순환성 농도의 범위 내에 있다. 그 투여량은 이용된 투여 형태 및 투여 경로에 따라서 상기 범위 내에서 다양할 수 있다.
- [0360] 추가 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6)과 연합하여 대상체에게 투여되는 추가의 치료제는 의사용 탁상 편람 2003 (Thomson Healthcare; 57th edition (November 1, 2002))에 따라서 대상체에게 투여한다.
- [0361] 투여 방식은 다양할 수 있다. 투여 경로는 경구, 직장, 경점막, 장내, 비경구; 근육내, 피하, 피내, 수질내, 척추강내, 직접 심실내, 정맥내, 복강내, 비내, 안내, 흡입, 취입, 국소, 피부, 경피 또는 동맥내를 포함한다.
- [0362] 특별한 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 침습성 경로, 예컨대 주사에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 추가의 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편, 또는 그의 제약 조성물은 정맥내, 피하, 근육내, 동맥내, 종양내 투여되거나, 또는 흡입에 의해 에어로솔 전달된다. 비-침습성 경로 (예를 들어, 경구; 예를 들어, 환제, 캡슐제 또는 정제)에 의한 투여가 또한, 본 발명의 범위 내에 있다.
- [0363] 본 발명은 본 발명의 항체 또는 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전) 중 임의의 것 또는 그의 제약 조성물을 포함하는 용기 (예를 들어, 캡 또는 크로마토그래피 칼럼, 속이 빈 바늘 또는 주사기 실린더를 수반한, 예를 들어 플라스틱 또는 유리 바이알)를 제공한다. 본 발명은 또한, 본 발명의 항체 또는 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전) 중 임의의 것 또는 그의 제약 조성물을 포함하는 주사 장치를 제공한다. 주사 장치는 특정 물질을 비경구 경로, 예를 들어 근육내, 피하 또는 정맥내를 통하여 환자의 신체 내로 도입하는 장치이다. 예를 들어, 주사 장치는, 예를 들어 주사하고자 하는 유체 (예를 들어, 항체 또는 단편 또는 그의 제약 조성물)를 유지하기 위한 실린더 또는 배럴, 피부를 찌르기 위한 바늘 및/또는 유체를 주사하기 위한 혈관; 및 실린더로부터 그리고 바늘 구멍을 통해 유체를 밀어내기 위한 플런저를 포함하는 주사기 (예를 들어, 제약 조성물로 미리 채워진 주사기, 예컨대 자동 주사기)일 수 있다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 또는 그의 제약 조성물을 포함하는 주사 장치는 정맥내 (IV) 주사 장치이다. 이러한 장치는 캐놀라 또는 투관침/바늘을 통하여 환자의 체내로 도입된 유체 (예를 들어, 식염수; 또는 NaCl, 소듐 락테이트, KCl, CaCl₂를 포함하고 임의로 글루코스를 포함한, 락테이트화 링거 용액)를 보존하기 위한 봉지 또는 저장고에 부착될 수 있는 튜브에 부착될 수 있는 캐놀라 또는 투관침/바늘 내에 상기 항체 또는 단편 또는 그의 제약 조성물을 포함한다. 항체 또는 단편 또는 그의 제약 조성물은 본 발명의 특정 실시양태에서, 일단 투관침 및 캐놀라가 대상체의 정맥 내로 삽입되고 이와 같이 삽입된 캐놀라로부터 투관침이 제거되면, 상기 장치 내로 도입될 수 있다. IV 장치는, 예를 들어 말초 정맥 (예를 들어, 손 또는 팔) 내로; 상대 정맥 또는 하대 정맥, 또는 심장의 우심실 내에 (예를 들어, 중앙 IV); 또는 쇄골 하, 내부 경정맥 또는 대퇴 정맥 내로, 및 예를 들어, 상대 정맥 또는 우심실 (예를 들어, 중앙 정맥 선)에 도달할 때까지 심장쪽으로 전진시켜 삽입할 수 있다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 주사 장치는 자동 주사기; 제트 주사기 또는 외부 주입 펌프이다. 제트 주사기는 항체 또는 단편 또는 그의 제약 조성물을 환자의 체내에 도입하기 위해 표피에 침투되는 액체의 고압의 좁은 제트를 이용한다. 외부 주입 펌프는 항체 또는 단편 또는

그의 제약 조성물을 환자의 체내로 제어된 양으로 전달해 주는 의료 장치이다. 외부 주입 펌프는 전기적으로 또는 기계적으로 구동될 수 있다. 상이한 펌프는 상이한 방식으로 작동되는데, 예를 들어 주사기 펌프는 주사기의 저장고에 유체를 보유하고, 움직일 수 있는 피스톤은 유체 전달을 제어하며, 탄성 중합체성 펌프는 신축성 있는 발룬 저장고에 유체를 보유하며, 발룬의 탄성 벽으로부터의 압력은 유체 전달을 구동시킨다. 연동식 펌프에서는, 롤러 세트가 유연한 튜브의 길이에 끼어 유체를 앞으로 밀어낸다. 다중 채널 펌프에서는, 유체가 여러 속도로 다수의 저장고로부터 전달될 수 있다.

[0364] 본원에 개시된 제약 조성물은 또한, 바늘 없는 피하 주사 장치; 예컨대 미국 특허 번호 6,620,135; 6,096,002; 5,399,163; 5,383,851; 5,312,335; 5,064,413; 4,941,880; 4,790,824 또는 4,596,556에 개시된 장치를 이용하여 투여할 수 있다. 제약 조성물을 포함하는 상기 바늘 없는 장치는 또한, 본 발명의 일부이다. 본원에 개시된 제약 조성물은 또한, 주입에 의해 투여될 수 있다. 제약 조성물을 투여하기 위한 널리 공지된 체내 이식제 및 모듈의 예는 제어된 속도로 의약을 분배하기 위한 이식 가능한 미세 주입 펌프가 개시되어 있는 미국 특허 번호 4,487,603; 정확한 주입 속도로 의약을 전달하기 위한 의약 주입 펌프가 개시되어 있는 미국 특허 번호 4,447,233; 연속 약물 전달을 위한 가변 유동 이식형 주입 장치가 개시되어 있는 미국 특허 번호 4,447,224; 다중 챔버 구획을 갖는 삼투압 약물 전달 시스템이 개시되어 있는 미국 특허 번호 4,439,196에 개시된 것을 포함한다. 많은 다른 상기 체내 이식제, 전달 시스템, 및 모듈이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있고, 본 발명의 제약 조성물을 포함하는 것이 본 발명의 범위 내에 있다.

[0365] 또 다른 한편으로, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)은 전신 방식 보다는 오히려 국소 방식으로, 예를 들어 상기 항체 또는 단편을 종양, 예를 들어 TIGIT⁺ 종양 내로 직접적으로 주사하는 것을 통하여 투여할 수 있다. 더욱이, 상기 항체 또는 단편은 표적화 약물 전달 시스템에서, 예를 들어 종양, 예를 들어 면역병리학에 의해 명확하게 규명된 TIGIT⁺ 종양을 표적화하는 조직-특이적 항체로 코팅된 리포솜에서 투여할 수 있다. 리포솜은 병든 조직을 표적으로 할 것이고 이러한 조직에 의해 선택적으로 채택될 것이다. 이러한 방법 및 리포솜은 본 발명의 일부이다.

[0366] 투여 요법은 치료용 항체 또는 항원-결합성 단편의 혈청 또는 조직 전환율, 증상의 수준, 치료용 항체의 면역원성, 및 생물학적 매트릭스 내에서의 표적 세포의 접근 가능성을 포함한, 여러 가지 요인에 좌우된다. 바람직하게, 투여 요법은 바람직하지 못한 부작용은 최소화시키면서, 이와 동시에 표적 질환 상태에서의 개선을 가져다 주기에 충분한 치료용 항체 또는 단편을 전달해준다. 따라서, 전달된 생물체제의 양은 부분적으로, 특별한 치료용 항체 및 치료받는 병태의 중증도에 좌우된다. 치료용 항체 또는 단편의 적당한 용량을 선택하는 데 있어서의 지침이 입수 가능하다 (예를 들어, 문헌 [Wawrzynczak (1996) *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.) (1991) *Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, New York, NY; Bach (ed.) (1993) *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, NY; Baert, et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348:601-608; Milgrom et al. (1999) *New Engl. J. Med.* 341:1966-1973; Slamon et al. (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783-792; Beniaminovitz et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 342:613-619; Ghosh et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348:24-32; Lipsky et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1594-1602] 참조).

[0367] 적당한 용량의 결정은, 예를 들어 치료에 영향을 미치는 것으로 관련 기술분야에서 공지되거나 또는 의심되는 파라미터 또는 요인을 이용하여, 임상시험에 의해 이루어진다. 일반적으로, 용량은 최적의 용량보다 다소 적은 양으로 시작하고, 그 후에 임의의 부정적인 부작용과 비교해서 목적하거나 최적의 효과가 달성될 때까지 소량씩 증가시킨다. 중요한 진단적 조치는, 예를 들어 염증의 증상들, 또는 생성된 염증성 시토카인의 수준을 포함한다. 일반적으로, 사용될 것인 생물체제는 치료를 목표로 하는 동물과 동일한 종으로부터 유래됨으로써, 시약에 대한 어떠한 면역 반응도 최소화하는 것이 바람직하다. 인간 대상체의 경우에는, 예를 들어 인간화 및 완전 인간 항체가 바람직할 수 있다.

[0368] 본원에 개시된 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 및 그의 인간화 버전)은 연속적 주입에 의해, 또는 예를 들어, 매일, 1주에 1 내지 7회, 매주, 2주마다, 매월, 2개월마다, 3개월마다, 6개월마다, 1년마다 등으로 투여함으로써 제공될 수 있다. 용량은, 예를 들어 정맥내, 피하, 국소, 경구, 비내, 직장, 근육내, 뇌내, 척수내 또는 흡입에 의해 제공될 수 있다. 매주 총 용량은 일반적으로, 적어도 0.05 μg /체중 kg, 보다 일반적으로 적어도 0.2 μg /kg, 0.5 μg /kg, 1 μg /kg, 10 μg /kg, 100 μg /kg, 0.25 mg/kg, 1.0 mg/kg, 2.0 mg/kg, 5.0 mg/ml, 10 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg 또는 그 초과이다 (예를 들어, 문헌 [Yang, et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 349:427-434; Herold, et al. (2002) *New Engl. J. Med.* 346:1692-1698; Liu,

et al.(1999) *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67:451-456; Portielji, et al. (2003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52:151-144] 참조). 용량은 또한, 대상체의 혈청에서 항-TIGIT 항체의 미리 결정된 표적 농도, 예컨대 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100, 300 $\mu\text{g/ml}$ 또는 그 초과를 달성하도록 제공될 수 있다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-TIGIT 항체는, 대상체당 10, 20, 50, 80, 100, 200, 500, 1000 또는 2500 mg을 매주, 2주마다, "4주마다", 매월, 2개월마다, 또는 3개월마다, 예를 들어 피하 또는 정맥내 투여한다.

[0369] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "유효량"은 특정 세포, 조직 또는 대상체에게 단독으로 투여되거나 또는 부가의 치료제와 조합하여 투여되는 경우에, 질환, 예를 들어 암의 한 가지 이상의 증상, 또는 암의 진행에 있어서의 측정 가능한 개선을 유발시키기에 유효한, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 인간화 14A6 또는 인간화 28H5)의 양을 지칭한다. 유효 용량은 추가로, 증상의 적어도 부분적 완화, 예를 들어 종양 수축 또는 제거, 종양 성장의 결여, 증가된 생존 시간을 초래하기에 충분한 상기 항체 또는 단편의 양을 지칭한다. 단독으로 투여된 개개의 활성 성분에 적용되는 경우, 유효 용량은 그러한 성분 단독을 지칭한다. 조합물에 적용되는 경우, 유효 용량은 조합하여 일련으로 투여되든지 아니면 동시에 투여되든지 간에 치료 효과를 초래하는 활성 성분의 조합 양을 지칭한다. 치료제의 유효량은 진단 측정기준 또는 파라미터를 적어도 10%; 통상적으로 적어도 20%; 바람직하게 적어도 약 30%; 보다 바람직하게 적어도 40%, 및 가장 바람직하게 적어도 50% 개선시켜 줄 것이다. 유효량은 또한, 주관적 측정기준을 이용하여 질환 중증도를 평가하는 경우에, 주관적 측정기준 상의 개선을 초래할 수 있다.

[0370] **키트**

[0371] 추가로, 본원에 논의된 바와 같은 항-TIGIT 항체 또는 항원-결합성 단편 (예를 들어, 인간화 14A6 또는 인간화 28H5 또는 인간화 31C6)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 하나 이상의 성분을, 본원에 논의된 바와 같은, 제약상 허용되는 담체 및/또는 치료제를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 하나 이상의 부가의 성분과 연합하여 포함하는 키트가 제공된다. 상기 항체 또는 단편 및/또는 치료제는 순수한 조성물로서 제제화되거나 또는 제약상 허용되는 담체와 조합하여 제약 조성물로 제제화될 수 있다.

[0372] 한 실시양태에서, 상기 키트는 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 인간화 14A6 또는 인간화 28H5 또는 인간화 31C6) 또는 그의 제약 조성물을 하나의 용기 (예를 들어, 멸균성 유리 또는 플라스틱 바이알)에 포함하고, 그의 제약 조성물 및/또는 치료제를 또 다른 용기 (예를 들어, 멸균성 유리 또는 플라스틱 바이알)에 포함한다.

[0373] 또 다른 실시양태에서, 키트는 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 인간화 14A6 또는 인간화 28H5 또는 인간화 31C6)을 제약상 허용되는 담체와 함께, 단일의 공통 용기 내에, 임의로 제약 조성물로 함께 제제화된 하나 이상의 치료제와 임의로 조합하여 포함한 본 발명의 조합물을 포함한다.

[0374] 키트가 대상체에게 비경구 투여하기 위한 제약 조성물을 포함하는 경우, 이러한 키트는 상기 투여를 수행하기 위한 장치를 포함할 수 있다. 예를 들어, 키트는 상기 논의된 바와 같은 하나 이상의 피하 주사기 바늘 또는 다른 주사 장치를 포함할 수 있다.

[0375] 키트는 이러한 키트 내에 제약 조성물 및 투여 형태에 관한 정보를 포함한 패키지 삽입물을 포함한다. 일반적으로, 이러한 정보는 동봉된 제약 조성물 및 투여 형태를 효과적이고도 안전하게 사용하는 데 있어서 환자와 의사에게 도움을 준다. 예를 들어, 본 발명의 조합물에 관한 다음의 정보가 상기 삽입물에 제공될 수 있다: 약동학, 약력학, 임상 연구, 효능 파라미터, 적응증 및 사용법, 금기 사항, 경고, 주의 사항, 불리한 반응, 과다 복용, 적절한 투여량 및 투여, 공급 방법, 적당한 저장 조건, 참고 문헌, 제조업자/판매업자 정보 및 특허 정보.

[0376] **검출 키트 및 치료 키트**

[0377] 편의상, 본 발명의 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원-결합성 단편 (예를 들어, 14A6, 28H5, 31C6 또는 그의 인간화 버전)이 키트에 제공될 수 있는데, 즉 진단 또는 검출 검정을 수행하기 위한 설명서와 함께 미리 결정된 양의 시약의 패키징된 조합물로 제공될 수 있다. 상기 항체 또는 단편을 효소로 표시시키는 경우에는, 키트가 이러한 효소에 의해 요구되는 기질 및 조인자 (예를 들어, 검출 가능한 발색단 또는 형광단을 제공하는 기질 전구체)를 포함할 것이다. 또한, 기타 부가제, 예컨대 안정화제, 완충제 (예를 들어, 차단 완충제 또는 용해 완충제) 등을 포함할 수 있다. 각종 시약의 상대적 양은 검정의 민감도를 실질적으로 최적화시키는 시약의 용액 중 농도를 제공하기 위해 광범위하게 다양할 수 있다. 특히, 이러한 시약은 통상 동결건조된 건조 분말로서 제공되는데, 이는 용해시 적당한 농도를 갖는 시약 용액을 제공할 부형제를 포함한다.

[0378] 또한, 예를 들어 면역검정, 예컨대 ELISA (샌드위치형 또는 경쟁적 포맷)를 포함한 각종 검출 검정에 사용하기

위한, 진단 또는 검출 시약 및 이러한 시약을 하나 이상 포함하는 키트가 제공된다. 이러한 키트의 성분은 고체 지지체에 미리-부착시킬 수 있거나, 또는 키트가 사용될 때 고체 지지체의 표면에 적용할 수 있다. 본 발명의 일부 실시양태에서, 시그널 발생 수단은 사용에 앞서, 본 발명의 항체 또는 단편과 미리-연합될 수 있거나, 또는 하나 이상의 성분, 예를 들어 완충제, 항체-효소 접합체, 효소 기질 등과 조합될 수 있어야 한다. 키트는 또한, 부가의 시약, 예를 들어 고체 상 표면에 대한 비특이적 결합을 감소시키기 위한 차단성 시약, 세척 시약, 효소 기질 등을 포함할 수 있다. 고체 상 표면은 튜브, 비드, 미세역가 플레이트, 미소구, 또는 단백질, 펩티드 또는 폴리펩티드를 고정화시키기에 적합한 기타 물질의 형태일 수 있다. 특별한 측면에서, 화학발광성 또는 발색 생성물의 형성을 촉매하거나 또는 화학발광성 또는 발색 기질의 환원을 촉매하는 효소가 시그널 발생 수단의 한 성분이다. 이러한 효소는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 키트는 본원에 기재된 포획제 및 검출 시약 중 임의의 것을 포함할 수 있다. 임의로, 키트는 또한, 본 발명의 방법을 수행하기 위한 설명서를 포함할 수 있다.

[0379] 또한, 용기, 예컨대 바이알 또는 병 내에 패키징된 항-TIGIT 항체 (예를 들어, 인간화 항체) 또는 그의 항원-결합성 단편을 포함하고, 상기 용기에 부착되거나 이러한 용기와 패키징된 표지 (이 표지는 용기의 내용물을 설명하고, 용기의 내용물을 본원에 기재된 바와 같은 한 가지 이상의 질환 상태를 치료하기 위해 사용하는 것에 관한 설명서 및/또는 적응증을 제공한다)를 추가로 포함하는 키트가 제공된다.

[0380] 한 측면에서, 키트는 암을 치료하기 위한 것이고, 항-TIGIT 항체 (예를 들어, 인간화 항체) 또는 그의 항원-결합성 단편 및 부가의 치료제 또는 백신을 포함한다. 키트는 임의로, 비경구, 예를 들어 정맥내 투여용 주사기를 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 측면에서, 키트는 항-TIGIT 항체 (예를 들어, 인간화 항체) 또는 그의 항원-결합성 단편; 및 이러한 항체 또는 단편을 백신 또는 부가의 치료제와 함께 사용하는 것을 설명해 주는, 용기에 부착되거나 또는 이와 패키징된 표지를 포함한다. 또한 또 다른 측면에서, 키트는 백신 또는 부가의 치료제; 및 이러한 백신 또는 부가의 치료제를 항-TIGIT 항체 또는 단편과 함께 사용하는 것을 설명해 주는, 용기에 부착되거나 또는 이와 패키징된 표지를 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-TIGIT 항체 및 백신 또는 부가의 치료제는 별도의 바이알 내에 있거나 또는 동일한 제약 조성물에서 함께 조합된다.

[0381] 상기 조합 요법 섹션에서 논의된 바와 같이, 2개의 치료제의 공동 투여는 이들 작용제가 자신들의 치료 효과를 발휘하는 기간에 중첩이 존재하는 한, 동일한 시간 또는 동일한 경로에 의해 이들 작용제가 투여될 필요는 없다. 동시 또는 순차적 투여가 고려되고, 상이한 날 또는 주에 투여하는 것이 고려된다.

[0382] 본원에 개시된 항체, 펩티드, 항원-결합성 단편, 또는 폴리뉴클레오티드 중 적어도 하나와, 검출 시약 또는 치료제로서의 조성물의 사용 설명서를 포함하는 본원에 개시된 치료 및 검출 키트가 또한 제조될 수 있다. 이러한 키트에 사용하기 위한 용기는 전형적으로, 이들 내로 검출 및/또는 치료 조성물(들) 중 하나 이상을 놓아둘 수 있는, 바람직하게는 적합하게 등분할 수 있는 적어도 1개의 바이알, 시험 튜브, 플라스크, 병, 주사기 또는 다른 적합한 용기를 포함할 수 있다. 제2 치료제가 또한 제공되는 경우, 키트는 또한, 제2의 검출 및/또는 치료 조성물을 놓아둘 수 있는 제2의 별개의 용기를 함유할 수 있다. 또 다른 한편으로, 복수 개의 화합물이 단일 제약 조성물로 제조될 수 있고, 단일 용기 수단, 예컨대 바이알, 플라스크, 주사기, 병, 또는 다른 적합한 단일 용기에 패키징될 수 있다. 본원에 개시된 키트는 또한 전형적으로, 상업적 판매를 위해 엄중히 밀폐되는 바이알(들)을 함유하기 위한 수단, 예컨대 예를 들어, 주사 또는 블로우 성형된 플라스틱 용기 (이들 내로 목적하는 바이알(들)이 보존된다)를 포함할 것이다. 방사성 표지, 발색, 형광발생, 또는 다른 유형의 검출 가능한 표지 또는 검출 수단이 키트 내에 포함되는 경우에는, 표지와 작용제를 검출 또는 치료 조성물 자체와 동일한 용기 내에 제공할 수 있거나, 또는 또 다른 한편으로, 제2 조성물을 놓아둘 수 있고 적합하게 등분될 수 있는 제2의 별개의 용기 수단 내에 놓아둘 수 있다. 또 다른 한편으로, 검출 시약 및 표지를 단일 용기 수단 내에서 제조할 수 있고, 대부분의 경우에는, 키트가 또한 전형적으로, 상업적 판매 및/또는 편리한 패키징 및 운반을 위해 엄중히 밀폐되는 바이알(들)을 함유하기 위한 수단을 포함할 것이다.

[0383] 본원에 기재된 검출 또는 모니터링 방법을 수행하기 위한 장치 또는 기구가 또한 제공된다. 이러한 기구는 샘플을 유입할 수 있는 챔버 또는 튜브; 장치를 통한 샘플의 유동을 지시하기 위한 밸브 또는 펌프를 임의로 포함한 유체 조작 시스템; 임의로, 혈액으로부터 혈장 또는 혈청을 분리하기 위한 필터; 포획제 또는 검출 시약을 부가하기 위한 혼합 챔버; 및 임의로, 포획제 면역복합체와 결합된 검출 가능한 표지의 양을 검출하기 위한 검출 장치를 포함할 수 있다. 샘플의 유동은 수동적 (예를 들어, 샘플이 일단 적용되면, 상기 장치의 추가 조작을 필요로 하지 않는 기타 힘이나 모세관 또는 정압에 의한) 또는 능동적 (예를 들어, 기계적 펌프, 전기삼투압 펌프, 원심분리력, 또는 증가된 공기압을 통하여 발생된 힘의 적용에 의한)일 수 있거나, 또는 능동적 힘과 수

동적 힘의 조합에 의할 수 있다.

- [0384] 추가 실시양태에서, 또한 프로세서, 컴퓨터 판독 가능 메모리, 및 컴퓨터 판독 가능 메모리에 저장되고 본원에 기재된 방법 중 임의의 것을 수행하기 위해 프로세서 상에서 실행되도록 적응시킨 루틴(routine)이 제공된다. 적합한 컴퓨팅 시스템, 환경 및/또는 구성의 예는 개인용 컴퓨터, 서버 컴퓨터, 휴대용 또는 랩탑 장치, 멀티프로세서 시스템, 마이크로 프로세서 기반 시스템, 셋톱 박스, 프로그램 가능한 가전 제품, 네트워크 PC, 미니 컴퓨터, 메인 프레임 컴퓨터를 포함하고, 상기 시스템 또는 장치 중 임의의 것, 또는 관련 기술분야에 공지된 임의의 다른 시스템을 포함하는 분산 컴퓨팅 환경을 포함한다.
- [0385] **일반적 방법**
- [0386] 분자 생물학에서의 표준 방법은 문헌 ([Sambrook, Fritsch and Maniatis (1982 & 1989 2nd Edition, 2001 3rd Edition) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY]; [Sambrook and Russell (2001) *Molecular Cloning*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY]; [Wu (1993) *Recombinant DNA*, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA])에 기재되어 있다. 표준 방법은 또한, 박테리아 세포에서의 클로닝 및 DNA 돌연변이 유발 (Vol. 1), 포유류 세포 및 효모에서의 클로닝 (Vol. 2), 당접합체 및 단백질 발현 (Vol. 3) 및 생물 정보학 (Vol. 4)이 기재되어 있는 문헌 ([Ausubel, et al. (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vols.1-4, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY])에 제시되어 있다.
- [0387] 면역침전, 크로마토그래피, 전기영동, 원심분리 및 결정화를 포함한, 단백질 정제 방법은 문헌 [Coligan, et al. (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York]에 기재되어 있다. 화학적 분석, 화학적 변형, 번역 후 변형, 융합 단백질의 생성, 단백질의 글리코실화는 문헌 (예를 들어, [Coligan, et al. (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., New York]; [Ausubel, et al. (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 3, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5-16.22.17]; [Sigma-Aldrich, Co. (2001) *Products for Life Science Research*, St. Louis, MO; pp. 45-89]; [Amersham Pharmacia Biotech (2001) *BioDirectory*, Piscataway, N.J., pp. 384-391] 참조)에 기재되어 있다. 폴리클로날 및 모노클로날 항체의 생성, 정제 및 단편화는 문헌 [Coligan, et al. (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York; Harlow and Lane (1999) *Using Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlow and Lane, 상기 참조]에 기재되어 있다. 리간드/수용체 상호 작용을 명확히 규명하기 위한 표준 기술이 이용 가능하다 (예를 들어, 문헌 [Coligan, et al. (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 4, John Wiley, Inc., New York] 참조).
- [0388] 모노클로날, 폴리클로날 및 인간화 항체를 제조할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Sheperd and Dean (eds.) (2000) *Monoclonal Antibodies*, Oxford Univ. Press, New York, NY]; [Kontermann and Dubel (eds.) (2001) *Antibody Engineering*, Springer-Verlag, New York]; [Harlow and Lane (1988) *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243]; [Carpenter, et al. (2000) *J. Immunol.* 165:6205]; [He, et al. (1998) *J. Immunol.* 160:1029]; [Tang et al. (1999) *J. Biol. Chem.* 274:27371-27378]; [Baca et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684]; [Chothia et al. (1989) *Nature* 342:877-883]; [Foote and Winter (1992) *J. Mol. Biol.* 224:487-499]; 미국 특허 번호 6,329,511 참조).
- [0389] 인간화에 대한 대안은 파지 상에 디스플레이된 인간 항체 라이브러리, 또는 트랜스제닉 마우스에서 인간 항체 라이브러리를 사용하는 것이다 [Vaughan et al. (1996) *Nature Biotechnol.* 14:309-314; Barbas (1995) *Nature Medicine* 1:837-839; Mendez et al. (1997) *Nature Genetics* 15:146-156; Hoogenboom and Chames (2000) *Immunol. Today* 21:371-377; Barbas et al. (2001) *Phage Display: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; Kay et al. (1996) *Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual*, Academic Press, San Diego, CA; de Bruin et al. (1999) *Nature Biotechnol.* 17:397-399].
- [0390] 단일쇄 항체 및 디아보디가 다음 문헌에 기재되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Malecki et al. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:213-218]; [Conrath et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276:7346-7350]; [Desmyter et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276:26285-26290]; [Hudson and Kortt (1999) *J. Immunol. Methods* 231:177-189];

및 미국 특허 번호 4,946,778 참조). 이관능성 항체가 제공된다 (예를 들어, 문헌 [Mack, et al. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:7021-7025]; [Carter (2001) *J. Immunol. Methods* 248:7-15]; [Volkel, et al. (2001) *Protein Engineering* 14:815-823]; [Segal, et al. (2001) *J. Immunol. Methods* 248:1-6]; [Brennan, et al. (1985) *Science* 229:81-83]; [Raso, et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272:27623]; [Morrison (1985) *Science* 229:1202-1207]; [Traunecker, et al. (1991) *EMBO J.* 10:3655-3659]; 및 미국 특허 번호 5,932,448, 5,532,210, 및 6,129,914 참조).

[0391] 이중특이적 항체가 또한 제공된다 (예를 들어, 문헌 [Azzoni et al. (1998) *J. Immunol.* 161:3493]; [Kita et al. (1999) *J. Immunol.* 162:6901]; [Merchant et al. (2000) *J. Biol. Chem.* 274:9115]; [Pandey et al. (2000) *J. Biol. Chem.* 275:38633]; [Zheng et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276:12999]; [Propst et al. (2000) *J. Immunol.* 165:2214]; [Long (1999) *Ann. Rev. Immunol.* 17:875] 참조).

[0392] 항원의 정제는 항체의 생성에 필요하지 않다. 동물은 관심 항원을 보유하고 있는 세포로 면역시킬 수 있다. 이어서, 비장 세포를 상기 면역시킨 동물로부터 분리할 수 있고, 이 비장 세포를 골수종 세포주와 융합시켜 하이브리도마를 생성시킬 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Meyard et al. (1997) *Immunity* 7:283-290]; [Wright et al. (2000) *Immunity* 13:233-242]; [Preston et al., 상기 참조]; [Kaithamana et al. (1999) *J. Immunol.* 163:5157-5164] 참조).

[0393] 항체는, 예를 들어 작은 약물 분자, 효소, 리포솜, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)과 접합시킬 수 있다. 항체는 치료적, 진단, 키트 또는 다른 목적에 유용하고, 예를 들어 염료, 방사성 동위원소, 효소 또는 금속, 예를 들어 콜로이드성 금과 커플링된 항체를 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Le Doussal et al. (1991) *J. Immunol.* 146:169-175]; [Gibellini et al. (1998) *J. Immunol.* 160:3891-3898]; [Hsing and Bishop (1999) *J. Immunol.* 162:2804-2811]; [Everts et al. (2002) *J. Immunol.* 168:883-889] 참조).

[0394] 형광 활성화 세포 분류 (FACS)를 포함한, 유동 세포측정을 위한 방법이 이용 가능하다 (예를 들어, 문헌 [Owens, et al. (1994) *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ]; [Givan (2001) *Flow Cytometry*, 2nd ed.; Wiley-Liss, Hoboken, NJ]; [Shapiro (2003) *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ] 참조). 예를 들어, 진단 시약으로서 사용하기 위한, 핵산 프라이머 및 프로브를 포함한 핵산, 폴리펩티드 및 항체를 변형시키는 데 적합한 형광성 시약이 입수 가능하다 [Molecular Probes (2003) *Catalogue*, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich (2003) *Catalogue*, St. Louis, MO].

[0395] 면역 체계의 조직학의 표준 방법이 다음 문헌에 기재되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Muller-Harmelink (ed.) (1986) *Human Thymus: Histopathology and Pathology*, Springer Verlag, New York, NY]; [Hiatt, et al. (2000) *Color Atlas of Histology*, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA]; [Louis, et al. (2002) *Basic Histology: Text and Atlas*, McGraw-Hill, New York, NY] 참조).

[0396] 예를 들어, 항원성 단편, 리더 서열, 단백질 폴딩, 기능적 도메인, 글리코실화 부위, 및 서열 정렬을 결정하기 위한 소프트웨어 패키지 및 데이터베이스가 입수 가능하다 (예를 들어, 유전자은행, 벡터 NTI® 스위트 [인포맥스, 인크. (Informax, Inc.; 미국 메릴랜드주 베테스타)]; GCG 위스콘신 패키지 (Wisconsin Package) [아셀리스, 인크. (Accelrys, Inc.; 미국 캘리포니아주 샌디에이고)]; DeCypher® [타임로직 코퍼레이션 (TimeLogic Corp.; 미국 네바다주 크리스털 베이)]; 문헌 [Menne, et al. (2000) *Bioinformatics* 16: 741-742]; [Menne, et al. (2000) *Bioinformatics Applications Note* 16:741-742]; [Wren, et al. (2002) *Comput. Methods Programs Biomed.* 68:177-181]; [von Heijne (1983) *Eur. J. Biochem.* 133:17-21]; [von Heijne (1986) *Nucleic Acids Res.* 14:4683-4690] 참조).

[0397] 실시예 1

[0398] 래트 및 마우스 항-hTIGIT 항체의 생성

[0399] 인간 TIGIT에 대한 항체를 생성하기 위하여, RIBI 아주반트를 이용하여 his-태그부착된 인간 TIGIT 재조합 단백질 [시노 바이오로직칼스(Sino Biologicals) Cat#10917-H08H]을 격주의 스케줄로 발바닥에 주사함으로써 루이스 (Lewis) 래트를 면역시켰다. 또 다른 한편으로, RIBI 아주반트를 이용하여 인간 Fc-태그부착된 인간 TIGIT 재조합 단백질을 격주의 스케줄로 발바닥에 주사함으로써 Balb/C 마우스를 면역시켰다. 면역시킨 동물을 출혈시키고, 세포-기반 ELISA (다음에 기재됨)를 이용하여 인간 TIGIT 형질감염된 CHOK1 세포와의 결합을 알아보기 위하여 혈청 역가를 결정하였다. 가장 높은 역가를 나타내는 동물에게 재조합 단백질을 수반한 최종 부스트를 제

공하였고, 배출되는 오금 림프절을 4일 후에 분리하였다. 분리된 림프구를, 시토플러스 하이브리뮴 (Cytopulse Hybrimmune) 전기융합 시스템을 이용하여 골수종 융합 파트너 P3X63-AG8.653과 전기융합시킴으로써 하이브리도마를 생성시켰다. 융합된 세포를 DMEM/F12, 15% BCS, HAT, IL-6, OPI 보충물, 및 젠타마이신에서 96-웰 플레이트에 플레이팅하였다.

[0400] 하이브리도마 상등액을 대상으로 하여, 세포-기반 ELISA 포맷을 이용하여 인간 TIGIT 발현성 CHOK1 세포에 대한 결합성과 레서스 TIGIT 발현성 CHO 세포에 대한 교차 반응성에 관하여 검정하였다. 인간 TIGIT 및 레서스 TIGIT 발현성 CHO-K1 세포를 50 μ l의 DMEM/F12, 10% BCS 및 젠타마이신 (CHO-K1 배지)에서 96-웰 조직-배양 플레이트에 플레이팅하였다. 검정을 수행하기 2일 전에 세포를 2×10^4 개 세포/웰로 플레이팅하거나 또는 검정을 수행하기 1일 전에 4×10^4 개 세포/웰로 플레이팅하였다. 검정을 수행하기 전에 상기 웰로부터 배지를 꺼내고, 50 μ l의 하이브리도마 상등액을 부가하였다. 하이브리도마 상등액을 실온에서 30 내지 60분 동안 인큐베이션 하고, 바이오텍(Biotek) EL405x 셀렉트 CW 플레이트 세척기 상에서 세포 ELISA 세척 프로토콜을 이용하여 PBS/0.05% 트윈(Tween) 20으로 3회 세척하였다. 50 마이크로리터의 검출 항체 [HRP-접합된 염소 항-래트 IgG (서던 바이오텍(Southern Biotech) cat# 3030-05) 또는 HRP-접합된 염소 항-마우스 IgG (서던 바이오텍 cat# 1043-05)]를 CHO-K1 배지에 1:2,000 희석도로 부가하고, 실온에서 30 내지 60분 동안 인큐베이션하였다. 검정 플레이트를 상기와 같이 세척하고, TMB로 현상하며 TMB 정지 용액 (KPL cat# 50-85-06) 또는 0.1 N 인산으로 정지시켰다. 450 nm 내지 620 nm에서의 흡광도를 결정하였다. 양성 클론은 인간 TIGIT 및 레서스 TIGIT 형질감염된 CHO-K1 세포 둘 다에 대해 반응성이었고, 모 CHO-K1 세포와의 결합에 대해서는 음성이었다. 이들 검정에서, 특정 항체가 모 (형질감염되지 않은) CHO-K1 세포와의 결합을 나타내는 경우, 본 발명자들은 이러한 항체를 스크리닝에서 TIGIT에 대해 특이적이지 않은 것으로 간주하고 폐기하였다.

[0401] 양성 하이브리도마를 제한 희석에 의해 서브클로닝하거나 또는 하이브리도마를 반고체 배지에 플레이팅함으로써 서브클로닝하고 클론을 클론픽스(ClonePix®) [제네틱스(Genetix)] 상에 골라냈다. 모 하이브리도마 상에서 서브클로닝 2회전을 수행하였다. 최종 서브클론을 혈청 무함유 하이브리도마 생성 배지에서 소규모 배양으로 성장시키고 정제하여, 추가의 성장 확인을 위해 정제된 항체를 생성시켰다.

[0402] 이들 방법을 이용하여, 약 819개의 하이브리도마를 생성시켰다.

[0403] 실시예 2

[0404] 항-hTIGIT 항체의 성장 확인

[0405] 양성 클론으로부터의 상등액을 대상으로 하여, hTIGIT CHOK1 세포에 대한 재조합 인간 CD155-huFc 단백질 결합을 차단시킬 수 있는 그의 능력을 알아보기 위하여 세포-기반 ELISA 포맷으로 시험하였다. 인간 TIGIT-CHO-K1 세포를 상기 언급된 바와 같이 96-웰 플레이트에 플레이팅하였다. 배지를 상기 플레이트로부터 제거하고, 50 μ l의 하이브리도마 상등액을 4℃에서 30분 동안 인간 TIGIT CHO-K1 세포와 함께 인큐베이션하였다. 0.5 μ g/ml의 인간 CD155-huFc의 최종 농도를 위해 50 마이크로리터의 인간 CD155-huFc를 상기 플레이트에 부가하고, 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 검정 플레이트를 상기와 같이 PBS/0.05% 트윈-20으로 3회 세척하였다. HRP-접합체 F(ab)'₂ 염소 항-인간 IgG 2차 항체 [잭슨(Jackson) 109-036-098]를 CHO-K1 배지에서 1:2,000 희석도로 이용하여, hTIGIT-CHOK1 세포에 대한 인간 CD155-huFc의 결합을 검출하였다. 플레이트를 상기 언급된 바와 같이 TMB를 이용하여 현상하고 TMB 정지 용액을 이용하여 정지시키며, A450 내지 620 nm를 결정하였다.

[0406] 상기 언급된 방법에 따라서 생성된 래트 항체는 14A6으로서 지칭되고, 클론 LB155.14A6.G2.A8로부터 유래되었다. 이러한 래트 항체 (14A6)는 IgG2/카파 이소형의 것이고, 서열식별번호: 7의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 8의 경쇄 가변 영역을 포함한다. 정제된 14A6 항체는 상기 언급된 방법을 이용하여 인간 TIGIT 및 레서스 TIGIT-CHOK1 세포에 대한 세포-기반 ELISA 결합 (도 1)에 의해 결정 시에 인간 TIGIT 및 레서스 TIGIT와 결합한다. 이소형 대조군 항체는 어떠한 결합도 나타내지 않았다 (데이터는 제시되지 않음). 정제된 14A6 항체는 또한, 상기 언급된 방법을 이용하는 세포-기반 ELISA 차단 검정 (도 3)을 이용하여 hTIGIT와 hCD155 상호 작용을 차단할 수 있다.

[0407] 상기 언급된 방법에 따라서 생성된 마우스 항체는 28H5로서 지칭되고, 클론 TC167.28H5.H5로부터 유래되었다. 이러한 마우스 항체 (28H5)는 IgG1/카파 이소형의 것이고, 서열식별번호: 63의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 64의 경쇄 가변 영역을 포함한다. 정제된 28H5 항체는 또한, 상기 언급된 방법을 이용하여 인간 TIGIT 및 레서스 TIGIT-CHOK1 세포에 대한 세포-기반 ELISA 결합 (도 2)에 의해 결정 시에 인간 TIGIT 및 레서

스 TIGIT와 결합한다. 정제된 28H5 항체는 또한, 상기 언급된 방법을 이용하는 세포-기반 ELISA 차단 검정 (도 3)을 이용하여 hTIGIT와 hCD155 상호 작용을 차단한다.

[0408] 상기 언급된 방법에 따라서 생성된 또 다른 마우스 항체는 31C6으로서 지칭되고, 클론 MEB125.31C6.A1.205로부터 유래되었다. 이러한 마우스 항체 (31C6)는 IgG1/카파 이소형의 것이고, 서열식별번호: 94의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 95의 경쇄 가변 영역을 포함한다. 정제된 31C6 항체는 또한, 상기 언급된 방법을 이용하여 인간 TIGIT 및 레서스 TIGIT-CHOK1 세포에 대한 세포-기반 ELISA 결합 (도 4)에 의해 결정 시에 인간 TIGIT 및 레서스 TIGIT와 결합한다. 정제된 31C6 항체는 또한, 상기 언급된 방법을 이용하는 세포-기반 ELISA 차단 검정 (도 4)을 이용하여 hTIGIT와 hCD155 상호 작용을 차단한다.

[0409] **인간 TIGIT 제조항 단백질에 대한 모 (비-인간) 항-TIGIT 항체의 결합에 관한 친화도 측정:** 항-인간 TIGIT 항체 14A6 및 31C6 (실시예 1에 기재된 바와 같이 제조됨) 및 상업용 항체 MBSA43의 역학 결합 활성은 비아코어 T200 시스템 [비아코어, GE 헬스케어 (GE Healthcare; 미국 뉴저지주 피스카타웨이)]을 이용하여 표면 플라스몬 공명에 의해 측정하였다. 대략 5,000 RU의 항-마우스 IgG (GE 헬스케어 카탈로그 번호 BR-1008-38), 또는 대략 13,000 RU의 염소 항-랫 IgG Fc 감마, 단편 특이적 [잭슨 임뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch) 카탈로그 번호 112-006-071]을 아민 커플링 화학을 통하여 시리즈 S CM5 센서 칩, 카탈로그 번호 BR-1005-30 상으로 고정화시켰다. 마우스 항-인간 TIGIT 클론인 31C6 및 MBSA43을 각각 40 RU의 포획 수준에 대해 1 ug/mL로 상기 고정화된 항-마우스 표면 상으로 주사하였다. 랫트 항-인간 TIGIT 클론 14A6을 40 RU의 포획 수준에 대해 1 ug/mL로 상기 고정화된 항-랫 표면 상으로 주사하였다. HBS-EP+ 완충제 (BR-1006-69)를 30 μ L/min의 유속으로 수행 완충제로서 사용하였다. 0.29 nM 내지 40 nM의 범위로 다양한 농도의 인간 TIGIT-His 단백질 또는 TIGIT-Fc 단백질을 45 μ L/min의 유속으로 상기 항체 표면 상으로 주사하였다. 클론 31C6 및 MBSA43에 대한 각 마우스 항-인간 TIGIT 주사 주기 후, 10 mM 글리신 pH 1.7을 10 μ L/min의 유속으로 3분 주사하는 것을 1회 이용하여, 시리즈 S CM5 칩 표면을 재생시켰다. 각 랫트 항-인간 TIGIT 주사 주기 후, 10 mM 글리신 pH 1.5를 20 초 주사하는 것을 1회 이용한 다음, 12.5 mM NaOH를 60 μ L/min의 유속으로 10초 주사하는 것을 2회 이용하여, 시리즈 S CM5 칩 표면을 재생시켰다.

[0410] 배경 공제 결합 센서그램은 결합 (k_a) 및 해리 (k_d)의 속도 상수 및 평형 해리 상수 K_D 를 분석하기 위해 사용되었다. 이로써 생성되는 데이터 세트는 비아코어 T200 평가 소프트웨어 (버전 2.0)를 이용하여 1:1 랑뮈르 (Langmuir) 결합 모델에 피팅하였다. 표 3은 인간 TIGIT-His 단백질 및 TIGIT-Fc 단백질에 대한 항-인간 TIGIT 항체에 관한 친화도를 요약한 것이다.

[0411] <표 3>

[0412] **비아코어를 이용한 인간 TIGIT-His 단백질 및 TIGIT-Fc 단백질에 대한 항-인간 TIGIT 항체에 관한 친화도의 측정.**

클론	비아코어 KD (인간 TIGIT-his) (pM)	비아코어 KD (인간 TIGIT-Fc) (pM)
14A6 (rIgG2a/K)	3.09	3.12
31C6 (mIgG1/K)	34.4	10.9
비교자 MBSA43 (mIgG1)	36.3	16.5

[0413]

[0414] **실시예 3**

[0415] **길항작용 항-hTIGIT 항체에 대한 시험관내 T-세포 활성 검정**

[0416] 시험된 항체 중에서, hTIGIT를 발현하는 CHO 세포에 대한 CD155-Fc의 결합을 차단하는 것으로 밝혀진 대략 352 개의 모노클로날 항체를 대상으로 하여, 세포-기반 기능적 검정을 이용하여 시험관 내에서 T 세포 활성을 증강시킬 수 있는 그들의 능력에 관하여 스크리닝하였다.

[0417] 인간 TIGIT 수용체의 차단에 따른 기능적 결과를 명확히 규명하기 위해 본 발명자들이 개발한 한 가지 검정은, TIGIT 리간드인 CD155 및 CD112 중 하나의 존재 또는 부재하에 인간 단구 세포주인 THP-1 세포와 공동-배양시킨, 인간 TIGIT를 과발현하도록 조작된 인간 T 림프구 세포의 불멸화 계통 (클론, E6-1; ATCC TIB-152)인 저켓(Jurkat) 세포 (hTIGIT-저켓)를 활용하였다. THP-1 세포와 공동-배양되었고 플레이트-결합된 항-

CD3 mAb로 자극된 hTIGIT-저켓 세포는 IL-2를 생산하지만, TIGIT 리간드 (CD155 또는 CD112)를 상기 공동-배양 물에 부가한 경우에는, IL-2 수준이 리간드-의존적 방식으로 감소되었다. CD155- 또는 CD112-TIGIT 상호 작용을 차단시킨 항체, 예컨대 시판용 항-hTIGIT Ab, 클론 MBSA43 [이바이오사이언스(eBioscience) Cat# 12-9500-42]으로 처리하면, 상기 검정에서 IL-2 생성이 용량 의존적 방식으로 구제된다 (도 5).

[0418] 96-웰 평저 플레이트를 4℃에서 밤새 마우스 항-인간 CD3 항체 [PBS 중 1 ug/ml; 클론 HIT3a; BD 파르민겐 (Pharmingen) Cat# 555336]로 코팅하였다. 그 다음날, hTIGIT-저켓 세포 (50,000개)를 미리 코팅된 플레이트에 플레이팅하고, 다양한 농도에서 mAb와 함께 30 내지 60분 동안 미리 인큐베이션하였다. THP-1 세포 (50,000개)를 상기 배양물에 가한 다음, CD155-Fc (인간 Fc와 융합된 인간 CD155의 ECD; 1.0 ug/ml) 또는 CD112-Fc (인간 Fc와 융합된 인간 CD112의 ECD; 0.5 ug/ml)를 가하였다. 37℃ 및 5.0% CO₂에서 18 내지 24시간 동안 인큐베이션한 후, 메소 스케일(Meso Scale) (인간 IL-2 조직 배양 MESO 키트: Cat#K151AHB-2)에 의해 배양 상등액에서 IL-2 수준을 평가하였다. MBSA43 (10 ug/ml)으로 처리하면, 활성화된 hTIGIT 저켓 세포를 CD155 또는 CD112의 부재하에 THP-1과 함께 배양한 경우와 동등한 수준으로 IL-2가 구제된다.

[0419] 도 5에 도시된 바와 같이, 상기 검정을 이용하여 항-hTIGIT 클론 14A6을 30 ug/ml에서 0.04 ug/ml로 하향 조정하면, 0.24 ug/ml의 MBSA43과 비교해서 0.190 ug/ml의 EC50이 제공되었다. 클론 14A6 (30 ug/ml)은 IL-2를 MBSA43 (10 ug/ml)의 82%로 구제하였다.

[0420] 도 5에 도시된 바와 같이, 상기 검정을 이용하여 항-hTIGIT 클론 28H5를 30 ug/ml에서 0.04 ug/ml로 하향 조정하면, 0.24 ug/ml의 MBSA43과 비교해서 0.24 ug/ml의 EC50이 제공되었다.

[0421] 도 6에 도시된 바와 같이, 상기 검정을 이용하여 항-hTIGIT 클론 31C6을 30 ug/ml에서 0.04 ug/ml로 하향 조정하면, 0.24 ug/ml의 MBSA43과 비교해서 0.14 ug/ml의 EC50이 제공되었다. 클론 31C6 (30 ug/ml)은 IL-2를 MBSA43 (10 ug/ml)의 118%로 구제하였다.

[0422] 시험된 352개의 모노클로날 항체 중에서, 대략 113개가 세포-기반 기능적 검정을 이용하여 시험관 내에서 T 세포 활성을 증강시킬 수 있었다.

[0423] 실시예 4

[0424] 길항작용 항-hTIGIT 항체에 대한 시험관내 T-세포 활성 검정

[0425] 본 발명자들은 추가로, T 세포 수용체 (TCR) 활성화시 내인성 TIGIT를 발현하는 1차 인간 T 세포주를 이용하여 TIGIT의 상대 기능적 길항작용 및 T 세포 활성화와 이펙터 기능의 구제를 분석하였다. BC4-클론 49 인간 T 세포주는 EBV 형질전환된 세포주, JY (HLA-DR1,4) 상에 발현된 HLA-부류 II MHC 분자에 대해 특이적인 TCR을 발현하는 동종-항원 특이적 인간 CD4⁺ T 세포 클론이다. BC4-클론 49 인간 T 세포주는 조사된 (5,000 Rad) JY 자극 인자 세포, 2개의 연막으로부터 단리된 조사된 PBMC (4,000 Rad) 및 PHA-P (2.5 ug/ml; 시그마)를 이용하여, 2주 마다 동종 항원으로 재자극할 필요가 있을 뿐만 아니라 재자극 및 확장 후 3 내지 4일마다 10 ng/ml 인간 IL-2 (R&D)로 보충시켜야 한다. 수많은 T 세포 클론 (BC1-6, BC4-27, BC4-49)을 PCR에 의해 분석한 다음, 재자극 후 TIGIT의 상대적 발현을 알아보기 위하여 유동 세포계수법에 의해 분석하였고, BC4-클론 49가 다른 클론과 비교해서 가장 높은 TIGIT의 발현을 나타냈기 때문에 상기 클론을 선택하였다. 조사된 (5,000 Rad) JY 자극 인자 세포, 조사된 PBMC 및 PHA-P로 재자극한 후에, TIGIT, CD226, CD96 및 CD155의 상대적 발현 및 역학을 모니터링하여, 상대적 TIGIT-길항제 활성을 알아보기 위하여 길항제 mAb를 검정하는 데 가장 좋은 시간을 평가하였다. 재자극 후 3 내지 4일에 TIGIT의 피크 발현이 관찰되었지만, CD226 및 CD96의 발현은 동일한 시간에 걸쳐 저하되었다. 이때, TIGIT의 발현은 저하되었지만, CD226 및 CD96의 발현은 재자극 후 제6일에 다시 증가하였다 (도 7). 따라서, 후보 TIGIT 길항제 mAb를 재자극 후 3 내지 4일에 평가하였다. 1차 T 세포 생물 검정에서 BC4-클론 49 T 세포 반응을 저해시키고, TIGIT의 CD155 활성화를 길항시킬 수 있으며 3일 후에 T 세포 증식 및 IFN γ 를 구제할 수 있는 항-TIGIT mAb의 상대적 능력을 평가하기 위한 수단으로서 pMX⁺-huTIGIT 레트로바이러스 벡터를 이용하여, 인간 CD155를 과발현하는 형질감염체 JY를 생성하였다.

[0426] 상대적 항-hTIGIT 길항제 mAb에 관한 1차 T 세포 검정은 다음과 같이 설정되었다. 인간 CD4⁺ T 세포주 BC4-클론 49를 각종 농도 (33, 11, 3.7, 1.2, 0.4 및 0.1 ug/ml)에서 30분 동안 hTIGIT에 대해 특이적인 CD155-Fc 차단성 mAb와 공동-배양한 다음, 환저 96-웰 플레이트에 플레이팅하였다 (2x10⁴ 개 세포/웰). 상기 동종-항원 및 고 수준의 hCD155를 발현하는 JY-hCD155 형질감염체에 방사선을 조사하고 (5,000 Rad), 이를 세척한 다음, 200 ul/웰의 총 용적에서 1x10⁴ 개 (2:1 T 세포:표적 세포 비) 또는 5x10³ 개 (1:4 T 세포:표적 세포 비)의 최종

농도를 위하여 항-TIGIT mAb 처리된 BC4-클론 49 T 세포를 함유하는 웰에 부가하였다. 대조군은 mAb 처리 없음, 이소형 mAb 처리된 T 세포와의 공동-배양물, T 세포 단독 및 JY-CD155 세포 단독을 포함하였다. 공동 배양한지 3일 또는 4일 후에, 인터페론-감마 (IFN γ) 시토카인 정량화를 위해 상등액을 수거하고, T 세포를 삼중 수소화-티미딘으로 6시간 펄스하여 상대적 증식을 평가하였다.

[0427] 도 8a 및 8b에 도시된 바와 같이, BC4-클론 49 T 세포를 항-hTIGIT mAb 14A6, 28H5 및 31C6으로 처리하면, 이소형 및 비처리된 T 세포와 비교해서 증가된 반응으로써 평가된 바와 같이 IFN γ 및 증식성 반응이 구제되었다. 상업용 항체 MBSA43 및 항체 37D10 및 25G10 (실시예 1에 기재된 바와 같이 생성된 항-TIGIT 항체)이 또한, 본 검정에서 활성을 나타낸다. 14A6, 28H5 및 31C6으로 처리한 후 IFN γ 생성에 있어서의 증가는 평균 약 2배였다.

[0428] 실시예 5

[0429] 동물 종양 모델에서 항-TIGIT 및 항-PD1 항체의 항-종양 활성

[0430] **마우스:** 평균 체중이 20 그램인 대략 7주 내지 8주생 암컷 BALB/cAnN 마우스를 타코닉 라보라토리 (Taconic Laboratory; 미국 뉴욕주 저먼타운)로부터 수득하였다. 통상적인 동물 사료와 물을 무제한으로 공급하였다.

[0431] **항체 시약:** 뮤린 PD-1에 대항한 뮤린 이소형 IgG1의 모노클로날 항체 및 이소형 대조군을 내부 공급원으로부터 동결된 (-80°C) 스톡으로서 수득하였다. 래트 항-마우스 TIGIT (GIGD7) 항체를 이바리오사이언스로부터 4°C 스톡으로서 수득하였다. IgG1 이소형 대조군은 아데노바이러스 헥손(hexon) 25에 대해 특이적인 마우스 모노클로날 항체였다. IgG2a 이소형 대조군은 베타-갈락토시다제에 대해 특이적인 래트 모노클로날 항체였다. 뮤린 이소형 IgG1은 인간 이소형 IgG4에 대한 뮤린 대응물 이소형이다.

[0432] **항체 시약의 제형:** 제형 완충제는 단백질을 안정화시키고 침전을 방지하기 위해 각 항체에 대해 특이적이었다. 그 제형은 다음과 같다: mIgG1: 75 mM NaCl, 10 mM 인산나트륨, 3% 수크로스, pH 7.3; 항-PD-1: 20 mM 소듐 아세테이트, 7% 수크로스, pH 5.5; 래트 IgG2a: 20 mM 소듐 아세테이트, 9% 수크로스 pH 5.5; 및 항-TIGIT (GIGD7): PBS pH 7.0.

[0433] **종양 세포주 제조 및 체내 이식제:** CT26 결장 암종 세포를, 10% 열 불활성화 태아 소 혈청을 보충시킨 RPMI 배지에서 배양하였다. 3×10^5 개의 log-기 및 전면생장-미만의 CT26 세포를 100 μ L 용적의 혈청 무함유 RPMI 중에서 각 마우스의 오른쪽 하부 등쪽 옆구리에 피하 (SC) 주사하였다. 마우스는 먼저, 체내 이식제가 사용될 부위를 전자 클리퍼로 면도하였다.

[0434] CT-26은 BALB/c 마우스 계통에 대해 동계인 뮤린 결장직장 선암종 세포주이다. CT-26은 항-PD-1 항체에 대한 작용 기전을 평가하기 위한 관련 모델 시스템인데, 이는 항-PD-1 요법 후에 상기 종양의 번역 가능한 분자 프로파일 때문이다.

[0435] **종양 측정 및 체중:** 첫 번째 용량을 투여하기 전날 종양을 측정하고, 그 후에는 1주에 2회 측정하였다. 전자 캘리퍼를 이용하여 종양 길이와 폭을 측정하였고, 다음 식: 용적 (mm^3) = $0.5 \times \text{길이} \times \text{폭}^2$ (여기서, 길이는 더 긴 치수이다)을 이용하여 종양 용적을 결정하였다. 마우스의 체중을 주기적으로 재어 일반적인 건강 상태를 모니터링할 뿐만 아니라 필요한 경우 마우스 당 실제적인 mg/kg 용량 전달을 평가하였다. 처리하기 전에, 마우스의 체중을 재고, 개별 마우스로부터의 종양을 측정하였다. 편견을 방지하기 위해, 체중별 또는 종양 용적별 임의의 특이치를 제거하고 나머지 마우스를 동등한 평균 종양 크기를 갖는 각종 처리군으로 무작위 배정하였다. 체내 이식한지 대략 7일 후에, CT26 종양을 보유하고 있는 마우스에서의 평균 종양 용적이 약 100 mm^3 에 도달하면, 동물을 군당 10마리 마우스의 처리군으로 무작위 배정하고, 용량 투여를 시작하였다. 동물에게 다음에 명시된 용량 농도를 투여하였다.

[0436] **투여 용액 제조, 투여 및 분석:** 동물 모델에서 시험하고자 하는 항체의 동결된 스톡을 해동시키고, 이를 젖은 얼음으로 옮겼다. 반복되는 동결 해동을 피하기 위해, 스톡의 각 바이알을 1회 해동시키고, 1회 사용에 충분한 용적의 분취액을 만들었다. 이러한 목적을 위해, 폴리프로필렌, 저 부착 튜브를 사용하였다. 상기 분취액을 드라이 아이스로 급속 냉동시키고 -80°C에서 저장하였다. 각 투여 전에, 하나의 분취액을 해동시키고, 적절한 희석제에서 명목 농도로 희석시킨 다음, 즉시 투여하였다. 투여 용액의 분취액을 드라이 아이스로 급속 냉동시키고, 분석할 때까지 -80°C에서 저장하였다. 전기화학발광 검출과 패턴화된 어레이의 조합 기술인 멀티-어레이 기술에 근거한 메소 스케일 디스커버리 (MSD®; 미국 메릴랜드주 록빌) 플랫폼을 이용하여 투여 용액을 평가하

였다.

[0437] **투여 항-TIGIT/항-PD1 처리 결과:** CT26 종양을 보유하고 있는 BALB/cAnN 마우스에게 래트 항-마우스 TIGIT (GIGD7)를 20 mg/kg 용량으로, 5주기 각각에 대하여 4일마다 복강내 (IP) 투여하였다. 항-마우스 PD-1 (상기 언급됨)은 10 mg/kg 용량으로, 5주기 각각에 대하여 4일마다 복강내 투여하였다. 투여 후, 동물을 지속적으로 모니터링하였고, 종양 용적을 36일까지 측정하였다. 일단 종양 크기가 평균적으로 100 mm^3 (75 mm^3 내지 115 mm^3)에 도달하면, 처리를 시작하였다. 종양을 매주 2회 측정하였다. 도 9에 도시되는 결과로써 입증된 바와 같이, PD-1 길항제와 TIGIT 길항제를 이용한 조합 요법의 평균 항-종양 반응은 항-PD1 단일 작용제 ($p < 0.05$) 또는 항-TIGIT 단일 작용제 ($p < 0.005$) 처리를 이용한 경우에 관찰된 항-종양 반응보다 더 컸다. 단일 작용제 항-TIGIT 처리의 경우에는, 21% 종양 성장 억제 (TGI)가 제14일에 관찰되었다. 단일 작용제 항-PD1 처리의 경우에는, 52% TGI가 제14일에 관찰되었다. 조합 처리하면, 제14일에 85% TGI가 초래되었고 40% 완전 퇴행 (CR)이 입증되었으므로, 제36일까지는 10마리 마우스 중 4마리에게서 측정 가능한 종양이 전혀 남아있지 않았다. 단독 요법으로서 전달된 어느 하나의 항체를 이용한 경우의 항-종양 효능은 0 내지 10% CR이었다.

[0438] **실시예 6**

[0439] **항체의 인간화**

[0440] 본 명세서에 기재된 방법을 이용하여, 래트 14A6 및 마우스 31C6 항체를 인간화시켰다. 래트 항체 14A6으로부터, 다음 인간화 가변 중쇄: 서열식별번호: 9-24 및 서열식별번호: 37-47을 구축하고, 다음 인간화 가변 경쇄: 서열식별번호: 25-30 및 서열식별번호: 48-52를 구축하였다. 마우스 항체 31C6으로부터, 다음 인간화 가변 중쇄: 서열식별번호: 124-129를 구축하였고; 다음 인간화 가변 경쇄: 서열식별번호: 130-133을 구축하였다.

[0441] **실시예 7**

[0442] **동물 종양 모델에서 항-TIGIT 항체의 항-종양 활성화에 대한 Fc 이소형의 효과**

[0443] **마우스:** 평균 체중이 20 그램인 대략 7주 내지 8주생 암컷 BALB/cAnN 마우스를 타코닉 라보라토리 (미국 뉴욕주 저먼타운)로부터 수득하였다. 통상적인 동물 사료와 물을 무제한으로 공급하였다.

[0444] **항체 시약:**

[0445] ● 무린 항-마우스 PD1 항체 - IgG1 하위유형

[0446] ● 래트 항-마우스 TIGIT 항체 (18G10) - 래트 IgG1 하위유형. 이러한 항체는 본 도면에 18G10 모로서 기재된다. 18G10 항체는 서열식별번호: 136의 VH 서열 및 서열식별번호: 137의 VL 서열을 갖는다.

[0447] ● 키메라 래트 항-마우스 TIGIT 항체 (18G10)는 mIgG1 하위유형의 마우스 Fc 영역을 포함한다. 이러한 항체는 본 도면에 18G10-G2a로서 기재된다. (무린 이소형 IgG1은 인간 이소형 IgG4에 대한 무린 대응물 이소형이다).

[0448] ● 키메라 래트 항-마우스 18G10 TIGIT 항체는 mIgG2a 하위유형의 마우스 Fc 영역을 포함한다. 이러한 항체는 본 도면에 18G10-G2a로서 기재된다. (무린 이소형 IgG2a는 인간 이소형 IgG1에 대한 무린 대응물 이소형이다).

[0449] ● 이소형 대조군 무린 IgG1 항체 (아데노바이러스 핵손 25에 대해 특이적인 마우스 IgG1 이소형-매치된 대조군 모노클로날 항체).

[0450] ● 이소형 대조군 래트 IgG1 항체 (인간 IL-4에 대해 특이적인 래트 IgG1 이소형-매치된 대조군 모노클로날 항체).

[0451] ● 이소형 대조군 무린 IgG2a 항체 (아데노바이러스 핵손 25에 대해 특이적인 마우스 IgG2a 이소형-매치된 대조군 모노클로날 항체).

[0452] **항체 시약의 제형:** 제형은 다음과 같다:

[0453] ● mIgG1: 75 mM NaCl, 10 mM 인산나트륨, 3% 수크로스, pH 7.4;

[0454] ● 항-PD-1: 20 mM 소듐 아세테이트, 9% 수크로스, pH 5.5; mIgG2a: 75 mM NaCl, 10 mM 인산나트륨, 3% 수크로스, pH 7.3;

[0455] ● 래트 IgG1: 20 mM 소듐 아세테이트, 7% 수크로스 pH 5.5; 18G10: 20 mM NaAc, 100 mM NaCl, 3% 수크로스; 18G10-G1: 20 mM NaAc, 9% 수크로스, pH 5.5; 18G10-G2a: 20 mM NaAc, 9% 수크로스, pH 5.5.

- [0456] **종양 세포주 제조 및 체내 이식제:** CT26 결장 암종 세포를, 10% 열 불활성화 태아 소 혈청을 보충시킨 RPMI 배지에서 배양하였다. 3×10^5 개의 log-기 및 전면생장-미만의 CT26 세포를 100 μ L 용적의 혈청 무함유 RPMI 중에서 각 마우스의 오른쪽 하부 등쪽 옆구리에 피하 (SC) 주사하였다. 마우스는 먼저, 체내 이식제가 사용될 부위를 전자 클리퍼로 면도하였다.
- [0457] CT-26은 BALB/c 마우스 계통에 대해 동계인 무린 결장직장 선암종 세포주이다. CT-26은 항-PD-1 항체에 대한 작용 기전을 평가하기 위한 관련 모델 시스템인데, 이는 항-PD-1 요법 후에 상기 종양의 번역 가능한 분자 프로파일 때문이다.
- [0458] **종양 측정 및 체중:** 첫 번째 용량을 투여하기 전날 종양을 측정하고, 그 후에는 1주에 2회 측정하였다. 전자 캘리퍼를 이용하여 종양 길이와 폭을 측정하였고, 다음 식: 용적 (mm^3) = $0.5 \times \text{길이} \times \text{폭}^2$ (여기서, 길이는 더 긴 치수이다)을 이용하여 종양 용적을 결정하였다. 마우스의 체중을 주기적으로 재어 일반적인 건강 상태를 모니터링할 뿐만 아니라 필요한 경우 마우스 당 실제적인 mg/kg 용량 전달을 평가하였다. 처리하기 전에, 마우스의 체중을 재고, 개별 마우스로부터의 종양을 측정하였다. 편견을 방지하기 위해, 체중별 또는 종양 용적별 임의의 특이치를 제거하고 나머지 마우스를 동등한 평균 종양 크기를 갖는 각종 처리군으로 무작위 배정하였다.
- [0459] **투여 용액 제조, 투여 및 분석:** 동물 모델에서 시험하고자 하는 항체의 동결된 스톱을 해동시키고, 이를 젖은 얼음으로 옮겼다. 반복되는 동결 해동을 피하기 위해, 스톱의 각 바이알을 1회 해동시키고, 1회 사용에 충분한 용적의 분취액을 만들었다. 이러한 목적을 위해, 폴리프로필렌, 저 부착 튜브를 사용하였다. 상기 분취액을 드라이 아이스로 급속 냉동시키고 -80°C에서 저장하였다. 각 투여 전에, 하나의 분취액을 해동시키고, 적절한 희석제에서 명목 농도로 희석시킨 다음, 즉시 투여하였다. 투여 용액의 분취액을 드라이 아이스로 급속 냉동시키고, 분석할 때까지 -80°C에서 저장하였다. 전기화학발광 검출과 패턴화된 어레이의 조합 기술인 멀티-어레이 기술에 근거한 메소 스케일 디스커버리 (MSD®; 미국 메릴랜드주 록빌) 플랫폼을 이용하여 투여 용액을 평가하였다.
- [0460] **투여 항-TIGIT/항-PD1 처리 결과:** CT26 종양을 보유하고 있는 BALB/cAnN 마우스를, 이들 마우스의 평균 종양 용적이 평균 100 mm^3 (80 mm^3 내지 119 mm^3)의 종양 크기에 도달하면 10개의 처리군으로 무작위 배정하였다: (1) muIgG1 이소형 대조군 + 래트 IgG1 이소형 대조군; (2) muIgG1 이소형 대조군 + muIgG2a 이소형 대조군; (3) muDX400 + 래트 IgG1 이소형 대조군; (4) muDX400 + muIgG2a 이소형 대조군; (5) muIgG1 이소형 대조군 + 18G10; (6) muIgG1 이소형 대조군 + 18G10-G1; (7) muIgG1 이소형 대조군 + 18G10-G2a; (8) muDX400 + 18G10; (9) muDX400 + 18G10-G1; (10) muDX400 + 18G10-G2a. 동물에게 래트 항-마우스 TIGIT (18G10) 또는 키메라 항-TIGIT 항체 18G10-G1 또는 18G10-G2a (상기 언급됨)를 18 mg/kg 용량으로, 6주기 각각에 대하여 4일마다 복강내 투여하였다. 항-마우스 PD-1 (상기 언급됨)은 10 mg/kg 용량으로, 6주기 각각에 대하여 4일마다 복강내 투여하였다. 투여 후, 동물을 지속적으로 모니터링하였고, 종양 용적을 일부 처리군에 대해서는 76일까지 측정하였다. 종양을 매주 2회 측정하였다. 그 결과가 도 10 및 11에 도시되어 있다. 18G10-G2a를 이용한 단일 작용제 항-TIGIT 처리는 제13일에 44% 종양 성장 억제 (TGI)를 나타냈지만; 18G10 모 항체는 38%를 나타냈고, 18G10-G1 항체는 36%를 나타냈다. 이소형 대조군 rIgG1과 조합된 단일 작용제 항-PD1 처리의 경우에는, 51% TGI가 제13일에 관찰되었다. 항-PD-1을 이소형 대조군 muIgG2a와 조합한 경우에는, 50% TGI 및 10% 완전 퇴행 (CR)이 제18일에 관찰되었으므로, 10마리 동물 중 1마리에게서 완전 반응이 관찰되었다. 항-PD1과 모 18G10을 조합하면, 제13일에 80% TGI가 나타났고, 제39일까지 300% CR을 명확하게 보여주었다. 항-PD1과 18G10-G1을 조합하면, 제13일에 59% TGI가 나타났고, 제13일까지 10% CR을 명확하게 보여주었다. 항-PD1과 18G10-G2a를 조합하면, 제13일에 88% TGI가 나타났고, 제63일까지 60% CR을 명확하게 보여주었다. 항-PD1과 18G10-G2a를 조합하면, 항-PD1과 18G10 모 또는 18G10-G1을 조합한 경우와 비교해서 더 큰 항-종양 활성과 더 완전한 퇴행이 나타났다. 단일 작용제 또는 조합 요법의 투여와 연관된 유의적 체중 감소는 없었는데, 이는 이들 처리가 내약성이 양호하였다는 것을 표시한다.
- [0461] **실시예 8**
- [0462] **동물 종양 모델에서 항-TIGIT 항체의 항-종양 활성에 대한 Fc 이소형의 효과**
- [0463] 래트 18G10 항체를 래트 항체 11A11로 대체한 것을 제외하고는, 실시예 7에 기재된 실험을 반복하였다.
- [0464] **마우스:** 평균 체중이 20 그램인 대략 7주 내지 8주생 암컷 BALB/cAnN 마우스를 타코닉 라보라토리 (미국 뉴욕주 저먼타운)로부터 수득하였다. 통상적인 동물 사료와 물을 무제한으로 공급하였다.

- [0465] **항체 시약:**
- [0466] ● 무린 항-마우스 PD1 항체 - IgG1 하위유형
- [0467] ● 래트 항-마우스 TIGIT 항체 (11A11) - 래트 IgG1 하위유형. 이러한 항체는 본 도면에 11A11 모로서 기재된다. 11A11 항체는 서열식별번호: 138의 VH 서열 및 서열식별번호: 139의 VL 서열을 갖는다.
- [0468] ● 키메라 래트 항-마우스 TIGIT 항체 (11A11)는 mIgG1 하위유형의 마우스 Fc 영역을 포함한다. 이러한 항체는 본 도면에 11A11-G2a로서 기재된다. (무린 이소형 IgG1은 인간 이소형 IgG4에 대한 무린 대응물 이소형이다).
- [0469] ● 키메라 래트 항-마우스 11A11 TIGIT 항체는 mIgG2a 하위유형의 마우스 Fc 영역을 포함한다. 이러한 항체는 본 도면에 11A11-G2a로서 기재된다. (무린 이소형 IgG2a는 인간 이소형 IgG1에 대한 무린 대응물 이소형이다).
- [0470] ● 이소형 대조군 무린 IgG1 항체 (아데노바이러스 핵소 25에 대해 특이적인 마우스 IgG1 이소형-매치된 대조군 모노클로날 항체).
- [0471] ● 이소형 대조군 래트 IgG1 항체 (인간 IL-4에 대해 특이적인 래트 IgG1 이소형-매치된 대조군 모노클로날 항체).
- [0472] ● 이소형 대조군 무린 IgG2a 항체 (아데노바이러스 핵소 25에 대해 특이적인 마우스 IgG2a 이소형-매치된 대조군 모노클로날 항체).
- [0473] **항체 시약의 제형:** 제형은 다음과 같다:
- [0474] ● mIgG1: 75 mM NaCl, 10 mM 인산나트륨, 3% 수크로스, pH 7.4;
- [0475] ● 항-PD-1: 20 mM 소듐 아세테이트, 9% 수크로스, pH 5.5; mIgG2a: 75 mM NaCl, 10 mM 인산나트륨, 3% 수크로스, pH 7.3;
- [0476] ● 래트 IgG1: 20 mM 소듐 아세테이트, 7% 수크로스 pH 5.5; 11A11: 20 mM NaAc, 100 mM NaCl, 3% 수크로스, pH 5.5; 11A11-G1: 20 mM NaAc, 9% 수크로스, pH 5.5; 11A11-G2a: 20 mM NaAc, 9% 수크로스, pH 5.5.
- [0477] **종양 세포주 제조 및 체내 이식제:** CT26 결장 암종 세포를, 10% 열 불활성화 태아 소 혈청을 보충시킨 RPMI 배지에서 배양하였다. 3×10^5 개의 log-기 및 전면생장-미만의 CT26 세포를 100 μ L 용적의 혈청 무함유 RPMI 중에서 각 마우스의 오른쪽 하부 등쪽 옆구리에 피하 (SC) 주사하였다. 마우스는 먼저, 체내 이식제가 사용될 부위를 전자 클리퍼로 면도하였다.
- [0478] CT-26은 BALB/c 마우스 계통에 대해 동계인 무린 결장직장 선암종 세포주이다. CT-26은 항-PD-1 항체에 대한 작용 기전을 평가하기 위한 관련 모델 시스템인데, 이는 항-PD-1 요법 후에 상기 종양의 번역 가능한 분자 프로파일 때문이다.
- [0479] **종양 측정 및 체중:** 첫 번째 용량을 투여하기 전날 종양을 측정하고, 그 후에는 1주에 2회 측정하였다. 전자 캘리퍼를 이용하여 종양 길이와 폭을 측정하였고, 다음 식: 용적 (mm^3) = $0.5 \times \text{길이} \times \text{폭}^2$ (여기서, 길이는 더 긴 치수이다)을 이용하여 종양 용적을 결정하였다. 마우스의 체중을 주기적으로 재어 일반적인 건강 상태를 모니터링할 뿐만 아니라 필요한 경우 마우스 당 실제적인 mg/kg 용량 전달을 평가하였다. 처리하기 전에, 마우스의 체중을 재고, 개별 마우스로부터의 종양을 측정하였다. 편견을 방지하기 위해, 체중별 또는 종양 용적별 임의의 특이치를 제거하고 나머지 마우스를 동등한 평균 종양 크기를 갖는 각종 처리군으로 무작위 배정하였다. 체내 이식한지 대략 7일 후에, CT26 종양을 보유하고 있는 마우스에서의 평균 종양 용적이 약 100 mm^3 에 도달하면, 동물을 군당 10마리 마우스의 처리군으로 무작위 배정하고, 용량 투여를 시작하였다. 동물에게 다음에 명시된 용량 농도를 투여하였다.
- [0480] **투여 용액 제조, 투여 및 분석:** 동물 모델에서 시험하고자 하는 항체의 동결된 스톱을 해동시키고, 이를 젖은 얼음으로 옮겼다. 반복되는 동결 해동을 피하기 위해, 스톱의 각 바이알을 1회 해동시키고, 1회 사용에 충분한 용적의 분취액을 만들었다. 이러한 목적을 위해, 폴리프로필렌, 저 부착 튜브를 사용하였다. 상기 분취액을 드라이 아이스로 급속 냉동시키고 -80°C 에서 저장하였다. 각 투여 전에, 하나의 분취액을 해동시키고, 적절한 희석제에서 명목 농도로 희석시킨 다음, 즉시 투여하였다. 투여 용액의 분취액을 드라이 아이스로 급속 냉동시키고, 분석할 때까지 -80°C 에서 저장하였다. 전기화학발광 검출과 패턴화된 어레이의 조합 기술인 멀티-어레이 기술에 근거한 메소 스케일 디스커버리 (MSD®; 미국 메릴랜드주 록빌) 플랫폼을 이용하여 투여 용액을 평가하

였다.

[0481] **투여 항-TIGIT/항-PD1 처리 결과:** CT26 종양을 보유하고 있는 BALB/cAnN 마우스를, 이들 마우스의 평균 종양 용적이 평균 100 mm³ (75 mm³ 내지 115 mm³)의 종양 크기에 도달하면 10개의 처리군으로 무작위 배정하였다: (1) muIgG1 이소형 대조군 + 래트 IgG1 이소형 대조군; (2) muIgG1 이소형 대조군 + muIgG2a 이소형 대조군; (3) muDX400 + 래트 IgG1 이소형 대조군; (4) muDX400 + muIgG2a 이소형 대조군; (5) muIgG1 이소형 대조군 + 11A11; (6) muIgG1 이소형 대조군 + 11A11-G1; (7) muIgG1 이소형 대조군 + 11A11-G2a; (8) muDX400 + 11A11; (9) muDX400 + 11A11-G1; (10) muDX400 + 11A11-G2a. 동물에게 래트 항-마우스 TIGIT (11A11) 또는 키메라 항-TIGIT 항체 11A11-G1 또는 11A11-G2a (상기 언급됨)를 20 mg/kg 용량으로, 6주기 각각에 대하여 4일마다 복강내 투여하였다. 항-마우스 PD-1 (상기 언급됨)은 10 mg/kg 용량으로, 6주기 각각에 대하여 4일마다 복강내 투여하였다. 투여 후, 동물을 지속적으로 모니터링하였고, 종양 용적을 일부 처리군에 대해서는 54일까지 측정하였다. 종양을 매주 2회 측정하였다. 그 결과가 도 12 및 13에 도시되어 있다. 11A11-G2a를 이용한 단일 작용제 항-TIGIT 처리는 제14일에 52% 종양 성장 억제 (TGI)를 나타냈지만; 11A11 모 항체 또는 11A11-G1 항체를 이용한 경우에는 활성이 거의 또는 전혀 관찰되지 않았다. 단일 작용제 항-PD1 처리의 경우에는, 제14일에 40 내지 50% TGI가 관찰되었다. 이소형 대조군 래트 IgG1과 조합된 경우에는, 항-PD-1이 제28일까지 10% 완전 퇴행 (CR)을 나타냈으므로, 10마리 동물 중 1마리에게서 완전 반응이 관찰되었다. 항-PD1과 모 11A11을 조합하면, 제14일에 60% TGI가 나타났고, 제54일까지 30% CR을 명확하게 보여주었다. 항-PD1과 11A11-G1을 조합하면, 제14일에 56% TGI가 나타났고, 제25일까지 30% CR을 명확하게 보여주었다. 항-PD1과 11A11-G2a를 조합하면, 제14일에 94% TGI가 나타났고, 제42일까지 70% CR을 명확하게 보여주었다. 항-PD1과 11A11-G2a를 조합하면, 항-PD1과 11A11 모 또는 11A11-G1을 조합한 경우와 비교해서 더 큰 항-종양 활성과 더 완전한 퇴행이 나타났다. 단일 작용제 또는 조합 요법의 투여와 연관된 유의적 체중 감소는 없었는데, 이는 이들 처리가 내약성이 양호하였다는 것을 표시한다.

[0482] **실시예 9**

[0483] **수소 중수소 교환 질량 분광 분석법에 의한 hTIGIT 14A6 항체의 에피토프 매핑**

[0484] 항-TIGIT 항체 14A6과 인간 TIGIT 간의 접촉 부위는 수소 중수소 교환 질량 분광 분석법 (HDX-MS) 분석을 이용함으로써 결정하였다. HDX-MS는 중수소를 단백질의 아미드 주쇄 상의 수소로 교환하는 것을 측정한다. 교환 속도는 용매에 대한 수소의 노출에 의해 영향을 받는다. 항체가 결합되는 경우에 항원 내의 교환 수준을 비교하면, 항체와 결합되는 단백질의 영역을 확인할 수 있다.

[0485] **물질**

[0486] ● 인간 TIGIT-His는 hTIGIT의 세포외 도메인 (서열식별번호: 31의 잔기 25-150) 및 히스티딘 태그 (서열식별번호: 87)를 포함한다.

[0487] ● 래트 항-hTIGIT 14A6 항체 [서열식별번호: 7/8의 VH/VL 서열 (lot#78AGU) 및 래트 IgG2a Fc 영역을 포함한다] (래트 x [TIGIT_H] mAb (LB155.14A6.G2.A8) IgG2a / 카파 (HY)).

[0488] 액체 크로마토그래피-질량 분광 분석법

[0489] 질량 분광계는 더모 사이언티픽 오르비트랩-벨로스(Thermo Scientific Orbitrap-Velos)이다. 중수소 표지된 샘플의 측정을 위하여, 질량 분광계는 60,000 분해능, 1E6의 표적 이온 계수치, 500 밀리초의 최대 이온 주입 시간 및 2개의 마이크로스캔으로 오르비트랩에서 하나의 전체 스캔 MS 데이터를 획득하도록 설정되었다. 펩티드 확인을 위한 MS/MS 데이터의 획득을 위하여, 질량 분광계는 60,000 분해능에서 하나의 전체 스캔 스펙트럼을 획득한 다음, 이온 트랩에서 10개의 데이터-의존적 MS/MS 스펙트럼을 획득하도록 설정되었다.

[0490] 액체 크로마토그래피 시스템은 분석 칼럼 구매를 위한 워터스 나노악퀴티(Waters® nanoAcquity) 및 샘플 분해 및 부하를 위한 워터스® 515 동용매 펌프이다. 샘플 분해 및 부하를 위하여 사용된 완충제는 80 ul/min의 유속 하의 2% 아세트오니트릴 및 0.05% 트리플루오로아세트산이다. 분석 구매를 위하여, 완충제는 완충제 A) 수중 0.1% 포름산 및 완충제 B) 아세트오니트릴 중 0.1% 포름산이다.

[0491] 구매는 40 ul/min 하에서 10분 내에 2% B에서 36% B로 이동한 다음 2분 동안 80% B를 세척하고 3분 동안 2% B 하에 재평형시킨 것이다. 이어서, 구매를 2% 내지 80% B로 순환시킴으로써 칼럼을 세척한 다음 (각 단계에서 1분 세척을 3회 수행한다), 5분 동안 2% B에서 최종 평형시켰다. 트래핑 칼럼은 워터스® 벵가드(Vanguard) C18 BEH 1.7 um 가드 칼럼이고, 분석 칼럼은 워터스® C18 BEH300, 1.7 um 1x50 mm 칼럼이다.

- [0492] 중수소 표지화를 위한 샘플 조작용 레압텍(Leaptec) H/D-X PAL 시스템에 의해 수행되었다. 표지화 샘플 트레이는 25℃의 온도로 설정되었고, 켄칭 트레이는 1.5℃로 설정되었으며, 트랩 및 분석 칼럼 챔버는 1.5℃로 설정되었다. 고정화된 펩신 칼럼 [포르시메(Porosyme) 고정화 펩신 2.1x30 mm, 라이프 테크놀로지(Life Technologies)]은 실온 하에 상기 칼럼 챔버 외부에 유지시켰다.
- [0493] 중수소 표지화
- [0494] hTIGIT-His (30 pmol/μl)를 등 용적의 상기 항체 (14 pmol/μl) 또는 결합되지 않은 대조군 중의 PBS pH 7.6과 혼합하였다. 항체 결합된 샘플과 결합되지 않은 대조군을, 표지화 실험을 시작하기 전 1시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다.
- [0495] 샘플을 중수소 표지시키기 위해, 2 μl의 샘플을 산화중수소 pD 7.6 중 25 μl의 PBS와 혼합하였다. 표지화 시점은 30, 300, 1,500, 4,500 또는 9,000초이다. 이러한 설정 시간 후, 25 μl의 표지화 혼합물을 35 μl의 찬 켄칭 완충액 (8 M 우레아, 100 mM TCEP)에 부가하였다. 켄칭된 샘플을 1.5℃에서 1분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 55 μl를 칼럼 냉각 챔버 내로 주사하였는데, 여기서 샘플은 펩신 칼럼을 통과하였고, 이로써 생성된 펩티드를 트래핑 칼럼 상으로 부하하였다. 3분 후에, 밸브 스위치가 펩신 칼럼을 라인 밖으로 빼내고 트랩을 추가로 1분 동안 세척하였다. 그 후 트랩을 분석 칼럼과 인라인으로 전환하고 분석 구배 및 질량 분광계 데이터 획득을 시작하였다.
- [0496] 2 μl의 hTIGIT를 108 μl의 중수소화된 변성 완충액 (4 M 우레아, 100 mM TCEP, 99.5% 산화중수소 중 0.01% DDM)과 함께 인큐베이션함으로써, 완전하게 중수소화된 샘플을 생성시켰다. 이 샘플을 실온에서 밤새 인큐베이션하였다. 이어서, 55 μl를 상기 칼럼 챔버 내로 직접 주사하고, 그 데이터를 앞서와 같이 획득하였다.
- [0497] 데이터 분석
- [0498] 표지되지 않은 샘플의 LC-MS/MS 데이터를 획득하고, 중수소 표지화 전에 검색하여 단백질의 성공적인 분해를 검증하고 펩신 분해로부터 펩티드 목록을 생성하였다. 데이터는 프로테오믹 디스커버리(Proteome Discoverer) 1.4 및 SEQUEST HT 검색 알고리즘 [더모피셔 사이언티픽(ThermoFisher Scientific)]을 사용하여 검색된 데이터베이스이다. 사용된 단백질 데이터베이스는 효모 사카로마이세스 세레비지아에 유니프로트(uniprot) (5/20/13) 데이터베이스에 연결된 인간 TIGIT-His 및 항-hTIGIT 항체 서열이다.
- [0499] 중수소 표지화 경험으로부터의 MS 데이터는 HDExaminer [버전 1.3, 시에라 애널리틱스(Sierra Analytics)]에 의해 처리하였다. 이러한 소프트웨어에 의해 각 펩티드에 대해 선택된 질량 및 체류 시간은 수동으로 검증하였다.
- [0500] 결과
- [0501] 결합된 14A6 항체에 의해 보호된 인간 TIGIT 펩티드가 도 14의 히트 맵에 예시되어 있고, 이는 서열식별번호: 31의 아미노산 잔기 54-57, 68-70 및 76-81에 상응한다 (이들 동일한 아미노산은 서열식별번호: 87의 잔기 30-33, 44-46 및 52-57로서 제시된다).
- [0502] **실시예 10**
- [0503] **수소 중수소 교환 질량 분광 분석법에 의한 hTIGIT 31C6 항체의 에피토프 매핑**
- [0504] 항-TIGIT 항체 31C6과 인간 TIGIT 간의 접촉 부위는 수소 중수소 교환 질량 분광 분석법 (HDX-MS) 분석을 이용함으로써 결정하였다. HDX-MS는 중수소를 단백질의 아미드 주쇄 상의 수소로 교환하는 것을 측정한다. 교환 속도에 영향을 미치는 한 가지 요인은 용매에 대한 수소의 노출이다. 항체가 결합되는 경우에 항원 내의 교환 수준을 비교하면, 항체와 결합되는 단백질의 영역을 확인할 수 있다.
- [0505] 물질
- [0506] ● 인간 TIGIT-His는 hTIGIT의 세포외 도메인 (서열식별번호: 31의 잔기 25-145) 및 히스티딘 태그 (서열식별번호: 87)를 포함한다.
- [0507] ● 마우스 항-hTIGIT 31C6 항체 (lot# 41AHK) (마우스 x [TIGIT_H] mAb (MEB125.31C6.A1.205) IgG1 / 카파 (HY)).
- [0508] 액체 크로마토그래피-질량 분광 분석법

- [0509] 질량 분광계는 더모 사이언티픽 오르비트랩-엘라이트(Elite)이다. 중수소 표지된 샘플의 측정을 위하여, 질량 분광계는 120,000 분해능, 1E6의 표적 이온 계수치, 500 밀리초의 최대 이온 주입 시간 및 2개의 마이크로스캔으로 오르비트랩에서 하나의 전체 스캔 MS 데이터를 획득하도록 설정되었다. 펩티드 확인을 위한 MS/MS 데이터의 획득을 위하여, 질량 분광계는 120,000 분해능에서 하나의 전체 스캔 스펙트럼을 획득한 다음, 이온 트랩에서 10개의 데이터-의존적 MS/MS 스펙트럼을 획득하도록 설정되었다.
- [0510] 액체 크로마토그래피 시스템은 분석 칼럼 구배를 위한 워터스 나노악퀴티 및 샘플 분해 및 부하를 위한 워터스 515 동용매 펌프이다. 샘플 분해 및 부하를 위하여 사용된 완충제는 80 ul/min의 유속 하의 2% 아세트오니트릴 및 0.05% 트리플루오로아세트산이다. 분석 구배를 위하여, 완충제는 완충제 A) 수중 0.1% 포름산 및 완충제 B) 아세트오니트릴 중 0.1% 포름산이다.
- [0511] 구배는 40 ul/min 하에서 10분 내에 2% B에서 36% B로 이동한 다음 2분 동안 80% B를 세척하고 3분 동안 2% B 하에 재평형시킨 것이다. 이어서, 구배를 2% 내지 80% B로 순환시킴으로써 칼럼을 세척한 다음 (각 단계에서 1분 세척을 3회 수행한다), 5분 동안 2% B에서 최종 평형시켰다. 트래핑 칼럼은 워터스 벵가드 CSH C18 1.7 um 가드 칼럼이고, 분석 칼럼은 워터스 CSH C18, 1.7 um 1x50 mm 칼럼이다.
- [0512] 중수소 표지화를 위한 샘플 조작은 레압텍 H/D-X PAL 시스템에 의해 수행되었다. 표지화 샘플 트레이는 25°C의 온도로 설정하고, 켄칭 트레이는 1.5°C로 설정하며, 트랩 및 분석 칼럼 챔버는 1.5°C로 설정하였다. 고정화된 펩신 칼럼 [엔자이메이트 BEH 펩신 (Enzymate BEH Pepsin), 워터스 코퍼레이션(Waters corporation)]은 실온 하에 상기 칼럼 챔버 외부에 유지시켰다.
- [0513] 중수소 표지화
- [0514] hTIGIT-His (63 pmol/μl)를 등 용적의 상기 항체 (32 pmol/μl) 또는 결합되지 않은 대조군 중의 PBS pH 7.6과 혼합하였다. 항체 결합된 샘플과 결합되지 않은 대조군을, 표지화 실험을 시작하기 전 1시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다.
- [0515] 샘플을 중수소 표지시키기 위해, 2 μl의 샘플을 산화중수소 pH 7.6 중 25 μl의 PBS와 혼합하였다. 표지화 시점은 30, 300, 1,500, 4,500, 9,000 및 13,500초이다. 이러한 설정 시간 후, 25 μl의 표지화 혼합물을 35 μl의 찬 켄칭 완충액 (8 M 우레아, 100 mM TCEP)에 추가하였다. 켄칭된 샘플을 1.5°C에서 1분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 55 μl를 칼럼 냉각 챔버 내로 주사하였는데, 여기서 샘플은 펩신 칼럼을 통과하였고, 이로써 생성된 펩티드를 트래핑 칼럼 상으로 부하하였다. 3분 후에, 밸브 스위치가 펩신 칼럼을 라인 밖으로 빼내고 트랩을 추가로 1분 동안 세척하였다. 그 후 트랩을 분석 칼럼과 인라인으로 전환하고 분석 구배 및 질량 분광계 데이터 획득을 시작하였다. 각 시점을 무작위 순서로 삼중으로 획득하였다.
- [0516] 2 μl의 hTIGIT (63 pmol/μl)를 108 μl의 중수소화된 변성 완충액 (4 M 우레아, 100 mM TCEP, 99.5% 산화중수소 중 0.01% DDM)과 함께 인큐베이션함으로써, 완전하게 중수소화된 샘플을 생성시켰다. 이 샘플을 실온에서 밤새 인큐베이션하였다. 이어서, 55 μl를 상기 칼럼 챔버 내로 직접 주사하고, 그 데이터를 앞서와 같이 획득하였다.
- [0517] 데이터 분석
- [0518] 표지되지 않은 샘플의 LC-MS/MS 데이터를 획득하고, 데이터베이스를 검색하여 단백질의 성공적인 분해를 검증하고 펩신 분해로부터 펩티드 목록을 생성하였다. 데이터베이스 검색은 프로테옴 디스커버리 1.4 및 SEQUEST HT 검색 알고리즘 (더모피셔 사이언티픽)을 사용하여 수행하였다. 사용된 단백질 데이터베이스는 효모 사카로마이세스 세레비지아에 유니포르트 (5/20/13) 데이터베이스에 연결된 인간 TIGIT-His 및 항-hTIGIT 항체 서열이다.
- [0519] 중수소 표지화 경험으로부터의 MS 데이터는 HDExaminer (버전 1.3, 시에라 애널리틱스)에 의해 처리하였다. 이러한 소프트웨어에 의해 각 펩티드에 대해 선택된 질량 및 체류 시간은 수동으로 검증하였다.
- [0520] 결과
- [0521] 결합된 31C6 항체에 의해 보호된 인간 TIGIT 펩티드가 도 15의 히트 맵에 예시되어 있고, 이는 서열식별번호: 31의 아미노산 잔기 53-57, 60-65, 68-70, 72-81, 94-95, 109-119에 상응한다 (이들 동일한 아미노산은 서열식별번호: 87의 잔기 29-33, 36-41, 44-46, 48-57, 70-71, 85-95로서 제시된다).
- [0522] 실시예 11

[0523] 인간화 항-hTIGIT 항체에 대한 시험관내 T-세포 활성 검정

[0524] 본 발명자들은 추가로, 본 발명의 항체 중 하나 (31C6)의 각종 인간화 변이체의 활성을 분석하였다. 한 검정에서, 본 발명자들은 hTIGIT-저켓 세포를 이용하여 인간 TIGIT 수용체를 차단하는 것에 따른 기능적 결과를 명확히 규명하였다. 이러한 검정에서는, hTIGIT-저켓을, 인간 CD155를 발현하도록 조작된 JY 세포 (hCD155-JY)와 공동 배양하였다. 사용된 JY 세포주는 엡스타인 바 바이러스 (EBV) 불멸화 B 세포 림프모구성 세포주이다. 상기 실시예 3에 기재된 검정에서와 같이, hTIGIT 저켓 세포를 플레이트 결합된 α -CD3으로 자극하고 모 JY 세포 (인간 CD155를 발현하지 않음)와 공동 배양한 경우, 이들 세포는 IL-2를 생산한다. 그러나, hTIGIT-저켓을 hCD155-JY와 공동 배양한 경우에는, IL-2 수준이 리간드 의존적 방식으로 감소되었다. 본 발명의 항-hTIGIT 항체로 처리하면, 상기 검정에서 IL-2 생성이 용량 의존적 방식으로 구제된다.

[0525] 본 검정에서는 96-웰 평저 플레이트를 4℃에서 밤새 마우스 항-인간 CD3 항체 (PBS 중 1 μ g/ml; 클론 HIT3a; BD 파르민겐 Cat# 555336)로 코팅하였다. 그 다음날, hTIGIT 발현성 저켓 세포 (50,000개)를 미리 코팅된 플레이트에 플레이트하고, 다양한 농도에서 mAb와 함께 30 내지 60분 동안 미리 인큐베이션하였다. 인간 CD155 발현성 JY 세포 (50,000개)를 상기 배양물에 가하였다. 37℃ 및 5.0% CO₂에서 18 내지 24시간 동안 인큐베이션한 후, 메소스케일 (인간 IL-2 조직 배양 MESO 키트: Cat#K151AHB-2)에 의해 배양 상등액에서 IL-2 수준을 평가하였다. 그 결과가 도 16에 도시되어 있다. 모 마우스 항-hTIGIT 클론 31C6 (MEB125.31C6.A1.205 mIgG1)을 30 μ g/ml에서 0.04 μ g/ml로 하향 적정하면, 0.730 μ g/ml의 EC₅₀이 제공되었고, 마우스 인간 31C6 키메라 (마우스 인간 키메라 MEB125.31C6.A1.205 IgG1)를 동일하게 적정하면, 0.910 μ g/ml의 EC₅₀이 제공되었다. [마우스 인간 31C6 키메라는 모 31C6 클론의 가변 영역 (서열식별번호: 94 및 95) 및 인간 IgG1 영역을 포함하였다]. 유사하게, 31C6 인간화 변이체를 30 μ g/ml에서 0.04 μ g/ml로 하향 적정하면, 다음 EC₅₀이 제공된다:

인간화 변이체	EC ₅₀
MEB125.31C6.A1.205 VH4/VL1 (서열식별번호: 127 의 VH 및 서열식별번호: 130 의 VL, 및 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 항체)	0.620 μ g/ml
MEB125.31C6.A1.205 VH5/VL4 (서열식별번호: 128 의 VH 및 서열식별번호: 133 의 VL, 및 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 항체)	1.2 μ g/ml
MEB125.31C6.A1.205 VH5/VL3 (서열식별번호: 128 의 VH 및 서열식별번호: 132 의 VL, 및 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 항체)	1.2 μ g/ml

[0526]

[0527] 본 발명자들은 또한, 인간화 항-hTIGIT 항체가 1차 세포에서 활성을 갖고 있었다는 것을 입증하기 위해 1차 세포-기반 검정을 이용하였다. 몇 가지 로트의 인간 말초혈 단핵 세포 (PBMC)를 대상으로 하여, 자극 (혼합 림프구 반응 자극 및 α -CD3 자극) 후 TIGIT 발현에 관하여 스크리닝하였다. 이어서, 자극 후 그들의 TIGIT 발현에 근거한 1차 세포-기반 검정을 위한 PBMC를 선택하였다. HuCD155-Fc를 조직 배양 플레이트 상으로 코팅하였고, PBMC를 항-CD3으로 자극하였다.

[0528] 본 검정에서는 96-웰 고 결합성 플레이트 [코닝(Corning) 3361]를 4℃에서 밤새 인간 CD155-Fc (사내에서 생성됨, PBS 중 1 μ g/ml)로 코팅하였다. 그 다음날, 50,000개의 인간 PBMC [RPMI+10% 인간 혈청 바이오-웰드 cat#30611043-1, lot#V15022401 중의 프레시존 바이오서비스(Precision Bioservice) Cat#83000C-1.0, lot#12920; RBC는 BD 파름리세(Pharmlyse) BD cat#555899에 의해 제거되었다]를 미리 코팅된 플레이트에 플레이트하고, 다양한 농도에서 항-TIGIT mAb와 함께 30 내지 60분 동안 미리 인큐베이션하였다. 이어서, 항-CD3 항체 (이바이오사이언스 16-0037-85)를 1 μ g/ml의 최종 농도로 가하였다. 37℃ 및 5.0% CO₂에서 48시간 동안 인큐베이션한 후, 메소스케일 검정 (인간 염증 유발성-4 I 조직 배양 MESO 키트: Cat#K15009B-4)에 의해 배양 상등액에서 염증 유발성 시토카인 (IFN γ , IL1 β , IL6 및 TNF α)을 평가하였다. 도 17에 도시된 바와 같이,

31C6의 인간화 변이체는 마우스 인간 31C6 키메라 항체와 유사한 용량 의존적 방식으로 IL-6, TNF α 및 IFN γ를 자극할 수 있었다.

[0529] 도 17에서의 표지는 다음 항체에 상응한다:

[0530] ● 마우스 인간 키메라 MEB125.31C6.A1.205 IgG1은 모 31C6 클론의 가변 영역 (서열식별번호: 94 및 95) 및 인간 IgG1 영역을 포함하는 항체에 상응한다.

[0531] ● MEB125.31C6.A1.205 VH4/VL1은 서열식별번호: 127의 VH 및 서열식별번호: 130의 VL, 및 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 항체에 상응한다.

[0532] ● MEB125.31C6.A1.205 VH5/VL4는 서열식별번호: 128의 VH 및 서열식별번호: 133의 VL, 및 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 항체에 상응한다.

[0533] ● MEB125.31C6.A1.205 VH5/VL3은 서열식별번호: 128의 VH 및 서열식별번호: 133의 VL, 및 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는 항체에 상응한다.

[0534] 본원에 인용된 모든 참고문헌은 각각의 개별적인 공보, 데이터베이스 입력 (예를 들어, 유전자은행 서열 또는 유전자ID 입력), 특허 출원 또는 특허가 구체적이고도 개별적으로 참조로 포함된다고 표시되는 바와 동일한 정도로 참조로 포함된다. 이러한 참조로 포함된다는 설명서는, 심지어 상기 인용이 참조로 포함된다는 전용 설명서에 바로 인접하지 않은 경우에도, 37 C.F.R. § 1.57(b)(1)에 따라서 본 출원인에 의해, 각각의 그리고 모든 개별적인 공보, 데이터베이스 입력 (예를 들어, 유전자은행 서열 또는 유전자ID 입력), 특허 출원 또는 특허 [이들 각각은 37 C.F.R. § 1.57(b)(2)에 따라 명백하게 확인된다]에 관한 것으로 의도된다. 존재하는 경우, 본 명세서 내에 참조로 포함된다는 전용 설명서가 포함되는 것이, 참조로 포함된다는 일반적인 설명을 어떠한 방식으로든지 약화시키지 않는다. 본원의 참고 문헌의 인용은 이러한 참고문헌이 선행 기술과 관련있는 것으로 인정하는 것으로 간주되지 않아야 하거나 또는 이들 공보 또는 문헌의 내용 또는 일자로서 어떠한 승인도 구성하지 않는다.

[0535] 본 발명은 본원에 기재된 구체적 실시양태로써 그 범위가 제한되지 않아야 한다. 실제로, 본원에 기재된 것 이외의 본 발명의 각종 변형이, 전술된 설명 및 수반되는 도면으로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백해질 것이다. 이러한 변형은 첨부된 청구범위 내에 속하는 것으로 의도된다.

[0536] 전술된 명세서는 관련 기술분야의 통상의 기술자가 본 발명을 실시할 수 있게 하는 데 충분한 것으로 간주된다. 본원에 제시되고 기재된 것 이외의 본 발명의 각종 변형이 전술된 설명으로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백해질 것이고, 첨부된 청구범위 내에 속할 것이다.

[0537] <표 4>

[0538] 서열 정보

설명	SEQ ID NO:	서열
14A6 H - CDR1	1	SDYWG
14A6 H - CDR2	2	FITYSGSTSYNPSLKS
14A6 H - CDR3	3	MPSFITLASLSTWEGYFDF
14A6 L - CDR1	4	KASQSIHKNLA
14A6 L - CDR2	5	YANSLQT
14A6 L - CDR3	6	QQYYSGWT
14A6 모 VH	7	EVQLQESGPGGLVKPSQSLSLTCSVTGSSIASDYWGWIRKFPGNKMEWMGFI TYSGSTSYNPSLKSRIISITRDTSKNQFFLQLHSVTDDTATYSCARMPSFI TLASLSTWEGYFDFWGPQTMVTSS
14A6 모 VL	8	DIQMTQSPSLLSASVGDRTLNCKASQSIHKNLAWYQQKLGEAPKFLIYYA NSLQTGIPSRFSGSGSGTDFTLTISGLQPEDVATYFCQQYYSGWTFGGGTK VELK
Hu14A6VH.1	9	EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGWIRQPPGKGLEWIGFI TYSGSTSYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI TLASLSTWEGYFDFWQGQTMVTSS
Hu14A6VH.1a	10	EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGWIRQPPGKGLEWIGFI TYSGSTSYNPSLKSRTVISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI TLASLSTWEGYFDFWQGQTMVTSS
Hu14A6VH.1b	11	EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGWIRQPPGKGLEWIGFI TYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI TLASLSTWEGYFDFWQGQTMVTSS
Hu14A6VH.1c	12	EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGWIRQPPGKGLEWMGFI TYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI TLASLSTWEGYFDFWQGQTMVTSS
Hu14A6VH.1d	13	EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGWIRQPPGKGLEWIGFI TYSGSTSYNPSLKSRTVISRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARMPSFI TLASLSTWEGYFDFWQGQTMVTSS
Hu14A6VH.1e	14	EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGWIRQPPGKGLEWIGFI TYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARMPSFI TLASLSTWEGYFDFWQGQTMVTSS
Hu14A6VH.1f	15	EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGWIRQPPGKGLEWIGFI TYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARMPSFI TLASLSTWEGYFDFWQGQTMVTSS
Hu14A6VH.1g	16	EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGWIRQPPGKGLEWMGFI

[0539]

		<u>TYSGSTSYNPSLKS</u> RTISVDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQ</u> TMVTVSS
Hu14A6VH.2	17	<u>EVQLQESGPG</u> LVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYWGWI <u>RQPPGKGLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKS</u> RVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQ</u> TMVTVSS
Hu14A6VH.2a	18	<u>EVQLQESGPG</u> LVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYWGWI <u>RQPPGKGLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKS</u> RVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQ</u> TMVTVSS
Hu14A6VH.2b	19	<u>EVQLQESGPG</u> LVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYWGWI <u>RQPPGKGLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKS</u> RTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQ</u> TMVTVSS
Hu14A6VH.2c	20	<u>EVQLQESGPG</u> LVKPSETLSLTCAVSGSSISSDYWGWI <u>RQPPGKGLEWMGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKS</u> RTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQ</u> TMVTVSS
Hu14A6VH.2d	21	<u>EVQLQESGPG</u> LVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYWGWI <u>RQPPGKGLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKS</u> RVTISRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQ</u> TMVTVSS
Hu14A6VH.2e	22	<u>EVQLQESGPG</u> LVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYWGWI <u>RQPPGKGLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKS</u> RTISRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQ</u> TMVTVSS
Hu14A6VH.2f	23	<u>EVQLQESGPG</u> LVKPSETLSLTCAVSGSSISSDYWGWI <u>RQPPGKGLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKS</u> RTISRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQ</u> TMVTVSS
Hu14A6VH.2e	24	<u>EVQLQESGPG</u> LVKPSETLSLTCAVSGSSISSDYWGWI <u>RQPPGKGLEWMGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKS</u> RTISRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQ</u> TMVTVSS
Hu14A6Vk.1	25	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHKNLAWYQQKPGKAPKLLIYYA <u>NSLQT</u> GVPSRFRSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYC <u>QQYYSGWT</u> FGGGTK VEIK
Hu14A6Vk.1a	26	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHKNLAWYQQKPGKAPKFLIYYA <u>NSLQT</u> GVPSRFRSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYC <u>QQYYSGWT</u> FGGGTK VEIK
Hu14A6Vk.1b	27	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHKNLAWYQQKPGKAPKFLIYYA <u>NSLQT</u> GIPSRFRSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYC <u>QQYYSGWT</u> FGGGTK VEIK
Hu14A6Vk.2	28	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHKNLAWYQQKPGKVPKLLIYYA <u>NSLQT</u> GVPSRFRSGSGSGTDFLTITSSLPEDVATYYC <u>QQYYSGWT</u> FGGGTK VEIK

[0540]

Hu14A6Vk.2a	29	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHKNLAWYQQKPGKVPKFLIYYA NSLQGTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQYYSGWTFGGGGTK VEIK
Hu14A6Vk.2b	30	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHKNLAWYQQKPGKVPKFLIYYA NSLQGTGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQYYSGWTFGGGGTK VEIK
인간 TIGIT	31	mrwclllliwa qglrqaplas gmmgtgtienn gnisaekggs iilqchlsst taqvtgvnwe qgdqllaicn adlgwhisps fkdrvapggp lgltlqsltv ndtgeyfcy htypdgtytg riflevless vaehgarfqi pllgammaatl vvictavivv valtrkkkal rihsvegdlr rksagqeevs psapsppgsc vqaeaapagl cgeqrgedca elhdyfnvls yrslgncsff tetg
시노 / 레서스 TIGIT	32	mrwclfliwa qglrqaplas gmmgtgtienn gnisakkggs vilqchlsst maqvtgvnwe qhdhslair naelgwhiyp afkdrvapgp glgltlqsltv mndtgeyfcy htypdgtyr griflevles svaehsarfq ipllgammaamm lvviciaviv vvvlarkkks lrihsvesgl qrkstgqeeq ipsapsppgs cvqaeaapag lcgeqggddc aelhdyfnvl yrslgscsf ftetg
멤브롤리주맵 중쇄	33	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGGLEWMGGI NPSNGGTNFNEKFKNRVLTLDSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYR FDMGFEDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCN VDHKPSNTHKDRVESKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGRVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
멤브롤리주맵 경쇄	34	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLI LYLASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQHSRDPLTF GGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
니볼루맵 중쇄	35	QVQLVESGGGVVQPGSRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKLEWVAVI WYDGSKRYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDYD WGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTW NSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVTHKPSN TKVDRVESKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGRVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
니볼루맵 경쇄	36	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIYDA SNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
16AHA_tigit_1 4a6 인간화 VH1	37	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWGWIQPPGKLEWIGFI TYSGSTSYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI

[0541]

LB155.14A6.G2 .A8_VH1		<u>TLASLSTWEGYFDFWQGTMVTVSSAS</u>
18AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VH2 LB155.14A6.G2 .A8_VH2	38	<u>EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWGWIRQPPGKGLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWQGTMVTVSS</u>
20AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VH3 LB155.14A6.G2 .A8_VH3	39	<u>EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWGWIRKPPGKGLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWQGTMVTVSS</u>
21AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VH4 LB155.14A6.G2 .A8_VH4	40	<u>EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWGWIRQPPGKKLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWQGTMVTVSS</u>
19AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VH5 LB155.14A6.G2 .A8_VH5	41	<u>EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWGWIRQPPGKMEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWQGTMVTVSS</u>
22AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VH6 LB155.14A6.G2 .A8_VH6	42	<u>EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWGWIRKPPGKKMEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWQGTMVTVSS</u>
23AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VH7 LB155.14A6.G2 .A8_VH7	43	<u>EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWGWIRQFPKGKLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTADDTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWQGTMVTVSS</u>
24AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VH8 LB155.14A6.G2 .A8_VH8	44	<u>EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWGWIRKPPGKKMEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWQGTMVTVSS</u>
25AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VH9 LB155.14A6.G2 .A8_VH9	45	<u>EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCSVTGSSIADYWGWIRQPPGKGLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWQGTMVTVSS</u>
26AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VH10	46	<u>EVQLQQSGAGLLKPSETLSLTCSVTGSSIADYWGWIRQPPGKGLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWQGTMVTVSS</u>

[0542]

LB155.14A6.G2 .A8_VH10		
27AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VH11 LB155.14A6.G2 .A8_VH11	47	<u>EVQLQESGPGLVKPPGTLSTCSVTGSSIASDYWGWRQPPGKGLEWIGFI</u> <u>TYSGSTSYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFD</u> FWGQGTMTVTSS
09AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VL1 LB155.14A6.G2 .A8_VL1	48	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHKNLAWYQQKPGKAPKLLIYYA <u>NSLQ</u> TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC <u>QQYYSGWT</u> FGGGTK VEIK
11AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VL2 LB155.14A6.G2 .A8_VL2	49	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHKNLAWYQQKPGKAPKFLIYYA <u>NSLQ</u> TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC <u>QQYYSGWT</u> FGGGTK VEIK
12AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VL3 LB155.14A6.G2 .A8_VL3	50	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHKNLAWYQQKPGKAPKLLIYYA <u>NSLQ</u> TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC <u>QQYYSGWT</u> FGGGTK VEIK
13AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VL4 LB155.14A6.G2 .A8_VL4	51	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHKNLAWYQQKPGKAPKFLIYYA <u>NSLQ</u> TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC <u>QQYYSGWT</u> FGGGTK VEIK
15AHA_tigit_1 4a6_인간화 _VL5 LB155.14A6.G2 .A8_VL5	52	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHKNLAWYQQKPGKAPKLLIYYA <u>NSLQ</u> TGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC <u>QQYYSGWT</u> FGGGTK VEIK
리더 서열 중쇄	53	MEWSWVFLFFLSVTTGVHS
리더 서열 경쇄	54	MSVPTQVLGLLLLLWLTDARC
중쇄 불변 도메인- IgG4 S228P	55	TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGP PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSLGK
카파 경쇄 불변 도메인	56	VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ

[0543]

		ESVTEQDSKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
28H5 H - CDR1	57	GYSITSDYAWN
28H5 H - CDR2	58	YISNSGSASYNPSLKS
28H5 H - CDR3	59	LIYYDYGGAMNF
28H5 L - CDR1	60	KASQGVSTTVA
28H5 L - CDR2	61	SASYRYT
28H5 L - CDR3	62	QHYYSTPWT
28H5 모 VH	63	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIWIRQFPGNKLEWMGY ISNSGSASYNPSLKSRIISITRDTSKNQFFLQLNSVTEDTATYYCATLIYY DYGGAMNFWGQGTSTTVSS
28H5 모 VL	64	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQGVSTTVAWYQQKPGQSPKLLIYSA SYRYTGVPDRFTGSGSGTDFFTTISVQSEDLAVYYCQHYYSTPWTFFGGGT KLEIK
14H6 L - CDR2 변이체	65	YASNLQT
14H6 L - CDR2 변이체	65	YASSLQT
14H6 L - CDR2 변이체	67	YASTLQT
14H6 L - CDR2 변이체	68	YATTLQT
14H6 L - CDR2 변이체	69	YASYLQT
14H6 L - CDR2 변이체	70	YANQLQT
14H6 L - CDR2 변이체	71	YAGSLQT
14H6 L - CDR2 변이체	72	YASQLQT
14H6 L - CDR2 변이체	73	YADSLQT
14H6 L - CDR3 변이체	74	QQYYSGFT
14H6 L - CDR3 변이체	75	QQYYSGYT
14H6 L - CDR3 변이체	76	QQYYSGIT
14H6 L - CDR3 변이체	77	QQYYSGVT
14H6 L - CDR3 변이체	78	QQYYSGLT
14H6 H - CDR3 변이체	79	MPSFITLASLSTFEGYFDF
14H6 H - CDR3 변이체	80	MPSFITLASLSTYEGYFDF
14H6 H - CDR3 변이체	81	MPSFITLASLSTIEGYFDF
14H6 H - CDR3 변이체	82	MPSFITLASLSTVEGYFDF
14H6 H - CDR3 변이체	83	MPSFITLASLSTLEGYFDF
28H5 모 VH를 코딩하는 핵산	84	GATGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCAC CTGCACTGTCACTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAAGTGGATCCGACAGTTTC CAGGAAACAACTGGAGTGGATGGGCTACATAAGCAACAGTGGTAGCGCTAGCTACAACCCA TCTCTCAAAAGTCGCATCTCTATCACTCGAGACACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGCAGTT GAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAACCTGATCTACTATGATT

[0544]

		ACGGGGGGGCTATGAACTTCTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
28H5 모 VL을 코딩하는 핵산	85	GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCAT CACCTGCAAGGCCAGTCAGGGTGTGAGTACTACTGTGGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGAC AATCTCCTAAACTACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACACTGGAGTCCCTGATCGCTTC ACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACCTTCACCATCAGCAGTGTGCAGTCTGAAGACCT GGCAGTTTATTACTGTCAGCATTATTATAGTACTCCGTGGACGTTCCGTTGGAGGCACCAAGC TGGAATCAAA
중쇄 불변 도메인-IgG1	86	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPFKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
hTIGIT-HIS	87	gtiettn gnisae kggs iilqchlsst taqvtqvnwe qddqlaichn adlgwhisps fkdrvapggp lgltlqsltv ndtgeyfcy htypdgtytg rifleless vaehgarfqi pllga hhhhhhhhhggg
31C6 H -CDR1	88	SYVMH
31C6 H -CDR2	89	YIDPYNDGAKYNEKFKG
31C6 H -CDR3	90	GGPYGWYFDV
31C6 L - CDR1	91	RASEHIYSYLS
31C6 L - CDR2	92	NAKTLAE
31C6 L - CDR3	93	QHFGSPLT
31C6 모 VH (CDR에 밑줄이 그어져 있다)	94	EVQLQSSGPGLVKPSSSVKMSCKASGYTFSSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYIDPYNDGAKYNE KFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGGPYGWYFDVVGAGTTTVTVSS
31C6 모 VL (CDR에 밑줄이 그어져 있다)	95	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASEHIYSYLSWYQQKQKSPQLLVYNAKTLAEGVPSRF SGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGTYQCQHFGSPLTFGAGTTLELK
31C6 H -CDR2 변이체 (D56R)	96	YIDPYNrGAKYNEKFG
31C6 H -CDR2 변이체 (D56L)	97	YIDPYNlGAKYNEKG F
31C6 H -CDR2 변이체 (D56K)	98	YIDPYNkGAKYNEKFG
31C6 H -CDR2 변이체 (D56F)	99	YIDPYNfGAKYNEKFG
31C6 H -CDR2 변이체 (D56S)	100	YIDPYNsGAKYNEKFG
31C6 H -CDR2 변이체 (D56Y)	101	YIDPYNyGAKYNEKFG
31C6 H -CDR2 변이체 (D56V)	102	YIDPYNvGAKYNEKFG
31C6 H -CDR2 변이체 (G57R)	103	YIDPYNDrAKYNEKFKG
31C6 H -CDR2 변이체 (G57N)	104	YIDPYNDnAKYNEKFKG
31C6 H -CDR2 변이체 (G57Q)	105	YIDPYNDqAKYNEKFKG

[0545]

31C6 H -CDR2 변이체 (G57E)	106	YIDPYND e AKYNEKFKG
31C6 H -CDR2 변이체 (G57L)	107	YIDPYND l AKYNEKFKG
31C6 H -CDR2 변이체 (G57K)	108	YIDPYND k AKYNEKFKG
31C6 H -CDR2 변이체 (G57S)	109	YIDPYND s AKYNEKFKG
31C6 H -CDR2 변이체 (G57Y)	110	YIDPYND y AKYNEKFKG
31C6 H -CDR2 변이체 (G57V)	111	YIDPYND v AKYNEKFKG
31C6 L - CDR2 변이체 (N50A)	112	AAKTLAE
31C6 L - CDR2 변이체 (N50Y)	113	YAKTLAE
31C6 L - CDR2 변이체 (N50W)	114	WAKTLAE
31C6 L - CDR2 변이체 (N50S)	115	SAKTLAE
31C6 L - CDR2 변이체 (N50T)	116	TAKTLAE
31C6 L - CDR2 변이체 (N50I)	117	IAKTLAE
31C6 L - CDR2 변이체 (N50V)	118	VAKTLAE
31C6 L - CDR2 변이체 (A51N)	119	NNKTLAE
31C6 L - CDR2 변이체 (A51I)	120	NIKTLAE
31C6 L - CDR2 변이체 (A51L)	121	NLLTLAE
31C6 L - CDR2 변이체 (A51T)	122	NTKTLAE
31C6 L - CDR2 변이체 (A51V)	123	NVKTALAE
31C6_HUMZ_VH1 (CDR에 밑줄이 그어져 있다)	124	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSYVMHWVRQAPGQRLIEWIGYIDPYNDGAKYSQ <u>KFQGRVTLTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGPYGWYFDVWGQGT</u> TVTVSS
31C6_HUMZ_VH2 (CDR에 밑줄이 그어져 있다)	125	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSYVMHWVRQAPGQRLIEWIGYIDPYNDGAKYSQ <u>KFQGRVTLTSDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGPYGWYFDVWGQGT</u> TVTVSS

[0546]

31C6_HUMZ_VH3 (CDR에 밑줄이 그어져 있다)	126	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSSYVMHWVRQAPGQGLEWIGYIDPYNDGAKYAQ KFQGRVTLTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARGGPYGWYFDVWGQGTITVTVSS
31C6_HUMZ_VH4 (CDR에 밑줄이 그어져 있다)	127	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSSYVMHWVRQAPGQGLEWIGYIDPYNDGAKYAQ KFQGRVTLTSDKSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARGGPYGWYFDVWGQGTITVTVSS
31C6_HUMZ_VH5 (CDR에 밑줄이 그어져 있다)	128	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSSYVMHWVRQAPGQGLEWIGYIDPYNDGAKYAQ KFQGRVTLTSDKSTSTAYMESSLRSEDVAVYYCARGGPYGWYFDVWGQGTITVTVSS
31C6_HUMZ_VH6 (CDR에 밑줄이 그어져 있다)	129	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSSYVMHWVRQAPGQGLEWIGYIDPYNDGAKYAQ KFQGRVTLTSDKSTSTAYMESSLRSDTVVYYCARGGPYGWYFDVWGQGTITVTVSS
31C6_Humz_L1 (CDR에 밑줄이 그어져 있다)	130	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEHIYSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYNAKTLAE GVPSRFSGSGSGTDFTLTITSLQPEDFATYYCQHFGSPLTFGQGTTRLEIK
31C6_Humz_L2 (CDR에 밑줄이 그어져 있다)	131	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEHIYSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYNAKTLAE GVPSRFSGSGSGTQFTLTITSLQPEDFATYYCQHFGSPLTFGQGTTRLEIK
31C6_Humz_L3 (CDR에 밑줄이 그어져 있다)	132	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEHIYSYLSWYQQKPKGVPKLLIYNAKTLAE GVPSRFSGSGSGTDFTLTITSLQPEDVATYYCQHFGSPLTFGQGTTRLEIK
31C6_Humz_L4 (CDR에 밑줄이 그어져 있다)	133	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEHIYSYLSWYQQKPKGVPKLLIYNAKTLAE GVPSRFSGSGSGTQFTLTITSLQPEDVATYYCQHFGSPLTFGQGTTRLEIK
31C6 H - CDR2 변이체	134	YIDPYNDGAKYAQKFQG
31C6 H - CDR2 변이체	135	YIDPYNDGAKYSQKFQG
18G10 - VH 서열	136	QVQLMESGPGLVQPSQTLSTCTVSGFPLTSYTVHWVRQPPGKLEWIGAIWSSGSTDYNSA LKSRNLINIRDSKSKVFLKMNSLQTEDTAIFYCTKSGWAFFDYWGQGMVTVSS
18G10 - VL 서열	137	DIQMTQSPSLLSASVGDRTLNLCIASQNIYKSLAWYQLKLGEAPKLLIYNANSLQAGIPSRF SGSGSGTDFALTISGLQPEDVATYFCQQYSGGYTFGAGTKLELK
11A11 - VH 서열	138	EVQLVESGGDLVQPGRSLLKISCVASGFTFSDYYMAVRLAPQKLEWVASISYEGSRTHYGD SVRGRFIIISRDNPKNILYLMNSLGSSEDTATYFCARHTGTLDWLVYWGQGTIVIVSS
11A11 - VL 서열	139	NIVMAQSPKMSISAGDRVTMNCASQNVNNDNIWYQQKPGQSPKLLIFYASNRYSGVPDRF TGGGYGTDFTLTIKSVQAEDAAFYQCRIYNFPTFGSGTKLEIK
14A6 H - CDR3 컨센서스	140	MPSFITLASLSTXEGYFDF X= W, F, Y, I, V, L
14A6 L - CDR2 컨센서스	141	YAX ₁ X ₂ LQT X ₁ = N, S, T, G, D X ₂ = S, N, S, T, Y, Q
14A6 L - CDR3 컨센서스	142	QQYYSGXT X= W, F, Y, I, V, L
14A6 VH 모 컨센서스	143	EVQLQX ₁ SGX ₂ GLX ₃ KPX ₄ X ₅ X ₆ LSLTCX ₇ VX ₈ GX ₃₀ SIX ₃₁ SDYWGWX ₉ RX ₁₀ X ₁₁ PGX ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ EW X ₁₅ GFITYSGSTSYNPSLKSX ₁₆ X ₁₇ IX ₁₈ X ₁₉ DTSKNQFX ₂₀ LX ₂₁ LX ₂₂ SVTX ₂₃ X ₂₄ DTAX ₂₅ Y X ₂₆ CARMPFITLASLSTX ₂₇ EGYFDFWGX ₃₂ GTX ₂₈ X ₂₉ TVSS X ₁ = E 또는 Q X ₂ = P 또는 A X ₃ = V 또는 L X ₄ = S 또는 P X ₅ = Q 또는 E 또는 G X ₆ = S 또는 T X ₇ = S 또는 T 또는 A X ₈ = T 또는 S X ₉ = I 또는 V X ₁₀ = K 또는 Q X ₁₁ = F 또는 P

[0547]

		<p> $X_{12} = N$ 또는 K $X_{13} = K$ 또는 G $X_{14} = M$ 또는 L $X_{15} = M$ 또는 I $X_{16} = I$ 또는 V $X_{17} = S$ 또는 T $X_{18} = T$ 또는 S $X_{19} = R$ 또는 V $X_{20} = F$ 또는 S $X_{21} = Q$ 또는 K $X_{22} = H$ 또는 S $X_{23} = T$ 또는 A $X_{24} = D$ 또는 A $X_{25} = T$ 또는 V $X_{26} = S$ 또는 Y, $X_{27} = W, F, Y, I, V$ 또는 L $X_{28} = M, V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W$ 또는 Y $X_{29} = V, T$ 또는 L $X_{30} = S$ 또는 G 또는 Y $X_{31} = A$ 또는 S $X_{31} = P$ 또는 Q </p>
14A6 VH 인간화 컨센서스	144	<p> $EVQLQX_1SGX_2GLX_3KPKX_4X_5TSLTCX_6VX_7GX_8SIX_9SDYWCWX_{10}RX_{11}X_{12}PGKX_{13}X_{14}EWX_{15}$ $GFITYSGSTSYNPSLKSRX_{16}TISX_{17}DTSKNQFSLKLX_{18}SVTAX_{19}DTAVYYCAMPSPFITLA$ $SLSTX_{20}EGYDFDWGQGT_{21}X_{22}TVSS$ $X_1 = E$ 또는 Q $X_2 = P$ 또는 A $X_3 = V$ 또는 L $X_4 = S$ 또는 P $X_5 = E$ 또는 G $X_6 = T$ 또는 A 또는 S $X_7 = S$ 또는 T $X_8 = G$ 또는 S 또는 Y $X_9 = S$ 또는 A $X_{10} = I$ 또는 V $X_{11} = Q$ 또는 K $X_{12} = P$ 또는 F $X_{13} = G$ 또는 K $X_{14} = L$ 또는 M $X_{15} = I$ 또는 M $X_{16} = V$ 또는 I $X_{17} = V$ 또는 R $X_{18} = S$ 또는 H $X_{19} = A$ 또는 D $X_{20} = W, F, Y, I, V, L$ $X_{21} = M, V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W$ 또는 Y $X_{22} = V, T$ 또는 L </p>
14A6 VL 모 컨센서스	145	<p> $DIQMTQSPFSX_1LSASVGDRVTX_2X_3CKASQSIHKNLAWYQQKX_4GX_5X_{15}PKX_6LIYYAX_7X_8LQT$ $GX_9PSRFGSGSGTDFLTISX_{10}LQPEDX_{11}ATYX_{12}CQQYYSGX_{13}TFGGGTKVEX_{14}K$ $X_1 = L$ 또는 S $X_2 = L$ 또는 I $X_3 = N$ 또는 T $X_4 = L$ 또는 P $X_5 = E$ 또는 K $X_6 = F$ 또는 L $X_7 = N, S, T, G$ 또는 D $X_8 = S, N, T, Y$ 또는 Q $X_9 = I$ 또는 V $X_{10} = G$ 또는 S $X_{11} = V$ 또는 F $X_{12} = F$ 또는 Y $X_{13} = W, F, Y, I, V$ 또는 L </p>

[0548]

		<p>$X_{14} = L$ 또는 I $X_{15} = A$ 또는 V</p>
14A6 VL 인간화 컨센서스	146	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHKNLAWYQQKPGKX₆PKX₁LIYYAX₂X₃LQTGX₄PSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDX₇ATYYCQQYYSGX₅TFGGGTKVEIK</p> <p>$X_1 = L$ 또는 F $X_2 = N, S, T, G$ 또는 D $X_3 = S, N, T, Y$ 또는 Q $X_4 = V$ 또는 I $X_5 = W, F, Y, I, V$ 또는 L $X_6 = A$ 또는 V $X_7 = F$ 또는 V</p>
31C6 H - CDR2 컨센서스	147	<p>YIDPYNX₁X₂AKYX₃X₄KFX₅G</p> <p>$X_1 = D, R, L, K, F, S, Y$ 또는 V $X_2 = G, R, N, Q, E, L, K, S, Y$ 또는 V $X_3 = N, A$ 또는 S $X_4 = E$ 또는 Q $X_5 = K$ 또는 Q</p>
31C6 L - CDR2 컨센서스	148	<p>X_1X_2KTLAE</p> <p>$X_1 = N, A, V, W, S, T, R, H, G, I$ 또는 V $X_2 = A, N, I, L, T$ 또는 V</p>
31C6 VH 모 컨센서스	149	<p>EVQLX₁QSGX₂EX₃X₄KPGX₅SVKX₆SCKASGYTFSSYVMHWVX₇QX₈PGQX₉LEWIGYIDPYNX₁₀X₁₁AKYX₁₂X₁₃KFX₁₄GX₁₅X₁₆TLTX₁₇DX₁₈SX₁₉STX₂₀YMELSX₂₁LX₂₂SX₂₃DX₂₄X₂₅VYYCARGGPYGX₂₆YFDVWGX₂₇GTTVTVSS</p> <p>$X_1 = Q$ 또는 V $X_2 = P$ 또는 A $X_3 = V$ 또는 L $X_4 = V$ 또는 K $X_5 = S$ 또는 A $X_6 = M$ 또는 V $X_7 = K$ 또는 R $X_8 = K$ 또는 A $X_9 = G$ 또는 R $X_{10} = D, R, L, K, F, S, Y$ 또는 V $X_{11} = G, R, N, Q, E, L, K, S, Y$ 또는 V $X_{12} = N, A$ 또는 S $X_{13} = E$ 또는 Q $X_{14} = K$ 또는 Q $X_{15} = R$ 또는 K $X_{16} = A$ 또는 V $X_{17} = S$ 또는 R $X_{18} = K$ 또는 T $X_{19} = S, I, A$ 또는 T $X_{20} = A$ 또는 V $X_{21} = R$ 또는 S $X_{22} = T$ 또는 R $X_{23} = D$ 또는 E $X_{24} = S$ 또는 T $X_{25} = A$ 또는 V $X_{26} = W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V$ 또는 Y $X_{27} = A$ 또는 Q</p>
31C6 VH 인간화 컨센서스	150	<p>EVQLVQSGAEVKKPGX₁SVKVSCKASGYTFSSYVMHWVRQAPGQX₂LEWIGYIDPYNX₃X₄AKYX₅X₆KFX₇GRVTLTX₈DX₉SX₁₀STX₁₁YMELSX₁₂LRX₁₃DTX₁₄VYYCARGGPYGX₁₅YFDVWQGTTVTVSS</p> <p>$X_1 = A$ 또는 S $X_2 = R$ 또는 G $X_3 = D, R, L, K, F, S, Y$ 또는 V $X_4 = G, R, N, Q, E, L, K, S, Y$ 또는 V $X_5 = N, A$ 또는 S $X_6 = E$ 또는 Q $X_7 = K$ 또는 Q $X_8 = R$ 또는 S $X_9 = T$ 또는 K $X_{10} = A, T$ 또는 I</p>

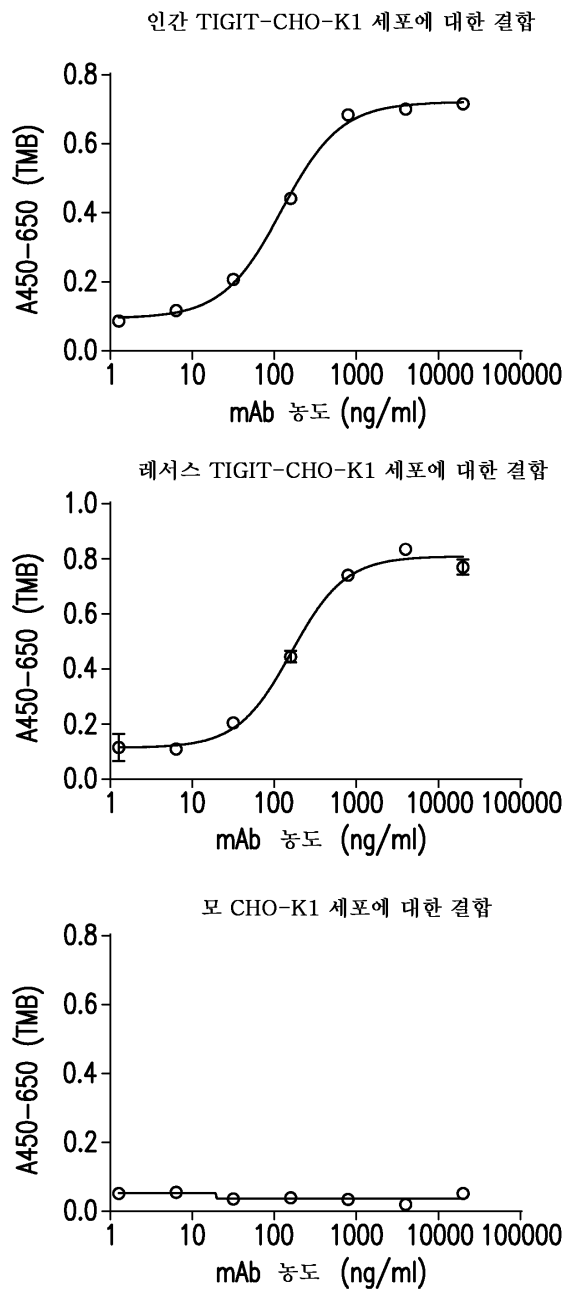
[0549]

		$X_{11} = A \text{ 또는 } V$ $X_{12} = S \text{ 또는 } R$ $X_{13} = E \text{ 또는 } D$ $X_{14} = A \text{ 또는 } V$ $X_{15} = W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V \text{ 또는 } Y$
31C6 VL 모 컨센서스	151	$DIQMTQSPX_1SLASVVGX_2X_3VTITCRASEHIYSYLSWYQQKX_4GKX_5PX_6LLX_7YX_8X_9KTLAE$ $GVPSRFGSGSGTX_{10}FX_{11}LX_{12}IX_{13}SLQPEDX_{14}X_{15}TYYCQHFGSPLTFGX_{16}GT_{17}LEX_{18}$ K $X_1 = A \text{ 또는 } S$ $X_2 = E \text{ 또는 } D$ $X_3 = T \text{ 또는 } R$ $X_4 = Q \text{ 또는 } P$ $X_5 = S, A \text{ 또는 } V$ $X_6 = Q \text{ 또는 } K$ $X_7 = V \text{ 또는 } I$ $X_8 = N, A, Y, W, S, T, I \text{ 또는 } V$ $X_9 = A, N, I, L, T \text{ 또는 } V$ $X_{10} = Q \text{ 또는 } D$ $X_{11} = S \text{ 또는 } T$ $X_{12} = K \text{ 또는 } T$ $X_{13} = N \text{ 또는 } S$ $X_{14} = F \text{ 또는 } V$ $X_{15} = G \text{ 또는 } A$ $X_{16} = A \text{ 또는 } Q$ $X_{17} = T \text{ 또는 } R$ $X_{18} = L \text{ 또는 } I$
31C6 L - VL 인간화 컨센서스	152	$DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEHIYSYLSWYQQKPGKX_1PKLLIY$ $X_2X_3KTLAEGVPSRFGSGSGTX_4FTLTISLQPEDX_5ATYYCQHFGSPLTFGQGTR$ $LEIK$ $X_1 = A \text{ 또는 } V$ $X_2 = N, A, Y, W, S, T, I \text{ 또는 } V$ $X_3 = A, N, I, L, T \text{ 또는 } V$ $X_4 = D \text{ 또는 } Q$ $X_5 = F \text{ 또는 } V$
31C6 H -CDR3 컨센서스	153	$GGPYGYFDV$ $X_{15} = W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V \text{ 또는 } Y$
31C6 H -CDR3 변이체	154	$GGPYGAYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	155	$GGPYGDYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	156	$GGPYGEYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	157	$GGPYGFYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	158	$GGPYGGYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	159	$GGPYGIYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	160	$GGPYGKYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	161	$GGPYGNYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	162	$GGPYGQYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	163	$GGPYGRYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	164	$GGPYGSYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	165	$GGPYGTYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	166	$GGPYGVYFDV$
31C6 H -CDR3 변이체	167	$GGPYGYFDV$

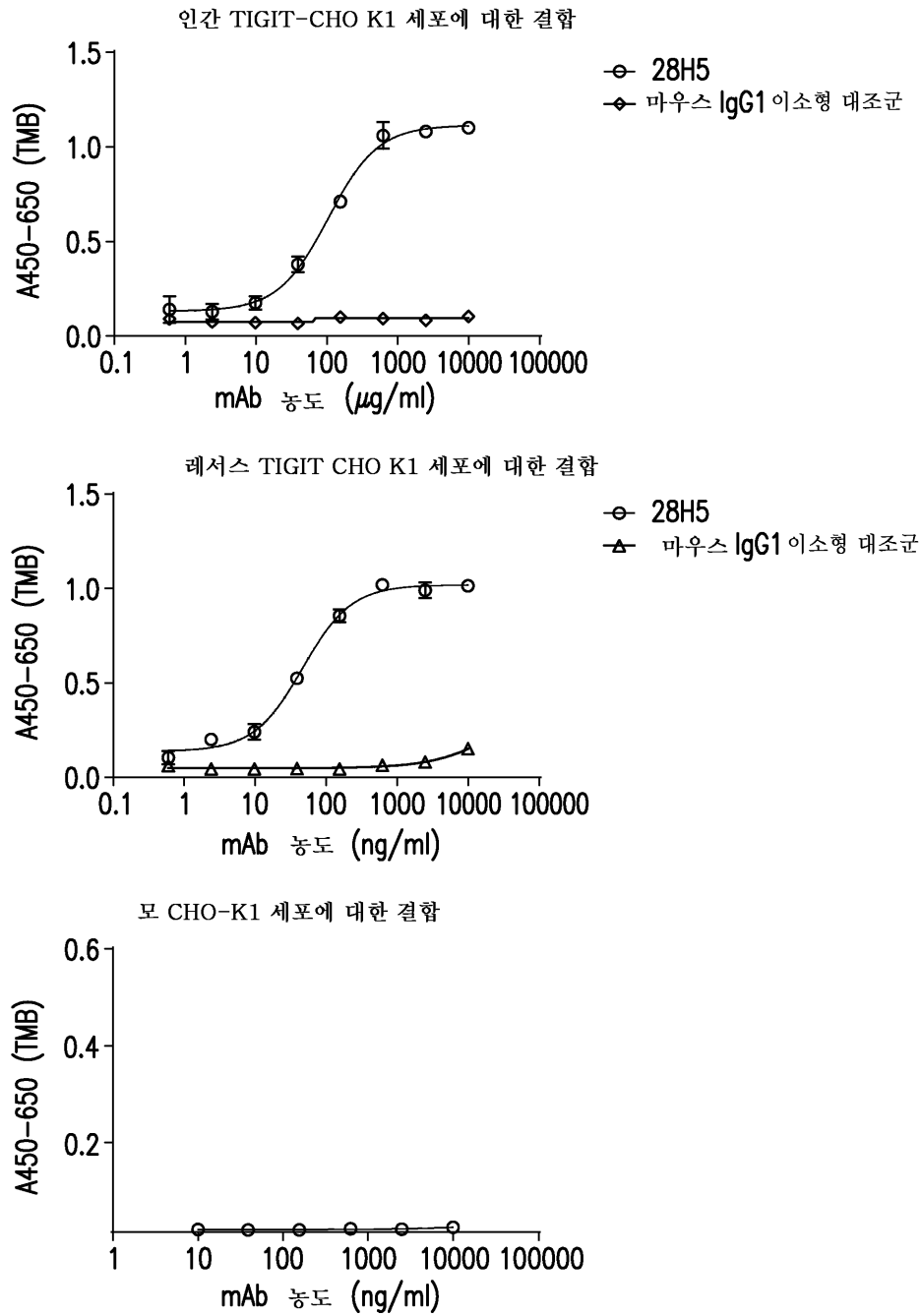
[0550]

도면

도면1

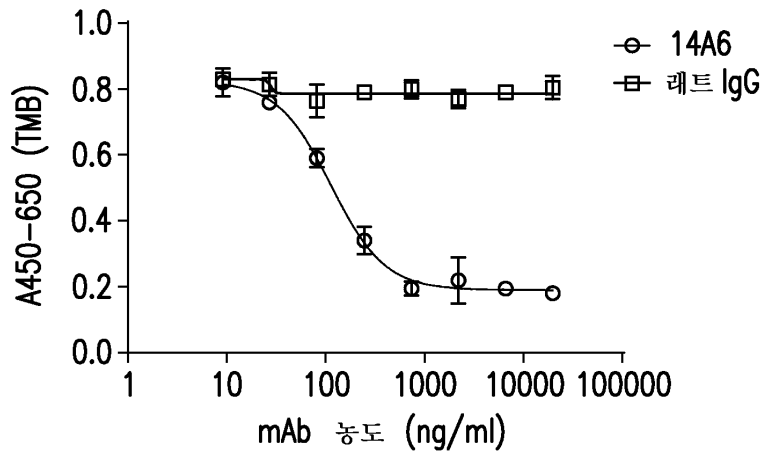


도면2

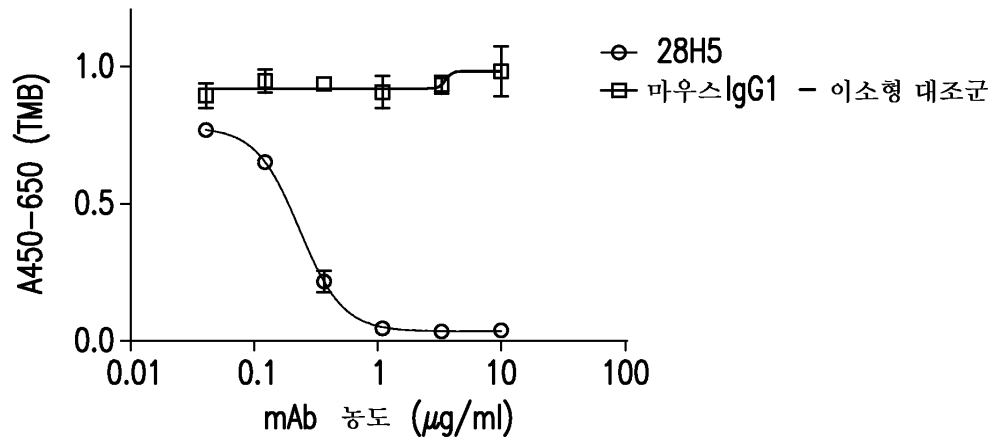


도면3

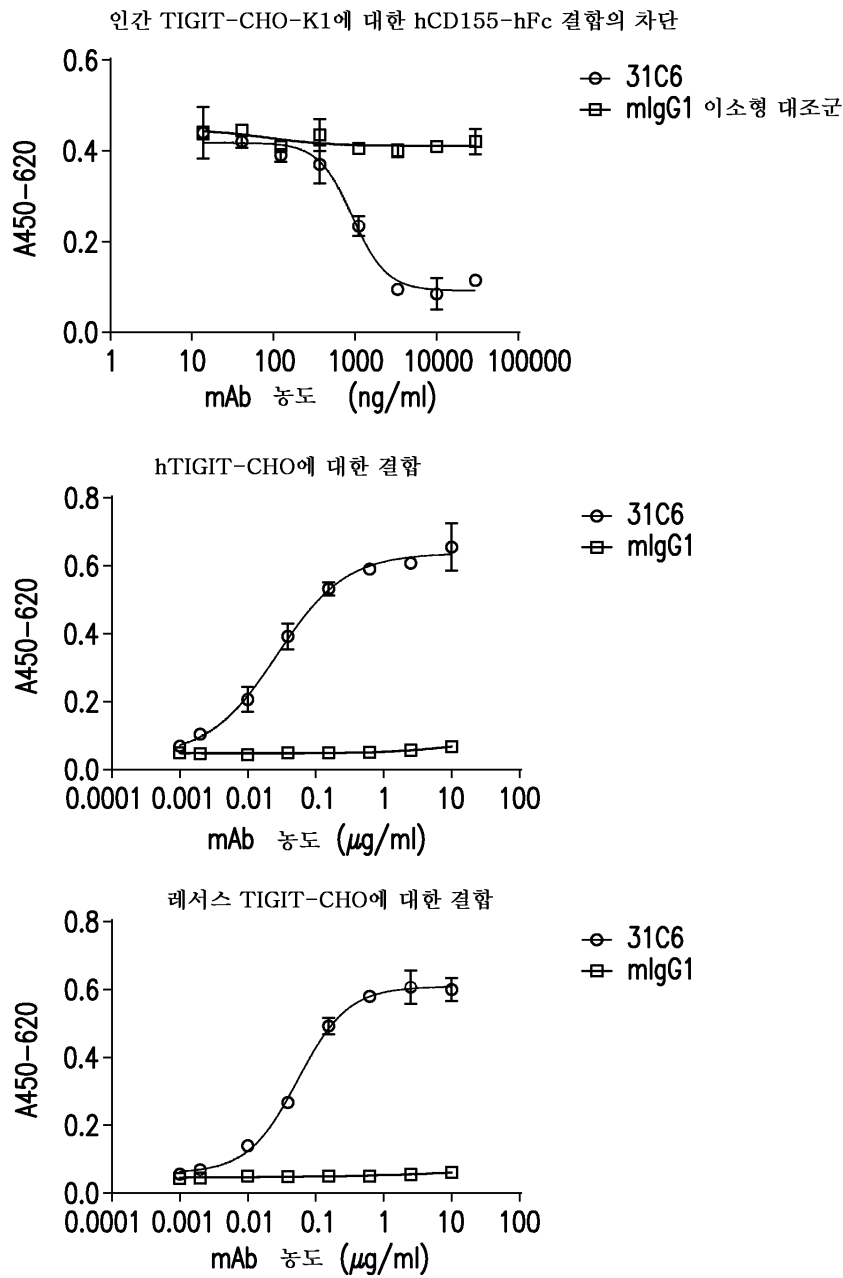
인간 TIGIT-CHO-K1에 대한 hCD155-hFc 결합의 차단



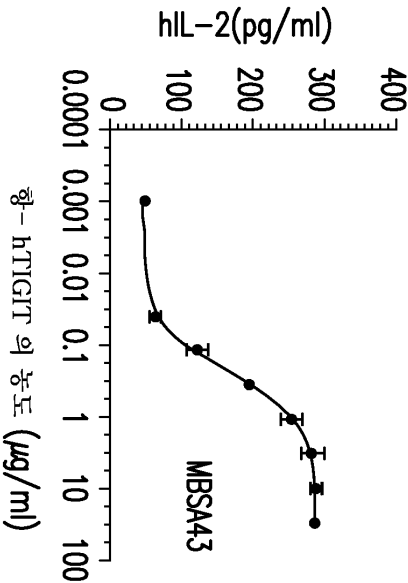
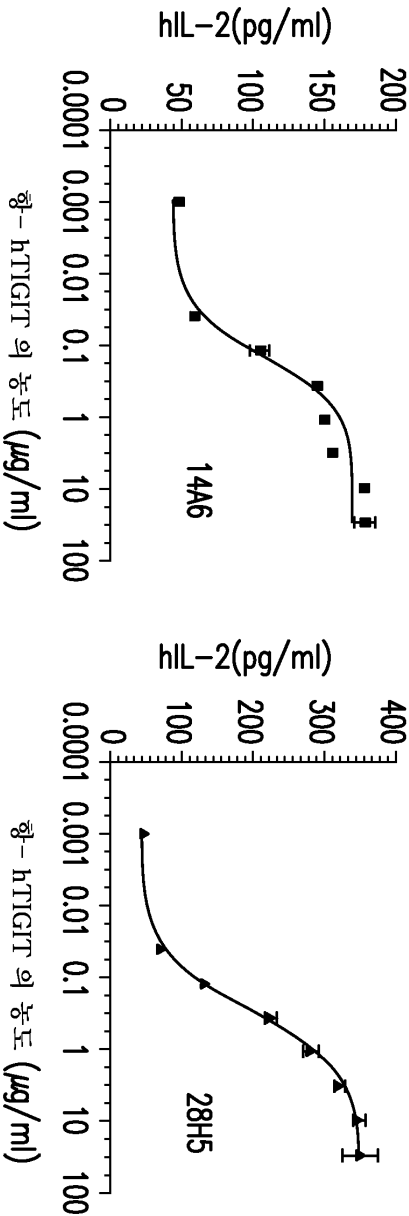
인간 TIGIT CHO 세포에 대한 hCD155-hFc 결합의 차단



도면4



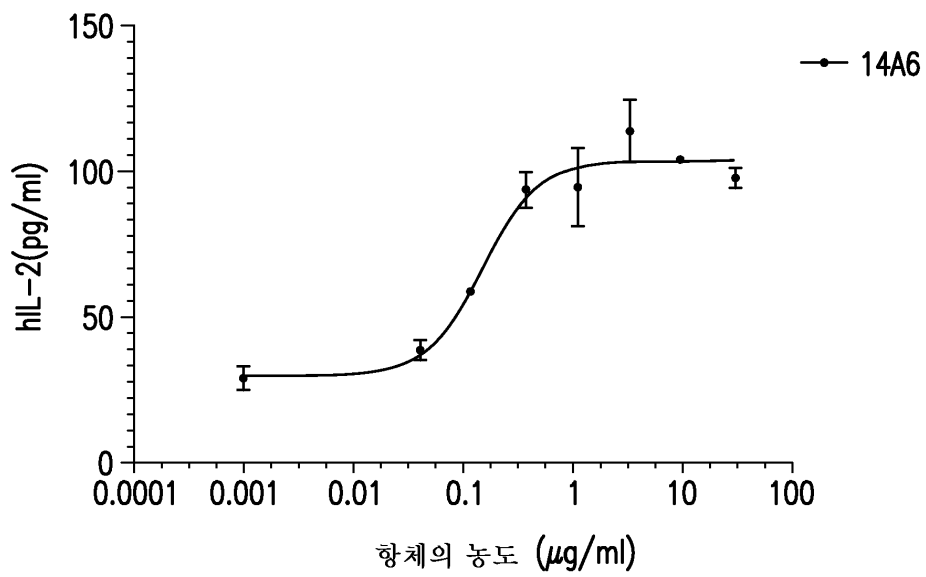
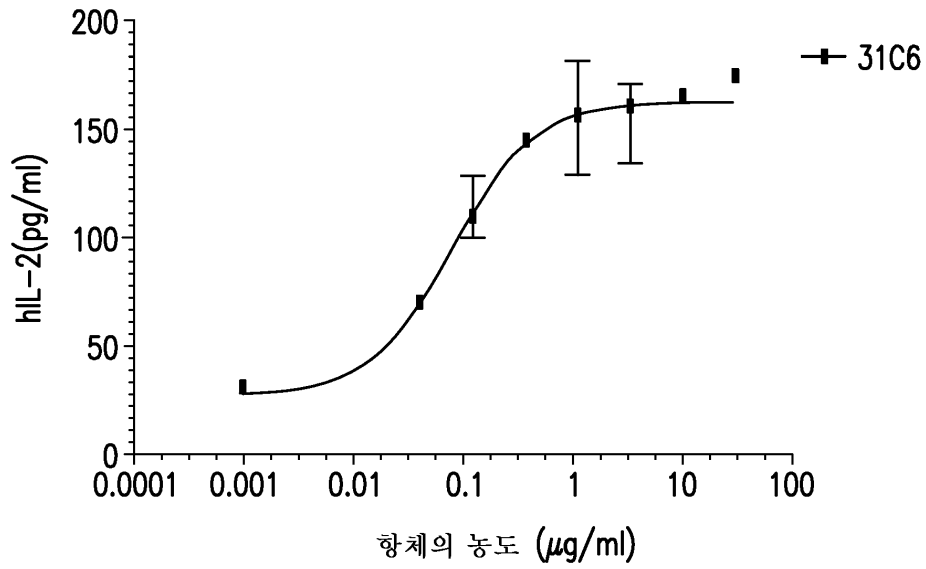
항-인간 TTIGT 항체를 세포-기반 기능적 검정으로 적정



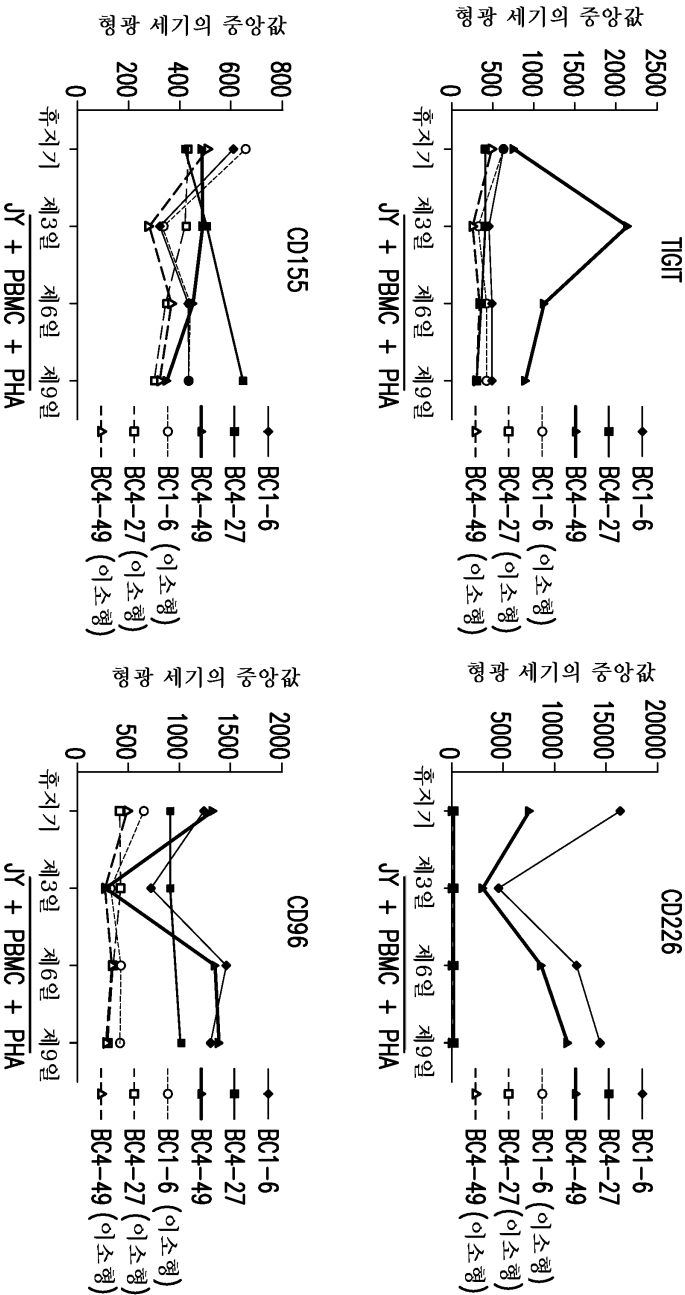
도면5

도면6

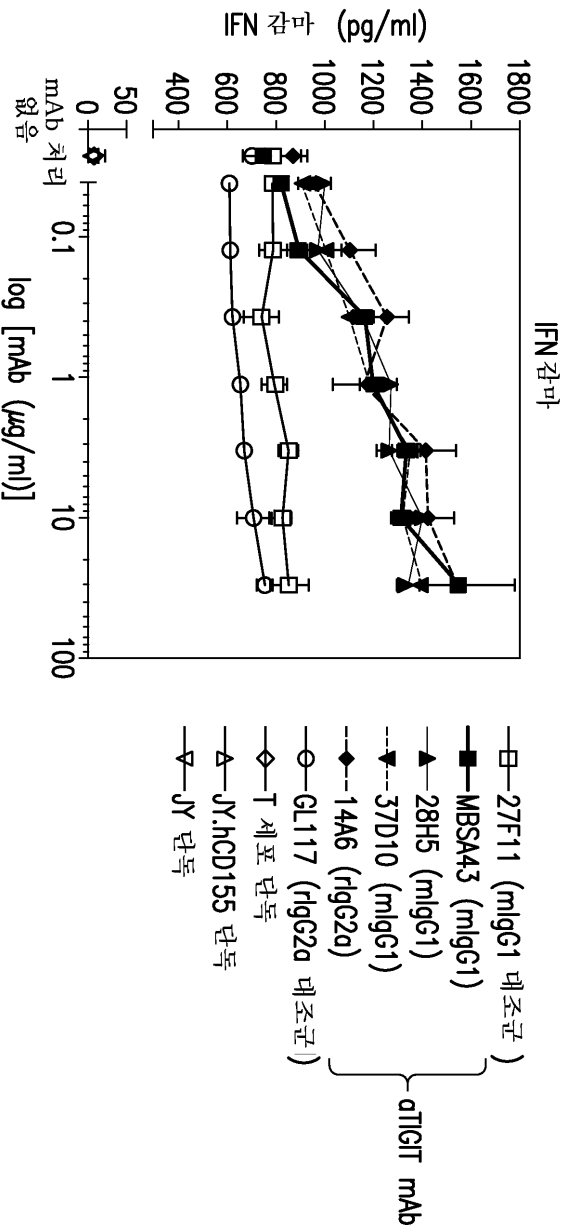
항-인간 TIGIT 항체를 세포-기반 기능적 검정으로 적정



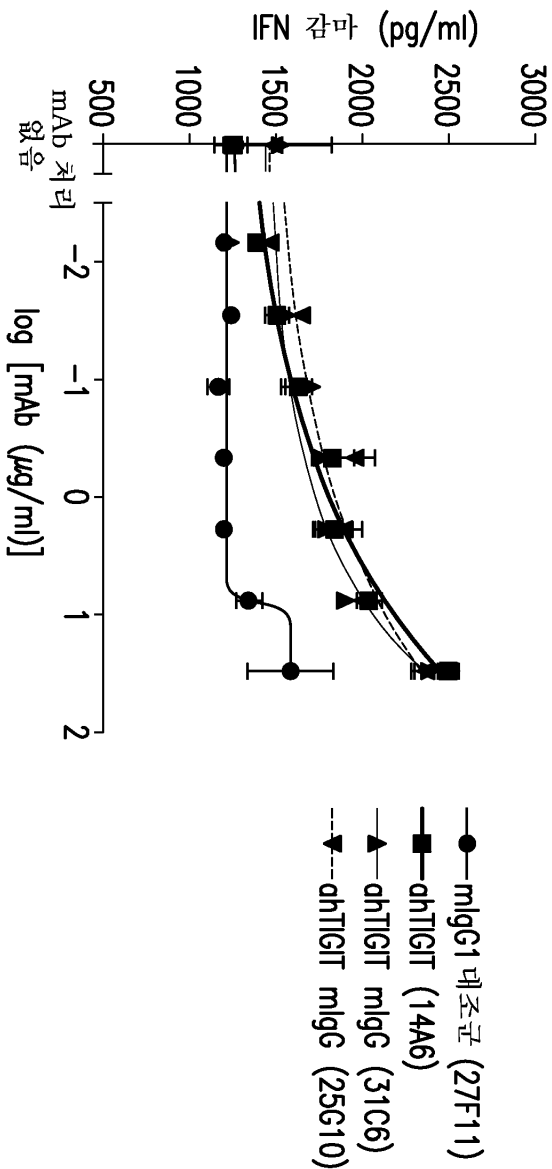
도면7



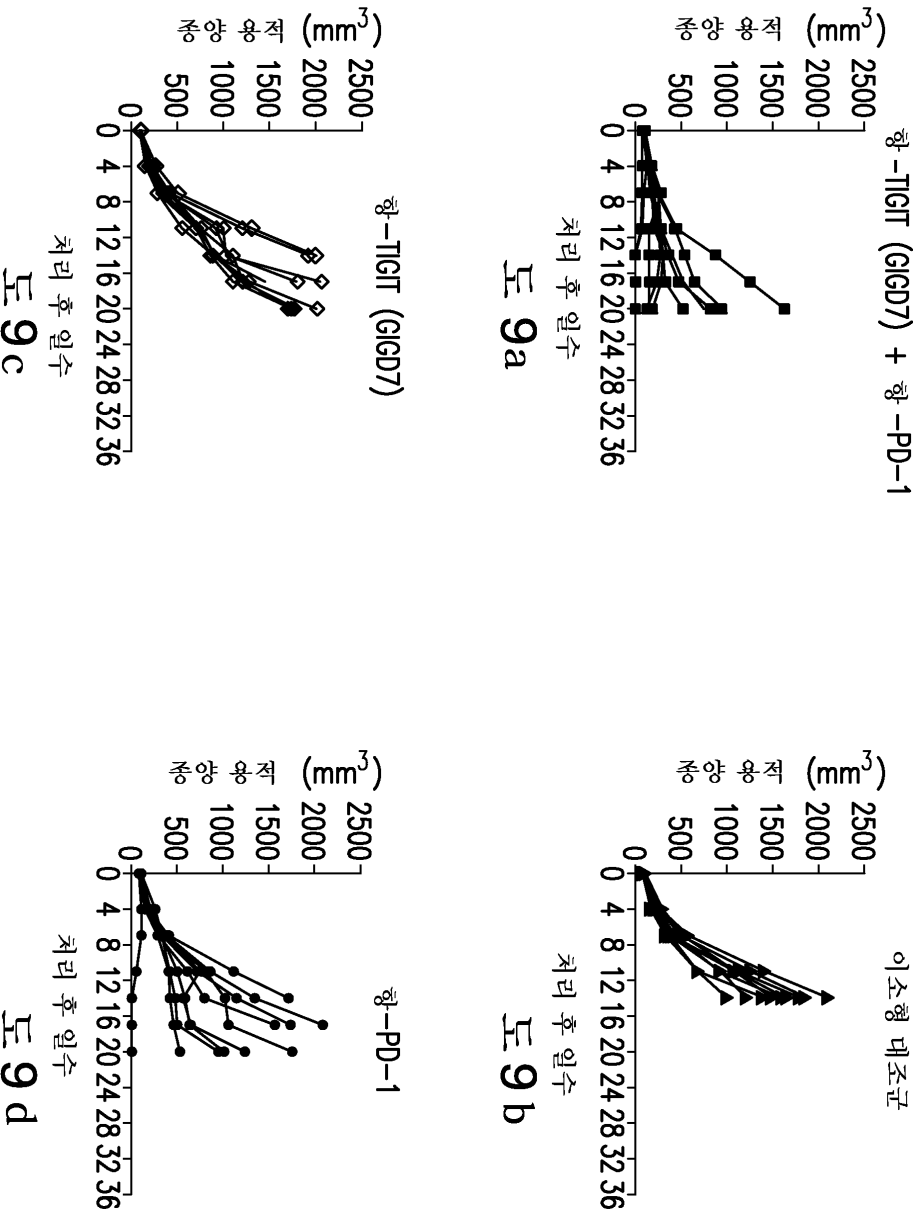
도면8a



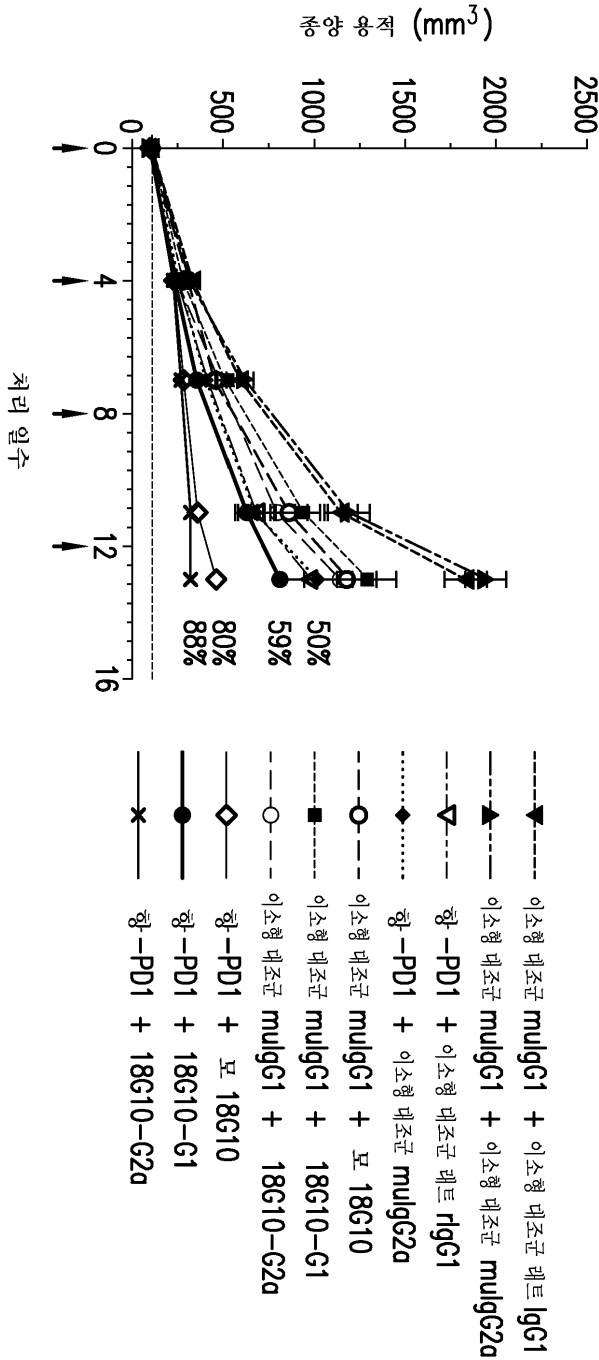
도면8b



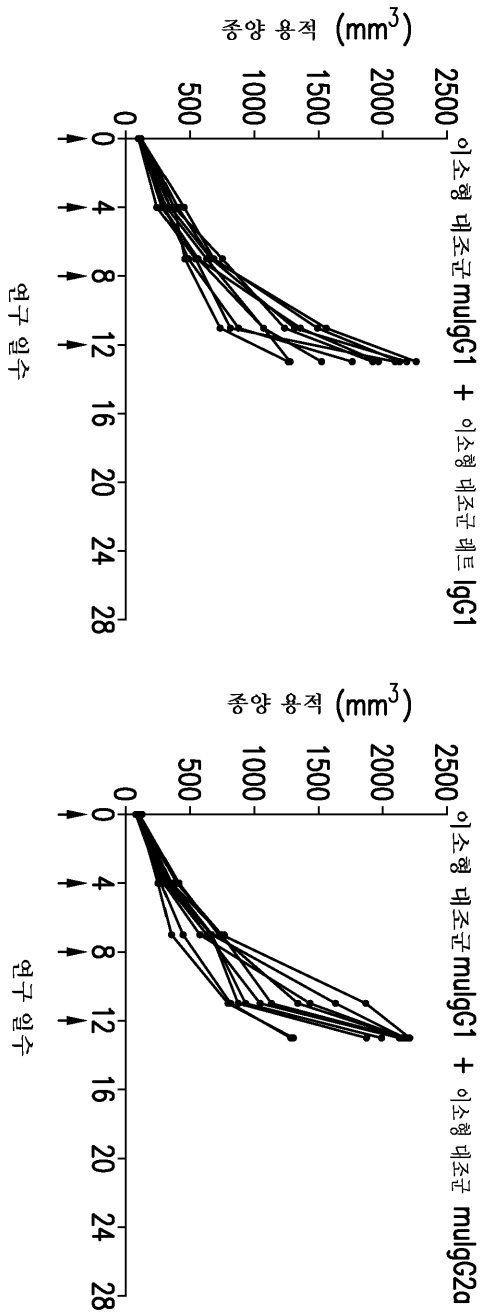
도면9



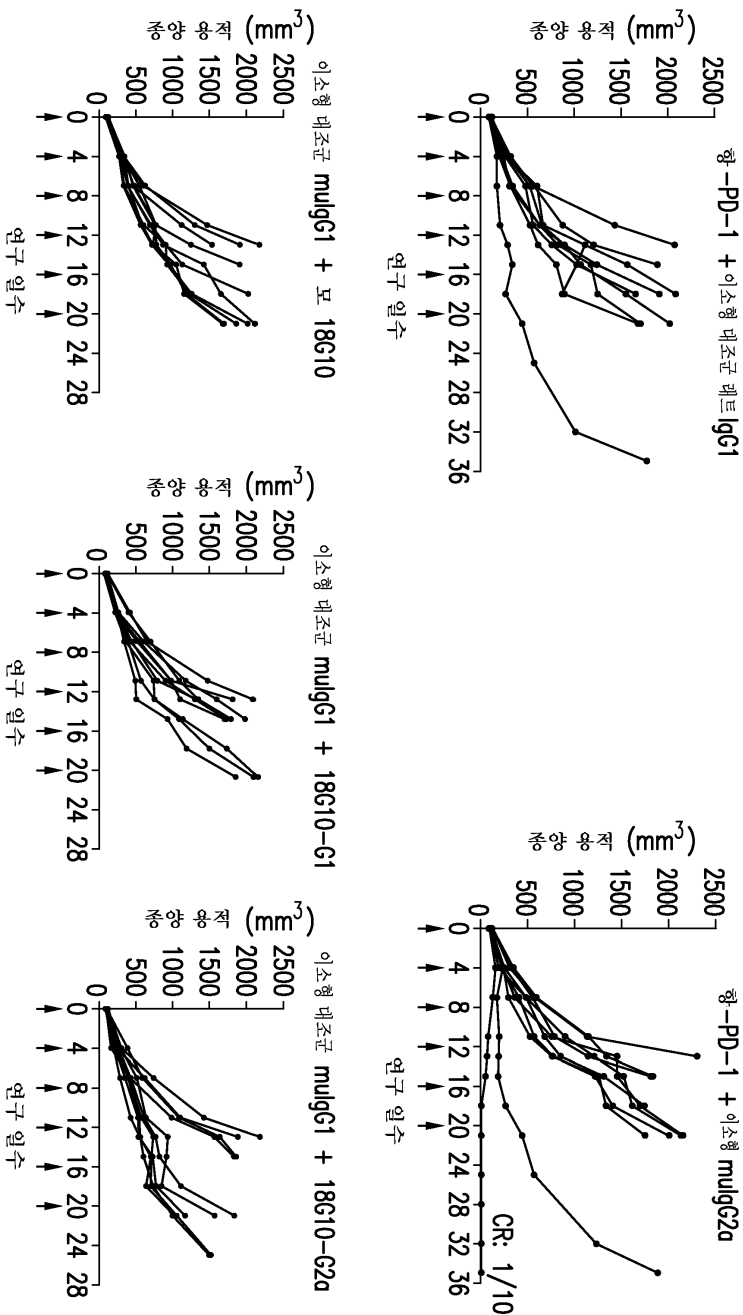
도면10



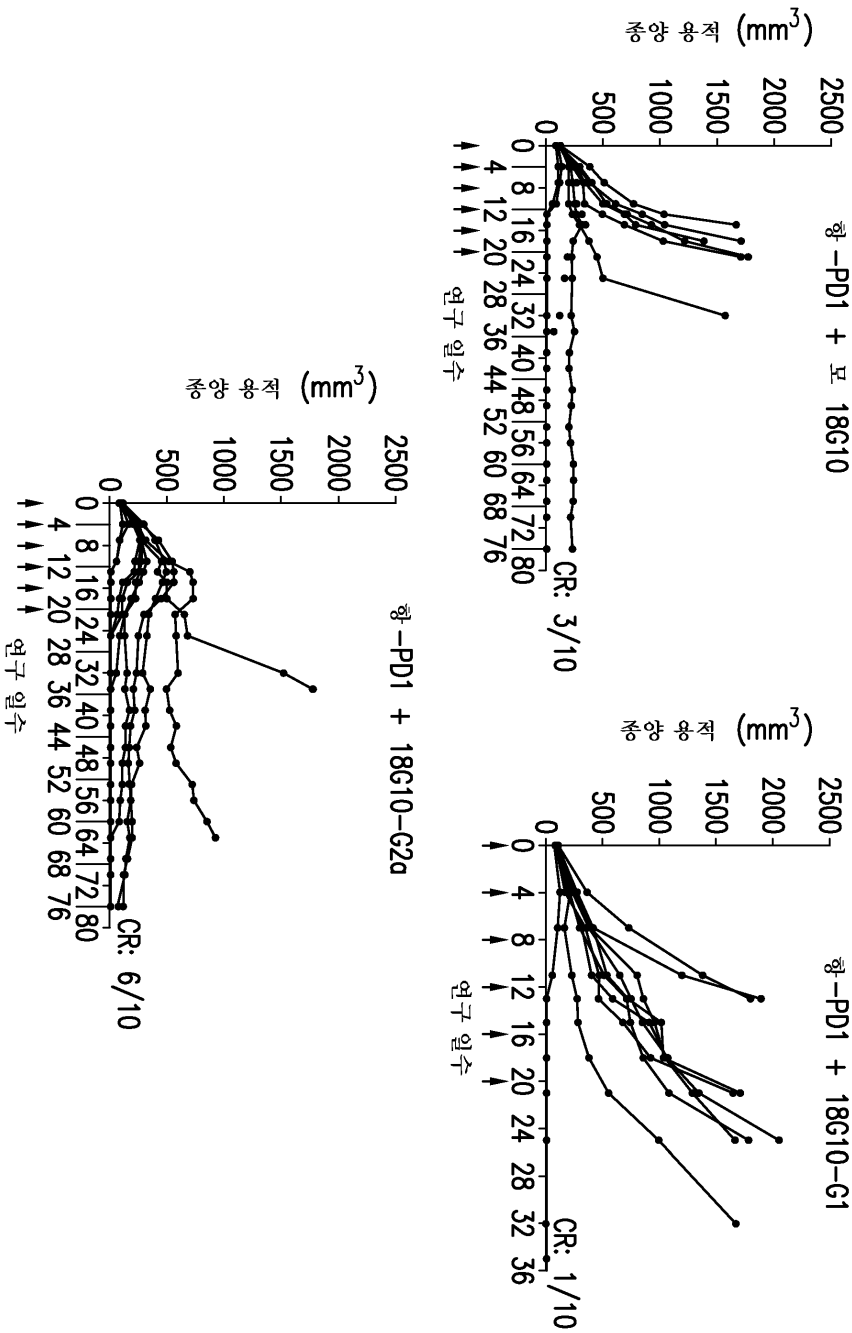
도면11a



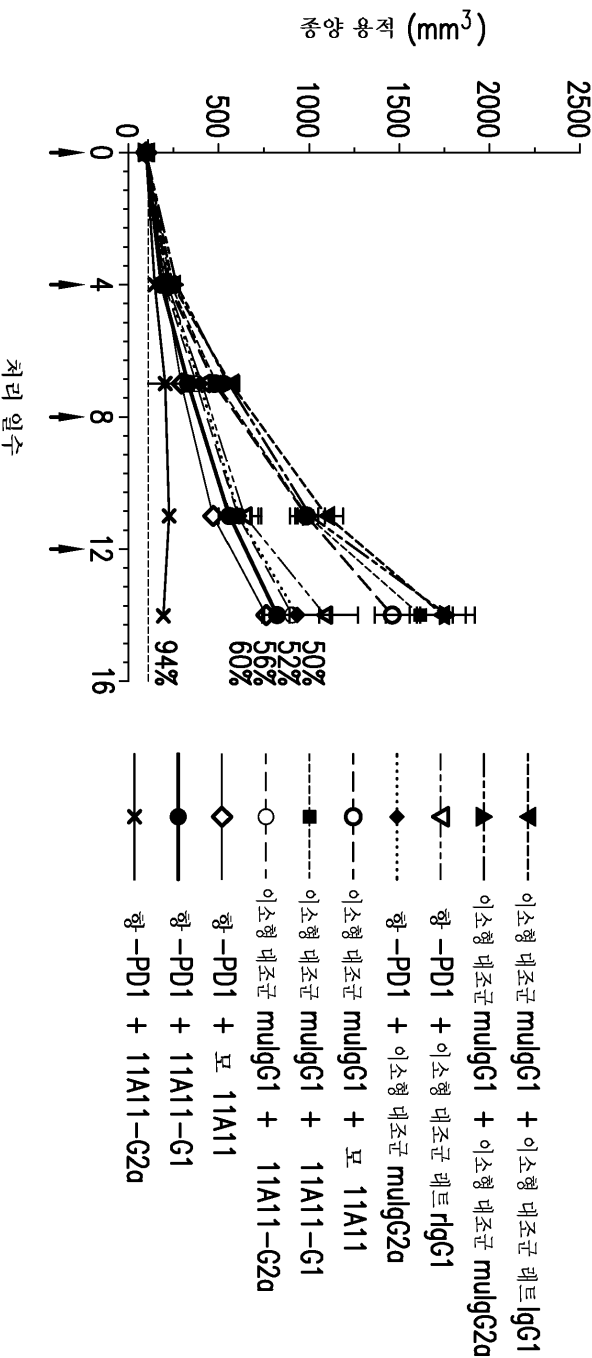
도면11b



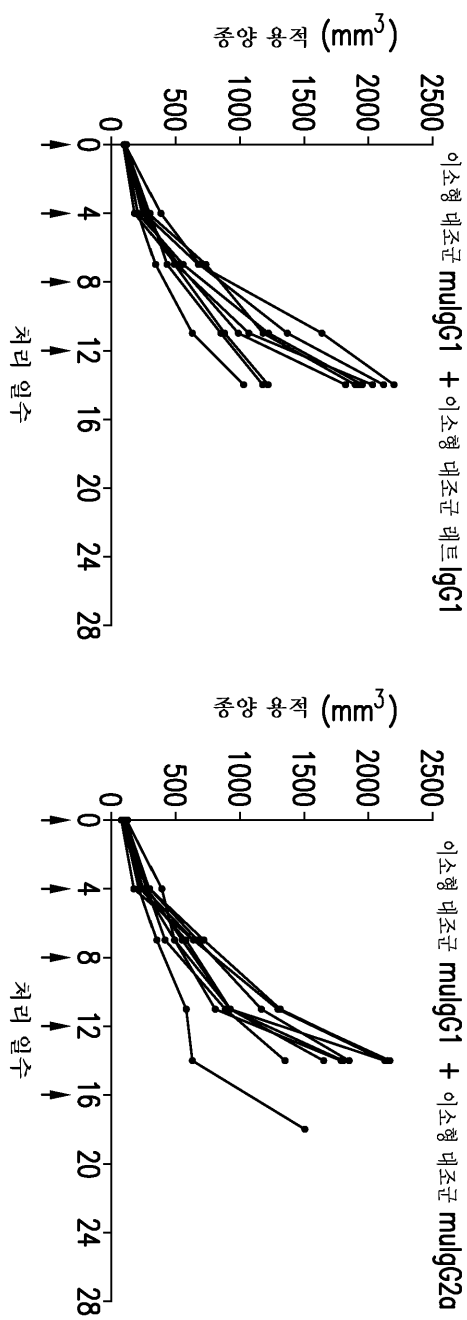
도면11c



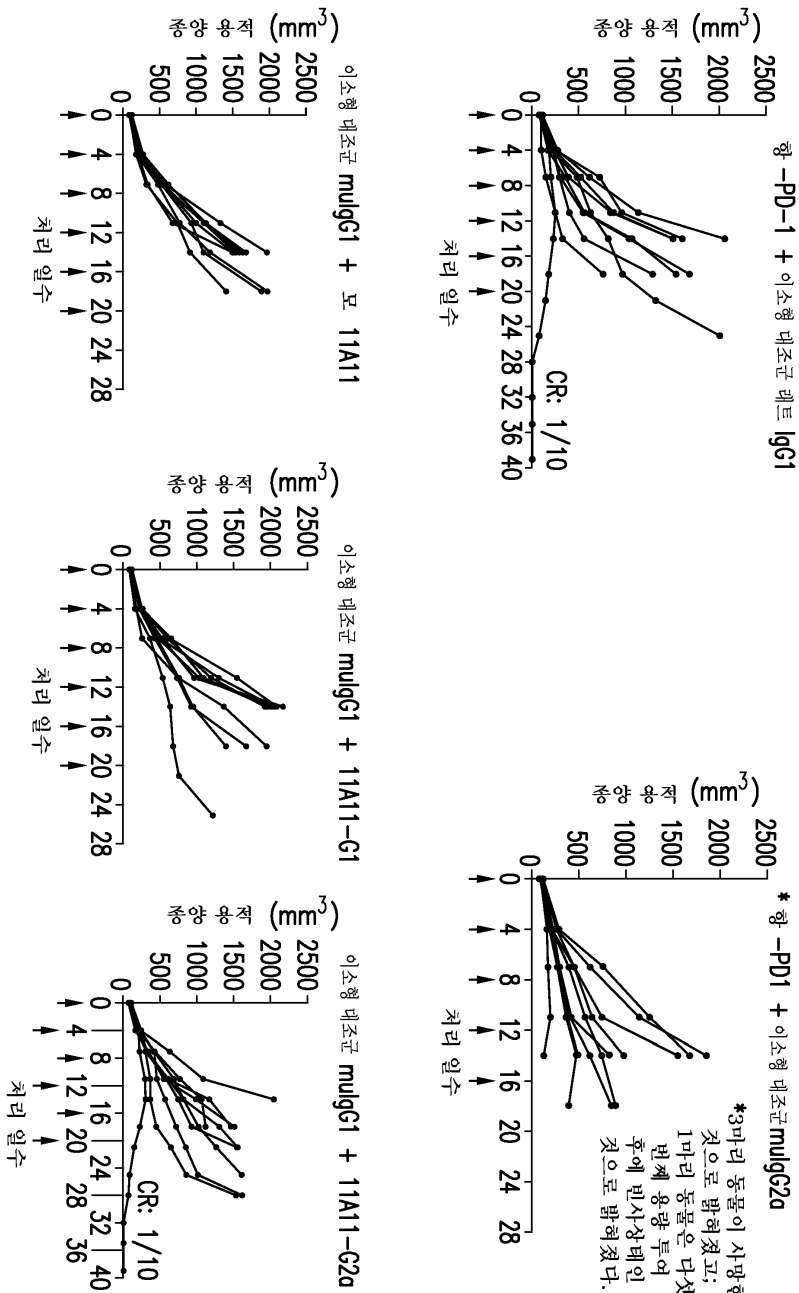
도면12



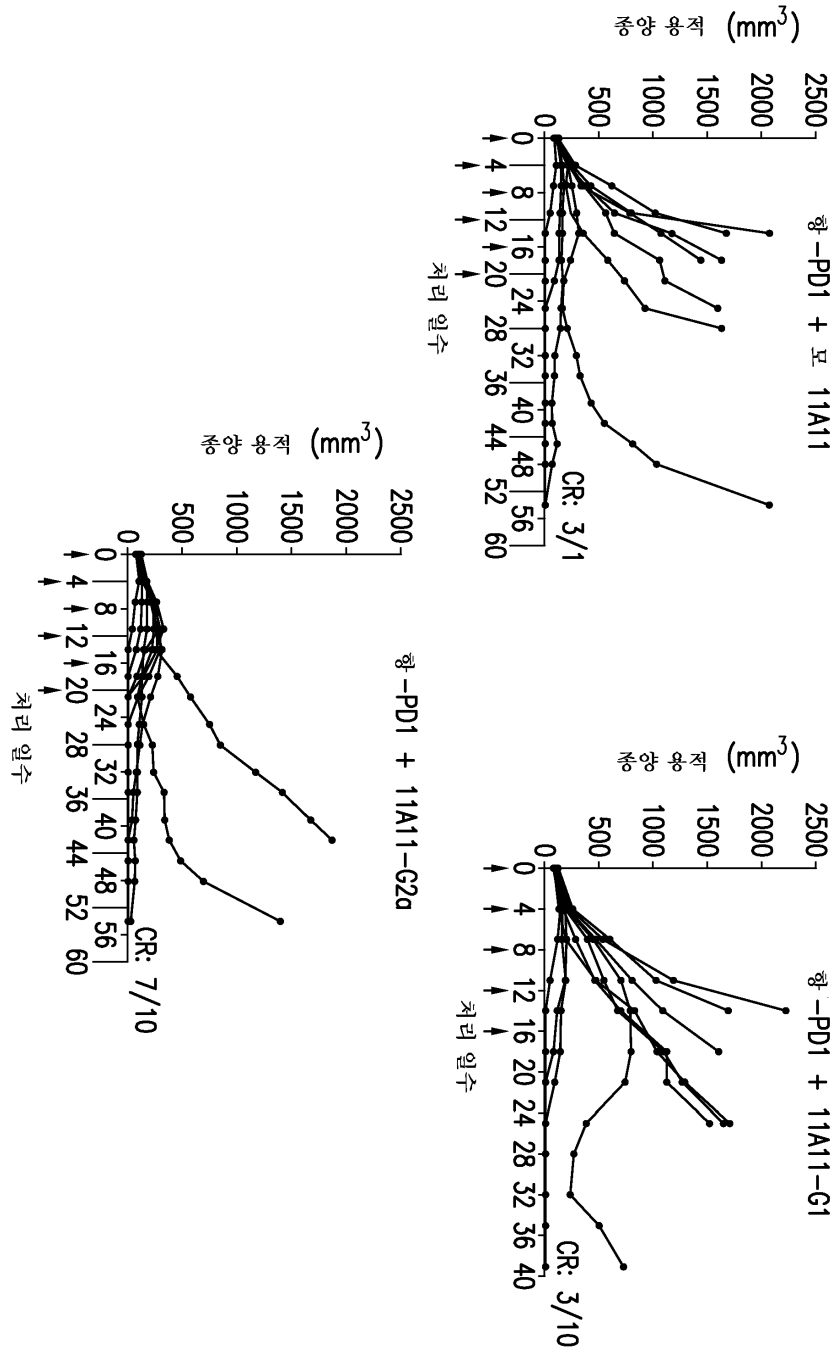
도면13a



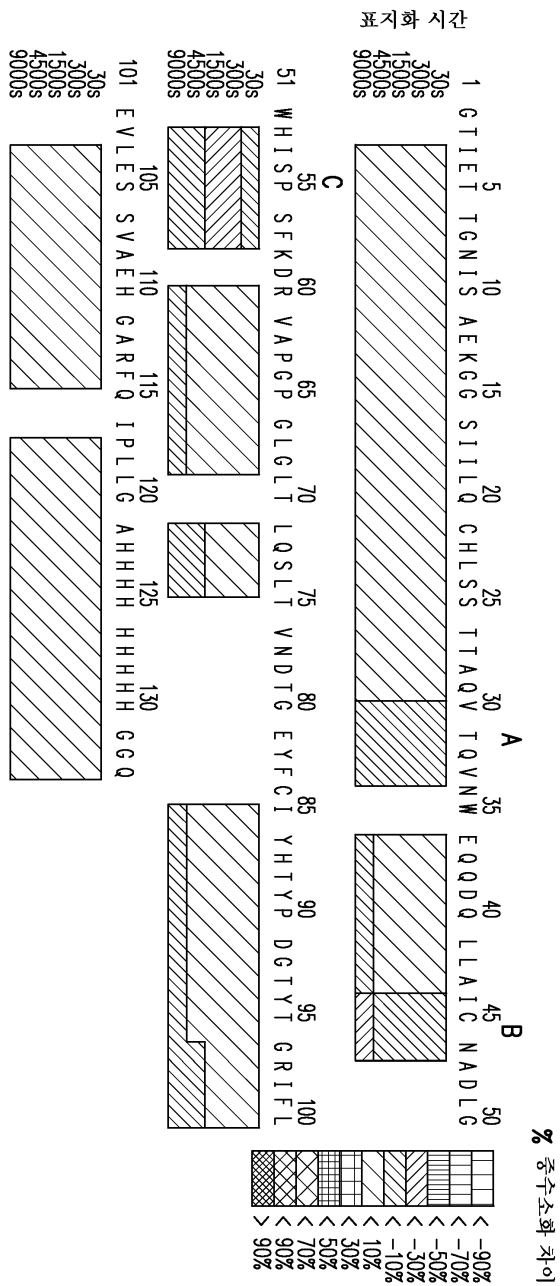
도면13b



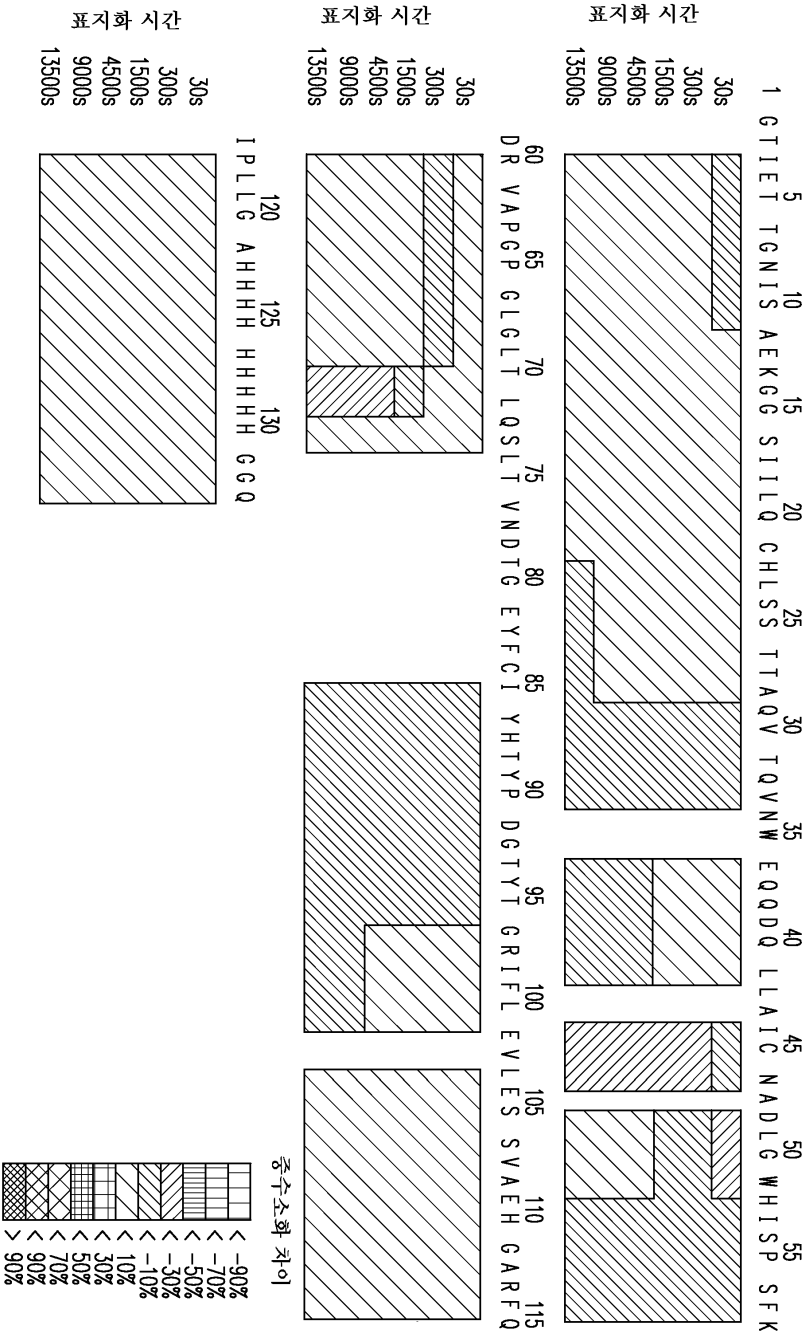
도면13c



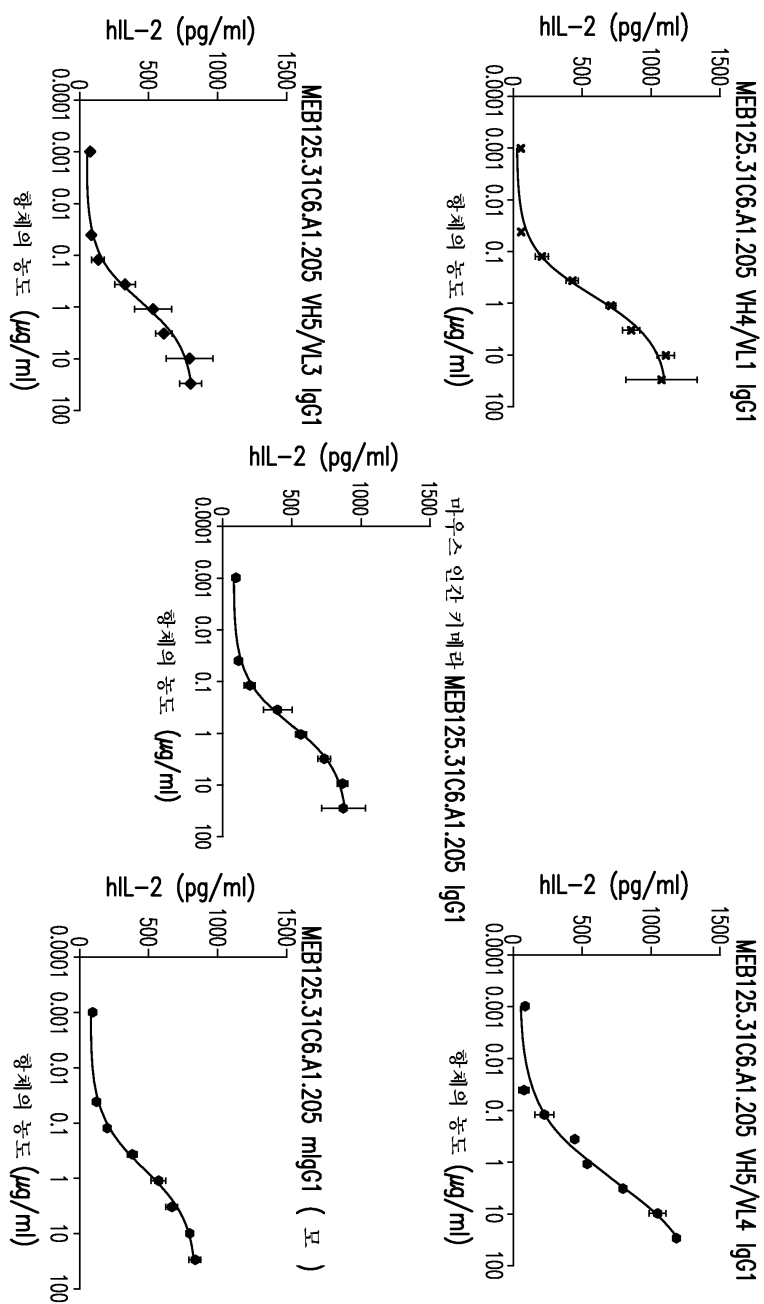
도면14



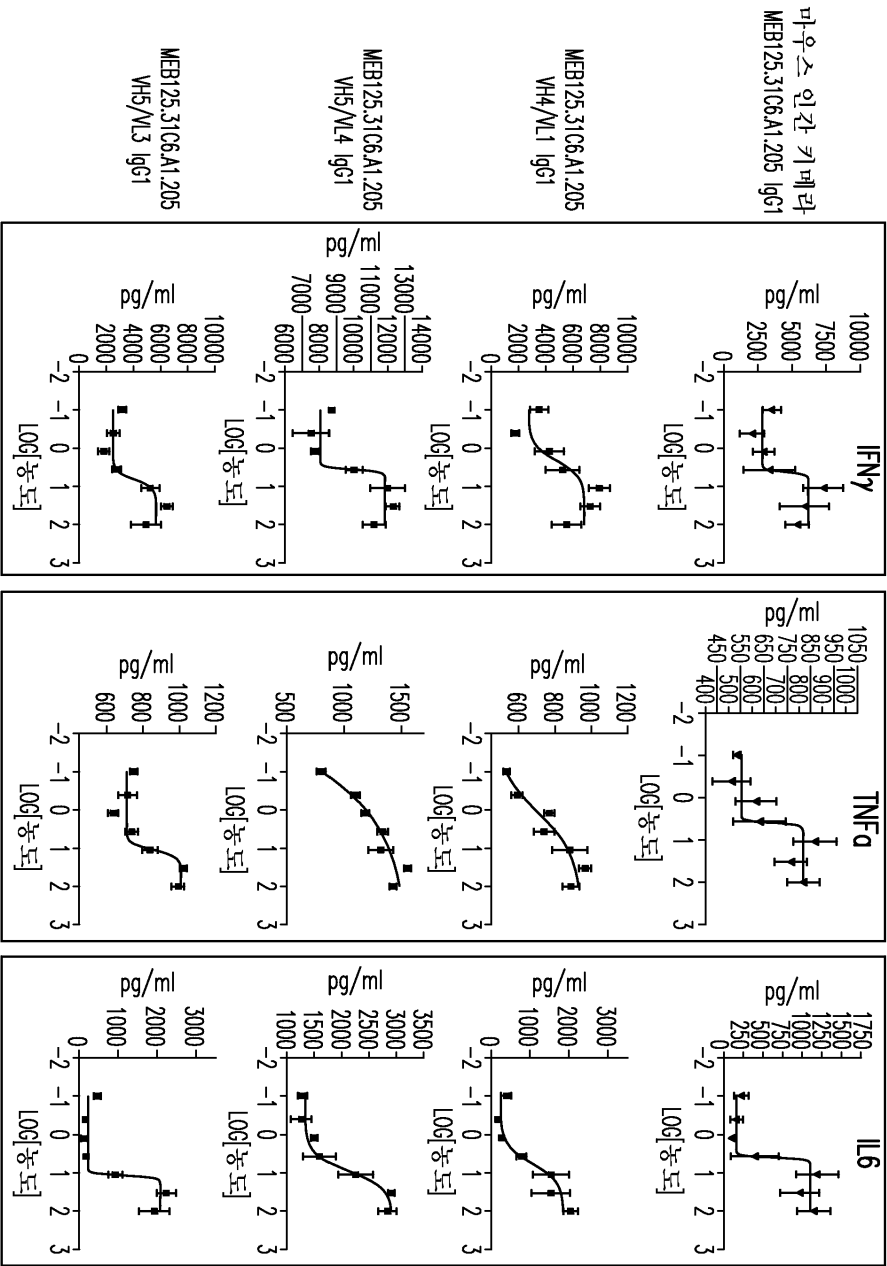
도면15



도면16



도면17



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> WILLIAMS, SYBIL M. G.
LAFACE, DRAKE
FAYADAT-DILMAN, LAURENCE
RAGHUNATHAN, GOPALAN
LIANG, LINDA
SEGHEZZI, WOLFGANG

<120> ANTI-TIGIT ANTIBODIES

<130> 23808-US-PCT

<140><141><150> 62/126,733

<151> 2015-03-02

<150> 62/038,912

<151> 2014-08-19

<160> 167

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 1

Ser Asp Tyr Trp Gly

1 5

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 2

Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 3

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 3

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 4

Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 5

Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr

1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 6

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr

1 5

<210> 7

<211> 127

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 7

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met Glu Trp Met

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu

65 70 75 80

Gln Leu His Ser Val Thr Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Ser Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Pro Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 8

<211> 106

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 8

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Glu Ala Pro Lys Phe Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Leu Lys
100 105

<210> 9

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 9

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 10

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 10

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 11

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 11

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 12

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 12

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ser Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 13

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 13

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asp

20 25 30
 Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45
 Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80
 Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95
 Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110
 Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 14

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 14

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 15

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 15

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ser Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60
Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 16

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 16

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ser Ser Asp
 20 25 30
 Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Ile Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys	Leu	His	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala
				85					90					95	
Arg	Met	Pro	Ser	Phe	Ile	Thr	Leu	Ala	Ser	Leu	Ser	Thr	Trp	Glu	Gly
				100					105					110	
Tyr	Phe	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	
				115				120					125		

<210> 17

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 17

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 18

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 18

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 19
<211> 127
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
Humanized antibody chain polypeptide
<400> 19
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp
20 25 30
Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 20

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 20

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Ser Ser Ile Ser Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 21

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 21

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 22

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 22

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110
Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 23

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 23

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Ser Ser Ile Ser Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110
Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 24

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 24

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Ser Ser Ile Ser Ser Asp
20 25 30
Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60
Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110
Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 25

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 25

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 26

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 26

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 27

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 27

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 28

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 28

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 29

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 29

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Phe Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr

85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 30

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 30

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Phe Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 31

<211> 244

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Met Arg Trp Cys Leu Leu Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala

1 5 10 15

Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn

20 25 30
 Ile Ser Ala Glu Lys Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser
 35 40 45
 Ser Thr Thr Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln
 50 55 60

 Leu Leu Ala Ile Cys Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser
 65 70 75 80
 Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln
 85 90 95
 Ser Leu Thr Val Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr
 100 105 110
 Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu
 115 120 125

 Ser Ser Val Ala Glu His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly
 130 135 140
 Ala Met Ala Ala Thr Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val
 145 150 155 160
 Val Ala Leu Thr Arg Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu
 165 170 175
 Gly Asp Leu Arg Arg Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser
 180 185 190

 Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala
 195 200 205
 Gly Leu Cys Gly Glu Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp
 210 215 220
 Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe
 225 230 235 240
 Thr Glu Thr Gly

<210> 32

<211> 245

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 32

Met Arg Trp Cys Leu Phe Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala

1	5	10	15
Pro	Leu	Ala	Ser
	Gly	Met	Met
	Thr	Gly	Thr
	Ile	Glu	Thr
	Thr	Gly	Asn
20	25	30	
Ile	Ser	Ala	Lys
	Lys	Gly	Gly
	Ser	Val	Ile
	Leu	Gln	Cys
	His	Leu	Ser
35	40	45	
Ser	Thr	Met	Ala
	Gln	Val	Thr
	Gln	Val	Asn
	Trp	Glu	Gln
	His	Asp	His
50	55	60	
Ser	Leu	Leu	Ala
	Ile	Arg	Asn
	Ala	Glu	Leu
	Gly	Trp	His
	Ile	Tyr	Pro

65	70	75	80
Ala	Phe	Lys	Asp
	Arg	Val	Ala
	Pro	Gly	Pro
	Gly	Leu	Gly
	Leu	Thr	Leu
85	90	95	
Gln	Ser	Leu	Thr
	Met	Asn	Asp
	Thr	Gly	Glu
	Tyr	Phe	Cys
	Thr	Tyr	His
100	105	110	
Thr	Tyr	Pro	Asp
	Gly	Thr	Tyr
	Arg	Gly	Arg
	Ile	Phe	Leu
	Glu	Val	Leu
115	120	125	
Glu	Ser	Ser	Val
	Ala	Glu	His
	Ser	Ala	Arg
	Phe	Gln	Ile
	Pro	Leu	Leu

130	135	140
Gly	Ala	Met
	Ala	Met
	Met	Leu
	Val	Val
	Ile	Cys
	Ile	Ala
	Val	Ile
	Val	
145	150	155
Val	Val	Val
	Leu	Ala
	Arg	Lys
	Lys	Lys
	Ser	Leu
	Arg	Ile
	His	Ser
	Val	
165	170	175
Glu	Ser	Gly
	Leu	Gln
	Arg	Lys
	Ser	Thr
	Gly	Gln
	Glu	Glu
	Gln	Ile
	Pro	
180	185	190
Ser	Ala	Pro
	Ser	Pro
	Pro	Gly
	Ser	Cys
	Val	Gln
	Ala	Glu
	Ala	Ala
	Pro	

195	200	205
Ala	Gly	Leu
	Cys	Gly
	Glu	Gln
	Gln	Gly
	Asp	Asp
	Cys	Ala
	Glu	Leu
	His	
210	215	220
Asp	Tyr	Phe
	Asn	Val
	Leu	Ser
	Tyr	Arg
	Ser	Leu
	Gly	Ser
	Cys	Ser
	Phe	

225						230						235						240
Phe	Thr	Glu	Thr	Gly														
					245													
<210> 33																		
<211> 447																		
<212> PRT																		
<213> Artificial Sequence																		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic																		
Antibody chain polypeptide																		
<400> 33																		
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Val	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala			
				5					10					15				
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr			
				20					25					30				
Tyr	Met	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met			
				35					40					45				
Gly	Gly	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Phe	Asn	Glu	Lys	Phe			
				50					55					60				
Lys	Asn	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Thr	Asp	Ser	Ser	Thr	Thr	Thr	Ala	Tyr			
				65					70					75				
Met	Glu	Leu	Lys	Ser	Leu	Gln	Phe	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
				85					90					95				
Ala	Arg	Arg	Asp	Tyr	Arg	Phe	Asp	Met	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln			
				100					105					110				
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val			
				115					120					125				
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala			
				130					135					140				
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser			
				145					150					155				
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val			
				165					170					175				

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 34

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Antibody chain polypeptide

<400> 34

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 35
 <211> 440
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 Antibody chain polypeptide
 <400>
 35
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 100 105 110
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
 115 120 125

 Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp

130	135	140	
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr			
145	150	155	160
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr			
	165	170	175
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys			
	180	185	190
Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp			
	195	200	205
Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala			
	210	215	220
Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro			
225	230	235	240
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val			
	245	250	255
Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val			
	260	265	270
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln			
	275	280	285
Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln			
	290	295	300
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly			
305	310	315	320
Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro			
	325	330	335
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr			
	340	345	350
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser			
	355	360	365
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr			
	370	375	380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 385 390 395 400
 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
 405 410 415
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 420 425 430
 Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440

<210> 36

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Antibody chain polypeptide

<400> 36

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210
 <210> 37
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 37
 Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
 20 25 30
 Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125
Ser

<210> 38

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 38

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
20 25 30
Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110
Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 39

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 39

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 40

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 40

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Lys Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95
 Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110
 Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 41

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 41

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
 20 25 30
 Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Met Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110
 Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 42

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 42

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Lys Met Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 43

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 43

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 44

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 44

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Lys Met Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 45

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 45

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 46

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 46

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 47

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 47

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Pro Gly

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45
Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95
Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110
Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 48

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 48

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 49

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 49

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1	5	10	15
Asp	Arg	Val	Thr
Ile	Thr	Cys	Lys
Ala	Ser	Gln	Ser
Ile	His	Lys	Asn
20	25	30	
Leu	Ala	Trp	Tyr
Gln	Gln	Lys	Pro
Gly	Lys	Ala	Pro
Lys	Phe	Leu	Ile
35	40	45	
Tyr	Tyr	Ala	Asn
Ser	Leu	Gln	Thr
Gly	Val	Pro	Ser
Arg	Phe	Ser	Gly
50	55	60	
Ser	Gly	Ser	Gly
Thr	Asp	Phe	Thr
Leu	Thr	Ile	Ser
Ser	Leu	Gln	Pro

65	70	75	80
Glu	Asp	Phe	Ala
Thr	Tyr	Tyr	Cys
Gln	Gln	Tyr	Tyr
Ser	Gly	Trp	Thr
85	90	95	
Phe	Gly	Gly	Gly
Thr	Lys	Val	Glu
Ile	Lys		
100	105		

<210> 50

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 50

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1	5	10	15
Asp	Arg	Val	Thr
Ile	Thr	Cys	Lys
Ala	Ser	Gln	Ser
Ile	His	Lys	Asn
20	25	30	

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 51

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 51

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 52

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 52

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1	5	10	15
Asp	Arg	Val	Thr
Ile	Thr	Cys	Lys
Ala	Ser	Gln	Ser
Ile	His	Lys	Asn
20	25	30	
Leu	Ala	Trp	Tyr
Gln	Gln	Lys	Pro
Gly	Lys	Ala	Pro
Lys	Leu	Leu	Ile
35	40	45	
Tyr	Tyr	Ala	Asn
Ser	Leu	Gln	Thr
Gly	Ile	Pro	Ser
Arg	Phe	Ser	Gly
50	55	60	
Ser	Gly	Ser	Gly
Thr	Asp	Phe	Thr
Leu	Thr	Ile	Ser
Ser	Ser	Leu	Gln
Pro			

65	70	75	80
Glu	Asp	Phe	Ala
Thr	Tyr	Tyr	Cys
Gln	Gln	Tyr	Tyr
Ser	Gly	Trp	Thr
85	90	95	
Phe	Gly	Gly	Gly
Thr	Lys	Val	Glu
Ile	Lys		
100	105		

<210> 53

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Leader sequence heavy chains peptide

<400> 53

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly

1	5	10	15
Val	His	Ser	

<210> 54

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Leader sequence light chains peptide

<400> 54

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Thr

1 5 10 15

Asp Ala Arg Cys

20

<210> 55

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Heavy chain constant domain-IgG4 S228P polypeptide

<400> 55

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr

1 5 10 15

Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro

20 25 30

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

35 40 45

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

50 55 60

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr

65 70 75 80

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val

85 90 95

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe

100 105 110

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

115 120 125
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 130 135 140
 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 145 150 155 160
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 165 170 175

 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 180 185 190
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 195 200 205
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 210 215 220
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 225 230 235 240

 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 245 250 255
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 260 265 270
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 275 280 285
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 290 295 300

 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 56

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Kappa light chain constant domain polypeptide

<400> 56

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

1 5 10 15

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

20 25 30

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

35 40 45

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

65 70 75 80

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

85 90 95

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 57

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 57

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn

1 5 10

<210> 58

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 58

Tyr Ile Ser Asn Ser Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 59

Leu Ile Tyr Tyr Asp Tyr Gly Gly Ala Met Asn Phe

1 5 10

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 60

Lys Ala Ser Gln Gly Val Ser Thr Thr Val Ala

1 5 10

<210> 61

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 61

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr

1 5

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 62

Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 63

<211> 121

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 63

Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp

20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp

35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Asn Ser Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe

65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Thr Leu Ile Tyr Tyr Asp Tyr Gly Gly Ala Met Asn Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 64

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 64

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Gly Val Ser Thr Thr
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 65

Tyr Ala Ser Asn Leu Gln Thr

1 5

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 66

Tyr Ala Ser Ser Leu Gln Thr

1 5

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 67

Tyr Ala Ser Thr Leu Gln Thr

1 5

<210> 68

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 68

Tyr Ala Thr Thr Leu Gln Thr

1 5

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 69

Tyr Ala Ser Tyr Leu Gln Thr

1 5

<210> 70

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 70

Tyr Ala Asn Gln Leu Gln Thr

1 5

<210> 71

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 71

Tyr Ala Gly Ser Leu Gln Thr

1 5

<210> 72

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 72

Tyr Ala Ser Gln Leu Gln Thr

1 5

<210> 73

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 73

Tyr Ala Asp Ser Leu Gln Thr

1 5

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 74

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Phe Thr

1 5

<210> 75

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 75

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr

1 5

<210> 76

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 76

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr

1 5

<210> 77

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 77

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Thr

1 5

<210> 78

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 78

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Leu Thr

1 5

<210> 79

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 79

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Phe Glu Gly Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 80

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 80

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Tyr Glu Gly Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 81

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 81

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Ile Glu Gly Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 82

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 82

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Val Glu Gly Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 83

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 83

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Leu Glu Gly Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 84

<211> 363

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 84

gatgtgcagc ttcaggagtc gggacctggc ctggtgaaac cttctcagtc tctgtccctc 60

acctgcactg tcaactggcta ctcaatcacc agtgattatg cctggaactg gatccgacag 120

tttccaggaa acaaactgga gtggatgggc tacataagca acagtggtag cgctagctac 180
aaccatctc tcaaagtcg catctctatc actcgagaca catccaagaa ccagttcttc 240

ctgcagttga attctgtgac tactgaggac acagccacat attactgtgc aaccctgac 300
tactatgatt acgggggggc tatgaacttc tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 85
<211> 321
<212> DNA
<213> Mus musculus
<400> 85

gacattgtga tgaccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtc ggggtgtgagt actactgtgg cctggtatca acagaaacca 120
ggacaatctc ctaaactact gatttactcg gcacccacc ggtacactgg agtcctgat 180

cgcttcactg gcagtggatc tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcagtct 240
gaagacctgg cagtttatta ctgtcagcat tattatagta ctccgtggac gtccggtgga 300
ggcaccaagc tggaaatcaa a 321

<210> 86
<211> 330
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 86

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85

90

95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100

105

110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115

120

125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130

135

140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145

150

155

160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165

170

175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180

185

190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195

200

205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210

215

220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225

230

235

240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245

250

255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260

265

270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275

280

285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290

295

300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305

310

315

320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

330

<210> 87

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Fusion protein polypeptide

<400> 87

Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys Gly Gly Ser

1 5 10 15

Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln Val Thr Gln

20 25 30

Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys Asn Ala Asp

35 40 45

Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly

50 55 60

Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn Asp Thr Gly

65 70 75 80

Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly

85 90 95

Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu His Gly Ala

100 105 110

Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly Ala His His His His His His His

115 120 125

His His Gly Gly Gln

130

<210> 88

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 88

Ser Tyr Val Met His

1 5

<210> 89

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 89

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 90

Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 91

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 91

Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 92

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 92

Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 93

Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu Thr

1 5

<210> 94

<211> 119

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 94

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 95

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 95

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val

35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Thr Leu Glu Leu Lys

100 105

<210> 96

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 96

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Arg Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Gly

1 5 10 15

<210> 97

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 97

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Leu Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Gly Phe

1 5 10 15

<210> 98

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 98

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Lys Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Gly

1 5 10 15

<210> 99

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 99

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Phe Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Gly

1 5 10 15

<210> 100

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 100

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Ser Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Gly

1 5 10 15

<210> 101

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 101

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Tyr Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Gly

1 5 10 15

<210> 102

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 102

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Val Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Gly

1 5 10 15

<210> 103

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 103

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Arg Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 104

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 104

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Asn Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1	5	10	15
Gly			

<210> 105

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 105

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gln Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1	5	10	15
Gly			

<210> 106

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 106

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Glu Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1	5	10	15
Gly			

<210> 107

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 107

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Leu Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 108

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 108

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Lys Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 109

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 109

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Ser Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 110

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 110

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Tyr Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 111

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 111

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Val Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 112

Ala Ala Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 113

Tyr Ala Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210>

114

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 114

Trp Ala Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 115

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 115

Ser Ala Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 116

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 116

Thr Ala Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 117

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 117

Ile Ala Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 118

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 118

Val Ala Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 119

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 119

Asn Asn Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 120

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 120

Asn Ile Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 121

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 121

Asn Leu Leu Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 122

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 122

Asn Thr Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 123

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 123

Asn Val Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 124

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 124

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ser Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 125

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 125

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ser Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly

100 105 110
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 126

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 126

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 127

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 127

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 128

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 128

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30
Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 129

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 129

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 130

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 130

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr
 20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 131

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 131

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 132

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 132

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu

85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 133

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

Humanized antibody chain polypeptide

<400> 133

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 134

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 134

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 135

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 135

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ser Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 136

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VH sequence polypeptide

<400> 136

Gln Val Gln Leu Met Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Pro Leu Thr Ser Tyr

20 25 30

Thr Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Ile Trp Ser Ser Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Leu Asn Ile Asn Arg Asp Ser Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu

65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys Thr

85 90 95

Lys Ser Gly Trp Ala Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 137

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VL sequence polypeptide

<400> 137

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Ile Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Leu Lys Leu Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Asn Ala Asn Ser Leu Gln Ala Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Gly Gly Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 138

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VH sequence polypeptide

<400> 138

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ala Trp Val Arg Leu Ala Pro Gln Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

 Ala Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Arg Thr His Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60
 Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Pro Lys Asn Ile Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Gly Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg His Thr Gly Thr Leu Asp Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Ile Val Ser Ser
 115

<210> 139

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VL sequence polypeptide

<400> 139

Asn Ile Val Met Ala Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Ile Ser Ala Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Asn Asn
 20 25 30
 Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

 35 40 45
 Phe Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Gly Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Lys Ser Val Gln Ala

65 70 75 80
 Glu Asp Ala Ala Phe Tyr Tyr Cys Gln Arg Ile Tyr Asn Phe Pro Thr
 85 90 95
 Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 140

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val or Leu

<400> 140

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Xaa Glu Gly Tyr
 1 5 10 15
 Phe Asp Phe

<210> 141

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Asn, Ser, Thr, Gly or Asp

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Ser, Asn, Ser, Thr, Tyr or Gln

<400> 141

Tyr Ala Xaa Xaa Leu Gln Thr

1 5

<210> 142

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 CDR peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val or Leu

<400> 142

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Xaa Thr

1 5

<210> 143

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 consensus polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Glu or Gln

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Pro or Ala

<220><221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

<223> Val or Leu

<220><221> MOD_RES

<222> (15)..(15)

<223> Ser or Pro

<220><221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> Gln, Glu or Gly

<220><221> MOD_RES
 <222> (17)..(17)
 <223> Ser or Thr
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (23)..(23)
 <223> Ser, Thr or Ala
 <220><221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> Thr or Ser
 <220><221> MOD_RES
 <222> (27)..(27)
 <223> Ile or Val
 <220><221> MOD_RES
 <222> (30)..(30)
 <223> Lys or Gln
 <220><221> MOD_RES
 <222> (37)..(37)
 <223> Pro or Phe
 <220><221> MOD_RES
 <222> (39)..(39)
 <223> Asn or Lys
 <220><221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Lys or Gly
 <220><221> MOD_RES
 <222> (43)..(43)
 <223> Met or Leu
 <220><221> MOD_RES
 <222> (44)..(44)
 <
 223> Met or Ile
 <220><221> MOD_RES
 <222> (45)..(45)
 <223> Ile or Val

<220><221> MOD_RES
 <222> (48)..(48)
 <223> Ser or Thr
 <220><221> MOD_RES
 <222> (67)..(67)
 <223> Thr or Ser
 <220><221> MOD_RES
 <222> (68)..(68)
 <223> Arg or Val
 <220><221> MOD_RES
 <222> (70)..(70)
 <223> Phe or Ser
 <220><221> MOD_RES
 <222> (71)..(71)
 <223> Gln or Lys
 <220><221> MOD_RES
 <222> (79)..(79)
 <223> His or Ser
 <220><221> MOD_RES
 <222> (81)..(81)
 <223> Thr or Ala
 <220><221> MOD_RES
 <222>
 > (83)..(83)
 <223> Asp or Ala
 <220><221> MOD_RES
 <222> (87)..(87)
 <223> Thr or Val
 <220><221> MOD_RES
 <222> (88)..(88)
 <223> Ser or Tyr
 <220><221> MOD_RES
 <222> (92)..(92)
 <223> Trp, Phe, Tyr, Ile or Val
 <220><221> MOD_RES

<222> (94)..(94)

<223> Met, Val, Leu, Ala, Arg, Asn, Pro, Gln, Glu, Gly, Ile

His, Lys, Phe, Ser, Thr, Trp or Tyr

<220><221> MOD_RES

<222> (110)..(110)

<223> Val, Thr or Leu

<220><221> MOD_RES

<222> (119)..(119)

<223> Ser, Gly or Tyr

<220><221>

> MOD_RES

<222> (122)..(122)

<223> Ala or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (123)..(123)

<223> Pro or Gln

<400> 143

Glu Val Gln Leu Gln Xaa Ser Gly Xaa Gly Leu Xaa Lys Pro Xaa Xaa

1 5 10 15

Xaa Leu Ser Leu Thr Cys Xaa Val Xaa Gly Xaa Ser Ile Xaa Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Xaa Arg Xaa Xaa Pro Gly Xaa Xaa Xaa Glu Trp Xaa

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Xaa Leu

65 70 75 80

Xaa Leu Xaa Ser Val Thr Xaa Xaa Asp Thr Ala Xaa Tyr Xaa Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Xaa Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Xaa Gly Thr Xaa Xaa Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 144
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 consensus polypeptide
 <220><221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Glu or Gln
 <220><221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Pro or Ala
 <220><221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Val or Leu
 <220><221> MOD_RES
 <222> (15)..(15)
 <223> Ser or Pro
 <220>
 ><221> MOD_RES
 <222> (16)..(16)
 <223> Glu or Gly
 <220><221> MOD_RES
 <222> (23)..(23)
 <223> Thr, Ala or Ser
 <220><221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> Ser or Thr
 <220><221> MOD_RES
 <222> (27)..(27)
 <223> Gly, Ser or Tyr
 <220><221> MOD_RES
 <222> (30)..(30)
 <223> Ser or Ala
 <220><221> MOD_RES

<222> (37)..(37)

<223> Ile or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (39)..(39)

<223> Gln or Lys

<220><221> MOD_RES

<222> (40)..(40)

<223> Pro or Phe

<220><221> MOD_RES

<222> (44)..(44)

<223> Gly or Lys

<220><221> MOD_RES

<222> (45)..(45)

<223> Leu or Met

<220><221> MOD_RES

<222> (48)..(48)

<223> Ile or Met

<220><221> MOD_RES

<222> (67)..(67)

<223> Val or Ile

<220><221> MOD_RES

<222> (71)..(71)

<223> Val or Arg

<220><221> MOD_RES

<222> (83)..(83)

<223> Ser or His

<220><221> MOD_RES

<222> (88)..(88)

<223> Ala or Asp

<220><221> MOD_RES

<222> (110)..(110)

<223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val or Leu

<220><221> MOD_RES

<222> (122)..(122)

<223> Met, Val, Leu, Ala, Arg, Asn, Pro, Gln, Glu, Gly, Ile, His,

Lys, Phe, Ser, Thr, Trp or Tyr

<220><221> MOD_RES

<222> (123)..(123)

<223> Val, Thr or Leu

<400> 144

Glu Val Gln Leu Gln Xaa Ser Gly Xaa Gly Leu Xaa Lys Pro Xaa Xaa

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Xaa Val Xaa Gly Xaa Ser Ile Xaa Ser Asp

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Xaa Arg Xaa Xaa Pro Gly Lys Xaa Xaa Glu Trp Xaa

35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Xaa Thr Ile Ser Xaa Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Xaa Ser Val Thr Ala Xaa Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Xaa Glu Gly

100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Xaa Xaa Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 145

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

consensus polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Leu or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Leu or Ile

<220><221> MOD_RES

<222> (22)..(22)

<223> Asn or Thr

<220><221> MOD_RES

<222> (40)..(40)

<223> Leu or Pro

<220><221> MOD_RES

<222> (42)..(42)

<223> Glu or Lys

<220><221> MOD_RES

<222> (43)..(43)

<223> Phe or Leu

<220><221> MOD_RES

<222> (46)..(46)

<223> Asn, Ser, Thr, Gly or Asp

<220><221> MOD_RES

<222> (52)..(52)

<223> Ser, Asn, Thr, Tyr or Gln

<220><221> MOD_RES

<222> (53)..(53)

<223> Ile or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (58)..(58)

<223> Gly or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (77)..(77)

<223> Val or Phe

<220><221> MOD_RES

<222> (83)..(83)

<223> Phe or Tyr

<220><221> MOD_RES

<222> (87)..(87)

<223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val or Leu

<220><221> MOD_RES

<222> (95)..(95)

<223> Leu or Ile

<220><221> MOD_RES

<222> (105)..(105)

<223> Ala or Val

<400> 145

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Xaa Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Xaa Xaa Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Xaa Gly Xaa Xaa Pro Lys Xaa Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Ala Xaa Xaa Leu Gln Thr Gly Xaa Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Xaa Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Xaa Ala Thr Tyr Xaa Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Xaa Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Xaa Lys

100 105

<210> 146

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

consensus polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (43)..(43)

<223> Leu or Phe

<220><221> MOD_RES

<222> (46)..(46)

<223> Asn, Ser, Thr, Gly or Asp

<220><221> MOD_RES

<222> (52)..(52)

<223> Ser, Asn, Thr, Tyr or Gln

<220><221> MOD_RES

<222> (53)..(53)

<223> Val or Ile

<220><221> MOD_RES

<222> (58)..(58)

<223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val or Leu

<220><221> MOD_RES

<222> (83)..(83)

<223> Ala or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (95)..(95)

<223> Phe or Val

<400> 146

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Xaa Pro Lys Xaa Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Ala Xaa Xaa Leu Gln Thr Gly Xaa Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Xaa Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Xaa Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 147

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

consensus peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Asp, Arg, Leu, Lys, Phe, Ser, Tyr or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Gly, Arg, Asn, Gln, Glu, Leu, Lys, Ser, Tyr or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

<223> Asn, Ala or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> Glu or Gln

<220><221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> Lys or Gln

<400> 147

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Xaa Xaa Ala Lys Tyr Xaa Xaa Lys Phe Xaa

1 5 10 15

Gly

<210> 148

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

consensus peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Asn, Ala, Val, Trp, Ser, Thr, Arg, His, Gly,
Ile or Val
<220><221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Ala, Asn, Ile, Leu, Thr or Val
<400> 148
Xaa Xaa Lys Thr Leu Ala Glu
1 5
<210> 149
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

consensus polypeptide
<220><221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Gln or Val
<220><221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> Pro or Ala
<220><221> MOD_RES
<222> (11)..(11)
<223> Val or Leu
<220><221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
<223> Val or Lys
<220><221> MOD_RES
<222> (16)..(16)
<223> Ser or Ala
<220><221> MOD_RES
<222> (20)..(20)
<223> Met or Val
<220><221> MOD_RES
<222> (38)..(38)

<223> Lys or Arg

<220><221> MOD_RES

<222> (40)..(40)

<223> Lys or Ala

<220><221> MOD_RES

<222> (44)..(44)

<223> Gly or Arg

<220><221> MOD_RES

<222> (56)..(56)

<223> Asp, Arg, Leu, Lys, Phe, Ser, Tyr or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (57)..(57)

<223> Gly, Arg, Asn, Gln, Glu, Leu, Lys, Ser, Tyr or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (61)..(61)

<223> Asn, Ala or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (62)..(62)

<223> Glu or Gln

<220><221> MOD_RES

<222> (65)..(65)

<223> Lys or Gln

<220><221> MOD_RES

<222> (67)..(67)

<223> Arg or Lys

<220><221> MOD_RES

<222> (68)..(68)

<223> Ala or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (72)..(72)

<223> Ser or Arg

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Lys or Thr
 <220><221> MOD_RES
 <222> (76)..(76)
 <223> Ser, Ile, Ala or Thr
 <220><221> MOD_RES
 <222> (79)..(79)
 <223> Ala or Val
 <220><221> MOD_RES
 <222> (85)..(85)
 <223> Arg or Ser
 <220><221> MOD_RES
 <222> (87)..(87)
 <223> Thr or Arg
 <220><221> MOD_RES
 <222> (89)..(89)
 <223> Asp or Glu
 <220><221> MOD_RES
 <222> (91)..(91)
 <223> Ser or Thr
 <220><221> MOD_RES
 <222> (92)..(92)

 <223> Ala or Val
 <220><221> MOD_RES
 <222> (104)..(104)
 <223> Trp, Ala, Asp, Gly, Phe, Gly, Ile, Lys, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr
 Val or Tyr
 <220><221> MOD_RES
 <222> (111)..(111)
 <223> Ala or Gln
 <400> 149

 Glu Val Gln Leu Xaa Gln Ser Gly Xaa Glu Xaa Xaa Lys Pro Gly Xaa
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Xaa Gln Xaa Pro Gly Gln Xaa Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Xaa Xaa Ala Lys Tyr Xaa Xaa Lys Phe

50 55 60

Xaa Gly Xaa Xaa Thr Leu Thr Xaa Asp Xaa Ser Xaa Ser Thr Xaa Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Xaa Leu Xaa Ser Xaa Asp Xaa Xaa Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Xaa Tyr Phe Asp Val Trp Gly Xaa Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 150

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
consensus polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> Ala or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (44)..(44)

<223> Arg or Gly

<220><221> MOD_RES

<222> (56)..(56)

<223> Asp, Arg, Leu, Lys, Phe, Ser, Tyr or Val

<220><221> MOD_RES

<222>

> (57)..(57)

<223> Gly, Arg, Asn, Gln, Glu, Leu, Lys, Ser, Tyr or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (61)..(61)

<223> Asn, Ala or Ser
 <220><221> MOD_RES
 <222> (62)..(62)
 <223> Glu or Gln
 <220><221> MOD_RES
 <222> (65)..(65)
 <223> Lys or Gln
 <220><221> MOD_RES
 <222> (72)..(72)
 <223> Arg or Ser
 <220><221> MOD_RES
 <222> (74)..(74)
 <223> Thr or Lys
 <220><221> MOD_RES
 <222> (76)..(76)
 <223> Ala, Thr or Ile
 <220><221> MOD_RES
 <222> (79)..(79)
 <223> Arg or Val
 <220><221> MOD_RES

 <222> (85)..(85)
 <223> Ser or Arg
 <220><221> MOD_RES
 <222> (89)..(89)
 <223> Glu or Asp
 <220><221> MOD_RES
 <222> (92)..(92)
 <223> Ala or Val
 <220><221> MOD_RES
 <222> (104)..(104)
 <223> Trp, Ala, Asp, Gly, Phe, Gly, Ile, Lys, Asn, Ser,
 Thr, Val or Tyr
 <400> 150
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Xaa

1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Xaa Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Xaa Xaa Ala Lys Tyr Xaa Xaa Lys Phe
 50 55 60
 Xaa Gly Arg Val Thr Leu Thr Xaa Asp Xaa Ser Xaa Ser Thr Xaa Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Xaa Leu Arg Ser Xaa Asp Thr Xaa Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Xaa Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 151

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 consensus polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Ala or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (17)..(17)

<223> Glu or Asp

<220><221> MOD_RES

<222> (18)..(18)

<223> Thr or Arg

<220><221> MOD_RES

<222> (40)..(40)

<223> Gln or Pro
 <220><221> MOD_RES
 <222> (43)..(43)
 <223> Ser, Ala or Val
 <220><221> MOD_RES
 <222> (45)..(45)
 <223> Gln or Lys
 <220><221> MOD_RES
 <222> (48)..(48)
 <223> Val or Ile
 <220><221> MOD_RES
 <222> (50)..(50)
 <223> Asn, Ala, Tyr, Trp, Ser, Thr, Ile or Val
 <220><221> MOD_RES
 <222> (51)..(51)
 <223> Ala, Asn, Ile, Leu, Thr or Val
 <220><221> MOD_RES
 <222> (70)..(70)
 <223> Gln or Asp
 <220><221> MOD_RES
 <222> (72)..(72)
 <223>
 Ser or Thr
 <220><221> MOD_RES
 <222> (74)..(74)
 <223> Lys or Thr
 <220><221> MOD_RES
 <222> (76)..(76)
 <223> Asn or Ser
 <220><221> MOD_RES
 <222> (83)..(83)
 <223> Phe or Val
 <220><221> MOD_RES
 <222> (84)..(84)
 <223> Gly or Ala

<220><221> MOD_RES

<222> (100)..(100)

<223> Ala or Gln

<220><221> MOD_RES

<222> (103)..(103)

<223> Thr or Arg

<220><221> MOD_RES

<222> (106)..(106)

<223> Leu or Ile

<400> 151

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Xaa Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Xaa Xaa Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Xaa Gly Lys Xaa Pro Xaa Leu Leu Xaa

35 40 45

Tyr Xaa Xaa Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Xaa Phe Xaa Leu Xaa Ile Xaa Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Xaa Xaa Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Xaa Gly Thr Xaa Leu Glu Xaa Lys

100 105

<210> 152

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

consensus polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (43)..(43)

<223> Ala or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (50)..(50)

<223> Asn, Ala, Tyr, Trp, Ser, Thr, Ile or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (51)..(51)

<223> Ala, Asn, Ile, Leu, Thr or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (70)..(70)

<223> Asp or Gln

<220><221> MOD_RES

<222> (83)..(83)

<223> Phe or Val

<400> 152

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Xaa Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Xaa Xaa Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Xaa Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Xaa Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 153

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Trp, Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Lys, Asn, Gln,
Arg, Ser, Thr, Val or Tyr

<400> 153

Gly Gly Pro Tyr Gly Xaa Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 154

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400>

> 154

Gly Gly Pro Tyr Gly Ala Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 155

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 155

Gly Gly Pro Tyr Gly Asp Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 156

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 156

Gly Gly Pro Tyr Gly Glu Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 157

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 157

Gly Gly Pro Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 158

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 158

Gly Gly Pro Tyr Gly Gly Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 159

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 159

Gly Gly Pro Tyr Gly Ile Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 160

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 160

Gly Gly Pro Tyr Gly Lys Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 161

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 161

Gly Gly Pro Tyr Gly Asn Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 162

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 162

Gly Gly Pro Tyr Gly Gln Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 163

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

CDR peptide

<400> 163

Gly Gly Pro Tyr Gly Arg Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 164

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 CDR peptide

<400> 164
 Gly Gly Pro Tyr Gly Ser Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 165
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 CDR peptide

<400> 165
 Gly Gly Pro Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 166
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 CDR peptide

<400> 166
 Gly Gly Pro Tyr Gly Val Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 167
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 CDR peptide

<400> 167

Gly Gly Pro Tyr Gly Tyr Tyr Phe Asp Val

1

5

10