



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년12월16일
(11) 등록번호 10-2742528
(24) 등록일자 2024년12월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2019-7038377
(22) 출원일자(국제) 2018년06월20일
심사청구일자 2021년06월17일
(85) 번역문제출일자 2019년12월26일
(65) 공개번호 10-2020-0018498
(43) 공개일자 2020년02월19일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/038549
(87) 국제공개번호 WO 2018/237037
국제공개일자 2018년12월27일
(30) 우선권주장
62/522,355 2017년06월20일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2017025038 A1*
KR1020110126740 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
테네오바이오, 인코포레이티드
미국 캘리포니아 91320-1799, 싸우전드 옥스, 원
암젠 센터 드라이브
(72) 발명자
트린크레인, 나단
미국, 캘리포니아 94560, 뉴어크, 스위트 320, 게
이트웨이 블러바드 7999
알드레드, 셸리 포스
미국, 캘리포니아 94560, 뉴어크, 스위트 320, 게
이트웨이 블러바드 7999
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김성남

전체 청구항 수 : 총 15 항

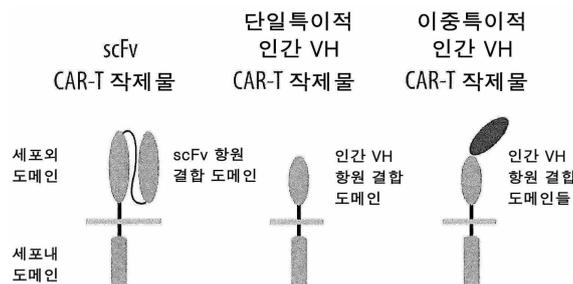
심사관 : 문명순

(54) 발명의 명칭 항-BCMA 중쇄-단독 항체

(57) 요약

항-BCMA 중쇄 단독 항체 (UniAb) 및 이러한 항체의 제조 방법과 함께, 이러한 항체를 포함하는 약제학적 조성물
을 포함하는 조성물, 및 BCMA의 발현을 특징으로하는 B-세포 장애를 치료하기 위한 그의 용도.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

A61P 37/00 (2018.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/522 (2013.01)
C07K 2317/569 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

해리스, 캐서린

미국, 캘리포니아 94560, 뉴어크, 스위트 320, 케
이트웨이 블러바드 7999

반스호텐, 워

미국, 캘리포니아 94560, 뉴어크, 스위트 320, 케
이트웨이 블러바드 7999

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

하기를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, $K_{dis}(1/s)$ 가 1×10^{-7} 미만이며 인간 B-세포 성숙 항원 (BCMA)에 결합하는 중쇄-단독 항체:

(iv) 서열번호 3의 CDR1 서열, 서열번호 7의 CDR2 서열, 및 서열번호 11의 CDR3 서열.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열이 인간 프레임워크 내에 존재하는, 중쇄-단독 항체.

청구항 32

제30항에 있어서, CH1 서열이 없이 중쇄 불변 영역 서열을 추가로 포함하는, 중쇄-단독 항체.

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

제30항에 있어서, 프레임워크 영역에 서열 변이가 있고, 서열번호 15에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 중쇄-단독 항체.

청구항 40

제39항에 있어서, 서열번호 15를 포함하는 중쇄 가변 영역 서열을 포함하는, 중쇄-단독 항체.

청구항 41

제30항에 있어서, 다중-특이적인, 중쇄-단독 항체.

청구항 42

제41항에 있어서, 이중특이적인, 중쇄-단독 항체.

청구항 43

제41항에 있어서, 효과기 세포에 대한 결합 친화성을 갖는, 중쇄-단독 항체.

청구항 44

제41항에 있어서, T-세포 항원에 대한 결합 친화성을 갖는, 중쇄-단독 항체.

청구항 45

제44항에 있어서, CD3에 대한 결합 친화성을 갖는, 중쇄-단독 항체.

청구항 46

제30항에 있어서, CAR-T 포맷에 있는, 중쇄-단독 항체.

청구항 47

제46항에 있어서, CAR-변환된 T 세포 내에 존재하는, 중쇄-단독 항체.

청구항 48

제46항의 중쇄-단독 항체로 변환되고, 단리된 T 세포.

청구항 49

BCMA의 발현과 관련된 B-세포 장애의 치료를 위한 것이고, 상기 B-세포 장애가 다발성 골수종 또는 전신 홍반성 낭창인 제30항의 중쇄-단독 항체를 포함하는 조성물.

청구항 50

BCMA의 발현과 관련된 B-세포 장애의 치료를 위한 것이고, 상기 B-세포 장애가 다발성 골수종 또는 전신 홍반성 낭창인 제30항의 중쇄 단독 항체.

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2017년 6월 20일자로 출원된 미국 가출원 제 62/522,355호의 출원일의 우선권 이익을 주장하며, 그 개시 내용은 그 전체가 참조로 본원에서 인용된다.

서열 목록

본 출원은 ASCII 형식으로 전자적으로 제출된 서열목록을 포함하며, 그 전체가 참조로 포함된다. 2018년 8월 28 일에 작성된 ASCII 사본의 이름은 TNO-0004-WO_SL.txt이며 크기는 11,770 바이트이다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 항-BCMA 중쇄-단독 항체 (UniAb)에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이러한 항체의 제조 방법, 이러한 항체를 포함하는 조성물 (약제학적 조성물을 포함), 및 BCMA의 발현을 특징으로 하는 B-세포 장애를 치료하기 위한 이의 사용에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] B-세포 성숙 항원 (BCMA)

[0006] 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리 구성원 17 (tumor necrosis factor superfamily member 17, TNFRSF17) (UniProt Q02223)로도 알려진 BCMA는, 혈장 세포 및 형질모세포에서만 독점적으로 발현되는 세포 표면 수용체이다. BCMA는 종양 괴사 인자 (TNF) 슈퍼패밀리의 2개의 리간드에 대한 수용체이다: APRIL (증식-유도 리간드, 또한 TNFSF13으로도 알려짐; TALL-2 및 TRDL-1; BCMA에 대해 고 친화도 리간드) 및 B 세포 활성화 인자 (BAFF) (또한, BlyS로도 알려짐; TALL-1; THANK; zTNF4; TNFSF20; 및 D8Erttd387e; BCMA에 대해 저 친화도 리간드). APRIL 및 BAFF는 BCMA에 결합하고 혈장 세포의 생존을 촉진하는 성장 인자이다. BCMA는 또한 인간 다발성 골수종 (multiple myeloma, MM)의 악성 혈장 세포에서 고도로 발현된다. BCMA에 대한 항체 결합은 예를 들어, 문헌 [Gras 등, 1995, *Int. Immunol.* 7: 1093-1106, WO200124811 및 WO200124812]에 기술된다. TACI와 교차 반응하는 항-BCMA 항체는 WO2002/066516에 기술된다. BCMA 및 CD3에 대한 이중특이적 항체는 예를 들어, US

2013/0156769 A1 및 US 2015/0376287 A1에 기술된다. 항-BCMA 항체-MMMAE 또는 -MMAF 접합체는 다발성 골수종 세포의 사멸을 선택적으로 유도하는 것으로 보고되었다 (Tai 등, *Blood* 2014, 123(20): 3128-38). 문헌 [Ali 등, *Blood* 2016, 128(13): 1688-700]는, 임상 시험 (#NCT02215967)에서, BCMA를 표적으로 하는 키메라 항원 수용체 (CAR) T 세포가 인간 환자에서 다발성 골수종의 차도를 유발한다고 보고하였다.

[0007] 중쇄-단독 항체

[0008] 종래의 IgG 항체에서, 중쇄와 경쇄의 연결은 부분적으로 경쇄 불변 영역 및 중쇄의 CH1 불변 도메인 사이의 소수성 상호작용으로 인한 것이다. 중쇄 및 경쇄 사이의 이러한 소수성 상호작용에도 또한 기여하는 중쇄 프레임워크 2 (FR2) 및 프레임워크 4 (FR4) 영역에는 추가 잔기들이 있다.

[0009] 그러나, 낙타과 (낙타, 단봉낙타(dromedaries) 및 라마를 포함하는 낙타아목(Tylopoda))의 혈청은 H-사슬 (중쇄-단독 항체 또는 UniAb)의 쌍으로만 구성된 항체의 주요 유형을 함유하는 것으로 알려져 있다. 낙타과 (Camelidae) [단봉낙타(*Camelus dromedarius*), 쌍봉낙타(*Camelus bactrianus*), 라마(*Lama glama*), 구아나코 (*Lama guanaco*), 알파카(*Lama alpaca*) 및 비쿠냐(*Lama vicugna*)]의 UniAb는, 단일 가변 도메인 (VHH), 힌지 (hinge) 영역 및 2개의 불변 도메인 (CH2 및 CH3)으로 이루어진 독특한 구조를 가지며, 이는 고전적 항체의 CH2 및 CH3 도메인과 매우 상동이다. 이들 UniAb는 계놈에 존재하지만, mRNA 프로세싱 도중 스플라이싱되어 없어지는(spliced out) 불변 영역 (CH1)의 제1 도메인이 결여된다. CH1 도메인의 부재가 UniAb의 경쇄의 부재를 설명하는데, 이 도메인이 경쇄의 불변 도메인에 대한 고정 부위이기 때문이다. 이러한 UniAb는 통상적인 항체 또는 이들의 단편의 3개의 CDR에 의해 항원-결합 특이성 및 높은 친화도를 부여받도록 자연적으로 진화되었다 (Muyldermans, 2001; *J Biotechnol* 74: 277-302; Revets 등, 2005; *Expert Opin Biol Ther* 5: 111-124). 상어와 같은 연골 어류(Cartilaginous fish)는 또한 IgNAR로 명명된, 독특한 유형의 면역글로불린을 진화시켰으며, 이는 경쇄 폴리펩티드가 결여되고 전체적으로 중쇄에 의해 구성된다. IgNAR 분자는 단일 중쇄 폴리펩티드의 가변 도메인 (vNARs)을 생산하기 위해 분자공학기술에 의해 조작될 수 있다 [Nuttall 등 *Eur. J. Biochem.* 270, 3543-3554 (2003); Nuttall 등 *Function and Bioinformatics* 55, 187-197 (2004); Dooley 등, *Molecular Immunology* 40, 25-33 (2003)].

[0010] 1960년대에 경쇄가 없는 중쇄-단독 항체의 항원에 대한 결합 능력은 확립되었다 [Jaton 등 (1968) *Biochemistry*, 7, 4185-4195]. 경쇄로부터 물리적으로 분리된 중쇄 면역글로불린은 사량체 항체에 비해 항원-결합 활성의 80%를 유지하였다. 문헌 [Sitia 등 (1990) *Cell*, 60, 781-790]은, 재배열된 마우스 μ 유전자로부터 CH1 도메인을 제거함으로써 포유류 세포 배양에서 경쇄가 없는 중쇄-단독 항체의 생산을 초래한다는 것을 입증하였다. 생성된 항체는 VH 결합 특이성 및 효과기(effector) 기능을 유지하였다.

[0011] 면역화를 통해 다양한 항원에 대해 높은 특이성 및 친화도를 가지는 중쇄 항체를 생성할 수 있고 [van der Linden, R. H., 등 *Biochim. Biophys. Acta.* 1431, 37-46 (1999)], 효모에서 VHH 부분은 쉽게 클로닝되고 발현될 수 있다 [Frenken, L. G. J., 등 *J. Biotechnol.* 78, 11-21 (2000)]. 이들의 발현, 가용성 및 안정성 수준은, 고전적 F(ab) 또는 Fv 단편의 수준보다 현저하게 높다 [Ghahroudi, M. A. 등 *FEBS Lett.* 414, 521-526 (1997)].

[0012] λ (람다) 경(L) 쇄 유전자좌 및/또는 λ 및 κ (카파) L 사슬 유전자좌를 기능적으로 침묵시킨 마우스, 및 이러한 마우스에 의해 생산된 항체가 미국 특허 제7,541,513호 및 제8,367,888호에 기술된다. 마우스 및 랫트에서의 중쇄-단독 항체의 재조합 생산은, 예를 들어, 문헌 [W02006008548; 미국 출원 공개 제20100122358호; Nguyen 등, 2003, *Immunology*; 109(1), 93-101; Brüggenmann 등, *Crit. Rev. Immunol.*; 2006, 26(5): 377-90; 및 Zou 등, 2007, *J Exp Med*; 204(13): 3271-3283]에서 보고되었다. 아연 핑거 뉴클레아제 (zinc-finger nuclease)의 배아 미세주입을 통한 너아웃 랫트의 생산은, 문헌 [Geurts 등, 2009, *Science*, 325(5939): 433]에 기술된다. 가용성 중쇄-단독 항체 및 그러한 항체를 생산하는 이중 중쇄 유전자좌를 포함하는 형질전환 설치류는, 미국 특허 제8,883,150호 및 제9,365,655호에 기술된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 결합 (표적화) 도메인으로서 단일-도메인 항체를 포함하는 CAR-T 구조는 예를 들어, Iri-Sofla 등, 2011, *Experimental Cell Research* 317: 2630-2641 및 Jamnani 등, 2014, *Biochim Biophys Acta*, 1840: 378-386에 기술된다.

과제의 해결 수단

- [0014] 본 발명의 개요
- [0015] 본 발명은 인간 B-세포 성숙 항원(BCMA)에 결합하는 중쇄-단독 항체에 관한 것이다.
- [0016] 일 측면에서, 본 발명은 이하를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 중쇄-단독 항-BCMA에 관한 것이다:
- [0017] (a) 서열번호 1, 2 또는 3의 임의의 아미노산 서열에서 2개 이하의 치환을 갖는 CDR1; 및/또는
- [0018] (b) 서열번호 4 내지 7의 임의의 아미노산 서열에서 2개 이하의 치환을 갖는 CDR2 서열; 및/또는
- [0019] (c) 서열번호 8 내지 11의 임의의 아미노산 서열에서 2개 이하의 치환을 갖는 CDR3 서열.
- [0020] 일 구현예에서, 상기 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열은 인간 프레임워크 내에 존재한다.
- [0021] 또 다른 구현예에서, 중쇄-단독 항-BCMA 항체는 CH1 서열이 없는 중쇄 불변 영역 서열을 추가로 포함한다.
- [0022] 또 다른 구현예에서, 중쇄-단독 항-BCMA 항체는 이하의 것들을 포함한다:
- [0023] (a) 서열번호 1 내지 3으로 이루어지는 군으로부터 선택된 CDR1 서열; 및/또는
- [0024] (b) 서열번호 4 내지 7로 이루어지는 군으로부터 선택된 CDR2 서열; 및/또는
- [0025] (c) 서열번호 8 내지 11로 이루어지는 군으로부터 선택된 CDR3 서열.
- [0026] 추가적인 구현예에서, 중쇄-단독 항체는 이하의 것들을 포함한다:
- [0027] (a) 서열번호 1 내지 3로 이루어지는 군으로부터 선택된 CDR1 서열; 및
- [0028] (b) 서열번호 4 내지 7로 이루어지는 군으로부터 선택된 CDR2 서열; 및
- [0029] (c) 서열번호 8 내지 11로 이루어지는 군으로부터 선택된 CDR3 서열.
- [0030] 추가적인 구현예에서, 중쇄-단독 항체는 이하의 것들을 포함한다:
- [0031] (i) 서열번호 1의 CDR1 서열, 서열번호 4의 CDR2 서열, 서열번호 8의 CDR3 서열; 또는
- [0032] (ii) 서열번호 2의 CDR1 서열, 서열번호 5의 CDR2 서열, 서열번호 9의 CDR3 서열; 또는
- [0033] (iii) 서열번호 2의 CDR1 서열, 서열번호 6의 CDR2 서열, 서열번호 10의 CDR3 서열; 또는
- [0034] (iv) 서열번호 3의 CDR1 서열, 서열번호 7의 CDR2 서열, 서열번호 11의 CDR3 서열.
- [0035] 또 다른 추가적인 구현예에서, 중쇄-단독 항-BCMA 항체는 서열번호 12 내지 15의 서열들 중 어느 하나와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 서열을 포함한다.
- [0036] 또 다른 구현예에서, 중쇄-단독 항-BCMA 항체는 서열번호 12 내지 15로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역 서열을 포함한다.
- [0037] 또 다른 측면에서, 본 발명은 이하의 것들을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 중쇄-단독 항-BCMA 항체에 관한 것이다:
- [0038] (a) 이하의 화학식의 CDR1 서열 (서열번호 20):
- [0039] G F T F X1 X2 X3 A
- [0040] (식 중, X1은 S 또는 T이고;
- [0041] X2은 S 또는 N이고;
- [0042] X3은 H 또는 Y임); 또는
- [0043] (b) 이하의 화학식의 CDR2 서열 (서열번호 21):
- [0044] I S G X4 G X5 X6 X7
- [0045] (식에서, X4는 S 또는 N이거나;

- [0046] X5는 D 또는 R이거나;
- [0047] X6는 T, F 또는 Y이거나; 또는
- [0048] X7는 T 또는 I임), 및
- [0049] (c) AKDGGETLVDS (서열번호 8), AKDEDGGSLG Y (서열번호 9), AKDEDGGSLGH (서열번호 10) 및 AKEGTGANSSLADY (서열번호 11)로 이루어진 군으로부터 선택된 CDR3 서열.
- [0050] 다른 측면에서, 본 발명은 인간 VH 프레임워크 내에 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 인간 B-세포 성숙 항원 (BCMA)에 대해 결합하는 중쇄-단독 항체에 관한 것으로, 상기 CDR 서열은 서열번호 1-11로 이루어진 군으로부터 선택된 CDR 서열에서 2개 이하의 아미노산 치환을 갖는다.
- [0051] 일 구현예에서, 항-BCMA 중쇄-단독 항체는 인간 VH 프레임워크 내에 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 상기 CDR 서열은 서열번호 1-11로 이루어지는 군으로부터 선택된다.
- [0052] 다른 측면에서, 본 발명은 이하의 중쇄 가변 영역을 포함하는 항-BCMA 중쇄-단독 항체에 관한 것이다:
- [0053] 인간 VH 프레임워크 내의,
- [0054] (i) 서열번호 1의 CDR1 서열, 서열번호 4의 CDR2 서열, 서열번호 8의 CDR3 서열; 또는
- [0055] (ii) 서열번호 2의 CDR1 서열, 서열번호 5의 CDR2 서열, 서열번호 9의 CDR3 서열; 또는
- [0056] (iii) 서열번호 2의 CDR1 서열, 서열번호 6의 CDR2 서열, 서열번호 10의 CDR3 서열; 또는
- [0057] (iv) 서열번호 3의 CDR1 서열, 서열번호 7의 CDR2 서열, 서열번호 11의 CDR3 서열.
- [0058] 모든 측면 및 구현예에서, 중쇄-단독 항체는 다중-특이적, 예컨대 이중특이적일 수 있고, 예를 들어, 동일한 BCMA 단백질상의 2개의 상이한 BCMA 단백질 또는 2 개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다.
- [0059] 일 구현예에서, 중쇄-단독 항체는 효과기 세포에 대한 결합 친화성을 갖는다.
- [0060] 제2 구현예에서, 중쇄-단독 항체는 T-세포 항원, 예컨대, CD3에 대한 결합 친화성을 갖는다.
- [0061] 제3 측면에서, 중쇄-단독 항체는 CAR-T 포맷 내에 있다.
- [0062] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기술된 바와 같이 중쇄-단독 항체를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0063] 또 다른 측면에서, 본 발명은 BCMA의 발현을 특징으로 하는 B-세포 장애의 치료 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 전술한 바와 같이 상기 장애를 가진 대상체에게 중쇄-단독 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0064] 일 구현예에서, B-세포 장애는 다발성 골수종 (MM)이다.
- [0065] 다른 구현예에서, B-세포 장애는 전신 홍반성 낭창 (SLE)이다
- [0066] 추가적 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 중쇄-단독 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.
- [0067] 또 다른 추가적 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 중쇄-단독 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터에 관한 것이다.
- [0068] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 중쇄-단독 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드, 또는 이러한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함하는 세포에 관한 것이다.
- [0069] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 중쇄 단독 항체의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 중쇄 단독 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 세포 또는 단백질의 발현을 위해 허용되는 조건하에서 세포 및/또는 세포 배양 배지로부터 항체를 분리하는 조건하에서 이러한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 성장시키는 단계를 포함한다.
- [0070] 추가적 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 항-BCMA 중쇄-단독 항체의 제조 방법에 관한 것으로, BCMA로 UniRat 동물을 면역화하는 단계, 및 BCMA-결합 중쇄 서열을 식별하는 단계를 포함한다.

[0071] 이들 추가적인 측면은 실시예를 포함하여, 본원의 나머지 부분에서 추가적으로 설명될 것이다.

도면의 간단한 설명

[0072] 도 1은 본 발명의 4개 중쇄 단독 항-BCMA 항체의 CDR1, CDR2 및 CDR3 아미노산 서열을 나타낸다.

도 2는 본 발명의 4개 중쇄 단독 항-BCMA 항체의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열을 나타낸다.

도 3은 본 발명의 4개의 중쇄-단독 항-BCMA 항체의 중쇄 가변 영역 서열을 암호화하는 핵산 서열을 나타낸다.

도 4는 4개의 중쇄 항체의 BCMA 단백질 및 BCMA-발현 세포주에 대한 결합을 나타낸다. 컬럼 1은 HCAb의 클론 ID를 나타낸다. 컬럼 2는 CDR3 서열에 기초한 HCAb의 패밀리 ID를 나타낸다. 컬럼 3은 CDR1 아미노산 서열(각각 순서대로 서열 번호 1-2 및 2-3)을 나타낸다. 컬럼 4는 CDR2 아미노산 서열(각각, 순서대로 서열 번호 4-7)을 나타낸다. 컬럼 5는 CDR3 아미노산 서열(각각, 순서대로 서열 번호 8-11)을 나타낸다. 컬럼 6은 발현된 HCAb의 농도를 ug/mL로 표시한다. 컬럼 7은 BCMA를 발현하는 H929 인간 세포에 대한 세포 결합의 평균 형광 강도를 나타낸다. 컬럼 8은 시노 BCMA를 발현하는 CHO 세포에 대한 세포 결합의 평균 형광 강도를 나타낸다. 컬럼 9는 인간 BCMA 단백질 결합의 배경 신호에 대한 ELISA 폴드를 나타낸다. 컬럼 10은 시노 BCMA 단백질 결합의 배경 신호에 대한 ELISA 폴드를 나타낸다. 컬럼 11은 표적-외 대조군인 람다 단백질 결합의 배경 신호에 대한 ELISA 폴드를 나타낸다. 컬럼 12는 표적-외 대조군 인 다중-태그 단백질 결합의 배경 신호에 대한 ELISA 폴드를 나타낸다. 컬럼 13은 옥텟(Octet)에 의해 측정된 인간 BCMA 단백질에 대한 결합 속도를 나타낸다. 컬럼 14는 옥텟에 의해 측정된 사이노 BCMA 단백질에 대한 결합 속도를 나타낸다.

도 5는 scFv CAR-T 작제물, 단일특이적 인간 VH CAR-T 작제물 및 이중특이적 인간 VH CAR-T 작제물의 그래픽 예시이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0073] 바람직한 양태의 상세한 설명

[0074] 달리 지시되지 않는 한, 본 발명의 실시는 분자생물학 (재조합 기술 포함), 미생물학, 세포생물학, 생화학 및 면역학의 통상적인 기술을 사용하며, 이는 당업계의 기술 범위 내이다. 이러한 기술은 하기와 같은 문헌에 충분히 설명되어 있다: "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", 제2판 (Sambrook 등, 1989); "Oligonucleotide Synthesis" (M.J. Gait, ed., 1984); "Animal Cell Culture" (R.I. Freshney, ed., 1987); "Methods in Enzymology" (Academic Press, Inc.); "Current Protocols in Molecular Biology" (F.M. Ausubel 등, eds., 1987, 및 정기 업데이트); "PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis 등, ed., 1994); "A Practical Guide to Molecular Cloning" (Perbal Bernard V., 1988); "Phage Display: A Laboratory Manual" (Barbas 등, 2001); Harlow, Lane and Harlow, Using Antibodies: A Laboratory Manual: Portable Protocol No. I, Cold Spring Harbor Laboratory (1998); 및 Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory; (1988).

[0075] 값의 범위가 제공되는 경우, 범위의 상한 내지 하한 사이의 각각의 중간 값 (문맥에서 분명하게 달리 지시되지 않는 한, 하한 단위의 1/10까지), 및 명시된 범위 내의 임의의 다른 명시된 또는 중간 값은 본 발명에 포함되는 것으로 이해된다. 더 작은 범위에 독립적으로 포함될 수 있는 이들 더 작은 범위의 상한 및 하한도, 또한 본 발명에 포함되며, 명시된 범위 내 임의의 특별히 배제된 한계에 적용된다. 명시된 범위가 상기 한계들 중 하나 또는 둘 모두를 포함하는 경우, 이들 포함된 한계 중 하나 또는 둘 모두를 제외하는 범위가 또한 본 발명에 포함된다.

[0076] 달리 지시되지 않는 한, 본원에서 항체 잔기는 카바트 계수 시스템(Kabat numbering system)에 따라 번호가 매겨진다 [예를 들어, Kabat 등, Sequences of Immunological Interest. 5판. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991) 참조].

[0077] 하기의 설명에서, 본 발명의 보다 철저한 이해를 제공하기 위해 다수의 특정 세부 사항이 제시된다. 그러나, 본 발명이 하나 이상의 이들 세부 사항 없이 실행될 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다. 다른 예시에서, 당업자에게 공지된, 공지된 특징 및 절차는 본 발명을 모호하게 하는 것을 피하기 위해 기술되지 않는다.

[0078] 특허 출원 및 출판물을 포함하는, 본 개시에 걸쳐 인용된 모든 참고 문헌은 그 전체가 본원에서 참조로 포함된다.

- [0079] I. 정의
- [0080] "포함하는"은 언급된 요소가 조성물/방법/키트에서 요구되지만, 다른 요소가 청구항의 범위 내에서 조성물/방법/키트 등을 형성하기 위해 포함될 수 있음을 의미한다.
- [0081] "~로 본질적으로 이루어지는"은, 본 발명의 기본적인이고 신규한 특성(들)에 실질적으로 영향을 미치지 않는 특정 물질 또는 단계에 대해 기술된 조성물 또는 방법의 범위의 제한을 의미한다.
- [0082] "~로 이루어지는"은, 청구항에 명시되지 않은 임의의 요소, 단계, 또는 성분이 조성물, 방법, 또는 키트로부터 배제됨을 의미한다.
- [0083] 본원에서 사용된 용어 "단클론 항체"는, 실질적으로 상동 항체의 집단으로부터 획득한 항체를 지칭하며, 즉, 집단을 포함하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연적으로 발생하는 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단클론 항체는 매우 특이적이고, 단일 항원 부위로 향한다. 더욱이, 전형적으로 상이한 결정기 (에피토프)들로 향하는 상이한 항체들을 포함하는 통상적인 (다클론) 항체와 대조적으로, 각각 단클론 항체는 항원 상의 단일 결정기로 향한다.
- [0084] 용어 "중쇄-단독 항체", "중쇄 항체" 및 "UniAb"는 상호교환적으로 사용되고, 가장 넓은 의미에서, 통상적인 항체의 경쇄가 결여된 항체를 지칭한다. 동종이량체 UniAb는 경쇄 및 따라서 VL 도메인이 결여되어 있으므로, 항원은 하나의 단일 도메인, 즉, 중쇄 항체의 중쇄의 가변 도메인(VH)에 의해 인식된다. 상기 용어는 VH 항원-결합 도메인, 및 CH1 도메인의 부재 하에 CH2 및 CH3 불변 도메인을 포함하는 동종이량체 항체; 그러한 항체의 기능성 (항원-결합) 변이체, 가용성 VH 변이체, 하나의 가변 도메인 (V-NAR)의 동종이량체 및 5개의 C-유사 불변 도메인(C-NAR) 및 이들의 기능성 단편을 포함하는 Ig-NAR; 및 가용성 단일 도메인 항체 (sUniDabs)를 구체적으로 포함하며, 이에 제한되지 않는다. 한 양태에서, 중쇄-단독 항체는 프레임워크 1, CDR1, 프레임워크 2, CDR2, 프레임워크 3, CDR3, 및 프레임워크 4로 구성된 가변 영역 항원-결합 도메인으로 구성된다. 한 양태에서, 중쇄-단독 항체는 항원-결합 도메인, 적어도 일부의 힌지 영역, 및 CH2 및 CH3 도메인으로 구성된다. 다른 양태에서, 중쇄-단독 항체는 항원-결합 도메인, 적어도 일부의 힌지 영역, 및 CH2 도메인으로 구성된다. 또 다른 양태에서, 중쇄-단독 항체는 항원-결합 도메인, 적어도 일부의 힌지 영역, 및 CH3 도메인으로 구성된다. CH2 및/또는 CH3 도메인이 단축된 중쇄-단독 항체가 또한 본원에서 포함된다. 또 다른 양태에서 중쇄는 항원 결합 도메인, 및 적어도 하나의 CH (CH1, CH2, CH3, 또는CH4) 도메인으로 구성되지만, 힌지 영역은 없다. 중쇄-단독 항체는 달리 기재된 바 없으면 2개의 중쇄가 이황화(disulfide) 결합되며, 서로 공유결합 또는 비공유결합으로 부착된 이량체 형태일 수 있다. 중쇄-단독 항체는 IgG 하위 부류(subclass)에 속할 수 있지만, IgM, IgA, IgD 및 IgE 하위 부류와 같은 다른 하위 부류에 속하는 항체도 또한 본원에서 포함된다. 특정 양태에서, 중쇄 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 하위 유형(subtype)이고, 구체적으로 IgG1 하위 유형이다. 한 양태에서, 본원에서 중쇄-단독 항체는 키메라 항원 수용체 (CAR)의 결합 (표적화) 도메인으로 사용된다.
- [0085] 본원에 사용된 용어 "BCMA"는 분화된 혈장 세포에서 우선적으로 발현되는 종양 괴사 수용체 슈퍼패밀리의 구성원인 BCMA, CD269 및 TNFRSF17 (UniProt Q02223)으로도 알려진 인간 B 세포 성숙 항원에 관한 것이다. 인간 BCMA의 세포의 도메인은 아미노산 1-54 (또는 5-51)의 UniProt에 따라 구성된다.
- [0086] 용어 "항-BCMA 중쇄-단독 항체" 및 "BCMA 중쇄-단독 항체"는 본원에서 상기 정의된 바와 같이 BCMA에 면역특이적으로 결합된 중쇄-단독 항체를 지칭하기 위해 사용된다.
- [0087] 항체와 연결되어 사용되는 용어 "가변적인"은, 항체 가변 도메인의 일부 부분이 항체들 중에서 넓은 범위로 상이하고 그의 특정 항원에 대한 각각 특정 항체의 결합 및 특이성에 사용된다는 사실을 지칭한다. 그러나, 가변성은 항체의 가변 도메인에 전체에서 고르게 분포되지 않는다. 이는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 모두 초가변 영역으로 불리는 3개의 세그먼트(segment)에 집중된다. 가변 도메인의 보다 고도로 보존된 부분을, 프레임워크 영역 (framework region, FR)이라 부른다. 천연 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은, 대체로 3개의 초가변 영역에 의해 연결되어 루프 연결을 형성하는 β -시트 배치, 일부 경우에는 β -시트 구조의 형성 부분을 채택하는 4개의 FR을 각각 포함한다. 각각 사슬 내 초가변 영역은 FR에 매우 근접하여 모여 있고, 다른 사슬로부터의 초가변 영역과 함께 항체의 항원-결합 부위의 형성에 기여한다 (Kabat 등, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991) 참조). 불변 도메인은 항원에 대한 항체의 결합에 직접적으로 관여하지는 않지만, 항체 의존성 세포독성 (ADCC)에의 항체의 참여와 같은 다양한 효과기 기능을 보여준다.
- [0088] 본원에서 사용되는 용어 "초가변 영역"은, 항원-결합을 담당하는 항체의 아미노산 잔기를 지칭한다. 초가변 영

역은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로부터의 아미노산 잔기 [예를 들어, 중쇄 가변 도메인의 잔기 31 내지 35 (H1), 50 내지 65 (H2), 및 95 내지 102 (H3); Kabat 등, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5판 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)], 및/또는 중쇄 가변 도메인의 "초가변 루프" 잔기 26-32 (H1), 53-55 (H2) 및 96-101 (H3)로부터의 이들 잔기 ; Chothia and Lesk *J. Mol. Biol.* 196: 901-917 (1987)]. "프레임워크 영역" 또는 "FR" 잔기는, 본원에서 정의된 바와 같이 초가변 영역 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다.

[0089] 예시적인 CDR 지정을 본원에서 나타내지만, 그러나 당업자는 이것이 서열 가변성에 근거하며, 가장 흔히 사용되는 카바트(Kabat) 정의를 포함한 CDR의 다수의 정의가 흔히 사용된다는 것을 이해할 것이다 ("Zhao 등 A germline knowledge based computational approach for determining antibody complementarity determining regions. *Mol Immunol.* 2010;47: 694-700 참조). 초티아(Chothia) 정의는 구조적 루프 영역의 위치를 기초로 한다 [Chothia 등 "Conformations of immunoglobulin hypervariable regions. *Nature.* 1989; 342: 877-883). 대체적인 관심 CDR 정의는 제한없이 문헌[Honegger, "Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool. *J Mol Biol.* 2001;309: 657-670; Ofran 등 "Automated identification of complementarity determining regions (CDRs) reveals peculiar characteristics of CDRs and B cell epitopes. *J Immunol.* 2008;181: 6230-6235; Almagro "Identification of differences in the specificity -determining residues of antibodies that recognize antigens of different size: implications for the rational design of antibody repertoires. *J Mol Recognit.* 2004;17: 132-143; 및 Padlan 등 "Identification of specificity -determining residues in antibodies. *Faseb J.* 1995;9: 133-139.]에 개시되고, 이들 각각은 본원에서 구체적으로 참조로 인용된다].

[0090] 아미노산 서열에서 용어 "2 (2) 이하의 치환"은 본원에서 참조 아미노산 서열에서 2 (2), 1 (1) 또는 0 (0) 치환을 의미하는 것으로 사용된다.

[0091] 참조 폴리펩티드 서열에 대한 "백분율 (%) 아미노산 서열 동일성"은 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해, 그리고 서열 동일성의 일부로서 보존적 치환을 고려하지 않기 위해, 서열을 정렬하고 갭을 도입 한 후, 필요한 경우 참조 폴리펩티드 서열에서 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열에서 아미노산 잔기의 백분율로 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하기 위한 정렬은 예를 들어 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 메갈리그(Megalign) (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 당업자에게 다양한 방식으로 달성될 수 있다. 당업자는 비교될 서열의 진장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여, 서열 정렬을 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 그러나, 본원의 목적상, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 사용하여 생성된다.

[0092] "단리된(isolated)" 항체는, 본래 환경의 성분으로부터 동정되고 분리되고/거나 회수된 항체이다. 본래 환경의 오염물질 성분은 항체의 진단적 또는 치료적 용도를 방해하는 물질이며, 효소, 호르몬, 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 바람직한 양태에서, 항체는 (1) 로리(Lowry)법에 의해 측정시 항체의 95% 중량 초과, 가장 바람직하게는 99% 중량 초과까지, (2) 방적컵 배열분석장치(spinning cup sequenator)의 사용시 적어도 15개 잔기의 N-말단 또는 내부 아미노산 서열을 획득하기에 충분한 정도까지, 또는 (3) 쿠마시블루(Coomassie blue) 또는 바람직하게는 은염색을 사용하여 환원성 또는 비환원성 조건 하에 SDS-PAGE에 의한 동질성까지 정제될 것이다. 단리된 항체는, 항체의 본래 환경의 적어도 하나의 구성요소가 존재하지 않을 것이기 때문에, 재조합 세포 내에 *제자리(in situ)* 항체를 포함한다. 그러나, 통상적으로 단리된 항체는 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

[0093] 본 발명의 항체는 다중 특이적 항체를 포함한다. 다중 특이적 항체는 하나 이상의 결합 특이성을 가진다. 용어 "다중 특이적(multi-specific)"은 구체적으로 고차 다항원결정(polyepitopic) 특이성과 같은 고차 독립 특이적 결합 친화도 뿐만 아니라 "이중특이적" 및 "3중특이적", 뿐만 아니라 4가 항체 및 항체 단편을 포함한다. "다중 특이적" 항체는 구체적으로 하나 초과와 동일한 결합 엔티티(entity)를 포함하는 항체, 뿐만 아니라 상이한 결합 엔티티들의 조합을 포함하는 항체를 포함한다. 용어 "다중 특이적 항체", "다중 특이적 단일 사슬 단독 항체" 및 "다중 특이적 UniAb"는, 가장 넓은 의미로 본원에서 사용되고, 하나 이상의 결합 특이성을 가지는 모든 항체를 다룬다.

[0094] 본원에서 사용된 용어 "가(valent)"는, 항체 분자 내 특정 수의 결합 부위를 지칭한다.

[0095] "다가" 항체는 둘 이상의 결합 부위를 가진다. 따라서, 용어 "2가", "3가", 및 "4가"는 각각 2개의 결합 부위, 3개의 결합 부위, 및 4개의 결합 부위의 존재를 지칭한다. 따라서, 본 발명에 따른 이중특이적 항체는 적어도 2

가이고 3가, 4가, 또는 다가일 수 있다.

- [0096] 이중특이적 단클론 항체 (BsMAB), 3중특이적 항체 등의 제조에 대해, 다양한 방법 및 단백질 배열이 공지되고 사용된다.
- [0097] 용어 "이중특이적 3사슬 항체 유사 분자(bispecific three-chain antibody like molecule)" 또는 "TCA"는, 3개의 폴리펩티드 하위단위(subunit)를 포함하거나, 본질적으로 이로 이루어지거나, 또는 이로 이루어지는 항체-유사 분자를 지칭하기 위해 본원에서 사용되고, 이들 중 2개는 단클론 항체의 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄, 또는 항원-결합 영역 및 적어도 하나의 CH 도메인을 포함하는 그러한 항체 사슬의 기능성 항원-결합 단편을 포함하거나, 본질적으로 이로 이루어지거나, 또는 이로서 이루어진다. 이러한 중쇄/경쇄 쌍은 제1 항원에 대해 결합 특이성을 가진다. 세 번째 폴리펩티드 하위단위는 CH1 도메인의 부재 하에 CH2 및/또는 CH3 및/또는 CH4 도메인, 및 제2 항원의 에피토프 또는 제1 항원의 상이한 에피토프에 결합하는 항원 결합 도메인 (그러한 결합 도메인은 항체 중쇄 또는 경쇄의 가변 영역으로부터 유래되거나 이와 서열 동일성을 갖는다)을 포함하는 Fc 부분을 포함하는 중쇄-단독 항체를 포함하거나, 본질적으로 이로 이루어지거나, 또는 이로 이루어진다. 이러한 가변 영역의 일부는 VH 및/또는 VL 유전자 세그먼트, D 및 JH 유전자 세그먼트, 또는 JL 유전자 세그먼트에 의해 암호화될 수 있다. 가변 영역은 재배열된 VHDJH, VLDJH, VHJL 또는 VLJL 유전자 세그먼트에 의해 암호화될 수 있다. TCA 단백질은 정의된 바와 같은 중쇄-단독 항체를 사용한다.
- [0098] 용어 "키메라 항원 수용체" 또는 "CAR"는, 조작된 수용체를 지칭하기 위해 가장 넓은 의미로 본원에서 사용되고, 이는 막-관통 및 세포 내 신호 도메인에 대한 원하는 결합 특이성(예를 들어, 단클론 항체 또는 다른 리간드의 항원-결합 영역)을 이식한다. 전형적으로, 수용체는 T 세포 상에 단클론 항체의 특이성을 이식하여 키메라 항원 수용체 (CAR)를 생성하기 위해 사용된다. [*J Natl Cancer Inst*, 2015; 108(7): dvj439; and Jackson 등, *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2016; 13: 370-383.] 인간 VH 세포의 결합 도메인을 포함하는 대표적인 단일특이적 및 이중특이적 CAR-T 작제물은, scFv CAR-T 작제물과 비교하여, 도 5에 나타나있다.
- [0099] "인간 개별특이형(idiotype)"은, 면역글로불린 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역 내 인간 항체에 존재하는 폴리펩티드 서열 에피토프를 의미한다. 본원에서 사용된 용어 "인간 개별특이형"은, 자연 발생 인간 항체에서 발견되는 폴리펩티드와 실질적으로 동일한 합성 서열, 뿐만 아니라 인간 항체의 자연 발생 서열 모두를 포함한다. "실질적으로"는 아미노산 서열 동일성의 정도가 적어도 약 85% 내지 95% 인 것을 의미한다. 바람직하게는, 아미노산 서열 동일성의 정도는 90% 초과이고, 더욱 바람직하게는 95% 초과이다.
- [0100] "키메라 항체" 또는 "키메라 면역글로불린"은, 적어도 2개의 상이한 Ig 유전자좌로부터의 아미노산 서열을 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 분자, 예를 들어, 인간 Ig 유전자좌에 의해 암호화된 부분, 및 랫트 Ig 유전자좌에 의해 암호화된 부분을 포함하는 형질전환 항체를 의미한다. 키메라 항체는 비인간 Fc-영역 또는 인공 Fc-영역을 가지는 형질전환 항체, 및 인간 개별특이형을 포함한다. 이러한 면역글로불린은 이러한 키메라 항체를 생산하도록 조작된 본 발명의 동물로부터 단리될 수 있다.
- [0101] 항체 "효과기 기능(effector function)"은, 항체의 Fc 영역 (천연 서열 Fc 영역 또는 아미노산 서열 변이체 Fc 영역)에 기인하는 이들 생물학적 활성을 지칭한다. 항체 효과기 기능의 예는 C1q 결합; 보체-의존성 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC); 식균작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어 B 세포 수용체; BCR)의 하향 조절 등을 포함한다.
- [0102] "항체-의존성 세포-매개 세포독성 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)" 및 "ADCC"는, Fc 수용체 (FcR)를 발현하는 비특이적 세포독성 세포 [예를 들어 자연 살해(NK) 세포, 호중구, 및 대식 세포]가 표적 세포 상에 결합한 항체를 인식하고, 후속적으로 표적 세포의 용해를 일으키는 세포-매개 반응을 지칭한다. ADCC, NK 세포를 매개하는 1차 세포는 Fc γ RIII만 발현시키고, 반면 단핵세포는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII를 발현시킨다. 조혈 세포 상의 FcR 발현을 요약한 것이 문헌[Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9: 457-92 (1991)의 464쪽의 표 3]이다. 관심있는 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위해, 미국 특허 제5,500,362호 또는 제5,821,337호에 기술된 바와 같은 생체 외(in vitro) ADCC 검정을 수행할 수 있다. 이러한 검정을 위한 유용한 효과기 세포는, 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 및 자연 살해 (NK) 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 관심있는 분자의 ADCC 활성은 예를 들어, 문헌[Clynes 등 PNAS (USA) 95: 652-656 (1998)에 개시된 바와 같은 동물 모델에서 생체 내(in vivo)]에서 평가할 수 있다.
- [0103] "인간 효과기 세포(human effector cell)"는, 하나 이상의 FcR을 발현하고 효과기 기능을 수행하는 백혈구이다. 바람직하게는, 세포는 적어도 Fc γ RIII를 발현하고 ADCC 효과기 기능을 수행한다. ADCC를 매개하는 인간 백혈구

의 예는, 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC), 자연 살해 (NK) 세포, 단핵세포, 세포독성 T 세포 및 호중구를 포함하고; PBMC 및 NK 세포가 바람직하다. 효과기 세포는 이들의 천연 공급원, 예를 들어 본원에서 기술된 바와 같은 혈액 또는 PBMC로부터 단리될 수 있다.

- [0104] "보체-의존성 세포독성(complement dependent cytotoxicity)" 또는 "CDC"는, 보체의 존재 하에 표적을 용해시키는 분자의 능력을 지칭한다. 보체 활성화 경로는 동족 항원과 복합체를 이루는 분자(예를 들어, 항체)와 보체 시스템의 제1 구성요소(C1q)와의 결합에 의해 개시된다. 보체 활성화를 평가하기 위해, 예를 들어 문헌 [Gazzano-Santoro 등, *J. Immunol. Methods* 202: 163 (1996)]에 기술된 CDC 검정을 수행할 수 있다.
- [0105] "결합 친화도(binding affinity)"은, 분자 (예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 이의 결합 상대 (예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총합의 강도를 지칭한다. 달리 지시되지 않는 한 본원에서 사용된 "결합 친화도"는, 결합 쌍의 구성원들 (예를 들어, 항체 및 항원) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 내재적 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 이의 상대 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수 (Kd)로 나타낼 수 있다. 친화도는 당업계에 공지된 통상의 방법에 의해 측정될 수 있다. 저-친화도 항체는 일반적으로 항원에 천천히 결합하고 쉽게 해리되는 경향이 있고, 반면 고-친화도 항체는 일반적으로 항원에 빠르게 결합하고 결합을 유지하는 경향이 있다.
- [0106] 본원에서 사용된 "Kd" 또는 "Kd 값"은, 동역학 모드에서 Octet QK384 기구 (ForteBio Inc., Menlo Park, CA)를 사용하여 BioLayer 간섭계(Interferometry)에 의해 측정된 해리 상수를 지칭한다. 예를 들어, 항-마우스 Fc 센서를 마우스-Fc 융합 항원으로 로딩된 후, 농도 의존 결합률 (kon)을 측정하기 위해 항체-함유 웰에 침지시킨다. 항체 해리율 (koff)은 센서를 완충액만을 함유하는 웰에 침지시키는 최종 단계에서 측정된다. Kd는 koff/kon의 비율이다. (자세한 내용은 Concepcion, J, 등, *Comb Chem High Throughput Screen*, 12(8), 791-800, 2009를 참고하라).
- [0107] "에피토프(epitope)"는 단일 항체 분자가 결합하는 항원 분자의 표면 상의 부위이다. 일반적으로, 항원은 복수 또는 다수의 상이한 에피토프를 가지며 다수의 상이한 항체와 반응한다. 이 용어는 구체적으로 선형 에피토프 및 구조적 에피토프를 포함한다.
- [0108] "에피토프 매핑"은, 표적 항원 상의, 항체의 결합 부위 또는 에피토프를 확인하는 과정이다. 항체 에피토프는 선형 에피토프 또는 구조적 에피토프일 수 있다. 선형 에피토프는 단백질 내의 아미노산의 연속적 서열에 의해 형성된다. 구조적 에피토프는 단백질 서열에서 불연속적이지만, 단백질이 3차원 구조로 접힐 때 함께 결합되는 아미노산으로 형성된다.
- [0109] "다항원결정 특이성"은 구체적으로 동일 또는 상이한 표적(들) 상의 둘 이상의 상이한 에피토프에 결합하는 능력을 지칭한다.
- [0110] 항체는 2개의 항체가 동일하거나 입체적으로 중첩되는 에피토프를 인식하는 경우, 참고 항체로서 "본질적으로 동일한 에피토프"에 결합한다. 2개의 에피토프가 동일하거나 입체적으로 중첩되는 에피토프에 결합하는지 여부를 결정하기 위한 가장 널리 사용되고 신속한 방법은 경쟁 검정이고, 이는 표지된 항원 또는 표지된 항체를 사용하여 모든 수의 상이한 포맷으로 구성될 수 있다. 보통, 항원은 96-웰 플레이트에 고정화되고, 표지된 항체의 결합을 차단하는 비표지 항체의 능력은 방사성 또는 효소 표지를 사용하여 측정한다.
- [0111] 용어 "치료", "치료하는" 등은, 일반적으로 원하는 약리학적 및/또는 생리학적 효과를 획득하는 것을 의미하는 것으로 본원에서 사용된다. 효과는 이들의 질환 또는 증상을 완전히 또는 부분적으로 예방하는 면에서 예방적일 수 있고/있거나, 질환 및/또는 질환에 기인하는 부작용에 대한 부분적 또는 완전한 치료 면에서 치료적일 수 있다. 본원에서 사용되는 "치료"는, 포유류의 질환에서의 임의의 치료를 다루며, 하기를 포함한다: (a) 질환에 걸리기 쉬울 수 있지만 아직 질환이 있는 것으로 진단되지 않은 대상체에서 질환이 발병하는 것을 예방하는 것; (b) 질환을 억제하는 것, 즉, 질환의 발달을 저지하는 것; 또는 (c) 질환을 완화시키는 것, 즉, 질환의 퇴행을 초래하는 것. 치료제는 질환 또는 부상의 발병 전, 발병 동안 또는 발병 후 투여될 수 있다. 치료가 바람직하지 않은 환자의 임상 증상을 안정화시키거나 감소시키는, 진행 중인 질환의 치료는 특히 중요하다. 이러한 치료는 바람직하게는 발병 조직에서 기능의 완전한 손실 이전에 수행된다. 개체 치료법은 질환의 증상 단계 중에, 그리고 일부 경우에는 질환의 증상 단계 후에 투여될 수 있다.
- [0112] "치료학적 유효량"은 개체에 치료 혜택을 주기에 충분한 활성제의 양을 의미한다. 예를 들어, "치료학적 유효량"은 질환과 관련된 병리적 증상, 질환 진행 또는 생리적 상태에서 개선을 유도, 완화 또는 초래하거나,

또는 질환에 대한 저항성을 개선시키는 양이다.

- [0113] 용어 "대상체(subject)", "개체(individual)" 및 "환자"는, 치료에 대해 평가되는 및/또는 치료되는 포유류를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 한 양태에서, 포유류는 인간이다. 용어 "대상체", "개체", 및 "환자"는 암을 가진 개인, 자가면역 질환을 가진 개인, 병원균 감염을 가진 개인 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 개체는 인간일 수 있지만, 또한 다른 포유류, 특히 인간 질환에 대한 실험실 모델에 유용한 포유류, 예를 들어 마우스, 랫트 등을 포함할 수 있다.
- [0114] 용어 "CD3"은 인간 CD3 단백질 다중-서브유닛 복합체를 지칭한다. CD3 단백질 다중-서브유닛 복합체는 6개의 독특한 폴리펩티드 사슬로 구성된다. 여기에는 CD3 γ 사슬 (SwissProt P09693), CD3 δ 사슬 (SwissProtP04234), 2개의 CD3 ϵ 사슬 (SwissProt P07766) 및 1개의 CD3 ζ 사슬 동종이량체 (SwissProt 20963)가 포함되며 T 세포 수용체 α 및 β 사슬과 관련된다. 용어 "CD3"은 달리 언급되지 않는 한, 세포 (T 세포 포함)에 의해 자연적으로 발현되거나 유전자 또는 이들 폴리펩티드를 암호화하는 cDNA로 형질감염된 세포에서 발현될 수 있는 임의의 CD3 변이체, 이소형 및 중 상동체를 포함한다.
- [0115] "BCMA x CD3 항체"는 2개의 상이한 항원-결합 영역을 포함하는 이중 특이적 중쇄-단독 항체와 같은 다중특이적 중쇄-단독 항체이고, 하나는 항원 BCMA에 특이적으로 결합하고 하나는 이는 CD3에 특이적으로 결합한다.
- [0116] 용어 "약제학적 제제"는 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이라도 하는 형태이고, 제제가 투여될 대상에 허용할 수 없는 독성을 갖는 추가 성분을 함유하지 않는 제조용 물질을 지칭한다. 이러한 제제는 멸균성이다. "약제학적으로 허용가능한" 부형제 (비히클, 첨가제)는 사용된 활성 성분의 유효 용량을 제공하기 위해 대상 포유동물에게 합리적으로 투여될 수 있는 것들이다.
- [0117] "살균" 제제는 모든 살아있는 미생물 및 그들의 포자가 무균적이거나 또는 없거나 본질적으로 없다. "냉동된" 제제는 0 °C 미만의 온도에서의 제제이다.
- [0118] "안정한" 제제는 그 안에 단백질이 저장시 그의 물리적 안정성 및/또는 화학적 안정성 및/또는 생물학적 활성을 본질적으로 유지하는 제제이다. 바람직하게는, 제제는 본질적으로 그의 물리적 및 화학적 안정성뿐만 아니라 저장시 그의 생물학적 활성을 유지한다. 저장 기간은 일반적으로 제제의 의도된 저장 수명에 기초하여 선택된다. 단백질 안정성을 측정하기 위한 다양한 분석 기술이 관련 기술 분야에서 이용가능하고 [펩티드 및 단백질 약물 전달, 247-301]에서 검토된다. 예를 들어, [Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) 및 Jones. A. Adv. Drug Delivery Rev. 10:29-90) (1993)]. 선택된 온도에서 선택된 시간 동안 안정성을 측정할 수 있다. 안정성은 응집체 형성의 평가 (예를 들어, 크기 배제 크로마토그래피, 탁도 측정 및/또는 육안 검사를 사용)를 포함하여; 양이온 교환 크로마토그래피, 이미지 모세관 등전 포커싱 (icIEF) 또는 모세관 구역 전기영동; 아미노-말단 또는 카르복시-말단 서열 분석; 질량 분석; 환원된 항체 및 온전한 항체를 비교하기 위한 SDS-PAGE 분석; 펩티드 맵 (예를 들어 트립신 또는 LYS-C) 분석; 항체의 생물학적 활성 또는 항원 결합 기능을 평가하는 단계를 사용하여 전하 불균일성을 평가함으로써 다양한 방식으로 정성적 및/또는 정량적으로 평가될 수 있다. 불안정성은 응집, 탈아미드화 (예를 들어, Asn 탈아미드화), 산화 (예를 들어, Met 산화), 이성질화 (예를 들어, Asp 이성화), 칼리핑/가수분해/단편화 (예를 들어, 힌지 영역 단편화), 숙신이미드 형성, 짝지어지지 않은 시스테인(들), N-말단 연장, C-말단 처리, 글리코실화 차이 등 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0119] II. 상세한 설명
- [0120] 항-BCMA 항체
- [0121] 본 발명은 인간 BCMA에 결합하는 중쇄-단독 항체(UniAbs)를 제공한다. 본 발명의 항-BCMA UniAbs는 본원에서 정의되고 도 1에 나타낸 바와 같은 CDR 서열의 세트를 포함하고, 도 2에 나타낸 서열번호 12 내지 15의 제공된 중쇄 가변 영역 (VH) 서열에 의해 예시되고, 도 3에 제시된 서열번호 16-19의 핵산 서열에 의해 코딩된다. 이들 항체의 부류는 임상적 치료제(들)로서의 유용성에 기여하는 다수의 혜택을 제공한다. 항체는 다양한 결합 친화도를 가지는 구성원을 포함하여, 원하는 결합 친화도를 가지는 특정 서열의 선정을 허용한다.
- [0122] 적합한 항체는 예를 들어, 도 5에 도시된 바와 같이, 이중특이적 또는 3중특이적 항체, 또는 CAR-T 구조의 일부로서의 용도를 제한없이 포함하며, 개발 및 치료 또는 다른 용도를 위해 본원에서 제공된 것으로부터 선택될 수 있다.
- [0123] 후보 단백질에 대한 친화도의 측정은 당업계에서 공지된 방법, 예를 들어 Biacore 측정을 사용하여 수행할 수 있

다. 항체 부류의 구성원은 BCMA에 대해 약 10^{-6} 내지 약 10^{-11} 의 Kd인 친화도를 가질 수 있으며, 이에 제한되지 않는다: 약 10^{-6} 내지 약 10^{-10} ; 약 10^{-6} 내지 약 10^{-9} ; 약 10^{-6} 내지 약 10^{-8} ; 약 10^{-8} 내지 약 10^{-11} ; 약 10^{-8} 내지 약 10^{-10} ; 약 10^{-8} 내지 약 10^{-9} ; 약 10^{-9} 내지 약 10^{-11} ; 약 10^{-9} 내지 약 10^{-10} ; 또는 이 범위 내의 임의의 값. 친화도 선정은 체내 검정, 전임상 모델, 및 임상 시험 뿐만 아니라 잠재적 독성의 평가를 포함하는 BCMA 생물학적 활성을 조절, 예를 들어 차단에 대한 생물학적 평가로 확인될 수 있다.

- [0124] 본원의 항체 부류의 구성원은 시노몰구스 마카크(*Cynomolgus macaque*)의 BCMA 단백질과 교차-반응하지 않지만, 원하는 경우 시노몰구스 마카크의 BCMA 단백질 또는 임의의 다른 동물 종의 BCMA와 교차-반응성을 제공하기 위해 조작될 수 있다.
- [0125] 일부 구현예에서, 본원의 항-BCMA UniAb 항체는, 인간 VH 프레임워크 내에 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함한다. CDR 서열은 예시로서, 각각 CDR1, CDR2 및 CDR3에 대해, 서열번호 16 내지 50에 나타난 제공된 예시적인 가변 영역 서열의 아미노산 잔기 26 내지 35; 53 내지 59; 및 98 내지 117 부근의 영역에 위치할 수 있다. 서열의 순서는 동일하게 유지될 것임에도, 상이한 프레임워크 서열이 선택되는 경우 CDR 서열은 상이한 위치에 있을 수 있음이 당업자에게 이해될 것이다.
- [0126] 본 발명의 항-BCMA 항체의 CDR1 및 CDR2 서열은 하기 구조식에 포함될 수 있으며, 여기서 X는 하기에 나타난 바와 같은 특정 아미노산일 수 있는 가변 아미노산을 나타낸다.
- [0127] CDR1 (서열번호 20)
- [0128] G F T F X1 X2 X3 A
- [0129] (식 중, X1은 S 또는 T이고;
- [0130] X2은 S 또는 N이고;
- [0131] X3은 H 또는 Y임)
- [0132] 일 구현예에서, X1 및 X2는 모두 S이다. 다른 구현예에서, X3은 H이다. 추가 구현예에서, X1 X2 X3은 서열 SSH를 갖는다. 다른 구현예에서, CDR1은 서열 GFTFSSHA (서열번호 2) 또는 서열 GFTFSSYA (서열번호 3) 또는 GFTFTNHA 서열 (서열번호 1)을 포함한다.
- [0133] CDR2 (서열번호 21)
- [0134] I S G X4 G X5 X6 X7
- [0135] (식에서, X4는 S 또는 N이고;
- [0136] X5는 D 또는 R이고;
- [0137] X6는 T, F 또는 Y이고; 및
- [0138] X7는 T 또는 I임), 및
- [0139] 한 구현예에서, X4는 S이다. 다른 구현예에서, X5는 D이다. 추가 구현예에서, X4는 S이고 X5는 D이다. 또 다른 추가 구현예에서, X6은 Y이다. 다른 구현예에서, X4는 S이고, X5는 D이고 X6은 Y이다. 또 다른 구현예에서, X7은 T이다. 추가 구현예에서, X4는 S이고, X5는 D이고 X7은 T이다. 다른 구현예에서, CDR2는 서열번호 4, 또는 서열번호 5, 또는 서열번호 : 6 또는 서열번호 : 7의 서열을 포함한다.
- [0140] 한 구현예에서, CDR3은 AKDGGETLVDS (서열번호 8), AKDEDGGSLLGY (서열번호 9), AKDEDGGSLLGH (서열번호 10) 및 AKEGTGANS SLADY (서열번호 11)로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0141] 대표적인 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 도 1에 도시된다.
- [0142] 일 구현예에서, 본 발명의 항-BCMA 중쇄-단독 항체는 서열번호 1의 CDR1 서열; 서열번호 4의 CDR2 서열 및 서열번호 8의 CDR3 서열을 포함한다.
- [0143] 다른 구현예에서, 본 발명의 항-BCMA 중쇄-단독 항체는 서열번호 2의 CDR1 서열; 서열번호 5의 CDR2 서열; 및 서열번호 9의 CDR3 서열을 포함한다.
- [0144] 추가의 구현예에서, 본 발명의 항-BCMA 중쇄-단독 항체는 서열번호 2의 CDR1 서열; 서열번호 6의 CDR2 서열; 및

서열번호 10의 CDR3 서열을 포함한다.

[0145] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항-BCMA 중쇄-단독 항체는 서열번호 3의 CDR1 서열, 서열번호 7의 CDR2 서열 및 서열번호 11의 CDR3 서열을 포함한다.

[0146] 또 다른 양태에서, 본 발명의 항-BCMA 항체는 서열번호 12 내지 15의 임의의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함한다(도 2).

[0147] 일부 양태에서, 본 발명의 항-BMA 항체에서 CDR 서열은 서열번호 1 내지 11 중 어느 하나에서의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 서열, 또는 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열의 세트에 비해, 2개 이하의 아미노산 치환을 포함한다(도 1). 일부 양태에서, 상기 아미노산 치환(들)은 상기 제공된 식 및 서열에 비해, CDR1의 5-7의 아미노산 위치 중 하나 또는 둘, 및/또는 CDR2의 4, 6, 8의 아미노산 위치 중 하나 또는 둘 및/또는 CDR3의 하나 또는 둘의 아미노산 위치 상에 있다. 일부 양태에서 본원의 중쇄 단독 항-BCMA 항체는 도 2에 보여진 중쇄 단독 가변 영역 서열의 어느 하나에 적어도 85% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 98% 동일성, 또는 적어도 99% 동일성을 가지는 중쇄 가변 영역 서열을 포함할 것이다 (서열번호 12-15).

[0148] 일부 양태에서, 이중특이적 또는 다중특이적 항체가 제공되고, 이는 3사슬 이중특이적 항체를 비제한적으로 포함하는 본원에서 논의된 임의의 배치를 가질 것이다. 이중특이적 항체는 적어도 BCMA 이외의 단백질에 특이적인 항체의 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0149] 본 발명의 단백질이 이중특이적 항체인 경우, 하나의 결합 모이어티(moiety)는 인간 BCMA에 대해 특이적인 반면, 다른 아암(arm)은 표적 세포, 종양 관련 항원, 표적 항원, 예를 들어 인테그린 등, 병원체 항원, 체크포인트 단백질 등에 특이적일 수 있다. 표적 세포는 구체적으로 혈액 종양, 하기에 논의된 바와 같이, 예를 들어 B-세포 종양과 같은 암 세포를 포함한다.

[0150] 다양한 형식의 이중특이적 항체가 본 발명 내에 있으며, 단일 사슬 폴리펩티드, 2사슬 폴리펩티드, 3사슬 폴리펩티드, 4사슬 폴리펩티드, 및 이들의 배수를 포함하나 이제 제한되지 않는다. 본원의 이중특이적 항체는 구체적으로 BCMA에 결합하는 T-세포 이중특이적 항체를 포함하고, 이는 혈장 세포 (PC) 및 다발성 골수종 (MM), 및 CD3 (항-BCMA × 항-CD3 항체) 상에 선택적으로 발현된다. 이러한 항체는 BCMA를 운반하는 세포의 강력한 T-세포 매개 사멸을 유도하고 아래에서 논의되는 바와 같이, 종양, 특히 혈액학적 종양, 예컨대 B-세포 종양을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0151] CD3 및 BCMA에 대한 이중특이적 항체는 예를 들어 WO2007117600, WO2009132058, WO2012066058, WO2012143498, WO2013072406, WO2013072415, 및 WO2014122144, 및 US 20170051068에 기재되어 있다.

[0152] 약제학적 조성물

[0153] 본 발명의 또 다른 측면은 본 발명의 하나 이상의 항체를 포함하는 약제학적 조성물을 적합한 약제학적으로 허용가능한 담체와 혼합하여 제공하는 것이다. 본원에서 사용되는 바와 같은 약제학적으로 허용가능한 담체는 치료 성분, 또는 이들의 조합을 보유하기 위해 당업계에서 사용되는 보조제, 고체 담체, 물, 완충제, 또는 다른 담체가 예시되지만, 이에 제한되지 않는다.

[0154] 본 발명에 따라 사용되는 항체의 약제학적 조성물은 원하는 정도의 순도를 가지는 단백질과 선택적인 약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 안정화제 (예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences 16판, Osol, A. Ed. (1980) 참조)와 혼합함으로써, 예컨대 동결 건조 제제 또는 수용액의 형태로 저장을 위해 제조된다. 허용가능한 담체, 부형제, 또는 안정화제는 투여된 용량 및 농도에서 수용자에게 독성이 없으며, 인산염, 시트르산, 및 다른 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제 (예를 들어, 옥타데실디메틸벤질 염화암모늄, 헥사메토늄 염화물 (hexamethonium chloride); 벤즈알코늄 염화물(benzalkonium chloride), 벤즈에토늄 염화물(benzethonium chloride); 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥사놀; 3-펜타놀; 및 m-크레졸; 저분자량 (약 10개 잔기 미만) 폴리펩티드; 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신과 같은 아미노산; 단당류, 이당류 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 수크로오스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨과 같은 당; 나트륨과 같은 염 형성 카운터-이온; 금속 착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 TWEEN™, PLURONICS™ 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)와 같은 비이온성 계면활성제를 포함한다.

[0155] 비경구 투여용 약제학적 조성물은 바람직하게는 멸균되고 실질적으로 등장 성이고 의약품 제조 및 품질관리 기

준 (Good Manufacturing Practice, GMP) 조건하에서 제조된다. 약제학적 조성물은 단위 투여 형태 (즉, 단일 투여용 투여량)로 제공될 수 있다. 제제는 선택된 투여 경로에 의존한다. 본원의 항체는 정맥 주사 또는 주입 또는 피하 투여될 수 있다. 주사 투여를 위해, 본원의 항체는 수용액, 바람직하게는 생리화학적으로 적합한 완충제로 제제화되어 주사 부위에서의 불편함을 감소시킬 수 있다. 용액은 상기 논의된 바와 같이 담체, 부형제 또는 안정화제를 함유할 수 있다. 대안적으로, 항체는 사용 전에 적합한 비히클, 예를 들어 멸균 발열원이 없는 물로 구성하기 위해 동결 건조된 형태일 수 있다.

[0156] 항-BCMA 항체 제제는 예를 들어, 미국 특허 제9,034,324호에 개시된다. 유사한 제제가 본 발명의 단백질에 대해 사용될 수 있다. 피하 항체 제제는 예를 들어 US 20160355591 및 US 20160166689에 기재되어 있다.

[0157] 사용 방법

[0158] 본원의 약제학적 조성물은 BCMA의 발현 또는 과발현을 특징으로 하는 B-세포 및 혈장 세포 악성 종양 및 자가면역 장애를 포함하는 B-세포 관련 질환의 치료를 위해 사용될 수 있다.

[0159] 이러한 B-세포 관련 질환은 B-세포 및 혈장 세포 악성 종양 및 자가면역 질환을 포함하고, 형질세포종(plasmacytoma), 호지킨스 림프종(Hodgkins' lymphoma), 여포성 림프종(follicular lymphomas), 소 비-균열 림프종(small non-cleaved cell lymphomas), 지역형 버킷림프종(endemic Burkitt's lymphoma), 산발형 버킷림프종(sporadic Burkitt's lymphoma), 변연부 림프종(marginal zone lymphoma), 림프절외 점막연관림프조직 림프종(extranodal mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma), 림프절 단핵구 B 세포 림프종(nodal monocytoid B cell lymphoma), 비장 림프종(splenic lymphoma), 맨틀세포 림프종(mantle cell lymphoma), 대세포림프종(large cell lymphoma), 미만성 혼성 세포 림프종(diffuse mixed cell lymphoma), 면역모세포성 림프종(immunoblastic lymphoma), 원발성 중격동 B세포 림프종(primary mediastinal B cell lymphoma), 폐 B 세포 혈관중심성 림프종(pulmonary B cell angiocentric lymphoma), 소림프구 림프종(small lymphocytic lymphoma), 불확실한 악성 잠재력의 B 세포 증식(B cell proliferations of uncertain malignant potential), 림프종양 육아종증(lymphomatoid granulomatosis), 이식후 림프증식성 장애(post-transplant lymphoproliferative disorder), 면역조절 장애(immunoregulatory disorder), 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 중증 근무력증(myasthenia gravis), 특발성 혈소판 감소성 자반증(idiopathic thrombocytopenia purpura), 항인지질 증후군(anti-phospholipid syndrome), 샤가스병(Chagas' disease), 그레이브병(Grave's disease), 베게너 유아종증(Wegener's granulomatosis), 결절성다발성동맥염(poly-arteritis nodosa), 쇼그렌 증후군(Sjogren's syndrome), 심상성 천포창(pemphigus vulgaris), 경피증(scleroderma), 다발성 경화증(multiple sclerosis), 항인지질증후군(anti-phospholipid syndrome), ANCA 연관 혈관염(ANCA associated vasculitis), 굿파스츄어병(Goodpasture's disease), 가와사키병(Kawasaki disease), 자가면역 용혈성 빈혈(autoimmune hemolytic anemia), 및 급속진행 사구체신염(rapidly progressive glomerulonephritis), 중쇄 질환(heavy chain disease), 원발성 또는 면역세포-관련 아밀로이드증(primary or immunocyte-associated amyloidosis), 또는 단세포군 감마그로불린병증(monoclonal gammopathy)을 포함하며 이에 제한되지 않는다.

[0160] BCMA의 발현을 특징으로 하는 혈장 세포 질환은, 다발성 골수종(MM)을 포함한다. MM은 골수 구획 내 비정상적인 혈장 세포의 축적 및 단클론 팽창을 특징으로 하는 B-세포 악성 종양이다. MM에 대한 현재 치료법은 종종 병의 경감을 초래하지만, 거의 모든 환자가 결국 재발하고 사망한다. 동종 조혈모세포 이식의 설정에서 골수종 세포의 면역-매개 제거의 실질적인 증거가 존재한다; 그러나, 이 접근법의 독성이 높고 소수의 환자만 치료된다. 일부의 단클론 항체가 전임상 연구 및 초기 임상 시험에서 MM 치료에 대한 가능성을 보였지만, MM에 대한 임의의 단클론 항체 치료법의 일관된 임상 효능은 결정적으로 입증되지 않았다. 그러므로 MM에 대한 면역치료법을 포함하는 새로운 치료법이 매우 필요하다 [예를 들어, Carpenter 등, *Clin Cancer Res* 2013, 19(8): 2048-2060 참조].

[0161] 증식 유도 리간드, APRIL에 의한 BCMA의 과발현 또는 활성화 생체 내에서 인간 다발성 골수종(MM) 진행을 촉진하는 것으로 공지되어 있다. BCMA는 또한 마우스에서 p53 돌연변이를 갖는 이종이식된 MM 세포의 생체 내 성장을 촉진하는 것으로 나타났다. APRIL/BCMA 경로의 활성화는 종양 세포와 이들의 지지 골수 미세 환경 사이의 양방향 상호작용을 통해 MM 병인 및 약물 내성에서 중심적인 역할을 하기 때문에, BCMA는 MM의 치료를 위한 표적으로 확인되었다. 추가 세부 사항은 예를 들어, [Yu-Tsu Tai et al., *Blood* 2016; 127 (25) : 3225-3236]를 참조한다.

[0162] BCMA를 발현하는 혈장 세포에 관련된 또 다른 B-세포 질환은, 또한 루푸스로 알려진 전신성 홍반성 루푸스(systemic lupus erythematosus, SLE)이다. SLE는 신체의 모든 부분에 영향을 줄 수 있는 전신성, 자가면역 질환

환이며, 신체의 자체 세포 및 조직을 공격하여, 만성적인 염증 및 조직 손상을 초래하는 면역 시스템으로 대표된다. 이는 항체-면역 복합체가 침전하여 추가의 면역 반응을 초래하는 유형 III 과민성 반응이다 (Inaki & Lee, *Nat Rev Rheumatol* 2010; 6: 326-337).

- [0163] 본 발명의 항-BCMA 중쇄-단독 항체(UniAbs)는 MM, SLE, 및 상기 열거된 BCMA의 발현을 특징으로 하는 다른 B-세포 장애 또는 혈장 세포 장애의 치료를 위한 치료제를 개발하기 위해 사용될 수 있다. 특히, 본 발명의 항-BCMA 중쇄-단독 항체 (UniAbs)는 단독으로 또는 다른 MM 치료와 조합하여 MM의 치료 후보이다.
- [0164] 한 양태에서, 본원의 항체는 중쇄 단독 항-BCMA 항체-CAR 구조, 즉 중쇄 단독 항-BCMA 항체-CAR-변환된 T 세포 구조의 형태일 수 있다.
- [0165] 질환의 치료를 위한 본 발명의 조성물의 유효 용량은, 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리학적 상태, 환자가 인간인지 동물인지 여부, 다른 투여된 약물, 및 치료가 예방적인지 치료적인지 여부를 포함하는 다수의 상이한 인자에 따라 다양하다. 보통, 환자는 인간이지만, 비인간 포유류, 예를 들어 개, 고양이, 말 등과 같은 반려동물, 토끼, 마우스, 랫트 등과 같은 실험실 포유류 등 또한 치료될 수 있다. 치료 용량을 안전성 및 유효성을 최적화하기 위해 적정할 수 있다.
- [0166] 용량 수준은 통상적으로 숙련된 임상외에 의해 결정될 수 있고, 필요한 바와 같이 예를 들어, 치료법에 대한 개체의 반응을 변경하기 위해 필요한 바와 같이 변경될 수 있다. 단일 투여 형태를 제조하기 위한 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은, 치료되는 숙주 및 투여의 특정 방식에 따라 다르다. 투여 단위 형태는 일반적으로 약 1mg 내지 약 500mg의 활성 성분을 함유한다.
- [0167] 일부 양태에서, 약제의 치료학적 용량은 숙주 체중의 약 0.0001 내지 100 mg/kg, 더욱 통상적으로 0.01 내지 5 mg/kg 범위일 수 있다. 예를 들어, 투여량은 1 mg/체중 kg, 또는 10 mg/체중 kg, 또는 1-10 mg/kg의 범위 내일 수 있다. 예시적인 치료 요법은 매2주 당 1회, 또는 월 1회, 또는 매 3 내지 6 개월 당 1회 투여를 수반한다. 본 발명의 치료학적 엔티티는 보통 여러 번 투여된다. 단일 투여 사이 간격은 매주, 매월 또는 매년일 수 있다. 간격은 또한 환자 내 치료학적 개체의 혈중 수준 측정에 의해 나타나는 바와 같이 불규칙적일 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 치료학적 엔티티는 서방출성 제형으로 투여될 수 있고, 이 경우 덜 빈번한 투여가 요구된다. 투여량 및 빈도는 환자 내 폴리펩티드의 반감기에 따라 다르다.
- [0168] 전형적으로, 조성물은 액체 용액 또는 현탁액으로서 주사용 제제로 제조되고; 주사 전 액체 비히클(vehicle) 중의 용액 또는 현탁액에 적합한 고체 형태로 또한 제조될 수 있다. 본원의 약제학적 조성물은 직접 또는 고형 (예를 들어, 동결 건조된) 조성물의 재구성 후 정맥 내 또는 피하 투여에 적합하다. 조제물은 또한 상기 논의된 바와 같이, 강화된 보조제 효과를 위해 유화되거나, 또는 리포솜 또는 폴리락티드, 폴리글리콜라이드 또는 공중합체와 같은 미세입자 내에 캡슐화될 수 있다 [Langer, *Science* 249: 1527, 1990 및 Hanes, *Advanced Drug Delivery Reviews* 28: 97-119, 1997]. 본 발명의 약제는 활성 성분의 지속형 또는 박동성 방출을 허용하는 방식으로 제제화될 수 있는 저장형(depot) 주사 또는 이식 제제의 형태로 투여될 수 있다. 약제학적 조성물은 일반적으로 멸균된, 실질적으로 등장성인 것으로 제제화되고 미국 식품의약품안전처의 모든 우수약품품질관리 (GMP) 규정에 완전히 따른다.
- [0169] 본원에서 기술된 항체 및 항체 구조의 독성은, 세포 배양 또는 실험 동물에서의 표준 약제학적 절차, 예를 들어, LD50 (집단 50%에 대한 치사량) 또는 LD100 (집단 100%에 대한 치사량)를 측정함으로써 측정될 수 있다. 독성과 치료학적 효과 사이의 용량 비율이 치료 지수이다. 이들 세포 배양 검정 및 동물 연구로부터 획득한 데이터는 인간에서 사용하기에 독성이 없는 투여량 범위를 생성하는데 사용될 수 있다. 본원에서 기술된 항체의 용량은, 바람직하게는 독성이 거의 또는 전혀 없는 유효 투여량을 포함하는 순환 농도의 범위 내에 있다. 투여량은 사용된 투여 형태 및 이용된 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 달라질 수 있다. 정확한 제형, 투여 경로 및 용량은 환자의 상태를 고려하여 개별 의사에 의해 선택될 수 있다.
- [0170] 투여를 위한 조성물은 일반적으로 약제학적으로 허용가능한 담체, 바람직하게는 수용성 담체에 용해된 항체 또는 다른 용제 용제(ablative agent)를 포함할 것이다. 다양한 수용성 담체, 예를 들어, 완충 식염수 등을 사용할 수 있다. 이들 용액은 멸균 처리되고, 일반적으로 바람직하지 않은 물질을 포함하지 않는다. 이들 조성물은 통상적인, 공지된 멸균 기술에 의해 멸균될 것이다. 조성물은 pH 조정제 및 완충제, 독성 조정제 등, 예를 들어, 아세트산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 젖산나트륨 등과 같은 생리학적 조건을 근사화시키는 데 필요한 약제학적으로 허용가능한 보조 물질을 함유할 수 있다. 이 제형의 활성제의 농도는 광범위하게 다를 수 있고, 선택된 투여의 특정 방식 및 환자의 요구에 따라 유체 부피, 점도, 체중 등을 주요 기준으로 선택될

것이다 [예를 들어, Remington's Pharmaceutical Science (15판, 1980) 및 Goodman & Gillman, The Pharmacological Basis of Therapeutics (Hardman 등, eds., 1996)].

[0171] 또한 본 발명의 범위 내에 본 발명의 활성제 및 이의 제제를 포함하는 키트 및 사용 설명서가 있다. 키트는 적어도 하나의 추가 시약, 예를 들어 화학요법 약물, 등을 더 함유할 수 있다. 키트는 전형적으로 키트의 내용물의 사용 목적을 표시하는 표지를 포함한다. 용어 표지는 키트 상에 또는 키트 내에 제공되는, 또는 그렇지 않으면 키트에 부착하는 임의의 서면, 또는 기록된 자료를 포함한다.

[0172] 본 발명은 지금 충분히 기술되었으며, 본 발명의 사상 또는 범위를 벗어나지 않으면서 다양한 변경 및 수정이 이루어질 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다.

[0173] **실시예**

[0174] 실시예 1

[0175] 중쇄-단독 항체를 발현하는 유전자 조작 랫트

[0176] "인간-랫트" Igh 유전자좌를 작제하고, 여러 부분으로 조립하였다. 이는 인간 JH의 하류에서 랫트 C 영역 유전자의 변경 및 연결, 및 이후 인간 VH6 -D-세그먼트 영역의 상류 첨가와 관련된다. 인간 VH 유전자 [BAC6 및 BAC3]의 분리된 클러스터(cluster)를 갖는 2개의 BAC를, (인간 VH6, 모든 D, 모든 JH, 및 변형된 랫트 C γ 2a/1/2b (Δ CH1)를 포함하는) 조립되고 변경된 영역을 암호화하는 BAC (Georg로 명명됨)와 함께 공동 주입하였다.

[0177] 재배열되지 않은 배열로 인공 중쇄 면역글로불린 유전자좌를 갖는 형질전환 랫트를 생성하였다. IgG2a(Δ C μ 1), IgG1(Δ C μ 1), IgG2b(Δ C μ 1) 유전자는, C μ 1 세그먼트가 결여되었다. 불변 영역 유전자 IgE, IgA 및 3' 인핸서가, Georg BAC에 포함된다. 형질전환 랫트의 RT-PCR 및 혈청 분석(ELISA)에서는, 형질전환 면역글로불린 유전자좌의 생산적인 재배열, 및 혈청 내에서의 다양한 동형(isotype)의 중쇄-단독 항체의 발현을 나타냈다. 형질전환 랫트를, 이전에 미국 특허 공개 제2009/0098134 A1호에 기술된 돌연변이 내인성 중쇄 및 경쇄 유전자좌를 갖는 랫트와 교배시켰다. 이러한 동물의 분석은, 랫트 면역글로불린 중쇄 및 경쇄 발현의 불활성화, 및 인간 V, D, 및 J 유전자에 의해 암호화되는 가변 영역을 갖는 중쇄 항체의 높은 수준의 발현을 입증하였다. 형질전환 랫트의 면역화는, 항원-특이적 중쇄 항체의 높은 역가 혈청 반응의 생성을 초래하였다. 인간 VDJ 영역을 갖는 중쇄 항체를 발현하는 형질전환 랫트를, UniRat로 칭하였다.

[0178] 실시예 2

[0179] 면역화

[0180] BCMA의 재조합 세포의 도메인에 의한 면역화.

[0181] 12마리 UniRat 동물 (6 HC27, 6 HC28)을, 재조합 인간 BCMA 단백질을 사용하여 면역화시켰다. 동물을 Titermax/Alhydrogel 보조제를 사용하는 표준 프로토콜에 따라 면역화시켰다. BCMA의 재조합 세포의 도메인은 R&D Systems로부터 구매하여, 멸균 식염수로 희석하고, 보조제와 혼합하였다. 면역원을 Titermax 및 Alhydrogel 보조제와 혼합하였다. Titermax 중 면역원을 이용한 제1 면역화(프라이밍)는, 왼쪽 및 오른쪽 다리에 투여하였다. 후속 부스팅 면역화는 Alhydrogel의 존재 하에 실행하였고, 채취 3일 전에 PBS 중 면역원을 이용하여 부스팅을 수행하였다. 혈청 역가를 측정하기 위해, 최종 채혈 시 랫트로부터 혈청을 수집하였다.

[0182] 혈청 역가 결과

[0183] 진핵 세포에서 생성된 huBCMA+Fc 단백질 및 cynoBCMA+Fc 단백질, 및 각각 대장균 및 밀 배아로부터의 2개의 인간 BCMA 단백질에 대해, ELISA를 사용하여 단일 1:500 혈청 역가 희석액에 대한 결합 능력을 검사한다. 또한, 혈청 시료를 2개의 표적-외 단백질, HSA 및 인간 IgG1에 대해 검사한다. 또한, 모든 동물의 혈청에 대해, NCI-H929 세포 (BCMA+, 램다-)에 대한 결합을 검사한다.

[0184] NCI-H929 세포 (BCMA+, 램다-)에 대한 혈청 반응성 수준에서 결과의 유의한 확산이 관찰되기 때문에, 이 결과의 타당성은, 동물의 부분 집합에 대해 생성된 ELISA 결합 데이터에 의해 확인된다. cynoBCMA+Fc 단백질에 대한 결합에 대한 양성 신호는, 또한 인간 면역원 상에 포함되는 분자의 Fc 부분 또는 ECD에 대한 결합을 반영할 수도 있다. 두 검정 유형 모두에서, 면역화 이전에 동물로부터 채취한 혈청의 분석은 면역원 또는 표적-외 단백질에 대한 반응성을 나타내지 않았다.

- [0185] 실시예 3
- [0186] 유전자 조립, 발현 및 결합 검정
- [0187] 림프절 세포에서 고도로 발현되는 중쇄-단독 항체를 암호화하는 cDNA를, 유전자 조립을 위해 선정하고, 발현 벡터에 클로닝하였다. 후속적으로, 이들 중쇄 서열을 HEK 세포에서 UniAb 중쇄-단독 항체 (CH1 결실, 경쇄 없음)로 발현시켰다.
- [0188] 본 발명의 항-BCMA 중쇄-단독 항체와 BCMA 단백질 (인간 및 시노물구스) 및 BCMA- 발현 세포주 (H929; BCMA+, 람다-)에 대한 다양한 농도의 결합을 시험한 분석 결과는 도 4에 도시된다. NCI-H929 세포주는 인간 BCMA를 발현하는 인간 다발성 골수종 세포주이며, 이는 미국미생물보존센터(ATCC)로부터 얻어 ATCC 권고에 따라 배양되었다.
- [0189] 4개의 항체의 상청액을, 인간 및 시노물구스 BCMA에 대한 표준 ELISA 검정에서의 결합에 대해 검사하였다. 재조합 BCMA 단백질에 대한 결합을, Abcam 사로부터 입수한 인간 BCMA ECD (ab50089)를 사용하여, ELISA에 의해 측정하였다. 50 ng/ml UniAb을 포획하기 위해, BCMA ECD 단백질을 2 µg/ml의 농도로 사용하였다. UniAb의 결합은, 염소 항-인간 IgG HRP 접합 항체 (ThermoFisher 31413)을 사용하여 검출하였다. 모든 항체를 0.05% Tween-20 및 1% 건조 분유를 사용하여 1×TBS 중에 희석하였다.
- [0190] 인간 IgG1의 표적-외 결합은, UniAb를 사용하여 인간 IgG1 카파를 포획한 후, 염소 항-인간 카파 HRP 접합 항체에 의한 카파 사슬의 검출을 사용하는 ELISA에 의해 평가하였다 (Southern Biotech 2060-05).
- [0191] 또한, 4가지 시험 항-BCMA 항체의 상청액을, H929 세포에 대한 결합에 대해 유동 세포 분석법으로 검사하였다. 시료는 EMD Millipore 사의 Guava easyCyte 8HT 기구를 사용하여 유동 세포 분석법에 의해 측정하고, guavaSoft를 사용하여 분석하였다. 결합된 항체를 PE (Southern Biotech 2042-09)에 접합된 염소 항-인간 IgG F(ab)2를 사용하여 검출하였다. 모든 항체를 1% BSA를 포함하는 PBS 중에 희석하였다. 인간 IgG1 동형 대조군에 대한 염색과 비교하여, 양성 염색을 측정하였다.
- [0192] 도 4에서: 컬럼 1은 HCAb의 클론 ID를 나타낸다. 컬럼 2는 CDR3 서열에 기초한 HCAb의 부류 ID를 나타낸다. 컬럼 3은 CDR1 아미노산 서열을 나타낸다. 컬럼 4는 CDR2 아미노산 서열을 나타낸다. 컬럼 5는 CDR3 아미노산 서열을 나타낸다. 컬럼 6은 발현된 HCAb의 농도를 ug/mL로 표시한다. 컬럼 7은 BCMA를 발현하는 H929 인간 세포에 대한 세포 결합의 평균 형광 강도를 나타낸다. 컬럼 8은 시노 BCMA를 발현하는 CHO 세포에 대한 세포 결합의 평균 형광 강도를 나타낸다. 컬럼 9는 인간 BCMA 단백질 결합의 배경 신호에 대한 ELISA 폴드를 나타낸다. 컬럼 10은 시노 BCMA 단백질 결합의 배경 신호에 대한 ELISA 폴드를 나타낸다. 컬럼 11은 표적외 대조군인 람다 단백질 결합의 배경 신호에 대한 ELISA 폴드를 나타낸다. 컬럼 12는 표적외 대조군인 다중 태그 단백질 결합의 배경 신호에 대한 ELISA 폴드를 나타낸다. 컬럼 13은 옥텟에 의해 측정된 인간 BCMA 단백질에 대한 결합 속도를 나타낸다. 컬럼 14는 옥텟에 의해 측정된 시노 BCMA 단백질에 대한 결합 속도를 나타낸다.
- [0193] 본 발명의 바람직한 양태를 본원에서 나타내고 기술하였지만, 당업자에게 그러한 실시예가 단지 예시로서 제공된다는 것은 명백할 것이다. 본 발명을 벗어나지 않고 당업자에게 다양한 변형, 변경, 및 치환이 발생할 것이다. 본원에서 기술된 본 발명의 양태에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는 데 사용될 수 있음이 반드시 이해되어야 한다. 하기의 청구항은 본 발명의 범위를 정의하고 청구항의 범위 내의 방법 및 구조 및 이들의 등가물이 그에 의해 포함되는 것으로 의도된다.

도면

도면1

클론 ID	seq_aa_CDR1	seq_aa_CDR2	seq_aa_CDR3
316274	GFTFTNHHA (서열번호: 1)	ISGNGRIT (서열번호: 4)	AKDGGETLVDS (서열번호: 8)
316832	GFTFSSHA (서열번호: 2)	ISGSGDFT (서열번호: 5)	AKDEDDGGSLLGY (서열번호: 9)
317693	GFTFSSHA (서열번호: 2)	ISGSGDYT (서열번호: 6)	AKDEDDGGSLLGH (서열번호: 10)
316833	GFTFSSYA (서열번호: 3)	ISGSGDYI (서열번호: 7)	AKEGTGANSSLADY (서열번호: 11)

도면2

클론_ID	seq_aa_FR1_FR4
316274	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNHAMSWVRQAPGKGLELVSSISGNGRTTYYADSVKGRFTISR DISKNTLDLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGGETLVDSRGOGLTVVSS (서열번호: 12)
316832	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHAMTWVRQAPGKGLEWVAAISGSGDFTHYADSVKGRFTIS RDNKNTVSLQMNNLRAEDTAVYYCAKDEDGSLGVRGQGLTVTVSS (서열번호: 13)
317693	EVQLLESGGGLIQLPQGGSLRLSCAASGFTFSSHAMTWVRQAPGKGLEWVSAISGSGDYTHYADSVKGRFTISR DNSKNTVYLQMNSLRAEDSAVYYCAKDEDGSLGHRGQGLTVTVSS (서열번호: 14)
316833	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSDYIYYADSVKGRFTISR ISKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEGTGANSLSLADYRGOGLTVTVSS (서열번호: 15)

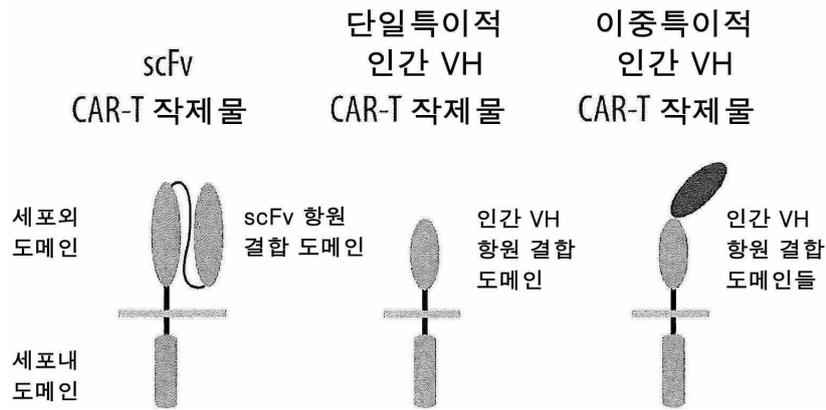
도면3

클론_ID	Consensus seq nt FR1 FR4
316274	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGGAGGCTTGTAACAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTAC CAACCATGCCATGAGTTGGGTCGGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGGAGTTGGTCTCAAGTATTAGTGGTAAATGGTGTACCAACTACTA CGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCAACCATCTCCAGAGACATTTCCAAGAACAAGCTGGATCTGCAATGMAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCCGTATATTACTGTGGAAAGATGGGGGGCAAACTCTAGTTGACTCCAGAGGCCAGGGCACCCCTGGTCAACCGTCTCTCA (SEQ (서열번호: 16)
316832	CAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGGAGGCTTGTAACAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTAG CAGCCATGCCATGACTGGGTCGGCCAGGCTCCGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCGCAAGTATTAGTGGCAGTGGTGAATTTACACACT ACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCAACCATCTCCAGAGACAATTTCCAAGAACACAGGTTATCTCAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGG ACACGGCCGTATATTACTGTGGAAAGATGAGGATGGTGGAGCCTCTGGGGCAAGAGCCAGGGCACCCCTGGTCAACCGTCTCTCA (서열번호: 17)
317693	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGGGCTTGATACAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTAG CAGCCATGCCATGACTGGGTCGGCCAGGCTCCGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCGCAAGTATTAGTGGTAAATGGTGTGATTACACACT ACGCAGACTCCGTGAAGGGTCGGTTCAACCATCTCCAGAGACAATTTCCAAGAACACAGGTTATCTCAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGG ACTGGCCGTATATTACTGTGGAAAGATGAGGATGGTGGAGCCTCTGGGGCAAGAGCCAGGGCACCCCTGGTCAACCGTCTCTCA (서열번호: 18)
316833	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGGAGGCTTGTAACAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTAG CAGCTATGCCATGAGCTGGGTCGGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCGATCTATTAGTGGTAAATGAAACAGCCTGAGAGCCGAGG CGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCAACCATCTCCAGAGACATATCCAAGAACACAGGTTATCTGCAATGAAACAGCCTGAGAGCCGAGG CACGCCGTATATTACTGTGGAAAGATGAGGATGGTGGAGCCTCTGGGGCAAGAGCCAGGGCACCCCTGGTCAACCGTCTCTCA (SEQ (서열번호: 19)

도면4

컬럼 1	컬럼 2	컬럼 3	컬럼 4	컬럼 5	컬럼 6	컬럼 7	컬럼 8	컬럼 9	컬럼 10	컬럼 11	컬럼 12	컬럼 13	컬럼 14
클론_ID	패밀리_ID	CDR1	CDR2	CDR3	농도 µg/ml	MH-H929	CHO- cyBCMA	ELISA- hBCMA	ELISA- cyBCMA	ELISA- 원다	ELISA- 멀티- 태그	hBCMA	cyBCMA
316274	BCMA_F5	GFFTNHAA	ISGNNGRTT	AKDGGETLVDS	11.1	2276.8		491.6	1006.2	1.1	3.2	<1.0E-07	9.41E-04
316832	BCMA_F9	GFTFSSHAA	ISGSGDFT	AKDEDGGSLIGY	10.5	2425.1		474.2	907.5	1.0	1.3	<1.0E-07	1.89E-03
317693	BCMA_F9	GFTFSSHAA	ISGSGDYT	AKDEDDGGSLIGH	3.9	1885.0		466.3	506.9	1.2	1.6		
316833	BCMA_F13	GFTFSSVYA	ISGSGDYI	AKEGTGANSSLYDY	8.8	1247.8		466.2	949.4	0.8	0.8	<1.0E-07	3.22E-04

도면5



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> TENEObIO, INC.

<120> ANTI-BCMA HEAVY CHAIN-ONLY ANTIBODIES

<130> TNO-0004-WO

<140> PCT/US2018/038549

<141> 2018-06-20

<150> 62/522,355

<151> 2017-06-20

<160> 21

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 1

Gly Phe Thr Phe Thr Asn His Ala

1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT
 <213>
 Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 2
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Ala
 1 5
 <210> 3
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 3
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
 1 5
 <210> 4
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 4
 Ile Ser Gly Asn Gly Arg Thr Thr
 1 5
 <210> 5
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 5

Ile Ser Gly Ser Gly Asp Phe Thr

1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 6

Ile Ser Gly Ser Gly Asp Tyr Thr

1 5

<210> 7

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 7

Ile Ser Gly Ser Gly Asp Tyr Ile

1 5

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 8

Ala Lys Asp Gly Gly Glu Thr Leu Val Asp Ser

1 5 10

<210> 9

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 9

Ala Lys Asp Glu Asp Gly Gly Ser Leu Leu Gly Tyr

1 5 10

<210> 10

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 10

Ala Lys Asp Glu Asp Gly Gly Ser Leu Leu Gly His

1 5 10

<210> 11

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 11

Ala Lys Glu Gly Thr Gly Ala Asn Ser Ser Leu Ala Asp Tyr

1 5 10

<210> 12

<211> 118
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 12

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

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

<210> 13
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 13

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

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

 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Ser
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Glu Asp Gly Gly Ser Leu Leu Gly Tyr Arg Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 14

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 14

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

 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Tyr Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Glu Asp Gly Gly Ser Leu Leu Gly His Arg Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 15

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 15

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Glu Gly Thr Gly Ala Asn Ser Ser Leu Ala Asp Tyr Arg Gly

 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115 120

<210> 16

<211> 354
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 16
 caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttacc aaccatgcca tgagtgggt cgcagcaggt 120
 ccaggaagg ggctggagtt ggtctcaagt attagtggta atggctgtac cacatactac 180

 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca tttccaagaa cacgctggat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatggg 300
 ggcgaaactc tagttgactc cagaggccag ggcaccctgg tcaccgtctc ctca 354
 <210> 17
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 17
 caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agccatgcca tgacctgggt cgcagcaggt 120

 ccgggaagg ggctggagtg ggtcgcagct attagtggca gtggtgattt cacacactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacggtgtct 240
 ctgcaaatga acaacctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatgag 300
 gatggtggga gcttgcttgg ctacagaggc cagggcacc ttggtaccgt ctctca 357
 <210> 18
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 18

gaggtgcagc tgttggagtc tggggggggc ttgatacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tctctgtcag cctctggatt cacctttagc agccatgcca tgacctgggt cgccaggct 120

ccggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtgatta cacacactac 180

gcagactccg tgaagggtcg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacggtgtat 240

ctccaaatga acagtctgag agccgaggac tggccgtat attactgtgc gaaagatgag 300

gatggtggga gcctcctggg gcacagaggc cagggcacc tggtcaccgt ctctca 357

<210> 19

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 19

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tctctgtcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt cgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcatct attagtggta gtggtgatta catatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca tatccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagaaggt 300

acgggtgcc aacagcagctt ggcagactac agaggccagg gcaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Thr"
 <220><221> VARIANT
 <222> (6)..(6)
 <223> /replace="Asn"
 <220><221> VARIANT
 <222> (7)..(7)
 <223> /replace="Tyr"
 <220><221> SITE
 <222> (1)..(8)
 <223> /note="Variant residues given in the sequence have no
 preference with respect to those in the annotations
 for variant positions"

 <400> 20
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Ala
 1 5
 <210> 21
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <220><221> VARIANT
 <222> (4)..(4)
 <223> /replace="Asn"
 <220><221> VARIANT
 <222> (6)..(6)
 <223> /replace="Arg"
 <220><221> VARIANT
 <222> (7)..(7)
 <223> /replace="Phe" or "Tyr"
 <220><221> VARIANT
 <222> (8)..(8)
 <223> /replace="Ile"

<220><221> SITE

<222

> (1)..(8)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 21

Ile Ser Gly Ser Gly Asp Thr Thr

1 5