



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0072820
(43) 공개일자 2018년06월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2866 (2013.01)
A61K 39/39558 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-7015367
(22) 출원일자(국제) 2016년11월01일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2018년05월30일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/059842
(87) 국제공개번호 WO 2017/079121
국제공개일자 2017년05월11일
(30) 우선권주장
62/249,466 2015년11월02일 미국(US)

(71) 출원인
얀센 파마슈티카 엔.브이.
벨기에왕국 베-2340-비어세 투른호우트세베크 30
(72) 발명자
하이드리히 브래들리 제이.
미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨
로드 1400
네메스 제니퍼 에프.
미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 웨일스
앤드 매킨 로즈
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한성

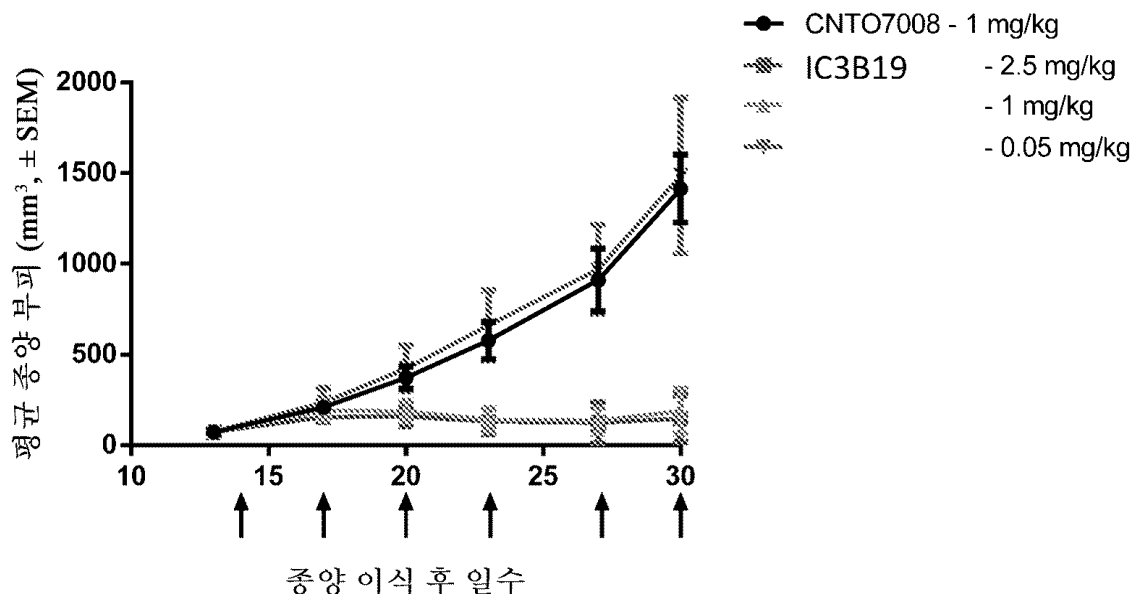
전체 청구항 수 : 총 67 항

(54) 발명의 명칭 항-IL1RAP 항체, IL1RAP 및 CD3과 결합하는 이중특이성 항원 결합 분자, 및 그의 용도

(57) 요약

IL1RAP에 특이적으로 결합하는 항체가 본 명세서에 제공된다. 또한, 제공된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편을 인코딩할 수 있는 관련 폴리뉴클레오타이드, 제공된 항체 또는 항원-결합 단편을 발현하는 세포, 이뿐만 아니라 관련 백터 및 검출가능하게 표지화된 항체 또는 항원-결합 단편도 기재된다. 게다가, 제공된 항체의 사용 방법이 기재된다. 예를 들어, 제공된 항체는 IL1RAP-발현 암을 진단하거나, 그를 치료하거나, 또는 그의 진행, 퇴행, 또는 안정성을 모니터링하기 위해 사용되거나; 환자가 암에 대해 치료되어야 하는지의 여부를 결정하기 위해 사용되거나; 또는 대상체가 IL1RAP-발현 암으로 괴로워하고 이에 따라 IL1RAP-특이적 항암 치료제, 예컨대 본 명세서에 기재된 IL1RAP 및 CD3에 대한 다중특이성 항체에 의한 치료에 적합할 수 있는지의 여부를 결정하기 위해 사용될 수 있다.

대표도 - 도29



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)
C07K 16/2809 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/73 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

니시오카 제이알. 월터 케이.

미국 92121 캘리포니아주 샌디에이고 메리필드 로
우 3210

딘 타이

미국 92121 캘리포니아주 샌디에이고 메리필드 로
우 3210

카르도소 로사 마리아 페르난데스

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로
드 1400

피쥬티 다린

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로
드 1400

스트레이크 브랜디

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 웨일스
앤드 매킨 로즈

피셔 제이미

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 웨일스
앤드 매킨 로즈

아타르 리카르도 마르코스

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로
드 1400

고렛 프랑수아

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로
드 1400

살바티 마크 이.

미국 19477 펜실베이니아주 스프링 하우스 매킨 로
드 1400

명세서

청구범위

청구항 1

하기를 포함하는, IL1RAP에 특이적으로 결합하는 재조합 항체 또는 그의 항원-결합 단편:

- a. 서열 번호 10의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 11의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 12의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;
- b. 서열 번호 13의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 14의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 15의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;
- c. 서열 번호 16의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 17의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 18의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;
- d. 서열 번호 19의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 20의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 21의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;
- e. 서열 번호 22의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 23의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;
- f. 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 27의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;
- g. 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 28의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 29의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;
- h. 서열 번호 30의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 31의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;
- i. 서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 35의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;
- j. 서열 번호 13의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 36의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;
- k. 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 37의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 38의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3; 또는
- l. 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 39의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3.

청구항 2

제1항에 있어서,

- a. 서열 번호 10의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR1, 서열 번호 11의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 12의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR3을 포함하는 상기 항체는 서열 번호 40의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열 번호 41의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열 번호 42의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 추가로 포함하거나;
- b. 서열 번호 13의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR1, 서열 번호 14의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 15의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR3을 포함하는 상기 항체는 서열 번호 43의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열 번호 44의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열 번호 45의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 추가로 포함하거나;
- c. 서열 번호 16의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR1, 서열 번호 17의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 18의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR3을 포함하는 상기 항체는 서열 번호 46의 아미노

o. 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR1, 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 39의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR3을 포함하는 상기 항체는 서열 번호 66의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열 번호 50의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열 번호 67의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 추가로 포함하는, 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 (a)의 항체는 서열 번호 68에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 69에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (b)의 항체는 서열 번호 70에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 71에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (c)의 항체는 서열 번호 72에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 73에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (d)의 항체는 서열 번호 74에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 75에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (e)의 항체는 서열 번호 76에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 77에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (f)의 항체는 서열 번호 78에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 79에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (g)의 항체는 서열 번호 80에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 79에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (h)의 항체는 서열 번호 81에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 82에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (i)의 항체는 서열 번호 83에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 84에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (j)의 항체는 서열 번호 85에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 84에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (k)의 항체는 서열 번호 86에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 84에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (l)의 항체는 서열 번호 74에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 87에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (m)의 항체는 서열 번호 76에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 88에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

상기 (n)의 항체는 서열 번호 76에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 89에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나; 또는

상기 (o)의 항체는 서열 번호 90에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 91에 제시된 경쇄 서열을 포함하는, 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 IL1RAP의 세포외 도메인에 결합하는, 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 항체 또는 항원-결합 단편인, 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, Fab 단편, Fab2 단편, 또는 단일쇄 항체인, 항원-결합 단편.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정될 때 약 50 nM 미만의 K_D 로 IL1RAP와 특이적으로 결합하는, 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 동종형(isotype)을 갖는, 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1 또는 IgG4 동종형인, 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 IgG1은 Fc 영역 내에 K409R 치환을 갖는, 항체.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 IgG1은 Fc 영역 내에 F405L 치환을 갖는, 항체.

청구항 12

제9항에 있어서, 상기 IgG4는 Fc 영역 내에 F405L 치환 및 R409K 치환을 갖는, 항체.

청구항 13

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 영역 내에 S228P 치환, L234A 치환, 및 L235A 치환을 추가로 포함하는, 항체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 IL1RAP와 특이적으로 결합하고, 사이노몰거스 원숭이 IL1RAP와 교차 반응하는, 항체 또는 항원-결합 단편.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합 단편을 발현하는, 재조합 세포.

청구항 16

제15항에 있어서, 하이브리도마(hybridoma) 또는 트랜스펙토마(transfectoma)인, 세포.

청구항 17

제15항에 있어서, 상기 항체는 재조합적으로 생성되는, 세포.

청구항 18

- a) 제1 중쇄(HC1);
- b) 제2 중쇄(HC2);
- c) 제1 경쇄(LC1); 및
- d) 제2 경쇄(LC2)를 포함하며,

상기 HC1과 상기 LC1이 쌍을 이루어서 CD3과 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 형성하고, 상기 HC2와 상기 LC2가 쌍을 이루어서 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 형성하는, 재조합 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 그의 IL1RAP × CD3 이중특이성 결합 단편.

청구항 19

제18항에 있어서, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 동종형인, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 20

제19항 또는 제20항에 있어서, IgG1 또는 IgG4 동종형인, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 21

제18항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, HC1은 서열 번호 92 또는 서열 번호 94를 포함하고, LC1은 서열

번호 93 또는 서열 번호 95를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 22

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 68을 포함하고, LC2는 서열 번호 69를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 23

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 70을 포함하고, LC2는 서열 번호 71을 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 24

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 72를 포함하고, LC2는 서열 번호 73을 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 25

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 74를 포함하고, LC2는 서열 번호 75를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 26

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 76을 포함하고, LC2는 서열 번호 77을 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 27

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 78을 포함하고, LC2는 서열 번호 79를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 28

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 80을 포함하고, LC2는 서열 번호 79를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 29

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 81을 포함하고, LC2는 서열 번호 82를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 30

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 83을 포함하고, LC2는 서열 번호 84를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 31

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 84를 포함하고, LC2는 서열 번호 84를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 32

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 86을 포함하고, LC2는 서열 번호 84를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 33

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 74를 포함하고, LC2는 서열 번호 87을 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 34

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 76을 포함하고, LC2는 서열 번호 88을 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 35

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 76을 포함하고, LC2는 서열 번호 89를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 36

제21항에 있어서, HC2는 서열 번호 90을 포함하고, LC2는 서열 번호 91을 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 37

제18항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정될 때 약 30 nM 미만의 K_D 로 IL1RAP와 특이적으로 결합하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 38

제18항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 급성 골수성 백혈병 세포, 인간 폐암 세포, 인간 결장암 세포, 인간 췌장암 세포, 인간 골수이형성 증후군 암 세포, 인간 만성 골수성 백혈병, 인간 미만성 대 B-세포 림프종 세포, 인간 급성 림프아구성 백혈병 세포, 및 인간 T-세포 백혈병/림프종 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는 세포의 표면 상의 IL1RAP와 결합하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 39

제18항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 6.7 nM 초과 농도에서 AP-1 및 NF- κ B 반응 요소를 통해 IL-1 β 매개 신호전달을 억제하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 40

제18항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 약 1.3 nM 미만의 EC_{50} 으로 시험관내(*in vitro*)에서 IL1RAP-발현 세포의 T-세포 의존성 세포독성을 유도하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

청구항 41

- a) 제1 중쇄(HC1);
- b) 제2 중쇄(HC2);
- c) 제1 경쇄(LC1); 및
- d) 제2 경쇄(LC2)를 포함하며,

상기 HC1과 상기 LC1이 쌍을 이루어서 CD3과 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 형성하고, 서열 번호 96에 나타난 바와 같은 중쇄 CDR1(HCDR1), 서열 번호 102에 나타난 바와 같은 HCDR2, 서열 번호 98에 나타난 바와 같은 HCDR3, 서열 번호 99에 나타난 바와 같은 경쇄 CDR1(LCDR1), 서열 번호 100에 나타난 바와 같은 LCDR2, 및 서열 번호 101에 나타난 바와 같은 LCDR3을 포함하고;

상기 HC2와 상기 LC2가 쌍을 이루어서 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 형성하고, 서열 번호 16 또는 22에 나타난 바와 같은 중쇄 CDR1(HCDR1), 서열 번호 17 또는 23에 나타난 바와 같은 HCDR2, 서열 번호 18 또는 24에 나타난 바와 같은 HCDR3, 서열 번호 46 또는 62에 나타난 바와 같은 경쇄 CDR1(LCDR1), 서열 번호 47 또는 63에 나타난 바와 같은 LCDR2, 및 서열 번호 103 또는 64에 나타난 바와 같은 LCDR3을 포함하는, 제조함 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 그의 IL1RAP × CD3 이중특이성 결합 단편.

청구항 42

제18항 내지 제41항 중 어느 한 항의 항체 또는 이중특이성 결합 단편을 발현하는, 재조합 세포.

청구항 43

제42항에 있어서, 하이브리도마인, 세포.

청구항 44

제42항에 있어서, 상기 항체 또는 이중특이성 결합 단편은 재조합적으로 생성되는, 세포.

청구항 45

암을 갖는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서,

제18항 내지 제41항 중 어느 한 항의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편의 치료적 유효량을 상기 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 상기 암을 치료하기에 충분한 시간 동안 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 46

암 세포의 성장 또는 증식을 억제하기 위한 방법으로서,

제16항 내지 제39항 중 어느 한 항의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편의 치료적 유효량을 투여하여 상기 암 세포의 성장 또는 증식을 억제하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 47

T 세포를 IL1RAP-발현 암 세포로 방향전환(redirecting)시키는 방법으로서,

제18항 내지 제41항 중 어느 한 항의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편의 치료적 유효량을 투여하여 T 세포를 암으로 방향전환시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 48

제47항에 있어서, 상기 암은 IL1RAP-발현 암인, 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 IL1RAP-발현 암은 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN), T-세포 백혈병/림프종, 전립선암, 폐암, 결직장암, 또는 췌장암인, 방법.

청구항 50

제45항에 있어서, 제2 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 제2 치료제는 화학치료제 또는 표적화된 항암 요법인, 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 화학치료제는 시타라빈, 안트라사이클린, 히스타민 다이하이드로클로라이드, 또는 인터류킨 2인, 방법.

청구항 53

제52항에 있어서, 상기 제2 치료제는 상기 대상체에게 상기 이중특이성 항체와 동시에, 순차적으로, 또는 개별적으로 투여되는, 방법.

청구항 54

제18항 내지 제41항 중 어느 한 항의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편 및 억제학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 억제학적 조성물.

청구항 55

제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 세포를 배양함으로써 제18항 내지 제41항 중 어느 한 항의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편을 생성하기 위한 방법.

청구항 56

제18항 내지 제41항 중 어느 한 항의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편의 HC1, HC2, LC1 또는 LC2를 인코딩하는, 단리된 합성 폴리뉴클레오타이드.

청구항 57

제18항 내지 제41항 중 어느 한 항의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편 및 그의 사용 설명서를 포함하는, 키트.

청구항 58

대상체에서 혈관생성을 억제하는 방법으로서,

제18항 내지 제41항 중 어느 한 항의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편을 상기 혈관생성의 억제를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 대상체는 암을 갖는, 방법.

청구항 60

제59항에 있어서, 상기 암은 하나 이상의 고형 종양과 함께 나타나는, 방법.

청구항 61

제59항 또는 제60항에 있어서, 상기 암은 IL1RAP-발현 암인, 방법.

청구항 62

제59항 또는 제60항에 있어서, 상기 암은 IL1RAP-발현 암이 아닌, 방법.

청구항 63

대상체에서 MDSC를 고갈시키는 방법으로서,

제18항 내지 제41항 중 어느 한 항의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편을 상기 MDSC의 고갈을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 64

제58항에 있어서, 상기 대상체는 암을 갖는, 방법.

청구항 65

제59항에 있어서, 상기 암은 하나 이상의 고형 종양과 함께 나타나는, 방법.

청구항 66

제59항 또는 제60항에 있어서, 상기 암은 IL1RAP-발현 암인, 방법.

청구항 67

제59항 또는 제60항에 있어서, 상기 암은 IL1RAP-발현 암이 아닌, 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 출원은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된, 2015년 11월 2일자로 출원된 미국 가특허 출원 제62/249,466호의 이익을 주장한다.
- [0002] 본 출원은 ASCII 서식으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 이는 본 명세서에 전체적으로 참고로 포함된다. 2016년 10월 27일자로 생성된 상기 ASCII 사본은 파일명이 PRD3394USNP_SL.txt이며, 크기가 121,828 바이트이다.
- [0003] 기술분야
- [0004] 본 명세서에 제공된 본 발명은 인터류킨-1 수용체 부속 단백질(IL1RAP)에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체, IL1RAP 및 클러스터 결정인자(cluster determinant) 3(CD3)에 특이적으로 결합하는 다중특이성 항체, 및 기재된 항체의 생성 및 사용 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0005] 급성 골수성 백혈병(AML)은 백혈병 세포의 클론 증폭을 특징으로 하는 유전적으로 이종성인 질병이다. AML에서의 근간을 이루는 질병 생물학에 대한 증가된 이해에도 불구하고, 세포독성 화학요법에 의한 표준 치료는 지난 수십년에 걸쳐 큰 변화 없이 유지되어 왔고, 전체 5년 생존율이 불량하게 유지되어 30% 미만이다(문헌[Cancer Genome Atlas Research Network (2013) N Engl J Med 368(22):2059-2074]; 문헌[Burnett A, Wetzler M, Löwenberg B (2011) J Clin Oncol 29(5):487-494]). 따라서, 증가된 효능(efficacy) 및 감소된 독성을 갖는 신규 요법에 대한 절박한 필요성이 있는데, 이러한 신규 요법은 이상적으로는 AML 줄기 세포를 표적화하는 것으로, 이러한 세포는 AML의 발병기전에 있어서 결정적인 것으로 여겨지고, 표준 요법에 의한 그들의 불충분한 근절은 높은 재발 발병률에 기여하는 것으로 여겨지기 때문이다(문헌[Hope KJ, Jin L, Dick JE (2004) Nat Immunol 5(7):738-743]; 문헌[Ishikawa F, et al. (2007) Nat Biotechnol 25(11):1315-1321]). 세포-표면 분자에 대해 유도된 치료적 항체가 악성 장애, 예컨대 림프종 및 급성 림프아구성 백혈병뿐만 아니라 고형 종양의 치료에 효과적인 것으로 입증되어 있기는 하지만(문헌[Hoelzer D (2013) Curr Opin Oncol 25(6):701-706], 문헌[Jackson SE, Chester JD (2015) Int J Cancer 137(2):262-266]), 항체-기반 요법은 현재 AML에 대해 승인되어 있지 않다.
- [0006] 인터류킨 1 수용체 부속 단백질(IL1RAP) - IL1R3으로도 불림 - 은 1형 인터류킨 1 수용체(IL1R1), 인터류킨-33 수용체(IL-33R; ST2로도 불림), 및 인터류킨-36 수용체(IL-36R; IL-1RL2로도 불림)의 공수용체이고, IL-1, IL-33, 및 IL-36 신호전달의 전달에 있어서 필수적이다(문헌[Subramaniam S, Stansberg C, Cunningham C (2004) Dev Comp Immunol 28(5):415-428]). IL1RAP는 추정상의 만성 골수성 백혈병 줄기 세포에 대한 바이오마커로서 보고되어 있다(문헌[Järås M, et al. (2010) Proc Natl Acad Sci USA 107(37):16280-16285]). 최근 연구는 IL1RAP가 AML 환자의 약 80%에서 세포 표면 상에서 발현되고, 후보 CD34⁺CD38⁻ AML 줄기 세포가 항체-의존성 세포성 세포독성(ADCC)에 의해 시험관내(*in vitro*)에서 선택적으로 사멸될 수 있음을 보여준다(문헌[Askmyr M, et al.(2013) Blood 121(18):3709-3713]). 더욱이, IL1RAP는 염색체 7 이상을 갖는 고위험 AML에서의 미성숙 세포 상에서 상향조절되고, 증가된 IL1RAP 발현은 불량한 예후와 상관된다(문헌[Barreyro L, et al. (2012) Blood 120(6):1290-1298]). 이러한 연구결과는 IL1RAP가 AML에서의 항체-기반 요법에 대한 적합한 표적임을 시사한다.
- [0007] AML의 치료를 위한 항-IL1RAP 항체의 용도는 국제 특허 출원 공개 WO2009120903호 및 WO2011021014호에 언급되어 있다. IL1RAP에 대한 항체는 국제 특허 출원 공개 WO2014100772호에 기재되어 있다. 기재된 IL1RAP 항체는 그의 작용 방식으로서 ADCC를 이용한다. 불행하게도, 치료적 항체에 의한 ADCC의 촉발은 몇몇 제한에 직면한다. 무엇보다 먼저, Fc와 그의 수용체 사이의 친화성은 중요한 역할을 하고, 집단의 80%가 수용체의 저 친화성 변이체를 발현한다는 사실이 중대한 문제이다(문헌[Chames P, Van Regenmortel M, Weiss E, Baty D. (2009) British Journal of Pharmacology. 157(2):220-233]). 두 번째, IgG1 분자는 Fc 영역의 CH2 도메인(Asn 297)에서 글리코실화된다. 이러한 변형은 ADCC 효율을 감소시키는 것으로 밝혀져 있다(문헌[Shinkawa T, Nakamura K, Yamane N, Shoji-Hosaka E, Kanda Y, Sakurada M, et al. J Biol Chem. 2003;278:3466-3473.]). 세 번째 제한은 치료적 항체가 FcγRIIIa에 대한 결합을 위하여 환자의 고농도의 IgG와 경쟁해야 한다는 사실에

있다(문헌[Preithner S, Elm S, Lippold S, Locher M, Wolf A, da Silva AJ, et al. Mol Immunol. 2006;43:1183-1193]). 마지막으로, 치료적 항체의 사용의 네 번째 제한은 B-세포, 대식세포, 수지상 세포 및 호중구에 의해 발현되는 억제성 Fc 수용체, 예컨대 FcγRIIb에 대한 그의 친화성일 수 있다(문헌[Nimmerjahn F, Ravetch JV. Antibodies, Fc receptors and cancer. Curr Opin Immunol. 2007;19:239-245]).

[0008] 따라서, IL1RAP-발현 암의 치료에 대해 이용가능한 추가의 선택사항을 가질 필요성이 여전히 있다.

발명의 내용

[0009] IL1RAP에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편이 본 명세서에 제공된다. 또한, 제공된 IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편을 인코딩할 수 있는 관련 폴리뉴클레오티드, 제공된 항체 및 항원-결합 단편을 발현하는 세포, 이뿐만 아니라 관련 벡터 및 검출가능하게 표지화된 항체 및 항원-결합 단편도 기재된다. 게다가, 제공된 항체 및 항원-결합 단편의 사용 방법이 기재된다. 예를 들어, IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 IL1RAP-발현 암을 진단하거나 그의 진행, 퇴행, 또는 안정성을 모니터링하기 위해 사용되거나; 환자가 암에 대해 치료되어야 하는지의 여부를 결정하기 위해 사용되거나; 또는 대상체가 IL1RAP-발현 암을 앓고 있고 이에 따라 IL1RAP-특이적 항암 치료제, 예컨대 본 명세서에 기재된 IL1RAP 및 CD3에 대한 다중특이성 항체에 의한 치료에 적합할 수 있는지의 여부를 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0010] IL1RAP 및 CD3에 특이적으로 결합하는 다중특이성 항체 및 그의 다중특이성 항원-결합 단편이 본 명세서에 추가로 제공된다. 또한, 제공된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체를 인코딩할 수 있는 관련 폴리뉴클레오티드, 제공된 항체를 발현하는 세포, 이뿐만 아니라 관련 벡터 및 검출가능하게 표지화된 다중특이성 항체도 기재된다. 게다가, 제공된 다중특이성 항체의 사용 방법이 기재된다. 예를 들어, IL1RAP × CD3 다중특이성 항체는 IL1RAP-발현 암을 진단하거나 그의 진행, 퇴행, 또는 안정성을 모니터링하기 위해 사용되거나; 환자가 암에 대해 치료되어야 하는지의 여부를 결정하기 위해 사용되거나; 또는 대상체가 IL1RAP-발현 암을 앓고 있고 이에 따라 IL1RAP-특이적 항암 치료제, 예컨대 본 명세서에 기재된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체에 의한 치료에 적합할 수 있는지의 여부를 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0011] **IL1RAP-특이적 항체**

[0012] IL1RAP에 대해 특이적인 재조합 항체 및 항원-결합 단편이 본 명세서에 기재된다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 인간 IL1RAP와 결합한다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 인간 IL1RAP 및 사이노몰거스 원숭이 IL1RAP와 결합한다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 IL1RAP 세포외 도메인(ECD)으로부터의 하나 이상의 잔기를 포함하는 에피토프에 결합한다. 이러한 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 50 nM 이하의 친화도로 IL1RAP에 결합할 수 있다.

[0013] 표 1은 본 명세서에 기재된 일부 IL1RAP-특이적 항체의 예에 대한 요약을 제공한다:

[0014] [표 1]

인간 IL1RAP에 대해 생성된 항체의 CDR 서열. CDR은 IMGT를 사용하여 정의되어 있다.

(서열 번호)

ID	HC-CDR1	HC-CDR2	HC-CDR3	LC-CDR1	LC-CDR2	LC-CDR3
IAPB47	GYSFTSYW (10)	IYPSDSYT (11)	ARRNSAENYADLDY (12)	QSISSND (40)	YAS (41)	QQSFTAPLT (42)
IAPB38	GFTFSNYA (13)	INYGGGSK (14)	AKDYGPFALDY (15)	QSVDDW (43)	TAS (44)	QQYHHWPLT (45)
IAPB57	GGSSSSSTYY (16)	IYFTGST (17)	AKEDDSSGYYSFDY (18)	QGISSY (46)	AAS (47)	QQVNSYPLT (103)
IAPB61	GVSSSSSTYY (19)	IYFTGNT (20)	GSFLGDDYGYFDY (21)	QFISSN (49)	GAS (50)	QQYNNWPST (51)
IAPB62	GYTFNTYA (22)	INTNTGNP (23)	ARRYFDWLLGAFDI (24)	QGISSW (52)	AAS (47)	QQANSFPLT (53)
IAPB3	GGTFSSYA (25)	ISAIFGTA (26)	ARGNSFHALWDYAFDY (27)	QSVLYSSNNKNY (54)	WAS (55)	QQYYSTPLT (56)
IAPB17	GGTFSSYA (25)	IPIFGNA (28)	ARTIYLDYVHILDY (29)	QSVLYSSNNKNY (54)	WAS (55)	QQYYSTPLT (56)
IAPB23	GFTFSNYW (30)	IRYDGGSK (31)	AKDAYPPYSFDY (32)	QSVSSY (57)	DAS (58)	QQRSNWPLT (59)
IAPB25	GFTFSSYA (33)	ISGSGGST (34)	AKGDEYYYPDLDY (35)	QSISSY (60)	AAS (47)	QSSYSTPLT (48)
IAPB29	GFTFSNYA (13)	ISGSGGST (34)	AKEWSSYFGLDY (36)	QSISSY (60)	AAS (47)	QSSYSTPLT (48)
IAPB9	GGTFSSYA (25)	ISPIFGTA (37)	ARRYDNFARSGDLTY (38)	QSISSY (60)	AAS (47)	QSSYSTPLT (48)
IAPB55	GVSSSSSTYY (19)	IYFTGNT (20)	GSFLGDDYGYFDY (21)	QFISSN (49)	GAS (50)	QQYNNWPFT (61)
IAPB63	GYTFNTYA (22)	INTNTGNP (23)	ARRYFDWLLGAFDI (24)	SSDVGDYNY (62)	DVS (63)	ASYAGNYNVV (64)
IAPB64	GYTFNTYA (22)	INTNTGNP (23)	ARRYFDWLLGAFDI (24)	SSDVGDYNY (62)	DVS (63)	SSYAGNYNVV (65)
IAPB65	GGTFSSYA (25)	ISAIFGTA (26)	ARHLHNAIHLTY (39)	QSVSNF (66)	GAS (50)	QQGKHWPWT (67)

[0015]

[0016]

일부 실시 형태에서는, 표 1에 기재된 항체들 중 어느 하나의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 중쇄를 포함하는 IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 제공된다. 일부 실시 형태에서는, 표 1에 기재된 항체들 중 어느 하나의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 중쇄 및 표 1에 기재된 항체들 중 어느 하나의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 경쇄를 포함하는 IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 제공된다. 본 명세서에 기재된 일부 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 IL1RAP에 결합하기 위하여, 표 1에 기재된 항체들 중 어느 하나의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 중쇄 및 표 1에 기재된 항체들 중 어느 하나의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항원-결합과 경쟁한다.

[0017]

IgG 부류는 인간에서 하기의 4가지 동종형(isotype)으로 분류된다: IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4. 이들은 Fc 영역의 아미노산 서열에서 95% 초과와 상동성을 공유하지만, 힌지 영역의 아미노산 조성 및 구조에서 큰 차이를 나타낸다. Fc 영역은 이펙터 기능, 예컨대 항체-의존성 세포성 세포독성(ADCC) 및 보체-의존성 세포독성(CDC)을 매개한다. ADCC에서는, 항체의 Fc 영역이 자연 살해세포 및 대식세포와 같은 면역 이펙터 세포의 표면 상의 Fc 수용체(FcγR)에 결합하여, 표적화된 세포의 식세포작용 또는 용해로 이어진다. CDC에서는, 항체가 세포 표면에서 보체 캐스케이드를 촉발시킴으로써 표적화된 세포를 사멸시킨다. 본 명세서에 기재된 항체는, 상이한 이펙터 기능들을 달성하도록 Fc 서열이 변형되어 있는 변형된 버전을 포함한, IgG 동종형들 중 임의의 것과 조합된 가변 도메인의 기재된 특징을 갖는 항체를 포함한다.

[0018]

치료적 항체의 많은 응용에 있어서, Fc-매개 이펙터 기능은 작용 기전의 일부가 아니다. 이들 Fc-매개 이펙터 기능은 탈기전 독성을 야기함으로써 유해할 수 있고 잠재적으로 안전성 위험을 제기할 수 있다. Fc 영역을 조작하여 FcγR 또는 보체 인자에 대한 그의 결합을 감소시킴으로써 이펙터 기능의 변형이 달성될 수 있다. 활성화 FcγR(FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb 및 FcγRIIb) 및 억제성 FcγR(FcγRIIb) 또는 제1 보체 성분(C1q)에 대한 IgG의 결합은 힌지 영역 및 CH2 도메인에 위치된 잔기에 의존한다. Fc 기능성을 감소 또는 침묵시키기 위해 돌연변이가 IgG1, IgG2 및 IgG4에 도입되어 왔다. 본 명세서에 기재된 항체는 이들 변형을 포함할 수 있다.

[0019]

일 실시 형태에서, 항체는 하기 특성들 중 하나 이상을 갖는 Fc 영역을 포함한다: (a) 모(parent) Fc와 비교할 때 감소된 이펙터 기능; (b) Fcγ RI, Fcγ RIIa, Fcγ RIIb, Fcγ RIIb 및/또는 Fcγ RIIa에 대한 감소된 친화성; (c) FcγRI에 대한 감소된 친화성; (d) FcγRIIa에 대한 감소된 친화성; (e) FcγRIIb에 대한 감소된 친화성; (f) Fcγ RIIb에 대한 감소된 친화성; 또는 (g) FcγRIIa에 대한 감소된 친화성.

[0020]

일부 실시 형태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 IgG 또는 그의 유도체, 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4 동종형이다. 항체가 IgG1 동종형을 갖는 일부 실시 형태에서, 항체는 그의 Fc 영역 내에 L234A, L235A, 및/또는 K409R 치환(들)을 함유한다. 항체가 IgG4 동종형을 갖는 일부 실시 형태에서, 항체는 그의 Fc 영역 내에

S228P, L234A, 및 L235A 치환을 함유한다. 본 명세서에 기재된 항체는 이들 변형을 포함할 수 있다.

- [0021] 일부 실시 형태에서, 기재된 항체는 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해 측정될 때 50 nM 이하의 해리 상수로 IL1RAP에 결합할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 항체는 상기 표 1에 제시된 항체들의 CDR을 포함한다. 친화도를 측정하기 위한 검정은 BIAcore 3000 기계를 사용하여 수행되는 검정을 포함하는데, 여기서 검정은 실온에서 (예를 들어, 25℃ 또는 그 부근에서) 수행되며, IL1RAP에 결합할 수 있는 항체를 항-Fc 항체(예를 들어, 염소 항-인간 IgG Fc 특이적 항체, Jackson ImmunoResearch laboratories 제품 번호 109-005-098)에 의해 BIAcore 센서 칩 상에 약 75 RU의 수준까지 포획한 후, 40 μL/min의 유량으로 회합 및 해리 데이터의 수집을 행한다.
- [0022] 기재된 IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편에 더하여, 기재된 항체 및 항원-결합 단편을 인코딩할 수 있는 폴리뉴클레오티드 서열이 또한 제공된다. 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 또한 제공되며, 마찬가지로 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편을 발현하는 세포도 본 명세서에 제공된다. 개시된 벡터를 발현할 수 있는 세포가 또한 기재된다. 이들 세포는 포유류 세포(예컨대, HEK-293F 세포, CHO-K1 세포), 곤충 세포(예컨대, Sf7 세포), 효모 세포, 식물 세포, 또는 세균 세포(예컨대, E. 콜라이(*E. coli*))일 수 있다. 기재된 항체는 또한 하이브리도마 세포(hybridoma cell)에 의해 생성될 수 있다.
- [0023] **IL1RAP-특이적 항체의 사용 방법**
- [0024] 기재된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편의 사용 방법이 또한 개시된다. 이 섹션에서 논의되는 방법에서 사용하기 위한 특정 항체는 표 1에서의 항체들에 대해 기재된 CDR들의 세트를 갖는 것들을 포함한다. 예를 들어, 이들 항체 또는 항원-결합 단편은 1) IL1RAP-수용체 상호작용을 방해함으로써, 2) 항체가 독소에 접합되는 경우, 이에 따라 독소가 IL1RAP-발현 암을 표적으로 하게 됨으로써, 또는 3) 신체의 면역 세포를 IL1RAP-발현 암의 부위로 방향전환시킴으로써(ADCC, T 세포 방향전환) 암을 치료하는 데 유용할 수 있다. 또한, 이들 항체 또는 항원-결합 단편은 생물학적 샘플, 예컨대 혈액 또는 혈청에서 IL1RAP의 존재를 검출하는 데; 생물학적 샘플, 예컨대 혈액 또는 혈청 중의 IL1RAP의 양을 정량화하는 데; IL1RAP-발현 암을 진단하는 데; 암을 앓고 있는 대상체의 치료 방법을 결정하는 데; 또는 대상체에서의 IL1RAP-발현 암의 진행을 모니터링하는 데 유용할 수 있다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험, 중간 위험, 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN)일 수 있다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 하기와 같은 고형 종양을 포함한다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종. 기재된 방법은 대상체가 IL1RAP-발현 암에 대한 치료, 예컨대 IL1RAP 및 CD3에 대한 다중특이성 항체에 의한 치료를 받기 전에 수행될 수 있다. 더욱이, 기재된 방법은 대상체가 IL1RAP-발현 암에 대한 치료, 예컨대 본 명세서에 기재된 IL1RAP 및 CD3에 대한 다중특이성 항체에 의한 치료를 받은 후에 수행될 수 있다.
- [0025] 생물학적 샘플에서 IL1RAP를 검출하는 기재된 방법은 생물학적 샘플을 본 명세서에 기재된 하나 이상의 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편에 노출시키는 단계를 포함한다.
- [0026] 대상체에서 IL1RAP-발현 암을 진단하는 기재된 방법은 또한 생물학적 샘플을 본 명세서에 기재된 하나 이상의 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편에 노출시키는 단계를 수반하지만; 본 방법은 또한 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양을 정량화하는 단계; 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양을 알려진 표준 또는 참조 샘플과 대비하는 단계; 및 대상체의 IL1RAP 수준이 암과 관련된 IL1RAP의 수준 내에 있는지의 여부를 결정하는 단계를 포함한다.
- [0027] 또한, 대상체에서 IL1RAP-발현 암을 모니터링하는 방법이 본 명세서에 기재된다. 기재된 방법은 생물학적 샘플을 본 명세서에 기재된 하나 이상의 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편에 노출시키는 단계; 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 의해 결합된 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양을 정량화하는 단계; 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양을 알려진 표준 또는 참조 샘플 또는 대상체로부터 미리 획득된 유사한 샘플 중의 IL1RAP의 양과 대비하는 단계; 및 대상체의 IL1RAP 수준이, 비교된 샘플들 중의 IL1RAP의 양의 차이에 기초하여 암 진행, 퇴행 또는 안정된 질병을 나타내는지의 여부를 결정하는 단계를 포함한다.
- [0028] 대상체로부터 획득되거나 유래된 샘플은 소변, 혈액, 혈청, 혈장, 타액, 복수(ascites), 순환 세포, 순환 종양 세포, 조직과 관련되지 않은 세포, 조직, 외과적으로 절제된 종양 조직, 생검, 미세 바늘 흡인 샘플, 또는 조직 프레파라트(histological preparation)와 같은 생물학적 샘플이다.
- [0029] 기재된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 기재된 방법, 또는 당업자에게 알려진 다른 방법과 함께 사용하기 위해 표지화될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 방사성표지,

형광 표지, 에피토프 태그, 비오틴, 발색단 표지, ECL 표지, 효소, 루테늄, ^{111}In -DOTA, ^{111}In -다이에틸렌트라이아민펜타아세트산(DTPA), 서양고추냉이 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제 및 베타-갈락토시다제, 또는 폴리-히스티딘 또는 당업계에 알려진 유사한 그러한 표지로 표지화될 수 있다.

[0030] **IL1RAP-특이적 항체 키트**

[0031] 개시된 IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는 키트가 본 명세서에 기재된다. 기재된 키트는 본 명세서에 제공된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편을 사용하는 방법, 또는 당업자에게 알려진 다른 방법을 수행하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 기재된 키트는 본 명세서에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편 및 생물학적 샘플에서 IL1RAP의 존재를 검출하는 데 사용하기 위한 시약을 포함할 수 있다. 따라서, 기재된 키트는 본 명세서에 기재된 하나 이상의 항체 또는 그의 항원-결합 단편(들), 및 사용 중이 아닐 때 항체 또는 단편을 담기 위한 용기, 항체 또는 단편, 고체 지지체에 부착된 항체 또는 단편, 및/또는 항체 또는 단편의 검출가능하게 표지화된 형태의 사용에 대한 설명서를 포함할 수 있으며, 이는 본 명세서에 기재된 바와 같다.

[0032] **IL1RAP × CD3 다중특이성 항체**

[0033] TCR/CD3 복합체를 통한 T-림프구의 IL1RAP-발현 암 세포로의 방향전환은 매력적인 대안적인 접근법을 나타낸다. T-림프구의 TCR/CD3 복합체는 CD3 표지화된 감마(γ), 델타(δ), 엡실론(ϵ), 제타(ζ), 및 에타(η)의 불변성 하위단위와 함께 세포 표면에서 공발현되는 TCR 알파(α)/베타(β) 또는 TCR 감마(γ)/델타(δ) 이중이량체로 이루어진다. 인간 CD3 ϵ 는 UniProt P07766(CD3E_HUMAN) 하에 기재되어 있다. 당업계에서 최선에 기재된 항-CD3 ϵ 항체는 SP34이다(문헌[Yang SJ, The Journal of Immunology (1986) 137; 1097-1100]). SP34는 영장류 및 인간 CD3 둘 모두와 반응한다. SP34는 Pharmingen으로부터 입수가능하다. 당업계에서 최선에 기재된 추가의 항-CD3 항체는 UCHT-1이다(국제 특허 출원 공개 WO2000041474호 참조). 당업계에서 최선에 기재된 추가의 항-CD3 항체는 BC-3이다(문헌[Fred Hutchinson Cancer Research Institute; used in Phase I/II trials of GvHD, Anasetti et al., Transplantation 54: 844 (1992)]). SP34는 UCHT-1 및 BC-3과 상이한데, 이는, SP34는 오로지 CD3의 ϵ 쇄 상에 존재하는 에피토프만을 인식하고(문헌[Salmeron et al., (1991) J. Immunol. 147: 3047] 참조), 한편 UCHT-1 및 BC-3은 ϵ 쇄 및 γ 쇄 둘 모두에 의해 기여되는 에피토프를 인식한다는 점에서 그러하다. 항체 SP34와 동일한 서열을 갖는 항체의 서열이 국제 특허 출원 공개 WO2008119565호, WO2008119566호, WO2008119567호, WO2010037836호, WO2010037837호 및 WO2010037838호에 언급되어 있다. 항체 SP34의 VH와 96% 동일한 서열이 미국 특허 제8236308호(국제 특허 출원 공개 WO2007042261호)에 언급되어 있다.

[0034] IL1RAP 및 CD3과 결합하는 재조합 다중특이성 항체("IL1RAP × CD3 다중특이성 항체") 및 그의 다중특이성 항원-결합 단편이 본 명세서에 기재된다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP에 특이적으로 결합하는 재조합 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 제공된다.

[0035] 일부 실시 형태에서, 다중특이성 항체의 IL1RAP-특이적 아암(arm)은 인간 IL1RAP 및/또는 사이노몰거스 원숭이 IL1RAP와 결합한다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP × CD3 다중특이성 항체 또는 항원-결합 단편의 IL1RAP-특이적 아암은 인간 IL1RAP의 세포외 도메인과 결합한다. 바람직한 실시 형태에서, IL1RAP × CD3 다중특이성 항체 또는 항원-결합 단편은 이중특이성 항체 또는 항원-결합 단편이다. 일부 실시 형태에서, a) 제1 중쇄(HC1); b) 제2 중쇄(HC2); c) 제1 경쇄(LC1); 및 d) 제2 경쇄(LC2)를 포함하며, HC1과 LC1이 쌍을 이루어서 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 형성하고, HC2와 LC2가 쌍을 이루어서 CD3과 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 형성하는, 재조합 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 그의 IL1RAP × CD3 이중특이성 결합 단편이 제공된다. 다른 실시 형태에서, 항체 또는 이중특이성 결합 단편을 발현하는 재조합 세포가 제공된다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP × CD3 다중특이성 항체의 IL1RAP-결합 아암(또는 "IL1RAP-특이적 아암")은 본 명세서에 기재된 IL1RAP 항체로부터(예를 들어, 표 1에 열거된 CDR 서열을 갖는 항체로부터) 유래된다.

[0036] 일부 실시 형태에서, IL1RAP × CD3 다중특이성 항체 또는 항원-결합 단편의 IL1RAP-특이적 아암은 IgG 또는 그의 유도체이다. 일부 실시 형태에서, 기재된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체는 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정될 때 30 nM 이하의 해리 상수로 IL1RAP에 결합할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 기재된 IL1RAP × CD3-다중특이성 항체는 효능제(agonist)가 아니다. 일부 실시 형태에서, 기재된 IL1RAP × CD3-다중특이성 항체는 6.7 nM 초과 농도에서 AP-1 및 NF- κ B 활성화의 IL-1 β -매개 활성화를 억제한다.

[0037] 일부 실시 형태에서, IL1RAP × CD3 다중특이성 항체의 CD3-결합 아암(또는 "CD3-특이적 아암")은 마우스 IgG3/람다 동종형인 마우스 단일클론 항체 SP34로부터 유래된다. (문헌[K.R. Abhinandan and A. C. Martin, 2008.

Mol. Immunol. 45, 3832-3839]). 일부 실시 형태에서, IL1RAP × CD3 다중특이성 항체의 CD3-결합 아암은 표 2로부터 선택되는 하나의 VH 도메인 및 하나의 VL 도메인을 포함한다.

[표 2]

CD3-특이적 항체 및 항원-결합 단편의 중쇄 및 경쇄. CDR(카밧(Kabat)에 의해 정의된 바와 같음)은 밑줄 그어져 있다.

VH	VL
<p>CD3B220(서열 번호 92):</p> <p>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTY <u>AMNWVRQASGKGLEWVGRIIRSKYNAYATYY</u> <u>AASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDT</u> <u>AVYYCTRHGNEFGNSYVSWFAYWGQGLVTV</u> <u>SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD</u> <u>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY</u> <u>SLSSVTVPSSSLGKTCTYCNVDHKPSNTKVD</u> <u>KRVESKYGPCCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK</u> <u>DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH</u> <u>QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG</u> <u>QPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFL</u> <u>LYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNH</u> <u>YTQKSLSLSLGK</u></p>	<p>CD3B220(서열 번호 93):</p> <p>QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYAN <u>WVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGG</u> <u>KAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTK</u> <u>LTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF</u> <u>YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYA</u> <u>ASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT</u> <u>ECS</u></p>
<p>CD3B219(서열 번호 94):</p> <p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTY <u>AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYY</u> <u>AASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTA</u> <u>VYYCARHGNFEGNSYVSWFAYWGQGLVTVS</u> <u>SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD</u> <u>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY</u> <u>SLSSVTVPSSSLGKTCTYCNVDHKPSNTKVD</u> <u>KRVESKYGPCCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK</u> <u>DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH</u> <u>QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG</u> <u>QPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFL</u> <u>LYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNH</u> <u>YTQKSLSLSLGK</u></p>	<p>CD3B219(서열 번호 95):</p> <p>QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYAN <u>WVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGG</u> <u>KAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTK</u> <u>LTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF</u> <u>YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYA</u> <u>ASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT</u> <u>ECS</u></p>

IgG 부류는 인간에서 하기의 4가지 동종형으로 분류된다: IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4. 이들은 Fc 영역의 아미노산 서열에서 95% 초과와 상동성을 공유하지만, 힌지 영역의 아미노산 조성 및 구조에서 큰 차이를 나타낸다. Fc 영역은 이펙터 기능, 예컨대 항체-의존성 세포성 세포독성(ADCC) 및 보체-의존성 세포독성(CDC)을 매개한다. ADCC에서는, 항체의 Fc 영역이 자연 살해세포 및 대식세포와 같은 면역 이펙터 세포의 표면 상의 Fc 수용체(FcγR)에 결합하여, 표적화된 세포의 식세포작용 또는 용해로 이어진다. CDC에서는, 항체가 세포 표면에서 보체 캐스케이드를 촉발시킴으로써 표적화된 세포를 사멸시킨다.

치료적 항체의 많은 응용에 있어서, Fc-매개 이펙터 기능은 작용 기전의 일부가 아니다. 이들 Fc-매개 이펙터 기능은 탈기전 독성을 야기함으로써 유해할 수 있고 잠재적으로 안전성 위험을 제기할 수 있다. Fc 영역을 조작하여 FcγR 또는 보체 인자에 대한 그의 결합을 감소시킴으로써 이펙터 기능의 변형이 달성될 수 있다. 활성화 FcγR(FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb 및 FcγRIIc) 및 억제성 FcγR(FcγRIIb) 또는 제1 보체 성분(C1q)에 대한 IgG의 결합은 힌지 영역 및 CH2 도메인에 위치한 잔기에 의존한다. Fc 기능성을 감소 또는 침묵시키기 위해 돌연변이가 IgG1, IgG2 및 IgG4에 도입되어 왔다.

일 실시 형태에서, 항체는 하기 특성들 중 하나 이상을 갖는 Fc 영역을 포함한다: (a) 모 Fc와 비교할 때 감소된 이펙터 기능; (b) Fcγ RI, Fcγ RIIa, Fcγ RIIb, Fcγ RIIIb 및/또는 Fcγ RIIIa에 대한 감소된 친화성; (c) FcγRI에 대한 감소된 친화성; (d) FcγRIIa에 대한 감소된 친화성; (e) FcγRIIb에 대한 감소된 친화성; (f) Fcγ RIIIb에 대한 감소된 친화성; 또는 (g) FcγRIIIa에 대한 감소된 친화성.

일부 실시 형태에서, 다중특이성 항체의 CD3-특이적 아암의 유래가 되는 CD3-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 IgG 또는 그의 유도체이다. 일부 실시 형태에서, 다중특이성 항체의 CD3-특이적 아암의 유래가 되는 CD3-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 IgG1 또는 그의 유도체이다. 일부 실시 형태에서, 예를 들어, CD3-결합 아암의 유래가 되는 CD3-특이적 IgG1 항체의 Fc 영역은 그의 Fc 영역 내에 L234A, L235A, 및 F405L 치환을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 다중특이성 항체의 CD3-특이적 아암의 유래가 되는 CD3-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 IgG4 또는 그의 유도체이다. 일부 실시 형태에서, 예를 들어, CD3-결합 아암의 유래가 되는 CD3-특이적 IgG4 항체의 Fc 영역은 그의 Fc 영역 내에 S228P, L234A, L235A, F405L, 및 R409K 치환을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 다중특이성 항체의 CD3-특이적 아암의 유래가 되는 CD3-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 1차

인간 T 세포 및/또는 1차 사이노몰거스 T 세포 상의 CD3ε 과 결합한다. 일부 실시 형태에서, 다중특이성 항체의 CD3-특이적 아암의 유래가 되는 CD3-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 1차 인간 CD4+ T 세포 및/또는 1차 사이노몰거스 CD4+ T 세포를 활성화한다.

[0044] 기재된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체에 더하여, 기재된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체를 인코딩할 수 있는 폴리뉴클레오티드 서열이 또한 제공된다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편의 HC1, HC2, LC1 또는 LC2를 인코딩하는 단리된 합성 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 또한 제공되며, 마찬가지로 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체를 발현하는 세포도 본 명세서에 제공된다. 개시된 벡터를 발현할 수 있는 세포가 또한 기재된다. 이들 세포는 포유류 세포(예컨대, HEK-293F 세포, CHO-K1 세포), 곤충 세포(예컨대, Sf7 세포), 효모 세포, 식물 세포, 또는 세균 세포(예컨대, E. 콜라이)일 수 있다. 기재된 항체는 또한 하이브리도마 세포에 의해 생성될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 세포를 배양함으로써 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편을 생성하기 위한 방법이 제공된다.

[0045] IL1RAP × CD3 다중특이성 항체 또는 항원-결합 단편 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물이 본 명세서에 추가로 제공된다.

[0046] **IL1RAP × CD3 다중특이성 항체의 사용 방법**

[0047] 기재된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체 및 그의 다중특이성 항원-결합 단편의 사용 방법이 또한 개시된다. 예를 들어, IL1RAP × CD3 다중특이성 항체 및 그의 다중특이성 항원-결합 단편은 IL1RAP-발현 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 IL1RAP-발현 암의 치료에 유용할 수 있다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험, 중간 위험, 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 아구성 형질 세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN)이다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 하기와 같은 고형 종양을 포함한다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종.

[0048] IL1RAP-발현 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 IL1RAP-발현 암을 치료하는 기재된 방법은 기재된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체 또는 그의 다중특이성 항원-결합 단편의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 포유동물, 바람직하게는 인간이다. 바람직한 실시 형태에서, 암을 갖는 대상체를 치료하기 위한 방법이 제공되는데, 본 방법은 암을 치료하기에 충분한 시간 동안 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 항원-결합 단편의 치료적 유효량을 투여하는 것에 의한다.

[0049] 암 세포의 성장 또는 증식을 억제하기 위한 방법이 본 명세서에 추가로 제공되는데, 본 방법은 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편의 치료적 유효량을 투여하여 암 세포의 성장 또는 증식을 억제하는 것에 의한다.

[0050] T 세포를 IL1RAP-발현 암 세포로 방향전환시키는 방법이 본 명세서에 추가로 제공되는데, 본 방법은 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편의 치료적 유효량을 투여하여 T 세포를 암으로 방향전환시키는 것에 의한다.

[0051] **IL1RAP × CD3-특이적 항체 키트**

[0052] 개시된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체를 포함하는 키트가 본 명세서에 기재된다. 기재된 키트는 본 명세서에 제공된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체를 사용하는 방법, 또는 당업자에게 알려진 다른 방법을 수행하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 기재된 키트는 본 명세서에 기재된 항체 및 IL1RAP-발현 암을 치료하는데 사용하기 위한 시약을 포함할 수 있다. 따라서, 기재된 키트는 본 명세서에 기재된 하나 이상의 다중특이성 항체 또는 그의 다중특이성 항원-결합 단편(들), 및 사용 중이 아닐 때 항체 또는 단편을 담기 위한 용기, 및/또는 항체 또는 단편, 고체 지지체에 부착된 항체 또는 단편, 및/또는 항체 또는 단편의 검출가능하게 표지화된 형태의 사용에 대한 설명서를 포함할 수 있으며, 이는 본 명세서에 기재된 바와 같다.

도면의 간단한 설명

[0053] 도 1. IL1RAP 세포의 도메인을 클로닝하는 데 사용되는 pDisplay 벡터.

도 2. IL1RAP 파지 디스플레이 및 OMT-1 하이브리도마로부터 생성된 상층액을 HEK-Blue™ IL-1 리포터 세포에서의 효능제 또는 길항제 활성(외인성 재조합 인간 IL-1 β 의 첨가)에 대하여 스크리닝하였다. 값은 샘플당 3개의 판독값의 평균의 원시 광학 밀도(650 nm에서의 OD) 단위로서 제시되어 있다.

도 3a 내지 도 3d. IAPB57 에피토프 위치 및 IL1RAP와 IAPB57 사이의 상호작용. (도 3a) 에피토프 위치의 개관. IAPB57은 IL1RAP의 D2 및 D3 도메인(검정색 영역)에 결합한다. (도 3b) IL1RAP와 IAPB57 사이의 2D 상호작용 맵. CDR-L1 및 -L2를 제외한 모든 CDR로부터의 잔기는 IL1RAP와 접촉한다. 반데르발스 상호작용은 파선으로 나타나 있고, H 결합은 실선이며, 화살표는 골격 H 결합을 나타내고 골격 원자를 가리킨다. IL1RAP, LC 및 HC 잔기는 각각 회색 박스, 흰색 박스 및 타원 내에 있다. 4 Å의 거리 컷오프(cut-off)를 사용하여 접촉 잔기를 확인하였다. (도 3c, 도 3d) Fab 경쇄(도 3c) 및 중쇄(도 3d)와의 IL1RAP 주요 상호작용의 확대도. H 결합은 파선으로 나타나 있다.

도 4. IAPB57의 에피토프 및 파라토프 잔기. 에피토프 잔기는 IL1RAP 아이소형(isoform)에 밀접 그어져 있으며, 이때 서열 차이가 음영처리된 영역으로 나타나 있다. 아이소형 1 및 4의 세포외 영역만이 나타나 있다. 파라토프 잔기는 음영처리되어 있고, CDR 영역은 밀접 그어져 있다(카밧 정의).

도 5. 에피토프 그룹에 대한 경쟁 프로파일: 임의의 하나의 에피토프 그룹의 구성원들은 동일한 경쟁 프로파일을 갖는다. 벤 다이어그램에서, 에피토프 그룹들이 중첩되는 경우, 이들은 경쟁한다. 그렇지 않으면, 이들은 인간 IL1RAP에 대하여 경쟁하지 않는다.

도 6a 및 도 6b. MV4-11 AML 세포를 사용한 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체 매개 T-세포 사멸 검정에 대한 대표적인 데이터 세트: (도 6a) 처음 9개의 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체의 경우, 및 나머지 6개의 이중특이성 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체의 경우. IL1RAP 음성/저(low) 세포주는 (SU-DHL-10)이었으며, 대조군 데이터를 또한 입수하였다(도시되지 않음). 이 검정은 항체의 농도를 증가시키면서 5:1의 E:T 비의 pan 인간 T-세포(공여자 D103)에 대해 실시하였다.

도 7a 및 도 7b. NF- κ B 신호전달 평가: (도 7a) IC3B18, IC3B19, 및 각각의 널 아암(null arm) 이중특이성 대조 항체(IAPB100, IAPB101, 및 CNTO 7008)를 HEK-Blue™ IL-1 리포터 세포에서 외인성 재조합 인간 IL-1 β 의 존재 하에서 길항제 활성에 대하여 분석하였다. (도 7b) IC3B18, IC3B19, 및 각각의 널 아암 이중특이성 대조 항체(IAPB100, IAPB101, 및 CNTO 7008)를 HEK-Blue™ IL-1 리포터 세포에서 외인성 재조합 인간 IL-1 β (0.1 ng/mL)의 부재 하에서 효능적 활성에 대하여 분석하였다. 모든 데이터는 샘플당 3개의 판독치의 평균으로부터의 대조군의 %로서 제시되어 있다.

도 8a 내지 도 8e. IL1RAP \times CD3 T-세포 매개 세포독성 검정 항-CD3 아암 CD3B219를 사용한 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체를 인간 pan T 세포 및 세포 बैं킹 서비스로부터 획득된 IL1RAP+ AML 세포주(도 8a 내지 도 8d) 또는 IL1RAP 음성/저 B 세포 림프종 세포주(도 8e)와 인큐베이션하였다. 37°C, 5% CO₂에서 48시간 후에, 총 종양 세포성 세포독성을 유세포측정에 의해 측정하였다.

도 9. 조사된 4가지 세포주에 대한 EC₅₀ 값의 요약.

도 10. 단리된 자가의 정상적인 건강한 인간 CD14⁺ 단핵구 및 CD3⁺ T-세포의 IC3B18- 및 IC3B19-매개 세포독성의 생체외 평가. 그래프는 IC3B18, IC3B19, CNTO 7008(널 \times CD3), IAPB100(IAPB63xB23B49), 및 IAPB101(IAPB57xB23B49) 이중특이성 항체의 CD14⁺ 단핵구 세포독성의 %를 나타낸다.

도 11a 및 도 11b. 정상적인 건강한 인간 전혈(공여자 27067)에 외인적으로 첨가된 SKNO-1 세포의 IC3B18 및 IC3B19 세포독성의 생체외 평가: 24시간(도 11a) 및 48시간(도 11b) 시점에서 IC3B18 및 IC3B19(IL1RAP \times CD3) 및 CNTO 7008(널 \times CD3) 이중특이성 항체를 사용한 세포독성 SKNO-1 세포의 %.

도 12a 내지 도 12e. 신선한 AML 공여자 전혈에서의 아세포의 IC3B18 및 IC3B19 세포독성 및 T-세포 활성화의 생체외 평가: (도 12a)는 IC3B18 및 IC3B19, CNTO 7008(널 \times CD3), 및 IAPB100 또는 IAPB101(IL1RAP \times 널) 이중특이성 항체를 사용한 AML 세포의 총 세포성 세포독성의 %를 나타내고; (도 12b)는 IC3B18 및 IC3B19, CNTO 7008 및 IAPB100 및 IAPB101 이중특이성 항체에 의해 유도된 T-세포 활성화를 나타낸다. Fc 차단제는 첨가하지 않았다. (도 12c) IC3B19는 초대(primary) AML IL1RAP⁺ 아세포의 IL1RAP⁺ 특이적 세포성 세포독성을 유도한다. 대조 항체 IAPB101(도 12d) 및 CNTO 7008(도 12e)은 세포독성을 유도하지 않는다.

도 13a 및 도 13b. 정상적인 건강한 인간 전혈에서의 OCI-AML5 세포의 IC3B19 매개 세포독성.

도 14a 내지 도 14e. IL1RAPxCD3 이중특이성 항체 IC3B18 및 IC3B19에 대한 대표적인 데이터들, (도 13a) HEK-293F 모체, (도 13b) HEK-293F 인간 HE2, (도 13c) HEK-293F 사이노 CB8, (도 13d) HEK-293F 마우스 클론 5, 및 (도 13e) HEK-293F 래트 클론 1 IL1RAP FL ECD 세포주에 대한 결합에 대하여 시험하였다. 값은 시험된 샘플당 2회 반복 관독치의 평균으로부터의 MSD 광 단위(light unit)로서 제시되어 있다.

도 15. PBMC-인간화 NSG 마우스에서 IC3B19로 처리된 OCI-AML5 인간 AML 이종이식편의 종양발생 예방. OCI-AML5 세포를 피하 접종한지 7일 후에, NSG 마우스에 인간 PBMC를 정맥내 생착하고, 일수 0, 3, 5, 7 및 10(화살표로 표시됨)에서 0.0005 mg/kg, 0.005 mg/kg, 0.05 mg/kg, 및 0.5 mg/kg의 IC3B19를 정맥내 투여하였다. SC 종양을 주 2회 측정하였으며, 결과는 각각의 그룹의 $\text{mm}^3 \pm$ 평균 표준 오차(SEM)로 표현된 평균 종양 부피로서 제시되어 있다.

도 16. PBMC-인간화 NSG 마우스에서 IC3B19로 처리된 MOLM-13 인간 AML 이종이식편의 종양발생 예방. MOLM-13 세포를 피하 접종한지 7일 후에, NSG 마우스에 인간 PBMC를 정맥내 생착하고, 이어서 일수 0, 2, 5, 7, 및 9(화살표로 표시됨)에서 0.0005 mg/kg, 0.005 mg/kg, 0.05 mg/kg, 및 0.5 mg/kg의 IC3B19를 정맥내 투여하였다. SC 종양을 주 2회 측정하였으며, 결과는 각각의 그룹의 $\text{mm}^3 \pm$ 평균 표준 오차(SEM)로 표현된 평균 종양 부피로서 제시되어 있다.

도 17. PBMC-인간화 NSG 마우스에서 IC3B18 및 IC3B19로 처리된 MOLM-13 인간 AML 이종이식편의 종양발생 예방. MOLM-13 세포를 피하 접종한지 7일 후에, NSG 마우스에 인간 PBMC를 정맥내 생착하고, 이어서 일수 0, 2, 4, 7, 및 9(화살표로 표시됨)에서 0.005 mg/kg, 0.05 mg/kg, 및 0.5 mg/kg의 IC3B18 또는 IC3B19를 정맥내 투여하였다. SC 종양을 주 2회 측정하였으며, 결과는 각각의 그룹의 $\text{mm}^3 \pm$ 평균 표준 오차(SEM)로 표현된 평균 종양 부피로서 제시되어 있다.

도 18. PBMC-인간화 NSG 마우스에서의 OCI-AML5 인간 AML 이종이식편에 대한 IC3B19의 항종양 효능. NSG 마우스에 OCI-AML5 세포를 피하 접종하고, 이어서 종양이 확립되었을 때(평균 종양 부피 = 93.7 mm^3), 인간 PBMC를 정맥내 생착하였다. 이어서, 마우스에 일수 28, 31, 33, 35, 및 38(검정색 화살표로 표시됨)에서 0.0005 mg/kg, 0.005mg/kg, 0.05 m/kg, 및 0.5 mg/kg의 IC3B19 또는 일수 31, 33, 35, 38, 40, 47, 및 54(회색 화살표로 표시됨)에서 0.05 mg/kg 및 0.5 mg/kg의 IC3B19를 정맥내 투여하였다. SC 종양을 주 2회 측정하였으며, 결과는 각각의 그룹의 $\text{mm}^3 \pm$ 평균 표준 오차(SEM)로 표현된 평균 종양 부피로서 제시되어 있다.

도 19. 일수 31 vs. 일수 35에 개시된 처리를 비교하여 PBMC 인간화 NSG 마우스에서의 OCI-AML5 인간 AML 이종이식편에 대한 IC3B18 및 IC3B19의 항종양 효능. NSG 마우스에 OCI-AML5 세포를 피하 접종하고, 이어서 종양이 확립되었을 때(평균 종양 부피 = 111.5 mm^3), 인간 PBMC를 정맥내 생착하였다. 일수 31에서, 7개의 그룹에 일수 31, 33, 35, 38, 및 40(검정색 화살표로 표시됨)에서 0.05 mg/kg, 0.5 mg/kg, 및 1 mg/kg의 PBS, IC3B18, 또는 IC3B19를 정맥내 투여하였다. 추가적으로, 일수 35에서, 4개의 그룹에 일수 35, 38, 41, 42 및 46(회색 화살표로 표시됨)에서 0.5 mg/kg 및 1 mg/kg의 IC3B18 또는 IC3B19를 정맥내 투여하였다. SC 종양을 주 2회 측정하였으며, 결과는 각각의 그룹의 $\text{mm}^3 \pm$ 평균 표준 오차(SEM)로 표현된 평균 종양 부피로서 제시되어 있다.

도 20a 내지 도 20e. 인간 Fc 리간드 Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb, Fc γ RIIIa, 및 FcRn에 대한 결합 경쟁을 야생형 hIgG1, hIgG4 PAA 동중형, 및 관련 gG4 PAA 모(2가) 및 널-아암(1가) 대조 항체의 수집물과 대비하여 IC3B18 및 IC3B19에 대해 측정하였으며, 이는 실시예 23에 기재된 AlphaScreen™ 검정에 의해 결정된 바와 같다. 도 20a) Fc γ RI 경쟁. 도 20b) Fc γ RIIa 경쟁. 도 20c) Fc γ RIIb 경쟁. 도 20d) Fc γ RIIIa 경쟁. 도 20e) FcRn 경쟁.

도 21. T 세포-인간화 NSG 마우스에서의 SKNO-1 인간 AML 이종이식편에 대한 IC3B19의 항종양 효능. NSG 마우스에 일수 0에서 SKNO-1 AML 종양 단편을 *sc* 접종하고, 이어서 일수 34에서 인간 T 세포를 *ip* 생착하였다. 마우스에 일수 35, 37, 39, 41, 43, 46, 48, 50, 53, 55(화살표)에서 0.5 또는 1 mg/kg의 IC3B19를 *iv* 투여하였다. SC 종양을 주 2회 측정하였으며, 결과는 각각의 그룹의 $\text{mm}^3 \pm$ (SEM)으로 표현된 평균 종양 부피로서 제시되어 있다. 최대 종양 크기 한계에 도달한 것으로 인해, 후속으로 그룹당 다수의 동물이 사망하였기 때문에, 이식후 일수 60일까지의 데이터만이 그래프로 나타나 있다. 설명: AML = 급성 골수성 백혈병; NSG = NOD scid 감마(NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ); PBS = 인산염 완충 식염수; *iv* = 정맥내, *sc* = 피하; *ip* = 복막내; SEM = 평균의 표준 오차

도 22. T 세포-인간화 NSG 마우스에서의 파종성 MOLM-13 루시페라제 인간 AML 모델에 대한 IC3B19의 효능.

주: NSG 마우스에 일수 0에서 MOLM-13 루시페라제 AML 세포를 *iv* 접종하고, 이어서 일수 3에서 인간 T 세포를 *ip* 생착하였다. 마우스에 총 11회 용량을 위하여 일수 4, 8, 11, 14, 17, 21, 24, 28, 31, 35, 및 38에서 q3d 내지 q4d로 0.05, 0.5 또는 1 mg/kg의 IC3B19를 *ip* 투여하였다. 뒷다리 마비, 이환 또는 과도하게 촉진가능한 종양 부하로 인해 동물을 안락사시키고, 생존 비율을 도표로 나타내었다. 후속으로 GvHD-관련 이환으로부터 동물이 사망하였기 때문에, 이식후 일수 46일까지의 데이터만이 그래프로 나타나 있다. 설명: AML = 급성 골수성 백혈병; NSG = NOD scid 감마(NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ); *iv* = 정맥내; *ip* = 복막내; GvHD = 이식편 대 숙주 질병

도 23. IL1RAP에 대한 RNA 발현의 변환된 분포를 요약한 박스플롯. 각각의 조직구조에 대한 상단 박스플롯은 정상적인 고형 조직을 나타내고, 하단 박스플롯은 종양에서의 발현 값을 나타낸다.

도 24. IC3B19는 여기(도 24a, 도 24b, 도 24d 내지 도 24g)에 나타난 고형 종양 세포주에서는 카스파제 활성의 증가를 특징으로 하는 T-세포 유도 아포토시스 반응을 자극하지만, (도 24c)에서는 그렇지 않다. 하기의 고형 종양 암 유형이 나타나 있다: (도 24a) NSCLC - 선암종, (도 24b) NSCLC - 편평 세포 암종, (도 24c) NSCLC - 편평 세포 암종, (도 24d) 소세포 폐암, (도 24e) 결장암, (도 24f) 췌장암, (도 24g) 전립선암. IncuCyteTM 이미지 처리 정의 내에서 크기에 의해 배제된 T-세포와 함께 총 녹색 물체 면적($\mu\text{m}^2/\text{웰}$) 측정기준에 대한 72시간째에서의 원시 값에 기초하여 Graphpad Prism 6.02에서 계산된 곡선 아래 면적에 대한 각각의 포인트(n=8) \pm SEM. 각각의 곡선은, 도 24a, 도 24c, 도 24e, 도 24f, 및 도 24g에서는 공여자 번호 M6807, LS-11-53847A를 나타내며, 한편 도 24b, 도 24d에서는 공여자 번호 M7267, 로트 번호 LS-11-53072B를 나타낸다.

도 25. IC3B19는 여기(도 25a, 도 25b, 도 25d 내지 도 25g)에 나타난 고형 종양 세포주에서는 카스파제 활성의 증가를 특징으로 하는 T-세포 유도 아포토시스 반응을 자극하지만, (도 25c)에서는 그렇지 않다. 하기의 고형 종양 암 유형이 나타나 있다: (도 25a) NSCLC - 선암종, (도 25b) NSCLC - 편평 세포 암종, (도 25c) NSCLC - 편평 세포 암종, (도 25d) 소세포 폐암, (도 25e) 결장암, (도 25f) 췌장암, (도 25g) 전립선암. IncuCyteTM 이미지 처리 정의 내에서 크기에 의해 배제된 T-세포와 함께 총 녹색 물체 면적($\mu\text{m}^2/\text{웰}$) 측정기준에 대한 72시간째에서의 원시 값에 기초하여 Graphpad Prism 6.02에서 계산된 곡선 아래 면적에 대한 각각의 포인트(n=8) \pm SEM. 각각의 곡선은, 도 24a, 도 24c, 도 24e, 도 24f, 및 도 24g에서는 공여자 번호 M6807, LS-11-53847A를 나타내며, 한편 도 24b, 도 24d에서는 공여자 번호 M7267, 로트 번호 LS-11-53072B를 나타낸다.

도 26a 내지 도 26c. (도 26a) IL1RAP 이중특이성 Ab IC3B19는 CML 세포주의 IL1RAP⁺ 특이적 세포성 세포독성을 유도한다. 대조 항체 IAPB101(도 26b) 및 CNTO 7008(도 26c)은 세포독성을 유도하지 않는다.

도 27a 내지 도 27c. (도 27a) IL1RAP 이중특이성 Ab IC3B19는 T-세포 백혈병 및 림프종 세포주의 IL1RAP⁺ 특이적 세포성 세포독성을 유도한다. 대조 항체 IAPB101(도 27b) 및 CNTO 7008(도 27c)은 세포독성을 유도하지 않는다.

도 28a 내지 도 28c. (도 26a) IL1RAP 이중특이성 Ab IC3B19는 DLBCL 세포주 U-2940의 IL1RAP⁺ 특이적 세포성 세포독성을 유도한다. 대조 항체 IAPB101(도 28b) 및 CNTO 7008(도 28c)은 세포독성을 유도하지 않는다.

도 29. T 세포 인간화 NSG 마우스에서의 H1975 인간 비소세포 폐 암종 이중이식편에 대한 IC3B19의 항종양 효능. NSG 마우스에 일수 0에서 1e6 H1975 인간 비소세포 폐 암종 세포를 *sc* 접종하고, 이어서 일수 13에서 인간 T 세포를 *ip* 생착하였다. 마우스에 총 8회 용량을 위하여 일수 14, 17, 20, 23, 27, 30, 35, 및 38(화살표)에서 0.5 mg/kg, 1 mg/kg 또는 2.5 mg/kg의 IC3B19를 *ip* 투여하였다. Sc 종양을 주 2회 측정하였으며, 결과는 각각의 그룹의 $\bar{x} \pm$ (SEM)으로 표현된 평균 종양 부피로서 제시되어 있다. 최대 종양 크기 한계에 도달한 것으로 인해, 후속으로 그룹당 다수의 동물이 사망하였기 때문에, 이식후 일수 30일까지의 데이터만이 그래프로 나타나 있다. 설명: AML = 급성 골수성 백혈병; NSG = NOD scid 감마(NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ); PBS = 인산염 완충 식염수; *iv* = 정맥내, *sc* = 피하; *ip* = 복막내; SEM = 평균의 표준 오차

도 30. mMDSC의 IL1RAP \times CD3 매개 고갈의 생체의 검증: 신선한 전혈 비소세포 폐암(NSCLC)/전립선암(PC).

도 31a 내지 도 31e. 사내 MDSC 게이팅 전략 및 MDSC 집단의 신선한 전혈의 정량화. 초대의 신선한 전혈 비소세포 폐암(NSCLC)/전립선암(PC)에서의 MDSC 집단의 평가. MDSC 집단에 대한 게이팅 전략을 나타내는 대표적인 도표: (도 31a) 생존가능한 총 유핵 세포, (도 31b) HLA-DR 저/계통 마커 음성, (도 31c)

CD33+/CD11b+/CD15+/CD14+ MDSC 집단, (도 31d) CD33+/CD11b+/CD14+IL1RAP+ M-MDSC, (도 31e) CD33+/CD11b+/CD15+IL1RAP+ G-MDSC. 모든 게이팅된 MDSC는 대표적인 도표에 나타난 바와 같이 IL1RAP를 발현한다.

도 32a 및 도 32b. 종양에 걸쳐 공여자 혈액 샘플에서 변동가능한 MDSC 수준. (도 32a) 초대의 신선한 전혈 비소세포 폐암(NSCLC)/전립선암(PC)에서의 MDSC 집단 유병률의 평가, 및 (도 32b) 건강한 정상과 대비하여 MDSC+IL1RAP+ 수용체 밀도의 정량화.

도 33. 전(pro)-혈관생성 및 항-혈관생성 처리에 반응하여 시간의 함수로서의 단위 면적당 관상 네트워크의 수. 형광 표지화된 HUVEC 세포를 VEGF의 존재 하에서 유리 상에서 배양하여 관상 신장 및 분지화를 자극하였다. 수라민을 첨가하여 VEGF의 효과를 무효화하고 네트워크 증폭을 방지하였다. 데이터는 1회 실험으로부터의 3개의 기술적 반복 시험물의 평균 \pm SEM을 나타낸다. 처음 24시간으로부터의 이미지는 기술적인 이유로 누락되어 있다.

도 34a 및 도 34b. 건강한 공여자 T 세포(M2550), 암 세포, H1975(도 34a) 및 OCI-AML5(도 34b), 또는 T 세포 및 암 세포의 조합과의 공동-배양에 반응하여 시간의 함수로서의 단위 면적당 관상 네트워크의 수. 형광 표지화된 HUVEC 세포를 VEGF의 존재 하에서 유리 상에서 배양하여 관상 신장 및 분지화를 자극하였다. 데이터는 1회 실험으로부터의 3개의 기술적 반복 시험물의 평균 \pm SEM을 나타낸다. 처음 24시간으로부터의 이미지는 기술적인 이유로 누락되어 있다.

도 35a 내지 도 35c. 건강한 지원자로부터 단리된 T 세포(도 35a), 및 H1975(도 35b) 및 OCI-AML5(도 35c) 세포주를 IL1RAP(회색 선) 또는 상응하는 동종형(검정색 선)으로부터 염색하고, 유세포측정에 의해 분석하였다. % IL1RAP-양성 세포가 도표에 표시되어 있다.

도 36. 지시된 처리 조건 및 NHDF의 존재 하에서 유리 상에서 배양된 HUVEC는 IL1RAP의 약간의 발현을 나타내었다.

도 37a 및 도 37b. 10 nM IL1RAPxCD3(적색 원), 10 nM 널xCD3(녹색 삼각형) 또는 비히클 PBS(청색 사각형)의 존재 하에서 건강한 공여자 T 세포(M2550), 암 세포, H1975(도 37a) 및 OCI-AML5(도 37b)와의 공동-배양에 반응하여 시간의 함수로서의 단위 면적당 관상 네트워크의 수. 형광 표지화된 HUVEC 세포를 VEGF의 존재 하에서 유리 상에서 배양하여 관상 신장 및 분지화를 자극하였다. 후속으로, 배양된 세포에 약리학적 처리(파선으로 표시됨)를 수행하고, 다음 4일에 걸쳐 네트워크 밀도를 측정하였다. 10 nM 용량 처리만이 나타나 있다. 데이터는 1회 실험으로부터의 3개의 기술적 반복 시험물의 평균 \pm SEM을 나타낸다. 처음 24시간으로부터의 이미지는 기술적인 이유로 누락되어 있다.

도 38a 내지 도 38f. 항체 처리 후 72시간째에, H1975 종양 세포 및 T 세포의 존재 하에서의 관상 네트워크에 대한 IL1RAPxCD3의 효과. 비히클 대조군(도 38a), 널xCD3(도 38b) 및 IL1RAPxCD3(도 38c) 처리 조건이 나타나 있다. 상응하는 네트워크 마스크(도 38d, 도 38e 및 도 38f)를 IncuCyte™ ZOOM 소프트웨어에 의해 생성하였다. 3개의 기술적 반복 시험물의 하나의 웰로부터의 이미지가 나타나 있다. 스케일 바는 500 μ m이다.

도 39a 내지 도 39d. 암 세포 및 HUVEC 배양물의 존재 하에서의 T 세포 활성화에 대한 IL1RAPxCD3의 효과. T 세포를 4일 동안 HUVEC 및 H1975 종양 세포(도 39a 및 도 39b) 또는 OCI-AML5 세포(도 39c 및 도 39d)와 함께 배양하고, CD25 발현(도 39a 및 도 39c) 또는 IL1RAP 발현(도 39b 및 도 39d)에 대한 유동에 의해 분석하였다. IL1RAPxCD3 이중특이성 항체 및 널xCD3 대조군을 비교 분석을 위하여 사용하였다. 선택된 조건은 T 세포 상에서의 IL1RAP 발현 및 활성화의 일반적인 패턴을 가져오는 것으로 밝혀졌다.

도 40a 내지 도 40d. 암 세포 및 HUVEC 배양물의 존재 하에서의 T 세포 표면 마커 발현에 대한 IL1RAPxCD3의 효과. T 세포를 4일 동안 HUVEC 및 H1975 종양 세포(도 40a 및 도 40b) 또는 OCI-AML5 세포(도 40c 및 도 40d)와 함께 배양하고, CD25 발현 및 IL1RAP 발현에 대한 유동에 의해 분석하였다. IL1RAPxCD3 이중특이성 항체(도 40a 및 도 40c) 및 널xCD3 대조군(도 40b 및 도 40d)을 비교 분석을 위하여 사용하였다. 선택된 조건은 T 세포 상에서의 IL1RAP 발현 및 활성화의 일반적인 패턴을 가져오는 것으로 밝혀졌다.

도 41. AML 및 MDS 아세포 상에서의 IL1RAP의 세포 표면 발현을 처리 일수 0에서 유세포측정에 의해 평가하였다. 세포를 백혈병 아세포 상에서 게이팅하고, IL1RAP(담회색)의 발현을 동종형 대조군(암회색)과 대비하였다.

도 42a 내지 도 42d. 인간 간질 세포주 HS-5와의 공동-배양 시스템에서 초대 AML 샘플(MT0034)에서의 IL1RAP

× CD3 매개 T 세포 활성화 및 아세포 고갈의 생체외 평가. T 세포 활성화 및 아세포의 고갈은 유세포측정에 의해 측정하였다. (도 42a) 그래프는 IL1RAP × CD3 처리를 가질 경우와 갖지 않을 경우의 CD45+ 세포의 집단 내의 CD8+ T 세포의 %를 나타낸다. (도 42b) CD45+ 세포의 집단 내의 CD4+ T 세포의 %. (도 42c) 도표는 IL1RAP × CD3 항체로 처리된 샘플에서의 CD8+ 및 CD4+ T 세포의 활성화를 나타낸다. 활성화는 두 T 세포 집단 모두 상에서의 CD25 마커의 발현에 의해 입증된다. (도 42d) 그래프는 세포의 CD45+ 집단 내의 아세포의 %를 비교함으로써 IL1RAP × CD3 처리에 의해 유도된 AML 아세포의 고갈을 입증한다.

도 43a 내지 도 43h. 인간 간질 세포주 HS-5와의 공동-배양 시스템에서 초대 MDS 샘플(MDS_4332 및 MDS_4954)의 IL1RAP × CD3 매개 T 세포 활성화 및 아세포 고갈의 생체외 평가. T 세포 활성화 및 아세포의 고갈은 유세포측정에 의해 측정하였다. (도 43a) 및 (도 43e) 그래프들은 각각 MDS 샘플 4332 및 4954에서 IL1RAP × CD3 처리를 가질 경우와 갖지 않을 경우의 CD45+ 세포의 집단 내의 CD8+ T 세포의 %를 나타낸다. (도 43b) 및 (도 43f) MDS 샘플 4332 및 4954에서 CD45+ 세포의 집단 내의 CD4+ T 세포의 %. (도 43c) 및 (도 43g) 도표는 IL1RAP × CD3 Ab로 처리된 샘플에서의 CD8+ 및 CD4+ T 세포의 활성화를 나타낸다. 활성화는 두 T 세포 집단 모두 상에서의 CD25 마커의 발현에 의해 입증된다. (도 43d) 및 (도 43h) 그래프는 세포의 CD45+ 집단 내의 아세포의 %를 비교함으로써 IL1RAP × CD3 처리에 의해 유도된 MDS 아세포의 고갈을 입증한다.

도 44a 내지 도 44d. 인간 간질 세포주 HS-5와의 공동-배양 시스템에서 초대 AML 샘플 AML_5503에서의 IL1RAP × CD3 매개 T 세포 활성화 및 아세포 고갈의 생체외 평가. T 세포 활성화 및 아세포의 고갈은 유세포측정에 의해 측정하였다. (도 44a) 그래프는 모든 처리군에서 배양 동안 CD45+ 세포의 집단 내의 CD8+ T 세포의 %의 감소를 나타낸다. (도 44b) CD45+ 세포의 집단 내의 CD4+ T 세포의 %. (도 44c) 도표는 IL1RAP × CD3 Ab로 처리된 샘플에서의 CD8+ 및 CD4+ T 세포의 활성화를 나타내지만; CD8+ 세포의 수는 매우 적고, 배양물 중에 존재하는 CD4+ 세포는 없다. 활성화는 두 T 세포 집단 모두 상에서의 CD25의 발현에 의해 입증된다. (도 44d) 그래프는 세포의 CD45+ 집단 내의 아세포의 %를 비교함으로써 IL1RAP × CD3 처리에 의해 유도된 AML 아세포의 고갈의 결여를 입증한다.

도 45a 및 도 45b. 초대 AML 및 MDS 샘플에서의 MDSC 집단의 평가. (도 45a) MDSC 집단에 대한 게이팅 전략을 나타내는 대표적인 도표: HLA-DR 저/계통 마커 음성/CD33+/CD11b+/CD15+/CD14-. 모든 게이팅된 MDSC는 우측의 대표적인 도표에 나타난 바와 같이 IL1RAP를 발현한다. (도 45b) 처리에 반응성인 샘플에서, IL1RAP × CD3 처리된 샘플은 대조군 Ab로 처리된 샘플 또는 비처리 세포와 대비하여 유의하게 더 낮은 수준의 MDSC를 갖는다. AML 5503은 비교적 낮은 수준의 MDSC를 갖는 비반응성 샘플이었고 모든 처리군에서 동일하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

상세한 설명의 태양과 관련된 다양한 용어가 본 명세서 및 청구범위 전체에 걸쳐 사용된다. 이러한 용어는 달리 지시되지 않으면 본 기술 분야에서의 그의 통상적인 의미로 주어져야 한다. 다른 구체적으로 정의된 용어는 본 명세서에 제공된 정의와 일치하는 방식으로 해석된다.

본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수형("a", "an" 및 "the")은 문맥이 명확하게 달리 지시하지 않으면, 복수의 지시 대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어, "세포"에 대한 언급은 2개 이상의 세포의 조합 등을 포함한다.

본 명세서에 사용되는 바와 같이, 측정가능한 값, 예컨대 양, 시간적 지속기간 등을 지칭할 때 용어 "약"은 지정된 값으로부터 최대 ±10%의 변동을 포함함을 의미하는데, 이러한 변동은 개시된 방법을 수행하기에 적절하기 때문이다. 달리 지시되지 않는 한, 본 명세서 및 청구범위에 사용되는 성분의 양, 특성, 예컨대 분자량, 반응 조건 등을 표현하는 모든 수는 모든 경우에 용어 "약"에 의해 수식된 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 반대로 나타내지 않는 한, 하기의 명세서 및 첨부된 청구범위에 기재된 수치 파라미터는 근사치로, 이는 본 발명에 의해 얻고자 하는 원하는 특성에 따라 변동될 수 있다. 적어도, 그리고 청구범위의 범주와 동등한 원칙의 응용을 제한하려는 시도로서가 아니라, 각각의 수치 파라미터는 적어도, 보고된 유효 숫자의 개수를 고려하여 그리고 통상적인 반올림 기법을 적용함으로써 해석되어야 한다.

본 발명의 넓은 범주를 나타내는 수치 범위 및 파라미터가 근사치임에도 불구하고, 구체적인 실시예에 기재된 수치들은 가능한 한 정확하게 기록하였다. 그러나, 임의의 수치는 그들 각자의 시험 측정에서 발견되는 표준 편차로부터 반드시 유래하는 소정의 오차를 본질적으로 포함한다.

- [0059] "단리된"은 생물학적 성분(예컨대, 핵산, 펩티드 또는 단백질)이, 그러한 성분이 천연 발생하는 유기체의 다른 생물학적 성분들, 즉 다른 염색체 및 염색체의 DNA 및 RNA, 및 단백질로부터 실질적으로 분리되거나, 따로 생성되거나, 또는 따로 정제되었음을 의미한다. 따라서, "단리된" 핵산, 펩티드 및 단백질은 표준 정제 방법에 의해 정제된 핵산 및 단백질을 포함한다. "단리된" 핵산, 펩티드 및 단백질은 조성물의 일부일 수 있고, 그러한 조성물이 핵산, 펩티드, 또는 단백질의 천연 환경의 일부가 아닌 경우 여전히 단리될 수 있다. 이 용어는 또한 숙주 세포에서의 재조합 발현에 의해 제조된 핵산, 펩티드 및 단백질뿐만 아니라 화학적으로 합성된 핵산도 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "단리된" 항체 또는 항원-결합 단편은 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체 또는 항원-결합 단편이 실질적으로 없는 항체 또는 항원-결합 단편을 지칭하고자 한다(예를 들어, IL1RAP에 특이적으로 결합되는 단리된 항체에는 IL1RAP 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없다). 그러나, IL1RAP의 에피토프, 아이소형 또는 변이체에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는, 예를 들어 다른 종 유래의 다른 관련 항원(예컨대, IL1RAP 중 상동체)에 대한 교차-반응성을 가질 수 있다.
- [0060] 용어 "재조합 항체"는 재조합 DNA 기술의 사용을 수반하는 임의의 과정에 의해 생성된 항체를 기재하는 데 사용되며, 이에에는 천연 면역글로불린 또는 그의 단편의 임의의 유사체가 포함된다.
- [0061] "폴리뉴클레오타이드" - 동의어로 "핵산 분자", "뉴클레오타이드" 또는 "핵산"으로 지칭됨 - 는 임의의 폴리리보뉴클레오타이드 또는 폴리데옥시리보뉴클레오타이드를 지칭하며, 이는 비변형된 RNA 또는 DNA 또는 변형된 RNA 또는 DNA일 수 있다. "폴리뉴클레오타이드"는, 제한 없이, 단일- 및 이중-가닥 DNA, 단일- 및 이중-가닥 영역의 혼합물인 DNA, 단일- 및 이중-가닥 RNA, 및 단일- 및 이중-가닥 영역의 혼합물인 RNA, 단일-가닥, 또는 더 전형적으로는 이중-가닥일 수 있는 DNA 및 RNA를 포함하거나 단일- 및 이중-가닥 영역의 혼합물을 포함하는 혼성(hybrid) 분자를 포함한다. 게다가, "폴리뉴클레오타이드"는 RNA 또는 DNA 또는 RNA 및 DNA 둘 모두를 포함하는 삼중-가닥 영역을 지칭한다. 용어 폴리뉴클레오타이드는 또한 하나 이상의 변형된 염기를 함유하는 DNA 또는 RNA, 및 안정성 또는 다른 이유로 골격이 변형된 DNA 또는 RNA를 포함한다. "변형된" 염기는, 예를 들어 트리틸화(tritylated) 염기 및 통상이 아닌 염기, 예컨대 이노신을 포함한다. DNA 및 RNA에 대해 다양한 변형이 이루어질 수 있으며; 이에 따라, "폴리뉴클레오타이드"는 천연에서 전형적으로 발견되는 바와 같은 화학적으로, 효소적으로 또는 대사적으로 변형된 형태의 폴리뉴클레오타이드뿐만 아니라, 바이러스 및 세포에 특징적인 화학적 형태의 DNA 및 RNA도 포함한다. "폴리뉴클레오타이드"는, 종종 올리고뉴클레오타이드로 지칭되는 비교적 짧은 핵산쇄를 또한 포함한다.
- [0062] "실질적으로 동일한"이라는 의미는 그 용어가 사용되는 문맥에 따라 상이할 수 있다. 중쇄 및 경쇄, 그리고 그들을 인코딩하는 유전자 중에서 존재할 가능성이 높은 천연 서열 변이로 인해, 본 명세서에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편을 인코딩하는 아미노산 서열 또는 유전자 내에는 약간의 수준의 변이가 발견될 것으로 예측될 것인데, 이때 이러한 변이는 그들의 고유 결합 특성(예를 들어, 특이성 및 친화도)에 대해 거의 또는 전혀 영향을 주지 않는다. 그러한 예측은 유전자 코드의 축퇴성뿐만 아니라, 보존적 아미노산 서열 변이의 진화적 성공에도 부분적으로 기인되는데, 이때 이는 인코딩된 단백질의 성질을 크게 변경시키지 않는다. 따라서, 핵산 서열과 관련하여, "실질적으로 동일한"은 2개 이상의 서열들 사이의 적어도 65% 동일성을 의미한다. 바람직하게는, 이 용어는 2개 이상의 서열들 사이의 적어도 70% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 75% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 80% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 85% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 90% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 91% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 92% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 93% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 94% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 95% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 96% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 97% 동일성, 더 바람직하게는 적어도 98% 동일성, 그리고 더 바람직하게는 적어도 99% 또는 그 이상의 동일성을 지칭한다. 2개의 서열들 사이의 퍼센트 동일성은 서열들에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수(즉, % 상동성 = 동일한 위치의 수/위치의 총수 \times 100)이며, 이때 2개의 서열의 최적의 정렬을 위해 도입되어야 할 필요가 있는 갭(gap)의 수, 및 각각의 갭의 길이를 고려한다. 2개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열들 사이의 퍼센트 동일성은, 예를 들어, PAM120 가중치 잔기(weight residue) 표, 12의 갭 길이 페널티 및 4의 갭 페널티를 사용하여, ALIGN 프로그램(버전 2.0) 내로 포함된 문헌[E. Meyers and W. Miller, Comput. Appl. Biosci 4, 11-17 (1988)]의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다. 게다가, 2개의 아미노산 서열들 사이의 퍼센트 동일성은 문헌[Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48, 444-453 (1970)]의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0063] 단백질 기능에 대해 실질적인 영향을 주지 않고서 단백질의 아미노산 서열 내에서 일어날 수 있는 변이의 정도는 핵산 서열의 변이의 정도보다 훨씬 더 낮는데, 동일한 축퇴성 원리가 아미노산 서열에는 적용되지 않기 때문이다. 따라서, 항체 또는 항원-결합 단편과 관련하여, "실질적으로 동일한"은 기재된 항체 또는 항원-결합 단

편과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 항체 또는 항원-결합 단편을 의미한다. 다른 실시 형태는, 프레임워크, 스캐폴드, 또는 본 명세서에 기재된 항체 및 항원-결합 단편과 상당한 동일성을 공유하지 않고, 본 명세서에 기재된 그러한 서열과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 결합을 제공하는 데 필요한 하나 이상의 CDR 또는 다른 서열을 포함하는 다른 비결합 영역을 갖는 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편을 포함한다. "벡터"는 레플리콘, 예컨대 플라스미드, 파지, 코스미드, 또는 바이러스이며, 이것 내에 다른 핵산 절편이 작동가능하게 삽입되어 절편의 복제 또는 발현을 일으키도록 할 수 있다.

[0064] "클론"은 단세포 또는 공통된 조상으로부터 유사분열에 의해 유래된 세포들의 집단이다. "세포주"는 많은 세대 동안 시험관내에서 안정한 성장이 가능한 1차 세포의 클론이다. 본 명세서에 제공된 일부 예에서는, 세포를 DNA로 형질감염시킴으로써 세포가 형질전환된다.

[0065] 용어 "발현하다" 및 "생성하다"는 본 명세서에서 동의어로 사용되고, 유전자 산물의 생합성을 지칭한다. 이들 용어는 RNA로의 유전자의 전사를 포함한다. 이들 용어는 또한 하나 이상의 폴리펩티드로의 RNA의 번역을 포함하고, 모든 천연 발생 전사 후 및 번역 후 변형을 추가로 포함한다. 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 발현 또는 생성은 세포의 세포질 내에서 행해지거나, 또는 세포의 환경, 예컨대 세포 배양의 성장 배지 내로 행해질 수 있다.

[0066] 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 손상, 병리 또는 상태의 악화 또는 개선의 임의의 성공 또는 성공 징후를 지칭하는 것으로, 이에는 증상의 감퇴, 관해, 감소와 같은, 또는 상태를 환자가 더 참을 수 있게 하거나, 퇴화 또는 저하 속도를 늦추거나, 퇴화의 최종점을 덜 쇠약하게 하거나, 대상체의 신체적 또는 정신적 웰빙(well-being)을 개선하거나, 생존 기간을 연장시키는, 임의의 객관적 또는 주관적 파라미터가 포함된다. 치료는 신체 검사, 신경학적 검사, 또는 정신 감정의 결과를 포함한 객관적 또는 주관적 파라미터에 의해 평가될 수 있다.

[0067] "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 필요한 투여량에서 그리고 필요한 시간 동안 원하는 치료적 결과를 달성하는데 유효한 양을 지칭한다. IL1RAP × CD3 항체의 치료적 유효량은 개체의 질병 상태, 연령, 성별, 및 체중, 그리고 항체가 개체에서 원하는 반응을 유도하는 능력과 같은 인자들에 따라 변동될 수 있다. 또한, 치료적 유효량은 항체 또는 항체 부분의 임의의 독성 효과 또는 유해 효과보다 치료적으로 유익한 효과가 더 큰 것이다.

[0068] "항체"는, 달리 명시되지 않는 한, 다양한 단량체 형태, 중합체 형태 및 키메라 형태를 포함한 면역글로불린의 모든 동종형(IgG, IgA, IgE, IgM, IgD, 및 IgY)을 지칭한다. 구체적으로, 용어 "항체"에는 다중클론 항체, 단일클론 항체(mAb), 및 항체-유사 폴리펩티드, 예컨대 키메라 항체 및 인간화 항체가 포함된다.

[0069] "항원-결합 단편"은 특정 항원에 대해 결합 친화성을 나타낼 수 있는 임의의 단백질성 구조(proteinaceous structure)이다. 항원-결합 단편은 임의의 알려진 기법, 예컨대 효소적 절단, 펩티드 합성, 및 재조합 기법에 의해 제공된 것들을 포함한다. 일부 항원-결합 단편은 모 항체 분자의 항원-결합 특이성을 보유하는 온전한 항체의 일부분으로 구성된다. 예를 들어, 항원-결합 단편은 특정 항원과 결합하는 것으로 알려진 항체의 적어도 하나의 가변 영역(중쇄 또는 경쇄 가변 영역) 또는 하나 이상의 CDR을 포함할 수 있다. 적합한 항원-결합 단편의 예에는, 제한 없이, 다이아바디(diabody) 및 단일쇄 분자뿐만 아니라, Fab, F(ab')₂, Fc, Fabc, 및 Fv 분자, 단일쇄(Sc) 항체, 개별 항체 경쇄, 개별 항체 중쇄, 항체 쇄 또는 CDR과 다른 단백질, 단백질 스캐폴드 사이의 키메라 융합, 중쇄 단량체 또는 이량체, 경쇄 단량체 또는 이량체, 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄로 이루어진 이량체, VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편, 또는 국제 특허 출원 공개 WO2007059782호에 기재된 바와 같은 1가 항체, 힌지 영역에서 이황화물 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편, V_H 및 C_{H1} 도메인을 포함하는 Fd 단편; 항체의 단일 아암의 VL 및 VH 도메인으로 본질적으로 이루어진 Fv 단편, dAb 단편(문헌[Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989)]) - 이는 VH 도메인으로 본질적으로 이루어지고, 도메인 항체로도 불림(문헌[Holt et al; Trends Biotechnol. 2003 Nov.; 21(11):484-90]); 카멜리드(camelid) 또는 나노바디(nanobody)(문헌[Revets et al; Expert Opin Biol Ther. 2005 Jan.; 5(1):111-24]); 단리된 상보성 결정 영역(CDR) 등도 포함한다. 모든 항체 동종형이 항원-결합 단편을 생성하는 데 사용될 수 있다. 추가적으로, 항원-결합 단편은 주어진 관심 항원에 대해 친화성을 부여하는 배향으로 폴리펩티드 절편을 성공적으로 도입시킬 수 있는 비항체 단백질성 프레임워크, 예컨대 단백질 스캐폴드를 포함할 수 있다. 항원-결합 단편은 재조합적으로 생성되거나 온전한 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생성될 수 있다. 어구 "항체 또는 그의 항원-결합 단편"은 주어진 항원-결합 단편이 이 어구에 언급된 항체의 하나 이상의 아미노산 절편을 포함함을 나타내기 위해 사용될 수 있다. 둘 이상의 항체 또는 항원-결합 단편과 관련하여 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "~와 경쟁한다" 또는 "~와 교차-경쟁한다"는 둘 이상의 항체 또는 항원-결합 단편이 IL1RAP에 결합하기 위하

여 경쟁함을, 예를 들어 실시예 11에 기재된 검정에서 IL1RAP 결합을 위하여 경쟁함을 나타낸다. 항체 또는 항원-결합 단편의 일부 쌍의 경우, 실시예의 검정에서의 경쟁 또는 차단이 하나의 항체가 플레이트 상에 코팅되고 다른 하나가 경쟁하기 위해 사용되는 경우에만 단지 관찰되고, 역으로는 성립되지 않는다. 문맥에 의해 달리 정의되거나 부인되지 않는 한, 본 명세서에서 사용될 때 용어 "~와 경쟁한다" 또는 "~와 교차-경쟁한다"는 또한 그러한 쌍의 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하고자 한다.

[0070] 용어 "에피토프"는 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 단백질 결정인자를 의미한다. 에피토프는 통상 아미노산 또는 당 측쇄와 같은 분자의 표면 그룹화(grouping)로 이루어지며, 통상 특이적인 3차원 구조 특징뿐만 아니라 특이적인 전하 특징도 갖는다. 입체형태 및 비입체형태 에피토프는 전자에 대한 결합이 변성 용매의 존재 하에서 소실되거나 후자는 그렇지 않다는 점에서 구별된다. 에피토프는 결합에 직접 관여하는 아미노산 잔기, 및 결합에 직접 관여하지 않는 다른 아미노산 잔기, 예컨대 특이적 항원 결합 펩티드에 의해 효과적으로 차단되거나 덮이는 아미노산 잔기(다시 말하면, 이러한 아미노산 잔기는 특이적 항원 결합 펩티드의 풋프린트(footprint) 내에 있음)를 포함할 수 있다.

[0071] 항체 또는 항체 단편과 관련하여 사용될 때, "특이적 결합" 또는 "면역특이적 결합" 또는 이들의 파생어는, 혼합된 분자 집단을 함유하는 샘플 중의 다른 분자에 우선적으로 결합하지 않고서, 면역글로불린 유전자 또는 면역글로불린 유전자의 단편에 의해 인코딩된 도메인을 통한 관심 단백질의 하나 이상의 에피토프에 대한 결합을 나타낸다. 전형적으로, 항체는 표면 플라즈몬 공명 검정 또는 세포 결합 검정에 의해 측정될 때 약 1×10^{-8} M 미만의 K_d 로 동종 항원에 결합한다. "[항원]-특이적" 항체(예를 들어, IL1RAP-특이적 항체)와 같은 어구는 언급된 항체가 언급된 항원에 특이적으로 결합함을 나타내고자 한다.

[0072] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 " k_d "(sec^{-1})는 특정 항체-항원 상호작용의 해리 속도 상수를 지칭한다. 상기 값은 k_{off} 값으로 지칭되기도 한다.

[0073] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 " k_a "($\text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$)는 특정 항체-항원 상호작용의 회합 속도 상수를 지칭한다.

[0074] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 " K_D "(M)는 특정 항체-항원 상호작용의 해리 평형 상수를 지칭한다.

[0075] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 " K_A "(M^{-1})는 특정 항체-항원 상호작용의 회합 평형 상수를 지칭하고, k_a 를 k_d 로 나눔으로써 얻어진다.

[0076] 용어 "대상체"는 인간 및 비인간 동물을 지칭하며, 비인간 동물에는 모든 척추동물, 예를 들어 포유동물 및 비포유동물, 예컨대 비인간 영장류, 마우스, 토끼, 양, 개, 고양이, 말, 소, 닭, 양서류, 및 파충류가 포함된다. 기재된 방법의 많은 실시 형태에서, 대상체는 인간이다.

[0077] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "방향전환" 또는 "방향전환시키는"은, IL1RAP \times CD3 항체가 그의 고유 동종 특이성으로부터 IL1RAP-발현 세포에 대한 반응성을 향해, T 세포의 활성을 효과적으로 트래픽하는 능력을 지칭한다.

[0078] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "샘플"은 대상체로부터 분리된, 유사한 유체, 세포, 또는 조직(예를 들어, 외과적으로 절제된 종양 조직, 생검 - 미세 바늘 흡인물을 포함함)의 수집물뿐만 아니라, 대상체 내에 존재하는 유체, 세포, 또는 조직도 지칭한다. 일부 실시 형태에서, 샘플은 생물학적 유체이다. 생물학적 유체는 전형적으로 생리학적 온도의 액체이고, 대상체 또는 생물학적 공급원에 존재하거나, 그로부터 적출되거나, 발현되거나 달리 추출되는 천연 발생 유체를 포함할 수 있다. 소정의 생물학적 유체는 특정 조직, 기관 또는 국부 영역으로부터 유래되고, 소정의 다른 생물학적 유체는 대상체 또는 생물학적 공급원 내에 더 전체적으로 또는 전신적으로 위치될 수 있다. 생물학적 유체의 예에는 혈액, 혈청 및 장막 유체, 혈장, 림프, 소변, 타액, 낭액(cystic fluid), 눈물, 대변, 가래, 분비성 조직 및 기관의 점막 분비물, 질 분비물, 복수, 예컨대 비고형 종양과 관련된 것들, 흉막, 심막, 복막, 복부 및 기타 체강의 유체, 기관지 세척액에 의해 수집된 유체 등이 포함된다. 생물학적 유체는 또한 대상체 또는 생물학적 공급원과 접촉된 액체 용액, 예를 들어, 세포 및 기관 배양 배지 - 세포 또는 기관 컨디셔닝된 배지를 포함함 -, 세척액 등을 포함할 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "샘플"은 대상체로부터 적출된 물질 또는 대상체에 존재하는 물질을 포함한다.

- [0079] "기지 표준물"은 기지량 또는 기지 농도의 IL1RAP를 갖는 용액일 수 있으며, 여기서 이 용액은 천연 발생 용액, 예컨대 초기, 중기, 말기, 진행성, 또는 정지(static) 암을 갖는 것으로 알려진 환자로부터의 샘플일 수 있거나, 이 용액은 합성 용액, 예컨대 기지량의 IL1RAP가 희석된 완충수일 수 있다. 본 명세서에 기재된 기지 표준물은 대상체로부터 단리된 IL1RAP, 재조합 또는 정제된 IL1RAP 단백질, 또는 질병 상태와 관련된 IL1RAP 농도의 값을 포함할 수 있다.
- [0080] 용어 "CD3"은 인간 CD3 단백질 다중-하위단위(multi-subunit) 복합체를 지칭한다. CD3 단백질 다중-하위단위 복합체는 6개의 독특한 폴리펩티드 쇄로 구성된다. 이들은 CD3 γ 쇄(SwissProt P09693), CD3 δ 쇄(SwissProt P04234), 2개의 CD3 ϵ 쇄(SwissProt P07766), 및 하나의 CD3 ζ 쇄 동종이량체(SwissProt 20963) - 그리고 이는 T 세포 수용체 α 및 β 쇄와 관련됨 - 를 포함한다. 용어 "CD3"은, 달리 기재되지 않는 한, 임의의 CD3 변이체, 아이소형 및 중 상동체를 포함하는데, 이는 세포(T 세포를 포함함)에 의해 천연 발현되거나 또는 그러한 폴리펩티드를 인코딩하는 유전자 또는 cDNA로 형질감염된 세포 상에서 발현될 수 있다.
- [0081] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "인터류킨-1 수용체 부속 단백질", "IL1RAP" 및 "IL1-RAP"는 구체적으로 인간 IL1RAP 단백질, 예를 들어 GenBank 수탁 번호 AAB84059, NCBI 기준 서열: NP_002173.1 및 UniProtKB/Swiss-Prot 수탁 번호 Q9NPH3-1에 기재된 바와 같은 것을 포함한다(또한, 문헌[Huang et al., 1997, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94(24): 12829-12832] 참조). IL1RAP는 또한 IL1 R3, C3orf13, FLJ37788, IL-1 RAcP 및 EG3556으로 과학 문헌에 알려져 있다.
- [0082] "IL1RAP \times CD3 항체"는 다중특이성 항체, 선택적으로 이중특이성 항체이며, 이중특이성 항체는 2개의 상이한 항원-결합 영역을 포함하는데, 이들 중 하나는 항원 IL1RAP에 특이적으로 결합하고, 이들 중 하나는 CD3에 특이적으로 결합한다. 다중특이성 항체는 이중특이성 항체, 다이아바디, 또는 유사한 분자일 수 있다(예를 들어, 다이아바디에 대한 설명을 위해 문헌[PNAS USA 90(14), 6444-8 (1993)]을 참조한다). 본 명세서에 제공된 이중특이성 항체, 다이아바디 등은 IL1RAP의 일부분에 더하여 임의의 적합한 표적과 결합할 수 있다. 용어 "이중특이성 항체"는 상이한 항체 서열에 의해 한정된 2개의 상이한 항원-결합 영역을 갖는 항체로서 이해되어야 한다. 이는 상이한 표적 결합으로서 이해될 수 있지만, 하나의 표적 내의 상이한 에피토프들에 대한 결합도 마찬가지로 포함한다.
- [0083] "참조 샘플"은 다른 샘플, 예컨대 시험 샘플과 대비될 수 있는 샘플인데, 이러한 대비는 비교된 샘플의 특성화를 가능하게 한다. 참조 샘플은 시험 샘플과의 비교를 위한 기초로서의 역할을 하는 일부 특성화된 특성을 가질 것이다. 예를 들어, 참조 샘플은 암을 갖는 대상체를 나타내는 IL1RAP 수준에 대한 벤치마크로서 사용될 수 있다. 참조 샘플은 반드시 시험 샘플과 동시에 분석되어야 하는 것은 아니며, 이에 따라 일부 경우에, 참조 샘플은 주어진 조건을 특성화하도록 미리 결정된 수치 또는 수치 범위, 예컨대 대상체에서 암을 나타내는 IL1RAP 수준일 수 있다. 이 용어는 또한 생리학적 상태 또는 질병 상태, 예컨대 IL1RAP-발현 암과 관련된 것으로 알려져 있지만 미지량의 IL1RAP를 갖는, 비교 목적으로 사용되는 샘플을 포함한다.
- [0084] IL1RAP-발현 암의 진행과 관련하여 사용되는 바와 같이, 용어 "진행"은 덜 심각한 상태에서부터 더 심각한 상태로의 암의 변화를 포함한다. 이는 종양의 수 또는 중증도, 전이 정도, 암이 성장하거나 퍼지는 속도 등의 증가를 포함할 수 있다. 예를 들어, "결장암의 진행"은 덜 심각한 상태에서부터 더 심각한 상태로의 그러한 암의 진행, 예컨대 I 기로부터 II 기로의 진행, II 기로부터 III 기로의 진행 등을 포함한다.
- [0085] IL1RAP-발현 암의 퇴행과 관련하여 사용되는 바와 같이, 용어 "퇴행"은 더 심각한 상태에서부터 덜 심각한 상태로의 암의 변화를 포함한다. 이는 종양의 수 또는 중증도, 전이 정도, 암이 성장하거나 퍼지는 속도 등의 감소를 포함할 수 있다. 예를 들어, "결장암의 퇴행"은 더 심각한 상태에서부터 덜 심각한 상태로의 그러한 암의 퇴행, 예컨대 III 기로부터 II 기로의 진행, II 기로부터 I 기로의 진행 등을 포함한다.
- [0086] 안정된 IL1RAP-발현 암과 관련하여 사용되는 바와 같이, 용어 "안정된"은 진행성 암 또는 퇴행성 암인 것으로 간주되기까지 임상적으로 관련된 기간에 걸쳐 충분히 상당히 변화되지 않거나 변화되어 오지 않은 질병 상태를 기재하고자 한다.
- [0087] 본 명세서에 기재된 실시 형태는 특정 방법, 시약, 화합물, 조성물 또는 생물학적 시스템으로 제한되지 않으며, 이들은 물론 다양할 수 있다.
- [0088] IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편
- [0089] IL1RAP와 특이적으로 결합하는 재조합 단일클론 항체 또는 항원-결합 단편이 본 명세서에 기재된다. 항체 분자

의 일반적 구조는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항원 결합 도메인, 및 보체 결합(complement fixation) 및 항체 수용체에 대한 결합을 포함한 다양한 기능을 제공하는 Fc 도메인을 포함한다.

- [0090] 기재된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 모든 동종형, IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM, 및 4쇄 면역글로불린 구조의 합성 다량체를 포함한다. 기재된 항체 또는 항원-결합 단편은 또한 암탉 또는 터키 혈청 및 암탉 또는 터키 난황에서 대체로 발견되는 IgY 동종형을 포함한다.
- [0091] IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 재조합 수단에 의해 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 항원-결합 단편은 마우스, 래트, 염소, 말, 돼지, 소, 닭, 토끼, 카멜리드, 당나귀, 인간, 또는 이들의 키메라 버전일 수 있다. 인간에 대한 투여에 사용하기 위하여, 비인간 유래 항체 또는 항원-결합 단편은 인간 환자에게 투여 시 더 적은 항원성을 나타내도록 유전자적으로 또는 구조적으로 변경될 수 있다.
- [0092] 일부 실시 형태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 키메라 항체 또는 항원-결합 단편이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "키메라"는 비인간 포유동물, 설치류, 또는 파충류의 항체 아미노산 서열로부터 유래되는 적어도 하나의 가변 도메인의 적어도 일부분을 갖는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 지칭하며, 한편 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 나머지 부분은 인간으로부터 유래된다.
- [0093] 일부 실시 형태에서, 항체는 인간화 항체이다. 인간화 항체는 비인간 면역글로불린으로부터 유래되는 최소한의 서열을 함유하는 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 쇄 또는 이들의 단편(예컨대, Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 항체의 다른 항원-결합 하위서열)일 수 있다. 대부분, 인간화 항체는, 수령자의 상보성 결정 영역(CDR)으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도, 및 능력(capacity)을 갖는 비인간 중(공여 항체), 예컨대 마우스, 래트 또는 토끼의 CDR로부터의 잔기에 의해 대체된 인간 면역글로불린(수령 항체)이다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 하나, 그리고 전형적으로는 2개의, 실질적으로 모든 가변 도메인을 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비인간 면역글로불린의 것들에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 프레임워크 영역은 인간 면역글로불린 서열의 것들이다. 인간화 항체는 면역글로불린 불변 영역(Fc), 전형적으로는 인간 면역글로불린의 것의 적어도 일부분을 포함할 수 있다.
- [0094] 본 명세서에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편은 다양한 형태로 존재할 수 있지만, 표 1에 나타난 항체 CDR들 중 하나 이상을 포함할 것이다.
- [0095] IL1RAP에 특이적으로 결합하는 재조합 항체 및 항원-결합 단편이 본 명세서에 기재된다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 인간 IgG 또는 그의 유도체이다. 본 명세서에 예시된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 인간 항체 또는 항원-결합 단편이지만, 예시된 항체 또는 항원-결합 단편은 키메라화될(chimerized) 수 있다.
- [0096] 일부 실시 형태에서는, 표 1에 기재된 항체들 중 어느 하나의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 중쇄를 포함하는 IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 제공된다. 일부 실시 형태에서는, 표 1에 기재된 항체들 중 어느 하나의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 중쇄 및 표 1에 기재된 항체들 중 어느 하나의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 경쇄를 포함하는 IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 제공된다.
- [0097] 일부 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 서열 번호 10을 포함하는 중쇄 CDR1, 서열 번호 11을 포함하는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 12를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 서열 번호 10을 포함하는 중쇄 CDR1, 서열 번호 11을 포함하는 중쇄 CDR2, 서열 번호 12를 포함하는 중쇄 CDR3, 서열 번호 40을 포함하는 경쇄 CDR1, 서열 번호 41을 포함하는 경쇄 CDR2, 및 서열 번호 42를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함한다. 이러한 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 인간 프레임워크 서열을 포함할 수 있다. 이러한 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 50 nM 이하의 친화도로 IL1RAP에 결합할 수 있다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 서열 번호 68과 실질적으로 동일하거나 동일한 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 서열 번호 68과 실질적으로 동일하거나 동일한 중쇄 가변 도메인 및 서열 번호 69와 실질적으로 동일하거나 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 이 단락에서 논의된 항체의 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인은 하나의 아암이 항-IL1RAP 아암인 이중특이성 작제물에 포함시키기에 적합하다.
- [0098] 일부 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 서열 번호 13을 포함하는 중쇄 CDR1, 서열 번호 14를 포함하는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 15를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 서열 번호 13을 포함하는 중쇄 CDR1, 서열 번호 14를 포함하는 중쇄 CDR2, 서열 번호 15를 포함하는 중쇄 CDR3, 서열 번호 43을 포함하는 경쇄 CDR1, 서열 번호 44를 포함하는 경쇄 CDR2, 및

합 단편은 서열 번호 90과 실질적으로 동일하거나 동일한 중쇄 가변 도메인 및 서열 번호 91과 실질적으로 동일하거나 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 이 단락에서 논의된 항체의 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인은 하나의 아암이 항-IL1RAP 아암인 이중특이성 작제물에 포함시키기에 적합하다.

[0112] 일부 실시 형태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 IgG 또는 그의 유도체, 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4 동종형이다. 항체가 IgG1 동종형을 갖는 일부 실시 형태에서, 항체는 그의 Fc 영역 내에 L234A, L235A, 및 K409R 치환(들)을 함유한다. 항체가 IgG4 동종형을 갖는 일부 실시 형태에서, 항체는 그의 Fc 영역 내에 S228P, L234A, 및 L235A 치환을 함유한다. 상기 단락들에서 논의된 CDR 및/또는 가변 도메인 서열에 의해 한정된 특이적 항체는 이들 변형을 포함할 수 있다.

[0113] IL1RAP에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 단편을 인코딩하는 재조합 폴리뉴클레오티드가 또한 개시된다. 본 명세서에 제공된 가변 도메인 절편을 인코딩할 수 있는 재조합 폴리뉴클레오티드는 동일한 또는 상이한 벡터 상에 포함되어 항체 또는 항원-결합 단편을 생성할 수 있다.

[0114] 재조합 항원-결합 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드는 또한 본 발명의 범주 내에 있다. 일부 실시 형태에서, 기재된 폴리뉴클레오티드(및 이것이 인코딩하는 펩티드)는 리더(leader) 서열을 포함한다. 당업계에 알려진 임의의 리더 서열이 사용될 수 있다. 리더 서열은 제한 부위 또는 번역 개시 부위를 포함할 수 있지만 이로 한정되지 않는다.

[0115] 본 명세서에 기재된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 기재된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편의 생물학적 특성(예를 들어, 결합 친화성 또는 면역 이펙터 활성)을 보유하는 단일 또는 다수의 아미노산 치환, 결실, 또는 부가를 갖는 변이체를 포함한다. 본 발명과 관련하여, 달리 지시되지 않는 한, 돌연변이를 기재하기 위해 하기의 표기법이 사용된다: i) 주어진 위치에서의 아미노산의 치환은, 예를 들어 S228P로 표기되는데, 이는 위치 228에서의 세린의 프롤린으로의 치환을 의미하고; ii) 특정 변이체의 경우, 임의의 아미노산 잔기를 나타내기 위해 코드 Xaa 및 X를 포함한, 특정 3 문자 또는 1 문자 코드가 사용된다. 따라서, 위치 228에서의 세린 대신 프롤린으로의 치환은 S228P로 표기되거나, 또는 위치 228에서의 세린 대신 임의의 아미노산 잔기의 치환은 S228X로 표기된다. 위치 228에서 세린이 결실된 경우에, 그것은 S228*로 나타낸다. 당업자는 단일 또는 다수의 아미노산 치환, 결실, 또는 부가를 갖는 변이체를 생성할 수 있다.

[0116] 이들 변이체는 하기를 포함할 수 있다: (a) 하나 이상의 아미노산 잔기가 보존적 또는 비보존적 아미노산으로 치환된 변이체, (b) 하나 이상의 아미노산이 폴리펩티드에 부가되거나 그로부터 결실된 변이체, (c) 하나 이상의 아미노산이 치환기를 포함하는 변이체, 및 (d) 폴리펩티드가, 그 폴리펩티드에 유용한 특성을 부여할 수 있는 다른 펩티드 또는 폴리펩티드, 예컨대 융합 파트너, 단백질 태그 또는 다른 화학적 moiety, 예컨대 항체에 대한 에피토프, 폴리히스티딘 서열, 비오틴 moiety(moiety) 등과 융합된 변이체. 본 명세서에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편은, 하나의 종으로부터의 아미노산 잔기가, 보존 또는 비보존된 위치에서, 다른 종에서의 상응하는 잔기 대신 치환된 변이체를 포함할 수 있다. 다른 실시 형태에서, 비보존된 위치에서의 아미노산 잔기가 보존 또는 비보존된 잔기로 치환된다. 유전자적(결실, 돌연변이 등), 화학적, 및 효소적 기법을 포함하여 이들 변이체를 얻기 위한 기법은 당업자에게 알려져 있다.

[0117] 본 명세서에 기재된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 몇몇 항체 동종형, 예컨대 IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE를 구현할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 항체 동종형은 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 동종형, 바람직하게는 IgG1 또는 IgG4 동종형이다. 항체 또는 그의 항원-결합 단편 특이성은 CDR의 아미노산 서열, 및 배열에 의해 대체로 결정된다. 따라서, 하나의 동종형의 CDR은 항원 특이성을 변경시키지 않고서 다른 동종형으로 전달될 수 있다. 대안적으로, 하이브리도마가 항원 특이성을 변경시키지 않고서 하나의 항체 동종형을 생성하는 것으로부터 다른 항체 동종형으로 전환(동종형 전환)되게 하기 위한 기법이 확립되어 왔다. 따라서, 그러한 항체 동종형들은 기재된 항체 또는 항원-결합 단편의 범주 내에 있다.

[0118] 본 명세서에 기재된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편의 IL1RAP에 대한 결합 친화도는 약 50 nM 미만의 해리 상수(K_D)를 포함한다. 기재된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편의 친화도는 당업계에 알려진 다양한 방법, 예컨대 표면 플라즈몬 공명 또는 ELISA-기반 방법에 의해 결정될 수 있다. 친화도를 측정하기 위한 검정은 BIAcore 3000 기계를 사용하여 수행되는 검정을 포함하는데, 여기서 검정은 실온에서(예를 들어, 25°C 또는 그 부근에서) 수행되며, IL1RAP에 결합할 수 있는 항체를 항-Fc 항체(예를 들어, 염소 항-인간 IgG Fc 특이적 항체, Jackson ImmunoResearch laboratories 제품 번호 109-005-098)에 의해 BIAcore 센서 칩 상에 약 75 RU의 수준까지 포획한 후, 40 μ L/min의 유량으로 회합 및 해리 데이터의 수집을 행한다.

- [0119] 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 또한 제공된다. 벡터는 발현 벡터일 수 있다. 따라서, 관심 폴리펩티드를 인코딩하는 서열을 함유하는 제조합 발현 벡터는 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 고려된다. 발현 벡터는 조절 서열(예를 들어, 프로모터, 인핸서), 선택 마커, 및 폴리아데닐화 신호와 같은 그러나 이로 한정되지 않는 하나 이상의 추가의 서열을 함유할 수 있다. 매우 다양한 숙주 세포를 형질전환시키기 위한 벡터는 잘 알려져 있으며, 플라스미드, 파지미드, 코스미드, 배큘로바이러스, 박미드(bacmid), 세균 인공 염색체(BAC), 효모 인공 염색체(YAC)뿐만 아니라, 다른 세균, 효모 및 바이러스 벡터를 포함하지만 이로 한정되지 않는다.
- [0120] 본 발명의 범주 내의 제조합 발현 벡터는 적합한 조절 요소에 작동가능하게 연결될 수 있는 적어도 하나의 제조합 단백질을 인코딩하는 합성, 게놈, 또는 cDNA-유래 핵산 단편을 포함한다. 그러한 조절 요소는 전사 프로모터, 적합한 mRNA 리보솜 결합 부위를 인코딩하는 서열, 및 전사 및 번역의 종결을 제어하는 서열을 포함할 수 있다. 발현 벡터, 특히 포유류 발현 벡터는 또한 하나 이상의 비전사 요소, 예컨대 복제 기점, 발현시킴고자하는 유전자에 연결된 적합한 프로모터 및 인핸서, 다른 5' 또는 3' 플랭킹(flanking) 비전사 서열, 5' 또는 3' 비번역 서열(예컨대, 필요한 리보솜 결합 부위), 폴리아데닐화 부위, 스플라이스 도너 및 억셉터 부위, 또는 전사 종결 서열을 포함할 수 있다. 숙주에서 복제하는 능력을 부여하는 복제 기점이 또한 포함될 수 있다.
- [0121] 척추동물 세포를 형질전환시키는 데 사용되는 발현 벡터에서의 전사 및 번역 제어 서열은 바이러스 공급원에 의해 제공될 수 있다. 예시적인 벡터가 문헌[Okayama and Berg, 3 *Mol. Cell. Biol.* 280 (1983)]에 의해 기재된 바와 같이 작제될 수 있다.
- [0122] 일부 실시 형태에서, 항체- 또는 항원-결합 단편-코딩 서열은 강력한 구성적 프로모터, 예컨대 하기 유전자에 대한 프로모터의 제어 하에 놓여 있다: 하이포잔틴 포스포리보실 트랜스퍼라제(HPRT), 아데노신 데아미나제, 피루베이트 키나제, 베타-액틴, 인간 미오신, 인간 헤모글로빈, 인간 근육 크레아틴, 및 기타. 게다가, 많은 바이러스성 프로모터가 진핵 세포에서 구성적으로 기능하고, 기재된 실시 형태와 함께 사용하기에 적합하다. 그러한 바이러스성 프로모터는, 제한 없이, 거대세포바이러스(CMV) 극초기 프로모터, SV40의 초기 및 후기 프로모터, 마우스 유선 종양 바이러스(MMTV) 프로모터, 말로니(Maloney) 백혈병 바이러스의 긴 말단 반복부(LTR), 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 엡스타인 바 바이러스(Epstein Barr Virus)(EBV), 라우스 육종 바이러스(Rous Sarcoma Virus)(RSV), 및 다른 레트로바이러스, 및 단순 헤르페스 바이러스의 티미딘 키나제 프로모터를 포함한다. 일 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편 코딩 서열은 유도성 프로모터, 예컨대 메탈로티오네인 프로모터, 테트라사이클린-유도성 프로모터, 독시사이클린-유도성 프로모터, 하나 이상의 인터페론-자극 반응 요소(ISRE)를 함유하는 프로모터, 예컨대 단백질 키나제 R 2',5'-올리고아데닐레이트 신테타제, Mx 유전자, ADAR1 등의 제어 하에 놓여 있다.
- [0123] 본 명세서에 기재된 벡터는 하나 이상의 내부 리보솜 침입 부위(들)(IRES)를 함유할 수 있다. 융합 벡터 내로의 IRES 서열의 포함은 일부 단백질의 발현을 향상시키는 데 유익할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 벡터 시스템은 하나 이상의 폴리아데닐화 부위(예를 들어, SV40)를 포함할 것이며, 이는 상기 언급된 핵산 서열들 중 임의의 것의 상류 또는 하류에 있을 수 있다. 벡터 성분들은 (즉, ORF들 사이의 "스페이스" 뉴클레오티드의 도입에 의해) 유전자 산물을 발현시키기 위한 최적의 간격을 제공하는 방식으로 인접하게 연결 또는 배열될 수 있거나, 또는 다른 방식으로 위치될 수 있다. 조절 요소, 예컨대 IRES 모티프는 또한 발현을 위한 최적의 간격을 제공하도록 배열될 수 있다.
- [0124] 벡터는 선택 마커를 포함할 수 있으며, 선택 마커는 당업계에 잘 알려져 있다. 선택 마커는 양성 및 음성 선택 마커, 예를 들어 항생제 저항성 유전자(예를 들어, 네오마이신 저항성 유전자, 하이그로마이신 저항성 유전자, 카나마이신 저항성 유전자, 테트라사이클린 저항성 유전자, 페니실린 저항성 유전자), 글루타메이트 신타제 유전자, 간시클로비르 선택을 위한 HSV-TK, HSV-TK 유도체, 또는 6-메틸푸린 선택을 위한 세균성 푸린 뉴클레오타이드 포스포릴라제 유전자를 포함한다(문헌[Gadi et al., 7 *Gene Ther.* 1738-1743 (2000)]). 선택 마커 또는 클로닝 부위를 인코딩하는 핵산 서열은 관심 폴리펩티드 또는 클로닝 부위를 인코딩하는 핵산 서열의 상류 또는 하류에 있을 수 있다.
- [0125] 본 명세서에 기재된 벡터는 다양한 세포를 기재된 항체 또는 항원-결합 단편을 인코딩하는 유전자로 형질전환시키는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 벡터는 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편-생성 세포를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 다른 태양은 IL1RAP과 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예컨대 본 명세서에 기재되고 예시된 항체 또는 항원-결합 단편을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 벡터로 형질전환된 숙주 세포를 제공한다.

- [0126] 세포 내로의 외래 유전자의 도입을 위한 다수의 기법이 당업계에 알려져 있고, 본 명세서에 기재되고 예시된 다양한 실시 형태에 따라, 기재된 방법을 수행하려는 목적을 위하여 재조합 세포를 작제하는 데 사용될 수 있다. 사용되는 기법은 숙주 세포로의 이중 유전자 서열의 안정한 전달을 제공하여, 이중 유전자 서열이 세포의 자손에 의해 상속가능하고 발현가능하도록, 그리고 수령 세포의 필요한 발달 및 생리학적 기능이 파괴되지 않도록 해야 한다. 사용될 수 있는 기법은 염색체 전달(예를 들어, 세포 융합, 염색체 매개 유전자 전달, 마이크로 세포 매개 유전자 전달), 물리적 방법(예를 들어, 형질감염, 스펜도플라스트 융합, 현미주사(microinjection), 전기천공, 리포솜 담체), 바이러스성 벡터 전달(예를 들어, 재조합 DNA 바이러스, 재조합 RNA 바이러스) 등(문헌 [Cline, 29 *Pharmac. Ther.* 69-92 (1985)]에 기재됨)을 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 인산칼슘 침전 및 세균 프로토플라스트(bacterial protoplast)와 포유류 세포의 폴리에틸렌 글리콜(PEG)-유도 융합이 또한 세포를 형질전환시키는 데 사용될 수 있다.
- [0127] 본 명세서에 기재된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편의 발현에 사용하기에 적합한 세포는 바람직하게는 진핵 세포, 더 바람직하게는 식물, 설치류, 또는 인간 기원의 세포, 예를 들어, 그러나 제한 없이, 특히 NS0, CHO, CHO-K1, perC.6, Tk-ts13, BHK, HEK-293 세포, COS-7, T98G, CV-1/EBNA, L 세포, C127, 3T3, HeLa, NS1, Sp2/0 골수종 세포, 및 BHK 세포주이다. 게다가, 항체의 발현은 하이브리도마 세포를 사용하여 달성될 수 있다. 하이브리도마를 생성하기 위한 방법이 당업계에 잘 확립되어 있다.
- [0128] 본 명세서에 기재된 발현 벡터로 형질전환된 세포는 본 명세서에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편의 재조합 발현을 위해 선택되거나 스크리닝될 수 있다. 재조합-양성 세포는 원하는 표현형, 예컨대 고수준 발현, 향상된 성장 특성, 또는, 예를 들어 단백질 변형 또는 변경된 번역 후 변형으로 인해 원하는 생화학적 특성을 갖는 단백질을 산출하는 능력을 나타내는 하위클론을 위해 증폭 및 스크리닝된다. 이들 표현형은 주어진 하위클론의 고유 특성에 기인하거나 돌연변이에 기인할 수 있다. 돌연변이는 화합물질, UV-과장 광, 방사선, 바이러스, 삽입 돌연변이원, DNA 불일치 수복의 억제, 또는 그러한 방법들의 조합의 사용을 통해 달성될 수 있다.
- [0129] **치료를 위해 IL1RAP-특이적 항체를 사용하는 방법**
- [0130] 요법에 사용하기 위한 IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 본 명세서에 제공된다. 특히, 이들 항체 또는 항원-결합 단편은 암, 예컨대 IL1RAP-발현 암을 치료하는 데 유용할 수 있다. 따라서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체, 예컨대 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 암의 치료 방법을 제공한다. 예를 들어, 사용은 1) IL1RAP-수용체 상호작용을 방해함으로써, 2) 항체가 독소에 접합되는 경우, 이에 따라 독소가 IL1RAP-발현 암을 표적으로 하게 됨으로써, 또는 3) 항체를 사용하여 신체의 면역 세포를 IL1RAP-발현 암 세포로 방향전환시킴으로써(예를 들어, ADCC, T 세포 방향전환) 이루어질 수 있다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN)을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 하기와 같은 고형 종양을 포함한다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종. 이들 방법에 사용하기 위한 항체는 본 명세서에서 기술된 것들, 예를 들어 표 1에 기재된 특징부, 예를 들어 CDR 또는 가변 도메인 서열을 갖는 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편, 및 이들 항체의 추가의 논의에 기재된 것들을 포함한다.
- [0131] 본 명세서에 기재된 일부 실시 형태에서, IL1RAP-특이적 항체의 면역 이펙터 특성이 당업자에게 알려진 기법에 의해 Fc 변형을 통해 향상되거나 또는 침묵될 수 있다. 예를 들어, Fc 이펙터 기능, 예컨대 C1q 결합, 보체 의존성 세포독성(CDC), 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC), 항체-의존성 세포-매개 식작용(ADCP), 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향 조절 등이, 이들 활성을 담당하는 Fc 내의 잔기를 변형시킴으로써 제공 및/또는 제어될 수 있다.
- [0132] "항체-의존성 세포-매개 세포독성" 또는 "ADCC"는 Fc 수용체(FcR)를 발현하는 비특이적 세포독성 세포(예를 들어, 천연 살해(NK) 세포, 호중구, 및 대식세포)가 표적 세포 상에 결합된 항체를 인식하고 후속적으로 표적 세포의 용해를 야기하는 세포-매개 반응을 지칭한다.
- [0133] ADCC를 유도하는 단일클론 항체의 능력은 그의 올리고당 성분을 조작함으로써 향상될 수 있다. 인간 IgG1 또는 IgG3은 잘 알려진 바이안테나리(biantennary) G0, G0F, G1, G1F, G2 또는 G2F 형태의 글리칸의 대부분에 의해 Asn297에서 N-글리코실화된다. 조작되지 않은 CHO 세포에 의해 생성된 항체는 전형적으로 약 85% 이상의 글리칸 푸코스 함량을 갖는다. Fc 영역에 부착된 바이안테나리 복합형(complex-type) 올리고당으로부터의 코어(core) 푸코스의 제거는, 항원 결합 또는 CDC 활성을 변경시키지 않고서, 개선된 FcγRIIIa 결합을 통해 항체의

ADCC를 향상시킨다. 그러한 mAb는 바이안테나리 복합형의 Fc 올리고당을 담지하는 비교적 고도로 탈푸코실화된 항체의 성공적인 발현으로 이어지는 것으로 보고된 상이한 방법들을 사용하여 달성될 수 있는데, 이러한 방법에는, 예컨대 하기와 같은 것이 있다: 배양물 오스몰랄 농도(osmolality)의 제어(문헌[Konno et al., Cytotechnology 64:249-65, 2012]), 숙주 세포주로서의 변이체 CHO 세포주 Lec13의 적용(문헌[Shields et al., J Biol Chem 277:26733-26740, 2002]), 숙주 세포주로서의 변이체 CHO 세포주 EB66의 적용(문헌[Olivier et al., MABs; 2(4), 2010; Epub ahead of print; PMID:20562582]), 숙주 세포주로서의 래트 하이브리도마 세포주 YB2/0의 적용(문헌[Shinkawa et al., J Biol Chem 278:3466-3473, 2003]), 특이적으로 α 1,6-푸코실트랜스퍼라제(FUT8) 유전자에 대한 짧은 간섭(small interfering) RNA의 도입(문헌[Mori et al., Biotechnol Bioeng 88:901-908, 2004]), 또는 β -1,4-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III과 골지(Golgi) α -만노시다제 II 또는 강력한 알파-만노시다제 I 억제제인 키푸넨신(kifunensine)의 공발현(문헌[Ferrara et al., J Biol Chem 281:5032-5036, 2006], 문헌[Ferrara et al., Biotechnol Bioeng 93:851-861, 2006]; 문헌[Xhou et al., Biotechnol Bioeng 99:652-65, 2008]).

[0134] 본 명세서에 기재된 일부 실시 형태에서, IL1RAP 항체에 의해 유도되는 ADCC는 또한 항체 Fc 내에서의 소정의 치환에 의해 향상될 수 있다. 예시적인 치환은, 예를 들어 미국 특허 제6,737,056호에 기재된 바와 같은 아미노산 위치 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 또는 430(잔기 넘버링은 EU 인덱스에 따름)에서의 치환이다.

[0135] IL1RAP의 검출 방법

[0136] 생물학적 샘플에서 IL1RAP를 검출하기 위한 방법이 본 명세서에 제공되는데, 본 방법은 샘플을 본 명세서에 기재된 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉시킴에 의한다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, 샘플은 소변, 혈액, 혈청, 혈장, 타액, 복수, 순환 세포, 순환 종양 세포, 조직과 회합되지 않은 세포(즉, 유리 세포), 조직(예를 들어, 외과적으로 절제된 종양 조직, 생검 - 미세 바늘 흡입물을 포함함), 조직 프레파라트 등으로부터 유래될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 기재된 방법은 생물학적 샘플을 본 명세서에 기재된 IL1RAP-특이적 항체들 또는 그의 항원-결합 단편들 중 임의의 것과 접촉시킴으로써 샘플에서 IL1RAP를 검출하는 단계를 포함한다.

[0137] 일부 실시 형태에서, 샘플은 표 1에 기재된 하나 초과와 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편과 접촉될 수 있다. 예를 들어, 샘플은 제1 IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉되고, 이어서 제2 IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉될 수 있으며, 여기서 제1 항체 또는 항원-결합 단편 및 제2 항체 또는 항원-결합 단편은 동일한 항체 또는 항원-결합 단편이 아니다. 일부 실시 형태에서, 제1 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 샘플과 접촉시키기 전에 표면, 예컨대 멀티웰 플레이트, 칩, 또는 유사한 기재에 부착될 수 있다. 다른 실시 형태에서, 제1 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 샘플과 접촉시키기 전에 어떠한 것에도 전혀 고정 또는 부착되지 않을 수 있다. 대안적인 실시 형태에서는, 샘플이 IL1RAP-특이적 항체와 접촉될 수 있고, 이어서 샘플-결합된 IL1RAP-특이적 항체가 표지화된 항체 또는 다른 항체-표지화된 결합제에 의해 검출될 수 있다.

[0138] 이 섹션에 제공된 방법의 일부 예시적인 실시 형태에서, 적합한 IL1RAP-특이적 항체는 표 1에 개시된 바와 같은, 하기 항체들 중 어느 하나와 동일한 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 및 경쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 조합을 갖는 항체를 포함한다: IAPB47, IAPB38, IAPB57, IAPB61, IAPB62, IAPB3, IAPB17, IAPB23, IAPB25, IAPB29, IAPB9, IAPB55, IAPB63, IAPB64, 또는 IAPB65.

[0139] 기재된 IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 검출가능하게 표지화될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 표지화된 항체 및 항원-결합 단편이 본 명세서에 기재된 방법을 통해 IL1RAP의 검출을 촉진시킬 수 있다. 많은 그러한 표지가 당업자에게 용이하게 알려져 있다. 예를 들어, 적합한 표지는 방사선 표지, 형광 표지, 에피토프 태그, 비오틴, 발색단 표지, ECL 표지, 또는 효소를 포함하지만 이로 한정되는 것으로 여겨져서는 안 된다. 더 구체적으로는, 기재된 표지는 루테튬, ^{111}In -DOTA, ^{111}In -다이에틸렌트라이아민펜타아세트산(DTPA), 서양고추냉이 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제 및 베타-갈락토시다제, 폴리-히스티딘(HIS 태그), 아크리딘 염료, 시아닌 염료, 플루오론 염료, 옥사진 염료, 페난트린 염료, 로다민 염료, Alexafluor® 염료 등을 포함한다.

[0140] 기재된 IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편은 생물학적 샘플에서 IL1RAP를 검출하기 위한 다양한 검정에 사용될 수 있다. 일부 적합한 검정은 웨스턴 블롯(Western blot) 분석, 방사면역검정, 표면 플라즈몬 공명, 면역형광측정(immunofluorimetry), 면역침전, 평형 투석, 면역확산, 전기화학발광(ECL) 면역검정, 면역조직화학, 형광-활성화 세포 분류(FACS) 또는 ELISA 검정을 포함하지만 이로 한정되는 것으로 여겨져서는 안 된다.

[0141] 본 명세서에 기재된 일부 실시 형태에서, 대상체가 IL1RAP에 대해 유도된 치료제로 치료될 수 있는지를 결정하기 위하여 대상체에서의 IL1RAP-발현 암 세포의 검출이 사용될 수 있다.

[0142] IL1RAP는 혈액 및 혈청 샘플 중에 검출가능한 수준으로 존재한다. 따라서, 혈액으로부터 유래된 샘플, 예컨대 혈청 샘플에서 IL1RAP를 검출하기 위한 방법이 본 명세서에 제공되는데, 본 방법은 샘플을 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉시킴에 의한다. 혈액 샘플 또는 그의 유도체는, 기재된 방법이 수행될 수 있는 샘플을 산출하도록 희석, 분획화, 또는 달리 처리될 수 있다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP는 하기와 같은 그러나 이로 한정되지 않는 당업계에 알려진 다수의 검정에 의해 혈액 샘플 또는 그의 유도체에서 검출될 수 있다: 웨스턴 블롯 분석, 방사면역검정, 표면 플라즈몬 공명, 면역형광측정, 면역침전, 평형 투석, 면역확산, 전기화학발광(ECL) 면역검정, 면역조직화학, 형광-활성화 세포 분류(FACS) 또는 ELISA 검정.

[0143] 암의 진단 방법

[0144] 대상체에서 IL1RAP-발현 암을 진단하기 위한 방법이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN)을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 하기와 같은 고형 종양을 포함한다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종. 일부 실시 형태에서, 전술된 바와 같이, 생물학적 샘플, 예컨대 혈액 샘플 또는 혈청 샘플에서 IL1RAP를 검출하는 것은 샘플이 획득된 대상체에서 암을 진단하는 능력을 제공한다. 대안적으로, 일부 실시 형태에서, 다른 샘플, 예컨대 조직학적 샘플, 미세 바늘 흡인 샘플, 절제된 종양 조직, 순환 세포, 순환 종양 세포 등이 또한 샘플이 획득된 대상체가 암을 갖는지의 여부를 평가하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 샘플이 획득된 대상체가 암을 갖는다는 것이 이미 알려져 있을 수 있지만, 대상체가 앓고 있는 암의 유형은 아직 진단되지 않았을 수 있거나, 또는 예비 진단이 불명확할 수 있으며, 이에 따라 대상체로부터 획득된 생물학적 샘플에서 IL1RAP를 검출하는 것은 암의 진단을 가능하게 하거나 명확하게 할 수 있다. 예를 들어, 대상체는 암을 갖는 것으로 알려져 있을 수 있지만, 대상체의 암이 IL1RAP-발현 인지의 여부가 알려져 있지 않을 수 있거나, 또는 불명확할 수 있다.

[0145] 일부 실시 형태에서, 기재된 방법은 대상체로부터 유래된 생물학적 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양을 결정함으로써 대상체가 IL1RAP-발현 암을 앓고 있는지의 여부를 평가하는 단계; 및 관찰된 IL1RAP의 양을 대조군 샘플 또는 참조 샘플 중의 IL1RAP의 양과 비교하는 단계를 수반하며, 여기서 대상체로부터 유래되는 샘플 중의 IL1RAP의 양과 대조군 샘플 또는 참조 샘플 중의 IL1RAP의 양 사이의 차이는 대상체가 IL1RAP-발현 암을 앓고 있는지를 나타내는 지표이다. 다른 실시 형태에서, 대상체로부터 획득된 생물학적 샘플에서 관찰되는 IL1RAP의 양은 암의 소정의 형태 또는 단계와 관련된 것으로 알려진 IL1RAP의 수준과 대비되어, 대상체의 암의 형태 또는 단계를 결정할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 대상체로부터 유래된 샘플 중의 IL1RAP의 양은 샘플을 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예컨대 본 명세서에 기재된 IL1RAP-특이적 항체와 접촉시킴으로써 평가된다. IL1RAP의 존재에 대해 평가되는 샘플은 소변, 혈액, 혈청, 혈장, 타액, 복수, 순환 세포, 순환 종양 세포, 조직과 회합되지 않은 세포(즉, 유리 세포), 조직(예를 들어, 외과적으로 절제된 종양 조직, 생검 - 미세 바늘 흡인물을 포함함), 조직 프레파라트 등으로부터 유래될 수 있다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN)을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 하기와 같은 고형 종양을 포함한다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종. 일부 실시 형태에서, 대상체는 인간이다.

[0146] 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암의 진단 방법은 대상체의 생물학적 샘플을 IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편(예컨대, 표 1에 제공된 항체 및 단편으로부터 유도가 가능한 것들)과 접촉시키는 단계, 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 의해 결합된 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양을 정량화하는 단계, 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양을 기저 표준 또는 참조 샘플과 대비하는 단계; 및 대상체의 IL1RAP 수준이 암과 관련된 IL1RAP의 수준 내에 있는지의 여부를 결정하는 단계를 수반할 것이다. 추가의 실시 형태에서, 진단 방법 이후에는 암-특이적 치료를 실시 또는 처방하는 추가 단계가 행해질 수 있다. 다른 실시 형태에서, 진단 방법 이후에는 결정의 결과를 전송하여 암의 치료를 촉진시키는 추가 단계가 행해질 수 있다. 일부 실시 형태에서, 암-특이적 치료는 IL1RAP-발현 암에 대해 유도될 수 있으며, 예컨대 본 명세서에 기재된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체이다.

- [0147] 일부 실시 형태에서, 기재된 방법은 대상체로부터 획득된 혈액 또는 혈청 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양을 결정함으로써 대상체가 IL1RAP-발현 암을 앓고 있는지의 여부를 평가하는 단계; 및 관찰된 IL1RAP의 양을 대조군 샘플 또는 참조 샘플 중의 IL1RAP의 양과 비교하는 단계를 수반하며, 여기서 대상체로부터 유래되는 샘플 중의 IL1RAP의 양과 대조군 샘플 또는 참조 샘플 중의 IL1RAP의 양 사이의 차이는 대상체가 IL1RAP-발현 암을 앓고 있는지를 나타내는 지표이다.
- [0148] 일부 실시 형태에서, 대조군 샘플 또는 참조 샘플은 IL1RAP-발현 암을 앓고 있지 않은 대상체로부터 유래될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 대조군 샘플 또는 참조 샘플은 IL1RAP-발현 암을 앓고 있는 대상체로부터 유래될 수 있다. 대조군 샘플 또는 참조 샘플이 IL1RAP-발현 암을 앓고 있지 않은 대상체로부터 유래되는 일부 실시 형태에서, 대조군 샘플 또는 참조 샘플에 대해 관찰된 양과 대비하여, 시험 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양의 관찰된 증가는 평가되는 대상체가 IL1RAP-발현 암을 앓고 있음을 나타내는 지표이다. 대조군 샘플이 IL1RAP-발현 암을 앓고 있지 않은 대상체로부터 유래되는 일부 실시 형태에서, 대조군 샘플 또는 참조 샘플에 대해 관찰된 양과 대비하여, 시험 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양의 관찰된 감소 또는 유사성은 평가되는 대상체가 IL1RAP-발현 암을 앓고 있지 않음을 나타내는 지표이다. 대조군 샘플 또는 참조 샘플이 IL1RAP-발현 암을 앓고 있는 대상체로부터 유래되는 일부 실시 형태에서, 대조군 샘플 또는 참조 샘플에 대해 관찰된 양과 대비하여, 시험 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양의 관찰된 감소는 평가되는 대상체가 IL1RAP-발현 암을 앓고 있지 않음을 나타내는 지표이다.
- [0149] 일부 실시 형태에서, 대상체로부터 유래된 샘플 중의 IL1RAP의 양은 샘플을 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예컨대 본 명세서에 기재된 항체와 접촉시킴으로써 평가된다. IL1RAP의 존재에 대해 평가되는 샘플은 혈액 샘플, 혈청 샘플, 순환 세포, 순환 종양 세포, 조직과 회합되지 않은 세포(즉, 유리 세포), 조직(예를 들어, 외과적으로 절제된 종양 조직, 생검 - 미세 바늘 흡인물을 포함함), 조직 프레파라트 등으로부터 유래될 수 있다.
- [0150] 다양한 태양에서, IL1RAP의 양은 샘플을 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉 시킴으로써 결정된다. 일부 실시 형태에서, 샘플은 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 하나 초과 유형의 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 샘플은 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 제1 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 의해 접촉되고, 이어서 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 제2 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 의해 접촉될 수 있다. IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편, 예컨대 본 명세서에 기재된 것들은 이러한 능력에 사용될 수 있다.
- [0151] IL1RAP-특이적 항체 및 항원-결합 단편의 다양한 조합이 기재된 진단 방법을 수행하도록 "제1" 및 "제2" 항체 또는 항원-결합 단편을 제공하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN)을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 하기와 같은 고형 종양을 포함한다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종.
- [0152] 소정 실시 형태에서, IL1RAP의 양은 웨스턴 블롯 분석, 방사면역검정, 면역형광측정, 면역침전, 평형 투석, 면역확산, 전기화학발광(ECL) 면역검정, 면역조직화학, 형광-활성화 세포 분류(FACS) 또는 ELISA 검정에 의해 결정된다.
- [0153] 기재된 진단 방법의 다양한 실시 형태에서, 대조군 샘플 또는 참조 샘플이 사용된다. 이러한 샘플은 사용되는 검정이 적절하게 수행되고 있음을 보장하는 양성 또는 음성 검정 대조군일 수 있으며; 예를 들어, 이러한 성질의 검정 대조군은 면역조직화학 검정에 일반적으로 사용될 수 있다. 대안적으로, 샘플은 건강한 대상체로부터의 생물학적 샘플 중의 IL1RAP의 양에 대한 표준화된 참조물질일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 시험된 대상체의 관찰된 IL1RAP 수준은 IL1RAP-발현 암을 앓는 것으로 알려진 대상체로부터의 샘플에서 관찰되는 IL1RAP 수준과 비교될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 대조군 대상체는 특정 관심 암을 앓고 있을 수 있다. 일부 실시 형태에서, 대조군 대상체는 초기 암을 앓는 것으로 알려져 있는데, 이는 IL1RAP-발현 암일 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 일부 실시 형태에서, 대조군 대상체는 중기 암을 앓는 것으로 알려져 있는데, 이는 IL1RAP-발현 암일 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 일부 실시 형태에서, 대조군 대상체는 말기 암을 앓는 것으로 알려져 있는데, 이

는 IL1RAP-발현 암일 수 있거나 그렇지 않을 수 있다.

[0154] **암의 모니터링 방법**

[0155] 대상체에서 IL1RAP-발현 암을 모니터링하기 위한 방법이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN)을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 하기와 같은 고형 종양을 포함한다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종. 일부 실시 형태에서, 기재된 방법은 대상체로부터 유래된 시험 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양을 결정함으로써 IL1RAP-발현 암이 진행 중인지, 퇴행 중인지, 또는 안정되게 유지되고 있는지를 평가하는 단계; 및 관찰된 IL1RAP의 양을, 초기 시점에서 대상체로부터, 유사한 방식으로, 획득된 생물학적 샘플 중의 IL1RAP의 양과 비교하는 단계를 수반하며, 여기서 시험 샘플과 초기 샘플 중의 IL1RAP의 양 사이의 차이는 암이 진행 중인지, 퇴행 중인지, 또는 안정되게 유지되고 있는지의 지표를 제공한다. 이에 관하여, 초기 샘플에 대해 관찰된 양과 대비하여 증가된 IL1RAP의 양을 갖는 시험 샘플은 IL1RAP-발현 암의 진행을 나타낼 수 있다. 대조적으로, 초기 샘플에 대해 관찰된 양과 대비하여 감소된 IL1RAP의 양을 갖는 시험 샘플은 IL1RAP-발현 암의 퇴행을 나타낼 수 있다.

[0156] 따라서, 초기 샘플에 대해 관찰된 양과 대비하여 IL1RAP의 양에 있어서 유의하지 않은 차이를 갖는 시험 샘플은 IL1RAP-발현 암에 대한 안정된 질환의 상태를 나타낼 수 있다. 일부 실시 형태에서, 대상체로부터 유래된 생물학적 샘플 중의 IL1RAP의 양은 샘플을 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항체 단편, 예컨대 본 명세서에 기재된 항체와 접촉시킴으로써 평가된다. IL1RAP의 존재에 대해 평가되는 샘플은 소변, 혈액, 혈청, 혈장, 타액, 복수, 순환 세포, 순환 종양 세포, 조직과 회합되지 않은 세포(즉, 유리 세포), 조직(예를 들어, 외과적으로 절제된 종양 조직, 생검 - 미세 바늘 흡인물을 포함함), 조직 프레파라트 등으로부터 유래될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 인간이다.

[0157] 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암의 모니터링 방법은 대상체의 생물학적 샘플을 IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편(예컨대, 표 1에 제공된 항체 및 단편으로부터 유도가능한 것들)과 접촉시키는 단계, 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양을 정량화하는 단계, 샘플에 존재하는 IL1RAP의 양을, 초기 시점에서 동일한 대상체로부터, 유사한 방식으로, 획득된 생물학적 샘플 내에 있는 것으로 결정된 IL1RAP의 양과 대비하는 단계; 및 대상체의 IL1RAP 수준이 시간 경과에 따라 변화되었는지의 여부를 결정하는 단계를 수반할 것이다. 초기 샘플에 대해 관찰된 양과 대비하여 증가된 IL1RAP의 양을 갖는 시험 샘플은 암의 진행을 나타낼 수 있다. 대조적으로, 초기 샘플에 대해 관찰된 양과 대비하여 감소된 IL1RAP의 양을 갖는 시험 샘플은 IL1RAP-발현 암의 퇴행을 나타낼 수 있다. 따라서, 초기 샘플에 대해 관찰된 양과 대비하여 IL1RAP의 양에 있어서 유의하지 않은 차이를 갖는 시험 샘플은 IL1RAP-발현 암에 대한 안정된 질환의 상태를 나타낼 수 있다. 일부 실시 형태에서, 샘플의 IL1RAP 수준은 기지 표준 또는 참조 샘플과 대비될 수 있는데, 이는 기지 표준 또는 참조 샘플 단독으로 행해지거나, 또는 초기 시점에서 평가된 샘플에 대해 관찰된 IL1RAP 수준에 더하여 행해진다. 추가의 실시 형태에서, 진단 방법 이후에는 암-특이적 치료를 실시하는 추가 단계가 행해질 수 있다. 일부 실시 형태에서, 암-특이적 치료는 IL1RAP-발현 암에 대해 유도될 수 있으며, 예컨대 본 명세서에 기재된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체이다.

[0158] 다양한 태양에서, IL1RAP의 양은 샘플을 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉시킴으로써 결정된다. 일부 실시 형태에서, 샘플은 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 하나 초과 유형의 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 샘플은 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 제1 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 의해 접촉되고, 이어서 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 제2 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 의해 접촉될 수 있다. 항체, 예컨대 본 명세서에 기재된 것들은 이러한 능력에 사용될 수 있다.

[0159] 표 1에 기재된 항체 및 항원-결합 단편의 다양한 조합이 기재된 모니터링 방법을 수행하도록 "제1" 및 "제2" 항체 또는 항원-결합 단편을 제공하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN)을 포함한다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 하기와 같은 고형 종양을 포함한다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종.

- [0160] 소정 실시 형태에서, IL1RAP의 양은 웨스턴 블롯 분석, 방사면역검정, 면역형광측정, 면역침전, 평형 투석, 면역확산, 전기화학발광(ECL) 면역검정, 면역조직화학, 형광-활성화 세포 분류(FACS) 또는 ELISA 검정에 의해 결정된다.
- [0161] **IL1RAP를 검출하기 위한 키트**
- [0162] 생물학적 샘플에서 IL1RAP를 검출하기 위한 키트가 본 명세서에 제공된다. 이러한 키트는 본 명세서에 기재된 하나 이상의 IL1RAP-특이적 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 및 키트의 사용에 대한 설명서를 포함한다.
- [0163] 제공된 IL1RAP-특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 용액 상태일 수 있거나; 동결건조될 수 있거나; 기재, 담체, 또는 플레이트에 부착될 수 있거나, 또는 검출가능하게 표지화될 수 있다.
- [0164] 기재된 키트는 또한 본 명세서에 기재된 방법을 수행하기에 유용한 추가 성분을 포함할 수 있다. 예로서, 키트는 대상체로부터 샘플을 획득하기 위한 수단, 대조군 샘플 또는 참조 샘플, 예를 들어 느리게 진행되는 암을 갖는 대상체 및/또는 암을 갖지 않는 대상체로부터의 샘플, 하나 이상의 샘플 구획, 및/또는 본 발명의 방법의 성능 및 조직 특이적 대조물 또는 표준물을 설명한 교육용 자료를 포함할 수 있다.
- [0165] IL1RAP의 수준을 결정하기 위한 수단은, 예를 들어 완충액 또는 IL1RAP의 수준을 결정하기 위한 검정에서 사용하기 위한 다른 시약들을 추가로 포함할 수 있다. 설명서는, 예를 들어, 검정을 수행하는 것에 대한 인쇄된 설명서 및/또는 IL1RAP의 발현의 수준을 평가하는 것에 대한 설명서일 수 있다.
- [0166] 기재된 키트는 또한 대상체로부터 샘플을 분리하기 위한 수단을 포함할 수 있다. 이들 수단은 대상체로부터 유체 또는 조직을 획득하기 위해 사용될 수 있는 시약 또는 장비 중 하나 이상의 아이템을 포함할 수 있다. 대상체로부터 샘플을 획득하기 위한 수단은 또한 혈액 샘플로부터 혈액 성분, 예컨대 혈청을 분리하기 위한 수단을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 키트는 인간 대상체에 대한 사용을 위해 설계된다.
- [0167] **다중특이성 항체**
- [0168] 본 명세서에 기재된 항-IL1RAP 항체의 결합 도메인은 표면 상에 IL1RAP를 발현하는 세포를 인식한다. 상기에 기재된 바와 같이, IL1RAP 발현은 암성 세포를 나타낼 수 있다. 특정 하위세트의 세포들에 대한 더 특이적인 표적화가 IL1RAP 및 다른 표적에 결합하는 이중특이성 또는 다중특이성 분자, 예컨대 항체 또는 항체 단편을 제조함으로써 달성될 수 있다. 항원-결합 영역은 표적의 특이적 인식을 가능하게 하는 임의의 형태를 취할 수 있으며, 예를 들어 결합 영역은 중쇄 가변 도메인, Fv(중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인의 조합), 피브로넥틴 III형 도메인을 기반으로 한 결합 도메인(예컨대, 피브로넥틴 유래의 것 또는 피브로넥틴으로부터의 III형 도메인의 컨센서스 기반의 것, 또는 테나신 유래의 것 또는 테나신으로부터의 III형 도메인의 컨센서스 기반의 것, 예컨대 Janssen Biotech, Inc.로부터의 센티린 분자, 예를 들어 국제 특허 출원 공개 W02010/051274호 및 W02010/093627호 참조)일 수 있거나 그를 포함할 수 있다. 따라서, IL1RAP 및 다른 항원(들)에 각각 결합하는 2개 이상의 상이한 항원-결합 영역을 포함하는 이중특이성 또는 다중특이성 분자가 제공된다.
- [0169] 본 명세서에 기재된 다중특이성 항체들 중 일부는 IL1RAP 및 CD3에 각각 결합하는 2개의 상이한 항원-결합 영역을 포함한다. 바람직한 실시 형태에서, IL1RAP 및 CD3과 결합하는 다중특이성 항체(IL1RAP × CD3 다중특이성 항체) 및 그의 다중특이성 항원-결합 단편이 제공된다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP × CD3 다중특이성 항체는, 쌍을 이루어서 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 형성하는 제1 중쇄(HC1) 및 제1 경쇄(LC1), 및 쌍을 이루어서 CD3과 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 형성하는 제2 중쇄(HC2) 및 제2 경쇄(LC2)를 포함한다. 바람직한 실시 형태에서, IL1RAP × CD3 다중특이성 항체는, 쌍을 이루어서 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 형성하는 제1 중쇄(HC1) 및 제1 경쇄(LC1)를 포함하는 IL1RAP-특이적 아암, 및 쌍을 이루어서 CD3과 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 형성하는 제2 중쇄(HC2) 및 제2 경쇄(LC2)를 포함하는 CD3-특이적 아암을 포함하는 이중특이성 항체이다. 일부 실시 형태에서, 본 발명의 이중특이성 항체는 전장(full length) 항체 구조를 갖는 항체를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "전장 항체"는 2개의 전장 항체 중쇄 및 2개의 전장 항체 경쇄를 갖는 항체를 지칭한다. 전장 항체 중쇄(HC)는 중쇄 가변 및 불변 도메인 VH, CH1, CH2, 및 CH3을 포함한다. 전장 항체 경쇄(LC)는 경쇄 가변 및 불변 도메인 VL 및 CL을 포함한다. 전장 항체는 어느 하나 또는 둘 모두의 중쇄에 C-말단 라이신(K)이 결합되어 있을 수 있다. 용어 "Fab-아암" 또는 "하프 분자(half molecule)"는 항원에 특이적으로 결합하는 하나의 중쇄-경쇄 쌍을 지칭한다. 일부 실시 형태에서, 항원-결합 도메인들 중 하나는 비항체 기반 결합 도메인, 예를 들어 피브로넥틴 3형 도메인을 기반으로 한 결합 도메인, 예를 들어 센티린이다.

- [0170] 본 명세서에 제공된 다중특이성 항체의 IL1RAP-결합 아암은 전술된 IL1RAP-특이적 항체들 중 임의의 것으로부터 유래될 수 있다. 그러한 IL1RAP-결합 아암의 일부 예시적인 실시 형태에서, IL1RAP와 결합하는 제1 항원-결합 영역은 표 1에 기재된 바와 같은 항체로부터 유래되는 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다. 그러한 IL1RAP-결합 아암의 일부 예시적인 실시 형태에서, IL1RAP와 결합하는 제1 항원-결합 영역은 표 1에 기재된 바와 같은 항체로부터 유래되는 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 및 경쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다. 그러한 IL1RAP-결합 아암의 일부 예시적인 실시 형태에서, IL1RAP와 결합하는 제1 항원-결합 영역은 하기의 IL1RAP-특이적 항체들 중 어느 하나의 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다: IAPB47, IAPB38, IAPB57, IAPB61, IAPB62, IAPB3, IAPB17, IAPB23, IAPB25, IAPB29, IAPB9, IAPB55, IAPB63, IAPB64, 또는 IAPB65. 그러한 IL1RAP-결합 아암의 일부 예시적인 실시 형태에서, IL1RAP와 결합하는 제1 항원-결합 영역은 하기의 IL1RAP-특이적 항체들 중 어느 하나의 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 및 경쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다: IAPB47, IAPB38, IAPB57, IAPB61, IAPB62, IAPB3, IAPB17, IAPB23, IAPB25, IAPB29, IAPB9, IAPB55, IAPB63, IAPB64, 또는 IAPB65. 그러한 IL1RAP-결합 아암의 일부 예시적인 실시 형태에서, IL1RAP와 결합하는 제1 항원-결합 영역은 표 1에 기재된 바와 같은 항체로부터 유래되는 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 그러한 IL1RAP-결합 아암의 일부 예시적인 실시 형태에서, IL1RAP와 결합하는 제1 항원-결합 영역은 표 1에 기재된 바와 같은 항체로부터 유래되는 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 그러한 IL1RAP-결합 아암의 일부 예시적인 실시 형태에서, IL1RAP와 결합하는 제1 항원-결합 영역은 하기의 IL1RAP-특이적 항체들 중 어느 하나의 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함한다: IAPB47, IAPB38, IAPB57, IAPB61, IAPB62, IAPB3, IAPB17, IAPB23, IAPB25, IAPB29, IAPB9, IAPB55, IAPB63, IAPB64, 또는 IAPB65. 그러한 IL1RAP-결합 아암의 일부 예시적인 실시 형태에서, IL1RAP와 결합하는 제1 항원-결합 영역은 하기의 IL1RAP-특이적 항체들 중 어느 하나의 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함한다: IAPB47, IAPB38, IAPB57, IAPB61, IAPB62, IAPB3, IAPB17, IAPB23, IAPB25, IAPB29, IAPB9, IAPB55, IAPB63, IAPB64, 또는 IAPB65.
- [0171] 이중특이성 항체의 일부 실시 형태에서, IL1RAP-결합 아암은 또한 사이노몰거스 IL1RAP, 바람직하게는 그의 세포외 도메인과 결합한다.
- [0172] 일부 실시 형태에서, 다중특이성 항체의 IL1RAP-결합 아암은 IgG 또는 그의 유도체, 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4 동종형이다. IL1RAP-결합 아암이 IgG1 동종형을 갖는 일부 실시 형태에서, 그것은 그의 Fc 영역 내에 L234A, L235A, 및 K409R 치환(들)을 함유한다. IL1RAP-결합 아암이 IgG4 동종형을 갖는 일부 실시 형태에서, 그것은 그의 Fc 영역 내에 S228P, L234A, 및 L235A 치환(들)을 함유한다.
- [0173] 이중특이성 항체의 일부 실시 형태에서, 제2 항원-결합 아암은 인간 CD3과 결합한다. 일부 바람직한 실시 형태에서, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체의 CD3-특이적 아암은 인간 1차 T 세포 및/또는 사이노몰거스 원숭이 1차 T 세포와 결합하고 그것을 활성화하는 CD3-특이적 항체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, CD3-결합 아암은 CD3 ϵ 의 N-말단에 있는 에피토프에 결합한다. 일부 실시 형태에서, CD3-결합 아암은 CD3 ϵ 의 6개의 N-말단 아미노산을 포함하는 에피토프와 접촉한다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항체의 CD3-특이적 결합 아암은 마우스 IgG3/람다 동종형인 마우스 단일클론 항체 SP34로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, CD3-결합 아암은 항체 SP34의 CDR을 포함한다. 그러한 CD3-결합 아암은 5×10^{-7} M 이하, 예컨대 1×10^{-7} M 이하, 5×10^{-8} M 이하, 1×10^{-8} M 이하, 5×10^{-9} M 이하, 또는 1×10^{-9} M 이하의 친화도로 CD3에 결합할 수 있다. CD3-특이적 결합 아암은 마우스 단일클론 항체 SP34의 아암의 인간화 버전일 수 있다. CD3-특이적 아암의 유래가 되는 항-CD3 항체를 인간화하기 위해 인간 프레임워크 적응화(HFA)가 사용될 수 있다. 이중특이성 항체의 일부 실시 형태에서, CD3-결합 아암은 표 2로부터 선택되는 중쇄와 경쇄 쌍을 포함한다.
- [0174] 일부 실시 형태에서, CD3-결합 아암은 IgG 또는 그의 유도체이다. 일부 실시 형태에서, CD3-결합 아암은 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4이다. CD3-결합 아암이 IgG1 동종형을 갖는 일부 실시 형태에서, 그것은 그의 Fc 영역 내에 L234A, L235A, 및 F405L 치환(들)을 함유한다. CD3-결합 아암이 IgG4 동종형을 갖는 일부 실시 형태에서, 그것은 그의 Fc 영역 내에 S228P, L234A, L235A, F405L, 및 R409K 치환(들)을 함유한다. 일부 실시 형태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 1차 인간 T 세포 상의 CD3 ϵ 과 결합한다. 일부 실시 형태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 1차 사이노몰거스 T 세포 상의 CD3 ϵ 과 결합한다. 일부 실시 형태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 1차 인간 및 사이노몰거스 T 세포 상의 CD3 ϵ 과 결합한다. 일부 실시 형태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 1차 인간 CD4+ T 세포를 활성화한다. 일부 실시 형태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 1차 사이노몰거스 CD4+ T 세포를 활성화한다.
- [0175] 일부 실시 형태에서, 항체 IAPB47, IAPB38, IAPB57, IAPB61, IAPB62, IAPB3, IAPB17, IAPB23, IAPB25,

IAPB29, IAPB9, IAPB55, IAPB63, IAPB64, 또는 IAPB65 중 어느 하나의 중쇄를 포함하는 IL1RAP-결합 아암을 갖는 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체가 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항체 IAPB47, IAPB38, IAPB57, IAPB61, IAPB62, IAPB3, IAPB17, IAPB23, IAPB25, IAPB29, IAPB9, IAPB55, IAPB63, IAPB64, 또는 IAPB65 중 어느 하나의 중쇄 및 경쇄를 포함하는 IL1RAP-결합 아암을 갖는 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체가 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항체 CD3B220 또는 CD3B219의 중쇄를 포함하는 CD3-결합 아암을 갖는 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체가 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항체 CD3B220 또는 CD3B219의 중쇄 및 경쇄를 포함하는 CD3-결합 아암을 갖는 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체가 제공된다. 일부 실시 형태에서, IAPB47, IAPB38, IAPB57, IAPB61, IAPB62, IAPB3, IAPB17, IAPB23, IAPB25, IAPB29, IAPB9, IAPB55, IAPB63, IAPB64, 또는 IAPB65 중 어느 하나의 항체의 중쇄를 포함하는 IL1RAP-결합 아암 및 항체 CD3B220 또는 CD3B219의 중쇄를 포함하는 CD3-결합 아암을 갖는 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체가 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항체 IAPB47, IAPB38, IAPB57, IAPB61, IAPB62, IAPB3, IAPB17, IAPB23, IAPB25, IAPB29, IAPB9, IAPB55, IAPB63, IAPB64, 또는 IAPB65 중 어느 하나의 중쇄 및 경쇄를 포함하는 IL1RAP-결합 아암 및 항체 CD3B220 또는 CD3B219의 중쇄 및 경쇄를 포함하는 CD3-결합 아암을 갖는 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체가 제공된다.

- [0176] 바람직한 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체가 표 10 및 표 15에 제공되어 있다.
- [0177] 상이한 포맷의 이중특이성 항체들이 기재되어 왔고, 최근에는 문헌[Kontermann (2012) MAbs (2012) 4:182-197] 및 문헌[Chames and Baty (2009) Curr Opin Drug Disc Dev 12: 276]에 의해 검토되었다.
- [0178] 일부 실시 형태에서, 본 발명의 이중특이성 항체는 다이아바디, 크로스-바디(cross-body), 또는 본 발명에 기재된 것들로서의 제어된 Fab 아암 교환을 통해 획득된 이중특이성 항체이다.
- [0179] 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항체는, 이중이량체화를 강제로 일으키는 상보적 CH3 도메인을 갖는 IgG-유사 분자; 재조합 IgG-유사 이중 표적화 분자 - 여기서는, 분자의 2개의 측 각각이 적어도 2개의 상이한 항체의 Fab 단편 또는 Fab 단편의 일부를 함유함 -; IgG 융합 분자 - 여기서는, 전장 IgG 항체가 추가 Fab 단편 또는 Fab 단편의 일부에 융합됨 -; Fc 융합 분자 - 여기서는, 단일쇄 Fv 분자 또는 안정화된 다이아바디가 중쇄 불변-도메인, Fc-영역 또는 이들의 일부에 융합됨 -; Fab 융합 분자 - 여기서는, 상이한 Fab-단편들이 함께 융합됨 -; ScFv- 및 다이아바디-기반 및 중쇄 항체(예를 들어, 도메인 항체, 나노바디) - 여기서는, 상이한 단일쇄 Fv 분자들 또는 상이한 다이아바디 또는 상이한 중쇄 항체들(예를 들어, 도메인 항체, 나노바디)이 서로 또는 다른 단백질 또는 담체 분자에 융합됨 - 를 포함한다.
- [0180] 일부 실시 형태에서, 상보적 CH3 도메인 분자를 갖는 IgG-유사 분자는 Triomab/Quadroma (Trion Pharma/Fresenius Biotech), 노브-인투-홀(Knob-into-Hole) (Genentech), CrossMAb (Roche) 및 정전기적으로 일치된 항체(electrostatically-matched) (Amgen), LUZ-Y (Genentech), 가닥 교환 조작된 도메인 바디(Strand Exchange Engineered Domain body)(SEEDbody) (EMD Serono), Biclonic (Merus) 및 DuoBody (Genmab A/S)를 포함한다.
- [0181] 일부 실시 형태에서, 재조합 IgG-유사 이중 표적화 분자는 이중 표적화(Dual Targeting)(DT)-Ig (GSK/Domantis), 투-인-원 항체(Two-in-one Antibody) (Genentech), 가교결합된(Cross-linked) Mab (Karmanos Cancer Center), mAb2 (F-Star) 및 CovX-바디 (CovX/Pfizer)를 포함한다.
- [0182] 일부 실시 형태에서, IgG 융합 분자는 이중 가변 도메인(Dual Variable Domain)(DVD)-Ig (Abbott), IgG-유사 이중특이성 항체(IgG-like Bispecific) (InnClone/Eli Lilly), Ts2Ab (MedImmune/AZ) 및 BsAb (Zymogenetics), HERCULES (Biogen Idec) 및 TvAb (Roche)를 포함한다.
- [0183] 일부 실시 형태에서, Fc 융합 분자는 ScFv/Fc 융합체 (Academic Institution), SCORPION (Emergent BioSolutions/Trubion, Zymogenetics/BMS), 이중 친화성 재표적화 기술(Dual Affinity Retargeting Technology)(Fc-DART) (MacroGenics) 및 이중(Dual)(ScFv)_{2-Fab} (National Research Center for Antibody Medicine--China)를 포함한다.
- [0184] 일부 실시 형태에서, Fab 융합 이중특이성 항체는 F(ab)₂ (Medarex/AMGEN), 이중-작용(Dual-Action) 또는 Bis-Fab (Genentech), 독-앤드-록(Dock-and-Lock)(DNL) (ImmunoMedics), 2가 이중특이성 항체(Bivalent Bispecific) (Biotecnol) 및 Fab-Fv (UCB-Celltech)를 포함한다. ScFv-, 다이아바디-기반 및 도메인 항체는 이중특이성 T 세포 인게이지(Bispecific T Cell Engager)(BITE) (Micromet), 탠덤 다이아바디(Tandem Diabody)(Tandab) (Affimed), 이중 친화성 재표적화 기술(DART) (MacroGenics), 단일쇄 다이아바디(Single-chain Diabody) (Academic), TCR-유사 항체(TCR-like Antibody) (AIT, ReceptorLogics), 인간 혈청 알부민

ScFv 융합(Human Serum Albumin ScFv Fusion) (Merrimack) 및 COMBODY (Epigen Biotech), 이중 표적화 나노바디(dual targeting nanobody) (Ablynx), 이중 표적화 중쇄 단독 도메인 항체를 포함하지만 이로 한정되지 않는다.

- [0185] 본 발명의 전장 이중특이성 항체는, 예를 들어 2개의 단일특이성 2가 항체들 사이에서의 Fab 아암 교환(또는 하프 분자 교환)을 사용하여 생성될 수 있는데, 이는 공발현을 사용하거나 또는 무세포 환경에서의 시험관내에서, 각각의 하프 분자 내의 중쇄 CH3 계면에 치환을 도입하여 별개의 특이성을 갖는 2개의 항체 하프 분자의 이중이량체 형성을 유리하게 함으로써 행해진다. Fab 아암 교환 반응은 이황화-결합 이성질화 반응 및 CH3 도메인의 해리-회합의 결과이다. 모 단일특이성 항체의 힌지 영역 내의 중쇄 이황화물 결합은 환원된다. 모 단일특이성 항체들 중 하나의, 생성된 유리 시스템은, 제2 모 단일특이성 항체 분자의 시스템 잔기와 중쇄간 이황화물 결합을 형성하고, 동시에 모 항체의 CH3 도메인이 해리-회합에 의해 방출 및 재형성된다. Fab 아암의 CH3 도메인은 동종이량체화에 비하여 이중이량체화에 유리하도록 조작될 수 있다. 생성된 산물은, 각각이 별개의 에피토프, 즉 IL1RAP 상의 에피토프 및 CD3 상의 에피토프와 결합하는 2개의 Fab 아암 또는 하프 분자를 갖는 이중특이성 항체이다.
- [0186] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "동종이량체화"는 동일한 CH3 아미노산 서열을 갖는 2개의 중쇄의 상호작용을 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "동종이량체"는 동일한 CH3 아미노산 서열을 갖는 2개의 중쇄를 갖는 항체를 지칭한다.
- [0187] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "이종이량체화"는 동일하지 않은 CH3 아미노산 서열을 갖는 2개의 중쇄의 상호작용을 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "이종이량체"는 동일하지 않은 CH3 아미노산 서열을 갖는 2개의 중쇄를 갖는 항체를 지칭한다.
- [0188] "노브-인-홀(knob-in-hole)" 전략(예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO 2006/028936호 참조)이 전장 이중특이성 항체를 생성하는 데 사용될 수 있다. 간략하게 말해서, 인간 IgG 내에 CH3 도메인의 계면을 형성하는 선택된 아미노산이 CH3 도메인 상호작용에 영향을 주는 위치에서 돌연변이화되어 이중이량체 형성을 촉진할 수 있다. 작은 측쇄(홀)를 갖는 아미노산이 제1 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 중쇄 내로 도입되고, 큰 측쇄(노브)를 갖는 아미노산이 제2 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 중쇄 내로 도입된다. 2개의 항체의 공발현 후에, "홀"을 갖는 중쇄와 "노브"를 갖는 중쇄의 우선적인 상호작용의 결과로서 이중이량체가 형성된다. 노브와 홀을 형성하는 예시적인 CH3 치환 쌍은 하기와 같다(제1 중쇄의 제1 CH3 도메인 내의 변형된 위치/제2 중쇄의 제2 CH3 도메인 내의 변형된 위치로서 표현됨): T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S 및 T366W/T366S_L368A_Y407V.
- [0189] 하나의 CH3 표면에서 양으로 하전된 잔기를, 그리고 제2 CH3 표면에서 음으로 하전된 잔기를 치환함으로써 정전기 상호작용을 사용하여 중쇄 이중이량체화를 촉진하는 것과 같은 다른 전략이 사용될 수 있으며, 이는 미국 특허 출원 공개 제2010/0015133호; 미국 특허 출원 공개 제2009/0182127호; 미국 특허 출원 공개 제2010/028637호 또는 미국 특허 출원 공개 제2011/0123532호에 기재된 바와 같다. 다른 전략에서는, 미국 특허 출원 공개 제2012/0149876호 또는 미국 특허 출원 공개 제2013/0195849호에 기재된 바와 같이 하기의 치환(제1 중쇄의 제1 CH3 도메인 내의 변형된 위치/제2 중쇄의 제2 CH3 도메인 내의 변형된 위치로서 표현됨)에 의해 이중이량체화가 촉진될 수 있다: L351Y_F405A_Y407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V K409F Y407A/T366A_K409F, 또는 T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W.
- [0190] 전술된 방법에 더하여, 본 발명의 이중특이성 항체는, 2개의 단일특이성 동종이량체성 항체의 CH3 영역 내에 비대칭 돌연변이를 도입시키고, 이황화물 결합 이성질화를 가능하게 하는 환원성 조건에서 2개의 모 단일특이성 동종이량체성 항체로부터 이중특이성 이중이량체성 항체를 형성함으로써 무세포 환경에서 시험관내에서 생성될 수 있는데, 이는 국제 특허 출원 공개 W02011/131746호에 기재된 방법에 따른 것이다. 이들 방법에서, 제1 단일특이성 2가 항체(예를 들어, 항-IL1RAP 항체) 및 제2 단일특이성 2가 항체 (예를 들어, 항-CD3 항체)는 CH3 도메인에서 이중이량체 안정성을 촉진하는 소정의 치환을 갖도록 조작되며; 이들 항체는 힌지 영역 내의 시스템인이 이황화물 결합 이성질화를 거칠 수 있게 하기에 충분한 환원성 조건 하에서 함께 인큐베이션되고; 그럼으로써 Fab 아암 교환에 의해 이중특이성 항체를 생성한다. 인큐베이션 조건은 비환원성 상태로 최적으로 회복될 수 있다. 사용될 수 있는 예시적인 환원제는 2-메르캅토에틸아민(2-MEA), 다이티오프레이톨(DTT), 다이티오에리트릴(DTE), 글루타티온, 트리스(2-카르복시에틸)포스핀(TCEP), L-시스테인 및 베타-메르캅토에탄올이며, 바람직하게는 환원제는 2-메르캅토에틸아민, 다이티오프레이톨 및 트리스(2-카르복시에틸)포스핀으로 이루어진 군

으로부터 선택된다. 예를 들어, pH 5 내지 8에서, 예를 들어 pH 7.0에서 또는 pH 7.4에서 적어도 25 mM 2-MEA의 존재 하에서 또는 적어도 0.5 mM 다이티오프레이톨의 존재 하에서 20℃ 이상의 온도에서 90분 이상 동안의 인큐베이션이 사용될 수 있다.

[0191] 기재된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체에 더하여, 기재된 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체를 인코딩할 수 있는 폴리뉴클레오타이드 서열이 또한 제공된다. 기재된 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터가 또한 제공되며, 마찬가지로 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체를 발현하는 세포도 본 명세서에 제공된다. 개시된 벡터를 발현할 수 있는 세포가 또한 기재된다. 이들 세포는 포유류 세포(예컨대, 293F 세포, CHO 세포), 곤충 세포(예컨대, Sf7 세포), 효모 세포, 식물 세포, 또는 세균 세포(예컨대, E. 콜라이)일 수 있다. 기재된 항체는 또한 하이브리도마 세포에 의해 생성될 수 있다.

[0192] **다중특이성 항체 및 그의 다중특이성 항원-결합 단편을 사용하는 치료적 조성물 및 치료 방법**

[0193] 상기에 논의된 IL1RAP 이중특이성 항체, 예를 들어 상기 논의된 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체는 요법에 유용하다. 특히, IL1RAP 이중특이성 항체는 암을 치료하는 데 유용하다. 또한, 포유동물에서 과다증식성 장애의 치료를 위한 치료적 조성물이 본 명세서에 제공되며, 본 치료적 조성물은 본 명세서에 기재된 다중특이성 항체 또는 다중특이성 항원-결합 단편의 치료적 유효량 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 바람직한 실시 형태에서, 다중특이성 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체, 또는 그의 다중특이성 항원-결합 단편, 그리고 더 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체, 또는 그의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항원-결합 단편이다. 일 실시 형태에서, 상기 약제학적 조성물은 하기를 포함하는(그러나 이로 한정되지 않는) IL1RAP-발현 암의 치료를 위한 것이다: IL1RAP-발현 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험, 중간 위험, 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN); 및 IL1RAP가 발현되는 아직 결정되지 않은 다른 혈액암. 다른 실시 형태에서, 상기 약제학적 조성물은 하기를 포함하는(그러나 이로 한정되지 않는) IL1RAP-발현 고형 종양의 치료를 위한 것이다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종; 및 IL1RAP가 발현되는 아직 결정되지 않은 다른 종양. 상기에 논의된 특정 암을 포함한 암, 예컨대 혈액암 또는 고형 종양을 치료하는 데 사용될 수 있는 특정 이중특이성 항체는 항체 IC3B1, IC3B2, IC3B3, IC3B4, IC3B5, IC3B6, IC3B6, IC3B7, IC3B8, IC3B9, IC3B10, IC3B11, IC3B12, IC3B13, IC3B14, IC3B15, IC3B16, IC3B17, IC3B18, IC3B19를 포함한다. 이들 특정 암을 포함한 암, 예컨대 혈액암 또는 고형 종양을 치료하기에 유용한 이중특이성 항체의 하나의 예는 항체 IC3B18이다. 이들 특정 암을 포함한 암, 예컨대 혈액암 또는 고형 종양을 치료하기에 유용한 이중특이성 항체의 다른 예는 항체 IC3B19이다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19는 하나 이상의 IL1RAP-발현 혈액암을 치료하는 데 사용될 수 있다. 기재된 치료 방법의 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19는 급성 골수성 백혈병(AML)을 치료하는 데 사용될 수 있다. 기재된 치료 방법의 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19는 골수이형성 증후군(MDS, 저위험 또는 고위험)을 치료하는 데 사용될 수 있다. 기재된 치료 방법의 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19는 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함)을 치료하는 데 사용될 수 있다. 기재된 치료 방법의 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19는 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL)을 치료하는 데 사용될 수 있다. 기재된 치료 방법의 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19는 만성 골수성 백혈병(CML)을 치료하는 데 사용될 수 있다. 기재된 치료 방법의 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19는 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN)을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0194] 본 명세서에 기재된 IL1RAP 이중특이성 항체는 혈관생성을 억제하는 데 사용될 수 있다. 또한, 포유동물에서 혈관생성을 억제하기 위한 치료적 조성물이 본 명세서에 제공되며, 본 치료적 조성물은 본 명세서에 기재된 다중특이성 항체 또는 다중특이성 항원-결합 단편의 치료적 유효량 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 혈관생성을 억제하는 데 유용한 다중특이성 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP × CD3-다중특이성 항체 또는 그의 다중특이성 항원-결합 단편이다. 일 실시 형태에서, 기재된 IL1RAP 이중특이성 항체는 혈관생성 억제를 필요로 하는 대상체에게 기재된 IL1RAP 이중특이성 항체들 중 하나를 투여함으로써, 암이 IL1RAP를 발현시키는지의 여부와 관계 없이, 암과 관련된 혈관생성을 억제하는 데 사용될 수 있다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19가 혈관생성을 억제하기 위해 대상체에게 투여될 수 있다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19가 혈관생성을 억제하기 위해 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 항체 IC3B18 또는 IC3B19의 투여는 암을 갖는 대상체에서 혈관생성을 억제할 것이다. 혈관생성을 억제하기 위해 본 명세서에 기재된 이중특이성 항체의 투여에 의해 다수의 암이 치료될 수 있지만, 이러한 종류의 치료는 가장 일반적으로, 하기를 포함하는(그러나 이로 한정되지 않는) 고형 종양을 나타내는 암 유형에 대해 일어날 것이다: 전립선암,

유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종. 혈관신생을 억제함으로써, 암을 치료하는 데 사용될 수 있는 특정 이중특이성 항체는 항체 IC3B1, IC3B2, IC3B3, IC3B4, IC3B5, IC3B6, IC3B6, IC3B7, IC3B8, IC3B9, IC3B10, IC3B11, IC3B12, IC3B13, IC3B14, IC3B15, IC3B16, IC3B17, IC3B18, IC3B19를 포함한다. 암을 치료하기 위해 혈관생성을 억제하는 데 유용한 이중특이성 항체의 한 예는 항체 IC3B18이다. 암을 치료하기 위해 혈관생성을 억제하는 데 유용한 이중특이성 항체의 다른 예는 항체 IC3B19이다.

[0195] 본 명세서에 기재된 IL1RAP 이중특이성 항체는 골수성-유래 억제 세포(MDSC) 집단을 고갈시키는 데 사용될 수 있다. 대상체에서 MDSC를 고갈시키기 위한 기재된 이중특이성 항체의 사용은 MDSC의 억제 기능을 효과적으로 무효화하여 제거함으로써 주어진 자극에 대한 대상체의 면역 반응을 향상시킬 수 있다. 일부 실시 형태에서, 기재된 이중특이성 항체는 암을 갖는 대상체에서 MDSC를 고갈시킴으로써, 동일한 환자의 면역 시스템이 대상체의 암을 공격하도록 유도될 수 있게 하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, MDSC를 고갈시키는 데 유용한 이중특이성 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP × CD3-다중특이성 항체 또는 그의 다중특이성 항원-결합 단편이다. 일 실시 형태에서, 기재된 IL1RAP 이중특이성 항체는 면역 시스템 향상을 필요로 하는 대상체에게 기재된 IL1RAP 이중특이성 항체들 중 하나를 투여함으로써, 암이 IL1RAP를 발현시키는지의 여부와 관계없이, 암을 갖는 대상체에서 MDSC를 고갈시키는 데 사용될 수 있다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19가 대상체의 MDSC 집단을 고갈시키기 위해 대상체에게 투여될 수 있다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19가 대상체의 MDSC 집단을 고갈시키기 위해 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 항체 IC3B18 또는 IC3B19의 투여는 암을 갖는 대상체에서 MDSC를 고갈시킬 것이다. MDSC를 고갈시키기 위해 본 명세서에 기재된 이중특이성 항체의 투여에 의해 다수의 암이 치료될 수 있지만, 이러한 종류의 치료는 가장 일반적으로, 하기를 포함하는(그러나 이로 한정되지 않는) 고형 종양을 나타내는 암 유형에 대해 일어날 것이다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종. MDSC를 고갈시킴으로써, 암을 치료하는 데 사용될 수 있는 특정 이중특이성 항체는 항체 IC3B1, IC3B2, IC3B3, IC3B4, IC3B5, IC3B6, IC3B6, IC3B7, IC3B8, IC3B9, IC3B10, IC3B11, IC3B12, IC3B13, IC3B14, IC3B15, IC3B16, IC3B17, IC3B18, IC3B19를 포함한다. 암을 치료하기 위해 MDSC를 고갈시키는 데 유용한 이중특이성 항체의 한 예는 항체 IC3B18이다. 암을 치료하기 위해 MDSC를 고갈시키는 데 유용한 이중특이성 항체의 다른 예는 항체 IC3B19이다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B18이 폐암을 갖는 대상체에서 MDSC를 고갈시키는 데 사용될 수 있다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B18이 전립선암을 갖는 대상체에서 MDSC를 고갈시키는 데 사용될 수 있다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19가 폐암을 갖는 대상체에서 MDSC를 고갈시키는 데 사용될 수 있다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19가 전립선암을 갖는 대상체에서 MDSC를 고갈시키는 데 사용될 수 있다.

[0196] 일부 실시 형태에서, 암을 갖는 대상체에 대한 기재된 이중특이성 항체의 투여는 대상체의 T-세포가 IL1RAP-양성 암 세포를 표적화하면서 또한 대상체의 MDSC를 고갈시켜 암 세포에 대해 더 강력한 면역 반응을 촉진시키도록 동시에 유도할 수 있다. 본 명세서에 기재된 이중특이성 항체의 투여에 의해 이러한 방식으로 다수의 IL1RAP-발현 세포가 치료될 수 있지만, 이러한 종류의 치료는 가장 일반적으로, 하기를 포함하는(그러나 이로 한정되지 않는) 고형 종양을 나타내는 암 유형에 대해 일어날 것이다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종. 대상체의 T-세포가 IL1RAP-양성 암 세포를 표적화하고 MDSC를 고갈시키도록 유도하는 데 사용될 수 있는 특정 이중특이성 항체는 항체 IC3B1, IC3B2, IC3B3, IC3B4, IC3B5, IC3B6, IC3B6, IC3B7, IC3B8, IC3B9, IC3B10, IC3B11, IC3B12, IC3B13, IC3B14, IC3B15, IC3B16, IC3B17, IC3B18, IC3B19를 포함한다. 암을 치료하기 위해 대상체의 T-세포가 IL1RAP-양성 암 세포를 표적화하면서 또한 MDSC를 고갈시키도록 유도하는 데 유용한 이중특이성 항체의 한 예는 항체 IC3B18이다. 암을 치료하기 위해 대상체의 T-세포가 IL1RAP-양성 암 세포를 표적화하면서 또한 MDSC를 고갈시키도록 유도하는 데 유용한 이중특이성 항체의 다른 예는 항체 IC3B19이다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B18이, 폐암을 갖는 대상체에서 대상체의 T-세포가 IL1RAP-양성 암 세포를 표적화하면서 또한 MDSC를 고갈시키도록 유도하는 데 사용될 수 있다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B18이, 전립선암을 갖는 대상체에서 대상체의 T-세포가 IL1RAP-양성 암 세포를 표적화하면서 또한 MDSC를 고갈시키도록 유도하는 데 사용될 수 있다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19가, 폐암을 갖는 대상체에서 대상체의 T-세포가 IL1RAP-양성 암 세포를 표적화하면서 또한 MDSC를 고갈시키도록 유도하는 데 사용될 수 있다. 일 실시 형태에서, 항체 IC3B19가, 전립선암을 갖는 대상체에서 대상체의 T-세포가 IL1RAP-양성 암 세포를 표적화하면서 또한 MDSC를 고갈시키도록 유도하는 데 사용될 수 있다.

[0197] 본 명세서에 제공된 억제학적 조성물은 a) 본 발명의 다중특이성 항체 또는 항체 단편의 유효량, 및 b) 억제학적으로 허용되는 담체 - 이는 불활성이거나 생리학적으로 활성일 수 있음 - 를 포함한다. 바람직한 실시 형태

에서, 다중특이성 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체, 또는 그의 다중특이성 항원-결합 단편, 그리고 더 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체, 또는 그의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항원-결합 단편이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "약제학적으로 허용되는 담체"는 생리학적으로 적합한 임의의 그리고 모든 용매, 분산 매체, 코팅, 항세균제 및 항진균제 등을 포함한다. 적합한 담체, 희석제 및/또는 부형제의 예에는 물, 식염수, 인산염 완충 식염수, 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올 등뿐만 아니라, 이들의 임의의 조합 중 하나 이상을 포함한다. 많은 경우에, 조성물 중에 등장화제, 예컨대 당류, 폴리알코올, 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 특히, 적합한 담체의 관련 예에는 (1) 약 1 mg/mL 내지 25 mg/mL의 인간 혈청 알부민을 함유하거나 함유하지 않는 돌베코(Dulbecco) 인산염 완충 식염수, pH 약 7.4, (2) 0.9% 식염수(0.9% w/v 염화나트륨(NaCl)), 및 (3) 5% (w/v) 텍스트로스가 포함되고; 또한 산화방지제, 예컨대 트립타민 및 안정제, 예컨대 Tween 20®을 함유할 수 있다.

[0198] 본 발명에서의 조성물은 또한, 필요하다면 치료되는 특정 장애를 위하여, 추가의 치료제를 함유할 수 있다. 바람직하게는, 다중특이성 항체 또는 항체 단편과 보충적 활성 화합물은 서로에게 불리한 영향을 주지 않는 상보적 활성을 가질 것이다. 바람직한 실시 형태에서, 추가의 치료제는 시타라빈, 안트라사이클린, 히스타민 다이하이드로클로라이드, 또는 인터류킨 2이다. 바람직한 실시 형태에서, 추가의 치료제는 화학치료제이다.

[0199] 본 발명의 조성물은 다양한 형태일 수 있다. 이들은, 예를 들어 액체, 반고체, 및 고체 투여형을 포함하지만, 바람직한 형태는 의도된 투여 방식 및 치료적 응용에 좌우된다. 전형적인 바람직한 조성물은 주사가능 또는 주입가능 용액의 형태이다. 바람직한 투여 방식은 비경구(예를 들어, 정맥내, 근육내, 복막내, 피하) 투여이다. 바람직한 실시 형태에서, 본 발명의 조성물은 일정 시간에 걸쳐 연속 주입에 의해 또는 볼루스(bolus)로서 정맥내 투여된다. 다른 바람직한 실시 형태에서, 이들은 국부뿐만 아니라 전신 치료적 효과를 발휘하도록 근육내, 피하, 관절내, 골액낭내, 종양내, 종양 주변, 병변내, 또는 병변 주변 경로에 의해 주사된다.

[0200] 본 발명의 항체, 항체 단편 또는 항체 접합체를 적절한 용매 중에 필요한 양으로 혼입시킨 후, 미세여과에 의해 멸균함으로써 비경구 투여를 위한 멸균 조성물이 제조될 수 있다. 용매 또는 비히클로서, 물, 식염수, 인산염 완충 식염수, 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올 등뿐만 아니라 이들의 조합도 사용될 수 있다. 많은 경우에, 조성물 중에 등장화제, 예컨대 당류, 폴리알코올, 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 이들 조성물은 또한 애드주반트(adjuvant), 특히 습윤제, 등장화제, 유화제, 분산제 및 안정제를 함유할 수 있다. 비경구 투여를 위한 멸균 조성물은 또한 멸균 고체 조성물 형태로 제조될 수 있는데, 이것은 멸균수 또는 임의의 다른 주사가능 멸균 매체 중에서 사용 시에 용해될 수 있다.

[0201] 다중특이성 항체 또는 항체 단편은 또한 경구 투여될 수 있다. 경구 투여를 위한 고체 조성물로서, 정제, 환제, 분말(젤라틴 캡슐, 사체(sachet)) 또는 과립이 사용될 수 있다. 이들 조성물에서, 본 발명에 따른 활성 성분은 아스콘 스트럼 하에서 하나 이상의 불활성 희석제, 예컨대 전분, 셀룰로스, 수크로스, 락토스 또는 실리카와 혼합된다. 이들 조성물은 또한 희석제 이외의 물질, 예를 들어 하나 이상의 윤활제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트 또는 활석, 착색제, 코팅(당-코팅 정제) 또는 글레이즈를 포함할 수 있다.

[0202] 경구 투여를 위한 액체 조성물로서, 불활성 희석제, 예컨대 물, 에탄올, 글리세롤, 식물성 오일 또는 파라핀유를 함유하는 약제학적으로 허용되는 용액, 현탁액, 에멀전, 시럽 및 엘릭서(elixir)가 사용될 수 있다. 이들 조성물은 희석제 이외의 물질, 예를 들어 습윤, 감미, 증점, 향미 또는 안정화 제품을 포함할 수 있다.

[0203] 용량은 원하는 효과, 치료 지속시간 및 사용되는 투여 경로에 좌우되며; 이것은 대체로 성인의 경우 경구로 일일 5 mg 내지 1000 mg이며, 이때 단위 용량은 1 mg 내지 250 mg 활성 물질의 범위이다. 일반적으로, 의사는 치료되는 대상체의 연령, 체중 및 그에 특이적인 임의의 다른 인자들에 따라 적절한 투여량을 결정할 것이다.

[0204] 또한, IL1RAP+ 세포의 세포성 세포독성을 유도하기 위한 방법이 본 명세서에 제공되며, 본 방법은 이를 필요로 하는 환자에게, 상기 IL1RAP와 결합하고 T 세포를 동원하여 상기 IL1RAP+ 세포의 세포성 세포독성을 유도할 수 있는(즉, T 세포 방향전환) 다중특이성 항체를 투여함에 의한 것이다. 본 발명의 다중특이성 항체 또는 항체 단편 중 임의의 것이 치료적으로 사용될 수 있다. 바람직한 실시 형태에서, 다중특이성 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체, 또는 그의 다중특이성 항원-결합 단편, 그리고 더 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체, 또는 그의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항원-결합 단편이다.

[0205] 바람직한 실시 형태에서, 본 발명의 다중특이성 항체 또는 항체 단편은 포유동물에서의 과다증식성 장애의 치료에 사용된다. 더 바람직한 실시 형태에서, 상기에 개시되고 본 발명의 다중특이성 항체 또는 항체 단편을 함유

하는 약제학적 조성물들 중 하나가 포유동물에서의 과다증식성 장애의 치료에 사용된다. 일 실시 형태에서, 장애는 암이다. 특히, 암은 하기를 포함하는(그러나 이로 한정되지 않는) IL1RAP-발현 암이다: IL1RAP-발현 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험, 중간 위험, 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN); 및 IL1RAP가 발현되는 아직 결정되지 않은 다른 암. 바람직한 실시 형태에서, 다중특이성 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP \times CD3 다중특이성 항체, 또는 그의 다중특이성 항원-결합 단편, 그리고 더 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체, 또는 그의 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항원-결합 단편이다.

[0206] 따라서, 본 발명의 약제학적 조성물은 IL1RAP-발현 암을 포함하는(그러나 이로 한정되지 않는) 다양한 암의 치료 또는 예방에 유용하며, IL1RAP-발현 암은 하기를 포함한다(그러나 이로 한정되지 않는다): IL1RAP-발현 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험, 중간 위험, 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN); 및 IL1RAP가 발현되는 아직 결정되지 않은 다른 암. 본 발명의 약제학적 조성물은 또한 하기를 포함하는(그러나 이로 한정되지 않는) IL1RAP-발현 고형 종양의 치료 및 예방에 유용하다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종; 및 IL1RAP가 발현되는 아직 결정되지 않은 다른 고형 종양.

[0207] 유사하게, 선택된 세포 집단의 성장을 억제하기 위한 방법이 본 명세서에 추가로 제공되며, 본 방법은 IL1RAP-발현 표적 세포, 또는 그러한 표적 세포를 함유하는 조직을, 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)의 존재 하에서, 단독으로의 또는 다른 세포독성제 또는 치료제와 병용된 본 발명의 다중특이성 항체 또는 항체 단편의 유효량과 접촉시키는 단계를 포함한다. 바람직한 실시 형태에서, 다중특이성 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP \times CD3 다중특이성 항체, 또는 그의 다중특이성 항원-결합 단편, 그리고 더 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체, 또는 그의 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항원-결합 단편이다. 바람직한 실시 형태에서, 추가의 치료제는 시타라빈, 안트라사이클린, 히스타민 다이하이드로클로라이드, 또는 인터류킨 2이다. 바람직한 실시 형태에서, 추가의 치료제는 화학치료제이다. 선택된 세포 집단의 성장을 억제하기 위한 방법은 시험관내, 생체내(*in vivo*), 또는 생체외(*ex vivo*)에서 실시될 수 있다.

[0208] 시험관내 사용의 예에는, 이환된 또는 악성 세포를 사멸하기 위한, 동일한 환자 내로의 이식 전예의 자가 골수의 치료; 컴피턴트(competent) T 세포를 사멸하여 이식편-대-숙주-질병(GVHD)을 예방하기 위한, 이식 전예의 골수의 치료; 표적 항원을 발현하지 않는 원하는 변이체를 제외한 모든 세포를 사멸하기 위한 또는 원치 않는 항원을 발현하는 변이체를 사멸하기 위한, 세포 배양물의 치료가 포함된다. 비임상적 시험관내 사용의 조건은 당업자에 의해 용이하게 결정된다.

[0209] 임상적 생체외 사용의 예는 암 치료에서 자가 이식 전에 골수로부터 종양 세포를 제거하기 위한 것이다. 치료는 하기와 같이 수행될 수 있다. 골수가 환자 또는 다른 개체로부터 수집되고, 이어서 본 발명의 세포독성제가 첨가된 혈청을 함유하는 배지 중에서 인큐베이션된다. 농도는 약 37°C에서 약 30분 내지 약 48시간 동안 약 1 μ M 내지 10 μ M의 범위이다. 인큐베이션의 시간 및 농도의 정확한 조건, 즉 용량은 당업자에 의해 용이하게 결정된다. 인큐베이션 후에, 골수 세포를 혈청을 함유하는 배지로 세척하고, 알려진 방법에 따라 *i.v.* 주입에 의해 환자에게 반환시킨다. 환자가 골수의 수집과 치료된 세포의 재주입의 시간 사이에 다른 치료, 예컨대 일련의 절제 화학요법 또는 전신 방사선 조사를 받는 상황에서, 치료된 골수 세포는 표준 의료 장비를 사용하여 액체 질소 중에 동결 상태로 저장된다.

[0210] 임상적 생체내 사용을 위하여, 다중특이성 항체 또는 항원-결합 단편의 치료적 유효량이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 예를 들어, IL1RAP \times CD3 다중특이성 항체 및 그의 다중특이성 항원-결합 단편은 IL1RAP-발현 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 IL1RAP-발현 암의 치료에 유용할 수 있다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험, 중간 위험, 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN)이다. 일부 실시 형태에서, IL1RAP-발현 암은 하기를 포함하는(그러나 이로 한정되지 않는) 고형 종양이다: 전립선암, 유방암, 폐암, 결직장암, 흑색종, 방광암, 뇌/CNS 암, 자궁경부암, 식도암, 위암, 두경부암, 신장암, 간암, 난소암, 췌장암, 및 육종; 및 IL1RAP가 발현되는 아직 결정되지 않은 다른 종양. 바람직한 실시 형태에서, 다중특이성 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP \times CD3 다중특이성 항체, 또는 그의 다중특이성 항원-결합 단편, 그리고 더 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체, 또는 그의 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항원-결합 단

편이다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 포유동물, 바람직하게는 인간이다. 일부 실시 형태에서, 다중특이성 항체 또는 항원-결합 단편은 멸균성에 대해 시험된 용액으로서 투여될 것이다.

- [0211] 상기의 치료 및 사용 방법에서의 투여 계획은 최적의 원하는 반응(예를 들어, 치료적 반응)을 제공하도록 조정된다. 예를 들어, 단일 볼루스가 투여될 수 있거나, 수회 분할 용량이 시간 경과에 따라 투여될 수 있거나, 또는 치료적 상황의 위급 상황에 의해 지시되는 바와 같이 용량이 비례해서 감소 또는 증가될 수 있다. 비경구 조성물은 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위하여 투여 단위형으로 제형화될 수 있다.
- [0212] 다중특이성 항체 및 단편에 대한 효율적인 투여량 및 투여 계획은 치료하고자 하는 질병 또는 질환에 좌우되고, 당업자에 의해 결정될 수 있다. 본 발명의 화합물의 치료적 유효량에 대한 예시적인 비제한적인 범위는 약 0.001 내지 10 mg/kg, 예컨대 약 0.001 내지 5 mg/kg, 예를 들어 약 0.001 내지 2 mg/kg, 예컨대 약 0.001 내지 1 mg/kg, 예를 들어 약 0.001, 약 0.01, 약 0.1, 약 1 또는 약 10 mg/kg이다.
- [0213] 본 기술분야에서 통상의 기술을 가진 의사 또는 수의사는 필요한 약제학적 조성물의 유효량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다. 예를 들어, 의사 또는 수의사는 약제학적 조성물에 사용되는 다중특이성 항체 또는 단편의 용량을 원하는 치료적 효과를 달성하기 위해 필요한 수준보다 더 낮은 수준에서 시작해서 원하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 점차적으로 증가시킬 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 이중특이성 항체의 적합한 일일 용량은 치료적 효과를 생성하기에 유효한 최저 용량인 화합물의 그러한 양일 것이다. 투여는, 예를 들어 비경구, 예컨대 정맥내, 근육내 또는 피하 투여될 수 있다. 일 실시 형태에서, 다중특이성 항체 또는 단편은 mg/m^2 로 계산된 매주 투여량으로 주입에 의해 투여될 수 있다. 그러한 투여량은, 예를 들어, 하기에 따라 상기에 제공된 mg/kg 투여량을 기준으로 할 수 있다: $\text{용량}(\text{mg/kg}) \times 70$: 1.8. 그러한 투여는, 예를 들어 1 내지 8회, 예컨대 3 내지 5회 반복될 수 있다. 투여는 2 내지 24시간, 예컨대 2 내지 12시간의 기간에 걸쳐 연속 주입에 의해 수행될 수 있다. 일 실시 형태에서, 다중특이성 항체 또는 단편은 독성 부작용을 감소시키기 위해 장기간, 예컨대 24시간 초과에 걸쳐 느린 연속 주입에 의해 투여될 수 있다.
- [0214] 일 실시 형태에서, 다중특이성 항체 또는 단편은 주 1회 제공될 때 최대 8회, 예컨대 4 내지 6회 동안 고정 용량으로서 계산된 매주 투여량으로 투여될 수 있다. 그러한 계획은, 예를 들어 6개월 또는 12개월 후에, 필요하다면 1회 이상 반복될 수 있다. 그러한 고정 투여량은, 예를 들어, 70 kg의 체중 추산치로, 상기에 제공된 mg/kg 투여량을 기준으로 할 수 있다. 투여량은, 투여 시에 혈액 중의 본 발명의 이중특이성 항체의 양을 측정함으로써 결정 또는 조정될 수 있는데, 이는, 예를 들어 생물학적 샘플을 취하고, 본 발명의 다중특이성 항체의 IL1RAP 항원 결합 영역을 표적으로 하는 항-이디오타입(anti-idiotypic) 항체를 사용함으로써 행해진다.
- [0215] 일 실시 형태에서, 다중특이성 항체 또는 단편은 유지 요법(maintenance therapy)에 의해, 예를 들어 6개월 이상의 기간 동안 주 1회 투여될 수 있다.
- [0216] 다중특이성 항체 또는 단편은 또한 암 발생 위험을 감소시키고/시키거나, 암 진행에서의 사건의 발생의 개시를 지연시키고/시키거나, 암이 관해기에 있을 때 재발 위험을 감소시키기 위하여 예방적으로 투여될 수 있다.
- [0217] 본 명세서에 기재된 바와 같은 다중특이성 항체 및 그의 단편은 또한 병용 요법으로 투여될 수 있는데, 즉 치료하고자 하는 질병 또는 질환에 대해 관련된 다른 치료제와 병용되어 투여될 수 있다. 따라서, 일 실시 형태에서, 본 항체-함유 약제는 하나 이상의 추가의 치료제, 예컨대 화학치료제와의 병용을 위한 것이다. 일부 실시 형태에서, 다른 치료제는 시타라빈, 안트라사이클린, 히스타민 다이하이드로클로라이드, 또는 인터루킨 2이다. 그러한 병용 투여는 동시적, 개별적 또는 순차적 - 임의의 순서임 - 일 수 있다. 동시적 투여의 경우, 작용제들은, 필요에 따라, 하나의 조성물로서 또는 개별 조성물들로서 투여될 수 있다.
- [0218] 일 실시 형태에서, 대상체에서 IL1RAP를 발현하는 세포를 수반하는 장애를 치료하기 위한 방법이 제공되며, 본 방법은 IL1RAP를 발현하는 세포를 수반하는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에 대한 다중특이성 항체 또는 단편, 예컨대 본 명세서에 기재된 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체의 치료적 유효량의 투여, 및 방사선요법을 포함한다. 일 실시 형태에서, 암을 치료 또는 예방하기 위한 방법이 제공되며, 본 방법은 암의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에 대한 다중특이성 항체 또는 단편, 예컨대 본 명세서에 기재된 IL1RAP \times CD3 항체의 치료적 유효량의 투여 및 방사선요법을 포함한다. 방사선요법은 방사선을 포함할 수 있거나, 또는 환자에 대한 방사성 의약품의 관련 투여가 제공된다. 방사선의 공급원은 치료되는 환자에 대해 외부 또는 내부에 있을 수 있다(방사선 치료는, 예를 들어 외부 빔 방사선 요법(EBRT) 또는 근접방사선요법(brachytherapy, BT)의 형태일 수 있다). 그러한 방법을 실시하는 데 사용될 수 있는 방사성 원소는, 예를 들어 라듐, 세슘-137, 이리듐-192, 아메리슘-241, 금-198, 코발트-57, 구리-67, 테크네튬-99, 요오다이드-123, 요오다이드-131, 및 이리듐-111을 포

함한다.

[0219] **키트**

[0220] 본 명세서에는 키트가 또한 제공되며, 본 키트는, 예를 들어 기재된 다중특이성 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 및 특정 세포 유형의 세포독성을 위한 항체 또는 단편의 사용에 대한 설명서를 포함한다. 바람직한 실시 형태에서, 다중특이성 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체, 또는 그의 다중특이성 항원-결합 단편, 그리고 더 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체, 또는 그의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항원-결합 단편이다. 설명서는 시험관내, 생체내 또는 생체외에서 다중특이성 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 사용하는 것에 대한 지시사항을 포함할 수 있다.

[0221] 전형적으로, 키트는 다중특이성 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 담긴 구획을 가질 것이다. 다중특이성 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 동결건조된 형태, 액체 형태, 또는 키트에 포함되기에 적합한 다른 형태일 수 있다. 키트는 또한 키트 내의 설명서에 기재된 방법을 실시하는 데 필요한 추가 요소들, 예컨대 동결건조된 분말을 재구성하기 위한 멸균 용액, 환자에게 투여하기 전에 다중특이성 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 병용하기 위한 추가 작용제, 및 다중특이성 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 환자에게 투여하는 데 도움이 되는 도구를 수용할 수 있다.

[0222] **진단적 용도**

[0223] 본 명세서에 기재된 다중특이성 항체 및 단편은 또한 진단 목적으로 사용될 수 있다. 따라서, 또한, 본 명세서에 정의된 바와 같은 다중특이성 항체 또는 단편을 포함하는 진단용 조성물이 제공되고, 그의 용도에 대해 제공된다. 바람직한 실시 형태에서, 다중특이성 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP × CD3 다중특이성 항체, 또는 그의 다중특이성 항원-결합 단편, 그리고 더 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체, 또는 그의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항원-결합 단편이다. 일 실시 형태에서, 본 발명은 암 진단용 키트를 제공하며, 본 키트는 이중특이성 IL1RAP × CD3 항체, 및 IL1RAP에 대한 항체의 결합을 검출하기 위한 하나 이상의 시약을 포함하는 용기를 포함한다. 시약은, 예를 들어 형광 태그, 효소 태그, 또는 다른 검출가능한 태그를 포함할 수 있다. 시약은 또한 효소적 반응을 위한 2차 또는 3차 항체 또는 시약을 포함할 수 있으며, 여기서 효소적 반응은 시각화될 수 있는 생성물을 생성한다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 다중특이성 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 방사성표지, 형광 표지, 에피토프 태그, 비오틴, 발색단 표지, ECL 표지, 효소, 루테늄, ¹¹¹In-DOTA, ¹¹¹In-다이에틸렌트라이아민펜타아세트산(DTPA), 서양고추냉이 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제 및 베타-갈락토시다제, 또는 폴리-히스티딘 또는 당업계에 알려진 유사한 그러한 표지로 표지화될 수 있다.

[0224] **기재된 발명 요지의 예시적인 실시 형태**

[0225] 본 명세서의 발명 요지를 더 잘 그리고 더 완전히 설명하기 위하여, 이 섹션은 제시된 발명 요지의 열거된 예시적인 실시 형태를 제공한다.

[0226] 열거된 실시 형태:

[0227] 1. 하기를 포함하는, IL1RAP에 특이적으로 결합하는 재조합 항체 또는 그의 항원-결합 단편:

[0228] a. 서열 번호 10의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 11의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 12의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;

[0229] b. 서열 번호 13의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 14의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 15의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;

[0230] c. 서열 번호 16의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 17의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 18의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;

[0231] d. 서열 번호 19의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 20의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 21의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;

[0232] e. 서열 번호 22의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 23의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3;

[0233] f. 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 및 서

산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열 번호 58의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열 번호 59의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 추가로 포함하거나;

- [0249] i. 서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR1, 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 35의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR3을 포함하는 상기 항체는 서열 번호 60의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열 번호 47의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열 번호 48의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 추가로 포함하거나;
- [0250] j. 서열 번호 13의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR1, 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 36의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR3을 포함하는 상기 항체는 서열 번호 60의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열 번호 47의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열 번호 48의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 추가로 포함하거나;
- [0251] k. 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR1, 서열 번호 37의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 38의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR3을 포함하는 상기 항체는 서열 번호 60의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열 번호 47의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열 번호 48의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 추가로 포함하거나;
- [0252] l. 서열 번호 19의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR1, 서열 번호 20의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 21의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR3을 포함하는 상기 항체는 서열 번호 49의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열 번호 50의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열 번호 61의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 추가로 포함하거나;
- [0253] m. 서열 번호 22의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR1, 서열 번호 23의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR3을 포함하는 상기 항체는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열 번호 63의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열 번호 64의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 추가로 포함하거나;
- [0254] n. 서열 번호 22의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR1, 서열 번호 23의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR3을 포함하는 상기 항체는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열 번호 63의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열 번호 65의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 추가로 포함하거나; 또는
- [0255] o. 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR1, 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR2, 및 서열 번호 39의 아미노산 서열을 갖는 상기 중쇄 CDR3을 포함하는 상기 항체는 서열 번호 66의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열 번호 50의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열 번호 67의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 추가로 포함하는, 항체 또는 그의 항원-결합 단편.
- [0256] 3. 실시 형태 1에 있어서,
- [0257] 상기 (a)의 항체는 서열 번호 68에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 69에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;
- [0258] 상기 (b)의 항체는 서열 번호 70에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 71에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;
- [0259] 상기 (c)의 항체는 서열 번호 72에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 73에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;
- [0260] 상기 (d)의 항체는 서열 번호 74에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 75에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;
- [0261] 상기 (e)의 항체는 서열 번호 76에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 77에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;
- [0262] 상기 (f)의 항체는 서열 번호 78에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 79에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;
- [0263] 상기 (g)의 항체는 서열 번호 80에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 79에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;
- [0264] 상기 (h)의 항체는 서열 번호 81에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 82에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;
- [0265] 상기 (i)의 항체는 서열 번호 83에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 84에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;
- [0266] 상기 (j)의 항체는 서열 번호 85에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 84에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;
- [0267] 상기 (k)의 항체는 서열 번호 86에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 84에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;

- [0268] 상기 (l)의 항체는 서열 번호 74에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 87에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;
- [0269] 상기 (m)의 항체는 서열 번호 76에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 88에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나;
- [0270] 상기 (n)의 항체는 서열 번호 76에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 89에 제시된 경쇄 서열을 포함하거나; 또는
- [0271] 상기 (o)의 항체는 서열 번호 90에 제시된 중쇄 서열 및 서열 번호 91에 제시된 경쇄 서열을 포함하는, 항체 또는 항원-결합 단편.
- [0272] 4. 실시 형태 1 내지 실시 형태 3 중 어느 하나에 있어서, 인간 IL1RAP의 세포외 도메인에 결합하는, 항체 또는 항원-결합 단편.
- [0273] 5. 실시 형태 1 내지 실시 형태 4 중 어느 하나에 있어서, 인간 항체 또는 항원-결합 단편인, 항체 또는 항원-결합 단편.
- [0274] 6. 실시 형태 1 내지 실시 형태 5 중 어느 하나에 있어서, Fab 단편, Fab2 단편, 또는 단일쇄 항체인, 항원-결합 단편.
- [0275] 7. 실시 형태 1 내지 실시 형태 6 중 어느 하나에 있어서, 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정될 때 약 50 nM 미만의 K_D 로 IL1RAP와 특이적으로 결합하는, 항체 또는 항원-결합 단편.
- [0276] 8. 실시 형태 1 내지 실시 형태 7 중 어느 하나에 있어서, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 동종형을 갖는, 항체 또는 항원-결합 단편.
- [0277] 9. 실시 형태 1 내지 실시 형태 8 중 어느 하나에 있어서, IgG1 또는 IgG4 동종형인, 항체 또는 항원-결합 단편.
- [0278] 10. 실시 형태 9에 있어서, 상기 IgG1은 Fc 영역 내에 K409R 치환을 갖는, 항체.
- [0279] 11. 실시 형태 9에 있어서, 상기 IgG1은 Fc 영역 내에 F405L 치환을 갖는, 항체.
- [0280] 12. 제9항에 있어서, 상기 IgG4는 Fc 영역 내에 F405L 치환 및 R409K 치환을 갖는, 항체.
- [0281] 13. 실시 형태 10 내지 실시 형태 12 중 어느 하나에 있어서, Fc 영역 내에 S228P 치환, L234A 치환, 및 L235A 치환을 추가로 포함하는, 항체.
- [0282] 14. 실시 형태 1 내지 실시 형태 13 중 어느 하나에 있어서, 인간 IL1RAP와 특이적으로 결합하고, 사이노물거스 원숭이 IL1RAP와 교차 반응하는, 항체 또는 항원-결합 단편.
- [0283] 15. 실시 형태 1 내지 실시 형태 14 중 어느 하나의 항체 또는 항원-결합 단편을 발현하는, 재조합 세포.
- [0284] 16. 실시 형태 15에 있어서, 하이브리도마 또는 트랜스펙토마(transfectoma)인, 세포.
- [0285] 17. 실시 형태 15에 있어서, 상기 항체는 재조합적으로 생성되는, 세포.
- [0286] 18.
- [0287] a) 제1 중쇄(HC1);
- [0288] b) 제2 중쇄(HC2);
- [0289] c) 제1 경쇄(LC1); 및
- [0290] d) 제2 경쇄(LC2)를 포함하며,
- [0291] 상기 HC1과 상기 LC1이 쌍을 이루어서 CD3과 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 형성하고, 상기 HC2와 상기 LC2가 쌍을 이루어서 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 형성하는, 재조합 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 그의 IL1RAP × CD3 이중특이성 결합 단편.
- [0292] 19. 실시 형태 18에 있어서, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 동종형인, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0293] 20. 실시 형태 19 또는 실시 형태 20에 있어서, IgG1 또는 IgG4 동종형인, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

- [0294] 21. 실시 형태 18 내지 실시 형태 20 중 어느 하나에 있어서, HC1은 서열 번호 92 또는 서열 번호 94를 포함하고, LC1은 서열 번호 93 또는 서열 번호 95를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0295] 22. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 68을 포함하고, LC2는 서열 번호 69를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0296] 23. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 70을 포함하고, LC2는 서열 번호 71을 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0297] 24. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 72를 포함하고, LC2는 서열 번호 73을 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0298] 25. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 74를 포함하고, LC2는 서열 번호 75를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0299] 26. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 76을 포함하고, LC2는 서열 번호 77을 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0300] 27. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 78을 포함하고, LC2는 서열 번호 79를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0301] 28. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 80을 포함하고, LC2는 서열 번호 79를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0302] 29. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 81을 포함하고, LC2는 서열 번호 82를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0303] 30. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 83을 포함하고, LC2는 서열 번호 84를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0304] 31. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 84를 포함하고, LC2는 서열 번호 84를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0305] 32. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 86을 포함하고, LC2는 서열 번호 84를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0306] 33. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 74를 포함하고, LC2는 서열 번호 87을 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0307] 34. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 76을 포함하고, LC2는 서열 번호 88을 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0308] 35. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 76을 포함하고, LC2는 서열 번호 89를 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0309] 36. 실시 형태 21에 있어서, HC2는 서열 번호 90을 포함하고, LC2는 서열 번호 91을 포함하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0310] 37. 실시 형태 18 내지 실시 형태 36 중 어느 하나에 있어서, 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정될 때 약 30 nM 미만의 K_D 로 IL1RAP와 특이적으로 결합하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0311] 38. 실시 형태 18 내지 실시 형태 37 중 어느 하나에 있어서, 인간 급성 골수성 백혈병 세포, 인간 폐암 세포, 인간 결장암 세포, 인간 췌장암 세포, 인간 골수이형성 증후군 암 세포, 인간 만성 골수성 백혈병, 인간 미만성 대 B-세포 림프종 세포, 인간 급성 림프아구성 백혈병 세포, 및 인간 T-세포 백혈병/림프종 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는 세포의 표면 상의 IL1RAP와 결합하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0312] 39. 실시 형태 18 내지 실시 형태 38 중 어느 하나에 있어서, 6.7 nM 초과 농도에서 AP-1 및 NF- κ B 반응 요소를 통해 IL-1 β 매개 신호전달을 억제하는, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.

- [0313] 40. 실시 형태 18 내지 실시 형태 39 중 어느 하나에 있어서, 약 1.3 nM 미만의 EC_{50} 으로 시험관내에서 IL1RAP-발현 세포의 T-세포 의존성 세포독성을 유도하는, IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편.
- [0314] 41.
- [0315] a) 제1 중쇄(HC1);
- [0316] b) 제2 중쇄(HC2);
- [0317] c) 제1 경쇄(LC1); 및
- [0318] d) 제2 경쇄(LC2)를 포함하며,
- [0319] 상기 HC1과 상기 LC1이 쌍을 이루어서 CD3과 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 부위를 형성하고, 서열 번호 96에 나타낸 바와 같은 중쇄 CDR1(HCDR1), 서열 번호 102에 나타낸 바와 같은 HCDR2, 서열 번호 98에 나타낸 바와 같은 HCDR3, 서열 번호 99에 나타낸 바와 같은 경쇄 CDR1(LCDR1), 서열 번호 100에 나타낸 바와 같은 LCDR2, 및 서열 번호 101에 나타낸 바와 같은 LCDR3을 포함하고;
- [0320] 상기 HC2와 상기 LC2가 쌍을 이루어서 IL1RAP와 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 부위를 형성하고, 서열 번호 16 또는 22에 나타낸 바와 같은 중쇄 CDR1(HCDR1), 서열 번호 17 또는 23에 나타낸 바와 같은 HCDR2, 서열 번호 18 또는 24에 나타낸 바와 같은 HCDR3, 서열 번호 46 또는 62에 나타낸 바와 같은 경쇄 CDR1(LCDR1), 서열 번호 47 또는 63에 나타낸 바와 같은 LCDR2, 및 서열 번호 103 또는 64에 나타낸 바와 같은 LCDR3을 포함하는, 재조합 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체 또는 그의 IL1RAP \times CD3 이중특이성 결합 단편.
- [0321] 42. 실시 형태 18 내지 실시 형태 41 중 어느 하나의 항체 또는 이중특이성 결합 단편을 발현하는, 재조합 세포.
- [0322] 43. 실시 형태 42에 있어서, 하이브리도마인, 세포.
- [0323] 44. 실시 형태 42에 있어서, 상기 항체 또는 이중특이성 결합 단편은 재조합적으로 생성되는, 세포.
- [0324] 45. 암을 갖는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서,
- [0325] 실시 형태 18 내지 실시 형태 41 중 어느 하나의 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편의 치료적 유효량을 상기 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 상기 암을 치료하기에 충분한 시간 동안 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0326] 46. 암 세포의 성장 또는 증식을 억제하기 위한 방법으로서,
- [0327] 실시 형태 16 내지 실시 형태 39 중 어느 하나의 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편의 치료적 유효량을 투여하여 상기 암 세포의 성장 또는 증식을 억제하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0328] 47. T 세포를 IL1RAP-발현 암 세포로 방향전환시키는 방법으로서,
- [0329] 실시 형태 18 내지 실시 형태 41 중 어느 하나의 IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편의 치료적 유효량을 투여하여 T 세포를 암으로 방향전환시키는 단계를 포함하는, 방법.
- [0330] 48. 실시 형태 47에 있어서, 상기 암은 IL1RAP-발현 암인, 방법.
- [0331] 49. 실시 형태 48에 있어서, 상기 IL1RAP-발현 암은 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(MDS, 저위험 또는 고위험), 급성 림프구성 백혈병(ALL, 모든 아형을 포함함), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 아구성 형질세포양 수지상 세포 신생물(DPDCN), T-세포 백혈병/림프종, 전립선암, 폐암, 결직장암, 또는 췌장암인, 방법.
- [0332] 50. 실시 형태 45에 있어서, 제2 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0333] 51. 실시 형태 50에 있어서, 상기 제2 치료제는 화학치료제 또는 표적화된 항암 요법인, 방법.
- [0334] 52. 실시 형태 51에 있어서, 상기 화학치료제는 시타라빈, 안트라사이클린, 히스타민 다이하이드로클로라이드, 또는 인터류킨 2인, 방법.
- [0335] 53. 실시 형태 52에 있어서, 상기 제2 치료제는 상기 대상체에게 상기 이중특이성 항체와 동시에, 순차적으로, 또는 개별적으로 투여되는, 방법.

- [0336] 54. 실시 형태 18 내지 실시 형태 41 중 어느 하나의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편 및 억제학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 억제학적 조성물.
- [0337] 55. 실시 형태 42 내지 실시 형태 45 중 어느 하나의 세포를 배양함으로써 실시 형태 18 내지 실시 형태 41 중 어느 하나의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편을 생성하기 위한 방법.
- [0338] 56. 실시 형태 18 내지 실시 형태 41 중 어느 하나의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편의 HC1, HC2, LC1 또는 LC2를 인코딩하는, 단리된 합성 폴리뉴클레오티드.
- [0339] 57. 실시 형태 18 내지 실시 형태 41 중 어느 하나의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편 및 그의 사용 설명서를 포함하는, 키트.
- [0340] 58. 대상체에서 혈관생성을 억제하는 방법으로서,
- [0341] 실시 형태 18 내지 실시 형태 41 중 어느 하나의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편을 상기 혈관생성의 억제를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0342] 59. 실시 형태 58에 있어서, 상기 대상체는 암을 갖는, 방법.
- [0343] 60. 실시 형태 59에 있어서, 상기 암은 하나 이상의 고형 종양과 함께 나타나는, 방법.
- [0344] 59. 실시 형태 59 또는 실시 형태 60에 있어서, 상기 암은 IL1RAP-발현 암인, 방법.
- [0345] 60. 실시 형태 59 또는 실시 형태 60에 있어서, 상기 암은 IL1RAP-발현 암이 아닌, 방법.
- [0346] 61. 대상체에서 MDSC를 고갈시키는 방법으로서,
- [0347] 실시 형태 18 내지 실시 형태 41 중 어느 하나의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 또는 이중특이성 결합 단편을 상기 MDSC의 고갈을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0348] 62. 실시 형태 58에 있어서, 상기 대상체는 암을 갖는, 방법.
- [0349] 63. 실시 형태 59에 있어서, 상기 암은 하나 이상의 고형 종양과 함께 나타나는, 방법.
- [0350] 64. 실시 형태 59 또는 실시 형태 60에 있어서, 상기 암은 IL1RAP-발현 암인, 방법.
- [0351] 65. 실시 형태 59 또는 실시 형태 60에 있어서, 상기 암은 IL1RAP-발현 암이 아닌, 방법.
- [0352] **실시예**
- [0353] 하기의 실시예는 앞서의 개시내용을 보충하기 위해 그리고 본 명세서에 기재된 발명 요지에 대한 더 우수한 이해를 주기 위해 제공된다. 이들 실시예는 기재된 발명 요지를 한정하는 것으로 여겨져서는 안 된다. 본 명세서에 기재된 실시예 및 실시 형태는 단지 예시적인 목적을 위한 것이고, 그에 비추어 다양한 변형 또는 변화가 당업자에게 명백할 것이고, 이는 본 발명의 진정한 범주 내에 포함되어야 하고 그로부터 벗어나지 않고서 이루어질 수 있음이 이해된다.
- [0354] **실시예 1: 재료**
- [0355] **가용성 IL1RAP ECD 단백질의 생성**
- [0356] 결합 및 친화도 측정에서의 사용을 위하여, 인간(h) IL1RAP 아이소형 1(서열 번호 1), hIL1RAP 아이소형 2(서열 번호 2 및 3), 및 사이노몰거스(사이노) IL1RAP(서열 번호 4)의 세포외 도메인(ECD)을 발현시키고 정제하였다. 각각의 단백질을 인코딩하는 cDNA를 유전자 합성 기법을 사용하여 제조하고(미국 특허 제6,670,127호; 미국 특허 제6,521,427호), 발현을 위한 플라스미드를 표준 분자 생물학 기법을 사용하여 제조하였다. 더욱이, 각각의 ECD 단백질은 정제 용이성을 위하여 N- 또는 C-말단에서 6x-His 태그를 가졌다. N-말단 6x-His 태그를 갖는 각 제물은 또한, 필요하다면, 태그의 제거를 위한 HRV3C 절단 부위를 포함하였다. 모든 IL1RAP ECD 단백질을 결합 및 친화도 측정 및 에피토프 매핑에 사용하였다.
- [0357] 추가적으로, 제조한 hIL1RAP ECD-His 태그 단백질(로트(Lot) 번호 MB06N00704) (서열 번호 5)을 또한 파지 페닝(phage panning) 및 스크리닝에서의 사용을 위하여 Sino Biologicals, Inc.로부터 입수하였다. 이 단백질은 사용 전에 내독소에 대해 시험하였다. 이 물질을 또한 결합 및 친화도 측정에 사용하였다.
- [0358] 가용성 IL1RAP ECD 단백질을 제조자의 설명서에 따라 SureLink 비오틀닐화 키트(Biotinylation Kit) (KPL 번호

86-00-01)를 사용하여 비오틴화하였다. 단백질을 SDS/PAGE 상에서 이동시켜 단량체 상태를 확인하였다.

[0359] **IL1RAP 세포주의 생성**

[0360] 항-IL1RAP 선도항체(lead)를 평가하기 위한 스크리닝 툴로서 사용하기 위하여, 인간 IL1RAP ECD(서열 번호 6), 사이노 IL1RAP ECD(서열 번호 7), 마우스 IL1RAP ECD(서열 번호 8), 및 래트 IL1RAP ECD(서열 번호 9)를 제시하는 pDisplay™ 벡터 세트를 생성하였다. 세포 표면 상에 단백질을 디스플레이를 가능하게 하는 포유류 발현 벡터, pDisplay(Invitrogen)를 사용하였다(도 1). pDisplay™로부터 발현된 단백질을, N-말단에서는 류틴 Ig κ-쇄 리더 서열 - 이는 단백질을 분비 경로로 유도함 - 에, 그리고 C-말단에서는 혈소판 유래 성장 인자 수용체(PDGFR) 막관통 도메인 - 이는 단백질을 원형질막에 고착시켜, 그것을 세포의 측 상에 디스플레이함 - 에 융합시킨다. pDisplay™로부터 발현된 재조합 단백질은 유세포측정, 웨스턴 블롯, 및/또는 면역형광에 의해 검출하기 위한 혈구응집소 A 및 myc 에피토프를 함유한다. CMV 프로모터가 이들 서열의 발현을 구동시킨다.

[0361] 표준 방법을 사용하여 벡터를 HEK-293F 세포 내로 형질감염시켰다. 형질감염된 HEK-293F 부착성 세포를 안정한 플라스미드 통합을 위하여 선택 배지 중에서 배양하고, 이어서 단세포를 분류 또는 단리하고, IL1RAP 표면 수용체 발현을 BangsLabs Quantum™ Simply Cellular® 항-마우스 IgG(카탈로그 번호 815, Bangs Laboratories, Inc) 또는 BD BioSciences PE 피코에리트린 형광 정량화 키트(Phycoerythrin Fluorescence Quantitation Kit)(카탈로그 번호 340495)를 사용하여 FACS에 의해 정량화하였다. 각각의 세포주에 대해 10개의 단세포 클론의 세트를 스크리닝을 위하여 선택하고, IL1RAP ECD 발현에 대해 정량화하였다. 후속 히트 스크리닝(hit screening)에 사용된 세포주는 세포당 대략 500,000개 IL1RAP ECD 카피의 표면 발현을 가졌다.

[0362] **실시예 2: 파지 디스플레이 기술을 사용한 IL1RAP 항체의 생성**

[0363] Vk1-39, 3-11, 3-20 및 4-1 경쇄 라이브러리와 쌍을 이룬 VH1-69, 3-23 및 5-51 중쇄 라이브러리로 이루어진 드 노보(de novo) 인간 Fab-pIX 라이브러리의 용액 패닝(solution panning)(문헌[Shi, L., et al J Mol Biol, 2010. 397(2): p. 385-396], 국제 특허 출원 공개 WO 2009/085462호)을 4회의 후속 라운드에서, 기재된 바와 같은 비오틴화 항원-스트렙타비딘 자성 비드 포획 방법(문헌[Rothe et al., J. Mol. Biol. 376:1182-1200, 2008]; 문헌[Steidl et al., Mol. Immunol. 46: 135-144, 2008])을 사용하여 수행하였다.

[0364] 패닝의 제4 라운드 후에 pIX 유전자를 파지미드 DNA로부터 절제하여 가용성 his-태그된 Fab 코딩 영역을 생성하였다. Fab를 E. 콜라이 중에서 발현시키고, ELISA에서 IL1RAP에 대한 결합에 대해 스크리닝하였다. 간략히 말하면, 96웰 Nunc Maxisorp 플레이트(Nunc 번호 437111)를 4℃에서 하룻밤 PBS 중 1 μg/mL의 양 항-인간 Fd(The Binding Site 번호 PC075)로 코팅하였다. Fab 발현 벡터를 함유하는 세균 콜로니를 탁해질(OD600 ≈ 0.6) 때까지 딥웰(deep-well) 배양 플레이트에서 450 μL의 2xYT(카르베니실린) 중에서 성장시켰다. IPTG를 1 mM 농도까지 첨가함으로써 Fab 발현을 유도하였다. 배양물을 30℃에서 하룻밤 성장시키고, 이어서 원심분리에 의해 청정화하였다. 항-Fd 코팅된 Maxisorp 플레이트를 TBS, 0.5% Tween-20(Sigma 번호 79039-10PAK)로 1회 세척하고, 실온에서 1시간 동안 웰당 200 μL의 PBS-Tween(0.5%) + 탈지분유(3%)로 블로킹하였다. 이 단계 및 모든 후속 단계에서, 플레이트를 TBS, 0.5% Tween-20(Sigma 번호 79039-10PAK)으로 3회 세척하였다. 각각의 웰은 50 μL의 Fab 상층액을 제공받은 후, 실온에서 1시간 인큐베이션하였다. 세척 후, 50 μL의 비오틴화 IL1RAP를 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세척 후, 50 μL의 스트렙타비딘:HRP(Pierce 번호 21130)를 1:5000 희석률로 첨가하고, 플레이트를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척하고, 50 μL의 화학발광 기질, PoD(Roche 번호 121-5829500001)를 제조자의 설명서에 따라 첨가하였다. 이어서, 플레이트를 EnVision(Perkin Elmer) 플레이트 판독기 상에서 발광에 대해 판독하였다. 백그라운드에 비하여 5배 초과 신호를 디스플레이하는 웰을 히트로 간주하였다.

[0365] IL1RAP에 대한 결합을 보여준 항체를 중쇄(HC) 및 경쇄(LC) 가변 영역에서 서열분석하였다. 파지 패닝을 통해 총 52개의 고유 Fab 서열을 확인하였으며, 내부-융합(in-fusion) 클로닝에 의해 45개를 궁극적으로 IgG1 동종형으로 변환시켰다. HC 및 LC 가변 영역의, PCR SuperMix High Fidelity 키트(Life Technologies 번호 10790-020)를 사용하여 PCR-증폭에 의해 내부-융합 클로닝을 수행하고, In-Fusion® HD Cloning Plus 키트(Clontech 번호 638909)를 사용하여 HC에 대해서는 vDR149에서의 그리고 LC에 대해서는 vDR157에서의 Esp3I 부위 내로 클로닝을 수행하였다.

[0366] **실시예 3: 하이브리도마를 발현하는 인간 IL1RAP 단일클론 항체의 단리**

[0367] 인간 면역글로불린 유전자도입 래트 균주(OmniRat®; OMT, Inc.)를 사용하여, 하이브리도마 세포를 발현하는 인간 IL1RAP 단일클론 항체를 발현시켰다. OmniRat®는, 완전 인간 IgL 유전자좌(12개의 Vκ는 Jκ-Cκ에 연결되

고, 16개의 V_{λ} 는 $J_{\lambda}-C_{\lambda}$ 에 연결됨)와 함께, 키메라 인간/랫 IgH 유전자좌(22개의 인간 V_H 를 포함하며, 천연 구성의 모든 인간 D 및 J_H 세그먼트는 랫트 C_H 유전자좌에 연결됨)를 함유한다. (예를 들어, 문헌[Osborn, et al. (2013) J Immunol 190(4): 1481-1490] 참조). 따라서, 랫트는 랫트 IgM 또는 κ 의 감소된 발현을 나타내고, 면역화에 반응하여, 도입된 인간 중쇄 및 경쇄 도입유전자는 클래스 전환(class switching) 및 체세포 돌연변이를 거쳐서 고친화성 인간 IgG 단일클론 항체를 생성한다. OmniRat®의 제조 및 용도, 그리고 그러한 랫트에 의해 전달된 게놈 변형은 Bruggemann 등에게 허여된 국제 특허 출원 공개 WO 14/093908호에 기재되어 있다.

[0368] 제조합 인간 IL1RAP(rhIL1RAP)으로 면역화될 때, 이러한 유전자도입 랫트는 인간 IL1RAP에 특이적인 인간 IgG 항체를 생성한다.

[0369] 2가지 면역화 계획을 하기와 같이 수행하였다: 첫 번째 계획의 경우, 4 마리의 랫트를 rhuIL1RAP로 면역화하였다. 35일의 면역화 계획 후, 랫트 10344로부터 비장 및 림프절을 수집 및 사용하여 하이브리도마를 생성하였다. 하이브리도마 상층액의 76개의 96웰 플레이트를 결합 ELISA를 통해 스크리닝하였으며, 이 중 76개의 하이브리도마 상층액을 선택하였다. 유사하게, 두 번째 계획의 경우, 4 마리의 랫트를 rhuIL1RAP로 면역화하였다. 77일의 면역화 계획 후, 랫트 10428, 10424, 및 10600으로부터 림프절을 수집 및 사용하여 하이브리도마를 생성하였다. 하이브리도마 상층액의 24개의 96웰 플레이트를 ELISA에 의해 스크리닝하여, rhuIL1RAP에 대한 결합을 나타내는 mAb를 확인하였다. 추가의 확인 스크리닝 후에, rhuIL1RAP 및 사이노 IL1RAP(rcynoIL1RAP)에 특이적인 결합을 나타낸 두 스크린 모두로부터의 하이브리도마 상층액을 서열분석하고, 클로닝하고, 소규모로 발현시켰다.

[0370] **실시예 4: IL1RAP에 대한 MSD 세포 결합**

[0371] 조작된 pDisplay 세포(IL1RAP 발현 HEK-293F 세포)에 대한 IL1RAP 항체의 결합을 MSD(Mesoscale Discovery) 세포 결합 검정을 사용하여 평가하였다. 스크리닝 검정의 목적은 hIL1RAP를 발현하는 세포에 결합된 항체를 확인하는 것뿐만 아니라 사이노 IL1RAP를 발현하는 세포와의 교차 반응성도 확인하는 것이었다.

[0372] 세포를 고정화하고, IL1RAP 항체 샘플을 3회 반복하여 검정하였다. 간단히 말하면, 정제된 IL1RAP 항체의 발현 상층액을 10 μ g/mL로 정규화하였다. 웰당 5000개 세포를 384웰 플레이트(MA6000, 카탈로그 L21XB, MSD) 내로 플레이팅하고, 2시간 동안 부착되게 하였다. 이어서, 세포를 15분 동안 PBS 중 20% FBS(Gibco)로 블로킹하였다. 이어서, 항체 상층액을 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 그대로 두었다. 세포를 PBS로 3회 세척하고, 이어서 루테늄 표지화된 2차 항체(Mesoscale Discovery)를 2 μ g/mL로 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 추가의 세척 단계를 적용하고, 이어서 웰당 35 μ L의 2X MSD 판독 완충액(Read buffer) T(계면활성제 무함유)를 첨가하고, 검출을 위하여 5 내지 30분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, Sector Imager 2400(MSD)을 사용하여 플레이트를 판독하였다. 데이터를 대조군에 대해 정규화하고, GraphPad Prism 버전 5를 사용하여 그래프로 나타내었다. 모 세포주 백그라운드보다 3배 더 큰 신호를 갖는 양성 바인더를 히트인 것으로 결정하였다. 데이터 일관성을 위해 검정을 반복하였으며, 최고의 바인더들을 추가의 개발을 위해 선택하였다.

[0373] **실시예 5: SPR에 의한 친화도 측정.**

[0374] **ProteOn 친화도 측정**

[0375] 제조합 인간 IL1RAP ECD에 대한 52개[파지 패닝으로부터의 38개의 mAb, 하이브리도마 세트 1로부터의 11개의 mAb, 및 서열 결점(sequence liability)을 없애기 위해 생성된 3개의 돌연변이체(IAPB63, IAPB64, 및 IAPB65)]의 항-IL1RAP 후보의 친화도를 ProteOn XPR36 단백질 상호작용 어레이 시스템(BioRad)을 사용하여 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해 측정하였다.

[0376] IL1RAP ECD 회합 및 해리의 속도를 각각의 변이체에 대하여 측정하였다. 아민-커플링 화학에 대한 제조사의 설명서를 사용하여, 염소 항-인간 IgG(Fc) 항체를 GLC 칩(BioRad)의 표면에 공유 커플링함으로써 바이오센서 표면을 제조하였다. 대략 8800 RU(반복 단위)의 염소 항-인간 IgG(Fc) 항체(Jackson ImmunoResearch laboratories 제품 번호 109-005-098)를 고정화하였다. 고정된 RU는 또한 염소 항-마우스 Fc 항체를 포함하였는데, 염소 항-마우스 Fc 항체는 여기에서 기록된 것들에 포함되지 않은 다른 항체들을 포획하기 위해 첨가하였다. 혼합물은 1:1이기 때문에, 고정된 이들 RU의 약 50%는 염소 항-인간 Fc인 것으로 예상된다. 속도론 실험(kinetic experiment)을 전개 완충액(running buffer)(PBS pH 7.4, 0.005% P20, 3 mM EDTA) 중에서 25°C에서 수행하였다. 400 nM에서 시작하여 인간 IL1RAP ECD의 4배(1:3) 연속 희석물을 전개 완충액 중에 제조하였다.

평균 300 RU의 mAb(174 내지 600)를 센서 칩의 각각의 채널 상에 포획하였다. 포획된 후보를 함유하지 않는 참조 스폿(염소 항-인간 IgG(Fc)-변형된 표면)을 참조 표면으로서 사용하였다. mAb를 포획한 후, 40 μ L/min으로 항원을 3분 주입하고(회합 단계), 이후에 10분간 완충액을 유동시켰다(해리 단계). 100 μ L/min으로 0.85% 인산을 주입함으로써 칩 표면을 재생시켰다. 데이터를 기기 소프트웨어에서 처리하였다. 분석물 주입에 대한 참조물질-감산된 곡선으로부터 완충액 주입에 의해 생성된 곡선을 감산함으로써, 데이터의 이중 참조 감산을 수행하였다. 군 적합도(group fit)와 함께 1:1 랭뮤어(Langmuir) 결합 모델을 사용하여 데이터의 속도론 분석을 수행하였다. 각각의 mAb에 대한 결과를 K_a (kon 또는 결합-속도(on-rate)), K_d (koff 또는 해리-속도(off-rate)), K_D (평형 해리 상수)의 형식으로 기록하였다(표 3).

[0377] 파지 히트에 대한 결과가 표 4에 제시되어 있다. 모두 38개의 mAb가 1.19 내지 30.4 nM 범위의 친화도로 인간 IL1RAP ECD에 결합하였다(표 3). 10개의 mAb(별표로 표시됨)는 1:1 결합 모델에 대해 불량한 적합을 갖는 것으로 관찰되었으며, 이들의 χ^2 값은 20% R_{max} 보다 더 크다. 결과는 우수한 재현성을 시사한다(양성 대조 항체 MAB676(n=4)을 기반으로 함). 음성 대조군(MAB002, CNT09412, 및 모의 형질감염(Mock Transfection))에 대해서는, 시험된 최고 농도인 400 nM까지 결합이 관찰되지 않았다. 이는 인간 IL1RAP ECD에 대한 항체 결합이 특이적임을 시사한다.

[0378] [표 3]

인간 IL1RAP(농도 범위 1.56 내지 400 nM)에 대한 파지 mAb(비정제됨) 결합에 대한 속도론적 친화도의 요약. 이 표에 기록된 파라미터는 1:1 랭뮤어 결합 모델로부터 획득하였다. 친화도, $K_D = k_d/k_a$.

샘플	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	K_D (nM)
항-인간/사이노 IL1RAP, 마우스 IgG1, R&D 번호 MAB676	2.57E+05	3.67E-04	1.43E-09	1.43
항-인간/사이노 IL1RAP, 마우스 IgG1, R&D 번호 MAB676	2.66E+05	3.49E-04	1.31E-09	1.31
항-인간/사이노 IL1RAP, 마우스 IgG1, R&D 번호 MAB676	2.93E+05	3.40E-04	1.16E-09	1.16
항-인간/사이노 IL1RAP, 마우스 IgG1, R&D 번호 MAB676	2.76E+05	3.73E-04	1.35E-09	1.35
마우스 IgG1 동종형 대조군, R&D 카탈로그 번호 MAB002	-----	-----	결합 없음	결합 없음
인간 IgG4-PAA 동종형 대조군	-----	-----	결합 없음	결합 없음
IAPB01	7.70E+04	3.86E-04	5.01E-09	5.01
IAPB02	3.30E+05	3.83E-03	1.16E-08	11.6
IAPB03	1.35E+05	3.57E-04	2.64E-09	2.64
IAPB04	2.55E+05	1.44E-03	5.66E-09	5.66
IAPB05	4.73E+05	2.52E-03	5.33E-09	5.33
IAPB06	4.07E+05	2.27E-03	5.58E-09	5.58
IAPB08	5.85E+05	6.73E-03	1.15E-08	11.5
IAPB09	5.74E+05	3.79E-03	6.59E-09	6.59
IAPB10	2.31E+05	3.93E-04	1.70E-09	1.7
IAPB11	7.21E+05	3.83E-03	5.32E-09	5.32
IAPB12	4.72E+05	5.62E-04	1.19E-09	1.19
IAPB13	3.37E+05	9.03E-04	2.68E-09	2.68
IAPB14	2.01E+05	5.31E-04	2.64E-09	2.64
IAPB15	4.54E+05	7.67E-04	1.69E-09	1.69
IAPB17	8.44E+05	7.19E-03	8.51E-09	8.51
IAPB22	5.78E+04	1.75E-03	3.02E-08	30.2
IAPB23	3.17E+05	1.49E-03	4.70E-09	4.7
IAPB24	8.59E+04	2.61E-03	3.04E-08	30.4
IAPB25	1.44E+06	4.07E-02	2.82E-08	28.2
IAPB26	7.62E+04	1.06E-03	1.39E-08	13.9
IAPB27	1.15E+05	2.94E-03	2.56E-08	25.6
IAPB28	2.31E+05	3.31E-04	1.43E-09	1.43
IAPB29	3.07E+05	1.84E-03	6.00E-09	6
IAPB31	1.22E+05	1.78E-03	1.47E-08	14.7
IAPB32	2.96E+05	3.56E-03	1.20E-08	12
IAPB33	4.38E+04	8.10E-04	1.85E-08	18.5
IAPB34	5.22E+05	4.06E-03	7.78E-09	7.78
IAPB36	3.59E+05	3.05E-03	8.49E-09	8.49
IAPB37	9.09E+04	3.30E-04	3.63E-09	3.63
IAPB39	9.84E+04	2.60E-03	2.65E-08	26.5
IAPB41	1.90E+05	2.65E-03	1.39E-08	13.9
IAPB43	4.24E+04	1.25E-03	2.95E-08	29.5
IAPB44	4.24E+05	1.26E-03	2.97E-09	2.97
IAPB47	6.53E+05	8.11E-04	1.24E-09	1.24
IAPB48	9.19E+04	5.23E-04	5.69E-09	5.69
IAPB49	4.54E+05	1.53E-03	3.38E-09	3.38
IAPB50	3.54E+05	1.40E-03	3.96E-09	3.96
모의 형질감염	-----	-----	결합 없음	결합 없음
R7633 IAPB51	1.05E+05	4.55E-04	4.33E-09	4.33

[0379]

[0380] 하이브리도마 히트에 대한 결과가 표 4에 제시되어 있다. 결과는 11개의 항체 중 5개가 0.16 내지 49.9 nM 범위의 친화도로 인간 IL1RAP ECD에 결합하였음을 나타내었다(표 4). 양성 대조군(MAB676)을 2회 실시하였으며,

이는 우수한 재현성을 나타내었다. 예상된 바대로, 음성 대조군(MAB002 및 CNT07967)은 최고 시험 농도인 400nM까지 결합을 나타내지 않았다.

[표 4]

인간 IL1RAP(농도 범위 1.56 내지 400 nM)에 대한 하이브리도마 mAb(비정제됨) 결합에 대한 속도론적 친화도의 요약. 이 표에 기록된 파라미터는 1:1 랭뮤어 결합 모델로부터 획득하였다. 친화도, $KD = kd/ka$.

샘플 CBIS ID, 하이브리도마	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)	KD (nM)
항-인간/사이노 IL1RAP, 마우스 IgG1, R&D 카탈로그 번호 MAB676	2.60E+05	3.69E-04	1.42E-09	1.42
항-인간/사이노 IL1RAP, 마우스 IgG1, R&D 카탈로그 번호 MAB676	2.77E+05	3.36E-04	1.21E-09	1.21
마우스 IgG1 동종형 대조군, R&D 카탈로그 번호 MAB002			결합 없음	
CNT07967, 래트 IgG1k 동종형 대조군			결합 없음	
IAPB53, 5D06			약한 결합	
IAPB54, 17B04	7.50E+05	4.38E-04	5.83E-10	0.58
IAPB55, 22A09	4.54E+05	7.47E-04	1.64E-09	1.64
IAPB56, 30C11			결합 없음	
IAPB57, 5G08	8.07E+05	1.29E-04	1.60E-10	0.16
12F09			약한 결합	
IAPB59, 19C11	2.81E+05	1.40E-02	4.99E-08	49.9
IAPB60, 19F09 랫다			약한 결합	
IAPB61, 25D12	8.10E+05	1.42E-02	1.75E-08	17.5
30C12			결합 없음	
20B11 랫다			약한 결합	

표 5는 서열 결점을 없애기 위해 생성된 3개의 돌연변이 항체에 대한 데이터를 나타낸다. 이들 돌연변이체를 평가하고, 그들의 모 항체와 대비하였다. 결과는 단지 변이 IAPB63(LC 돌연변이 C91A를 갖는 IAPB54)만이 모체와 2배 미만으로 상이한 결합 친화도를 보유하고 있음을 시사한다. 주목할 만한 점은, 정제된 모체와 비정제된 모체, IAPB4(파지 히트 B4)의 친화도가 서로 2배 이내에 있었다는 것이다(표 5: 4.73 nM vs. 표 3: 5.66 nM). 대조적으로, 모 항체 IAPB54(인간 IgG4-PAA를 갖는 17B04, 표 5)는 17B04(래트 IgG1을 갖는 하이브리도마 히트, 표 4)보다 훨씬 더 긴밀한 결합을 보여주었다. 이러한 차이는 중 및 동종형에 기인될 수 있다.

[표 5]

인간 IL1RAP(1.2 내지 100 nM)에 결합하는 점돌연변이 mAb와 모체의 속도론적 친화도의 비교. 이 표에 기록된 파라미터는 1:1 랭뮤어 결합 모델로부터 획득하였다. 친화도, $KD = kd/ka$.

샘플	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	모체로부터의 배수 차이
IAPB4, 파지	2.95E+05	1.40E-03	4.73E-09	1.0
IAPB65, IAPB4-HC-G103A	3.29E+05	3.41E-03	1.04E-08	2.2
IAPB54, 하이브리도마	9.65E+05	7.48E-05	7.75E-11	1.0
IAPB63, IAPB54-LC-C91A	9.00E+05	9.76E-05	1.08E-10	1.4
IAPB64, IAPB54-LC-C91S	6.38E+05	2.34E-04	3.67E-10	4.7

실시예 6: 중화 검증

Invivogen으로부터의 HEK-Blue™ IL-1β 세포(카탈로그 번호 hkb-ilb)를 사용하여 IL1RAP 항체의 효능제 또는 길항제 활성화에 대해 평가하였다. 제조자에 따르면, "HEK-Blue™ IL-1β 세포는 NF-κB 및 AP-1 경로의 활성화를 모니터링함으로써 생물활성 IL-1β의 검출을 가능하게 한다." "이것은 TNF-α 반응이 차단된 HEK-Blue™ TNF-α/IL-1β 세포로부터 유래된다. 따라서, HEK-Blue™ IL-1β 세포는 IL-1β에 특이적으로 반응한다. 이것은 NF-κB/AP-1-유도성 SEAP 리포터 유전자를 발현한다. HEK-Blue™ IL-1β 세포의 표면 상에서의 IL-1β의 그의 수용체 IL-1R에 대한 결합은 NF-κB의 활성화 및 SEAP의 후속 생성으로 이어지는 신호전달 캐스케이드를 촉발시킨다." 모든 항체 상층액을 단독으로 또는 1 ng/mL의 재조합 인간 IL-1β의 존재 하에서 10 μg/mL의 최종 농도에서 스크리닝하였다.

파지 히트의 평가에 대한 결과가 도 2에 나타나 있다. 파지 상층액을 HEK-Blue™ NFκB 리포터 세포주에서 효능제(IL-1β의 부재 하에서) 또는 길항제 활성화(IL-1β의 존재 하에서)에 대해 분석하였다. 분석된 상층액들 중에서, 어떠한 것도 효능제 활성을 나타내지 않았다. 그러나, IAPB54 및 IAPB57(하이브리도마 상층액)은 재조합 인간 IL-1β의 존재 하에서 길항제 활성을 나타내었다.

실시예 7: 히트 평가 및 선택

사이노몰거스 원숭이와 교차-반응성인 것으로 확인되고 Proteon 평가를 통해 측정가능한 친화도를 갖는 모든 파지 히트 및 하이브리도마 히트를 함께 수집하였다. 이 목록으로부터, 6개의 후보를 그들의 특성 및 마우스 또는 래트는 아닌 단지 영장류와의 그들의 교차 반응성에 기초하여 선택하였다(표 6에서 회색으로 강조되어 있음). 길항적 활성을 나타낸 2개의 하이브리도마 히트를 또한 포함시켰다(표 6에서 회색으로 강조되어 있음).

IAPB4 및 IAPB54는 서열 결점으로 인해 선택하지 않았지만, 추가의 분석을 위하여 이들 모체의 돌연변이체를 형성하였다. 돌연변이체 IAPB63 및 IAPB64는 IAPB54의 돌연변이체이고, 한편 IAPB65는 IAPB4의 돌연변이체이다. 추가적으로, 추가의 생물학 과제를 연구하기 위한 대리 분자(surrogate molecule)를 가질 잠재적인 요망이 있었다. 따라서, 추가 4개의 영장류/뮤린 교차-반응성 항체를 마찬가지로 시험을 위해 선택하였다(표 6에 회색으로 강조되어 있음).

[표 6]

초기 항-인간 IL1RAP 항체 생성의 요약.

CBIS 단백질 ID	작제물	인간 바인더		사이노 바인더		마우스 바인더	랫트 바인더	친화도 (nM)
		재조합	세포	재조합	세포	세포	세포	재조합
IAPB01	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	5.01
IAPB02	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	11.6
IAPB03	IgG4-PAA	+	+	+	+	-	-	2.64
IAPB04 ^d	IgG4-PAA	+	+	+	+	-	-	5.66
IAPB05	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	5.33
IAPB06	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	5.58
IAPB07	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	11.5
IAPB08	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	
IAPB09	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	6.59
IAPB10	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	1.7
IAPB11	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	5.32
IAPB12	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	1.19
IAPB13	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	2.68
IAPB14	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	2.64
IAPB15	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	1.69
IAPB16	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	
IAPB17	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	8.51
IAPB18	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	
IAPB21	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	
IAPB22	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	30.2
IAPB23	IgG4-PAA	+	+	+	+	-	-	4.7
IAPB24	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	30.4
IAPB25	IgG4-PAA	-	+	-	+	-	-	28.2
IAPB26	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	13.9
IAPB27	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	25.6
IAPB28	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	1.43
IAPB29	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	6
IAPB30	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	
IAPB31	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	14.7
IAPB32	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	12
IAPB33	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	18.5
IAPB34	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	7.78
IAPB35	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	
IAPB36	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	8.49
IAPB37	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	3.63
IAPB38 ^a	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	
IAPB39	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	26.5
IAPB40	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	
IAPB41	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	13.9
IAPB42	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	
IAPB43	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	29.5
IAPB44	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	2.97
IAPB45	IgG4-PAA	+	+	+	+	NA	NA	
IAPB46	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	
IAPB47 ^a	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	1.24
IAPB66	IgG1-FEA							
IAPB48	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	5.69

CBIS 단백질 ID	작제물	인간 바인더		사이노 바인더		마우스 바인더	랫트 바인더	친화도 (nM)
		제조합	세포	제조합	세포	세포	세포	제조합
IAPB49	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	3.38
IAPB50	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	3.96
IAPB51	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	
IAPB52	IgG4-PAA	+	+	+	+	+	+	
IgG4-PAA, B4 돌연변이체		분석되지 않음						10.4
IAPB53	IgG4-PAA	+	+	-	+	-	-	ND
IAPB57	IgG4-PAA	+	+	+	+	-	-	1.6
IAPB68	IgG1-FEA							
IAPB55	IgG4-PAA	+	+	+	+	-	-	1.64
IAPB67	IgG1-FEA							
IAPB61	IgG4-PAA	+	+	+	+	-	-	17.5
IAPB54 ^e	IgG4-PAA	+	+	+	+	-	-	0.58
IAPB102	RatG1	+	+	+	+	+	+	49.9
IAPB59	IgG4-PAA							
IAPB62	IgG4-PAA	+	+	+	+	-	-	
IAPB63	IgG4-PAA	분석되지 않음						0.11
IAPB81	IgG1-FEA							
IAPB64	IgG4-PAA	분석되지 않음						0.38

*오염된 상층액, ND = 결정되지 않음, NA = 분석되지 않음.

^{a,b,c} 이들 하이브리도마는 동일한 항체를 함유하였다. ^aNA = 분석되지 않음, ND = 결정되지 않음.

^d 이중특이성 포맷(IAPB65)에서 이 모체의 돌연변이체를 분석하였음.

^e 이중특이성 포맷(IAPB63, 및 IPAB64)에서 이 모체의 돌연변이체를 분석하였음.

따라서, 총 15개의 IL1RAP 모체(5개의 히트는 하이브리도마 스크리닝으로부터의 것이고, 8개의 히트는 파지 페닝으로부터의 것임)뿐만 아니라 3개의 돌연변이체(IAPB63, IAPB64, IAPB65) - 모두 표 7에 나타나 있음 - 의 패널을 소규모 IL1RAP × CD3 이중특이성 패널을 제조하려는 목적으로 발현시키고 정제하였다.

[표 7]

IL1RAP × CD3 이중특이성 패널의 생성을 위해 선택된 15 개의 IL1RAP mAb 후보의 CDR 서열(관련 서열 번호가 괄호 안에 나타나 있음)

ID	HC-CDR1	HC-CDR2	HC-CDR3	LC-CDR1	LC-CDR2	LC-CDR3
IAPB47	GYSFTSYW (10)	IYPSDSYT (11)	ARRNSAENYADLDY (12)	QSISSND (40)	YAS (41)	QQSFTAPLT (42)
IAPB38	GFTFSNYA (13)	INYGGGSK (14)	AKDYGPFALDY (15)	QSVDDW (43)	TAS (44)	QQYHHWPLT (45)
IAPB57	GGSISSSTYY (16)	IYFTGST (17)	AKEDDSSGYYSFDY (18)	QGISSY (46)	AAS (47)	QQVNSYPLT (103)
IAPB61	GVSISSTYY (19)	IYFTGNT (20)	GSLFGDYGFDY (21)	QFISSN (49)	GAS (50)	QQYNNWPST (51)
IAPB62	GYTFNTYA (22)	INTNTGNP (23)	ARRYFDWLLGAFDI (24)	QGISSW (52)	AAS (47)	QQANSFPLT (53)
IAPB3	GGTFSSYA (25)	ISAIFGTA (26)	ARGNSFHALWDYAFDY (27)	QSVLYSSNNKNY (54)	WAS (55)	QQYYSTPLT (56)
IAPB17	GGTFSSYA (25)	IPIFGNA (28)	ARTIYLDYVHILDY (29)	QSVLYSSNNKNY (54)	WAS (55)	QQYYSTPLT (56)
IAPB23	GFTFSNYW (30)	IRYDGGSK (31)	AKDAYPPYSFDY (32)	QSVSSY (57)	DAS (58)	QQRSNWPLT (59)
IAPB25	GFTFSYA (33)	ISGSGGST (34)	AKGDEYYYDPPLDY (35)	QSISSY (60)	AAS (47)	QQSYSTPLT (48)
IAPB29	GFTFSNYA (13)	ISGSGGST (34)	AKEWSSYFGLDY (36)	QSISSY (60)	AAS (47)	QQSYSTPLT (48)
IAPB9	GGTFSSYA (25)	ISPIFGTA (37)	ARRYDNFARSGDLDY (38)	QSISSY (60)	AAS (47)	QQSYSTPLT (48)
IAPB55	GVSISSTYY (19)	IYFTGNT (20)	GSLFGDYGFDY (21)	QFISSN (49)	GAS (50)	QQYNNWPFT (61)
IAPB63	GYTFNTYA (22)	INTNTGNP (23)	ARRYFDWLLGAFDI (24)	SSDVGDYNY (62)	DVS (63)	ASYAGNYNVV (64)
IAPB64	GYTFNTYA (22)	INTNTGNP (23)	ARRYFDWLLGAFDI (24)	SSDVGDYNY (62)	DVS (63)	SSYAGNYNVV (65)
IAPB65	GGTFSSYA (25)	ISAIFGTA (26)	ARHLHNAIHLDY (39)	QSVSNF (66)	GAS (50)	QQGKHWPWT (67)

15개의 IL1RAP mAb의 VH 및 VL이 하기 표 8에 나타나 있다.

[0398] [표 8]

IL1RAP × CD3 이중특이성 패넌의 생성을 위해 선택된 15개의 IL1RAP mAb 후보의 V _H 및 V _L 서열				
mAb AA ID	VH 아미노산 서열	서열 번호	VL 아미노산 서열	서열 번호
IAPB47	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYW IGWVVRQMPGKGLEWVGIIYPSDSYTRYSPSFQ QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARR NSAENYADLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TKITYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	68	EIVLTQSPGTLTSLSPGE RATLSCRASQSSISNDLN WYQQKPGKAPKLLIY YASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTINSLOPED FATYYCQQSFTAPLTF GQGTKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSST LTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	69
IAPB38	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYA MNWVRQAPGKGLEWVSGINYGGSKYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKDYGPFALDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TKITYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	70	EIVLTQSPATLTLSPGE RATLSCRASQSVDDW LAWYQQKPGQAPRLLI YTASNRAITGIPARFSGS GSGTDFTLTISSLEPED FAVYYCQYHHWPLT FGQGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSST LTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	71
IAPB57	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSTY YWGWIQPPGKGLEWIGSIYFTGSTDYNPSLKS RVISISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAKE DDSSGYYSFDYWGQGNLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TKITYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	72	DIQLTQSPSFLSASVGD RVTITCRASQGISSYLA WYQQKPGKAPKLLIY AASLTQSGVPSRFSGS GSGTEFTLTISLQPED FATYYCQVNSYPLTF GGGTKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSST LTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	73

[0399]

IAPB61	<p>QLQLQESGPGLVKPSETLSLCTVSGVSSSSTY YWGWLROPPGMGLEWTGSIYFTGNTYYNPSLK SRVTISVDTSRNQFSLKLSSVTAADTAVYYCGS LFGDYGYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT KTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK</p>	74	<p>EIVMTQSPATLSVPPGE RATLSCRASQFISNLA WYQQKPGQAPRLLIY GASTRATGIPARFSGSG SGTDFTLTISSLQSEDF AVYYCQYNNWPSTF GPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSST LTLKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC</p>	75
IAPB62	<p>QVQLVQSGSELKPGASVKVSCASGYTFNTY AMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQ GFTGRFVSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYY CARRYFDWLLGAFDIWGQGTMTVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGKTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK</p>	76	<p>DIQMTQSPSSVSASVG DRVITITCRASQGSSWL AWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQANSFPLT FGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSST LTLKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC</p>	77
IAPB3	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGGISAFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RGNFHALWDYAFDYWGQGLTVTVSSASTKG PSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSSLGKTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK</p>	78	<p>DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINCKSSQSVLYSS NNKNYLAWYQQKPG QPPKLLIYWASTRESG VPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYCQ QYYSTPLTFGQGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLKAD YEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC</p>	79
IAPB17	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGNANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RTIYLDYVHLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS LGKTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK</p>	80	<p>DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINCKSSQSVLYSS NNKNYLAWYQQKPG QPPKLLIYWASTRESG VPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYCQ QYYSTPLTFGQGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLKAD YEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC</p>	79

[0400]

IAPB23	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYW MNVWRQAPGKGLEWVSAIRYDGGSKYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKDAYPPYSFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVF PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTKTYTCNV DHPKPSNTKVDKR VESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK	81	EIVLTQSPATLSLSPGE RATLSCRASQSVSSYL AWYQQKPGQAPRLLI YDASNRATGIPARFSG SGSGTDFLTITISLEPE DFAVYYCQQRSNWPL TFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLS TLTLKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC	82
IAPB25	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYA MSWVRQAPGKGLEWWSAISGGSGSTYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGDEYYYPDPLDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKTYTCNV DHPKPSNTKVDKR VESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK	83	DIQMTQSPSSLSASVG DRVITITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFLTITISLQPE DFATYYCQQSYSTPLT FGQGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTA SVVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSST LTLKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	84
IAPB29	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYA MSWVRQAPGKGLEWWSAISGGSGSTYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKEWSSYFGLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVF PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTKTYTCNV DHPKPSNTKVDKR VESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK	85	DIQMTQSPSSLSASVG DRVITITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFLTITISLQPE DFATYYCQQSYSTPLT FGQGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTA SVVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSST LTLKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	84
IAPB9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSKASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGWISPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RRYDNFARSGDL DYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKTYTCNV DHPKPSNTKVDKR VESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK	86	DIQMTQSPSSLSASVG DRVITITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFLTITISLQPE DFATYYCQQSYSTPLT FGQGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTA SVVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSST LTLKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	84

[0401]

IAPB55	<p>QLQLQESGPGVLKPSSETLSLCTVSGVSSSSTY YWGWLQPPGMGLEWTGSIYFTGNTYYNPSLK SRVTISVDTSRNQFSLKLSSVTAADTAVYYCGS LFGDYGFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT KTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK</p>	74	<p>EIVMTQSPATLSVSPGE RATLSRASQSFISNLA WYQQKPGQAPRLLIY GASTRATGIPARFSGSG SGTDFLTITSLQSEDF AVYYCQYNNWPFTF GPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTAS VVCCLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSYSLSS LTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC</p>	87
IAPB63	<p>QVQLVQSGSELKPGASVKVSCASGYTFNTY AMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQ GFTGRFVSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYY CARRYFDWLLGAFDIWGQGTMTVTVSSASTKGP SVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK</p>	76	<p>QSALTQPRSVSGSPGH SVTISCTGTSSDVGDY NYVSWYQQRPGKVPK LLIYDVSKRPSGVDPDRF SGSKSGNTASLTISGLQ AEDEAIYFCASYAGNY NVVFGGGTKLTVLGQ PKAAPSVTLFPPSSEEL QANKATLVCLISDFYP GAVTVAWKADSSPVK AGVETTTPSKQSNKY AASSYLSLTPEQWKSH RSYSQCVTHEGSTVEK TVAPTECS</p>	88
IAPB64	<p>QVQLVQSGSELKPGASVKVSCASGYTFNTY AMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQ GFTGRFVSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYY CARRYFDWLLGAFDIWGQGTMTVTVSSASTKGP SVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK</p>	76	<p>QSALTQPRSVSGSPGH SVTISCTGTSSDVGDY NYVSWYQQRPGKVPK LLIYDVSKRPSGVDPDRF SGSKSGNTASLTISGLQ AEDEAIYFCSSYAGNY NVVFGGGTKLTVLGQ PKAAPSVTLFPPSSEEL QANKATLVCLISDFYP GAVTVAWKADSSPVK AGVETTTPSKQSNKY AASSYLSLTPEQWKSH RSYSQCVTHEGSTVEK TVAPTECS</p>	89
IAPB65	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGGISAFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RHLHNAIHLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT KTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK</p>	90	<p>EIVLTQSPATLSLSPGE RATLSRASQSVSNFL AWYQQKPGQAPRLLI YGASNRATGIPARFSG SGSGTDFLTITISLEPE DFAVYYCQQKQHW WTFGQGTKEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCCLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSYSL SSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC</p>	91

[0402]

[0403] 실시예 8: 항-IL1RAP Fab의 결정 구조

[0404] 하나의 항-IL1RAP 항체(IAPB57)의 결정 구조를 유리된 Fab 형태에서만뿐만 아니라, 인간 IL1RAP ECD에 결합된 경우에 대해서도 결정하여, 원자적으로 상세하게 항체/항원 상호작용을 특성화하고, 항체 작용 기전에 대한 이해를 증가시키고, 임의의 필요한 항체 조작 노력을 뒷받침하였다.

[0405] 재료

[0406] His-태그된 IAPB57 Fab를 HEK293 세포에서 발현시키고, 친화성 및 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다. Fab를 50 mM NaCl, 20 mM Tris(pH 7.4) 중에 수용하였다.

[0407] C-말단 His 태그를 갖는 인간 IL1RAP 세포의 영역(성숙 아이소형 1, 2, 및 4의 1 내지 348개의 잔기; 이하, 간단히 IL1RAP)을 배칼로바이러스 시스템을 사용하여 발현시키고, 친화성 및 크기 배제 크로마토그래피로 정제하였다. 단백질을 50 mM NaCl, 20 mM Tris(pH 8) 중에 수용하였다.

[0408] 결정화

[0409] IL1RAP/IAPB57 Fab 복합체

[0410] 20 mM Mes(pH 6)로 완충액 교환하면서 4 °C에서 23시간 동안 IL1RAP를 IAPB57 Fab와 1.2 : 1(과량의 IL1RAP)의 몰비로 혼합함으로써 Fab/항원 복합체를 제조하였다. 이어서, 복합체를 20 mM Mes(pH 6) 중 16 내지 19 mM NaCl의 구배로 monoS 5/50 컬럼으로부터 용출시키고, 25 mg/mL로 농축시켰다. 20°C에서 시팅 드롭 증기-확산법(sitting drop vapor-diffusion method)을 사용하여 3.5 M 소듐 포르메이트, 0.1 M Tris(pH 8.5)로부터 X-선

회절에 적합한 결정을 얻었다.

- [0411] **IAPB57 Fab**
- [0412] IAPB57 Fab를 추가의 정제 없이 14 mg/mL로 농축시켰다. 20℃에서 시팅 드롭 증기-확산법을 사용하여 25% PEG(3 kDa), 0.2 M (NH₄)₂SO₄, 0.1 M Mes(pH 6.5)로부터 X-선 회절에 적합한 결정을 얻었다.
- [0413] **X-선 데이터 수집 및 구조 결정**
- [0414] X-선 데이터 수집을 위하여, 결정을 20% 글리세롤이 보충된 상응하는 모액을 함유하는 동결보호 용액 중에 수초 동안 액침하고, 이어서 액체 질소 중에서 급속 동결시켰다. 아르곤 국립 연구소(Argonne National Laboratory)에 있는 APS(Advanced Photon Source)의 빔라인 22-ID의 Rayonix 300HS CCD 검출기를 사용하여 X-선 회절 데이터를 수집하였다. 회절 데이터를 프로그램 HKL을 사용하여 처리하였다(문헌[Otwinski, Z. & Minor, W. (1997). Processing of X-ray diffraction data collected in oscillation mode. *Methods in Enzymology* 276: 307-326]).
- [0415] 이 구조를 Phaser를 사용하여 분자 대체(molecular replacement, MR)에 의해 해석하였다(문헌[Read, R. J. (2001). Pushing the boundaries of molecular replacement with maximum likelihood. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 57: 1373-82]). 유리 Fab 구조의 경우에, MR에 대한 검색 모델은 IMC-11F8 Fab(PDB 코드: 3B2U)였다. IL1RAP/Fab 복합체의 경우, MR에 대한 검색 모델은 IL1RAP(PDB 코드: 4DEP) 및 IAPB57 유리 Fab 구조의 결정 구조였다. 구조를 PHENIX로 정밀화(refine)하고(문헌[Adams, P. D., Gopal, K., Grosse-Kunstleve, R. W., Hung, L. W., Ioerger, T. R., McCoy, A. J., Moriarty, N. W., Pai, R. K., Read, R. J., Romo, T. D., Sacchettini, J. C., Sauter, N. K., Storoni, L. C. & Terwilliger, T. C. (2004). Recent developments in the PHENIX software for automated crystallographic structure determination. *J Synchrotron Radiat* 11: 53-5]), COOT를 사용하여 모델 조정을 수행하였다(문헌[Emsley P. & Cowtan, K. (2004). Coot: Model building tools for molecular graphics. *Acta Crystallogr. D* 60: 2126-2132]). 모든 다른 결정학적 계산은 CCP4 프로그램 제품군(suite)을 사용하여 수행하였다(문헌[Collaborative Computational Project Number 4, 1994]). 모든 분자 그래픽은 PyMol을 사용하여 생성하였다(문헌[DeLano, W. (2002). The PyMOL molecular graphics system. *Palo Alto, CA, USA; Delano Scientific*]).
- [0416] IAPB57 유리 Fab 구조 및 복합체 둘 모두에 대한 데이터 통계가 표 9에 제시되어 있다.

[0417] [표 9]

IL1RAP ECD/IAPB57 Fab 복합체 및 유리 IAPB57 Fab 에 대한 결정학적 데이터.

	FAB-IL1RAP ECD 복합체	유리 Fab
<i>결정 데이터</i>		
결정화 용액		
0.1 M 완충액	Tris(pH 8.5)	Mes(pH 6.5)
침전제	3.5 M Na 포르메이트	25% PEG(3 kDa)
첨가제		0.2 M (NH ₄) ₂ SO ₄
공간군	H32	P2 ₁
분자수/비대칭 단위	2	2
단위 셀		
<i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> (Å)	419.6, 419.6, 92.9	73.9, 63.6, 100.7
β (°)	120.0	110.8
용매 함량 (%)	73	47
<i>X-선 데이터*</i>		
분해능 (Å)	50.00-3.08	50.00-1.88
최고 분해능 셀 (Å)	(3.19-3.08)	(1.95-1.88)
측정된 반사의 수	611,321	261,192
완전성 (%)	100 (100)	99.9 (99.1)
리던던시(Redundancy)	10.6 (3.6)	3.7 (3.4)
R _{sym} (%)	11.9 (51.7)	5.8 (52.9)
$\langle I/\sigma \rangle$	18.2 (5.7)	21.4 (2.3)
<i>정밀화</i>		
분해능 (Å)	48.13-3.08	48.09-1.88
반사의 수	57,425	70,151
모든 원자의 수	10,465	6,609
물의 수	36	142
R _{work} / R _{free} (%)	21.1 / 24.6	20.8 / 24.5
결합 길이 RMSD (Å)	0.014	0.007
결합각 RMSD (°)	1.414	1.119
평균 B-인자 (Å ²)	71.1	37.3
물프로비티(MolProbity)		
선호되는 라마찬드란 (%)	91.92	97.12
허용되는 라마찬드란 (%)	7.93	2.65
라마찬드란 이상치(outlier) (%)	0.15	0.23
회전이성결체 이상치 (%)	0.47	0.42
충돌 점수	6.2	2.7

[0418]

[0419] **에피토프, 파라토프 및 상호작용**

[0420]

IAPB57은 도 3 및 도 4에서 알 수 있는 바와 같이 IL1RAP의 D2 면역글로불린-유사 도메인 내의 잔기(잔기 I131, E132, 및 L183-S185) 및 D3 면역글로불린-유사 도메인 내의 잔기(잔기 N219, V224, H226, Y249, S283-R286, 및 D289-T291)로 구성된 입체구조 에피토프를 인식한다. IAPB57 에피토프는 IL1RAP 상의 약 780 Å²의 면적을 포함한다. 항체 접촉부의 대부분은 IL1RAP의 D3 도메인과의 것이지만, 다수의 수소 결합 상호작용이 D2를 수반하고(도 3), 이는 IL1RAP에 대한 IAPB57 친화성을 강화시킨다. 아르기닌 286은 핵심 에피토프 잔기이고, 그것은 IAPB57 경쇄 및 중쇄 잔기 V91^L, N92^L, Y94^L, L96^L, E100^H, 및 Y107^H에 의해 라이닝된 포켓 내에 삽입된다. 다른 우세한 에피토프 잔기는 Y249 및 H284인데, 이들은 IL1RAP β-시트의 서로 반대편에 있는 말단 상에 있고, 중쇄 CDR과의 광범위한 반데르 발스 및 수소 결합 상호작용을 갖는다.

[0421]

IAPB57 파라토프는 CDR-L1 및 -L2를 제외한 모든 CDR로부터의 잔기들로 이루어진다(도 3 및 도 4). 중쇄는 경쇄보다 IL1RAP와의 접촉부가 5배 더 많다. 중쇄 CDR은, CDR-H2 β-가닥(S58-D60 잔기)이 D2 잔기와 상호작용하면서 IL1RAP의 볼록한 표면 상에 패킹되고, 한편 CDR-H2 루프 영역(Y54-T56 잔기)은 D3과 결합한다. CDR-H3은 단지 D3 도메인(S283-R286 잔기 범위)과만 결합하지만, CDR-H1 및 -L3은 D2 및 D3 둘 모두와 결합한다.

[0422]

IL1RAP 유전자의 선택적 스플라이싱(alternative splicing)은 막-결합된 아이소형 1 및 4 및 가용성 아이소형 2 및 3을 인코딩하는 전사 변이체를 가져온다. 막-결합된 아이소형 1 및 4의 세포외 영역은 분비된 아이소형 2 및 3과 서열이 상이하다(도 3). 세포외 차이는 막관통 도메인에 대한 링커 영역 및 D3 도메인에 위치되어 있다. IAPB57 에피토프 잔기들 중 6개(H284, S285, R286, D289, E290, 및 T291)는 아이소형 3 특유 영역 내에 위치되어 있다. 따라서, IAPB57은 아이소형 1, 2, 4에 대해서는 유사한 친화도로 결합하고, 아이소형 3에 대해서는 항체와 아이소형 3 사이의 수소 결합 상호작용의 손실로 인해 더 낮은 친화도로 결합할 것으로 예측된다.

구체적으로, R286-Y94^L, R286-V91^L, D289-Y54^H, 및 T291-T33^H 수소 결합은 IAPB57 / 아이소형 3 복합체에서 파괴될 수 있다.

[0423] 실시예 9: IgG4 S228P, L234A, L235A에서 이중특이성 포맷의 IL1RAP 및 CD3 항체의 제조

[0424] 단일특이성 IL1RAP 항체들 중 15개(표 6 참조)를, Fc 치환 S228P, L234A, 및 L235A 또는 S228P, L234A, L235A, F405L, 및 R409K(CD3 아암)(넘버링은 EU 인덱스에 따름)를 갖는 IgG4로서 발현시켰다. 서열 번호 92의 VH 및 서열 번호 93의 VL을 갖는 VH 및 VL 영역 및 S228P, L234A, L235A, F405L, 및 R409K 치환을 갖는 IgG4 불변 영역을 포함하는 단일특이성 항-CD3 항체 CD3B220을 또한 생성하였다.

[0425] 이들 단일특이성 항체를 단백질 A 컬럼(HiTrap MabSelect SuRe 컬럼)을 사용하여 표준 방법을 사용하여 정제하였다. 용출 후, 폴들을 D-PBS(pH 7.2) 내로 투석하였다.

[0426] (국제 특허 출원 공개 W02011/131746호에 기재된 바와 같이) 시험관내 Fab 아암 교환으로 단일특이성 CD3 mAb와 단일특이성 IL1RAP mAb를 조합함으로써 이중특이성 IL1RAP × CD3 항체를 생성하였다. 간략하게 말하면, PBS(pH 7 내지 7.4) 및 75 mM 2-메르캅토에탄올아민(2-MEA) 중에서 항-IL1RAP/항-CD3 항체를 약 1 내지 20 mg/mL로 1.08:1 몰비로 함께 혼합하고 2 내지 6시간 동안 25 내지 37°C에서 인큐베이션한 후, 표준 방법을 사용하여 투석, 투석여과, 접선 유동 여과 및/또는 스핀 세포 여과를 통해 2-MEA를 제거하였다.

[0427] IL1RAP × CD3 이중특이성 Ab에 대한 중쇄 및 경쇄가 하기 표 10에 나타나 있다.

[0428] [표 10]

이중특이성 Ab IgG4-PAA 에 대한 중쇄 및 경쇄 서열

Ab		아미노산 서열
IC3B1	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPAPAEAAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN SYRVSFLTVLHQQDLWGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTSKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	경쇄 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLVSPGGTVILTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYNSLWVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETITPSKQSNKKAASSYLSLTPEQWKSRSYSQCVTHEGS TVEKTVAPTECS
	중쇄 2 IAPB47 (서열 번호 68)	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISKSGSYFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGII YPSDSYTRYSPFGQGVTVISADKSISTAYLQWSSSLKASDTAMYYCARRNSA ENYADLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPAPAEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSFL TVLHQQDLWGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	경쇄 2 IAPB47 (서열 번호 69)	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQISNDLNWYQKPGKAPKILLIYYASS LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDFATYYCQQSFTAPLTFGQGTWVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
IC3B2	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPAPAEAAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN SYRVSFLTVLHQQDLWGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTSKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	경쇄 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLVSPGGTVILTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYNSLWVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETITPSKQSNKKAASSYLSLTPEQWKSRSYSQCVTHEGS TVEKTVAPTECS

[0429]

	중재 2 IAPB38 (서열 번호 70)	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPGKGLEWVSG INYGGSKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDY GPFALDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTITCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	경재 2 IAPB38 (서열 번호 71)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDWLAWYQQKPGQAPRLIYTAS NRATGPARFSGSGSGTDFTLTISSELEDFAVYYCQYHHWPLTFGQGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
IC3B3	중재 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNGFNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TKITYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN TYRVVSVLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD DGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	경재 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTARFSGSLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYNSNLWVFG GGTKLTVLQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS
	중재 2 IAPB57 (서열 번호 72)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSTYYWGWRQPPGKLEWIGSI YFTGSDYNPGLSKSRVSISSVDTSKNQFSLKLSSTVAADTAVYYCAKEDDSSG YYSFYWGQGNLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTITCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	경재 2 IAPB57 (서열 번호 73)	DIQLTQSPFLSASVGRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAAS LQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQVNSYPLTFGGGTKEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
IC3B4	중재 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNGFNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TKITYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAAGGPSVFLFPPKPK

[0430]

		DTLMSRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쇄 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLICRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	중쇄 2 IAPB61 (서열 번호 74)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGVSSSTYYWGWLQPPGMGLEWTGSIYFTGNTYYNPSLKSRTISVDTSRNQFSLKLSSTVTAADTAVYYCGSLFGDYGYFDYWGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쇄 2 IAPB61 (서열 번호 75)	EIVMTQSPATLSVPPGERATLSCRASQFISNLAWYQKPGQAPRLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLSQSEDFAVYYCQYNNWPSFTFGPTKVDIRKTVAAPSVFIFFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
IC3B5	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQASGKLEWVGRIIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쇄 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLICRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	중쇄 2 IAPB62 (서열 번호 76)	QVQLVQSGSELKPKGASVKVSCASGYTFNTYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGGTGRFVFLSDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARRYFDWLLGAFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

[0431]

	경쟁 2 IAPB62 (서열 번호 77)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISWLAWYQOKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQANSFPLTFGGGTKE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
IC3B6I	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNFGNSYVSWFAYWGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD DGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쟁 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQOKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS
	중쇄 2 IAPB3 (서열 번호 78)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMG GISAFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNS FHALWDYAFDYWGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTY TCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쟁 2 IAPB3 (서열 번호 79)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKYNLAWYQOKPGQPPK LLIYWASTRESGVDRFSGSGGTDFLTISLQAEDVAVYYCQYYSTPLT FGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
IC3B7	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNFGNSYVSWFAYWGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD DGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쟁 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQOKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS

[0432]

	중쇄 IAPB17 (서열 번호 80)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMG GIIPFGNANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARTIY LDYVHILDYWGQGTILVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTITYC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
	경쇄 IAPB17 (서열 번호 79)	DIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNLYLAWYQQKPGQPPK LLIYWASTRESGVPDFRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPLT FGQGTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNREGC
IC3B8	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNFGNSYVSWFAYWGQGTILVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPETVCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
	경쇄 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLVSPGGTITLTCRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GINKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGGAQPEDEAEYICALWYNLWVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETITPSKQSNKKAASSYLSLTPEQWKSRRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS
	중쇄 IAPB23 (서열 번호 81)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVS AIRYDGGSKYYADSVKGRFTISRDNSTNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKD AYPPYSFDYWGQGTILVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTITYC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
	경쇄 IAPB23 (서열 번호 82)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTIV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
IC3B9	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNFGNSYVSWFAYWGQGTILVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPK

[0433]

		DTLMSRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
	경쇄 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKNYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS
	중쇄 IAPB25 (서열 번호 83)	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAI SGSGGSGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGDE YYYPDLDYWGQGITLVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDITLMISR TPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
	경쇄 IAPB25 (서열 번호 84)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSSISYLNWYQKPKGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGQGTQVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTK SFNRGEC
IC3B10	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWRQASGKGLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTIAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNGFNYSYVWFAYWGQGITLVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TKTYTCNVDDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMSRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
	경쇄 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKNYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS
	중쇄 IAPB29 (서열 번호 85)	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGSGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEWS SYFGLDYWGQGITLVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNV DVKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDITLMISR TPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

[0434]

	경쇄 IAPB29 (서열 번호 84)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGQGTKEVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
IC3B11	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTIVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNS TYRVVSVLTIVLHQQDWLNGKEYCKKVSNGKLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쇄 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSLNWVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS
	중쇄 2 IAPB9 (서열 번호 86)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMG WISPIFGTANYAQKFQGRVITADESTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRYD NFAISGDLIDYWGQGLTIVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKTYT CNVDHKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVS VLTIVLHQQDWLNGKEYCKKVSNGKLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쇄 2 IAPB9 (서열 번호 84)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGQGTKEVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
IC3B12	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTIVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNS TYRVVSVLTIVLHQQDWLNGKEYCKKVSNGKLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쇄 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSLNWVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS

[0435]

	중쇄 2 IAPB55 (서열 번호 74)	QLQLQESGGLVKPSETLSLTCTVSGVSSISSTYYWGWLQPPGMGLEWTG SIYFIGNTYYNP SLKSRVTISVDTSRNQFSLKLSSTAAADTAVYYCGSLFGD YGYFDYWGQGTILVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTYTCNV HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	경쇄 2 IAPB55 (서열 번호 87)	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQFISNLAWYQQKPGQAPRLIYGAS TRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDAVYYCQQYNWPFPGTKV DIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
IC3B13	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNFGNSYVSWFAYWGQGTILVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	경쇄 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYICALWYNSLWVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSQVTHEGS TVEKTVAPTECS
	중쇄 2 IAPB63 (서열 번호 76)	QVQLVQSGSELKPKGASVKVSCASGYTFNTYAMNWVRQAPGQGLEWM GWINTNTGNPTIYAQGGTGRFVSLDTSVSTAYLQISLKAEDTAVYYCARR YFDWLLGAFDIWGQGTMTVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTY TCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	경쇄 2 IAPB63 (서열 번호 88)	QSALTQPRSVSGSPGHSVTISCTGTSSDVGDNVYVSWYQQRPGKVPKLLIY DVSKRPSGVPRFSGSGSGNTASLTISGLQAEDEAIYFCASYAGNINNVFGG GTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSQVTHEGST VEKTVAPTECS
IC3B14	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKLEWVG RIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCT RHGNFGNSYVSWFAYWGQGTILVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK

[0436]

		DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
	경쇄 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSAQPEDEAEYYCALWYNSLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	중쇄 2 IAPB64 (서열 번호 76)	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFNTYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGGFTGRFVFLSDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARRYFDWLLGAFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPAPAEAGGPSVFLFPPKPKDTLMI
	경쇄 2 IAPB64 (서열 번호 89)	QSALTQPRSVSGSPGHSVTISCTGTSSDVGDNVYVSWYQQRPGKVPKLLIYDVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDAEIYFCSSYAGNYNVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
IC3B15	중쇄 1 CD3B220 (서열 번호 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNGFNSYVSWFAFWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPAPAEAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
	경쇄 1 CD3B220 (서열 번호 93)	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSAQPEDEAEYYCALWYNSLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	중쇄 2 IAPB65 (서열 번호 90)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGDTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGISAIFGTANYAQKFQGRVTITADESTAYMELSSLSRSEDYAVYYCARHLHNAIHLDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPAPAEAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
	경쇄 2 IAPB65 (서열 번호 91)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATGIPARFSGSGGTDFLTISSELEDFAVYYCQQKGHWPFQGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0437]

[0438]

[0439]

실시예 10. IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 상에서의 항-IL1RAP 친화도 결정

표면 플라즈몬 공명(SPR)을 사용하여 인간 및 사이노 IL1RAP에 대한 15개의 IL1RAP×CD3 이중특이성 Ab의 친화도 값을 측정하였다. 하기 프로토콜은 실시예 5에 기재된 것과 유사하였다. 결과는, 이들 IL1RAP × CD3 이중특이성 Ab가 인간 IL1RAP ECD에 대해서는 34 pM 내지 29.7 nM의 결합 친화도(표 11)를 그리고 사이노 IL1RAP ECD에 대해서는 86 pM 내지 27.8 nM의 결합 친화도(표 12)를 가짐을 나타내었다. 그러나, 하나의 분자, IC3B3은 인간 및 사이노 IL1RAP ECD 둘 모두에 대해 약한 결합을 나타내었다. 모든 우수한 바인더에 대한 인간과 사이노의 친화도의 비교는 그들이 서로 5배 이내에서 결합되었음을 나타내었다(표 13).

[0440] [표 11]

제조합 인간 IL1RAP ECD(1.2 내지 100 nM)에 결합하는 IL1RAPxCD3 이중특이성 Ab에 대한 속도론적 친화도의 요약. 이 표에 기록된 파라미터는 1:1 랭뮤어 결합 모델로부터 획득하였다. 친화도, $KD = kd/ka$.

이중특이성	단백질 설명	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
IC3B1	IAPB47xCD3B220	6.97E+05	7.59E-04	1.09E-09
IC3B2	IAPB38xCD3B220	1.12E+05	8.27E-04	7.36E-09
IC3B3	IAPB57xCD3B220	8.75E+05	2.98E-05	3.40E-11
IC3B4	IAPB61xCD3B220	1.15E+06	1.29E-02	1.12E-08
IC3B5	IAPB62xCD3B220			약한 결합
IC3B6	IAPB3xCD3B220	1.67E+05	3.81E-04	2.29E-09
IC3B7	IAPB17xCD3B220	1.08E+06	6.59E-03	6.10E-09
IC3B8	IAPB23xCD3B220	3.00E+05	2.98E-03	9.96E-09
IC3B9	IAPB25xCD3B220	1.84E+06	5.47E-02	2.97E-08
IC3B10	IAPB29xCD3B220	3.84E+05	1.83E-03	4.77E-09
IC3B11	IAPB9xCD3B220	7.76E+05	3.54E-03	4.56E-09
IC3B12	IAPB55xCD3B220	1.15E+06	3.61E-04	3.13E-10
IC3B13	IAPB63xCD3B220	9.38E+05	1.14E-04	1.22E-10
IC3B14	IAPB64xCD3B220	6.95E+05	1.71E-04	2.46E-10
IC3B15	IAPB65xCD3B220	3.43E+05	3.95E-03	1.15E-08

[0441]

[0442] [표 12]

제조합 사이노 IL1RAP ECD(1.2 내지 100 nM)에 결합하는 IL1RAPxCD3 이중특이성 Ab에 대한 속도론적 친화도의 요약. 이 표에 기록된 파라미터는 1:1 랭뮤어 결합 모델로부터 획득하였다. 친화도, $KD = kd/ka$.

이중특이성	단백질 설명	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
IC3B1	IAPB47xCD3B220	1.11E+06	2.36E-04	2.12E-10
IC3B2	IAPB38xCD3B220	1.32E+05	2.23E-03	1.69E-08
IC3B3	IAPB57xCD3B220	9.52E+05	8.20E-05	8.61E-11
IC3B4	IAPB61xCD3B220	1.46E+06	1.48E-02	1.02E-08
IC3B5	IAPB62xCD3B220			약한 결합
IC3B6	IAPB3xCD3B220	1.80E+05	5.40E-04	2.99E-09
IC3B7	IAPB17xCD3B220	1.23E+06	5.83E-03	4.74E-09
IC3B8	IAPB23xCD3B220	4.48E+05	1.21E-03	2.70E-09
IC3B9	IAPB25xCD3B220	1.91E+06	5.30E-02	2.78E-08
IC3B10	IAPB29xCD3B220	2.48E+05	3.83E-04	1.54E-09
IC3B11	IAPB9xCD3B220	7.76E+05	4.09E-03	5.27E-09
IC3B12	IAPB55xCD3B220	1.52E+06	3.31E-04	2.18E-10
IC3B13	IAPB63xCD3B220	1.18E+06	5.32E-04	4.51E-10
IC3B14	IAPB64xCD3B220	8.64E+05	8.58E-04	9.93E-10
IC3B15	IAPB65xCD3B220	3.79E+05	3.44E-03	9.08E-09

[0443]

[0444] [표 13]

IL1RAPxCD3 이중특이성 Ab의 인간과 사이노 결합 친화도의 비교. 1.2 내지 100 nM에서 인간 및 사이노 IL1RAP를 시험. 친화도, $KD = kd/ka$.

이중특이성	단백질 설명	인간 KD (M)	사이노 KD (M)	인간/사이노 KD 비
IC3B1	IAPB47xCD3B220	1.09E-09	2.12E-10	5.1
IC3B2	IAPB38xCD3B220	7.36E-09	1.69E-08	0.4
IC3B3	IAPB57xCD3B220	3.40E-11	8.61E-11	0.4
IC3B4	IAPB61xCD3B220	1.12E-08	1.02E-08	1.1
IC3B5	IAPB62xCD3B220	약한 결합	약한 결합	NA
IC3B6	IAPB3xCD3B220	2.29E-09	2.99E-09	0.8
IC3B7	IAPB17xCD3B220	6.10E-09	4.74E-09	1.3
IC3B8	IAPB23xCD3B220	9.96E-09	2.70E-09	3.7
IC3B9	IAPB25xCD3B220	2.97E-08	2.78E-08	1.1
IC3B10	IAPB29xCD3B220	4.77E-09	1.54E-09	3.1
IC3B11	IAPB9xCD3B220	4.56E-09	5.27E-09	0.9
IC3B12	IAPB55xCD3B220	3.13E-10	2.18E-10	1.4
IC3B13	IAPB63xCD3B220	1.22E-10	4.51E-10	0.3
IC3B14	IAPB64xCD3B220	2.46E-10	9.93E-10	0.2
IC3B15	IAPB65xCD3B220	1.15E-08	9.08E-09	1.3

[0445]

[0446] 실시예 11: 경쟁 비닝 검정(Competition Binning Assay):

[0447] 이 검정은 포획 시약과 검출 시약 둘 모두로서 개별적으로 15개의 생성된 IL1RAPxCD3 이중특이성 Ab의 패널의 평가를 허용하는데, 이는 항체들의 나머지가 패널에 있는 상태에서 행해진다. 서로 효과적인 포획/검출 시약을 형성하는 항체들은 이론적으로 단량체 단백질 상의 공간적으로 분리된 에피토프들을 인식하여, 둘 모두의 항체가 동시에 표적 단백질에 결합할 수 있게 한다. 전체 패널에 걸쳐 유사한 활성 패턴을 나타내는 항체들의 그룹은 유사한 에피토프들에 결합하는 것으로 가정된다. 따라서, 상이한 그룹들로부터 클론들을 선택하는 것은, 상이한 에피토프들을 인식하는 항체들을 제공할 것이다.

[0448] 이중특이성 Ab를 GLC 센서(BioRad) 상에 직접 고정화하였다. 경쟁 샘플(300 nM)을 30 nM의 hIL1RAP-ECD와 함

게 4시간 동안 사전 인큐베이션한 후, 5분 동안 칩 표면 위로 주사하여 회합을 가능하게 하였다. 이어서, 해리를 5분 동안 모니터링하였다. 대부분의 빈 1 및 빈 2로 그룹화된 분자들, 및 그룹 구성원들은 서로 경쟁하지 않았다(표 14 참조). 이는 그들의 결합 에피토프에 중첩이 없었음을 나타낸다. 빈 3은 2개의 구성원을 가지며, 한편 빈 4 내지 빈 7은 각각 1개의 구성원을 갖는다. 벤 다이어그램은 에피토프 그룹의 경쟁 프로파일의 요약을 나타낸다(도 5). 에피토프 그룹들이 교차하는 경우, 항체들은 경쟁한다. 그렇지 않으면, 이들은 인간 IL1RAP에 대하여 경쟁하지 않는다. 여기서 도출된 결론은 대부분 센서 상의 Set1(B1, B3, B6, B9, B12, B13)과의 경쟁으로부터 비롯되었음에 유의해야 하는데, Set1은 그들의 강한 결합 친화도에 기인하는 명백한 결과를 제공하였다. 센서 상의 Set2(B2, B4, B8, B10, B11, B15)로부터의 경쟁은 그들의 약한 결합 친화도로 인해 훨씬 더 약하였으며, 빈 7은 이 세트로부터 유래된다.

[0449] [표 14]

15 개의 IL1RAPxCD3 이중특이성 Ab 의 에피토프 비닝의 요약. 임의의 하나의 에피토프 그룹의 구성원들은 동일한 경쟁 프로파일을 갖는다.

에피토프 그룹 빈 번호	이중특이성 Ab
1	IC3B1, IC3B2, IC3B8, IC3B10
2	IC3B4, IC3B5, IC3B12, IC3B13, IC3B14
3	IC3B3, IC3B9
4	IC3B6
5	IC3B11
6	IC3B15
7	IC3B7

[0450]

[0451] 실시예 12: 세포 사멸 기능 검정에서 이중특이성 항체의 평가

[0452] T-세포 매개 세포독성 검정은 건강한 공여자로부터의 T-세포를 사용하여 세포 용해에 대한 IL1RAP × CD3 이중특이성 Ab를 평가하기 위한 기능 검정이다.

[0453] Laszlo 등의 프로토콜을 따랐다(문헌[Laszlo, G., et al 2014 BLOOD 123:4, 554-561]). 간단하게 말하면, 이펙터 세포를 수집하고, 계수하고, 세척하고, RPMI(10% FBS) 세포 배지 중에 1×10^6 개 세포/mL로 재현탁하였다. 표적 세포(MV4-11, SKNO-1, 및 OCI-AML5)를 CFSE(Invitrogen 번호 C34554)로 표지화하고, 10% FBS(Invitrogen 번호 10082-147)를 함유하는 RPMI(Invitrogen 번호 61870-036) 중에 2×10^5 개 세포/mL로 재현탁하였다. 이펙터 및 CFSE-표지화된 표적 세포를 멸균 96웰 둥근바닥 플레이트에서 이펙터 대 표적(E:T) 비 = 5:1로 혼합하였다. 각각의 이중특이성 항체의 5 μ L 분취물을 다양한 농도를 함유하는 각각의 웰에 첨가하였다. 배양물을 5% CO₂ 하에서 37°C에서 48시간 동안 인큐베이션하였다. 48시간 후에, LIVE/DEAD® 고정가능 근적외 사세포 염색(Fixable Near-IR Dead Cell Stain) 완충액(Life Technologies 카탈로그 번호 L10119)을 샘플에 첨가하고, 배양물을 실온에서 암소에서 20분 동안 인큐베이션하고, 세척하고, 170 μ L의 FACS 완충액 중에 재현탁하였다. CANTO II 유세포측정기(BD Biosciences)를 사용하여 약물-유도 세포독성을 결정하였으며, FlowJo 소프트웨어 또는 Dive 소프트웨어(BD Biosciences)를 사용하여 분석하였다. 관심 집단은 이중 양성 CFSE+/ 생/사+ 세포이다.

[0454] 37°C, 5% CO₂에서 48시간 인큐베이션 후의 AML 세포주들 중 하나(MV4-11; 도 6)의 T-세포 매개 세포 용해의 결과가 나타나 있다.

[0455] IAPB61 및 IAPB25를 제외한 모든 IL1RAP 항체는, 이중특이성 포맷으로 항-CD3 항체와 조합될 때, 3개의 상이한 T 세포 공여자에서 48시간제에 IL1RAP+ MV4-11 세포의 T 세포 방향전환 세포성 세포독성을 유도한다. 표 14는 IL1RAPxCD3 다중특이성 항체에 대해 생성된 EC₅₀ 값을 요약한다.

[0456] 실시예 13: IL1RAPxCD3 이중특이성 Ab의 생화학적 특성의 요약

[0457] 세포성 세포독성 및 생화학적 검정으로부터의 결과를 수집하였다(표 15). 인간/사이노-단독 바인더를 포함한 총 4개의 이중특이성 항체 IC3B1, IC3B13, IC3B3, 및 IC3B12가 바람직한 특성을 가졌다. 이들 선택물은 3개의 상이한 에피토프 빈에 걸쳐 있었고, IC3B1을 제외한 전부는 서브-nM 범위에서 IL1RAP 친화도를 가졌다. 추가적으로, 4개의 이중특이성 Ab 중 2개는 항체 포맷에서 중화 기능을 나타내었다.

[0458] [표 15]

상위 15 개의 IL1RAP × CD3 후보에 대한 2 차 검증 및 스크리닝 데이터의 요약

이중특이성	단백질 설명	경쟁 빈	유린 바인더	중화제	친화도 (nM)		EC50 (nM)
					인간	사노	
IC3B1	IAPB47xCD3B220	1	6 배 약함		1.09	0.212	0.049 ^b
IC3B2	IAPB38xCD3B220	1	X		7.36	16.9	0.077
IC3B8	IAPB23xCD3B220	1			9.96	2.70	0.138
IC3B10	IAPB29xCD3B220	1	X		4.77	1.54	0.124
IC3B4	IAPB61xCD3B220	2			11.2	10.2	ND
IC3B5	IAPB62xCD3B220	2			약한 결합	약한 결합	ND
IC3B12	IAPB55xCD3B220	2			0.313	0.218	1.30
IC3B13	IAPB63xCD3B220	2		X ^a	0.122	0.451	0.054 ^b
IC3B14	IAPB64xCD3B220	2		X ^a	0.246	0.993	0.100
IC3B3	IAPB57xCD3B220	3		X	0.034	0.086	0.131 ^b
IC3B9	IAPB25xCD3B220	3			29.7	27.8	ND
IC3B6	IAPB3xCD3B220	4			2.29	2.99	0.490
IC3B11	IAPB9xCD3B220	5	X		4.56	5.27	1.32
IC3B15	IAPB65xCD3B220	6			11.5	9.08	0.940
IC3B7	IAPB17xCD3B220	7	X		6.10	4.74	3.40

^aIAPB54 모체와 동일한 기능적 활성을 갖는 것으로 추정됨.

^b값은 2 회 측정의 평균이다.

[0459]

[0460]

따라서, Fc 치환 S228P, L234A, 및 L235A(넘버링은 EU 인덱스에 따름)를 갖는, IgG4로서 발현된 이들 IAPB47, IAPB55, IAPB63 및 IAP57은 서열 번호 94의 VH 및 서열 번호 95의 VL을 갖는 VH 및 VL 영역 및 S228P, L234A, L235A, F405L, 및 R409K 치환을 갖는 IgG4 불변 영역을 포함하는 항-CD3 항체 CD3B219와 쌍을 이루었다.

[0461]

실시예 9와 유사하게, (국제 특허 출원 공개 W02011/131746호에 기재된 바와 같이) 시험관내 Fab 아암 교환으로 CD3B219 mAb와 단일특이성 IL1RAP mAb를 조합함으로써 이중특이성 IL1RAP × CD3 항체를 생성하였다.

[0462]

IL1RAP × CD3 이중특이성 Ab에 대한 중쇄 및 경쇄가 하기 표 16에 나타나 있다.

[0463]

[표 16]

항-CD3 항체 CD3B219를 포함하는 이종특이성 Ab IgG4-PAA에 대한 중쇄 및 경쇄 서열

Ab		아미노산 서열
IC3B16	중쇄 1 CD3B219(서열 번호 94)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS KYNNTATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNFG NSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDPHK PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHREALHNYHTQKSLSLSLGK
	경쇄 1 CD3B219(서열 번호 95)	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTN KRAPGTARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLT VLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG VETTPSKQSNNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	중쇄 2 IAPB47(서열 번호 68)	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGHIYPS DSYTRYSPSFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRNSAENYADL DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDPHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH ALHNYHTQKSLSLSLGK
	경쇄 2 IAPB47(서열 번호 69)	EIVLTQSPGTLSTLSPGERATLSCRASQISNDLNWYQQKPGKAPKLLIYYASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTINSIQPEDFAITYCQQSFTAPLTFGQGTKEIKRTVA APSVFIPTPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
IC3B17	중쇄 1 CD3B219(서열 번호 94)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS KYNNTATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNFG NSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDPHK PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHREALHNYHTQKSLSLSLGK
	경쇄 1 CD3B219(서열 번호 95)	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTN KRAPGTARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLT VLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG VETTPSKQSNNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	중쇄 2 IAPB55(서열 번호 74)	QLQLQESGGLVKPSETLSLTCTVSGVSISSSTYYWGWLQPPGMGLEWTGSIY FTGNTYYNPSLKSRTVISVDSRNQFSLKLSVTAADTAVYYCGSLFGDYGYFD YWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDPHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH ALHNYHTQKSLSLSLGK
	경쇄 2 IAPB55(서열 번호 87)	EIVMTQSPATLVSPGERATLSCRASQFISSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPFTFGPGTKVDIKRTV AAPSVFIPTPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0464]

IC3B18	중쇄 1 CD3B219(서열 번호 94)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTNTYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쇄 1 CD3B219(서열 번호 95)	QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNRKAPGTPARFSGSLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYNSLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	중쇄 2 IAPB63(서열 번호 76)	QVQLVQSGSELKPKGASVKVSCASGYTFNTYAMNWVRQAPGQGLEWMGWIINTNTGNPTYAQGTGRFVFLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARRYFDWLLGAFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쇄 2 IAPB63(서열 번호 88)	QSALTQPRSVSGSPGHSVTISCTGTSSDVGDNVYVSWYQQRPGKVPKLLIYDVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDAIFYFCASYAGNINNVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
IC3B19	중쇄 1 CD3B219(서열 번호 94)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTNTYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쇄 1 CD3B219(서열 번호 95)	QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNRKAPGTPARFSGSLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYNSLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	중쇄 2 IAPB57(서열 번호 72)	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSISSTYYWGWRQPPGKLEWIGSIYFTGSTDYNPSLKSRSISVDTSKNQFSLKSSVTAADTAVYYCAKEDDSSGYYSFDYWGQGLNLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
	경쇄 2 IAPB57(서열 번호 73)	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASQGISYLAWYQKPKGAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSFGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQVNSYPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

실시예 14: IC3B18 및 IC3B19에 의한 IL1 신호전달

IL1RAP × CD3 이중특이성 항체를 임의의 효능제 또는 길항제 활성화에 대하여 평가하였다. InvivoGen으로부터의 HEK-Blue™ IL-1β 세포를 0.1 ng/mL의 재조합 인간(rh) IL-1β의 부재 하에서 또는 존재 하에서 100 μg/mL(10 배 희석물들)의 농도의 항체와 함께 인큐베이션하였다. HEK-Blue™ IL-1β 세포는 NF-κB 및 AP-1 경로의 활성화화를 모니터링함으로써 생물활성 IL-1β의 검출을 가능하게 한다. 이것은 TNF-α 반응이 차단된 HEK-Blue™ TNF-α/IL-1β 세포로부터 유래된다. 따라서, HEK-Blue™ IL-1β 세포는 IL-1β에 특이적으로 반응한다. 이것은 NF-κB/AP-1-유도성 분비 배아 알칼리성 포스포타제(secreted embryonic alkaline phosphatase, SEAP) 리포터 유전자를 발현한다. HEK-Blue™ IL-1β 세포의 표면 상에서의 IL-1β의 그의 수용체 IL-1R에 대한 결합은 NF-κB의 활성화 및 SEAP의 후속 생성으로 이어지는 신호전달 캐스케이드를 촉발시킨다.

1 ng/mL rhIL-1β의 존재 하에서, IC3B18 및 IC3B19뿐만 아니라, 그들 각각의 IL1RAP 널 아암 대조군 IAPB100(IAPB63 × B23B49) 및 IAPB101(IAPB57 × B23B49)은 24시간째에 NF-κB 리포터 활성을 억제하였다. CD3 널 아암 대조군 CTO 7008(B23B39 × CD3B219)은 어떠한 시험 농도에서도 길항적 활성을 갖지 않았다(도 7a). IC3B18, IC3B19, 각각의 IL1RAP 널 아암 대조군 IAPB100 및 IAPB101, 및 CD3 널 아암 대조군 CTO 7008은 rhIL-1β의 부재 하에서 시험될 때 거의 내지 전혀 효능제 활성을 갖지 않았다(도 7b). 추가적으로, IC3B16 및 널 아암 대조군 IAPB99는 어떠한 시험 농도에서도 길항적 활성을 갖지 않았다.

실시예 15: 세포성 세포독성 기능 검정에서 IC3B18 및 IC3B19의 평가

IC3B18 및 IC3B19에 의한 T-세포 매개 세포독성을 IL1RAP 양성 발현 AML 세포주(MOLM-13, MV4-11, SKNO-1 및 OCI-AML-5) 및 IL1RAP 음성/저 발현 미만성 대 B-세포 림프종 세포주(SU-DHL-10)를 사용하여 평가하였다. 앞서

실시에 12에 기재된 프로토콜을 따랐다.

[0471] 평가된 5개의 pan-T 세포 공여자 중 하나로서 pan T 세포 공여자 M7287이 제시되어 있다(도 8 및 도 9). IC3B18 및 IC3B19 둘 모두는 IL1RAP⁺ AML 세포주 Molm-13, MV4-11, SKNO-1, OCI-AML5의 T-세포 매개 세포성 세포독성을 유도하지만, IL1RAP 음성/저 발현 B-세포 림프종 세포주 SU-DHL-10에서는 그렇지 않다. 대조 항체 (CNT0 7008, IAPB100, 및 IAPB101)는 전체 T-세포 매개 종양 세포성 세포독성을 갖지 않았다.

[0472] **실시예 16: IC3B18 및 IC3B19에 의한 생체의 세포독성**

[0473] 생체의 자가 단핵구 세포독성 검정

[0474] 이전에, 정상 인간 단핵구(CD14⁺)는 세포의 표면 상에서 IL1RAP의 발현을 갖는 것으로 밝혀졌다(문헌[Jarasa, M et al. (2010) PNAS. 107: 16280-16285])). IC3B18 및 IC3B19의 세포독성 잠재성을 평가하기 위하여, 단리된 자가(동일한 공여자) CD3⁺ T-세포 및 CD14⁺ 단핵구를 5:1 이펙터(T-세포) : 표적(단핵구) 비로 사용하고, 이들 분자의 잠재적 비특이적 Fc 결합을 감소시키기 위하여 Fc 차단제를 사용하여, 생체의 세포독성 검정을 수행하였다. 도 10에서의 데이터는 IC3B18 및 IC3B19가 48시간 후에 IL1RAP⁺ 단핵구를 특이적으로 사멸하지만(% CD14⁺ 세포독성으로 나타냄), 널 아암 대조군은 거의 또는 전혀 세포독성을 갖지 않았음을 보여주며; 데이터는 4개의 개별 정상 인간 혈액 공여자에 대해 수행된 2회 실험을 대표한다.

[0475] 생체의 전혈 SKNO-1 세포독성 검정

[0476] 생리학적인 수준의 가용성 IL1RAP의 존재 하에서의 IC3B18 및 IC3B19의 세포독성 잠재성을 추가로 평가하기 위하여, IL1RAP⁺ AML 세포주 SKNO-1이 외인적으로 첨가된 정상적인 건강한 인간 전혈을 사용하는 생체의 세포독성 검정을 이용하였다. 도 11에서의 데이터는 IC3B18 및 IC3B19 둘 모두가 24시간 및 48시간째에 SKNO-1 세포의 세포성 세포독성을 특이적으로 유도함을 나타낸다. 추가적으로, 24시간 내지 48시간에서 세포독성뿐만 아니라 EC₅₀(nM) 값은 증가하였다. 널 아암 대조군 CNT0 7008(널 × CD3)을 음성 이중특이성 항체 대조군으로서 사용하였다. 널 아암 대조군은 SKNO-1 세포의 세포독성 활성을 거의 내지 전혀 나타내지 않았다. 총 7개의 상이한 정상적인 건강한 인간 공여자에 대한 2가지 별개의 연구를 이들 분자에 대해 실시하였다. 도 11에서의 데이터는 IC3B18 및 IC3B19가 48시간 후에 시험관내에서 IL1RAP⁺ 세포주를 특이적으로 사멸함을 보여준다(세포독성의 %로 나타냄; 데이터는 상이한 T 세포 공여자들에 대해 행해진 5회 실험의 대표임). 각각의 세포주 및 공여자에 대한 EC₅₀ 값이 표 17에 나타나 있다.

[0477] [표 17]

분석된 각각의 정상적인 건강한 공여자 혈액에서의 세포독성에 대해 분석된 SKNO-1 세포에 대한 EC₅₀ 값.

전혈 공여자	IC3B18 EC ₅₀ (nM)		IC3B19 EC ₅₀ (nM)	
	24 시간	48 시간	24 시간	48 시간
27067	1.112	0.337	0.912	0.647
00201	8.619	0.704	3.583	0.703
27060	2.500	0.516	1.878	1.302
00263	0.400	0.580	1.505	0.768
32782	NA ¹	0.650	NA ¹	1.621
27050	NA	2.035	1.384	3.361
32771	1.943	NA ¹	1.675	NA ¹
평균 EC₅₀ (nM)	2.915	0.804	1.823	1.400
표준 편차	3.287	0.616	0.922	1.035

[0478]

[0479] AML 1차 샘플에서의 생체의 IC3B18 및 IC3B19 매개 아세포의 감소 및 T-세포 활성화

[0480] IC3B18 및 IC3B19의 세포독성 잠재성을 평가하기 위하여, AML 공여자 전혈을 사용하여 생체의 세포독성 검정을 수행하였다(도 12). 이 검정에서는, 다양한 이중특이성 항체들을 추가의 T-세포를 제공하지 않고서 24시간 동안 AML 공여자로부터의 희석된 전혈에 첨가하였는데, 이는, 이 검정이 공여자의 혈액 중의 자가 T-세포의 존재에 의존하기 때문이다. 세포독성의 정도는, 이중특이성 항체의 존재 하에서 분획 내의 IL1RAP⁺ 세포를 정량화하고, 그것을 % 세포독성으로서 표현함으로써 결정되었다. T-세포 활성화는 CD69의 발현에 의해 평가하였다(도 시됨).

[0481] 도 12에 도시된 바와 같이, IC3B18 및 IC3B19는 24시간 후에 T-세포 활성화와 상관된 총 세포독성의 용량-의존

적 감소를 촉진시켰다. 널 아암 대조 항체는 종양 세포성 세포독성 또는 T-세포 활성화를 나타내지 못하였다. 이 결과는 또한 IC3B18 및 IC3B19 항체 둘 모두가 자가 환경에서 작용함을 나타낸다. 이 실험을 또한 다른 AML 공여자 샘플을 사용하여 수행하였다. 단지 IC3B19 및 널 아암 대조 항체를 24시간째 및 48시간째 둘 모두에서 IL1RAP⁺ 세포성 세포독성에 대해 분석하였으며, 이들은 약 40% 최대 세포독성을 나타내고 24시간째 및 48시간째에 CD25 및 CD69 상향조절을 가져왔다(데이터는 도시되어 있지 않음).

[0482] 생체의 전혈 OCI-AML5 세포독성

[0483] OCI-AML5 세포주를 또한 동일한 생체의 전혈 검정에서 시험하였다. 도 13은 IC3B19가 48시간 후에 시험관내에서 IL1RAP⁺ OCI-AML5 세포를 특이적으로 사멸함을 보여준다(세포독성의 %로 나타냄; 데이터는 상이한 T 세포 공여자들에 대해 행해진 5회 실험의 대표임). 세포독성에 대한 평균 EC₅₀ 값(도 13a)은 3.132 nM이고, 활성화(도 13b)는 5.993 nM이었다. 널 아암 대조군 CNTO 7008(널 × CD3) 및 IAPB101(IL1RAP × 널)을 음성 대조 항체로서 사용하였으며, 이들은 세포독성 활성을 거의 내지 전혀 나타내지 않았다. 총 15개의 상이한 정상적인 건강한 인간 공여자를 이들 분자(ELN ref: IL1RAP×CD3 이중특이성-00425)에 대해 실시하였다. 이들 데이터는, IC3B19가 외인성 OCI-AML5 세포를 함유하는 전혈에 첨가될 때, IC3B19가 T-세포를 활성화 및 방향전환하여 세포독성을 유도할 수 있었음을 보여준다.

[0484] 실시예 17: IL1RAP에 대한 실험적 교차-반응성 평가

[0485] 실시예 4에 기재된 MSD 세포 결합 검정을 사용하여 IL1RAP 결합을 평가하였다. 스크리닝 검정의 목적은 IC3B18 및 IC3B19가 HEK-293F 모 대조군과 대비하여 세포주 HEK-293F 인간(클론 HE2) 및 사이노(클론 CB8) IL1RAP 전장(FL) 세포와 도메인(ECD)-발현 세포주에 특이적으로 결합하였는지의 여부를 특성화하는 것이었다. HEK-293F 마우스(클론 5) 및 래트(클론 1) 세포주의 사용을 또한 이용하여 종 교차-반응성을 확인하였다.

[0486] 결합 연구로부터의 결과가 도 13에 나타나 있다. IC3B18 및 IC3B19뿐만 아니라, IL1RAP 널 아암 대조군 IAPB100(IAPB63 × B23B49) 및 IAPB101(IAPB57 × B23B49)은 HEK-293F 인간 클론 HE2 및 사이노 클론 CB8 IL1RAP FL-ECD 세포주에 특이적으로 결합하였다. 항-MYC 양성 대조 항체는 각각의 세포주 상에서의 작제물의 발현을 검출하였다. CD3 널 아암 CNTO 7008(B23B39 × CD3B219) 및 I3CB15(인간 IgG4-PAA 널 아암 동종형 대조군)는 낮은 결합 발현을 가졌다. HEK-293F 모체, 마우스 클론 5, 및 래트 클론 1에 대한 IC3B18 및 IC3B19의 백그라운드 결합은 단지 검정된 최고 농도에서만 관찰되었다.

[0487] 실시예 18: PBMC-인간화 NSG 마우스에서의 OCI-AML5 인간 AML 이종이식편의 종양발생 예방에 있어서의 IC3B19의 항종양 효능

[0488] 이 연구는 PBMC 인간화 NSG 마우스에서의 OCI-AML5 인간 AML 이종이식편의 종양발생을 예방하는 데 있어서의 IC3B19의 효능을 평가하였다. 마우스에 매 200 μL 부피의 PBS 중 1×10^7 개의 인간 PBMC를 정맥 주사하였다. 일수 7에서, 마우스의 등쪽 옆구리에 OCI-AML5 인간 AML 세포(200 μL PBS 중 10×10^6 개 세포)를 피하 이식한 후, 5회의 용량을 위하여 대략 격일마다 PBS 또는 IC3B19를 정맥내 투여하였다. 일수 18 및 일수 21에서 PBS 처리와 대비하여, 통계학적으로 유의한 종양 성장 억제에 의해 밝혀진 바와 같이 인간 이펙터 세포의 존재 하에서 0.5 mg/kg의 IC3B19는 활성이 있었다($p < 0.0001$)(도 14).

[0489] 실시예 19: PBMC-인간화 NSG 마우스에서의 MOLM-13 인간 AML 이종이식편의 종양발생 예방에 있어서의 IC3B19의 항종양 효능

[0490] 이 연구는 PBMC 인간화 NSG 마우스에서의 MOLM-13 인간 AML 이종이식편의 종양발생을 예방하는 데 있어서의 IC3B19의 효능을 평가하였다. 마우스에 매 200 μL의 PBS 중 1×10^7 개의 인간 PBMC를 정맥 주사하였다. 일수 7에서, 마우스의 등쪽 옆구리에 MOLM-13 인간 AML 세포(200 μL PBS 중 1×10^6 개 세포)를 피하 이식한 후, 5회의 용량을 위하여 대략 격일마다 PBS 또는 IC3B19를 정맥내 투여하였다. 일수 8 및 일수 12에서 PBS 처리와 대비하여, 통계학적으로 유의한 종양 성장 억제에 의해 밝혀진 바와 같이 인간 이펙터 세포의 존재 하에서 0.05 mg/kg 및 0.5 mg/kg의 IC3B19는 활성이 있었다(일수 8: 각각 $p < 0.0001$, $p < 0.0001$, 및 $p < 0.0001$; 일수 12: 각각 $p < 0.0001$, $p < 0.0001$, 및 $p < 0.0001$)(도 15).

[0491] 실시예 20: PBMC-인간화 NSG 마우스에서의 MOLM-13 인간 AML 이종이식편의 종양발생 예방에 있어서의 IC3B18 및 IC3B19의 항종양 효능

- [0492] 이 연구는 PBMC 인간화 NSG 마우스에서의 MOLM-13 인간 AML 이종이식편의 종양발생을 예방하는 데 있어서의 IC3B18 및 IC3B19의 효능을 평가하였다. 마우스에 매 200 μ L의 PBS 중 1×10^7 개의 인간 PBMC를 정맥 주사하였다. 일수 7에서, 마우스의 등쪽 옆구리에 MOLM-13 인간 AML 세포(200 μ L PBS 중 1×10^6 개 세포)를 피하 이식한 후, 5회의 용량을 위하여 대략 격일마다 PBS, IC3B18, 또는 IC3B19를 정맥내 투여하였다. 일수 18 및 일수 21에서 PBS 처리와 대비하여, 통계학적으로 유의한 종양 성장 억제에 의해 밝혀진 바와 같이 인간 이펙터 세포의 존재 하에서 0.05 mg/kg 및 0.5 mg/kg의 IC3B19는 활성이 있었다(일수 18: 각각 $p < 0.0001$, $p < 0.0001$; 일수 21: 각각 $p < 0.0001$, $p < 0.0001$). 추가적으로, 일수 14, 일수 18, 및 일수 21에서 PBS 처리와 대비하여, 통계학적으로 유의한 종양 성장 억제에 의해 밝혀진 바와 같이 인간 이펙터 세포의 존재 하에서 0.5 mg/kg 및 0.05 mg/kg의 IC3B18은 활성이 있었다(일수 14: 각각 $p < 0.05$, $p < 0.05$, 일수 18: 각각 $p < 0.0001$, $p < 0.0001$; 일수 21: 각각 $p < 0.0001$, $p < 0.0001$)(도 16).
- [0493] **실시예 21: 일수 28 vs. 일수 31에 개시된 처리를 비교하여 PBMC 인간화 NSG에서의 OCI-AML5 인간 AML 이종이식편에 대한 IC3B19의 항종양 효능**
- [0494] 이 연구는 암컷 NSG 마우스에서 확립된 OCI-AML5 인간 AML 이종이식편에서 IC3B19의 효능을 평가하였다. 각각의 마우스의 등쪽 옆구리에 OCI-AML5 인간 AML 세포(200 μ L의 PBS 중 10×10^6 개 세포)를 피하 이식하였다. 동물들을 평균 부피가 93.7 mm³인 시점인 일수 28에서 종양 부피에 의해 무작위화하였으며, 이들은 정맥내로 PBMC 주사를 제공받았다. 일수 28에서, 5개의 그룹에 5회의 용량을 위하여 대략 격일로 PBS 또는 IC3B19를 정맥내 투여하였다. 추가적으로, 일수 35에서, 2개의 그룹에 5회의 용량을 위하여 대략 격일로 IC3B19를 정맥내 투여하였다. PBMC 주사와 같은 날(일수 28)에 0.5 mg/kg의 IC3B19가 투여된 동물들은 일수 45에서 PBS 처리와 대비하여 유의한 종양 성장 억제를 가졌다($p < 0.0001$). 추가적으로, PBMC 주사 후 3일째(일수 31)에 0.5 mg/kg의 IC3B19가 투여된 동물들은 일수 41 및 일수 45에서 PBS 처리와 대비하여 유의한 종양 성장 억제를 가졌다(일수 41: $p < 0.0001$; 일수 45: $p < 0.0001$)(도 17).
- [0495] **실시예 22: 일수 31 vs. 일수 35에 개시된 처리를 비교하여 PBMC 인간화 NSG 마우스에서의 OCI-AML5 인간 AML 이종이식편에 대한 IC3B18 및 IC3B19의 항종양 효능**
- [0496] 이 연구는 암컷 NSG 마우스에서 확립된 OCI-AML5 인간 AML 이종이식편에서 IC3B19의 효능을 평가하였다. 각각의 마우스의 등쪽 옆구리에 OCI-AML5 인간 AML 세포(200 μ L의 PBS 중 10×10^6 개 세포)를 피하 이식하였다. 동물들을 평균 부피가 111.5 mm³인 시점인 일수 28에서 종양 부피에 의해 무작위화하였으며, 이들은 정맥내로 PBMC 주사를 제공받았다. 일수 31에서, 7개의 그룹에 5회의 용량을 위하여 대략 격일로 PBS, IC3B18, 또는 IC3B19를 정맥내 투여하였다. 추가적으로, 일수 35에서, 4개의 그룹에 5회의 용량을 위하여 대략 격일로 IC3B18 또는 IC3B19를 정맥내 투여하였다. 투여가 일수 31 또는 일수 35에서 개시되었는지와 관계 없이, PBS 처리와 대비하여 인간 이펙터 세포의 존재 하에서 IC3B18은 활성이 없었다. 일수 46에서 PBS와 대비하여, 통계학적으로 유의한 종양 성장 억제에 의해 밝혀진 바와 같이 인간 이펙터 세포의 존재 하에서, 투여가 일수 35에 개시된 0.5 mg/kg의 IC3B19는 활성이 있었다($p < 0.0001$). 또한, 일수 42 및 일수 46에서 PBS 처리와 대비하여, 통계학적으로 유의한 종양 성장 억제에 의해 밝혀진 바와 같이 인간 이펙터 세포의 존재 하에서, 투여가 일수 35에 개시된 1 mg/kg의 IC3B19는 활성이 있었다(일수 42: $p < 0.05$; 일수 46: $p < 0.0001$). 추가적으로, 일수 46에서 PBS 처리와 대비하여, 통계학적으로 유의한 종양 성장 억제에 의해 밝혀진 바와 같이 인간 이펙터 세포의 존재 하에서, 투여가 일수 31에 개시된 1 mg/kg의 IC3B19는 활성이 있었다($p < 0.01$)(도 18).
- [0497] **실시예 23: PBMC-인간화 NSG 마우스에서의 SKNO-1 인간 AML 이종이식편에 대한 IC3B19의 항종양 효능**
- [0498] 이 연구는 암컷 NSG 마우스에서 확립된 SKNO-1 인간 AML 이종이식편에서 IC3B19의 효능을 평가하였다. 일수 0에서, 각각의 마우스의 등쪽 옆구리 양측에 트로카 이식(trocar implantation)을 통해 SKNO-1 종양 단편을 피하 이식하였다. 동물들을 평균 부피가 135.0 mm³인 시점인 일수 50에서 종양 부피에 의해 무작위화하였으며, 이들은 정맥내로 PBMC 주사를 제공받았다. PBMC 주사 후 7일째인 일수 57에서, 동물들에 5회 용량을 위하여 대략 격일로 IC3B19를 정맥내 투여하였다. 0.5 mg/kg의 IC3B19는 일수 67 및 일수 71에서 인간 이펙터 세포의 존재 하에서 PBS 처리와 대비하여 통계학적으로 유의한 종양 성장 억제를 가져왔다(일수 67: $p < 0.05$; 일수 71: $p < 0.001$)(도 19).
- [0499] **실시예 23: Fc 리간드 결합 검정**
- [0500] 인간 Fc 리간드 Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb, Fc γ RIIIa, 및 FcRn에 대한 결합 경쟁을 야생형 hIgG1, hIgG4

PAA 동종형, 및 관련 gG4 PAA 모(2가) 및 널-아암(1가) 대조 항체의 수집물과 대비하여 IC3B18 및 IC3B19에 대해 측정하였다. 비드-기반 발광 근접 검정인 AlphaScreen™ 검정(미국 매사추세츠주 웰즐리 소재의 PerkinElmer의 증폭 발광 근접 균질 검정(Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay, ALPHA))을 사용하여 측정을 실시하였다. 도너 비드의 레이저 여기는 산소를 여기시키고, 이는 엑셉터 비드에 충분히 가깝다면, 화학발광 사건들의 캐스케이드를 발생시켜, 궁극적으로 520 내지 620 nm에서의 형광 방출로 이어진다. 대조 항체를 스트렙타비딘 도너 비드에 대한 부착을 위한 표준 방법에 의해 비오티닐화하고, GST-태그된 Fc γ Rs 및 FcRn을 글루타티온 키레이트 엑셉터 비드에 결합하였다. 경쟁의 부재 하에서, IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체, 대조 항체 또는 야생형 항체와 인간 Fc 리간드는 상호작용하고 520 내지 620 nm에서 신호를 생성한다.

[0501] Fc γ RI의 경우, IC3B18 및 IC3B19는 hIgG4 PAA 동종형 대조군보다 더 경쟁적이지 않다(도 20a). Fc γ RIIa의 경우, IC3B18 및 IC3B19는 hIgG4 PAA 동종형 대조군보다 더 경쟁적이지 않다(도 20b). Fc γ RIIb의 경우, IC3B18 및 IC3B19는 hIgG4 PAA 동종형 대조군보다 더 경쟁적이지 않다(도 20c). Fc γ RIIIa의 경우, IC3B18 및 IC3B19는 hIgG4 PAA 동종형 대조군보다 더 경쟁적이지 않다(도 20d). IC3B18 및 IC3B19는 hIgG1 WT 및 hIgG4 PAA 동종형만큼 효율적으로 FcRn과 결합한다(도 20e). 요약하면, IC3B18 및 IC3B19는 시험되는 모든 Fc 수용체와, 매칭되는 IgG4 PAA 동종형과 본질적으로 동일한 정도로 결합한다. Fc γ RIIa 및 Fc γ RIIb에 대해서는, IC3B18 및 IC3B19가 CD3B219 모 Ab 및 CD3B219 \times B21M(널-아암) Ab보다 유의하게 덜 경쟁적임에 유의해야 한다(도 20b 및 도 20c). Fc γ RIIa 및 Fc γ RIIb의 경우, IL1RAP \times CD3 이중특이성 항체는 또한 2개의 IL1RAP \times B21M(널-아암) 항체보다 유의하게 덜 경쟁적이다(도 20b 및 도 20c).

[0502] **실시예 24: T 세포-인간화 NSG 마우스에서의 SKNO-1 인간 AML 이중이식편에 대한 IC3B19의 효능**

[0503] 20×10^6 개의 시험관내 증폭 및 활성화된 인간 T 세포의 *ip*로 인간화된 암컷 NSG 마우스에서 확립된 SKNO-1 인간 AML 이중이식편에서 IC3B19의 효능을 평가하였다. 0.5 또는 1 mg/kg의 IC3B19 또는 PBS 대조군을 총 10회의 용량을 위하여 일수 35, 37, 39, 41, 43, 46, 48, 50, 53, 및 55에서 *q2d* 내지 *q3d*로 투여하였다. 8 마리 중 적어도 6 마리의 동물이 모든 처리군에서 남아 있을 때의 마지막 날짜인 종양 이식 후 일수 60에서, 종양 성장 억제(% TGI)를 계산하였다. PBS-처리된 대조군과 대비하여 두 처리군 모두에서 100% TGI로 0.5 또는 1 mg/kg의 IC3B19에서 통계학적으로 유의한 종양 성장 억제가 관찰되었는데, 일수 63까지 한 마리를 제외한 모든 동물에서 완전 또는 부분 퇴행이 관찰되었다($p < 0.001$, 도 21). 일수 81까지, 6개/8개 종양이 0.5 mg/kg 처리군에서 완전 퇴행되었고, 7개/8개 종양이 1 mg/kg 처리군에서 완전 퇴행되었다.

[0504] **실시예 25: T 세포-인간화 NSG 마우스에서의 파종성 MOLM-13 루시페라제 인간 AML 모델에 대한 IC3B19의 효능**

[0505] 20×10^6 개의 시험관내 활성화 및 증폭된 인간 T 세포의 *ip*로 인간화되고, 살아있는 동물 생물발광 이미징에 의해 무작위화된 암컷 NSG 마우스에서의 루시페라제 형질감염된 파종성 MOLM-13 인간 AML 모델에서 IC3B19의 효능을 평가하였다. 0.05, 0.5 또는 1 mg/kg의 IC3B19 또는 1 mg/kg의 CD3x널 대조군 CNT07008에 의한 처리를 총 11회의 용량을 위하여 일수 4, 8, 11, 14, 17, 21, 24, 28, 31, 35, 및 38에서 *q3d* 내지 *q4d*로 *ip* 제공받았다. 동물들이 GvHD-관련 이환으로 인해 안락사되기 전 마지막 날짜인 종양 이식 후 일수 46에서, 증가된 수명(% ILS)이 계산되었다. 0.05, 0.5 및 1 mg/kg의 IC3B19는 CD3 \times 널 대조 항체와 대비하여 각각 199%, 138% 및 138% 초과로 통계학적으로 유의한 증가된 수명을 가졌다(각각 $p < 0.0001$, $p = 0.0003$, $p < 0.0001$, 도 22). CNT07008 대조군으로 처리된 마우스 내의 MOLM-13 루시페라제 세포는 뒷다리 및 척추까지 호닝(honing)하여, 일수 16에서 뒷다리 마비 또는 이환에 있어서 절정에 다다랐다. 추가적으로, IC3B19 0.5 mg/kg 처리군 내의 2 마리의 동물이 안락사되거나 뒷다리 마비 또는 이환으로 인해 일수 16에서 사망한 것으로 확인되었다. IC3B19로 처리된 마우스는 생물발광에 의해 일수 12 및 일수 14에서 척추 및 뒷다리에서 감소된 종양 부하를 나타내었다. 일수 46에서, 각각의 IC3B19 처리군(0.05, 0.5, 1 mg/kg) 내의 3 마리의 동물은 생물발광에 의해 평가될 때 무종양이었다.

[0506] **실시예 26: 고형 종양에서의 IL1RAP에 대한 RNA 발현**

[0507] 이 연구에서는, IL1RAP에 대한 RNA 발현의 분포를 폭넓은 종양 유형($n=14$)에서 평가하고, TCGA(The Cancer Genome Anatomy, <http://cancergenome.nih.gov/>)에서 입수가 가능한 데이터로부터의 매칭된 정상 샘플에 대한 각각의 종양의 RNA 발현과 대비하였다. 이 연구를 수행하여 어느 고형 종양 유형이 IL1RAP의 발현을 상승시켰는지를 평가하여, 어느 환자가 IL1RAP 억제로부터 이익을 얻을 수 있는지를 확인하는 것을 도왔다.

[0508] TCGA RNA-Seq

[0509] TCGA 프로젝트에서의 RNASeq 연구로부터의 데이터를 Omicsoft(www.omicsoft.com)에 의해 제공된 내부 지식 베이스(OncoLand, TCGA_B37)를 사용하여 질의하였다. 파생 데이터를 OSA aligner¹을 사용하여 Omicsoft에 의해 프리컴파일링하고, 게놈 레퍼런스 라이브러리 Human.B37.3 및 유전자 모델 'OmicsoftGene20130723'을 사용하여 RPKM 정규화를 통하여 RNA 정량화를 결정하였다. TCGA에서의 동일한 환자들의 하위셋으로부터 유래된 종양 vs. 인접한 정상 조직을 비교함으로써 RNA-Seq 출력을 평가한다.

[0510] 분석 절차

[0511] 고형 종양에서 종양 및 정상 둘 모두에 대해 입수가 가능한 데이터를 갖는 14가지의 적응증을 평가하였다.

ID	유형
ESCA	식도
BLCA	방광
KIRP	신유두
UCEC	자궁
STAD	위
COAD	결장
HNSC	두경부
LUSC	폐 편평세포
PRAD	전립선
THCA	미분화 갑상선
LUAD	폐 선암종
KIRC	신장 투명 세포
BRCA	유방
PAAD	췌장

[0512]

[0513] IL1RAP를 OncoLand에서 질의하고, 인접한 정상과 대비하여 더 높은 발현을 갖는 종양의 수를 표로 나타내고, 빈도 추정치를 계산하였다. 매칭된 정상 샘플에서의 최고 발현 값보다 발현 값이 더 컸을 때, 상승된 발현을 갖는 샘플을 계수하였다. 정규화된(FPKM) RNA 분포의 시각적 평가를 위한 박스플롯을 또한 각각의 종양 유형에 대해 생성하였다.

[0514] 현저하게 상승된 발현을 갖는 5가지의 종양 유형이 확인되었으며, 이들 유형은 또한 비교 목적으로 입수가 가능한 충분한 수의 매칭된 정상 샘플(10개 초과)을 가졌다(표 18 및 도 23). 정상과 대비하여 상승된 발현을 갖는 종양 유형은 식도(28%), 방광(26%), 결장(72%), 폐 편평세포(29%) 및 미분화 갑상선(70%)을 포함한다.

[0515] [표 18]

고형 종양에서의 IL1RAP 발현의 표 요약.

ID	유형	샘플의 총수	총 정상수	총 종양수	정상 범위 초과 총 종양수	종양 백분율 고발현
ESCA	식도	197	13	184	51	28
BLCA	방광	430	19	411	107	26
KIRP	신유두	322	32	290	15	5
UCEC	자궁	585	35	550	20	4
STAD	위	457	37	420	1	0
COAD	결장	512	41	471	337	72
HNSC	두경부	564	44	520	99	19
LUSC	폐 편평세포	552	51	501	143	29
PRAD	전립선	553	52	501	18	4
THCA	미분화 갑상선	564	59	505	352	70
LUAD	폐 선암종	587	59	528	13	2
KIRC	신장 투명 세포	609	72	537	82	15
BRCA	유방	1220	113	1107	41	4
PAAD	췌장	182	4	178	56	31

[0516]

[0517] 실시예 26: 고형 종양 세포주의 표면 상의 IL1RAP 수용체의 정량화

[0518] 실시예 26으로부터의 RNA Seq 데이터는 고형 종양에서의 IL1RAP RNA의 존재를 나타낸다. 고형 종양 요법으로서의 IL1RAP × CD3의 가능성을 조사하기 위하여, 다양한 암 종양 세포 유형을 IL1RAP 표면 발현 및 아포토시스 세포 기반 검정에서 사멸되는 그들의 능력에 대하여 정량화하였다.

[0519] 폐, 전립선, 췌장, 및 결장 세포주를 ATCC 조건에 따라 배양하고, 70 내지 85% 컨플루언스까지 성장시켰다. 암

세포주를, 적절한 경우 비효소적 해리 완충액(Invitrogen, 카탈로그 번호 13151-004)을 사용하여 해리시키고, DPBS-/(Invitrogen, 카탈로그 번호 141902-250) 중에 세척하였다. 세포를 계수하고 3×10^6 개 세포/mL의 농도로 DPBS -/- 중에 재현탁하고, 100 μ L를 각각의 웰 내로 플레이팅하였다. LIVE/DEAD® 고정가능 근적외 사세포 염색 완충액(Invitrogen, 카탈로그 번호 10082-147)을 실온에서 25분 동안 샘플에 첨가하였다. 샘플을 200 μ L의 유세포측정 염색 완충액(BD Pharmigen, 카탈로그 번호 554657) 중에서 세척하고, 실온에서 15분 동안 FC 차단제(Accurate Chemical, NB309)로 차단하고, 유세포측정 염색 완충액 중에서 4°C에서 45분 동안 5 μ g/mL의 동종형 대조군(R&D Systems, 카탈로그 번호 IC002P) 또는 IL1RAP(R&D Systems, 카탈로그 번호 FAB676P)으로 염색하였다. 염색된 세포가 BD FACS CANTO II™ 상에서 평가되었다. Singlets/Live/Cells 집단을 사용하여 Flow Jo V_10에서 기하평균 비(Geomean ratio)를 계산하였다. Quantum™ Simply Cellular® 시스템(Bang's Laboratories, 카탈로그 번호 815) 및 BD Relative Linear Scale Calibration Plot macro를 사용하여 수용체 밀도를 계산하였다. 각각의 세포주에 대한 IL1RAP 수용체 밀도가 표 19에 요약되어 있으며, 이 표는 고형 종양에서의 광범위한 표면 발현을 보여준다.

[표 19]

각각의 세포주에 대한 IL1RAP 수용체 밀도

세포주	종양 유형	IL1RAP 수용체 수/세포
A549	폐	6,317
Calu-3	폐	70,264
H1975	폐	74,561 ^a
H2110	폐	9,999
H2172	폐	35,127
H2228	폐	20,845
H292	폐	7,074
H358	폐	17,795 ^b
H441	폐	18,299
SW2171	폐	71,914
H82	폐	1,461
H146	폐	4,788
H196	폐	73,376
H226	폐	101,475
SKMES-1	폐	12,209
H1703	폐	3,474
SW900	폐	17,567
H520	폐	355 ^c
H716	결장	54,240
HS675T	결장	24,577
HT29	결장	<1000
LS123	결장	6,995
SW948	결장	8,837
BX-PC3	췌장	23,211
Capan-1	췌장	28,645
Capan-2	췌장	15,975
Panc0213	췌장	47,511
Panc0327	췌장	72,207
Panc0504	췌장	8,845
22RV1	전립선	934
DU145	전립선	23,666
H660	전립선	1,068
LNCAP	전립선	9,215
PC3	전립선	6,352
VCAP	전립선	590

^a 값은 6 회 측정의 평균이다.

^b 값은 4 회 측정의 평균이다.

^c 값은 7 회 측정의 평균이다.

실시예 27: 아토포시스 검정에서 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체의 평가

폐, 전립선, 췌장, 및 결장 세포주를 ATCC 조건에 따라 배양하고, 70 내지 85% 컨플루언스까지 성장시켰다. 표적 세포를, 적절한 경우 비효소적 해리 완충액(Life Technologies, 카탈로그 번호 13151-014)을 사용하여 해리시키고, PBS 중에 세척하였다. 세포를 계수하고, 명시된 완전 페놀-레드 무함유 배지 중에 0.4×10^6 개 세포/mL

로 재현탁하였다. 표적 세포를 멸균 96웰 플레이트 내로 분배하고(50 μ L/웰), 37℃ 및 5% CO₂에서 하룻밤 인큐베이션되게 하였다. 다음날, 건강한 공여자로부터의 pan T-세포(Biological Specialties, 공여자 번호 M7412, LS-11-53108, 번호 M6807, LS-11-53847A, 또는 M7267, 로트 번호 LS-11-53072B)를 계수하고, 500X의 Essen Bioscience의 IncuCyte™ 카스파제-3/7 시약(카탈로그 번호 4440)을 함유하는 완전 페놀-레드 무함유 배지(100 μ L/웰) 중에서 1.0×10^6 개 세포/mL로 플레이팅하였다. 변동하는 농도의 IC3B19(IAPB57 \times CD3219) 및 대조 항체[CNT0 7008(B23B39 \times CD3B219) 및 IAPB101(IAPB57 \times B23B49)]를 적절한 웰에 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 20분 동안 평형이 되게 하고, IncuCyte™ 이미지 내에 넣어서 37℃ 및 5% CO₂에서 최대 120시간 동안 유지하였다. IncuCyte™ 이미지 처리 정의 내에서 크기에 의해 배제된 T-세포와 함께 총 녹색 물체 면적(μ m²/웰) 측정기준을 사용하여, 아포토시스를 72시간째에 정량화하였다. 곡선 아래 면적을 Graphpad Prism 6.02에서 각각의 농도에서 72시간째에 원시 값으로부터 계산하였다. 농도 반응 곡선을 그래프로 나타내었으며, IC3B19에 대한 EC₅₀ 값을 가변 기울기 함수와 함께 비선형 회귀 계산을 사용하여 계산하였다. 95% 신뢰 구간이 log 1.5 미만인 경우, EC₅₀ 값은 유효하였다. IC3B19는 시험된 고형 종양 세포주의 대부분에서 카스파제 활성의 증가를 특징으로 하는 T-세포 유도 아포토시스 반응을 자극한다. 대조 항체(CNT07008 및 IAPB101)는 측정가능한 아포토시스 반응을 생성하지 않았다. IC3B19의 첨가에 대하여, H520은 측정가능한 아포토시스 반응을 생성하지 않았으며, 이는 "적합 없음(NF)"으로서 표기되어 있다. 아포토시스 검정의 결과는 표 20에 요약되어 있다. 대표적인 그래프가 도 24에 나타나 있다.

[표 20]

아포토시스 검정의 요약

세포주	종양 유형	카스파제 면적/웰(nM) 곡선 아래 면적에 대한 EC ₅₀ 값	동적 범위(최대 - 최소) 카스파제 면적/웰 곡선 아래 면적($\times 10^6$)
H1975	폐	.013 \pm .009 ^a	2.611 ^a
H520	폐	NF ^b	ND ^b
H2172	폐	0.039	1.150
H2228	폐	0.043	1.602
Calu-3	폐	0.716	2.266
SKMES-1	폐	0.031	1.036
H226	폐	0.134	2.521
SW1271	폐	0.078	2.171
H196	폐	0.019	1.919
H716	결장	0.004	1.005
Panc0213	췌장	0.192	1.335
Panc0327	췌장	0.181	2.136
LNCAP	전립선	0.039	0.783
DU145	전립선	0.445	1.514
PC3	전립선	0.102	1.683

^a 값은 7 회 측정의 평균이다.

^b 값은 3 회 측정의 평균이다.

하기 3 개의 건강한 T-세포 공여자를 사용하였다: 공여자 번호 M7412, LS-11-53108 및 번호 M6807, LS-11-53847A, 및 M7267, 로트 번호 LS-11-53072B

NF = 적합 없음은 Prism 이 값을 반환하지 않을 때(예를 들어, "불명료함") 또는 적합이 불량한 것으로

결정될 때(log EC₅₀에 대한 95% CI 구간 > log 1.5) 사용된다.

ND = 결정되지 않음

요약하면, IL1RAP는 폐, 결장, 췌장, 및 전립선 세포주를 포함한 다양한 고형 종양 세포주의 표면 상에서 발현된다. IC3B19는, 이들 IL1RAP 양성 고형 종양 세포주에서는 카스파제 활성의 증가를 특징으로 하는 T-세포 유도 아포토시스 반응을 자극하지만, IL1RAP 음성 세포주인 H520에서는 그렇지 않다.

실시예 28. 혈액학적 악성 세포주 상에서의 IL1RAP 수용체 밀도 수준:

IL1RAP 세포 표면 발현의 발현을 이해하기 위하여, 226개의 혈액학적 세포주를 IL1RAP 세포 표면 수용체 밀도 수준에 대해 분석하였다. 구매가능한 피코에리트린(PE) 표지화된 항-IL1RAP 단일클론 항체(R&D Systems, 카탈로그 번호 FAB676P)를 이용하여, 수용체 밀도 수준을 2가지 상이한 방법을 이용하여 결정하였다. PE-표지화된 비드(BD Biosciences, QuantiBRITE, 카탈로그 번호 340768) 또는 항-마우스 포획 비드(Bang's Laboratories, Simply Cellular, 카탈로그 번호 815)의 사용을 이용하여, 구매가능한 PE-표지화된 항-IL1RAP 항체를 포획하여 표준 곡선을 생성하였다. 시험된 모든 세포주에 대한 IL1RAP 기하평균 발현을 계산하고, 동종형(R&D Systems, 카탈로그 번호 IC002P) 값을 감산하였다. 수용체 밀도 수준을 두 방법 모두에 대하여 표준 곡선으로부터 생성하였다. 외삽될 수 없거나 검출 한계 미만인 값은 결정되지 않음(ND)으로 지정하였다. 이들 데이터는 대부분

의 혈액학적 세포주가 변동하는 수준으로 세포 표면 상에 IL1RAP를 발현함을 보여준다(표 21). 열거된 질병 적응증 중에서, 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 골수성 백혈병(CML), 미만성 대 B 세포 림프종(DLBCL), 및 T-세포 급성 림프아구성 백혈병 및 T-세포 백혈병이 비교적 상승된 IL1RAP 수용체 밀도 수준을 갖는 질병 적응증 중에 있었다.

[표 21]

PE-표지화된 비드(QuantibRITE) 또는 항-마우스 포획 비드(Bangs Labs)에 의해 정량화된 바와 같은 각각의 세포주에 대한 IL1RAP 수용체 밀도

질병	세포주	수용체 밀도 (동종형 감소됨)	
		Quantibrite	Bangs Labs
ALL	697	10	19
ALL	8"E"5	1484	5388
ALL	CCRF-CEM (ATCC)	289	844
ALL	CCRF-CEM (DSMZ)	508	1598
ALL	CCRF-SB	27	59
ALL	KASUMI-2	5	9
ALL	MOLT-14	306	899
ALL	MOLT-3 (ATCC)	340	1014
ALL	MOLT-3 (CBS)	758	2515
ALL	MOLT-4 (ATCC)	139	368
ALL	MOLT-4 (CBS)	160	431
ALL	P30-OHKUBO	522	1650
ALL	RCH-ACV	449	1390
ALL	RS4;11	744	2463
ALL	SD-1 (DSMZ)	ND*	ND*
ALL	SD-1(CBS)	ND*	ND*
ALL	SEM	472	1473
ALL	SUP-B15	214	600
ALL	TANOUE	1874	7016
AML	AML-193	3526	14360
AML	AP-1060	3363	13609
AML	BDCM	70	169
AML	CMK	3595	14680
AML	CTV-1	1460	5286
AML	ELF-153	4860	20653
AML	EOL-1	6521	28817
AML	F-36p	6196	27198
AML	FKH-1	4473	18799
AML	GF-D8	6264	27534
AML	HEL	1351	4843
AML	HL-60 (CBS)	1479	5365
AML	HL-60 (DSMZ)	2795	11035
AML	Kasumi-1 (ATCC)	1193	4206
AML	Kasumi-1 (DSMZ)	1481	5373
AML	Kasumi-3	3891	16056
AML	Kasumi-6	2356	9094
AML	KG-1 (CBS)	413	1266
AML	KG-1 (DSMZ)	485	1518
AML	KG-1a	693	2274
AML	KMOE-2	2956	11759
AML	M-07e	2029	7677
AML	ME-1	61	144
AML	MEGAL	369	1115
AML	MKPL-1	5214	22368
AML	ML-2	881	2984
AML	MOLM-16	879	2977
AML	MUTZ-8	2377	9186
AML	MV4-11 (CBS)	4632	19562

질병	세포주	수용체 밀도 (동종형 감소됨)	
		Quantibrite	Bangs Labs
AML	MV4-11 (DSMZ)	5571	24110
AML	NB-4	5695	24716
AML	NOMO-1	1799	6701
AML	OCI-AML2	4026	16687
AML	OCI-AML3	4825	20486
AML	OCI-AML4	663	2162
AML	OCI-AML5	2277	8751
AML	OCI-AML5	7396	33238
AML	OCI-AML6	2387	9228
AML	OCI-M1	2159	8236
AML	OCI-M2	372	1123
AML	PL-21	4629	19543
AML	SH-2	2695	10590
AML	SHI-1	4090	16986
AML	SIG-M5	385	1168
AML	SKM-1	1645	6052
AML	SKNO-1	61688	367472
AML	THP-1 (ATCC)	4523	19037
AML	THP-1 (CBS)	4840	20560
AML	THP-1 (DSMZ)	1839	6870
AML	UCSD-AML1	5606	24280
AML	UT-7	578	1850
B-ALL	LAZ-221	40	91
B-ALL	Reh	1346	4823
B-ALL	ROS-50	578	1850
B-ALL	VAL	ND*	ND*
B 세포 림프종	JM1	150	403
B 세포 림프종	U-698-M	9	17
B-세포 림프종	BC-1	444	1373
B-세포 림프종	BC-2	608	1959
B-세포 림프종	BC-3	371	1119
B-세포 림프종	CRO-AP2	ND*	ND*
B-세포 림프종	DOHH-2	951	3253
B-세포 림프종	Granta-519	275	799
B-세포 림프종	KARPAS-422	403	1230
B-세포 림프종	MC116	188	517
B-세포 림프종	OCI LY19	536	1699
B-세포 림프종	REC-1	372	1125
B-세포 림프종	SC-1	57	134
B-세포 림프종	U-2932	166	451
B-세포 림프종	ULA	127	333
B-세포 림프종	WILL-1	208	582
B-세포 림프종	WILL-2	478	1492
B-세포 림프종	WSU-DLCL2	208	582
B-세포 림프종	WSU-NHL	198	551
B-세포 골수종	NCI-H929 (ATCC)	629	2038
B-세포 골수종	NCI-H929 (CBS)	652	2122
B-CLL	EHEB	33	72
B-CLL	MEC-1	109	280

[0531]

질병	세포주	수용체 밀도 (동종형 감산됨)	
		Quantibrite	Bangs Labs
B-CLL	MEC-2	113	291
BCP-ALL	KOPN-8	650	2114
B-림프아구 (대세포 림프종)	DB	215	602
B-NHL	MHH-PREB-1	777	2589
B-NHL	OCI-LY1	57	134
B-NHL	WSU-DLCL-2	358	1074
B-NHL	WSU-FSCCL	505	1587
B-전림프구성 백혈병	JVM-3	55	129
버킷 림프종	BJAB	50	115
버킷 림프종	Daudi	266	768
버킷 림프종	DND*-39	89	221
버킷 림프종	J1YOYE	38	86
버킷 림프종	NAMALWA	261	751
버킷 림프종	P3HR-1	89	221
버킷 림프종	Raji	265	765
버킷 림프종	Ramos	1774	6592
만성 호중구성 백혈병	MOLM-20	547	1740
CML	BV-173	997	3432
CML	CML-T1	427	1312
CML	EM-2	6214	27284
CML	EM-3	1753	6508
CML	JURL-MK1	400	1220
CML	K-562 (ATCC)	51	119
CML	K-562 (DSMZ)	35	77
CML	KU812F	3999	16561
CML	KYO-1	576	1843
CML	LAMA-84	14184	69499
CML	MEG-01	5587	24186
CML	MEG-A2	6266	27544
CML	MOLM-1	5741	24944
CML	MOLM-6	2143	8170
CML	NALM-1 (CBS)	246	704
CML	NALM-1 (DSMZ)	407	1243
CML	NALM-12 (CBS)	472	1473
CML	NALM-6	1031	3566
CML	SPI-801	479	1498
CML	SPI-802	109	280
CML	TMM	53	124
CTCL	H9 (HuT 78 의 파생물)	169	459
CTCL	HH	ND*	ND*
CTCL	HuT 78	59	139
CTCL	MJ	100	253
DLBCL	CARNAVAL	312	922
DLBCL	HT	246	703
DLBCL	OCI LY18	743	2462
DLBCL	OCI LY7	223	628
DLBCL	OCI-LY10	287	838
DLBCL	OCI-LY-18	832	2797
DLBCL	OCI-LY19	244	698
DLBCL	OCI-LY3	115	296

[0532]

질병	세포주	수용체 밀도 (동종형 감산됨)	
		Quantibrite	Bangs Labs
DLBCL	Pfeiffer (ATCC)	371	1120
DLBCL	SU-DHL-1	10536	49625
DLBCL	SU-DHL-10	71	329
DLBCL	SU-DHL-10	126	171
DLBCL	SU-DHL-16	3070	12273
DLBCL	SU-DHL-4	105	267
DLBCL	SU-DHL-5	156	420
DLBCL	SU-DHL-6	413	1265
DLBCL	SU-DHL-8	774	2578
DLBCL	TMD-8	302	888
DLBCL	TOLEDO	362	1088
DLBCL	U-2940	536	1701
적백혈병	HEL 92.1.7	3590	14653
적백혈병	TF-1 (ATCC)	4361	18268
적백혈병	TF-1 (CBS)	6451	28469
적백혈병	TF-1 (DSMZ)	4966	21164
조직구성 림프종	JOSK-I	3455	14033
조직구성 림프종	JOSK-M	4134	17194
조직구성 림프종	SU-DHL-2	1339	4796
조직구성 림프종	U937	6682	29625
호지킨 림프종	HDLM-2	154	413
호지킨 림프종	Hs 611.T	141	374
호지킨 림프종	HS445	120	313
호지킨 림프종	L-1236	1463	5302
호지킨 림프종	L-428	428	1318
호지킨 림프종	L-540	970	3329
호지킨 림프종	SUP-HD1	51	119
호지킨 림프종	TO 175.T	555	1768
외투 세포 림프종	JEKO-1	936	3195
외투 세포 림프종	JVM-13	170	462
외투 세포 림프종	JVM-2	18	37
외투 세포 림프종	MAVER-1	668	2181
외투 세포 림프종	MINO	144	384
외투 세포 림프종	Z138	299	878
MCL	JVM-2	238	678
MML	GDM-1 (ATCC)	1547	5648
마우스 골수	FDCEP-1 (CBS)	161	436
다발성 골수종	ARH77 dsRed	184	506
다발성 골수종	ARH77(ATCC)	192	531
다발성 골수종	EJM	459	1426
다발성 골수종	HuNS1	245	701
다발성 골수종	IM-9	213	597
다발성 골수종	KMS-11	1347	4828
다발성 골수종	KMS-12 PE	13	24
다발성 골수종	KMS-12-BM	35	77
다발성 골수종	LP-1	332	987
다발성 골수종	MM1R	395	1204

[0533]

질병	세포주	수용체 밀도 (동종형 감산됨)	
		Quantibrite	Bangs Labs
다발성 골수종	MM1S	226	639
다발성 골수종	MOLP-2	130	340
다발성 골수종	MOLP-8	464	1444
다발성 골수종	OPM-2	3741	15354
다발성 골수종	RPMI 8226 (ATCC)	443	1369
다발성 골수종	U266	119	308
골수종	HTK-	2038	7718
골수종	JIM-1	3007	11989
골수종	JIM-3	1478	5363
골수종	U266B1	37	81
NHL	FARAGE	153	412
NHL	RL	145	386
형질 세포 백혈병	JJN-3	182	500
형질 세포 백혈병	L-363	218	612
형질 세포 백혈병	SK-MM-2	268	776
형질세포종	AMO-1	143	379
T 세포 백혈병	TALL-1	ND*	ND*
T 세포 림프종	SR-786	20643	106323
T-ALL	ALL-SIL	3008	11992
T-ALL	CEM/C1	1433	5177
T-ALL	CEM/C2	799	2673
T-ALL	HPB-ALL	371	1120
T-ALL	Loucy	159	429
T-ALL	MOLT-13	212	594
T-ALL	MOLT-17	892	3028
T-ALL	P12-ICHIKAWA	124	324
T-ALL	RPMI-8402	176	482
T-ALL	SUP-T11	255	734
T-세포 백혈병	Jurkat	2523	9826
림프종 유래 T-세포주	HuT-102	185	508
T-세포 림프종	SUP-T1	848	2858
T-CLL	MOTN-1	277	805

주: 세포주들 중 일부는 반복되는데, 이는, 이들이 상이한 공급처로부터 입수되었기 때문이다. CBS = Janssen 의 내부 세포 बैंक 서비스, ATCC = 아메리칸 타입 컬처 컬렉션(American Type Culture Collection), DSMZ = Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (독일생물자원센터(German Collection of Microorganisms and Cell Culture)), ND = 결정되지 않음, 수준이 검출 수준 미만임.

[0534]

[0535]

실시예 29. CML, DLBCL, T-ALL 및 T-세포 백혈병 세포주에 의한 세포성 세포독성 기능 검정에서의 IC3B19의 평가

[0536]

IC3B19 및 대조 항체(CNTO 7008 및 IAPB101)를 추가의 혈액학적 적응증에서 시험하였다. 만성 골수성 백혈병(CML) 표적 세포(LAMA-84, MEG-01, 및 KYO-1), 미만성 대 B-세포 림프종(DLBCL) 표적 세포(SU-DHL-16, U-2940, SU-DHL-6), 및 T-급성 림프아구성 백혈병(ALL) 및 T-세포 백혈병/림프종 표적 세포(ALL-SIL, CEM/C1, HPB-ALL, Jurkat, 및 SUP-T1)를 3개의 건강한 대조 pan CD3+ T-세포 공여자를 사용하여 시험하였다. 앞서 실시예 12에 기재된 프로토콜을 따랐다.

[0537]

3개의 건강한 대조 pan CD3+ T-세포의 평균이 나타나 있다(도 26 내지 도 28). IC3B19는 CML, T-ALL/T-세포 백혈병/림프종, 및 DLBCL 세포주에서의 세포독성뿐만 아니라, T-세포 매개 활성화(CD25)를 유도하였다. 최대 세포성 세포독성이 관찰되었으며, 상응하는 EC_{50} (nM)이 표 22에 나타나 있다. 이들 데이터는 IL1RAPxCD3이 CML, T-ALL/T-세포 백혈병/림프종 및 DLBCL 적응증에서는 활성을 갖지만, 대조 항체(CNTO 7008 및 IAPB101)는 전체 T-세포 매개 종양 세포성 세포독성을 갖지 않았음을 보여준다.

[0538] [표 22]

IC3B19 평균 EC₅₀(nM) 및 최대 % 세포독성

세포주	적응증	EC ₅₀ (nM)	최대 세포독성 (백그라운드는 감산됨)
LAMA-84	CML	0.001	70.5
MEG-01	CML	0.002	59.3
KYO-1	CML	ND*	54.4
ALL-SIL	T-ALL	0.004	77.0
CEM/C1	T-ALL	ND*	36.5
HPB-ALL	T-ALL	0.008	3.4
SU-DHL-16	DLBCL	ND*	54.7
U-2940	DLBCL	ND*	1.2
SU-DHL-6	DLBCL	ND*	0.9
Jurkat	T-세포 백혈병/림프종	ND*	0.0
SUP-T1	T-세포 백혈병/림프종	ND*	2.0

주: *ND = 결정되지 않음, EC50 곡선은 불명료하였음

[0539]

[0540] 실시예 30. T 세포 인간화 NSG 마우스에서의 H1975 인간 비소세포 폐 암종 이중이식편에 대한 IC3B19의 효능

[0541] 20×10^6 개의 시험관내 증폭 및 활성화된 인간 T 세포의 *ip*로 인간화된 암컷 NSG 마우스에서 확립된 H1975 인간 비소세포 폐 암종 이중이식편에서 IC3B19의 효능을 평가하였다. 평균 종양 부피가 74 mm³인 시점인 종양 이식 후 일수 13에서, 마우스를 종양 부피에 의해 각각 10 마리 동물로 된 그룹으로 무작위화하였다. 0.5, 1 또는 2.5 mg/kg의 IC3B19 또는 1 mg/kg의 CNT07008(CD3x넬 대조군)을 총 8회의 용량을 위하여 일수 14, 17, 20, 23, 27, 30, 35, 및 38에서 주 2회 *ip* 투여하였다. 10 마리 중 적어도 9 마리의 동물이 모든 처리군에서 남아 있을 때의 마지막 날자인 종양 이식 후 일수 30에서, 종양 성장 억제(% TGI)를 계산하였다. 통계학적으로 유의한 종양 성장 억제가, CNT07008-처리된 대조군과 대비하여, 1 mg/kg 및 2.5 mg/kg의 IC3B19에서 각각 80% 및 90% TGI로 관찰되었다($p < 0.0001$, 도 29). 2.5 mg/kg의 IC3B19 처리는 일수 30에서 4 마리/10 마리 마우스에서 종양 정체(stasis) 또는 퇴행을 가져왔다.

[0542] 실시예 31. IC3B19에 의한 IL1RAP⁺ 골수성-유래 억제 세포(MDSC)의 표적화

[0543] 폐 및 전립선 종양 미세환경에서의 Treg 및 MDSC의 증폭은 암 세포가 숙주 면역 감시로부터 벗어나서 관문 억제제(checkpoint inhibitor)에 대한 반응을 제한할 수 있는 기전의 일부이다(문헌[Peterson 2006]; 문헌[Dasanu 2012]; 문헌[Srivastava 2012]; 문헌[Idorn et al 2014]). IL1RAP는 전염증성 및 선천성 면역 반응에 관여하는 사이토카인 신호전달을 가능하게 하는 IL-1 사이토카인 패밀리(IL-1/IL-1R, IL-33/ST2 및 IL-36/IL-1RL2)의 구성원들에 대한 부속 단백질이다. IL1RAP가 정상 조직 및 정상 세포에서 불량하게 발현될지라도, 폐 및 전립선 암 공여자 전혈로부터의 골수성-유래 억제 세포 상에서 고수준의 IL1RAP 표면 발현이 검출되었다. 생물학이 완전히 이해되지는 않지만, IL1RAP, IL-1, 및 IL-33은 면역 공격을 억제하고 혈관생성을 촉진시킴으로써 종양 생존/성장을 향상시킬 수 있다. 액성 종양 유형 및 고형 종양 유형 둘 모두를 갖는 환자에서 지속적인 결과의 결여로 인해, IC3B19를 개발하였으며, 이것은 면역 시스템을 방항전환시켜 IL1RAP 양성 종양 세포 및 종양 유래 MDSC를 사멸한다. 따라서, IC3B19에 의한 이러한 면역 억제 집단의 고갈은 고형 종양에 대한 임상 반응에서의 개선으로 이어질 것으로 가정된다.

[0544] 이러한 가정을 시험하기 위하여, MDSC 공여자 혈액 고갈 생체의 검정을 따랐다. 간략하게 말하면, 혈액 샘플을 RPMI(10% FBS + 1% 페니실린/스트렙토마이신)로 1:1로 희석시켰다. 이것은 MDSC 상에서의 표적 발현(수용체 밀도/세포)의 기저선 백분율로서의 역할을 하였다. MDSC 패널은 L/D, LIN-(CD3/CD56/CD19/), HLA-DR-low, CD11b+, CD33+, CD14, CD15: MDSC 상에서의 표적 발현: PE IL1-RAP로 이루어졌다. 샘플을 상기 패널들로 염색하고, 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하였다. RBC 용해 완충액(eBioscience 카탈로그 번호 00-4300-54)을 사용하여 RBC를 용해시키고, 실온에서 5분 동안 커버하고, 1500 rpm으로 4분 동안 회전시켜 완충액을 제거하였다. 완충액에 의한 용해를 적어도 4회 수행하였다. 샘플을 DPBS(Invitrogen, 카탈로그 번호 141902-250)로 세척하고, 근적외 L/D 염료(Invitrogen, 카탈로그 번호 10082-147)로 염색하고, 실온에서 10 내지 15분 동안 커버하였다. 마지막 세척을 PBS/FACS로 수행하고, Fortessa 상에서의 분석을 위하여 샘플을 FACS 완충액 중에 재현탁하였다. Singlets/Live/Cells 집단에 이어서 MDSC 패널 마커를 사용하여 Flow Jo V_10에서 기하평균 비를 계산하였으며, MDSC 집단의 고갈(%)을 측정한다(도 30).

[0545] NSCLC 및 전립선암 공여자로부터 상업적으로 공급받은 말초 혈액 샘플의 임상 분석은 시험된 모든 공여자에서 건강한 대상체로부터의 말초 혈액과 대비하여 IL1RAP⁺ MDSC의 유의한 증가를 보여주었다. 상세한 분석은 단핵

구성 MDSC 집단 상에서의 IL1RAP의 상승된 발현(도 31) 및 생체의 검정에서의 전립선암 및 폐암 공여자 혈액에서의 IL1RAPxCD3에 의한 고갈에 대한 이들 MDSC의 감수성을 보여주었다. quant-brite 비드 정량화 방법을 사용하여, IL1RAP 수용체 밀도는 고형 종양 공여자의 전혈에서 NSCLC의 경우 약 2500개 수용체/세포의 범위이고, 전립선암의 경우 약 600 내지 800개 수용체/세포의 범위이다(도 32). 이들 혈액 샘플에서의 IL1RAP+ 면역억제 세포의 고갈은 증가된 T 세포 활성화 및 증식으로 이어진다.

[0546] 요약하면, 종양에 걸쳐 공여자 혈액 샘플에서 변동가능한 MDSC 수준은 전립선에서 약 25%이고, NSCLC에서 약 10%이다. IL1RAP는 환자 공여자 샘플로부터의 MDSC 상에서 가변 수용체 밀도를 보이면서 발현된다: 전립선의 경우 약 600 내지 800개 수용체/세포 및 NSCLC의 경우 약 2500개 수용체/세포. IL1RAPxCD3은 공여자 혈액 샘플로부터의 IL1RAP⁺ MDSC를 고갈시키는 능력을 갖는다.

[0547] **실시예 32. 초기 종양 혈관계를 파괴하는 데 있어서의 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체의 역할의 평가**

[0548] IL1RAPxCD3-의존성 T 세포 방향전환이 종양 미세환경에서 새로 확립된 혈관계를 파괴 및 제거할 수 있는지의 여부를 조사하기 위하여, 혈관생성 검정을 개발하였으며, 이것은 2D 유리 표면 상에서의 관상 네트워크(tubular network)의 상대 증폭을 측정한다. 이를 위하여, 형광 표지화된 정상 인간 체대 정맥 내피 세포(HUVEC)를 입수하고, 이것을 VEGF 자극(4 ng/mL)의 존재 하에서 정상 인간 진피 섬유아세포(NHDF)와 함께 공동-배양하였다. 일반적인 티로신 키나제 억제제인 수라민(100 μM)을 현탁하여 VEGF 신호전달을 차단하였다. 이어서, 배양된 세포가 담긴 플레이트를 매 3시간마다 IncuCyte™ Zoom을 사용하여 이미징하였다. 도 33에 나타난 바와 같이, VEGF 자극은 처리 직후에 관상 네트워크의 신속한 증폭을 유도하며, 한편 수라민의 첨가는 그러한 효과를 완전히 무효화한다. 확립된 네트워크는 인큐베이터 내에서 적어도 5일 동안 지속될 수 있다. 이들 결과는 이 검정의 동적 범위를 입증한다.

[0549] IL1RAPxCD3-의존성 T 세포 방향전환의 효과를 결정하는 데 있어서의 다음 단계로서, 단리된 건강한 공여자 pan-T 세포 및 종양 세포의 존재 하에서의 네트워크 성장을 평가하였다. H1975 폐암 세포주를 사용하여 고형 종양(NSCLC)을 시뮬레이션하고, OCI-AML5 세포를 사용하여 액성 종양(AML)을 시뮬레이션하였다. 도 34는 HUVEC와 T 세포 또는 H1975 세포의 공동-배양이 이 검정의 지속기간 동안 관상 네트워크 형성을 섭동시키지 않음을 나타낸다. 흥미롭게도, HUVEC 배양물에 대한 OCI-AML5 세포의 첨가는 네트워크 성장을 다소 감소시켰지만, 최대 네트워크 밀도를 억제하지는 않았는데, 이는, 검정의 일주 6(144시간)까지 모든 네트워크가 비교적 잘 성장하고 있었기 때문이다.

[0550] 이어서, T 세포 상에서의 그리고 암 세포 상에서의 IL1RAP 발현의 수준을 평가하였다. 다수의 이전의 관찰과 일치되게, T 세포는 IL1RAP에 대해 완전히 음성이었으며, 한편 H1975 및 OCI-AML5는 표면 상에 고수준의 분자를 발현하였다(도 35). 이는, 이들 세포를 혈관생성 검정에서 IL1RAP-양성 종양 및 그의 미세환경을 모델링하는 데 사용하려는 의도를 확인시켜 주었다. T 세포 및 암 세포 상에서의 IL1RAP 발현 수준을 평가하였을 때, HUVEC 세포가 IL1RAP를 발현하는지의 여부에 대한 의문이 생겼다. 해동 직후의 유세포측정 분석은 IL1RAP가 세포 표면 상에 존재하지 않음을 보여주었다(데이터는 도시되지 않음). 그러나, 7일 동안 유리 상에 배양 시에, HUVEC는 IL1RAP의 약간의 발현을 보여주었는데, 세포의 대략 60%가 동종형에 비하여 단백질 염색을 가졌다(도 36). 유도된 발현은 배양 조건에는 의존적이지 않았지만, 가능하게는 스트레스에 대처할 기전으로서의 수라민의 존재 하에서 향상된 것으로 보였다.

[0551] 마지막으로, IL1RAP × CD3 이중특이성 항체의 존재 하에서 HUVEC를 T 세포 및 암 세포와 공동-배양하였다. 도 37은 처리 후 24시간 이내에 10 nM IL1RAPxCD3이 관상 네트워크를 완전히 파괴하는 데 충분하였음을 나타낸다. 그러나, 대조 화합물(널xCD3) 또는 비히클(PBS)에 의한 처리는 확립된 네트워크 동태를 변경시키지 않았다. 이러한 관찰은 H1975(도 37a) 및 OCI-AML5(도 37b) 세포의 경우에 반복되었는데, 이는 종양 혈관생성에 있어서의 IL1RAPxCD3-의존성 T 세포 방향전환의 역할이 고형 및 액성 종양에서 관련되어 있음을 나타낸다. 100 nM 및 1 nM 용량의 IL1RAPxCD3 이중특이성 항체를 또한 시험하였으며 유사한 결과를 가져왔다. 약리학적 개입에 반응한 대표적인 네트워크 구조의 예가 도 38에 나타나 있는데, 여기서 패널 A, B 및 C는 HUVEC 관상 네트워크로부터의 녹색 형광을 나타내고, D, E 및 F는 분석에 사용된 컴퓨터-생성 네트워크 마스크를 나타낸다.

[0552] 이미징 검정이 완료된 후에, 기술적 반복 시험물을 풀링하고, T 세포 활성화 마커(CD25) 및 T 세포 상에서의 IL1RAP 발현에 대하여 유세포측정에 의해 분석하였다. HUVEC 상에서의 IL1RAP의 발현 및 IL1RAPxCD3 이중특이성 항체에 의한 처리 시의 그의 파괴와 일치되게, 항체 의존적 방식으로 T 세포 상에서의 CD25의 현저한 증가가 관찰되었다. 널xCD3 DuoBody® Ab(CNT0 9253)에 노출된 T 세포는 CD25를 상향조절하지 않았다. 이것은 H1975 세포(도 39a)와 OCI-AML5 세포(도 39c) 사이에 유사하였다. 흥미롭게도, IL1RAP는 H1975의 존재 하에서 활성화

된 T 세포 상에는 유도되지 않았지만(도 39b), OCI-AML5로 활성화된 T 세포 상에서는 IL1RAP의 실질적인 증가가 관찰되었는데(도 39d), 이는 AML 세포주에 의해 생성된 가용성 인자가 활성화 시에 T 세포 상에서의 IL1RAP의 발현을 촉발시킬 수 있음을 시사한다.

[0553] 마지막으로, T 세포 상에서의 CD25와 IL1RAP 발현 사이의 관계를 조사하기 위하여, 등고선도를 생성하고 동종형 대조군 염색에 기초하여 사분면 게이트를 설정하였다. 생성된 다이어그램은 H1975 세포의 존재 하에서, 10 nM IL1RAPxCD3이 CD25는 유도하지만 IL1RAP는 그렇지 않음을 보여준다(도 40a). 활성화는 특이적인데, 이는, 널 xCD3이 CD25에 있어서 유사한 증가를 가져오지 않기 때문이다(도 40b). 한편, OCI-AML5 세포와 공동-배양되고 IL1RAPxCD3으로 처리된 T 세포는 CD25 및 IL1RAP를 증가시킨다(도 40c). 중요한 것은, 활성화된 T 세포들의 하위세트만이 IL1RAP를 발현하였다는 것이다. 더욱이, 널xCD3은 T 세포 상에 CD25 또는 IL1RAP 발현을 유도하지 않는다(도 40d).

[0554] 실시예 33. 초대 AML 및 MDS 백혈병 아세포 및 골수성 유래 억제 세포에 대한 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체 효과의 생체의 평가.

[0555] 이 연구의 목적은 IL1RAP × CD3 이중특이성 항체가 백혈병 아세포에 대하여 급성 골수성 백혈병(AML) 및 골수 이형성 증후군(MDS)을 갖는 공여자로부터의 T 세포를 활성화할 수 있는지의 여부를 조사하는 것이었다. 이러한 이유로, 초대 공여자 백혈병 세포의 성장을 지지하기 위하여 종양 미세환경(TME)을 모방하는 배양 조건을 확립 하였다. 이 연구는 IL1RAP 결합 아암(IAPB57), 및 CD3 결합 아암(B220)을 갖는 톨 화합물을 사용하여 수행하였다. 간략하게 말하면, 2개의 AML 공여자 샘플로부터의 말초 혈액으로부터 단리된 신선한 단핵 세포(PBMC) 및 2 개의 MDS 공여자 샘플로부터의 동결보존된 골수 단핵(BMMC) 세포(각각 표 23 및 표 24)를 인간 간질 세포주 HS-5의 층 위에 시딩하고 10 내지 14일 동안 증폭하였다. 다음으로, 세포 배양물을 하기 3개의 그룹으로 세분하였다: 비처리 그룹, IL1RAP × CD3 Ab로 처리된 그룹 및 널 × CD3 Ab로 처리된 그룹(두 Ab 모두 1 µg/mL임). 처리 일수 0 및 일수 14에서, IL1RAP+ 아세포 및 골수성 유래 억제 세포(MDSC)뿐만 아니라 T 세포의 증폭/활성화의 평가를 위하여 유세포측정에 의해 세포를 분석하였다.

[0556] [표 23]

AML 공여자 특성								
공여자	연령 (세)	진단	질병 단계	재료	수집 상태	아세포 (%) ²	T 세포 (%) ²	세포유전학적 이상
AML_5503	63	AML	FD	신선한 PB	드 노보	68.9	9.14	N/A
AML_MT0034 ¹	74	AML-M7	FD	신선한 PB	N/A	80.3	7.28	일염색체성 (Monosomy) 7

AML, 급성 골수성 백혈병; M7, 거핵아구성; FD, 초회 진단; PB, 말초 혈액.

¹2016년 6월 현재 화학요법 중이고 Dacogen®에 의한 치료가 계속 진행 중인 공여자. 급성 골수성 백혈병으로의 형질전환을 갖는 골수섬유증-등급 2의 병력. ²처리 일수 0에서의 유세포측정에 의해 측정될 때의 아세포 및 T 세포의 %.

[0557]

[0558] [표 24]

MDS 공여자 특성							
공여자	진단	질병 하형	수집 일자	수집 상태	아세포 (%) ²	T 세포 (%) ²	세포유전학적 이상
MDS_4332 ¹	MDS	RAEB-2	12/3/2014	드 노보	26.6	1.54	43~45,XY,add(2)(p12),-3,add(4)(q31),-7,add(7)(q11.2),der(12)t(7;12)(q11.2;p13),+mar[cp10]/44~46,idem,+add(4)(q31)[cp8]/45,idem,+8[3]/46,XY[5]46,XY[20]
MDS_4594*	MDS	RAEB-2	8/6/2014	드 노보	29.2	2.21	

MDS, 골수이형성성 증후군; RAEB-2, 과량의 아세포-2를 갖는 불응성 빈혈.

¹냉동 골수 MNC; ²처리 일수 0에서의 유세포측정에 의해 측정될 때의 아세포 및 T 세포의 %.

[0559]

[0560] 초대 AML PBMC 및 MDS BMMC 세포와 간질 세포주의 공동-배양은 최대 28일까지 백혈병 아세포 및 T 세포의 생존을 지지하였다. 모든 시험된 샘플에서, 백혈병 아세포는 IL1RAP 양성이었다(도 41). IL1RAP × CD3 Ab에 의한 처리는, 대조군 또는 널 × CD3 Ab 처리된 세포와 대비하여, 시험된 두 MDS pts 샘플 모두 및 2개의 AML 시험된 샘플 중 하나에서 IL1RAP+ 백혈병 아세포에 있어서 유의한(40 내지 60%) 감소를 가져왔다. IL1RAP+ 세포의 감소는 CD8+ 및 CD4+ T 세포 집단 및 이들의 활성화의 증가와 크게 상관되었다. 비처리 세포 또는 널 × CD3 Ab로 처리된 세포에서, T 세포의 증폭은 관찰되지 않았다(도 42 및 도 43). 유사하게, 비반응성 AML 샘플에서는, 일수 14에서 최소한의 CD8+ 세포가 존재하였고, CD4+ T 세포는 검출 불가능하였다(도 44).

[0561] 또한, 모든 시험된 샘플에서는, 배양한지 처음 수 일 이내에 간질 세포와의 접촉으로 인해 T 세포의 활성화 시에 MDSC가 생성되었다. AML 및 MDS 샘플 둘 모두에서, MDSC는 IL1RAP⁺(도 45a)였다. 반응성 샘플에서, MDSC의

%는 IL1RAP × CD3에 의한 처리 후에 비처리 대조군 또는 널 × CD3 Ab로 처리된 세포와 대비하여 유의하게 더 낮았는데, 이는 MDSC의 표적 특이적 사멸을 시사한다. 비반응성 AML 샘플에서, MDSC의 %는 모든 3개의 처리군에서 동일하였는데, 이는 T 세포의 결여와 상관된다(도 45b). 반응성 샘플에서, MDSC의 %는 IL1RAP × CD3에 의한 처리 후에 비처리 대조군 또는 널 × CD3 Ab로 처리된 세포와 대비하여 유의하게 더 낮았는데, 이는 MDSC의 표적 특이적 사멸을 시사한다. 비반응성 AML 샘플에서, MDSC의 %는 모든 3개의 처리군에서 동일하였는데, 이는 T 세포의 결여와 상관된다(도 45b).

[0562] 서열 목록의 간단한 설명

서열 번호	유형	종	설명	서열
1	PRT	인간	IL1RAP 아이소형 1- ECD-C-말단 His	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAG LTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDLWFRPTLLNDTGN YTCMLRNNTTYCSKVAFPLEVQKDSFNSPMKLPVHKLYIEYGIQ RITCPNVGDFPSSVKPTITWYMGYKIQNFNNVIPEGMNLFLIA LISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSP NDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITI DVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAGGEV AKAAKVKQKVPAPRYTVELACGFGATGSGSGSHHHHHH
2	PRT	인간	IL1RAP 아이소형 2- ECD-N-말단 His	SHHHHHHGSLEVLFGPSPERCDDWGLDTMRQIQVFEDPARIKCP LFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKE KDLWFRPTLLNDTGNITCMLRNNTTYCSKVAFPLEVQKDSFNS PMKLPVHKLYIEYGIQRTCPNVGDFPSSVKPTITWYMGYKIQ NFNNVIPEGMNLFLIALISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRTLTV KVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSR NEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSE DLKRSYVCHARSAGGEVAKAAKVKQKGNRCGQ
3	PRT	인간	IL1RAP 아이소형 2- ECD-C-말단 His	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAG LTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDLWFRPTLLNDTGN YTCMLRNNTTYCSKVAFPLEVQKDSFNSPMKLPVHKLYIEYGIQ RITCPNVGDFPSSVKPTITWYMGYKIQNFNNVIPEGMNLFLIA LISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSP NDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITI DVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAGGEV AKAAKVKQKGNRCGQSGSGSHHHHHH
4	PRT	사이노	IL1RAP-ECD- C-말단 His	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAG LTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDLWFRPTLLNDTGN YTCMLRNNTTYCSKVAFPLEVQKDSFNSPMKLPVHKLYIEYGIQ RITCPNVGDFPSSVKPTITWYMGYKIQNFNNVIPEGMNLFLIAF ISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSPN DHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDIPID VTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAGGEV KAATVKQKVPAPRYTVELACGFGATGSGSGSHHHHHH
5	PRT	인간	IL1RAP 아이소형 1- ECD—C-말단 His-링커 없음	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAG LTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDLWFRPTLLNDTGN YTCMLRNNTTYCSKVAFPLEVQKDSFNSPMKLPVHKLYIEYGIQ RITCPNVGDFPSSVKPTITWYMGYKIQNFNNVIPEGMNLFLIA LISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSP NDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITI DVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAGGEV AKAAKVKQKVPAPRYTVEAHHHHHHHHHH
6	PRT	인간	IL1RAP 아이소형 1- ECD	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAG LTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDLWFRPTLLNDTGN YTCMLRNNTTYCSKVAFPLEVQKDSFNSPMKLPVHKLYIEYGIQ RITCPNVGDFPSSVKPTITWYMGYKIQNFNNVIPEGMNLFLIA LISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSP NDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITI DVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAGGEV AKAAKVKQKVPAPRYTVELACGFGAT

[0563]

서열 번호	유형	종	설명	서열
7	PRT	사이노	IL1RAP- ECD	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAG LTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGN YTCMLRNTTYCSKVAFPLEVVQKDSCFNSPMKLPVHKLYIEYGIQ RITCPNVVDGYFPSSVKPTITWYMGYKIQNFNNVIEGMMNLSFLIAF ISNNGNYTCVVTPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSPN DHVVYEKEPGEELLIPCTVYFSLMDSRNEVWWTIDGKKPDDIPID VTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSDELKRSYVCHARSAKGEVA KAATVKQKVPAPRYTVELACGFGAT
8	PRT	마우스	IL1RAP-ECD	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSSG LTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGN YTCMLRNTTYCSKVAFPLEVVQKDSCFNSAMRFPVHKMYIEHGIH KITCPNVVDGYFPSSVKPSVTWYKGCTEIVDFHNVLPFGMNLFFIP LVSNNNGNYTCVVTPENGRLFHLTRTVTVKVVGSPKDALPPQIYS PNDRVVYEKEPGEELVIPCKVYFSFIMDSHNEVWWTIDGKKPDDV TVDITINESVSYSSTEDETRTQILSIKKVTPEDLRNRYVCHARNTKG EAEQAAKVQKVIPPRYTVELACGFGAT
9	PRT	랫	IL1RAP-ECD	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSSG LTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGN YTCMLRNTTYCSKVAFPLEVVQKDSCFNSPMRLPVHRLYIEQGIH NITCPNVVDGYFPSSVKPSVTWYKGCTEIVNFHNVQPKGMNLSFFIP LVSNNNGNYTCVVTYLENGRLFHLTRTMTVKVVGSPKDAVPPHIYS PNDRVVYEKEPGEELVIPCKVYFSFIMDSHNEIWWTIDGKKPDDVP VDITIESVSYSSTEDETRTQILSIKKVTPEDLKRNYVCHARNAEGE AEQAAKVQKVIPPRYTVELACGFGAT
10	PRT	인간	IAPB47- HCDR1	GYSFTSYW
11	PRT	인간	IAPB47- HCDR2	IYPSDSYT
12	PRT	인간	IAPB47- HCDR3	ARRNSAENYADLDY
13	PRT	인간	IAPB38, 및 IAPB29- HCDR1	GFTFSNYA
14	PRT	인간	IAPB38- HCDR2	INYGGGSK
15	PRT	인간	IAPB38- HCDR3	AKDYGPFDALDY
16	PRT	인간	IAPB57- HCDR1	GGSISSSTYY
17	PRT	인간	IAPB57- HCDR2	IYFTGST
18	PRT	인간	IAPB57- HCDR3	AKEDDSSGYYSFDY
19	PRT	인간	IAPB61 및 IAPB55- HCDR1	GVSISSSTYY
20	PRT	인간	IAPB61 및 IAPB55- HCDR2	IYFTGNT
21	PRT	인간	IAPB61 및 IAPB55- HCDR3	GSLFGDYGFDY

[0564]

서열 번호	유형	종	설명	서열
22	PRT	인간	IAPB62, IAPB63 및 IAPB64- HCDR1	GYTFNTYA
23	PRT	인간	IAPB62, IAPB63 및 IAPB64- HCDR2	INTNTGNP
24	PRT	인간	IAPB62, IAPB63 및 IAPB64- HCDR3	ARRYFDWLLGAFDI
25	PRT	인간	IAPB3, IAPB17, IAPB9 및 IAPB65- HCDR1	GGTFSSYA
26	PRT	인간	IAPB3 및 IAPB65- HCDR2	ISAIFGTA
27	PRT	인간	IAPB3- HCDR3	ARGNSFHALWDYAFDY
28	PRT	인간	IAPB17- HCDR2	IIPFGNA
29	PRT	인간	IAPB17- HCDR3	ARTIHYLDYVHILDY
30	PRT	인간	IAPB23- HCDR1	GFTFSNYW
31	PRT	인간	IAPB23- HCDR2	IRYDGGSK
32	PRT	인간	IAPB23- HCDR3	AKDAYPPYSFDY
33	PRT	인간	IAPB25- HCDR1	GFTFSSYA
34	PRT	인간	IAPB25 및 IAPB29- HCDR2	ISGSGGST
35	PRT	인간	IAPB25- HCDR3	AKGDEYYPDPLDY
36	PRT	인간	IAPB29- HCDR3	AKEWSSYFGLDY
37	PRT	인간	IAPB9- HCDR2	ISPIFGTA
38	PRT	인간	IAPB9- HCDR3	ARRYDNFARSGDLDY
39	PRT	인간	IAPB65- HCDR3	ARHLHNAIHLDY
40	PRT	인간	IAPB47- LCDR1	QSIEND
41	PRT	인간	IAPB47- LCDR2	YAS
42	PRT	인간	IAPB47- LCDR3	QQSFTAPLT

[0565]

서열 번호	유형	종	설명	서열
43	PRT	인간	IAPB38-LCDR1	QSVDDW
44	PRT	인간	IAPB38-LCDR2	TAS
45	PRT	인간	IAPB38-LCDR3	QQYHHWPLT
46	PRT	인간	IAPB57-LCDR1	QGISSY
47	PRT	인간	IAPB57, IAPB62, IAPB25, IAPB29, 및 IAPB9-LCDR2	AAS
48	PRT	인간	IAPB25, IAPB29, 및 IAPB9-LCDR3	QQSYSTPLT
49	PRT	인간	IAPB61 및 IAPB55-LCDR1	QFISSN
50	PRT	인간	IAPB61, IAPB55 및 IAPB65-LCDR2	GAS
51	PRT	인간	IAPB61-LCDR3	QQYNNWPST
52	PRT	인간	IAPB62-LCDR1	QGISSW
53	PRT	인간	IAPB62-LCDR3	QQANSFPLT
54	PRT	인간	IAPB3 및 IAPB17-LCDR1	QSVLYSSNNKNY
55	PRT	인간	IAPB3 및 IAPB17-LCDR2	WAS
56	PRT	인간	IAPB3 및 IAPB17-LCDR3	QQYYSTPLT
57	PRT	인간	IAPB23-LCDR1	QSVSSY
58	PRT	인간	IAPB23-LCDR2	DAS
59	PRT	인간	IAPB23-LCDR3	QQRSNWPLT
60	PRT	인간	IAPB25, IAPB29 및 IAPB9-LCDR1	QSISSY
61	PRT	인간	IAPB55-LCDR3	QQYNNWPFT

[0566]

서열 번호	유형	종	설명	서열
62	PRT	인간	IAPB63 및 IAPB64-LCDR1	SSDVG DYNY
63	PRT	인간	IAPB63 및 IAPB64-LCDR2	DVS
64	PRT	인간	IAPB63-LCDR3	ASYAGNYNVV
65	PRT	인간	IAPB64-LCDR3	SSYAGNYNVV
66	PRT	인간	IAPB65-LCDR1	QSVSNF
67	PRT	인간	IAPB65-LCDR3	QQGKHWPWT
68	PRT	인간	IAPB47-VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKG LEWMGIIYPSDSYTRYSPSFQGGVTSADKSISTAYLQWSSLKASDT AMYVCARRNSAENYADLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
69	PRT	인간	IAPB47-VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSSISNDLNWYQQKPGKAPKL LIYYASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSIQPEDFATYYCQQSFT APLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
70	PRT	인간	IAPB38-VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPGKG LEWVSGINYGGSKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKDYGPFDLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
71	PRT	인간	IAPB38-VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDWLAWYQQKPGQAPR LLIYTASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQYH HWPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
72	PRT	인간	IAPB57-VH	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSTYYWGWRQPPGKG LEWIGSIYFTGSTDYNP SLKSRVSI SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCAKEDDSSGYYSFDYWGQGNLTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK

[0567]

서열 번호	유형	종	설명	서열
73	PRT	인간	IAPB57-VL	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKL LIYAASSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQVNS YPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
74	PRT	인간	IAPB61 및 IAPB55-VH	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGVSISSSTYYWGWLQPPGM GLEWTGSIYFTGNTYYNPSLKSRTVISVDTSRNQFSLKLSSTVAAD TAVYYCGSLFGDYGYFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
75	PRT	인간	IAPB61-VL	EIVMTQSPATLSVPPGERATLSCRASQFISSNLAWYQQKPGQAPRL LIYGASTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNN WPSTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
76	PRT	인간	IAPB62, IAPB63 및 IAPB64-VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFNTYAMNWVRQAPGQ GLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVSLDTSVSTAYLQISSLKA EDTAVYYCARRYFDWLLGAFDIWGQGTMTVTSSASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSDQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
77	PRT	인간	IAPB62-VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYAASSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAN SFPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
78	PRT	인간	IAPB3-VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGDTFSSYAISWVRQAPGQ LEWMGGISAIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGNSFHALWDYAFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSDQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
79	PRT	인간	IAPB3 및 IAPB17-VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQK PGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQYYSTPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0568]

서열 번호	유형	종	설명	서열
80	PRT	인간	IAPB17-VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIPIFGNANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARTIYLDYVHILDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
81	PRT	인간	IAPB23-VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNVWRQAPGKG LEWVSAIRYDGGSKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKDAYPPYFSDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
82	PRT	인간	IAPB23-VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSN WPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNMF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
83	PRT	인간	IAPB25-VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGEYYPDPLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGP PCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
84	PRT	인간	IAPB25, IAPB29 및 IAPB9-VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNMF PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
85	PRT	인간	IAPB29-VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKEWSSYFGLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

[0569]

서열 번호	유형	종	설명	서열
86	PRT	인간	IAPB9-VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGWISPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSED TAVYYCARRYDNFARSGDLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQ DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYCKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
87	PRT	인간	IAPB55-VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQFISSNLAWYQQKPGQAPRL LIYGASTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNN WPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
88	PRT	인간	IAPB63-VL	QSALTQPRSVSGSPGHSTVISTGTSSDVGDNYSWYQQRPGKV PKLLIYDVSKRPSGVDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAIYFCAS YAGNYSNVFGGGKTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKKAASSYL SLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
89	PRT	인간	IAPB64-VL	QSALTQPRSVSGSPGHSTVISTGTSSDVGDNYSWYQQRPGKV PKLLIYDVSKRPSGVDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAIYFCSS YAGNYSNVFGGGKTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKKAASSYL SLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
90	PRT	인간	IAPB65-VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGISAIFGTANYAQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSED TAVYYCARHLHNAIHLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
91	PRT	인간	IAPB65-VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNFLAWYQQKPGQAPRL LIYGASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQGKH WPWTFGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
92	PRT	인공	CD3B220-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFTNTYAMNWVRQASGKG LEWVGIRISKYNAYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSL KTEDTAVYYCTRHNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYCKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD SDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLS LGK

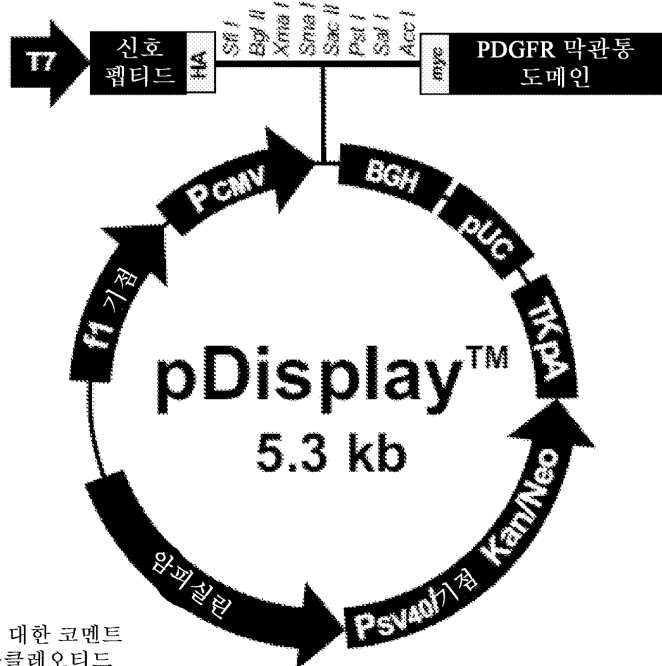
[0570]

서열 번호	유형	종	설명	서열
93	PRT	인공	CD3B220-VL	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQ APRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYY CALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
94	PRT	인공	CD3B219-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSL KTEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNNHYTQKLSLS LGK
95	PRT	인공	CD3B219-VL	QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQA PRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC ALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSY LSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
96	PRT	마우스	CD3B219 및 CD3B220- HCDR1	TYAMN
97	PRT	마우스	CD3B220- HCDR2	RIRSKYNAYATYYAASVKG
98	PRT	마우스	CD3B219 및 CD3B220- HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY
99	PRT	마우스	CD3B219 및 CD3B220- LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN
100	PRT	마우스	CD3B219 및 CD3B220- LCDR2	GTNKRAP
101	PRT	마우스	CD3B219 및 CD3B220- LCDR3	ALWYSNLWV
102	PRT	인공	CD3B219- HCDR2	RIRSKYNNYATYYAASVKG
103	PRT	인간	IAPB57- LCDR3	QQVNSYPLT

[0571]

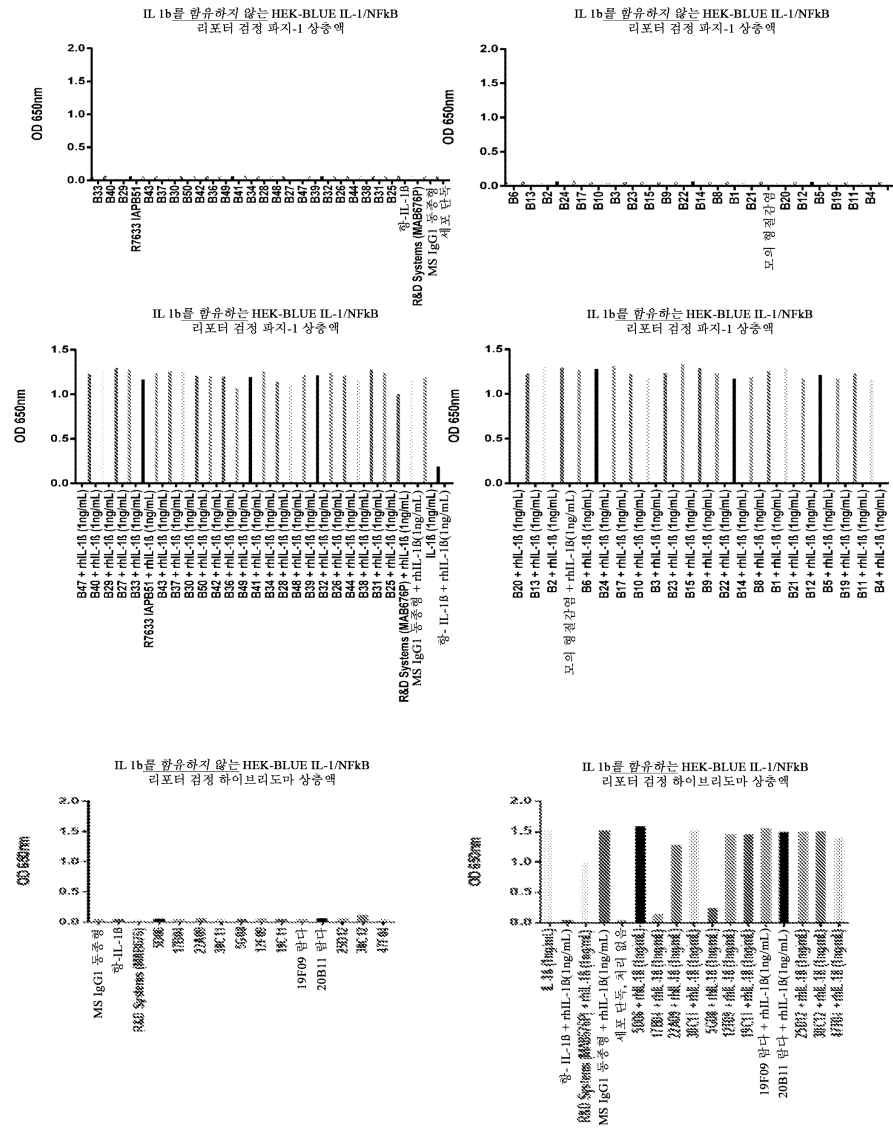
도면

도면1

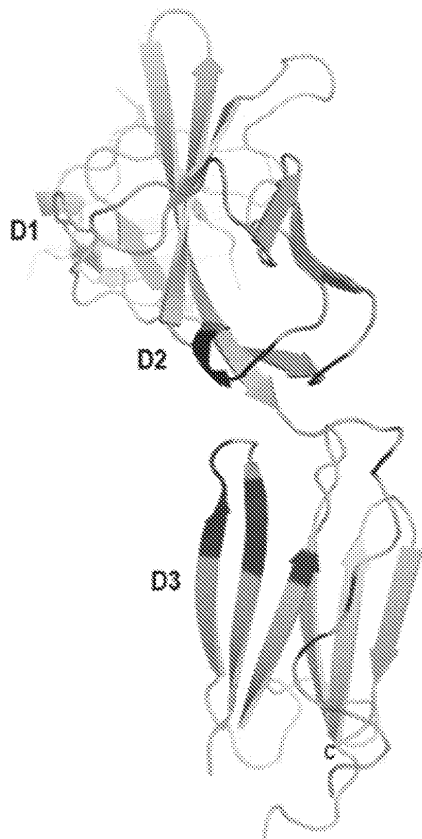


pDisplay™에 대한 코멘트
5325개의 뉴클레오타이드

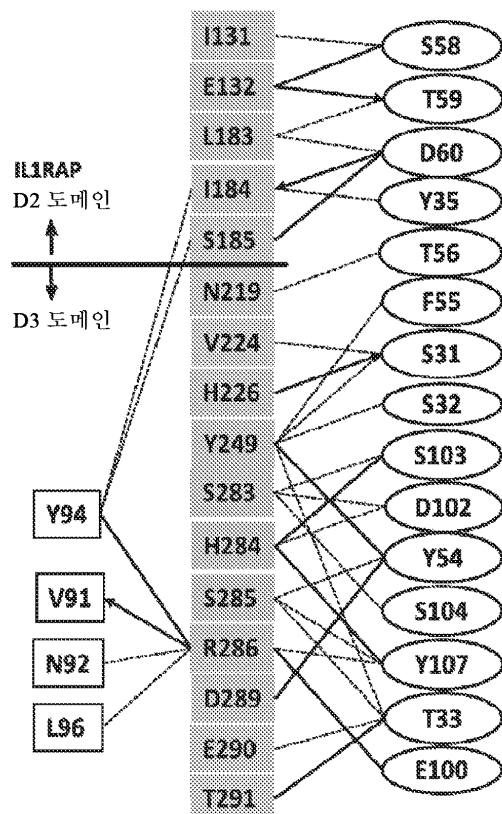
도면2



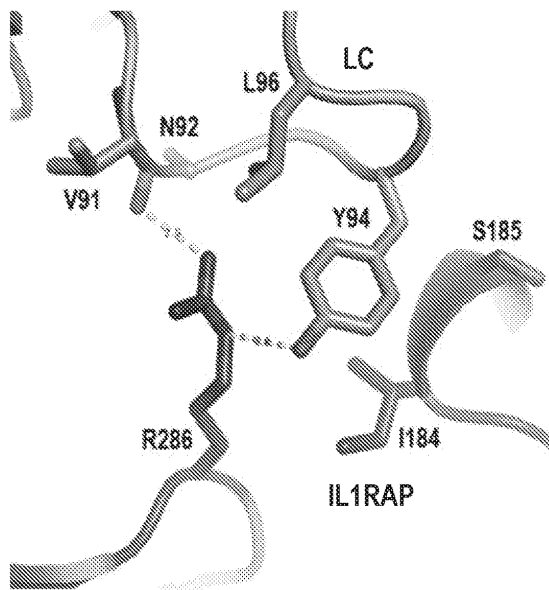
도면3a



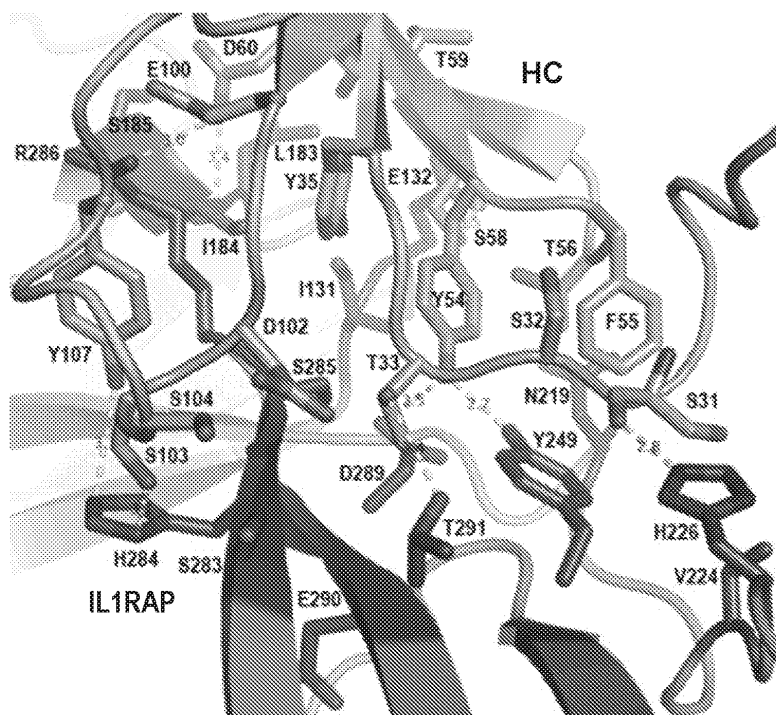
도면3b



도면3c



도면3d



도면4

에피토프

```

아이소형_1 1 SERCDWGLDTRMQIQVFEDFPAKICPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIWYTRQDRDLEEFINFRLENRISKEKDLWFRPTLND 88
아이소형_2 1 SERCDWGLDTRMQIQVFEDFPAKICPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIWYTRQDRDLEEFINFRLENRISKEKDLWFRPTLND 88
아이소형_3 1 SERCDWGLDTRMQIQVFEDFPAKICPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIWYTRQDRDLEEFINFRLENRISKEKDLWFRPTLND 88
아이소형_4 1 SERCDWGLDTRMQIQVFEDFPAKICPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIWYTRQDRDLEEFINFRLENRISKEKDLWFRPTLND 88

아이소형_1 89 TGNYTCLMNTTYGSKVAFPLEVWQKDCSPNPKLVHKLVIIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMGCKIQNFNNVIEGMN 176
아이소형_2 89 TGNYTCLMNTTYGSKVAFPLEVWQKDCSPNPKLVHKLVIIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMGCKIQNFNNVIEGMN 176
아이소형_3 89 TGNYTCLMNTTYGSKVAFPLEVWQKDCSPNPKLVHKLVIIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMGCKIQNFNNVIEGMN 176
아이소형_4 89 TGNYTCLMNTTYGSKVAFPLEVWQKDCSPNPKLVHKLVIIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMGCKIQNFNNVIEGMN 176

아이소형_1 177 LSLFLIALISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRITLVKVVGSPKNAVFPVHSNDHVVEKEFGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTI 264
아이소형_2 177 LSLFLIALISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRITLVKVVGSPKNAVFPVHSNDHVVEKEFGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTI 264
아이소형_3 177 LSLFLIALISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRITLVKVVGSPKNAVFPVHSNDHVVEKEFGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTI 264
아이소형_4 177 LSLFLIALISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRITLVKVVGSPKNAVFPVHSNDHVVEKEFGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTI 264

아이소형_1 265 DGKKPDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLRKSYVCHAPSAGFVAKAAKVKQKVPAPRYTVELACGPGAT 347
아이소형_2 265 DGKKPDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLRKSYVCHAPSAGFVAKAAKVKQKVPAPRYTVELACGPGAT 336
아이소형_3 265 DGKKPDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLRKSYVCHAPSAGFVAKAAKVKQKVPAPRYTVELACGPGAT 329
아이소형_4 265 DGKKPDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLRKSYVCHAPSAGFVAKAAKVKQKVPAPRYTVELACGPGAT 347
    
```

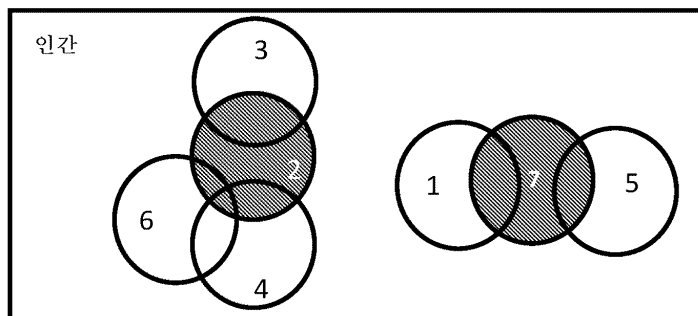
파라토프

```

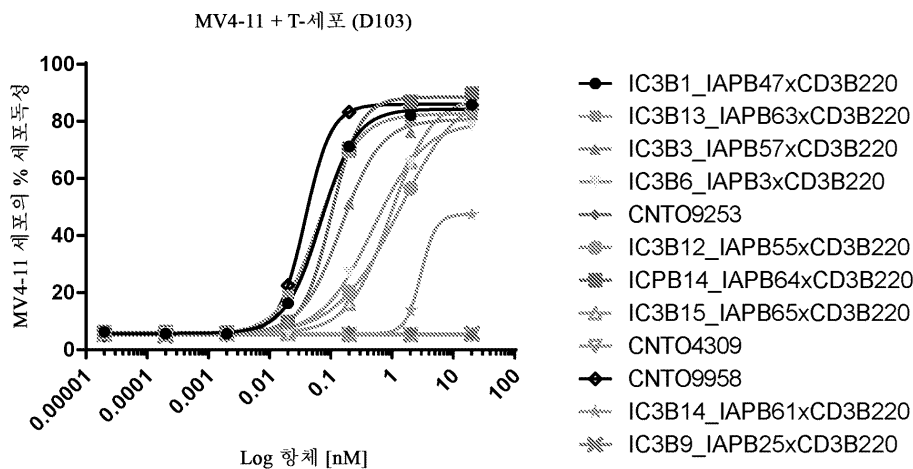
IAPB57_HC 1 QLQLQESGPGLVKPSSETLSITCTVSGGSISSTTYVWGWIRPPGKGLEWIGSIKPCSTNPNLSLKRVSISVDTSK 77
                                     CDR-H1 CDR-H2
OAPB57_HC 78 NQFSLKLSSVTAADTAIVYCAKEIDSSGYVFDYWGQGNLVTVSSASTKCPSPVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY 154
                                     CDR-H3
IAPB57_HC 155 FPEPVTVSWNGALTSVGHFTFAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHPKNTKVDKKVEPKSCHHHHHH 231

IAPB57_LC 1 DIQLTQSPFLSASVGDRTVITCRASQGISSYLAWYQKPKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTEFT 72
                                     CDR-L1 CDR-L2
IAPB57_LC 73 LTISSLQPEDFATYYCCQVNSYPTTFGGGTVKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREA 144
                                     CDR-L3
IAPB57_LC 145 KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTSYLSSTLTLSKADYEKKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC 214
    
```

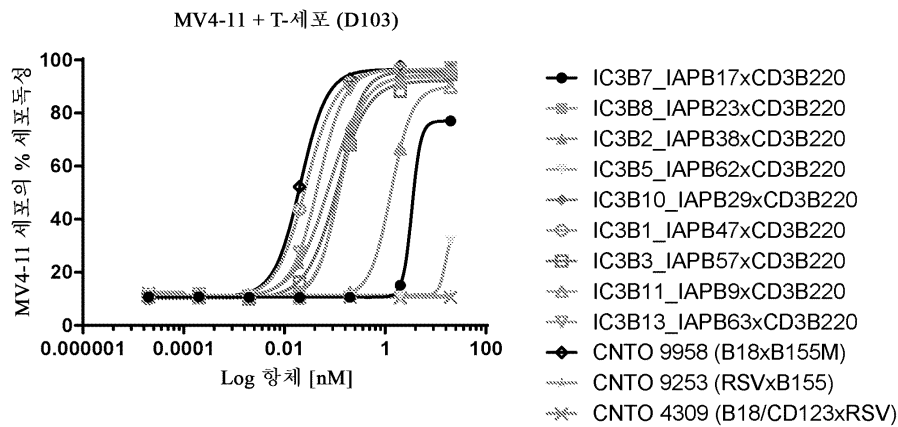
도면5



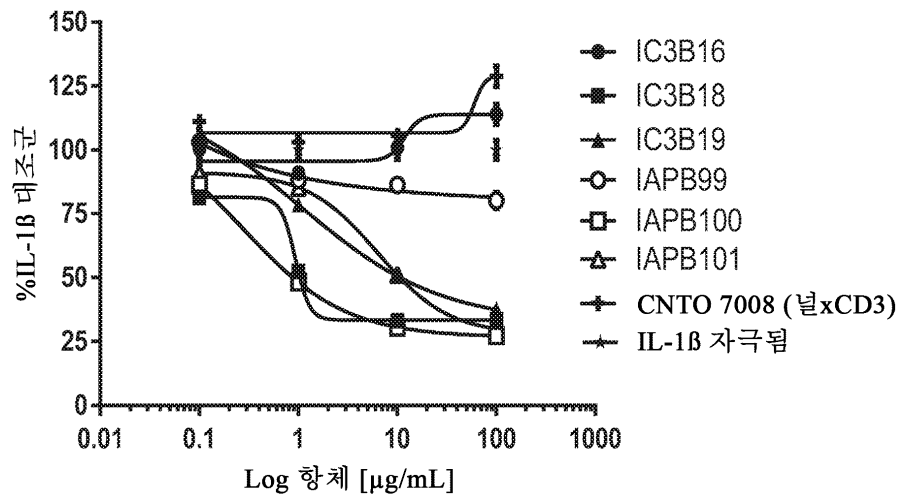
도면6a



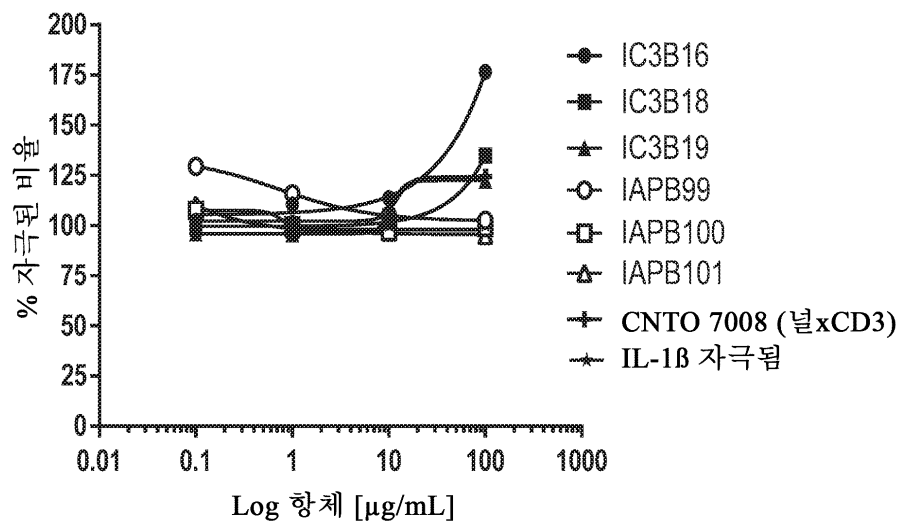
도면6b



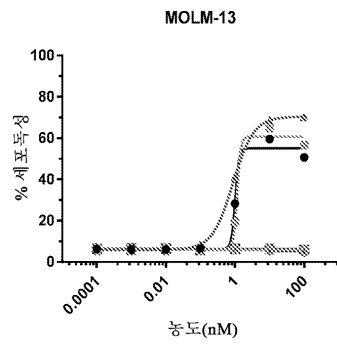
도면7a



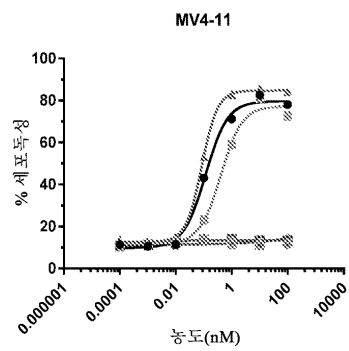
도면7b



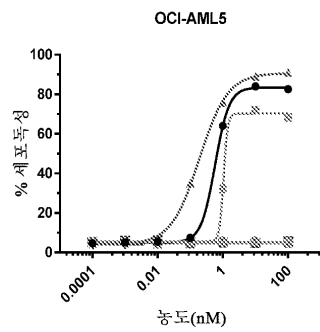
도면8a



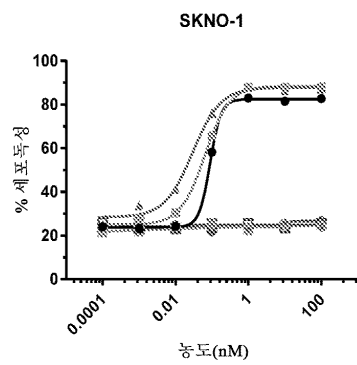
도면8b



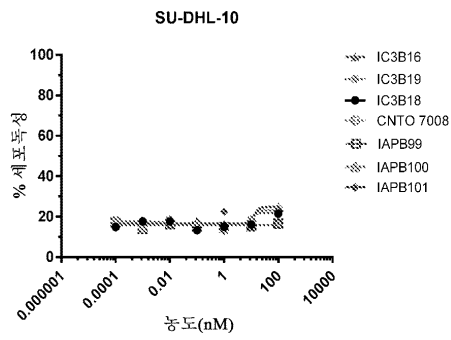
도면8c



도면8d



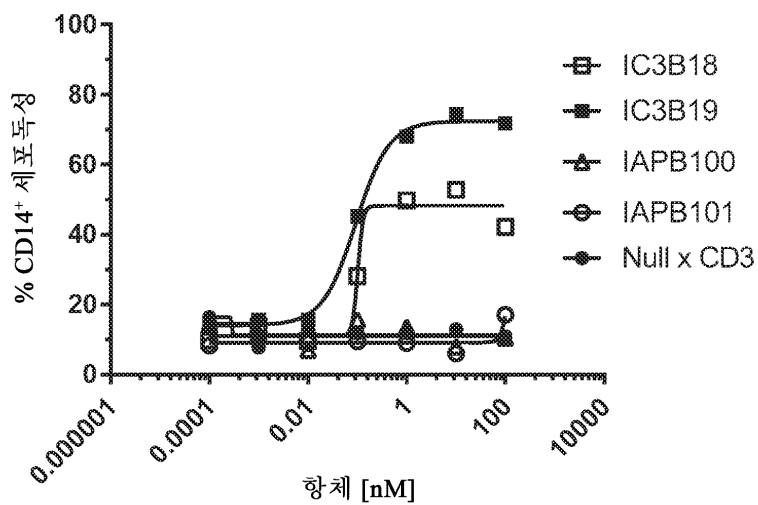
도면8e



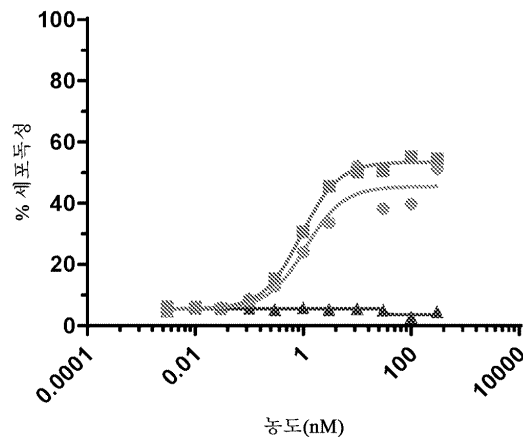
도면9

T-세포 공여자	Molm		MV-411		OCI-AML5		SKNO-1	
	EC50 (nM)	% 최대 용해	EC50 (nM)	% 최대 용해	EC50 (nM)	% 최대 용해	EC50 (nM)	% 최대 용해
D103	1.241	63.65	0.773	59.43	1.000	68.02	0.045	83.42
M6541	1.197	64.12	1.337	69.03	0.484	62.80	0.007	95.17
M7287	0.617	64.87	0.643	88.67	0.610	79.67	0.013	89.67
M7113	0.142	73.63	0.102	83.30	0.242	85.13	0.013	85.77
M7105	0.476	58.63	0.101	78.17	0.442	74.80	0.004	83.60

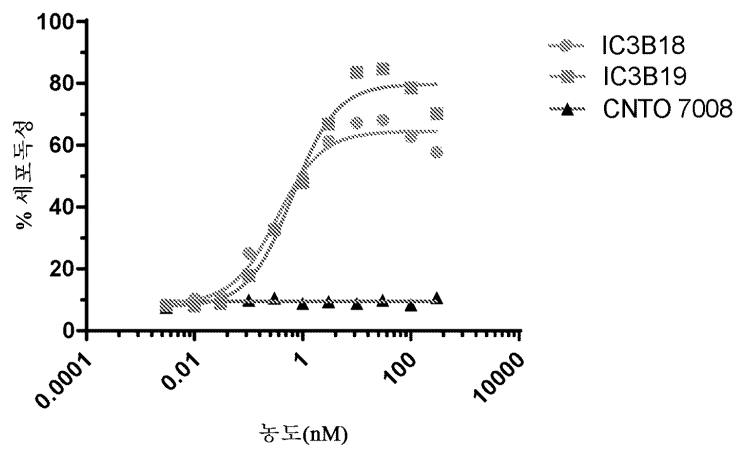
도면10



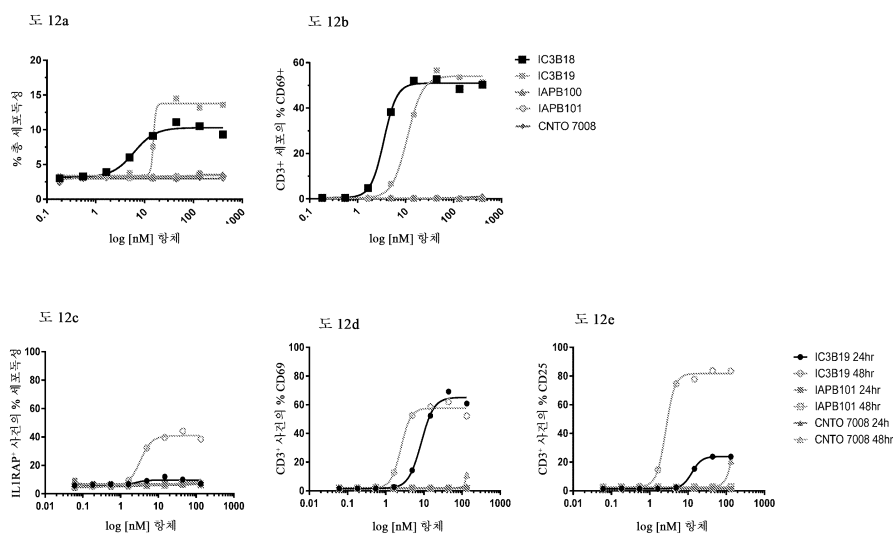
도면11a



도면11b



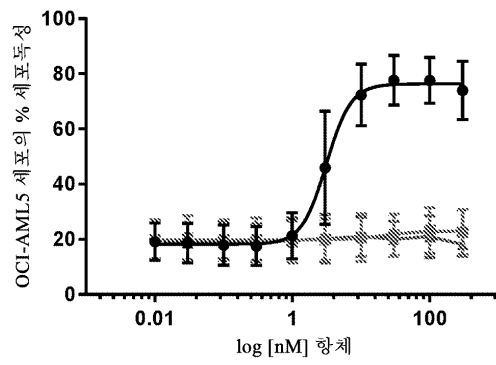
도면12



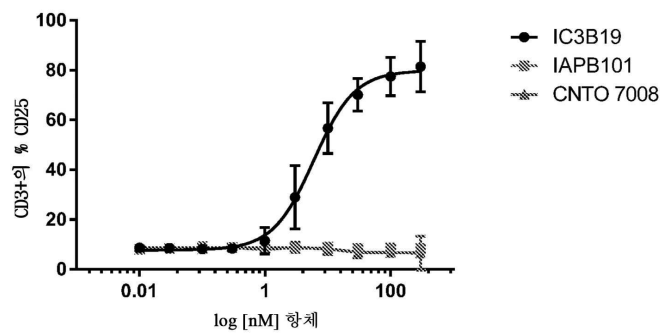
IC3B18 및 IC3B19 (150 kDa)의 농도:

nM	133.00	44.33	14.78	4.93	1.64	0.55	0.18	0.06
μg/mL	20.00	6.67	2.22	0.74	0.25	0.08	0.03	0.01

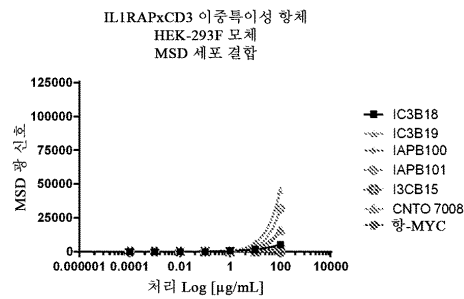
도면13a



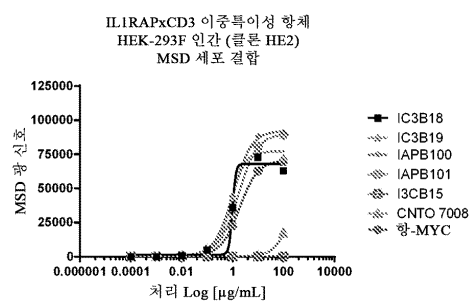
도면13b



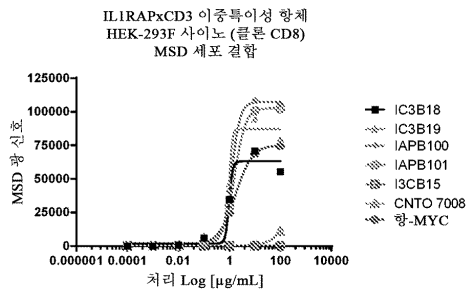
도면14a



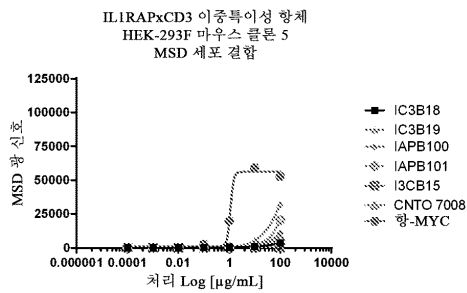
도면14b



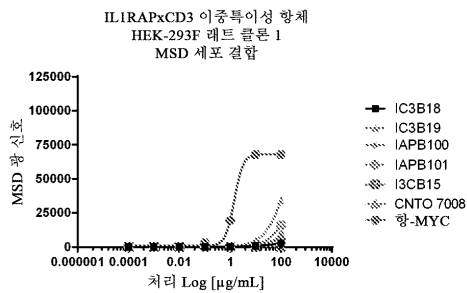
도면14c



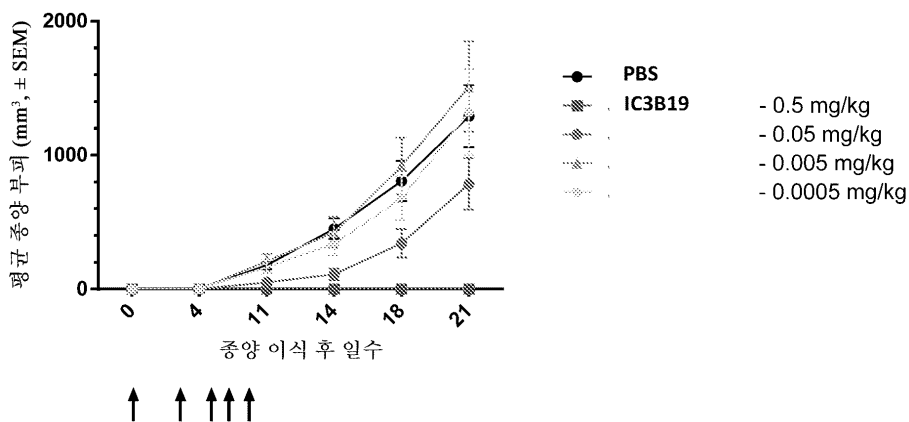
도면14d



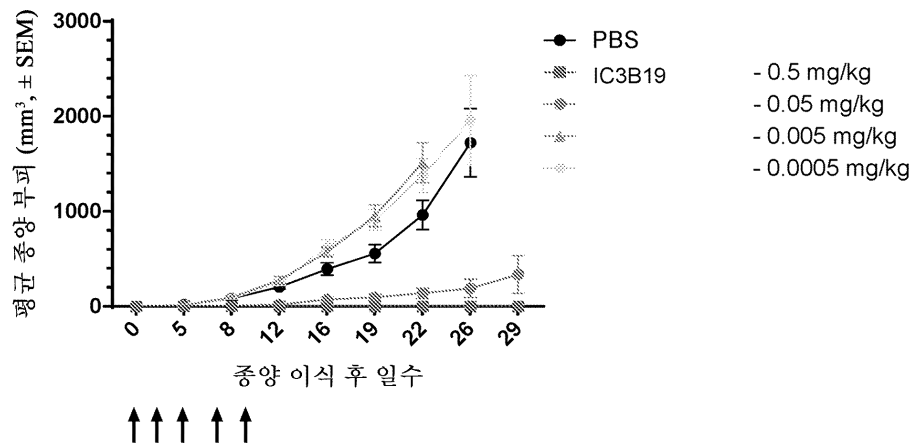
도면14e



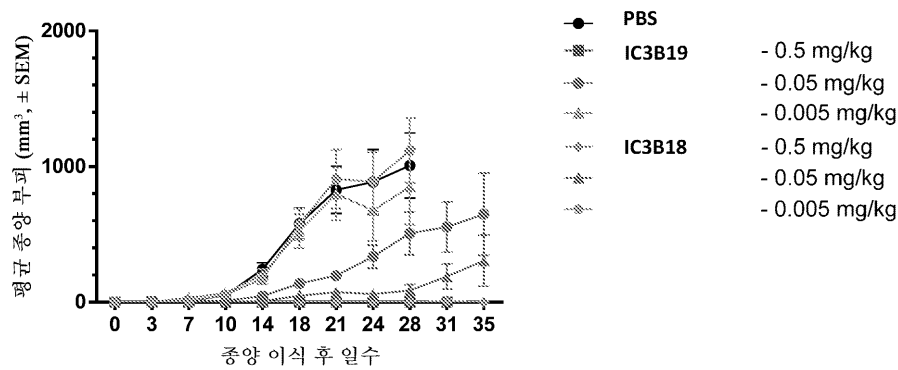
도면15



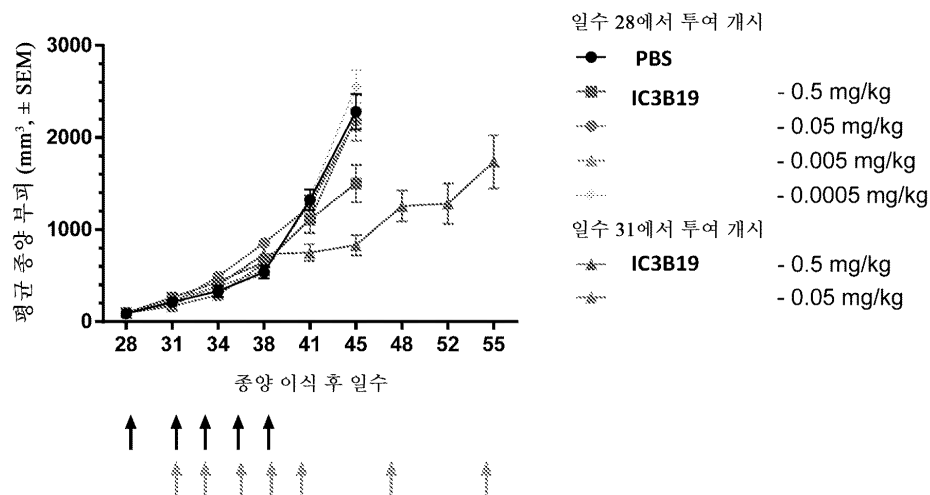
도면16



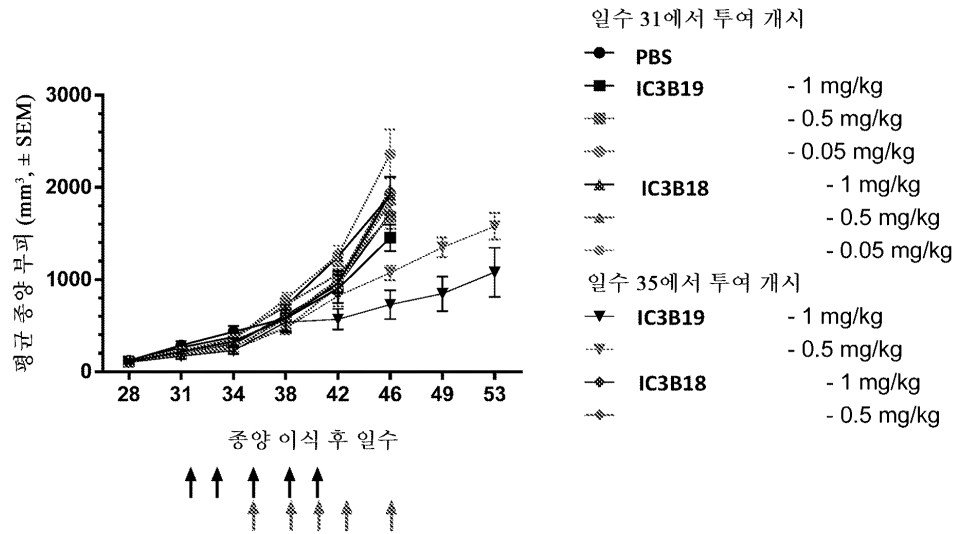
도면17



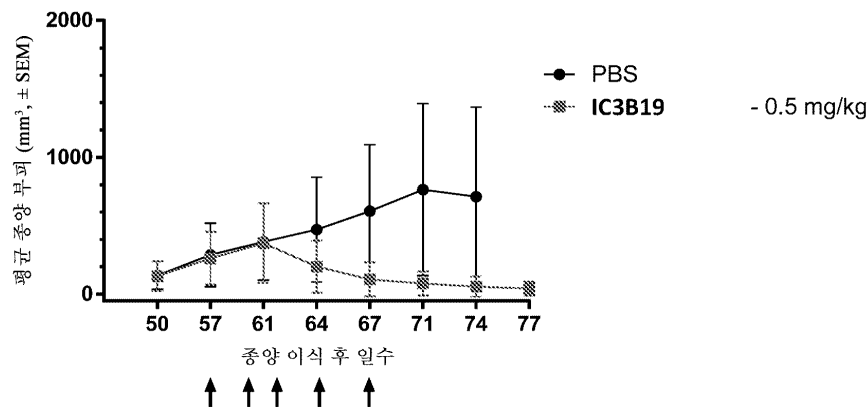
도면18



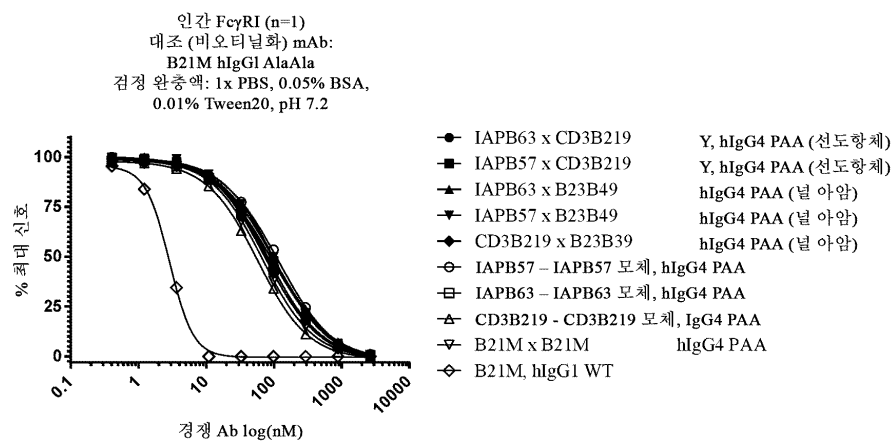
도면19



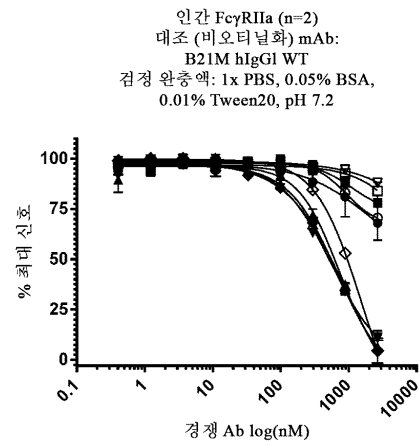
도면20



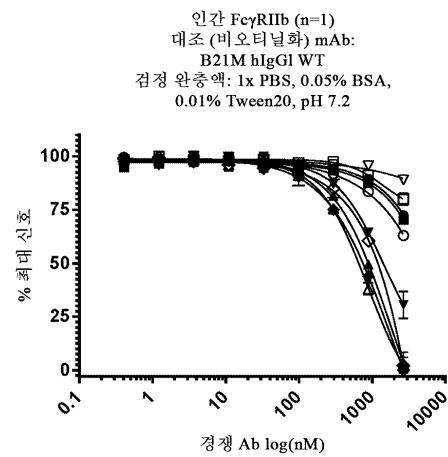
도면21a



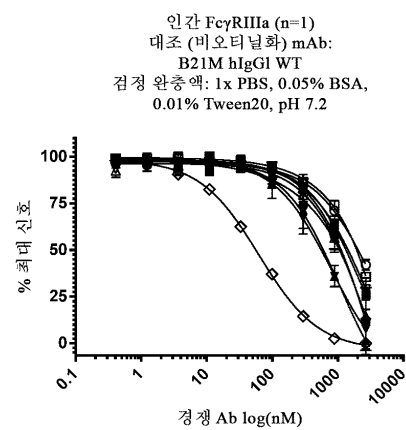
도면21b



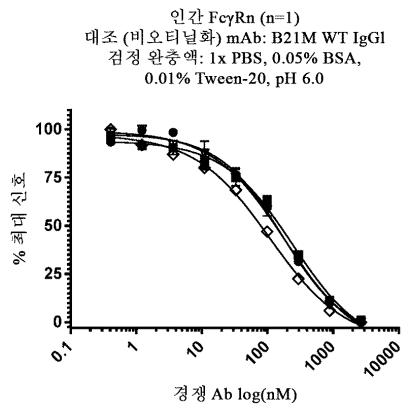
도면21c



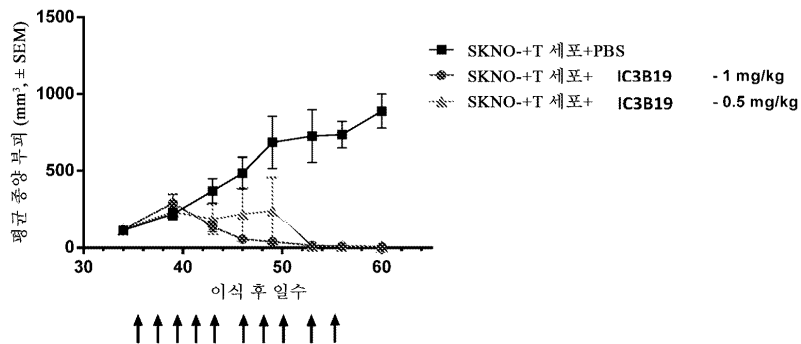
도면21d



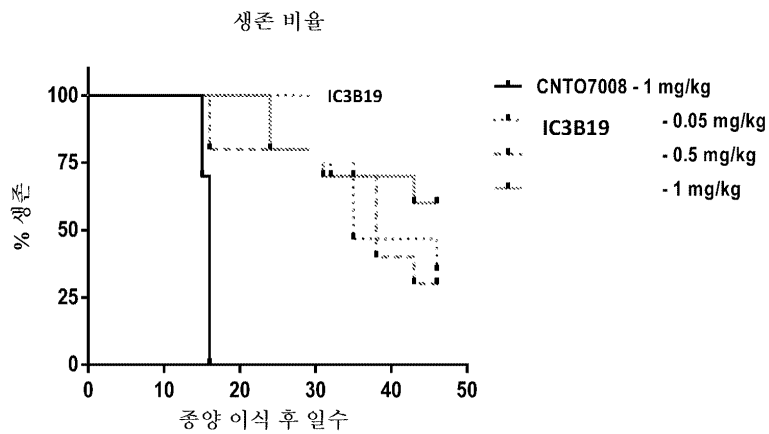
도면21e



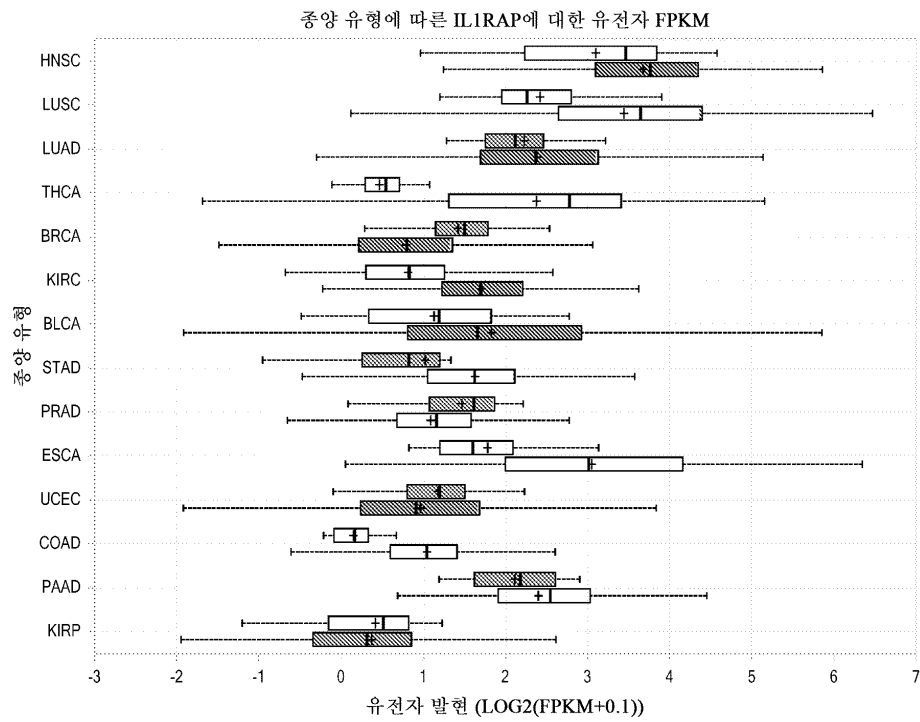
도면22



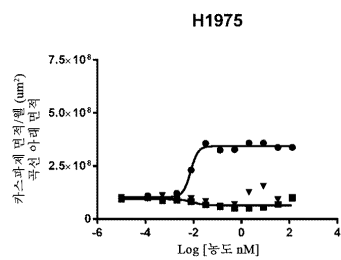
도면23



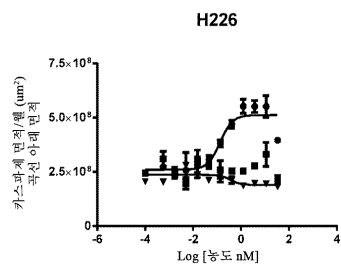
도면24



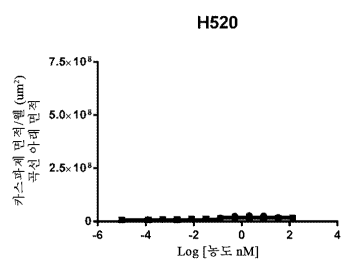
도면25a



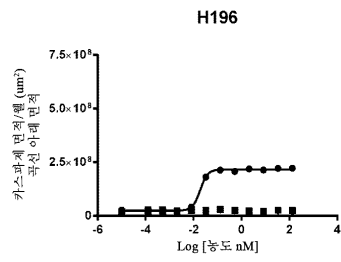
도면25b



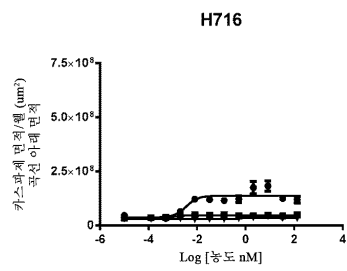
도면25c



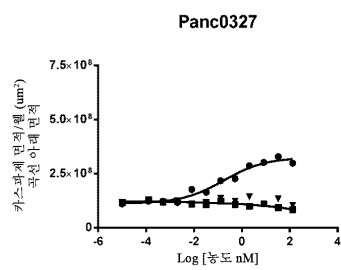
도면25d



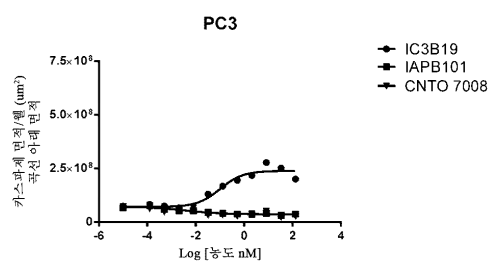
도면25e



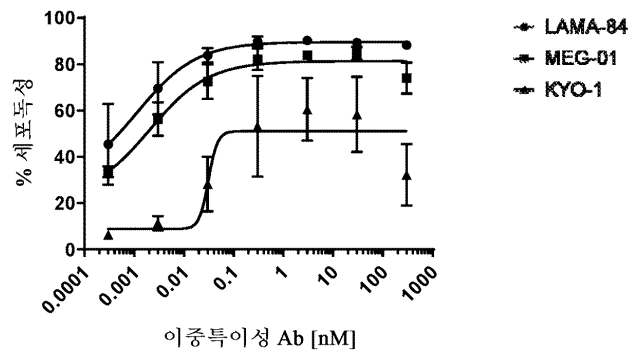
도면25f



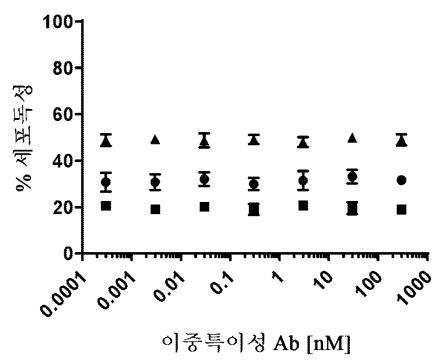
도면25g



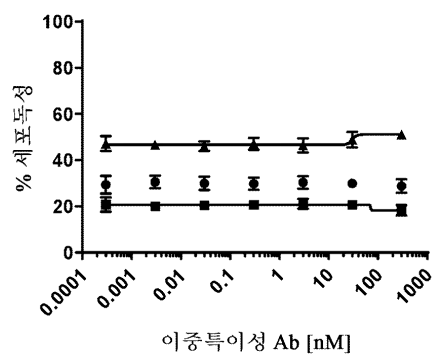
도면26a



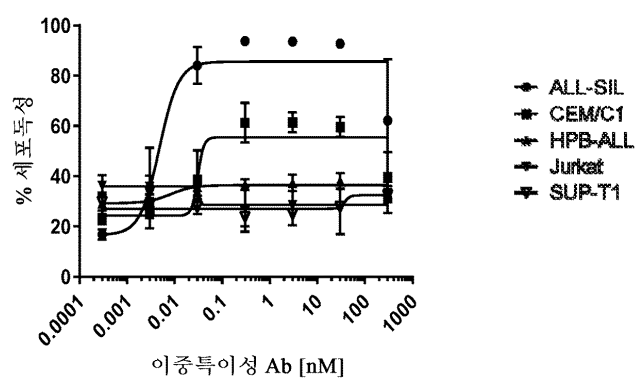
도면26b



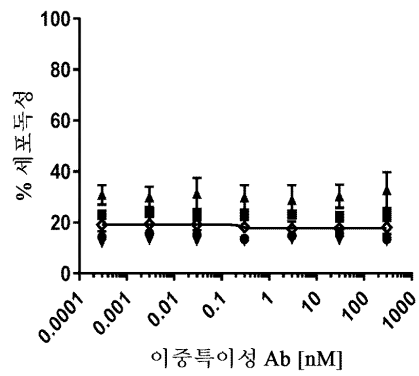
도면26c



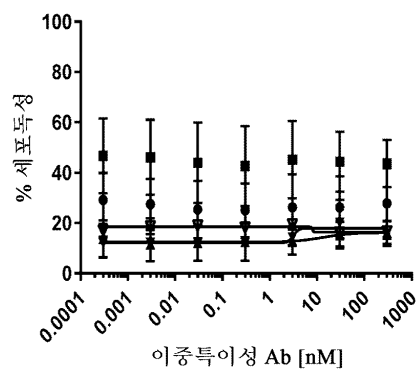
도면27a



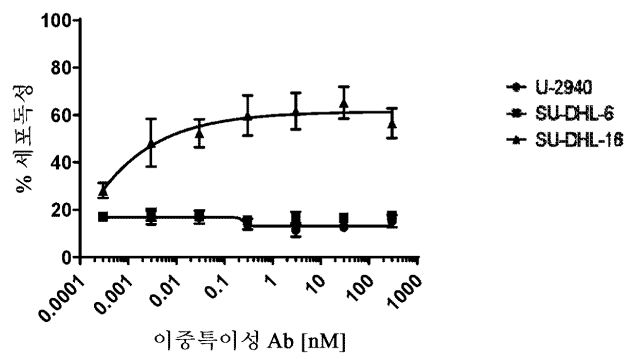
도면27b



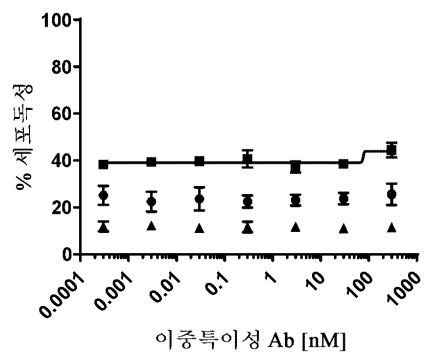
도면27c



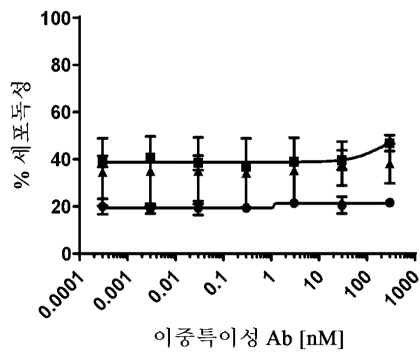
도면28a



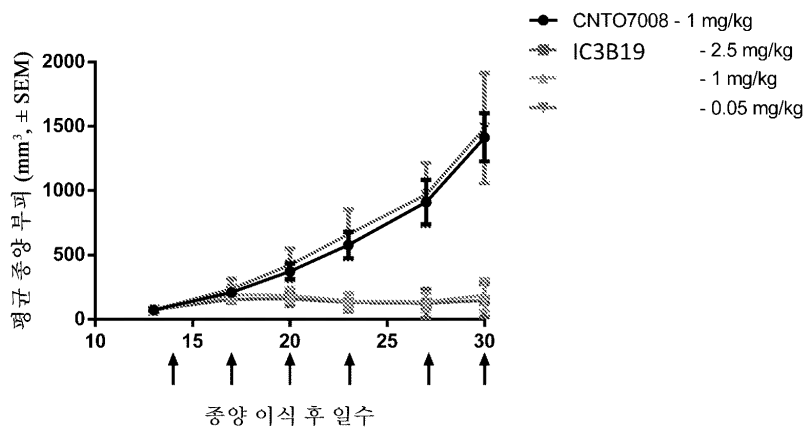
도면28b



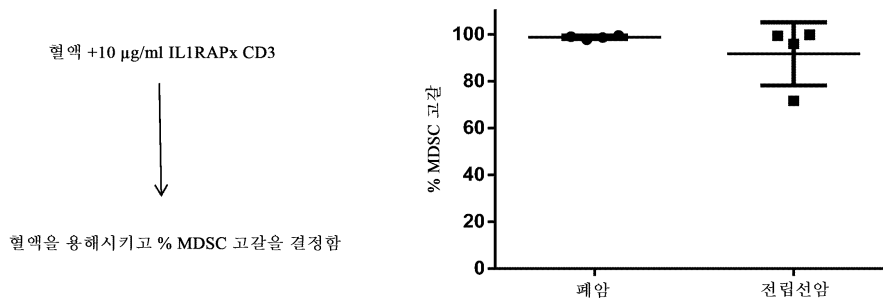
도면28c



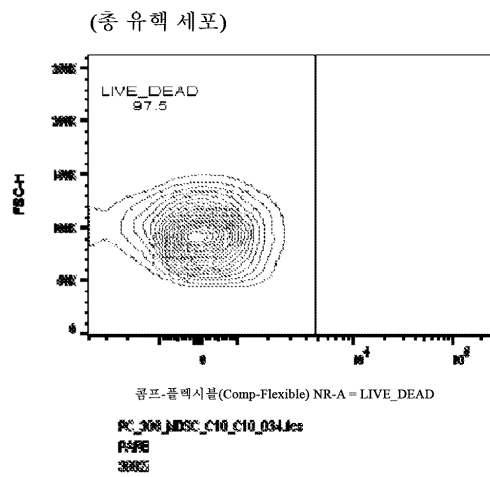
도면29



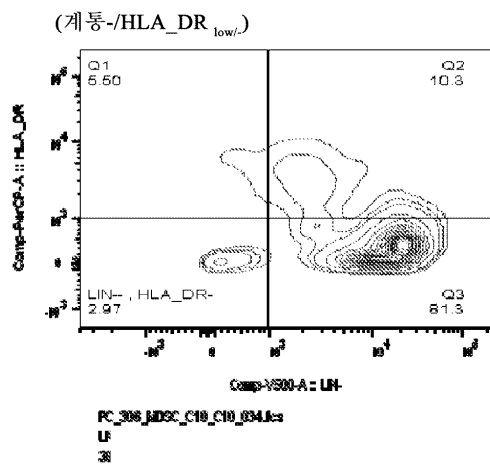
도면30



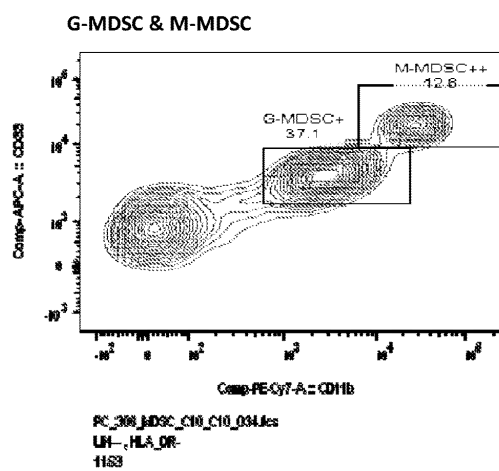
도면31a



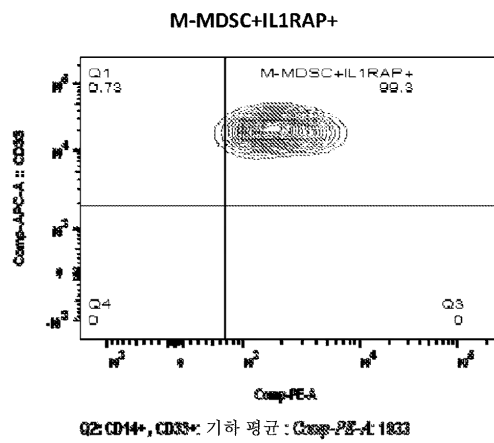
도면31b



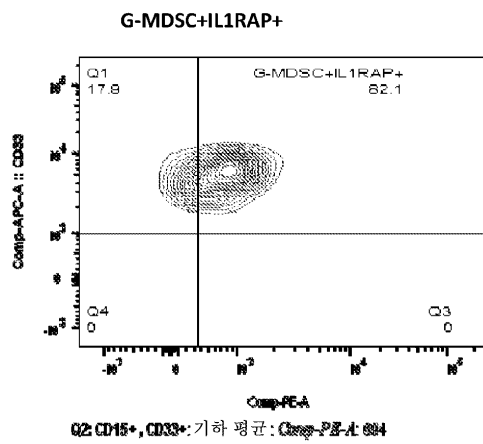
도면31c



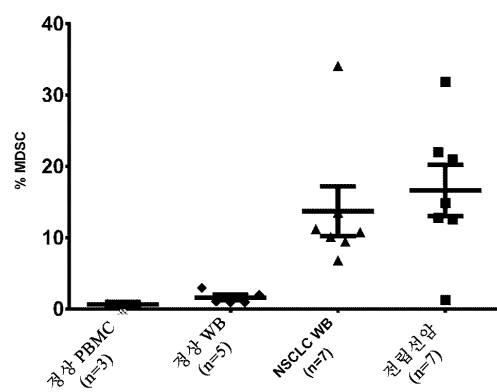
도면31d



도면31e

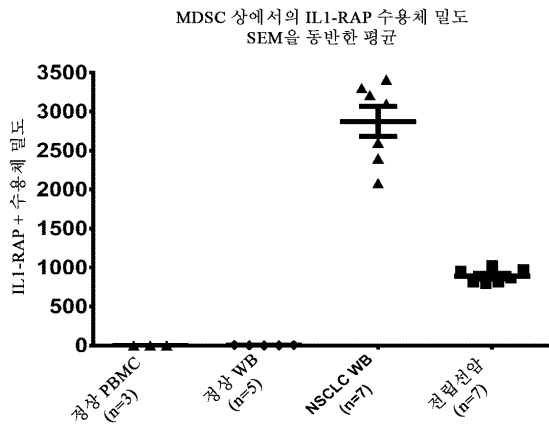


도면32a

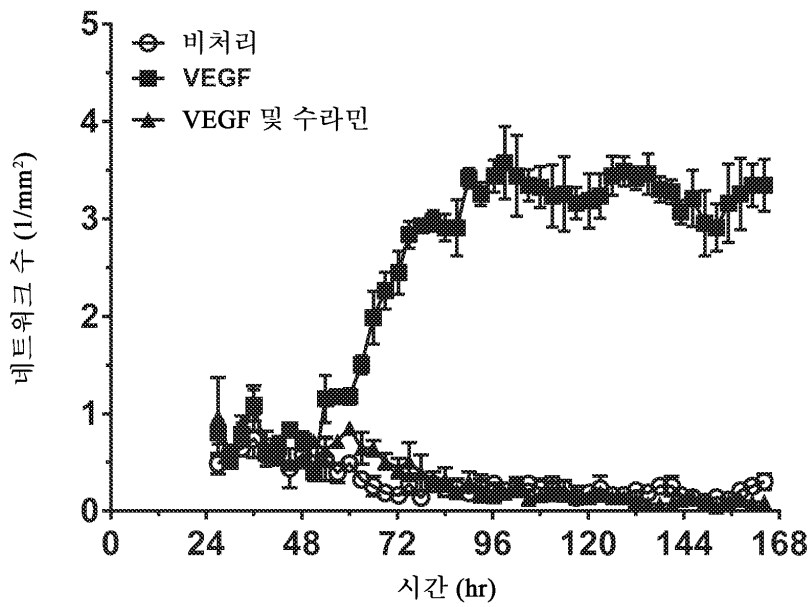


MDSC 계통 마커: CD3-/CD56-/CD19-/HLA-DR-/low/
CD11b+/ CD33+/ CD15/CD14/IL1RAP+

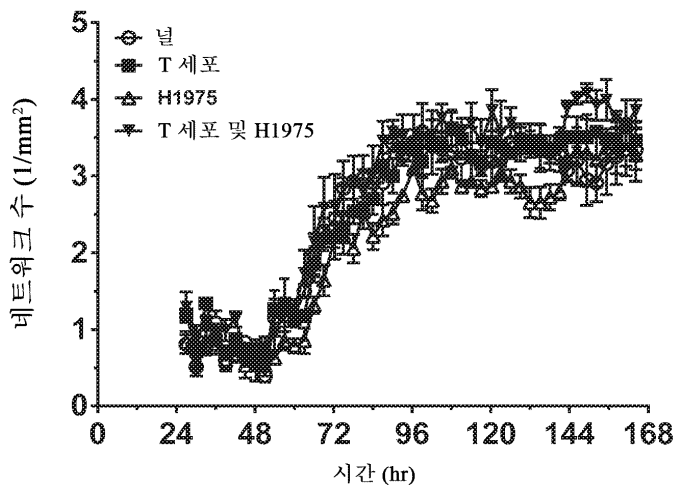
도면32b



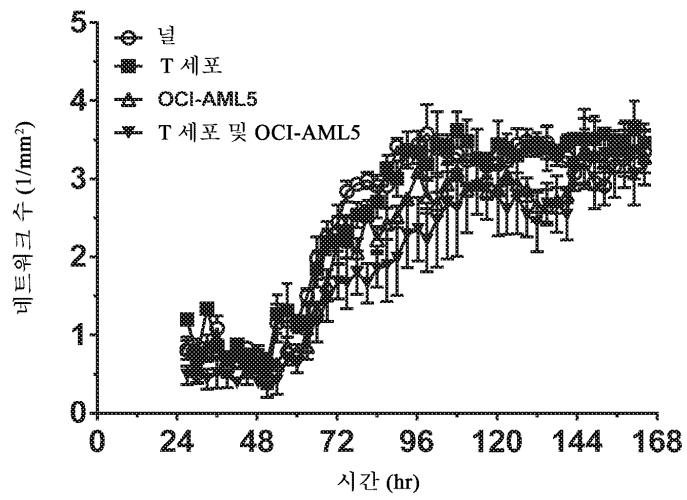
도면33



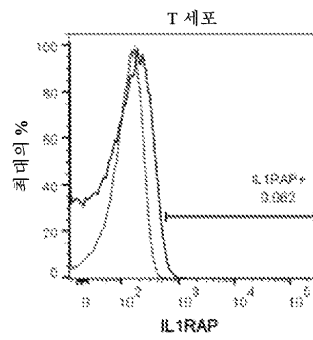
도면34a



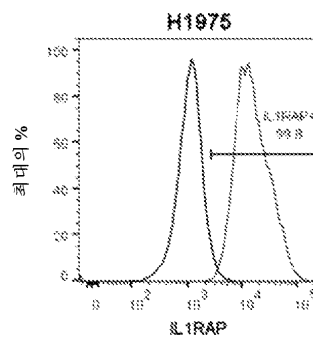
도면34b



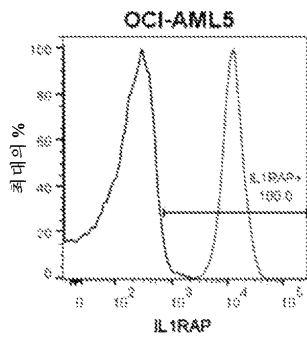
도면35a



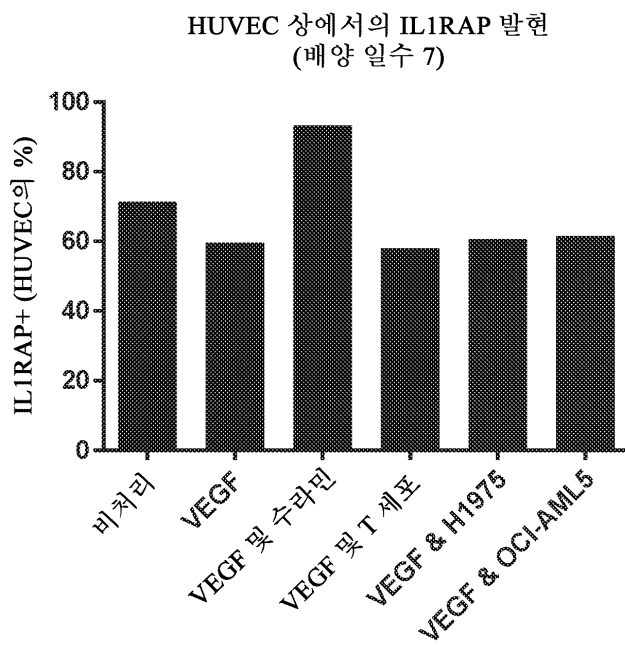
도면35b



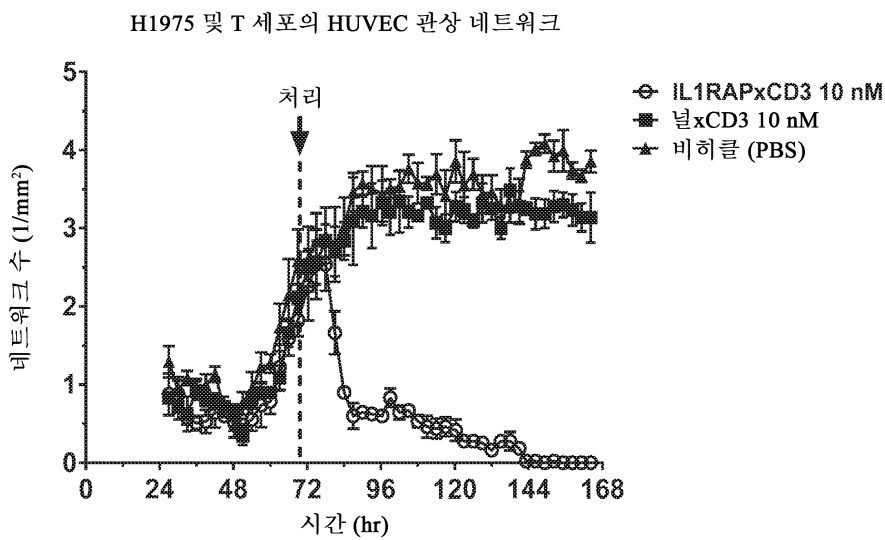
도면35c



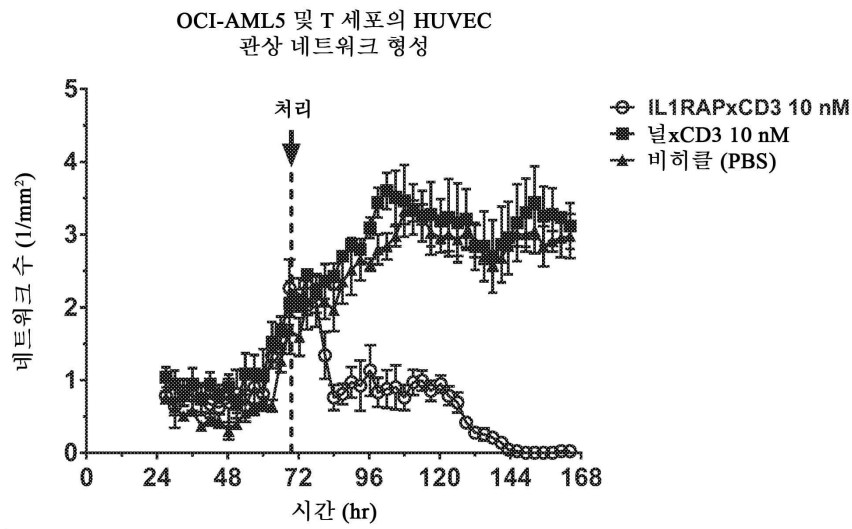
도면36



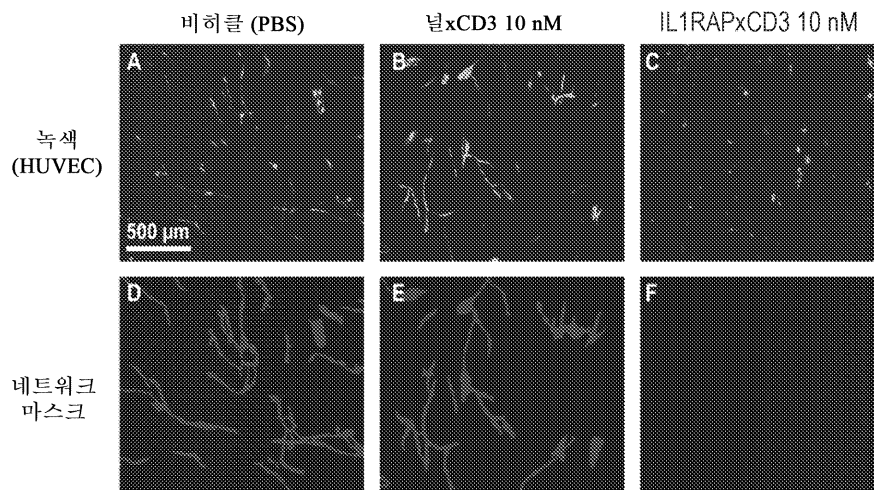
도면37a



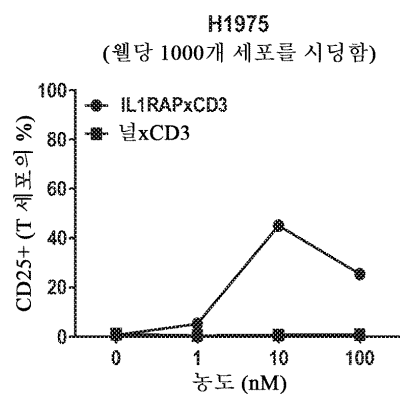
도면37b



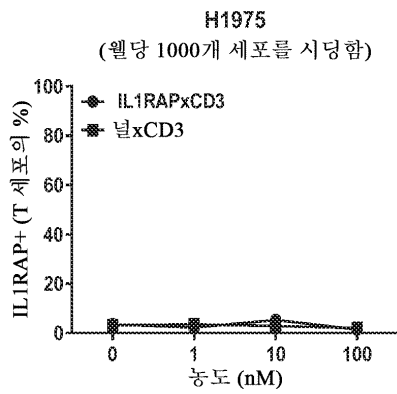
도면38



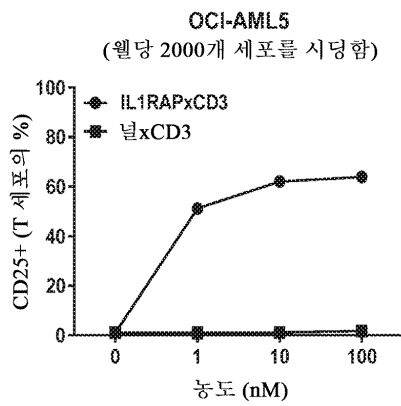
도면39a



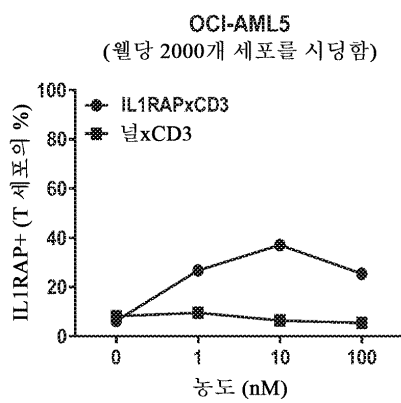
도면39b



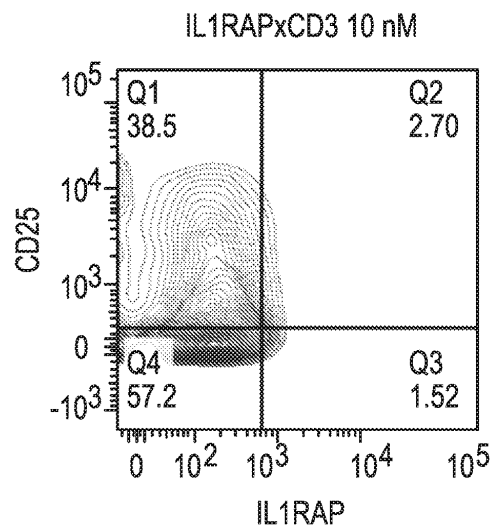
도면39c



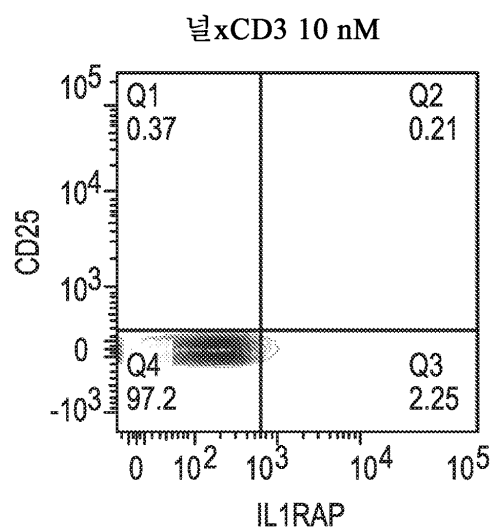
도면39d



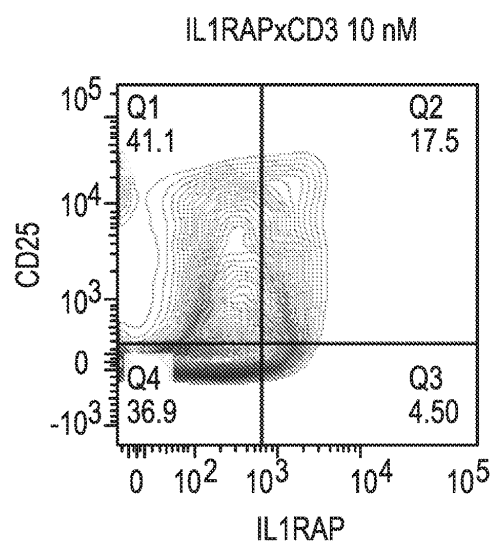
도면40a



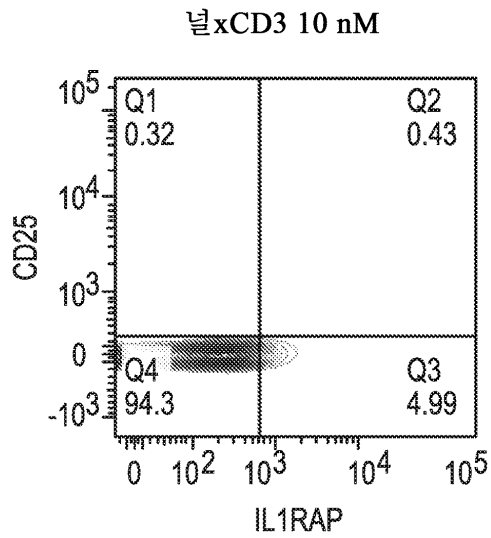
도면40b



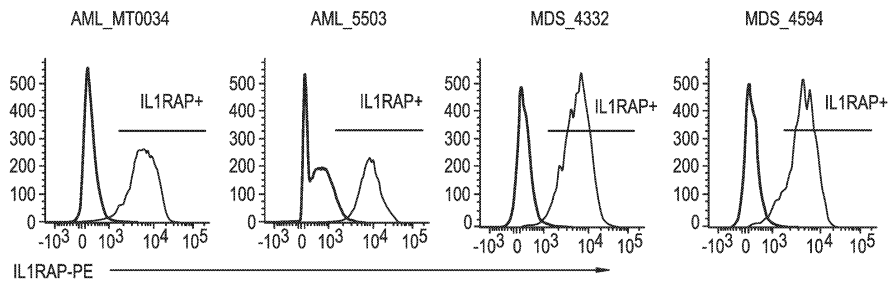
도면40c



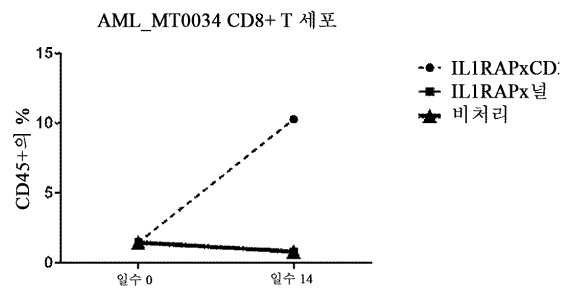
도면40d



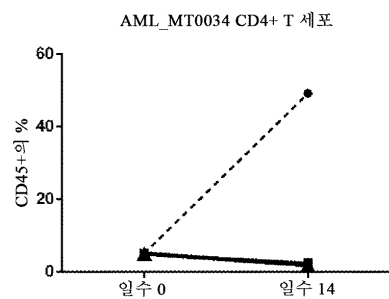
도면41



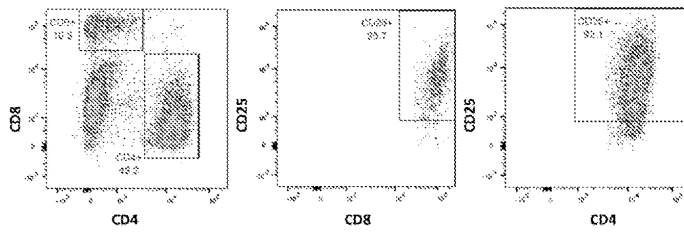
도면42a



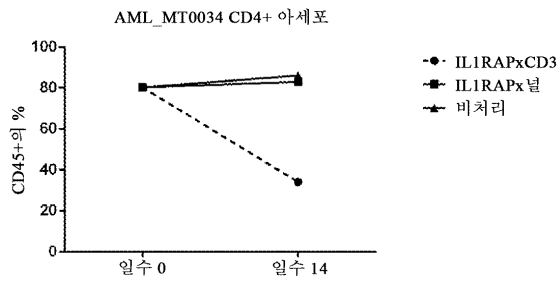
도면42b



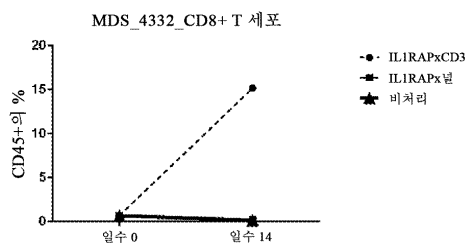
도면42c



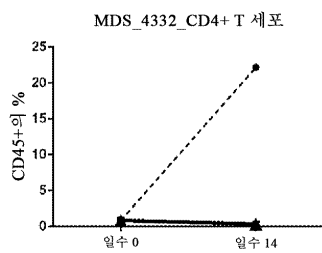
도면42d



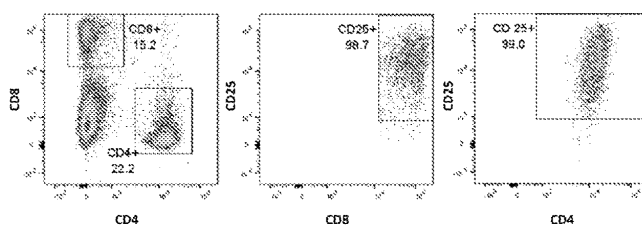
도면43a



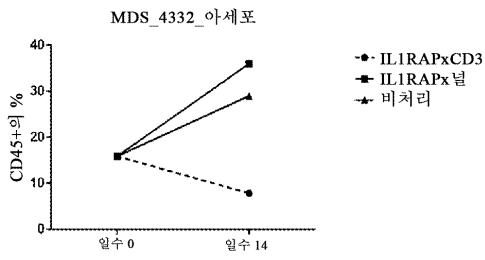
도면43b



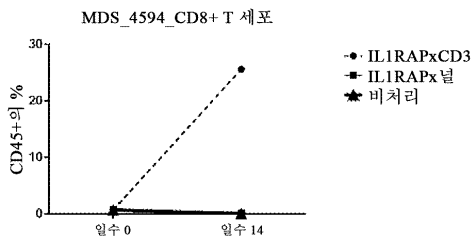
도면43c



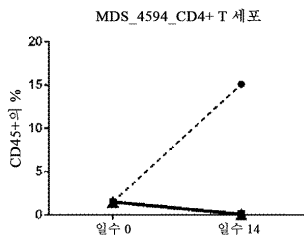
도면43d



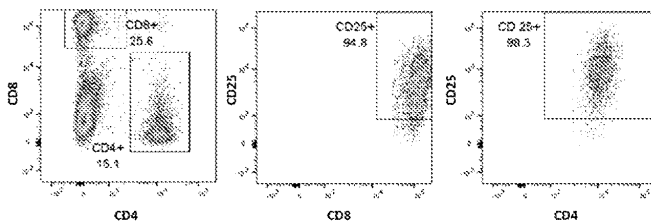
도면43e



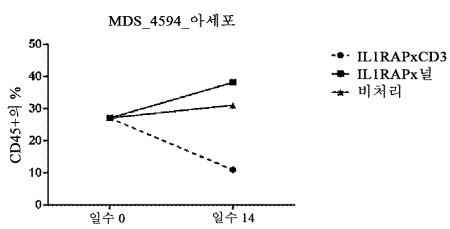
도면43f



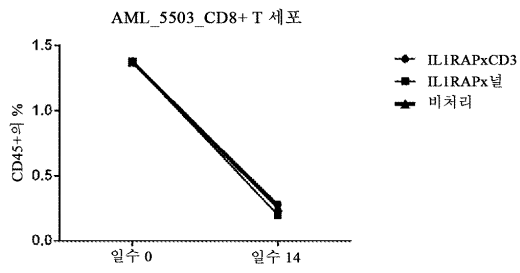
도면43g



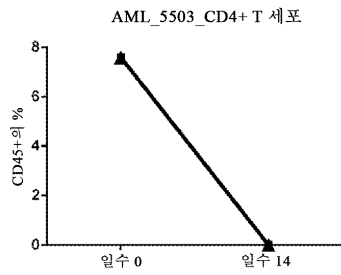
도면43h



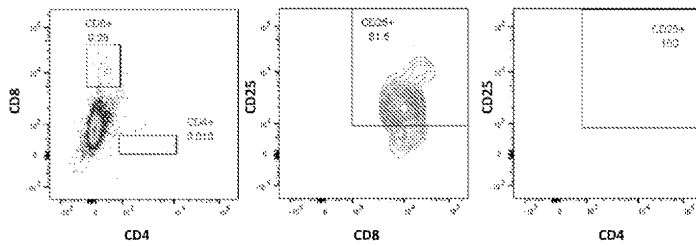
도면44a



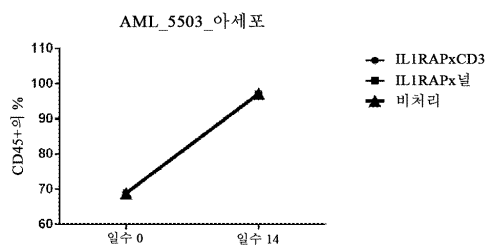
도면44b



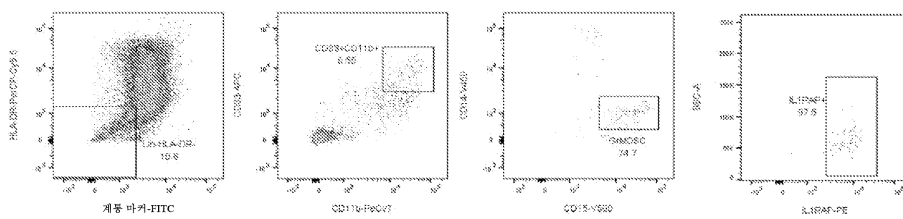
도면44c



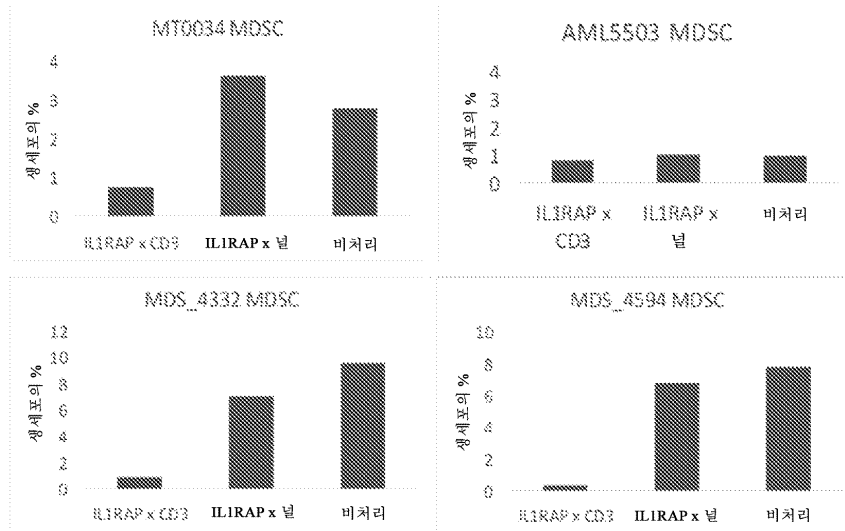
도면44d



도면45a



도면45b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> JANSSEN PHARMACEUTICA NV

<120> ANTI-IL1RAP ANTIBODIES, BISPECIFIC ANTIGEN BINDING MOLECULES THAT
BIND IL1RAP AND CD3, AND USES THEREOF

<130> PRD3394USNP

<140><141><150> 62/249,466

<151> 2015-11-02

<160> 103

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 359

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IL1RAP isoform1-ECD-C-terminal His

<400> 1

Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln

1 5 10 15

Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His

20 25 30

Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala Gly Leu Thr Leu

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

 Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu
 85 90 95
 Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val
 100 105 110
 Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His Lys
 115 120 125
 Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp
 130 135 140

 Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr Trp Tyr Met Gly
 145 150 155 160
 Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met Asn
 165 170 175
 Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys
 180 185 190
 Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His Leu Thr Arg Thr
 195 200 205

 Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro Val
 210 215 220
 Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
 225 230 235 240
 Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp Ser
 245 250 255
 Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Ile
 260 265 270

 Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr Glu
 275 280 285

Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser Glu
 290 295 300
 Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu
 305 310 315 320
 Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr
 325 330 335

 Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr Gly Ser Gly Ser Gly
 340 345 350
 Ser His His His His His His
 355
 <210> 2
 <211> 353
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> IL1RAP isoform2-ECD-N-terminal His
 <400> 2
 Ser His His His His His His Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly
 1 5 10 15
 Pro Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile
 20 25 30

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

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

Val Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His

130 135 140

Lys Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met

180 185 190

Asn Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr

195 200 205

Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His Leu Thr Arg

210 215 220

Thr Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro

225 230 235 240

Val Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly

245 250 255

Glu Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp

260 265 270

Ser Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp

275 280 285

Ile Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr

290 295 300

Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser

305 310 315 320

Glu Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly

325 330 335

Glu Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Gly Asn Arg Cys Gly

340 345 350

Gln

<210> 3

<211> 348

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IL1RAP isoform2-ECD-C-terminal His

<400> 3

Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln

1 5 10 15

Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His

20 25 30

Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala Gly Leu Thr Leu

35 40 45

Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn

50 55 60

Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp

65 70 75 80

Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu

85 90 95

Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val

100 105 110

Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His Lys

115 120 125

Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp

130 135 140

Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr Trp Tyr Met Gly

145 150 155 160

Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met Asn

165 170 175

Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys

180 185 190

Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His Leu Thr Arg Thr

195 200 205

Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro Val

210 215 220
 Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
 225 230 235 240

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

Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu
 305 310 315 320
 Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Gly Asn Arg Cys Gly Gln
 325 330 335
 Gly Ser Gly Ser Gly Ser His His His His His His
 340 345

<210> 4

<211> 359

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<220><223> IL1RAP-ECD-C-terminal His

<400> 4

Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln

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

Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp

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

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

195				200				205							
Leu	Thr	Val	Lys	Val	Val	Gly	Ser	Pro	Lys	Asn	Ala	Val	Pro	Pro	Val
210				215				220							
Ile	His	Ser	Pro	Asn	Asp	His	Val	Val	Tyr	Glu	Lys	Glu	Pro	Gly	Glu
225				230				235				240			
Glu	Leu	Leu	Ile	Pro	Cys	Thr	Val	Tyr	Phe	Ser	Phe	Leu	Met	Asp	Ser
245				250				255							
Arg	Asn	Glu	Val	Trp	Trp	Thr	Ile	Asp	Gly	Lys	Lys	Pro	Asp	Asp	Ile

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

305 310 315 320
 Val Ala Lys Ala Ala Thr Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr

 325 330 335
 Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr Gly Ser Gly Ser Gly
 340 345 350
 Ser His His His His His His
 355
 <210> 5
 <211> 350
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> IL1RAP isoform1-ECD-C-terminal His-no linker
 <400> 5
 Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln
 1 5 10 15

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

 Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu
 85 90 95
 Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val
 100 105 110
 Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His Lys
 115 120 125
 Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp
 130 135 140

Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr Trp Tyr Met Gly
 145 150 155 160
 Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met Asn
 165 170 175
 Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys
 180 185 190
 Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His Leu Thr Arg Thr
 195 200 205

Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro Val
 210 215 220
 Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
 225 230 235 240
 Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp Ser
 245 250 255
 Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Ile
 260 265 270

Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr Glu
 275 280 285
 Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser Glu
 290 295 300
 Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu
 305 310 315 320
 Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr
 325 330 335

Thr Val Glu Ala His His His His His His His His His His
 340 345 350

<210> 6

<211> 347

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IL1RAP isoform1-ECD

<400> 6

Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln
 1 5 10 15
 Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His
 20 25 30
 Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala Gly Leu Thr Leu
 35 40 45
 Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn
 50 55 60
 Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp
 65 70 75 80
 Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu
 85 90 95
 Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val
 100 105 110
 Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His Lys
 115 120 125
 Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp
 130 135 140
 Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr Trp Tyr Met Gly
 145 150 155 160
 Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met Asn
 165 170 175
 Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys
 180 185 190
 Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His Leu Thr Arg Thr
 195 200 205
 Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro Val
 210 215 220
 Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
 225 230 235 240
 Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp Ser

245 250 255
 Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Ile
 260 265 270
 Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr Glu
 275 280 285
 Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser Glu

 290 295 300
 Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu
 305 310 315 320
 Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr
 325 330 335
 Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr
 340 345
 <210> 7
 <211> 347
 <212> PRT
 <213> Macaca fascicularis
 <220><223> IL1RAP- ECD
 <
 400> 7
 Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln
 1 5 10 15
 Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His
 20 25 30
 Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala Gly Leu Thr Leu
 35 40 45
 Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn
 50 55 60

 Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp
 65 70 75 80
 Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu
 85 90 95
 Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val

100	105	110
Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His Lys		
115	120	125
Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp		
130	135	140
Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr Trp Tyr Met Gly		
145	150	155
Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met Asn		
165	170	175
Leu Ser Phe Leu Ile Ala Phe Ile Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys		
180	185	190
Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His Leu Thr Arg Thr		
195	200	205
Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro Val		
210	215	220
Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu		
225	230	235
Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp Ser		
245	250	255
Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Ile		
260	265	270
Pro Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr Glu		
275	280	285
Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser Glu		
290	295	300
Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu		
305	310	315
Val Ala Lys Ala Ala Thr Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr		
325	330	335
Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr		
340	345	

<210> 8

<211> 347

<212> PRT

<213> Mus sp.

<220><223> IL1RAP-ECD

<400> 8

Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln

1 5 10 15

Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His

20 25 30

Phe Leu Lys Tyr Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ser Gly Leu Thr Leu

35 40 45

Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn

50 55 60

Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp

65 70 75 80

Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu

85 90 95

Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val

100 105 110

Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Ala Met Arg Phe Pro Val His Lys

115 120 125

Met Tyr Ile Glu His Gly Ile His Lys Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp

130 135 140

Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Ser Val Thr Trp Tyr Lys Gly

145 150 155 160

Cys Thr Glu Ile Val Asp Phe His Asn Val Leu Pro Glu Gly Met Asn

165 170 175

Leu Ser Phe Phe Ile Pro Leu Val Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys

180 185 190

Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Leu Phe His Leu Thr Arg Thr

195 200 205

Val Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asp Ala Leu Pro Pro Gln
210 215 220

Ile Tyr Ser Pro Asn Asp Arg Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
225 230 235 240

Glu Leu Val Ile Pro Cys Lys Val Tyr Phe Ser Phe Ile Met Asp Ser
245 250 255

His Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Val
260 265 270

Thr Val Asp Ile Thr Ile Asn Glu Ser Val Ser Tyr Ser Ser Thr Glu
275 280 285

Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Pro Glu
290 295 300

Asp Leu Arg Arg Asn Tyr Val Cys His Ala Arg Asn Thr Lys Gly Glu
305 310 315 320

Ala Glu Gln Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Ile Pro Pro Arg Tyr
325 330 335

Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr
340 345

<210> 9

<211> 347

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<220><223> IL1RAP-ECD

<400> 9

Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln
1 5 10 15

Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His
20 25 30

Phe Leu Lys Tyr Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ser Gly Leu Thr Leu
35 40 45

Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn

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

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

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

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

Asp Leu Lys Arg Asn Tyr Val Cys His Ala Arg Asn Ala Glu Gly Glu

305 310 315 320

Ala Glu Gln Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Ile Pro Pro Arg Tyr

325 330 335

Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr

340 345

<210> 10

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB47-HCDR1

<400> 10

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 11

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223>

> IAPB47-HCDR2

<400> 11

Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Tyr Thr

1 5

<210> 12

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB47-HCDR3

<400> 12

Ala Arg Arg Asn Ser Ala Glu Asn Tyr Ala Asp Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 13

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB38, and IAPB29-HCDR1

<400> 13

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala

1 5

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213

> Homo sapiens

<220><223> IAPB38-HCDR2

<400> 14

Ile Asn Tyr Gly Gly Gly Ser Lys

1 5

<210> 15

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB38-HCDR3

<400> 15

Ala Lys Asp Tyr Gly Pro Phe Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB57-HCDR1

<400> 16

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB57-HCDR2

<400> 17

Ile Tyr Phe Thr Gly Ser Thr

1 5

<210> 18

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB57-HCDR3

<400> 18

Ala Lys Glu Asp Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB61 and IAPB55-HCDR1

<400> 19

Gly Val Ser Ile Ser Ser Ser Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB61 and IAPB55-HCDR2

<400> 20

Ile Tyr Phe Thr Gly Asn Thr

1 5

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB61 and IAPB55-HCDR3

<400> 21

Gly Ser Leu Phe Gly Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB62, IAPB63 and IAPB64-HCDR1

<400> 22

Gly Tyr Thr Phe Asn Thr Tyr Ala

1 5

<210> 23

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB62, IAPB63 and IAPB64-HCDR2

<400> 23

Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro

1 5

<210> 24

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB62, IAPB63 and IAPB64-HCDR3

<400> 24

Ala Arg Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Gly Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 25

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB3, IAPB17, IAPB9 and IAPB65-HCDR1

<

<400> 25

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 26

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB3 and IAPB65-HCDR2

<400> 26

Ile Ser Ala Ile Phe Gly Thr Ala

1 5

<210> 27

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB3-HCDR3

<400> 27

Ala Arg Gly Asn Ser Phe His Ala Leu Trp Asp Tyr Ala Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB17-HCDR2

<400> 28

Ile Ile Pro Ile Phe Gly Asn Ala

1 5

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB17-HCDR3

<400> 29

Ala Arg Thr Ile Ile Tyr Leu Asp Tyr Val His Ile Leu Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 30

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB23-HCDR1

<400> 30

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp

1 5

<210> 31

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB23-HCDR2

<400> 31

Ile Arg Tyr Asp Gly Gly Ser Lys

1 5

<210> 32

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB23-HCDR3

<400> 32

Ala Lys Asp Ala Tyr Pro Pro Tyr Ser Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 33

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB25-HCDR1

<400> 33

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 34

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB25 and IAPB29-HCDR2

<400> 34

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 35

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB25-HCDR3

<400> 35

Ala Lys Gly Asp Glu Tyr Tyr Tyr Pro Asp Pro Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 36

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB29-HCDR3

<400> 36

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

1 5 10

<210> 37

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB9-HCDR2

<400> 37

Ile Ser Pro Ile Phe Gly Thr Ala

1 5

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB9-HCDR3

<400> 38

Ala Arg Arg Tyr Asp Asn Phe Ala Arg Ser Gly Asp Leu Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 39

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB65-HCDR3

<400> 39

Ala Arg His Leu His Asn Ala Ile His Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 40

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB47-LCDR1

<400> 40

Gln Ser Ile Ser Asn Asp

1 5

<210> 41

<211> 3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB47-LCDR2

<400> 41

Tyr Ala Ser

1

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB47-LCDR3

<400> 42

Gln Gln Ser Phe Thr Ala Pro Leu Thr

1 5

<210> 43

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB38-LCDR1

<400> 43

Gln Ser Val Asp Asp Trp

1 5

<210> 44

<211> 3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB38-LCDR2

<400> 44

Thr Ala Ser

1

<210> 45

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB38-LCDR3

<400> 45

Gln Gln Tyr His His Trp Pro Leu Thr

1 5

<210> 46

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB57-LCDR1

<400> 46

Gln Gly Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 47

<211> 3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB57, IAPB62, IAPB25, IAPB29, and IAPB9-LCDR2

<400> 47

Ala Ala Ser

1

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB25, IAPB29, and IAPB9-LCDR3

<400> 48

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 49

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB61 and IAPB55-LCDR1

<400> 49

Gln Phe Ile Ser Ser Asn

1 5

<210> 50

<211> 3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB61, IAPB55 and IAPB65-LCDR2

<400> 50

Gly Ala Ser

1

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB61-LCDR3

<400> 51

Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Ser Thr

1 5

<210> 52

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB62-LCDR1

<400> 52

Gln Gly Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223>

> IAPB62-LCDR3

<400> 53

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 54

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB3 and IAPB17-LCDR1

<400> 54

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 55

<211> 3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB3 and IAPB17-LCDR2

<400> 55

Trp Ala Ser

1

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB3 and IAPB17-LCDR3

<400> 56

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 57

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB23-LCDR1

<400> 57

Gln Ser Val Ser Ser Tyr

1 5

<210> 58

<211> 3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB23-LCDR2

<400> 58

Asp Ala Ser

1

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB23-LCDR3

<400> 59

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr

1 5

<210> 60

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB25, IAPB29 and IAPB9-LCDR1

<400> 60

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB55-LCDR3

<400> 61

Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Phe Thr

1 5

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB63 and IAPB64-LCDR1

<400> 62

Ser Ser Asp Val Gly Asp Tyr Asn Tyr

1 5

<210

> 63

<211> 3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB63 and IAPB64-LCDR2

<400> 63

Asp Val Ser

1

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB63-LCDR3

<400> 64

Ala Ser Tyr Ala Gly Asn Tyr Asn Val Val

1 5 10

<210> 65

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB64-LCDR3

<400> 65

Ser Ser Tyr Ala Gly Asn Tyr Asn Val Val

1 5 10

<210> 66

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB65-LCDR1

<400> 66

Gln Ser Val Ser Asn Phe

1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB65-LCDR3

<400> 67

Gln Gln Gly Lys His Trp Pro Trp Thr

1 5

<210> 68

<211> 448

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB47-VH

<400> 68

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg Asn Ser Ala Glu Asn Tyr Ala Asp Leu Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

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

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

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440 445

<210> 69

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB47-VL

<400> 69

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Phe Thr Ala Pro Leu

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> 70																			
<211> 445																			
<212> PRT																			
<213> Homo sapiens																			
<220><223> IAPB38-VH																			
<400> 70																			
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	Asn	Tyr				
				20				25				30							
Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val				
35								40				45							
Ser	Gly	Ile	Asn	Tyr	Gly	Gly	Gly	Ser	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val				
50								55				60							
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	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	Asp	Tyr	Gly	Pro	Phe	Ala	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr				
100								105				110							
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro				
115								120				125							
Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly				
130								135				140							
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn				
145				150				155				160							
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln				
				165				170				175							

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440 445

<210> 71

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB38-VL

<400> 71

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 Asp Asp Trp

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Thr 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 Tyr His His Trp Pro Leu

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> 72
<211> 449
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> IAPB57VH
<400> 72
Gln Leu 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 Ser
20 25 30
Thr Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Phe Thr Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Ser Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Lys Glu Asp Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Asn Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440 445
 Lys

<210> 73

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB57-VL

<400> 73

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

50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Asn Ser Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly 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> 74
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> IAPB61 and IAPB55-VH
 <400> 74
 Gln Leu 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 Val Ser Ile Ser Ser Ser

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

 85 90 95
 Cys Gly Ser Leu Phe Gly Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu 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

 145 150 155 160
 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 Ala Ala 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> 75

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB61-VL

<400> 75

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Ser
 85 90 95
 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp 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> 76

<211> 448

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB62, IAPB63 and IAPB64-VH

<400> 76

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe

50 55 60

Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 85 90 95

Ala Arg Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly

 100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

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

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

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

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430

 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445
 <210> 77
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> IAPB62-VL
 <400> 77
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser 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 Ala Asn Ser Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly 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> 78

<211> 450

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB3-VH

<400> 78

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ser Ala Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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 Asn Ser Phe His Ala Leu Trp Asp Tyr Ala Phe Asp Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205
Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220
Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 79
 <211> 220
 <212>
 PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> IAPB3 and IAPB17-VL
 <400> 79
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
 20 25 30
 Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

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

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

180 185 190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 80

<211> 449

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB17-VH

<400> 80

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Asn Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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	Thr	Ile	Ile	Tyr	Leu	Asp	Tyr	Val	His	Ile	Leu	Asp	Tyr	Trp
				100				105				110			
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
				115				120				125			
Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr
				130				135				140			
Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
145				150				155				160			
Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
				165				170				175			
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
				180				185				190			
Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp
				195				200				205			
His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr
210				215				220							
Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro
225				230				235				240			
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
				245				250				255			
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp
				260				265				270			
Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
275				280				285							
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
290				295				300							
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
305				310				315				320			

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

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445

Lys

<210> 81

<211> 446

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB23-VH

<400> 81

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 Asn Tyr

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Arg Tyr Asp Gly Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn 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 Asp Ala Tyr Pro Pro Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser

 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

 <210> 82
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <220><223

 > IAPB23-VL

 <400> 82

 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 Arg Ser Asn Trp Pro Leu
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> 83

<211> 448

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB25-VH

<400> 83

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn 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 Gly Asp Glu Tyr Tyr Tyr Pro Asp Pro Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

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

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

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

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

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

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

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

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 84

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB25, IAPB29 and IAPB9-VL

<400> 84

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 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser 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 Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

 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> 85

<211> 446

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB29-VH

<400> 85

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 Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn 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 Trp Ser Ser Tyr Phe Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

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

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

 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

 435 440 445
 <210> 86
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> IAPB9-VH
 <400> 86
 Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
 Gly Trp Ile Ser Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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 Arg Tyr Asp Asn Phe Ala Arg Ser Gly Asp Leu Asp Tyr Trp
 100 105 110

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

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

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

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

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445
Lys

<210> 87

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB55-VL

<400> 87

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

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

35

40

45

Tyr Gly Ala Ser Thr 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 Gln Ser

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Phe

85

90

95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp 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> 88

<211> 216

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB63-VL

<400> 88

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly His

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

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

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

 195 200 205
 Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215
 <210> 89
 <211> 216
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> IAPB64-VL

<400> 89

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly His
1 5 10 15
Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Asp Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Asn
85 90 95
Tyr Asn Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 90

<211> 446

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB65-VH

<400> 90

Gln 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Gly Ile Ser Ala Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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 His Leu His Asn Ala Ile His Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445
 <210> 91
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220><223

> IAPB65-VL

<400> 91

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 Asn Phe

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Gly 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 Gly Lys His Trp Pro Trp

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> 92

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><223> CD3B220-VH

<400> 92

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205
Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu

210 215 220
Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

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

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Gly Lys

450

<210> 93

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<

220><223> CD3B220-VL

<400> 93

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

1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser

20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro

100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu

115 120 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro

130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala

145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala

165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 94

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<220><223> CD3B219-VH

<400> 94

Glu 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 Asn Thr Tyr

20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

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

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

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

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Leu Gly Lys

450

<210> 95

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

 \angle

220><223> CD3B219-VI.

<400> 95

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

1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser

20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro

100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu

115				120				125							
Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr	Pro
130				135				140							
Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Val	Lys	Ala
145				150				155				160			
Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr	Ala
165				170				175							
Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His	Arg
180				185				190							

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr

195 200 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 96

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus sp.

<220><223> CD3B219 and CD3B220-HCDR1

<400> 96

Thr Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 97

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus sp.

<220><223> CD3B220-HCDR2

<400> 97

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 98

<211> 14

<212> PRT

<213> Mus sp.

<220><223> CD3B219 and CD3B220-HCDR3

<400> 98

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 99

<211> 14

<212> PRT

<213> Mus sp.

<220><223> CD3B219 and CD3B220-LCDR1

<400> 99

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn

1 5 10

<210> 100

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus sp.

<220><223> CD3B219 and CD3B220-LCDR2

<400> 100

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

1 5

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus sp.

<220><223> CD3B219 and CD3B220-LCDR3

<400> 101

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val

1 5

<210> 102

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><223> CD3B219-HCDR2

<400> 102

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser

1	5	10	15
Val Lys Gly			

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IAPB57-LCDR3

<400> 103

Gln Gln Val Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1	5
---	---