



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0139600
(43) 공개일자 2024년09월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2818 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2024-7022132
(22) 출원일자(국제) 2022년12월09일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년07월02일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/081297
(87) 국제공개번호 WO 2023/108138
국제공개일자 2023년06월15일
(30) 우선권주장
63/288,284 2021년12월10일 미국(US)

(71) 출원인
더 트러스티스 오브 더 유니버시티 오브 펜실베이니아
미국, 19104 펜실베이니아주, 필라델피아, 9층, 씨빅 센터 볼러바드 3600
(72) 발명자
시겔 도날드 엘.
미국 펜실베이니아 19446, 랜스테일, 2582 브랜든 코트
메이슨 니콜라 제이.
미국, 펜실베이니아 19107, 필라델피아, 225 사우스 델리 스트리트
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한얼

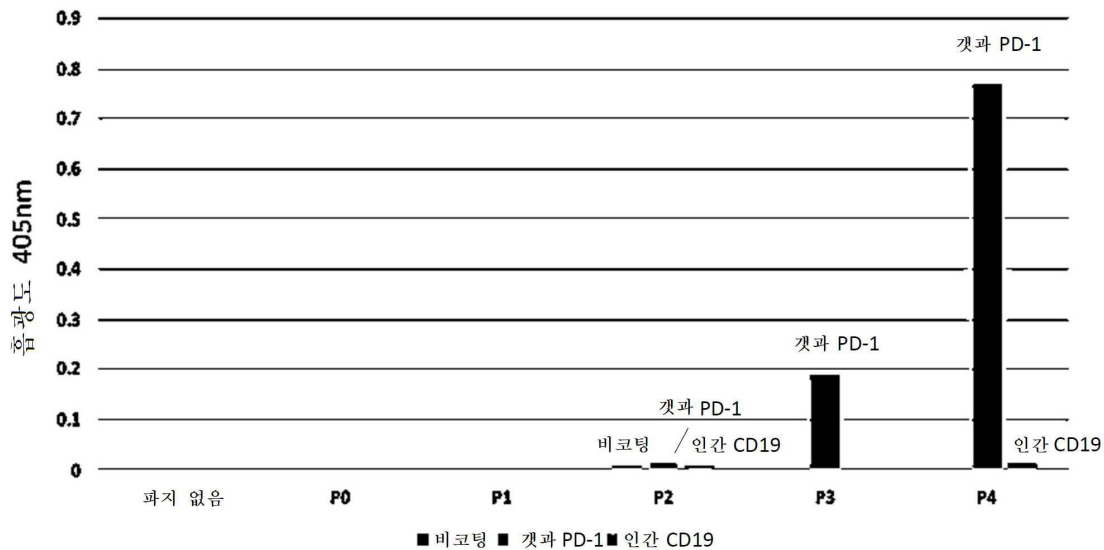
전체 청구항 수 : 총 103 항

(54) 발명의 명칭 완전 갯과 항-갯과 PD-1 항체 및 이의 용도

(57) 요약

본 개시내용은 갯과 프로그래밍 사멸 단백질 1 (PD-1)에 대해 특이적인 항체, 결합 폴리펩티드, 및 scFv, 이를 코딩하는 핵산, 치료 방법 및 이의 다른 방법 또는 용도에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

A61K 2039/55 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/52 (2013.01)

C07K 2317/622 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

(72) 발명자

체스터 니콜라스

사망

파즈 케렌

미국, 뉴 저지 07670, 테나폴라이, 121 에섹스 드
라이브

명세서

청구범위

청구항 1

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (canine programmed death protein 1; cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 1, 27, 또는 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1),
- (b) 서열 번호 2, 28, 또는 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2),
- (c) 서열 번호 3, 29, 또는 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3),
- (d) 서열 번호 4, 30, 또는 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1),
- (e) 서열 번호 5, 31, 또는 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및
- (f) 서열 번호 6, 32, 또는 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3)

을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성(identity)을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- (b) 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린(immunoglobulin) 중쇄, 및
- (b) 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 4

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- (b) 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 5

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서

항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
 - (b) 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역
- 을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 6

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- (b) 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 7

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- (b) 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 8

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1),
- (b) 서열 번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2),
- (c) 서열 번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3),
- (d) 서열 번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1),
- (e) 서열 번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및
- (f) 서열 번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3)

를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 9

제8항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 7 또는 9에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- (b) 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 10

제8항 또는 제9항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 19, 21, 또는 23에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및

(b) 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 11

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 7 또는 9에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 12

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 13

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 14

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 19, 21, 또는 23에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및

(b) 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 15

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및

(b) 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 16

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- (b) 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 17

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 23에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- (b) 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 18

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 27에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1),
- (b) 서열 번호 28에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2),
- (c) 서열 번호 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3),
- (d) 서열 번호 30에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1),
- (e) 서열 번호 31에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및
- (f) 서열 번호 32에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3)

를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 19

제18항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- (b) 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 20

제18항 또는 제19항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 39에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- (b) 서열 번호 41에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 21

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 22

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 23

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 39에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및

(b) 서열 번호 41에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 24

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 39에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및

(b) 서열 번호 41에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 25

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1),

(b) 서열 번호 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2),

(c) 서열 번호 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3),

(d) 서열 번호 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1),

(e) 서열 번호 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및

(f) 서열 번호 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3)

을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 26

제25항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 27

제25항 또는 제26항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및

(b) 서열 번호 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 28

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 29

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 30

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및

(b) 서열 번호 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 31

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

- (a) 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- (b) 서열 번호 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄

를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IgG, IgM, IgE, IgA, 또는 IgD 분자이거나, 또는 이들 중 하나로부터 유래되는 것인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전장 항체(full-length antibody), Fab, 단일-사슬 가변 단편 (single-chain variable fragment; scFv), sc(Fv)2, dsFv, Fab, Fab', (Fab')2 및 디아바디(diabody)로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 전장 항체인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 갯 또는 개화 항체(caninized antibody)인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 갯 항체인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 37

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 단편은 scFv인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해하는 것인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 39

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 갯 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 40

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 갯 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 41

제39항 또는 제40항에 있어서, cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해하는 것인, 갯 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 42

갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)으로서,

- (a) 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), HCDR2, 및 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역으로서, 여기서 HCDR1은 서열

번호 1, 27, 및 43으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 2, 28, 및 44로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3는 서열 번호 3, 29, 및 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1), LCDR2, 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역으로서, 여기서 LCDR1은 서열 번호 4, 30, 및 46으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 5, 31 및 47로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3는 서열 번호 6, 32, 및 48로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하고,

여기서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결되는 것인, 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv).

청구항 43

갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)으로서,

(a) 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하고,

여기서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결되는 것인, 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv).

청구항 44

서열 번호 13, 15, 17, 37, 또는 53에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 단일 사슬 가변 단편 (scFv).

청구항 45

제42항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (갓과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해하는 것인, scFv.

청구항 46

제2 결합 특이성(second binding specificity)을 갖는 분자에 연결되는, 제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갓과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv를 포함하는, 이중특이적 분자(bispecific molecule).

청구항 47

치료제(therapeutic agent)에 연결되는, 제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갓과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 또는 제46항의 이중특이적 분자를 포함하는, 면역접합체(immunoconjugate).

청구항 48

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갓과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv를 코딩하는(encoding) 단리된 핵산.

청구항 49

항체 또는 이의 항원-결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산으로서, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

(a) 서열 번호 8, 10, 34, 또는 50에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및

(b) 서열 번호 12, 36, 또는 52에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 50

제49항에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호 8, 10, 34, 또는 50에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩되는 것인, 단리된 핵산.

청구항 51

제49항 또는 제50항에 있어서, 경쇄 가변 영역은 서열 번호 12, 36, 또는 52에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩되는 것인, 단리된 핵산.

청구항 52

항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산으로서,

- (a) 서열 번호 8에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및
 - (b) 서열 번호 12에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역
- 을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 53

항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산으로서,

- (a) 서열 번호 10에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및
 - (b) 서열 번호 12에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역
- 을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 54

항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산으로서,

- (a) 서열 번호 34에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및
 - (b) 서열 번호 36에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역
- 을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 55

항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산으로서,

- (a) 서열 번호 50에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및
 - (b) 서열 번호 52에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역
- 을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 56

제49항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IgG, IgM, IgE, IgA, 또는 IgD 분자이거나, 또는 이들 중 하나로부터 유래되는 것인, 단리된 핵산.

청구항 57

제49항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전장 항체, Fab, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), sc(Fv)₂, dsFv, Fab, Fab', (Fab')₂ 및 디아바디로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 단리된 핵산.

청구항 58

제49항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 전장 항체인, 단리된 핵산.

청구항 59

제49항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 갯과 또는 개화 항체인, 단리된 핵산.

청구항 60

제49항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 갯과 항체인, 단리된 핵산.

청구항 61

단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 코딩하는 단리된 핵산으로서,

(a) 서열 번호 8, 10, 34, 또는 50에 제시된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) 서열 번호 12, 36, 또는 52에 제시된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하고,

여기서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커(linker)에 의해 연결되는 것인, 단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 62

서열 번호 14, 16, 18, 38, 또는 54에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 63

제49항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 scFv는 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합되는 것인, 단리된 핵산.

청구항 64

제56항에 있어서, cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 scFv의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해하는 것인, 단리된 핵산.

청구항 65

제48항 내지 제64항 중 어느 한 항의 단리된 핵산을 포함하는 벡터(vector).

청구항 66

제65항에 있어서, 발현 벡터(expression vector)인 벡터.

청구항 67

제65항 또는 제66항에 있어서, DNA 벡터, RNA 벡터, 플라스미드, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 및 레트로바이러스 벡터로 이루어진 군으로부터 선택되는 벡터.

청구항 68

제48항 내지 제64항 중 어느 한 항의 단리된 핵산 또는 제65항 내지 제67항 중 어느 한 항의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 69

제68항에 있어서, 진핵생물 또는 원핵생물 기원의 것인, 숙주 세포.

청구항 70

제68항 또는 제69항에 있어서, 포유동물 기원의 것인, 숙주 세포.

청구항 71

제68항 또는 제69항에 있어서, 박테리아 기원의 것인, 숙주 세포.

청구항 72

제68항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 중국 햄스터 난소 세포(Chinese Hamster Ovary cell)인, 숙주 세포.

청구항 73

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갯과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 제46항의 이중특이적 분자, 또는 제47항의 면역접합체, 및 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 74

제73항에 있어서, 정맥내 투여를 위해 제형화(formulating)되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 75

제73항에 있어서, 피하 투여를 위해 제형화되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 76

제73항에 있어서, 종양내 투여를 위해 제형화되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 77

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갯과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 제46항의 이중특이적 분자, 제47항의 면역접합체, 또는 제73항의 약학적 조성물, 및 사용을 위한 설명서를 포함하는 키트(kit).

청구항 78

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갯과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 제46항의 이중특이적 분자, 또는 제47항의 면역접합체, 또는 제73항의 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체(subject)에 투여하는 단계를 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 T 세포 증식을 증가시키고 T 세포 소진(exhaustion)을 감소시키기 위한 방법.

청구항 79

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갯과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 제46항의 이중특이적 분자, 또는 제47항의 면역접합체, 또는 제73항의 약학적 조성물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 IFN γ 생산을 증가시키기 위한 방법.

청구항 80

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갯과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 제46항의 이중특이적 분자, 또는 제47항의 면역접합체, 또는 제73항의 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 갯과 프로그래밍 사멸 단백질 1 (cPD-1) 신호전달 경로를 억제하기 위한 방법.

청구항 81

제78항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 암(cancer), 패혈증(sepsis) 또는 패혈성 쇼크(septic shock), 또는 만성 감염(chronic infection)을 갖는 것인, 방법.

청구항 82

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갯과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 제46항의 이중특이적 분자, 또는 제47항의 면역접합체, 또는 제73항의 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하기 위한 방법.

청구항 83

제82항에 있어서, 질환 또는 병태는 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염을 포함하는 것인, 방법.

청구항 84

제78항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 추가적인 치료제 또는 중재술(intervention)을 투여하는 것을 추가로 포함하는 것인, 방법.

청구항 85

제81항, 제83항 또는 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1) 신호전달 경로(signaling pathway)와 관련되는 것인, 방법.

청구항 86

제85항에 있어서, cPD-1에 대한 리간드 (갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)은 대상체의 암 세포에서 발현되는 것인, 방법.

청구항 87

제80항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, cPD-1은 대상체의 면역 세포에서 발현되는 것인, 방법.

청구항 88

제87항에 있어서, 면역 세포는 T 세포, B 세포, 자연 살해 (NK) 세포, 조절 T 세포, 대식세포, 수지상 세포 (DC), 또는 종양-침윤 림프구를 포함하는 것인, 방법.

청구항 89

제81항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 흑색종(melanoma), 전립선암(prostate cancer), 두경부암(head and neck cancer), 자궁경부암(cervical cancer), 갑상선암(thyroid cancer), 교모세포종(glioblastoma), 신경교종(glioma), 백혈병(leukemia), 림프종(lymphoma), 부신암(adrenal gland cancer), AIDS-관련 암(AIDS-associated cancer), 포상 연부 육종(alveolar soft part sarcoma), 성상 세포 종양(astrocytic tumor), 골암(bone cancer), 뇌척수암(brain and spinal cord cancer), 전이성 뇌종양(metastatic brain tumor), 경동맥 소체 종양(carotid body tumor), 연골육종(chondrosarcoma), 척삭종(chordoma), 혈액소성 신세포 암종(chromophobe renal cell carcinoma), 투명 세포 암종(clear cell carcinoma), 피부 양성 섬유성 조직구종(cutaneous benign fibrous histiocytoma), 결합조직형성 소원형 세포 종양(desmoplastic small round cell tumor), 상의세포종(ependymoma), 유잉 종양(Ewing's tumor), 골격외 점액성 연골육종(extra-skeletal myxoid chondrosarcoma), 골성 불완전 섬유생성증(fibrogenesis imperfecta ossium), 뼈의 섬유성 이형성증(fibrous dysplasia), 담낭(gallbladder) 또는 담관(bile duct) 암, 임신 용모성 질환(gestational trophoblastic disease), 생식 세포 종양(germ cell tumor), 혈액 악성 종양(hematological malignancy), 간세포 암종(hepatocellular carcinoma), 섬 세포 종양(islet cell tumor), 카포시 육종(Kaposi's sarcoma), 신장암(kidney cancer), 지방종/양성 지방종성 종양(lipoma/benign lipomatous tumor), 지방육종/악성 지방종성 종양(liposarcoma/malignant lipomatous tumor), 수모세포종(medulloblastoma), 수막종(meningioma), 메르켈 세포 암종(Merkel cell carcinoma), 다발성 내분비 종양증(multiple endocrine neoplasia), 다발성 골수종(multiple myeloma), 골수이형성 증후군(myelodysplasia syndrome), 신경모세포종(neuroblastoma), 신경내분비 종양(neuroendocrine tumor), 유두상 갑상선 암종(papillary thyroid carcinoma), 부갑상선 종양(parathyroid tumor), 소아암(pediatric cancer), 말초 신경초 종양(peripheral nerve sheath tumor), 갈색세포종(phaeochromocytoma), 뇌하수체 종양(pituitary tumor), 전립선암(prostate cancer), 후방 포도막 흑색종

(posterior uveal melanoma), 희귀 혈액학적 장애(rare hematologic disorder), 신장 전이암(renal metastatic cancer), 횡문근양 종양(rhabdoid tumor), 횡문근육종(rhabdomyosarcoma), 육종(sarcoma), 연조직 육종(soft-tissue sarcoma), 편평 세포암(squamous cell cancer), 위암(stomach cancer), 활막 육종(synovial sarcoma), 고환암(testicular cancer), 흉선 암종(thymic carcinoma), 흉선종(thymoma), 갑상선 전이암(thyroid metastatic cancer), 자궁암(uterine cancer), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인, 방법.

청구항 90

제81항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 자궁경부암, 폐암(lung cancer), 간암(liver cancer), 난소암(ovarian cancer), 흑색종 및 편평 세포 암종을 포함하는 피부암, 결장암(colon cancer), 방광암(bladder cancer), 유방암(breast cancer), 신장암(kidney cancer), 식도암(esophageal cancer), 위암, 췌장암(pancreatic cancer), 두부암(head cancer), 및 경부암(neck cancer)을 포함하는 것인 방법.

청구항 91

제78항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 갯과 항체, scFv, 이중특이적 분자, 또는 면역접합체는 cPD-1에 특이적으로 결합하는 것인, 방법.

청구항 92

제91항에 있어서, cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 갯과 항체, scFv, 이중특이적 분자, 또는 면역접합체의 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해하는 것인, 방법.

청구항 93

제78항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 갯과인, 방법.

청구항 94

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갯과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 제46항의 이중특이적 분자, 또는 제47항의 면역접합체, 및 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 또는 희석제를 혼합하는 단계를 포함하는, 제73항의 약학적 조성물을 제조하는 방법.

청구항 95

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갯과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 제46항의 이중특이적 분자, 또는 제47항의 면역접합체, 및 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 또는 희석제를 혼합하는 단계를 포함하는, 암, 폐혈증 또는 폐혈성 쇼크, 또는 만성 감염을 치료하기 위한 조성물을 제조하는 방법.

청구항 96

제95항에 있어서, 암이 흑색종 (예를 들어, 전이성 악성 흑색종(metastatic malignant melanoma)), 전립선암 (예를 들어, 호르몬 불응성 전립선 선암종(hormone refractory prostate adenocarcinoma)), 두경부암 (예를 들어, 두경부의 편평 세포 암종), 자궁경부암, 갑상선암, 교모세포종, 신경교종, 백혈병, 림프종 (예를 들어, B 세포 림프종(B cell lymphoma)), 부신암, AIDS-관련 암, 포상 연부 육종, 성상 세포 종양, 골암, 뇌척수암, 전이성 뇌종양, 경동맥 소체 종양, 연골육종, 척삭종, 혈액소성 신세포 암종, 투명 세포 암종, 피부 양성 섬유성 조직구종, 결합조직형성 소원형 세포 종양, 상피세포종, 유잉 종양, 골격외 점액성 연골육종, 골성 불완전 섬유 생성증, 뼈의 섬유성 이형성증, 담낭 또는 담관 암, 임신 용모성 질환, 생식 세포 종양, 혈액 악성 종양, 간세포 암종, 섬 세포 종양, 카포시 육종, 신장암, 지방종/양성 지방종성 종양, 지방육종/악성 지방종성 종양, 수모 세포종, 수막종, 메르켈 세포 암종, 다발성 내분비 종양증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 신경모세포종, 신경내분비 종양, 유두상 갑상선 암종, 부갑상선 종양, 소아암, 말초 신경초 종양, 갈색세포종, 뇌하수체 종양, 전립선암, 후방 포도막 흑색종, 희귀 혈액학적 장애, 신장 전이암, 횡문근양 종양, 횡문근육종, 육종, 연조직 육종, 편평 세포암, 위암, 활막 육종, 고환암, 흉선 암종, 흉선종, 갑상선 전이암, 자궁암, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인, 방법.

청구항 97

제95항에 있어서, 암이 자궁경부암, 폐암, 간암, 난소암, 흑색종 및 편평 세포 암종을 포함하는 피부암, 결장암, 방광암, 유방암, 신장암, 식도암, 위암, 췌장암, 두부암, 및 경부암을 포함하는 것인, 방법.

청구항 98

약물(medicament)로서 사용하기 위한, 제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갓과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 제46항의 이중특이적 분자, 제47항의 면역접합체, 또는 제73항의 약학적 조성물.

청구항 99

암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염의 치료용 약물로서 사용하기 위한, 제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갓과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 제46항의 이중특이적 분자, 제47항의 면역접합체, 또는 제73항의 약학적 조성물.

청구항 100

약물의 제조를 위한, 제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갓과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 제46항의 이중특이적 분자, 제47항의 면역접합체, 또는 제73항의 약학적 조성물의 용도.

청구항 101

암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염의 치료용 약물의 제조를 위한, 제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갓과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv, 제46항의 이중특이적 분자, 제47항의 면역접합체, 또는 제73항의 약학적 조성물의 용도.

청구항 102

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갓과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv를 제조하기 위한 방법으로서, 제68항 내지 제72항 중 어느 한 항의 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 103

제102항에 있어서, 제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제39항 내지 제41항 중 어느 한 항의 갓과 항체, 또는 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 scFv의 발현 및 분비를 가능하게 하기에 충분한 조건하에 세포 배양 배지에서 제68항 내지 제72항 중 어느 한 항의 숙주 세포를 인큐베이션(incubation)시키는 것을 추가로 포함하는 방법.

발명의 설명**기술 분야**

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에서 2021년 12월 10일에 출원된 미국 가특허출원 제63/288,284호에 대한 우선권을 주장하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 편입된다.

배경 기술

[0003] 면역 체크포인트 억제제 (ICI)인 펌브롤리주맙과 니볼루맙은 흑색종, 신장 세포 암종, 및 비소세포 폐 암종을 포함하는 다양한 암을 가진 환자의 치료에 혁신을 일으켰다. 이러한 ICI 요법은 세포독성 T 세포의 기능을 부정적으로 조절하는 수용체를 차단하는 것에 의해 실행된다. 실제로, ICI는 T 세포 기능을 달리 억제할 것인 신호 전달 경로(signaling pathway)를 차단하는 작용을 한다. 면역 체크포인트 수용체는 일반적으로 면역 반응이 독성적이게 되는 것을 방지하는 데 중요한 역할을 하는 한편, 다수의 암들은 이러한 음성 신호를 이용하여 종종 세포 독성 T 세포에서 발현되는 면역 체크포인트 수용체에 대한 리간드를 발현시키는 것에 의해 이들에 대해 유

도된 T-세포 면역 반응을 약화시킨다.

[0004] 정상 면역 기능을 가진 개는 염색체 이상, 분자 아형, 면역 특징, 종양 이질성, 전이 거동(metastatic behavior) 및 화학 요법에 대한 반응과 같은 특징을 나타내는 자연 발생 종양(spontaneous tumor)이 발생한다. 그러나, 현재 수의학 분야에서는 완전 개과(fully canine), 상업적으로 이용 가능한 항-개과 PD-1(anti-canine PD-1) (cPD-1) 항체가 없으며, 개과 암 환자를 치료하는 데 있어서의 체크포인트 억제제의 잠재적 임상적 이점은 실현될 수 없다.

[0005] 종양-특이적 T 세포의 PD-1의 차단을 통해 개과 대상체(subject)에서 수의 암(veterinary cancer)을 치료하기 위해 사용될 수 있는 면역 체크포인트 분자에 대한 비면역원성 개과 항체의 개발에 대한 필요성이 본 기술분야에 존재한다.

발명의 내용

[0006] 요약

[0007] 하나의 양태에서, 개과 프로그램화 사멸 단백질 1 (canine programmed death protein 1; cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 1, 27, 또는 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1), 서열 번호 2, 28, 또는 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2), 서열 번호 3, 29, 또는 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3), 서열 번호 4, 30, 또는 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1), 서열 번호 5, 31, 또는 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및 서열 번호 6, 32, 또는 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3).

[0008] 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성(identity)을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0009] 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린(immunoglobulin) 중쇄, 및 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.

[0010] 하나의 양태에서, 개과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0011] 하나의 양태에서, 개과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0012] 하나의 양태에서, 개과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.

[0013] 하나의 양태에서, 개과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.

- [0014] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합된 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1), 서열 번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2), 서열 번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3), 서열 번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1), 서열 번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및 서열 번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3).
- [0015] 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 7 또는 9에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0016] 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 19, 21, 또는 23에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0017] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 7 또는 9에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0018] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0019] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0020] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 19, 21, 또는 23에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0021] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0022] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0023] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 23에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0024] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단

편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 27에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1), 서열 번호 28에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2), 서열 번호 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3), 서열 번호 30에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1), 서열 번호 31에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및 서열 번호 32에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3).

[0025] 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0026] 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 39에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 41에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.

[0027] 하나의 양태에서, 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0028] 하나의 양태에서, 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0029] 하나의 양태에서, 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 39에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 41에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.

[0030] 하나의 양태에서, 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 39에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 41에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.

[0031] 하나의 양태에서, 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1), 서열 번호 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2), 서열 번호 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3), 서열 번호 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1), 서열 번호 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및 서열 번호 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3).

[0032] 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0033] 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.

- [0034] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0035] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0036] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0037] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0038] 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IgG, IgM, IgE, IgA, 또는 IgD 분자이거나, 또는 이들 중 하나로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전장 항체(full-length antibody), Fab, 단일-사슬 가변 단편(single-chain variable fragment; scFv), sc(Fv)2, dsFv, Fab, Fab', (Fab')2 및 디아바디(diabody)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 항체는 전장 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 갯과 또는 개화 항체(caninized antibody)이다. 일부 실시양태에서, 항체는 갯과 항체이다. 일부 실시양태에서, 항원-결합 단편은 scFv이다. 일부 실시양태에서, cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드(예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해한다.
- [0039] 하나의 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 갯과 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시된다.
- [0040] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 갯과 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드(예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해한다.
- [0041] 하나의 양태에서, 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 단일-사슬 가변 단편(scFv)이 본원에 개시된다: 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), HCDR2, 및 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역으로서, 여기서 HCDR1은 서열 번호 1, 27, 및 43으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 2, 28, 및 44로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3는 서열 번호 3, 29, 및 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), LCDR2, 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역으로서, 여기서 LCDR1은 서열 번호 4, 30, 및 46으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 5, 31 및 47로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3는 서열 번호 6, 32, 및 48로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역, 여기서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커(linker)에 의해 연결된다.
- [0042] 하나의 양태에서, 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합되는 단일-사슬 가변 단편(scFv)이 본원에 개시된다: 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역, 여기서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결된다.
- [0043] 하나의 양태에서, 서열 번호 13, 15, 17, 37, 또는 53에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합되는 단일 사슬 가변 단편(scFv)이 본원에 개시된다.

- [0044] 일부 실시양태에서, cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해한다.
- [0045] 하나의 양태에서, 제2 결합 특이성(second binding specificity)을 갖는 분자에 연결되는, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv를 포함하는 이중특이적 분자(bispecific molecule)가 본원에 개시된다.
- [0046] 하나의 양태에서, 치료제에 연결되는, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 또는 본원에 기재된 이중특이적 분자를 포함하는 면역접합체(immunconjugate)가 본원에 개시된다.
- [0047] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv를 코딩하는 단리된 핵산이 본원에 개시된다.
- [0048] 하나의 양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산이 본원에 개시되며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다: 서열 번호 8, 10, 34, 또는 50에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 12, 36, 또는 52에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역.
- [0049] 일부 실시양태에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호 8, 10, 34, 또는 50에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩된다. 일부 실시양태에서, 경쇄 가변 영역은 서열 번호 12, 36, 또는 52에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩된다.
- [0050] 하나의 양태에서, 다음의 것을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산이 본원에 개시된다: 서열 번호 8에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 12에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역.
- [0051] 하나의 양태에서, 다음의 것을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산이 본원에 개시된다: 서열 번호 10에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 12에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역.
- [0052] 하나의 양태에서, 다음의 것을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산이 본원에 개시된다: 서열 번호 34에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 36에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역.
- [0053] 하나의 양태에서, 다음의 것을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산이 본원에 개시된다: 서열 번호 50에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 52에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역.
- [0054] 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IgG, IgM, IgE, IgA, 또는 IgD 분자이거나, 또는 이들 중 하나로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전장 항체, Fab, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), sc(Fv)2, dsFv, Fab, Fab', (Fab')2 및 디아바디로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 항체는 전장 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 갯과 또는 개화 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 갯과 항체이다.
- [0055] 하나의 양태에서, 다음의 것을 포함하는, 단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 코딩하는 단리된 핵산이 본원에 개시된다: 서열 번호 8, 10, 34, 또는 50에 제시된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 12, 36, 또는 52에 제시된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역, 여기서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결된다.
- [0056] 하나의 양태에서, 서열 번호 14, 16, 18, 38, 또는 54에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 코딩하는 단리된 핵산이 본원에 개시된다.
- [0057] 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 scFv는 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합된다. 일부 실시양태에서, cPD-1에의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 scFv의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해한다.

- [0058] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 단리된 핵산을 포함하는 벡터가 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, 벡터(vector)는 발현 벡터(expression vector)이다. 일부 실시양태에서, 벡터는 DNA 벡터, RNA 벡터, 플라스미드, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 및 레트로바이러스 벡터로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0059] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 단리된 핵산 또는 본원에 기재된 벡터를 포함하는 숙주 세포가 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 진핵생물 또는 원핵생물 기원의 것이다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 포유동물 기원의 것이다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 박테리아 기원의 것이다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 중국 햄스터 난소 세포(Chinese Hamster Ovary cell)이다.
- [0060] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자, 또는 본원에 기재된 면역접합체, 및 약학적으로 허용 가능한 부형제(excipient), 담체(carrier), 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물이 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, 약학적 조성물은 정맥내 투여를 위해 제형화된다. 일부 실시양태에서, 약학적 조성물은 피하 투여를 위해 제형화된다. 일부 실시양태에서, 약학적 조성물은 종양내 투여를 위해 제형화된다.
- [0061] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자, 본원에 기재된 면역접합체, 또는 본원에 기재된 약학적 조성물, 및 사용을 위한 설명서를 포함하는 키트(kit)가 본원에 개시된다.
- [0062] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자, 본원에 기재된 면역접합체, 또는 본원에 기재된 약학적 조성물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 T 세포 증식을 증가시키고, T 세포 소진(exhaustion)을 감소시키기 위한 방법이 본원에 개시된다.
- [0063] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자, 본원에 기재된 면역접합체, 또는 본원에 기재된 약학적 조성물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 IFN γ 생성을 증가시키기 위한 방법이 본원에 개시된다.
- [0064] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자, 본원에 기재된 면역접합체, 또는 본원에 기재된 약학적 조성물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1) 신호전달 경로를 억제하기 위한 방법이 본원에 개시된다.
- [0065] 일부 실시양태에서, 대상체는 암, 패혈증(sepsis) 또는 패혈성 쇼크(septic shock), 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)을 갖는다.
- [0066] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자, 본원에 기재된 면역접합체, 또는 본원에 기재된 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하기 위한 방법이 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, 질환 또는 병태는 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 하나 이상의 추가적인 치료제 (예를 들어, 화학 요법제) 또는 중재술(intervention)을 투여하는 것을 추가로 포함한다.
- [0067] 일부 실시양태에서, 암은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1) 신호전달 경로와 관련된다. 일부 실시양태에서, cPD-1에 대한 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)은 대상체의 암 세포에서 발현된다. 일부 실시양태에서, cPD-1은 대상체의 면역 세포에서 발현된다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 T 세포 (예를 들어, 활성화된 T 세포), B 세포, 자연 살해 (NK) 세포, 조절 T 세포, 대식세포, 또는 수지상 세포 (DC)를 포함한다. 일부 경우에, 면역 세포는 활성화된 T 세포를 포함한다. 일부 경우에, 면역 세포는 종양-침윤 림프구를 포함한다. 일부 실시양태에서, 암은 흑색종(melanoma) (예를 들어, 전이성 악성 흑색종(metastatic malignant melanoma)), 전립선암(prostate cancer) (예를 들어, 호르몬 불응성 전립선 선암종(hormone refractory prostate adenocarcinoma)), 두경부암(head and neck cancer) (예를 들어, 두경부의 편평 세포 암종(squamous cell carcinoma)), 자궁경부암(cervical cancer), 갑상선암(thyroid cancer), 교모세포종(glioblastoma), 신경교종(glioma), 백혈병(leukemia), 림프종(lymphoma) (예를 들어, B 세포 림프종(B cell lymphoma)), 부신암(adrenal gland cancer), AIDS-관련 암(AIDS-associated cancer), 포상 연부 육종(alveolar soft part

sarcoma), 성상 세포 종양(astrocytic tumor), 골암(bone cancer), 뇌척수암(brain and spinal cord cancer), 전이성 뇌종양(metastatic brain tumor), 경동맥 소체 종양(carotid body tumor), 연골육종(chondrosarcoma), 척삭종(chordoma), 혐색소성 신세포 암종(chromophobe renal cell carcinoma), 투명 세포 암종(alveolar soft part sarcoma), 피부 양성 섬유성 조직구종(utaneous benign fibrous histiocytoma), 결합조직형성 소원형 세포 종양(desmoplastic small round cell tumor), 상의세포종(ependymoma), 유잉 종양(Ewing's tumor), 골격외 점액성 연골육종(extra skeletal myxoid chondrosarcoma), 골성 불완전 섬유생성증(fibrogenesis imperfecta ossium), 뼈의 섬유성 이형성증(fibrous dysplasia), 담낭(gallbladder) 또는 담관(bile duct) 암, 임신 용모성 질환(gestational trophoblastic diseases), 생식 세포 종양(germ cell tumor), 혈액 악성 종양(hematological malignancy), 간세포 암종(hepatocellular carcinoma), 섬 세포 종양(islet cell tumor), 카포시 육종(Kaposi's sarcoma), 신장암(kidney cancer), 지방종/양성 지방종성 종양(lipoma/benign lipomatous tumor), 지방육종/악성 지방종성 종양(liposarcoma/malignant lipomatous tumor), 수모세포종(medulloblastoma), 수막종(meningioma), 메르켈 세포 암종(Merkel cell carcinoma), 다발성 내분비 종양증(multiple endocrine neoplasia), 다발성 골수종(multiple myeloma), 골수이형성 증후군(myelodysplasia syndrome), 신경모세포종(neuroblastoma), 신경내분비 종양(neuroendocrine tumor), 유두상 갑상선 암종(papillary thyroid carcinoma), 부갑상선 종양(parathyroid tumor), 소아암(pediatric cancer), 말초 신경초 종양(peripheral nerve sheath tumor), 갈색세포종(phaeochromocytoma), 뇌하수체 종양(pituitary tumor), 전립선암(prostate cancer), 후방 포도막 흑색종(posterior uveal melanoma), 희귀 혈액학적 장애(rare hematologic disorder), 신장 전이암(renal metastatic cancer), 횡문근양 종양(rhabdoid tumor), 횡문근육종(rhabdomyosarcoma), 육종(sarcoma), 연조직 육종(soft-tissue sarcoma), 편평 세포암(squamous cell cancer), 위암(stomach cancer), 활막 육종(synovial sarcoma), 고환암(testicular cancer), 흉선 암종(thymic carcinoma), 흉선종(thymoma), 갑상선 전이암(thyroid metastatic cancer), 자궁암(uterine cancer), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 암은 자궁경부암, 폐암(lung cancer), 간암(liver cancer), 난소암(ovarian cancer), 흑색종 및 편평 세포 암종을 포함하는 피부암, 결장암(colon cancer), 방광암(bladder cancer), 유방암(breast cancer), 신장암(kidney cancer), 식도암(esophageal cancer), 위암, 췌장암(pancreatic cancer), 두부암(head cancer), 및 경부암(neck cancer)을 포함한다.

[0068] 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 갯과 항체, scFv, 이중특이적 분자, 또는 면역접합체는 cPD-1에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, cPD-1에의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 갯과 항체, scFv, 이중특이적 분자, 또는 면역접합체의 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 갯과이다.

[0069] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자, 또는 본원에 기재된 면역접합체, 및 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 또는 희석제를 혼합하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 약학적 조성물을 제조하는 방법이 본원에 개시된다.

[0070] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자, 또는 본원에 기재된 면역접합체, 및 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 또는 희석제를 혼합하는 것을 포함하는, 암, 폐혈증 또는 폐혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)을 치료하기 위한 조성물을 제조하는 방법이 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, 암은 흑색종 (예를 들어, 전이성 악성 흑색종), 전립선암 (예를 들어, 호르몬 불응성 전립선 선암종), 두경부암 (예를 들어, 두경부의 편평 세포 암종), 자궁경부암, 갑상선암, 교모세포종, 신경교종, 백혈병, 림프종 (예를 들어, B 세포 림프종), 부신암, AIDS-관련 암, 포상 연부 육종, 성상 세포 종양, 골암, 뇌척수암, 전이성 뇌종양, 경동맥 소체 종양, 연골육종, 척삭종, 혐색소성 신세포 암종, 투명 세포 암종, 피부 양성 섬유성 조직구종, 결합조직형성 소원형 세포 종양, 상의세포종, 유잉 종양, 골격외 점액성 연골육종, 골성 불완전 섬유생성증, 뼈의 섬유성 이형성증, 담낭 또는 담관 암, 임신 용모성 질환, 생식 세포 종양, 혈액 악성 종양, 간세포 암종, 섬 세포 종양, 카포시 육종, 신장암, 지방종/양성 지방종성 종양, 지방육종/악성 지방종성 종양, 수모세포종, 수막종, 메르켈 세포 암종, 다발성 내분비 종양증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 신경모세포종, 신경내분비 종양, 유두상 갑상선 암종, 부갑상선 종양, 소아암, 말초 신경초 종양, 갈색세포종, 뇌하수체 종양, 전립선암, 후방 포도막 흑색종, 희귀 혈액학적 장애, 신장 전이암, 횡문근양 종양, 횡문근육종, 육종, 연조직 육종, 편평 세포암, 위암, 활막 육종, 고환암, 흉선 암종, 흉선종, 갑상선 전이암, 자궁암, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 암은 자궁경부암, 폐암, 간암, 난소암, 흑색종 및 편평 세포 암종을 포함하는 피부암, 결장

암, 방광암, 유방암, 신장암, 식도암, 위암, 췌장암, 두부암, 및 경부암을 포함한다.

[0071] 하나의 양태에서, 약물(medicament)로서 사용하기 위한 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자, 또는 본원에 기재된 면역접합체, 또는 본원에 기재된 약학적 조성물이 본원에 개시된다.

[0072] 하나의 양태에서, 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)의 치료를 위한 약물로서 사용하기 위한 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자, 또는 본원에 기재된 면역접합체, 또는 본원에 기재된 약학적 조성물이 본원에 개시된다.

[0073] 하나의 양태에서, 약물의 제조를 위한 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자, 또는 본원에 기재된 면역접합체, 또는 본원에 기재된 약학적 조성물의 용도가 본원에 개시된다.

[0074] 하나의 양태에서, 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)의 치료를 위한 약물의 제조를 위한 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자, 또는 본원에 기재된 면역접합체, 또는 본원에 기재된 약학적 조성물의 용도가 본원에 개시된다.

[0075] 하나의 양태에서, 본원에 기재된 숙주 세포를 배양하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv, 본원에 기재된 이중특이적 분자의 제조 방법이 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 본원에 기재된 갯과 항체, 또는 본원에 기재된 scFv의 발현 및 분비를 가능하게 하기에 충분한 조건하에 세포 배양 배지에서 본원에 기재된 숙주 세포를 인큐베이션(incubation)시키는 것을 추가로 포함한다.

[0076] 참조로의 편입

[0077] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허, 및 특허 출원은 각 개개의 간행물, 특허, 또는 특허 출원이 구체적으로 그리고 개별적으로 참조로 편입되는 것을 나타내는 것과 동일한 정도로 본원에 참조로 편입된다.

도면의 간단한 설명

[0078] 본 개시내용의 바람직한 실시양태의 하기 상세한 설명은 첨부된 도면과 함께 판독하는 경우 더 잘 이해될 것이다. 본 개시내용을 예시하기 위한 목적을 위해, 현재 바람직한 실시양태가 도면에 나타나 있다. 그러나, 본 개시내용은 도면에 나타난 실시양태의 정확한 배열 및 수단으로 제한되지 않는 것으로 이해되어야 한다.

도 1은 갯과 PD-1 항원에 대한 패닝(panning) 후 갯과 scFv 파지 디스플레이 라이브러리의 농축을 도시한다. 제조한 갯과 PD-1은 4℃에서 밤새 미세역가 플레이트에 흡착되었다. 웰을 세척하고, 37℃에서 1시간 동안 PBS (MPBS) 중의 2% 밀크로 차단되었다. 패닝되지 않은 초기 라이브러리 (P0) 및 각각의 선택 라운드 후 얻은 파지 (P1 내지 P4)의 라이브러리를 코팅된 플레이트에 첨가하였고, 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. 플레이트를 0.1% Tween (PBST)가 보충된 PBS로 세척하였고, 결합된 파지를 MPBS 중의 HRP-접합된 항-M13 mAb의 1:5000 희석액을 사용하여 검출하였다. 결합된 항-M13 mAb는 ABTS 기재를 사용하여 검출되었다. Molecular Devices SpectraMax 340 분광광도계를 사용하여 30분 후 405nm에서 OD를 판독하였다.

도 2a-2b는 갯과 PD-1에 대한 패닝 라운드 3 및 4로부터의 무작위적으로 선택된 scFv-발현 파지 클론의 결합을 도시한다. cPD-1에 대한 패닝의 제4 라운드로부터의 다클론 파지를 cPD-1이 코팅된 웰과 함께 양성 대조군으로서 그리고 인간 (h)CD19로 코팅된 웰과 함께 음성 대조군으로서 사용하였다 (도 2a). 무관 연구(unrelated study)에서 hCD19에 대한 패닝의 제3 라운드로부터의 다클론 파지를 hCD19로 코팅된 웰과 함께 양성 대조군으로서 그리고 cPD-1으로 코팅된 웰과 함께 음성 대조군으로서 사용하였다 (도 2a). 도 2b에서, cPD-1 및 cIL13Rα2 이 코팅된 웰과 함께 무관 연구에서 갯과 (c)IL13Rα2에 대한 패닝의 제4 라운드로부터의 다클론 파지는 유사하게 각각 음성 및 양성 대조군으로서 역할을 하였다.

도 3은 ELISA에 의한 cPD-1에 결합된 독특한 가용성 scFv 클론의 능력을 도시한다. 19개의 독특한 가용성 scFv를 ELISA에 의해 cPD-1에 대한 결합을 시험하였다. 증가된 양의 비오틴화된 갯과 PD-1을 스트렙타비딘 (SA)-코팅된 ELISA 플레이트에서 포집하였다. 0.25 μg/ml의 가용성 헤마글루티닌(HA)-태깅된 scFv를 웰에 첨가하였고, 결합된 scFv를 AP-접합된 항-HA 항체를 사용하여 검출하였다. 상이한 프로젝트의 MERS (중등 호흡

기 증후군) 항원에 대한 관련 없는 가용성 HA로 태깅된 scFv를 음성 대조군으로서 사용하였다.

도 4는 PD-1:PD-L1 억제 검정을 도시한다. ELISA 플레이트를 스트렙타비딘으로 코팅하였다. 가용성 비오티닐화된 것과 PD-1을 단독으로 또는 선택된 가용성 항-cPD-1 scFv 또는 MERS에 대한 관련 없는 가용성 scFv의 존재 하에 증가된 농도의 것과 PD-L1-Fc와 함께 인큐베이션시켰다. 미리 인큐베이션된 혼합물을 ELISA 플레이트에 첨가하고, PD-1에 결합된 PD-L1을 항-Fc-AP 접합체를 사용하여 검출하였다. 박스형의 그리고 번호가 매겨진 클론은 PD-1:PD-L1 상호작용을 억제하였다.

도 5는 세포-표면 발현 PD-1에 결합된 가용성 것과 항-PD-1 scFv를 도시한다. 스캐폴드 인간 적백혈병 세포주 K562는 Fc γ RII (CD32) (KT 632)를 제거하기 위해 편집된 유전자이었다. cPD-1을 발현하기 위한 편집된 세포의 레트로바이러스 형질도입을 수행하였고, PD-1 양성 표적 T 세포를 퓨로마이신에서 선택하였다. 가용성의 정제된 HA-태깅된 scFv를 표적 세포와 함께 인큐베이션시켰고, 결합된 scFv를 항-HA 항체를 사용하여 검출하였다. ELISA에 의해 cPD-1에 대한 저친화성 결합을 나타낸 MERS 및 클론 3-7에 대한 가용성 scFv를 음성 대조군으로서 사용하였다.

도 6은 유세포 분석법에 의한 세포-표면 발현 PD-1에 대한 완전 것과 항-PD-1 IgG4 결합의 평가를 도시한다. cPD-1을 발현시키기 위한 KT 632 세포의 레트로바이러스 형질도입을 수행하였고, 표적 양성 세포를 퓨로마이신을 사용하여 선택하였다. 것과 PD-1 또는 관련 없는 MERS 항체에 대한 완전 것과 IgG4-HA 태깅된 클론을 균주 KT 632 및 KT 632.cPD-1에 대해 사용하였다. 결합된 IgG4 분자를 항-HA 항체를 사용하여 검출하였다.

도 7은 P3C6 항체 돌연변이체가 cPD-1에 결합되는 것을 도시한다. P3C6은 기능 분석 및 세포 표면 결합에 기반한 추가 개발 및 시험을 위해 선택되었다. P3C6의 수율/개발 가능성을 증가시키기 위해, 돌연변이를 프레임워크 영역에 도입하였다. 전장 IgG를 생산하였고, 돌연변이체를 ELISA에 의해 가용성 cPD-1에 결합하는 그것의 능력에 대해 시험하였다. P3C6mut3.1 및 P3C6mut3.2는 돌연변이된 서열 사이에 단지 하나의 아미노산 차이만을 갖는 모 P3C6 클론으로부터 각각 4 및 5개 아미노산 치환을 가진다. P4B1 및 P4-14를 양성 대조군으로서 사용하였다.

도 8은 P3C6 항체 돌연변이체가 cPD-1에 결합되는 것을 도시한다. cPD-1을 발현시키기 위한 KT 632 세포의 레트로바이러스 형질도입을 수행하였고, 표적 양성 세포를 퓨로마이신을 사용하여 선택하였다. 세포 표면 발현 PD-1에 대한 결합을 확인하기 위해 세포를 P3C6 돌연변이체 (mut3.1 및 mut3.2), 또는 P4B1으로 표지시켰다. 결합된 항체를 항-HA 항체를 사용하여 검출하였다. 관련 없는 항-MERS 항체를 음성 대조군으로서 사용하였다. 플롯을 살아 있는 7AAD-세포에 게이팅시킨다(gated).

도 9a-9b는 293T 세포의 일시적 형질감염으로부터의 P3C6 항체 돌연변이체의 수율을 나타낸다.

도 10은 P3C6 돌연변이체 항체가 것과 T 세포 증식 능력을 증강시킨다는 것을 도시한다. 것과 PBMC를 셀 트레이스 바이올렛 (cell trace violet, CTV)으로 표지하였고, P4B1, P3C6 (mut3.1 및 mut3.2) 전장 IgG 또는 관련 없는 MERS 조절 항체의 존재하에서 2.5 μ g/ml 콘카나발린 A로 자극시켰다. 세포를 항-CD5 항체로 표지하였고, 96시간 시점에 유세포 분석법에 의해 분석하였다. 플롯을 살아 있는 CD5⁺ 세포에 게이팅시킨다. 1마리의 개로부터의 데이터를 나타낸다. 세포는 MERS 항체와 비교하여 항-PD-1 IgG의 존재하에서 자극시켰을 때 증식 능력의 증가와 예측된 배수 증가를 나타냈다.

도 11은 P3C6 IgG4 돌연변이체가 미토겐 활성화된 것과 T 세포로부터 IFN- γ 의 생성을 촉진한다는 것을 도시한다. P4B1, P3C6 (mut3.1 및 mut3.2) IgG4 또는 관련 없는 MERS 항체의 존재하에서 2.5mg/ml 콘카나발린 A로 것과 PBMC를 자극시켰다. 상청액을 96시간 이후 수확하였고, ELISA에 의해 IFN- γ 의 존재에 대해 분석하였다. 2마리의 개로부터의 데이터를 나타낸다. P3C6 돌연변이체 둘 모두는 항-MERS 항체 및 제2 항-PD-1 클론 (P4B1)과 비교할 때 IFN- γ 생성의 증가를 나타내었다.

도 12는 클론 A6가 세포 표면 cPD-1에 결합하는 것을 도시한다. KT 632 및 KT 632.cPD-1 세포를 2개의 P3C6 돌연변이체 (mut3.1 및 mut3.2)로 표지시키거나, 또는 클론 A6를 IgG4로서 재포맷팅(reformatted)하여 세포 표면 발현 cPD-1에 대한 결합을 확인하였다. 결합된 항체를 항-HA 항체를 사용하여 검출하였다. 관련 없는 MERS 바이러스 항원에 대한 항체를 음성 대조군으로서 사용하였다. 플롯을 살아 있는 7AAD-세포에 대해 게이팅시킨다. 나타나는 경우에, 항원-결합 부위를 차단시키기 위해 가용성 cPD-1과 클론을 미리 인큐베이션시켰다. 사전 차단으로 클론 A6 결합의 제거 및 클론 P3C6 mut 3.1 및 3.2에 대한 세포-표면 표지화의 감소가 유발되었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0079] 상세한 설명

[0080] 갯과 항체 파지 디스플레이 라이브러리는 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합되는 항원-특이적 단일-사슬 가변 단편 (scFv) 융합 단백질을 확인하기 위해 사용될 수 있다. 이들 갯과 PD-1-특이적 scFv는 이후 갯과-유래 불변 영역을 포함하는 전장 항체로 전환되어, 이들을 갯과 대상체에서 생체내 사용을 위해 적합하게 만든다. 완전 갯과 항체는 마우스 항체, 키메라 항체 또는 개화 항체보다 갯과 대상체에서 면역 반응을 유도할 위험이 낮다. 일부 경우에, 완전 갯과 항-PD-1은 비면역원성이고 갯과 암 환자의 치료시 체크포인트 억제에 있어서 효과적일 수 있다. 갯과 PD-1 요법에 대한 이러한 완전 갯과 항체를 수의학적 수단에 통합하면 악성 종양을 가진 애완견의 결과를 개선시킬 수 있다.

[0081] 또한, 본 개시내용은 인간 면역-종양학에서의 의문점을 밝힐 수 있다. 그것의 인간 대응체와 유사한 특징을 공유하는 자연 발생 종양을 가진 정상 면역 기능을 가진 갯과 암 환자에서 완전 갯과 항-PD-1을 사용하여 인간 임상 시험 설계에 대한 유익한 결과를 생성할 수 있다. 완전 갯과 항-PD-1의 개발은 인간 면역-종양학에서의 중개 연구를 위한 중요한 비교 도구를 제공하며, 평가되는 특정 병용 요법이 체크포인트 억제를 포함하는 것을 가능하게 한다.

[0082] 본 개시내용은 (a) 서열 번호 1, 27, 또는 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1), (b) 서열 번호 2, 28, 또는 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2), (c) 서열 번호 3, 29, 또는 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3), (d) 서열 번호 4, 30, 또는 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1), (e) 서열 번호 5, 31, 또는 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및 (f) 서열 번호 6, 32, 또는 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3)를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0083] 일부 양태에서, (a) 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열에 대한 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (b) 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열에 대한 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시된다.

[0084] 일부 양태에서, (a) 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열에 대한 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 (b) 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열에 대한 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 대해 특이적으로 결합되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 개시된다.

[0085] 일부 양태에서, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합되는 갯과 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 제공된다.

[0086] 일부 양태에서, (a) 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), HCDR2, 및 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역으로서, 여기서 HCDR1은 서열 번호 1, 27, 및 43으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 2, 28, 및 44로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3는 서열 번호 3, 29, 및 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (b) 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1), LCDR2, 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역으로서, 여기서 LCDR1은 서열 번호 4, 30, 및 46으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 5, 31 및 47로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3는 서열 번호 6, 32, 및 48로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결되는 것인, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합되는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)이 본원에 제공된다.

[0087] 일부 양태에서, (a) 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (b) 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결되는 것인, 단일-사슬 가변 단편 (scFv)이 본원에 제공된다.

[0088] 일부 양태에서, 서열 번호 13, 15, 17, 37, 또는 53에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합되는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)이 본원에 제공된다.

- [0089] 또한, 본원에 기재된 갯과 PD-1-특이적 항체 및 항원-결합 단편 또는 scFv에 대한 이중특이적 분자, 면역접합체, 핵산, 벡터, 숙주 세포, 키트, 조성물, 및 대상체 (예를 들어, 갯과 대상체)에서 암 치료를 위해 이를 제조하고 사용하는 방법을 제공한다.
- [0090] **정의**
- [0091] 상세한 설명에서, 임의의 특정한 상세설명은 다양한 실시양태의 완전한 이해를 제공하기 위해 제시되어 있다. 그러나, 본 기술분야의 당업자는 제공되는 실시양태가 이러한 상세설명 없이 실시될 수 있음을 이해할 것이다. 맥락에서 달리 요구되지 않는 한, 아래의 명세서 및 청구항 전반에서, 단어 "포함한다(comprise)" 및 이의 변형어, 예컨대 "포함한다(comprises)" 및 "포함하는(comprising)"는 개방형, 포괄적 의미로, 즉, "포함하지만 이에 제한되지 않는"으로 해석되어야 한다. 이 명세서 및 첨부된 청구항에서 사용되는 바와 같은, 단수 형태 "a", "an", 및 "the"는 맥락에서 명확하게 달리 나타내지 않는 한 복수의 지시대상을 포함한다. 또한, 용어 "또는"은 일반적으로 맥락에서 명확하게 달리 나타내지 않는 한 "및/또는"을 포함하는 그것의 의미로 이용된다는 것을 유의하여야 한다. 추가로, 본원에 제공되는 제목은 단지 편의를 위한 것이며, 청구되는 실시양태의 범위 또는 의미를 해석하지 않는다.
- [0092] 관사 "a" 및 "an"는 관사의 문법적 대상 중 하나 또는 하나 초과 (즉, 적어도 하나)를 지칭하기 위해 본원에 사용된다. 예로서, "구성요소"는 하나의 구성요소 또는 하나 초과와 구성요소를 의미한다.
- [0093] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "약"은 10% 또는 그 미만만큼 언급된 양에 근사한 양을 지칭한다. 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "개체", "환자" 또는 "대상체"는 기재된 조성물 및 방법이 치료를 위해 유용한 적어도 하나의 질환을 가지는 것으로 진단되거나, 이를 앓고 있는 것으로 의심되거나, 또는 이것의 발병 위험이 있는 개체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 개체는 포유동물이다. 특정 실시양태에서, 포유동물은 마우스, 래트, 토끼, 개, 고양이, 말, 소, 양, 돼지, 염소, 라마, 알파카, 또는 야크이다. 특정 실시양태에서, 개체는 개 또는 갯과이다.
- [0094] 본원에 사용되는 바와 같은, 용어 "항체"는 항원과 특이적으로 결합하는 면역글로불린 분자를 지칭한다. 항체는 천연 공급원 또는 재조합 공급원으로부터 유래된 온전한 면역글로불린일 수 있고, 온전한 면역글로불린의 면역반응성 부분일 수 있다. 항체는 전형적으로 2개의 중쇄와 2개의 경쇄 폴리펩티드를 포함하는 면역글로불린 분자의 사량체이다. 각 폴리펩티드 사슬은 항원에 결합하고 항체의 항원 특이성을 정의하는 3개의 상보성-결정 영역(CDR)을 포함한다.
- [0095] 본원에 사용되는 바와 같은, 용어 "항체" 및 "항체들"은 또한 전장 항체로부터 유래된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체를 포함할 수 있다. 이러한 폴리펩티드 복합체는 자연 발생되거나 또는 단일 사슬 항체 또는 항체 단편으로부터 작제될 수 있고, 항원-특이적 결합 능력을 보유한다. 본 개시내용의 항체는, 예를 들어, 다클론 항체, 단클론 항체, Fv, Fab 및 F(ab')₂뿐만 아니라 단일 사슬 항체, scFv, 개화 항체, 갯과 항체, 인간화 항체(humanized antibody), 및 인간 항체를 포함하는 다양한 형태로 존재할 수 있다 (문헌[Harlow et al., 1999, In: Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY]; 문헌[Harlow et al., 1989, In: Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York]; 문헌[Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883]; 문헌[Bird et al., 1988, Science 242:423-426]). 적합한 항체, 예를 들어, 재조합, 단클론, 또는 다클론 항체의 제조를 위해, 기술분야에 알려진 다수의 기술이 사용될 수 있다 (예를 들어, 문헌[Kohler & Milstein, Nature 256:495-497 (1975)]; 문헌[Kozbor et al., Immunology Today 4: 72 (1983)]; 문헌[Cole et al., pp. 77-96 in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. (1985)]; 문헌[Coligan, Current Protocols in Immunology (1991)]; 문헌[Harlow & Lane, Antibodies, A Laboratory Manual (1988)]; 및 문헌[Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice (2d ed. 1986)]을 참조한다). 관심 대상의 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자는 세포로부터 클로닝될 수 있으며, 예를 들어 단클론 항체를 코딩하는 유전자는 하이브리도마로부터 클로닝되어 재조합 단클론 항체를 생산하는데 사용될 수 있다. 단클론 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자 라이브러리는 또한 하이브리도마 또는 형질 세포로부터 제조될 수 있다. 중쇄 및 경쇄 유전자 생성물의 무작위 조합은 상이한 항원 특이성을 갖는 항체의 대량 풀(pool)을 생성한다 (예를 들어, 문헌[Kuby, Immunology (3rd ed. 1997)]을 참조한다). 단일 사슬 항체 또는 재조합 항체의 생산을 위한 기술 (미국 등록특허 제4,946,778호, 제4,816,567호)는 본 개시내용의 항체를 생산하기 위해 조정될 수 있다. 또한, 형질전환 마우스, 또는 다른 유기체 예컨대 다른 포유동물은 인간화 또는 인간 항체뿐만 아니라 개화 또는 갯과 항체를 발현시키기 위해 사용될 수 있다 (예를 들어, 미국 등록특허 제5,545,807호; 제5,545,806호; 제5,569,825호; 제5,625,126호; 제5,633,425호; 제5,661,016호,

문헌[Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992)]; 문헌[Lonberg et al., Nature 368:856-859 (1994)]; 문헌[Morrison, Nature 368:812-13 (1994)]; 문헌[Fishwild et al., Nature Biotechnology 14:845-51 (1996)]; 문헌[Neuberger, Nature Biotechnology 14:826 (1996)]; 및 문헌[Lonberg & Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13:65-93 (1995)]을 참조한다). 대안적으로, 파지 디스플레이 기술은 선택된 항원에 특이적으로 결합되는 항체 및 이형 Fab 단편을 확인하기 위해 사용될 수 있다 (예를 들어, 문헌[McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990)]; 문헌[Marks et al., Biotechnology 10:779-783 (1992)]을 참조한다). 항체는 또한 이중 특이적이라도 만들어질 수 있고, 즉, 2개의 상이한 항원을 인식할 수 있다 (예를 들어, WO 93/08829, 문헌[Traunecker et al., EMBO J. 10:3655-3659 (1991)] 및 문헌[Suresh et al., Methods in Enzymology 121:210 (1986)]을 참조한다). 항체는 또한 이중접합체, 예를 들어, 2개의 공유적으로 연결된 항체, 또는 면역독소일 수 있다 (예를 들어, 미국 등록특허 제4,676,980호, WO 91/00360; WO 92/200373; 및 EP 03089를 참조한다).

[0096]

본원에서 분자, 펩티드, 폴리펩티드, 항체, 또는 항체 단편은 문법적 동등어를 포함하는 "이중특이적" 또는 "이중-특이적"으로 지칭될 수 있다. 이중특이적 분자는 적어도 2개의 구조적으로 별개의 표적에 특이적으로 결합하는 능력을 가진다. 특이적 결합은 비제한적으로 별개의 동일하지 않은 아미노산 서열; 또는 높은 친화도를 갖는 (예를 들어, 약 1×10^{-6} 미만의 KD를 갖는) 2개의 구조적으로 별개인 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 단일 결합 모이어티를 포함하는, 분자 수준에서 구조적으로 구별되는 2개의 별개의 결합 모이어티로 인한 것일 수 있다. "다중-특이적"으로 지칭되는 분자, 펩티드, 폴리펩티드, 항체, 또는 항체 단편은 적어도 3개의 구조적으로 별개인 표적에 특이적으로 결합되는 능력을 갖는 분자를 지칭한다. 문법적 동등어를 포함하는 "이중특이적 항체"는 표적, 예를 들어, 항체 분자로부터의 가변 영역, 중쇄 또는 경쇄, 또는 하나 이상의 상보성 결정 영역에 특이적으로 결합될 수 있는 항체의 적어도 하나의 단편을 보존하는 이중특이적 분자를 지칭한다. 문법적 동등어를 포함하는 "다중-특이적 항체"는 표적, 예를 들어, 항체 분자로부터의 가변 영역, 중쇄 또는 경쇄, 또는 상보성 결정 영역과 특이적으로 결합할 수 있는 항체의 적어도 하나의 단편을 보존하는 다중-특이적 분자를 지칭한다.

[0097]

본원에서의 "링커"는 또한 "링커 서열", "스페이서", "테더링 서열" 또는 이의 문법적 동등어로서 지칭된다. 본원에서 지칭되는 "링커"는 그 자체가 표적 결합, 촉매 활성을 가지거나, 또는 별도의 폴리펩티드로서 자연적으로 발현되고 조립되거나, 또는 동일한 폴리펩티드의 별도의 도메인을 포함하는 2개의 별개의 분자를 연결한다. 예를 들어, 2개의 별개의 결합 모이어티 또는 중쇄/경쇄 쌍. 다수의 전략은 분자를 함께 공유적으로 연결하기 위해 사용될 수 있다. 본원에 기재된 링커는 scFv 분자에서 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역을 연결하기 위해 이용될 수 있거나; 또는 항체 중쇄의 N- 또는 C-말단; 또는 경쇄의 N- 또는 C-말단 상의 scFv 또는 다른 항원 결합 단편을 연결하여 이중특이적 또는 다중-특이적 결합 분자를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 이들은 비제한적으로 단백질 또는 단백질 도메인의 N-말단과 C-말단 사이의 폴리펩티드 연결, 이황화 결합을 통한 연결, 및 화학적 가교-결합 시약을 통한 연결을 포함한다. 이 실시양태의 하나의 양태에서, 링커는 재조합 기술 또는 펩티드 합성에 의해 발생된 펩티드 결합이다. 링커 펩티드는 다음의 아미노산 잔기를 주로 포함할 수 있다: Gly, Ser, Ala, 또는 Thr. 링커 펩티드는 이것이 원하는 활성을 보유하도록 서로에 대해 올바른 배열을 취하도록 2개의 분자를 연결하는 데 적합한 길이를 가져야 한다. 하나의 실시양태에서, 링커는 길이가 약 1 내지 50개의 아미노산이거나 또는 길이가 약 1 내지 30개의 아미노산이다. 하나의 실시양태에서, 길이가 1 내지 20개의 아미노산인 링커가 사용될 수 있다. 유용한 링커는 예를 들어 n이 1 이상의 정수인 (GS)_n, (GSGGS)_n (서열 번호 65), (GGGGS)_n (서열 번호 67), 및 (GGGS)_n (서열 번호 66)을 포함하는 글리신-세린 중합체, 글리신-알라닌 중합체, 알라닌-세린 중합체, 및 다른 가요성 링커를 포함한다. 항체 단편 또는 단일 사슬 가변 단편을 연결하기 위한 예시적인 링커는 AAEPKSS (서열 번호 78), AAEPKSSDKTHTCPPCP (서열 번호 79), GGGG (서열 번호 80), 또는 GGGGDKTHTCPPCP (서열 번호 81)을 포함할 수 있다. 대안적으로, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 폴리프로필렌 글리콜, 폴리옥시알킬렌, 또는 폴리에틸렌 글리콜 및 폴리프로필렌 글리콜의 공중합체를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 비단백질성 중합체가 링커로서 사용될 수 있다.

[0098]

"초가변 영역" 또는 "HVR"과 동의어인 용어 "상보성 결정 영역" 및 "CDR"은 항원 특이성 및/또는 결합 친화성을 부여하는, 항체 가변 영역 내의 아미노산의 비연속 서열을 지칭하는 것으로 본 기술분야에 알려져 있다. 일반적으로, 각각의 중쇄 가변 영역 (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) 내에 3개의 CDR 그리고 각각의 경쇄 가변 영역 (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3) 내에 3개의 CDR이 존재한다. "프레임워크 영역" 및 "FR"은 중쇄 및 경쇄의 가변 영역의 비-CDR 부분을 지칭하는 것으로 본 기술분야에 알려져 있다. 일반적으로, 각각의 전장 중쇄 가변 영역 (FR-H1, FR-H2, FR-H3, 및 FR-H4) 내에 4개의 FR 그리고 각각의 전장 경쇄 가변 영역 (FR-L1, FR-L2, FR-L3, 및 FR-L4) 내에 4개의 FR이 존재한다. 주어진 CDR 또는 FR의 정확한 아미노산 서열 범위는 문헌[Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes

of Health, Bethesda, MD] ("카바트(Kabat)" 넘버링 방식), 문헌[Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948] ("코티아(Chothia)" 넘버링 방식); 문헌[MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), "Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography," J. Mol. Biol. 262, 732-745."] ("컨택트(Contact)" 넘버링 방식); 문헌[Lefranc MP et al., "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," Dev Comp Immunol, 2003 Jan;27(1):55-77] ("IMGT" 넘버링 방식); 문헌[Honegger A and Plueckthun A, "Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool," J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3):657-70], ("Aho" 넘버링 방식); 및 문헌[Whitelegg NR and Rees AR, "WAM: an improved algorithm for modelling antibodies on the WEB," Protein Eng. 2000 Dec;13(12):819-24] ("AbM" 넘버링 방식)에 기재된 것을 포함하는 다수의 잘 알려진 방식 중 어느 하나를 사용하여 쉽게 결정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 CDR은 코바트, 코티아, IMGT, Aho, AbM, 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 방법에 의해 정의될 수 있다.

[0099] 주어진 CDR 또는 FR의 범위는 식별을 위해 사용되는 방식에 따라 변화될 수 있다. 예를 들어, 코바트 방식은 구조적 정렬을 기반으로 하고, 한편 코티아 방식은 구조적 정보를 기반으로 한다. 코바트 및 코티아 방식 둘 모두에 대한 넘버링은 삽입 문자, 예를 들어, "30a"를 수용하는 삽입, 및 일부 항체에서 보여지는 결실과 함께 가장 일반적인 항체 영역 서열 길이를 기반으로 한다. 2개의 방식은 상이한 위치에 특정 삽입 및 결실 ("indel")을 배치하여, 상이한 넘버링이 초래된다. 컨택트 방식은 복합 결정 구조의 분석에 기반하며, 코티아 넘버링 방식과 여러 관점에서 유사하다. 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 CDR은 IMGT 방법에 의해 정의될 수 있다.

[0100] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항원에 항체를 결합하는 데 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 네이티브 항체의 중쇄 및 경쇄 (V_H 및 V_L , 각각)의 가변 도메인은 일반적으로 유사한 구조를 갖고, 각각의 도메인은 4개의 보존 프레임워크 영역 (FR) 및 3개의 CDR을 포함한다 (예를 들어, 문헌[Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., 91 페이지(2007)]을 참조한다). 단일 V_H 또는 V_L 도메인은 항원-결합 특이성을 부여하는 데 충분할 수 있다. 또한, 특정 항원과 결합하는 항체는 각각 상보성 V_L 또는 V_H 도메인의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 항원에 결합되는 항체로부터의 V_H 또는 V_L 도메인을 사용하여 분리될 수 있다 (예를 들어, 문헌[Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993)]; 문헌[Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991)]을 참조한다).

[0101] 본원에 기재된 항체 분자의 특이적 결합 또는 결합은 항체의 하나 이상의 CDR 부분에 의해 매개되는 결합을 지칭한다. 모든 CDR이 특이적 결합을 위해 필요로 될 수 있는 것은 아니다. 특이적 결합은 예를 들어 이소형 대조군 항체와 비교하여 결합의 상당한 증가를 나타내는 특정 언급된 표적 또는 항원에 대해 ELISA에 의해 입증될 수 있다.

[0102] "에피토프(epitope)"는 표적 항원에 대한 항체 또는 이의 단편의 특이적 결합을 위해 최소한으로 필요로 되는 본원에 기재된 항체 또는 단편의 결합 결정자를 지칭한다. 표적 항원이 폴리펩티드인 경우, 에피토프는 연속 또는 불연속 에피토프일 것이다. 연속 에피토프는 표적 항원의 하나의 영역에 의해 형성되고, 한편 불연속 에피토프는 2개 이상의 별도의 영역으로부터 형성될 수 있다. 불연속 에피토프는 예를 들어 표적 항원이 2개의 아미노산 서열을 함께 모아 항체에 의해 결합되는 3차원 구조를 형성하는 3차 구조를 채택할 경우에 형성될 수 있다. 표적 항원이 폴리펩티드인 경우, 에피토프는 일반적으로 폴리펩티드 사슬에 연결되는 복수의 아미노산일 것이다. 연속 에피토프는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 연속 아미노산을 포함할 수 있다. 에피토프는 아미노산의 연속 중합체를 포함할 수 있는 한편, 중합체의 모든 아미노산이 항체의 아미노산 잔기와 접촉할 수 있는 것은 아니다. 이러한 비접촉된 아미노산은 여전히 에피토프의 일부를 포함할 것이고, 이것은 그것이 접촉된 아미노산의 구조 및 연결에 대해 중요할 수 있기 때문이다. 숙련가는 예를 들어 참조 항체를 사용한 교차-블로킹 실험(cross-blocking experiment)에 의해 임의의 주어진 항체가 참조 항체의 에피토프와 결합하였는지 여부를 결정할 수 있다. 특정 실시양태에서, 기재된 항체의 동일한 에피토프와 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 실시양태에서, 기재된 항체에 의해 경쟁적으로 블로킹된 항체가 본원에 기재된다. 특정 실시양태에서, 기재된 항체와 결합하기 위해 경쟁하는 항체가 본원에 기재된다.

[0103] 용어 "항체 단편"은 온전한 항체의 일부를 포함하거나 또는 이로부터 유래된 폴리펩티드를 지칭하고, 온전한 항체의 항원-결합 결정 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는, 비제한적으로, Fab, Fab', F(ab')₂, 및 Fv 단편, 선형 항체, scFv 항체, 단일-도메인 항체, 예컨대 표적에 대한 충분한 친화성을 나타내는 VL 또는 VH 도

메인으로 이루어진 낙타과(camelid) 항체 (Riechmann, 1999, Journal of Immunological Methods 231:25-38), 및 항체 단편으로부터 형성된 다중-특이적 항체를 포함한다. 항체 단편은 비제한적으로 온전한 상체의 단백질 분해(proteolytic digestion)뿐만 아니라 재조합 숙주 세포에 의한 생성을 포함하는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 재조합하여 생산된 단편, 예컨대 자연적으로 발생되지 않은 배열을 포함하는 단편, 예컨대 합성 링커, 예를 들어, 폴리펩티드 링커에 의해 연결된 2개 이상의 항체 영역 또는 사슬을 갖는 것, 및/또는 자연적으로 발생된 온전한 항체의 효소 분해에 의해 생산되지 않은 것이다. 일부 양태에서, 항체 단편은 scFv이다.

[0104] Fab 또는 Fab 단편은 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인 (CH1)을 포함한다. Fab' 또는 Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터의 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카르복실 말단에서의 몇몇 잔기의 추가로 인해 Fab 단편과는 상이하다. Fab' 단편은 F(ab')₂ 펩신 분해 생성물의 힌지 시스테인에서의 이황화 결합의 절단에 의해 생산된다. 항체 단편의 추가적인 화학적 커플링은 본 기술분야의 당업자에게 알려져 있다. Fab 및 F(ab')₂ 단편은 온전한 항체의 단편 결정성 (Fc) 영역이 결여되며, 동물의 순환으로부터 더 빠르게 제거하여, 온전한 항체보다 더 적은 비특이적 조직 결합을 가질 수 있다. "Fv" 단편은 완전한 표적 인식 및 결합 부위를 포함하는 항체의 최소 단편이다. 이 영역은 긴밀하게 비공유적으로 회합된 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄 가변 도메인의 이량체 (VH-VL 이량체)로 이루어진다. 이러한 구조에서 각각의 가변 도메인의 3개의 CDR이 상호작용하여 VHVL 이량체의 표면 상의 표적 결합 부위를 획정한다. 일부 경우에, 6개의 CDR은 항체에 표적 결합 특이성을 부여한다. 그러나, 일부 경우에, 심지어 단일 가변 도메인 (또는 표적에 특이적인 3개의 CDR만을 포함하는 Fv의 절반)은 표적을 인식하고 결합하는 능력을 가질 수 있다. 단일 도메인 항체 (sdAb)/단일-사슬 단편은 항원에 대해 충분한 친화성을 나타내는 단일 VH 또는 VL 도메인으로 구성된다. 항체 단편은 또한 개화 항체 또는 개화 항체 또는 개화 항체의 일부를 포함한다. scFv (단일-사슬 Fv)는 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함하는 항체 결합 단편을 지칭하고, 여기서 이들 도메인은 단일 폴리펩티드 사슬에 존재한다. 일반적으로, scFv 폴리펩티드는 VH와 VL 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 추가로 포함하고 이는 scFv가 표적 결합에 유리한 구조를 형성할 수 있게 한다.

[0105] 용어 "디아바디"는 가변 도메인의 사슬내 쌍이 아닌 사슬간 쌍이 이루어져 2개의 단편, 즉, 2개의 항원-결합 부위를 갖는 단편을 생성하도록, VH와 VL 도메인 사이에 짧은 링커 (약 5-10개의 잔기)를 갖는 scFv 단편을 작제함으로써 제조된 작은 항체 단편을 지칭한다. 이중특이적 디아바디는 두 항체의 VH 및 VL 도메인이 상이한 폴리펩티드 사슬에 존재하는 2개의 "크로스오버(crossover)" scFv 단편의 이중이량체이다.

[0106] 용어 "선형 항체"는 일반적으로 상보성 경쇄 폴리펩티드와 함께 항원 결합 영역의 쌍을 형성하는 탠덤형 Fd 세그먼트 (VH-CH1-VH-CH1)의 쌍을 포함하는 항체를 지칭한다. 선형 항체는 이중특이적이거나 또는 단일특이적일 수 있다.

[0107] 본원에 사용되는 바와 같은 "항체 중쇄"는 그것의 자연적으로 발생된 구조의 모든 항체 분자에 존재하는 더 큰 2개의 유형의 폴리펩티드 사슬을 지칭한다.

[0108] 본원에 사용되는 바와 같은 "항체 경쇄"는 그것의 자연적으로 발생된 구조의 모든 항체 분자에 존재하는 더 작은 2개의 유형의 폴리펩티드 사슬을 지칭한다. κ 및 λ 경쇄는 2개의 주요 항체 경쇄 이소형을 지칭한다.

[0109] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "합성 항체"는 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 박테리오파지에 의해 발현된 항체와 같은 재조합 DNA 기술을 사용하여 생성된 항체를 의미한다. 상기 용어는 또한 항체를 코딩하는 DNA 분자의 합성에 의해 생성된 항체를 의미하는 것으로 해석되어야 하고, 이의 DNA 분자는 항체를 특정하는 항체 단백질, 또는 아미노산 서열을 발현하고, 여기서 DNA 또는 아미노산 서열은 본 기술분야에서 이용 가능하고 잘 알려진 합성 DNA 또는 아미노산 서열 기술을 사용하여 얻어진 것이다.

[0110] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "항원" 또는 "Ag"는 면역 반응을 유발하는 분자로서 정의된다. 이 면역 반응은 항체 생산, 또는 특정한 면역 능력이 있는 세포의 활성화, 또는 둘 모두를 포함할 수 있다. 숙련가는 사실상 모든 단백질 또는 펩티드를 포함하는 임의의 거대분자가 항원으로서 역할을 할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 또한, 항원은 재조합 또는 게놈 DNA로부터 유래될 수 있다. 숙련가는 면역 반응을 유도하는 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 또는 부분 뉴클레오티드 서열을 포함하는 임의의 DNA가 이에 따라 이 용어가 본원에 사용되는 바와 같은 "항원"을 코딩하는 것을 이해할 것이다. 또한, 본 기술분야의 당업자는 항원이 유전자의 전장 뉴클레오티드 서열에 의해서만 코딩될 필요가 없다는 것을 이해할 것이다. 본 개시내용이 하나 초과 유전자의 부분 뉴클레오티드 서열의 사용을 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 이들 뉴클레오티드 서열은 원하는 면역 반응을 유도하도록 다양한 조합으로 배열된다는 것은 쉽게 명확한 것이다. 더욱이, 숙련가는 항원이 "유전자"에 의해

코딩될 필요가 전혀 없다는 것을 이해할 것이다. 항원이 합성되어 생성될 수 있거나 또는 생물학적 샘플로부터 유래될 수 있다는 것은 쉽게 명확한 것이다. 이러한 생물학적 샘플은 조직 샘플, 종양 샘플, 세포 또는 생물학적 유체를 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

- [0111] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "항-종양 효과"는 종양 부피의 감소, 종양 세포 수의 감소, 전이 수의 감소, 기대 수명의 증가, 또는 암 상태와 관련된 다양한 생리적 증상의 개선으로 나타날 수 있는 생물학적 효과를 지칭한다. "항-종양 효과"는 또한 우선적으로 종양의 발생을 예방하는 데 있어서의 본 개시내용의 펩티드, 폴리뉴클레오티드, 세포 및 항체의 능력으로 나타날 수 있다.
- [0112] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "자가 유래"는 나중에 개체에 재도입되는 동일한 개체로부터 유래된 임의의 물질을 지칭하는 것을 의미한다.
- [0113] "동종 유래"는 동일한 종의 상이한 동물로부터 유래된 이식편과 관련된다.
- [0114] "이종 유래"는 상이한 종의 동물로부터 유래된 이식편과 관련된다.
- [0115] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "암"은 이상 세포의 빠르고 제어되지 않는 성장을 특징으로 하는 질환으로서 정의된다. 암 세포는 국소적으로 또는 혈류 및 림프계를 통해 신체의 다른 부분으로 퍼질 수 있다. 다양한 암의 예는 비제한적으로 유방암, 전립선암, 난소암, 자궁경부암, 피부암, 췌장암, 대장암, 신장암, 간암, 뇌암, 림프종, 백혈병, 폐암 등을 포함한다. 특정 실시양태에서, 암은 수질성 갑상선 암종(medullary thyroid carcinoma)이다.
- [0116] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "보존적 서열 변형"은 아미노산 서열을 포함하는 항체의 결합 특성에 유의미한 영향을 미치지거나 또는 변경시키지 않는 아미노산 변형을 지칭하는 것으로 의도된다. 이러한 보존적 변형은 아미노산 치환, 첨가 및 결실을 포함한다. 변형은 부위 지정 돌연변이가 유발 및 PCR-매개 돌연변이가 유발과 같은 본 기술분야에 알려진 표준 기술에 의해 본 개시내용의 항체로 도입될 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체되는 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 부류는 본 기술분야에 정의되어 있다. 이러한 부류는 염기성 측쇄 (예를 들어, 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄 (예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄 (예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타-분지형 측쇄 (예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다. 이에 따라, 본 개시내용의 항체의 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 부류로부터의 다른 아미노산 잔기로 대체될 수 있고, 변경된 항체는 본원에 기재된 기능 검정(functional assay)을 사용하여 GFR α4에 결합하는 능력에 대해 시험될 수 있다.
- [0117] 본원에 사용되는 용어로서 "공동자극 리간드"는 T 세포 상의 동족 공동자극 분자에 특이적으로 결합하고 이에 의해 예로서 TCR/CD3 복합체와 펩티드가 로딩된 MHC 분자의 결합에 의해 제공되는 1차 신호 이외에, 제한 없이 증식, 활성화, 분화 등을 포함하는 T 세포 반응을 매개하는 신호를 제공하는 항원 제시 세포 (예를 들어, aAPC, 수지상 세포, B 세포 등)에 의해 발현되는 분자를 포함한다. 공동자극 리간드는 비제한적으로 CD7, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), PD-L1, PD-L2, 4-1BBL, OX40L, 유도성 공동자극 리간드 (ICOS-L), 세포간 부착 분자 (ICAM), CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, 림프톡신 베타 수용체, 3/TR6, ILT3, ILT4, HVEM, 톨(Toll) 리간드 수용체에 결합하는 작용제 또는 항체 및 B7-H3와 특이적으로 결합하는 리간드를 포함할 수 있다. 공동자극 리간드는 또한 그 중에서도 제한 없이, CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40L, PD-1, ICOS, 림프구 기능-관련 항원-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드와 같은 T 세포 상에 존재하는 공동자극 분자와 특이적으로 결합하는 항체를 포괄한다.
- [0118] "공동자극 분자"는 항원-제시 세포 (APC)에 의해 발현되는 공동자극 리간드와 특이적으로 결합하고, 이에 의해 T 세포 수용체 (TCR)와의 MHC/HLA-항원 상호작용을 통해 전달되는 "1차 신호"와 조합되어, 제한 없이 사이토카인 생산 및 증식을 포함하는 최적 T 세포 활성화를 야기하는 "2차 신호"를 제공하는 T 세포에 의해 발현되는 세포-표면 분자를 지칭한다. 공동자극 분자는, 비제한적으로, CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40L, PD-1, ICOS, 림프구 기능-관련 항원-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드를 포함한다.
- [0119] PD-1 또는 그것의 리간드 PD-L1 및 PD-L2의 발현 또는 활성화의 수준의 맥락에서 사용되는 경우에 용어 "조절 장애가 있는(dysregulated)"은 그 외에는 동일한 건강한 동물, 유기체, 조직, 세포 또는 이의 성분에서 PD-1 또는

그것의 리간드의 발현 수준 또는 활성과 상이한 발현 또는 활성의 수준과 관련된다. 용어 "조절 장애가 있는"은 또한 그 외에는 동일한 건강한 동물, 유기체, 조직, 세포 또는 이의 성분에서의 조절과 비교되는 PD-1, PD-L1의 발현 및 활성의 수준의 변경된 조절과 관련된다.

- [0120] "코딩하는"은 뉴클레오타이드의 정의된 서열 (즉, rRNA, tRNA 및 mRNA) 또는 아미노산의 정의된 서열을 갖는 생물학적 과정 및 이로부터 생성된 생물학적 특성에 있어서의 다른 중합체 및 거대분자의 합성을 위한 주형으로서 역할을 하는 유전자, cDNA, 또는 mRNA와 같은 폴리뉴클레오타이드에서의 뉴클레오타이드의 특정 서열의 고유 특성과 관련된다. 따라서, 유전자는 이 유전자에 상응하는 mRNA의 전사 및 번역이 세포 또는 다른 생물학적 시스템에서 단백질을 생산하는 경우에 단백질을 코딩한다. 이의 뉴클레오타이드 서열이 mRNA 서열과 동일하고 일반적으로 서열 목록에 제공되는 코딩 가닥, 및 유전자 또는 cDNA의 전사를 위한 주형으로서 사용되는 비코딩 가닥 둘 모두는 이 유전자 또는 cDNA의 단백질 또는 다른 생성물을 코딩하는 것과 관련될 수 있다.
- [0121] 달리 특정되지 않는 한, "아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열"은 서로 축퇴 형태(degenerate version)이고, 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 모든 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 단백질 및 RNA를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 인트론을 포함할 수 있다.
- [0122] "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 본원에서 상호 교환적으로 사용되며, 특정 생물학적 결과를 달성하는 데 효과적인 본원에 기재된 바와 같은 화합물, 제제, 물질, 또는 조성물의 양을 지칭한다. 이러한 결과는, 비제한적으로, 기술분야에 적합한 임의의 수단에 의해 결정되는 바와 같은 바이러스 감염의 억제제를 포함할 수 있다.
- [0123] 본원에 사용되는 바와 같은 "내인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템으로부터 유래되거나 또는 그 안에 생산된 임의의 물질과 관련된다.
- [0124] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "외인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템도입되거나 또는 그 외부에서 생산되는 임의의 물질과 관련된다.
- [0125] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "발현"은 그것의 프로모터에 의해 유도된 특정 뉴클레오타이드 서열의 전사 및/또는 번역으로서 정의된다.
- [0126] "발현 벡터"는 발현될 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 발현 조절 서열을 포함하는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터를 지칭한다. 발현 벡터는 발현을 위한 충분한 시스-작용 요소를 포함하며; 발현을 위한 다른 요소는 숙주 세포에 의해 또는 시험관내 발현 시스템에 공급될 수 있다. 발현 벡터는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 코스미드, 플라스미드 (예를 들어, 네이키드(naked)이거나 리포솜에 포함됨) 및 바이러스 (예를 들어, 렌티바이러스, 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-관련 바이러스)와 같은 본 기술분야에 알려진 모든 것을 포함한다.
- [0127] 본원에 사용되는 바와 같은 "상동성"은 2개의 중합체 분자 사이, 예를 들어 2개의 핵산 분자, 예컨대 2개의 DNA 분자 또는 2개의 RNA 분자 사이, 또는 2개의 폴리펩티드 분자 사이의 서브유닛 서열 동일성과 관련된다. 2개의 분자 모두에서의 서브유닛 위치를 동일한 단량체 서브유닛이 차지하는 경우; 예를 들어, 2개의 DNA 분자 각각의 위치를 아데닌이 차지하는 경우, 이들은 그 위치에서 상동성이다. 2개의 서열 사이의 상동성은 일치하는 또는 상동성인 위치의 수의 직접 함수이고; 예를 들어, 2개의 서열에서의 위치의 절반 (예를 들어, 길이가 10개의 서브유닛인 중합체에서의 5개의 위치)가 상동성인 경우, 2개의 서열은 50% 상동성이고; 위치의 90% (예를 들어, 10개 중 9개)가 일치하거나 상동성인 경우, 2개의 서열은 90% 상동성이다.
- [0128] 비-인간 또는 비-갯과 (예를 들어, 마우스) 항체의 "인간화" 또는 "개화" 및 "키메라" 형태는 비-인간 또는 비-갯과 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 면역글로불린, 면역글로불린 사슬 또는 이의 단편 (예컨대 항체의 Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 다른 항원-결합 하위서열)이다. 대부분의 경우, 인간화, 개화 및 키메라 항체는 인간 또는 갯과 면역글로불린 (수용자 항체(recipient antibody))이며 이에서 수용자의 상보적-결정 영역 (CDR)으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화성 및 능력을 갖는 마우스, 래트 또는 토끼와 같은 비-인간 또는 비-갯과 중 (공여자 항체(donor antibody))의 CDR로부터의 잔기로 대체된다. 일부 경우에, 인간 또는 갯과 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 또는 비-갯과 잔기로 대체된다. 또한, 인간화, 개화, 및 키메라 항체는 수용자 항체나 유입된 CDR 또는 프레임워크 서열 모두에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 변형은 항체 성능을 더욱 개선하고 최적화하기 위해 이루어진다. 일반적으로, 인간화, 개화 및 키메라 항체는 적어도 1개, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 이에서 CDR 영역의 모두 또는 실질적으로 모두가 비-인간 면역글로불린의 것에 상응하고, FR 영역의 모두 또는 실질적으로 모두가 인간 또는 갯과 면역글로불린 서열의 것이다. 개화 및 키메라 항체는 또한 최적으로 면역글로불

린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부, 통상적으로 갯과 면역글로불린의 것을 포함할 것이다.

- [0129] "완전 갯과" 또는 "갯과 항체"는 갯과 또는 갯과 세포, 또는 갯과 항체 라이브러리를 포함하는, 갯과 항체 레퍼토리 또는 다른 갯과 항체-코딩 서열을 이용하는 비-갯과 공급원으로부터 생산된 항체의 것에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체와 같은 면역글로불린과 관련된다. 상기 용어는 모든 또는 실질적으로 모든 CDR이 비-갯과 인 것과 같은 비-갯과 항원-결합 영역을 포함하는 비-갯과 항체의 개화 형태를 배제한다. 일부 경우에, 완전 갯과 항체는 비-갯과 종으로부터의 항체 서열의 일부를 포함하지 않는다. 갯과 항체는 항원 도전(antigenic challenge)에 대해 반응하여 온전한 갯과 항체 또는 갯과 가변 영역을 갖는 온전한 항체를 생산하도록 변형된 형질전환 동물에 면역원을 투여함으로써 제조될 수 있다. 이러한 동물은 통상적으로 내인성 면역글로불린 유전자 좌위를 대체하거나 또는 염색체 외에 존재하거나 또는 동물의 염색체에 무작위로 통합되는, 갯과 면역글로불린 유전자 좌위의 전부 또는 일부를 포함한다. 이러한 형질전환 동물에서, 내인성 면역글로불린 유전자 좌위는 일반적으로 비활성화되어 있다. 갯과 항체는 또한 갯과 레퍼토리로부터 유래된 항체-코딩 서열을 함유하는, 파지 디스플레이 및 무세포 라이브러리를 포함하는, 갯과 항체 라이브러리로부터 유래될 수 있다.
- [0130] 본원에 사용되는 바와 같은, "지침 자료"는 본 개시내용의 조성물 및 방법의 유용성을 전달하는 데 사용될 수 있는 간행물, 기록, 도표 또는 기타 표현 매체를 포함한다. 본 개시내용의 키트의 지침 자료는 예를 들어 본 개시내용의 핵산, 펩티드 및/또는 조성물을 포함하는 용기에 부착되거나 또는 핵산, 펩티드, 및/또는 조성물을 포함하는 용기와 함께 운송될 수 있다. 대안적으로, 지침 자료는 수령인이 지침 자료와 화합물을 함께 사용할 수 있도록 용기와 별도로 운배송될 수 있다.
- [0131] 본원에 사용되는 바와 같은 "동일성"은 기준 폴리펩티드 서열에 대한 서열 동일성 백분율 (%)을 지칭하며, 필요로 되는 경우, 서열 동일성의 일부로서 임의의 보존적 치환을 고려하지 않는, 최대 서열 동일성 백분율을 달성하기 위해 서열을 정렬하고, 갭(gap)을 도입시킨 후의 기준 폴리펩티드 서열에서의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열에서의 아미노산 잔기의 백분율이다. 아미노산 서열 동일성 백분율을 결정하기 위한 정렬은 예로서 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공개적으로 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하는, 알려져 있는 다양한 방식으로 달성될 수 있다. 비교되는 서열의 전체 길이에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 알고리즘을 포함하는 서열을 정렬시키기 위한 적합한 파라미터가 결정될 수 있다. 본원에서의 목적을 위해, 그러나, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 사용하여 생성된다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 Genentech, Inc.에 의해 만들어졌고, 소스 코드는 20559 워싱턴 D.C. 소재의 미국 저작권청에 사용자 문서와 함께 제출되었고, 여기서 이는 미국 저작권청 등록 번호 TXU510087로 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 소재의 Genentech, Inc.로부터 공개적으로 이용 가능하거나, 또는 소스 코드로부터 컴파일링될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 디지털 UNIX V4.0D를 포함하는 UNIX 작동 시스템 상에서 사용하기 위해 컴파일링되어야 한다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되며, 변화되지 않는다.
- [0132] ALIGN-2가 아미노산 서열 비교를 위해 이용되는 상황에서, 주어진 아미노산 서열 B에 대한, 그와 또는 그에 대비되는 주어진 아미노산 서열 A의 % 아미노산 서열 동일성 (이것은 대안적으로 주어진 아미노산 서열 B에 대한, 그와 또는 그에 대비되는 특정 % 아미노산 서열 동일성을 갖거나 이를 포함하는 주어진 아미노산 서열 A로 표현될 수 있음)은 다음과 같이 계산된다: 분율 X/Y의 100배, 여기서 X는 A 및 B의 이 프로그램의 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의한 동일한 일치로서 점수가 매겨진 아미노산 잔기의 수이고, 여기서 Y는 B에서의 아미노산 잔기의 총수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우, B에 대한 A의 % 아미노산 서열 동일성은 A에 대한 B의 % 아미노산 서열 동일성과 동일하지 않을 것으로 이해될 것이다. 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 % 아미노산 서열 동일성 값은 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 사용하여 바로 앞 단락에 기재된 바와 같이 얻어진다.
- [0133] "단리된"이란 자연 상태에서 변경되거나 제거된 것을 의미한다. 예를 들어, 살아 있는 동물에 자연적으로 존재하는 핵산 또는 펩티드는 "단리"된 것이 아니라, 그것의 자연 상태의 공존 물질로부터 부분적으로 또는 완전하게 분리된 동일한 핵산 또는 펩티드가 "단리"된 것이다. 단리된 핵산 또는 단백질은 실질적으로 정제된 형태로 존재할 수 있거나, 또는, 예를 들어 숙주 세포와 같은 비천연 환경에 존재할 수 있다.
- [0134] 본 개시내용의 맥락에서, 일반적으로 발생하는 핵산 염기에 대해 다음의 약어가 사용된다. "A"는 아데노신을 지칭하고, "C"는 시토신을 지칭하고, "G"는 구아노신을 지칭하고, "T"는 티미딘을 지칭하고, "U"는 우리딘을 지칭한다.
- [0135] 달리 특정되지 않는 한, "아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열"은 서로 축퇴 형태이고, 동일한 아미노

산 서열을 코딩하는 모든 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 문구 단백질 또는 RNA를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 또한 단백질을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열이 일부 형태에서 인트론(들)을 포함할 수 있는 정도로 인트론을 포함할 수 있다.

- [0136] 용어 "작동 가능하게 연결된"는 조절 서열과 이중 핵산 서열 사이의 기능적 연결과 관련되며 이는 후자의 발현을 초래한다. 예를 들어, 제1 핵산 서열이 제2 핵산 서열과 기능적 관계에 위치하는 경우, 제1 핵산 서열은 제2 핵산 서열과 작동 가능하게 연결된다. 예로서, 프로모터가 코딩 서열의 전사 또는 발현에 영향을 미치는 경우, 프로모터는 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된다. 일반적으로, 작동 가능하게 연결된 DNA 서열은 연속적이며, 필요한 경우 동일한 관독 프레임에서 2개의 단백질 코딩 영역을 연결한다.
- [0137] 면역원성 조성물의 "비경구" 투여는 예를 들어 피하 (s.c.), 정맥내 (i.v.), 근육내 (i.m.), 또는 흉골내 주사 또는 주입 기술을 포함한다.
- [0138] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 뉴클레오타이드의 사슬로 정의된다. 또한, 핵산은 뉴클레오타이드의 중합체이다. 이에 따라, 본원에 사용되는 바와 같은 핵산 및 폴리뉴클레오타이드는 상호 교환적이다. 본 기술분야의 당업자는 핵산이 폴리뉴클레오타이드이며, 이는 단량체성 "뉴클레오타이드"로 가수분해될 수 있다는 일반적 지식을 갖는다. 단량체성 뉴클레오타이드는 뉴클레오시드로 가수분해될 수 있다. 본원에 사용되는 바와 같은 폴리뉴클레오타이드는, 비제한적으로, 재조합 수단, 즉, 보통의 클로닝 기술 및 PCRTM 등을 사용하는 재조합 라이브러리 또는 세포 계능로부터의 핵산 서열의 클로닝을 포함하지만 이에 제한되지 않는 본 기술분야에서 이용 가능한 임의의 수단에 의해 그리고 합성 수단에 의해 얻어지는 모든 핵산 서열을 포함한다.
- [0139] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "펩티드", "폴리펩티드" 및 "단백질"은 상호 교환적으로 사용되며, 펩티드 결합에 의해 공유적으로 연결되는 아미노산 잔기로 구성된 화합물을 지칭한다. 단백질 또는 펩티드는 적어도 2개의 아미노산을 포함하여야 하며, 단백질 또는 펩티드의 서열을 포함할 수 있는 아미노산의 최대 수에는 제한이 없다. 폴리펩티드는 펩티드 결합에 의해 서로 결합되는 2개 이상의 아미노산을 포함하는 임의의 펩티드 또는 단백질을 포함한다. 본원에 사용되는 바와 같이 상기 용어는 또한 본 기술분야에서 펩티드, 올리고펩티드 및 올리고머로서 일반적으로 지칭되는 단쇄, 및 본 기술분야에서 여러 유형이 있는 단백질로서 일반적으로 지칭되는 장쇄 둘 모두를 지칭한다. "폴리펩티드"는 예를 들어, 그 중에서도 생물학적 활성 단편, 실질적으로 상동성인 폴리펩티드, 올리고펩티드, 동종이량체, 이종이량체, 폴리펩티드의 변이체, 변형된 폴리펩티드, 유도체, 유사체, 융합 단백질을 포함한다. 폴리펩티드는 천연 펩티드, 재조합 펩티드, 합성 펩티드, 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0140] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "프로모터"는 폴리뉴클레오타이드 서열의 특정 전사를 개시하는 데 필요로 되는, 세포의 합성 기구, 또는 도입된 합성 기구에 의해 인식되는 DNA 서열로서 정의된다.
- [0141] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "프로모터/조절 서열"은 프로모터/조절 서열에 작동 가능하게 연결된 유전자 생성물의 발현을 위해 필요로 되는 핵산 서열을 의미한다. 일부 경우에, 이러한 서열은 코어 프로모터 서열일 수 있고, 다른 경우에, 이러한 서열은 또한 인핸서 서열 및 유전자 생성물의 발현에 필요로 되는 다른 조절 요소를 포함할 수 있다. 프로모터/조절 서열은, 예를 들어, 조직 특이적 방식으로 유전자 생성물을 발현하는 것일 수 있다.
- [0142] "구성적" 프로모터는 유전자 생성물을 코딩하거나 특정하는 폴리뉴클레오타이드와 작동 가능하게 연결될 때, 세포의 대부분의 또는 모든 생리학적 조건하에서 세포에서 유전자 생성물이 생성되도록 하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0143] "유도성" 프로모터는 유전자 생성물을 코딩하거나 특정하는 폴리뉴클레오타이드와 작동 가능하게 연결될 때, 프로모터에 상응하는 유도인자가 세포에 존재하는 경우에만 실질적으로 세포에서 유전자 생성물이 생성되도록 하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0144] "조직-특이적" 프로모터는 유전자에 의해 코딩하거나 특정되는 폴리뉴클레오타이드와 작동 가능하게 연결될 때, 세포가 프로모터에 상응하는 조직 유형의 세포인 경우에만 실질적으로 세포에서 유전자 생성물이 생성되도록 하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0145] "신호 전달 경로"는 세포의 한 부분에서 세포의 다른 부분으로 신호를 전달하는 역할을 하는 다양한 신호 전달 분자들 사이의 생화학적 관계와 관련된다. 문구 "세포 표면 수용체"는 신호를 수신하고, 세포의 원형질막에 걸쳐 신호를 전달할 수 있는 분자 및 분자의 복합체를 포함한다. "세포 표면 수용체"의 예는 인간 GFR α 4이다.

- [0146] "단일 사슬 항체"는 면역글로불린 중쇄 및 경쇄 단편이 단일 폴리펩티드로서 항체의 Fv 영역을 개괄하기 위한 조작된 범위의 아미노산을 사용하여 서로 연결되는 재조합 DNA 기술에 의해 형성된 항체를 지칭한다. 미국 등록 특허 제4,694,778호; 문헌[Bird (1988) Science 242:423-442]; 문헌[Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883]; 문헌[Ward et al. (1989) Nature 334:54454]; 문헌[Skerra et al. (1988) Science 242:1038-1041]에 기재된 것을 포함하는 단일 사슬 항체를 생성하는 다양한 방법이 알려져 있다.
- [0147] 용어 "대상체"는 면역 반응이 유도될 수 있는 살아 있는 유기체 (예를 들어, 포유동물)을 포함하는 것으로 의도된다. 본원에 사용되는 바와 같은 "대상체" 또는 "환자"는 인간 또는 비-인간 포유동물일 수 있다. 비-인간 포유동물은, 예를 들어, 가축 및 애완동물, 예컨대 양, 소, 돼지, 개과, 고양이과, 및 쥐 포유동물을 포함한다. 바람직하게는, 대상체는 개과이다.
- [0148] 본원에 사용되는 바와 같은 "실질적으로 정제된" 세포는 다른 세포 유형이 본질적으로 없는 세포이다. 실질적으로 정제된 세포는 또한 그것의 자연적으로 발생된 상태에서 일반적으로 결합된 다른 세포 유형으로부터 분리된 세포를 지칭한다. 일부 경우에, 실질적으로 정제된 세포의 집단은 균질한 세포 집단을 지칭한다. 다른 경우에, 이러한 용어는 간단하게 그것의 자연 상태에서 자연적으로 결합된 세포로부터 분리된 세포를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 세포는 시험관 내에서 배양된다. 다른 실시양태에서, 세포는 시험관 내에서 배양되지 않는다.
- [0149] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "치료제"는 치료 및/또는 예방을 의미한다. 치료 효과는 질환 상태의 억제, 완화 또는 제거에 의해 얻어진다.
- [0150] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된"은 외인성 핵산이 이에 의해 숙주 세포 내로 전달되거나 도입되는 과정과 관련된다. "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된" 세포는 외인성 핵산으로 형질감염되거나, 형질전환되거나 또는 형질도입된 것이다. 세포는 주요 대상 세포 및 그것의 자손을 포함한다.
- [0151] 본원에 사용되는 바와 같은 문구 "전사 제어하에서" 또는 "작동 가능하게 연결된"은 RNA 중합효소에 의한 전사의 개시와 폴리뉴클레오타이드의 발현을 제어하기 위해 폴리뉴클레오타이드와 관련하여 프로모터가 올바른 위치 및 방향에 있는 것을 의미한다.
- [0152] "백터"는 단리된 핵산을 포함하고, 단리된 핵산을 세포 내부로 전달하는 데 사용될 수 있는 물질의 조성물이다. 선형 폴리뉴클레오타이드, 이온성 또는 양친매성 화합물과 연관된 폴리뉴클레오타이드, 플라스미드 및 바이러스를 포함하지만 이에 제한되지 않는 여러 백터가 본 기술분야에 알려져 있다. 이에 따라, 용어 "백터"는 자율적으로 복제되는 플라스미드 또는 바이러스를 포함한다. 상기 용어는 또한 예를 들어 폴리리신 화합물, 리포솜 등과 같은, 핵산의 세포 내로의 전달을 촉진하는 비-플라스미드 및 비-바이러스 화합물을 포함하도록 해석되어야 한다. 바이러스 백터의 예는, 비제한적으로, 아데노바이러스 백터, 아데노-관련 바이러스 백터, 레트로바이러스 백터, 렌티바이러스 백터 등을 포함한다.
- [0153] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "특이적으로 결합한다"는 항체 또는 리간드가 샘플에 존재하는 동족 결합 대상체 (예를 들어, T 세포 상에 존재하는 자극 및/또는 공동자극 분자) 단백질을 인식하여 이와 결합하지만, 이 항체 또는 리간드는 샘플에서의 다른 분자를 실질적으로 인식하거나 또는 이와 결합하지 않는 것을 의미한다.
- [0154] 용어 "자극"은 자극 분자 (예를 들어, TCR/CD3 복합체)가 그것의 동족 리간드와 결합하고 이에 의해 신호 전달 이벤트, 예컨대, 제한 없이, TCR/CD3 복합체를 통한 신호 전달을 중재하는 것에 의해 유도되는 1차 반응을 의미한다. 자극은 특정 분자의 변경된 발현 예컨대 TGF- β 의 하향조절, 및/또는 세포골격 구조의 재구성 등을 중재할 수 있다.
- [0155] 그 용어가 본원에 사용되는 바와 같은 "자극 분자"는 항원 제시 세포 및/또는 종양 세포 상에 존재하는 동족 자극 리간드와 특이적으로 결합하는 T 세포 상의 분자를 의미한다.
- [0156] 본원에 사용되는 바와 같은 "자극 리간드"는 항원 제시 세포 (예를 들어, aAPC, 수지상 세포, B-세포 등) 또는 종양 세포 상에 존재할 때 T 세포 상의 동족 결합 대상체 (본원에서 "자극 분자"로서 지칭됨)에 특이적으로 결합할하여 이에 의해 활성화, 면역 반응의 개시, 증식 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 T 세포에 의한 1차 반응을 중재할 수 있는 리간드를 의미한다. 자극 리간드는 본 기술분야에 잘 알려져 있고, 그 중에서도, 펩티드가 로딩된 MHC 클래스 I 분자, 항-CD3 항체, 슈퍼-작용제 항-CD28 항체, 및 슈퍼-작용제 항-CD2 항체를 포함한다.
- [0157] 범위: 이러한 본 개시내용 전반에 걸쳐, 본 개시내용의 다양한 양태가 범위 형식으로 제시될 수 있다. 범위 형

식의 설명은 단지 편의와 간결성을 위한 것으로 이해되어야 하며, 본 개시내용의 범위에 대한 융통성 없는 제한으로 해석되지 않아야 한다. 따라서, 범위의 설명은 모든 가능한 하위범위뿐만 아니라 그 범위 내의 개개의 수치 값이 구체적으로 개시된 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 1 내지 6과 같은 범위의 설명은 하위범위 예컨대 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 6, 3 내지 6 등뿐만 아니라 그 범위 내의 개개의 수치, 예를 들어, 1, 2, 2.7, 3, 4, 5, 5.3, 및 6이 구체적으로 개시된 것으로 간주되어야 한다. 이는 범위의 폭과 관계없이 적용된다.

[0158] **결합 폴리펩티드, 항체, 및 scFv**

[0159] 양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특정 기능적 특징 또는 특성을 특징으로 하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 (또는 상호 교환적으로 사용되는 "결합 폴리펩티드")가 본원에 개시된다. 예를 들어, 결합 폴리펩티드 및 항체는 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 ("cPD-1" 또는 "갯과 PD-1"은 상호 교환적으로 사용됨)에 특이적으로 결합한다. 본 개시내용의 결합 폴리펩티드 및 항체는 고친화성으로 갯과 PD-1에 결합될 수 있다. 본 개시내용의 결합 폴리펩티드 및 항체는 세포 상의 자연적으로 발현된 갯과 PD-1 단백질을 특이적으로 인식할 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 결합 폴리펩티드 및 항체는 이러한 세포의 다른 표면 분자와 교차 반응하지 않는다. 본 개시내용의 결합 폴리펩티드 및 항체는 세포 상의 자연적으로 발현된 갯과 PD-1 단백질에 특이적으로 결합할 수 있고, 이로써 이러한 결합은 갯과 PD-1이 갯과 PD-1의 자연 리간드, 예컨대 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1 ("cPD-L1" 또는 "갯과 PD-L1)에 결합되는 것을 방지한다. 일부 경우에, 세포는 종양 세포 (예를 들어, 흑색종, 비소세포 폐 암종 및 간세포 암종)이다. 일부 경우에, 세포는 면역 세포이다. 일부 경우에, 면역 세포는 T 세포 (예를 들어, 활성화된 T 세포), B 세포, 자연 살해 (NK) 세포, 조절 T 세포, 대식세포, 또는 수지상 세포 (DC)를 포함한다. 일부 경우에, 면역 세포는 활성화된 T 세포를 포함한다. 일부 경우에, 면역 세포는 종양-침윤 림프구를 포함한다. 일부 경우에, cPD-L1은 종양 세포에서 과발현된다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 cPD-1에 결합되어, cPD-1 신호전달 경로를 억제할 수 있다.

[0160] 특정 양태에서, 본 개시내용은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1)을 포함한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2)를 포함한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3)를 포함한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1)을 포함한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2)를 포함한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3)를 포함한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합하는 항원-결합 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 도메인은 3개의 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 3개의 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0161] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 1, 27, 또는 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1을 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드를 제공한다. 또한, 서열 번호 2, 28, 또는 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2를 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드가 제공된다. 또한, 서열 번호 3, 29, 또는 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3를 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드가 제공된다. 또한, 서열 번호 4, 30, 또는 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드가 제공된다. 또한, 서열 번호 5, 31, 또는 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2를 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드가 제공된다. 또한, 서열 번호 6, 32, 또는 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3를 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드가 제공된다.

[0162] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 1, 27, 또는 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1), 서열 번호 2, 28, 또는 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2), 서열 번호 3, 29, 또는 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3), 서열 번호 4, 30, 또는 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1), 서열 번호 5, 31, 또는 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및 서열 번호 6, 32, 또는 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3)을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다. 일부 경우에, 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 경우에, 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아

미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 경우에, 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄를 포함한다. 일부 경우에, 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함한다.

[0163] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합된다.

[0164] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0165] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0166] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0167] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열 번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 서열 번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3, 서열 번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열 번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 서열 번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3를 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 단리된 결합 폴리펩티드는 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 7 또는 9에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 19, 21, 또는 23에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함한다.

[0168] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 7 또는 9에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0169] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갓과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0170] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호

11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0171] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 19, 21, 또는 23에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0172] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0173] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0174] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 23에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0175] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 27에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열 번호 28에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 서열 번호 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3, 서열 번호 30에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열 번호 31에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 서열 번호 32에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3를 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 단리된 결합 폴리펩티드는 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 39에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 41에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함한다.

[0176] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0177] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0178] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 39에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 41에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0179] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 39에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열

번호 41에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0180] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열 번호 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 서열 번호 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3, 서열 번호 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열 번호 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 서열 번호 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3를 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 단리된 결합 폴리펩티드는 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함한다.

[0181] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0182] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0183] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0184] 특정 양태에서, 본 개시내용은 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및 서열 번호 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 경우에, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합한다.

[0185] 상보성 결정 영역 (CDR) 서열의 허용 가능한 변이는 본 기술분야의 당업자에게 알려져 있을 것이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 단리된 결합 폴리펩티드는 서열 번호 1, 2, 3, 4, 5, 6, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 43, 44, 45, 46, 47, 또는 48에 제시된 아미노산 서열 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 (HCDR 또는 LCDR)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 단리된 결합 폴리펩티드는 서열 번호 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6에 제시된 아미노산 서열 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 (HCDR 또는 LCDR)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 단리된 결합 폴리펩티드는 서열 번호 27, 28, 29, 30, 31, 또는 32에 제시된 아미노산 서열 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 (HCDR 또는 LCDR)을 포함한다.

노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 (HCDR 또는 LCDR)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 단리된 결합 폴리펩티드는 서열 번호 43, 44, 45, 46, 47, 또는 48에 제시된 아미노산 서열 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 (HCDR 또는 LCDR)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 단리된 결합 폴리펩티드는 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다.

[0186] 일부 실시양태에서, 단리된 결합 폴리펩티드는 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1), 예를 들어, 갯과 PD-1에 결합된다. 일부 실시양태에서, 결합 폴리펩티드는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IgG, IgM, IgE, IgA, 또는 IgD 분자이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IgG, IgM, IgE, IgA, 또는 IgD 분자로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 항원-결합 단편은 전장 항체, Fab, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), 단일-도메인 항체, sc(Fv)2, dsFv, Fab, Fab', (Fab')₂ 및 디아바디로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가의 실시양태에서, 항체는 전장 항체이다. 다른 추가의 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 갯과 또는 개화 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 갯과 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 갯과 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 갯과 IgG4 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 scFv이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 갯과 또는 개화 scFv이다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 갯과 scFv이다. 일부 실시양태에서, cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해한다. 일부 실시양태에서, cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용에 의해 활성화된 신호전달 경로를 억제한다. 일부 실시양태에서, cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1 신호전달 경로를 억제한다.

[0187] 특정 실시양태에서, 결합 폴리펩티드는 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 결합 폴리펩티드는 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 결합 폴리펩티드는 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0188] 특정 실시양태에서, 결합 폴리펩티드는 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 결합 폴리펩티드는 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 결합 폴리펩티드는 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0189] 또한, 서열 번호 7 또는 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드가 제공된다.

[0190] 또한, 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드가 제공된다.

[0191] 또한, 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드가 제공된다.

[0192] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 항체로서 갯과 PD-1 상의 동일한 에피토프에 결합하는 항체 (즉, 본 개시내용의 항체 중 어느 하나와 갯과 PD-1에 결합하기 위해 교차-경쟁하는 능력을 갖는 항체)를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 교차-경쟁 연구를 위한 참조 항체는 본원에 기재된 항체 (예를 들어, 표 1 및 실시예 1에서의 P3C6mut3.1, P3C6mut3.2, P4B1, 또는 A6) 중 하나일 수 있다. 예를 들어, Biacore 분석, ELISA 검정 또는 유세포 분석법은 현재 본 개시내용의 항체와의 교차-경쟁을 입증하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, cPD-1에 대한 P3C6mut3.1 또는 P3C6mut3.2의 결합을 억제하는 시험 항체의 능력은 시험 항체가 cPD-1에 결합하기 위해 P3C6mut3.1 또는 P3C6mut3.2와 경쟁할 수 있다는 것을 나타내고, 이에 따라 P3C6mut3.1 또는 P3C6mut3.2와 같이 PD-1의 동일한 에피토프에 결합하는 것으로 간주된다.

- [0193] 본 개시내용의 항체는 변형된 항체를 조작하기 위해 출발 물질로서 본원에 개시된 VH 및/또는 VL 서열 또는 이의 임의의 단편 중 하나 이상을 갖는 항체를 사용하여 제조될 수 있고, 이의 변형된 항체는 출발 항체와 비교하여 변경된 특성을 가질 수 있다. 항체는 하나 또는 두 가변 영역 (즉, VH 및/또는 VL) 내의, 예를 들어 하나 이상의 CDR 영역 내의 및/또는 하나 이상의 프레임워크 영역 내의 하나 이상의 아미노산을 변형시킴으로써 조작될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 항체는 예를 들어 항체의 이펙터 기능(들)을 변경하기 위해 불변 영역(들) 내의 잔기를 변형시킴으로써 조작될 수 있다.
- [0194] 또한, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 갯과 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제공된다. 갯과 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 항체 파지 디스플레이 라이브러리로부터 발생될 수 있다. cPD-1에 특이적으로 결합되는 갯과 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 발생시키기 위한 방법은 실시예 1에 예시되어 있다. 일부 경우에, 이러한 갯과 항체는 본원에 개시된 임의의 항원-결합 단편 또는 결합 펩티드를 포함한다. 일부 경우에, cPD-1에의 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해한다.
- [0195] 또한, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)이 제공된다. 일부 경우에, scFv는 항원-결합 도메인을 포함한다. 일부 경우에, cPD-1에의 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해한다.
- [0196] 본원에 사용되는 바와 같은, 용어 "단일-사슬 가변 단편" 또는 "scFv"는 VH:VL 이중이량체를 형성하기 위해 공유적으로 연결된 면역글로불린의 중쇄 (VH) 및 경쇄 (VL)의 가변 영역의 융합 단백질 (예를 들어, 마우스, 갯과, 또는 인간)이다. 중쇄 (VH) 및 경쇄 (VL)는 직접적으로 결합되거나 또는 펩티드-코딩 링커에 의해 결합되고, 이는 VH의 N-말단을 VL의 C-말단에, 또는 VH의 C-말단을 VL의 N-말단에 연결한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 도메인 (예를 들어, PD-1 결합 도메인)은 N-말단으로부터 C-말단까지의 구조인 VH - 링커 - VL를 갖는 scFv를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 N-말단으로부터 C-말단까지의 구조인 VL - 링커 - VH를 갖는 scFv를 포함한다. 본 기술분야의 당업자는 본 개시내용에 사용하기 위한 적절한 구조를 선택할 수 있을 것이다.
- [0197] 링커는 보통 유연성을 위해 글리신이 풍부하고, 또한 용해성을 위해 세린 또는 트레오닌이 풍부하다. 링커는 세포의 항원-결합 도메인의 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역을 연결할 수 있다. 링커의 비제한적인 예는 문헌 [Shen et al., Anal. Chem. 80(6):1910-1917 (2008)] 및 WO 2014/087010에 개시되어 있으며, 이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 편입된다. 다양한 링커 서열은 제한 없이 글리신 세린 (GS) 링커 예컨대 (GS)_n, (GSGGS)_n (서열 번호 65), (GGGS)_n (서열 번호 66), 및 (GGGG)_n (서열 번호 67)을 비롯하여 본 기술분야에 알려져 있으며, 여기서 n은 1 이상의 정수를 나타낸다. 예시적인 링커 서열은 제한 없이 GGSG (서열 번호 68), GSGG (서열 번호 69), GSGG (서열 번호 70), GSGG (서열 번호 71), GGGG (서열 번호 72), GSSG (서열 번호 73), GGGG (서열 번호 74), GGGSGGGSGGGG (서열 번호 75), GGGSSSSSGGGSGGGG (서열 번호 76) 등을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 본 기술분야의 당업자는 본 개시내용에 사용하기 위한 적절한 링커 서열을 선택할 수 있을 것이다. 하나의 실시양태에서, 본 개시내용의 scFv는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고, 여기서 VH 및 VL은 아미노산 서열 GGGSSSSSGGGSGGGG (서열 번호 76)을 갖는 링커 서열에 의해 연결되고, 이는 핵산 서열 GGCGGTGGTTCCTCTAGATCTTCCTCTGTTGG CGGTGGCTCGGCGGTGGTGGG (서열 번호 77)에 의해 코딩될 수 있고, 이에서 아르기닌 잔기인 R은 제한 엔도뉴클레아제 Xba I에 대한 뉴클레오티드 서열을 포함함으로써 존재한다. scFv 작제물(construct)을 플랭킹(flanking)시킨 것과 함께의 링커에서의 제한 부위의 존재는 바람직한 경우 항체 최적화를 위한 중쇄/경쇄 "스와핑(swapping)" 실험을 수행하기 위해 유용한 것으로 본 기술분야의 당업자에 의해 인식될 것이다.
- [0198] 불변 영역의 제거 및 링커의 도입에도 불구하고, scFv 단백질은 본래 면역글로불린의 특이성을 유지한다. 단일 사슬 Fv 폴리펩티드 항체는 문헌[Huston et al. (Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 85:5879-5883, 1988)]에 기재된 바와 같은 VH- 및 VL-코딩 서열을 포함하는 핵산으로부터 발현될 수 있다. 또한, 미국 등록특허 제5,091,513호, 제5,132,405호 및 제4,956,778호; 및 미국 공개특허 제20050196754호 및 제20050196754호를 참조한다. 억제 활성을 갖는 길항성 scFv가 기재되어 있다 (예를 들어, 문헌[Zhao et al., Hybridoma (Larchmt) 2008 27(6):455-51]; 문헌[Peter et al., J Cachexia Sarcopenia Muscle 2012 August 12]; 문헌[Shieh et al., J Immunol 2009 183(4):2277-85]; 문헌[Giomarelli et al., Thromb Haemost 2007 97(6):955-63]; 문헌[Fife et al., J Clin Invest 2006 116(8):2252-61]; 문헌[Brocks et al., Immunotechnology 1997 3(3):173-84]; 문헌[Moosmayer et al., Ther Immunol 1995 2(10):31-40]을 참조한다). 자극 활성을 갖는 작용성 scFv가 기재되어 있다 (예를

들어, 문헌[Peter et al., J Bioi Chem 2003 25278(38):36740-7]; 문헌[Xie et al., Nat Biotech 1997 15(8):768-71]; 문헌[Ledbetter et al., Crit Rev Immunol 1997 17(5-6):427-55]; 문헌[Ho et al., BioChim Biophys Acta 2003 1638(3):257-66]을 참조한다).

- [0199] 특정 실시양태에서, scFv의 항원-결합 도메인은 3개의 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 3개의 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. HCDR1은 아미노산 서열 (서열 번호 1, 27, 또는 43)을 포함하고/하거나 HCDR2는 아미노산 서열 (서열 번호 2, 28, 또는 44)를 포함하고/하거나 HCDR3는 아미노산 서열 (서열 번호 3, 29, 또는 45)를 포함하고/하거나 LCDR1은 아미노산 서열 (서열 번호 4, 30, 또는 46)을 포함하고/하거나 LCDR2는 아미노산 서열 (서열 번호 5, 31, 또는 47)을 포함하고/하거나 LCDR3는 아미노산 서열 (서열 번호 6, 32, 또는 48)을 포함한다. 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결된다.
- [0200] 또한, 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)이 제공된다. 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결된다.
- [0201] 다른 양태에서, 서열 번호 13, 15, 17, 37, 또는 53에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 단일 사슬 가변 단편 (scFv)이 제공된다. 다른 양태에서, 서열 번호 13, 15, 17, 37, 또는 53에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 단일 사슬 가변 단편 (scFv)이 제공된다.
- [0202] scFv 서열의 허용 가능한 변이는 본 기술분야의 당업자에게 알려져 있을 것이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, scFv는 서열 번호 13, 15, 17, 37, 또는 53에 제시된 아미노산 서열 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0203] 다른 양태에서, 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 전장 항체가 제공된다. 다른 양태에서, 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄로 이루어진 전장 항체가 제공된다.
- [0204] 전장 항체 서열의 허용 가능한 변이는 본 기술분야의 당업자에게 알려져 있을 것이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 항체는 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0205] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 전장 중쇄 또는 경쇄는 추가로 리더 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 리더 서열은 서열 번호 60에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 리더 서열은 서열 번호 59에 제시된 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩된다.
- [0206] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 전장 중쇄는 폴리펩티드의 카르복시 말단 상에 링커 및 HA 또는 헤마글루티닌-태그를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 중쇄 링커 및 HA 태그는 서열 번호 62에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 중쇄 링커 및 HA 태그는 서열 번호 61에 제시된 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩된다.
- [0207] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 scFv는 폴리펩티드의 카르복시 말단 상에 IgG 단편 및 6x HIS 또는 히스티딘 - 헤마글루티닌 태그를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, scFv IgG 단편 - 6x HIS - 헤마글루티닌 태그는 서열 번호 64에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, scFv IgG 단편 - 6x HIS - 헤마글루티닌 태그는 서열 번호 63에 제시된 핵산 서열에 의해 코딩된다.

표 1

본 개시내용에 사용된 서열

서열 번호	명칭	유형	서열
1	P3C6 HCDR1	단백질	GFTEFSKYG
2	P3C6 HCDR2	단백질	IAANGGTY
3	P3C6 HCDR3	단백질	RWGGAPFDY
4	P3C6 LCDR1	단백질	QSVSSY
5	P3C6 LCDR2	단백질	GTS

[0208]

6	P3C6 LCDR3	단백질	QQGLQYPIT
7	P3C6mut3.1 VH	단백질	EVQLVQSGGDVVKPGGSLRLSCMASGFTFSKYGMSWVRQSPGKG LQWVADIAANGGTYTDAVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARWGGAPFDYWGQGLVTVSS
8	P3C6mut3.1 VH	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGGAGACGTGGTGAAGCCTGG AGGAAGCCTGAGGCTGAGCTGCATGGCAAGCGGATTCACCTTCA GCAAGTACGGAATGAGCTGGGTGAGGCAGAGCCCCGGCAAGGGC CTGCAGTGGGTGGCCGACATCGCCGCCAACGGCGGCACCTACTA CACCGACGCGCTGAAGGGCAGGTTACCATCAGCAGGGACAACG CCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTGGGGCGGCGCCCCCTT CGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGAGCAGC
9	P3C6mut3.2 VH	단백질	EVQLVQSGGDVVKPGGSLRLSCVASGFTFSKYGMSWVRQSPGKG LQWVADIAANGGTYTDAVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARWGGAPFDYWGQGLVTVSS
10	P3C6mut3.2 VH	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGGCGACGTGGTGAAGCCCGG CGGCAGCCTGAGGCTGAGCTGCGTGGCCAGCGGCTTCACCTTCA GCAAGTACGGCATGAGCTGGGTGAGGCAGAGCCCCGGCAAGGGC CTGCAGTGGGTGGCCGACATCGCCGCCAACGGCGGCACCTACTA CACCGACGCGCTGAAGGGCAGGTTACCATCAGCAGGGACAACG CCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTGGGGCGGCGCCCCCTT CGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACTGTGAGCAGC
11	P3C6 VL	단백질	EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP KLLIYGTSNRATGVPSRFSGSGSGTDFSTISSLEPEDVAVYYC QQGLQYPITFGKGTHLEIK
12	P3C6 VL	DNA	GAAATCGTGATGACCCAGTCTCCAGCCTCCCTCTCCTTGTCTCA GGAGGAAAAAGTCACCATCACCTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTA GCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAAAACCTGGGCAGGCTCCC AAGCTCCTCATCTATGGTACATCCAACAGGGCCACTGGTGTCCC ATCCCGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGCTTCA CCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATGTTGCAGTTTATTACTGC CAGCAAGGTCTACAGTATCCGATCACCTTTGGCAAAGGGACACA TCTGGAGATTAAA
13	P3C6 scFv	단백질	EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP KLLIYGTSNRATGVPSRFSGSGSGTDFSTISSLEPEDVAVYYC QQGLQYPITFGKGTHLEIKGSSSRSSSSGGGGSGGGGEVQLVQS GGDLVKPGGSLRLSCMASGFTFSKYGMSWVRQSPGKGLQWVADI AANGGTYTDAVKGRFTISRDNAKNALYLQMDLRAEDTAVYYC ARWGGAPFDYWGQGLVTVSS
14	P3C6 scFv	DNA	GAAATCGTGATGACCCAGTCTCCAGCCTCCCTCTCCTTGTCTCA GGAGGAAAAAGTCACCATCACCTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTA GCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAAAACCTGGGCAGGCTCCC AAGCTCCTCATCTATGGTACATCCAACAGGGCCACTGGTGTCCC ATCCCGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGCTTCA CCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATGTTGCAGTTTATTACTGC CAGCAAGGTCTACAGTATCCGATCACCTTTGGCAAAGGGACACA TCTGGAGATTAAAGGTGGTTCCTCTAGATCTTCTCCTCTGGTG GCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGGAGGTCCAGCTGGTGCAGTCT GGGGGAGACCTGGTGAAGCCTGGGGGGTCTTGAGACTGTCTGT TATGGCCTCTGGATTACCTTCAGTAAATATGGCATGAGCTGGG

[0209]

			TCCGTCAGTCTCCAGGGAAGGGGCTGCAGTGGGTCGAGATATT GCCGCTAATGGAGGCACATACTACACGGACGCTGTGAAGGGCCG ATTCAACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACGCGCTATATCTGC AGATGGACGATCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTCTATTATTGT GCGAGGTGGGGGGGGCCCCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAAC CCTGGTCACCGTCTCCTCA
15	P3C6mut3.1 scFv	단백질	EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP KLLIYGTSNRATGVPSRFSGSGSGTDFSFYISSLEPEDVAVYYC QQGLQYPIITFGKGTGLEIKGSSSRSSSSGGGSGGGGEVQLVQS GGDVVKPGGSLRLSCMASGFTFSKYGMSWVRQSPGKGLQWVADI AANGTTYTDAVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARWGGAPFDYWGGTLVTVSS
16	P3C6 mut3.1 scFv	DNA	GAAATCGTGATGACCCAGTCTCCAGCCTCCCTCTCCTTGTCTCA GGAGGAAAAAGTCACCATCACCTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTA GCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAAAAACCTGGGCAGGCTCCC AAGCTCCTCATCTATGGTACATCCAACAGGGCCACTGGTGTCCC ATCCCGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGCTTCA CCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATGTTGCAGTTTATTACTGC CAGCAAGGTCTACAGTATCCGATCACCTTTGGCAAAGGGACACA TCTGGAGATTAAAGGTGGTTCCTCTAGATCTTCTCCTCTGGTG GCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGGAGGTGCAGCTGGTGCAGAGC GGAGGAGACGTGGTGAAGCCTGGAGGAAGCCTGAGGCTGAGCTG CATGGCAAGCGGATTCACCTTCAGCAAGTACGGAATGAGCTGGG TGAGGCAGAGCCCCGGCAAGGGCCTGCAGTGGGTGGCCGACATC GCCGCCAACGGCGGCACCTACTACACCGACGCCGTGAAGGGCAG GTTTACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACACCCCTGTACCTGC AGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGC GCCAGGTGGGGCGGCGCCCCCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCAC CCTGGTGACCGTGAGCAGC
17	P3C6mut3.2 scFv	단백질	EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP KLLIYGTSNRATGVPSRFSGSGSGTDFSFYISSLEPEDVAVYYC QQGLQYPIITFGKGTGLEIKGSSSRSSSSGGGSGGGGEVQLVQS GGDVVKPGGSLRLSCVASGFTFSKYGMSWVRQSPGKGLQWVADI AANGTTYTDAVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARWGGAPFDYWGGTLVTVSS
18	P3C6mut3.2 scFv	DNA	GAAATCGTGATGACCCAGTCTCCAGCCTCCCTCTCCTTGTCTCA GGAGGAAAAAGTCACCATCACCTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTA GCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAAAAACCTGGGCAGGCTCCC AAGCTCCTCATCTATGGTACATCCAACAGGGCCACTGGTGTCCC ATCCCGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGCTTCA CCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATGTTGCAGTTTATTACTGC CAGCAAGGTCTACAGTATCCGATCACCTTTGGCAAAGGGACACA TCTGGAGATTAAAGGTGGTTCCTCTAGATCTTCTCCTCTGGTG GCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGGAGGTGCAGCTGGTGCAGAGC GGCGGCGACGTGGTGAAGCCCGGCGGCAGCCTGAGGCTGAGCTG CGTGGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAAGTACGGCATGAGCTGGG TGAGGCAGAGCCCCGGCAAGGGCCTGCAGTGGGTGGCCGACATC GCCGCCAACGGCGGCACCTACTACACCGACGCCGTGAAGGGCAG GTTTACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACACCCCTGTACCTGC AGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGC GCCAGGTGGGGCGGCGCCCCCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCAC

[0210]

			CCTGGTGACTGTGAGCAGC
19	P3C6mut3.1 중쇄 전장 IgG4	단백질	EVQLVQSGGDVVKPGGSLRLSCMASGFTFSKYGMSWVRQSPGKG LQWVADIAANGGTYITDAVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARWGGAPFDYWGGTLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCG STSGSTVALACLVSgyFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSS GLYSLSSMVTVPSSRPSETFTCNVHPASNTKVDKVPKESTC KCISPCVPESLGGPSVFIFFPKPKDILRITRTPETCVVLDLG REDPEVQISWFVDGKEVHTAKTQPREQQFNSTYRVVSVLP IEHQ DWLTGKEFKCRVNHIGLPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSP KELSSSDTVTLTCLIKDFPPEIDVEWQSNQPEPESKYHTTAP QLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHEALQNHYTDL LSHSPGK
20	P3C6mut3.1 중쇄 전장 IgG4	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGGAGACGTGGTGAAGCCTGG AGGAAGCCTGAGGCTGAGCTGCATGGCAAGCGGATTCACCTTCA GCAAGTACGGAATGAGCTGGGTGAGGCAGAGCCCCGCAAGGGC CTGCAGTGGGTGGCCGACATCGCCGCCAACGGCGGCACCTACTA CACCAGCGCCGTGAAGGGCAGGTTCACCATCAGCAGGGACAACG CCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTGGGGCGGCGCCCCCTT CGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGAGCAGCGCTA GCACCACGGCCCCCTCGGTTTTCCCACTGGCCCCCAGCTGCGGG TCCACTTCCGGCTCCACGGTGGCCCTAGCCTGCCTGGTGTGTCAGG CTACTTCCCCGAGCCTGTAAGTGTGTCTGGAAGTCCGGCTCCT TGACCAGCGGTGTGCACACCTTCCCGTCCGTCTGTCAGTCTCTCA GGGCTCTACTCCCTCAGCAGCATGGTGACAGTGCCCTCCAGCAG GTGGCCGAGCGAGACCTTCACCTGCAACGTGGTCCACCGGCCA GCAACACTAAAGTAGACAAGCCAGTGCCCAAAGAGTCCACCTGC AAGTGTATATCCCCATGCCAGTCCCTGAATCACTGGGAGGGCC TTCGGTCTTCATCTTTCCCCGAAACCAAGGACATCCTCAGGA TTACCCGAACACCCGAGATCACCTGTGTGGTGTAGATCTGGGC CGTGAGGACCTGAGGTGCAGATCAGCTGGTTCGTGGATGGTAA GGAGGTGCACACAGCCAAGACGCGAGCCTCGTGAGCAGCAGTTCA ACAGCACCTACCGTGTGGTCAGCGTCCCTCCCCATTGAGCACCA GACTGGCTCACCGGAAAGGAGTCAAGTGCAGAGTCAACCACAT AGGCCTCCCGTCCCCCATCGAGAGGACCATCTCCAAAGCCAGAG GGCAAGCCCATCAGCCAGTGTGTATGTCTGCCACCATCCCCA AAGGAGTTGTATCCAGTGACACGGTCAACCTGACCTGCCTGAT CAAAGACTTCTTCCACCTGAGATTGATGTGGAGTGGCAGAGCA ATGGACAGCCAGAGCCTGAGAGCAAGTACCACACGACTGCACCC CAGCTGGACGAGGACGGGTCTACTTCTGTACAGCAAGCTCTC TGTGGACAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGAGACCCCTTCACATGTG CGGTGATGCATGAAGCTCTACAGAACCCTACACAGATCTATCC CTCTCCCATTCTCCGGGTAAA
21	P3C6mut3.2 중쇄 전장 IgG4	단백질	EVQLVQSGGDVVKPGGSLRLSCVASGFTFSKYGMSWVRQSPGKG LQWVADIAANGGTYITDAVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARWGGAPFDYWGGTLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCG STSGSTVALACLVSgyFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSS GLYSLSSMVTVPSSRPSETFTCNVHPASNTKVDKVPKESTC KCISPCVPESLGGPSVFIFFPKPKDILRITRTPETCVVLDLG REDPEVQISWFVDGKEVHTAKTQPREQQFNSTYRVVSVLP IEHQ DWLTGKEFKCRVNHIGLPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSP

[0211]

			KELSSSDTVTLTCLIKDFPPEIDVEWQSNQPEPESKYHTTAP QLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHEALQNHYTDL LSHSPGK
22	P3C6mut3.2 중쇄 전장 IgG4	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGGCGACGTGGTGAAGCCCCG CGGCAGCCTGAGGCTGAGCTGCGTGGCCAGCGGCTTACCTTCA GCAAGTACGGCATGAGCTGGGTGAGGCAGAGCCCCGCAAGGGC CTGCAGTGGGTGGCCGACATCGCCGCCAACGGCGGCACCTACTA CACCGACGCCGTGAAGGGCAGGTTACCATCAGCAGGGACAACG CCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTGGGGCGGCGCCCCCTT CGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACTGTGAGCAGCGCTA GCACCAGGCCCCCTCGGTTTTCCCACTGGCCCCCAGCTGCGGG TCCACTTCCGGCTCCACGGTGGCCCTAGCCTGCCTGGTGTCAGG CTACTTCCCCGAGCCTGTAAGTGTGTCTGGAACCTCCGGCTCCT TGACCAGCGGTGTGCACACCTTCCCGTCCGTCTGAGTCTCA GGGCTCTACTCCCTCAGCAGCATGGTGACAGTGCCCTCCAGCAG GTGGCCAGCGAGACCTTACCTGCAACGTGGTCCACCCGGCCA GCAACACTAAAGTAGACAAGCCAGTGCCCAAAGAGTCCACCTGC AAGTGTATATCCCCATGCCAGTCCCTGAATCACTGGGAGGGCC TTCGGTCTTCATCTTCCCCCGAAACCAAGGACATCCTCAGGA TTACCCGAACACCCGAGATCACCTGTGTGGTGTAGATCTGGGC CGTGAGGACCCCTGAGGTGCAGATCAGCTGGTTTCGTGGATGGTAA GGAGGTGCACACAGCCAAGACGCAGCCTCGTGAGCAGCAGTTCA ACAGCACCTACCGTGTGGTCAGCGTCTCCCCATTGAGCACACAG GACTGGCTCACCGGAAAGGAGTTCAAGTGACAGAGTCAACCACAT AGGCCTCCCGTCCCCCATCGAGAGGACCATCTCCAAAGCCAGAG GGCAAGCCCATCAGCCAGTGTGTATGTCTGCCACCATCCCCA AAGGAGTTGTATCCAGTGACACGGTCACCCTGACCTGCCTGAT CAAAGACTTCTTCCACCTGAGATTGATGTGGAGTGGCAGAGCA ATGGACAGCCAGAGCCTGAGAGCAAGTACCACACGACTGCACCC CAGCTGGACGAGGACGGTCTTCTTCTGTACAGCAAGCTCTC TGTGGACAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGAGACCCCTTACATGTG CGGTGATGCATGAAGCTCTACAGAACCACTACACAGATCTATCC CTCTCCATTCTCCGGGTAAA
23	P3C6 중쇄 전장 IgG4	단백질	EVQLVQSGGDLVKPGGSLRLSCMASGFTFSKYGMSWVRQSPGKG LQWVADIAANGGTYTDAVKGRFTISRDNALNLYLQMDDLRAE DTAVYYCARWGGAPFDYWQGTLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCG STSGSTVALACLVSIFYPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSS GLYSLSMVTVPSRPSETFTCNVHPASNTKVDKPVPEKSTC KCISPCVPESLGGPSVFIFFPKPKDILRITRTPETCVVLDLG REDPEVQISWFVDGKEVHTAKTPREQQFNSTYRVVSVLPVIEHQ DWLTGKEFKCRVNHIGLPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSP KELSSSDTVTLTCLIKDFPPEIDVEWQSNQPEPESKYHTTAP QLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHEALQNHYTDL LSHSPGK
24	P3C6 중쇄 전장 IgG4	DNA	GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGACCTGGTGAAGCCTGG GGGGTCTTGAGACTGTCTGTATGGCCTCTGGATTACCTTCA GTAAATATGGCATGAGCTGGGTCCGTCACTCTCCAGGGAAGGGG CTGCAGTGGGTGCGAGATATTGCCGCTAATGGAGGCACATACTA CACGGACGCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACG CCAAGAACGCGCTATATCTGCAGATGGACGATCTGAGAGCCGAG

[0212]

			GACACGGCTGTCTATTATTGTGCGAGGTGGGGGGGGCCCCCTT TGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTA GCACCACGGCCCCCTCGGTTTTCCCACTGGCCCCCAGCTGCGGG TCCACTTCCGGCTCCACGGTGGCCCTAGCCTGCCTGGTGTCAGG CTACTTCCCCGAGCCTGTAAGTGTGTCTGGAAGTCCGGCTCCT TGACCAGCGGTGTGCACACCTTCCCGTCCGTCTGCAGTCTCTCA GGGCTCTACTCCCTCAGCAGCATGGTGACAGTGCCTCCAGCAG GTGGCCCAGCGAGACCTTCACTGCAACGTGGTCCACCCGGCCA GCAACACTAAAGTAGACAAGCCAGTGCCCAAAGAGTCCACCTGC AAGTGTATATCCCCATGCCAGTCCCTGAATCACTGGGAGGGCC TTCGGTCTTCATCTTTCCCCGAAACCAAGGACATCCTCAGGA TTACCCGAACACCCGAGATCACCTGTGTGGTGTAGATCTGGGC CGTGAGGACCCTGAGGTGCAGATCAGCTGGTTCGTGGATGGTAA GGAGGTGCACACAGCCAAGACGCGAGCCTCGTGAGCAGCAGTTCA ACAGCACCTACCGTGTGGTCAGCGTCTCCCCATTGAGCACCAG GACTGGCTCACCGGAAAGGAGTTCAAGTGCAGAGTCAACCACAT AGGCCTCCCGTCCCCCATCGAGAGGACCATCTCCAAGCCAGAG GGCAAGCCCATCAGCCCAGTGTGTATGTCTGCCACCATCCCCA AAGGAGTTGTATCCAGTGACACGGTCACCTGACCTGCCTGAT CAAAGACTTCTTCCACCTGAGATTGATGTGGAGTGGCAGAGCA ATGGACAGCCAGAGCCTGAGAGCAAGTACCACACGACTGCACCC CAGCTGGACGAGGACGGGTCTTCTTCTGTACAGCAAGCTCTC TGTGGACAAGAGCCGCTGGCAGCAGGAGACCCCTTCACATGTG CGGTGATGCATGAAGCTCTACAGAACCCTACACAGATCTATCC CTCTCCCATCTCCGGGTAAA
25	P3C6 경쇄 전장	단백질	EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP KLLIYGTSNRATGVPSRFSGSGSGTDFSFYISSLEPEDVAVYYC QQGLQYPITFGKGTGLEIKRTDAQPAVYLFQPSDQLHTGSASV VCLLNSFYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSS TLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKSFRSECQRVD
26	P3C6 경쇄 전장	DNA	GAAATCGTGATGACCCAGTCTCCAGCCTCCCTCTCCTTGTCTCA GGAGGAAAAAGTCACCATCACCTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTA GCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAAAAACCTGGGCAGGCTCCC AAGCTCCTCATCTATGGTACATCCAACAGGGCCACTGGTGTCCC ATCCCGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGCTTCA CCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATGTTGCAGTTTATTACTGC CAGCAAGGTCTACAGTATCCGATCACCTTTGGCAAAGGGACACA TCTGGAGATTAAACGTACGGATGCCAGCCAGCCGTCTATTTGT TCCAACCATCTCCAGACCAGTTACACACAGGAAGTGCCTCTGTT GTGTGTTTGCTGAATAGCTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAA GTGGAAAGTGGATGGTGTTCATCCAAGACACAGGCATCCAGGAAA GTGTCACAGAGCAGGACAAGGACAGTACCTACAGCCTCAGCAGC ACCTTGACGATGTCCAGTACTGAGTACCTAAGTCATGAGTTGTA CTCCTGTGAGATCACTCACAAGAGCCTGCCCTCCACCCCTCATCA AGAGCTTCCAAAGGAGCGAGTGTCTAGAGAGTGGAC
27	P4B1 HCDR1	단백질	GFTFNTYG
28	P4B1 HCDR2	단백질	IANSGSTY
29	P4B1 HCDR3	단백질	SGIWGDWFYY
30	P4B1 LCDR1	단백질	SLTKYY
31	P4B1 LCDR2	단백질	KDT
32	P4B1 LCDR3	단백질	ESAVSADAVV

[0213]

33	P4B1 VH	단백질	EVQLVQSGGDVVKPGGSLRLSCVASGFTFNTYGMNWVRQSPGKG LQWVAAIANSGSTYYADAVRGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DAAIYYCASGIWGDWFYYWGQGLTVTVSS
34	P4B1 VH	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGACGTGGTGAAGCCTGG GGGGTCCTTGAGACTGTCCTGTGTGGCCTCTGGATTCACCTTTA ATACCTATGGCATGAACTGGGTCCGTCACTCTCTGGGAAGGGG CTGCAGTGGGTCGCGGCTATTGCCAATAGTGAAGCACATATTA CGCAGACGCTGTGAGGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAACG CCAAGAACACACTTTATCTTCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GATGCGGCCATATATTACTGTGCGAGTGGTATTTGGGGTGAAGT GTTCTACTACTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACTGTGTCTCTCA
35	P4B1 VL	단백질	SSVLTQPPSVSVSLGQTATISCSGESLTKYYAQWFQQKPGQAPM LVIYKDERPSGIPDRFSGSSSGNTHLTISGARAEDADYYCE SAVSADAVVFVGGGTHLTVL
36	P4B1 VL	DNA	TCCAGTGTGCTGACTCAGCCTCCCTCGGTATCAGTGTCTCTGGG ACAGACAGCAACCATCTCCTGCTCTGGAGAGAGTCTGACTAAAT ATTATGCACAATGGTTCAGCAGAAGCCAGGCCAAGCCCCTATG TTGGTCATATATAAGGACACTGAGCGGCCCTCTGGGATCCCTGA CCGATTCTCTGGCTCCAGTTCAGGAAACACACACACCCTGACCA TCAGCGGGGCTCGGGCCGAGGACGAGGCCGACTATTACTGCGAG TCAGCGGTCACTGCTGATGCTGTTGTGTTTCGGCGGGGGCACCCA TCTGACCGTCTCTC
37	P4B1 scFv	단백질	SSVLTQPPSVSVSLGQTATISCSGESLTKYYAQWFQQKPGQAPM LVIYKDERPSGIPDRFSGSSSGNTHLTISGARAEDADYYCE SAVSADAVVFVGGGTHLTVLGGGSSRSSSSSGGGGSGGGGEVQLVQ SGGDVVKPGGSLRLSCVASGFTFNTYGMNWVRQSPGKGLQWVAA IANSGSTYYADAVRGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDAAIYY CASGIWGDWFYYWGQGLTVTVSS
38	P4B1 scFv	DNA	TCCAGTGTGCTGACTCAGCCTCCCTCGGTATCAGTGTCTCTGGG ACAGACAGCAACCATCTCCTGCTCTGGAGAGAGTCTGACTAAAT ATTATGCACAATGGTTCAGCAGAAGCCAGGCCAAGCCCCTATG TTGGTCATATATAAGGACACTGAGCGGCCCTCTGGGATCCCTGA CCGATTCTCTGGCTCCAGTTCAGGAAACACACACACCCTGACCA TCAGCGGGGCTCGGGCCGAGGACGAGGCCGACTATTACTGCGAG TCAGCGGTCACTGCTGATGCTGTTGTGTTTCGGCGGGGGCACCCA TCTGACCGTCTCCTCGGTGGTGGTTCCTCTAGATCTCCTCCTCTG GTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGGAGGTGCAGCTGGTGCAG TCTGGGGGAGACGTGGTGAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTGTC CTGTGTGGCCTCTGGATTACCTTTAATACCTATGGCATGAACT GGGTCCGTCACTCTCCTGGGAAGGGGCTGCAGTGGGTGCGGGCT ATTGCCAATAGTGAAGCACATATTACGCAGACGCTGTGAGGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACACTTTATC TTCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGATGCGGCCATATATTAC TGTGCGAGTGGTATTTGGGGTGAAGTGTCTACTACTGGGGCCA AGGGACCCTGGTCACTGTGTCTCTCA
39	P4B1 중쇄 전장 IgG4	단백질	EVQLVQSGGDVVKPGGSLRLSCVASGFTFNTYGMNWVRQSPGKG LQWVAAIANSGSTYYADAVRGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DAAIYYCASGIWGDWFYYWGQGLTVTVSSASTTAPSVFPLAPSC GSTSGSTVALACLVSIFYPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQS SGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVHPASNTKVDKVPKEST CKCISPCFVPESLGGPSVFIFFPKPKDILRITRTPFITCVVLDL

[0214]

			GREDPEVQISWFVDGKEVHTAKTQPREQQFNSTYRVVSVLPIEH QDWLTGKEFKCRVNHIGLPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLP PKELSSSDTVTLTCLIKDFPPEIDVEWQSNQPEPESKYHTTA PQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHEALQNHYTDL SLSHSPGK
40	P4B1 중쇄 전장 IgG4	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGACGTGGTGAAGCCTGG GGGGTCCTTGAGACTGTCCTGTGTGGCCTCTGGATTACCTTTA ATACCTATGGCATGAACTGGGTCCGTCACTCTCTGGGAAGGGG CTGCAGTGGGTCGCGGCTATTGCCAATAGTGGAAGCACATATTA CGCAGACGCTGTGAGGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAACG CCAAGAACACACTTTATCTTCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GATGCGGCCATATATTACTGTGCGAGTGGTATTTGGGGTGA GTCTACTACTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACTGTGTCTCAG CTAGCACCACGGCCCCCTCGGTTTCCCACTGGCCCCAGCTGC GGGTCCACTTCCGGCTCCACGGTGGCCCTAGCCTGCCTGGTGT AGGCTACTTCCCCGAGCCTGTAAGTGTGTCTGGAACTCCGGCT CCTTGACCAGCGGTGTGCACACCTTCCCGTCCGTCTGCAGTCC TCAGGGCTCTACTCCCTCAGCAGCATGGTGACAGTGCCCTCCAG CAGGTGGCCCAGCGAGACCTTCACCTGCAACGTGGTCCACCCGG CCAGCAACACTAAAGTAGACAAGCCAGTGCCCAAAGAGTCCACC TGCAAGTGATATATCCCATGCCCAGTCCCTGAATCACTGGGAGG GCCTTCGGTCTTCACTTTCCCCGAAACCAAGGACATCCTCA GGATTACCCGAACACCCGAGATCACCTGTGTGGTGTAGATCTG GGCCGTGAGGACCTGAGGTGCAGATCAGCTGGTTCGTGGATGG TAAGGAGGTGCACACAGCCAAGACGCAGCCTCGTGAGCAGCAGT TCAACAGCACCTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCCCCATTGAGCAC CAGGACTGGCTCACCGAAAGGAGTCAAGTGCAGAGTCAACCA CATAGGCCTCCCGTCCCCCATCGAGAGGACCATCTCCAAAGCCA GAGGGCAAGCCCATCAGCCAGTGTGTATGTCTGCCACCATCC CCAAAGGAGTTGTCTATCCAGTGACACGGTCACCTGACCTGCCT GATCAAAGACTTCTTCCCACCTGAGATTGATGTGGAGTGGCAGA GCAATGGACAGCCAGAGCCTGAGAGCAAGTACCACACGACTGCA CCCCAGCTGGACGAGGACGGGTCTACTTCTGTACAGCAAGCT CTCTGTGGACAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGAGACCCCTTCACAT GTGCGGTGATGCATGAAGCTCTACAGAACCCTACACAGATCTA TCCCTCTCCCATTTCTCCGGGTAAA
41	P4B1 경쇄 전장	단백질	SSVLTQPPSVSVSLGQTATISCSGESLTKYYAQWFQQKPGQAPM LVIIYKDERPSGIPDRFSGSSSGNTHLTISGARAEDADYYCE SAVSADAVVFVGGGTHLTVLGQPKASPSVTLFPPSSEELGANKAT LVCLISDFYPSGVTVAWKADGSPITQGVETTKPSKQSNNKYAAS SYLSLTPDKWKSHSSFSLVTHEGSTVEKKVAPAECS
42	P4B1 경쇄 전장	DNA	TCCAGTGTGCTGACTCAGCCTCCCTCGGTATCAGTGTCTCTGGG ACAGACAGCAACCATCTCCTGCTCTGGAGAGAGTCTGACTAAAT ATTATGCACAATGGTTCCAGCAGAAGCCAGGCCAAGCCCCTATG TTGGTCATATATAAGGACACTGAGCGGCCCTCTGGGATCCCTGA CCGATTCTCTGGCTCCAGTTCAGGAAACACACACCCCTGACCA TCAGCGGGGCTCGGGCCGAGGACGAGGCCGACTATTACTGCGAG TCAGCGGTGCTGCTGATGCTGTTGTGTTCGGCGGGGGCACCCA TCTGACCGTCCCTCGGTGAGCCCAAGGCCTCCCCCTCGGTACAC TCTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTCGGCGCCCAACAAGGCCACC CTGGTGTGCCTCATCAGCGACTTCTACCCAGCGCGGTGACGGT

[0215]

			GGCCTGGAAGGCAGACGGCAGCCCCATCACCCAGGGCGTGGAGACCACCAAGCCCTCCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCTGACAAGTGAAATCTCACAGCAGCTTCAGCTGCCTGGTCACGCACGAGGGGAGCACCGTGGAGAAGAAGGTGGCCCCCGCAGAGTGCTCT
43	A6 HCDR1	단백질	GTFSSYD
44	A6 HCDR2	단백질	ITTSGGST
45	A6 HCDR3	단백질	AVGALGD
46	A6 LCDR1	단백질	ASNIGLIG
47	A6 LCDR2	단백질	SDG
48	A6 LCDR3	단백질	QSIDSSLGDHFV
49	A6 VH	단백질	EVQLVESGGDLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYDMNWVRQSPGKGLQWVAAITTSGGSTYYTDAVKGRFTISRDNANTLYLQMNNLRAEDTAVYYCAVGALGDWGQGLVTVSS
50	A6 VH	DNA	GAGGTACAGCTGGTGAATCTGGGGGAGACTTGGTGAAGCCTGGGGGTCCTTGAGACTGTCTGTGTGGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGACATGAACCTGGGTCCGTCACTCTCCAGGGAAGGGCTGCAGTGGGTGCGAGCTATTACCACTAGTGGAGGTAGTACATCTACACAGACGCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACAACACTATATCTGCAGATGAACAACCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTATTTGTGCAGTAGGGGCTCTTGGTGACTGGGGCCAGGGCACCTGGTCACTGTCTCCTCA
51	A6 VL	단백질	QPVLTQPPSVSGALGQKVTISCSGSASNIGLIGAGWYQQVPGKAPKLLVYSDGNRPPQIPARFSGSNSGNSATLTIAGLQAEDEADYYCQSIDSSLGDHFVFGGGTHLTVL
52	A6 VL	DNA	CAGCCTGTGCTCACTCAGCCGCCCTCAGTGTGCGGGGCCCTTGGCCAGAAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCGCGAGCAACATCGTCTTATTGGTGCAGGCTGGTACCAACAAGTCCCAGGAAAGGCCCTAAACTCCTCGTGTACAGTGATGGGAATCGACCGCCACAAATCCCTGCCCCGTTCTCCGGCTCCAACCTCTGGCAACTCAGCCACCTTGACTATCGCTGGGCTTCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACGTGCAGTCTATTGATTCCAGCCTTGGTGATCATTTTGTGTTTCGGCGGAGGCACCCATCTGACCGTCTC
53	A6 scFv	단백질	QPVLTQPPSVSGALGQKVTISCSGSASNIGLIGAGWYQQVPGKAPKLLVYSDGNRPPQIPARFSGSNSGNSATLTIAGLQAEDEADYYCQSIDSSLGDHFVFGGGTHLTVLGGGSSRSSSSGGGGSGGGGEVQLVESGGDLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYDMNWVRQSPGKGLQWVAAITTSGGSTYYTDAVKGRFTISRDNANTLYLQMNNLRAEDTAVYYCAVGALGDWGQGLVTVSS
54	A6 scFv	DNA	CAGCCTGTGCTCACTCAGCCGCCCTCAGTGTGCGGGGCCCTTGGCCAGAAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCGCGAGCAACATCGTCTTATTGGTGCAGGCTGGTACCAACAAGTCCCAGGAAAGGCCCTAAACTCCTCGTGTACAGTGATGGGAATCGACCGCCACAAATCCCTGCCCCGTTCTCCGGCTCCAACCTCTGGCAACTCAGCCACCTTGACTATCGCTGGGCTTCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACGTGCAGTCTATTGATTCCAGCCTTGGTGATCATTTTGTGTTTCGGCGGAGGCACCCATCTGACCGTCTCGGTGGTGGTTCCTCTAGATCTTCTCCTCTGGCGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGGAGGTACAGCTGGTGAATCTGGGGGAGACTTGGTGAAGCCTGGGGGGTCTTGAGACTGTCTGTGTGGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGACATGAACCTGGGTCCGTCACTCTCCAGGAAGGGGCTGCAG

[0216]

			TGGGTCGCAGCTATTACCACTAGTGGAGGTAGTACATACTACAC AGACGCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCA AGAACACACTATATCTGCAGATGAACAACCTGAGAGCCGAGGAC ACGGCTGTGTATTATTGTGCAGTAGGGGCTCTTGGTGA CTGGGG CCAGGGCACCCCTGGTCACTGTCTCCTCA
55	A6 중쇄 전장 IgG4	단백질	EVQLVESGGDLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYDMNWVRQSPGKG LQWVAAITTSGGSTYYTDAVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNNLRA EDTAVYYCAVGALGDWQGTLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGST SGSTVALACLVSgyFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGL YSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVHPASNTKVDKVPVKESTCKC ISPCVPESLGGPSVFIFFPKPKDILRITRTPEITCVVLDLGRE DPEVQISWFVDGKEVHTAKTQPREQQFNSTYRVVSVLPPIEQDW LTGKEFKCRVNHIGLPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPKE LSSSDTVTLTCLIKDFFPPEIDVEWQSNQPEPEPKYHTTAPQL DEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHEALQNHYTDL SLS HSPGK
56	A6 중쇄 전장 IgG4	DNA	GAGGTACAGCTGGTGGAATCTGGGGGAGACTTGGTGAAGCCTGG GGGGTCCTTGAGACTGTCTGTGTGGCCTCTGGATTACCTTCA GTAGCTATGACATGAACTGGGTCCGTCAGTCTCCAGGGAAGGGG CTGCAGTGGGTGCGAGCTATTACCACTAGTGGAGGTAGTACATA CTACACAGACGCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACA ATGCCAAGAACACACTATATCTGCAGATGAACAACCTGAGAGCC GAGGACACGGCTGTGTATTATTGTGCAGTAGGGGCTCTTGGTGA CTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACTGTCTCCTCAGCTAGCACCA CGGCCCCCTCGGTTTTCCCACTGGCCCCCAGCTGCGGGTCCACT TCCGGCTCCACGGTGGCCCTAGCCTGCCTGGTGT CAGGCTACTT CCCCGAGCCTGTAACGTGTGTCTGGAAC TCCGGCTCCTTGACCA GCGGTGTGCACACCTTCCCGTCCGTCTCTGCAGTCTCAGGGCTC TACTCCCTCAGCAGCATGGTGACAGTGCCCTCCAGCAGGTGGCC CAGCGAGACCTTCACCTGCAACGTGGTCCACCCGCCAGCAACA CTAAAGTAGACAAGCCAGTGCCCAAAGAGTCCACCTGCAAGTGT ATATCCCATGCCAGTCCCTGAATCACTGGGAGGGCCTTCGCT CTTCATCTTTCCCCCGAAACCAAGGACATCCTCAGGATTACCC GAACACCCGAGATCACCTGTGTGGTGTTAGATCTGGGCCGTGAG GACCTGAGGTGCAGATCAGCTGGTTCGTGGATGGTAAGGAGGT GCACACAGCCAAGACGCAGCCTCGTGAGCAGCAGTTCAACAGCA CCTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCCCCATTGAGCACCAGGACTGG CTCACCGGAAAGGAGTTCAAGTGCAGAGTCAACCACATAGGCCCT CCCGTCCCCCATCGAGAGGACCATCTCAAAGCCAGAGGGCAAG CCCATCAGCCCAGTGTGTATGTCTGCCACCATCCCCAAAGGAG TTGT CATCCAGTGACACGGTCACCTGACCTGCCTGATCAAAGA CTTCTTCCCACTGAGATTGATGTGGAGTGGCAGAGCAATGGAC AGCCAGAGCCTGAGAGCAAGTACCACACGACTGCACCCAGCTG GACGAGGACGGGTCTACTTCTGTACAGCAAGCTCTCTGTGGA CAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGAGACCCCTTACATGTGCGGTGA TGCATGAAGCTCTACAGAACCACTACACAGATCTATCCCTCTCC CATTCTCCGGGTAAA
57	A6 경쇄 전장 IgG4	단백질	QPVLTPPPSVSGALGQKVTISCSGSASNIGLIGAGWYQQVPGKA PKLLVYSDGNRPPQIPARFSGSNSGNSATLTIAGLQAEDEADYY CQSIDSSLGDHFVFGGGTHLTVLGQPKASPSVTLFPSPSEELGA NKATLVCLISDFYPSGVTVAWKADGSPITQGVETTKPSKQSNK

[0217]

58	A6 경쇄 전장 IgG4	DNA	YAASSYLSLTPDKWKSHSSFSCLVTHEGSTVEKKVAPAECS CAGCCTGTGCTCACTCAGCCGCCCTCAGTGTGGGGGCCCTTGG CCAGAAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCGCGAGCAACATCG GTCTTATTGGTGC GGCTTGGTACCAACAAGTCCCAGGAAAGGCC CCTAAACTCCTCGTGTACAGTGATGGGAATCGACCGCCACAAAT CCCTGCCCGGTTCTCCGGCTCCAACTCTGGCAACTCAGCCACCC TGACTATCGCTGGGCTTCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTAC TGTCAGTCTATTGATTCAGCCTTGGTGATCATTTTGTGTTCGG CGGAGGCACCCATCTGACCGTCTAGGTGAGCCCAAGGCCTCCC CCTCGGTACACTCTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTCGGCGCC AACAAGGCCACCCCTGGTGTGCCTCATCAGCGACTTCTACCCAG CGGCGTGACGGTGGCCTGGAAGGCAGACGGCAGCCCATCACCC AGGGCGTGGAGACCACCAAGCCCTCCAAGCAGAGCAACACAAG TACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCTGACAAGTGGAA ATCTCACAGCAGCTTACGCTGCCTGGTCACGCACGAGGGGAGCA CCGTGGAGAAGAAGGTGGCCCCCGCAGAGTGCTCT
59	전장 HC/LC 에 대한 리더 서열	DNA	ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGC ACTTGTACGAATTTCG
60	전장 HC/LC 에 대한 리더 서열	단백질	MYRMQLLSICIALSLALVTNS
61	링커 및 HA 태그	DNA	GGCGGAGGCTCCGGAGGCGGATCTTACCCATACGATGTTCCAGA TTACGCT
62	링커 및 HA 태그	단백질	GGSGGGSYFYDVPDYA
63	IgG 단편 및 scFv에 대한 6x HIS 태그	DNA	GCCTCCACCACGGCCCCCTCGGTCACTAGTGGCCAGGCCGGCCA GCACCATCACCATCACCATGGCGCATACCCGTACGACGTTCCGG ACTACGCTTCT
64	IgG 단편 및 scFv에 대한 6x HIS 태그	단백질	ASTTAPSVTSGQAGQHSHHHHGAYFYDVPDYAS

PD-1 차단

일부 양태에서, 본 개시내용에 기재된 결합 폴리펩티드, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 갯과 PD-1에 결합될 수 있고, 이에 따라 그것의 천연 리간드와의 갯과 PD-1 상호작용 및 이러한 상호작용과 관련된 임의의 하류 신호전달 경로를 차단할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편은 갯과 PD-1의 천연 리간드가 인식하는 동일한 영역인 갯과 PD-1 상의 영역에 결합될 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편은 갯과 PD-1의 천연 리간드가 인식하는 상이한 영역인 갯과 PD-1 상의 영역에 결합될 수 있다. 일부 경우에, 갯과 PD-1에 대한 본원에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편의 결합은 갯과 PD-1의 천연 리간드가 인식하는 영역을 방해할 수 있다. 일부 경우에, 갯과 PD-1에 대한 본원에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편의 결합은 갯과 PD-1 및 그것의 천연 리간드, 예를 들어, 갯과 PD-L1의 상호작용을 방지할 수 있다. 일부 경우에, 갯과 PD-1에 대한 본원에 기재된 항체 또는 항원-결합 단편의 결합은 PD-L1과 같은 갯과 PD-1의 천연 리간드에 의해 활성화될 수 있는 갯과 PD-1 신호전달 경로를 억제할 수 있다.

"프로그래밍화 세포 사멸 단백질 1"로도 알려진 프로그래밍화 세포 사멸 단백질 1 (PD-1 또는 PD1), 및 CD279는 자극 및 조절 수용체 둘 모두를 포함하는 막관통 수용체의 면역글로불린 슈퍼패밀리의 구성원이다. PD-1의 세포내 도메인은 T 세포 수용체 (TCR)를 통해 T 세포 활성화에 반대하는 신호를 전달하는 면역수용체 티로신-기반 억제 모티프 (ITIM)에 위치한 2개의 인산화 부위를 함유한다. 휴지기인 미감작 CD4+ 및 CD8+ T 세포에서 발현되지 않지만, PD-1은 활성화된 T 세포의 표면 상에서 강하게 상향 조절된다. PD-1에 대한 리간드는 PD-L1 및 PD-L2이고, 이는 수용체의 B7 패밀리의 일부이고, 둘 모두 T 세포에 음성 신호를 전달한다. 두 PD-1 리간드의 발현은 구성적일 수 있거나 또는 다양한 세포 유형에서 유도될 수 있다. PD-L1은 일반적으로 지질다당류 (LPS), IFN γ 및 GM-CSF와 같은 신호에 반응하여 항원-제시 세포 예컨대 대식세포 및 수지상 세포 상에서 발현되지만, 또한 미세혈관 내피 세포를 포함하는 말초 비-림프 세포뿐만 아니라 기관 조직 예컨대 심장 및 폐에서도 발견될 수 있다. 특히, IFN γ 신호전달은 PD-L1 발현을 초래하고, 여기서 이는 염증을 제한하는 데 기여한다. PD-L2는 대개 항원-제시 세포에 의해 발현되지만, 이는 또한 GI 관, 골격근 및 체장을 포함하는 매우 다양한 조직에서 발견될 수 있다.

PD-L1 및 PD-L2는 둘 모두는 면역 인식을 회피하고 사멸시키는 메커니즘으로 여러 암에 의해 강하게 발현되어

이들에 대해 유도되는 T 세포 반응을 효과적으로 약하게 할 수 있다. 실제로, PD-1 리간드의 고발현은 종종 나쁜 예후와 보다 공격적인 질환과 상관 관계가 있다. 마찬가지로, 예로서 항-종양 세포독성 CD8+ T 세포의 존재에 의해 생성되는 종양 환경에서의 IFN γ 신호전달은 여러 유형의 종양 세포에 의해 PD-L1의 발현을 자극할 수 있다. 종양-침윤 T 세포 상의 PD-1과 종양 세포 상의 PD-L1의 종양-관련 발현은 무엇보다도 자궁경부암, 폐암, 간암, 난소암, 흑색종과 편평 세포 암종을 포함하는 피부암, 결장암, 방광암, 유방암, 신장암, 식도암, 위암, 췌장암, 두경부암을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다수의 원발암에서 확인되었다.

[0223] 만성 감염에 대한 치료 전략으로서 PD-1 신호전달 경로의 차단 및 억제가 사용되었고, 여기서 PD-1을 억제하는 것으로 T 세포 소진과 유지되는 세포독성 기능을 역전시키거나 방지할 수 있다. 만성 감염은 바이러스 감염을 포함한다. 이러한 감염은 종종 대상체의 감염의 해소 실패에 기여하는 CD8+ T 세포의 탈진, 또는 기능적 손상을 특징으로 한다. 만성 감염의 동물 모델 (예를 들어, 갯과 또는 애완 동물 개)에서의 PD-1의 차단은 T 세포 소진을 방지하고, 반응하는 T 세포의 수와 기능 둘 모두를 유지할 수 있고, 병원체 제거율 및 대상체 생존을 개선시킬 수 있다.

[0224] 본원에 개시된 완전 갯과 항-PD-1은 PD-1 신호전달 경로를 억제하고, 개에서의 항-종양 요법 및 인간 면역-종양학의 중개 연구를 위한 중요한 비교 도구로서 역할을 한다.

[0225] 핵산 및 발현 벡터

[0226] 본 개시내용은 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다. 본 개시내용의 핵산은 본원에 개시된 결합 폴리펩티드, scFv, 항체 또는 이의 임의의 단편 중 어느 하나를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0227] 본 개시내용의 하나의 양태는 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합하는 항원-결합 도메인을 포함하는 결합 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산을 포함한다.

[0228] 특정 실시양태에서, 핵산은 3개의 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 3개의 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다. HCDR1은 아미노산 서열 (서열 번호 1, 27, 또는 43)을 포함하고/하거나 HCDR2는 아미노산 서열 (서열 번호 2, 28, 또는 44)를 포함하고/하거나 HCDR3은 아미노산 서열 (서열 번호 3, 29, 또는 45)를 포함하고/하거나 LCDR1은 아미노산 서열 (서열 번호 4, 30, 또는 46)을 포함하고/하거나 LCDR2는 아미노산 서열 (서열 번호 5, 31, 또는 47)을 포함하고/하거나 LCDR3은 아미노산 서열 (서열 번호 6, 32, 또는 48)을 포함한다.

[0229] 특정 실시양태에서, 결합 폴리펩티드는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 단편은 Fab, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), 단일-도메인 항체, sc(Fv)2, dsFv, Fab, Fab', (Fab')2 및 디아바디로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 항체는 전장 항체이다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 갯과 또는 개화 항체 또는 이의 단편이다.

[0230] 특정 실시양태에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호 8, 10, 34, 또는 50에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩된다.

[0231] 특정 실시양태에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호 8, 10, 34, 또는 50에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩된다.

[0232] 특정 실시양태에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호 8, 10, 34, 또는 50에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열로 이루어진 핵산에 의해 코딩된다.

[0233] 특정 실시양태에서, 경쇄 가변 영역은 서열 번호 12, 36, 또는 52에 제시된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩된다. 특정 실시양태에서, 경쇄 가변 영역은 서열 번호 12, 36, 또는 52에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩된다. 특정 실시양태에서, 경쇄 가변 영역은 서열 번호 12, 36, 또는 52에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열로 이루어진 핵산에 의해 코딩된다.

[0234] 또한, 서열 번호 8 또는 10에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 12에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역을 포함하는 결합 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다.

[0235] 또한, 서열 번호 34에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 36에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역을 포

합하는 결합 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다.

- [0236] 또한, 서열 번호 50에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 52에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역을 포함하는 결합 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다.
- [0237] 또한, 3개의 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 3개의 경쇄 상보성 결정 영역 (LCD R)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. HCDR1은 아미노산 서열 (서열 번호 1, 27, 및 43)을 포함하고/하거나 HCDR2는 아미노산 서열 (서열 번호 2, 28, 또는 44)를 포함하고/하거나 HCDR3은 아미노산 서열 (서열 번호 3, 29, 및 45)를 포함하고/하거나 LCDR1은 아미노산 서열 (서열 번호 4, 30, 또는 46)을 포함하고/하거나 LCDR2는 아미노산 서열 (서열 번호 5, 31, 또는 47)을 포함하고/하거나 LCDR3는 아미노산 서열 (서열 번호 6, 32, 또는 48)을 포함한다.
- [0238] 또한, 서열 번호 8 또는 10에 제시된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및/또는 서열 번호 12에 제시된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결된다.
- [0239] 또한, 서열 번호 14, 16, 18, 38, 또는 54에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 또한, 서열 번호 14, 16, 18, 38, 또는 54에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열로 이루어진 단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다.
- [0240] 또한, 서열 번호 20, 22, 40, 또는 56에 제시된 중쇄 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 서열 번호 26, 42, 또는 58에 제시된 경쇄 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 전장 항체를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 또한, 서열 번호 20, 22, 40, 또는 56에 제시된 중쇄 폴리뉴클레오티드 서열 및 서열 번호 26, 42, 또는 58에 제시된 경쇄 폴리뉴클레오티드 서열로 이루어진 전장 항체를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다.
- [0241] 핵산 서열의 허용 가능한 변이는 본 기술분야의 당업자에게 알려져 있을 것이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 전장 중쇄를 코딩하는 핵산은 서열 번호 20, 22, 40, 또는 56에 제시된 뉴클레오티드 서열 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 전장 경쇄를 코딩하는 핵산은 서열 번호 26, 42, 또는 58에 제시된 뉴클레오티드 서열 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0242] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 핵산은 제1 폴리뉴클레오티드 서열 및 제2 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 제1 및 제2 폴리뉴클레오티드 서열은 링커에 의해 연결될 수 있다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, scFv의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결된다. 특정 실시양태에서, 핵산은 5'에서 3' 방향의 제1 폴리뉴클레오티드 서열, 링커, 및 제2 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 핵산은 5'에서 3' 방향의 제2 폴리뉴클레오티드 서열, 링커, 및 제1 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0243] 본 개시내용의 다른 양태는 본원에 개시된 단리된 핵산 중 어느 하나를 포함하는 벡터를 제공한다. 특정 실시양태에서, 벡터는 DNA 벡터, RNA 벡터, 플라스미드, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 및 레트로바이러스 벡터로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 벡터는 발현 벡터이다.
- [0244] 또한, 본원에 개시된 벡터 또는 핵산 중 어느 하나를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 숙주 세포는 진핵생물, 원핵생물, 포유동물, 또는 박테리아 기원의 것일 수 있다. 본원에 개시된 scFv의 항-cPD-1 항체 또는 항원-결합 단편을 발현시키기 위해 사용될 수 있는 세포의 비제한적인 예는 인간 배아 신장 (HEK) 세포주 (예를 들어, HEK293), 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포주, 새끼 햄스터 신장 (BHK) 세포주, COS 세포주, 마딘 다비(Madin Darby) 갯과 신장 (MDCK) 세포주, 및 HeLa 세포주를 포함한다. 일부 경우에, 숙주 세포는 중국 햄스터 난소 세포이다.
- [0245] 갯과 PD-1에 결합하는 항체, 결합 폴리펩티드 또는 scFv의 제조 방법이 또한 본원에 제공되며, 여기서 상기 방법은 숙주 세포를 배양시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 본원에 기재된 항-cPD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 scFv의 발현 및 분비를 가능하게 하기에 충분한 조건하에서 세포 배양 배지에서

숙주 세포를 인큐베이션시키는 것을 추가로 포함한다.

- [0246] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 핵산은 전사 제어 요소, 예를 들어, 프로모터, 및 인핸서 등에 작동 가능하게 연결될 수 있다. 적합한 프로모터 및 인핸서 요소는 본 기술분야의 당업자에게 알려져 있다.
- [0247] 특정 실시양태에서, 핵산은 프로모터와 작동 가능하게 연결된다. 특정 실시양태에서, 프로모터는 포스포글리세레이트 키나아제-1 (PGK) 프로모터이다.
- [0248] 박테리아 세포에서의 발현의 경우, 적합한 프로모터는, 비제한적으로, lacI, lacZ, T3, T7, gpt, 람다(lambda) P 및 trc를 포함한다. 진핵 세포에서의 발현의 경우, 적합한 프로모터는, 비제한적으로, 경쇄 및/또는 중쇄 면역글로불린 유전자 프로모터 및 인핸서 요소; 거대세포바이러스 즉시 초기 프로모터(cytomegalovirus immediate early promoter); 단순 헤르페스 바이러스 티미딘 키나아제 프로모터; 초기 및 후기 SV40 프로모터; 레트로바이러스로부터의 긴 말단 반복서열에 존재하는 프로모터; 마우스 메탈로티오네인-I 프로모터; 및 다양한 기술분야에 알려진 조직 특이적 프로모터를 포함한다. 가역적 유도성 프로모터를 포함하는 적합한 가역적 프로모터는 본 기술분야에 알려져 있다. 이러한 가역적 프로모터는 단리되어 여러 유기체, 예를 들어, 진핵생물 및 원핵생물로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 제1 원핵생물 및 제2 진핵생물, 제1 진핵생물 및 제2 원핵생물 등과 같은 제2 유기체에 사용하기 위한 제1 유기체로부터 유래된 가역적 프로모터의 변형은 본 기술분야에 잘 알려져 있다. 이러한 가역적 프로모터 및 이러한 가역적 프로모터에 기반하며, 또한 추가적인 제어 단백질을 포함하는 시스템은, 비제한적으로, 알코올 조절 프로모터 (예를 들어, 알코올 탈수소효소 I (alcA) 유전자 프로모터, 알코올 전사활성인자 단백질 (AlcR)에 반응성인 프로모터 등), 테트라사이클린 조절 프로모터 (예를 들어, TetActivators, TetON, TetOFF 등을 포함하는 프로모터 시스템), 스테로이드 조절 프로모터 (예를 들어, 래트 글루코코르티코이드 수용체 프로모터 시스템, 인간 에스트로겐 수용체 프로모터 시스템, 레티노이드 프로모터 시스템, 갑상선 프로모터 시스템, 엑디손 프로모터 시스템, 미페프리스톤 프로모터 시스템 등), 금속 조절 프로모터 (예를 들어, 메탈로티오네인 프로모터 시스템 등), 병원성-관련(pathogenesis-related) 조절 프로모터 (예를 들어, 살리실산 조절 프로모터, 에틸렌 조절 프로모터, 벤조티아디아졸 조절 프로모터 등), 온도 조절 프로모터 (예를 들어, 열 충격 유도성 프로모터 (예를 들어, HSP-70, HSP-90, 대두 열 충격 프로모터 등), 광 조절 프로모터, 합성 유도성 프로모터 등을 포함한다.
- [0249] 효모 세포에서의 발현의 경우, 적합한 프로모터는 구성적 프로모터 예컨대 ADHI 프로모터, PGK1 프로모터, ENO 프로모터, PYK1 프로모터 등; 또는 제어 가능한 프로모터 예컨대 GAL1 프로모터, GAL10 프로모터, ADH2 프로모터, PHOS 프로모터, CUP1 프로모터, GALT 프로모터, MET25 프로모터, MET3 프로모터, CYC1 프로모터, HIS3 프로모터, ADHI 프로모터, PGK 프로모터, GAPDH 프로모터, ADC1 프로모터, TRP1 프로모터, URA3 프로모터, LEU2 프로모터, ENO 프로모터, TP1 프로모터, 및 AOX1 (예를 들어, 피키아(Pichia)에서의 사용 용도)이다. 적절한 벡터 및 프로모터의 선택은 본 기술분야의 당업자의 수준 내에서 잘 이루어진다. 원핵생물 숙주 세포에서 사용하기 위한 적합한 프로모터는, 비제한적으로, 박테리오파지 T7 RNA 중합효소 프로모터; trp 프로모터; lac 오페론 프로모터; 하이브리드 프로모터, 예를 들어, lac/tac 하이브리드 프로모터, tac/trc 하이브리드 프로모터, trp/lac 프로모터, T7/lac 프로모터; trc 프로모터; tac 프로모터 등; araBAD 프로모터; 생체내 조절 프로모터, 예컨대 ssaG 프로모터 또는 관련 프로모터 (예를 들어, 미국 공개특허 제20040131637호), pagC 프로모터 (문헌[Pulkkinen and Miller, J. Bacteriol. (1991) 173(1): 86-93]; 문헌[Alpuche-Aranda et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1992) 89(21): 10079-83]), nirB 프로모터 (Harborne et al. Mol. Micro. (1992) 6:2805-2813) 등 (예를 들어, 문헌[Dunstan et al., Infect. Immun. (1999) 67:5133-5141]; 문헌[McKelvie et al., Vaccine (2004) 22:3243-3255]; 및 문헌[Chatfield et al., Biotechnol. (1992) 10:888-892] 참조); sigma70 프로모터, 예를 들어, 컨센서스 sigma70 프로모터 (예를 들어, GenBank 접근 번호 AX798980, AX798961, 및 AX798183); 고정상 프로모터, 예를 들어, dps 프로모터, spv 프로모터 등; 병원성 섬(pathogenicity island) SPI-2로부터 유래된 프로모터 (예를 들어, W096/17951 참조); actA 프로모터 (예를 들어, 문헌[Shetron-Rama et al., Infect. Immun. (2002) 70:1087-1096] 참조); rpsM 프로모터 (예를 들어, 문헌[Valdivia and Falkow Mol. Microbiol. (1996). 22:367] 참조), tet 프로모터 (예를 들어, 문헌[Hillen, W. and Wissmann, A. (1989) In Saenger, W. and Heinemann, U. (eds), Topics in Molecular and Structural Biology, Protein--Nucleic Acid Interaction. Macmillan, London, UK, Vol. 10, pp. 143-162] 참조); SP6 프로모터 (예를 들어, 문헌[Melton et al., Nucl. Acids Res. (1984) 12:7035] 참조) 등을 포함한다. 에스케리키아 콜리(Escherichia coli)와 같은 원핵생물에서 사용하기 위한 적합한 강한 프로모터는, 비제한적으로, Trc, Tac, T5, T7, 및 PLambda를 포함한다. 박테리아 숙주 세포에 사용하기 위한 오퍼레이터의 비제한적인 예는 락토오스 프로모터 오퍼레이터 (LacI 억제 단백질은 락토오스와 접촉될 때 형태를 변화시키고 이에 의해 Lad 억제 단백질이 오퍼레이

터와 결합하는 것을 방지함), 트립토판 프로모터 오퍼레이터 (트립토판과 복합체화되는 경우, TrpR 억제 단백질은 오퍼레이터와 결합하는 형태를 가지고; 트립토판의 부재시, TrpR 억제 단백질은 오퍼레이터와 결합하지 않는 형태를 가짐), 및 tac 프로모터 오퍼레이터 (예를 들어, 문헌[deBoer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1983) 80:21-25] 참조)를 포함한다.

[0250] 적합한 프로모터의 다른 예는 즉시 초기 거대세포바이러스 (CMV) 프로모터 서열을 포함한다. 이 프로모터 서열은 이에 작동 가능하게 연결된 임의의 폴리뉴클레오티드 서열의 높은 수준의 발현을 유도할 수 있는 강한 구성적 프로모터 서열이다. 시미안 바이러스(simian virus) 40 (SV40) 초기 프로모터, 마우스 유방 종양 바이러스(MMTV) 또는 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 긴 말단 반복서열 (LTR) 프로모터, MoMuLV 프로모터, 조류 백혈병 바이러스 프로모터, 엡스테인-바(Epstein-Barr) 바이러스 즉시 초기 프로모터, 라우스(Rous) 육종 바이러스 프로모터, EF-1 알파 프로모터뿐만 아니라 인간 유전자 프로모터, 예컨대, 제한 없이, 액틴 프로모터, 미오신 프로모터, 헤모글로빈 프로모터 및 크레아틴 키나아제 프로모터를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다른 구성적 프로모터 서열이 사용될 수 있다. 추가로, 본 개시내용은 구성적 프로모터의 사용으로 제한되지 않아야 한다. 유도성 프로모터가 또한 본 개시내용의 일부로서 고려된다. 유도성 프로모터의 사용으로 이러한 발현이 요망될 때 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드 서열의 이러한 발현을 켜거나 또는 발현이 요망되지 않을 때 발현을 끌 수 있는 분자 스위치를 제공한다. 유도성 프로모터의 예는, 메탈로티오닌 프로모터, 글루코코르티코이드 프로모터, 프로게스테론 프로모터, 및 테트라사이클린 프로모터를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0251] 일부 실시양태에서, 적절한 프로모터를 포함하는 유전자 좌위 또는 작제물 또는 전이유전자(transgene)는 유도성 시스템의 유도를 통해 비가역적으로 전환된다. 비가역적 전환의 유도를 위한 적합한 시스템은 본 기술분야에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 비가역적 전환의 유도는 예를 들어, Cre-lox-매개 재조합을 사용할 수 있다 (예를 들어, 문헌[Fuhrmann-Benzakein, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2000) 28:e99]을 참조하며, 이의 개시내용은 본원에 참조로 편입된다). 본 기술분야에 알려진 재조합효소, 엔도뉴클레아제, 리가아제, 재조합 부위 등의 임의의 적합한 조합은 비가역적으로 전환 가능한 프로모터를 생성하는 데 사용될 수 있다. 본원에서 임의의 곳에 기재된 위치 특이적 재조합을 수행하기 위한 방법, 메커니즘, 및 요건은 비가역적으로 전환되는 프로모터를 생성하는 데 사용되며, 본 기술분야에 잘 알려져 있으며, 예를 들어, 문헌[Grindley et al. Annual Review of Biochemistry (2006) 567-605]; 및 문헌[Tropp, Molecular Biology (2012) (Jones & Bartlett Publishers, Sudbury, Mass.)]을 참조하며, 이의 본 개시내용은 본원에 참조로 편입된다.

[0252] 본 개시내용의 핵산은 발현 벡터 및/또는 클로닝 벡터 내에 존재할 수 있다. 발현 벡터는 선별 마커, 복제 원점, 및 벡터의 복제 및/또는 유지를 제공하는 기타 특징을 포함할 수 있다. 적합한 발현 벡터는, 예를 들어, 플라스미드, 바이러스 벡터 등을 포함한다. 다수의 적합한 벡터 및 프로모터는 본 기술분야의 당업자에게 알려져 있고; 다수의 것이 대상 재조합 작제물을 생성하는 데 상업적으로 이용 가능하다. 다음의 벡터가 예로서 제공되며, 임의의 방식으로 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다: 박테리아: pBs, phagescript, PsiX174, pBluescript SK, pBs KS, pNH8a, pNH16a, pNH18a, pNH46a (Stratagene, 미국 캘리포니아주 라 홀라 소재), pTrc99A, pKK223-3, pKK233-3, pDR540, 및 pRIT5 (Pharmacia, 스웨덴 옘살라 소재). 진핵 생물: pWLneo, pSV2cat, pOG44, PXR1, pSG (Stratagene) pSVK3, pBPV, pMSG 및 pSVL (Pharmacia).

[0253] 발현 벡터는 일반적으로 이중 단백질을 코딩하는 핵산 서열의 삽입을 제공하기 위해 프로모터 서열 근처에 위치한 편리한 제한 부위를 갖는다. 발현 숙주에서 작동하는 선별 마커가 존재할 수 있다. 적합한 발현 벡터는, 비제한적으로, 바이러스 벡터 (예를 들어, 백신시아 바이러스(vaccinia virus)에 기반한 바이러스 벡터; 폴리오마바이러스; 아데노바이러스 (예를 들어, 문헌[Li et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. (1994) 35: 2543-2549]; 문헌[Borras et al., Gene Ther. (1999) 6: 515-524]; 문헌[Li and Davidson, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1995) 92: 7700-7704]; 문헌[Sakamoto et al., H. Gene Ther. (1999) 5: 1088-1097]; WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 및 WO 95/00655 참조); 아데노-관련 바이러스 (예를 들어, 문헌[Ali et al., Hum. Gene Ther. (1998) 9: 81-86], 문헌[Flannery et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1997) 94: 6916-6921]; 문헌[Bennett et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. (1997) 38: 2857-2863]; 문헌[Jomary et al., Gene Ther. (1997) 4:683 690], 문헌[Rolling et al., Hum. Gene Ther. (1999) 10: 641-648]; 문헌[Ali et al., Hum. Mol. Genet. (1996) 5: 591-594]; WO 93/09239에서의 스리바스타바(Srivastava), 문헌[Samulski et al., J. Vir. (1989) 63: 3822-3828]; 문헌[Mendelson et al., Virol. (1988) 166: 154-165]; 및 문헌[Flotte et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993) 90: 10613-10617] 참조); SV40; 단순 헤르페스 바이러스; 인간 면역결핍 바이러스 (예를 들어, 문헌[Miyoshi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1997) 94: 10319-23]; 문헌[Takahashi et al., J. Virol. (1999) 73: 7812-7816] 참조); 레트로바이러스 벡터

(예를 들어, 쥐 백혈병 바이러스, 비장 괴사 바이러스 및 레트로바이러스로부터 유래된 벡터 예컨대 라우스 육종 바이러스, 하비(Harvey) 육종 바이러스, 조류 백혈병 바이러스, 인간 면역 결핍 바이러스, 골수 증식 육종 바이러스 및 유방 종양 바이러스) 등을 포함한다.

[0254] 사용하는 데 적합한 추가적인 발현 벡터는, 예를 들어, 제한 없이, 렌티바이러스 벡터, 감마 레트로바이러스 벡터, 포미 바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 폭스 바이러스 벡터, 헤르페스 바이러스 벡터, 조작된 하이브리드 바이러스 벡터, 트랜스포존 매개 벡터 등이다. 바이러스 벡터 기술은 본 기술 분야에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 문헌[Sambrook et al., 2012, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, volumes 1-4, Cold Spring Harbor Press, NY] 및 기타 바이러스학 및 분자생물학 매뉴얼에 기재되어 있다. 벡터로서 유용한 바이러스는, 비제한적으로, 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-관련 바이러스, 헤르페스 바이러스, 및 렌티바이러스를 포함한다.

[0255] 일반적으로, 적합한 벡터는 적어도 하나의 유기체에서 기능적인 복제 원점, 프로모터 서열, 편리한 제한 엔도뉴클레아제 부위, 및 하나 이상의 선별 마커를 함유한다 (예를 들어, WO 01/96584; WO 01/29058; 및 미국 등록특허 제6,326,193호).

[0256] 일부 실시양태에서, 발현 벡터 (예를 들어, 렌티바이러스 벡터)는 숙주 세포에 핵산을 도입시키기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 본 개시내용의 발현 벡터 (예를 들어, 렌티바이러스 벡터)는 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 발현 벡터 (예를 들어, 렌티바이러스 벡터)는 그 안에 코딩되는 폴리펩티드의 기능적 발현에 도움이 될 것인 추가적인 요소를 포함할 것이다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 포함하는 발현 벡터는 포유동물 프로모터를 추가로 포함한다. 하나의 실시양태에서, 벡터는 신장-인자-1-알파 프로모터 (EF-1 α 프로모터)를 추가로 포함한다. EF-1 α 프로모터의 사용은 하류 전이유전자의 발현의 효율을 증가시킬 수 있다. 생리적 프로모터(physiologic promote) (예를 들어, EF-1 α 프로모터)는 통합 매개 유전독성을 유발할 가능성이 낮을 수 있고, 레트로바이러스 벡터가 줄기 세포를 형질전환시키는 능력을 제거할 수 있다. 벡터 (예를 들어, 렌티바이러스 벡터)에 사용하기 위해 적합한 다른 생리적 프로모터는 본 기술분야의 당업자에게 알려져 있고, 본 개시내용의 벡터에 혼입될 수 있다. 일부 실시양태에서, 벡터 (예를 들어, 렌티바이러스 벡터)는 역가 및 유전자 발현을 개선시킬 수 있는 비필수 시스 작용 서열(non-requisite cis acting sequence)을 추가로 포함한다. 비필수 시스 작용 서열의 하나의 비제한적인 예는 중심 폴리퓨린 트랙(central polypurine tract) 및 중심 말단 서열 (cPPT/CTS)이고 이는 효율적인 역전사 및 핵 수송(nuclear import)을 위해 중요하다. 다른 비필수 시스 작용 서열은 본 기술분야의 당업자에게 알려져 있고, 본 개시내용의 벡터 (예를 들어, 렌티바이러스 벡터)로 혼입될 수 있다. 일부 실시양태에서, 벡터는 전사후 조절 요소를 추가로 포함한다. 전사후 조절 요소는 RNA 번역을 개선하고, 전이유전자 발현을 개선하고, RNA 전사체를 안정화시킬 수 있다. 전사후 조절 요소의 하나의 예는 우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소 (WPRE)이다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본 개시내용을 위한 벡터는 WPRE 서열을 추가로 포함한다. 다양한 전사후 조절 요소는 본 기술분야의 당업자에게 알려져 있고, 본 개시내용의 벡터 (예를 들어, 렌티바이러스 벡터)로 혼입될 수 있다. 본 개시내용의 벡터는 추가적인 요소 예컨대 RNA 수송을 위한 rev 반응 요소 (RRE), 패키징 서열(packaging sequence) 및 5' 및 3' 긴 말단 반복서열 (LTR)을 추가로 포함할 수 있다. 용어 "긴 말단 반복서열" 또는 "LTR"은 U3, R 및 U5 영역을 포함하는 레트로바이러스 DNA의 말단에 위치하는 염기 쌍의 도메인을 지칭한다. LTR은 일반적으로 레트로바이러스 유전자의 발현을 위해 그리고 바이러스 복제에 필요한 기능 (예를 들어, 유전자 전사체의 촉진, 개시 및 폴리아데닐화)를 제공한다. 하나의 실시양태에서, 본 개시내용의 벡터 (예를 들어, 렌티바이러스 벡터)는 3' U3 결실 LTR을 포함한다. 따라서, 본 개시내용의 벡터 (예를 들어, 렌티바이러스 벡터)는 전이유전자의 기능적 발현의 효율을 향상시키기 위한 본원에 기재된 요소들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 벡터 (예를 들어, 렌티바이러스 벡터)는 CAR을 코딩하는 핵산 이외에 WPRE 서열, cPPT 서열, RRE 서열, 5'LTR, 3' U3 결실 LTR'을 포함할 수 있다.

[0257] 본 개시내용의 벡터는 자기-불활성화 벡터(self-inactivating vector)일 수 있다. 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "자기-불활성화 벡터"는 3' LTR 인핸서 프로모터 영역 (U3 영역)이 (예를 들어, 결실 또는 치환에 의해) 변형되는 벡터를 지칭한다. 자기-불활성화 벡터는 바이러스 복제의 첫 번째 라운드 이후에 바이러스 전사를 방지할 수 있다. 결과적으로, 자기-불활성화 벡터는 감염시키고 이후 단지 한번만 숙주 게놈 (예를 들어, 포유동물 게놈)에 통합될 수 있고, 더 이상 전달될 수 없다. 따라서, 자기-불활성화 벡터는 복제 가능 바이러스를 생성할 위험을 크게 감소시킬 수 있다.

[0258] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 핵산은 RNA, 예를 들어, 시험관내 합성 RNA일 수 있다. RNA의 시험관내 합성을 위한 방법은 본 기술분야의 당업자에게 알려져 있고; 본 개시내용의 폴리펩티드를 코딩하는 서열을 포함하는

RNA를 합성하기 위해 임의의 알려진 방법이 사용될 수 있다. 숙주 세포에 RNA를 도입하기 위한 방법은 본 기술 분야에 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Zhao et al. Cancer Res. (2010) 15: 9053]을 참조한다. 본 개시내용의 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA를 숙주 세포에 도입하는 것은 시험관내, 생체의 또는 생체내에서 실시될 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포 (예를 들어, NK 세포, 세포독성 T 림프구 등)은 본 개시내용의 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA를 사용하여 시험관내 또는 생체외에서 전기천공될 수 있다.

[0259] 폴리펩티드 또는 이의 일부의 발현을 평가하기 위해, 세포로 도입되는 발현 벡터는 또한 바이러스 벡터를 통해 형질감염시키거나 또는 감염시키려 하는 세포 집단으로부터 발현 세포의 식별 및 선별을 용이하게 하도록 선별 마커 유전자 또는 리포터 유전자, 또는 둘 모두를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 선별 마커는 DNA의 별도의 조각 상에서 운반되어 공동-형질감염 절차에 사용될 수 있다. 선별 마커 및 리포터 유전자 둘 모두는 적절한 조절 서열과 플랭킹(flanked)되어 숙주 세포에서의 발현을 가능하게 할 수 있다. 유용한 선별 마커는 제한 없이 항생제 내성 유전자를 포함한다.

[0260] 리포터 유전자는 잠재적으로 형질감염된 세포를 식별하기 위해 그리고 조절 서열의 기능을 평가하기 위해 사용된다. 일반적으로, 리포터 유전자는 수용 유기체 또는 조직에 존재하지 않거나 또는 이에 의해 발현되지 않으며, 일부 용이하게 검출 가능한 특성, 예를 들어 효소 활성에 의해 이의 발현이 나타나는 폴리펩티드를 코딩하는 유전자이다. 리포터 유전자의 발현은 DNA가 수용 세포로 도입된 후 적절한 시점에 평가된다. 적합한 리포터 유전자는 제한 없이 루시페라제, 베타-갈락토시다제, 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라제, 분비된 알칼리성 포스파타제 또는 녹색 형광 단백질 유전자를 포함할 수 있다 (예를 들어, Ui-Tei et al., 2000 FEBS Letters 479: 79-82).

[0261] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 핵산은 예를 들어 숙주 세포에서의 본원에 기재된 바와 같은 폴리펩티드의 생산을 위해 제공된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 핵산은 폴리펩티드-코딩 핵산의 증폭을 제공한다.

[0262] 면역접합체

[0263] 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 항-cPD-1 항체 또는 항원-결합 단편, 또는 scFv 중 어느 하나를 포함하는 면역접합체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 면역접합체는 제제(agent)에 연결되는 개시된 항체 또는 항원-결합 단편, 또는 scFv를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역접합체는 제제에 연결되는 본원에 개시된 이중특이적 분자를 포함한다. 제제는 치료제일 수 있다. 제제는 진단제일 수 있다.

[0264] 진단제의 경우, 적절한 제제는 검출 가능한 표지를 포함할 수 있다. 검출 가능한 표지의 비제한적인 예는 전신 영상화를 위한 방사성 동위원소, 및 샘플 시험을 위한 방사성 동위원소, 효소, 형광 표지 및 기타 적합한 항체 태그를 포함한다. 본원에 기재된 임의의 항-cPD-1 항체에 연결될 수 있는 검출 가능한 표지는 콜로이드성 금과 같은 금속 졸, 예로서 N2S2, N3S 또는 N4 유형의 펩티드성 킬레이트제와 함께 제시되는 ¹²⁵I 또는 ^{99m}Tc와 같은 동위원소, 형광 마커, 발광 마커, 인광 마커 등을 포함하는 발색단을 포함하는 미립자 표지뿐만 아니라 주어진 기질을 검출 가능한 마커로 전환하는 효소 라벨, 및 예컨대 중합효소 연쇄 반응에 의한 증폭 이후 보여지는 폴리뉴클레오티드 태그를 포함하는, 체외 진단 분야에서 현재 사용되는 다양한 유형 중 어느 하나일 수 있다. 적합한 효소 표지는 겨자무 과산화효소(horseradish peroxidas), 알칼리성 포스파타제 등을 포함한다. 예로서, 표지는 1,2-디옥세탄 기질 예컨대 아다만틸 메톡시 포스포릴옥시 페닐 디옥세탄 (AMPPD), 디소듐 3-(4-(메톡시시프로{1,2-디옥세탄-3,2'-(5'-클로로)트리시클로{3.3.1.1 3,7}데칸}-4-일) 페닐 포스페이트 (CSPD)뿐만 아니라 CDP 및 CDP-STAR® 또는 본 기술분야에 잘 알려져 있는 기타 발광 기질, 예를 들어 테르븀(III) 및 유로퓸(II I)과 같은 적합한 란타나이드의 킬레이트의 전환 이후의 화학발광의 존재 또는 형성을 측정하여 검출되는 효소 알칼리성 포스파타제일 수 있다. 검출 수단은 선택된 표지에 의해 결정된다. 표지 또는 그것의 반응 생성물의 외관은 표지가 미립자이고 적절한 수준으로 축적되는 경우에 육안을 사용하거나, 또는 모두 표준 관행에 따르는 분광 광도계, 발광계, 형광계 등과 같은 장비를 사용하여 확인될 수 있다.

[0265] 일부 실시양태에서, 접합 방법은 실질적으로 (또는 거의) 비면역원성인 연결, 예를 들어, 펩티드- (즉, 아미드-), 황화물-, (입체 장애), 이황화물-, 히드라존- 및 에테르 연결을 생성한다. 이러한 연결은 거의 비면역원성이며, 혈청 내에서 합리적인 안정성을 나타내며; 예를 들어, 문헌[Senter, P. D., Curr. Opin. Chem. Biol. 13 (2009) 235-244]; WO 2009/059278; WO 95/17886을 참조한다).

[0266] 제제 및 항-cPD-1 항체 또는 scFv의 생화학적 특성에 따라, 다양한 접합 전략이 사용될 수 있다. 제제가 자연적으로 발생되거나 또는 50 내지 500개 아미노산의 재조합인 경우, 단백질 접합체의 합성을 위한 화학을 기술하는

교과서에 표준 절차가 있으며, 이는 숙련가가 쉽게 따를 수 있다 (예를 들어, 문헌[Hackenberger, C. P. R., and Schwarzer, D., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 47 (2008) 10030-10074]을 참조한다). 일부 실시양태에서, 말레인이미도 제제와 항체 또는 제제 내의 시스테인 잔기의 반응이 사용된다. 이는 예를 들어 항체의 Fab 또는 Fab'-단편이 사용되는 경우에 특히 적합한 커플링 화학이다. 대안적으로, 일부 실시양태에서, 항체 또는 제제의 C-말단 단부에 대한 커플링이 수행된다. 단백질, 예를 들어, Fab-단편의 C-말단 변형은 기재된 바와 같이 수행될 수 있다 (Sunbul, M. and Yin, J., *Org. Biomol. Chem.* 7 (2009) 3361-3371).

[0267] 일반적으로, 위치 특이적 반응 및 공유 커플링은 존재하는 다른 작용기의 반응성에 직교하는 반응성을 갖는 아미노산으로 천연 아미노산을 변환시키는 것에 기반한다. 예를 들어, 희귀 서열 상황(rare sequence context) 내의 특정 시스테인은 알데히드로 효소적으로 전환될 수 있다 (문헌[Frese, M. A., and Dierks, T., *ChemBioChem*. 10 (2009) 425-427] 참조). 주어진 서열 상황에서 천연 아미노산과의 특정 효소의 특정 효소 반응성을 이용함으로써 원하는 아미노산 변형을 얻는 것이 또한 가능하다 (예를 들어, 문헌[Taki, M. et al., *Prot. Eng. Des. Sel.* 17 (2004) 119-126]; 문헌[Gautier, A. et al. *Chem. Biol.* 15 (2008) 128-136]; 및 문헌[Bordusa, F., *Highlights in Bioorganic Chemistry* (2004) 389-403]에서 사용된 C-N 결합의 프로테아제 촉매화 형성 참조). 위치 특이적 반응 및 공유 커플링은 또한 말단 아미노산의 적절한 변형 시약과의 선택적 반응에 의해 달성될 수 있다.

[0268] 벤조니트릴과의 N-말단 시스테인의 반응성 (문헌[Ren, H. et al. , *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 48 (2009) 9658-9662] 참조)이 위치-특이적 공유 커플링을 달성하기 위해 사용될 수 있다.

[0269] 천연 화학적 라이게이션(Native chemical ligation)은 또한 C-말단 시스테인 잔기에 의존할 수 있다 (Taylor, E. Vogel; Imperiali, B, *Nucleic Acids and Molecular Biology* (2009), 22 (*Protein Engineering*), 65-96). US6437095 B1은 음으로 하전된 아미노산 범위 내의 시스테인과 양으로 하전된 아미노산의 범위 내에 있는 시스테인의 급속 반응에 기반하는 접합 방법을 기재하고 있다.

[0270] 제제는 또한 합성 펩티드 또는 펩티드 모사체일 수 있다. 폴리펩티드가 화학적으로 합성된 경우, 직교 화학 반응성(orthogonal chemical reactivity)을 가진 아미노산은 이러한 합성 과정에서 혼입될 수 있다 (예를 들어, 문헌[de Graaf, A. J. et al. , *Bioconj. Chem.* 20 (2009) 1281-1295] 참조). 매우 다양한 직교 작용기가 관련되어 합성 펩티드에 도입될 수 있기 때문에, 링커에의 이러한 펩티드의 접합은 표준 화학이다.

[0271] 단일 표지된 폴리펩티드를 얻기 위해, 1:1 화학량론을 갖는 접합체는 크로마토그래피에 의해 다른 접합 부산물로부터 분리될 수 있다. 이러한 절차는 염료 표지된 결합 쌍 구성원 및 하전된 링커를 사용하여 촉진될 수 있다. 이러한 종류의 표지된 그리고 고도로 음으로 하전된 결합 쌍 구성원을 사용함으로써 단일 접합된 폴리펩티드는 표지되지 않은 폴리펩티드 및 하나 초과 링커를 운반하는 폴리펩티드로부터 쉽게 분리되며, 그 이유는 전하와 분자량의 차이가 분리를 위해 사용될 수 있기 때문이다. 형광 염료는 표지된 1가 결합체와 같이 결합되지 않은 성분으로부터 복합체를 정제하는 데 유용할 수 있다.

[0272] 일부 실시양태에서, 항-cPD-1 항체에 부착된 제제는 결합 모이어티, 표지화 모이어티, 및 생물학적 활성 모이어티로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0273] 본원에 기재된 항-cPD-1 항체는 또한 치료제에 접합되어 면역접합체 예컨대 항체-약물 접합체 (ADC)를 형성할 수 있다. 적합한 치료제는 항대사제, 알킬화제, DNA 마이너 그루브 결합제(DNA minor groove binder), DNA 삽입제, DNA 가교결합제, 히스톤 데아세틸라제 억제제, 핵 수송 억제제, 프로테아좀 억제제, 토포이소머라제 I 또는 II 억제제, 열충격 단백질 억제제, 티로신 키나아제 억제제, 항생제 및 항-유사분열제를 포함한다. ADC에서, 항체 및 치료제는 바람직하게는 펩티드, 이황화물, 또는 히드라존 링커와 같은 절단 가능한 링커를 통해 접합된다. 일부 실시양태에서, 링커는 펩티드 링커 예컨대 Val-Cit, Ala-Val, Val-Ala-Val, Lys-Lys, Pro-Val-Gly-Val-Val (서열 번호 78), Ala-Asn-Val, Val-Leu-Lys, Ala-Ala-Asn, Cit-Cit, Val-Lys, Lys, Cit, Ser, 또는 Glu이다. ADC는 미국 등록특허 제7,087,600호; 제6,989,452호; 및 제7,129,261호; PCT 공개 WO 02/096910; WO 07/038658; WO 07/051081; WO 07/059404; WO 08/083312; 및 WO 08/103693; 미국 공개특허 제20060024317호; 제20060004081호; 및 제20060247295호에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다.

[0274] 본원에 기재된 항-cPD-1 항체 또는 scFv는 또한 조직들 또는 조직 샘플에서 갓과 PD-1, 예를 들어, cPD-1을 검출하기 위해 사용될 수 있다. 항체는 예를 들어 ELISA 검정 또는 유세포 분석법에서 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-cPD-1 항체는 특정 결합이 일어나기에 적절한 시간 동안 세포, 예를 들어, 조직의 세포와 접촉되고, 이후 시약, 예를 들어, 항-cPD-1 항체를 검출하는 항체가 첨가된다. 예시적인 검정이 실시예에 제공된다.

항-cPD-1 항체는 완전 갯과 항체일 수 있다. 항-cPD-1 항체는 개화 또는 키메라 항체일 수 있다. 샘플 (세포 또는 조직 샘플)에서 cPD-1을 검출하기 위한 예시적인 방법은 (i) 샘플에서 cPD-1에의 항-cPD-1 항체의 특이적 결합을 허용하기에 충분한 시간 동안 샘플을 항-cPD-1 항체와 접촉시키는 단계, 및 (2) 검출 시약, 예를 들어, 항-cPD-1 항체, 예컨대 항-cPD-1 항체의 Fc 영역에 특이적으로 결합하는 항체와 샘플을 접촉시키고 이에 의해 항-cPD-1 항체가 결합된 cPD-1을 검출하는 단계를 포함한다. 항체 및/또는 검출 시약과 함께 인큐베이션 후 세척 단계가 포함될 수 있다. 이러한 방법에 사용하기 위한 항-cPD-1 항체는 별도의 검출 시약이 사용될 수 있기 때문에 표지 또는 검출제에 연결되지 않아야 한다.

[0275] 이중특이적 분자

[0276] 본원에 기재된 항-cPD-1 항체, 이의 항원-결합 단편, 또는 scFv는 이중특이적 분자를 형성하기 위해 사용될 수 있다. 항-cPD-1 항체, 또는 이의 항원-결합부는 유도체화되거나 또는 다른 작용성 분자, 예를 들어, 다른 펩티드 또는 단백질 (예를 들어, 수용체에 대한 다른 항체 또는 리간드)에 연결되어 적어도 2개의 상이한 결합 부위 또는 표적 분자에 결합되는 이중특이적 분자를 생성할 수 있다.

[0277] 예를 들어, 항-cPD-1 항체는 병용 치료를 위한 잠재적 표적으로서 사용될 수 있는 임의의 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 또는 scFv에 연결될 수 있다. 본원에 기재된 항체는 실제로 하나 초과와 다른 기능성 분자로부터 유래되거나 또는 이에 연결되어 2개 초과와 상이한 결합 부위 및/또는 표적 분자에 결합되는 다중 특이적 분자를 생성할 수 있고; 이러한 다중-특이적 분자는 또한 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "이중특이적 분자"에 포함되는 것으로 의도된다. 본원에 기재된 이중특이적 분자를 생성하기 위해, 본원에 기재된 항체는 하나 이상의 다른 결합 분자, 예컨대 다른 항체, 항체 단편, 펩티드 또는 결합 모사체에 (예를 들어, 화학적 커플링, 유전적 융합, 비공유성 결합 또는 기타에 의해) 기능적으로 연결되어 이로써 이중특이적 분자가 생성될 수 있다.

[0278] 갯과 PD-1에 대한 적어도 하나의 제1 결합 특이성 및 제2 표적 에피토프에 대한 제2 결합 특이성을 포함하는 이중특이적 분자가 본원에 제공된다. 이중특이적 분자가 다중-특이적인 본원에 기재된 일부 실시양태에서, 분자는 제3 결합 특이성을 추가로 포함할 수 있다.

[0279] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 이중특이적 분자는 결합 특이성으로서 적어도 하나의 항체, 또는 예를 들어, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, 또는 단일 사슬 Fv (scFv)를 포함하는 이의 항체 단편을 포함한다. 항체는 또한 경쇄 또는 중쇄 이량체, 또는 이의 임의의 최소 단편 예컨대 Fv 또는 단일 사슬 작제물일 수 있다.

[0280] 일부 실시양태에서, 갯과 단클론 항체는 이중특이적 분자에 사용된다. 다른 실시양태에서, 다른 항체가 본원에 기재된 이중특이적 분자에 사용될 수 있으며, 쥐, 키메라 및 개화 단클론 항체가 있다.

[0281] 본원에 기재된 이중특이적 분자는 본 기술분야에 알려진 방법을 사용하여 구성 결합 특이성을 접합시킴으로써 제조될 수 있다. 예를 들어, 이중특이적 분자의 각각의 결합 특이성은 별도로 생성되어 이후 서로 접합될 수 있다. 결합 특이성이 단백질 또는 펩티드인 경우, 다양한 커플링제 또는 가교결합제가 공유 접합을 위해 사용될 수 있다. 가교결합제의 예는 단백질 A, 카르보디이미드, N-석신이미딜-S-아세틸-티오아세테이트 (SATA), 5,5'-디티오비스(2-니트로벤조산) (DTNB), o-페닐렌디말레이미드 (oPDM), N-석신이미딜-3-(2-피리디디티오)프로피오네이트 (SPDP), 및 설포석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 시클로hexan-1-카복실레이트 (설포-SMCC)를 포함한다 (예를 들어, 문헌[Karpovsky et al. (1984) J. Exp. Med. 160: 1686]; 문헌[Fiu, MA et al. (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648] 참조). 다른 방법은 문헌[Paulus (1985) Behring Ins. Mitt. No. 78, 118-132]; 문헌[Brennan et al. (1985) Science 229:81-83], 및 문헌[Glennie et al. (1987) J. Immunol. 139: 2367- 2375]]에 기재된 것을 포함한다. 일부 접합제는 SATA 및 설포-SMCC이며, 둘 모두 Pierce Chemical Co. (일리노이주 록퍼드 소재)로부터 이용 가능하다.

[0282] 결합 특이성이 항체인 경우, 이들은 2개의 중쇄의 C-말단 힌지 영역의 설프하이드릴 결합을 통해 접합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 힌지 영역은 접합 전에 환수의, 바람직하게는 1개의 설프하이드릴 잔기를 포함하도록 변형된다.

[0283] 대안적으로, 두 결합 특이성은 동일한 벡터에서 코딩되어, 동일한 숙주 세포에서 발현되어 조립될 수 있다. 이러한 방법은 이중특이적 분자가 mAh x mAh, mAh x Fab, mAh x (scFv)₂, Fab x F(ab')₂ 또는 리간드 x Fab 융합 단백질인 경우에 특히 유용하다. 이중특이적 항체는 각각의 중쇄의 C-말단에 scFv를 포함하는 항체를 포함할 수 있다. 본원에 기재된 이중특이적 분자는 하나의 단일 사슬 항체 및 결합 결정자를 포함하는 단일 사슬 분자, 또는 2개의 결합 결정자를 포함하는 단일 사슬 이중특이적 분자일 수 있다. 이중특이적 분자는 적어도 2개의 단일 사슬 분자를 포함할 수 있다. 이중특이적 분자를 제조하기 위한 방법은 예를 들어 미국 등록특허

제5,260,203호; 미국 등록특허 제5,455,030호; 미국 등록특허 제4,881,175호; 미국 등록특허 제5,132,405호; 미국 등록특허 제5,091,513호; 미국 등록특허 제5,476,786호; 미국 등록특허 제5,013,653호; 미국 등록특허 제5,258,498호; 및 미국 등록특허 제5,482,858호에 기재되어 있다.

[0284] 그것의 특이적 표적에 대한 이중특이적 분자의 결합은 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA), 방사성 면역검정 (RIA), FACS 분석, 생물검정 (예를 들어, 성장 억제) 또는 웨스턴 블롯 검정과 같은 본 기술분야에서 인정된 방법을 사용하여 확인될 수 있다. 각각의 이러한 검정은 일반적으로 관심 대상의 복합체에 대해 특이적인 표지된 시약 (예를 들어, 항체)를 이용함으로써 특정 관심 대상의 단백질-항체 복합체의 존재를 검출한다.

[0285] 치료 방법

[0286] 일부 양태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 항체, 결합 폴리펩티드, 및 scFv, 또는 이들 중 어느 하나를 포함하는 이중특이적 분자, 면역접합체, 또는 조성물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1) 신호전달 경로를 억제하기 위한 방법을 제공한다. 일부 경우에, 대상체는 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)을 갖는다. 조성물은 약학적 조성물을 포함할 수 있고, 추가로 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 치료적 유효량의 약학적 조성물이 대상체 (예를 들어, 개 또는 갯과)에 투여될 수 있다.

[0287] 일부 양태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 항체, 결합 폴리펩티드, 및 scFv, 또는 이들 중 어느 하나를 포함하는 이중특이적 분자, 면역접합체, 또는 조성물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 T 세포 증식을 증가시키고 T 세포 소진을 감소시키기 위한 방법을 제공한다. 일부 경우에, 대상체는 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)을 갖는다. 조성물은 약학적 조성물을 포함할 수 있고, 추가로 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 치료적 유효량의 약학적 조성물이 대상체 (예를 들어, 개 또는 갯과)에 투여될 수 있다. 일부 경우에, 갯과 대상체의 T 세포 증식은 본원에 기재된 항체, 결합 폴리펩티드, 및 scFv, 또는 본원에 기재된 이들 중 어느 하나를 포함하는 이중특이적 분자, 면역접합체, 또는 조성물을 제공 받지 않은 유사한 갯과 대상체에 비해 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%만큼 증가된다. 일부 경우에, 갯과 대상체의 T 세포 소진은 본원에 기재된 항체, 결합 폴리펩티드, 및 scFv, 또는 본원에 기재된 이들 중 어느 하나를 포함하는 이중특이적 분자, 면역접합체, 또는 조성물을 제공 받지 않은 유사한 갯과 대상체에 비해 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%만큼 감소된다. 일부 실시양태에서, T 세포는 이펙터 T 세포이다. 일부 실시양태에서, T 세포는 CD5+ T 세포이다.

[0288] 일부 양태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 항체, 결합 폴리펩티드, 및 scFv, 또는 이들 중 어느 하나를 포함하는 이중특이적 분자, 면역접합체, 또는 조성물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 IFN γ 생성을 증가시키기 위한 방법을 제공한다. 일부 경우에, 대상체는 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)을 갖는다. 조성물은 약학적 조성물을 포함할 수 있고, 추가로 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 치료적 유효량의 약학적 조성물이 대상체 (예를 들어, 개 또는 갯과)에 투여될 수 있다. 일부 경우에, 갯과 대상체의 IFN γ 생산은 본원에 기재된 항체, 결합 폴리펩티드, 및 scFv, 또는 본원에 기재된 이들 중 어느 하나를 포함하는 이중특이적 분자, 면역접합체, 또는 조성물을 제공 받지 않은 유사한 갯과 대상체에 비해 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%만큼 증가된다. 일부 실시양태에서, T 세포는 CD5+ T 세포이다.

[0289] 하나의 양태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 항체, 결합 폴리펩티드, 및 scFv, 또는 이들 중 어느 하나를 포함하는 이중특이적 분자, 면역접합체, 또는 조성물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하기 위한 방법을 제공한다. 질환 또는 병태는 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)을 포함한다. 조성물은 약학적 조성물을 포함할 수 있고, 추가로 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 치료적 유효량의 약학적 조성물이 대상체 (예를 들어, 개 또는 갯과)에 투여될 수 있다.

[0290] 특정 실시양태에서, 약물로서 사용하기 위한, 본원에 기재된 항체, 결합 폴리펩티드, 및 scFv, 또는 이들 중 어느 하나를 포함하는 이중특이적 분자, 면역접합체, 또는 조성물이 본원에 기재되어 있다.

[0291] 특정 실시양태에서, 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염의 치료를 위한 약물로서 사용하기 위한, 본원에 기재된 항체, 결합 폴리펩티드, 및 scFv, 또는 이들 중 어느 하나를 포함하는 이중특이적 분자, 면역접합체, 또는 조성물이 본원에 기재되어 있다.

- [0292] 특정 실시양태에서, 약물의 제조를 위한, 본원에 기재된 항체, 결합 폴리펩티드, 및 scFv, 또는 이들 중 어느 하나를 포함하는 이중특이적 분자, 면역접합체, 또는 조성물의 용도가 본원에 기재되어 있다.
- [0293] 특정 실시양태에서, 암, 패혈증 또는 패혈증 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염) 치료용 약물의 제조를 위한, 본원에 기재된 항체, 결합 폴리펩티드, 및 scFv, 또는 이들 중 어느 하나를 포함하는 이중특이적 분자, 면역접합체, 또는 조성물의 용도가 본원에 기재되어 있다.
- [0294] 치료는 치료 중인 병태를 개선시키거나 호전시키려는 방법과 관련된다. 암과 관련하여, 치료는, 비제한적으로, 종양 부피의 감소, 종양 부피 성장의 감소, 무진행 생존, 또는 전체 기대 수명의 증가를 포함한다. 특정 실시양태에서, 치료는 치료되는 암의 완화에 영향을 미칠 것이다. 특정 실시양태에서, 치료는 이전에 치료된 암 또는 종양의 재발 또는 진행을 예방하기 위한 것으로 의도된 예방적 또는 유지 용량으로서의 사용을 포함한다. 모든 개체가 투여되는 치료에 대해 동등하게 또는 전혀 반응하지 않더라도, 그럼에도 불구하고 이들 개체는 치료되는 것으로 간주된다는 것은 본 기술분야의 당업자에게 이해된다.
- [0295] 상기 방법은 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 11, 35, 또는 51에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 결합 폴리펩티드를 대상체에 투여하는 것을 포함한다.
- [0296] 특정 실시양태에서, 암은 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1) 신호전달 경로와 관련된다. 특정 실시양태에서, PD-1은 대상체의 면역 세포에서 발현된다. 특정 실시양태에서, 면역 세포는 T 림프구이다. 특정 실시양태에서, 면역 세포는 종양-침윤 림프구이다. 특정 실시양태에서, PD-1, 예컨대 PD-L1 또는 PD-L2의 리간드는 대상체의 암 세포에서 발현된다. 특정 실시양태에서, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1은 대상체의 암 세포에서 과발현된다.
- [0297] 특정 실시양태에서, 결합 폴리펩티드는 프로그램화 사멸 단백질 1 (PD-1)에 특이적으로 결합된다. 특정 실시양태에서, 결합 폴리펩티드는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 단편은 Fab, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), 단일-도메인 항체, sc(Fv)2, dsFv, Fab, Fab', (Fab')2 및 디아바디로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 항체는 전장 항체이다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 갯과 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다.
- [0298] 특정 실시양태에서, 상기 방법은 하나 이상의 추가적인 치료제 또는 중재술을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 이러한 추가적인 치료제 또는 중재술에 대한 제한이 없으며, 이를 필요로 하는 대상체를 치료하는 데 도움이 되는 임의의 치료제 또는 소분자 약물을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 추가적인 치료제 또는 중재술은 병용 요법으로서 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 scFv, 또는 이들을 포함하는 이중특이적 분자 또는 면역접합체와 함께 투여된다. 추가적인 치료제 또는 중재술의 비제한적인 예는 화학요법제 (예를 들어, 아스파라기나제, 부설판, 카르보플라틴, 시스플라틴, 다우노루비신, 독소루비신, 플루오로우라실, 젬시타빈, 하이드록시우레아, 메토트렉세이트, 파클리탁셀, 리톡시맵, 빈블라스틴 및/또는 빈크리스틴), 방사선 요법, 면역요법 및 기타 표적화 요법을 포함한다.
- [0299] 특정 실시양태에서, 암 또는 종양은 고체 암 또는 종양이다. 특정 실시양태에서, 암 또는 종양은 혈액 암 또는 종양이다. 특정 실시양태에서, 암 또는 종양은 유방, 심장, 폐, 소장, 결장, 비장, 신장, 방광, 머리, 목, 난소, 전립선, 뇌, 췌장, 피부, 뼈, 골수, 혈액, 흉선, 자궁, 고환, 및 간 종양을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 항체로 치료될 수 있는 종양은 선종(adenoma), 선암종(adenocarcinoma), 혈관육종(angiosarcoma), 성상세포종(astrocytoma), 상피 암종(epithelial carcinoma), 배아종(germinoma), 교모세포종, 신경교종, 혈관내피종(hemangioendothelioma), 혈관육종(hemangiosarcoma), 혈종(hematoma), 간모세포종(hepatoblastoma), 백혈병, 림프종, 수모세포종, 흑색종, 신경모세포종, 골육종(osteosarcoma), 망막모세포종(retinoblastoma), 횡문근육종, 육종 및/또는 기형종(teratoma)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 종양/암은 말단 흑자성 흑색종(acral lentiginous melanoma), 광선 각화증(actinic keratosis), 선암종, 선낭 암종(adenoid cystic carcinoma), 선종, 선육종(adenosarcoma), 샘편평 세포 암종(adenosquamous carcinoma), 성상 세포 종양(astrocytic tumor), 바르톨린샘 암종(Bartholin gland carcinoma), 기저 세포 암종(basal cell carcinoma), 기관지샘 암종(bronchial gland carcinoma), 모세혈관 유암종(capillary carcinoid), 암종, 암육종(carcinosarcoma), 담관암종(cholangiocarcinoma), 연골육종, 낭선종(cystadenoma), 내배엽종(endodermal sinus tumor), 자궁내막 증식증(endometrial hyperplasia), 자궁내막 간질 육종(endometrial stromal sarcoma), 자궁내막 선암종(endometrioid adenocarcinoma), 뇌실막 육종(ependymal sarcoma), 스윙 육종(Swing's sarcoma), 국소 결절성 증식증(focal nodular hyperplasia), 위암종(gastrinoma), 생식선 종양

(germ line tumor), 교모세포종, 글루카곤종(glucagonoma), 혈관모세포종(hemangioblastoma), 혈관내피종, 혈관종(hemangioma), 간 선종(hepatic adenoma), 간 선종증(hepatic adenomatosis), 간세포 암종, 인슐리니이트(insulinite), 상피내 신생물(intraepithelial neoplasia), 상피내 편평 세포 신생물(intraepithelial squamous cell neoplasia), 침습성 편평 세포 암종(invasive squamous cell carcinoma), 대세포 암종(large cell carcinoma), 지방육종, 폐 암종, 림프모구 백혈병(lymphoblastic leukemia), 림프구성 백혈병(lymphocytic leukemia), 평활근육종(leiomyosarcoma), 흑색종, 악성 흑색종, 악성 중피 종양(malignant mesothelial tumor), 신경초 종양, 수모세포종, 수질상피종(medulloepithelioma), 중피종(mesothelioma), 점액 표피양 암종(mucoepidermoid carcinoma), 골수성 백혈병(myeloid leukemia), 신경모세포종, 신경상피 선암종(neuroepithelial adenocarcinoma), 결절성 흑색종, 골육종, 난소 암종(ovarian carcinoma), 유두상 장액 선암종(papillary serous adenocarcinoma), 뇌하수체 종양, 형질세포종(plasmacytoma), 가육종(pseudosarcoma), 전립선 암종(prostate carcinoma), 폐 모세포종(pulmonary blastoma), 신세포 암종, 망막모세포종, 횡문근육종, 육종, 장액 암종(serous carcinoma), 편평 세포 암종, 소세포 암종(small cell carcinoma), 연조직 암종(soft tissue carcinoma), 소마토스타틴 분비 종양(somatostatin secreting tumor), 편평 암종(squamous carcinoma), 편평 세포 암종, 미분화 암종(undifferentiated carcinoma), 포도막 흑색종, 사마귀성 암종(verrucous carcinoma), 질/음문 암종(vagina/vulva carcinoma), 비포마(VIPpoma) 및 윌름 종양(Wilm's tumor)의 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 하나 이상의 항체로 치료되는 종양/암은 뇌암, 두경부암, 대장 암종(colorectal carcinoma), 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia), pre-B-세포 급성 림프구성 백혈병(pre-B-cell acute lymphoblastic leukemia), 방광암, 성상세포종, 바람직하게는 등급 II, III 또는 IV 성상세포종, 교모세포종, 다형성 교모세포종(glioblastoma multiforme), 소세포암(small cell cancer), 및 비소세포암(non-small cell cancer), 바람직하게는 비소세포 폐암(non-small cell lung cancer), 폐 선암종(lung adenocarcinoma), 전이성 흑색종(metastatic melanoma), 안드로겐 비의존성 전이성 전립선암(androgen-independent metastatic prostate cancer), 안드로겐 의존성 전이성 전립선암(androgen-dependent metastatic prostate cancer), 전립선 선암종, 및 유방암, 바람직하게는 유방 관암(breast ductal cancer), 및/또는 유방 암종(breast carcinoma)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 항체로 치료되는 암은 교모세포종을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 하나 이상의 항체로 치료되는 암은 체장암을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 하나 이상의 항체로 치료되는 암은 난소암을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 하나 이상의 항체로 치료되는 암은 폐암을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 하나 이상의 항체로 치료되는 암은 전립선암을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 하나 이상의 항체로 치료되는 암은 결장암을 포함한다. 특정 실시양태에서, 치료되는 암은 교모세포종, 체장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다. 특정 실시양태에서, 암은 다른 치료에 대해 불응성이다. 특정 실시양태에서, 치료되는 암은 개발된 것이다.

[0300] 일부 실시양태에서, 암은 흑색종 (예를 들어, 전이성 악성 흑색종), 전립선암 (예를 들어, 호르몬 불응성 전립선 선암종), 두경부암 (예를 들어, 두경부의 편평 세포 암종), 자궁경부암, 갑상선암, 교모세포종, 신경교종, 백혈병, 림프종 (예를 들어, B 세포 림프종), 부신암, AIDS-관련 암, 포상 연부 육종, 성상 세포 종양, 골암, 뇌척수암, 전이성 뇌종양, 경동맥 소체 종양, 연골육종, 척삭종, 혈액소성 신세포 암종, 투명 세포 암종, 피부 양성 섬유성 조직구종, 결합조직형성 소원형 세포 종양, 상의세포종, 유잉 종양, 골격의 점액성 연골육종, 골성 불완전 섬유성증, 뼈의 섬유성 이형성증, 담낭 또는 담관 암, 임신 용모성 질환, 생식 세포 종양, 혈액 악성 종양, 간세포 암종, 섬 세포 종양, 카포시 육종, 신장암, 지방종/양성 지방종성 종양, 지방육종/악성 지방종성 종양, 수모세포종, 수막종, 메르켈 세포 암종, 다발성 내분비 종양증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 신경 모세포종, 신경내분비 종양, 유두상 갑상선 암종, 부갑상선 종양, 소아암, 말초 신경초 종양, 갈색세포종, 뇌하수체 종양, 전립선암, 후방 포도막 흑색종, 희귀 혈액학적 장애, 신장 전이암, 횡문근양 종양, 횡문근육종, 육종, 연조직 육종, 편평 세포암, 위암, 활막 육종, 고환암, 흉선 암종, 흉선종, 갑상선 전이암, 자궁암, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0301] 일부 경우에, 암은 자궁경부암, 폐암, 간암, 난소암, 흑색종 및 편평 세포 암종을 포함하는 피부암, 결장암, 방광암, 유방암, 신장암, 식도암, 위암, 체장암, 두부암, 및 경부암을 포함한다.

[0302] 본 개시내용의 조성물은 적절한 전임상 및 임상 실험 및 시험에서 결정되는 시점에서의 투여량 및 경로로 투여될 수 있다. 조성물은 이러한 범위 내의 투여량으로 복수회 투여될 수 있다. 조성물의 투여는 본 기술분야의 당업자에 의해 결정되는 바와 같이 원하는 질환 또는 병태를 치료하는 데 유용한 다른 방법과 조합될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 예를 들어, 피하, 복강내, 정맥내, 근육내, 종양내, 또는 뇌내 등과 같은 항체-함유 약학적 조성물의 투여를 위해 적합한 임의의 경로로 이를 필요로 하는 대상체에 투여될 수 있다. 특정 실시양태

에서, 항체는 정맥내로 투여된다. 특정 실시양태에서, 항체는 피하로 투여된다. 특정 실시양태에서, 항체는 중앙내로 투여된다. 특정 실시양태에서, 항체는 적합한 투여 일정, 예를 들어, 매주, 1주 2회, 매월, 매월 2회, 매2주 1회, 매3주 1회, 또는 1월 1회 등으로 투여된다. 특정 실시양태에서, 항체는 매3주 1회 투여된다. 항체는 임의의 치료적 유효량으로 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 치료적으로 허용 가능한 양은 약 0.1 mg/kg 내지 약 50 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 치료적으로 허용 가능한 양은 약 1 mg/kg 내지 약 40 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 치료적으로 허용 가능한 양은 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 치료적으로 허용 가능한 양은 약 1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 치료적으로 허용 가능한 양은 약 5 mg/kg 내지 약 30 mg/kg이다. 특정 실시양태에서, 치료적으로 허용 가능한 양은 약 5 mg/kg 내지 약 20 mg/kg이다. 치료적 유효량은 치료되는 질환 또는 질병과 관련된 하나 이상의 증상을 호전시키는 데 충분한 양을 포함한다.

[0303] 본 개시내용과 관련하여, 예방적, 완화적, 대중적 및/또는 치유적 치료는 개시내용의 별도의 양태를 나타낼 수 있다. 본원에 개시된 항-cPD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 scFv는 비경구적으로, 예컨대 정맥내로, 예컨대 근육내로, 예컨대 피하로 투여될 수 있다. 대안적으로, 본 개시내용의 항체는 경구 경로, 예컨대 경구로 또는 국소적으로 투여될 수 있다. 발명의 항체는 예방적으로 투여될 수 있다. 본 개시내용의 항체는 예방적으로 투여될 수 있다. 본 개시내용의 항체는 (필요시) 치료적으로 투여될 수 있다.

[0304] 약학적 조성물, 키트, 및 조성물의 제조 방법

[0305] 또한, 본원에 개시된 결합 폴리펩티드, scFv, 항체, 또는 항원-결합 단편 중 어느 하나를 포함하는 약학적 조성물이 제공된다. 조성물 중에는 질환 또는 장애를 치료하기 위한 것과 같은 투여를 위한 약학적 조성물 및 제제가 있다. 또한, 대상체, 예를 들어 갯과에 약학적 조성물을 투여하기 위한 치료 방법이 제공된다.

[0306] 약학적 조성물 및 제제는 일반적으로 하나 이상의 임의의 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 적어도 하나의 추가적인 치료제를 포함한다.

[0307] 용어 "약학적 제제"는 그 안에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이라도 하는 이러한 형태로 존재하며, 제제가 투여될 것인 대상체에 대해 허용될 수 없는 독성이 있는 추가적인 성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다. "약학적으로 허용 가능한 담체"는 대상체에 대해 비독성인 활성 성분 이외의 약학적 제제 중의 성분을 지칭한다. 약학적으로 허용 가능한 담체는, 비제한적으로, 완충제, 부형제, 안정화제, 또는 보존제를 포함한다. 일부 양태에서, 담체의 선택은 부분적으로 특정 조성물 및/또는 투여 방법에 따라 결정된다. 따라서, 다양한 적절한 제제가 존재한다. 예를 들어, 약학적 조성물은 보존제를 포함할 수 있다. 적합한 보존제는 예를 들어, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 벤조산나트륨, 및 염화벤잘코늄을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 2개 이상의 보존제의 혼합물이 사용된다. 보존제 또는 이들의 혼합물은 통상적으로 총 조성물의 약 0.0001 중량% 내지 약 2 중량%의 양으로 존재한다. 담체는 예를 들어 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 기재되어 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 일반적으로 이용되는 투여량 및 농도에서 수령체에 대해 비독성이며, 비제한적으로 다음의 것을 포함한다: 완충제 예컨대 인산염, 시트레이트, 및 기타 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 산화 방지제; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤잘코늄 클로라이드; 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 잔기 미만) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 라이신; 당당류, 이당류, 및 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린을 포함하는 기타 탄수화물; 킬레이트제 예컨대 EDTA; 당 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대-이온 예컨대 나트륨; 금속 복합체 (예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비이온성 계면활성제 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 (PEG).

[0308] 일부 양태에서 완충제가 조성물에 포함된다. 적합한 완충제는, 예를 들어, 시트르산, 시트르산나트륨, 인산, 인산칼륨, 및 다양한 기타 산 및 염을 포함한다. 일부 양태에서, 2개 이상의 완충제의 혼합물이 사용된다. 완충제 또는 이들의 혼합물은 통상적으로 총 조성물의 약 0.001 중량% 내지 약 4 중량%의 양으로 존재한다. 투여 가능한 약학적 조성물의 제조 방법은 알려져 있다. 예시적인 방법은 예를 들어 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21판 (2005년, 5월 1일)]에 보다 상세하게 기재되어 있다.

[0309] 제제는 수용액을 포함할 수 있다. 제제 또는 조성물은 또한 조성물로 치료되는 특정 적응증, 질환, 또는 병태에 대해 유용한 하나 초과와 활성 성분, 바람직하게는 조성물에 상보적인 활성을 갖는 것을 함유할 수 있고, 여기

서 각각의 활성은 서로에 대해 악영향을 미치지 않는다. 이러한 활성 성분은 의도된 목적을 위해 효과적인 양으로 조합하여 적절하게 존재한다. 이에 따라, 일부 실시양태에서, 약학적 조성물은 다른 약학적으로 활성인 제제 또는 약물, 예컨대 화학요법제, 예를 들어, 아스파라기나제, 부설판, 카르보플라틴, 시스플라틴, 다우노루비신, 독소루비신, 플루오로우라실, 젬시타빈, 하이드록시우레아, 메토틱세이트, 파클리탁셀, 리톡시맙, 빈블라스틴 및/또는 빈크리스틴을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 약학적 조성물은 치료적 유효량 또는 예방적 유효량과 같은 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는 데 효과적인 양으로 조성물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 또는 예방적 효능은 치료되는 대상체의 주기적 평가에 의해 모니터링된다. 원하는 투여량은 조성물의 단일 볼루스 투여에 의해, 조성물의 복수회 볼루스 투여에 의해, 또는 조성물의 연속 주입 투여에 의해 전달될 수 있다.

[0310] 제제는 경구, 정맥내, 복강내, 피하, 폐, 경피, 근육내, 비강내, 협측, 설하 또는 좌약 투여를 위한 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 비경구로 투여된다. 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "비경구"는 정맥내, 근육내, 피하, 직장, 질 및 복강내 투여를 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 정맥내, 복강내 또는 피하 주사에 의한 말초 진전 전달을 사용하여 대상체에 투여된다. 일부 실시양태에서 조성물은 멸균 액체 제제, 예를 들어, 등장성 수용액, 현탁액, 에멀전, 분산액, 또는 점성 조성물로서 제공되며, 이는 일부 양태에서 선택된 pH로 완충될 수 있다. 액체 제제는 일반적으로 겔, 기타 점성 조성물 및 고체 조성물보다 제조하기가 더 용이하다. 추가적으로, 액체 조성물은 특히 주사를 통해 투여하기가 다소 더 편리하다. 점성 조성물은 다른 한편 특정 조직과의 더 긴 접촉 기간을 제공하기에 적합한 점도 범위 내에서 제형화될 수 있다. 액체 또는 점성의 조성물은 예를 들어, 물, 식염수, 인산 완충 식염수, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜) 및 이들의 적합한 혼합물을 포함하는 분산 매질 또는 용매일 수 있는 담체를 포함할 수 있다.

[0311] 멸균 주사용 용액은 적합한 담체, 희석제 또는 부형제 예컨대 멸균수, 생리 식염수, 글루코스, 텍스트로스 등과 혼합하는 것과 같이 용매에 조성물을 혼입시켜 제조될 수 있다. 조성물은 원하는 투여 경로 및 제제에 따라 습윤제, 분산제 또는 유화제 (예를 들어, 메틸셀룰로오스), pH 완충제, 겔화제 또는 점도 향상 첨가제, 보존제, 향미제 및/또는 색소와 같은 보조 물질을 포함할 수 있다. 적절한 제제를 준비하기 위해 일부 양태에서 표준 텍스트를 참조할 수 있다.

[0312] 향미생물 보존제, 산화 방지제, 킬레이트제 및 완충제를 포함하는, 조성물의 안정성 및 멸균성을 향상시키는 다양한 첨가제가 첨가될 수 있다. 다양한 항균제 및 항진균제 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 및 소르빈산에 의해 미생물 작용의 예방이 보장될 수 있다. 주사 가능한 약학적 형태의 장기간 흡수는 흡수 지연제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 사용하여 이루어질 수 있다.

[0313] 생체내 투여를 위해 사용되는 제제는 일반적으로 멸균된다. 멸균은 예를 들어 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성될 수 있다.

[0314] 본원에 언급되거나 인용된 기사, 특허 및 특허 출원의 내용 및 기타 모든 문서와 전자적으로 이용 가능한 정보는 각 개별 간행물이 구체적으로 그리고 개별적으로 참조로 편입된 것으로 나타내는 것과 동일한 정도로 그 전문이 본원에 참조로 편입된다. 출원인은 임의의 이러한 기사, 특허, 특허 출원 또는 기타 물리적 및 전자 문서로부터의 임의의 그리고 모든 자료와 정보를 본 출원에 물리적으로 편입시킬 권리를 가진다.

[0315] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 항-갯과 PD-1 항체는 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 및 희석제를 포함하는 약학적 조성물에 포함된다. 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체 및 희석제는 항체의 보관 기간, 안정성, 또는 투여 가능성을 증가시키기 위해 포함될 수 있다. 이러한 화합물은 염, pH 완충제, 세제, 항응고제, 및 보존제를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 항체는 멸균 용액에 현탁되어 투여된다. 특정 실시양태에서, 용액은 약 0.9% NaCl을 포함한다. 특정 실시양태에서, 용액은 약 5.0% 텍스트로스를 포함한다. 특정 실시양태에서, 용액은 다음 중 하나 이상을 추가로 포함한다: 완충제, 예를 들어, 아세테이트, 시트레이트, 히스티딘, 석시네이트, 인산염, 중탄산염 및 하이드록시메틸아미노메탄 (Tris); 계면활성제, 예를 들어, 폴리소르베이트 80 (Tween 80), 폴리소르베이트 20 (Tween 20), 및 폴록사머 188; 폴리올/이당류/다당류, 예를 들어, 글루코스, 텍스트로스, 만노스, 만니톨, 소르비톨, 수크로스, 트레할로스, 및 데스트란 40; 아미노산, 예를 들어, 글리신 또는 아르기닌; 산화 방지제, 예를 들어, 아스코르브산, 메티오닌; 또는 킬레이트제, 예를 들어, EDTA 또는 EGTA.

[0316] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 항체는 동결건조되어 운송/보관되어 투여 전에 재구성될 수 있다. 특정 실시양태에서, 동결건조된 항체 제제는 벌크제(bulking agent) 예컨대 만니톨, 소르비톨, 수크로스, 트레할로스, 텍스트란 40 또는 이들의 조합을 포함한다. 동결건조된 제제는 유리 또는 다른 적합한 비반응성 물질로 이루어진

바이알에 포함될 수 있다. 제형화될 때 재구성되는지 여부와 무관하게 항체는 특정 pH, 일반적으로 7.0 미만으로 완충될 수 있다. 특정 실시양태에서, pH는 4.5 내지 7.0, 4.5 내지 6.5, 4.5 내지 6.0, 4.5 내지 5.5, 4.5 내지 5.0, 또는 5.0 내지 6.0일 수 있다.

[0317] 또한, 본원에 기재된 항체 중 하나 이상 및 다음의 것으로부터 선택되는 하나 이상의 추가적인 성분을 포함하는 키트가 본원에 기재된다: 사용을 위한 설명서; 희석제, 부형제, 담체, 및 투여용 장치.

[0318] 특정 실시양태에서, 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 또는 희석제 및 본 개시내용의 항체를 혼합하는 것을 포함하는, 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)을 치료하기 위한 조성물의 제조 방법이 본원에 기재된다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 하나 이상의 항체를 동결건조시키는 것을 포함하는, 보관 또는 운송을 위해 암 치료제를 준비하는 방법이 본원에 기재된다.

[0319] 본 개시내용은 이의 구체적인 실시양태를 참조하여 기재되었으나, 다양한 변화가 이루어질 수 있고, 본 개시내용의 실제 사상 및 범위를 벗어나지 않고 균등물이 대체될 수 있음은 본 기술분야의 당업자에 의해 이해되어야 한다. 본원에 기재된 방법의 다른 적절한 수정 및 적용이 본원에 개시된 실시양태의 범위를 벗어나지 않고 적합한 균등물을 사용하여 이루어질 수 있다는 것은 본 기술분야의 당업자에게 쉽게 자명할 것이다. 또한, 특정 상황, 재료, 물질의 조성, 공정, 공정 단계 또는 단계들을 본 개시내용의 목적, 사상 및 범위에 적용하기 위해 여러 수정이 이루어질 수 있다. 모든 이러한 수정은 본원에 첨부된 청구항의 범위 내에 있는 것으로 의도된다. 이하 특정 실시양태를 상세하게 기재하였고, 이는 단지 예시 목적으로 포함되고, 제한하는 것으로 의도되지 않는 다음의 실시예를 참조하여 보다 명확하게 이해될 것이다.

[0320] 실시예

[0321] 본 개시내용은 다음의 실험 실시예를 참조하여 상세하게 추가로 기재된다. 이들 실시예는 단지 예시 목적으로 제공되며, 달리 특정하지 않는 한, 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 따라서, 본 개시내용은 다음의 실시예로 제한되는 것으로 해석되지 않아야 하며, 오히려, 본원에 제공된 교시의 결과로서 자명하게 되는 임의의 그리고 모든 변형예를 포괄하는 것으로 해석되어야 한다. 본 발명의 바람직한 실시양태가 본원에 나타나고 기재되어 있지만, 이러한 실시양태는 단지 예시로서 제공된다는 것은 본 기술분야의 당업자에게 자명할 것이다. 본 개시내용을 벗어나지 않고 본 기술분야의 당업자에게 여러 변형, 변화 및 치환이 이제 구상될 것이다. 본원에 기재된 본 개시내용의 실시양태에 대한 다양한 대안이 본 개시내용을 실시하는 데 이용될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.

[0322] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 등록 특허 및 기타 문헌은 각각의 개별 간행물, 특허 출원, 등록 특허 또는 기타 문헌이 구체적으로 그리고 개별적으로 그 전문이 참조로 편입된 것으로 나타내는 것과 같이 본원에 참조로 편입된다. 참조로 편입된 문헌에 포함된 정의는 그것이 본 개시내용의 정의와 상충되는 범위에서는 배제된다.

[0323] 추가 설명 없이, 상술한 설명 및 다음의 예시적인 실시예를 사용하여 본 기술분야의 당업자는 본 개시내용의 화합물을 제조하여 이용하고, 청구된 방법을 실시할 수 있는 것으로 여겨진다. 다음의 실시예는 이에 따라 본 개시내용의 일부 실시양태를 구체적으로 나타낸다.

[0324] 실시예 1: 갯과 항-갯과 PD-1 scFv의 생성

[0325] 공개된 갯과 면역글로불린 중쇄 및 경쇄 생식세포 유전자에 기반한 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 사용하여 앞서 기재된 바와 같은 갯과 B 세포 mRNA 및 pComb3X 파지미드 벡터로부터 대략 400억개의 개별 E. 콜리(*E. coli*) 형질전환체를 포함하는 갯과 IgM/IgG/λ/κ scFv 파지 디스플레이 라이브러리를 작제하였다. (Andris-Widhopf, J., Steinberger, P., Fuller, R., Rader, C., Barbas, C.F. Generation of antibody libraries: PCR amplification and assembly of light- and heavy-chain coding sequences in Barbas, C.F., Burton, D.R., Scott, J.K., Silverman G.J. *Phage Display: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001) 및 Lefranc, M.P., et al. IMGT, the international ImmunoGeneTics information system. *Nucleic Acids Res* 37, D1006-1012 (2009)). 분취량의 라이브러리는 갯과 PD-1에 대해 4라운드의 고상 선별(solid phase selection) ("패닝")이 적용되었다. 선별된 파지가 cPD-1-특이적 scFv 파지 입자를 포함하고 있는지 여부를 확인하기 위해, 각 패닝 라운드로부터의 다클론 scFv 파지를 표적 항원으로 cPD-1을 사용하여 scFv 파지 ELISA에 의해 평가하였다 (도 1). cPD-1 특이적 결합체에 대한 파지의 실질적인 농축은 제3 패닝 라운드 (P3)에서 확인되었고, 제4 패닝 라운드 (P4)에서 증가되었다.

[0326] 파지 ELISA에 의해 cPD-1에 결합하는 그것의 능력의 시험에 의해 패닝 라운드 3으로부터의 16개 클론 및 패닝

라운드 4로부터의 16개 클론을 검사함으로써 양성 적중률(positive hit rate)의 초기 조사를 평가하였다. P3으로부터의 10/16개 클론과 P4로부터의 15/16개 클론이 다양한 겔보기 친화도(apparent affinity)로 cPD-1에 결합하였다 (도 2a-2b). 14개의 독특한 클론이 이들 25개 결합체로부터의 뉴클레오티드 서열 분석에 의해 식별되었으며, 추가 특성화를 위해 가용성 scFv로서 제조되었다 (도 3 좌측 그래프).

[0327] 양성물을 확인하기 위한 이 초기 조사 이후, 수백 개가 넘는 추가적인 클론의 고처리량 스크린을 수행하였다. 176개의 양성 클론을 단리하였고, 이 중에서 추가의 8개의 독특한 클론이 식별되었다. 이들 8개의 추가적인 클론 중 5개는 추가 특성화를 위해 가용성 scFv로 생산되었다. cPD-1에 대한 가용성 scFv 결합의 결과 (도 3)에 기반하여, 클론 3-4, 3-8, 3-13, 4-2, 4-9, 4-14, P4B1, P3C6 및 P4F3을 PD-1과 PD-L1의 상호작용을 억제하기 위한 그것의 능력의 추가의 분석을 위해 선택하였다 (도 4).

[0328] PD-1과 PD-L1 사이의 상호작용을 억제하는 그것의 능력의 증거를 나타낸 5개의 클론이 검출되었다 (도 4에서 적색 박스로 나타냄). 이들 클론을 이후 막 발현 cPD-1(membrane expressed cPD-1)에 결합하는 그것의 능력에 대해 시험하였다. (비특이적 결합을 감소시키기 위해) CD32 (KT 832)를 제거하도록 편집된 인간 적백혈병 세포주 K562를 퓨로마이신 선택 카세트 (KT 832.cPD-1)을 운반하는 레트로바이러스 벡터를 사용하여 cPD-1을 발현하도록 조작하였다. 억제 검정 (도 4)을 통해 선택된 HA-태깅된 가용성 scFv를 KT 832 또는 KT 832.cPD-1 세포와 함께 인큐베이션시키고, 항-HA 항체 및 유세포 분석법을 사용하여 결합을 측정하였다 (도 5).

[0329] PD-1:PD-L1 단백질 상호작용을 억제하고, 세포 표면 발현 PD-1에 결합되는 클론 P3C6 및 P4B1을 전장, 완전 갯과 IgG4 분자로 재포맷화하였고, 유세포 분석법에 의해 세포 표면 PD-1에 결합하는 그것의 능력에 대해 다시 시험하였다 (도 6).

[0330] 293T 세포의 일시적 형질감염으로 달성된 P3C6의 수율은 낮았고, 사슬 스와핑 실험은 이것이 P3C6의 VH 사슬과 연관되었음을 확인하였다 (데이터를 나타내지 않음). 전략적 아미노산 대체가 이루어졌고, 생성된 돌연변이체 VH 사슬은 원래의 P3C6 경쇄와 쌍을 이루었고, 생산 및 cPD-1 결합 능력에 대해 평가되었다 (도 7 및 도 8). P3C6를 돌연변이시키는 초기 시도는 또한 낮은 수율을 야기하였다 (도 9a). 여러 시도 후, 2개의 특정 돌연변이체 P3C6 mut 3.1 및 mut 3.2의 수율은 상당히 개선되었다 (도 9b).

[0331] P3C6 돌연변이체가 갯과 T 세포 증식 및 IFN γ 생산을 증가시킬 수 있는지 여부를 결정하기 위해, 갯과 PBMC를 셀 트래이스 바이올렛 (CTV)으로 표지하였고, P3C6 돌연변이체 IgG4 분자의 존재하에서 미토겐 콘카나발린 A로 자극시켰다. CD5+ T 세포의 증식을 유세포 분석법 (도 10)에 의해 결정하였고, IFN γ 의 생산을 자극 후 96시간 시점에 ELISA (도 11)에 의해 측정하였다.

[0332] 초기 스크린 및 후속 고처리량 스크린으로부터 식별된 독특한 scFv의 수가 상대적으로 적다는 점을 고려하면, 스크리닝된 872개 클론을 사용하여 두 번째 고처리량 스크린을 수행하였으며, 발현 추출물에 존재하는 200개가 넘는 가용성 scFv 클론이 cPD-1에 결합하는 것으로 ELISA에 의해 확인되었다. 이들 클론은 결합에 대해 유세포 분석법에 의해 추가로 평가되었고, KT 832 세포의 표면의 cPD-1에 결합된 3개의 추가적인 독특한 scFv 클론이 식별되었다. 패닝 라운드 3으로부터의 이들 클론 중 단 하나인 클론 A6만이 전장 갯과 IgG4로서 성공적으로 재포맷화되었다. 막 결합된 cPD-1에 특이적으로 결합하는 이 전장 클론의 능력을 유세포 분석법으로 평가하였다 (도 12). 클론 A6는 KT 832.cPD-1 세포에 특이적으로 결합하였고, 이 결합은 IgG4 분자와 가용성 cPD-1의 사전 인큐베이션에 의해 차단되었다.

[0333] 열거된 실시양태

[0334] 하기 열거된 실시양태가 제공되며, 이의 넘버링은 중요도 수준을 지정하는 것으로 해석되지 않는다.

[0335] 실시양태 1은 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하며, 여기서 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함한다:

[0336] 서열 번호 1, 27, 또는 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1),

[0337] 서열 번호 2, 28, 또는 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2),

[0338] 서열 번호 3, 29, 또는 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3),

[0339] 서열 번호 4, 30, 또는 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1),

[0340] 서열 번호 5, 31, 또는 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및

- [0341] 서열 번호 6, 32, 또는 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3).
- [0342] 실시양태 2는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는 실시양태 1의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0343] 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0344] 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0345] 실시양태 3은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는 실시양태 1 또는 2의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0346] 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- [0347] 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0348] 실시양태 4는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0349] 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0350] 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0351] 실시양태 5는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0352] 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0353] 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0354] 실시양태 6은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0355] 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 면역글로불린 중쇄, 및
- [0356] 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0357] 실시양태 7은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0358] 서열 번호 19, 21, 23, 39, 또는 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- [0359] 서열 번호 25, 41, 또는 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0360] 실시양태 8은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0361] 서열 번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1),
- [0362] 서열 번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2),
- [0363] 서열 번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3),
- [0364] 서열 번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1),
- [0365] 서열 번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및

- [0366] 서열 번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3).
- [0367] 실시양태 9는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 실시양태 8의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0368] 서열 번호 7 또는 9에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0369] 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0370] 실시양태 10은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 실시양태 8 또는 9의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0371] 서열 번호 19, 21, 또는 23에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- [0372] 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0373] 실시양태 11은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0374] 서열 번호 7 또는 9에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0375] 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0376] 실시양태 12는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0377] 서열 번호 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0378] 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0379] 실시양태 13은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0380] 서열 번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0381] 서열 번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0382] 실시양태 14는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0383] 서열 번호 19, 21, 또는 23에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- [0384] 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0385] 실시양태 15는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0386] 서열 번호 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- [0387] 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0388] 실시양태 16은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0389] 서열 번호 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및

- [0390] 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0391] 실시양태 17은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0392] 서열 번호 23에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- [0393] 서열 번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0394] 실시양태 18은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0395] 서열 번호 27에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1),
- [0396] 서열 번호 28에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2),
- [0397] 서열 번호 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3),
- [0398] 서열 번호 30에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1),
- [0399] 서열 번호 31에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및
- [0400] 서열 번호 32에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3).
- [0401] 실시양태 19는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 실시양태 18의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0402] 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0403] 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0404] 실시양태 20은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 실시양태 18 또는 19의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0405] 서열 번호 39에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- [0406] 서열 번호 41에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0407] 실시양태 21은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0408] 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0409] 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0410] 실시양태 22는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0411] 서열 번호 33에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0412] 서열 번호 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0413] 실시양태 23은 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0414] 서열 번호 39에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- [0415] 서열 번호 41에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는

아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.

- [0416] 실시양태 24는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0417] 서열 번호 39에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- [0418] 서열 번호 41에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0419] 실시양태 25는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0420] 서열 번호 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HCDR1),
- [0421] 서열 번호 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HCDR2),
- [0422] 서열 번호 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HCDR3),
- [0423] 서열 번호 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LCDR1),
- [0424] 서열 번호 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LCDR2), 및
- [0425] 서열 번호 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LCDR3).
- [0426] 실시양태 26은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 실시양태 25의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0427] 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0428] 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0429] 실시양태 27은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 실시양태 25 또는 26의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0430] 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- [0431] 서열 번호 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0432] 실시양태 28은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0433] 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0434] 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0435] 실시양태 29는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0436] 서열 번호 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0437] 서열 번호 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0438] 실시양태 30은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0439] 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- [0440] 서열 번호 57에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는

아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.

- [0441] 실시양태 31은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다:
- [0442] 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄, 및
- [0443] 서열 번호 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄.
- [0444] 실시양태 32는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 IgG, IgM, IgE, IgA, 또는 IgD 분자이거나, 또는 이들 중 하나로부터 유래되는, 실시양태 1-31 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0445] 실시양태 33은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 전장 항체, Fab, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), sc(Fv)₂, dsFv, Fab, Fab', (Fab')₂ 및 디아바디로 이루어진 군으로부터 선택되는, 실시양태 1-32 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0446] 실시양태 34는 항체가 전장 항체인 실시양태 1-33 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0447] 실시양태 35는 항체가 갯과 또는 개화 항체인 실시양태 1-34 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0448] 실시양태 36은 항체가 갯과 항체인 실시양태 1-35 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0449] 실시양태 37은 항원-결합 단편이 scFv인 실시양태 1-33 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0450] 실시양태 38은 cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합은 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해하는, 실시양태 1-37 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0451] 실시양태 39는 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 갯과 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0452] 실시양태 40은 실시양태 1-36 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 갯과 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0453] 실시양태 41은 cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합이 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해하는, 실시양태 39 또는 40의 갯과 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0454] 실시양태 42는 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 제공한다:
- [0455] 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), HCDR2, 및 HCDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역으로서, 여기서 HCDR1은 서열 번호 1, 27, 및 43으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 2, 28, 및 44로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3는 서열 번호 3, 29, 및 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0456] 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), LCDR2, 및 LCDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역으로서, 여기서 LCDR1은 서열 번호 4, 30, 및 46으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 5, 31 및 47로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3는 서열 번호 6, 32, 및 48로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역,
- [0457] 여기서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결된다.
- [0458] 실시양태 43은 다음의 것을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 제공한다:
- [0459] 서열 번호 7, 9, 33, 또는 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0460] 서열 번호 11, 35, 또는 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역,
- [0461] 여기서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결된다.

- [0462] 실시양태 44는 서열 번호 13, 15, 17, 37, 또는 53에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는 단일 사슬 가변 단편 (scFv)을 제공한다.
- [0463] 실시양태 45는 cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 특이적 결합이 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해하는 실시양태 42-44 중 어느 하나의 scFv를 제공한다.
- [0464] 실시양태 46은 제2 결합 특이성을 갖는 분자에 연결되는, 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 갯과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv를 포함하는 이중특이적 분자를 제공한다.
- [0465] 실시양태 47은 치료제에 연결되는, 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 갯과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 또는 실시양태 46의 이중특이적 분자를 포함하는 면역접합체를 제공한다.
- [0466] 실시양태 48은 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 갯과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv를 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다.
- [0467] 실시양태 49는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음의 것을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다:
- [0468] 서열 번호 8, 10, 34, 또는 50에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및
- [0469] 서열 번호 12, 36, 또는 52에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역.
- [0470] 실시양태 50은 중쇄 가변 영역이 서열 번호 8, 10, 34, 또는 50에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩되는, 실시양태 49의 단리된 핵산을 제공한다.
- [0471] 실시양태 51은 경쇄 가변 영역이 서열 번호 12, 36, 또는 52에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해 코딩되는, 실시양태 49 또는 50의 단리된 핵산을 제공한다.
- [0472] 실시양태 52는 다음의 것을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다:
- [0473] 서열 번호 8에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및
- [0474] 서열 번호 12에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역.
- [0475] 실시양태 53은 다음의 것을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다:
- [0476] 서열 번호 10에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및
- [0477] 서열 번호 12에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역.
- [0478] 실시양태 54는 다음의 것을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다:
- [0479] 서열 번호 34에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및
- [0480] 서열 번호 36에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역.
- [0481] 실시양태 55는 다음의 것을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다:
- [0482] 서열 번호 50에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역; 및
- [0483] 서열 번호 52에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역.
- [0484] 실시양태 56은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 IgG, IgM, IgE, IgA, 또는 IgD 분자이거나, 또는 이들 중 하나로부터 유래되는, 실시양태 49-55 중 어느 하나의 단리된 핵산을 제공한다.
- [0485] 실시양태 57은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 전장 항체, Fab, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), sc(Fv)₂, dsFv, Fab, Fab', (Fab')₂ 및 디아바디로 이루어진 군으로부터 선택되는, 실시양태 49-56 중 어느 하나의 단리된 핵산을 제공한다.
- [0486] 실시양태 58은 항체가 전장 항체인 실시양태 49-57 중 어느 하나의 단리된 핵산을 제공한다.

- [0487] 실시양태 59는 항체가 갯과 또는 개화 항체인 실시양태 49-58 중 어느 하나의 단리된 핵산을 제공한다.
- [0488] 실시양태 60은 항체가 갯과 항체인 실시양태 49-59 중 어느 하나의 단리된 핵산을 제공한다.
- [0489] 실시양태 61은 다음의 것을 포함하는, 단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다:
- [0490] 서열 번호 8, 10, 34, 또는 50에 제시된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0491] 서열 번호 12, 36, 또는 52에 제시된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역,
- [0492] 여기서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 링커에 의해 연결된다.
- [0493] 실시양태 62는 서열 번호 14, 16, 18, 38, 또는 54에 제시된 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단일-사슬 가변 단편 (scFv)을 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다.
- [0494] 실시양태 63은 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 scFv가 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1)에 특이적으로 결합하는, 실시양태 49-62 중 어느 하나의 단리된 핵산을 제공한다.
- [0495] 실시양태 64는 cPD-1에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 scFv의 특이적 결합이 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해하는 실시양태 56의 단리된 핵산을 제공한다.
- [0496] 실시양태 65는 실시양태 48-64 중 어느 하나의 단리된 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0497] 실시양태 66은 벡터가 발현 벡터인 실시양태 65의 벡터를 제공한다.
- [0498] 실시양태 67은 벡터가 DNA 벡터, RNA 벡터, 플라스미드, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 및 레트로바이러스 벡터로 이루어진 군으로부터 선택되는, 실시양태 65 또는 66의 벡터를 제공한다.
- [0499] 실시양태 68은 실시양태 48-64 중 어느 하나의 단리된 핵산 또는 실시양태 65-67 중 어느 하나의 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0500] 실시양태 69는 숙주 세포가 진핵생물 또는 원핵생물 기원의 것인, 실시양태 68의 숙주 세포를 제공한다.
- [0501] 실시양태 70은 숙주 세포가 포유동물 기원의 것인, 실시양태 68 또는 69의 숙주 세포를 제공한다.
- [0502] 실시양태 71은 숙주 세포가 박테리아 기원의 것인, 실시양태 68 또는 69의 숙주 세포를 제공한다.
- [0503] 실시양태 72는 숙주 세포가 중국 햄스터 난소 세포인, 실시양태 68-70 중 어느 하나의 숙주 세포를 제공한다.
- [0504] 실시양태 73은 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 갯과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 실시양태 46의 이중특이적 분자, 또는 실시양태 47의 면역접합체, 및 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.
- [0505] 실시양태 74는 정맥내 투여를 위해 제형화된 실시양태 73의 약학적 조성물을 제공한다.
- [0506] 실시양태 75는 피하 투여를 위해 제형화된 실시양태 73의 약학적 조성물을 제공한다.
- [0507] 실시양태 76은 중앙내 투여를 위해 제형화된 실시양태 73의 약학적 조성물을 제공한다.
- [0508] 실시양태 77은 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 갯과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 실시양태 46의 이중특이적 분자, 실시양태 47의 면역접합체, 또는 실시양태 73의 약학적 조성물, 및 사용을 위한 설명서를 포함하는 키트를 제공한다.
- [0509] 실시양태 78은 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 갯과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 실시양태 46의 이중특이적 분자, 또는 실시양태 47의 면역접합체, 또는 실시양태 73의 약학적 조성물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 T 세포 증식을 증가시키고 T 세포 소진을 감소시키기 위한 방법을 제공한다.
- [0510] 실시양태 79는 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 갯과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 실시양태 46의 이중특이적 분자, 또는 실시양태 47의 면역접합체, 또는 실시양태 73의 약학적 조성물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 IFN γ 생성을 증가시키기 위한 방법을 제공한다.

- [0511] 실시양태 80은 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 갯과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 실시양태 46의 이중특이적 분자, 또는 실시양태 47의 면역접합체, 또는 실시양태 73의 약학적 조성물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에 서 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1) 신호전달 경로를 억제하기 위한 방법을 제공한다.
- [0512] 실시양태 81은 대상체가 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)을 갖는, 실시양태 78-80 중 어느 하나의 방법을 제공한다.
- [0513] 실시양태 82는 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 갯과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 실시양태 46의 이중특이적 분자, 또는 실시양태 47의 면역접합체, 또는 실시양태 73의 약학적 조성물을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에 서 질환 또는 병태를 치료하기 위한 방법을 제공한다.
- [0514] 실시양태 83은 질환 또는 병태가 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)을 포함하는, 실시양태 82의 방법을 제공한다.
- [0515] 실시양태 84는 하나 이상의 추가적인 치료제 (예를 들어, 화학 요법제) 또는 중재술을 투여하는 것을 추가로 포함하는, 실시양태 78-83 중 어느 하나의 방법을 제공한다.
- [0516] 실시양태 85는 암이 갯과 프로그램화 사멸 단백질 1 (cPD-1) 신호전달 경로와 관련되는, 실시양태 81, 83, 또는 84 중 어느 하나의 방법을 제공한다.
- [0517] 실시양태 86은 cPD-1 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)에 대한 리간드가 대상체의 암 세포에서 발현되는, 실시양태 85의 방법을 제공한다.
- [0518] 실시양태 87은 cPD-1이 대상체의 면역 세포에서 발현되는, 실시양태 80-86 중 어느 하나의 방법을 제공한다.
- [0519] 실시양태 88은 면역 세포가 T 세포 (예를 들어, 활성화된 T 세포), B 세포, 자연 살해 (NK) 세포, 조절 T 세포, 대식세포, 수지상 세포 (DC), 또는 중앙-침윤 림프구를 포함하는, 실시양태 87의 방법을 제공한다.
- [0520] 실시양태 89는 암이 흑색종 (예를 들어, 전이성 악성 흑색종), 전립선암 (예를 들어, 호르몬 불응성 전립선 선암종), 두경부암 (예를 들어, 두경부의 편평 세포 암종), 자궁경부암, 갑상선암, 교모세포종, 신경교종, 백혈병, 림프종 (예를 들어, B 세포 림프종), 부신암, AIDS-관련 암, 포상 연부 육종, 성상 세포 종양, 골암, 뇌척수암, 전이성 뇌종양, 경동맥 소체 종양, 연골육종, 척삭종, 혈액소성 신세포 암종, 투명 세포 암종, 피부 양성 섬유성 조직구종, 결합조직형성 소원형 세포 종양, 상의세포종, 유잉 종양, 골격의 점액성 연골육종, 골성 불완전 섬유생성증, 뼈의 섬유성 이형성증, 담낭 또는 담관 암, 임신 용모성 질환, 생식 세포 종양, 혈액 악성 종양, 간세포 암종, 섬 세포 종양, 카포시 육종, 신장암, 지방종/양성 지방종성 종양, 지방육종/악성 지방종성 종양, 수모세포종, 수막종, 메르켈 세포 암종, 다발성 내분비 종양증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 신경 모세포종, 신경내분비 종양, 유두상 갑상선 암종, 부갑상선 종양, 소아암, 말초 신경초 종양, 갈색세포종, 뇌하수체 종양, 전립선암, 후방 포도막 흑색종, 희귀 혈액학적 장애, 신장 전이암, 횡문근양 종양, 횡문근육종, 육종, 연조직 육종, 편평 세포암, 위암, 활막 육종, 고환암, 흉선 암종, 흉선종, 갑상선 전이암, 자궁암, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 실시양태 81-88 중 어느 하나의 방법을 제공한다.
- [0521] 실시양태 90은 암이 자궁경부암, 폐암, 간암, 난소암, 흑색종 및 편평 세포 암종을 포함하는 피부암, 결장암, 방광암, 유방암, 신장암, 식도암, 위암, 췌장암, 두부암, 및 경부암을 포함하는, 실시양태 81-88 중 어느 하나의 방법을 제공한다.
- [0522] 실시양태 91은 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 갯과 항체, scFv, 이중특이적 분자, 또는 면역접합체가 cPD-1에 특이적으로 결합하는, 실시양태 78-90 중 어느 하나의 방법을 제공한다.
- [0523] 실시양태 92는 cPD-1에의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 갯과 항체, scFv, 이중특이적 분자, 또는 면역접합체의 결합이 cPD-1과 cPD-1의 리간드 (예를 들어, 갯과 프로그램화 사멸-리간드 1)의 상호작용을 방해하는, 실시양태 91의 방법을 제공한다.
- [0524] 실시양태 93은 대상체가 갯과인 실시양태 78-92 중 어느 하나의 방법을 제공한다.
- [0525] 실시양태 94는 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 갯과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 실시양태 46의 이중특이적 분자, 또는 실시양태 47의 면역접합체, 및 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 또는 희석제를 혼합하는 것을 포함하는, 실시양태 73의 실

시양태의 약학적 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.

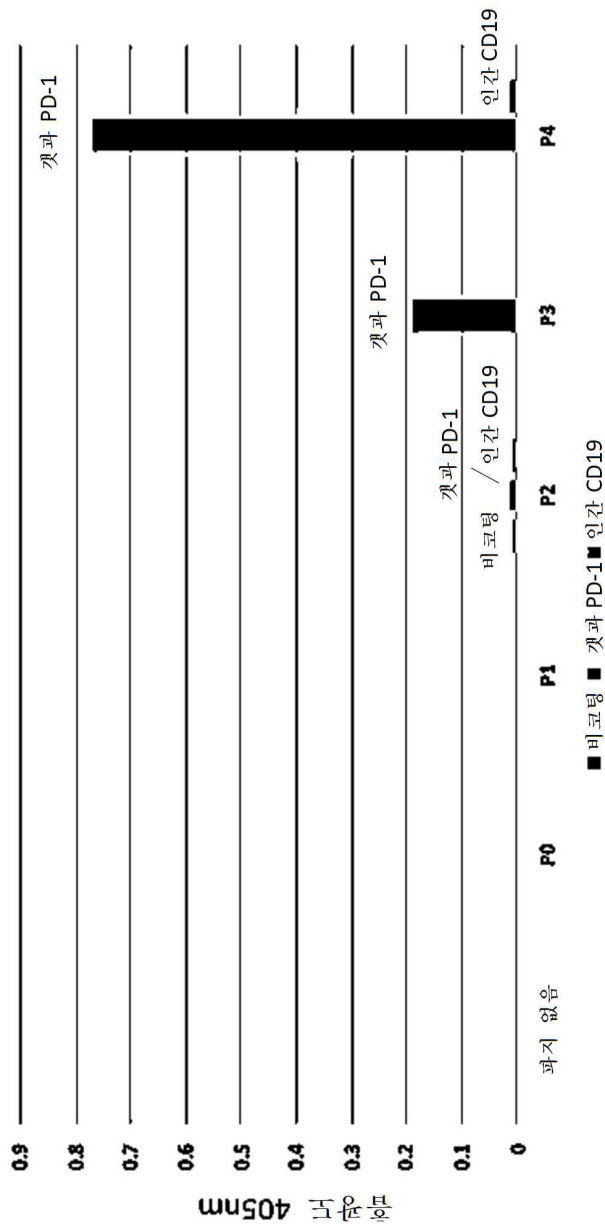
- [0526] 실시양태 95는 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 겟과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 실시양태 46의 이중특이적 분자, 또는 실시양태 47의 면역접합체, 및 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 또는 희석제를 혼합하는 것을 포함하는, 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)을 치료하기 위한 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.
- [0527] 실시양태 96은 암이 흑색종 (예를 들어, 전이성 악성 흑색종), 전립선암 (예를 들어, 호르몬 불응성 전립선 선암종), 두경부암 (예를 들어, 두경부의 편평 세포 암종), 자궁경부암, 갑상선암, 교모세포종, 신경교종, 백혈병, 림프종 (예를 들어, B 세포 림프종), 부신암, AIDS-관련 암, 포상 연부 육종, 성상 세포 종양, 골암, 뇌척수암, 전이성 뇌종양, 경동맥 소체 종양, 연골육종, 척삭종, 혈액소성 신세포 암종, 투명 세포 암종, 피부 양성 섬유성 조직구종, 결합조직형성 소원형 세포 종양, 상의세포종, 유잉 종양, 골격외 점액성 연골육종, 골성 불완전 섬유성증, 뼈의 섬유성 이형성증, 담낭 또는 담관 암, 임신 용모성 질환, 생식 세포 종양, 혈액 악성 종양, 간세포 암종, 섬 세포 종양, 카포시 육종, 신장암, 지방종/양성 지방종성 종양, 지방육종/악성 지방종성 종양, 수모세포종, 수막종, 메르켈 세포 암종, 다발성 내분비 종양증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 신경 모세포종, 신경내분비 종양, 유두상 갑상선 암종, 부갑상선 종양, 소아암, 말초 신경초 종양, 갈색세포종, 뇌하수체 종양, 전립선암, 후방 포도막 흑색종, 희귀 혈액학적 장애, 신장 전이암, 횡문근양 종양, 횡문근육종, 육종, 연조직 육종, 편평 세포암, 위암, 활막 육종, 고환암, 흉선 암종, 흉선종, 갑상선 전이암, 자궁암, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 실시양태 95의 방법을 제공한다.
- [0528] 실시양태 97은 암이 자궁경부암, 폐암, 간암, 난소암, 흑색종 및 편평 세포 암종을 포함하는 피부암, 결장암, 방광암, 유방암, 신장암, 식도암, 위암, 췌장암, 두부암, 및 경부암을 포함하는, 실시양태 95의 방법을 제공한다.
- [0529] 실시양태 98은 약물로서 사용하기 위한, 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 겟과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 실시양태 46의 이중특이적 분자, 실시양태 47의 면역접합체, 또는 실시양태 73의 약학적 조성물을 제공한다.
- [0530] 실시양태 99는 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)의 치료용 약물로서 사용하기 위한, 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 겟과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 실시양태 46의 이중특이적 분자, 실시양태 47의 면역접합체, 또는 실시양태 73의 약학적 조성물을 제공한다.
- [0531] 실시양태 100은 약물의 제조를 위한, 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 겟과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 실시양태 46의 이중특이적 분자, 실시양태 47의 면역접합체, 또는 실시양태 73의 약학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0532] 실시양태 101은 암, 패혈증 또는 패혈성 쇼크, 또는 만성 감염 (예를 들어, 바이러스 감염)의 치료용 약물의 제조를 위한, 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 겟과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv, 실시양태 46의 이중특이적 분자, 실시양태 47의 면역접합체, 또는 실시양태 73의 약학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0533] 실시양태 102는 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 겟과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv를 제조하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 실시양태 68-72 중 어느 하나의 숙주 세포를 배양시키는 것을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0534] 실시양태 103은 실시양태 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 실시양태 39-41 중 어느 하나의 겟과 항체, 또는 실시양태 42-45 중 어느 하나의 scFv의 발현 및 분비를 가능하게 하기에 충분한 조건하에 세포 배양 배지에서 실시양태 68-72 중 어느 하나의 숙주 세포를 인큐베이션시키는 것을 추가로 포함하는, 실시양태 102의 방법을 제공한다.
- [0535] 기타 실시양태
- [0536] 본원에서 변수의 임의의 정의에 있는 구성요소의 목록의 언급은 열거된 구성요소의 임의의 단일 구성요소 또는 조합 (또는 하위조합)으로서 이 변수의 정의를 포함한다. 본원의 실시양태의 언급은 임의의 단일 실시양태로서 또는 임의의 다른 실시양태 또는 이의 일부와의 조합으로 이 실시양태를 포함한다.

[0537]

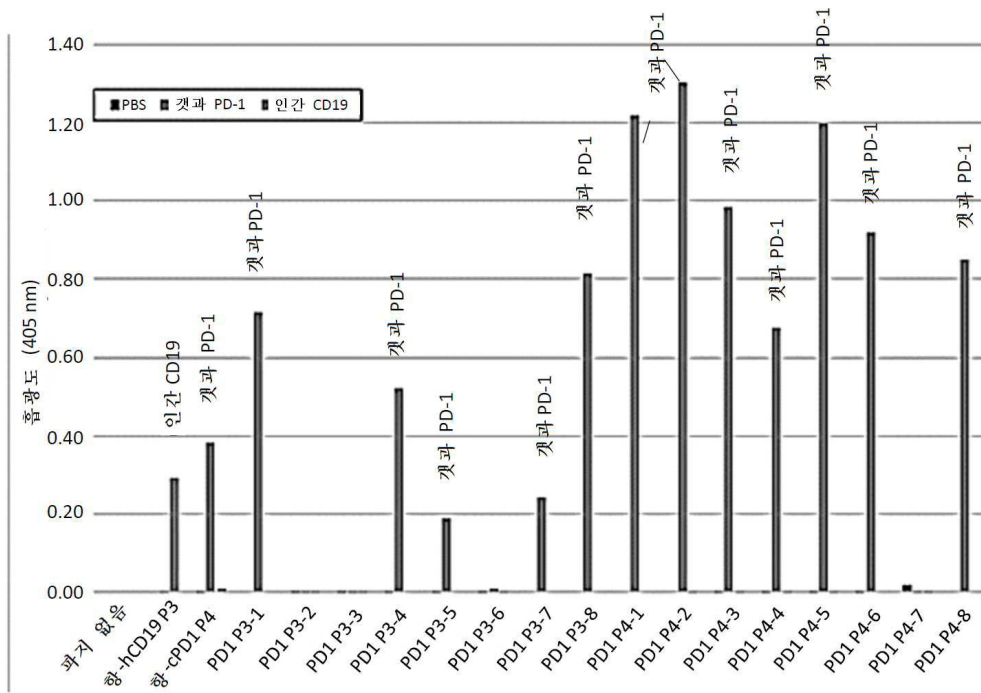
본원에 인용된 각각의 그리고 모든 특허, 특허 출원 및 간행물의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 본 개시내용이 특정 실시양태를 참조하여 개시되지만, 이 개시내용의 다른 실시양태 및 변형예가 본 개시내용의 실제 사상 및 범위를 벗어나지 않고 본 기술분야의 당업자에 의해 고안될 수 있음은 자명하다. 첨부된 청구항은 모든 이러한 실시양태 및 균등한 변형예를 포함하도록 해석하는 것으로 의도된다.

도면

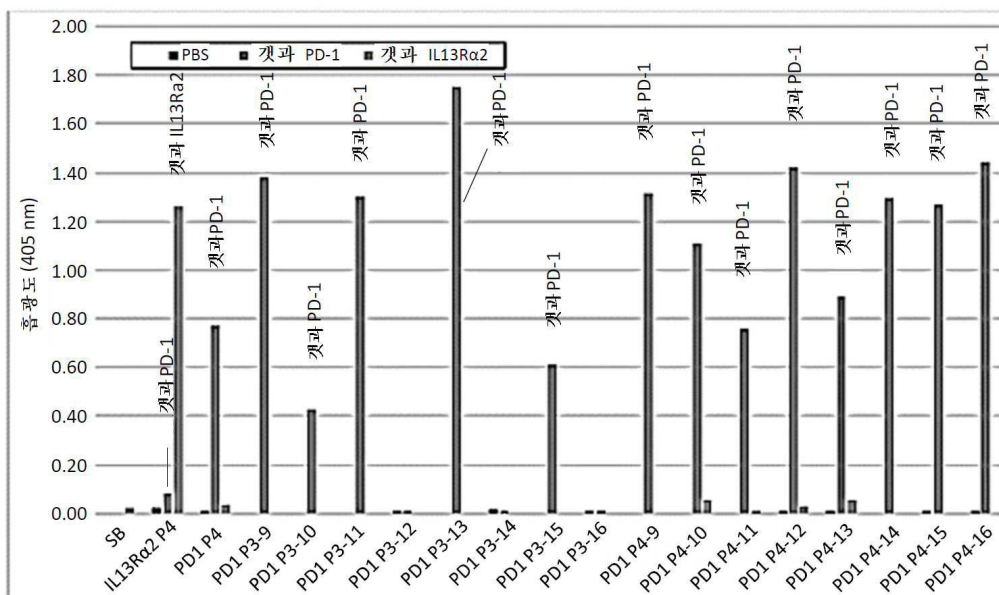
도면1



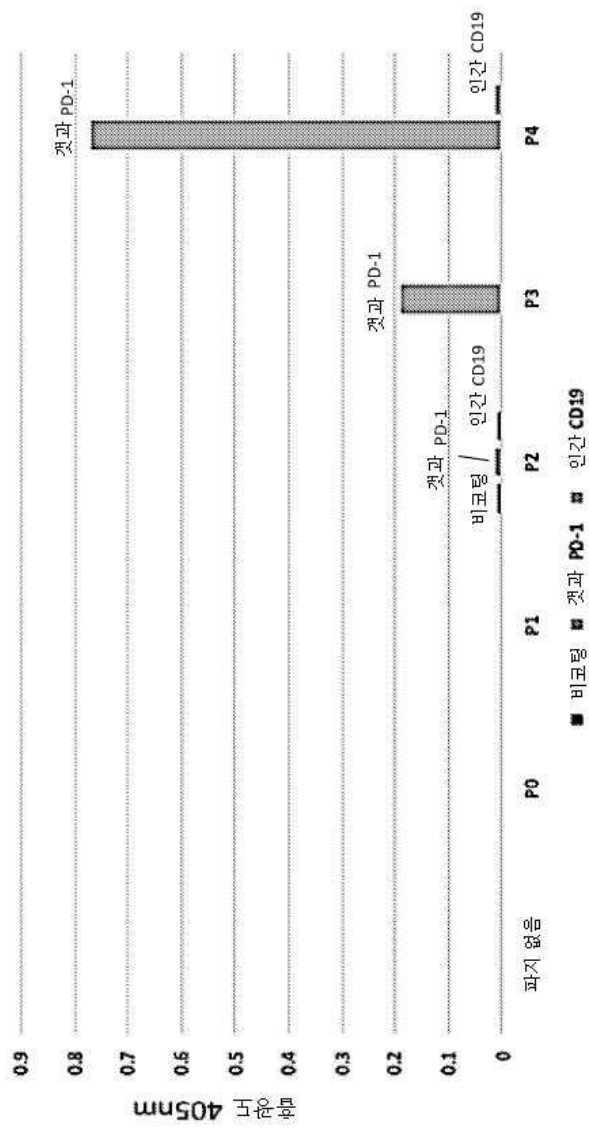
도면2a



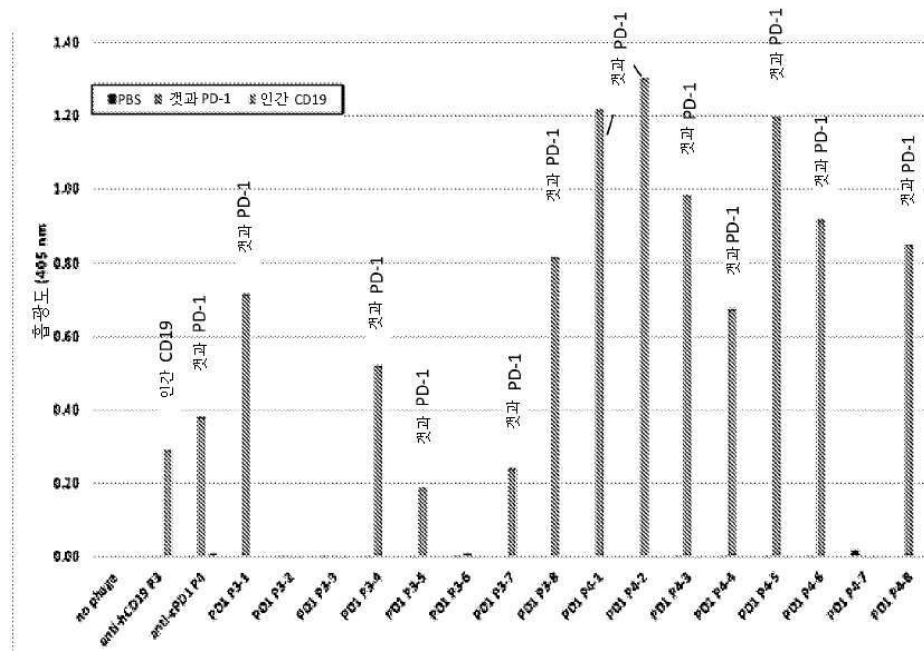
도면2b



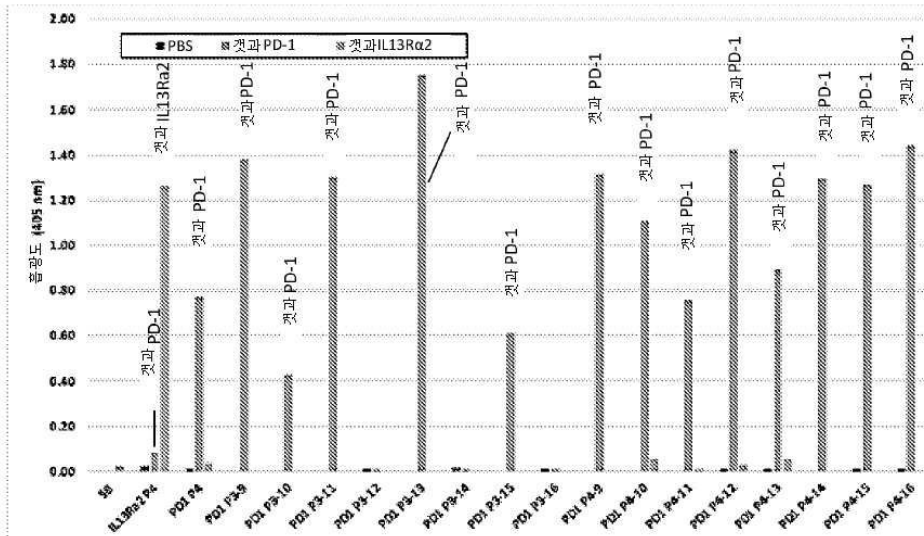
도면 1a



도면2aa

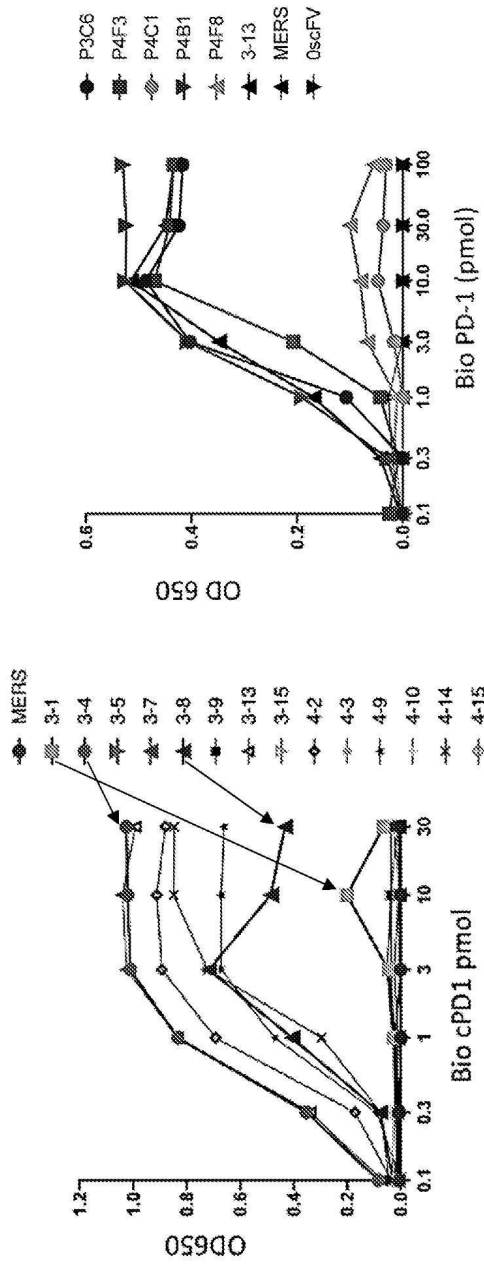


도면2bb

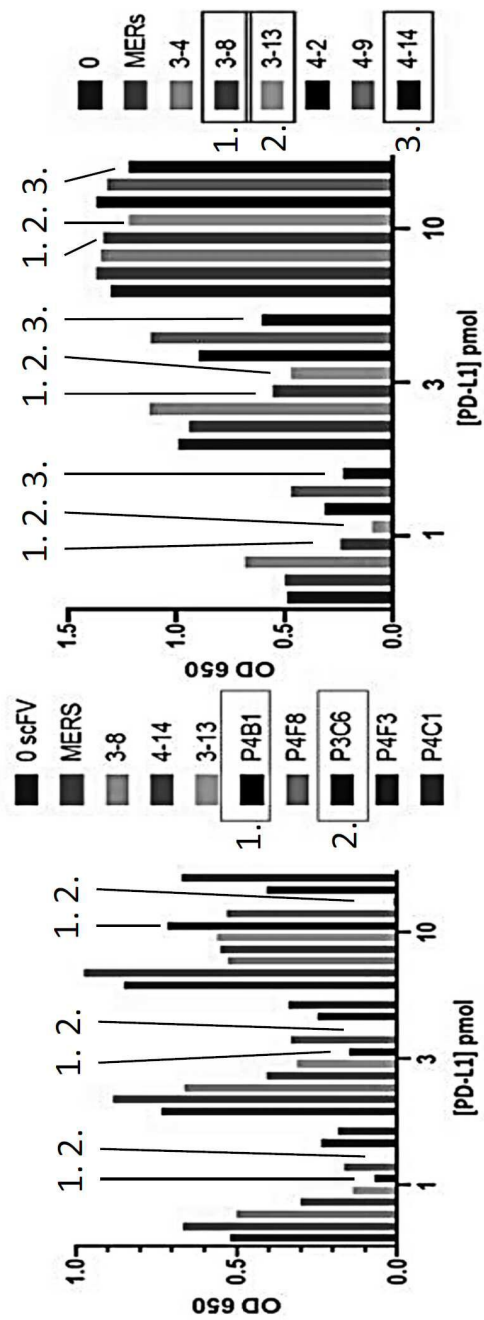


도면3

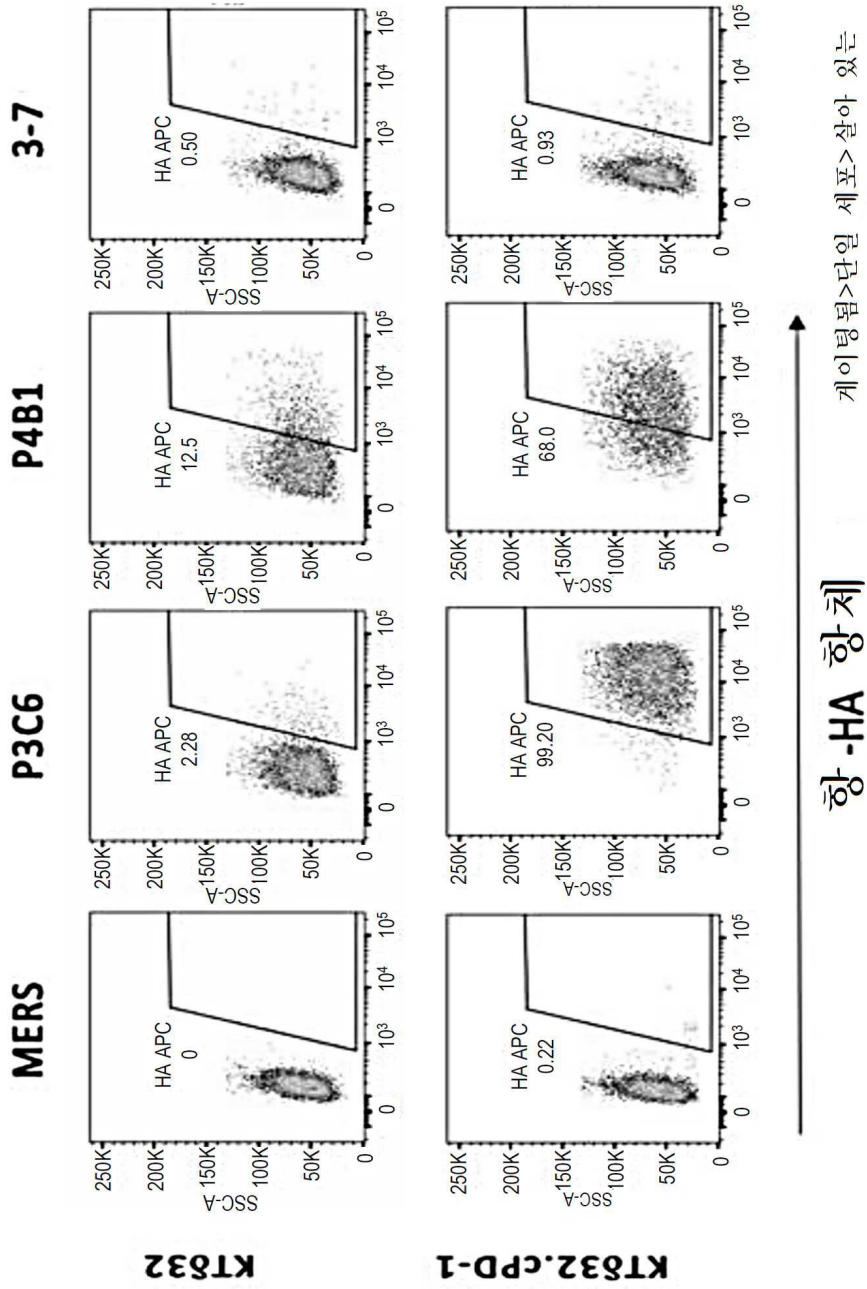
고처리량 스크리닝 (176개의 양성 클론)
식별된 8개의 독특한 클론 : 5개가 가용성 scFv로서
생성됨



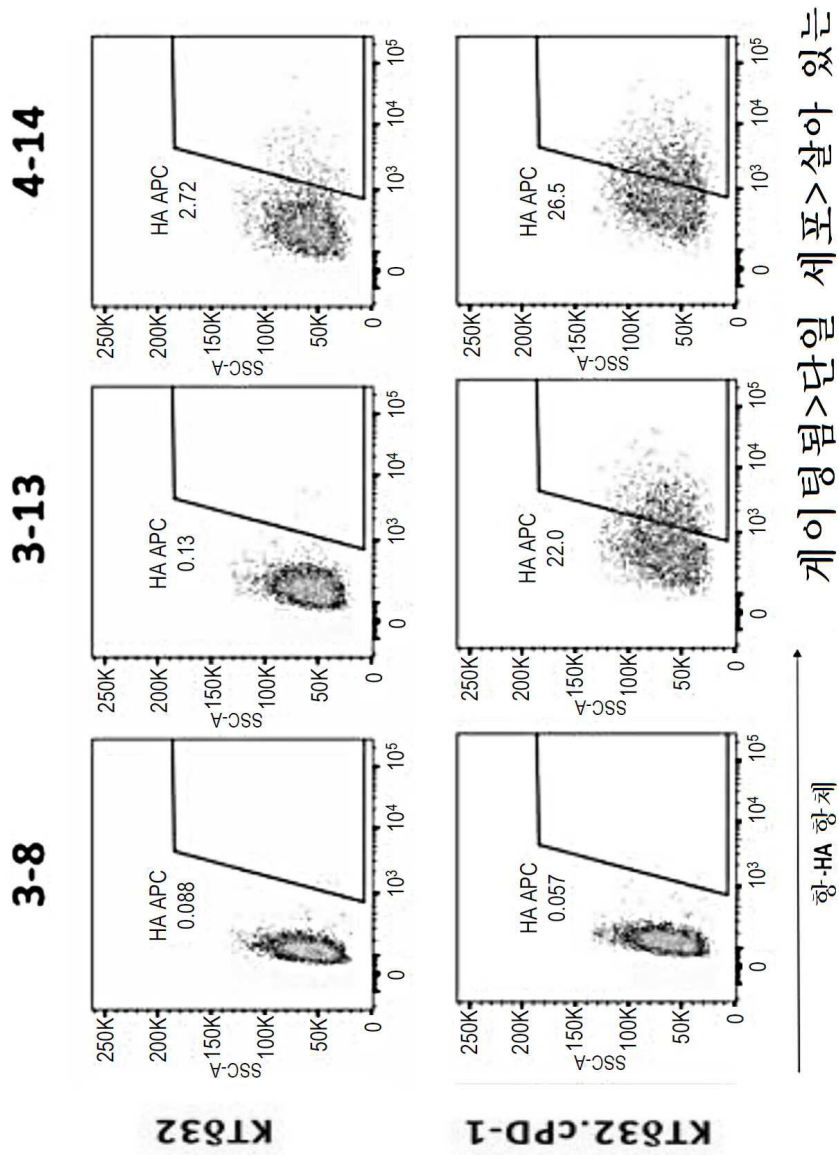
도면4



도면5aa

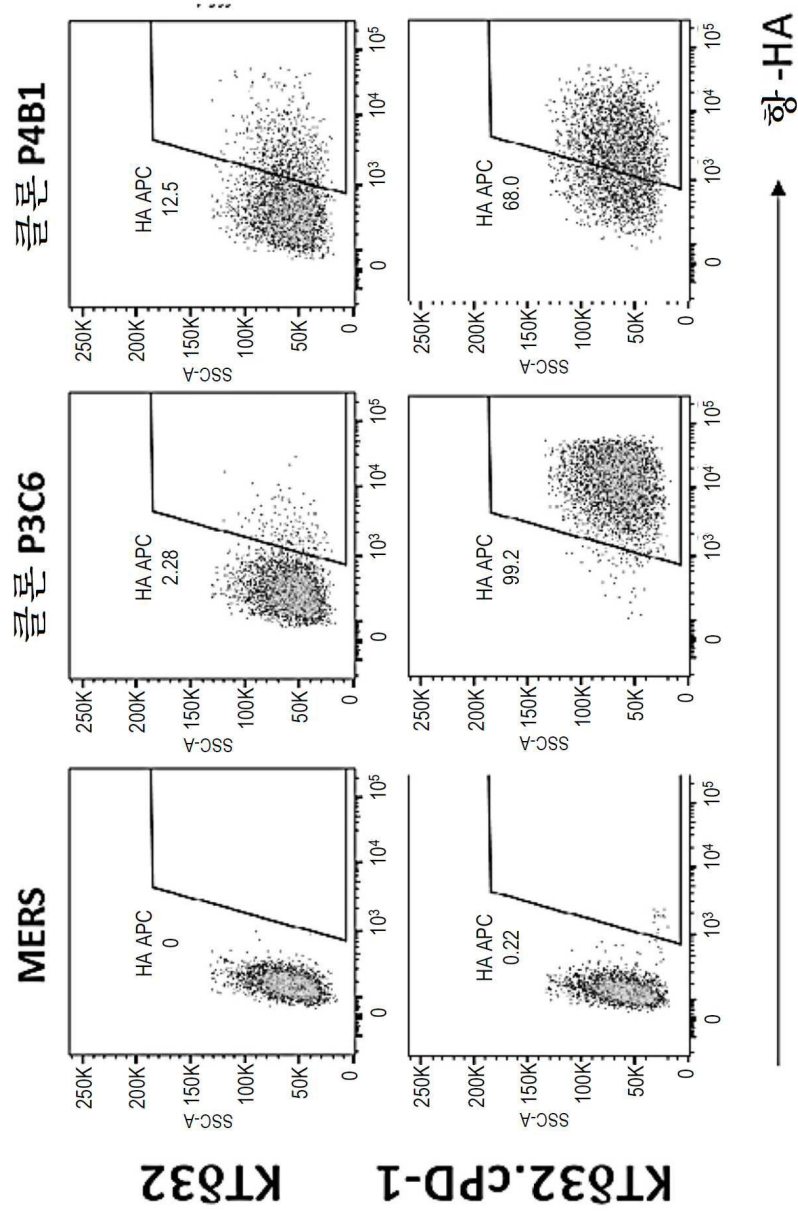


도면5ab

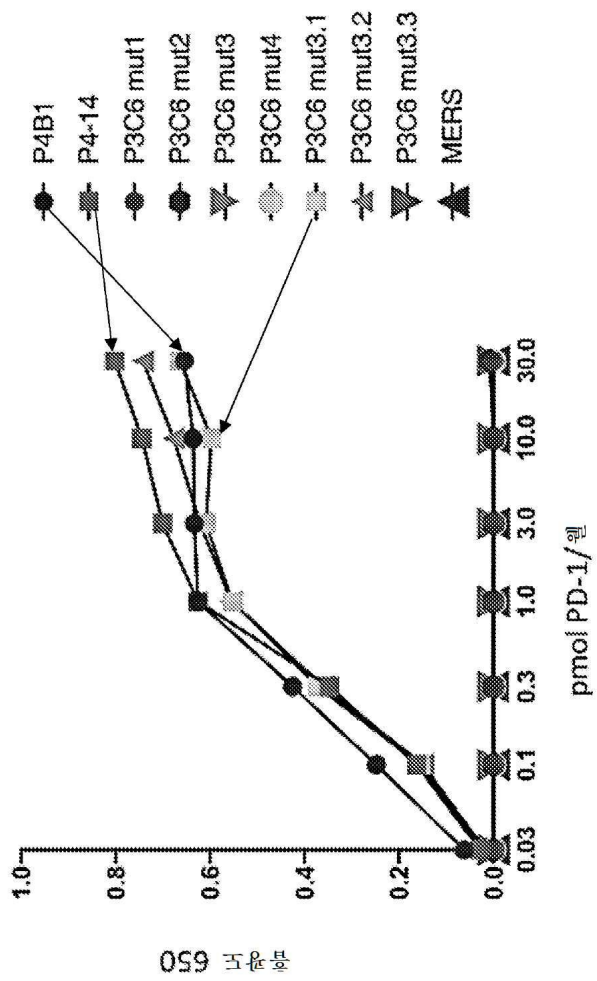


도 5 계속

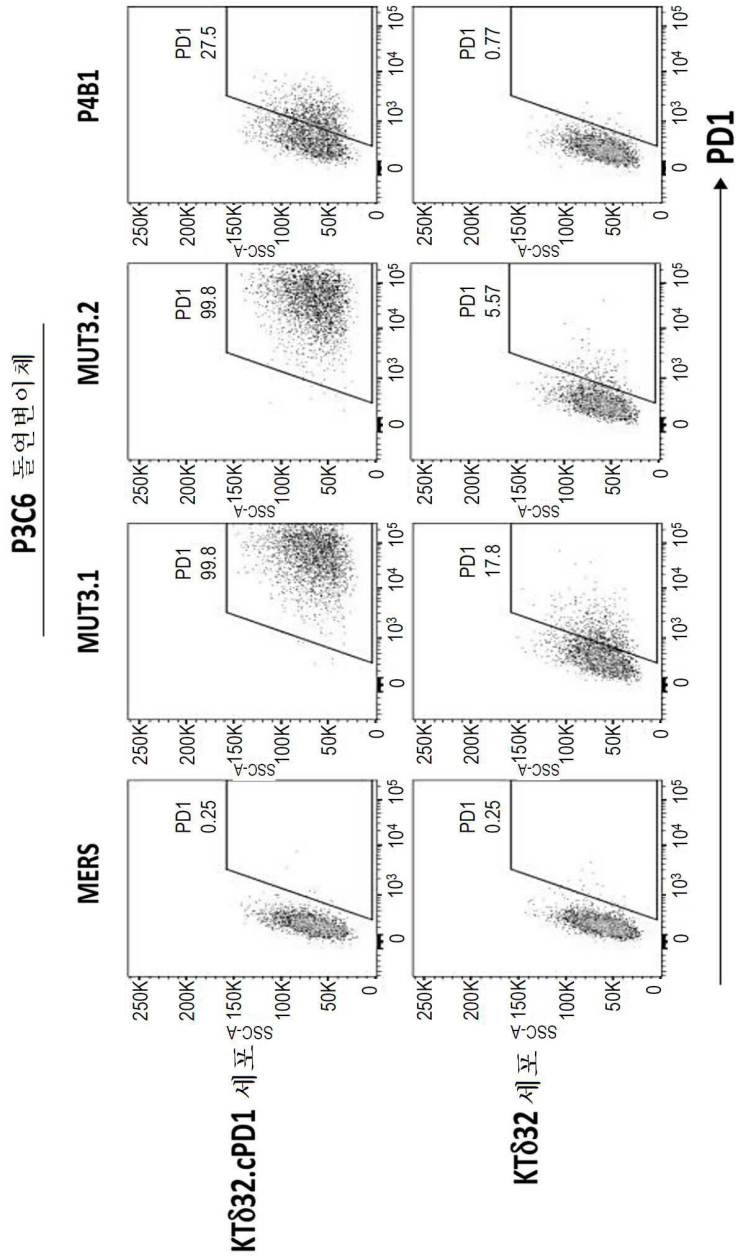
도면6



도면7



도면8



도면9a

새로운 PD-1 P3C6 클론 : 형질감염으로부터의 IgG의 수율						
가변 중쇄 프레임워크 돌연변이체의 분석						
TF #31						
클론	이소형	IgG클래스	돌연변이체	ug/ul	합계 수율 ug	수율 / 플랫폼 ug
P3C6	κγ	IgG4 HA	mut1	0.04	6	6
P3C6	κγ	IgG4 HA	mut2	0.03	4.3	4.3

도면9b

새로운 PD-1 클론: 형질감염으로부터의 IgG의 수율 가변 중쇄 프레임워크 돌연변이체의 분석						
표적	클론	이소형	TF #34		합계 수율 ug	수율/ 플레이트ug
			IgG 클래스	돌연변이체		
PD-1	P3C6	kg	IgG4 HA	mut3.1	0.38	57
PD-1	P3C6	kg	IgG4 HA	mut3.2	0.36	58
PD-1	P3C6	kg	IgG4 HA	mut3.3	0.33	34.6
PD-1	P3C6	kg	IgG4 HA	mut4	0.24	36
PD-1	P3C6	kg	IgG4 HA	mut5	0	0

도면10aa

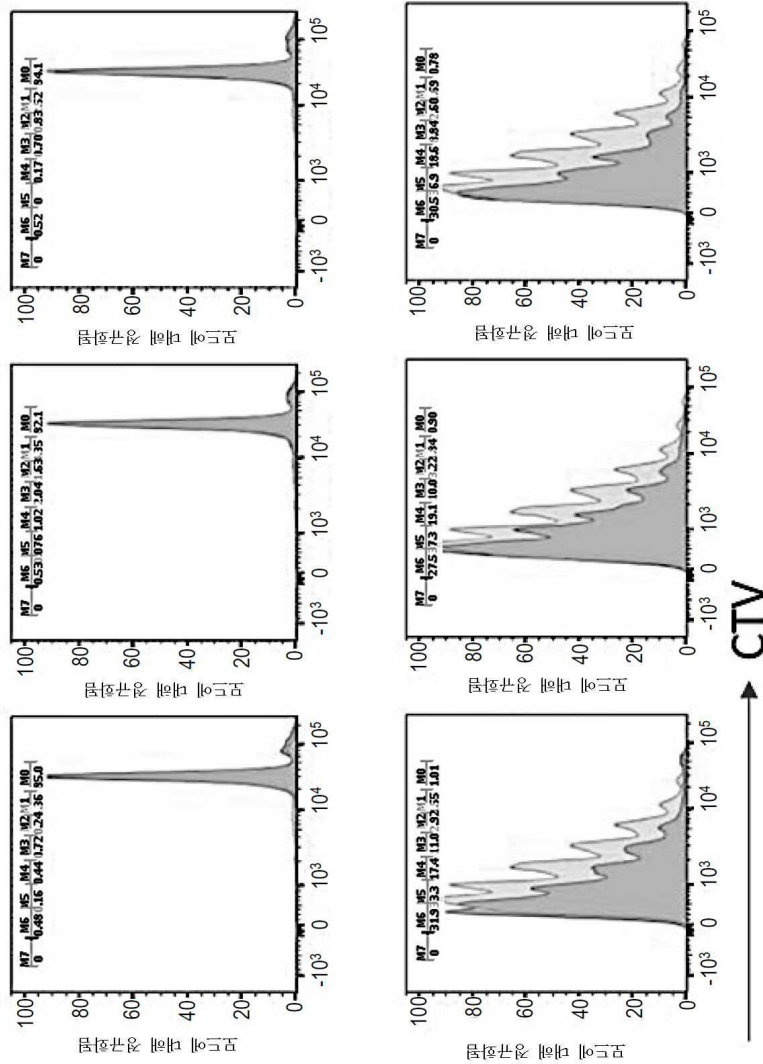
밝은 회색 히스토그램 - MERS 항체
어두운 회색 히스토그램 - 항-PD1 갯과 항체

P3C6 돌연변이체

P4B1

3.1

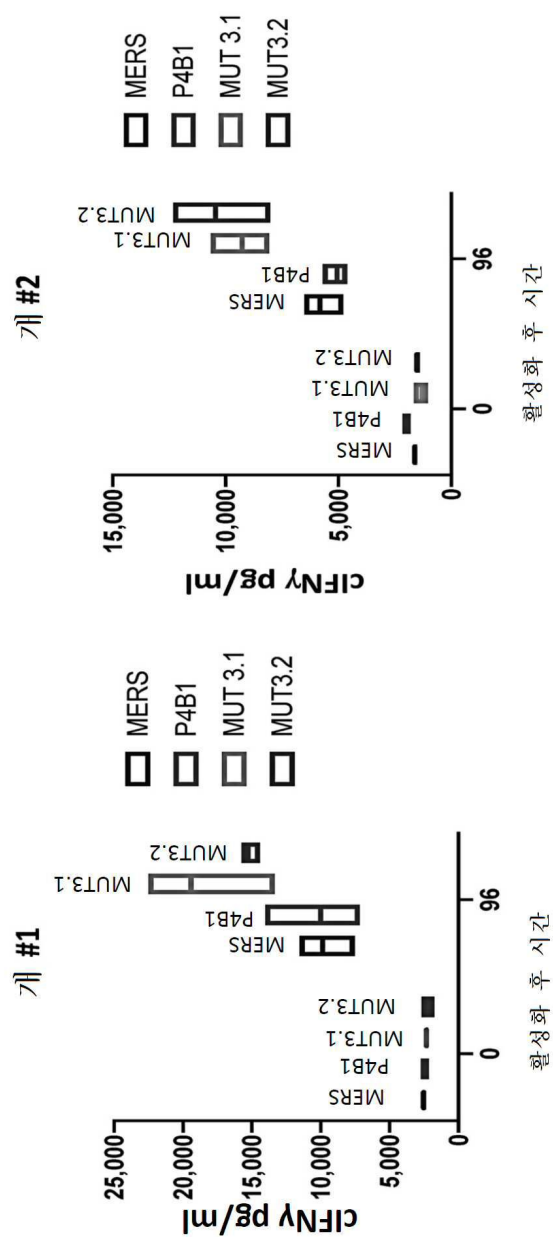
3.2



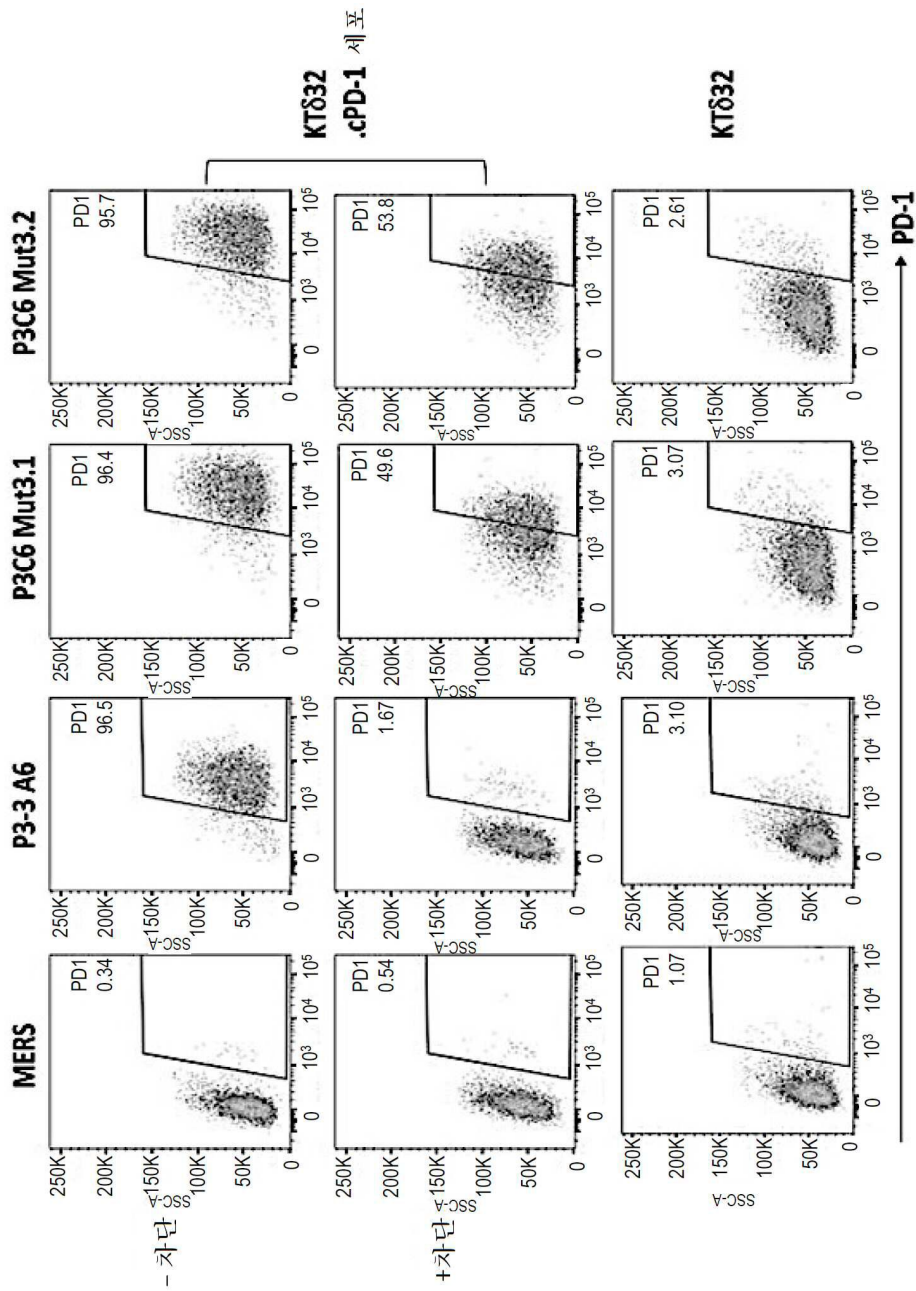
도면10ab

NEMO	96 시간					
	MERS	P4B1	3-1	3-2		
R.F.%		87	84	87	87	87
증식 능력		13	18	17	17	18
사이클의 수		3.7	4.17	4.09	4.17	
에측된 배수 증가		11	15	15	15	16

도면11



도면12



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.