(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0097991
(43) 공개일자 2025년06월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2025-7020933(분할)
(22) 출원일자(국제) 2018년06월05일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2019-7038313
원출원일자(국제) 2018년06월05일
심사청구일자 2021년05월26일
(85) 번역문제출일자 2025년06월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/036026
(87) 국제공개번호 WO 2018/226671
국제공개일자 2018년12월13일
(30) 우선권주장
62/516,071 2017년06월06일 미국(US)

(71) 출원인
주식회사 에스티큐브앤컴퍼니
서울특별시 강남구 삼성로96길 12 ,7층(삼성동,정석빌딩)
(72) 발명자
유, 스테픈 성한
미국 버지니아주 20120 센터빌 쥴 스타 드라이브 5233
청, 에즈라 명, 철
미국 매릴랜드주 20878 노스 포토맥 치솜 랜딩 웨이 14740
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 광장리앤고

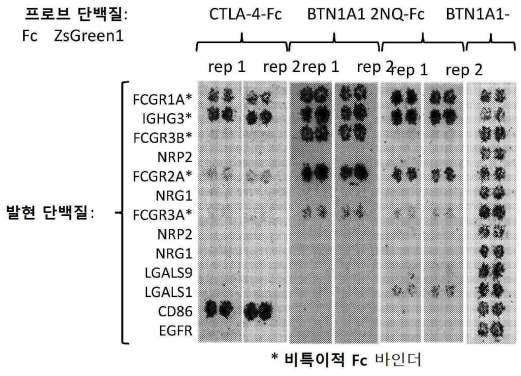
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 **BTN1A1 또는 BTN1A1-리간드에 결합하는 항체 및 분자를 사용하여 암을 치료하는 방법**

(57) 요 약

본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자, 예컨대, 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 항체를 사용하여 암을 치료하는 방법을 제공한다. 본원은 또한 BTN1A1 리간드, 예컨대, 갈렉틴-1, 갈렉틴-9, 뉴로필린-2, 및 B- 및 T- 림프구 약화인자를 제공한다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
(72) 발명자
봉, 용-식
미국 메릴랜드주 21702 프레드릭 미주리 씨티. 118
김, 용-수
미국 매릴랜드주 록빌 롤린스 에이브이. 267

명 세 서

청구범위

청구항 1

발명의 설명에 기재된 발명.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 교차 참조**

[0002] 본 출원은 2017년 6월 6일자로 출원된 미국 가특허출원 제62/516,071호의 이점을 주장하며; 그 개시 내용은 그 전문이 본원에 참조로 원용된다.

[0003] **서열 목록에 대한 참조**

[0004] 본 출원은 2018년 6월 4일에 생성된 명칭이 13532-020-228_ST25.txt이고 40,325 바이트의 크기를 갖는 서열 목록의 컴퓨터 판독 가능 형태(CRF) 사본과 함께 출원되며; 이는 그 전문이 본원에 참조로 원용된다.

[0005] 1. 분야

[0006] 본 발명은 일반적으로 암 면역학 및 분자 생물학 분야에 관한 것이다. 본원은 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1-리간드 항체 또는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자를 사용하여 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 항체는 BTN1A1-BTN1A1 리간드 상호 작용을 방해할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-BTN1A1 리간드 항체는 항-갈렉틴 1(GAL-1) 항체, 항-갈렉틴 9(GAL-9) 항체, 항-뉴로필린-2(NRP-2) 항체 또는 항-B- 및 T-림프구 약화인자(BTLA) 항체를 포함한다.

배 경 기 술

[0007] 2.배경기술

[0008] 인간 및 다른 포유 동물의 면역계는 감염 및 질환으로부터 이들을 보호한다. 다수의 자극성 및 억제성 리간드 및 수용체는 자가 면역을 제한하면서 감염에 대한 면역 반응을 최대화하기 위한 엄격한 제어 시스템을 제공한다. 최근에, 면역 반응을 조정하는 치료제, 예컨대, 항-PD1 또는 항-PDL1 항체가 일부 암 치료에 효과적인 것으로 밝혀졌다. 그러나, 특히 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암에 대한, 면역계를 조정함으로써 질환을 안전하고 효과적으로 치료하는 새로운 치료제의 개발은 시급한 요구로 남아있다. 본원에 기술된 방법은 이러한 요구를 충족시키고 다른 관련 이점을 제공한다.

발명의 내용

[0009] 3. 요약

[0010] 일 양태에서, 본원은 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자를 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, 갈렉틴-1(GAL-1), 갈렉틴-9(GAL- 9), NRP-2(Nrp-2), 또는 B- 및 T-림프구 약화인자(BTLA)의 결합을 억제한다.

[0011] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 GAL-1에 대한 BTN1A1의 결합을 억제한다.

[0012] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 GAL-9에 대한 BTN1A1의 결합을 억제한다.

[0013] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 NRP-2에 대한 BTN11A1의 결합을 억제한다.

[0014] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTLA에 대한 BTN1A1의 결합을 억제한다.

[0015] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 2개 이상의 BN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA를 억제한다.

[0016] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1의 세포 외 도메인(ECD)에 면역특이적으로 결합한다.

[0017] 또 다른 양태에서, 본원은 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자를 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제한다.

[0018] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-1에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1의 결합을 억제한다.

[0019] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-9에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9의 결합을 억제한다.

[0020] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 NRP-2에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 NRP-2의 결합을 억제한다.

[0021] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTLA에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 BTLA의 결합을 억제한다.

[0022] 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1의 활성 또는 시그널링(signaling), 또는 BTN1A1 및 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 복합체의 활성 또는 시그널링을 조정한다.

[0023] 일부 실시양태에서, 분자는 1μM 이하의 IC50으로 BTN1A1 리간드에 대한 BTN1A1의 결합을 억제한다.

[0024] 일부 실시양태에서, 분자는 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 50nM 이하, 10nM 이하 또는 5nM 이하의 IC50으로 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제한다.

[0025] 일부 실시양태에서, 분자는 T-세포 활성을 조정할 수 있다.

[0026] 일부 실시양태에서, T-세포는 $CD8^+$ 세포이다.

[0027] 일부 실시양태에서, 분자는 T-세포 활성화 또는 T-세포 증식을 증가시킬 수 있다.

[0028] 일부 실시양태에서, 분자는 T-세포 아폽토시스(apoptosis)를 억제할 수 있다.

[0029] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다.

[0030] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 단량체 BTN1A1보다 이량체 BTN1A1에 우선적으로 결합한다.

[0031] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하의 해리 상수(K_D)로 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합한다.

[0032] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 50nM 이하, 10nM 이하 또는 5nM 이하의 해리 상수(K_D)로 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합한다.

[0033] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1-GAL-1 상호 작용, BTN1A1-GAL-9 상호 작용, BTN1A1-NRP2 상호 작용 또는 BTN1A1-BTLA 상호 작용의 K_D 이하의 K_D로 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합한다.

[0034] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1-GAL-1 상호 작용, BTN1A1-GAL-9 상호 작용, BTN1A1-NRP2 상호 작용 또는 BTN1A1-BTLA 상호 작용의 K_D보다 2배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 15배 이상, 20배 이상, 25배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 또는 50배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합한다.

[0035] 일부 실시양태에서, 분자는 1μM 이하의 IC50으로 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제한다.

[0036] 일부 실시양태에서, 분자는 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 50nM 이하, 10nM 이하 또는 5nM 이하의 IC50으로 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제한다.

[0037] 일부 실시양태에서, BTN1A1 결합, BTN1A1 리간드 결합 또는 BTN1A1 리간드 결합의 억제는 BTN1A1에 대한 공동 면역침전(co-IP), 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정, β-갈락토시다아제 상보성 또는 생물층 간섭계(BLI)로 분석된다.

[0038] 일부 실시양태에서, 분자는 항체이다.

[0039] 일부 실시양태에서, 분자는 모노클로날 항체이다.

[0040] 일부 실시양태에서, 항체는 인간 항체 또는 인간화된 항체이다.

[0041] 일부 실시양태에서, 항체는 IgG, IgM 또는 IgA이다.

[0042] 일부 실시양태에서, 분자는 Fab', $F(ab')_2$, $F(ab')_3$, 1가 scFv, 2가 scFv 또는 단일 도메인 항체이다.

[0043] 일부 실시양태에서, 분자는 재조합적으로 생산된다.

[0044] 다른 양태에서, 본원에 제공된 분자 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0045] 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 비경구 투여용으로 제형화된다.

[0046] 다른 양태에서, 본원은 T-세포를, 본원에 제공된 분자의 유효량과 접촉시키는 단계를 포함하는 T-세포를 활성화시키는 방법을 제공하며, T-세포는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드 결합의 억제를 통해 활성화된다.

[0047] 또 다른 양태에서, 본원은 T-세포를, 본원에 제공된 분자의 유효량과 접촉시켜 T-세포에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제시키는 단계를 포함하는, T-세포 발현 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제하는 방법을 제공한다.

[0048] 일부 실시양태에서, T-세포는 $CD8^+$ 세포이다.

[0049] 일부 실시양태에서, T-세포 활성화는 (i) T-세포 증식 증가, (ii) T-세포 아폽토시스 감소 또는 (iii) 사이토카인 생산 증가를 포함한다.

[0050] 일부 실시양태에서, 사이토카인은 IFNɣ 또는 IL-2이다.

[0051] 또 다른 양태에서, 본원은 본원에 제공된 분자의 치료적 유효량 또는 본원에 제공된 약학 조성물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하되, 분자는 대상체에서 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제하는, 대상체의 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0052] 또 다른 양태에서, 본원은 본원에 제공된 분자의 치료적 유효량 또는 본원에 제공된 약학 조성물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하되, 분자는 대상체에서 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제하는, BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드 결합을 억제하는 방법을 제공한다.

[0053] 일부 실시양태에서, 방법은 고용량 방사선 요법을 환자에 적용(administering)하는 단계를 추가로 포함한다.

[0054] 일부 실시양태에서, 암은 폐암, 전립선암, 췌장암, 난소암, 간암, 두경부암, 유방암 및 위암을 포함할 수 있다.

[0055] 일부 실시양태에서, 암은 폐암을 포함할 수 있다.

[0056] 일부 실시양태에서, 폐암은 비소세포 폐암(NSCLC)이다.

[0057] 일부 실시양태에서, NSCLC는 편평 NSCLC이다.

[0058] 일부 실시양태에서, 암은 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암이다.

[0059] 일부 실시양태에서, 암은 유방암 또는 폐암이다.

[0060] 일부 실시양태에서, 암은 유선 암종 또는 루이스 폐 암종이다.

[0061] 일부 실시양태에서, 분자는 STC810이 아니거나 국제특허출원 PCT/US16/64436호에 기술된 바와 같은 STC810의 CDR 또는 VH 또는 VL 아미노산 서열을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0062] 다음 도면은 본 명세서의 일부를 형성하며 본 발명의 특정 실시양태를 추가로 설명하기 위해 포함된다. 본 발명은 본원에 제시된 특정 실시양태의 상세한 설명과 함께 이들 도면 중 하나 이상을 참조하여 더 잘 이해될 수 있

다.

도 1 - BTN1A1 바인더(binder)로서 갈렉틴-1, 갈렉틴-2 및 뉴로필린-2의 식별. 도 1은 BTN1A1 리간드로서 갈렉틴-1(GAL-1, "LGALS1"), 갈렉틴-2(GAL-2, "LGALS9") 및 뉴로필린-2(NRP-2)를 재확인하기 위한 예시적인 원형 질막 단백질 어레이 실험의 결과를 나타내는 이미지를 도시한다. 지시된 발현된 단백질의 발현 벡터를 각각 2개의 슬라이드("rep1", "rep2")에 2회 중복(in duplicates) 스팟팅하고 HEK293T 세포 내로 역 형질주입시켰다. 이어서, 형질주입된 세포를 고정시키고 CTLA-4-Fc, (비글리코실화된) BTN1A1-2NQ-Fc, (글리코실화된) BTN1A1-Fc 또는 이차 항체 단독 (CD86/ZsGreen1 양성 대조군 벡터를 발현하는 세포)으로 탐침하였다. 형광 이미징을 사용하여 형광 표지된 이차 항체를 첨가한 후, 발현된 단백질에 대한 프로브 단백질의 결합을 검출하였다.

도 2a-c - 면역침전에 의한 BTN1A1 리간드로서 GAL-1 및 GAL-9의 검증. 도 2a는 면역침전에 사용된 BTN1A1 및 BTN1A1-리간드(GAL-1 또는 GAL-9) 단백질 구조의 개략도를 도시한다. BTN1A1은 세포 외 도메인(ECD), 막관통 도메인(TM), 세포질 단백질 도메인(CPD) 및 Flag-태그를 포함하였다. BTN1A1-리간드는 Myc- 및 Flag-태그를 포함하였다. 도 2b는 면역침전 실험을 나타내는 그래프를 도시한다. BTN1A1 또는 BTN1A1-리간드를 항-BTN1A1 항체 또는 항-Myc 항체로 코팅된 비드(bead)를 사용하여 HEK293T 세포 용해물로부터 가라앉혔다(pulled down). 도 2c는 면역침전 후 웨스턴 블랏의 이미지를 도시한다. 별표는 BTN1A1 밴드(*) 또는 BTN1A1-리간드 밴드(**)를 나타낸다.

도 3a-d - 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의한 BTN1A1-GAL-1 상호 작용의 분석. 도 3a-d는 예시적인 SPR 분석의 센소그램을 도시한다. GAL-1 단백질을 고정화된 글리코실화된 야생형 BTN1A1-Fc(도 3a), 비글리코실화된 BTN1A1-2NQ-Fc (도 3b), 글리코실화된 야생형 BTN2A1 (도 3c), 또는 글리코실화된 야생형 BTN3A2 (도 3d)을 센서칩 상에 주입하였다.

도 4a 및 4b - BTN1A1 리간드로서 BTLA의 확인. 도 4a는 β-갈락토시다아제(β-gal)이 효소 공여체(ED) 및 효소 수용체(EA)로 분할되는 β-gal 상보성(complementation) 검정을 나타내는 개략도를 도시한다. ED-융합 단백질과 EA-융합 단백질의 상호 작용은 발광(luminescence) β-gal 기질을 사용하여 검출가능한 기능성 β-gal의 재구성을 초래한다. 도 4b는 예시적인 β-갈락토시다아제(β-gal) 상보성 검정의 결과를 나타내는 막대 그래프를 도시한다.

도 5 - 면역침전에 의한 BTN1A1 리간드로서 BTLA의 검증. 도 5는 항-Myc 항체 또는 항-BTN1A1 항체(STC810)를 사용한 BTN1A1-Flag 또는 BTLA-Myc-Flag의 면역침전 후 예시적인 웨스턴 블랏의 결과를 도시한다.

도 6a 및 6b - 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의한 BTN1A1-BTLA 상호 작용의 분석. 도 6a는, GAL-1, BTLA 또는 대조군 단백질 (대조군 1, 대조군 2 또는 대조군 3)을 고정화된 글리코실화된 야생형 BTN1A1-Fc를 포함하는 센서칩 상에 3.2μM의 단일 농도로 주입하는 SPR 검정의 센소그램을 도시한다. 도 6b는 BTLA를 고정화된 글리코실화된 야생형 BTN1A1-Fc를 포함하는 센서 칩 상에 지시된 농도로 주입하는 SPR 검정의 센소그램을 도시한다.

도 7 - 생물층 간섭계(BLI)에 의한 BTN1A1-BTLA 상호 작용의 분석. 도 7은 가용성 BTLA를 고정화된 BTN1A1-Fc와 지시된 농도로 접촉시키는 BLI 실험의 센소그램을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0063] 공동-자극성 분자의 B7 패밀리는 면역 세포의 활성화 및 억제를 유도할 수 있다. 관련된 분자 패밀리인 부티로필린은 또한 B7 패밀리 구성원과 유사한 면역조정 기능을 갖는다. 부티로필린, 서브패밀리 1, 구성원 A1("BTN1A1")은 유형 I 막 당단백질 및 유지방구 막의 주요 구성성분이며, B7 패밀리와 구조적 유사성을 갖는다. BTN1A1은 우유의 지방 방울 형성을 조절하는 주요 단백질로 알려져 있다. (Ogg *et al. PNAS*, 101(27):10084-10089 (2004)). BTN1A1은 T 세포를 포함하여 면역 세포에서 발현된다. 재조합 BTN1A1를 이용한 치료는 T 세포 활성화를 억제하고 EAE의 동물 모델을 보호하는 것으로 밝혀졌다. (Stefferl *et al.*, *J. Immunol.* 165(5):2859-65 (2000)).

[0064] BTN1A1은 또한 암 세포에서 특이적이고 고도로 발현된다. 암 세포에서 발현된 BTN1A1은 일반적으로 글리코실화된다. BTN1A1의 발현은 암 진단을 보조할 뿐만 아니라 암 치료의 효능을 평가하기 위해 사용될 수 있다.

[0065] 본 개시내용은 GAL-1, GAL-9, NRP-2 및 BTLA가 BTN1A1 리간드로서 작용할 수 있다는 발견에 적어도 부분적으로 기반한다. 예컨대, 실시예 1 및 2 참고. 임의의 특정 이론에 의해 제한되지 않고, BTN1A1과 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA의 이미 형성된 복합체의 파괴를 포함하여, BTN1A1과 GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA의 복합체 형성의 억제는 BTLA 활성 또는 시그널링을 조정할 수 있다고 여겨진다. BTLA 활성

또는 시그널링의 이러한 조정은 예컨대, T-세포 증식을 촉진하거나, T-세포 아폽토시스를 억제하거나, 사이토카인(예컨대, IFNɣ 또는 IL2) 분비를 유도함으로써 T-세포, 예컨대, $CD8^+$ T-세포를 활성화시킬 수 있다. T-세포 활성화는 암 치료 또는 예방에 유용한 항암 면역 반응을 야기할 수 있다.

[0066] 본원은 항-BTN1A1 항체, 항-BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA) 항체, 및 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합하고 BTN1A-BTN1 리간드 복합체를 억제할 수 있는 다른 분자를 사용하여 암을 치료하는 방법을 제공한다. 또한, 이러한 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1-리간드 항체, 및 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합할 수 있는 다른 분자를 사용하는, 암 진단 방법 및 환자 선택 방법을 제공한다.

[0067] 5.1. 정의

[0068] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 관사 "단수형"은 관사의 문법적 대상의 하나 이상을 지칭한다. 예를 들어, 항체는 하나 이상의 항체를 지칭한다.

[0069] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "부티로필린, 서브패밀리 1, 구성원 A1" 또는 "BTN1A1"은 포유 동물, 예컨대, 영장류 (예컨대, 인간, 시노몰구스 원숭이(시노)),개 및 설치류 (예컨대, 마우스 및 랫트)를 포함하는 임의의 척추 동물 공급원으로부터의 BTN1A1을 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, BTN1A1은 또한 다양한 BTN1A1 아이소폼(isoform), 이의 SNP 변이체를 포함하는 관련 BTN1A1 폴리펩티드 뿐만 아니라 인산화된 BTN1A1, 글리코실화된 BTN1A1 및 유비퀴틴화된 BTN1A1을 비제한적으로 포함하는 상이한 변형된 형태의 BTN1A1을 포함한다. 본원에 사용된 글리코실화된 BTN1A1은 N55, N215 및/또는 N449 글리코실화를 갖는 BTN1A1을 포함한다.

[0070] 인간 BTN1A1(BC096314.1 GI: 64654887)의 예시적인 아미노산 서열이 볼드체이고 밑줄 그어진 잠재적 글리코실화 부위와 함께 하기에 제공된다:

MAVFPSSGLPRCLLTLILLQLPKLDSAPFDVIGPPEPILAVVGEDAKLPCRL
SPNASAEHLELRWFRKKVSPAVLVHRDGREQEAEQMPEYRGRATLVQDGIAKGRV
ALRIRGVRVSDDGEYTCFFREDGSYEEALVHLKVAALGSDPHISMQVQENGEICLEC
TSVGWYPEPQVQWRTSKGEKFPSTSESRNPDEEGLFTVAASVIIRDTSAKNVSCYIQN
LLLGQEKKVEISIPASSLPRLTPWIVAVAVILMVLGLLTIGSIFFTWRLYNERPRERRNE
FSSKERLLEELKWKKATLHAVDVTLDPDTAHPHLFLYEDSKSVRLEDSRQKLPEKTE
RFDSWPCVLGRETFTSGRHYWEVEVGDRTDWAIGVCRENVMKKGFDPMTPENGFW
AVELYGNGYWALTPLRTPLPLAGPPRRVGIFLDYESGDISFYNMNDGSDIYTFSNVTF
SGPLRPFFCLWSSGKKPLTICPIADGPERVTVIANAQDLSKEIPLSPMGEDSAPRDADT
LHSKLIPTQPSQGAP (서열번호 1)

[0071]

[0072] 인간 BTN1A1(BC096314.1 GI: 64654887)의 예시적인 코딩된 핵산 서열이 하기에 제공된다:

ATGGCAGTTTTCCCAAGCTCCGGTCTCCCCAGATGTCTGCTCACCCTCA
TTCTCCTCCAGCTGCCCAAACTGGATTCAGCTCCCTTTGACGTGATTGGACCCCCG
GAGCCCATCCTGGCCGTTGTGGGTGAGGACGCCAAGCTGCCCTGTCGCCTGTCTC
CGAACGCGAGCGCCGAGCACTTGGAGCTACGCTGGTTCCGAAAGAAGGTTTCGC
CGGCCGTGCTGGTGCATAGGGACGGGCGCGAGCAGGAAGCCGAGCAGATGCCCG

[0073]

AGTACCGCGGGCGGGCGACGCTGGTCCAGGACGGCATCGCCAAGGGGCGCGTGG
CCTTGAGGATCCGTGGCGTCAGAGTCTCTGACGACGGGGAGTACACGTGCTTTTT
CAGGGAGGATGGAAGCTACGAAGAAGCCCTGGTGCATCTGAAGGTGGCTGCTCT
GGGCTCTGACCCTCACATCAGTATGCAAGTTCAAGAGAATGGAGAAATCTGTCTG
GAGTGCACCTCAGTGGGATGGTACCCAGAGCCCCAGGTGCAGTGGAGAACTTCC
AAGGGAGAGAAGTTTCCATCTACATCAGAGTCCAGGAATCCTGATGAAGAAGGT
TTGTTCACTGTGGCTGCTTCAGTGATCATCAGAGACACTTCTGCGAAAAATGTGT
CCTGCTACATCCAGAATCTCCTTCTTGGCCAGGAGAAGAAAGTAGAAATATCCAT
ACCAGCTTCCTCCCTCCCAAGGCTGACTCCCTGGATAGTGGCTGTGGCTGTCATC
CTGATGGTTCTAGGACTTCTCACCATTGGGTCCATATTTTTCACTTGGAGACTATA
CAACGAAAGACCCAGAGAGAGGAGGAATGAATTCAGCTCTAAAGAGAGACTCCT
GGAAGAACTCAAATGGAAAAAGGCTACCTTGCATGCAGTTGATGTGACTCTGGA
CCCAGACACAGCTCATCCCCACCTCTTTCTTTATGAGGATTCAAAATCTGTTCGAC
TGGAAGATTCACGTCAGAAACTGCCTGAGAAAACAGAGAGATTTGACTCCTGGC
CCTGTGTGTTGGGCCGTGAGACCTTCACCTCAGGAAGGCATTACTGGGAGGTGGA
GGTGGGAGACAGGACTGACTGGGCAATCGGCGTGTGTAGGGAGAATGTGATGAA
GAAAGGATTTGACCCCATGACTCCTGAGAATGGGTTCTGGGCTGTAGAGTTGTAT
GGAAATGGGTACTGGGCCCTCACTCCTCTCCGGACCCCTCTCCCATTGGCAGGGC
CCCCACGCCGGGTTGGGATTTTCCTAGACTATGAATCAGGAGACATCTCCTTCTA
CAACATGAATGATGGATCTGATATCTATACTTTCTCCAATGTCACTTTCTCTGGCC
CCCTCCGGCCCTTCTTTTGCCTATGGTCTAGCGGTAAAAAGCCCCTGACCATCTGC
CCAATTGCTGATGGGCCTGAGAGGGTCACAGTCATTGCTAATGCCCAGGACCTTT
CTAAGGAGATCCCATTGTCCCCCATGGGGGAGGACTCTGCCCCTAGGGATGCAG
ACACTCTCCATTCTAAGCTAATCCCTACCCAACCCAGCCAAGGGGCACCTTAA

[0074] (서열번호 2)

[0075] 예시적인 이량체 BTN1A1 세포 외 도메인 구조체(BTN1A1-ECD-Fc)의 예시적인 아미노산 서열이 하기에 제공된다.

APFDVIGPPEPILAVVGEDAELPCRLSPNASAEHLELRWFRKKVSPAVLVHRDGREQE
AEQMPEYRGRATLVQDGIAKGRVALRIRGVRVSDDGEYTCFFREDGSYEEALVHLK
VAALGSDPHISMQVQENGEICLECTSVGWYPEPQVQWRTSKGEKFPSTSESRNPDEE
GLFTVAASVIIRDTSAKNVSCYIQNLLLGQEKKVEISIPASSLPRDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP

[0076]

REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0077] (서열번호 3)

[0078] 예시적인 단량체 BTN1A1 세포 외 도메인 구조체(BTN1A1-His6)의 예시적인 아미노산 서열이 하기에 제공된다.

APFDVIGPPEPILAVVGEDAELPCRLSPNASAEHLELRWFRKKVSPAVLVHRDGREQE
AEQMPEYRGRATLVQDGIAKGRVALRIRGVRVSDDGEYTCFFREDGSYEEALVHLK
VAALGSDPHISMQVQENGEICLECTSVGWYPEPQVQWRTSKGEKFPSTSESRNPDEE
GLFTVAASVIIRDTSAKNVSCYIQNLLLGQEKKVEISIPASSLPRHHHHHH

[0079] (서열번호 4)

[0080] 마우스 BTN1A1(GenBank: AAH11497.1)의 예시적인 아미노산 서열이 볼드체이고 밑줄 그어진 잠재적 글리코실화 부위와 함께 하기에 제공된다:

MAVPTNSCLLVCLLTLTVLQLPTLDSAAPFDVTAPQEPVLALVGSDAELT
CGFSP*N*ASSEYMELLWFRQTRSKAVLLYRDGQEQEGQQMTEYRGRATLATAGLLD
GRATLLIRDVRVSDQGEYRCLFKDNDDFEEAAVYLKVAAVGSDPQISMTVQENGEM
ELECTSSGWYPEPQVQWRTGNREMLPSTSESKKHNEEGLFTVAVSMMIRDSSIK*N*MS
CCIQNILLGQGKEVEISLPAPFVPRLTPWIVAVAIILLALGFLTIGSIFFTWKLYKERSSL
RKKEFGSKERLLEELRCKKTVLHEVDVTLDPDTAHPHLFLYEDSKSVRLEDSRQILPD
RPERFDSWPCVLGRETFTSGRHYWEVEVGDRTDWAIGVCRENVVKKGFDPMTPDN
GFWAVELYGNGYWALTPLRTSLRLAGPPRRVGVFLDYDAGDISFYNMSNGSLIYTFP
SISFSGPLRPFFCLWSCGKKPLTICSTANGPEKVTVIANVQDDIPLSPLGEGCTSGDKD
TLHSKLIPFSPSQAAP (서열번호 5)

[0081]

[0082] 마우스 BTN1A1(GenBank: BC011497.1)의 예시적인 코딩된 핵산 서열이 하기에 제공된다:

ATGGCAGTTCCCACCAACTCCTGCCTCCTGGTCTGTCTGCTCACCCTCA
CTGTCCTACAGCTGCCCACGCTGGATTCGGCAGCTCCCTTCGATGTGACCGCACC
TCAGGAGCCAGTGTTGGCCCTAGTGGGCTCAGATGCCGAGCTGACCTGTGGCTTT
TCCCCAAACGCGAGCTCAGAATACATGGAGCTGCTGTGGTTTCGACAGACGAGG
TCGAAAGCGGTACTTCTATACCGGGATGGCCAGGAGCAGGAGGGCCAGCAGATG

[0083]

ACGGAGTACCGCGGGAGGGCGACGCTGGCGACAGCCGGGCTTCTAGACGGCCGC
GCTACTCTGCTGATCCGAGATGTCAGGGTCTCAGACCAGGGGGAGTACCGGTGC
CTTTTCAAAGACAACGACGACTTCGAGGAGGCCGCCGTATACCTCAAAGTGGCT
GCTGTGGGTTCAGATCCTCAAATCAGTATGACGGTTCAAGAGAATGGAGAAATG
GAGCTGGAGTGCACCTCCTCTGGATGGTACCCAGAGCCTCAGGTGCAGTGGAGA
ACAGGCAACAGAGAGATGCTACCATCCACGTCAGAGTCCAAGAAGCATAATGAG
GAAGGCCTGTTCACTGTGGCAGTTTCAATGATGATCAGAGACAGCTCCATAAAG
AACATGTCCTGCTGCATCCAGAATATCCTCCTTGGCCAGGGGAAGGAAGTAGAG
ATCTCCTTACCAGCTCCCTTCGTGCCAAGGCTGACTCCCTGGATAGTAGCTGTGG
CTATCATCTTACTGGCCTTAGGATTTCTCACCATTGGGTCCATATTTTTCACTTGG
AAACTATACAAGGAAAGATCCAGTCTGCGGAAGAAGGAATTTGGCTCTAAAGAG
AGACTTCTGGAAGAACTCAGATGCAAAAAGACTGTACTGCATGAAGTTGACGTG
ACTCTGGATCCAGACACAGCCCACCCCCACCTCTTCCTGTATGAAGATTCAAAGT
CAGTTCGATTGGAAGATTCACGTCAGATCCTGCCTGATAGACCAGAGAGATTTGA
CTCCTGGCCCTGTGTGTTGGGCCGTGAGACCTTTACTTCAGGGAGACATTACTGG
GAGGTGGAGGTGGGAGATAGAACTGACTGGGCCATTGGTGTGTGTAGGGAGAAT
GTGGTGAAGAAAGGGTTTGACCCCATGACTCCTGATAATGGGTTCTGGGCTGTGG
AGTTGTATGGAAATGGGTACTGGGCCCTCACCCCACTCAGGACCTCTCTCCGATT
AGCAGGGCCCCCTCGCAGAGTTGGGGTTTTTCTGGACTATGACGCAGGAGACATT
TCCTTCTACAACATGAGTAACGGATCTCTTATCTATACTTTCCCTAGCATCTCTTT
CTCTGGCCCCCTCCGTCCCTTCTTTTGTCTGTGGTCCTGTGGTAAAAAGCCCCTGA
CCATCTGTTCAACTGCCAATGGGCCTGAGAAAGTCACAGTCATTGCTAATGTCCA
GGACGACATTCCCTTGTCCCCGCTGGGGGAAGGCTGTACTTCTGGAGACAAAGA
CACTCTCCATTCTAAACTGATCCCGTTCTCACCTAGCCAAGCGGCACCATAA

(서열목록 6)

[0084]

[0085] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "갈렉틴-1", "GAL-1", "GAL1", "GBP" 또는 "LGALS1"은 달리 지시되지 않는 한, 포유 동물, 예컨대, 영장류(예컨대, 인간 및 시노몰구스 원숭이 (시노몰구스)),개 및 설치류(예컨대, 마우스 및 랫트)를 포함하는 임의의 척추 동물 공급원으로부터의 임의의 천연 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드 ("폴리펩티드" 및 "단백질"이 본원에서 상호 교환적으로 사용됨)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 용

어는 이의 SNP 변이체를 포함하는 "관련 GAL-1 폴리펩티드"를 포함한다. 용어 "GAL-1"은 또한 "전장"의 비가공된 GAL-1 뿐만 아니라 세포에서의 가공으로 인한 임의의 형태의 GAL-1을 포함한다. NCBI 참조 서열 NP_002296은 예시적인 인간 GAL-1 아미노산 서열을 제공한다. NCBI 참조 서열nM_002305는 예시적인 인간 GAL-1 핵산 서열(mRNA)을 제공한다.

[0086] 인간 GAL-1의 예시적인 아미노산 서열 (NCBI 참조 서열 NP_0022966)이 하기에 제공된다.

MACGLVASNLNLKPGECLRVRGEVAPDAKSFVLNLGKDSNNLCLHFNPR
FNAHGDANTIVCNSKDGGAWGTEQREAVFPFQPGSVAEVCITFDQANLTVKLPDGY
EFKFPNRLNLEAINYMAADGDFKIKCVAFD

(서열번호 7)

[0087]

[0088] 인간 GAL-1의 예시적인 핵산 서열(NCBI 참조 서열nM_002305(코딩 서열))이하기에 제공된다.

ATG GCTTGTGGTC TGGTCGCCAG CAACCTGAAT CTCAAACCTG
GAGAGTGCCTTCGAGTGCGAGGCGAGGTGGCTCCTGACGCTAAGAGCTTCGTGC
TGAACCTGGGCAAAGACAGCAACAACCTGTGCCTGCACTTCAACCCTCGCTTCAA
CGCCCACGGCGACGCCAACACCATCGTGTGCAACAGCAAGGACGGCGGGGCCTG
GGGGACCGAGCAGCGGGAGGCTGTCTTTCCCTTCCAGCCTGGAAGTGTTGCAGA
GGTGTGCATCACCTTCGACCAGGCCAACCTGACCGTCAAGCTGCCAGATGGATAC
GAATTCAAGTTCCCCAACCGCCTCAACCTGGAGGCCATCAACTACATGGCAGCTG
ACGGTGACTTCAAGATCAAATGT GTGGCCTTTGACTGA

(서열번호 8)

[0089]

[0090] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "갈렉틴-9", "HUAT", "GAL-9", "GAL9", "LGALS9" 또는 "LGALS9A"는 달리 지시되지 않는 한, 포유 동물, 예컨대, 영장류(예컨대, 인간 및 시노몰구스 원숭이 (시노몰구스)),개 및 설치류(예컨대, 마우스 및 랫트)를 포함하는 임의의 척추 동물 공급원으로부터의 임의의 천연 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드 ("폴리펩티드" 및 "단백질"이 본원에서 상호 교환적으로 사용됨)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 용어는 이의 SNP 변이체를 포함하는 "관련 GAL-9 폴리펩티드"를 포함한다. 용어 "GAL-9"는 또한 "전장"의 비가공된 GAL-9 뿐만 아니라 세포에서의 가공으로 인한 임의의 형태의 GAL-9를 포함한다. NCBI 참조 서열 NP_001317092는 예시적인 인간 GAL-9 아미노산 서열을 제공한다. NCBI 참조 서열nM_002308은 예시적인 인간 GAL-9 핵산 서열(mRNA)을 제공한다.

[0091] 인간 GAL-9의 예시적인 아미노산 서열 (NCBI 참조 서열 NP_001317092)이 하기에 제공된다.

MAFSGSQAPYLSPAVPFSGTIQGGLQDGLQITVNGTVLSSSGTRFAVNFQT
GFSGNDIAFHFNPRFEDGGYVVCNTRQNGSWGPEERKTHMPFQKGMPFDLCFLVQS
SDFKVMVNGILFVQYFHRVPFHRVDTISVNGSVQLSYISFQPPGVWPANPAPITQTVI
HTVQSAPGQMFSTPAIPPMMYPHPAYPMPFITTILGGLYPSKSILLSGTVLPSAQRCGS
CVKLTASRWPWMVSTCLNTTIA

(서열번호 9)

[0092]

[0093] 인간 GAL-9의 예시적인 핵산 서열 (NCBI 참조 서열nM_002308(코딩 서열))이하기에 제공된다.

ATGGCCTTCAGCGGTTCCCAGGCTCCCTACCTGAGTCCAGCTGTCCCCT
TTTCTGGGACTATTCAAGGAGGTCTCCAGGACGGACTTCAGATCACTGTCAATGG
GACCGTTCTCAGCTCCAGTGGAACCAGGTTTGCTGTGAACTTTCAGACTGGCTTC
AGTGGAAATGACATTGCCTTCCACTTCAACCCTCGGTTTGAAGATGGAGGGTACG
TGGTGTGCAACACGAGGCAGAACGGAAGCTGGGGGCCCGAGGAGAGGAAGACA
CACATGCCTTTCCAGAAGGGGATGCCCTTTGACCTCTGCTTCCTGGTGCAGAGCT
CAGATTTCAAGGTGATGGTGAACGGGATCCTCTTCGTGCAGTACTTCCACCGCGT
GCCCTTCCACCGTGTGGACACCATCTCCGTCAATGGCTCTGTGCAGCTGTCCTAC
ATCAGCTTCCAGCCTCCCGGCGTGTGGCCTGCCAACCCGGCTCCCATTACCCAGA
CAGTCATCCACACAGTGCAGAGCGCCCCTGGACAGATGTTCTCTACTCCCGCCAT
CCCACTATGATGTACCCCCACCCCGCCTATCCGATGCCTTTCATCACCACCATTCT
GGGAGGGCTGTACCCATCCAAGTCCATCCTCCTGTCAGGCACTGTCCTGCCCAGT
GCTCAGAGGTTCCACATCAACCTGTGCTCTGGGAACCACATCGCCTTCCACCTGA
ACCCCCGTTTTGATGAGAATGCTGTGGTCCGCAACACCCAGATCGACAACTCCTG
GGGGTCTGAGGAGCGAAGTCTGCCCCGAAAAATGCCCTTCGTCCGTGGCCAGAG
CTTCTCAGTGTGGATCTTGTGTGAAGCTCACTGCCTCAAGGTGGCCGTGGATGGT
CAGCACCTGTTTGAATACTACCATCGCCTGAGGAACCTGCCCACCATCAACAGAC
TGGA AGTGGGGGGCGACATCCAGCTGACCCATGTGCAGACATAG

[0094] (서열번호 10)

[0095] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "뉴로필린-2", "NRP-2", "NRP2", "NP2", "PRO2714", 또는 "VEGF165R2"는 달리 지시되지 않는 한, 포유 동물, 예컨대, 영장류(예컨대, 인간 및 시노몰구스 원숭이 (시노몰구스)),개 및 설치류(예컨대, 마우스 및 랫트)를 포함하는 임의의 척추 동물 공급원으로부터의 임의의 천연 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드 ("폴리펩티드" 및 "단백질"이 본원에서 상호 교환적으로 사용됨)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 용어는 이의 SNP 변이체를 포함하는 "관련 NRP-2 폴리펩티드"를 포함한다. 용어 "NRP-2"는 또한 "전장"의 비가공된 NRP-2 뿐만 아니라 세포에서의 가공으로 인한 임의의 형태의 NRP-2를 포함한다. NCBI 참조 서열 NP_003863은 예시적인 인간 NRP-2 아미노산 서열을 제공한다. NCBI 참조 서열nM_003872는 예시적인 인간 NRP-2 핵산 서열(mRNA)을 제공한다.

[0096] 인간 NRP-2의 예시적인 아미노산 서열(NCBI 참조 서열 NP_003863)이 하기에 제공된다.

MDMFPLTWVFLALYFSRHQVRGQPDPPCGGRLNSKDAGYITSPGYPQDY
PSHQNCEWIVYAPEPNQKIVLNFNPHFEIEKHDCKYDFIEIRDGDSESADLLGKHCGNI
APPTIISSGSMLYIKFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGSEDCSKNFTSPNGTIESPGFPEK
YPHNLDCTFTILAKPKMEIILQFLIFDLEHDPLQVGEGDCKYDWLDIWDGIPHVGPLIG
KYCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSARYYLVHQEPLENFQCNVPLGME
SGRIANEQISASSTYSDGRWTPQQSRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLT
AIATQGAISRETQNGYYVKSYKLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQANNDATEVVL
NKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSGIALRLELFGCRVTDAPCSNMLGMLSGLIADSQISAS
STQEYLWSPSAARLVSSRSGWFPRIPQAQPGEEWLQVDLGTPKTVKGVIIQGARGGD
SITAVEARAFVRKFKVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQPKLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPA
QYVRVYPERWSPAGIGMRLEVLGCDWTDSKPTVETLGPTVKSEETTTPYPTEEEATE
CGENCSFEDDKDLQLPSGFNCNFDFLEEPCGWMYDHAKWLRTTWASSSSPNDRTFP
DDRNFLRLQSDSQREGQYARLISPPVHLPRSPVCMEFQYQATGGRGVALQVVREAS
QESKLLWVIREDQGGEWKHGRIILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIAIDDIRISTDVP
LENCMEPISAFAVDIPEIHEREGYEDEIDDEYEVDWSNSSSATSGSGAPSTDKEKSWL
YTLDPILITIIAMSSLGVLLGATCAGLLLYCTCSYSGLSSRSCTTLENYNFELYDGLKH
KVKMNHQKCCSEA

[0097] (서열번호 11)

[0098] 인간 GAL-1의 예시적인 핵산 서열(NCBI 참조 서열nM_003872(코딩 서열))이하기에 제공된다.

ATGTTTCCTCTCACCTGGGTTTTCTTAGCCCTCTACTTTTCAAGACACCA
AGTGAGAGGCCAACCAGACCCACCGTGCGGAGGTCGTTTGAATTCCAAAGATGC
TGGCTATATCACCTCTCCCGGTTACCCCCAGGACTACCCCTCCCACCAGAACTGC
GAGTGGATTGTTTACGCCCCCGAACCCAACCAGAAGATTGTCCTCAACTTCAACC
CTCACTTTGAAATCGAGAAGCACGACTGCAAGTATGACTTTATCGAGATTCGGGA
TGGGGACAGTGAATCCGCAGACCTCCTGGGCAAACACTGTGGGAACATCGCCCC
GCCCACCATCATCTCCTCGGGCTCCATGCTCTACATCAAGTTCACCTCCGACTAC
GCCCGGCAGGGGGCAGGCTTCTCTCTGCGCTACGAGATCTTCAAGACAGGCTCTG
AAGATTGCTCAAAAAACTTCACAAGCCCCAACGGGACCATCGAATCTCCTGGGTT
TCCTGAGAAGTATCCACACAACTTGGACTGCACCTTTACCATCCTGGCCAAACCC
AAGATGGAGATCATCCTGCAGTTCCTGATCTTTGACCTGGAGCATGACCCTTTGC
AGGTGGGAGAGGGGGACTGCAAGTACGATTGGCTGGACATCTGGGATGGCATTC
CACATGTTGGCCCCCTGATTGGCAAGTACTGTGGGACCAAAACACCCTCTGAACT
TCGTTCATCGACGGGGATCCTCTCCCTGACCTTTCACACGGACATGGCGGTGGCC
AAGGATGGCTTCTCTGCGCGTTACTACCTGGTCCACCAAGAGCCACTAGAGAACT
TTCAGTGCAATGTTCCTCTGGGCATGGAGTCTGGCCGGATTGCTAATGAACAGAT
CAGTGCCTCATCTACCTACTCTGATGGGAGGTGGACCCCTCAACAAAGCCGGCTC
CATGGTGATGACAATGGCTGGACCCCCAACTTGGATTCCAACAAGGAGTATCTCC
AGGTGGACCTGCGCTTTTTAACCATGCTCACGGCCATCGCAACACAGGGAGCGAT
TTCCAGGGAAACACAGAATGGCTACTATGTCAAATCCTACAAGCTGGAAGTCAG
CACTAATGGAGAGGACTGGATGGTGTACCGGCATGGCAAAAACCACAAGGTATT
TCAAGCCAACAACGATGCAACTGAGGTGGTTCTGAACAAGCTCCACGCTCCACT
GCTGACAAGGTTTGTTAGAATCCGCCCTCAGACCTGGCACTCAGGTATCGCCCTC
CGGCTGGAGCTCTTCGGCTGCCGGGTCACAGATGCTCCCTGCTCCAACATGCTGG
GGATGCTCTCAGGCCTCATTGCAGACTCCCAGATCTCCGCCTCTTCCACCCAGGA
ATACCTCTGGAGCCCCAGTGCAGCCCGCCTGGTCAGCAGCCGCTCGGGCTGGTTC
CCTCGAATCCCTCAGGCCCAGCCCGGTGAGGAGTGGCTTCAGGTAGATCTGGGA
ACACCCAAGACAGTGAAAGGTGTCATCATCCAGGGAGCCCGCGGAGGAGACAGT
ATCACTGCTGTGGAAGCCAGAGCATTTGTGCGCAAGTTCAAAGTCTCCTACAGCC
TAAACGGCAAGGACTGGGAATACATTCAGGACCCCAGGACCCAGCAGCCAAAGC
TGTTCGAAGGGAACATGCACTATGACACCCCTGACATCCGAAGGTTTGACCCCAT
TCCGGCACAGTATGTGCGGGTATACCCGGAGAGGTGGTCGCCGGCGGGGATTGG
GATGCGGCTGGAGGTGCTGGGCTGTGACTGGACAGACTCCAAGCCCACGGTAGA

[0099]

GACGCTGGGACCCACTGTGAAGAGCGAAGAGACAACCACCCCCTACCCCACCGA
AGAGGAGGCCACAGAGTGTGGGGAGAACTGCAGCTTTGAGGATGACAAAGATTT
GCAGCTCCCTTCGGGATTCAATTGCAACTTCGATTTCCTCGAGGAGCCCTGTGGT
TGGATGTATGACCATGCCAAGTGGCTCCGGACCACCTGGGCCAGCAGCTCCAGC
CCAAACGACCGGACGTTTCCAGATGACAGGAATTTCTTGCGGCTGCAGAGTGAC
AGCCAGAGAGAGGGCCAGTATGCCCGGCTCATCAGCCCCCCTGTCCACCTGCCCC
GAAGCCCGGTGTGCATGGAGTTCCAGTACCAGGCCACGGGCGGCCGCGGGGTGG
CGCTGCAGGTGGTGCGGGAAGCCAGCCAGGAGAGCAAGTTGCTGTGGGTCATCC
GTGAGGACCAGGGCGGCGAGTGGAAGCACGGGCGGATCATCCTGCCCAGCTACG
ACATGGAGTACCAGATTGTGTTCGAGGGAGTGATAGGGAAAGGACGTTCCGGAG
AGATTGCCATTGATGACATTCGGATAAGCACTGATGTCCCACTGGAGAACTGCAT
GGAACCCATCTCGGCTTTTGCAGTGGACATCCCAGAAATACATGAGAGAGAAGG
ATATGAAGATGAAATTGATGATGAATACGAGGTGGACTGGAGCAATTCTTCTTCT
GCAACCTCAGGGTCTGGCGCCCCCTCGACCGACAAAGAAAAGAGCTGGCTGTAC
ACCCTGGATCCCATCCTCATCACCATCATCGCCATGAGCTCACTGGGCGTCCTCC
TGGGGGCCACCTGTGCAGGCCTCCTGCTCTACTGCACCTGTTCCTACTCGGGCCT
GAGCTCCCGAAGCTGCACCACACTGGAGAACTACAACTTCGAGCTCTACGATGG
CCTTAAGCACAAGGTCAAGATGAACCACCAAAAGTGCTGCTCCGAGGCATGA

(서열번호 12)

[0100]

[0101] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "B- 및 T-림프구 약화인자" 또는 "BTLA"는 포유 동물, 예컨대, 영장류(예컨대, 인간 및 시노몰구스 원숭이 (시노)),개 및 설치류(예컨대, 마우스 및 랫트)를 포함하는 임의의 척추 동물 공급원으로부터의 BTLA를 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, BTLA는 또한 다양한 BTLA 아이소폼, 이의 SNP 변이체를 포함하는 관련 BTLA 폴리펩티드 뿐만 아니라 인산화된 BTLA, 글리코실화된 BTLA 및 유비퀴틴화된 BTLA를 비제한적으로 포함하는 상이한 변형된 형태의 BTLA를 포함한다.

[0102] N-링크된(linked) 글리코실화 부위(N75, N94 및 N110)가 볼드체이고 밑줄 그어진, 인간 BTLA의 예시적인 아미노산 서열이 하기에 제공된다:

MKTLPAMLGTGKLFWVFFLIPYLDIWNIHGKESCDVQLYIKRQSEHSILAG
DPFELECPVKYCANRPHVTWCKL**N**GTTCVKLEDRQTSWKEEK**N**ISFFILHFEPVLPN
D**N**GSYRCSANFQSNLIESHSTTLYVTDVKSASERPSKDEMASRPWLLYRLLPLGGLPL
LITTCFCLFCCLRRHQGKQNELSDTAGREINLVDAHLKSEQTEASTRQNSQVLLSETG

[0103]

IYDNDPDLCFRMQEGSEVYSNPCLEENKPGIVYASLNHSVIGPNSRLARNVKEAPTEY
ASICVRS

(서열번호 13)

[0104]

[0105] 인간 BTLA의 예시적인 핵산 서열(NCBI 참조 서열nM_001085357.1(코딩 서열))이 하기에 제공된다:

ATGAAGACATTGCCTGCCATGCTTGGAACTGGGAAATTATTTTGGGTC
TTCTTCTTAATCCCATATCTGGACATCTGGAACATCCATGGGAAAGAATCATGTG
ATGTACAGCTTTATATAAAGAGACAATCTGAACACTCCATCTTAGCAGGAGATCC
CTTTGAACTAGAATGCCCTGTGAAATACTGTGCTAACAGGCCTCATGTGACTTGG
TGCAAGCTCAATGGAACAACATGTGTAAAACTTGAAGATAGACAAACAAGTTGG
AAGGAAGAGAAGAACATTTCATTTTTCATTCTACATTTTGAACCAGTGCTTCCTA
ATGACAATGGGTCATACCGCTGTTCTGCAAATTTTCAGTCTAATCTCATTGAAAG
CCACTCAACAACTCTTTATGTGACAGGAAAGCAAAATGAACTCTCTGACACAGC
AGGAAGGGAAATTAACCTGGTTGATGCTCACCTTAAGAGTGAGCAAACAGAAGC
AAGCACCAGGCAAAATTCCCAAGTACTGCTATCAGAAACTGGAATTTATGATAA
TGACCCTGACCTTTGTTTCAGGATGCAGGAAGGGTCTGAAGTTTATTCTAATCCA
TGCCTGGAAGAAAACAAACCAGGCATTGTTTATGCTTCCCTGAACCATTCTGTCA
TTGGACCGAACTCAAGACTGGCAAGAAATGTAAAAGAAGCACCAACAGAATATG
CATCCATATGTGTGAGGAGTTAAG

(서열번호 14)

[0106]

[0107] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "예정 사멸 1", "예정 세포사 1", "단백질 PD-1", "PD-1", "PD-1 폴리펩티드" 또는 "PD1"은 달리 지시되지 않는 한, 포유 동물, 예컨대, 영장류(예컨대, 인간 및 시노몰구스 원숭이 (시노몰구스)),개 및 설치류(예컨대, 마우스 및 랫트)를 포함하는 임의의 척추 동물 공급원으로부터의 임의의 천연 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드("폴리펩티드" 및 "단백질"이 본원에서 상호 교환적으로 사용됨)를 포함한다. 특정 실시양태에서, 용어는 이의 SNP 변이체를 포함하는 "관련 PD-1 폴리펩티드"를 포함한다. 용어 "PD-1"은 또한 "전장"의 비가공된 PD-1 뿐만 아니라 세포에서의 가공으로 인한 임의의 형태의 PD-1을 포함한다. NCBI 참조 서열 NP_005009.2는 예시적인 인간 PD-L1 아미노산 서열을 제공한다. GenBank™ 수탁 번호 L27440.1은 예시적인 인간 PD-1 핵산 서열을 제공한다.

[0108] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "항-PD-1 요법"은 PD-1의 임의의 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 억제성 핵산 또는 가용성 PD-1 리간드 (예컨대, 가용성 PD-L1), 또는 이의 융합 단백질 (예컨대, Fc-융합 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 니볼루맙 (Opdivo), 펨브롤리주맙 (Keytruda), 피딜리주맙, AMP-514 또는 AMP-224를 포함한다.

[0109] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 니볼루맙(CAS 등록 번호: 946414-94-4)을 포함한다. 니볼루맙은 또한 MDX-1106, MDX-1106-04, ONO-4538 또는 BMS-936558로 알려져 있다. 니볼루맙은 PD-1을 특이적으로 차단하는 완전한 인간 IgG4 모노클로날 항체이다. PD-1에 특이적으로 결합하는 니볼루맙(클론 5C4) 및 다른 인간 모노클로날 항체는 US 8,008,449호 및 WO2006/121168호에 개시되어 있다.

[0110] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 펨브롤리주맙을 포함한다. 펨브롤리주맙은 또한 Keytruda®, 람브롤리주맙, 머크 3745, MK-3475 또는 SCH-900475로 알려져 있다. 펨브롤리주맙은 PD-1에 결합하는 인간화된 IgG4 모노클로날 항체이다. 펨브롤리주맙은 예컨대, Hamid, O. et al. (2013) New England Journal of Medicine 369 (2): 134-44, WO2009/1 14335호, 및 US 8,354,509호에 개시되어 있다.

[0111] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 피딜리주맙이다. CT-011(큐어테크)로도 알려진 피딜리주맙은 PD-1에 결합하는 인간화된 IgG1 모노클로날 항체이다. 피딜리주맙 및 다른 인간화된 항-PD-1 모노클로날 항체는 WO2009/101611호에 개시되어 있다.

[0112] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 국제특허출원 PCT/US2016/64394호에 제공된 항-PD-1 항체를 포함한다.

[0113] 항-PD1 요법으로서 유용할 수 있는 추가의 항-PD 1 항체는 US 8,609,089호, US 2010028330호 및/또는 US 20120114649호에 개시되어 있다.

[0114] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 융합 단백질 AMP 514(암플리뮨)를 포함한다. B7-DCIg로도 알려진 AMP-224는, 예컨대, WO2010/027827호 및 WO2011/066342호에 개시되어 있다. AMP-224는 PD1과 B7-H1 사이의 상

호 작용을 차단하는 PD-L2 Fc 융합 가용성 수용체이다.

[0115] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 면역접착제(immunoadhesion)(예컨대, 불변 영역(예컨대, 면역글로불린 서열의 Fc 영역)에 융합된 PD-L1 또는 PD-L2의 세포 외 또는 PD-1 결합 부분을 포함하는 면역접착제)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 융합 단백질 AMP-224(PD-L2의 Fc-융합)를 포함한다.

[0116] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "예정 사멸 1 리간드 1", "예정 세포사 1 리간드 1", "단백질 PD-L1", "PD-L1", "PD-L1 폴리펩티드" 또는 "PD1-L1"은 달리 지시되지 않는 한, 포유 동물, 예컨대, 영장류(예컨대, 인간 및 시노몰구스 원숭이 (시노몰구스)),개 및 설치류(예컨대, 마우스 및 랫트)를 포함하는 임의의 척추 동물 공급원으로부터의 임의의 천연 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드("폴리펩티드" 및 "단백질"이 본원에서 상호 교환적으로 사용됨)를 포함한다. 특정 실시양태에서, 용어는 이의 SNP 변이체를 포함하는 "관련 PD-L1 폴리펩티드"를 포함한다. 용어 "PD-L1"은 또한 "전장"의 비가공된 PD-L1 뿐만 아니라 세포에서의 가공으로 인한 임의의 형태의 PD-L1을 포함한다. NCBI 참조 서열 NP_054862.1은 예시적인 인간 PD-L1 아미노산 서열을 제공한다. GenBank™ 수탁 번호nM_014143은 예시적인 인간 PD-1 핵산 서열을 제공한다.

[0117] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "항-PD-L1 요법"은 PD-L1의 임의의 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 억제성 핵산, 또는 가용성 PD-L1 리간드(예컨대, 가용성 PD-1), 또는 이의 융합-단백질(예컨대, Fc-융합 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C, 또는 MDX-1105를 포함한다.

[0118] 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 MDX-1105를 포함한다. MDX-1105는 또한 BMS-936559로 알려져 있다. 예컨대, WO2007/005874호 참고.

[0119] 일부 실시양태에서, PD-L1 요법은 예컨대, WO 2010/077634호에 기술된 바와 같은 항체 YW243.55.S70 (각각 서열번호 20 및 21에 도시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열)을 포함한다.

[0120] 일부 실시양태에서, PD-L1 요법은 MDPL3280A(젠테크/로슈)를 포함한다. MDPL3280A는 PD-L1에 결합하는 인간 Fc 최적화된 IgG1 모노클로날 항체이다. PD-L1에 대한 MDPL3280A 및 다른 인간 모노클로날 항체는 예컨대, 미국특허 제7,943,743호 및 미국공개공보 제20120039906호에 개시되어 있다.

[0121] 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 항체 MSB0010718C (머크 세로노)를 포함한다. MSB0010718C는 또한 A09-246-2로 알려져 있다.

[0122] 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 PD-L1에 결합하는 인간 Fc 최적화된 IgG1 모노클로날 항체인 MDPL3280A(젠테크/로슈)를 포함한다. MDPL3280A 및 PD-L1에 대한 다른 인간 모노클로날 항체는 미국특허 제7,943,743호 및 미국공개공보 제20120039906호에 개시되어 있다.

[0123] 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 WO 2016/160792 A1호로 공개된 국제특허출원 PCT/US2016/024691호 및 국제특허출원 PCT/US2017/024027호에 제공된 항체를 포함한다.

[0124] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "항체"는 특이적 분자 항원에 결합할 수 있고 두개의 동일한 쌍의 폴리펩티드 쇄로 구성되는 면역글로불린 (또는 "Ig") 폴리펩티드 부류 내의 B 세포의 폴리펩티드 생산물을 지칭하며, 각각의 쌍은 하나의 중쇄 (약 50-70kDa) 및 하나의 경쇄 (약 25kDa)를 가지고, 각각의 쇄의 각각의 아미노-말단 부분은 약 100 내지 약 130개 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함하며, 각각의 쇄의 각각의 카복시-말단 부분은 불변 영역을 포함한다(Borrebaeck (ed.) (1995) Antibody Engineering, Second Edition, Oxford University Press.; Kuby (1997) Immunology, Third Edition, W.H. Freeman and Company, New York 참고). 여기서, 특이적 분자 항원은 BTN1A1 폴리펩티드, GAL-1 폴리펩티드, GAL-9 폴리펩티드, NRP-2 폴리펩티드 또는 BTLA 폴리펩티드, BTN1A1 단편, GAL-1 단편, GAL-9 단편, NRP-2 단편 또는 BTLA 단편, 또는 BTN1A1 에피토프, GAL-1 에피토프, GAL-9 에피토프, NRP-2 에피토프, 또는 BTLA 에피토프일 수 있는 표적 BTN1A1, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 및 BTLA를 포함한다. 본원에 제공된 항체는 모노클로날 항체, 합성 항체, 재조합적으로 생산된 항체, 이중-특이적 항체, 다중특이적 항체, 인간 항체, 인간화된 항체, 낙타 항체, 키메라 항체, 인트라바디, 항-이디오타입 (항-Id) 항체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0125] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 단일 세포 클론 또는 하이브리도마 또는 단일 세포로부터 유래된 세포 집단의 생산물인 항체를 지칭한다. 모노클로날 항체는 또한 단일 분자 면역글로불린 종을 생산하기 위해 면역글로불린 유전자를 코딩하는 중쇄 및 경쇄로부터 재조합 방법에 의해 생산된 항체를 지칭

한다. 모노클로날 항체 제제(preparation) 내의 항체에 대한 아미노산 서열은 실질적으로 균질하며, 이러한 제제 내의 항체의 결합 활성은 실질적으로 동일한 항원 결합 활성을 나타낸다. 대조적으로, 폴리클로날 항체는 특이적 항원에 결합하는 면역글로불린 분자의 조합인 집단 내의 상이한 B 세포로부터 수득된다. 폴리클로날 항체의 각각의 면역글로불린은 동일한 항원의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 모노클로날 항체 및 폴리클로날 항체 모두를 생산하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다(Harlow and Lane., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989) 및 Borrebaeck (ed.), Antibody Engineering: A Practical Guide, W.H. Freeman and Co., Publishers, New York, pp. 103-120 (1991)).

[0126] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 인간 생식 계열 면역글로불린 서열에 상응하는, 인간 가변 영역 및/또는 인간 불변 영역 또는 이의 일부를 갖는 항체를 지칭한다. 이러한 인간 생식 계열 면역글로불린 서열은 Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242에 기술되어 있다. 여기서, 인간 항체는 BTN1A1에 결합하고 인간 생식 계열 면역글로불린 핵산 서열의 자연 발생 체세포 변이체인 핵산 서열에 의해 코딩되는 항체를 포함할 수 있다.

[0127] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "키메라 항체"는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래되거나 또는 특정 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 반면, 쇄(들)의 나머지는 원하는 생물학적 활성을 나타내는 다른 종으로부터 유래되거나 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체의 해당 서열과 동일하거나 상동성인, 항체를 지칭한다(미국특허 제4,816,567호 및 Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984) 참고).

[0128] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "인간화된 항체"는 천연 상보성 결정 영역("CDR") 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 용량을 갖는 마우스, 랫트, 토끼 또는 비인간 영장류와 같은 비인간 종의 상응하는 CDR(예컨대, 공여자 항체)로 대체되는 인간 면역글로불린(예컨대, 수령자 항체)을 포함하는 키메라 항체를 지칭한다. 일부 경우에, 인간 면역글로불린의 하나 이상의 FR 영역 잔기는 상응하는 비인간 잔기로 대체된다. 또한, 인간화된 항체는 수용자 항체 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 가질 수 있다. 이러한 변형은 항체 성능을 추가로 개선하기 위해 수행된다. 인간화된 항체 중쇄 또는 경쇄는 실질적으로 모든 하나 이상의 가변 영역을 가질 수 있으며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR은 비인간 면역글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 면역글로불린의 것이다. 인간화된 항체는 면역글로불린 불변 영역(Fc), 전형적으로 인간 면역글로불린의 불변 영역의 적어도 일부를 가질 수 있다. 자세한 내용은 Jones *et al.*, *Nature*, 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature*, 332:323-329 (1988); and Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2:593-596 (1992); Carter *et al.*, *Proc. Natl. Acd. Sci. USA* 89:4285-4289 (1992); 및 미국특허 제6,800,738호, 제6,719,971호, 제6,639,055호, 제6,407,213호, 및 제6,054,297호 참고.

[0129] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "재조합 항체"는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체를 지칭한다. 재조합 항체는 숙주 세포 내로 형질주입된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 항체, 재조합체로부터 단리된 항체, 재조합 항체 라이브러리, 인간 면역글로불린 유전자에 대해 트랜스제닉 및/또는 트랜스염색체인 동물 (예컨대, 마우스 또는 소)로부터 단리된 항체(예컨대, Taylor, L. D. *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 20:6287-6295(1992) 참고), 또는 다른 DNA 서열에서 면역글로불린 유전자 서열의 스플라이싱(splicing)을 포함하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체들일 수 있다. 이러한 재조합 항체는 인간 생식 계열 면역글로불린 서열로부터 유래된 것을 포함하여 가변 및 불변 영역을 가질 수 있다 (Kabat, E. A. *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 참고). 재조합 항체는 또한 인 비트로 돌연변이 유발 (또는, 인간 Ig 서열에 대해 동물 트랜스제닉이 사용되는 경우, 인 비보 체세포 돌연변이 유발)을 수행하여, 재조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열은 인간 생식 계열 VH 및 VL 서열로부터 유래되고 이와 관련되어 있지만, 인 비보 인간 항체 생식 계열 레퍼토리(repertoire) 내에 자연적으로 존재하지는 않는 서열일 수 있다.

[0130] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 "중화 분자(neutralizing molecule)"는 BTN1A1과 이의 천연 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA와의 결합을 차단하고, BTN1A1 및/또는 이의 다른 생리학적 활성에 의해 매개되는 시그널링 경로를 억제시키는 것을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 중화 분자는 중화 항체이다. 일부 실시양태에서, 중화 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함한다. 중화 분자 또는 중화 항체의 IC50은 중화 검정에서 BTN1A1의 50%를 중화시키는 데 필요한 분자 또는 항체의 농도를 지칭한다. 중화 분자 또는 중화 항체의 IC50은 중화 검정에서 0.01 내지 10 μg/ml 범위일 수 있다. 일부 실시양태에서, 중화 분자 또는 중화 항체는 BTN1A1에 면역특이적으로

결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 중화 분자 또는 중화 항체는 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 결합할 수 있다.

[0131] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "항원 결합 단편" 및 유사한 용어는 항원에 면역특이적으로 결합하고 항체에 항원에 대한 특이성 및 친화도를 부여하는 아미노산 잔기를 포함하는 항체의 일부를 지칭한다. 항원 결합 단편은 항체의 기능적 단편으로 지칭될 수 있다. 항원 결합 단편은 1가, 2가 또는 다가일 수 있다.

[0132] 항원 결합 단편을 갖는 분자는, 예를 들어, Fd, Fv, Fab, F(ab'), $F(ab)_2$, $F(ab')_2$, 단일 쇄 Fv(scFv), 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 미니바디 또는 단일 도메인 항체를 포함한다. scFv는 1가 scFv 또는 2가 scFv일 수 있다. 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자는, 예를 들어, 이러한 항원 결합 단편이 결합 활성을 유지하는 한, 중쇄 또는 경쇄 폴리펩티드, 가변 영역 폴리펩티드 또는 CDR 폴리펩티드 또는 이의 일부를 포함할 수 있다. 이러한 항원 결합 단편은, 예를 들어, Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1989); Myers (ed.), Molec. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference, New York: VCH Publisher, Inc.; Huston *et al.*, *Cell Biophysics*, 22:189-224 (1993); Plückthun and Skerra, *Meth. Enzymol.*, 178:497-515 (1989) 및 in Day, E.D., Advanced Immunochemistry, Second Ed., Wiley-Liss, Inc., New York, NY (1990)에 기술되어 있다. 항원 결합 단편은 5개 이상의 인접 아미노산 잔기, 10개 이상의 인접 아미노산 잔기, 15개 이상의 인접 아미노산 잔기, 20개 이상의 인접 아미노산 잔기, 25개 이상의 인접 아미노산 잔기, 40개 이상의 인접 아미노산 잔기, 50개 이상의 인접 아미노산 잔기, 60개 이상의 인접 아미노산 잔기, 70개 이상의 인접 아미노산 잔기, 80개 이상의 인접 아미노산 잔기, 90개 이상의 인접 아미노산 잔기, 100개 이상의 인접 아미노산 잔기, 125개 이상의 인접 아미노산 잔기, 150개 이상의 인접 아미노산 잔기, 175개 이상의 인접 아미노산 잔기, 200개 이상의 인접 아미노산 잔기 또는 250개 이상의 인접 아미노산 잔기의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드일 수 있다.

[0133] 항체의 중쇄는 약 50 내지 70kDa의 폴리펩티드 쇄를 지칭하되, 아미노-말단 부분은 약 120 내지 130개 이상의 아미노산의 가변 영역 및 불변 영역을 포함하는 카복시-말단 부분을 포함한다. 불변 영역은 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열에 기반하여, 알파(α), 델타(δ), 엡실론(ε), 감마(γ) 및 뮤(μ)로서 지칭되는 5개의 별개의 유형 중 하나일 수 있다. 별개의 중쇄는 크기가 상이하다: α, δ 및 γ는 대략 450개의 아미노산을 함유하고, μ 및 ε는 대략 550개의 아미노산을 함유한다. 경쇄와 조합되는 경우, 이들 별개의 유형의 중쇄는 각각 IgG의 4개의 서브클래스, 즉, IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하여 5개의 공지된 항체 클래스, IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM을 발생시킨다. 중쇄는 인간 중쇄일 수 있다.

[0134] 항체의 경쇄는 약 25kDa의 폴리펩티드 쇄를 지칭하며, 이의 아미노-말단 부분은 약 100 내지 약 110 이상의 아미노산의 가변 영역 및 불변 영역을 포함하는 카복시-말단 부분을 포함한다. 경쇄의 대략적인 길이는 211 내지 217개의 아미노산이다. 불변 도메인의 아미노산 서열에 기반하여 람다(λ)의 카파(κ)로서 지칭되는 2개의 별개의 유형이 있다. 경쇄 아미노산 서열은 당업계에 잘 알려져 있다. 경쇄는 인간 경쇄일 수 있다.

[0135] 항체의 가변 도메인 또는 가변 영역은 일반적으로 경쇄 또는 중쇄의 아미노-말단에 위치하고 중쇄에서 약 120 내지 130개의 아미노산 길이 및 경쇄에서 약 100 내지 110개의 아미노산 길이를 갖는 항체의 경쇄 또는 중쇄의 일부를 지칭하며, 이의 특정 항원에 대한 각각의 특정 항체의 결합 및 특이성에 사용된다. 가변 도메인은 상이한 항체 사이 간 서열이 광범위하게 상이하다. 서열의 가변성은 CDR에 집중되는 반면 가변 도메인에서 가변이 적은 부분은 프레임워크 영역(FR)으로서 지칭된다. 경쇄 및 중쇄의 CDR은 주로 항체와 항원의 상호 작용을 담당한다. 본원에 사용된 아미노산 위치의 넘버링은 Kabat *et al.* (1991) Sequences of proteins of immunological interest.에서와 같이 EU 인덱스(index)를 따른다. (U.S. Department of Health and Human Services, Washington, D.C.) 5th ed. 가변 영역은 인간 가변 영역일 수 있다.

[0136] CDR은 면역글로불린(Ig 또는 항체) VH β-시트 프레임워크의 비-프레임워크 영역 내의 3개의 초가변 영역(H1, H2 또는 H3) 중 하나, 또는 항체 VL β-시트 프레임워크의 비-프레임워크 영역 내의 3개의 초가변 영역(L1, L2 또는 L3) 중 하나를 지칭한다. 따라서, CDR은 프레임워크 영역 서열 내에 산재된 가변 영역 서열이다. CDR 영역은 당업자에게 널리 공지되어 있고, 예를 들어, Kabat에 의해 항체 가변 (V) 도메인 내에서 최대 초가변 영역으로 정의되었다 (Kabat *et al.*, *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616 (1977); Kabat, *Adv. Prot. Chem.* 32:1-75 (1978)). CDR 영역 서열은 또한 보존된 β-시트 프레임워크의 일부가 아닌 잔기로서 Chothia에 의해 구조적으로 정의되었으며, 따라서 다른 입체구조(conformation)를 적응(adapt)시킬 수 있다(Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). 이 두 용어는 당업계에 잘 알려져 있다. 표준(canonical) 항체 가변 도메인 내의

CDR의 위치는 수많은 구조의 비교에 의해 결정되었다(Al-Lazikani *et al.*, *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997); Morea *et al.*, *Methods* 20:267-279 (2000)). 초가변 영역 내의 잔기의 수는 상이한 항체에서 다양하기 때문에, 표준 위치에 대한 추가의 잔기는 통상적으로 표준 가변 도메인 넘버링 스키마(scheme)에서 잔기 번호 옆에 a, b, c 등으로 번호가 매겨진다(Al-Lazikani *et al.*, *supra* (1997)). 이러한 명명법은 당업자에게 유사하게 잘 알려져 있다.

[0137] 예를 들어, 표준 명칭에 따라 정의된 CDR은 하기 표 1에 제시되어 있다.

[0138] **표 1: CDR 정의**

[0139]

	예시적인 (Kabat + Chothia)	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
V_H CDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
V_H CDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	53-55	47-58
V_H CDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	96-101	93-101
V_L CDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	26-32	30-36
V_L CDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-52	46-55
V_L CDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	91-96	89-96

[0140]

[0141] 하나 이상의 CDR은 또한 공유 결합 또는 비공유 결합으로 분자에 혼입되어 이를 면역접착제로 만들 수 있다. 면역접착제는 더 큰 폴리펩티드 쇄의 일부로서 CDR(들)을 혼입할 수 있거나, CDR(들)을 다른 폴리펩티드 쇄에 공유적으로 링크(link)할 수 있거나, 또는 CDR(들)을 비공유적으로 혼입할 수 있다. CDR은 면역접착제가 관심있는 특정 항원에 결합하는 것을 허용한다.

[0142] "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 CDR 옆에 있는(flanking) 가변 도메인 잔기를 지칭한다. FR 잔기는, 예컨대, 키메라, 인간화된, 인간, 도메인 항체, 디아바디, 선형 항체 및 이중특이적 항체에 존재한다. FR 잔기는 본원에 정의된 초가변 영역 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다.

[0143] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된, 항체와 관련하여 사용된 용어 "단리된"은 항체가 세포 또는 조직 공급원으로부터의 세포성 물질 또는 다른 오염 단백질 및/또는 항체가 유래된 것으로부터의 다른 오염 구성성분이 실질적으로 없거나, 화학적으로 합성되는 경우 화학적 전구체 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없는 항체를 의미한다. "세포성 물질이 실질적으로 없다"는 표현은 항체가, 단리되거나 재조합적으로 생산되는 세포의 세포성 구성성분으로부터 분리되는 항체의 제제를 포함한다. 따라서, 실질적으로 세포성 물질이 없는 항체는 (건조 중량으로) 약 30%, 20%, 10% 또는 5% 미만의 이종(heterologous) 단백질 (본원에서 "오염 단백질"이라고도 지칭함)을 갖는 항체의 제제를 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체가 재조합적으로 생산되는 경우, 배양 배지가 실질적으로 없으며, 예컨대, 배양 배지는 약 20%, 10% 또는 5% 미만 부피의 단백질 제제에 상당한다. 특정 실시양태에서, 항체가 화학적 합성에 의해 생산되는 경우, 이는 화학적 전구체 또는 다른 화학 물질이 실질적으로 없으며, 예를 들어, 단백질의 합성에 관여하는 화학적 전구체 또는 다른 화학 물질로부터 분리된다. 따라서, 이러한 항체 제제는 (건조 중량으로) 약 30%, 20%, 10%, 5% 미만의 관심있는 항체 이외에 화학적 전구체 또는 화합물을 갖는다. 오염 구성성분은 또한, 비제한적으로, 항체의 치료적 용도를 방해할 수 있는 물질을 포함할 수 있으며, 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 (1) Lowry 방법 (Lowry *et al*. J. Bio. Chem. 193: 265-275, 1951)에 의해 확인된 바와 같이 95중량% 초과, 예컨대, 99중량%의 항체로, (2) 스피닝 컵 서열 분석 장치(spinning cup sequenator)를 사용하여 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 15개 이상의 잔기를 수득하기에 충분한 정도로, 또는 (3) 코마시 블루, 또는 바람직하게는, 은 염료를 이용한 환원성 또는 비-환원성 조건에서의 SDS-PAGE에서 동질성을 나타내는 수준으로 정제된다. 단리된 항체는 항체의 자연 환경에서의 하나 이상의 구성성분이 존재하지 않을 것이기 때문에 재조합 세포 내의 인시추 항체를 포함한다. 그러나, 일반적으로, 단리된 항체는 하나 이상의 정제 단계에 의해 제조될 것이다. 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 단리된다.

[0144] 달리 특정되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "폴리뉴클레오티드", "뉴클레오티드", "핵산", "핵산 분자" 및 다른 유사한 용어는 상호 교환 가능하게 사용되며 DNA, RNA, mRNA 등을 포함한다.

[0145] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된, 핵산 분자와 관련하여 사용된 용어 "단리된"은 핵산 분자가 핵산 분자의 자연 공급원에 존재하는 다른 핵산 분자로부터 분리된 것을 의미한다. 또한, "단리된" 핵산 분자, 예컨대, cDNA 분자는 재조합 기술에 의해 제조되는 경우 다른 세포성 물질 또는 배양 배지가 실질적으로 없거나, 화학적으로 합성되는 경우 화학적 전구체 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다. 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체를 코딩하는 핵산 분자(들)는 단리되거나 정제된다.

[0146] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "결합하다(bind)" 또는 "결합(binding)"은 분자들 사이의 상호 작용을 지칭한다. 상호 작용은 예를 들어, 수소 결합, 이온성 결합, 소수성 상호 작용 및/또는 반데르 발스 상호 작용을 포함하는 비공유 상호 작용일 수 있다. 항체 및 표적 분자의 단일 에피토프, 예컨대, BTN1A1, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA 사이의 총 비공유 상호 작용의 강도는 해당 에피토프에 대한 항체의 친화도이다. "결합 친화도"는 일반적으로 분자의 단일 결합 부위 (예컨대, 항체와 같은 결합 단백질)와 이의 결합 파트너 (예컨대, 항원) 사이의 비공유 상호 작용의 총합의 강도를 지칭한다.

[0147] 결합 파트너 Y, 예컨대, 항체의 동족(cognate) 항원에 대한 결합 분자 X, 예컨대, 항체의 친화도는 일반적으로 해리 상수(K_D)로 나타낼 수 있다. 낮은 친화도 항체는 일반적으로 항원에 느리게 결합하고 쉽게 해리되는 경향이 있는 반면, 높은 친화도 항체는 일반적으로 항원에 빠르게 결합하여 더 긴 결합을 유지하는 경향이 있다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당업계에 공지되어 있으며, 이들 중 임의의 것이 본 개시의 목적으로 사용될 수 있다. "K_D" 또는 "K_D 값"은 당업계에 공지된 검정, 예를 들어, 결합 검정에 의해 측정될 수 있다. K_D는 방사성 표지된 항원 결합 검정(RIA)에서 측정, 예를 들어, 관심 항체의 Fab 버전 및 이의 항원으로 수행될 수 있다 (Chen, *et al.*, (1999) *J. Mol. Biol.* 293:865-881). K_D 또는 K_D 값은 또한 Biacore에 의한 표면 플라즈몬 공명 검정을 사용, 예를 들어, BIAcoreTM-2000 또는 BIAcoreTM-3000 BIAcore, Inc., Piscataway, NJ를 사용하거나, 생물층 간섭계에 의해, 예를 들어, OctetQK384 system (ForteBio, Menlo Park, CA)를 사용하여 측정될 수 있다.

[0148] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 분자는, 이러한 결합이 이의 동족 항원에 대한 항체의 특이성 및 친화도를 나타내는 경우, 제2 분자를 "면역특이적으로 결합"할 수 있는 것으로 언급된다. 이러한 결합이 항체의 항원 인식 부위를 포함하는 경우, 항체는 항원의 표적 영역 또는 입체구조 ("에피토프")에 면역특이적으로 결합한다. 특정 항원에 면역특이적으로 결합하는 항체는, 다른 항원이 예컨대, 면역검정, BIACORE® 검정 또는 당업계에 공지된 다른 검정에 의해 결정된 항원 인식 부위에 의해 인식되는 일부 서열 또는 입체구조적 유사성을 갖는 경우, 낮은 친화도로 다른 항원에 결합할 수 있다. 일반적으로 항체는 완전히 관련이 없는 항원에 결합하지 않는다. 일부 항체 (및 이들의 항원 결합 단편)는 다른 항원과 교차 반응하지 않는다. 항체는 또한 항원 인식 부위, 예컨대, Fc 영역을 포함하지 않는 항체의 다른 영역/도메인에서의 결합 도메인으로 인해, 면역 특이적이지 않은 방식으로 다른 분자, 예컨대, FcR 수용체에 결합할 수 있다.

[0149] 글리코실화 부위를 포함하는 항원 또는 항원의 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편은 글리코실화 형태 또는 비-글리코실화된 형태 둘 모두로 항원 또는 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 항원 또는 에피토프에 비해 글리코실화된 항원 또는 에피토프에 우선적으로 결합한다. 우선적인 결합은 결합 친화도에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 절반 미만의 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 10배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 약 75%, 약 50%, 약 25%, 약 10%, 약 5%, 약 2.5% 또는 약 1%인 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다.

[0150] BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 또는 BTN1A1 이량체에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체에 비해 BTN1A1 이량체에 우선적으로 결합한다. BTN1A1 결합은, 예컨대, BTN1A1 발현된 세포 표면 또는 가용성 BTN1A1 도메인 구조체, 예컨대, BTN1A1 세

포 외 도메인(ECD) 구조체(예컨대, Flag-태그된 BTN1A1-ECD 또는 BTN1A1-CED-Fc 융합 구조체)에서 발생할 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 단량체 또는 이량체는 하나 이상의 위치에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체에 대하여 나타낸 K_D의 절반 미만의 K_D로 BTN1A1 이량체에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체에 대하여 나타낸 K_D보다 10배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체에 대하여 나타낸 K_D의 약 75%, 약 50%, 약 25%, 약 10%, 약 5%, 약 2.5% 또는 약 1%인 K_D로 BTN1A1 이량체에 결합한다.

[0151] 우선적인 결합은 또한 결합 검정에 의해 결정될 수 있고, 예를 들어, 평균 형광 강도("MFI")에 의해 표시될 수 있다. 예를 들어, 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI의 2배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 3배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI의 5배 이상, 10배 이상, 15배 이상 또는 20배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다.

[0152] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 분자는 항원 또는 에피토프의 글리코실화, 또는 이의 특정 글리코실화 부위를 "면역특이적으로 마스킹(mask)"하는 것으로 언급되며, 이는 (1) 글리코실화되지 않은 항원 또는 에피토프의 글리코실화 부위를 차단하여, 항원 또는 에피토프가 글리코실화될 수 없도록 하거나, (2) 글리코실화된 항원 또는 에피토프 또는 글리코실화된 항원 또는 에피토프의 특이적 글리코실화 부위에 결합하고 글리코실화의 생리학적 효과, 예컨대, 글리코실화에 의해 매개된 다운스트림 시그널링을 방지할 수 있는 능력을 지칭한다. 예를 들어, BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹하는 항체 또는 항원 결합 단편은 (1) 비-글리코실화된 BTN1A1의 글리코실화 부위를 차단하고 이의 글리코실화를 방지하거나 (2) 글리코실화된 BTN1A1에 결합하고 글리코실화의 생리학적 효과, 예컨대, 글리코실화에 의해 매개되는 면역억제 효과를 방지하는 항체 또는 항원 결합 단편을 지칭한다. 다른 예에서, N55 및 N215에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹하는 항체 또는 항원 결합 단편은 (1) 비-글리코실화된 BTN1A1의 N55 및 N215를 차단하고 N55 및 N215의 글리코실화를 방지하거나, (2) N55 및 N215에서 글리코실화된 BTN1A1에 결합하고 글리코실화의 생리학적 효과, 예컨대, 글리코실화에 의해 매개된 면역억제 효과를 방지하는 항체 또는 항원 결합 단편을 지칭한다.

[0153] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "담체"는 희석제, 아쥬반트(예컨대, (완전 또는 불완전) 프로인트 아쥬반트(Freund's adjuvant)), 부형제, 안정화제 또는 치료제(therapeutic agent)가 투여된 비히클을 지칭한다. "약학적으로 허용가능한 담체"는 사용된 투여량 및 농도에서 노출되는 세포 또는 포유 동물에 비독성인 담체이며, 이는 멸균 액체, 예컨대, 물, 및 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것들, 예컨대, 땅콩 오일, 대두 오일, 미네랄 오일, 참기름 등을 포함한 오일일 수 있다.

[0154] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "벡터"는 핵산 분자를 숙주 세포 내로 도입하는데 사용되는 물질을 지칭한다. 사용에 적용가능한 벡터는, 예를 들어, 발현 벡터, 플라스미드, 파지 벡터, 바이러스 벡터, 에피솜 및 인공 염색체를 포함하며, 이들은 숙주 세포의 염색체에 안정적으로 통합되도록 작동할 수 있는 선택 서열 또는 마커를 포함할 수 있다. 또한, 벡터는 하나 이상의 선택가능한 마커 유전자 및 적절한 발현 제어 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 항생제 또는 독소에 대한 내성을 제공하거나, 영양요구성 결핍을 보완하거나, 배양 배지에 없는 중요한 영양소를 공급할 수 있는 선택 가능한 마커 유전자를 포함할 수 있다. 발현 제어 서열은 당업계에 잘 알려진 구성적(constitutive) 및 유도성(inducible) 프로모터, 전사 인핸서, 전사 종결자 등을 포함할 수 있다. 둘 이상의 핵산 분자(예컨대, 항체 중쇄 및 경쇄 둘 모두)가 공동-발현되는 것인 경우, 두 핵산 분자는 예를 들어, 단일 발현 벡터 또는 별개의 발현 벡터에 삽입될 수 있다. 단일 벡터 발현의 경우, 코딩 핵산은 하나의 공통 발현 제어 서열에 작동가능하게 링크되거나 상이한 발현 제어 서열, 예컨대, 하나의 유도성 프로모터 및 하나의 구성적 프로모터에 링크될 수 있다. 숙주 세포 내로의 핵산 분자의 도입은 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 확인될 수 있다. 이러한 방법은 예를 들어, 핵산 분석, 예컨대, 노던 블랏 또는 mRNA의 중합 효소 연쇄 반응 (PCR) 증폭, 또는 유전자 산물의 발현에 대한 면역블랏팅, 또는 도입된 핵산 서열 또는 이의 상응하는 유전자 산물의 발현을 시험하기 위한 다른 적합한 분석 방법을 포함한다. 당업자는 핵산 분자가 원하는 산물 (예컨대, 본원에 제공된 항-BTN1A1 항체)을 생산하기에 충분한 양으로 발현됨을 이해하며, 발현 수준이 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 충분한 발현을 수득하기 위해 최적화될 수 있음을 추가로 이해한다.

[0155] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "숙주 세포"는 핵산 분자 및 이러한 세포의 자손 또는 잠재적 자손

으로 형질주입된 특정 대상체 세포를 지칭한다. 이러한 세포의 자손은 후속 세대 또는 숙주 세포 게놈으로의 핵산 분자의 통합에서 발생할 수 있는 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 핵산 분자로 형질주입된 모 세포와 동일하지 않을 수 있다.

[0156] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "대상체"는 치료, 관찰 및/또는 실험의 대상인 동물을 지칭한다. "동물"은 척추 동물 및 무척추 동물, 예컨대, 어류, 조개류, 파충류, 조류 및 특히, 포유 동물을 포함한다. "포유 동물"은 마우스, 랫트, 토끼, 기니피그,개, 고양이, 양, 염소, 소, 말, 영장류, 예컨대, 원숭이, 침팬지, 유인원 및 인간을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0157] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "암" 또는 "암성(cancerous)"은 일반적으로 조절되지 않은 세포 성장을 특징으로 하는 포유 동물의 생리학적 병태를 지칭한다. 암의 예로는 혈액암 및 고형 종양을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0158] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "치료하다", "치료하는", "치료"는 암 환자와 관련하여 사용되는 경우, 암의 중증도를 감소시키는 작용, 또는 (a) 암 성장 억제 또는 암 진행 정지, 및 (b) 암 퇴행 또는 암 존재와 관련된 하나 이상의 증상의 지연 또는 최소화를 포함하는 암의 진행을 지체시키거나 늦추는 작용을 지칭한다.

[0159] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "내성(resistant)" 또는 "불응성(refractory)"은 환자가 집중 치료 후에도, 조직 또는 기관(예컨대, 폐 또는 유방)에서 잔류 암 세포 (예컨대, 폐암 또는 유방암 세포)를 갖는 상황을 지칭한다.

[0160] 치료와 관련하여 사용되는 경우 용어 "반응성" 또는 "반응하는"은 치료되는 질환, 예컨대, 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암의 증상을 줄이거나 감소시키는 치료의 효과의 정도를 지칭한다. 예를 들어, 세포 또는 대상체의 치료와 관련하여 사용되는 경우 용어 "증가된 반응성"은, 당업계에 알려진 임의의 방법을 사용하여 측정하는 경우 (예컨대, 동일한 세포 또는 대상체의, 또는 상이한 세포 또는 대상체의) 기준 치료와 비교하여 질환의 증상을 줄이거나 감소시키는 효과의 증가를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 효과의 증가는 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상 또는 약 50% 이상이다.

[0161] 본원에 사용된 용어 "유효한 대상체 반응", "유효 환자 반응" 및 "유효 환자 종양 반응"은 환자에 대한 치료적 이점의 임의의 증가를 지칭한다. "유효 환자 종양 반응"은 예를 들어, 종양 진행 속도의 약 5%, 약 10%, 약 25%, 약 50% 또는 약 100% 감소일 수 있다. "유효 환자 종양 반응"은 예를 들어, 암의 물리적 증상의 약 5%, 약 10%, 약 25%, 약 50% 또는 약 100% 감소일 수 있다. "유효 환자 종양 반응"은 예를 들어, 임의의 적합한 수단, 예컨대, 유전자 발현, 세포 계수(count), 검정 결과, 종양 크기 등에 의해 측정시 환자의 반응에서 약 5%, 약 10%, 약 25%, 약 50%, 약 100%, 약 200% 또는 그 이상의 증가일 수 있다.

[0162] 암 또는 암-관련 질환의 개선은 완전 또는 부분 반응으로서 특성화될 수 있다. "완전 반응"은 임의의 이전에 비정상적인 방사선사진 연구, 골수 및 뇌척수액(CSF), 또는 비정상적인 모노클로날 단백질 측정의 정상화된(normalization), 임상적으로 검출가능한 질환의 부재를 지칭한다. "부분 반응"은 새로운 병변의 부재시 모든 측정가능한 종양 부담(즉, 대상체에 존재하는 악성 세포의 수, 또는 측정된 대량의 종양 덩어리 또는 비정상적인 모노클로날 단백질의 양)에서 적어도 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80% 또는 약 90% 감소를 지칭한다. 용어 "치료"는 완전 반응 및 부분 반응을 모두 고려한다.

[0163] 용어 "가능성(likelihood)"은 일반적으로 사건의 개연성의 증가를 지칭한다. 환자 종양 반응의 효과와 관련하여 사용되는 경우 용어 "가능성"은 일반적으로 종양 진행 속도 또는 종양 세포 성장률이 감소할 증가된 개연성을 고려한다. 환자 종양 반응의 효과와 관련하여 사용되는 경우 용어 "가능성"은 또한 일반적으로 종양 치료의 진행이 증가한다는 증거일 수 있는 지표, 예컨대, mRNA 또는 단백질 발현의 증가를 의미할 수 있다.

[0164] 용어 "예측"은 일반적으로 미리 결정하거나 아는 것을 의미한다. 예를 들어, 암 치료의 효과를 "예측"하는데 사용되는 경우, 용어 "예측"은 암 치료 결과의 가능성이 치료 시작 전 또는 치료 기간이 실질적으로 진행되기 전에 처음부터 결정될 수 있음을 의미할 수 있다.

[0165] 본원에 사용된 용어 "모니터(monitor)"는 일반적으로 활성의 감독, 통제, 조절, 관찰, 추적 또는 감시를 지칭한다. 예를 들어, 용어 "화합물의 효과 모니터링"은 환자 또는 종양 세포 배양물(culture)에서 암 치료 효과를 추적하는 것을 지칭한다. 유사하게, 환자 순응과 관련하여 개별적으로 또는 임상 시험에서 사용되는 경우, "모니터링"이라는 용어는 환자가 실제로 시험중인 약물을 처방된대로 복용하고 있는지 추적하거나 확인하는 것을 지

칭한다. 모니터링은 예를 들어, mRNA 또는 단백질 바이오마커의 발현에 따라 수행될 수 있다.

[0166] 본원에 사용된 "종양"은 악성이든 양성이든, 모든 신생물 세포 성장 및 증식, 및 모든 전암성(pre-cancerous) 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다. 본원에 사용된 "신생물"은 악성이든 양성이든, 비정상적인 조직 성장을 초래하는, 조절되지 않거나 조절되지 않은 임의의 세포 성장 형태를 지칭한다. 따라서, "신생물 세포"는 조절이상이거나 조절되지 않은 세포 성장을 갖는 악성 및 양성 세포를 포함한다.

[0167] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "치료적 유효량"은 주어진 질환, 질병 또는 병태의 심각성 및/또는 지속 기간 및/또는 이와 관련된 증상을 감소시키고/시키거나 개선하기에 충분한 약제 (예컨대, 본원에 기술된 항체 또는 본원에 기술된 임의의 다른 약제)의 양을 지칭한다. 치료제를 포함하는 약제의 치료적 유효량은 (i) 주어진 질환, 질병 또는 병태의 진행 또는 발병의 감소 또는 개선, (ii) 주어진 질환, 질병 또는 병태의 재발, 진행 또는 발병의 감소 또는 개선, 및/또는 (iii) 다른 요법 (예컨대, 본원에 제공된 항체의 투여 이외의 요법)의 예방적 또는 치료적 효과를 개선시키거나 향상시키기 위해 필요한 양일 수 있다. 본 개시 내용의 물질/분자/약제(예컨대, 항-BTN1A1 항체)의 치료적 유효량은 인자, 예컨대, 개인(individual)의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 및 개인에서 원하는 반응을 이끌어 내기 위한 물질/분자/약제의 능력에 따라 달라질 수 있다. 치료적 유효량은 물질/분자/약제의 임의의 독성 또는 유해 효과가 치료적으로 유리한 효과에 의해 능가되는 양을 포함한다.

[0168] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "투여하다" 또는 "투여"는 신체 외부에 존재하는 물질을 예컨대, 점막, 피내, 정맥 내, 근육 내 전달 및/또는 본원에 기술되거나 당업계에 알려진 임의의 다른 물리적 전달 방법에 의해 환자에게 주입하거나 물리적으로 전달하는 행위를 지칭한다. 질환, 질병 또는 병태 또는 이의 증상이 치료되는 경우, 물질의 투여는 전형적으로 질환, 질병 또는 병태 또는 이의 증상의 발병 후에 발생한다. 질환, 질병 또는 병태 또는 이의 증상이 예방되는 경우, 물질의 투여는 전형적으로 질환, 질병 또는 병태 또는 이의 증상의 발병이 시작되기 전에 일어난다.

[0169] "생물학적 마커" 또는 "바이오마커"는 예를 들어, 검출이 특정 생물학적 상태, 예컨대, 암의 존재를 나타내는 물질이다. 일부 실시양태에서, 바이오마커는 개별적으로 결정될 수 있다. 다른 실시양태에서, 여러 바이오마커가 동시에 측정될 수 있다. 본원에 제공된 방법의 일부 실시양태에서, BTN1A1은 암의 존재를 나타내는 바이오마커이다. 일부 실시양태에서, PD-L1은 암의 존재를 나타내는 바이오마커이다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 및 PD-L1은 암(예컨대, 항-BTN1A1 항체를 이용한 치료에 반응하는 항-PD1 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암)의 존재를 나타내기 위해 조합하여 사용될 수 있다.

[0170] 일부 실시양태에서, "바이오마커"는 질환의 위험 또는 진행, 또는 주어진 치료에 대한 질환의 감수성(susceptibility)과 관련될 수 있는 mRNA 발현 수준의 변화를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 바이오마커는 핵산, 예컨대, mRNA 또는 cDNA (예컨대, BTN1A1 또는 PD-L1 mRNA 또는 cDNA)이다.

[0171] 추가의 실시양태에서, "바이오마커"는 질환의 위험 또는 진행, 또는 환자의 치료 감수성과 상관될 수 있는 폴리펩티드 또는 단백질 발현 수준의 변화를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 바이오마커는 폴리펩티드 또는 단백질, 또는 이의 단편 (예컨대, BTN1A1 또는 PD-L1 단백질)일 수 있다. 특정 단백질의 상대 수준은 당업계에 알려진 방법에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 항체 기반 방법, 예컨대, 면역 블랏, 효소-결합 면역흡착 검정(ELISA), 또는 다른 방법이 사용될 수 있다.

[0172] 본원에 사용된 용어 "발현된" 또는 "발현"은 유전자의 2개의 핵산 가닥 중 하나의 영역에 적어도 부분적으로 상보적인 RNA 핵산 분자를 제공하는 유전자로부터의 전사를 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "발현된" 또는 "발현"은 또한 단백질, 폴리펩티드, 또는 이의 일부를 제공하기 위해 RNA 분자로부터의 번역을 지칭한다.

[0173] 용어 "수준"은 바이오마커 분자(예컨대, BTN1A1 또는 PD-L1)의 양, 축적, 또는 속도를 지칭한다. 수준은, 예를 들어, 유전자에 의해 코딩된 메신저 RNA(mRNA)의 합성량 또는 합성 속도, 유전자에 의해 코딩된 폴리펩티드 또는 단백질의 합성량 또는 합성 속도, 또는 세포 또는 생물학적 유체에 축적된 생물학적 분자의 합성량 또는 합성 속도에 의해 나타낼 수 있다. 용어 "수준"은 정상 상태 또는 비정상 상태 조건 하에서 측정된 샘플에서 분자의 절대량 또는 분자의 상대량을 지칭한다.

[0174] 본원에 사용된 용어 "결정", "측정", "평가(evaluating)", "판정(assessing)" 및 "검정"은 임의의 측정 형태를 지칭하고, 요소가 존재하는지 아닌지의 여부를 결정하는 것을 포함한다. 이러한 용어에는 정량적 및/또는 정성적 결정이 포함된다. 판정은 상대적이거나 절대적일 수 있다. "존재의 판정"은 존재하는 것의 존재 여부를 결정하는 것뿐만 아니라 존재하는 것의 양을 결정하는 것을 포함할 수 있다.

[0175] 본원에 사용된 용어 "샘플"은 전형적으로, 필수적이지는 않지만, 유체 형태로, 하나 이상의 관심 구성성분을 함유하는 물질 또는 물질의 혼합물에 관한 것이다.

[0176] 본원에 사용된 "생물학적 샘플"은 인 비보 또는 인 시추에서 수득, 도달, 또는 수집된 생물학적 조직 또는 유체 기원의 샘플을 포함하는, 생물학적 대상체로부터 수득된 샘플을 지칭한다. 생물학적 샘플은 또한 전암성 또는 암 세포 또는 조직을 함유하는 생물학적 대상체의 영역으로부터의 샘플을 포함한다. 이러한 샘플은 포유 동물로부터 단리된 기관, 조직 및 세포일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 예시적인 생물학적 샘플은 세포 용해물, 세포배양물, 세포주, 조직, 구강 조직, 위장 조직, 기관, 소기관, 생물학적 유체, 혈액 샘플, 소변 샘플, 피부 샘플 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 바람직한 생물학적 샘플은 전혈, 부분 정제된 혈액, PBMC, 조직 생검 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0177] 5.2 **<u>BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자.</u>**

[0178] 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1-BTN1A1 리간드 복합체(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA, 및 BTN1A1를 포함하는 복합체)의 형성을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 형성된 BTN1A1-BTN1A1 리간드 복합체(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA, 및 BTN1A1를 포함하는 복합체)를 방해할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 항-BTN1A1 항체, 항-GAL-1 항체, 항-GAL-9 항체, 항-NRP-2 항체 또는 항-BTLA 항체를 포함하는 항체이다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 단편 또는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 이량체에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, BTN1A1, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA 에피토프는 선형 에피토프일 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA 에피토프는 입체구조 에피토프일 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 에피토프는 BTN1A1 이량체에서는 발견되나, BTN1A1 단량체에서 발견되지 않는다. 일부 실시양태에서, BTN1A1, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 제공된 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1-BTN1A1 리간드 복합체의 면역 억제 기능을 방지한다.

[0179] 일부 실시양태에서, 분자는 항-글리코실화된 BTN1A1 항체이거나, 항-글리코실화된 BTN1A1 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자는 항-BTN1A1 이량체 항체이거나, 항-BTN1A1 이량체 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자는, 예컨대, 그 전문이 본원에 참고로 원용되는, 국제특허출원 PCT/US2016/064436호(2016년 12월 1일 출원됨), 미국 가특허출원 제62/513389호(2017년 5월 31일 출원됨) 또는 미국 가특허출원 제62/513393호(2017년 5월 31일 출원됨)에서 기술된 바와 같은 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자이다. 일부 실시양태에서, 분자는 예컨대, 국제특허출원 제PCT/US2016/064436호, 미국 가특허출원 제62/513389호 또는 미국 가특허출원 제62/513393호에 기술된 바와 같은, 항원 결합 단편, 또는 항-BTN1A1 항체 STC703, STC810, STC820, STC1011, STC1012 또는 STC1029의 VH, VL 또는 CDR 서열, 또는 이의 인간화된 변이체를 포함한다.

[0180] 일부 실시양태에서, 분자는 STC810이 아니거나, 국제특허출원 PCT/US2016/64436호에 기술된 바와 같이 STC810의 항원 결합 단편 또는 VH, VL 또는 CDR 아미노산 서열을 포함한다.

[0181] 일부 실시양태에서, 분자는 항-GAL-1 항체이거나, 항-GAL-1 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자는 항-GAL-1 항체이거나, 예컨대, 그 전문이 본원에 참조로 원용되는 국제특허출원 PCT/US2014/047783호(예컨대, WO 2015/013388 A3호로서 공개됨)에 기술된 바와 같은 항-GAL-1 항체의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0182] 일부 실시양태에서, 분자는 항-GAL-9 항체이거나, 항-GAL-9 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자는 항-GAL-9 항체이거나, 예컨대, 그 전문이 본원에 참조로 원용되는 국제특허출원 PCT/FR2015/051498호(예컨대, WO 2015/185875 A2호로서 공개됨)에 기술된 바와 같은 항-GAL-9 항체의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0183] 일부 실시양태에서, 분자는 항-NRP-2 항체이거나, 항-NRP-2 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자는 항-NRP-2 항체이거나, 예컨대, 그 전문이 본원에 참조로 원용되는 국제특허출원 PCT/US2007/069179호(예컨대, WO 2008/143665 A1호로서 공개됨)에 기술된 바와 같은 항-NRP-2 항체의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0184] 일부 실시양태에서, 분자는 항-NRP-2 항체이거나, 항-NRP-2 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자는 항-NRP-2 항체이거나, 예컨대, 그 전문이 본원에 참조로 원용되는, 국제특허출원 PCT/US2007/069179호(예컨대, WO 2008/143665 A1호로서 공개됨) 또는 PCT/US2007069185호(예컨대, WO 2008/143666 A2호로서 공개됨)에 기술된 바와 같은 항-NRP-2 항체의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0185] 일부 실시양태에서, 분자는 항-BTLA 항체이거나, 항-BTLA 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자는 항-BTLA 항체이거나, 예컨대, 그 전문이 본원에 참조로 원용되는, 국제특허출원 PCT/US2016/64385호(2016년 12월 1일 출원됨), PCT/US2010/043182호(예컨대, WO 2011/014438 A1호로서 공개됨), PCT/EP2010/053356호(예컨대, WO 2010/106051 A1호로서 공개됨), PCT/US2007/084792호(예컨대, WO 2008/076560 A2호로서 공개됨)에 기술된 바와 같은 항-BTLA 항체의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0186] 일부 실시양태에서, 분자는 항-BTN1A1 항체이거나, 항-BTN1A1 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 분자는 항-BTN1A1 항체이거나, 예컨대, 그 전문이 본원에 참조로 원용되는 국제특허출원 PCT/US2016/064436호(2016년 12월 1일 출원됨)에 기술된 바와 같은 항-BTN1A1 항체의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0187] 일 양태에서, 본원은 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자를 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, 갈렉틴-1 (GAL-1), 갈렉틴-9(GAL-9), NRP-2(Nrp-2), 또는 B- 및 T-림프구 약화인자(BTLA)의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-1에 대한 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-9에 대한 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 NRP-2에 대한 BTN11A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTLA에 대한 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 완전히 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 적어도 부분적으로 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2 또는 BTLA의 결합의 1% 이상, 3% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA에 대한 BTN1A1의 결합 또는 이의 억제는 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계(biolayer interferometry) 또는 공동-면역침전(co-immunoprecipitation)을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 분자는 1μM 미만, 900nM 미만, 800nM 미만, 700nM 미만, 600nM 미만, 500nM 미만, 400nM 미만, 300nM 미만, 200nM 미만, 100nM 미만, 90nM 미만, 80nM 미만, 70nM 미만, 60nM 미만, 50nM 미만, 40nM 미만, 30nM 미만, 20nM 미만, 10nM 미만, 9nM 미만, 8nM 미만, 8nM 미만, 7nM 미만, 6nM 미만, 5nM 미만, 4nM 미만, 3nM 미만, 2nM 미만, 또는 1nM 미만의 IC50 값으로 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 중화 검정은 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계, 공동-면역침전, FRET 또는 TR-FRET 검정, 또는 ELISA이다.

[0188] 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대해 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하며, 분자는 2개 이상의 BN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1 및 GAL-9의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1 및 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9 및 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, GAL-9 및 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, GAL-9 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9, NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, GAL-9, NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다.

[0189] 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1의 세포 외 도메인(ECD)에 결합하는 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0190] 또 다른 양태에서, 본원은 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자를 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-1에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-9에 면역특이적으로 결합하고, BTN1A1에 대한 GAL-9

의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 NRP-2에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTLA에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 완전히 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 적어도 부분적으로 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2 또는 BTLA의 결합의 1% 이상, 3% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1과 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합 또는 이의 억제는 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계 또는 공동-면역침전을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 분자는 1μM 미만, 900nM 미만, 800nM 미만, 700nM 미만, 600nM 미만, 500nM 미만, 400nM 미만, 300nM 미만, 200nM 미만, 100nM 미만, 90nM 미만, 80nM 미만, 70nM 미만, 60nM 미만, 50nM 미만, 40nM 미만, 30nM 미만, 20nM 미만, 10nM 미만, 9nM 미만, 8nM 미만, 8nM 미만, 7nM 미만, 6nM 미만, 5nM 미만, 4nM 미만, 3nM 미만, 2nM 미만 또는 1nM 미만의 IC50 값으로 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 중화 검정은 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계, 공동-면역침전, FRET 또는 TR-FRET 검정, 또는 ELISA이다.

[0191] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자의 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 GAL-1에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 GAL-9에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 NRP-2에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 BTLA에 결합할 수 있다.

[0192] 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1의 활성 또는 시그널링, 또는 BTN1A1 및 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 복합체의 활성 또는 시그널링을 조정할 수 있다.

[0193] 일부 실시양태에서, 분자는 T-세포 활성을 조정할 수 있다. 일부 실시양태에서, T-세포는 $CD8^+$ 세포이다. 일부 실시양태에에서, 분자는 T-세포 활성화 또는 T-세포 증식을 증가시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 T-세포 아폽토시스를 억제할 수 있다.

[0194] N-글리코실화는 소포체(ER)에서 개시되고 이어서 골지에서 처리되는 번역 후 변형이다(Schwarz and Aebi, *Curr. Opin. Struc. Bio.*, 21(5):576-582 (2011)). 이러한 유형의 변형은 먼저 올리고당으로 구성된 미리 형성된 글리칸을 NXT 모티프 (-Asn-X-Ser/Thr-) 내에 위치한 아스파라긴(Asn) 측쇄 수용체로 전달하는 막-관련 올리고사카릴 트랜스퍼라제(OST) 복합체에 의해 촉매화된다(Cheung and Reithmeier, *Methods*, 41:451-459 2007); Helenius and Aebi, Science, 291 (5512):2364-9 (2001). 미리 형성된 글리칸으로부터 당류의 첨가 또는 제거는 각각 글리코트랜스퍼라제 및 글리코시다제 그룹에 의해 매개되며, 이는 세포- 및 위치-의존 방식으로 N-글리코실화 캐스케이드(cascade)를 엄격하게 조절한다.

[0195] 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1의 하나 이상의 글리코실화 모티프에 선택적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 글리코실화 모티프를 갖는 글리코펩티드 및 인접 펩티드에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 3 차원에서 하나 이상의 글리코실화 모티프 근처에

위치한 펩티드 서열에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체의 하나 이상의 글리코실화 모티프보다 BTN1A1 이량체의 하나 이상의 글리코실화 모티프에 선택적으로 결합한다.

[0196] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 적어도 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 50% 미만의 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50% 미만의 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 10배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다.

[0197] 특정 BTN1A1 아이소폼(isoform) 또는 변이체의 특이적 글리코실화 부위는 특정 BTN1A1 아이소폼 또는 변이체의 위치 55, 215 또는 449번의 아미노산에서 다양할 수 있다. 이러한 상황에서, 당업자는 서열 정렬 및 당업계의 일반적인 지식에 기반하여 상기 예시된 인간 BTN1A1의 N55, N215 및 N449에 상응하는 임의의 특정 BTN1A1 아이소폼 또는 변이체의 글리코실화 부위를 결정할 수 있을 것이다. 이와 같이, 본원은 비-글리코실화된 BTN1A1 아이소폼 또는 변이체에 비해 글리코실화된 형태의 BTN1A1 아이소폼 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 또한 제공한다. BTN1A1 아이소폼 또는 변이체의 글리코실화된 부위는 상기 제공된 인간 BTN1A1 서열의 N55, N215 및 N449의 상응하는 부위일 수 있다.

[0198] 일부 실시양태에서, 분자는 글리코실화된 BTN1A1(예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215 및/또는 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N215에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 하나 이상의 글리코실화 모티프에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55 및 N215에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N215 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다.

[0199] 일부 실시양태에서, 분자는 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 가지며, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 비해 글리코실화된 BTN1A1 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)과 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화 BTN1A1에 비해 위치 N55, N215 및/또는 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화 BTN1A1에 비해 위치 N55에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화 BTN1A1에 비해 위치 N215에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화 BTN1A1에 비해 위치 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 하나 이상의 글리코실화된 모티프에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화 BTN1A1에 비해 위치 N55 및 N215에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화 BTN1A1에 비해 위치 N215 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화 BTN1A1에 비해 위치 N55 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화 BTN1A1에 비해 위치 N55, N215 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다.

[0200] 우선적인 결합은 결합 친화도에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 글리코실화 BTN1A1에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편(예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 절반 미만의 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 2배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸

K_D보다 5배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 10배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 15배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 20배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 25배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 30배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 40배 이상 낮은 KD로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 50배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 약 75%인 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 약 50%인 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 약 25%인 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 약 10%인 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 약 5%인 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 약 2.5%인 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 약 1%인 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다.

[0201] 우선적인 결합은 또한 예를 들어, 형광 강도("MFI")로 표시되는 결합 검정에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편(예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 더 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI의 2배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI의 2배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 3배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI의 5배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 글리코실되지 않은 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI의 10배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI의 15배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 20배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 25배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 30배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 40배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 50배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다.

[0202] 일부 실시양태에서, (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체의) 항원 결합 단편은 위치 N55, N215 및/또는 N449에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N215에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N449에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1의 하나 이상의 글리코실화된 모티프를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55 및 N215에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N215 및 N449에서 BTN1A1 글

리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55 및 N449에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215 및 N449에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다.

[0203] 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1 단량체보다 BTN1A1 이량체에 선택적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 이량체는 세포의 표면에서 발현된다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 이량체는 BTN1A1의 가용성 단백질 단편, 예컨대, BTN1A1의 세포 외 도메인 구조체, 예컨대, Fc-융합 단백질 구조체(예컨대, BTN1A1-ECD-Fc)이다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 단량체는 BTN1A1의 세포 외 도메인 구조체, 예컨대, Flag-태그된 BTN1A1-ECD 구조체 또는 His6-태그된 BTN1A1-ECD 구조체이다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 이량체에 선택적으로 결합하는 분자는 글리코실화된 BTN1A1에 선택적으로 결합하는 본원에 제공된 분자이다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 단량체보다 BTN1A1 이량체에 대한 우선적인 결합은 예컨대, 표면 플라스몬 공명 검정(예컨대, BIAcore)을 사용하여, BTN1A1-ECD-His6 또는 BTN1A1-ECD-Flag 구조체보다 BTN1A1-ECD-Fc 구조체에 대한 우선적인 결합을 측정함으로써 측정된다.

[0204] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체(예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D의 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체(예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D의 50% 미만의 KD로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D의 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50% 미만인 K_D로 BTN1A1 이량체(예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 10배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다.

[0205] 우선적인 결합은 결합 친화도에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D의 절반 미만의 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 2배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 5배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 10배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 15배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 20배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 25배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 30배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 40배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 50배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단

편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D의 약 75%인 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D의 약 50%인 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D의 약 25%인 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D의 약 10%인 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D의 약 5%인 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D의 약 2.5%인 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D의 약 1%인 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다.

[0206] 우선적인 결합은 또한 예를 들어, 형광 강도("MFI")로 표시되는 결합 검정에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체에 대하여 나타낸 MFI보다 더 높은 MFI로 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI보다 2배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI보다 3배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI보다 5배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI보다 10배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI보다 15배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI보다 20배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI보다 25배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI보다 30배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI보다 40배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI보다 50배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합할 수 있다.

[0207] 일부 실시양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 글리코실화된 단량체 BTN1A1보다 글리코실화된 이량체 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 글리코실화된 BTN1A1 이량체 중 2개의 BTN1A1 단량체는 동일한 위치 또는 상이한 위치에서 독립적으로 글리코실화될 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 이량체 중 하나의 단량체는 비-글리코실화된다. 글리코실화된 BTN1A1 이량체 중 글리코실화된 BTN1A1 단량체는 위치 N55, N215 및/또는 N449에서 글리코실화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 글리코실화된 BTN1A1 단량체는 위치 N55에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 글리코실화된 BTN1A1 단량체는 위치 N215에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 글리코실화된 BTN1A1 단량체는 위치 N449에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 글리코실화된 BTN1A1 단량체는 위치 N55 및 N215에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 글리코실화된 BTN1A1 단량체는 위치 N55 및 N449에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 글리코실화된 BTN1A1 단량체는 위치 N215 및 N449에서 글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 글리코실화된 BTN1A1 단량체는 위치 N55, N215 및 N449에서 글리코실화된다.

[0208] *5.2.1. 항체 및 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자*

[0209] 일부 실시양태에서, 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체는 IgG, IgM, IgA, IgD 또는 IgE일 수 있다. 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체는 또한 키메라 항체, 친화도 성숙된 항체, 인간화된 항체 또는 인간 항체일 수 있다. 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체는 또한 낙타화된 항체, 인트라바디, 항-이디오타입 (항-Id) 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체는 폴리클로날 항체 또는 모노클로날 항체일 수 있다.

[0210] 항체는 조류 및 포유 동물을 비롯한 임의의 동물 공급원으로부터 생산될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 양, 뮤린(예컨대, 마우스 및 랫트), 토끼, 염소, 기니피그, 낙타, 말 또는 닭이다. 또한 최신 기술은 인간 조합 항체 라이브러리로부터 인간 항체를 개발하고 스크리닝하는 것을 가능하게 한다. 예를 들어, 박테리오파지 항체 발현 기술은 미국특허 제6,946,546호에 기술된 바와 같이 동물 면역화가 부재한 상태에서 특이적 항체가 생산되는 것을 가능하게 하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 원용된다. 이들 기술은 Marks (1992); Stemmer (1994); Gram *et al.* (1992); Barbas *et al.* (1994); 및 Schier *et al.* (1996)에 추가로 기술되며, 이들은 그 전체가 본원에 참고로 원용된다.

[0211] 다양한 동물 종에서 폴리클로날 항체를 생산하는 방법 뿐만 아니라 인간화, 키메라 및 완전 인간을 포함한 다양한 유형의 모노클로날 항체를 생산하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 다음의 미국특허들은 이러한 방법의 설명을 가능하게 하고 본원에 참조로 원용되며, 이들은 그 전문이 본원에 참고로 원용된다: 미국특허 제3,817,837호; 제3,850,752호; 제3,939,350호; 제3,996,345호; 제4,196,265호; 제4,275,149호; 제4,277,437호; 제4,366,241호; 제4,469,797호; 제4,472,509호; 제4,606,855호; 제4,703,003호; 제4,742,159호; 제4,767,720호; 제4,816,567호; 제4,867,973호; 제4,938,948호; 제4,946,778호; 제5,021,236호; 제5,164,296호; 제5,196,066호; 제5,223,409호; 제5,403,484호; 제5,420,253호; 제5,565,332호; 제5,571,698호; 제5,627,052호; 제5,656,434호; 제5,770,376호; 제5,789,208호; 제5,821,337호; 제5,844,091호; 제5,858,657호; 제5,861,155호; 제5,871,907호; 제5,969,108호; 제6,054,297호; 제6,165,464호; 제6,365,157호; 제6,406,867호; 제6,709,659호; 제6,709,873호; 제6,753,407호; 제6,814,965호; 제6,849,259호; 제6,861,572호; 제6,875,434호; 제6,891,024호; 제7,407,659호; 및 제8,178,098호.

[0212] 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA) 항체를 포함하여 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하거나 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA에 특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자는 또한 폴리펩티드의 생산, 예컨대, 인 비트로 합성, 재조합 DNA 생산 등에 유용한 당업계에 알려진 임의의 방법에 의해 생산될 수 있다. 인간화된 항체는 재조합 DNA 기술에 의해 생산될 수 있다. 본원에 기술된 항체는 또한 재조합 면역글로불린 발현 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 인간화된 항체를 포함하는 면역글로불린 분자의 재조합 생산은 미국특허 제4,816,397호(Boss *et al.*), 미국특허 제6,331,415호 및 제4,816,567호 (둘 다 Cabilly *et al.*), 영국특허 GB 2,188,638호 (Winter *et al.*), 및 영국특허 GB 2,209,757호에 기술되며, 이들은 그 전문이 본원에 참고로 원용된다. 인간화된 면역글로불린을 포함하는 면역글로불린의 재조합 발현 기술은 Goeddel *et al.*, Gene Expression Technology Methods in Enzymology Vol. 185 Academic Press (1991), 및 Borreback, Antibody Engineering, W. H. Freeman (1992)에서 찾아볼 수 있으며; 이들은 그 전체가 본원에 참고로 원용된다. 재조합 항체의 생성, 설계 및 발현에 관한 추가 정보는 Mayforth, Designing Antibodies, Academic Press, San Diego (1993)에서 찾을 수 있다.

[0213] 특정 실시양태에서, 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체는 인간 항체이다. 인간 항체는 인간 면역글로불린 서열로부터 유래된 항체 라이브러리를 사용하는 상기 기술된 파지 디스플레이 방법을 포함하여 당업계에 알려진 다양한 방법에 의해 제조될 수 있다(미국특허 제4,444,887호 및 제4,716,111호; 및 국제공개공보 WO 98/46645호, WO 98/50433호, WO 98/24893호, WO 98/16654호, WO 96/34096호, WO 96/33735호 및 WO 91/10741호 참고). 인간 항체는 기능성 내인성 면역글로불린을 발현할 수 없지만 인간 면역글로불린 유전자를 발현할 수 있는 트랜스제닉 마우스를 사용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, 인간 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 유전자 복합체는 무작위로 또는 상동 재조합에 의해 마우스배아 줄기 세포 내로 도입될 수 있다. 대안적으로, 인간 가변 영역, 불변 영역 및 다양성 영역은 인간 중쇄 및 경쇄 유전자 이외에 마우스배아 줄기 세포 내로 도입될 수 있다. 마우스 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 유전자는 상동 재조합에 의해 인간 면역글로불린 유전자좌위(loci)의 도입과 함께개별적으로 또는 동시에 비-기능적으로 될 수 있다. 특히, JH 영역의 동형접합성 결실은 내인성 항체 생산을 방지한다. 변형된 배아 줄기 세포를 확장시키고 배반

포 내로 미세주입하여 키메라 마우스를 생산한다. 이후 키메라 마우스를 사육하여 인간 항체를 발현하는 동형접합 자손을 생산한다. 트랜스제닉 마우스는 선택된 항원, 예컨대, BTN1A1, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA 폴리펩티드의 전부 또는 일부, 또는 글리코실화된 BTN1A1, GAL-1, GAL- 9, NRP-2 또는 BTLA 폴리펩티드, 또는 BTN1A1, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA 폴리펩티드 이량체로 종래의 방법론을 사용하여 면역화된다. 항원에 대해 지향된(directed against) 모노클로날 항체는 종래의 하이브리도마 기술을 사용하여 면역화된 트랜스제닉 마우스로부터 획득할 수 있다(예컨대, 미국특허 제5,916,771호 참고). 트랜스제닉 마우스에 의해 보유된 인간 면역글로불린 트랜스진은 B 세포 분화 동안 재 배열되고, 이어서 클래스 스위칭 및 체세포 돌연변이를 겪는다. 따라서, 이러한 기술을 사용하여 치료적으로 유용한 IgG, IgA, IgM 및 IgE 항체가 생산될 수 있다. 인간 항체 생산을 위한 이 기술에 대한 개요는 Lonberg and Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93, 이는 그 전문이 본원에 참고로 원용됨)을 참고할 수 있다.

[0214] 인간 항체 및 인간 모노클로날 항체를 생산하기 위한 이 기술 및 이러한 항체를 생산하기 위한 프로토콜에 대한 상세한 논의는, 예컨대, 국제공개공보 WO 98/24893호, WO 96/34096호, 및 WO 96/33735호; 및 미국특허 제5,413,923호, 제5,625,126호, 제5,633,425호, 제5,569,825호, 제5,661,016호, 제5,545,806호, 제5,814,318호, 및 제5,939,598호를 참고하며, 이들은 그 전문이 본원에 참고로 원용된다. 또한, 앱제닉스, 인크.(Freemont, Calif.) 및 메다렉스(Princeton, N.J.)와 같은 회사는 상기 기술된 것과 유사한 기술을 사용하여 선택된 항원에 대해 지향된 인간 항체를 제공하기 위해 관여될 수 있다.

[0215] 일부 실시양태에서, 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체는 키메라 항체, 예를 들어, 이종 비인간, 인간 또는 인간화된 서열 (예컨대, 프레임워크 및/또는 불변 도메인 서열)에 이식된 비인간 공여자로부터의 항원 결합 서열을 갖는 항체이다. 한 실시양태에서, 비인간 공여자는 랫트이다. 일 실시양태에서, 항원 결합 서열은 합성, 예컨대, 돌연변이 유발(예컨대, 인간 파지 라이브러리의 파지 디스플레이 스크리닝 등)에 의해 수득된다. 한 실시양태에서, 키메라 항체는 뮤린 V 영역 및 인간 C 영역을 가질 수 있다. 한 실시양태에서, 뮤린 경쇄 V 영역은 인간 카파 경쇄에 융합된다. 한 실시양태에서, 뮤린 중쇄 V 영역은 인간 IgG1 C 영역에 융합된다.

[0216] 키메라 항체를 생산하는 방법은 당업계에 알려져 있다. 예컨대, Morrison, 1985, *Science* 229:1202; Oi *et al.*, 1986, *BioTechniques* 4:214; Gillies *et al.*, 1989, *J. Immunol. Methods* 125:191-202; 및 미국특허 제6,311,415호, 제5,807,715호, 제4,816,567호, 및 4,816,397호를 참고하며; 이들 모두는 그 전문이 본원에 참고로 원용된다. 비인간 종으로부터의 하나 이상의 CDR 및 인간 면역글로불린 분자로부터의 프레임워크 영역을 포함하는 키메라 항체는 예를 들어, CDR-그라프팅(EP 239,400호; 국제공개공보 WO 91/09967호; 및 미국특허 제5,225,539호, 제5,530,101호, 및 제5,585,089호), 버니어링(veneering) 또는 리서페이싱(resurfacing)(EP 592,106; EP 519,596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498; Studnicka *et al.*, 1994, *Protein Engineering* 7:805; 및 Roguska *et al.*, 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:969), 및 쇄 셔플링(chain shuffling) (미국특허 제5,565,332호)를 포함하여 당업계에 알려진 다양한 기술을 사용하여 생산될 수 있으며; 이들 모두는 그 전문이 본원에 참고로 원용된다.

[0217] 재조합 키메라 항-BTN1A1 또는 항-BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2 또는 BTLA) 항체의 생산을 위한 예시적인 방법은 다음을 포함할 수 있다: a) 통상적인 분자 생물학 방법에 의해, 뮤린 항-BTN1A1 또는 항-BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2, 또는 BTLA) 모노클로날 항체의 CDR 및 가변 영역은 인간 면역글로불린으로부터 유래된 Fc 영역에 융합되어 키메라 항체 중쇄를 코딩하고 발현하는 벡터를 구축(construct)하는 단계; b) 통상적인 분자 생물학 방법에 의해, 뮤린 항-BTN1A1 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2, 또는 BTLA) 모노클로날 항체의 항체 경쇄를 코딩하고 발현하는 발현 벡터를 구축하여 모노클로날 항체에 의해 키메라 항체 경쇄의 발현을 위한 벡터를 생산하는 단계; c) 키메라 항체의 발현을 위해 형질주입된 숙주 세포를 생산하기 위해 통상적인 분자 생물학 방법에 의해 발현 벡터를 숙주 세포로 전달하는 단계; 및 d) 키메라 항체를 생산하기 위해 통상적인 세포배양 기술에 의해 형질주입된 세포를 배양하는 단계.

[0218] 재조합 인간화된 항-BTN1A1 항체의 생산을 위한 예시적인 방법은 다음을 포함할 수 있다: a) 통상적인 분자 생물학 방법에 의해, 공여체 항체 결합 특이성을 유지하는데 필요한 CDR 및 가변 영역 프레임워크의 최소 부분이 비-인간 면역글로불린, 예컨대, 뮤린 항-BTN1A1 또는 항-BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2, 또는 BTLA) 모노클로날 항체로부터 유래되고, 항체의 나머지가 인간 면역글로불린으로부터 유래된 항체 중쇄를 코딩하고 발현하는 발현 벡터를 구축하여, 인간화된 항체 중쇄의 발현을 위한 벡터를 생산하는 단계; b) 통상적인 분자 생물학 방법에 의해, 공여체 항체 결합 특이성을 유지하는데 필요한 CDR 및 가변 영역 프레임워크의 최소 부분이 비-인간 면역글로불린, 예컨대, 뮤린 항-BTN1A1 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2,

또는 BTLA) 모노클로날 항체로부터 유래되고, 항체의 나머지가 인간 면역글로불린으로부터 유래된, 항체 경쇄를 코딩하고 발현하는 발현 벡터를 구축하여 인간화된 항체 경쇄의 발현을 위한 벡터를 생산하는 단계; c) 인간화된 항체의 발현을 위해 형질주입된 숙주 세포를 생산하기 위해 통상적인 분자 생물학 방법에 의해 발현 벡터를 숙주 세포로 전달하는 단계; 및 d) 인간화된 항체를 생산하기 위해 통상적인 세포배양 기술에 의해 형질주입된 세포를 배양하는 단계.

[0219] 예시적인 방법 중 하나와 관련하여, 숙주세포는, 상이한 선택 마커를 함유할 수 있지만 중쇄 및 경쇄 코딩 서열을 제외하고는 바람직하게는 동일한 발현 벡터로 공동-형질주입될 수 있다. 이 절차는 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드의 동등한 발현을 제공한다. 대안적으로, 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드 둘 모두를 코딩하는 단일 벡터가 사용될 수 있다. 중쇄 및 경쇄에 대한 코딩 서열은 cDNA 또는 게놈 DNA, 또는 둘 다를 포함할 수 있다. 재조합 항체를 발현시키기 위해 사용되는 숙주 세포는 박테리아 세포, 예컨대, 대장균, 또는 더욱 바람직하게는 진핵 세포(예컨대, 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포 또는 HEK-293 세포) 중 하나일 수 있다. 발현 벡터의 선택은 숙주 세포의 선택에 의존하고, 선택된 숙주 세포에서 원하는 발현 및 조절 특성을 갖도록 선택될 수 있다. 사용될 수 있는 다른 세포주는 CHO-K1, NSO 및 PER.C6 (Crucell, Leiden, Netherlands)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 숙주 세포가 종 특이 코돈 사용 편향을 설명하고 단백질 발현을 향상시키기 위해 선택되는 경우 코돈 사용이 최적화될 수 있다. 예를 들어, CHO 세포 발현의 경우, 항체를 코딩하는 DNA는 차이니즈 햄스터(Cricetulus griseus) (중국 햄스터 난소 세포가 유래된 곳)에 의해 우선적으로 사용되는 코돈을 포함할 수 있다. 코돈 최적화 방법이 원하는 숙주 세포에 의한 개선된 발현을 촉진하기 위해 사용될 수 있다(예컨대, Wohlgemuth, I. *et al.*, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 366(1580):2979-2986 (2011); Jestin, J. L. *et al.*, *J. Mol. Evol.* 69(5):452-457 (2009); Bollenbach, T. *et al.*, *Genome Res.* 17(4):401-404(2007); Kurland, C. G. *et al.*, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 31:191-219 (1984); Grosjean, H. *et al.*, *Gene* 18(3): 199-209(1982)).

[0220] 일부 실시양태에서, 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2 또는 BTLA) 항체는 모노클로날 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2 또는 BTLA) 항체는 폴리클로날 항체일 수 있다. 동물은, BTN1A1 폴리펩티드 또는 글리코실화된 BTN1A1 폴리펩티드, BTN1A1 이량체, GAL-1 폴리펩티드, GAL-9 폴리펩티드, NRP-2 폴리펩티드 또는 BTLA 폴리펩티드에 대해 특이적인 항체를 생산하기 위하여, 항원, 예컨대, BTN1A1 폴리펩티드 또는 글리코실화된 BTN1A1 폴리펩티드, BTN1A1 이량체 폴리펩티드, GAL-1 폴리펩티드, GAL-9 폴리펩티드, NRP-2 폴리펩티드 또는 BTLA 폴리펩티드에 의해 접종될 수 있다. 종종 항원은, 면역 반응을 향상시키기 위하여, 다른 분자에 결합되거나 컨쥬게이트된다(conjugated). 컨쥬게이트(conjugate)는 동물에서 면역 반응을 유발하는데 사용되는 항원에 결합된 임의의 펩티드, 폴리펩티드, 단백질 또는 비단백질성 물질일 수 있다. 항원 접종에 반응하여 동물에서 생산된 항체는 B 림프구를 생산하는 다양한 개별 항체로부터 제조된 다양한 비-동일 분자(폴리클로날 항체)를 갖는다. 동물에서 폴리클로날 항체 생산을 위한 올바른 조건이 주어지면, 동물의 혈청 중 대부분의 항체는 동물이 면역된 항원성 화합물의 집단 에피토프를 인식한다.

[0221] 이 특이성은, 관심 항원 또는 에피토프를 인식하는 항체만을 선택하기 위하여, 친화도 정제에 의해 추가로 향상될 수 있다. 모노클로날 항체(MAb)를 생성하는 방법은 폴리클로날 항체를 제조하는 것과 동일한 라인을 따라 시작할 수 있다. 일부 실시양태에서, 설치류, 예컨대, 마우스 및 랫트는 모노클로날 항체를 생성하는데 사용된다. 일부 실시양태에서, 토끼, 양 또는 개구리 세포는 모노클로날 항체를 생성하는데 사용된다. 랫트의 사용은 잘 알려져 있으며 특정 장점을 제공할 수 있다. 마우스 (예컨대, BALB/c 마우스)가 일상적으로 사용되고 일반적으로 높은 비율의 안정한 융합을 제공한다.

[0222] 하이브리도마 기술은 BTN1A1 폴리펩티드, 글리코실화된 BTN1A1 폴리펩티드, BTN1A1 이량체 폴리펩티드, GAL-1 폴리펩티드, GAL-9 폴리펩티드, NRP-2 폴리펩티드 또는 불멸의 골수종 세포(보통 마우스 골수종)를 갖는 BTLA 폴리펩티드로 이전에 면역화된 마우스로부터의 단일 B 림프구의 융합을 포함한다. 이 기술은 동일한 항원 또는 에피토프 특이성을 갖는 구조적으로 동일한 항체(모노클로날 항체)를 무제한 생성할 수 있도록, 무한한 세대 동안 단일 항체 생산 세포를 전파하는 방법을 제공한다.

[0223] 일 실시양태에서, 항체는 V_HH 도메인 서열 또는 Nanobodies™로서 알려진 경쇄가 없는 낙타과 항체, 바람직하게는 중쇄 낙타과 항체로부터 유래된 면역글로불린 단일 가변 도메인이다. Nanobody™(Nb)는 자연 발생 단일-쇄 항체의 가장 작은 기능적 단편 또는 단일 가변 도메인(V_HH)이며 당업자에게 공지되어 있다. 이들은 낙타과에서 볼 수 있는 중쇄 단독 항체에서 유래된다(Hamers-Casterman *et al.*, *Nature*, 363(6428):446-8 (1993);

Desmyter *et al.*, *Nat Struct Biol.*, 3(9):803-11. (1996)). "낙타과"의 패밀리에서, 경쇄 폴리펩티드 쇄가 없는 면역글로불린이 발견된다. "낙타과"는 구세계 낙타과(*쌍봉 낙타(Camelus bactrianus)* 및 *단봉 낙타(Camelus dromedarius)*) 및 신세계 낙타과(예컨대, *라마 파코스(Lama paccos)*, *라마 글라마(Lama glama)*, *라마 구아니코에(Lama guanicoe)* 및 *라마 비쿠냐(Lama vicugna)*)를 포함한다. 단일 가변 도메인 중쇄 항체는 본원에서 Nanobody™ 또는 V_HH 항체로서 표기된다. Nb의 작은 크기 및 고유한 생물물리학적 특성은 흔하지 않거나 숨겨진 에피토프의 인식 및 단백질 표적의 공동(cavity) 또는 활성 부위로의 결합 면에서 종래의 항체 단편보다 우수하다. 또한, Nb는 리포터 분자에 부착되거나, 인간화된 다중특이성 및 다가 항체로서 설계될 수 있다. Nb는 위장관계에서 안정적이고, 생존하며, 용이하게 제조될 수 있다.

[0224] 상이한 특이성의 2개의 항원 결합 부위를 단일 구축물로 통합함으로써, 이중특이적 항체는 예민한 특이성을 갖는 2개의 신중한 항원을 합치는 능력을 가지므로, 치료제로서 큰 가능성을 갖는다. 이중특이적 항체는 본래 각각 상이한 면역글로불린을 생산할 수 있는 2개의 하이브리도마를 융합함으로써 제조될 수 있다. 이중특이적 항체는 또한 2개의 scFv 항체 단편을 연결시키는 한편, 완전 면역글로불린에 존재하는 Fc 부분을 생략함으로써 생산될 수 있다. 이러한 구축물에서 각각의 scFv 단위는 합성 폴리펩티드 링커를 통해 서로 연결된 중(VH) 및 경(VL) 항체 쇄 각각으로부터의 하나의 가변 도메인으로 구성될 수 있으며, 후자는 보통 유전적으로 조작되어 최소로 면역원성인 반면에, 단백분해에 대해 최대로 내성인 채로 유지된다. 각각의 scFv 단위는 2개의 scFv 단위를 가교하는 짧은(보통 10개 아미노산 미만) 폴리펩티드 스페이서(spacer)의 혼입을 포함하여, 다수의 알려진 기술에 의해 연결(join)되어, 이중특이적 단일쇄 항체를 생성할 수 있다. 따라서, 얻어진 이중특이적 단일쇄 항체는 단일 폴리펩티드 쇄 상에 상이한 특이성의 2개의 VH/VL 쌍을 함유하는 종이며, 각각의 scFv 단위에서 상기 VH 및 VL 도메인은 이들 2개의 도메인 사이의 분자내 회합을 허용하여, 그렇게 형성된 scFv 단위가 예를 들어, 하나의 scFv 단위의 VH 도메인과 다른 scFv 단위의 VL 사이의 원하지 않는 회합을 방지하도록 충분히 짧게 유지되는 폴리펩티드 스페이서(spacer)를 통해 서로 연속하여 묶이기에 충분한 길이의 폴리펩티드 링커에 의해 분리된다.

[0225] BTN1A1, 글리코실화된 BTN1A1, BTN1A1 이량체, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자의 예로는 비제한적으로 다음을 포함한다: (i) VL, VH, CL, 및 CH1 도메인으로 구성된 Fab 단편; (ii) VH 및 CH1 도메인으로 구성된 "Fd" 단편; (iii) 단일 항체의 VL 및 VH 도메인으로 구성된 "Fv" 단편; (iv) VH 도메인으로 구성된 "dAb" 단편; (v) 단리된 CDR 영역; (vi) 2개의 링크된 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 $F(ab')_2$ 단편; (vii) 2개의 도메인이 회합하여 결합 도메인을 형성하게 하는 펩티드 링커에 의해 VH 도메인 및 VL 도메인이 링크되는 단일쇄 Fv 분자("scFv"); (viii) 이중특이성 단일쇄 Fv 이량체(미국특허 제5,091,513호 참고); 및 (ix) 유전자 융합에 의해 구축된 디아바디, 다가, 또는 다중특이성 단편(미국특허 출원 공보 제20050214860호). Fv, scFv, 또는 디아바디 분자는 VH 및 VL 도메인을 링크하는 이황화물 브릿지의 혼입에 의해 안정화될 수 있다. CH3 도메인에 연결된 scFv를 포함하는 미니바디(Hu et al, Cancer Res, 56(13):3055-61(1996))가 또한 만들어질 수 있다.

[0226] 또한, 항체-유사 결합 펩티도미메틱(peptidomimetic)이 또한 실시양태에서 고려된다. Murali *et al.*, *Cell Mol. Biol.*, 49 (2):209-216 (2003)는 조금씩 감소되는(pared-down) 항체로서 작용하며 더 긴 혈청 반감기뿐 아니라 덜 번거로운 합성 방법의 특정 이점을 갖는 "항체 유사 결합 펩티도미메틱"(ABiP)을 기술하며, 이는 그 전문이 본원에 참고로 원용된다.

[0227] 당업자에게 알려진 표준 기술은, 예를 들어, 아미노산 치환을 유발하는 부위-지정 돌연변이 유발 및 PCR-매개 돌연변이 유발을 포함하여, 본원에 제공된 항원 결합 단편 또는 항체를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열에 돌연변이를 도입하는데 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 유도체는 원래 분자에 비해 25개 미만의 아미노산 치환, 20개 미만의 아미노산 치환, 15개 미만의 아미노산 치환, 10개 미만의 아미노산 치환, 5개 미만의 아미노산 치환, 4개 미만의 아미노산 치환, 3개 이상의 아미노산 치환 또는 2개 미만의 아미노산 치환을 포함한다. 특정 실시양태에서, 유도체는 하나 이상의 예측된 비-필수 아미노산 잔기에서 보존적 아미노산 치환이 이루어진다. "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 전하를 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체된 것이다. 유사한 전하를 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 당업계에 정의되어 있다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄(예컨대, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예컨대, 아스파르트산, 글루탐산), 하전되지 않은 극성 측쇄(예컨대, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄 (예컨대, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지된 측쇄 (예컨대, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예컨대, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다. 대안적으로, 돌연변이는 예컨대, 포화 돌연변이 유발에 의해 코딩 서열의 전부 또는 일부를 따라 무작위로 도입될

수 있고, 생산된 돌연변이는 생물학적 활성에 대해 스크리닝되어 활성을 보유하는 돌연변이를 식별할 수 있다. 돌연변이 유발 후, 코딩된 단백질이 발현될 수 있고 단백질의 활성이 결정될 수 있다.

[0228] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 예컨대, 항체에 임의의 유형의 분자의 공유 부착에 의해 화학적으로 변형될 수 있다. 예를 들어, 비제한적으로, 항체 유도체는 예컨대, 알려진 보호기/차단기, 단백질분해 절단(proteolytic cleavage), 세포 리간드에 대한 연결 또는 다른 단백질 등에 의한 글리코실화, 아세틸화, 페길화(pegylation), 포스포릴화, 아미드화, 유도체화에 의해 화학적으로 변현된 항체를 포함한다. 임의의 수많은 화학적 변형이 특이적 화학적 분해, 아세틸화, 제형화, 튜니카마이신의 대사 합성 등을 비제한적으로 포함하여, 알려진 기술에 의해 수행될 수 있다. 또한, 항체는 하나 이상의 비고전적 아미노산을 함유할 수 있다.

[0229] 본원에 제공된 분자는 당업자에게 알려진 프레임워크 영역 (예컨대, 인간 또는 비인간 단편)을 가질 수 있다. 프레임워크 영역은 예를 들어, 자연 발생 또는 공통 프레임 워크 영역일 수 있다. 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체의 프레임워크 영역은 인간이다(예컨대, 그 전문이 본원에 참고로 원용되는, 인간 프레임워크 영역의 목록에 대한 Chothia *et al.*, 1998, Chothia et al*J. Mol. Biol.* 278:457-479 참고). 또한 Kabat *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest (U.S. Department of Health and Human Services, Washington, D.C.) 5th ed. 참고.

[0230] 다른 양태에서, 본원은 항-BTN1A1 항체의 BTN1A1 에피토프, 항-GAL-1 항체의 GAL-1 에피토프, 항-GAL-9 항체의 항-GAL-9 에피토프, 항-NRP-2 항체의 항-NRP-2 에피토프, 또는 본원에 기술된 항-BTLA 항체의 BTLA 에피토프를 경쟁적으로 차단하는 (예컨대, 용량-의존 방식으로) 항원 결합 단편을 갖는 분자를 제공한다. 분자는 항체일 수 있다. 항체는 모노클로날 항체일 수 있다. 항체는 인간화된 항체일 수 있다.

[0231] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 에피토프, 항-GAL-1 항체의 GAL-1 에피토프, 항-GAL-9 항체의 항-GAL-9 에피토프, 항-NRP-2 항체의 항-NRP-2 에피토프, 또는 본원에 기술된 항-BTLA 항체의 BTLA 에피토프를 경쟁적으로 차단하는 (예컨대, 용량-의존 방식으로) 항-BTN1A1 항체를 제공한다.

[0232] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 BTN1A1, 글리코실화된 BTN1A1, BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체), GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA 또는 폴리펩티드, 또는 이의 폴리펩티드 단편 또는 에피토프에 대한 높은 친화도를 갖는다. 일 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 알려진 항체 (예컨대, 본원의 다른 곳에서 논의된 상업적으로 이용가능한 모노클로날 항체)보다 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA)에 대해 더 높은 친화도를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있다. 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 본원에 기술되거나 당업자에게 알려된 기술 (예컨대, BIAcore™ 검정)에 의해 판정된 바와 같이, 알려진 항-BTN1A1 항체 또는 알려진 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체보다 BTN1A1, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA 항원에 대해 2 내지 10배 (이상) 더 높은 친화도를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA)일 수 있다. 이들 실시양태에 따르면, 일 실시양태에서, 항체의 친화도는 BIAcore™ 검정에 의해 판정된다.

[0233] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 1μM 이하, 100nM 이하, 10nM 이하, 1nM 이하, 또는 0.1nM 이하의 해리 상수(K_D)로 BTN1A1, 글리코실화된 BTN1A1, BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체), GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA 또는 폴리펩티드, 또는 이의 폴리펩티드 단편 또는 에피토프에 결합하는 항원 결합 단편을 가질 수 있다.

[0234] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 500nM 이하의 K_D를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 200nM 이하의 K_D를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 100nM 이하의 K_D를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 50nM 이하의 K_D를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 20nM 이하의 K_D를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 10nM 이하의 K_D를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있

다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 5nM 이하의 K_D를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 2nM 이하의 K_D를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 1nM 이하의 K_D를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 0.5nM 이하의 K_D를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 0.1nM 이하의 K_D를 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있다.

[0235] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 활성을 차단하거나 중화시킬 수 있다. 분자는 중화 항체일 수 있다. 중화 항체는 BTN1A1과 천연 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 차단하고, BTN1A1 또는 BTN1A1-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 복합체 및/또는 이의 다른 생리학적 활성에 의해 매개되는 시그널링 경로를 억제할 수 있다. 중화 항체의 IC50은 중화 검정에서 0.01 내지 10 μg/ml 범위일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 10 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 8 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 6 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 4 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 2 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 1 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 0.8 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 0.6 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 0.4 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 0.2 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 0.1 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 0.08 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 0.06 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 0.04 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 0.02 μg/ml 이하일 수 있다. 중화 항체의 IC50은 0.01 μg/ml 이하일 수 있다.

[0236] BTN1A1 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 또는 BTN1A1 이량체) 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 제공된 분자는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있다. 본원에 제공된 항체는 합성 항체, 모노클로날 항체, 재조합적으로 생산된 항체, 다중 특이적 항체 (이중 특이적 항체 포함), 인간 항체, 인간화된 항체, 낙타화 항체, 키메라 항체, 인트라바디, 항-이디오타입 (항-Id) 항체, 및 상기 임의의 기능적 단편을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 기능적 단편의 비제한적 예는 단일쇄 Fvs (scFv) (예컨대, 단일특이적, 이중특이적 등을 포함), Fab 단편, F(ab') 단편, $F(ab)_2$ 단편, $F(ab')_2$ 단편, 이황화-링크된 Fvs (sdFv), Fd 단편, Fv 단편, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디 및 미니바디를 포함한다.

[0237] 특히, 본원에 제공된 분자는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 부분, 예컨대, BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 함유하는 분자 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 또는 BTN1A1 이량체) 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA)를 포함한다. 본원에 제공된 면역글로불린 분자는 임의의 유형 (예컨대, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 클래스 (예컨대, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 면역글로불린 분자의 서브클래스일 수 있다.

[0238] 본원에 제공된 분자는 단일특이적, 이중특이적, 삼중특이적 항체 또는 더 큰 다중특이적 항체일 수 있다. 다중특이적 항체는 본원에 기술된 바와 같은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA)의 상이한 에피토프에 대해 특이적일 수 있거나, BTN1A1 폴리펩티드 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 폴리펩티드 모두 뿐만 아니라 이종성 에피토프, 예컨대, 이종성 폴리펩티드 또는 고체 지지체 물질에 특이적일 수 있다. 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 BTN1A1 폴리펩티드 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 폴리펩티드의 주어진 에피토프에 대해 단일 특이적이며 다른 에피토프에 결합하지 않는다.

[0239] *5.2.2. 변형 및 유도체*

[0240] BTN1A1 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 또는 BTN1A1 이량체) 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 임의의 상기 분자의 결합 특성은 원하는 특성을 나타내는 변이체를 스크리닝함으로써 추가로 개선될 수 있다. 예를 들어, 이러한 개선은 당업계에 공지된 다양한 파지 디스플레이 방법을 사용하여 수행될 수 있다. 파지 디스플레이 방법에서, 기능적 항체 도메인은 이들을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 보유하는 파지 입자의 표면에 표시된다. 특정 실시양태에서, 이러한 파지는 레퍼토리 또는 조합 항체 라이브러리 (예컨대, 인간 또는 뮤린)로부터 발현된 항원 결합 단편, 예컨대, Fab

및 Fv 또는 이황화 결합 안정화된 Fv를 표시하는데 이용될 수 있다. 관심 항원에 결합하는 항원 결합 단편을 발현하는 파지는 예컨대, 표지된 항원 또는 고체 표면 또는 비드에 결합되거나 포획된 항원을 사용하여 선택되거나 동정될 수 있다. 이들 방법에 사용된 파지는 전형적으로 fd 및 M13을 포함하는 사상 파지(filamentous phage)이다. 항원 결합 단편은 파지 유전자 III 또는 유전자 VIII 단백질에 재조합적으로 융합된 단백질로서 발현된다. 본원에 기술된 바와 같은 항원 결합 단편을 갖는 항체 또는 다른 분자를 제조하는데 사용될 수 있는 파지 디스플레이 방법의 예는 문헌 [Brinkman *et al.*, *J Immunol* Methods, 182:41-50 (1995); Ames *et al.*, *J. Immunol. Methods,* 184:177-186 (1995); Kettleborough *et al.*, *Eur. J. Immunol.*, 24:952-958(1994); Persic *et al.*, *Gene,* 187:9-18 (1997); Burton *et al.*, *Adv. Immunol.* 57:191-280 (1994); PCT 공개공보 WO 92/001047호; WO 90/02809호; WO 91/10737호; WO 92/01047호; WO 92/18619호; WO 93/11236호; WO 95/15982호; WO 95/20401호; 및 미국특허 제5,698,426호; 제5,223,409호; 제5,403,484호; 제5,580,717호; 제5,427,908호; 제5,750,753호; 제5,821,047호; 제5,571,698호; 제5,427,908호; 제5,516,637호; 제5,780,225호; 제5,658,727호; 제5,733,743호 및 제5,969,108호; 이들 모두는 그 전문이 본원에 참조로 원용된다.

[0241] 상기 참고 문헌에 기술된 바와 같이, 파지 선택 후, 파지로부터의 항체 코딩 영역은 단리되고 인간화된 항체 또는 임의의 다른 원하는 단편을 포함하는 전체 항체를 생성하고 예컨대, 하기 상세한 설명에서 기술된 바와 같은 포유 동물 세포, 곤충 세포, 식물 세포, 효모 및 박테리아을 포함하여 임의의 원하는 숙주에서 발현될 수 있다. 예를 들어, Fab, Fab' 및 $F(ab')_2$ 단편을 재조합적으로 생산하는 기술은 또한 당업계에 알려진 방법, 예컨대, PCT 공개공보 WO 92/22324호; Mullinax, R. L. et al., BioTechniques, 12(6):864-869 (1992); 및 Sawai et al., Am. J. Reprod. Immunol. 34:26-34 (1995); 및 Better, M. et al. Science 240:1041-1043(1988)에 개시된 것들을 사용하여 이용될 수 있으며; 이들 모두는 그 전문이 본원에 참조로 원용된다. 단일쇄 Fv 및 항체를 생산하는데 사용될 수 있는 기술의 예는 미국특허 제4,946,778호 및 제5,258,498호; Huston, J. S. et al., Methods in Enzymology 203:46-88(1991); Shu, L. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 90:7995-7999; 및 Skerra. A. et al., Science 240:1038-1040 (1988)에 기술된 기술을 포함하며, 이들 모두는 그 전문이 본원에 참조로 원용된다.

[0242] 파지 디스플레이 기술은 항-BTN1A1 항체 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체, 또는 본원에 기술된 바와 같은 BTN1A1 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 또는 BTN1A1 이량체) 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자의 친화도를 증가시키기 위해 사용될 수 있다. 이 기술은 본원에 기술된 조합 방법에 사용될 수 있는 고친화도 항체를 수득하는데 사용될 수 있다. 친화도 성숙으로 지칭되는 이 기술은 이러한 수용체 또는 리간드 (또는 이들의 세포 외 도메인) 또는 이의 항원성 단편을 사용하여 돌연변이 유발 또는 CDR 워킹 및 재선택을 사용하여 초기 또는 모 항체와 비교할 때 항원에 대해 더 높은 친화도로 결합하는 항체를 확인한다(예컨대, Glaser, S. M. *et al.*, *J. Immunol.* 149:3903-3913(1992) 참고). 단일 뉴클레오티드가 아닌 전체 코돈을 돌연변이시킴으로써 아미노산 돌연변이의 반-무작위 레퍼토리를 생산한다. 라이브러리는 단일 CDR에서 단일 아미노산 변경에 의해 상이하고 각각의 CDR 잔기에 대한 각각의 가능한 아미노산 치환을 나타내는 변이체를 함유하는 변이체(variant) 클론의 풀(pool)로 구성될 수 있다. 항원에 대한 증가된 결합 친화도를 갖는 돌연변이체는 고정화된 돌연변이체를 표지된 항원과 접촉시킴으로써 스크리닝할 수 있다. 당업계에 알려진 임의의 스크리닝 방법(예컨대, ELISA)은 항원에 대한 증가된 결합력(avidity)을 갖는 돌연변이 항체를 동정하는데 사용될 수 있다(예컨대, Wu, H. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* (USA) 95(11):6037-6042(1998); Yelton, D. E. *et al.*, *J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995) 참고). 경쇄를 무작위화하는 CDR 워킹이 또한 사용될 수 있다(Schier *et al.*, *J. Mol. Biol.* 263:551-567(1996) 참고).

[0243] 랜덤 돌연변이 유발은 개선된 CDR 및/또는 가변 영역을 확인하기 위해 파지 디스플레이 방법과 협력하여 사용될 수 있다. 파지 디스플레이 기술은 유도된 돌연변이 유발(directed mutagenesis) (예컨대, 친화도 성숙 또는 "CDR-워킹")에 의해 CDR 친화도를 증가 (또는 감소)시키기 위해 대안적으로 사용될 수 있다. 이 기술은 표적 항원 또는 이의 항원성 단편을 사용하여 초기 또는 모 항체와 비교할 때 항원에 더 높은 (또는 더 낮은) 친화도로 결합하는 CDR을 갖는 항체를 확인한다 (예컨대, Glaser, S. M. *et al.*, *J. Immunol.* 149:3903-3913(1992) 참고).

[0244] 이러한 친화도 성숙을 달성하기 위한 방법은 예를 들어 다음에 기술되며, 이들 모두는 그 전문이 본원에 참조로 원용된다: KKrause, J. C. *et al.*, *MBio.* 2(1) pii: e00345-10. doi: 10.1128/mBio.00345-10(2011); Kuan, C. T. *et al.*, *Int. J. Cancer* 10.1002/ijc.25645; Hackel, B. J. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 401(1):84-96(2010); Montgomery, D. L. *et al.*, *MAbs* 1(5):462-474(2009); Gustchina, E. *et al.*, *Virology* 393(1):112-119

(2009); Finlay, W. J. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 388(3):541-558 (2009); Bostrom, J. *et al.*, Methods Mol. Biol. 525:353-376 (2009); Steidl, S. *et al.*, *Mol. Immunol.* 46(1):135-144 (2008); 및 Barderas, R. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 105(26):9029-9034 (2008).

[0245] 본원은 또한 BTN1A1(예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 또는 BTN1A1 이량체) 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 상기 기술된 분자의 유도체를 제공하며, 이는 항-BTN1A1 항체 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체일 수 있으나, 이는 "모" (또는 야생형) 분자에 대한 1, 2, 3, 4, 5개 이상의 아미노산 치환, 추가, 결실 또는 변형을 갖는다. 이러한 아미노산 치환 또는 첨가는 자연 발생 (즉, DNA-코딩된) 또는 비 자연 발생 아미노산 잔기를 도입할 수 있다. 이러한 아미노산은 글리코실화(예컨대, 만노스, 2-N-아세틸글루코사민, 갈락토스, 푸코스, 글루코스, 시알산, 5-N-아세틸뉴라민산, 5-글리콜뉴라민산 등의 함량을 변경), 아세틸화, 페길화, 포스포릴화된, 아미드화, 알려진 보호기/차단기에 의해 유도, 단백질분해 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에 링크 등이 될 수 있다. 일부 실시양태에서, 변경된 탄수화물 변형은 다음 중 하나 이상을 조정한다: 항체의 가용화, 세포 내 수송 및 항체의 분비 촉진, 항체 조립(antibody assembly)의 증진, 입체구조적 무결성 및 항체-매개 이펙터 기능. 일부 실시양태에서, 변경된 탄수화물 변형은 탄수화물 변형이 결여된 항체에 비해 항체 매개 이펙터 기능을 향상시킨다. 변경된 항체 매개 이펙터 기능을 야기하는 탄수화물 변형은 당업계에 잘 알려져 있다 (예컨대, Shields, R. L. *et al.*, *J. Biol. Chem.* 277(30): 26733-26740 (2002); Davies J. *et al. Biotechnology & Bioengineering* 74(4): 288-294(2001) 참고; 이들 모두는 그 전문이 본원에 참고로서 원용됨). 탄수화물 함량을 변경하는 방법은 당업자에게 알려져 있으며, 예컨대, Wallick, S. C. *et al.*, *J. Exp. Med.* 168(3): 1099-1109(1988); Tao, M. H. *et al.*, *J. Immunol.* 143(8): 2595-2601 (1989); Routledge, E. G. *et al.*, *Transplantation* 60(8):847-53 (1995); Elliott, S. *et al.*, *Nature Biotechnol.* 21:414-21(2003); Shields, R. L. *et al.*, *J. Biol. Chem.* 277(30): 26733-26740 (2002) 참고하며; 이들 모두는 그 전문이 본원에 참조로 원용된다.

[0246] 일부 실시양태에서, 인간화된 항체는 유도체 항체이다. 이러한 인간화된 항체는 하나 이상의 비인간 CDR에서의 아미노산 잔기 치환, 결실 또는 첨가를 포함한다. 인간화된 항체 유도체는 비-유도체 인간화된 항체와 비교할 때 실질적으로 동일한 결합, 더 나은 결합 또는 더 나쁜 결합을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, CDR의 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 잔기는 변이, 예컨대, 치환, 결실 또는 첨가될 수 있다.

[0247] 본원에 기술된 바와 같은 분자 및 항체는 특이적 화학적 절단, 아세틸화, 제형, 튜니카마이신의 대사 합성 등을 비제한적으로 포함하는 당업자에게 알려진 기술을 사용하여 화학적 변형에 의해 변형될 수 있다. 일 실시양태에서, 유도체 분자 또는 유도체 항체는 모 분자 또는 항체와 유사하거나 동일한 기능을 갖는다. 다른 실시양태에서, 유도체 분자 또는 유도체 항체는 모 분자 또는 모 항체에 비해 변경된 활성을 나타낸다. 예를 들어, 유도체 항체 (또는 이의 단편)는 모 항체보다 이의 에피토프에 더 밀접하게 결합하거나 단백질 분해에 더 내성일 수 있다.

[0248] 유도체화된 항체에서의 치환, 첨가 또는 결실은 항체의 Fc 영역에 있을 수 있으며, 하나 이상의 FcγR에 대한 항체의 결합 친화도를 변형시키는 역할을 할 수 있다. 하나 이상의 FcγR에 변형된 결합을 갖는 항체를 변형시키는 방법은 당업계에 알려져 있으며, 예컨대, PCT 공개공보 WO 04/029207호, WO 04/029092호, WO 04/028564호, WO 99/58572호, WO 99/51642호, WO 98/23289호, WO 89/07142호, WO 88/07089호, 및 미국특허 제5,843,597호 및 제5,642,821호를 참고하며, 이들 모두는 그 전문이 본원에 참조로 원용된다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 다른 분자는 활성화된 FcγR, 예컨대, FcγRIIIA에 대해 변경된 친화도를 가질 수 있다. 바람직하게는 이러한 변형은 또한 변경된 Fc-매개 이펙터 기능을 갖는다. Fc-매개 이펙터 기능에 영향을 미치는 변형은 당업계에 잘 알려져 있다 (미국특허 제6,194,551호, 및 WO 00/42072호 참고). 일부 실시양태에서, Fc 영역의 변형은 변경된 항체-매개 이펙터 기능, 다른 Fc 수용체 (예컨대, Fc 활성화 수용체)에 대한 변경된 결합, 변경된 항체-의존성 세포-매개 세포 독성(ADCC) 활성, 변경된 C1q 결합 활성, 변경된 보체(complement)-의존성 세포 독성 활성 (CDC), 식세포 작용 또는 이들의 임의의 조합을 갖는 항체를 초래한다.

[0249] ADCC는 FcR을 발현하는 항원-비특이적 세포 독성 세포 (예컨대, 자연 살해 (NK) 세포, 호중구 및 대식세포)가 표적 세포의 표면에 결합된 항체를 인식하고 이어서 표적 세포의 용해(즉, 사멸)를 유발하는 세포 매개 반응이다. 일차 매개자 세포(primary mediator cell)는 NK 세포이다. NK 세포는 FcγRIII만을 발현하며, FcγRIIIA는 활성화 수용체이고 FcγRIIIB 억제 수용체이며; 단핵구는 FcγRI, FcγRII 및 FcγRIII을 발현한다(Ravetch *et al.* (1991) *Annu. Rev. Immunol.*, 9:457-92). ADCC 활성은 표적 세포의 용해가 최대치의 절반인 항체 또는 Fc 융합 단백질의 농도로서 표현될 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 용해 수준이 야생형 대조군에 의한 최대치 절반의 용해 수준과 동일한 본 발명의 항체 또는 Fc 융합 단백질의 농도는 야생형 대조군 자체의 농도보다

적어도 2-, 3-, 5-, 10-, 20-, 50-, 100-배 낮다. 또한, 일부 실시양태에서, 발명의 항체 또는 Fc 융합 단백질은 야생형 대조군과 비교하여 더 높은 최대 표적 세포 용해를 나타낼 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 Fc 융합 단백질의 최대 표적 세포 용해는 야생형 대조군보다 10%, 15%, 20%, 25% 이상일 수 있다.

[0250] 본원에 기술된 바와 같은 분자 및 항체는 향상된 효능(potency)을 갖도록 변형될 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자 및 항체는 예컨대, ADCC를 향상시키고/시키거나 보체 의존성 세포 독성(CDC)을 향상시키기 위해 이펙터 기능과 관련하여 변형된다. 일부 실시양태에서, 이러한 치료적 분자 또는 항체는 Fc 수용체를 보유하는 킬러 세포와의 향상된 상호 작용을 갖는다. 이펙터, 예컨대, ADCC 기능의 향상은 Fc 영역에 하나 이상의 아미노산 치환을 도입하는 것을 포함하여 다양한 수단에 의해 달성될 수 있다. 또한, 시스테인 잔기(들)가 Fc 영역에 도입되어 이 영역에서 쇄간 이황화 결합 형성을 가능하게 할 수 있다. 동종이량체 항체는 또한 개선된 내재화 능력 및/또는 증가된 CDC 및 ADCC를 가질 수 있다. Caron *et al.*, *J. Exp Med.*, 176:1191-95 (1992) 및 Shopes, B. *J. Immunol.*, 148:2918-22 (1992). 향상된 항-암 활성을 갖는 동종이량체 항체는 또한 헤테로이작용성(heterobifunctional) 가교제를 사용하여 제조할 수 있다. Wolff *et al.*, *Cancer Research*, 53:2560-65 (1993). 또한, 이중 Fc 영역을 가지며, 향상된 CDC 및 ADCC 능력을 가질 수 있는 항체 또는 분자가 조작(engineer)될 수 있다. Stevenson *et al.*, *Anti-Cancer Drug Design* 3:219-30 (1989).

[0251] Fc 영역의 글리코실화 패턴이 또한 조작될 수 있다. 다수의 항체 글리코실화 형태가 ADCC를 비롯한 이펙터 기능에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 보고되었다. 따라서, Fc 영역의 탄수화물 구성성분, 특히, 코어 푸코실화(core fucosylation)를 저하시키는 조작은 또한 치료 효능을 향상시킬 수 있다. Shinkawa T, *et al.*, *J Biol. Chem.*, 278:3466-73 (2003); Niwa R, *et al.*, *Cancer Res.*, 64:2127-33 (2004); Okazaki A, *et al.*, *J Mol. Biol.* 336:1239^19 (2004); 및 Shields RL, *et al.*, *J Biol. Chem.*277:26733-40 (2002). 선택된 글리코폼(glycoform)을 포함하는 본원에 기술된 항체 또는 분자는 글리코실화 경로 억제제, 글리코실화 경로에서 특정 효소의 활성이 없거나 저하된 돌연변이 세포주, 향상되거나 녹아웃된 글리코실화 경로에서 유전자 발현을 갖는 조작된 세포, 및 글리코시다제 및 글리코실트랜스퍼라제를 사용한 인 비트로 리모델링의 사용을 포함하여 다수의 수단에 의해 생산될 수 있다. Fc 영역의 글리코실화를 변형시키고 항원 결합 단편을 갖는 항체 또는 다른 분자의 치료적 효능을 향상시키는 방법은 당업계에 알려져 있다. Rothman *et al.*, Molecular Immunology 26: 1113- 1123 (1989); Umana *et al.*, *Nature Biotechnology* 17: 176-180 (1999); Shields *et al.*, JBC 277:26733-26740 (2002); Shinkawa *et al.*, *JBC* 278: 3466-3473 (2003); Bischoff *et al.*, *J. Biol. Chem.* 265(26):15599-15605 (1990); 미국특허 제6,861,242호 및 제7,138,262호, 뿐만 아니라 미국 공개공보 제2003/0124652호; 이들 모두는 그 전문이 본원에 참조로 원용된다. 당업자는 본원에 제공된 항체 및 분자가 향상된 치료적 효능을 갖도록 당업계에 알려진 임의의 방법에 의해 변형될 수 있음을 이해할 것이다.

[0252] 유도체 분자 또는 항체는 또한 포유 동물, 바람직하게는 인간에서, 모 분자 또는 항체의 변경된 반감기(예컨대, 혈청 반감기)를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 이러한 변경은 15일 초과, 바람직하게는, 20일 초과, 25일 초과, 30일 초과, 35일 초과, 40일 초과, 45일 초과, 2개월 초과, 3개월 초과, 4개월 초과 또는 5개월 초과의 반감기를 초래한다. 포유 동물, 바람직하게는 인간에서, 인간화된 항체 또는 다른 분자의 증가된 반감기는 포유 동물에서 상기 항체 또는 다른 분자의 더 높은 혈청 역가를 초래하며, 따라서 상기 항체 또는 다른 분자의 투여 빈도가 자하되고/되거나 투여될 상기 항체 또는 다른 분자의 농도를 저하시킨다. 증가된 인 비보 반감기를 갖는 분자 또는 항체는 당업자에게 알려진 기술에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 증가된 인 비보 반감기를 갖는 분자 또는 항체는 Fc 도메인과 FcRn 수용체 간의 상호 작용에 관여하는 것으로 확인된 아미노산 잔기를 변형 (예컨대, 치환, 결실 또는 첨가)함으로써 생성될 수 있다. 본원에 기술된 인간화된 항체는 생물학적 반감기를 증가시키도록 조작될 수 있다 (예컨대, 미국특허 제6,277,375호 참고). 예를 들어, 본원에 기술된 인간화된 항체는 Fc-힌지 도메인에서 조작되어 증가된 인 비보 또는 혈청 반감기를 가질 수 있다.

[0253] 증가된 인 비보 반감기를 갖는 본원에 기술된 바와 같은 분자 또는 항체는 상기 항체 또는 항체 단편 중합체 분자, 예컨대, 고분자량 폴리에틸렌글리콜(PEG)에 부착함으로써 생성될 수 있다. PEG는 상기 분자 또는 항체의 N- 또는 C-말단에 PEG의 부위-특이적 컨쥬게이션(conjugation) 또는 리신 잔기 상에 존재하는 입실론-아미노기를 통해 다기능성 링커를 포함하거나 포함하지 않는 분자 또는 항체에 부착될 수 있다. 생물학적 활성의 최소한의 손실을 유발하는 선형 또는 분지형 중합체 유도체화(derivatization)가 사용될 수 있다. 컨쥬게이션(conjugation) 정도는 SDS-PAGE 및 질량 분석법에 의해 면밀히 모니터링되어 항체에 대한 PEG 분자의 적절한 컨쥬게이션을 보장할 수 있다. 미반응된 PEG는 예컨대, 크기배제 또는 이온-교환 크로마토그래피에 의해 항체-PEG 컨쥬게이트(conjugate)로부터 분리될 수 있다.

[0254] 본원에 기술된 바와 같은 분자 또는 항체는 또한 실질적으로 면역원성 반응없이 포유 동물 순환계 내에 주입될

수 있는 조성물을 제공하기 위해 Davis *et al.* (미국특허 제4,179,337호 참고)에 의해 기술된 방법 및 커플링제(coupling agent)에 의해 변형될 수 있다. Fc 부분의 제거는 항체 단편이 원하지 않은 면역학적 반응을 유발할 가능성을 저하시킬 수 있으며, 따라서 Fc가 없는 항체는 예방적 또는 치료적 치료에 사용될 수 있다. 상기 기술한 바와 같이, 항체는 또한 키메라, 부분 또는 완전 인간이 되도록 구축될 수 있어, 다른 종에서 생산된 또는 다른 종으로부터의 서열을 갖는 항체를 동물에게 투여함으로써 야기되는 불리한 면역학적 결과를 저하시키거나 제거할 수 있다.

[0255] *5.2.3. 융합 및 컨쥬게이트*

[0256] 본원은 항-BTN1A1 항체 및 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체를 포함하여, BTN1A1 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 또는 BTN1A1 이량체) 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 제공한다. 일부 실시양태에서, 이러한 분자는 다른 단백질과의 융합 단백질로서 발현되거나 다른 모이어티에 화학적으로 컨쥬게이트된다.

[0257] 일부 실시양태에서, 분자는 Fc 부분을 갖는 융합 단백질이고, Fc 부분은 이소타입 또는 서브클래스에 의해 변할 수 있고, 키메라 또는 하이브리드일 수 있고 및/또는 변형될 수 있으며, 예를 들어, 이펙터 기능 개선, 반감기 제어, 조직 접근성, 생체물리학적 특성, 예컨대, 안정성 증대, 생산의 효율성 개선 (및 비용 절감)시킬 수 있다. 개시된 융합 단백질의 구축에 유용한 많은 변형 및 이들을 제조하는 방법은 당업계에 알려져 있으며, 예를 들어 Mueller, J. P. *et al.*, *Mol. Immun.* 34(6):441-452 (1997), Swann, P. G., *Curr. Opin. Immun.* 20:493-499 (2008), 및 Presta, L. G., *Curr. Opin. Immun.* 20:460-470 (2008) 참고. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 천연 IgG1, IgG2 또는 IgG4 Fc 영역이다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 하이브리드, 예를 들어, IgG2/IgG4 Fc 불변 영역을 갖는 키메라이다. Fc 영역에 대한 변형은 Fc 감마 수용체 및 보체에 대한 결합을 방지하도록 변형된 IgG4, 하나 이상의 Fc 감마 수용체에 대한 결합을 개선하도록 변형된 IgG1, 이펙터 기능을 최소화하도록 변형된 IgG1 (아미노산 변화), (전형적으로 발현 숙주를 변화시킴으로써) 변형된 글리칸을 갖는/글리칸이 없는 IgG1 및 FcRn에 대한 변경된 pH 의존성 결합을 갖는 IgG1을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. Fc 영역은 전체 힌지 영역 또는 전체 힌지 영역 미만을 포함할 수 있다.

[0258] 다른 실시양태는 그들의 반감기를 증가시키는 FcR에 대한 결합을 저하시키는 IgG2-4 하이브리드 및 IgG4 돌연변이체를 포함한다. 대표적인 IG2-4 하이브리드 및 IgG4 돌연변이체는 Angal *et al.*, *Molec. Immunol.* 30(1):105-108 (1993); Mueller *et al.*, *Mol. Immun.* 34(6):441-452 (1997); 및 미국특허 제6,982,323호에 기술되며; 이들 모두는 그 전문이 본원에 참조로 원용된다. 일부 실시양태에서, IgG1 및/또는 IgG2 도메인은 결실되고, 예를 들어, Angal *et al.*은 세린 241이 프롤린으로 대체된 IgG1 및 IgG2를 기술한다.

[0259] 일부 실시양태에서, 분자는 10개 이상, 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 50개 이상, 60개 이상, 70개 이상, 80개 이상, 90개 이상 또는 100개 이상의 아미노산을 갖는 폴리펩티드이다.

[0260] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 또는 BTN1A1 이량체) 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 제공하며, 이는 하나 이상의 모이어티와의 복합체에 링크되거나 공유 결합되거나 하나 이상의 모이어티와의 복합체 내에 형성된다. 이러한 모이어티는 진단제 또는 치료제로서 분자의 효능을 증가시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 모이어티는 영상제(image agent), 독소, 치료적 효소, 항생제, 방사성-표지된 뉴클레오티드 등일 수 있다.

[0261] 본원에 제공된 분자는 치료적 모이어티 (또는 하나 이상의 치료적 모이어티)를 포함할 수 있다. 본원에 제공된 분자는 치료적 모이어티, 예컨대, 세포 독소, 예컨대, 세포 증식 억제제 또는 세포 파괴제(cytocidal agent), 치료제 또는 방사성 금속 이온, 예컨대, 알파-방출제에 컨쥬게이트(conjugate) 또는 재조합적으로 융합된 항체일 수 있다. 세포 독소 또는 세포 독성제는 세포에 유해한 임의의 약제를 포함한다. 치료적 모이어티는 항대사제(예컨대, 메토트렉세이트, 6-머캅토퓨린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오로우라실 데카바진); 알킬화제(예컨대, 메클로레타민, 티오에파 클로람부실, 멜팔란, 카르무스틴(BCNU) 및 로무스틴(CCNU), 사이클로토스파미드, 부술판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C, 및 시스디클로로디아민 백금(II) (DDP), 및 시스플라틴); 안트라사이클린 (예컨대, 다우노루비신 (이전의 다우노마이신) 및 독소루비신); 항생제 (예컨대, 닥티노마이신 (이전의 액티노마이신), 블레오마이신, 미트라마이신, 및 안트라마이신(AMC)); 아우리스타틴 분자 (예컨대, 아우리스타틴 PHE, 아우리스타틴 F, 모노메틸 아우리스타틴 E, 브리오스타틴 1 및 솔라스타틴 10); Woyke *et al.*, Antimicrob. Agents Chemother. 46:3802-8 (2002), Woyke *et al.*, Antimicrob. Agents Chemother. 45:3580-4 (2001), Mohammad *et al.*, Anticancer Drugs 12:735-40 (2001), Wall *et al.*, Biochem.

Biophys. Res. Commun. 266:76-80 (1999), Mohammad *et al.*, Int. J. Oncol. 15:367-72 (1999) 참고하며, 이들 모두는 본원에 참고로 원용됨); 호르몬 (예컨대, 글루코코르티코이드, 프로게스틴, 안드로겐 및 에스트로겐), DNA 복구 효소 억제제 (예컨대, 에토포시드 또는 토포테칸), 키나아제 억제제 (예컨대, 화합물 ST1571, 이마티닙 메실레이트 (Kantarjian *et al.*, Clin Cancer Res. 8(7):2167-76 (2002)); 세포 독성제 (예컨대, 파클리탁셀, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티듐 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 및 퓨로마이신 및 이의 유사체 또는 상동체 및 미국특허 제6,245,759호, 제6,399,633호, 제6,383,790호, 제6,335,156호, 제6,271,242호, 제6,242,196호, 제6,218,410호, 제6,218,372호, 제6,057,300호, 제6,034,053호, 제5,985,877호, 제5,958,769호, 제5,925,376호, 제5,922,844호, 제5,911,995호, 제5,872,223호, 제5,863,904호, 5,840,745호, 제5,728,868호, 제5,648,239호, 제5,587,459호)에 개시된 화합물; 파르네실 트랜스퍼라제 억제제 (예컨대, R115777, BMS-214662, 및, 예를 들어, 다음 미국특허 번호에 의해 개시된 것들: 제6,458,935호, 제6,451,812호, 제6,440,974호, 제6,436,960호, 제6,432,959호, 제6,420,387호, 제6,414,145호, 제6,410,541호, 제6,410,539호, 제6,403,581호, 제6,399,615호, 제6,387,905호, 제6,372,747호, 제6,369,034호, 제6,362,188호, 제6,342,765호, 제6,342,487호, 제6,300,501호, 6,268,363호, 제6,265,422호, 제6,248,756호, 제6,239,140호, 제6,232,338호, 6,228,865호, 제6,228,856호, 제6,225,322호, 제6,218,406호, 제6,211,193호, 제6,187,786호, 제6,169,096호, 제6,159,984호, 제6,143,766호, 제6,133,303호, 제6,127,366호, 제6,124,465호, 제6,124,295호, 제6,103,723호, 제6,093,737호, 제6,090,948호, 제6,080,870호, 제6,077,853호, 제6,071,935호, 제6,066,738호, 제6,063,930호, 제6,054,466호, 제6,051,582호, 제6,051,574호, 및 제6,040,305호); 토포아이소머라제 억제제 (예컨대, 캄프토테신; 이리노테칸; SN-38; 토포테칸; 9-아미노캄프토테신; GG-211 (GI 147211); DX-8951f; IST-622; 루비테칸; 피라졸로아크리딘; XR-5000; 상토핀; UCE6; UCE1022; TAN-1518A; TAN 1518B; KT6006; KT6528; ED-110; NB-506; ED-110; NB-506; 및 레베카마이신); 불가레인; DNA 마이너 그루브 바인더(minor groove binder), 예컨대, Hoescht 염료 33342 및 Hoechst 염료 33258; 니티딘; 파가로닌; 에피버베린; 코라린(coralyne); 베타-라파콘; BC-4-1; 비스포스포네이트 (예컨대, 알렌드로네이트, 시마드론테, 클로드로네이트, 틸루드로네이트, 에티드로네이트, 이반드로네이트, 네리드로네이트, 올판드로네이트, 리세드로네이트, 피리드로네이트, 파미드로네이트, 졸렌드로네이트); HMG-CoA 환원 효소 억제제 (예컨대, 로바스타틴, 심바스타틴, 아토르바스타틴, 프라바스타틴, 플루바스타틴, 스타틴, 세리바스타틴, 레스콜, 루피터, 로수바스타틴 및 아토르바스타틴); 안티센스 올리고뉴클레오티드 (예컨대, 미국특허 제6,277,832호, 제5,998,596호, 제5,885,834호, 제5,734,033호, 및 제5,618,709호에 개시된 것들); 아데노신 데아미나제 억제제 (예컨대, 플루다라빈 포스페이트 및 2-클로로데옥시아데노신); 이브리투모맙 튜세탄 (Zevalin®); 토시투모맙 (Bexxar®)) 및 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 클라트레이트 및 전구약물을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0262] 또한, 본원에 제공된 분자는 주어진 생물학적 반응을 변형시키는 치료적 모이어티 또는 약물 모이어티에 컨쥬게이트(conjugate) 또는 재조합적으로 융합된 항체일 수 있다. 치료적 모이어티 또는 약물 모이어티는 전통적인 화학 치료제로 제한되는 것으로 해석되지 않아야 한다. 예를 들어, 약물 모이어티는 원하는 생물학적 활성을 갖는 단백질, 펩티드 또는 폴리펩티드일 수 있다. 이러한 단백질은 예를 들어, 독소, 예컨대, 아브린, 리신 A, 슈도모나스 외독소, 콜레라 독소 또는 디프테리아 독소; 단백질, 예컨대, 종양 괴사 인자, γ-인터페론, α-인터페론, 신경 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자, 조직 플라스미노겐 활성화제, 아폽토시스제(apoptotic agent), 예컨대, TNF-γ, TNF-γ, AIMI(국제공개공보 WO 97/33899호 참고), AIM II (국제공개공보 WO 97/34911호 참고), Fas 리간드(Takahashi *et al.*, 1994, J. Immunol., 6:1567-1574) 및 VEGF (국제공개공보 WO 99/23105호 참고), 항-혈관신생제, 예컨대, 안지오스타틴, 엔도스타틴 또는 응고 경로의 구성성분 (예컨대, 조직 인자); 또는, 생물학적 반응개질제, 예컨대, 림포카인 (예컨대, 인터페론 감마, 인터루킨-1 ("IL-1"), 인터루킨-2 ("IL-2"), 인터루킨-5 ("IL-5"), 인터루킨-6 ("IL-6"), 인터루킨-7 ("IL-7"), 인터루킨 9 ("IL-9"), 인터루킨-10 ("IL-10"), 인터루킨-12 ("IL-12"), 인터루킨-15 ("IL-15"), 인터루킨-23 ("IL-23"), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자 ("GM-CSF") 및 과립구 콜로니 자극 인자 ("G-CSF"), 또는 성장 인자 (예컨대, 성장 호르몬 ("GH")), 또는 응고제 (예컨대, 칼슘, 비타민 K, 조직 인자, 예컨대, 하게만 인자 (인자 XII), 고 분자량 키니노겐 (HMWK), 프리칼리크레인 (PK), 응고 단백질-인자 II (프로트롬빈), 인자 V, XIIa, VIII, XIIIa, XI, XIa, IX, IXa, X, 인지질 및 피브린 단량체)를 포함할 수 있다.

[0263] 또한, 본원에 제공된 항체는 치료적 모이어티, 예컨대, 방사성 금속 이온, 예컨대, 알파-방출체, 예컨대, ^{213}Bi

또는 폴리펩티드에 ^{131}In, ^{131}LU, ^{131}Y, ^{131}Ho, ^{131}Sm을 비제한적으로 포함하는 방사성금속 이온을 컨쥬게이트하는데 유용한 매크로사이클릭 킬레이터와 컨쥬게이트될 수 있다. 특정 실시양태에서, 매크로사이클릭 킬레이터는 링커 분자를 통해 항체에 부착될 수 있는 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-N,N',N'',N'''-테트라아세트산 (DOTA)이다. 이러한 링커 분자는 당업계에 일반적으로 공지되어 있고 Denardo *et al.*, 1998, *Clin Cancer Res.* 4(10):2483-90; Peterson *et al.*, 1999, *Bioconjug. Chem.* 10(4):553-7; 및 Zimmerman *et al.*, 1999, *Nucl. Med. Biol.* 26(8):943-50에 기술되며, 각각은 그 전문이 참고로 원용된다.

[0264] BTN1A1 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 또는 BTN1A1 이량체) 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 제공된 항체에 컨쥬게이트 또는 재조합적으로 융합된 치료적 모이어티 또는 약물은 원하는 예방적 또는 치료적 효과를 달성하기 위해 선택되어야 한다. 특정 실시양태에서, 항체는 변형된 항체이다. 임상의 또는 다른 의료인은 본원에 제공된 항체에 컨쥬게이트 또는 재조합적으로 융합할 치료적 모이어티 또는 약물을 결정할 때 다음을 고려해야한다: 질환의 성질, 질환의 중증도 및 대상체의 병태.

[0265] 일부 실시양태에서, 모이어티는 효소, 호르몬, 세포 표면 수용체, 독소 (예컨대, 아브린, 리신 A, 슈도모나스 외독소 (즉, PE-40), 디프테리아 독소, 리신, 젤로닌 또는 포케드(pokeweed) 항바이러스 단백질) 단백질 (예컨대, 종양 괴사 인자, 인터페론 (예컨대, α-인터페론, β-인터페론), 신경 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자, 조직 플라스미노겐 활성화제 또는 아폽토시스제(apoptotic agent) (예컨대, 종양 괴사 인자-α, 종양 괴사 인자-β)), 생물학적 반응개질제 (예컨대, 림포카인 (예컨대, 인터루킨-1 ("IL-1"), 인터루킨-2 ("IL-2"), 인터루킨-6 ("IL-6")), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자 ("GM-CSF"), 과립구 콜로니 자극 인자 ("G-CSF"), 또는 대식세포 콜로니 자극 인자 ("M-CSF"), 또는 성장 인자 (예컨대, 성장 호르몬("GH")), 세포 독소 (예컨대, 세포 증식 억제제 또는 세포 파괴제(cytocidal agent), 예컨대, 파클리탁솔, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티디움 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 모노메틸 아우리스타틴 F (MMAF), 모노메틸 아우리스타틴 E (MMAE; 예컨대, 베도틴) 및 퓨로마이신 및 이의 유사체 또는 상동체), 항대사물질 (예컨대, 메토트렉세이트, 6-머캅토퓨린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오로우라실 데카바진), 알킬화제 (예컨대, 메클로레타민, 티오에파 클로람부실, 멜팔란, BiCNU® (카르무스틴; BSNU) 및 로무스틴 (CCNU), 사이클로토스파미드, 부술판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C 및 시스디클로로디아민 백금 (II) (DDP) 시스플라틴), 안트라사이클린 (예컨대, 다우노루비신 (이전의 다우노마이신) 및 독소루비신), 항생제 (예컨대, 닥티노마이신 (이전의 액티노마이신), 블레오마이신, 미트라마이신 및 안트라마이신 (AMC)), 또는 항-유사분열제 (예컨대, 빈크리스틴 및 빈블라스틴)일 수 있다.

[0266] 이러한 치료적 모이어티를 항체에 컨쥬게이트시키는 기술은 잘 알려져 있다: 예컨대, Amon *et al.*, "*Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy*", in MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, Reisfeld *et al.* (eds.), 1985, pp. 243-56, Alan R. Liss, Inc.); Hellstrom *et al.*, "*Antibodies For Drug Delivery*", in CONTROLLED DRUG DELIVERY (2nd Ed.), Robinson *et al.* (eds.), 1987, pp. 623-53, Marcel Dekker, Inc.); Thorpe, "*Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review*", in MONOCLONAL ANTIBODIES '84: BIOLOGICAL AND CLINICAL APPLICATIONS, Pinchera *et al.* (eds.), 1985, pp. 475-506); "*Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy*", in MONOCLONAL ANTIBODIES FOR CANCER DETECTION AND THERAPY, Baldwin *et al.* (eds.), 1985, pp. 303-16, Academic Press; Thorpe *et al.*, *Immunol. Rev.* 62:119-158 (1982); Carter *et al.*, *Cancer J.* 14(3):154-169 (2008); Alley *et al.*, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 14(4):529-537 (2010); Carter *et al.*, *Amer. Assoc. Cancer Res. Educ. Book.* 2005(1):147-154 (2005); Carter *et al.*, *Cancer J.* 14(3):154-169(2008); Chari, *Acc. Chem Res.* 41(1):98-107 (2008); Doronina *et al.*, Nat. Biotechnol. 21(7):778-784(2003); Ducry *et al.*, *Bioconjug Chem.* 21(1):5-13(2010); Senter, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 13(3):235-244 (2009); 및 Teicher, *Curr Cancer Drug Targets.* 9(8):982-1004 (2009) 참고.

[0267] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 분자는 정제를 용이하게 하기 위해 마커, 예컨대, 펩티드에 컨쥬게이트될 수 있다. 일부 실시양태에서, 마커는 헥사-히스티딘 펩티드, 헤마글루티닌 "HA" 태그이며, 이는 인플루엔자 헤마글루티닌 단백질로부터 유래된 에피토프에 해당한다(Wilson, I. A. *et al.*, *Cell*, 37:767-778 (1984)), 또는 the "flag" tag (Knappik, A. *et al.*, *Biotechniques* 17(4):754-761 (1994)).

[0268] 일부 실시양태에서, 모이어티는 검정에서 검출될 수 있는 영상제(image agent)일 수 있다. 이러한 영상제는 효소, 보결분자단, 방사성 표지, 비 방사성 상자성 금속 이온, 합텐, 형광 표지, 인광 분자, 화학발광 분자, 발색단, 발광 분자, 생물발광 분자, 광친화성 분자, 유색 입자 또는 리간드, 예컨대, 비오틴일 수 있다.

[0269] 일부 실시양태에서, 효소는 호스라디시 퍼옥시다제(horseradish peroxidase), 알칼리 포스파타제, 베타-갈락토시다아제 또는 아세틸콜린에스테라제를 비제한적으로 포함하고; 보결분자단 복합체은 스트렙타비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴을 비제한적으로 포함하고; 형광물질은 움벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 단실 클로라이드 또는 피코에리트린을 비제한적으로 포함하고; 발광 물질, 예컨대, 비제한적으로 루미놀; 생물발광 물질은 루시페라제, 루시페린 및 에쿼린을 비제한적으로 포함하고; 방사성 물질은 비스무트 (^{213}Bi), 탄소 (^{14}C), 크롬 (^{51}Cr), 코발트 (^{57}Co), 불소 (^{18}F), 가돌리늄 (^{153}Gd, ^{159}Gd), 갈륨 (^{68}Ga, ^{67}Ga), 게르마늄(^{68}Ge), 홀뮴 (^{166}Ho), 인듐 (^{115}In, ^{113}In, ^{112}In, ^{111}In), 요오드 (^{131}I, ^{125}I, ^{123}I, ^{121}I), 란타늄 (^{140}La), 루테튬 (^{177}Lu), 망간 (^{54}Mn), 몰리브덴 (^{99}Mo), 팔라듐 (^{103}Pd), 인 (^{32}P), 프라세오디뮴 (^{142}Pr), 프로메튬 (^{149}Pm), 레늄 (^{186}Re, ^{188}Re), 로듐 (^{105}Rh), 루테뮴 (^{97}Ru), 사마륨 (^{153}Sm), 스칸듐 (^{47}Sc), 셀레늄 (^{75}Se), 스트론튬 (^{85}Sr), 황 (^{35}S), 테크네튬 (^{99}Tc), 탈륨 (^{201}Ti), 주석 (^{113}Sn, ^{117}Sn), 트리튬 (^{3}H), 크세논 (^{133}Xe), 이테르븀 (^{169}Yb, ^{175}Yb), 이트륨 (^{90}Y), 아연 (^{65}Zn); 다양한 양전자 방출 단층 촬영법 및 비방사성 상자성 금속 이온을 사용하는 양전자 방출 금속을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0270] 영상제는 당업계에 알려진 기술을 사용하여 중간체 (예컨대, 당업계에 알려진 링커)를 통해 직접적으로 또는 간접적으로 항원 결합 단편을 갖는 분자에 컨쥬게이트될 수 있다. 예를 들어, 진단으로서 사용하기 위해 본원에 술된 바와 같은 항체 및 다른 분자에 컨쥬게이트될 수 있는 금속 이온의 경우 미국특허 제4,741,900호 참고. 일부 컨쥬게이션 방법은 예를 들어, 유기 킬레이팅제, 예컨대, 디에틸렌트리아민펜타아세트산 무수물 (DTPA); 에틸렌트리아민테트라아세트산; N-클로로-p-톨루엔설폰아미드; 및/또는 항체에 부착된 테트라클로로-3-6α-디페닐글리코우릴-3를 사용하는 금속 킬레이트 착물의 사용을 포함한다. 모노클로날 항체는 또한 커플링제, 예컨대, 글루타르알데히드 또는 과요오드산염의 존재 하에서 효소와 반응될 수 있다. 플루오레세인 마커와의 컨쥬게이트는 이들 커플링제의 존재하에 또는 이소티오시아네이트와의 반응에 의해 제조될 수 있다.

[0271] 본원에 기술된 바와 같은 분자는 제2 항체에 컨쥬게이트되어 Segal에 의해 미국특허 제4,676,980호에 기술된 바와 같은 항체 헤테로컨쥬게이트를 형성할 수 있다. 이러한 헤테로컨쥬게이트 항체는 합텐 (예컨대, 플루오레세인), 또는 세포성 마커 (예컨대, 4-1-BB, B7-H4, CD4, CD8, CD14, CD25, CD27, CD40, CD68, CD163, CTLA4, GITR, LAG-3, OX40, TIM3, TIM4, TLR2, LIGHT, ICOS, B7-H3, B7-H7, B7-H7CR, CD70, CD47) 또는 사이토카인 (예컨대, IL-7, IL-15, IL-12, IL-4 TGF-베타, IL-10, IL-17, IFNγ, Flt3, BLys) 또는 케모카인 (예컨대, CCL21)에 추가로 결합할 수 있다.

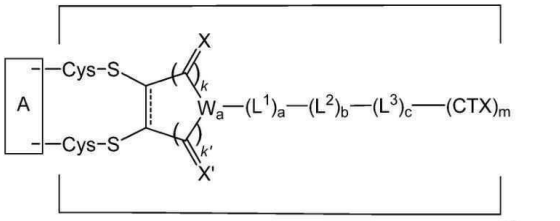
[0272] 본원에 기술된 바와 같은 분자는 고체 지지체에 부착될 수 있으며, 이는 표적 항원, 또는 본원에 기술된 바와 같은 항체 또는 항원 결합 단편에 대한 결합을 통해 지지체에 고정화된 표적 항원에 결합할 수 있는 다른 분자의 면역검정 또는 정제에 유용할 수 있다. 이러한 고체 지지체는 유리, 셀룰로오스, 폴리아크릴아미드, 나일론, 폴리스티렌, 폴리비닐 클로라이드 또는 폴리프로필렌을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

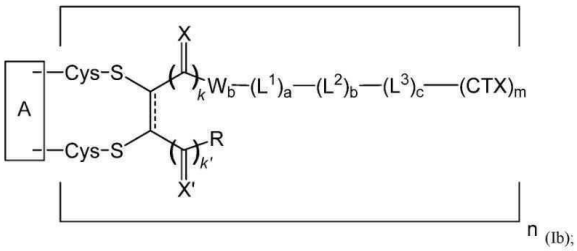
[0273] 또한, 본원은 임의의 이러한 항체, 항원 결합 단편, 및 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 또는 BTN1A1 이량체)를 코딩하는 핵산 분자 (DNA 또는 RNA)가 제공된다. 또한, 본원은 이러한 핵산 분자를 전달하거나 복제할 수 있는 벡터 분자 (예컨대, 플라스미드)가 제공된다. 핵산은 단일 가닥, 이중 가닥일 수 있으며, 단일 가닥 및 이중 가닥 부분을 둘 다 함유할 수 있다.

[0274] 항체-약물 컨쥬게이트(ADC)

[0275] 본원에 제공된 분자는 세포 내로 BTN1A1의 내재화를 유발할 수 있으므로, 본원에 기술된 임의의 항-BTN1A1 항체를 포함하는 항체-약물 컨쥬게이트(ADC)가 또한 제공된다.

[0276] 일부 실시양태에서, 본원은 다음 화학식 (Ia) 및 (Ib)의 항체-약물 컨쥬게이트를 포함하는 항체-약물 컨쥬게이트 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:





[0277]

[0278] 여기서:

[0279] A는 항원 결합 단편을 갖는 분자이고;

[0280] 도시된 2개의 시스테인 잔기는 A에서 개방형 시스테인-시스테인 디설파이드 결합으로부터 유래하고;

[0281] 각각의 X 및 X'는 독립적으로 O, S, NH 또는 NR^1이고, 여기서 R^1은 C_{1-6} 알킬이고;

[0282] W_a는 =N-, =CH-, $=CHCH_2$-, $=C(R^2)$-, 또는 $=CHCH(R^2)$-; W_b는 -NH-, $-N(R^1)$-, $-CH_2$-, $-CH_2$-NH-, $-CH_2$-$N(R^1)$-, $-CH_2CH_2$-, $-CH(R^2)$-, 또는 $-CH_2CH(R^2)$-; 여기서 R^1 및 R^2는 독립적으로 C_{1-6} 알킬이고;

[0283] CTX는 세포독소이고;

[0284] R은 임의의 화학 기이거나; R이 없고;

[0285] 각각의 L^1, L^2 및 L^3은 독립적으로 -O-, -C(O)-, -S-, -S(O)-, $-S(O)_2$-, -NH-, $-NCH_3$-, $-(CH_2)_q$-, $-NH(CH_2)_2NH$-, -OC(O)-, $-CO_2$-, $-NHCH_2CH_2C(O)$-, $-C(O)NHCH_2CH_2NH$-, $-NHCH_2C(O)$-, -NHC(O)-, -C(O)NH-, $-NCH_3C(O)$-, $-C(O)NCH_3$-, $-(CH_2CH_2O)_p$, $-(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2$-, $-CH_2CH_2-(CH_2CH_2O)_p$-, $-OCH(CH_2O-)_2$, $-(AA)_r$-, 사이클로펜타닐, 사이클로헥사닐, 비치환된 페닐에닐, 및 할로, CF_3-, CF_3O-, CH_3O-, -C(O)OH, $-C(O)OC_{1-3}$ 알킬, $-C(O)CH_3$, -CN, -NH-, $-NH_2$, -O-, -OH, $-NHCH_3$, $-N(CH_3)_2$, 및 C_{1-3} 알킬로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 또는 2개의 치환기로 치환된 페닐에닐로 이루어진 군으로부터 선택된 링커이며;

[0286] a, b 또는 c 중 하나 이상이 1 인 경우, a, b 및 c는 각각 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이고;

[0287] 각각의 k 및 k'는 독립적으로 0 또는 1의 정수이고;

[0288] 각각의 p는 독립적으로 1 내지 14의 정수이고;

[0289] 각각의 q는 독립적으로 1 내지 12의 정수이고;

[0290] 각각의 AA는 독립적으로 아미노산이고;

[0291] 각각의 r은 1 내지 12이고;

[0292] m은 1 내지 4의 정수이고;

[0293] n은 1 내지 4의 정수이며; 및

[0294] ------ 결합은 단일 또는 이중 결합을 나타냄.

[0295] 화학식 (Ib)의 항체-약물 컨쥬게이트(ADC)의 특정 실시양태에서, R은 본원에 정의된 바와 같은 W, $(L^1)_a$, $(L^2)_b$,

$(L^3)_c$, Z, W-$(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$, $(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$-Z, 및 W-$(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$-Z로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, R은 W, $(L^1)_a$, $(L^2)_b$, $(L^3)_c$, 및 W-$(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, R은 Z, $(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$-Z, 및 W-$(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$-Z로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0296] 화학식 (Ib)의 항체-약물 컨쥬게이트(ADC)의 특정 실시양태에서, R은 검출가능한 프로브이다. 특정 실시양태에서, R은 형광단, 발색단, 방사성 표지, 효소, 리간드, 항체 또는 항체 단편이다. 특정 실시양태에서, R은 리간드 (예컨대, 종양 세포, 예컨대, 전립선 특이적 막 항원 또는 바이러스 감염된 세포, 예컨대, HIV 감염된 세포 상의 수용체 특이적 리간드)이다.

[0297] 화학식 (Ib)의 항체-약물 컨쥬게이트(ADC)의 특정 실시양태에서, R은 아미드, N-(C_{1-6} 알킬) 아미드, 카바메이트, N-(C_{1-6} 알킬)카바메이트, 아민, N-(C_{1-6} 알킬)아민, 에테르, 티오에테르, 우레아, N-(C_{1-6} 알킬)우레아 또는 N,N-디(C_{1-6} 알킬)우레아 결합을 통해 나머지 링커 분자에 결합된다.

[0298] 화학식 (Ia) 또는 (Ib)의 항체-약물 컨쥬게이트 (ADC)의 특정 실시양태에서, 각각의 L^1, L^2 및 L^3은 독립적으로 -NHC(O)-, -C(O)NH-, $-(CH_2CH_2O)_p$, $-(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2$-, $-CH_2CH_2-(CH_2CH_2O)_p$-, $-OCH(CH_2O-)_2$, $-(AA)_r$-, 비치환된 페닐에닐, 및 할로, CF_3-, CF_3O-, CH_3O-, -C(O)OH, $-C(O)OC_{1-3}$ 알킬, $-C(O)CH_3$, -CN, -NH-, $-NH_2$, -O-, -OH, $-NHCH_3$, $-N(CH_3)_2$, 및 C_{1-3} 일킬로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 또는 2개의 치환기에 의해 치환된 페닐에닐로 이루어진 군으로부터 선택되며; 여기서, a, b 및 c는 각각 독립적으로 0 또는 1이고; 및 각각의 p 및 r은 독립적으로 1, 2 또는 3이다. 특정 실시양태에서, L^1, L^2 및 L^3 중 하나 이상은 $-(AA)_r$-이고, 여기서 $-(AA)_r$-는 ValCit (예컨대, 제1 아미노산은 발린이고, 제2 아미노산은 시트룰린이며, r은 1임)이다. 특정 실시양태에서, L^1, L^2 및 L^3 중 하나 이상은 $-(AA)_r$-이고, 여기서 $-(AA)_r$-는 ValAla (예컨대, 제1 아미노산은 발린이고, 제2 아미노산은 알라닌이며, r은 1임)이다. 특정 실시양태에서, L^1, L^2 및 L^3 중 하나 이상은 -C(O)OH 및 $-NH_2$로 치환된 페닐에닐이다. 특정 실시양태에서, L^1, L^2 및 L^3 중 하나 이상은 C(O)O- 및 -NH-로 치환된 페닐에닐이다. 특정 실시양태에서, L^1, L^2 및 L^3 중 하나 이상은 -OC(O)- 및 -NH-로 치환된 페닐에닐이다. 특정 실시양태에서, L^1, L^2 및 L^3 중 하나 이상은 -O- 및 -NH-로 치환된 페닐에닐이다. 특정 실시양태에서, L^1, L^2 및 L^3 중 하나 이상은 파라 아미노벤질 (PAB)이며, 이는 -C(O)O-, -OC(O)- 또는 -O-로 임의로 치환된다. 특정 실시양태에서, L^1은 $-(CH_2)_q$-이고, L^2는 부재하고, L^3은 부재하고, CTX는 아미드 결합을 통해 $(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$에 결합된다. 특정 실시양태에서, L^1은 $-(CH_2)_q$-이고, L^2는 $-(OCH_2CH_2)_p$-이고, L^3은 부재하고, CTX는 아미드 결합을 통해 $(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$에 결합된다. 특정 실시양태에서, L^1은 $-(CH_2CH_2O)_p$-이고, L^2는 $-(CH_2)_q$-이고, L^3은 부재하고, CTX는 아미드 결합을 통해 $(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$에 결합된다. 특정 실시양태에서, 각각의 L^1은 독립적으로 $-(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2$- 및 $-CH_2CH_2-(CH_2CH_2O)_p$-로 이루어진 군으로부터 선택되며, L^2는 부재하고, L^3는 부재하고, CTX는 아미드 결합을 통해 $(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$에 결합된다. 특정 실시양태에서, 각각의 L^1은 독립적으로 $-(CH_2)_q$-, $-(CH_2CH_2O)_p$, $-(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2$-, $-CH_2CH_2-(CH_2CH_2O)_p$-, 및 -C(O)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, L^2는 Val-Cit이고, L^3은 PAB이고, CTX는 아미드 결합을 통해 $(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$에 결합된다. 특정 실시양태에서, 각각의 L^1은 $-(CH_2)_q$-, $-(CH_2CH_2O)_p$, $-(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2$-, $-CH_2CH_2-(CH_2CH_2O)_p$-, 및 -C(O)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, L^2는 Val-Cit이고, L^3은 PAB이고, CTX는 아미드 결합을 통해 $(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$에 결합된다. 특정 실시양태에서, 각각의 L^1은 독립적으로 $-(CH_2)_q$-, $-(CH_2CH_2O)_p$, $-(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2$-, $-CH_2CH_2-(CH_2CH_2O)_p$-, 및 -C(O)-로 이루어진 군으로부터 선택되며, L^2는 Val-Ala이고, L^3은 PAB이고, CTX는 아미드 결합을 통해 $(L^1)_a$-$(L^2)_b$-$(L^3)_c$에 결합된다.

[0299] 화학식 (Ia) 또는 (Ib)의 항체-약물 접합체 (ADC)의 특정 실시양태에서, CTX는 튜불린 안정화제, 튜불린 불안정화제, DNA 알킬화제, DNA 마이너 그루브 바인더, DNA 인터칼레이터(intercalator), 토포이소머라제 I 억제제, 토포이소머라제 II 억제제, 자이라제 억제제, 단백질 합성 억제제, 프로테오좀 억제제 및 항-대사물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0300] 화학식 (Ia) 또는 (Ib)의 항체-약물 컨쥬게이트 (ADC)의 특정 실시양태에서, CTX는 화학 요법제이다. 당업자는 예를 들어, Chu, E., DeVite, V. T., 2012, Physicians' Cancer Chemotherapy Drug Manual 2012 (Jones & Bartlett Learning Oncology) 및 유사한 문서에 개시된 바와 같은 적절한 화학 요법제를 인식하고 있을 것이다.

[0301] 특정 실시양태에서, CTX는 임의의 FDA 승인 화학 요법제일 수 있다. 특정 실시양태에서, CTX는 암 치료에 이용 가능한 임의의 FDA 승인 화학 요법제일 수 있다.

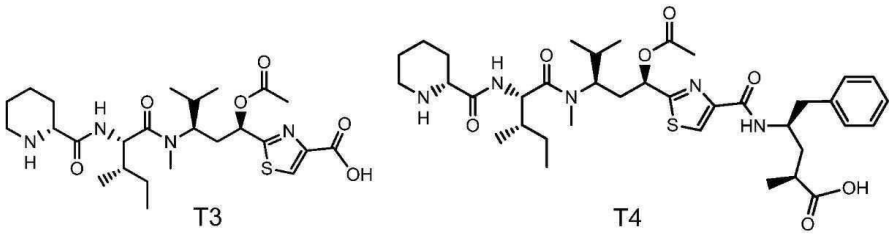
[0302] 특정 실시양태에서, CTX는 알킬화제, 안트라사이클린, 세포골격 파괴물질(cytoskeletal disruptor)(탁산), 에포티론, 히스톤 데아세틸라제 억제제(HDAC), 토포이소머라제 I의 억제제, 토포이소머라제 II의 억제제, 키나제 억제제, 모노클로날 항체, 뉴클레오티드 유사체, 펩티드 항생제, 백금계 작용제, 레티노이드, 빈카(Vinca) 알카로이드 또는 이의 유도체, 및 방사성동위원소로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0303] 특정 실시양태에서, CTX는 액티노마이신, 올-트랜스 레티노산(all-trans retinoic acid), 아자시티딘, 아자티오프린, 블레오마이신, 보르테조밉, 카르보플라틴, 카페시타빈, 시스플라틴, 클로람부실, 사이클로포스파미드, 시타라빈, 다우노루비신, 도세탁셀, 독시플루리딘, 독소루비신, 에피루비신, 에포티론, 에토포시드, 플루오로우라실, 젬시타빈, 하이드록시우레아, 이다루비신, 이마티닙, 이리노테칸, 메클로르에타민, 머캅토퓨린, 메토트렉세이트, 미토잔트론, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 페메트렉세드, 테니포시드, 티오구아닌, 토포테칸, 발루비신, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 및 비노렐빈으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0304] 특정 실시양태에서, CTX는 튜불린 안정화제, 튜불린 불안정화제, DNA 알킬화제, DNA 마이너 그루브 바인더, DNA 인터칼레이터, 토포이소머라제 I 억제제, 토포이소머라제 II 억제제, 자이라제 억제제, 단백질 합성 억제제, 프로테오좀 억제제 및 항-대사물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0305] 특정 실시양태에서, CTX는 액티노마이신 D, 아모나피드, 아우리스타틴, 벤조페논, 벤조티아졸, 칼리케미신, 캄토테신, CC-1065(NSC 298223), 세마도틴, 콜히친, 콤브레타스타틴 A4, 도라스타틴, 독소루비신, 엘리나피드, 엠탄신(DM1), 에토포시드, KF-12347(레이나마이신), 메이탄시노이드, 메토트렉세이트, 미토잔트론, 노코다졸, 프로테오좀 억제제 1(PSI 1), 로리딘 A, T-2 독소(트리코테센 유사체), 탁솔, 튜불리신, 벨카드®, 및 빈크리스틴으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, CTX는 아우리스타틴, 칼리케미신, 메이탄시노이드, 또는 튜불리신이다.

[0306] 특정 실시양태에서, CTX는 모노메틸아우리스타틴 E (MMAE), 모노메틸아우리스타틴 F(MMAF), 피롤로벤조디아제핀(PDB), 칼리케미신 γ, 메르탄신 또는 튜불리신 T2이다. 특정 실시양태에서, CTX는 MMAE 또는 MMAF이다. 특정 실시양태에서, CTX는 PDB이다. 특정 실시양태에서, CTX는 튜불리신 T2이다. 특정 실시양태에서, CTX는 튜불리신 T3, 또는 튜불리신 T4이며, 그 구조가 하기에 제공된다:

[0307] 

[0308] **6.3 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 결합하는 다른 분자**

[0309] 또 다른 양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 선택적으로 결합하는 분자를 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 항체가 아니며 항원 결합 도메인을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 분자는 디코이 수용체, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA 또는 BTN1A1 디코이 수용체 또는 가용성 수용체이다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1-BTN1A1 리간드 복합체 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA, 및 BTN1A1을 포함하는 복합체)의 형성을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 형성된 BTN1A1-BTN1A1 리간드 복합체 (예컨대, GAL-

1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA, 및 BTN1A1을 포함하는 복합체)를 파괴할 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 선택적으로 결합하여, BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있는 본원에 제공된 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1-BTN1A1 리간드 복합체의 면역 억제 기능을 억제할 수 있다.

[0310] 다른 양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 선택적으로 결합하는 분자가 제공되며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 항체가 아니며 항원 결합 단편을 갖지 않는다. 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-1에 대한 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-9에 대한 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 NRP-2에 대한 BTN11A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTLA에 대한 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 완전히 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 적어도 부분적으로 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2 또는 BTLA의 결합을 1% 이상, 3% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1과 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA의 결합 또는 이의 억제는 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계 또는 공동 면역침전을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 분자는, 1μM 미만, 900nM 미만, 800nM 미만, 700nM 미만, 600nM 미만, 500nM 미만, 400nM 미만, 300nM 미만, 200nM 미만, 100nM 미만, 90nM 미만, 80nM 미만, 70nM 미만, 60nM 미만, 50nM 미만, 40nM 미만, 30nM 미만, 20nM 미만, 10nM 미만, 9nM 미만, 8nM 미만, 8nM 미만, 미만 7nM 미만, 6nM 미만, 5nM 미만, 4nM 미만, 3nM 미만, 2nM 미만 또는 1nM 미만의 IC50 값으로 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 중화 검정은 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계, 공동 면역침전, FRET 또는 TR-FRET 검정, 또는 ELISA이다.

[0311] 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대해 선택적으로 결합하여, 분자는 BTN1A1에 대한 2개 이상의 BN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1 및 GAL-9의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1 및 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9 및 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, GAL-9 및 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, GAL-9 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9, NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, GAL-9, NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다.

[0312] 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1의 세포 외 도메인(ECD)에 선택적으로 결합한다.

[0313] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는, 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 GAL-1에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는, 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 GAL-9에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는, 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 또는 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 NRP-2에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는, 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하,

40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 BTLA에 결합할 수 있다.

[0314] 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1의 활성 또는 시그널링 또는 BTN1A1 및 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 복합체의 활성 또는 시그널링을 조정할 수 있다.

[0315] 일부 실시양태에서, 분자는 T-세포 활성을 조종할 수 있다. 일부 실시양태에서, T-세포는 $CD8^+$ 세포이다. 일부 실시양태에서, 분자는 T-세포 활성화 또는 T-세포 증식을 증가시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 T-세포 아폽토시스를 억제할 수 있다.

[0316] 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-1 디코이이다. 일부 실시양태에서, 분자는 국제특허출원 PCT/US2002/031273호 (예컨대, WO2003026494 A3호로서 공개됨)에 기술된 바와 같은 GAL-1 디코이이고, 이는 본원에 참조로 원용된다. 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-9 디코이이다. 일부 실시양태에서, 분자는 NRP-2 디코이이다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTLA 디코이 수용체이다. 일부 실시양태에서, 분자는 가용성 BTLA 수용체 (예컨대, BTLA 세포 외 도메인 구축, 예컨대, BTLA-ECD-Fc 구축)이다. 일부 실시양태에서, 분자는 막-결합 BTLA 디코이 수용체 (예컨대, 세포질 도메인이 결여된 절단된 BTLA)이다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1 디코이 또는 가용성 수용체이다. 일부 실시양태에서, 분자는 국제특허출원 PCT/US2014/071853호 (예컨대, WO2015100219 A1호로서 공개됨)에 기술된 바와 같은 BTN1A1 결합제이다.

[0317] **5.4 조성물**

[0318] 본원은 또한 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 선택적으로 결합하는 분자를 갖는 조성물을 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 항체가 아니며 항원 결합 단편을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 분자는 디코이 수용체, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA 또는 BTN1A1 디코이 수용체 또는 가용성 수용체이다.

[0319] 다른 양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 갖는 조성물을 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 또는 BTN1A1 이량체)에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-9에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 NRP-2에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTLA에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215 및/또는 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N215에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 하나 이상의 글리코실화 모티프에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55 및 N215에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N215 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 이량체에서 BTN1A1 이량체, 예컨대, BTN1A1 이량체에서 하나 이상의 BTN1A1 단량체의 하나 이상의 위치 N55, N215 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1 이량체에 면역특이적으로 결합한다.

[0320] 일부 실시양태에서, 조성물은 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 가지므로, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 B- 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-1에 대한 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-9에 대한 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 NRP-2에 대한 BTN11A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTLA에 대한 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 완전히 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 적어도 부분적으로 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2 또는 BTLA의 결합을 1% 이상, 3% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상,

40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1의 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA로의 결합 또는 이의 억제는 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계 또는 공동 면역침전을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 분자는 1μM 미만, 900nM 미만, 800nM 미만, 700nM 미만, 600nM 미만, 500nM 미만, 400nM 미만, 300nM 미만, 200nM 미만, 100nM 미만, 90nM 미만, 80nM 미만 70nM 미만, 60nM 미만, 50nM 미만, 40nM 미만, 30nM 미만, 20nM 미만, 10nM 미만, 9nM 미만, 8nM 미만, 8nM 미만, 7nM 미만, 6nM 미만, 5nM 미만, 4nM 미만, 3nM 미만, 2nM 미만 또는 1nM 미만의 IC50 값으로 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 중화 검정은 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계, 공동 면역침전, FRET 또는 TR-FRET 검정, 또는 ELISA이다.

[0321] 일부 실시양태에서, 조성물은 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 가지므로, 분자는 BTN1A1에 대한 2개 이상의 BN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1 및 GAL-9의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1 및 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9 및 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, GAL-9 및 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, GAL-9 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9, NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, GAL-9, NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다.

[0322] 일부 실시양태에서, 조성물은 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA와 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 가지며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-1에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-9에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 NRP-2에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTLA에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 완전히 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 적어도 부분적으로 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2 또는 BTLA의 결합을 1% 이상, 3% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1의 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA와의 결합 또는 이의 억제는 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계 또는 공동 면역침전을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 분자는 1μM 미만, 900nM 미만, 800nM 미만, 700nM 미만, 600nM 미만, 500nM 미만, 400nM 미만, 300nM 미만, 200nM 미만, 100nM 미만, 90nM 미만, 80nM 미만, 70nM 미만, 60nM 미만, 50nM 미만, 40nM 미만, 30nM 미만, 20nM 미만, 10nM 미만, 9nM 미만, 8nM 미만, 8nM 미만, 7nM 미만, 6nM 미만, 5nM 미만, 4nM 미만, 3nM 미만, 2nM 미만 또는 1nM 미만의 IC50 값으로 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 중화 검정은 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계, 공동 면역침전, FRET 또는 TR-FRET 검정, 또는 ELISA이다.

[0323] 일부 실시양태에서, 본원은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 결합할 수 있는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 갖는 조성물을 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 GAL-1에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이

하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 GAL-9에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 NRP-2에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 BTLA에 결합할 수 있다.

[0324] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 조성물 중 분자는 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 가지며, 여기서 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 비해 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 글리코실화된 BTN1A1은 BTN1A1 이량체이다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 비해 위치 N55, N215 및/또는 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 비해 위치 N55에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 비해 위치 N215에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 비해 위치 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 하나 이상의 글리코실화 모티프에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 비해 위치 N55 및 N215에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 비해 위치 N215 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 비해 위치 N55 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 비해 위치 N55, N215 및 N449에서 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다.

[0325] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 조성물 중 분자는 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 가지므로, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체에 비해 BTN1A1 이량체에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 이량체는 BTN1A1 이량체에서 하나 이상의 BTN1A1 단량체의 위치 N55, N215 및 N449 중 하나 이상에서 글리코실화된다.

[0326] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 조성물 중 분자는 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D의 절반 미만의 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합하는 항원 결합 단편을 갖는다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 2배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 5배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 10배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 15배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 20배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 25배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 30배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 40배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 K_D보다 50배 이상 낮은 K_D로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다.

[0327] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D의 절반 미만의 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 2배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 5배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량

체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 10배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 15배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 20배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 25배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 30배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 40배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 K_D보다 50배 이상 낮은 K_D로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다.

[0328] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 2배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI의 5배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 10배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI의 15배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI의 20배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI의 25배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI의 30배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 40배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1에 대하여 나타낸 MFI보다 50배 이상 높은 MFI로 글리코실화된 BTN1A1에 결합한다.

[0329] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1)에 대하여 나타낸 MFI보다 2배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI의 5배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI의 10배 이상인 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI의 15배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI의 20배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI의 25배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI의 30배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI의 35배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI의 40배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)에 대하여 나타낸 MFI의 50배 이상 높은 MFI로 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 결합한다.

[0330] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 조성물 중 분자는 위치 N55, N215 및/또는 N449에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹하는 항원 결합 단편을 갖는다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55에서 면역특

이적으로 BTN1A1 글리코실화를 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N215에서 면역특이적으로 BTN1A1 글리코실화를 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N449에서 면역특이적으로 BTN1A1 글리코실화를 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1의 하나 이상의 글리코실화 모티프를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55 및 N215에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N215 및 N449에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55 및 N449에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215 및 N449에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다.

[0331] 일부 실시양태에서, 조성물은 0.1중량% 이상의 본원에 기술된 바와 같은 항체 또는 다른 분자를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물은 적어도 0.5중량%, 1중량%, 2중량%, 3중량%, 4중량%, 5중량%, 6중량%, 7중량%, 8중량%, 9중량%, 10중량%, 15중량%, 20중량%, 25중량%, 30중량%, 35중량%, 40중량%, 45중량%, 50중량%, 55중량%, 60중량%, 65중량%, 70중량%, 75중량%, 80중량%, 85중량%, 90중량% 이상의 항-BTN1A1 항체, 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체, 또는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자를 가질 수 있다. 다른 실시양태에서, 예를 들어, 항-BTN1A1 항체, 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체 또는 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자는 조성물의 중량의 약 2% 내지 약 75%, 약 25% 내지 약 60%, 약 30% 내지 약 50%, 또는 그 안의 임의의 범위를 구성할 수 있다.

[0332] 조성물은 항-BTN1A1 항체, 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP- 또는 BTLA) 항체 또는 활성 성분으로서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자 뿐만 아니라 약학적으로 허용가능한 담체를 갖는 약학 조성물일 수 있다. 약학 조성물은 추가로 하나 이상의 부가적인 활성 성분을 포함할 수 있다. 약학적으로 허용가능한 담체는 연방 정부 또는 주 정부의 관리 기관에 의해 승인되거나, 미국 약전, 유럽 약전 또는 다른 일반적으로 인정되는 약전에서 동물, 및 보다 특히 인간에서의 사용을 위해 열거된 담체일 수 있다.

[0333] 활성 성분으로서 본원에 기술된 항체 또는 다른 분자를 갖는 약학 조성물의 제제는, 참고로 본원에 원용되는 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed, 1990에 의해 예시되는 바와 같이, 본 개시내용에 비추어 당업자에게 알려져 있다. 또한, 동물(인간 포함) 투여의 경우, 제제는 FDA 생물 표준국(Office of Biological Standards)에 의해 요구되는 멸균성, 발열원성, 일반적 안전성 및 순도 표준을 충족해야 한다.

[0334] 약학적으로 허용가능한 담체는 액체, 반고체, 즉, 페이스트, 또는 고체 담체를 포함한다. 담체 또는 희석제의 예는 지방, 오일, 물, 생리식염수, 지질, 리포좀, 수지, 바인더, 충전제 등, 또는 그 조합을 포함한다. 약학적으로 허용가능한 담체는 당업자에게 알려진 것처럼, 수성 용매(예컨대, 물, 알콜성/수성 용액, 에탄올, 생리식염수, 비경구 비히클, 예를 들어, 염화나트륨, 링거 덱스트로스, 등), 비수성 용매(예컨대, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일 및 주사가능한 유기 에스테르, 예를 들어, 에틸올리에이트), 분산 매질, 코팅(예컨대, 레시틴), 계면활성제, 산화방지제, 방부제(예컨대, 항균 또는 항진균 작용제, 항-산화제, 킬레이팅제, 불활성 가스, 파라벤(예컨대, 메틸파라벤, 프로필파라벤), 클로로부탄올, 페놀, 솔브산, 티메로살), 등장성 작용제(예컨대, 당, 염화나트륨), 흡수 지연제(예컨대, 알루미늄 모노스테아레이트, 젤라틴), 염, 약물, 약물 안정화제(예컨대, 버퍼, 아미노산, 예를 들어, 글리신 및 리신, 탄수화물, 예를 들어, 덱스트로스, 만노스, 갈락토스, 프럭토스, 락토스, 수크로스, 말토스, 솔비톨, 만니톨 등), 젤, 바인더, 부형제, 붕해제, 윤활제, 감미제, 착향료, 염료, 유체 및 영양 보충제, 그러한 유사 물질 및 그 조합을 포함한다. 임의의 종래의 매질, 작용제, 희석제 또는 담체가 수용체에게 또는 그안에 함유된 조성물의 치료 효과에 해로운 경우를 제외하고, 본 방법의 실시에서의 사용을 위해 투여가능한 조성물에서의 그의 사용은 적절하다. 약학 조성물 내의 다양한 성분의 pH 및 정확한 농도는 잘 알려진 파라미터에 따라 조정된다. 본 발명의 일부 양태에 따라, 조성물은 임의의 편리하고 실용적인 방식으로, 즉, 용액, 현탁액, 유화, 혼합, 캡슐화, 흡수, 분쇄 등에 의해, 담체와 조합될 수 있다. 그러한 절차는 당업자에게 일상적이다.

[0335] 일부 실시양태에서, 약학적으로 허용가능한 담체는 수성 pH 완충 용액일 수 있다. 예로는 버퍼, 예컨대, 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기산; 아스코르브산을 비롯한 산화방지제; 저분자량(예컨대, 약 10개 아미노산 잔기 미만) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신; 글루코스, 만노스, 또는 덱스트린을 비롯한, 단당류, 이당류, 및 다른 탄수화물; 킬레이팅제, 예컨대, EDTA; 당 알콜, 예컨대, 만니톨

또는 솔비톨; 염-형성 반대이온, 예컨대, 나트륨; 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대, TWEEN™, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 및 PLURONICS™를 포함한다.

[0336] 일부 실시양태에서, 약학적으로 허용가능한 담체는 물, 및 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 오일, 예를 들어, 땅콩오일, 대두오일, 광유, 참기름 등을 비롯한 오일과 같은 멸균 액체일 수 있다. 물은 특히 약학 조성물이 정맥내로 투여될 때, 담체일 수 있다. 생리식염수 및 수성 덱스트로스 및 글리세롤 용액은 또한 특히 주사용 용액을 위해 액체 담체로서 이용될 수 있다. 적합한 약학 부형제는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카겔, 소듐 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 건조 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올, 폴리소르베이트-80 등을 포함한다. 조성물은 또한 소량의 습윤 또는 유화 작용제, 또는 pH 완충제를 함유할 수 있다. 이들 조성물은 용액, 현탁액, 에멀젼, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 서방성 제형 등의 형태를 취할 수 있다.

[0337] 본 개시내용의 특정 실시양태는 그것이 고체, 액체 또는 에어로졸 형태로 투여되는지 여부, 및 주사와 같은, 투여 경로를 위해 멸균성일 필요가 있는지에 따라 상이한 타입의 담체를 가질 수 있다. 조성물은 정맥내로, 피부내로, 경피로, 기관내로, 동맥내로, 복강내로, 비강내로, 질내로, 직장내로, 근육내로, 피하로, 점막으로, 경구로, 국소로, 국부로, 흡입에 의해(예컨대, 에어로졸 흡입), 주사에 의해, 주입에 의해, 연속 주입에 의해, 지질 조성물(예컨대, 리포좀)에서 직접적으로, 카테터를 통해, 세척을 통해, 타겟 세포를 국소화 관류배딩(localized perfusion bathing)함에 의해, 또는 다른 방법 또는 당업자에게 알려진 전술한 것의 임의의 조합에 의해 투여하기 위해 제형화될 수 있다(예컨대, 참고로 본원에 원용되는 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed, 1990을 참고한다). 전형적으로, 그러한 조성물은 액체 용액 또는 현탁액으로서 제조될 수 있으며; 주사 전에 액체의 첨가시에 용액 또는 현탁액을 제조하기 위해 사용하기 적합한 고체 형태가 또한 제조될 수 있으며; 제제는 또한 유화될 수 있다.

[0338] 항 BTN1A1 항체, 항 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-, 또는 BTLA) 항체, 또는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자는 유리 염기, 중성, 또는 염 형태로 조성물 내로 제형화될 수 있다. 약학적 허용 염은 산 부가 염, 예를 들어, 단백질성 조성물의 유리 아미노기로 형성되거나 또는 무기 산, 예를 들어, 염산 또는 인산, 또는 유기산, 예를 들어, 아세트산, 옥살산, 타르타르산 또는 만델산으로 형성된 것들을 포함한다. 유리 카르복실기로 형성된 염은 또한 무기 염기, 예를 들어, 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 또는 수산화제이철(ferric hydroxide); 또는 유기 염기, 예를 들어, 이소프로필아민, 트리메틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘 또는 프로케인으로부터 유도될 수 있다.

[0339] 추가 실시양태에서, 본 발명은 지질을 갖는 약학 조성물을 제공한다. 지질은 넓게는 특질상으로 물에서 불용성이고 유기 용매로 추출가능한 물질의 부류를 포함할 수 있다. 그 예는 장쇄 지방족 탄화수소를 함유하는 화합물 및 그 유도체를 포함한다. 지질은 자연 발생이거나 합성(즉, 인간에 의해 설계되거나 생산됨)일 수 있다. 지질은 생물학적 물질일 수 있다. 생물학적 지질은 본 기술분야에 잘 알려져 있으며, 예를 들어, 중성 지방, 인지질, 포스포글리세라이드, 스테로이드, 테르펜, 라이소지질, 글리코스핑고지질, 당지질, 설파티드, 에테르- 및 에스테르-연결된 지방산을 갖는 지질, 중합성 지질 및 그 조합을 포함한다. 당업자가 지질로 이해하는 본원에 구체적으로 개시된 것 외의 다른 화합물 또한 사용될 수 있다.

[0340] 당업자는 지질 비히클에서 조성물을 분산시키기 위해 이용될 수 있는 기술의 범위에 익숙할 것이다. 예를 들어, 항체는 당업자에게 알려진 임의의 수단에 의해 지질을 함유한 용액에서 분산되거나, 지질로 용해되거나, 지질로 유화되거나, 지질과 혼합되거나, 지질과 조합되거나, 지질에 공유 결합되거나, 지질내에 현탁액으로서 함유되거나, 미셀 또는 리포좀에 함유되거나 복합되거나, 또는 다르게는 지질 또는 지질 구조와 연합될 수 있다. 분산액은 리포좀의 형성을 야기하거나 야기하지 않을 수 있다.

[0341] 일반적으로, 조성물의 성분들은 별도로, 또는 예를 들어, 활성 작용제의 양을 표시하는 앰플 또는 봉지(sachette)와 같은 밀봉 용기내의 건조 동결 분말 또는 무수 농축물로서 단위 투약 형태로 함께 혼합되어 공급된다. 조성물이 주입에 의해 투여될 경우, 조성물은 멸균 약학 등급 물 또는 염수를 함유한 주입 병과 제공될 수 있다. 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우, 주사를 위한 멸균수 또는 염수의 앰플이 성분들이 투여 전에 혼합될 수 있도록 제공될 수 있다.

[0342] 각각의 치료적으로 유용한 조성물내의 활성 성분의 양은, 적합한 투여량이 화합물의 임의의 주어진 단위 용량에서 수득되는 방식으로 제조될 수 있다. 가용성, 생체이용률, 생물학적 반감기, 투여 경로, 제품 저장수명, 및 다른 약리학적 고려사항과 같은 인자가 그러한 약학적 제형 제조 분야의 당업자에 의해 고려될 수 있으며, 따라

서, 다양한 투여량 및 치료 요법이 바람직할 수 있다.

[0343] 단위 용량 또는 투여량은 대상체에서의 사용을 위해 적합한 물리적으로 구별되는 단위를 말하며, 각 단위는 그 투여, 즉, 적절한 경로 및 치료 요법과 연합되어 상기에 개시한 원하는 반응을 생산하기 위해 계산된 약학 조성물의 소정의 양을 함유한다. 치료 횟수 및 단위 용량에 따른, 투여될 양은 원하는 효과에 의존한다. 환자 또는 대상체에게 투여되는 본 실시양태의 조성물의 실제 투여량은 대상체의 체중, 연령, 건강 및 성별, 치료되는 질병의 타입, 질병 침투 정도, 이전 또는 공존하는 치료적 중재, 환자의 특발증, 투여 경로, 및 구체적 치료 물질의 효능, 안정성 및 독성과 같은 신체적 및 생리학적 인자에 의해 결정될 수 있다. 다른 비제한적인 예에서, 용량은 투여 당 약 1 마이크로그램/kg/체중, 약 5 마이크로그램/kg/체중, 약 10 마이크로그램/kg/체중, 약 50마이크로그램/kg/체중, 약 100 마이크로그램/kg/체중, 약 200 마이크로그램/kg/체중, 약 350 마이크로그램/kg/체중, 약 500 마이크로그램/kg/체중, 약 1 밀리그램/kg/체중, 약 5 밀리그램/kg/체중, 약 10 밀리그램/kg/체중, 약 50 밀리그램/kg/체중, 약 100 밀리그램/kg/체중, 약 200 밀리그램/kg/체중, 약 350 밀리그램/kg/체중, 약 500 밀리그램/kg/체중으로부터, 약 1000 밀리그램/kg/체중 이상까지, 그리고 그안의 임의의 유도가능한 범위를 가질 수 있다. 본원에 열거된 수로부터 유도가능한 범위의 비제한적인 예에서, 약 5 밀리그램/kg/체중 내지 약 100밀리그램/kg/체중, 약 5 마이크로그램/kg/체중 내지 약 500 밀리그램/kg/체중, 등의 범위가 상기에 개시한 수에 기반하여 투여될 수 있다. 투여를 책임지는 실무자는 어떤 경우에도, 조성물 내의 활성 성분(들)의 농도 및 개인 대상체를 위한 적절한 용량(들)을 결정할 것이다.

[0344] 당업자는 본원에 기술된 조성물은 치료 제제의 구체적 특성에 의해 제한되지 않음을 이해할 것이다. 예를 들어, 그러한 조성물은 생리학적으로 용인가능한 액체, 젤 또는 고체 담체, 희석제 및 부형제와 함께 제형내에 제공될 수 있다. 이들 치료 제제는 가축에서와 같은 수의학적 용도를 위해, 그리고 다른 치료제와 유사한 방식으로 인간에서의 임상적 용도를 위해 포유 동물에게 투여될 수 있다. 일반적으로, 치료 효능을 위해 요구되는 투여량은 개인 대상체의 구체적 요구뿐만 아니라 투여의 사용 타입 및 양식에 따라 변한다. 인간 환자를 비롯한 동물 환자에게 투여되는 조성물의 실제 투여량은 체중, 병태의 심각성, 치료되는 질병의 타입, 이전 또는 공존하는 치료적 중재, 환자의 특발증 및 투여 경로와 같은 신체적 및 생리학적 인자에 의해 결정될 수 있다. 투여량 및 투여 경로에 따라, 바람직한 투여량 및/또는 유효량의 투여 횟수는 대상체의 반응에 따라 변할 수 있다. 투여를 책임지는 실무자는 어떤 경우에도, 조성물 내의 활성 성분(들)의 농도 및 개인 대상체를 위한 적절한 용량(들)을 결정할 것이다.

[0345] **5.5 치료적 용도 및 치료 방법**

[0346] BTN1A1은 암 세포에서 특이적이고 고도로 발현된다.

[0347] 또 다른 양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 선택적으로 결합하는 분자에 대한 암 치료에서의 치료적 용도를 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 항체가 아니며 항원 결합 단편을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 분자는 디코이 수용체, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA 또는 BTN1A1 디코이 수용체 또는 가용성 수용체이다.

[0348] 또 다른 양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자에 대한 암 치료에서의 치료적 용도를 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 이들 분자는 BTN1A1-발현 암 세포에 결합하고 면역 반응을 유도하여 이들 암 세포의 파괴를 유발한다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-2, NRP-2, BTLA) 복합체를 억제한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1-BTN1A1 리간드 복합체의 형성을 방지하거나 이미 형성된 BTN1A1-BTN1A1 리간드 복합체를 파괴할 수 있다. 본원에 제공된 분자는 암 세포의 T-세포 의존성 아폽토시스를 향상시키고 암 세포의 증식을 억제할 수 있다.

[0349] 또 다른 양태에서, 본원은 대상체에 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 선택적으로 결합하는 분자의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있는, 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 분자는 항체가 아니며 항원 결합 단편을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 분자는 디코이 수용체, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA 또는 BTN1A1 디코이 수용체 또는 가용성 수용체이다.

[0350] 또 다른 양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자의 치료적 유효량을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 대상체에서

암을 치료하는 방법을 제공하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있는 방법을 제공한다.

[0351] 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 가지며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 B- 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-1에 대한 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-9에 대한 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 NRP-2에 대한 BTN11A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTLA에 대한 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 완전히 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 적어도 부분적으로 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2 또는 BTLA의 결합의 1% 이상, 3% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA에 대한 BTN1A1의 결합 또는 이의 억제는 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계 또는 공동-면역침전을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 분자는 1μM 미만, 900nM 미만, 800nM 미만, 700nM 미만, 600nM 미만, 500nM 미만, 400nM 미만, 300nM 미만, 200nM 미만, 100nM 미만, 90nM 미만, 80nM 미만, 70nM 미만, 60nM 미만, 50nM 미만, 40nM 미만, 30nM 미만, 20nM 미만, 10nM 미만, 9nM 미만, 8nM 미만, 8nM 미만, 7nM 미만, 6nM 미만, 5nM 미만, 4nM 미만, 3nM 미만, 2nM 미만, 또는 1nM 미만의 IC50 값으로 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 중화 검정은 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계, 공동-면역침전, FRET 또는 TR-FRET 검정, 또는 ELISA이다.

[0352] 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대해 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하며, 분자는 BTN1A1에 대한 2개 이상의 BN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1 및 GAL-9의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1 및 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9 및 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, GAL-9 및 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, GAL-9 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9, NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1, GAL-9, NRP-2 및 BTLA의 결합을 억제할 수 있다.

[0353] 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA와 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 가지며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-1에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-9에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 GAL-9의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 NRP-2에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 NRP-2의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTLA에 면역특이적으로 결합하고, 분자는 BTN1A1에 대한 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 완전히 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 결합을 적어도 부분적으로 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NPR-2 또는 BTLA의 결합을 1% 이상, 3% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1의 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA와의 결합 또는 이의 억제는 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계 또는 공동 면역침전을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 분자는 1μM 미만, 900nM 미만, 800nM 미만, 700nM 미만, 600nM 미만, 500nM 미만, 400nM 미만, 300nM 미만, 200nM 미만, 100nM 미만, 90nM 미만, 80nM 미만, 70nM 미만, 60nM 미만, 50nM 미만, 40nM 미만, 30nM 미만, 20nM 미만, 10nM 미만, 9nM 미만, 8nM 미만, 8nM 미만, 7nM 미만, 6nM 미만, 5nM 미만, 4nM 미만, 3nM 미만, 2nM 미만 또는 1nM 미만의 IC50 값으로 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 중화 검정은 표면 플라즈몬 공명, 생물층 간섭계, 공동 면역침전, FRET 또는 TR-FRET 검정, 또는

ELISA이다.

[0354] 일부 실시양태에서, 분자는 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 결합할 수 있는 항원 결합 단편을 가지며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 GAL-1에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 GAL-9에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 NRP-2에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 1μM 이하, 900nM 이하, 800nM 이하, 700nM 이하, 600nM 이하, 500nM 이하, 400nM 이하, 300nM 이하, 200nM 이하, 100nM 이하, 90nM 이하, 80nM 이하, 70nM 이하, 60nM 이하, 50nM 이하, 40nM 이하, 30nM 이하, 20nM 이하, 10nM 이하, 5nM 이하, 3nM 이하, 또는 1nM 이하의 해리 상수로 BTLA에 결합할 수 있다.

[0355] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1의 리소좀 내재화를 유발할 수 있는 항-BTN1A1 항체를 포함하는, BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 제공한다. 따라서, 본원은 화합물과 컨쥬게이트된 본원에 제공된 분자와 세포를 접촉시킴으로써 BTN1A1을 발현하는 세포에 화합물을 전달하는 본원에 제공된 분자를 사용하는 방법을 제공된다. 화합물은 본원에 기술된 영상화제, 치료제, 독소 또는 방사성 핵종일 수있다. 화합물은 항-BTN1A1 항체와 컨쥬게이트될 수 있다. 컨쥬게이트는 본원에 기술된 바와 같은 임의의 컨쥬게이트, 예컨대, ADC일 수 있다. 세포는 암 세포일 수 있다. 세포는 또한 암 세포 및 정상 세포 둘 다를 포함하는 세포 집단일 수 있다. 암 세포는 BTN1A1을 특이적이고 고도로 발현하기 때문에, 본원에 기술된 분자는 정상 세포가 아닌 암 세포로의 특이적 약물 전달을 달성하는데 사용될 수 있다.

[0356] 일부 실시양태에서, 항-BTN1A1 항체 및 항-BTN1A1-리간드 (GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 항체를 포함하는 본원에 제공된 분자는 대상체에서 면역 반응을 조정할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 T-세포 활성화를 촉진할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 T-세포 증식을 촉진할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 사이토카인 생산을 증가시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 분자는 또한 BTN1A1을 발현하는 세포의 T-세포 의존성 아폽토시스를 향상시키거나 BTN1A1을 발현하는 세포의 증식을 억제할 수 있다.

[0357] 따라서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 제공된 분자의 유효량을 투여함으로써 대상체에서 면역 반응을 조정하는 방법을 제공하며, 항-BTN1A1 항체 및 항-BTN1A1 리간드 항체를 포함하는 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 면역 반응의 조정은 (a) T-세포 활성화 증가 (예컨대, $CD8^+$ T-세포 활성화); (b) T-세포 증식 증가; 및/또는 (c) 사이토카인 생산 증가를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0358] 또한, 본원은 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 항체를 포함하는, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 유효량의 분자와 세포를 접촉시킴으로써 BTN1A1을 발현하는 세포의 T-세포 의존성 아폽토시스를 향상시키는 방법을 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 또한, 본원은 항-BTN1A1 항체를 포함하는, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자의 유효량과 세포를 접촉시킴으로써 BTN1A1을 발현하는 세포의 증식을 억제하는 방법을 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 세포는 암 세포일 수 있다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0359] 일부 실시양태에서, 이들 분자는 T-세포 활성화 또는 증식에서 BTN1A1의 저해 활성을 억제함으로써 암을 치료하는데 사용될 수 있다. 따라서, 본원은 BTN1A1 시그널링을 억제 또는 차단함으로써 대상체의 면역계를 상향 조절

하는데 이들 분자의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1이 T 세포와 결합하는 것을 차단하기 위한 이들 분자의 용도를 제공한다.

[0360] 일부 실시양태에서, 이들 분자는 ADCC 또는 CDC 메커니즘을 통해 암 세포의 파괴를 유발한다. 일부 실시양태에서, 이들 분자는 향상된 ADCC 활성을 갖도록 조작된다. 일부 실시양태에서, 이들 분자는 향상된 CDC 활성을 갖도록 조작된다. 예를 들어, 이들 분자는 Fc 수용체를 보유하는 킬러 세포와의 향상된 상호 작용을 갖도록 조작될 수 있다. 조작된 항체 또는 Fc-융합 단백질을 포함하여 이러한 조작된 분자를 생산하는 방법은 본원에 기술되어 있고 또한 당업계에 공지되어 있다.

[0361] 또 다른 양태에서, 본원은 세포를, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자의 유효량과 접촉시키는 단계를 포함하여, 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법에 내성인 암 세포의 증식을 사멸 또는 억제하는 방법을 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다.

[0362] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자의 용도를 제공하며, 분자는 BTN1A1을 과발현하는 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하기 위해 항-BTN1A1 항체 및 항-BTN1A1 리간드 항체를 포함하는 BTN1A1 리간드의 BTN1A1에 대한 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 대상체에서 BTN1A1의 발현 수준은 기준 수준보다 높다. 기준 수준은 건강한 개체 집단에서 BTN1A1의 평균 또는 중간 발현 수준일 수 있다. 기준 수준은 또한 샘플 집단의 발현 수준의 통계 분석에 의해 결정될 수 있다.

[0363] 또 다른 양태에서, 본원은 대상체에 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에게 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암을 치료하는 방법을 제공하며, 분자는 BTN1A1 리간드와 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다.

[0364] 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 암을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-1 요법 내성 암을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-L1 요법 내성 암을 갖는다.

[0365] 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 불응성 암을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-1 요법 불응성 암을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-L1 요법 불응성 암을 갖는다.

[0366] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법은 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 또는 항체 단편, 또는 가용성 PD-1 또는 PD-L1 리간드, 또는 이의 Fc-융합 단백질 (예컨대, AMP-224, PD-L2 Fc 융합 가용성 수용체)을 포함한다.

[0367] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 니볼루맙 (Opdivo), 펨브롤리주맙 (Keytruda®), 피딜리주맙, AMP-514 또는 AMP-224를 포함한다.

[0368] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 국제특허출원 PCT/US2016/64394호에 제공된 항-PD-1 항체를 포함한다.

[0369] 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C 또는 MDX-1105를 포함한다.

[0370] 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 WO 2016/160792 A1호로 공개된 국제특허출원 PCT/US2016/024691호 및 국제특허출원 PCT/US2017/024027호에 제공된 항체를 포함한다.

[0371] 일부 실시양태에서, 대상체는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자로 처리하기 전에 본래의 치료 (예컨대, 대상체는 임의의 항암 치료를 받지 않은 것)이다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자를 이용한 치료 (예컨대, 화학 요법, 방사선 요법, 수술 또는 다른 표적화된 항암 약물, 예컨대, Herceptin® (트라스투주맙)을 이용한 치료) 이전에, 대상체는 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 이외의 하나 이상의 항암 치료를 받았다. 일부 실시양태에서, 대상체는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자를 이용한 치료 전에 하나 이상의 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 받았다.

[0372] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암은 폐암 또는 유방암이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암은 폐암이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요

법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암은 유방암이다. 일부 실시양태에서, 폐암은 루이스 폐 암종이다. 일부 실시양태에서, 유방암은 유선 암종이다.

[0373] 일부 실시양태에서, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자는 비경구 투여된다. 일부 실시양태에서, 분자는 항-BTN1A1 이량체 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0374] 일부 실시양태에서, 치료는 하나 이상의 치료적 효과, 예컨대, 종양 크기의 감소, 시간 경과에 따른 전이성 병변의 수 감소, 완전한 반응, 부분 반응 또는 안정한 질환을 생산한다.

[0375] 또 다른 양태에서, 본원은 다음을 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다: (i) 암을 갖는 대상체로부터 암 세포를 포함하는 샘플을 수득하는 단계; (ii) 샘플 중 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)의 수준을 결정하는 단계; (iii) 샘플 중 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)의 수준이 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 기준 수준 이상인 경우, 대상체를 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응할 가능성이 있는 것으로 진단하는 단계; 및 (iv) BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자의 치료적 유효량을 대상체에 투여는 단계이되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있는 단계.

[0376] 또 다른 양태에서, 본원은 다음을 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다: (i) 암을 갖는 대상체로부터 암 세포를 포함하는 샘플을 수득하는 단계; (ii) 샘플 중 PD-L1의 수준을 결정하는 단계; (iii) 샘플 중 PD-L1의 수준이 PD-L1 기준 수준 이하인 경우, 대상체를 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응성인 것으로 진단하는 단계이되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있는, 단계; 및 (iv) BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자의 치료적 유효량을 대상체에 투여하는 단계.

[0377] 또 다른 양태에서, 본원은 다음을 포함하는 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암을 치료하는 방법을 제공한다: (i) 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암을 갖는 대상체로부터 암 세포를 포함하는 샘플을 수득하는 단계; (ii) 샘플 중 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)의 수준을 결정하는 단계; (iii) BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준이 BTN1A1 기준 수준 이상인 경우, 대상체를 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응성인 것으로 대상체를 진단하는 단계이되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있는, 단계; 및 (iv) BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자의 치료적 유효량을 대상체에 투여하는 단계.

[0378] 또 다른 양태에서, 본원은 다음을 포함하는 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암을 치료하는 방법을 제공한다: (i) 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암을 갖는 대상체로부터 암 세포를 포함하는 샘플을 수득하는 단계; (ii) 샘플 중 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 및/또는 PD-L1의 수준을 결정하는 단계; (iii) 샘플 중 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준이 BTN1A1 또는 BTN1A1 기준 수준 이상인 경우 및/또는 샘플 중 PD-L1의 수준이 PD-L1 기준 수준 이하인 경우, 대상체를 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응성인 것으로 진단하는 단계이되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있는, 단계; 및 (iv) BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자의 치료적 유효량을 대상체에 투여하는 단계.

[0379] 또 다른 양태에서, 본원은 다음을 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다: (i) 암을 갖는 대상체로부터 암 세포를 포함하는 샘플을 수득하는 단계; (ii) 샘플 중 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 및/또는 PD-L1의 수준을 결정하는 단계; (iii) 샘플 중 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준이 BTN1A1 기준 수준 이상인 경우 및/또는 샘플 중 PD-L1의 수준이 PD-L1 기준 수준 이하인 경우, 대상체를 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응성인 것으로 진단하는 단계이되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있는, 단계; 및 (iv) BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자의 치료적 유효량을 대상체에 투여하는 단계.

[0380] 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 암을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-1 요

법 내성 암을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-L1 요법 내성 암을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 불응성 암을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-1 요법 불응성 암을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-L1 요법 불응성 암을 갖는다.

[0381] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암은 폐암 또는 유방암이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암은 폐암이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암은 유방암이다. 일부 실시양태에서, 폐암은 루이스 폐 암종이다. 일부 실시양태에서, 유방암은 유선 암종이다.

[0382] 일부 실시양태에서, 대상체는 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법에 적어도 부분적으로 반응성인 암을 갖는다.

[0383] 일부 실시 양태에서, BTN1A1은 암에서 발현되고, 일부 실시양태에서, BTN1A1 발현 암은 예컨대, 유방암, 신경내분비 전립선 암 (NEPC), 미만성 거대 B세포 림프종, 흑색종, 국립 암 연구소 암 패널 (NCI 60)로부터의 암, 포도막 흑색종, 췌장암, 난소암, 자궁암, 폐 선암종, 결합조직성 소원형세포종양(desmoplastic small-round-cell tumor), 방광암, 결장 직장암, 폐 편평 세포 암종, 간암, 폐암, 위암, 담관암종, 식도 편평 세포 암종, 두경부암, 육종, 전립선 암, 간암, 췌장암, 갈색세포종 또는 부신경절종 (PCPG), 자궁 경부암, 신경교종 또는 급성 골수성 백혈병 (AML)을 포함한다.

[0384] 일부 실시양태에서, 방법은 샘플 중 BTN1A1 또는 BTN1A1의 수준을 결정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 샘플 중 PD-L1의 수준을 결정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 샘플 중 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 및 PD-L1의 수준을 결정하는 단계를 포함한다.

[0385] 일부 실시양태에서, 샘플 중 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)의 수준이 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 기준 수준 이상인 경우, 대상체를 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응할 가능성이 있는 것으로 진단하되, 분자는 BTN1A1 리간드와 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 샘플 중 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준이 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 기준 수준보다 높은 경우, 대상체를 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응성인 것으로 진단한다.

[0386] 일부 실시양태에서, 샘플 중 PD-L1의 수준이 PD-L1 기준 수준 이하인 경우, 대상체를 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응할 가능성이 있는 것으로 진단하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 샘플 중 PD-L1의 수준이 PD-L1 기준 수준보다 낮은 경우, 대상체를 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응성인 것으로 진단한다.

[0387] 일부 실시양태에서, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준이 BTN1A1 기준 수준 이상인 경우, 및 PD-L1의 수준이 PD-L1 기준 수준 이하인 경우, 대상체를 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응성인 것으로 진단하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있음다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)의 수준이 BTN1A1 기준 수준 이상인 경우, 및 PD-L1의 수준이 PD-L1 기준 수준보다 낮은 경우, 대상체를 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응할 가능성이 있는 것으로 진단하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준이 BTN1A1 또는 BTN1A1 기준 수준보다 높은 경우, 및 PD-L1의 수준이 PD-L1 기준 수준보다 낮은 경우, 대상체를 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응할 가능성이 있는 것으로 진단하되, 분자는 BTN1A1 리간드와 BTN1A1의 결합을 억제할 수 있음다.

[0388] 샘플은 대상체로부터의 임의의 고체 또는 액체 샘플일 수 있다.

[0389] 일부 실시양태에서, 샘플은 액체 생검 샘플이다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 방법에 사용된 샘플은 대상체로부터의 체액을 포함한다. 체액의 비제한적 예는 혈액 (예컨대, 전혈), 혈장, 양수, 안방수, 담즙, 세럼, 소의 체액, 사정전 체액, 암죽, 유미즙, 암컷 사정, 간질액, 림프액, 월경, 모유, 점액, 흉막액, 고름, 타액, 피지, 정액, 혈청, 땀, 눈물, 소변, 질 윤활액, 구토, 물, 대변, 체내 체액 (뇌와 척수를 둘러싼 뇌척수액 포함), 활액, 세포 내액 (세포 내부 액) 및 유리체액 (안구 내액)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 샘플은 혈액 샘플이다. 혈액 샘플은 예컨대, Innis et al, eds., PCR Protocols (Academic Press, 1990)에 기술된 바와 같은 통상적인 기술을 사용하여 얻을 수 있다. 백혈구 세포는 통상적인 기술 또는 상업적으로 이용 가능한 키트, 예컨대,

RosetteSep 키트 (Stein Cell Technologies, Vancouver, Canada)를 사용하여 혈액 샘플로부터 분리될 수 있다. 백혈구, 예컨대, 단핵 세포, B 세포, T 세포, 단핵구, 과립구 또는 림프구의 하위 집단은 통상적인 기술, 예컨대, 자기 활성화 세포 분류 (MACS) (Miltenyi Biotec, Auburn, California) 또는 형광 활성화 세포 분류 (FACS) (Becton Dickinson, San Jose, California)를 사용하여 추가로 단리될 수 있다.

[0390] 일부 실시양태에서, 샘플은 고체 생검 샘플이다. 일부 실시양태에서, 본 방법에 사용된 샘플은 생검 (예컨대, 종양 생검)을 포함한다. 생검은 임의의 기관 또는 조직, 예를 들어, 피부, 간, 폐, 심장, 결장, 신장, 골수, 치아, 림프절, 모발, 비장, 뇌, 유방 또는 다른 기관으로부터 유래될 수 있다. 당업자에게 공지된 임의의 생검 기술은 대상체로부터의 샘플, 예를 들어,개방 생검, 근접 생검, 코어 생검, 절개 생검, 절제 생검 또는 미세 바늘 흡인 생검을 단리하기 위해 사용될 수 있다.

[0391] 일부 실시양태에서, 샘플은 파라핀 임베딩 포름알데히드 고정된 조직 샘플이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 조직 슬라이스(slice)이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 조직 어레이 상에 제공된다.

[0392] 일부 실시양태에서, 바이오마커의 수준은 바이오마커의 단백질 수준을 결정함으로써 측정된다.

[0393] 샘플 중의 BTN1A1, BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 또는 PD-L1의 수준은 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 분석될 수 있다. 예컨대, 섹션 5.7 (컴패니언 진단)을 참고. 일부 실시양태에서, 샘플 중 BTN1A1, BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 또는 PD-L1의 수준을 결정하는 단계는 BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1 핵산 또는 BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1 단백질의 수준을 분석하는 단계를 포함할 수 있다. BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1 핵산 수준은 예컨대, 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR) 방법 (예컨대, RT-PCR 또는 Q-PCR), 핵산 어레이 기반 방법 (예컨대, genchip), 또는 핵산 시퀀싱 방법, 예컨대, 차세대 시퀀싱 방법을 사용하여 분석될 수 있다. BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1 단백질 수준은 예컨대, 웨스턴-블랏, ELISA, FACS, 면역 조직화학법을 사용하여 결정될 수 있다. BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1 수준은 절대 정량적 용어 (예컨대, 조직 중량당 BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1 중량, 또는 조직 부피당 또는 액체 샘플 부피당 몰량)로 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1 수준은 상대적 또는 반-정량적 용어(예컨대, 조직 샘플의 상이한 영역에서 BTN1A1 또는 PD-L1 특이적 염색의 상대적 강도)로 결정된다. BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1 수준은 동일한 방법 또는 상이한 방법을 사용하여 독립적으로 측정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 상대적 BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1 수준은 형광 현미경법 또는 명시야 현미경법과 조합된 면역조직화학을 사용하여 고형 종양 샘플의 조직 슬라이스에서 결정된다.

[0394] 일부 실시양태에서, 샘플 중 BTN1A1, BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 및/또는 PD-L1의 수준을 결정하는 단계는 예컨대, FACS 검정 또는 면역세포화학을 사용을 사용하여 BTN1A1, BTN1A1 리간드 및/또는 PD-L1의 세포 표면 발현을 분석하는 단계를 포함한다.

[0395] 일부 실시양태에서, 치료는 하나 이상의 치료 효과, 예컨대, 종양 크기의 감소, 시간 경과에 따른 전이성 병변의 수 감소, 완전한 반응, 부분 반응 또는 안정한 질환을 생산한다.

[0396] 일부 실시양태에서, 기준은 대상체에 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자를 투여하기 전에 대상체로부터 수득된 대조군 샘플을 사용함으로써 제조되고, 대조군 샘플은 샘플과 동일한 공급원으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 기준은 암을 갖지 않는 건강한 대상체로부터 수득된 대조군 샘플을 사용함으로써 제조되고, 대조군 샘플은 샘플과 동일한 공급원으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 기준은 암을 갖지 않는 건강한 대상체 그룹으로부터 수득된 대조군 샘플을 사용함으로써 제조되고, 대조군 샘플은 샘플과 동일한 공급원으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 기준은 암을 갖는 제2 대상체로부터 수득된 대조군 샘플을 사용함으로써 제조되고, 대조군 샘플은 샘플과 동일한 공급원으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 기준은 암을 갖는 대상체 그룹으로부터 수득된 대조군 샘플을 사용함으로써 제조되고, 대조군 샘플은 샘플과 동일한 공급원으로부터 유래된다.

[0397] *5.4.1. 질환 및 질병*

[0398] 일부 실시양태에서, 본 발명은 IFN-γ와 같은 사이토카인의 증가된 생산을 매개하기 위한 항체 또는 다른 분자의 용도를 제공한다. 따라서, 본 발명은 난소 및 다른 형태의 암과 같은, 사이토카인으로 치료될 수 있는 질병 및 병태의 치료에서 그러한 항체 또는 다른 분자의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 증가된 T 세포 활성 또는 증식을 매개하는데 있어서 항체 및 다른 분자의 용도를 제공한다. 따라서, 일부 실시양태에서 암과 같은, T 세포 (예컨대, $CD8^+$ T-세포) 활성 또는 증식을 증가시킴으로써 치료가능한 질병 및 병태의 치료에서 그러한 항체 및 다른 분자의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 증가된 T 세포 활성 및 증가

된 T 세포 증식 둘 모두를 매개하기 위한 본원에 기술된 항체 또는 다른 분자의 용도를 제공한다.

[0399] 면역계의 상향조절은 암의 치료에서 특히 바람직하다. 부가적으로, BTN1A1은 암세포에서 특이적으로 고도로 발현된다. 본원에 기술된 분자는 암세포에 결합하고 직접적 세포독성에 의해 또는 ADCC 또는 CDC 기전을 통해 암세포의 파괴를 야기할 수 있다. 따라서, 본 발명은 암 치료 방법을 제공한다. 암은 세포의 비정상적인 비제어된 성장으로부터 야기되는 신생물 또는 종양을 말한다. 암은 원발성 암 또는 전이성 암일 수 있다.

[0400] 일부 실시양태에서, 본 발명은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제한다. 치료 방법이 유용할 수 있는 암은 고형 종양 또는 혈액암에서 발견되는 것과 같은, 임의의 악성 세포 타입을 포함한다. 예시적인 고형 종양은 췌장, 결장, 맹장, 식도, 위, 뇌, 머리, 목, 갑상선, 흉선, 난소, 신장, 후두, 육종, 폐, 방광, 흑색종, 전립선, 및 유방으로 이루어진 군으로부터 선택된 기관의 종양을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 예시적인 혈액암은 골수의 종양, T 또는 B 세포 악성종양, 백혈병, 림프종, 아세포종, 골수종 등을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 방법은 항 PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0401] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있으며, 암은 유방암, 신경 내분비 전립선 암(NEPC), 미만성 거대 B세포 림프종, 흑색종, 국립 암 연구소 암 패널 (NCI 60)로부터의 암, 포도막 흑색종, 췌장암, 난소암, 자궁암, 폐 선암종, 결합조직성 소원형세포종양, 방광암, 결장 직장암, 폐 편평 세포 암종, 간암, 폐암, 위암, 담관암종, 식도 편평 세포 암종, 두경부암, 육종, 전립선 암, 간암, 췌장암, 갈색세포종 또는 부신경절종 (PCPG), 자궁 경부암, 신경교종 또는 급성 골수성 백혈병 (AML)일 수 있다. 암 치료에 사용되는 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 임의의 분자일 수 있으며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)보다 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215, N449 또는 이들의 임의의 조합에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다.

[0402] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있고, 암은 폐 편평 암종, 전립선 선암종, 췌장 선암종 또는 간세포 암종일 수 있다. 폐 편평 암종, 전립선 샘암종, 췌장 선암종 또는 간세포 암종을 치료하는 데 사용되는 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 임의의 분자일 수 있으며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)보다 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215, N449 또는 이들의 임의의 조합에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다.

[0403] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있으며, 암은 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암이다. 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암의 치료에 사용되는 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 임의의 분자일 수 있으며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)보다 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215, N449 또는 이들의 임의의 조합에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 암은 항-PD-1 요법 내성 또는 불응성 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법 내성 또는 불응성 암은 유방암 또는 폐암이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법 내성 또는 불응성 암은 유선 암종 또는 루이스 폐 암종이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법 내

성 또는 불응성 암은 유선 암종이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법 내성 또는 불응성 암은 루이스 폐 암종이다.

[0404] 본원에 제공된 방법을 이용하여 치료될 수 있는 암의 추가의 예는 암종, 림프종, 아세포종, 육종, 백혈병, 편평세포암, 폐암(소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐선암 및 폐의 편평암종, 중피종 포함), 복막의 암, 간세포암, 위암(위장암 및 위장관 기질 암 포함), 식도암, 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 유방암, 결장암, 대장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 침샘 암종, 신장암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 다양한 타입의 두경부암, 흑색종, 표재 확산 흑색종, 흑색점 악성 흑색종(lentigo malignant melanoma), 말단 흑자 흑색종(acral lentiginous melanomas), 결절성 흑색종, 포도막 흑색종,배세포종(난황난 종양, 고환암, 융모암), 및 B-세포 림프종(저 등급/여포성 비호지킨 림프종(NHL); 소형 림프구성(SL) NHL; 중 등급/여포성 NHL; 중 등급 미만성 NHL; 고 등급 면역모세포 NHL; 고 등급 림프아구 NHL; 고 등급 작은 비절개 세포(small non-cleaved cell) NHL; 거대 종양(bulky disease) NHL; 외투세포 림프종; AIDS-관련 림프종; 및 발덴스트롬 마크로글로불린혈증(Waldenstrom's macroglobulinemia) 포함), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 모양 세포 백혈병, 다발성 골수종, 급성 골수성 백혈병(AML) 및 만성 골수아구성 백혈병을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0405] 암은 또한 하기의 조직학적 타입 중 임의의 것일 수 있다: 악성 신생물; 암종; 미분화 암종; 거대 및 방추 세포 암종; 소세포 암종; 유두모양 암종; 편평 세포 암종; 림프상피(lymphoepithelial) 암종; 기저 세포 암종; 섬모기질(pilomatrix) 암종; 이행상피(transitional cell) 암종; 유두모양 이행상피 암종; 선암종; 악성 가스트린종; 담관암; 간세포 암종; 결합된 간세포 암종과 담관암; 육주상 선암종(trabecular adenocarcinoma); 샘낭암종; 선종 폴립에서의 선암종; 선암종, 가족성 대장 폴립증; 고형 암종; 악성 유암종(carcinoid tumor, malignant); 세기관지-폐포(branchiolo-alveolar) 선암종; 유두모양 선암종; 색소혐성(chromophobe) 암종; 호산성(acidophil) 암종; 호산세포(oxyphilic) 선암종; 호염기성세포(basophil) 암종; 투명 세포 선암종; 과립세포 암종; 여포성 선암종; 유두모양 및 여포성 선암종; 비캡슐화 경화성 암종(nonencapsulating sclerosing carcinoma); 부신 피질 암종; 자궁내막양 난소암; 피부 부속기 암종; 아포크린 선암종; 피지샘 선암종; 이구선선암종; 점액표피모양 암종; 낭선암종; 유두모양 낭선암종; 유두모양 장액성 낭선암종; 점액 낭선암종; 점액 선암종; 반지세포 암종; 침윤성 관 암종; 수질 암종; 소엽암; 염증성 암종; 유방 파제트병(paget's disease, mammary); 샘꽈리세포 암종; 선편평세포 암종; 편평상피화생을 갖는 선암종; 악성 흉선종; 악성 난소 기질종양; 악성 난포막종(thecoma, malignant); 악성 과립막세포 종양; 악성 남성세포종; 세르톨리 세포 암종; 악성 간질 세포 종양; 악성 지질 세포 종양; 악성 부신경절종; 악성 유방외 부신경절종(extra-mammary paraganglioma, malignant); 갈색세포종; 사구맥관육종(glomangiosarcoma); 악성 흑색종; 무멜라닌 흑색종(amelanotic melanoma); 표재 확산 흑색종; 거대 색소 모반에서의 악성 흑색종; 유상피세포 흑색종; 악성 청색모반; 육종; 섬유육종; 악성 섬유성 조직구증; 점액육종; 지방육종; 평활근육종; 횡문근육종;배아형 횡문근육종; 포상횡문근육종; 기질 육종; 악성 혼합종양; 뮬러관 혼합 종양(mullerian mixed tumor); 신아세포종; 간아세포종; 암육종; 악성 중간엽종; 악성 브레너 종양(brenner tumor, malignant); 악성 엽상 종양; 활막육종; 악성 중피종; 미분화배세포종; 태생기 암종; 악성 기형종; 악성 난소갑상선종(struma ovarii, malignant); 융모막 암종; 악성 중신종; 혈관육종; 악성 혈관내피종; 카포시 육종; 악성 혈관주위세포종; 림프관육종; 골육종; 측피질 골육종(juxtacortical osteosarcoma); 연골육종; 악성 연골아세포종; 중간엽 연골육종; 골거대세포종양; 유잉 육종; 악성 치원성 종양; 법랑아세포 치원성육종(ameloblastic odontosarcoma); 악성 사기질모세포종; 사기질모세포 섬유육종; 악성 송과체종양; 척삭종; 악성 신경교종; 상의세포종; 성상세포종; 원형질성 성상세포종(protoplasmic astrocytoma); 원섬유성 성상세포종; 성아세포종; 교모세포종; 핍지교종; 희소돌기아교모세포종(oligodendroblastoma); 원시 신경외배엽 종양(primitive neuroectodermal); 소뇌 육종(cerebellar sarcoma); 신경절아세포종; 신경아세포종; 망막아세포종; 후각 신경성 종양(olfactory neurogenic tumor); 악성 뇌수막종; 신경섬유육종; 악성 신경초종; 악성 과립 세포 종양; 악성 림프종; 호지킨병; 호지킨스(hodgkin's); 파라육아종; 악성 림프종, 소형 림프구성; 악성 림프종, 거대 세포, 미만성(malignant lymphoma, large cell, diffuse); 악성 림프종, 여포성; 균상식육종; 기타 명시된 비호지킨 림프종; 악성 조직구증; 다발성 골수종; 비만 세포 육종; 면역증식성 작은 창자 질병(immunoproliferative small intestinal disease); 백혈병; 림프구성 백혈병; 형질구성 백혈병; 적백혈병; 림프육종 세포 백혈병; 골수성 백혈병; 호염기구성 백혈병; 호산구성 백혈병; 단핵구성 백혈병; 비만 세포 백혈병; 거대핵세포성 백혈병(megakaryoblastic leukemia);골수성 육종(myeloid sarcoma); 및 모양 세포 백혈병.

[0406] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하

되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있으며, 암은 폐암, 전립선 암, 췌장암, 난소 암, 간암, 두경부암, 유방암 또는 위암이다. 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있으며, 암은 폐암일 수 있다. 폐암은 비소세포 폐암 (NSCLC)일 수 있다. 폐암은 소세포 폐암 (SCLC)일 수 있다. NSCLC는 편평한 NSCLC일 수 있다. 폐암 치료에 사용되는 분자는 BTN1A1 또는 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 임의의 분자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215, N449 또는 이들의 임의의 조합에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0407] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있으며, 암은 전립선 암일 수 있다. 전립선 암 치료에 사용되는 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 임의의 분자일 수 있으며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)보다 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215, N449 또는 이들의 임의의 조합에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0408] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1리간드의 결합을 억제할 수 있으며, 암은 췌장암일 수 있다. 췌장암 치료에 사용되는 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 임의의 분자일 수 있으며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)보다 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0409] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있으며, 암은 난소암일 수 있다. 난소암 치료에 사용되는 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 임의의 분자일 수 있으며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)보다 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215, N449 또는 이들의 임의의 조합에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0410] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기재된 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제하며, 암은 간암일 수 있다. 간암 치료에 사용되는 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 임의의 분자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)보다 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215, N449 또는 이들의 임의의 조합에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하

는 단계를 추가로 포함한다.

[0411] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제하며, 암은 두경부암일 수 있다. 두경부암 치료에 사용되는 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 임의의 분자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)보다 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215, N449 또는 이들의 임의의 조합에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0412] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제하며, 암이 유방암일 수 있다. 유방암 치료에 사용되는 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 임의의 분자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)보다 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215, N449 또는 이들의 임의의 조합에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0413] 일부 실시양태에서, 본원은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 투여함으로써 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하되, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제하며, 암은 위암일 수 있다. 위암 치료에 사용되는 분자는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 임의의 분자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 비-글리코실화된 BTN1A1보다 글리코실화된 BTN1A1에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 단량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 단량체)보다 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 위치 N55, N215, N449 또는 이들의 임의의 조합에서 BTN1A1 글리코실화를 면역특이적으로 마스킹한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0414] *5.4.2. 투여 방법*

[0415] 본 발명은 또한 본원에 제공된 항체 또는 분자의 치료적 유효량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여함으로써 항종양제로서 항-BTN1A1 항체, 항-BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 항체, 또는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자를 이용하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 환자는 암환자이다.

[0416] 리포좀 내에 캡슐화, 마이크로입자, 마이크로캡슐, 항체 또는 융합 단백질을 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체-매개 엔도사이토시스(예컨대, Wu and Wu, 1987, *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432 참고), 레트로바이러스 또는 기타 벡터의 일부로서 핵산의 제작 등과 같은 다양한 전달 시스템이 또한 알려져 있으며, 항-BTN1A1 항체, 항-BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 항체, 또는BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자, 또는 관련된 약학 조성물을 투여하기 위하여 사용될 수 있다.

[0417] 본원에 제공된 투여 방법은 비경구 투여(예컨대, 피부내, 근육내, 복강내, 정맥내 및 피하), 경막외, 및 점막(예컨대, 비내 및 구강 경로)에 의한, 주사를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체, 다른 분자 또는 약학 조성물은 근육내로, 정맥내로, 피하로, 정맥내로, 복강내로, 경구로, 근육내로, 피하로, 강내(intracavity), 경피로, 또는 진피로 투여된다. 조성물은 임의의 편리한 경로에 의해, 예를 들어, 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 점막피부 내벽(mucocutaneous lining)(예컨대, 구강 점막, 직장 및 장 점막, 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있으며, 다른 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신성이거나 국소적일 수 있다. 또한, 폐 투여 또한 예를 들어, 흡입기 또는 네뷸라이저의 이용에 의해 그리고

에어로졸화 작용제를 이용한 제형의 이용에 의해 이용될 수 있다. 예를 들어, 미국특허 제6,019,968호; 제5,985,20호; 제5,985,309호; 제5,934,272호; 제5,874,064호; 제5,855,913호; 제5,290,540호; 및 제4,880,078호; 및 PCT 공개공보 WO 92/19244호; WO 97/32572호; WO 97/44013호; WO 98/31346호; 및 WO 99/66903호를 참고하며; 이들 모두는 그 전체가 참고로 본원에 원용된다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체, 다른 분자 또는 약학 조성물은 치료를 필요로 하는 영역에 국소적으로 투여되며, 이는 예를 들어, 국소 주입에 의해, 주사에 의해, 또는 임플란트에 의해 이루어질 수 있으며, 상기 임플란트는 실라스틱 막(sialastic membrane)과 같은 막 또는 섬유를 비롯한, 다공성, 비다공성 또는 젤라틴성 물질이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 항체 또는 다른 분자를 투여할 경우, 항체 또는 다른 분자가 흡수하지 않는 물질을 이용하도록 주의한다.

[0418] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 인간화 또는 키메라 항체는 표적화된 전달을 위하여 리포좀으로 제형화된다. 리포좀은 수성상을 캡슐에 넣는 동심원으로 정돈된 인지질 이중층으로 이루어진 소낭이다. 리포좀은 전형적으로 다양한 타입의 지질, 인지질 및/또는 계면활성제를 갖는다. 리포좀의 구성성분은 생물막의 지질 배열과 유사한 이중층 형태로 배열된다. 리포좀은 부분적으로는 그들의 생체적합성, 낮은 면역원성 및 낮은 독성으로 인해 유용한 전달 비히클일 수 있다. 리포좀의 제조 방법은 본 기술분야에 알려져 있으며 본 발명에서 제공되며, 예를 들어, Epstein *et al.*, 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 82: 3688; Hwang *et al.*, 1980 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 77: 4030-4; 미국특허 제4,485,045호 및 제4,544,545호를 참고하며; 이들 모두는 그 전체가 참고로 본원에 원용된다.

[0419] 본 발명은 또한 미국특허 제5,013,556호에 개시된 것과 같은, 연장된 혈청 반감기, 즉, 향상된 순환 시간을 갖는 리포좀의 제조 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 방법에서 사용되는 리포좀은 순환계로부터 빠르게 제거되지 않으며, 즉, 단핵 식세포계(MPS)내로 섭취되지 않는다. 본 발명은 또한 당업자에게 알려진 일반적 방법을 이용하여 제조되는 입체적으로 안정된 리포좀을 제공한다. 입체적으로 안정된 리포좀은 부피가 크고 매우 가요성인 친수성 모이어티를 갖는 지질 성분을 함유할 수 있으며, 이것은 혈청 단백질과의 리포좀의 원치않는 반응을 감소시키고, 혈청 성분과의 옵소닌화를 감소시키고 MPS에 의한 인지를 감소시킨다. 입체적으로 안정된 리포좀은 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 제조될 수 있다. 리포좀 및 입체적으로 안정된 리포좀의 제조를 위하여, 예를 들어, Bendas *et al.*, 2001 *BioDrugs,* 15(4): 215-224; Allen *et al.*, 1987 *FEBS Lett.* 223: 42-6; Klibanov *et al.*, 1990 *FEBS Lett.,* 268: 235-7; Blum *et al.*, 1990, *Biochim. Biophys. Acta.,* 1029: 91-7; Torchilin *et al.*, 1996, *J. Liposome Res.* 6: 99-116; Litzinger *et al.*, 1994, *Biochim. Biophys. Acta,* 1190: 99-107; Maruyama *et al.*, 1991, *Chem. Pharm. Bull.,* 39: 1620-2; Klibanov *et al.*, 1991, *Biochim Biophys Acta,* 1062; 142-8; Allen *et al.*, 1994, *Adv. Drug Deliv. Rev,* 13: 285-309를 참고하며, 이들은 그 전체가 참고로 본원에 원용된다.

[0420] 본 발명은 또한 예를 들어, 미국특허 제4,544,545호를 참고하는 특정 기관 표적화를 위해, 또는 예를 들어, 미국특허 출원 공개공보 제2005/0074403호를 참고하는 특정 세포 표적화를 위해, 적응된 리포좀을 제공하며, 이들은 그 전체가 참고로 본원에 원용된다. 본원에 제공된 조성물과 방법에서 사용하기 위해 특히 유용한 리포좀은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG 유도체화된 포스파티딜에탄올아민(PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물을 이용한 역상 증발 방법에 의해 생성될 수 있다. 리포좀은 한정된 기공 크기의 필터를 통해 압출되어 원하는 직경을 갖는 리포좀을 생산할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편을 갖는 분자, 예를 들어, F(ab′)는 이전에 개시된 방법을 이용하여 리포좀에 접합될 수 있으며, 예를 들어, Martin *et al.*, 1982, *J. Biol. Chem.* 257: 286-288을 참고하며, 이것은 그 전체가 참고로 본원에 원용된다.

[0421] 본원에 기술된 인간화 또는 키메라 항체는 또한 면역리포좀으로서 제형화될 수 있다. 면역리포좀은 항체 또는 그의 단편이 공유적으로 또는 비공유적으로 리포좀 표면에 연결되는 리포좀 조성물을 말한다. 리포좀 표면에의 항체의 연결 화학은 본 기술분야에 알려져 있으며, 예를 들어, 미국특허 제6,787,153호; Allen *et al.*, 1995, *Stealth Liposomes, Boca Rotan:* CRC Press, 233-44; Hansen *et al.*, 1995, *Biochim. Biophys. Acta,* 1239: 133-144를 참고하며, 이들은 그 전체가 참고로 본원에 원용된다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 방법과 조성물에서 사용하기 위한 면역리포좀은 추가로 입체적으로 안정화된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 인간화된 항체는 리포좀의 지질 이중층내에 안정하게 뿌리내린 소수성 앵커에 공유적으로 또는 비공유적으로 연결된다. 소수성 앵커의 예는 인지질, 예를 들어, 포스파티딜에탄올아민(PE), 포스파티딜이노시톨(PI)을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 항체와 소수성 앵커 사이의 공유적 연결을 이루기 위하여, 본 기술분야에 알려진 임의의 생화학적 전략이 이용될 수 있으며, 예를 들어, J. Thomas August ed., 1997, Gene Therapy: Advances in Pharmacology, Volume 40, Academic Press, San Diego, Calif., p. 399-435를 참고하며, 이것은 그 전체가 참

고로 본원에 원용된다. 예를 들어, 항체 분자 상의 작용기는 리포좀 연합된 소수성 앵커 상의 활성 기와 반응할 수 있으며, 예를 들어, 항체 상의 리신 측쇄의 아미노기는 수용성 카르보디이미드로 활성화된, 리포좀 연합된 N-글루타릴-포스파티딜에탄올아민에 결합될 수 있거나; 또는 환원된 항체의 티올기는 피리딜티오프로피오닐포스파티딜에탄올아민과 같은 티올 반응성 앵커를 통해 리포좀에 결합될 수 있다. 예를 들어, Dietrich *et al.*, 1996, *Biochemistry,* 35: 1100-1105; Loughrey *et al.*, 1987, *Biochim. Biophys. Acta,* 901: 157-160; Martin *et al.*, 1982, *J. Biol. Chem.* 257: 286-288; Martin *et al.*, 1981, *Biochemistry,* 20: 4429-38을 참고하며, 이들은 그 전체가 참고로 본원에 원용된다. BTN1A1 또는 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 항-BTN1A1 항체 또는 다른 분자를 갖는 면역리포좀 제형은, 그들이 타겟 세포, 즉, 항체가 결합하는 수용체를 포함하는 세포의 세포질에 활성 성분을 전달하기 때문에, 치료제로서 특히 효과적일 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역리포좀은 혈액, 특히 타겟 세포에서 증가된 반감기를 가질 수 있으며, 타겟 세포의 세포질내로 내부화되어, 치료제의 상실 또는 엔도리소좀 경로에 의한 분해를 피할 수 있다.

[0422] 본원에 제공된 면역리포좀 조성물은 하나 이상의 소낭 형성 지질, 본 발명의 항체 또는 다른 분자 또는 그의 단편 또는 유도체, 및 선택적으로, 친수성 중합체를 가질 수 있다. 소낭 형성 지질은 두개의 탄화수소 쇄, 예를 들어, 아실 쇄 및 극성 헤드기를 갖는 지질일 수 있다. 소낭 형성 지질의 예는 인지질, 예를 들어, 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티드산, 포스파티딜이노시톨, 스핑고미엘린 및 당지질, 예를 들어, 세레브로사이드, 강글리오사이드를 포함한다. 본원에 제공된 제형에서 유용한 부가적인 지질은 당업자에게 알려져 있으며 본원 내에 포함된다. 일부 실시양태에서, 면역리포좀 조성물은 추가로 친수성 중합체, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜, 및 강글리오사이드 GM1을 포함하며, 이것은 리포좀의 혈청 반감기를 증가시킨다. 친수성 중합체를 리포좀에 접합하는 방법은 본 기술분야에 잘 알려져 있으며 본원에 포함된다. 부가적인 예시적인 면역리포좀 및 그들의 제조 방법은 예를 들어, 미국특허 출원 공개공보 제2003/0044407호; PCT 국제 공개 WO 97/38731호, Vingerhoeads *et al.*, 1994, *Immunomethods,* 4: 259-72; Maruyama, 2000, *Biol. Pharm. Bull.* 23(7): 791-799; Abra *et al.*, 2002, *Journal of Liposome Research,* 12(1&2): 1-3; Park, 2002, *Bioscience Reports,* 22(2): 267-281; Bendas *et al.*, 2001 *BioDrugs,* 14(4): 215-224, J. Thomas August ed., 1997, Gene Therapy: Advances in Pharmacology, Volume 40, Academic Press, San Diego, Calif., p. 399-435에서 찾을 수 있으며; 이들 모두는 그 전체가 참고로 본원에 원용된다.

[0423] 본 발명은 또한 항-BTN1A1 항체, 항-BTN1A1 항체, 또는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자를 환자에게 단위 용량을 투여함으로써 암환자를 치료하는 방법을 제공한다. 단위 용량은 대상체를 위한 단위 투여량으로서 적합한 물리적으로 구별되는 단위를 말하며, 각 단위는 요구되는 희석제, 즉, 담체 또는 비히클과 연합되어 원하는 치료 효과를 생산하기 위해 계산된 활성 물질의 소정의 양을 함유한다.

[0424] 항체, 분자 또는 조성물은 투약 제형과 양립가능한 방식으로 그리고 치료적 유효량으로 투여된다. 투여될 양은 치료될 대상체, 대상체의 시스템이 활성 성분을 이용하는 능력, 및 원하는 치료 효과의 정도에 의존한다. 투여되도록 요구되는 활성 성분의 정확한 양은 실무자의 판단에 의존하며 각개인 대상체에 특유하다. 하지만, 전신성 적용을 위해 적합한 투여량 범위는 본원에 기술되며 투여 경로에 의존한다. 초기 및 부스터 투여를 위해 적합한 치료 계획이 또한 고려되며 전형적으로 초기 투여 후 후속 주사 또는 다른 투여에 의한 한 시간 이상 간격의 반복 투약에 의해서를 포함한다. 예시적인 다중 투여는 본원에 기술되며 폴리펩티드 또는 항체의 연속적으로 높은 혈청 및 조직 수준을 유지하기 위하여 유용하다. 대안적으로, 인 비보 치료법을 위해 명시된 범위 내에서 혈액내 농도를 유지하기에 충분한 연속적 정맥내 주입이 고려된다.

[0425] 치료적 유효량은 원하는 효과를 이루기 위해 계산된 소정의 양이다. 일반적으로, 투여량은 환자의 연령, 병태, 성별 및 질병의 정도에 따라 변할 것이며 당업자가 결정할 수 있다. 투여량은 만약 합병증이 있으면 개별 의사에 의해 조정될 수 있다.

[0426] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체, 분자, 또는 약학 조성물은 앰플(ampoule) 또는 봉지와 같은 밀봉 용기에 포장된다. 일 실시양태에서, 본원에 제공된 항체, 분자 또는 약학 조성물은 밀봉 용기내의 건조 멸균 동결 분말 또는 무수 농축물로서 공급되며, 예를 들어, 대상체에게의 투여를 위해 적절한 농도로 물 또는 염수로 재구성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체, 분자, 또는 약학 조성물은 5mg 이상, 더욱 바람직하게는 10mg 이상, 15mg 이상, 25mg 이상, 35mg 이상, 45mg 이상, 50mg 이상, 또는 75mg 이상의 단위 투여량으로 밀봉 용기 내의 건조 멸균 동결 분말로서 공급된다. 본원에 제공된 동결건조된 항체, 분자, 또는 약학 조성물은 그들의 원래 용기에서 2 내지 8 ℃에서 저장되어야 하며 재구성된 후 12시간 이내, 바람직하게는 6시간 이내, 5시간 이내, 3시간 이내, 또는 1시간 이내에 투여되어야 한다. 대안적 실시양태에서, 본원에 제공된 항체, 분자,

또는 약학 조성물은 항체, 분자 또는 약학 조성물의 양과 농도를 표시하는 밀봉 용기 내의 액체 형태로 공급된다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체, 분자, 또는 약학 조성물의 액체 형태는 1mg/ml 이상, 더욱 바람직하게는 2.5mg/ml 이상, 5mg/ml 이상, 8mg/ml 이상, 10mg/ml 이상, 15mg/ml 이상, 25mg/ml 이상, 50mg/ml 이상, 100mg/ml 이상, 150mg/ml 이상, 200mg/ml 이상으로 밀봉 용기내에 공급된다.

[0427] 제형에서 이용될 정확한 용량은 또한 투여 경로 및 병태의 심각성에 의존할 것이며, 실무자의 판단 및 각 환자의 상황에 따라 결정되어야 한다. 유효 용량은 인 비트로 또는 동물 모델 시험 시스템으로부터 유도된 용량-반응 곡선으로부터 추정될 수 있다. 항-BTN1A1 항체, 항-BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA) 항체, 또는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자의 경우, 환자에게 투여되는 투여량은 전형적으로 0.01mg/kg 내지 100mg/kg 환자 체중이다. 일부 실시양태에서, 환자에게 투여되는 투여량은 0.01mg/kg 내지 20mg/kg, 0.01mg/kg 내지 10mg/kg, 0.01mg/kg 내지 5mg/kg, 0.01 내지 2mg/kg, 0.01 내지 1mg/kg, 0.01mg/kg 내지 0.75mg/kg, 0.01mg/kg 내지 0.5mg/kg, 0.01mg/kg 내지 0.25mg/kg, 0.01 내지 0.15mg/kg, 001 내지 0.10mg/kg, 0.01 내지 0.05mg/kg, 또는 0.01 내지 0.025mg/kg 환자 체중이다. 구체적으로, 환자에게 투여되는 투여량은 0.2mg/kg, 0.3mg/kg, 1mg/kg, 3mg/kg, 6mg/kg 또는 10mg/kg일 수 있다. 0.01mg/kg만큼 낮은 용량이 주목할만한 약력학적 효과를 보여주는 것으로 예상된다. 0.10-1mg/kg의 용량 수준이 가장 적절한 것으로 예상된다. 더 높은 용량(예컨대, 1-30mg/kg) 또한 활성일 것으로 예상될 수 있다. 일반적으로, 인간 항체는 외래 폴리펩티드에 대한 면역 반응으로 인해 다른 종으로부터의 항체보다 인간 신체내에서 더 긴 반감기를 갖는다. 따라서, 더 낮은 투여량의 인간 항체와 덜 빈번한 투여가 이루어질 수 있다. 또한, 본원에 제공된 항체 또는 다른 분자의 투여량 및 투여 빈도는 예를 들어, 지질화와 같은 변형에 의해 항체의 흡수와 조직 침투를 향상시킴으로써 감소될 수 있다.

[0428] 또 다른 실시양태에서, 조성물은 방출 제어(controlled release) 또는 서방성 시스템으로 전달될 수 있다. 당업자에게 알려진 임의의 기술을 이용하여 본원에 제공된 하나 이상의 항체, 분자 또는 약학 조성물을 갖는 서방성 제형을 생산할 수 있다. 예를 들어, 미국특허 제4,526,938호; PCT 공개공보 WO 91/05548호; PCT 공개공보 WO 96/20698호; Ning *et al.*, *Radiotherapy & Oncology* 39:179-189 (1996), Song *et al.*, *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 50:372-397 (1995); Cleek *et al.*, *Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* 24:853-854 (1997); 및 Lam *et al.*, *Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater.* 24:759-760(1997)를 참고하며; 이들 모두는 그 전체가 참고로 본원에 원용된다. 일 실시양태에서, 펌프가 방출 제어 시스템에서 사용될 수 있다(Langer, supra; Sefton, 1987, *CRC Crit. Ref Biomed. Eng.* 14:20; Buchwald *et al.*, 1980, *Surgery* 88:507; 및 Saudek *et al.*, 1989, *N. Engl. J. Med.* 321:574를 참고한다) 다른 실시양태에서, 중합체 물질이 항체의 방출 제어를 이루기 위해 사용될 수 있으며(예컨대, Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, 1983, *J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61; *see also* Levy *et al.*, 1985, *Science* 228:190; During *et al.*, 1989, *Ann. Neurol.* 25:351; Howard *et al.*, 1989, *J. Neurosurg.* 7 1:105) 참고); 미국특허 제5,679,377호; 미국특허 제5,916,597호; 미국특허 제5,912,015호; 미국특허 제5,989,463호; 미국특허 제5,128,326호; PCT 공개공보 WO 99/15154호; 및 PCT 공개공보 WO 99/20253호 참고); 이들 모두는 그 전체가 참고로 본원에 원용된다.

[0429] 서방성 제형에서 이용될 수 있는 중합체의 예는 폴리(-하이드록시 에틸 메타크릴레이트), 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(아크릴산), 폴리(에틸렌-코-비닐 아세테이트), 폴리(메타크릴산), 폴리글리콜리드(PLG), 폴리안하이드라이드, 폴리(N-비닐 피롤리돈), 폴리(비닐 알콜), 폴리아크릴아미드, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리락티드(PLA), 폴리(락티드-코-글리콜리드)(PLGA), 및 폴리오르토에스테르를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 또 다른 실시양태에서, 방출 제어 시스템은 치료 타겟(예컨대, 폐)의 근처에 위치되어, 전신적 용량의 일부만을 요구할 수 있다(예컨대, Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984) 참고). 다른 실시양태에서, 방출 제어 임플란트로서 유용한 중합성 조성물은 그 전체가 참고로 본원에 원용되는 Dunn *et al.*(미국특허 제5,945,155호 참고)에 따라 이용된다. 중합체 시스템으로부터 생체활성 물질의 인 시추 방출 제어의 치료 효과에 기반하여, 이식은 일반적으로 치료적 처리를 필요로 하는 환자의 신체 내의 어느 곳에서든 발생할 수 있다.

[0430] 다른 실시양태에서, 대상체의 신체 내의 비중합성 임플란트가 약물 전달 시스템으로서 이용되는 비중합성 지속 전달 시스템이 이용된다. 신체내로 이식시에, 임플란트의 유기 용매는 조성물로부터 주변 조직 유체 내로 흡어지거나, 분산되거나 침출될 것이며, 비중합성 물질은 점진적으로 응집하거나 침전하여 고형의 미세다공성 매트

릭스를 형성할 것이다(미국특허 제5,888,533호 참고) 방출 제어 시스템은 또한 Langer에 의한 리뷰에서 토의된다(1990, *Science* 249:1527-1533). 당업자에게 알려진 임의의 기술이 본원에 제공된 하나 이상의 치료제를 포함하는 서방성 제형을 생산하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 미국특허 제4,526,938호; 국제 공개공보 WO 91/05548호 및 WO 96/20698호; Ning *et al.*, 1996, *Radiotherapy & Oncology* 39:179-189; Song *et al.*, 1995, *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 50:372-397; Cleek *et al.*, 1997, *Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* 24:853-854; and Lam *et al.*, 1997, *Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater.* 24:759-760을 참고하며; 이들 모두는 그 전체가 참고로 본원에 원용된다.

[0431] 본 발명은 또한 조성물이 본원에 제공된 항체 또는 다른 분자를 인코딩하는 핵산을 갖는 실시양태를 제공하며, 이때 적절한 핵산 발현 벡터의 일부로서 핵산을 제작하고 예를 들어, 레트로바이러스 벡터의 사용에 의해(미국특허 제4,980,286호 참고), 또는 직접 주사에 의해, 또는 미세입자 충격(예컨대, 유전자총; 바이올리스틱(Biolistic), 듀퐁(Dupont)), 또는 지질 또는 세포-표면 수용체 또는 형질주입제로 코팅의 사용에 의해, 핵산이 세포내가 되도록 핵산을 투여함으로써, 또는 핵으로 들어가는 것으로 알려진 호메오박스-유사 펩티드에 핵산을 연결시켜 투여함으로써(예컨대, Joliot *et al.*, 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:1864-1868 참고), 핵산은 그의 인코딩된 항체 또는 다른 분자의 발현을 촉진하기 위하여 인 비보로 투여될 수 있다. 대안적으로, 핵산은 상동성 재조합에 의해 세포내로 도입되고 발현을 위해 숙주 세포 DNA내로 포함될 수 있다.

[0432] 본원에 제공된 항체, 다른 분자 또는 약학 조성물의 치료적 유효량을 이용한 대상체의 치료는 단일 치료 또는 일련의 치료들을 포함할 수 있다. 본원에 제공된 항체, 분자 또는 약학 조성물은 국소적으로 진행된 또는 전이성 암을 갖는 암 환자에서 종양 세포 성장을 억제하거나 암 세포를 죽이기 위한 것과 같은, 질병을 치료하기 위하여 전신성으로 또는 국소적으로 투여될 수 있는 것으로 생각된다. 그들은 정맥내로, 척추강내로 및/또는 복강내로 투여될 수 있다. 그들은 단독으로 또는 항-증식성 약물과 병용 투여될 수 있다. 일 실시양태에서, 그들은 수술 또는 다른 절차 전에 환자에서 암 크기(cancer load)를 감소시키기 위해 투여된다. 대안적으로, 그들은 남아 있는 암(예컨대, 수술이 제거하지 못한 암)이 생존하지 못하도록 하기 위하여 수술 후에 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 그들은 전이를 방지하기 위하여 원발성 암의 퇴행 후에 투여될 수 있다.

[0433] **5.6 병용 요법**

[0434] 본 발명은 또한 제2 치료법과 병용하여, 항-BTN1A1 항체, 항-BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 항체, 또는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 조성물 및 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 암 환자이고 제2 치료법은 항암 또는 항-과증식 치료법이다.

[0435] 일부 실시양태에서, 다른 항암 또는 항-과증식 치료법과 병용되어 사용될 경우, 본원에 제공된 항체 또는 다른 분자의 투여를 포함하는 조성물 및 방법은 다른 항암 또는 항-과증식 치료법의 치료 효능을 향상시킬 수 있다. 따라서, 본 발명에서 개시된 방법과 조성물은 암세포의 사멸, 세포 과증식의 억제 및/또는 암 전이의 억제와 같은 원하는 효과를 이루기 위하여 제2 치료법과 병용되어 제공될 수 있다.

[0436] 일부 실시양태에서, 화학요법, 표적화된 치료법, 냉동요법, 고열요법, 광역동 치료법, 고강도 집속 초음파(HIFU) 치료법, 방사선요법, 또는 수술요법과 같은 제2 치료법은 직접적인 세포독성 효과를 갖는다. 표적화된 치료법은 생물학적 표적화된 치료법 또는 소분자 표적화된 치료법일 수 있다. 다른 실시양태에서, 제2 치료법은 직접적인 세포독성 효과를 갖지 않는다. 예를 들어, 제2 치료법은 직접적인 세포독성 효과없이 면역계를 상향조절하는 작용제일 수 있다.

[0437] 제2 요법은 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법일 수 있다.

[0438] 따라서, 또 다른 양태에서, 본원은 대상체에 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 치료적 유효량의 분자 및 치료적 유효량의 항-PD-1 요법 및/또는 항-PD-L1 요법를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0439] 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD-1 요법을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD-L1 요법을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-PD-1 요법 및 항-PD-L1 요법을 투여하는 단계를 포함한다.

[0440] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법은 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 또는 항체 단편, 또는 가용성 PD-1 또는 PD-L1 리간드 또는 이의 Fc-융합 단백질을 포함한다.

[0441] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 니볼루맙 (Opdivo), 펨브롤리주맙 (Keytruda), 피딜리주맙, AMP-514, AMP-224 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0442] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 국제특허출원 PCT/US2016/64394호에 제공된 항-PD-1 항체를 포함한다.

[0443] 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C, MDX-1105 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0444] 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 WO 2016/160792 A1호로 공개된 국제특허출원 PCT/US2016/024691호 및 국제특허출원 PCT/US2017/024027호에 제공된 항체를 포함한다.

[0445] 일부 실시양태에서, BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편 및 항-PD-1 요법 및/또는 항-PD-L1 요법을 포함하는 분자가 함께 제형화된다.

[0446] 일부 실시양태에서, BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편 및 항-PD-1 요법 및/또는 항-PD-L1 요법을 포함하는 분자는 별도로 제형화된다.

[0447] 일부 실시양태에서, BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편 및 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 포함하는 분자는 독립적으로 동시에 또는 시간 간격 내에 개별적으로 투여되고, 이어서 하나 이상의 사이클의 반복 투여를 수행한다.

[0448] 일부 실시양태에서, 치료는 종양 크기의 감소, 시간 경과에 따른 전이성 병변의 수의 감소, 완전한 반응, 부분 반응 및 안정한 질환으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 치료적 효과를 생산한다.

[0449] 본 발명은 제2 또는 부가적인 치료법 (예컨대, 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법)과 조합하여, 항-BTN1A1 항체, 항-BTN1A1 리간드 항체, 또는 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 다른 분자를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본원에 제공된 항체, 다른 분자 또는 약학 조성물은 제2 항암 치료법에 대하여 그 전에, 그 동안, 그 후에, 또는 다양한 조합으로 투여될 수 있다. 투여는 동시에서부터 수분 내지 수일 내지 수주까지 범위의 간격일 수 있다. 본원에 기술된 항체 또는 다른 분자가 제2 항암제와 별도로 환자에게 제공되는 일부 실시양태에서는, 일반적으로 각각의 전달 시간 사이에 유의한 기간이 경과하지 않아, 두 화합물이 여전히 환자에게 유익하게 조합된 효과를 나타낼 수 있도록 할 것이다. 그러한 경우, 본원에 제공된 항체 또는 다른 분자 및 제2 항암 치료법은 서로 약 12 내지 24 또는 72 h 이내에 그리고 더욱 특히 서로 약 6-12 h 이내에 환자에게 제공될 수 있는 것으로 생각된다. 일부 상황에서는 치료를 위한 시간이 상당히 연장되어 각 투여 사이에 수일(2, 3, 4, 5, 6, 또는 7) 내지 수주(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8)가 경과할 수 있다.

[0450] 일부 실시양태에서, 치료 과정은 1-90일 이상동안 지속할 것이다(이러한 범위는 그 사이에 있는 일수를 포함한다). 한 가지 작용제는 제1일 내지 제90일(이러한 범위는 그 사이에 있는 일수를 포함함) 또는 임의의 그 조합 중 어느 날에 주어질 수 있고 다른 작용제는 제1일 내지 제90일(이러한 범위는 그 사이에 있는 일수를 포함함) 또는 임의의 그 조합 중 어느 날에 주어지는 것으로 생각된다. 하루(24-시간) 이내에, 환자에게 작용제(들)의 1회 투여 또는 다수 투여가 주어질 수 있다. 또한, 치료 과정 후, 항암 치료가 투여되지 않는 기간이 있는 것으로 생각된다. 이 기간은 환자의 병태, 예를 들어, 그들의 예후, 강도, 건강 등에 따라, 1-7 일, 및/또는 1-5 주, 및/또는 1-12개월 이상(이러한 범위는 그 사이에 오는 일수를 포함함) 지속될 수 있다. 치료 사이클은 필요에 따라 반복될 수 있다.

[0451] 다양한 조합이 이용될 수 있다. 본원에 기술된 항-BTN1A1 항체, 항-BTN1A1 리간드 항체 또는 다른 분자를 "A"로 그리고 제2 항암 요법 (예컨대, 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법)을 "B"로 하는 치료의 일부 예가 하기에 열거된다: A/B/A B/A/B B/B/A A/A/B A/B/B B/A/A A/B/B/B B/A/B/B B/B/B/A B/B/A/B A/A/B/B A/B/A/B A/B/B/A B/B/A/A B/A/B/A B/A/A/B A/A/A/B B/A/A/A A/B/A/A A/A/B/A.

[0452] 제2 치료법과 병용된, 본원에 제공된 임의의 항체, 분자 또는 약학 조성물의 환자에의 투여는 만일 있다면 제2 요법 (예컨대, 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법)의 독성을 고려하여, 그러한 제2 치료법의 투여를 위한 일반적인 프로토콜을 따를 것이다. 따라서, 일부 실시양태에서는 병용 요법에 기인하는 독성을 모니터링하는 단계가 있다.

[0453] *화학요법*

[0454] 광범위한 화학요법제가 제2 치료법으로서 본 실시양태에 따라 사용될 수 있다. 화학요법제는 암 치료에서 투여

되는 화합물 또는 조성물일 수 있다. 이들 작용제 또는 약물은 세포내에서의 그들의 활성 양식에 의해, 예를 들어, 그들이 세포 사이클에 영향을 주는지 그리고 무슨 단계에서 영향을 주는지에 의해 분류될 수 있다. 대안적으로, 작용제는 DNA를 직접적으로 가교하거나, DNA 내로 삽입되거나, 또는 핵산 합성에 영향을 줌으로써 염색체 및 유사분열 이상을 유도하는 그 능력에 기반하여 특성규명될 수 있다.

[0455] 화학요법제의 예는 알킬화제, 예를 들어, 티오테파 및 시클로포스파미드; 알킬 설포네이트, 예를 들어, 부설판, 임프로설판, 및 피포설판; 아지리딘, 예를 들어, 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파, 및 우레도파; 에틸렌이민, 및 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드, 트리메틸올로멜라민을 비롯한 메틸아멜아민(methylamelamine); 아세토제닌 (특히, 불라타신 및 불라타시논); 캄토테신(합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (그의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 크립토피신(특히, 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 도라스타틴; 듀오카르마이신(합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 에류테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕틴; 스폰지스타틴(spongistatin); 니트로젠 머스타드, 예를 들어, 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로르에타민, 메클로르에타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜파란, 노벰비친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 및 우라실 머스타드; 니트로스우레아, 예를 들어, 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 및 라님누스틴; 항생제, 예를 들어, 에네딘 항생제(예컨대, 칼리케미신, 특히 칼리케미신 감마1I 및 칼리케미신 오메가I1); 디네미신 A를 비롯한 디네미신; 클로드로네이트와 같은 비스포스포네이트; 에스페라미신; 및 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 색소단백질 에네디인 항생제 발색단, 아클라시노마이신, 액티노마이신, 아우트라르나이신, 아자세린, 블레오마이신, 칵티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이시니스, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신(모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예를 들어, 미토마이신 C, 미코페놀산, 노가라르니신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 및 조루비신(zorubicin); 항-대사물, 예를 들어, 메토트렉세이트 및 5-플루오로우라실(5-FU); 엽산 유사체, 예를 들어, 데노프테린, 프테로프테린, 및 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예를 들어, 플루다라빈, 6-머캅토퓨린, 티아미프린, 및 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예를 들어, 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 및 플록스우리딘; 안드로겐, 예를 들어, 카루스테론, 드로모스타노론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 및 테스토락톤; 항-부신, 예를 들어, 미토탄 및 트리로스탄; 엽산 보충제, 예를 들어, 프로린산; 아세그라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레불린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트랙세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘립티니움 아세테이트; 에포티론; 에토글루시드; 갈륨 니트레이트; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드, 예를 들어, 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미토잔트론; 모피단몰; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로소잔트론; 포도필린산; 2-에틸하이드라지드; 프로카르바진; PSK 다당류 복합체; 라족산; 리족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (특히, T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드("Ara-C"); 시클로포스파미드; 탁소이드, 예를 들어, 파클리탁셀 및 도세탁셀 젬시타빈; 6-티오구아닌; 머캅토퓨린; 백금 착물, 예를 들어, 시스플라틴, 옥살리플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포시드(VP-16); 이포스파미드; 미토잔트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 노반트론; 테니포시드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; 이리노테칸 (예컨대, CPT-11); 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴(DMFO); 레티노이드, 예를 들어, 레티노산; 카페시타빈; 카르보플라틴, 프로카르바진, 플리코마이신, 젬시타비엔, 나벨빈, 파르네실-단백질 트랜스퍼라제 억제제, 트랜스백금, 및 상기 중 임의의 것의 약학적 허용 염, 산, 또는 유도체를 포함한다.

[0456] *방사선요법*

[0457] 본원에 기술된 방법 및 조성물과 조합되어 사용될 수 있는 다른 종래의 항암 치료법은 방사선요법, 또는 방사선 치료법이다. 방사선요법은 γ-선, X-선, 및/또는 종양 세포에의 방사성 동위원소의 지시된 전달을 이용하는 것을 포함한다. 마이크로웨이브, 양자빔 조사(미국특허 제5,760,395호 및 제4,870,287호; 이들 모두는 그 전체가 참고로 본원에 포함됨), 및 UV-조사와 같은 다른 형태의 DNA 손상 인자 또한 고려된다. 모든 이들 인자가 DNA에, DNA의 전구체에, DNA의 복제 및 회복에, 그리고 염색체의 조립 및 유지에 광범위한 손상을 일으킬 가능성이 높다.

[0458] 종양 미세환경은 종양에 침윤하여 면역 반응을 억제하기 위해 기능하는 조절 T 세포 및 골수-유래 억제자 세포의 존재로 인해 본질적으로 억제성이다. 또한, T 세포 및 항원 제시 세포(APC) 상의 일부 억제성 분자의 발현은 효과적인 면역 반응을 제한할 수 있다. 방사선은 종양 세포 어팝토시스, 노쇠, 자가포식(autophagy)의 유도를 통해 항-종양 효과를 매개하며, 일부 상황에서는 더욱 효과적인 면역 반응을 자극할 수 있다.

[0459] 방사선은 종양 세포를 스트레스 상태하에 두어서 종양 세포가 스트레스에서 생존하기 위한 기전을 활성화할 수 있도록 하기 위한 수단일 수 있다. 그러한 스트레스 상태하에서 활성화된 분자는 방사선과 조합되어 사용되는 치료법을 위한 타겟으로 작용할 수 있다. BTN1A1은 그러한 상태하에서 과다발현하는 잠재적 타겟으로 확인되었다.

[0460] BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자는 국소적 및 전신성 면역 반응을 자극할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 항체, 다른 분자, 또는 약학 조성물의 치료적 유효량은 상승적 효과를 이루기 위하여 방사선요법 이전에, 동시에, 또는 이후에 투여된다.

[0461] 일부 실시양태에서, 숙주 내의 종양을 조사에 대하여 효과적으로 감작시키는, 본원에 기술된 항체, 다른 분자, 또는 약학 조성물의 치료적 유효량이 투여된다. 조사는 이온화 방사선 및 특히 감마선일 수 있다. 일부 실시양태에서, 감마선은 선형 가속기에 의해 또는 방사성핵종에 의해 방출된다. 방사성핵종에 의한 종양의 조사는 외부적 또는 내부적일 수 있다.

[0462] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 항체, 다른 분자, 또는 약학 조성물의 투여는 종양의 조사 전 최대 1개월, 특히 최대 10일 또는 1주일에 시작한다. 부가적으로, 종양의 조사는 본원에 기술된 항체, 다른 분자, 또는 약학 조성물의 투여가 첫번째 및 마지막 조사 세션 사이의 간격에서 유지되도록 분획화된다.

[0463] 조사는 또한 X-선 방사선, 감마선 방사선, 또는 하전된 입자 방사선(양자빔, 탄소 빔, 헬륨 빔)(또는 일반적으로 "방사선")일 수 있다. 방사선을 위한 선량 범위는 일부 간격 기간(2일 이상 내지 수주)을 위한 50 내지 600 뤈트겐의 일일 선량에서 800 내지 6000 뤈트겐의 단일 선량까지이다. 방사선은 매일 한번, 매일 두번, 매일 세번, 또는 매일 네번 투여될 수 있다. 방사성동위원소를 위한 선량 범위는 광범위하게 변하며, 동위원소의 반감기, 방출되는 방사선의 강도와 타입, 및 신생물 세포에 의한 흡수에 의존한다.

[0464] *표적화된 치료법*

[0465] 표적화된 암 치료법은 암의 성장, 진행 및 확산에 관련되는 특정 분자("분자 타겟")를 방해함으로써 암의 성장과 확산을 차단하는 약물 또는 다른 물질이다. 표적화된 암 치료법은 또한 "분자적으로 표적화된 약물", "분자적으로 표적화된 치료법", "정밀 의료" 또는 유사한 명칭으로 불린다. 표준 화학요법과 다르게, 표적화된 치료법은 암과 연합된 특정 분자 타겟에 작용하는 반면, 표준 화학요법은 일반적으로 모든 신속하게 분열하는 정상 및 암 세포에 작용한다.

[0466] 표적화된 치료법은 소분자 표적화된 치료법 및 생물학적 표적화된 치료법, 예를 들어, 모노클로날 항체를 모두 포함한다. 소분자 화합물은 전형적으로 세포 내에 위치한 타겟을 위해개발되며, 그 이유는 그러한 작용제는 상대적으로 쉽게 세포에 들어갈 수 있기 때문이다. 모노클로날 항체와 같은 생물학적 표적화된 치료법은 보통 세포 밖의 또는 세포 표면 상에 있는 타겟을 위해 사용된다.

[0467] 많은 상이한 표적화된 치료법이 암 치료에서의 사용을 위해 승인되었다. 이들 치료법은 호르몬요법, 신호 전달 억제제, 유전자 발현 조절제, 어팝토시스 유도제, 혈관신생 억제제, 면역요법 및 독소 전달 분자를 포함한다.

[0468] 호르몬요법은 성장을 위해 일부 호르몬을 요구하는 호르몬-민감성 종양의 성장을 지연시키거나 중단시킨다. 호르몬요법은 신체가 호르몬을 생산하지 못하게 하거나 호르몬의 작용을 방해함으로써 작용한다. 호르몬요법은 유방암 및 전립선암에 대해 승인되었다.

[0469] 신호 전달 억제제는 세포가 그의 환경으로부터의 신호에 반응하는 과정인 신호 전달에 참여하는 분자의 활성을 차단한다. 이 과정동안, 일단 세포가 특정 신호을 수신하면, 신호는 궁극적으로 적절한 반응(들)을 생산하는 일련의 생화학적 반응을 통해 세포내에서 전달된다. 일부 암에서는, 악성 세포가 외부 성장 인자에 의 해 그렇게 하도록 자극되지 않고서도 연속적으로 분할하도록 자극된다. 신호 전달 억제제는 이러한 부적절한 시그널링을 방해한다.

[0470] 유전자 발현 조절제는 유전자 발현의 제어에서 역할을 하는 단백질의 기능을 변형시킨다. 어팝토시스 유도제는 암세포가 어팝토시스로 불리는 제어된 세포 사멸 과정을 거치도록 야기한다. 어팝토시스는 신체가 불필요하거나

비정상인 세포를 제거하기 위해 사용하는 한 가지 방법이지만, 암세포는 어팝토시스를 피하기 위한 전략을 갖는다. 어팝토시스 유도제는 암세포의 사멸을 야기하기 위하여 이들 전략을 해결할 수 있다.

[0471] 혈관신생 억제제는 새로운 혈관이 종양까지 성장하는 것(종양 혈관신생으로 불리는 과정)을 차단한다. 혈액은 종양이 계속 성장하기 위해 필요로 하는 산소와 영양소를 제공하므로 혈액 공급은 종양이 일정 크기 이상으로 성장하는데 필요하다. 혈관신생을 방해하는 치료는 종양 성장을 차단할 수 있다. 혈관신생을 억제하는 일부 표적화된 치료법은 새로운 혈관 형성을 자극하는 물질인 혈관 내피 성장 인자(VEGF)의 작용을 방해한다. 다른 혈관신생 억제제는 새로운 혈관 성장을 자극하는 다른 분자를 표적화한다.

[0472] 면역요법은 면역계가 암세포를 파괴하도록 촉발한다. 일부 면역요법은 암세포의 표면 상의 특정 분자를 인식하는 모노클로날 항체이다. 타겟 분자에의 모노클로날 항체의 결합은 그 타겟 분자를 발현하는 세포의 면역 파괴를 야기한다. 다른 모노클로날 항체는 일부 면역 세포에 결합하여 이들 세포가 암 세포를 더 잘 사멸시키도록 돕는다.

[0473] 독성 분자를 전달하는 모노클로날 항체는 암세포의 사멸을 특이적으로 야기할 수 있다. 일단 항체가 그의 타겟 세포에 결합하면, 방사성 물질 또는 독성 화합물과 같은 항체에 연결된 독성 분자가 세포에 의해 섭취되어, 결과적으로 그 세포를 사멸시킨다. 독소는 항체를 위한 타겟이 결핍된 세포, 즉, 신체내의 대부분의 세포에는 영향을 주지 않을 것이다.

[0474] 암 백신 및 유전자 치료법은 또한 그들이 특정 암세포의 성장을 방해하므로 표적화된 치료법으로 간주된다.

[0475] 예를 들어, 제2 치료법으로서 본 실시양태에 따라 사용될 수 있는 FDA 승인된 표적화된 치료법의 목록이 하기에 제공된다.

[0476] · 위 또는 위식도 접합부의 선암종: 트라스투주맙(허셉틴®), 라무시루맙(시람자®)

[0477] · 기저 세포 암종: 비스모데깁(Vismodegib)(에리베지™), 소니데깁(오돔조®)

[0478] · 뇌암: 베바시주맙(아바스틴®), 에베로리무스(아피니토르®)

[0479] · 유방암: 에베로리무스(아피니토르®), 타목시펜, 토레미펜(파레스톤®), 트라스투주맙(허셉틴®), 풀베스트란트(파스로덱스®), 아나스트로졸(아리미덱스®), 엑세메스탄(아로마신®), 라파티닙(티케르브®), 레트로졸(페마라®), 페르투주맙(페르제타®), 아도-트라스투주맙 엠탄신(카드시라™), 팔보시클립(이브란스®)

[0480] · 자궁경부암: 베바시주맙(아바스틴®)

[0481] · 대장암: 세툭시맙(에르비툭스®), 파니투무맙(벡티빅스®), 베바시주맙(아바스틴®), 지브-아플리베르셉트(잘트랩®), 레고라페닙(스티바르가®), 라무시루맙(시람자®)

[0482] · 융기성피부섬유육종: 이마티닙 메실레이트(글리벡®)

[0483] · 내분비/신경내분비 종양: 란레오티드 아세테이트(소마툴린® 디포)

[0484] · 두경부암: 세툭시맙(에르비툭스®)

[0485] · 위장 기질 종양: 이마티닙 메실레이트(글리벡®), 수니티닙(수텐트®), 레고라페닙(스티바르가®)

[0486] · 골 거대세포 종양: 데노수맙(엑스지바®)

[0487] · 카포시육종: 알리트레티노인(판레틴®)

[0488] · 신장암: 베바시주맙(아바스틴®), 소라페닙(넥사바르®), 수니티닙(수텐트®), 파조파닙(pazopanib)(보트리엔트®), 템시로리무스(토리셀®), 에베로리무스(아피니토르®), 악시티닙(인리타®)

[0489] · 백혈병: 트레티노인(베사노이드®), 이마티닙 메실레이트(글리벡®), 다사티닙(스프리셀®), 니로티닙(타시그나®), 보수티닙(보수리프®), 리툭시맙(리툭산®), 아렘투주맙(캄패스®), 오파투무맙(아르제라®), 오비누투주맙(가지바™), 이브루티닙(임브루비카™), 이데라리십(지델리그®), 블리나투모맙(블린시토™)

[0490] · 간암: 소라페닙(넥사바르®)

[0491] · 폐암: 베바시주맙(아바스틴®), 크리조티닙(잘코리®), 엘로티닙(타르세바®), 제피티닙(이레사®), 아파티닙 디말리에이트(지로트리프®), 세르티닙(LDK378/지카디아), 라무시루맙(시람자®), 니보루맙(옵디보®), 펨브로

리주맙(Keytruda®)

[0492] · 림프종: 이브리투모맙 티욱세탄(제바린®), 데니류킨 디프티톡스(온탁®), 브렌툭시맙 베도틴(애드세트리스®), 리툭시맙(리툭산®), 보리노스타트(조린자®), 로미뎁신(이스토닥스®), 벡사로텐(타르그레틴®), 보르테조밉(벨카데®), 프라라트렉세이트(포로틴®), 레나리오미드(레브리미드®), 이브루티닙(임브루비카™), 실툭시맙(실반트™), 이델라리십(지델리그®), 벨리노스타트(베레오닥™)

[0493] · 흑색종: 이피리무맙(예르보이®), 베무라페닙(젤보라프®), 트라메티닙(메키니스트®), 다브라페닙(dabrafenib)(타핀라르®), 펨브로리주맙(Keytruda®), 니보루맙(옵디보®)

[0494] · 다발성 골수종: 보르테조밉(벨카데®), 카르필조밉(키프로리스®), 레나리오미드(레브리미드®), 포마리도미드(포마리스트®), 파노비노스타트(파리닥®)

[0495] · 골수형성이상/골수증식 질환: 이마티닙 메실레이트(글리벡®), 룩소리티닙 포스페이트(자카피™)

[0496] · 신경아세포종: 디누툭시맙(유니툭신™)

[0497] · 난소 상피/나팔관/일차성 복막암: 베바시주맙(아바스틴®), 오라파립(린파르자™)

[0498] · 췌장암: 엘로티닙(타르세바®), 에베로리무스(아피니토르®), 수니티닙(수텐트®)

[0499] · 전립선암: 카바지탁셀(제브타나®), 엔자루트아미드(엑스탄디®), 아비라테론 아세테이트(지티가®), 라듐 223 클로라이드(조피고®)

[0500] · 연조직 육종: 파조파닙(보트리엔트®)

[0501] · 전신비만세포종: 이마티닙 메실레이트(글리벡®)

[0502] · 갑상선암: 카보잔티닙(코메트리크™), 반데타닙(카프렐사®), 소라페닙(넥사바르®), 렌바티닙 메실레이트(렌비마™)

[0503] *면역요법*

[0504] 당업자는 면역요법이 본 실시양태의 방법과 조합되거나 함께 사용될 수 있음을 이해할 것이다. 암치료 맥락에서, 면역요법제는 일반적으로 암세포를 표적화하고 파괴하기 위하여 면역 이펙터 세포 및 분자의 사용에 의존한다. 리툭시맙(리툭산®)은 그러한 예이다. 예를 들어, 이피루미맙과 같은 면역관문 억제제(Checkpoint inhibitor)는 다른 그러한 예이다. 면역 이펙터는 예를 들어, 종양 세포 표면 상의 일부 마커에 대해 특이적인 항체일 수 있다. 항체 단독이 치료법의 이펙터로서 작용할 수 있거나, 또는 항체는 실제로 세포 사멸을 일으키기 위하여 다른 세포를 모집할 수 있다. 항체는 또한 약물 또는 독소 (예컨대, 화학요법제, 방사성핵종, 리신 A 쇄, 콜레라 독소, 백일해 독소)에 접합되고 단지 표적화제로서 작용할 수 있다. 대안적으로, 이펙터는 종양 세포 타겟과 직접적으로 또는 간접적으로 상호작용하는 표면 분자를 보유한 림프구일 수 있다. 다양한 이펙터 세포는 세포독성 T 세포 및 NK 세포를 포함한다.

[0505] 일부 실시양태에서, 면역 요법은 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법이다.

[0506] 항-PD-1 요법은 PD-1의 임의의 억제제를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 억제성 핵산 또는 가용성 PD-1 리간드 (예컨대, 가용성 PD-L1), 또는 이의 융합-단백질 (예컨대, Fc-융합 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 니볼루맙 (Opdivo), 펨브롤리주맙 (Keytruda), 피딜리주맙, AMP-514 또는 AMP-224를 포함한다.

[0507] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 니볼루맙 (CAS 등록 번호: 946414-94-4)을 포함한다. 니볼루맙은 MDX-1106, MDX-1106-04, ONO-4538 또는 BMS-936558로도 알려져 있다. 니볼루맙은 PD-1을 특이적으로 차단하는 완전한 인간 IgG4 모노클로날 항체이다. PD-1에 특이적으로 결합하는 니볼루맙 (클론 5C4) 및 다른 인간 모노클로날 항체는 US 8,008,449호 및 WO2006/121168호에 개시되어 있다.

[0508] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 펨브롤리주맙을 포함한다. 펨브롤리주맙은 KEYTRUDA®, 람브롤리주맙, 머크 3745, MK-3475 또는 SCH-900475로도 알려져 있다. 펨브롤리주맙은 PD-1에 결합하는 인간화된 IgG4 모노클로날 항체이다. 펨브롤리주맙은 예컨대, Hamid, O. et al. (2013) New England Journal of Medicine 369 (2): 134-

44, WO2009/114335호, 및 US 8,354,509호에 개시되어 있다.

[0509] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 피딜리주맙이다. CT-011 (CureTech)으로도 알려진 피딜리주맙은 PD-1에 결합하는 인간화된 IgG1 모노클로날 항체이다. 피딜리주맙 및 다른 인간화된 항-PD-1 모노클로날 항체는 WO2009/101611호에 개시되어 있다.

[0510] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 국제특허출원 PCT/US2016/64394호에 제공된 항-PD-1 항체를 포함한다.

[0511] 항-PD1 요법으로서 유용할 수 있는 추가의 항-PD1 항체는 US 8,609,089호, US 2010028330호 및/또는 US 20120114649호에 개시되어 있다.

[0512] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 융합 단백질 AMP 514 (암플리뮨)를 포함한다. B7-DCIg로도 알려진 AMP-224는 예를 들어 WO2010/027827호 및 WO2011/066342호에 개시되어 있다. AMP-224는 PD1과 B7-H1 사이의 상호작용을 차단하는 PD-L2 Fc 융합 가용성 수용체이다.

[0513] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 면역 부착(immunoadhesin) (예컨대, 불변 영역 (예컨대, 면역글로불린 서열의 Fc 영역)에 융합된 PD-L1 또는 PD-L2의 세포 외 또는 PD-1 결합 부분을 포함하는 면역 부착)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 융합 단백질 AMP-224 (PD-L2의 Fc-융합)를 포함한다.

[0514] 항-PD-L1 요법은 PD-L1의 임의의 억제제를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 억제성 핵산 또는 가용성 PD-L1 리간드 (예컨대, 가용성 PD-1), 또는 이의 융합 단백질 (예컨대, Fc- 융합 단백질)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C 또는 MDX-1105를 포함한다.

[0515] 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 MDX-1105를 포함한다. MDX-1105는 또한 BMS-936559로서 알려져 있다. 예컨대, WO 2007/005874호 참고.

[0516] 일부 실시양태에서, PD-L1 요법은 예컨대, WO 2010/077634호에 기술된 바와 같은 항체 YW243.55.S70 (각각 서열번호 20 및 21에 도시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열)을 포함한다.

[0517] 일부 실시양태에서, PD-L1 요법은 MDPL3280A (Genentech/Roche)를 포함한다. MDPL3280A는 PD-L1에 결합하는 인간 Fc 최적화된 IgG1 모노클로날 항체이다. PDPL1에 대한 MDPL3280A 및 다른 인간 모노클로날 항체는 예컨대, 미국특허 제7,943,743호 및 미국 공개공보 제20120039906호에 개시되어 있다.

[0518] 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 항체 MSB0010718C (Merck Serono)를 포함한다. MSB0010718C는 또한 A09-246-2로서 알려져 있다.

[0519] 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 PD-L1에 결합하는 인간 Fc 최적화된 IgG1 모노클로날 항체인 MDPL3280A (Genentech/Roche)를 포함한다. PD-L1에 대한 MDPL3280A 및 다른 인간 모노클로날 항체는 미국특허 제7,943,743호 및 미국 공개공보 제20120039906호에 개시되어 있다.

[0520] 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 WO 2016/160792 A1호로 공개된 국제특허출원 PCT/US2016/024691호, 및 국제특허출원 PCT/US2017/024027호에 제공된 항체를 포함한다.

[0521] 면역요법의 일 양태에서, 종양 세포는 표적화를 받아들일 수 있는, 즉, 대부분의 다른 세포에는 존재하지 않는, 일부 마커를 보유한다. 많은 종양 마커가 존재하며 이들 중 어느 것이든 본 실시양태의 맥락에서 표적화를 위해 적합할 수 있다. 일반적인 종양 마커는 CD20, 암배아 항원, 티로시나제(p97), gp68, TAG-72, HMFG, 시알릴 루이스(Sialyl Lewis) 항원, MucA, MucB, PLAP, 라미닌 수용체, erb B, 및 p155를 포함한다. 면역요법의 대안적 양태는 항암 효과를 면역 자극성 효과와 조합하는 것이다. 사이토카인, 예를 들어, IL-2, IL-4, IL-12, GM-CSF, 감마-IFN, 케모카인, 예를 들어, MIP-1, MCP-1, IL-8, 및 성장 인자, 예를 들어, FLT3 리간드를 비롯한 면역 자극 분자가 또한 존재한다.

[0522] 현재 조사중이거나 사용중인 면역요법의 예는 면역 아쥬반트(adjuvant), 예를 들어, 마이코박테리움 보비스(Mycobacterium bovis), 플라스모듐 팔시파룸(Plasmodium falciparum), 디니트로클로로벤젠 및 방향족 화합물(미국특허 제5,801,005호 및 제5,739,169호; Hui and Hashimoto, *Infect Immun.*, 66(11):5329-36(1998); Christodoulides *et al.*, *Microbiology*, 66(11):5329-36(1998)); 사이토카인 요법, 예를 들어, 인터페론 α, β, 및 γ, IL-1, GM-CSF, 및 TNF (Bukowski *et al.*, *Clin Cancer Res.*, 4(10):2337-47 (1998); Davidson *et al.*, *J Immunother.*,21(5):389-98(1998); Hellstrand *et al.*, *Acta Oncol.* 37(4):347-53(1998)); 유전자 치료법, 예를 들어, TNF, IL-1, IL-2, 및 p53(Qin *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A,* 95(24):14411-6(1998);

Austin-Ward and Villaseca, *Rev Med Chil*, 126(7):838-45 (1998); 미국특허 제5,830,880호 및 제5,846,945호); 및 모노클로날 항체, 예를 들어, 항-PD1, 항-PDL1, 항-CD20, 항-강글리오사이드 GM2, 및 항-p185(Topalian *et al.*, *The New England journal of medicine*, 366:2443-2454 (2012); Brahmer *et al.*, *The New England journal of medicine* 366:2455-2465 (2012); Hollander, *Front Immunol* (2012): 3:3. doi: 10.3389/fimmu.2012.00003; Hanibuchi *et al.*, *Int J Cancer*, 78(4):480-5(1998); 미국특허 제5,824,311호)이며; 이들 모두는 그 전체가 참고로 본원에 포함된다. 한 가지 이상의 항암 치료법이 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드(예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자의 사용에 관련되는 본원에 기술된 치료법과 이용될 수 있으며, 분자는 BTN1A1에 대한 BTN1A1 리간드의 결합을 억제할 수 있다.

[0523] *수술*

[0524] 암환자의 대략 60%가 예방적, 진단성 또는 단계화(staging), 치유성(curative) 및 임시적 수술을 포함하는 일부 타입의 수술을 거칠 것이다. 치유성 수술은 암 조직의 전부 또는 일부가 물리적으로 제거, 절제 및 또는 파괴되는 절제술을 포함하며 본 실시양태의 치료, 화학요법, 방사선요법, 호르몬요법, 유전자 치료법, 면역요법 및/또는 대안적 치료법과 같은 다른 치료법과 함께 이용될 수 있다. 종양 절제술은 종양의 적어도 일부의 제거를 말한다. 종양 절제술에 더하여, 수술에 의한 치료는 레이저 수술, 냉동요법, 전기수술 및 현미경-제어 수술(모스 수술(Mohs' surgery))을 포함한다.

[0525] 암 세포, 조직, 또는 종양의 전부 또는 일부의 절제시, 신체에 공동(cavity)이 형성될 수 있다. 치료는 부가적인 항암 치료법을 이용한 그 영역의 관류, 직접 주사 또는 국소 적용에 의해 이루어질 수 있다. 그러한 치료는 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7일마다, 또는 1, 2, 3, 4, 및 5주마다 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12개월마다 반복될 수 있다. 이들 치료는 또한 다양한 투여량일 수 있다.

[0526] *부가적인 치료법 타입*

[0527] 냉동요법, 고열요법, 광역동 치료법, 및 고강도 집속 초음파(HIFU) 치료법을 포함하지만 이에 제한되지 않는 본 기술분야에 알려진 부가적인 타입의 암 치료법이 본원에 제공된 방법 및 조성물과 조합되거나 함께 이용될 수 있다.

[0528] 냉동요법(냉동수술로도 불림)은 비정상 조직을 파괴하기 위하여 액체 질소(또는 아르곤 가스)에 의해 생산된 극심한 차가움을 이용하는 것이다. 냉동수술은 피부 상의 종양과 같은 외부 종양을 치료하기 위하여 사용된다. 외부 종양의 경우, 액체 질소는 면봉 또는 분무 장치를 이용하여 암세포에 직접적으로 적용된다. 냉동수술은 또한 신체 내의 종양(내부 종양 및 골 내의 종양)을 치료하기 위하여 이용될 수 있다. 내부 종양의 경우, 액체 질소 또는 아르곤 가스는 종양과 접촉하여 배치되는, 냉동프로브로 불리는 중공 장비를 통해 순환된다. 프로브는 수술동안 종양 내에 또는 피부를 통해(경피로) 놓여질 수 있다. 냉동수술 후, 동결된 조직은 해동되고, 자연적으로 신체에 의해 흡수되거나(내부 종양의 경우), 또는 용해되고 딱지를 형성한다(외부 종양의 경우).

[0529] 고열요법(열 치료법 또는 온열요법으로도 불림)은 신체 조직이 고온(최대 113 °F)에 노출되는 암 치료 타입이다. 국소, 국부, 및 전신 고열요법을 비롯한 여러가지 고열요법 방법이 있다.

[0530] 국소 고열요법에서는, 종양을 가열하기 위하여 에너지를 전달하는 다양한 기술을 이용하여, 종양과 같은 작은 영역에 열이 적용된다. 마이크로웨이브, 무선주파수 및 초음파를 비롯한 상이한 타입의 에너지가 열을 가하기 위하여 사용될 수 있다. 종양 위치에 따라, 외부 접근, 관내(intraluminal) 또는 강내(endocavitary) 방법 및 세포간 기술을 비롯하여, 국소 고열요법에의 여러가지 접근법이 있다.

[0531] 국부 고열요법에서는, 체강, 기관 또는 사지와 같은 조직의 큰 영역을 가열하기 위하여, 심부 조직 접근법, 국부 관류 기술, 및 연속적 고열 복강내 관류(CHPP)를 비롯한 다양한 접근법이 사용될 수 있다.

[0532] 전신 고열요법은 신체에 걸쳐 퍼진 전이성 암을 치료하기 위해 이용될 수 있으며, 이 요법은 열 챔버(큰 인큐베이터와 유사) 또는 고온수 담요의 사용을 비롯하여 체온을 107-108 °F로 상승시키는 여러 기술에 의해 이루어질 수 있다.

[0533] 광역동 치료법(PDT)은 광감작제 또는 광감작 작용제로 불리는 약물 및 특정 타입의 광을 이용하는 치료이다. 광감작제가 특정 파장의 광에 노출될 경우, 그들은 근처의 세포를 사멸시키는 산소 형태를 생산한다. 암치료를 위한 PDT의 제1 단계에서는, 광감작 작용제가 혈류내로 주사된다. 상기 작용제는 전신에 걸쳐서 세포에 의해 흡수되지만 정상 세포에서보다 암세포에서 더 오래 머무른다. 주사 후 대략 24 내지 72시간 후, 대부분의 작용제가 정상 세포를 떠났지만 암세포에는 남아 있을 때, 종양이 광에 노출된다. 종양내의 광감작제는 광을 흡수하여 근

처의 암세포를 파괴하는 산소 활성 형태를 생산한다.

[0534] PDT를 위해 사용되는 광은 레이저 또는 다른 공급원으로부터 올 수 있다. 레이저 광은 신체내 영역으로 광을 전달하기 위하여 섬유 광케이블(광을 전송하는 얇은 섬유)을 통해 보내질 수 있다. 다른 광원은 발광 다이오드(LED)를 포함하며, 이것은 피부암과 같은 표면 종양을 위해 사용될 수 있다. 체외 광영동요법(Extracorporeal photopheresis)(ECP)은 환자의 혈액 세포를 수집하고, 그들을 광감작 작용제를 이용하여 신체 밖에서 처리하고, 그들을 광에 노출시킨 후, 그들을 환자에게 돌려보내기 위해 기계가 사용되는 PDT 타입이다.

[0535] 고강도 집속 초음파 치료법(또는 HIFU)은 암치료의 한 타입이다. 의사들은 암의 특정 부분에 강한 빛줄기를 전달하고 암세포를 사멸시키는 고주파수 음파를 발하는 기계를 이용하여 HIFU 치료를 제공한다.

[0536] *기타 작용제*

[0537] 치료의 치료적 효능을 개선하기 위하여 본 발명의 실시양태의 일부 양태와 조합되어 다른 작용제가 사용될 수 있는 것으로 생각된다. 이들 추가의 작용제는 세포 표면 수용체 및 갭 연결부(GAP junction)의 상향조절을 일으키는 작용제, 세포증식억제 및 분화 작용제, 세포 부착 억제제, 어팝토시스 유도제에 대한 과증식 세포의 민감성을 증가시키는 작용제, 또는 다른 생물 작용제를 포함한다. 갭 연결부의 수를 상승시켜 세포간 시그널링을 증가시키는 것은 이웃한 과증식 세포 집단에 대한 항-과증식 효과를 증가시킬 수 있다. 다른 실시양태에서, 세포증식억제 또는 분화 작용제는 치료의 항-과증식 효능을 개선하기 위하여 본 발명 실시양태의 일부 양태와 조합되어 사용될 수 있다. 세포 부착 억제제는 본 발명 실시양태의 효능을 개선하는 것으로 생각된다. 세포 부착 억제제의 예는 국소 접착 키나제(focal adhesion kinase)(FAK) 억제제 및 로바스타틴이다. 어팝토시스에 대한 과증식 세포의 민감성을 증가시키는 다른 약제, 예컨대, 항체 c225가 치료 효능을 개선하기 위하여 본 발명 실시양태의 일부 양태와 조합되어 이용될 수 있음이 추가로 고려된다.

[0538] **5.7. 동반 진단**

[0539] 본 개시내용은 BTN1A1 및 PD-L1의 발현이 특정 암에서 상호배타적이라는 인식에 적어도 부분적으로 기반한다. 따라서, 본원은 BTN1A1, BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 및 PD-L1을 암에 대한 바이오마커 및 동반 진단으로서 사용하는 방법을 제공한다.

[0540] BTN1A1은 암세포에서 고도로 특이적으로 발현된다. 본 발명은 또한 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 이용하여 대상체로부터의 샘플 내의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL9, NRP-2, BTLA)의 발현을 검출하는 방법을 제공한다. 따라서, 본 발명은 또한 암 진단제로서 본원에 기술된 분자의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 분자와 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 사이의 복합체를 형성하기 위하여 본원에 기술된 분자와 샘플을 접촉시키고, 샘플 내의 복합체를 검출함으로써 대상체로부터의 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL9, NRP-2, BTLA)를 검출하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 분자와 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 사이의 복합체를 형성하기 위하여 본원에 기술된 분자와 대상체로부터의 샘플을 접촉시키고, 복합체를 검출하고, 그리고 복합체가 샘플에서 검출되면 대상체가 암을 가질 가능성이 있는 것으로 진단하는 단계를 포함하는, 대상체의 암진단을 제공하거나 돕기 위한 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 이용하여 샘플 내의 글리코실화된 BTN1A1의 존재를 검출하는 단계를 포함한다.

[0541] 일부 실시양태에서, 방법은 PD-L1의 존재를 검출하는 것을 추가로 포함한다. 예컨대, 항체 기반 검출 방법 (예컨대, ELISA, FACS, 면역세포화학) 또는 핵산 기반 검출 방법 (예컨대, PCR, 마이크로어레이, DNA 시퀀싱)을 포함하여 샘플에서 PD-L1 발현을 검출하는 방법은 당업계에 공지되어 있다.

[0542] 본원은 또한 본원에 기술된 BTN1A1 에피토프 또는 BTN1L1 리간드 에피토프를 경쟁적으로 (예컨대, 용량-의존 방식으로) 차단하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 사용하여 대상체로부터의 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)의 발현을 검출하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 PD-L1의 발현을 검출하는 단계를 추가로 포함한다.

[0543] 본원은 또한 본원에 기술된 바와 같은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 사용하여 대상체로부터의 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)의 발현을 검출하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 PD-L1의 발현을 검출하는 단계를 추가로 포함한다.

[0544] 일부 실시양태에서, 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)를 검출하는 단계는 본원에 기술된 분자를 사용하여 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드를 검출하는 단계는 대상체로부터의 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 발현 수준을 기준 수준과 비교하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 본원에 기술된 분자를 사용하여 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 발현 수준을 측정하고, 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 발현 수준을 기준 수준과 비교하고, 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 발현 수준이 기준 수준보다 높은 경우, 대상체가 암에 걸릴 가능성이 있거나 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응할 가능성이 있는 것으로 진단하는 단계를 포함한다.

[0545] 일부 실시양태에서, 샘플에서 PD-L1을 검출하는 단계는 본원에 기술된 분자를 사용하여 샘플에서 PD-L1의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, PD-L1을 검출하는 단계는 대상체로부터의 샘플에서 PD-L1의 발현 수준을 기준 수준과 비교하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 본원에 기술된 분자를 사용하여 샘플에서 PD-L1의 발현 수준을 측정하고, 샘플에서의 PD-L1의 발현 수준을 기준 수준과 비교하고, 샘플에서 PD-L1의 발현 수준이 기준 수준보다 낮은 경우, 대상체가 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응할 가능성이 있는 것으로 진단하는 단계를 포함한다.

[0546] 일부 실시양태에서, BTN1A1 수준 또는 BTN1A1 리간드 수준을 측정하는 단계는 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자, 예컨대, 항-글리코실화된 BTN1A1 항체를 사용하여 글리코실화된 BTN1A1의 수준을 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 샘플에서 글리코실화된 BTN1A1의 수준을 측정하는 단계는 샘플에서 글리코실화된 BTN1A1의 수준을 기준 수준과 비교하고, 샘플에서 글리코실화된 BTN1A1의 수준이 기준 수준보다 높은 경우, 대상체가 암에 걸릴 가능성이 있거나, 글리코실화된-BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응할 가능성이 있는 것으로 진단하는 단계를 추가로 포함한다.

[0547] 일부 실시양태에서, BTN1A1 수준을 측정하는 단계는 BTN1A1 이량체에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자, 예컨대, 항-BTN1A1 이량체 항체를 사용하여 BTN1A1 이량체의 수준을 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 샘플에서 BTN1A1 이량체의 수준을 측정하는 단계는 샘플에서 글리코실화된 BTN1A1의 수준을 기준 수준과 비교하고, 샘플에서 BTN1A1 이량체의 수준이 기준 수준보다 높은 경우, 대상체가 암에 걸릴 가능성이 있거나 BTN1A1 이량체에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는 분자에 반응할 가능성이 있는 것으로서 진단하는 단계를 추가로 포함한다.

[0548] 일부 실시양태에서, 기준 수준은 건강한개인으로부터의 샘플에서 BTN1A1, BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 또는 PD-L1의 발현 수준일 수 있다. 일부 실시양태에서, 기준 수준은 건강한개인의 집단으로부터의 샘플에서 BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1의 평균 또는 중간 발현 수준일 수 있다. 기준 수준은 또한 집단의 샘플로부터의 BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1의 발현 수준의 통계적 분석에 의해 결정된 컷오프 값일 수 있다. 그러한 컷오프 값을 결정하기 위하여 사용될 수 있는 통계적 방법은 본 기술분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 수신자 오퍼레이터 특성(Receiver Operator Characteristic)(ROC) 분석을 이용하여 기준 발현 비를 결정할 수 있다. ROC 분석의 리뷰는 그 전체가 참고로 본원에 포함되는 Soreide, *J Clin Pathol*, 10:1136 (2008)에서 찾을 수 있다.

[0549] 일부 실시양태에서, 대상체는 일상적인 건강진단을 받는 건강한 대상체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 건강한 대상체는 본 기술분야에 잘 알려진 소정의 위험 인자의 존재에 의해 결정될 때, 암을 가질 위험이 있다. 그러한 위험 인자는 유전적 소인,개인 질병 이력, 가족성 질병 이력, 라이프스타일 인자, 환경 인자, 진단 지표 등을 제한없이 포함한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 무증상이다. 무증상 대상체는 추가로 암의 온건한 조기 진단 지표를 나타내지만 다르게는 증상이나 통증이 없는 암 환자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 암을 갖는다.

[0550] 일부 실시양태에서, 대상체는 암을 갖는 것으로 의심된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 암에 걸릴 유전적 소인 또는 암의 가족력을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 암의 발생을 촉진하는 소정의 라이프스타일 인자에 노출되거나 또는 대상체는 암의 임상적 질병 징후를 보여준다. 일부 실시양태에서, 대상체는 암을 진단하거나 암에 걸릴 위험을 평가하기 위하여 임상적 정밀검사를 받고 있는 환자이다.

[0551] 암은 전이성 암일 수 있다. 암은 혈액암 또는 고형 종양일 수 있다. 일부 실시양태에서, 암은 백혈병, 림프종 및 골수종으로 이루어지는 군으로부터 선택된 혈액암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 폐암, 흉선암, 갑상선암, 두경부암, 전립선암, 식도암, 기관암, 뇌암, 간암, 방광암, 신장암, 위암, 췌장암, 난소암, 자궁암, 자

궁경부암, 고환암, 결장암, 직장암 또는 피부암, 흑색종성 및 비-흑색종성 피부암 둘 모두로 이루어지는 군으로부터 선택된 고형 종양이다. 암은 본원에 기술된 임의의 다른 타입의 암일 수 있다.

[0552] 일부 실시양태에서, 암은 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응 성 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 항-PD1 요법 내성 또는 불응성 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 항-PD-L1 요법 내성 또는 불응성 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암 또는 폐암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유선 암종이다. 일부 실시양태에서, 암은 루이스 폐 암종이다.

[0553] 일부 실시양태에서, 대상체는 치료경험이 없다. 일부 실시양태에서, 대상체는 암을 위한 치료(예컨대, 화학요법)을 진행중이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 병에 차도가 있다. 일부 실시양태에서, 병의 차도는 약물-유도된 것이다. 일부 실시양태에서, 병의 차도는 약물이 없는 것이다.

[0554] 일부 실시양태에서, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 또는 PD-L1을 검출하는 방법은 대상체로부터 샘플을 수득하는 단계를 포함한다. 대상체는 인간일 수 있다. 대상체는 암환자일 수 있다. 샘플은 전혈 샘플, 골수 샘플, 부분 정제된 혈액 샘플, PBMC, 조직 생검, 순환 종양 세포, 단백질 복합체 또는 엑소좀(exosome)과 같은 순환 요소일 수 있다. 일부 실시양태에서, 샘플은 혈액 샘플이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 조직 생검이다.

[0555] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 방법은 항-BTN1A1 항체, 항-BTN1A1 리간드 항체 및 항-PD-L1 항체를 비롯한, 본원에 기술된 분자를 이용하는 다양한 면역조직화학(IHC) 접근법 또는 다른 면역분석 방법을 이용하여 샘플에서 BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1을 검출하는 단계를 포함한다.

[0556] 조직 섹션의 IHC 염색은 샘플 내의 단백질의 존재를 평가하거나 검출하는 신뢰성있는 방법인 것으로 나타났다. 면역조직화학 기술은 탐침하기 위하여 항체를 이용하고 일반적으로 발색 또는 형광 방법에 의해, 인 시추에서 세포 항원을 시각화한다. 따라서, BTN1A1, BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 또는 PD-L1에 대해 특이적인 항체 또는 항혈청, 바람직하게는 다클론 항혈청, 그리고 가장 바람직하게는 모노클로날 항체가 사용될 수 있다. 하기에 보다 상세히 토의되는 바처럼, 항체는 예를 들어, 방사성 라벨, 형광 라벨, 합텐 라벨, 예를 들어, 비오틴, 또는 효소, 예를 들어, 호스 래디쉬 퍼옥시다제 또는 알카라인 포스파타제를 이용한 항체 자체의 직접 라벨링에 의해 검출될 수 있다. 대안적으로, 라벨링되지 않은 일차 항체가 일차 항체에 대해 특이적인, 항혈청, 다클론 항혈청 또는 모노클로날 항체를 포함하는 라벨링된 이차 항체와 함께 이용된다. 면역조직화학 프로토콜 및 키트는 본 기술분야에 잘 알려져 있으며 상업적으로 이용가능하다. 슬라이드 제조 및 IHC 프로세싱을 위한 자동화 시스템이 상업적으로 이용가능하다. 벤타나(Ventana)® 벤치마크(BenchMark) XT 시스템이 그러한 자동화 시스템의 예이다.

[0557] 표준 면역학적 및 면역분석 절차는 *Basic and Clinical Immunology* (Stites & Terr eds., 7th ed. 1991)에서 찾을 수 있다. 또한, 면역분석은 *Enzyme Immunoassay* (Maggio, ed., 1980); 및 상기 Harlow & Lane에서 광범위하게 리뷰된 여러 형태 중 어느 것으로든 수행될 수 있다. 일반적인 면역분석의 리뷰를 위해서는, 또한 *Methods in Cell Biology: Antibodies in Cell Biology*, volume 37 (Asai, ed. 1993); *Basic and Clinical Immunology* (Stites & Ten, eds., 7th ed. 1991)를 참고한다.

[0558] BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1을 검출하기 위하여 일반적으로 이용되는 분석은 효소-연결 면역흡착 분석(ELISA), 형광 면역흡착 분석(FIA), 화학발광 면역흡착 분석(CLIA), 방사면역측정법(RIA), 효소 멀티플라이드 면역분석(enzyme multiplied immunoassay)(EMI), 고체상 방사면역측정법(SPROA), 형광 편광(FP) 분석, 형광 공명 에너지 전이(FRET) 분석, 시간-분해 형광 공명 에너지 전이(TR-FRET) 분석 및 표면 플라즈몬 공명(SPR) 분석을 포함한다.

[0559] 일부 실시양태에서, ELISA는 샌드위치 ELISA이다. 일부 실시양태에서, ELISA는 직접 ELISA이다. 일부 실시양태에서, ELISA는 고체 지지체 상에 (예컨대, 미세적정 플레이트 웰의 또는 큐벳의 벽 상에) 본원에 기술된 분자를 고정화시키는 처음 단계를 포함한다.

[0560] BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1을 검출하기 위한 분석은 비경쟁적 분석, 예를 들어, 샌드위치 분석, 및 경쟁적 분석을 포함한다. 전형적으로, ELISA 분석과 같은 분석이 이용될 수 있다. ELISA 분석은 예를 들어, 혈액, 혈장, 혈청 또는 골수를 비롯한 다양한 조직과 샘플을 분석하기 위해 본 기술분야에 알려져 있다.

[0561] 그러한 분석 포맷을 이용하는 광범위한 면역분석 기술이 이용가능하며, 예를 들어, 미국특허 제4,016,043호, 제4,424,279호, 및 제4,018,653호를 참고하며, 이들은 그 전체가 참고로 본원에 포함된다. 이들은 비경쟁적 타입의 단일-부위 및 2-부위 또는 "샌드위치" 분석, 및 전통적 경쟁적 결합 분석을 포함한다. 이들 분석은 또한 타

겟 항원에의 라벨링된 항체의 직접 결합을 포함한다. 샌드위치 분석은 일반적으로 사용되는 분석이다. 샌드위치 분석 기술의 많은 변형이 존재한다. 예를 들어, 전형적인 포워드 검정(forward assay)에서는, 라벨링되지 않은 항-BTN1A1 항체가 고형 기질상에 고정화되고, 시험될 샘플이 결합된 항체와 접촉하게 된다. 항체-항원 복합체의 형성을 허용하기에 충분한 기간 동안, 적합한 항온처리 기간 후, 검출가능한 신호를 생산할 수 있는 리포터 분자로 라벨링된 제2 항-BTN1A1 항체가 첨가되고 항온처리되어, 항체-항원-라벨링된 항체의 또 다른 복합체의 형성을 위해 충분한 시간을 허용한다. 임의의 미반응 물질이 세척하여 제거되고, 항원의 존재는 리포터 분자에 의해 생산된 신호의 관찰에 의해 결정된다. 결과는 시각적 신호의 단순 관찰에 의해 정성적이거나, 또는 표준량의 항원을 함유한 대조군 샘플과의 비교에 의해 정량될 수 있다.

[0562] 포워드 분석의 변형은 동시 분석을 포함하며, 여기서는 샘플과 라벨링된 항체 둘 모두가 동시에 결합된 항체에 첨가된다. 쉽게 명백할 임의의 사소한 변형을 비롯하여 이들 기술은 당업자에게 잘 알려져 있다. 전형적인 포워드 샌드위치 분석에서는, 예를 들어, 제1 항-BTN1A1, 항-BTN1A1 리간드 항체 또는 제1 항-PD-L1 항체가 고형 표면에 공유적으로 또는 수동적으로 결합된다. 고형 표면은 유리 또는 중합체일 수 있으며, 가장 일반적으로 사용되는 중합체는 셀룰로스, 폴리아크릴아미드, 나일론, 폴리스티렌, 폴리비닐 클로라이드, 또는 폴리프로필렌이다. 고형 지지체는 튜브, 비드, 미세플레이트의 디스크, 또는 면역분석을 수행하기에 적합한 임의의 다른 표면 형태일 수 있다. 결합 방법은 본 기술분야에서 잘 알려져 있으며 일반적으로 가교, 공유 결합 또는 물리적 흡착으로 이루어지며, 중합체-항체 복합체는 시험 샘플을 위한 제조에서 세척된다. 그 후 시험될 샘플의 분액이 고체상 복합체에 첨가되고, 항체에 존재하는 임의의 서브유닛의 결합을 허용하기에 적합한 조건(예컨대, 실온 내지 40℃, 예를 들어, 25℃ 내지 32℃ 포함)하에서 충분한 기간동안(예컨대, 2-40분 또는 더 편리하다면 밤새) 항온처리된다. 항온처리 기간 후, 항체 서브유닛 고체상이 세척되고 건조되며 항원의 일부에 대해 특이적인 제2 항체와 항온처리된다. 제2 항-BTN1A1 항체 또는 제2 항-PD-L1 항체는 분자 마커에의 제2 항체의 결합을 나타내기 위해 사용되는 리포터 분자에 연결된다.

[0563] 일부 실시양태에서, 유세포분석(FACS)은 샘플 내의 BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1의 수준을 검출하기 위해 이용될 수 있다. 유세포분석기는 형광색소-태깅된 항체의 강도를 검출하고 보고하며, 이 강도는 BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1의 수준을 나타낸다. 비-형광 세포질 단백질은 또한 투과성이 된 세포를 염색하여 관찰될 수 있다. 염색은 소정의 분자에 결합할 수 있는 형광 화합물 또는 선택 분자에 결합하는 형광색소-태깅된 항체일 수 있다.

[0564] 효소 면역분석의 경우에, 효소는 일반적으로 글루타르알데하이드 또는 페리오데이트에 의해, 제2 항체에 접합된다. 하지만, 쉽게 인식될 것처럼, 당업자가 쉽게 이용가능한 광범위한 상이한 접합 기술이 존재한다. 일반적으로 사용되는 효소는 호스래디쉬 퍼옥시다제, 글루코스 옥시다제, 베타-갈락토시다아제, 및 알카라인 포스파타제를 포함하며, 다른 것들이 본원에서 토의된다. 특정 효소와 사용될 기질이 일반적으로 상응하는 효소에 의한 가수분해시에 검출가능한 색상 변화의 생산을 위해 선정된다. 적합한 효소의 예는 알카라인 포스파타제 및 퍼옥시다제를 포함한다. 상기한 발색 기질이 아닌, 형광 생산물을 생산하는 형광원 기질을 이용하는 것도 가능하다. 모든 경우에, 효소-라벨링된 항체는 제1 항체-분자 마커 복합체에 첨가되고, 결합한 후, 과량의 시약이 세척하여 제거된다. 그 후 적절한 기질을 함유한 용액이 항체-항원-항체의 복합체에 첨가된다. 기질은 제2 항체에 연결된 효소와 반응하여, 정성적인 시각적 신호를 생산하며, 이것은 보통 분광학적으로 정량되어, 샘플에 존재하는 BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1의 양의 지표를 제공할 수 있다. 대안적으로, 플루오르세인 및 로다민과 같은 형광 화합물이 항체의 결합 능력의 변경없이 항체에 화학적으로 결합될 수 있다. 특정 파장의 광의 조사에 의해 활성화될 경우, 형광색소-라벨링된 항체는 광 에너지를 흡착하여, 분자에서 상태를 흥분성으로 유도하고, 광현미경으로 시각적으로 검출가능한 특징적인 색상에서의 광 방출이 이어진다. EIA에서 처럼, 형광 라벨링된 항체는 제1 항체-분자 마커 복합체에 결합하도록 허용된다. 미결합 시약의 세척 후, 남은 삼원 복합체가 그 후 적절한 파장의 광에 노출되며, 관찰된 형광은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 또는 PD-L1의 존재를 나타낸다. 면역형광 및 EIA 기술은 둘 모두 본 기술분야에서 잘 확립되어 있으며 본원에서 토의된다.

[0565] 따라서, 본 발명은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 이용하여 대상체로부터의 샘플 내의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 존재 또는 발현 수준을 검출하는 단계를 포함하는, 암 진단 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 암을 갖는 것으로 진단된 대상체에게 암 치료를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 암 치료는 본원에 기술되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 임의의 암 치료법일 수 있다. 일부 실시양태에서, 암 치료는 대상체에게 치료적 유효량의 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 암 치료는 치료적 유효량의 항-PD1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하는 것을 포함한다.

[0566] **5.8 치료의 효능 평가**

[0567] 대상체에서 BTN1A1의 발현 수준은 암 발달과 상관될 수 있다. BTN1A1 수준의 증가는 암 진행을 나타낼 수 있으며, BTN1A1 수준의 감소는 암 퇴행을 나타낼 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 이용하는 치료 과정에 걸쳐 대상체의 샘플 내의 BTN1A1 수준 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 수준을 모니터함으로써 대상체에서 특정 암 치료의 효능을 평가하기 위한 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 발현 수준의 검출을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 글리코실화된 BTN1A1의 수준의 검출을 포함한다. 일부 실시양태에서 본 발명은 BTN1A1 이량체의 수준의 검출을 포함한다.

[0568] 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-1, GAL-9, NRP-2, 또는 BTLA에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는다. 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는다. 일부 실시양태에서, 분자는 GAL-9에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는다. 일부 실시양태에서, 분자는 NRP-2에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는다. 일부 실시양태에서, 분자는 BTLA에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는다.

[0569] 일부 실시양태에서, 본 발명은 또한 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 이용하는 치료 과정에 걸쳐 대상체의 샘플에서 BTN1A1 수준 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 수준을 모니터함으로써 대상체에서 특정 암 치료의 효능을 평가하기 위한 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 분자는 본원에 기술된 BTN1A1 에피토프 또는 BTN1A1 리간드 에피토프를 (예컨대, 용량-의존 방식으로) 경쟁적으로 차단하는 항원 결합 단편을 가질 수 있다.

[0570] 일부 실시양태에서, 본 발명은 a) 치료 과정에 걸쳐서 제1 및 적어도 하나의 후속 시점에서 환자로부터 수득한 둘 이상의 샘플을 본원에 기술된 분자와 접촉시키고; b) 둘 이상의 샘플내의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)의 수준을 측정하고, c) 둘 이상의 샘플내의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준을 비교하는 단계를 포함하며, 이때 제1 시점에서 수득된 샘플내의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준에 비하여 후속 시점에서 수득된 샘플내의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 감소된 수준은 암 치료가 효과있음을 나타내는, 환자에서 특정 암치료의 효능을 평가하는 방법을 제공한다. 분자는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 수준은 글리코실화된 BTN1A1의 수준일 수 있다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 수준은 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)의 수준일 수 있다.

[0571] 일부 실시양태에서, 본 방법은 치료 과정에 걸쳐서 제1 및 적어도 하나의 후속 시점에서 환자로부터 수득한 둘 이상의 샘플을 본원에 기술된 분자와 접촉시켜 분자와 샘플 내의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 사이에 복합체를 형성하고, 샘플 내의 복합체를 측정하여 둘 이상의 샘플 내의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준을 측정하는 단계를 포함한다.

[0572] 일부 실시양태에서, 둘 이상의 샘플로부터의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준은 하나의 분석에서 측정된다. 다른 실시양태에서, 둘 이상의 샘플로부터의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준은 다수의 분석에서 측정된다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준은 샘플이 대상체로부터 수득된 날과 동일한 날에 측정된다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준은 대상체로부터 수득된 샘플의 저장없이 측정된다.

[0573] 암환자로부터의 샘플은 전혈 샘플, 골수 샘플, 부분 정제된 혈액 샘플, PBMC, 조직 생검, 순환 종양 세포, 단백질 복합체 또는 엑소좀과 같은 순환 요소일 수 있다. 일부 실시양태에서, 샘플은 혈액 샘플이다. 일부 실시양태에서,샘플은 조직 생검이다. 당업자는 본원에 기술되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 샘플 내의 단백질의 발현 수준을 결정하는 임의의 방법이 암환자로부터의 샘플 내의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있음을 이해할 것이다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 면역분석을 포함한다. 면역분석은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드를 탐침하고 시각화하기 위하여 본원에 기술된 분자를 이용하는 것을 포함하는, 면역조직화학 접근법일 수 있다. 면역분석은 FIA, CLIA, RIA, EMI, SPROA, FP 분석, FRET 분석, TR-FRET 분석 또는 SPR 분석을 포함할 수 있다.

[0574] 암 치료 또는 암 치료법은 수술요법, 화학요법, 생물학적 표적화된 치료법, 소분자 표적화된 치료법, 방사선요법, 냉동요법, 호르몬요법, 면역요법 및 사이토카인 요법을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 본원에 기술되거나 또는 다르게는 본 기술분야에 알려진 임의의 치료법일 수 있다. 일부 실시양태에서, 암 치료는 임상적개발에서의 실험적 암 치료를 비롯한 FDA-승인된 암 치료를 포함한다. 일부 실시양태에서, 암 치료는 둘 이상의 약물 또는 두 가지 이상 타입의 치료법의 조합을 이용한 치료를 포함한다.

[0575] 일부 실시양태에서, 암 치료는 암환자에게 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 항체를 투여하는 것을 포함한다.

[0576] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 샘플은 암 치료 과정의 시작시에 수득되었으며 하나 이상의 샘플은 치료 과정에 걸쳐서 나중 시점에 수득되었다. 일부 실시양태에서, 후속 시점은 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 15 이상, 20 이상, 25 이상 또는 30 이상 시점이다.

[0577] 일부 실시양태에서, 본 방법은 만일 치료가 효과가 없는 것으로 결정되면 치료를 조정하는 단계를 추가로 포함한다. 치료의 조정은 예를 들어, 약물 치료의 용량의 조정, 약물 치료의 빈도의 증가, 상이한 약물 또는 약물의 조합을 이용한 치료, 또는 치료의 종결을 포함할 수 있다.

[0578] 일부 실시양태에서, 본 방법은 만일 치료가 효과가 있는 것으로 결정되면 치료를 반복하는 단계를 추가로 포함한다.

[0579] 일부 실시양태에서, 제1 시점에 수득된 샘플 내의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 수준은 후속 시점에서 10% 초과, 20% 초과, 30% 초과, 40% 초과, 50% 초과, 60% 초과, 70% 초과, 80% 초과, 90% 초과, 95% 초과, 또는 99% 초과로 감소된다.

[0580] **5.9 환자 선정**

[0581] 본원은 환자로부터의 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 존재 또는 발현 수준을 결정함으로써 암 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위해 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-2, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 분자와 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 사이에 복합체를 형성하기 위해 샘플을 본원에 기술된 분자와 접촉시킴으로써 암 환자로부터의 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드를 검출하고, 복합체가 검출되는 경우, 대상체가 암 치료에 반응할 가능성이 있을 것으로 예측하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 글리코실화된 BTN1A1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 사용하여 샘플에서 글리코실화된 BTN1A1의 존재를 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 사용하여 샘플에서 BTN1A1 이량체 (예컨대, 글리코실화된 BTN1A1 이량체)의 존재를 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 PD-L1의 존재 또는 발현 수준을 결정하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 사용하여 샘플에서 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 존재를 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 GAL-1에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 사용하여 샘플에서 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1의 존재를 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 GAL-9에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 사용하여 샘플에서 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-9의 존재를 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 NRP-2에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 사용하여 샘플에서 BTN1A1 리간드, 예컨대, NRP-2의 존재를 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 BTLA에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자를 사용하여 샘플에서 BTN1A1 리간드, 예컨대, BTLA의 존재를 검출하는 단계를 포함한다.

[0582] 다른 실시양태에서, 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)를 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 검출하는 단계는 본원에 기술된 분자를 사용하여 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 발현 수준을, 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드를 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 검출하는 단계는 대상체로부터의 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 발현 수준을 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과의 조합으로 기준 수준과 비교하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 항체를 사용하여 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 발현 수준, 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 측정하고, 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 발현 수준을 예컨대, 단독 또는 PD-L1과 함께 기준 수준과 비교하고, 샘플에서 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드의 발현 수준이 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 기준 수준보다 높고, 임의로, PD-L1의 발현 수준이 PD-L1 기준 레벨보다 낮은 경우, 대상체가 암 치료에 반응할 가능성이 있을 것으로 예측하는 단계를 포함한다.

[0583] 일부 실시양태에서, BTN1A1 수준 또는 BTN1A1 리간드 수준을 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 측정하는 단계는 항-GAL-1 항체, 항-GAL-9 항체, 항-NRP-2 항체 또는 항-BTLA 항체를 사용하여 GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA의 수준을 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 수준 또는 BTN1A1 리간드 수준을 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 측정하는 단계는 항-GAL-1 항체를 사용하여

GAL-1의 수준을 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 수준 또는 BTN1A1 리간드 수준을 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 측정하는 단계는 항-GAL-9 항체를 사용하여 GAL-9의 수준을 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 수준 또는 BTN1A1 리간드 수준을 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 측정하는 단계는 항-NRP-2 항체를 사용하여 NRP-2의 수준을 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, BTN1A1 수준 또는 BTN1A1 리간드 수준을 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 측정하는 단계는 항-BTLA 항체를 사용하여 BTLA의 수준을 예컨대, 단독으로 또는 PD-L1과 함께 측정하는 단계를 포함한다.

[0584] 암 환자로부터의 샘플은 전혈 샘플, 골수 샘플, 부분적으로 정제된 혈액 샘플, PBMC, 조직 생검, 순환 종양 세포, 순환 요소, 예컨대, 단백질 복합체 또는 엑소좀일 수 있다. 일부 실시양태에서, 샘플은 혈액 샘플이다. BTN1A1, BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA) 또는 PD-L1의 존재를 검출하거나 BTN1A1, BTN1A1 리간드 또는 PD-L1의 발현 수준을 측정하는 방법은 본원에 기술되거나 당업계에 공지되어 있다.

[0585] 암 치료 또는 암 치료법은 수술요법, 화학요법, 생물학적 표적화된 치료법, 소분자 표적화된 치료법, 방사선요법, 냉동요법, 호르몬요법, 면역요법 및 사이토카인 요법을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 본원에 기술되거나 또는 다르게는 본 기술분야에 알려진 임의의 치료법일 수 있다. 일부 실시양태에서, 암 치료는 임상적개발에서의 실험적 암 치료를 비롯한 FDA-승인된 암 치료를 포함한다. 일부 실시양태에서, 암 치료는 둘 이상의 약물 또는 두 가지 이상 타입의 치료법의 조합을 이용한 치료를 포함한다.

[0586] 일부 실시양태에서, 암 치료는 암 환자에게 항-BTN1A1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 암 치료는 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법을 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0587] **5.10 키트**

[0588] 본 발명은 본원에 기술된 분자 및 하나 이상의 보조제를 함유한 키트를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 본원에 제공된 치료법을 제조 및/또는 투여하기 위한 키트를 제공한다. 키트는 본원에 기술된 약학 조성물 중 임의의 것을 함유하는 하나 이상의 밀봉된 바이알을 가질 수 있다. 키트는 예를 들어, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자, 및 그 분자를 제조, 제형화 및/또는 투여하거나 본원에 기술된 방법의 하나 이상의 단계를 수행하기 위한 시약을 포함할 수 있다.

[0589] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTN1A1 리간드, 예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2 또는 BTLA에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-1에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-9에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 NRP-2에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTLA에 면역특이적으로 결합한다.

[0590] 일부 실시양태에서, 분자는 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 항체는 인간화된 항체 또는 인간 항체이다.

[0591] 일부 실시양태에서, 키트는 제2 항암제를 추가로 포함한다. 제2 항암제는 화학요법제, 면역요법제, 호르몬치료제, 또는 사이토카인일 수 있다.

[0592] 일부 실시양태에서, 제2 항암제는 항-PD1-요법 또는 항-PD-L1 요법이다. 일부 실시양태에서, 제2 항암제는 항-PD1-요법이다. 일부 실시양태에서, 제2 항암제는 항-PD-L1 요법이다. 일부 실시양태에서, 제2 항암제는 항-PD1 요법 및 항-PD-L1 요법이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법 또는 항-PD-L1 요법은 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 또는 항체 단편, 또는 가용성 PD-1 또는 PD-L1 리간드, 또는 Fc-융합 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 니볼루맙(Opdivo), 펨브롤리주맙 (Keytruda), 피딜리주맙, AMP-514 또는 AMP-224를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 요법은 국제특허출원 PCT/US2016/64394호에 제공된 항-PD-1 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C 또는 MDX-1105를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 요법은 WO 2016/160792 A1호로 공개된 국제특허출원 PCT/US2016/024691호, 및 국제특허출원 PCT/US2017/024027호에 제공된 항체를 포함한다.

[0593] 본 발명은 또한 암을 위한 동반 진단으로서 사용될 수 있는 키트를 제공한다. 일부 실시양태에서, 키트는 암 진단을 제공하거나 돕기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 키트는 암 치료의 효능을 평가하기 위하여 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 키트는 암 치료에 대한 환자의 반응성을 예측하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 키트는 특정 암 치료를 위한 환자를 선정하기 위해 사용될 수 있다. 키트는 예를 들어, 샘플 내의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드를 검출하기 위한 시약을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 키트는 PD-L1

(예컨대, 항-PD-L1 항체)를 검출하기 위한 시약을 포함한다.

[0594] 시약은 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BTLA)에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 분자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 GAL-9에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 NRP-2에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 BTLA에 결합한다.

[0595] 암 치료법은 수술요법, 화학요법, 생물학적 표적화된 치료법, 소분자 표적화된 치료법, 방사선요법, 냉동요법, 호르몬요법, 면역요법 및 사이토카인 요법을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 본원에 기술되거나 또는 다르게는 본 기술분야에 알려진 임의의 치료법일 수 있다. 일부 실시양태에서, 암 치료법은 항-GAL-1 항체, 항-GAL-9 항체, 항-NRP-2 항체, 및 항-BTLA 항체를 비롯한, 항-BTN1A1 항체 또는 항-BTN1A1 리간드 항체와 같은, BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 단편을 갖는 본원에 기술된 분자를 암 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

[0596] 일부 실시양태에서, 진단 키트를 위한 보조 시약은 이차 항체, 검출 시약, 고정화 버퍼, 차단 버퍼, 세척 버퍼, 검출 버퍼, 또는 임의의 그 조합일 수 있다.

[0597] 이차 항체는 예를 들어, 항-인간 IgA 항체, 항-인간 IgD 항체, 항-인간 IgE 항체, 항-인간 IgG 항체, 또는 항-인간 IgM 항체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 이차 항체는 항-소 항체이다. 이차 검출 항체는 모노클로날 또는 다클론 항체일 수 있다. 이차 항체는 마우스, 래트, 햄스터, 염소, 낙타, 닭, 토끼 및 기타를 비롯한, 임의의 포유 동물 유기체로부터 유도될 수 있다. 이차 항체는 효소(예컨대, 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRP), 알카라인 포스파타제(AP), 루시퍼라제 등) 또는 염료(예컨대, 비색 염료, 형광 염료, 형광 공명 에너지 전이(FRET)-염료, 시간-분해(TR)-FRET 염료 등)에 접합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 이차 항체는 HRP-접합된 다클론 토끼-항-인간 IgG 항체이다.

[0598] 일부 양태에서, 검출 시약은 형광 검출 시약 또는 발광 검출 시약을 함유한다. 일부 다른 양태에서, 발광 검출 시약은 루미놀 또는 루시페린을 함유한다.

[0599] 트리스(하이드록시메틸)아미노메탄(트리스)-계 버퍼 (예컨대, 트리스-완충 염수, TBS) 또는 포스페이트 버퍼 (예컨대, 포스페이트-완충 염수, PBS)와 같은 많은 세척 버퍼가 본 기술분야에 알려져 있다. 세척 버퍼는 이온성 또는 비이온성 세정제와 같은 세정제를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 세척 버퍼는 트윈®20 (예컨대, 약 0.05% 트윈®20)을 비롯한 PBS 버퍼 (예컨대, 약 pH 7.4)이다.

[0600] 본 기술분야에 알려진 임의의 희석 버퍼가 본 발명의 키트에 포함될 수 있다. 희석 버퍼는 담체 단백질 (예컨대, 소 혈청 알부민, BSA) 및 세정제 (예컨대, 트윈®20)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 희석 버퍼는 BSA(예컨대, 약 1% BSA) 및 트윈®20 (예컨대, 약 0.05% 트윈®20)을 비롯한 PBS (예컨대, 약 pH 74)이다.

[0601] 일부 실시양태에서, 검출 시약은 비색 검출 시약, 형광 검출 시약, 또는 화학발광 검출 시약이다. 일부 실시양태에서, 비색 검출 시약은 PNPP(p-니트로페닐 포스페이트), ABTS(2,2'-아지노-비스(3-에틸벤조티아졸린-6-설폰산)) 또는 OPD(o-페닐렌디아민)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 형광 검출 시약은 퀀타블루(QuantaBlu)TM 또는 퀀타레드(QuantaRed)TM (써모 사이언티픽(Thermo Scientific), 매사추세츠주 월댐)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 발광 검출 시약은 루미놀 또는 루시페린을 포함한다. 일부 실시양태에서, 검출 시약은 기폭제(trigger) (예컨대, H_2O_2) 및 추적자 (예컨대, 이소루미놀-접합체)를 포함한다.

[0602] 본 기술분야에 알려진 임의의 검출 버퍼가 본 발명의 키트에 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서 검출 버퍼는 시트레이트-포스페이트 버퍼 (예컨대, 약 pH 4.2)이다.

[0603] 본 기술분야에 알려진 임의의 정지 용액이 본 발명의 키트에 포함될 수 있다. 본 발명의 정지 용액은 검출 시약 및 상응하는 분석 신호의 추가 발생을 종결시키거나 지연시킨다. 정지 용액은 예를 들어, 저-pH 버퍼 (예컨대, 글리신-버퍼, pH 2.0), 카오트로픽제(chaotrophic agent)(예컨대, 구아니디늄 클로라이드, 소듐-도데실 설페이트(SDS)) 또는 환원제 (예컨대, 디티오트레이톨, 머캅토에탄올) 등을 포함할 수 있다.

[0604] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 키트는 자동화 분석 시스템을 위한 세척 시약을 포함한다. 자동화 분석 시스템은 임의의 제조사에 의한 시스템을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 자동화 분석 시스템은 예를 들어, 바이오-플래시(BIO-FLASH)TM, 베스트(BEST) 2000TM, DS2TM, ELx50 와셔(WASHER), ELx800 와셔, ELx800 리더(READER), 및 오토블랏(Autoblot) S20TM을 포함한다. 세척 시약은 본 기술분야에 알려진 임의의 세척 시약을 포

함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 세척 시약은 자동화 분석 시스템의 제조사에 의해 권장되는 세척 시약이다.

[0605] 일부 실시양태에서, 키트는 또한 에펜돌프 튜브, 분석 플레이트, 시린지, 병 또는 튜브와 같은, 키트의 성분과 반응하지 않는 용기인 적합한 용기 수단을 포함할 수 있다. 용기는 플라스틱 또는 유리와 같은 멸균가능한 물질로 만들어질 수 있다.

[0606] 일부 실시양태에서, 키트는 고형 지지체를 추가로 포함한다. 고형 지지체는 본 발명의 단백질이 그 위에 고정화될 수 있는 본 기술분야에 알려진 임의의 지지체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 고형 기질은 미세적정 웰 플레이트, 슬라이드 (예컨대, 유리 슬라이드), 칩 (예컨대, 단백질 칩, 바이오센서 칩, 예를 들어, 비아코어 칩), 미세유체 카트리지, 큐벳, 비드 (예컨대, 자기 비드) 또는 수지이다.

[0607] 일부 다른 실시양태에서, 본원에 제공된 키트는 대상체로부터의 샘플내의 BTN1A1 또는 BTN1A1 리간드 (예컨대, GAL-1, GAL-9, NRP-2, BLTA)를 검출하기 위해 키트의 서브유닛을 이용하기 위한 설명서를 포함한다.

[0608] 본원에 제공된 키트는 특정 분석 기술에 맞춰질 수 있다. 일부 실시양태에서, 키트는 ELISA 키트, 닷 블랏(Dot Blot) 키트, 화학발광 면역분석(CIA) 키트 또는 멀티플렉스 키트이다. 일부 실시양태에서, ELSA 키트는 세척 버퍼, 샘플 희석제, 이차 항체-효소 접합체, 검출 시약 및 정지 용액을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 닷 블랏 키트는 세척 버퍼, 샘플 희석제, 이차 항체-효소 접합체, 검출 시약 및 정지 용액을 포함한다. 일부 실시양태에서, CIA 키트는 세척 버퍼, 샘플 희석제, 추적자 (예컨대, 이소루미놀-접합체) 및 기폭제 (예컨대, H_2O_2)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 멀티플렉스 키트는 세척 버퍼, 샘플 희석제, 이차 항체-효소 접합체를 포함한다.

[0609] 일부 실시양태에서, 본 발명의 키트는 키트가 암의 진단, 예후 또는 모니터링을 위해 이용됨을 표시하는 라벨을 포함하는 포장을 갖는다. 일부 실시양태에서, 키트는 암 치료를 위한 동반 진단으로서 사용된다. 일부 다른 실시양태에서, 포장은 키트가 암 약물과 사용됨을 나타내는 라벨을 갖는다. 일부 실시양태에서, 키트는 특정 암 치료를 위해 환자를 선정하기 위해 사용된다.

[0610] 일부 실시양태에서, 키트의 포장은 FDA-승인된 라벨을 포함한다. FDA 승인된 라벨은 FDA-승인된 용도의 통보 및 설명서를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 키트는 연구 용도 한정(RUO) 또는 조사 용도 한정(IUO)을 위해 라벨링된다. 일부 실시양태에서, 키트는 인 비트로 진단 용도(IVD)를 위해 라벨링된다. 일부 실시양태에서, 키트는 타이틀 21, 미국연방규정집(Code of Federal Regulations), 섹션 809, 서브파트 B(21 CFR 89, Subpart B)에 따라 라벨링된다.

[0611] ## 6. 실시예

[0612] 본원에 기술된 다양한 실시형태의 특성과 사상을 실질적으로 변화시키지 않는 변형 또한 고려됨이 이해된다. 따라서, 하기의 실시예는 예시하기 위한 것이며 어떤 방식으로도 제한하고자 하는 것이 아니다.

[0613] ### 6.1 실시예 1: BTN1A1 리간드로서 갈렉틴-1, 갈렉틴-9 및 뉴로필린-2의 식별

[0614] BTN1A1 리간드를 확인하기 위해 Retrogenix™ 세포 마이크로어레이 기술 (Whaley Bridge, United Kingdom)을 사용하여 원형질 막 단백질 검정을 스크리닝하였다.

[0615] 간략하게, 원형질막 단백질을 코딩하는 발현 벡터를 슬라이드 상에 배열하고 HEK293 세포로 역 형질주입시켜 후보 BTN1A1 리간드를 발현하는 세포의 마이크로어레이를 생성하였다. 후보 BTN1A1 리간드에 대한 BTN1A1-Fc의 결합은 형광 영상화에 의해 검출되었다. 공동-면역침전 및 표면-플라즈몬 공명 검정 (Biacore™)을 포함하는 동일한 세포 마이크로어레이 기술 및 2차 검정을 사용하여 식별된 BTN1A1 리간드를 확인하였다.

[0616] *1차 스크린 및 재확인*

[0617] 각각 전장 인간 혈장 막 단백질을 코딩하는 4550 발현 벡터를 13개의 마이크로어레이 슬라이드 ("슬라이드 세트")에 걸쳐 이중으로 배열하였다. 3500개 이상의 어레이된 발현 벡터가 독특한 유전자를 코딩하였다. 하나의 발현 벡터 대조군 (pIRES-hEGFR-IRES-ZsGreen1)을 각 슬라이드에서 4 회씩 스폿팅하여 각 슬라이드에서 형질주입 효율의 최소 역치가 충족되거나 초과되었음을 확인하였다 (1.5 백그라운드(background)에 대한 pIRES-EGFR-ZsGreen 벡터의 평균 ZsGreen 신호). 인간 HEK293 세포를 역 형질주입 및 단백질 발현에 사용하였다. BTN1A1-ECD-Fc를 세포 고정 후 최종 농도 20 μg/ml에서 시험 리간드로서 각 슬라이드에 첨가하였다. 항-IgG 항체 및 형광 영상화를 사용하여 BTN1A1 리간드를 발현하는 HEK293 세포 또는 음성 대조군 세포에 대한 BTN1A1-Fc 결합을

검출하였다. 1차 스크린 슬라이드 세트의 13개의 마이크로어레이 슬라이드 각각에 대해 2개의 복제물 슬라이드를 스크리닝하였다. 형광 이미지를 분석하고 ImageQuant 소프트웨어 (GE)를 사용하여 (형질주입 효율을 위해) 정량화하였다. 1차 '히트'는 백그라운드 수준에 비해 증가된 신호를 나타내는 마이크로어레이 슬라이드의 이중 스팟으로 정의되었다. ImageQuant 소프트웨어에 의해 격자 이미지의 육안 검사를 통해 1차 히트를 식별하였다. 1차 히트는 이중 스팟의 형광 강도에 따라 '강함', '중간', '약함' 또는 '매우 약함'으로 분류되었다.

[0618] 세포 마이크로어레이 분석에서 1차 히트를 재확인하였다. 1차 히트를 코딩하는 벡터는 다중 슬라이드 세트에 배열시켰다. 확인 검정에서 각각의 슬라이드는 또한 CD86 양성 대조군 및 EGFR 음성 대조군을 포함하였다. 후보 BTN1A1-리간드는 HEK293 세포에서 발현되었고 세포를 고정시켰다. 이어서, 상이한 슬라이드를 20μg/ml BTN1A1-Fc, 20μg/ml CTLA4-Fc로 처리하거나 리간드를 처리하지 않았다(검출 항체 만)(처리당 n = 2 슬라이드).

[0619] BTN1A1-Fc는 일반적으로 2μg/ml, 5μg/ml 또는 20μg/ml로 시험되는 경우 고정된 형질주입되지 않은 HEK293 슬라이드에 낮은 백그라운드 결합만을 나타냈다. 1차 스크린 (26개의 슬라이드) 및 2차 확인 검정 (14개의 슬라이드)에서 총 40개의 슬라이드를 스크리닝하였다. 형질주입 효율이 목표 형질주입 효율 역치를 초과하였다. 1차 스크린에서, 11개의 이중 히트 (발현 벡터 클론)가 식별되었다. 11개의 1차 히트는 매우 약한 것부터 강한 것까지 다양한 스폿 강도 (백그라운드에 대한 신호)를 포함하였다. 후보 BTN1A1 리간드의 동일성을 확인하기 위해 식별된 벡터를 시퀀싱하였다. 11개의 히트, CD86/ZsGreen1 (양성 대조군) 또는 EGFR/ZsGreen1 (음성 대조군)을 코딩하는 벡터를 2차 확인 검정에서 시험하였다.

[0620] 도 1은 예시적인 재확인 검정의 결과를 나타내는 이미지를 도시한다. CTLA4-hFc (가용성 리간드)와 CD86 (세포막 단백질)의 양성 대조군 상호 작용에 대한 강한 결합 신호가 관찰되었으며, 이는 검정 조건을 검증하였다. 재확인 검정에서 3개의 1차 히트 갈렉틴-1 (Gal-1), 갈렉틴-9 (Gal-9) 및 뉴로필린-2 (NRP-2)는 BTN1A1-Fc와의 특이적 결합을 나타내지만 음성 대조군과는 특이적인 결합을 나타내지 않았다. 따라서, Gal-1, Gal-9 및 Nrp2는 BTN1A1-리간드로서 확인되었다.

[0621] *공동-면역침전*

[0622] Gal-1 및 Gal-9는 공동-면역침전 (co-IP)에 의해 BTN1A1 리간드로서 추가로 검증되었다. BTN1A1-Flag는 HEK293T 세포에서 단독으로 또는 Myc- 및 Flag-이중 태그된 Gal-1 또는 Gal-9와 조합하여 발현되었다 (도 2a). 이어서, 면역침전 (가라앉음(pull-down))을 항-Myc 또는 항-BTN1A1 항체로 수행하였다 (도 2b). 면역침전물을 BTN1A1과 Gal-1 또는 Gal-9 사이의 상호 작용을 탐지하기 위해 SDS-PAGE로 분석하였다 (도 2c). 항-Myc 항체를 사용한 Myc-태그된 Gal-1 및 Gal-9의 가라앉음(pull-down)은 Flag-태그된 BTN1A1의 co-IP를 초래하였다(도 2c). BTN1A1-Gal-1 및 BTN1A1-Gal9 상호 작용의 특이성을 추가로 확인하기 위해, BTN1A1은 BTN1A1-특이적 항체 STC810을 사용하여 가라앉혔다(pulled-down). STC810를 사용한 BTN1A1 가라앉음(pull down)은 Gal-1 및 Gal-9의 co-IP를 초래하였다(도 2c). 이러한 결과는 BTN1A1의 진정한 리간드로서 Gal-1 및 Gal-9를 추가로 검증하였다.

[0623] *표면 플라즈몬 공명*

[0624] BTN1A1-Gal-1 상호 작용은 표면 플라즈몬 공명 (Biacore™) 결합 검정에서 추가로 분석되었다. BTN1A1-Fc 융합 단백질을 단백질 A-코팅된 CM5 칩 상에 포획하고, Gal-1 리간드를 5개 이상의 상이한 농도로 CM5 칩 상에 주입하였다. 도 3a-d는 글리코실화된 BTN1A1 야생형 (BTN1A1,도 3a), 비-글리코실화된 BTN1A1 돌연변이체 (BTN1A1-2NQ) 또는 BTN1A1 패밀리의 다른 구성원(BTN2A1 - 도 3c; BTN3A2 - 도 3d)에 Gal-1-결합을 나타내는 예시적인 BIAcore 센소그램을 도시한다. Gal-1은 비-글리코실화된 BTN1A1-2NQ 돌연변이 단백질에 검출 가능하게 결합하는 것으로 밝혀지지 않았으며(도 3b), 이는 Gal-1이 당 특이적 방식으로 BTN1A1에 결합한다는 것을 입증한다. 또한, Gal-1은 BTN1A1 패밀리의 다른 구성원, 예컨대, BTN2A1 (도 3c) 또는 BTN3A2 (도 3d)에 검출 가능하게 결합하는 것으로 밝혀지지 않았으며, 이는 Gal-1이 BTN1A1 패밀리 내에서 BTN1A1의 선택적 리간드임을 입증한다.

[0625] **6.2 실시예 2: BTN1A1 리간드로서 BLTA의 확인**

[0626] *β-갈락토시다아제 상보성 검정*

[0627] 상보적 β-갈락토시다아제 (β-gal) 결실 돌연변이체에 융합된 목적 단백질로 구성된 키메라 단백질은 세포 내 단백질 복합체를 분석하는데 유용하다. 비기능적으로 약하게 상보적인 β-gal 펩티드 (Δα 및 Δω)의 강요된 상호 작용으로 인한 β-Gal 활성은 키메라의 비 β-gal 부분의 상호 작용 정도의 척도로서 작용할 수 있다. β-

gal 상보성을 사용하여, 원형질 막에서 발생하는 시스-작용 단백질-단백질 상호 작용이 검출될 수 있다.

[0628] 도 4a는 β-gal 상보성 검정의 설계를 나타내는 그래프를 도시한다. β-갈락토시다아제 상보성 검정은 전형적으로 β-갈락토시다아제 (β-gal)의 2개의 비활성 단편, 효소 공여체 (ED) 및 효소 수용체 (EA)를 사용하여 설계되어, 활성 β-gal 효소를 생성하였다. ED로서의 N-말단 45개의 아미노산 단편 ProLinker (PK로 지정됨)를 후보 BTN1A1 리간드 단백질에 융합시키고 BTN1A1을 EA에 융합시켰다. 두 단백질 사이의 상호 작용은 PK와 EA 사이의 상보성을 촉진하여, 기질을 절단하여 화학발광 신호를 생성하는 활성 β-gal 효소의 형성을 초래할 수 있다. BTN1A1-EA 세포주는 큰 β-gal 효소 리포터 단편 EA (효소 수용체)를 안정적으로 발현하도록 조작되었다. PK에 융합된 BTN1A1-리간드 후보를 EA 모 세포주에 형질주입시켰다. β-갈락토시다아제 활성은 직접적인 BTN1A1-BTN1A1-리간드 상호 작용의 지시자로서 측정되었다. BTN1A1-EA 및 BTLA-PK 또는 Nrp-2-PK의 β-갈락토시다아제 상보성이 관찰되었다(도 4b). β-gal 상보성 검정의 결과는 BTLA 및 Nrp-2가 시스-작용 방식으로 BTN1A1과 상호작용함을 보여준다.

[0629] *공동-면역침전*

[0630] β-Gal 상보성 스크린에서 식별된 BTN1A1 리간드를 검증하기 위해 BTN1A1을 BTLA 및 Nrp-2로 공동형질주입시키고 공동-면역침전시켰다. 도 5는 BTN1A1-BTLA Co-IP 실험의 대표적인 결과를 갖는 웨스턴 블랏의 이미지를 보여준다. Co-IP는 도 5에 도시된 바와 같이 항-FLAG 또는 항-Myc 항체로 수행되었다. BTN1A1-Flag 및 BTLA-Myc 또는 Nrp-2-Myc를 발현하는 HEK293T 세포의 침전물을 SDS-PAGE에 의해 분석하였다 (Nrp-2 데이터는 도 5에 도시되지 않음). 항-FLAG 항체를 이용한 Co-IP는 BTLA-Myc 또는 Nrp-2-Myc의 공동 침전을 초래하였다. 관찰된 BTN1A1-BTN1A1-리간드 상호 작용의 특이성을 확인하기 위해, 항-Myc 항체를 사용하여 세포 용해물로부터 BTLA-Myc 또는 Nrp-2-My를 가라앉혔다(pull-down). BTN1A1-Flag는 BTLA-Myc 또는 Nrp-2-My와 공동-침전하는 것으로 밝혀졌으며, BTLA 및 Nrp-2가 BTN1A1의 진정한 리간드임을 입증하였다.

[0631] *표면 플라즈몬 공명*

[0632] BTN1A1과 BTLA 사이의 상호 작용은 Biacore™ 검정에서 추가로 분석되었다. BTN1A1-Fc 융합 단백질을 단백질 A-코팅된 CM5 칩 상에 포획하고, BTLA 또는 Gal-1을 3.2 μM로 칩에 주입하였다. 도 6a는 BTN1A1-Fc에 대한 Gal-1 및 BTLA 결합을 나타내는 센소그램을 도시한다. Gal-1 결합은 센소그램에서 양성 반응 신호로 표시된다. Biacore™ 칩상의 고정화된 BTN1A1-Fc에 대한 BTLA 결합은 센소그램에서의 반응 신호의 감소 (음성 신호)를 야기하였다. 도 6b는 0.4 μM, 0.8 μM, 1.6 μM, 3.2 μM 또는 6.4 μM로 고정화된 BTN1A1-Fc를 갖는 Biacore™ 칩 상에 BTLA를 주입하는 경우, 관찰된 반응 신호의 용량 의존적 감소를 나타내는 센소그램을 도시한다. 특정 이론에 얽매이지 않고, BTN1A1에 대한 BTLA 결합으로 인한 SPR 신호의 관찰된 감소는 예컨대, BTN1A1-BTLA 복합체 형성 시 BTN1A1에서 입체구조적 변화를 나타내는 것으로 여겨진다.

[0633] *생물층 간섭계*

[0634] 도 7은 Octet® 시스템 (FortéBio, Menlo Park, CA)에서 BTN1A1-Fc에 대한 BTLA 결합을 분석하는 생물층 간섭계 (BLI) 실험의 결과를 나타내는 센소그램을 도시한다. FortéBio Octet® RED96 시스템의 항-hIgG Fc 캡처 (AHC) 팁은 BTN1A1-Fc로 코팅되었다. 코팅된 바이오센서 팁을 증가하는 농도의 BTLA (0.8 μM, 1.6 μM 또는 3.2 μM)의 용액에 침지시키고 BTN1A1에 대한 BTLA 결합을 모니터링하였다. 표 XX는 각각의 BTN1A1 농도에 대해개별적으로 결정된 BTN1A1-BTLA 상호 작용의 결합 역동학 및 해리 상수에 대한 결과를 보여준다. FortéBio Data Analysis 9.0 소프트웨어를 사용하여 정상 상태 분석으로 전체 K_D 값을 계산하였다. 이 계산에 따르면, BTLA는 17 μM ± 0.81 μM의 K_D로 BTN1A1에 결합하는 것으로 결정되었다.

[0635]

로딩 샘플 ID	샘플 ID	농도 (μM)	반응	K_D (M)	k_{on}(1/Ms)	k_{dis}(1/s)	RMax
BTN1A1-Fc	BTLA-His	6.4	0.0840	8.43E-07	9.23E+02	7.78E-04	0.0849
BTN1A1-Fc	BTLA-His	3.2	0.0436	5.79E-07	1.26E+03	7.28E-04	0.0476
BTN1A1-Fc	BTLA-His	1.6	0.0227	7.24E-07	1.65E+03	1.19E-03	0.0336
BTN1A1-Fc	BTLA-His	0.8	0.0067	9.53E-06	7.98E+01	7.61E-04	0.2222

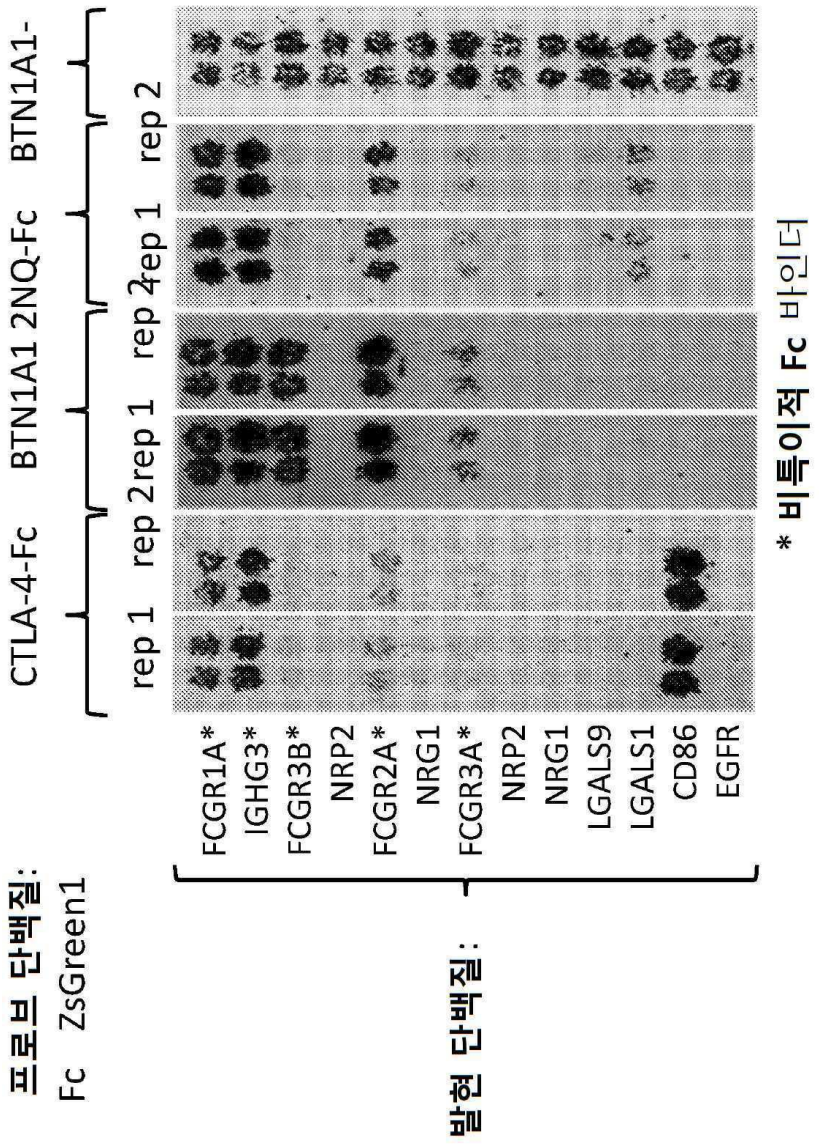
[0636] * * *

[0637] 본 출원 전체에 걸쳐서 다양한 간행물이 참조되었다. 이들 간행물의 내용 전체는 본 발명이 관련되는 본 기술분

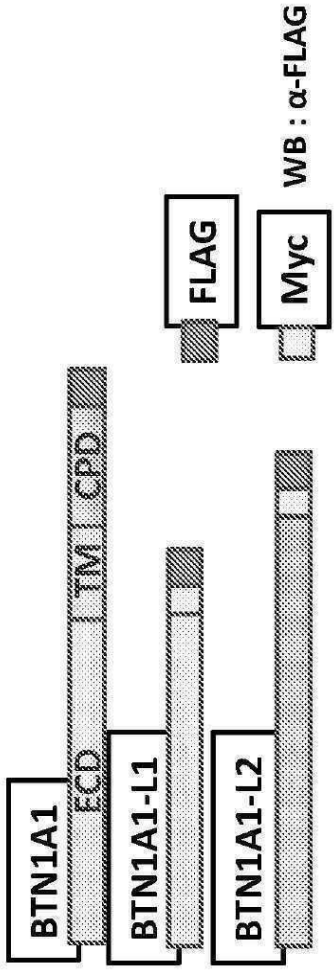
야의 기술을 더욱 완전히 개시하기 위하여 본 출원에서 참고로 포함된다. 소정의 구체적 실시형태의 실시예가 본원에 제공된 한편, 다양한 변화와 변형이 이루어질 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다. 그러한 변형 역시 첨부된 청구범위의 범주내에 속하는 것이다.

도면

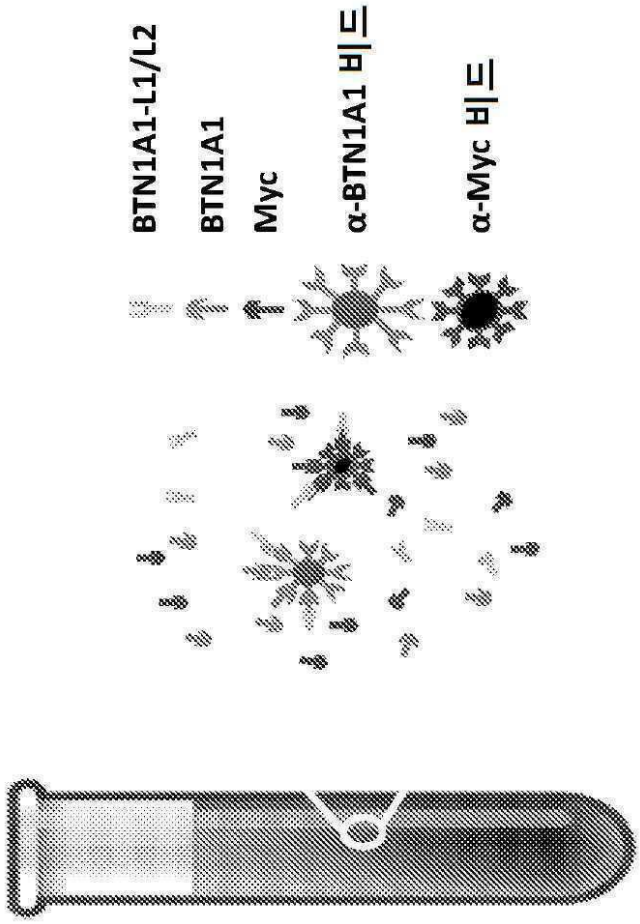
도면1



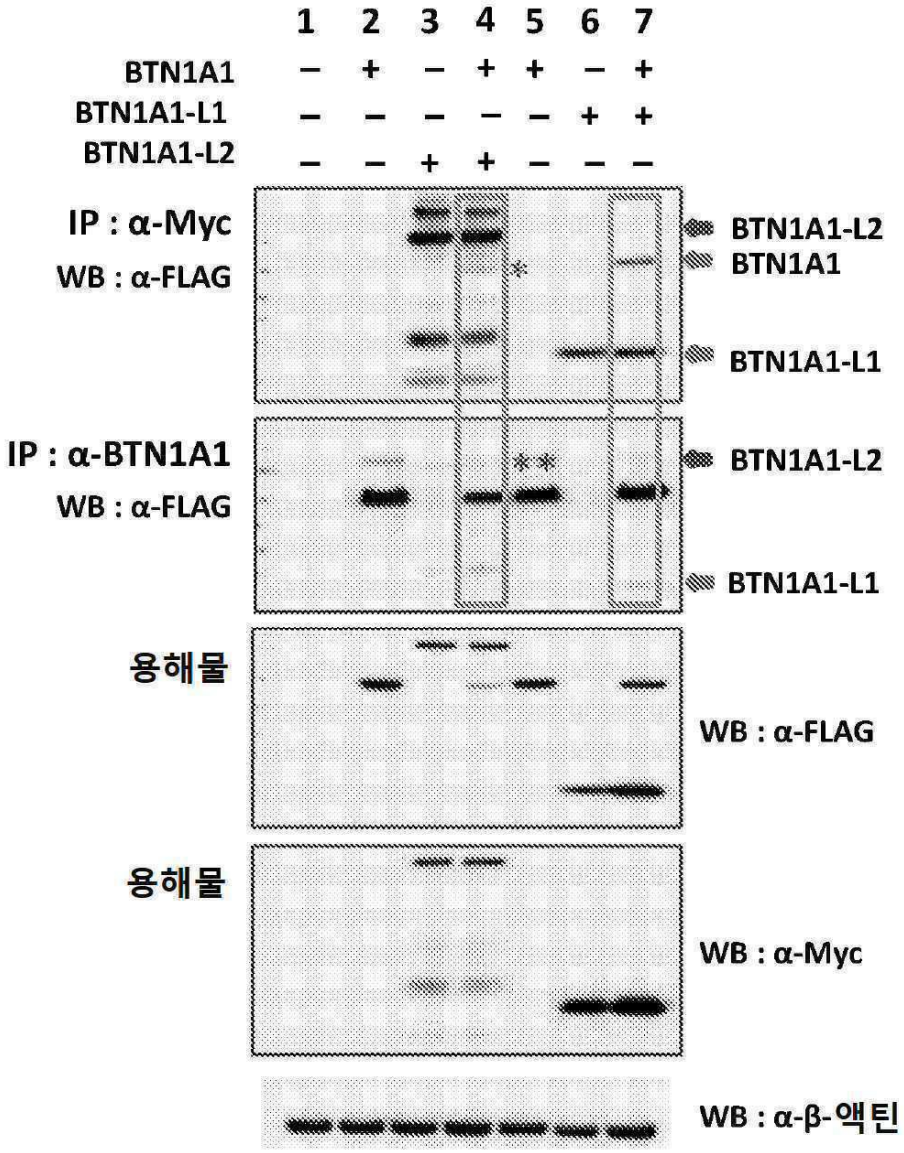
도면2a



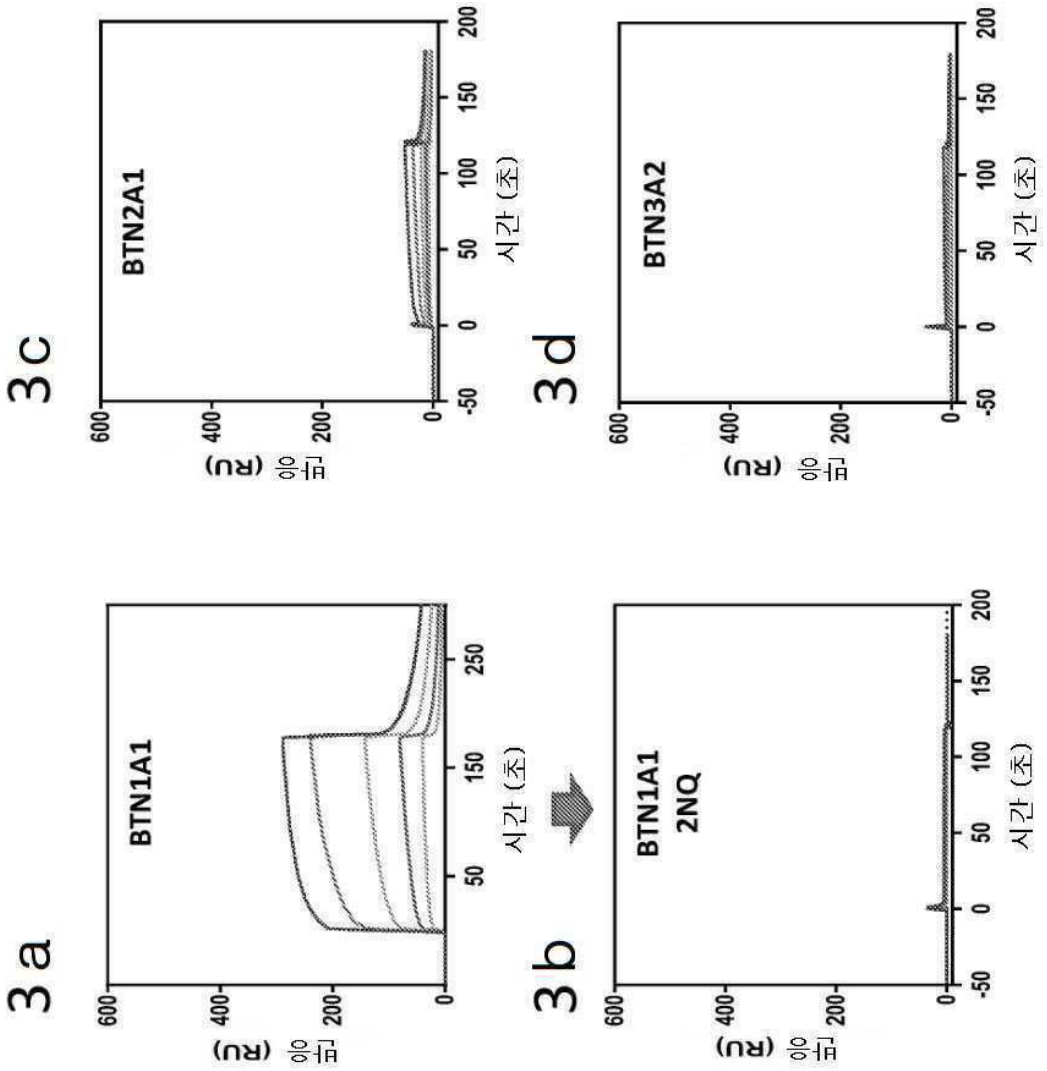
도면2b



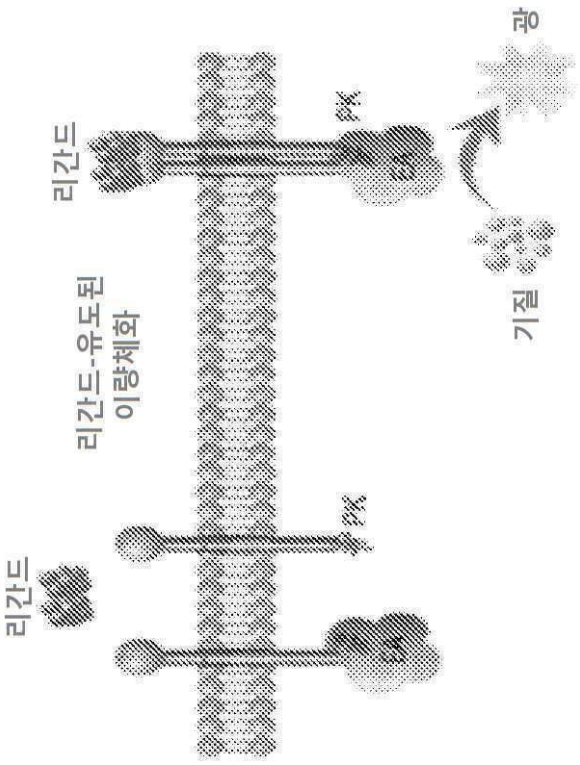
도면2c


1 2 3 4 5 6 7
BTN1A1 – + – + + – +
BTN1A1-L1 – – – – – + +
BTN1A1-L2 – – + + – – –
IP : α-Myc
WB : α-FLAG
BTN1A1-L2
BTN1A1
BTN1A1-L1
IP : α-BTN1A1
WB : α-FLAG
BTN1A1-L2
BTN1A1-L1
용해물
WB : α-FLAG
용해물
WB : α-Myc
WB : α-β-액틴

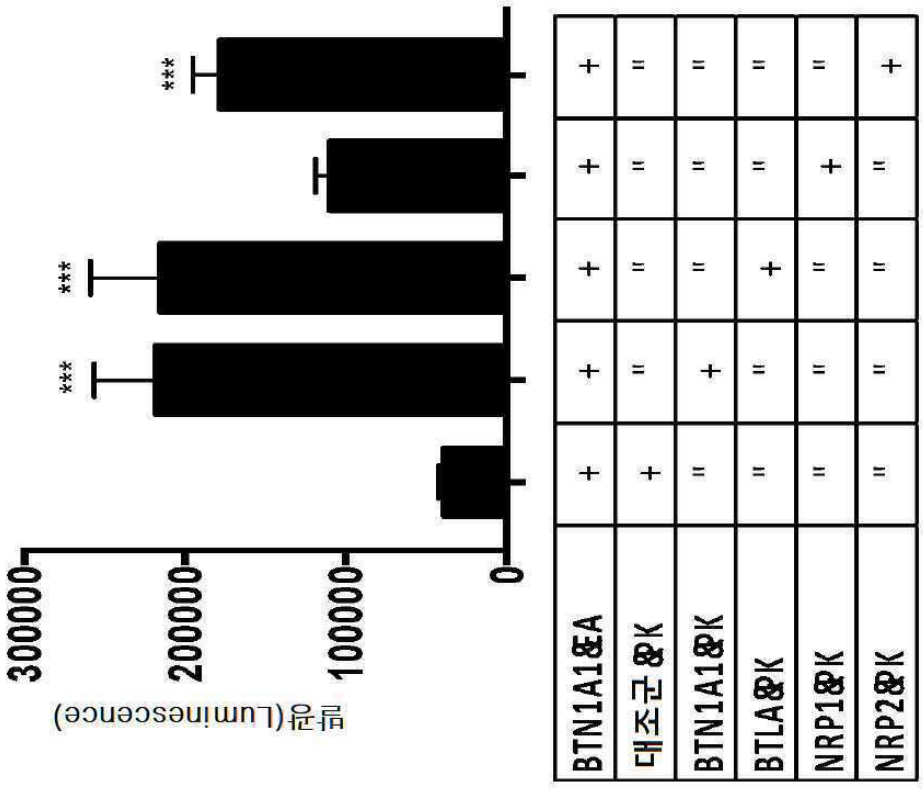
도면3


3a
BTN1A1
결합 (RU)
시간 (초)
3b
BTN1A1
2NQ
결합 (RU)
시간 (초)
3c
BTN2A1
결합 (RU)
시간 (초)
3d
BTN3A2
결합 (RU)
시간 (초)

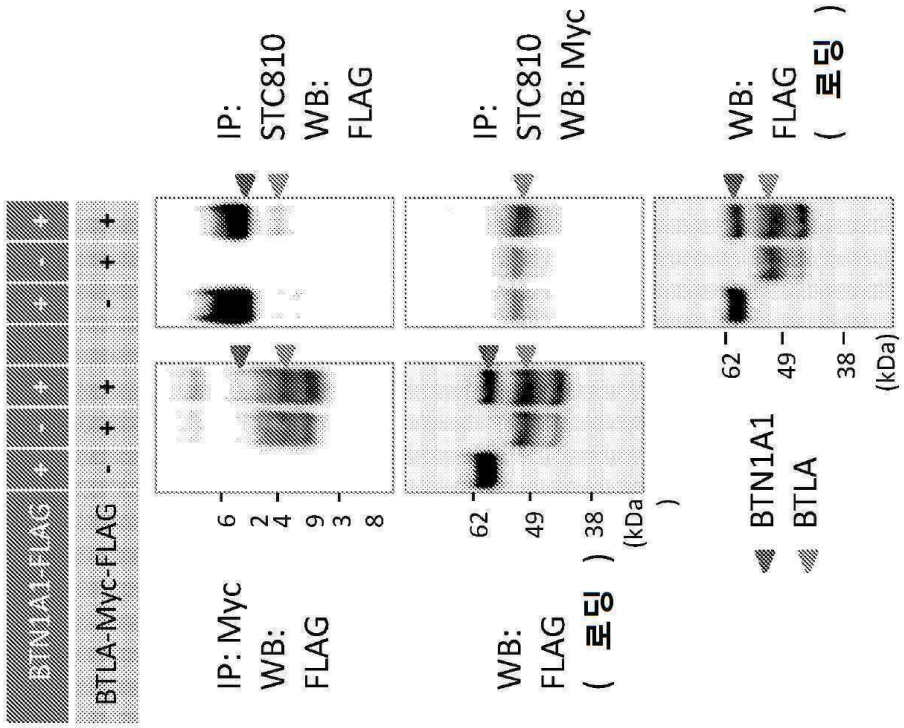
도면4a


리간드
리간드-유도된
이량체화
리간드
기질
광

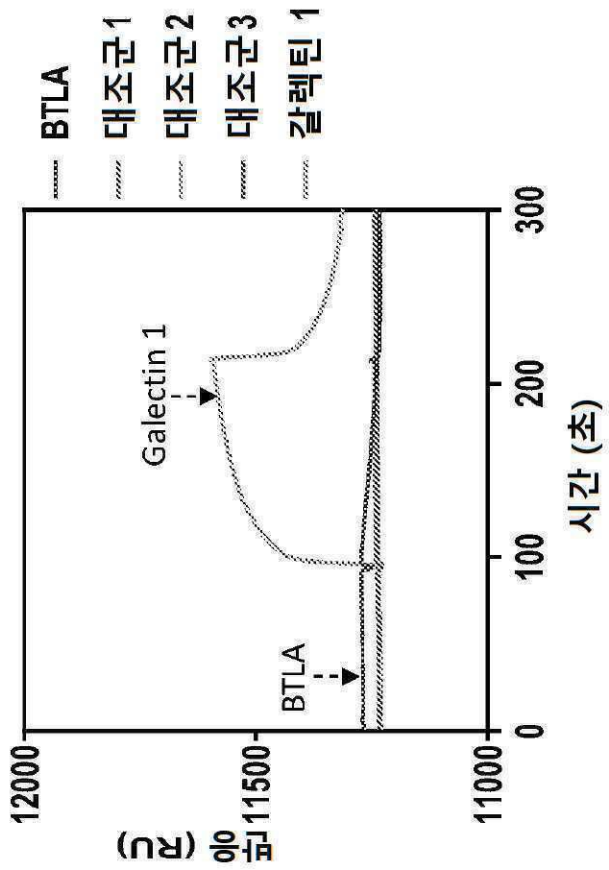
도면4b


발광(Luminescence)
300000
200000
100000
0
***
***
***
BTN1A1&A
대조군&K
BTN1A1&K
BTLA&K
NRP1&K
NRP2&K

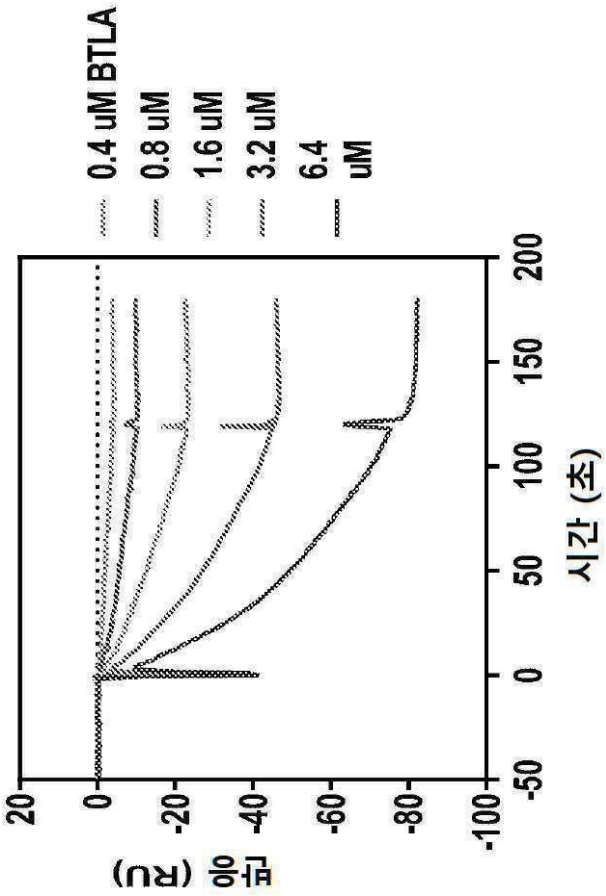
도면5


BTN1A1-FLAG
BTLA-Myc-FLAG
IP: Myc
WB: FLAG
IP: STC810
WB: FLAG
WB: FLAG (로딩)
IP: STC810
WB: Myc
BTN1A1
BTLA
(kDa)

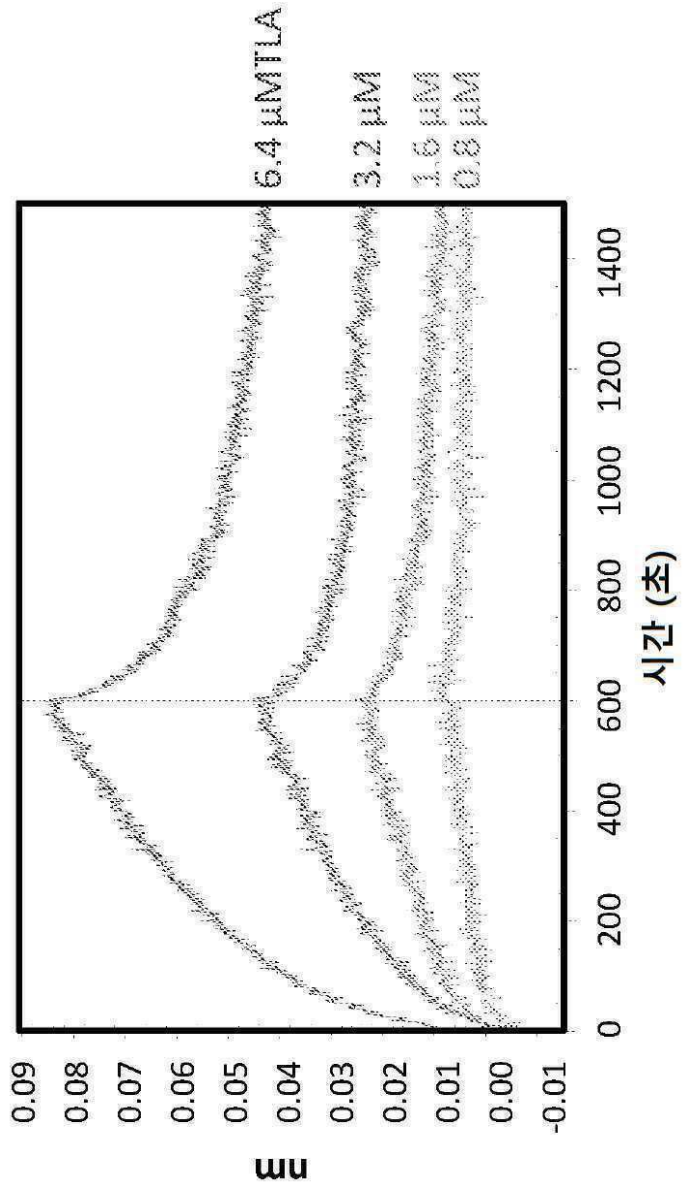
도면6a


BTLA
대조군 1
대조군 2
대조군 3
갈렉틴 1
Galectin 1
BTLA
응답 (RU)
시간 (초)

도면6b


0.4 uM BTLA
0.8 uM
1.6 uM
3.2 uM
6.4 uM
반응 (RU)
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
-50
0
50
100
150
200
시간 (초)

도면7



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> STCUBE PHARMACEUTICALS, INC.

<120> METHODS OF TREATING CANCER USING ANTIBODIES AND MOLECULES THAT BIND TO BTN1A1 OR BTN1A1-LIGANDS

<130> 13532-020-228

<140> TBA

<141>

<150> 62/516,071

<151> 2017-06-06

<160> 14

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 526

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ala Val Phe Pro Ser Ser Gly Leu Pro Arg Cys Leu Leu Thr Leu
1 5 10 15
Ile Leu Leu Gln Leu Pro Lys Leu Asp Ser Ala Pro Phe Asp Val Ile

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

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

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Pro Arg Leu Thr Pro Trp Ile Val Ala Val Ala Val Ile Leu Met Val

245 250 255

Leu Gly Leu Leu Thr Ile Gly Ser Ile Phe Phe Thr Trp Arg Leu Tyr

260 265 270

Asn Glu Arg Pro Arg Glu Arg Arg Asn Glu Phe Ser Ser Lys Glu Arg

275 280 285

Leu Leu Glu Glu Leu Lys Trp Lys Lys Ala Thr Leu His Ala Val Asp

290 295 300

Val Thr Leu Asp Pro Asp Thr Ala His Pro His Leu Phe Leu Tyr Glu

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Phe Thr Ser Gly Arg His Tyr Trp Glu Val Glu Val Gly Asp Arg Thr

355 360 365

Asp Trp Ala Ile Gly Val Cys Arg Glu Asn Val Met Lys Lys Gly Phe

370 375 380

Asp Pro Met Thr Pro Glu Asn Gly Phe Trp Ala Val Glu Leu Tyr Gly

385 390 395 400

Asn Gly Tyr Trp Ala Leu Thr Pro Leu Arg Thr Pro Leu Pro Leu Ala

405 410 415

Gly Pro Pro Arg Arg Val Gly Ile Phe Leu Asp Tyr Glu Ser Gly Asp

420 425 430

Ile Ser Phe Tyr Asn Met Asn Asp Gly Ser Asp Ile Tyr Thr Phe Ser

435 440 445

Asn Val Thr Phe Ser Gly Pro Leu Arg Pro Phe Phe Cys Leu Trp Ser

450 455 460

Ser Gly Lys Lys Pro Leu Thr Ile Cys Pro Ile Ala Asp Gly Pro Glu

465 470 475 480

Arg Val Thr Val Ile Ala Asn Ala Gln Asp Leu Ser Lys Glu Ile Pro

485 490 495

Leu Ser Pro Met Gly Glu Asp Ser Ala Pro Arg Asp Ala Asp Thr Leu

500 505 510

His Ser Lys Leu Ile Pro Thr Gln Pro Ser Gln Gly Ala Pro

515 520 525

<210> 2

<211> 1581

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400

> 2

atggcagttt tcccaagctc cggtctcccc agatgtctgc tcaccctcat tctcctccag 60

ctgcccaaac tggattcagc tccctttgac gtgattggac ccccggagcc catcctggcc 120

gttgtgggtg aggacgccaa gctgccctgt cgcctgtctc cgaacgcgag cgccgagcac 180

ttggagctac gctggttccg aaagaaggtt tcgccggccg tgctggtgca tagggacggg 240

cgcgagcagg aagccgagca gatgcccgag taccgcgggc gggcgacgct ggtccaggac 300

ggcatcgcca aggggcgcgt ggccttgagg atccgtggcg tcagagtctc tgacgacggg 360

gagtacacgt gctttttcag ggaggatgga agctacgaag aagccctggt gcatctgaag 420

gtggctgctc tgggctctga ccctcacatc agtatgcaag ttcaagagaa tggagaaatc 480

tgtctggagt gcacctcagt gggatggtac ccagagcccc aggtgcagtg gagaacttcc 540

aagggagaga agtttccatc tacatcagag tccaggaatc ctgatgaaga aggtttgttc 600

actgtggctg cttcagtgat catcagagac acttctgcga aaaatgtgtc ctgctacatc 660

cagaatctcc ttcttggcca ggagaagaaa gtagaaatat ccataccagc ttcctccctc 720

ccaaggctga ctccctggat agtggctgtg gctgtcatcc tgatggttct aggacttctc 780

accattgggt ccatattttt cacttggaga ctatacaacg aaagacccag agagaggagg 840

aatgaattca gctctaaaga gagactcctg gaagaactca aatggaaaaa ggctaccttg 900

catgcagttg atgtgactct ggacccagac acagctcatc cccacctctt tctttatgag 960

gattcaaaat ctgttcgact ggaagattca cgtcagaaac tgcctgagaa aacagagaga 1020

tttgactcct ggccctgtgt gttgggccgt gagaccttca cctcaggaag gcattactgg 1080

gaggtggagg tgggagacag gactgactgg gcaatcggcg tgtgtaggga gaatgtgatg 1140

aagaaaggat ttgaccccat gactcctgag aatgggttct gggctgtaga gttgtatgga 1200

aatgggtact gggccctcac tcctctccgg acccctctcc cattggcagg gcccccacgc 1260

cgggttggga ttttcctaga ctatgaatca ggagacatct ccttctacaa catgaatgat 1320

ggatctgata tctatacttt ctccaatgtc actttctctg gccccctccg gcccttcttt 1380

tgcctatggt ctagcggtaa aaagcccctg accatctgcc caattgctga tgggcctgag 1440

agggtcacag tcattgctaa tgcccaggac ctttctaagg agatcccatt gtcccccatg 1500

ggggaggact ctgcccctag ggatgcagac actctccatt ctaagctaat ccctacccaa 1560

cccagccaag gggcacctta a 1581

<210> 3

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 3

Ala Pro Phe Asp Val Ile Gly Pro Pro Glu Pro Ile Leu Ala Val Val
1 5 10 15

Gly Glu Asp Ala Glu Leu Pro Cys Arg Leu Ser Pro Asn Ala Ser Ala
20 25 30

Glu His Leu Glu Leu Arg Trp Phe Arg Lys Lys Val Ser Pro Ala Val
35 40 45

Leu Val His Arg Asp Gly Arg Glu Gln Glu Ala Glu Gln Met Pro Glu
50 55 60

Tyr Arg Gly Arg Ala Thr Leu Val Gln Asp Gly Ile Ala Lys Gly Arg
65 70 75 80

Val Ala Leu Arg Ile Arg Gly Val Arg Val Ser Asp Asp Gly Glu Tyr
85 90 95

Thr Cys Phe Phe Arg Glu Asp Gly Ser Tyr Glu Glu Ala Leu Val His
100 105 110

Leu Lys Val Ala Ala Leu Gly Ser Asp Pro His Ile Ser Met Gln Val

115 120 125

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

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

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
260 265 270
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
275 280 285
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
290 295 300
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305 310 315 320

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

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

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

<210> 4
<211> 222

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 4
Ala Pro Phe Asp Val Ile Gly Pro Pro Glu Pro Ile Leu Ala Val Val
1 5 10 15
Gly Glu Asp Ala Glu Leu Pro Cys Arg Leu Ser Pro Asn Ala Ser Ala
20 25 30
Glu His Leu Glu Leu Arg Trp Phe Arg Lys Lys Val Ser Pro Ala Val
35 40 45
Leu Val His Arg Asp Gly Arg Glu Gln Glu Ala Glu Gln Met Pro Glu

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

115 120 125

Gln Glu Asn Gly Glu Ile Cys Leu Glu Cys Thr Ser Val Gly Trp Tyr

130 135 140

Pro Glu Pro Gln Val Gln Trp Arg Thr Ser Lys Gly Glu Lys Phe Pro

145 150 155 160

Ser Thr Ser Glu Ser Arg Asn Pro Asp Glu Glu Gly Leu Phe Thr Val

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ile Gln Asn Leu Leu Leu Gly Gln Glu Lys Lys Val Glu Ile Ser

195 200 205

Ile Pro Ala Ser Ser Leu Pro Arg His His His His His His

210 215 220

<210> 5

<211> 524

<212> PRT

<213> Mouse

<400> 5

Met Ala Val Pro Thr Asn Ser Cys Leu Leu Val Cys Leu Leu Thr Leu

1 5 10 15

Thr Val Leu Gln Leu Pro Thr Leu Asp Ser Ala Ala Pro Phe Asp Val

20 25 30

Thr Ala Pro Gln Glu Pro Val Leu Ala Leu Val Gly Ser Asp Ala Glu

35 40 45

Leu Thr Cys Gly Phe Ser Pro Asn Ala Ser Ser Glu Tyr Met Glu Leu

50 55 60

Leu Trp Phe Arg Gln Thr Arg Ser Lys Ala Val Leu Leu Tyr Arg Asp

65 70 75 80

Gly Gln Glu Gln Glu Gly Gln Gln Met Thr Glu Tyr Arg Gly Arg Ala

85 90 95

Thr Leu Ala Thr Ala Gly Leu Leu Asp Gly Arg Ala Thr Leu Leu Ile

100 105 110

Arg Asp Val Arg Val Ser Asp Gln Gly Glu Tyr Arg Cys Leu Phe Lys
115 120 125
Asp Asn Asp Asp Phe Glu Glu Ala Ala Val Tyr Leu Lys Val Ala Ala
130 135 140

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

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

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

Asp Arg Pro Glu Arg Phe Asp Ser Trp Pro Cys Val Leu Gly Arg Glu
340 345 350
Thr Phe Thr Ser Gly Arg His Tyr Trp Glu Val Glu Val Gly Asp Arg

355 360 365

Thr Asp Trp Ala Ile Gly Val Cys Arg Glu Asn Val Val Lys Lys Gly

370 375 380

Phe Asp Pro Met Thr Pro Asp Asn Gly Phe Trp Ala Val Glu Leu Tyr

385 390 395 400

Gly Asn Gly Tyr Trp Ala Leu Thr Pro Leu Arg Thr Ser Leu Arg Leu

405 410 415

Ala Gly Pro Pro Arg Arg Val Gly Val Phe Leu Asp Tyr Asp Ala Gly

420 425 430

Asp Ile Ser Phe Tyr Asn Met Ser Asn Gly Ser Leu Ile Tyr Thr Phe

435 440 445

Pro Ser Ile Ser Phe Ser Gly Pro Leu Arg Pro Phe Phe Cys Leu Trp

450 455 460

Ser Cys Gly Lys Lys Pro Leu Thr Ile Cys Ser Thr Ala Asn Gly Pro

465 470 475 480

Glu Lys Val Thr Val Ile Ala Asn Val Gln Asp Asp Ile Pro Leu Ser

485 490 495

Pro Leu Gly Glu Gly Cys Thr Ser Gly Asp Lys Asp Thr Leu His Ser

500 505 510

Lys Leu Ile Pro Phe Ser Pro Ser Gln Ala Ala Pro

515 520

<210> 6

<211

> 1575

<212> DNA

<213> Mouse

<400> 6

atggcagttc ccaccaactc ctgcctcctg gtctgtctgc tcaccctcac tgtcctacag 60

ctgcccacgc tggattcggc agctcccttc gatgtgaccg cacctcagga gccagtgttg 120

gccctagtgg gctcagatgc cgagctgacc tgtggctttt ccccaaacgc gagctcagaa 180

tacatggagc tgctgtggtt tcgacagacg aggtcgaaag cggtacttct ataccgggat 240

ggccaggagc aggagggcca gcagatgacg gagtaccgcg ggagggcgac gctggcgaca 300

gccgggcttc tagacggccg cgctactctg ctgatccgag atgtcagggt ctcagaccag 360

ggggagtacc ggtgcctttt caaagacaac gacgacttcg aggaggccgc cgtatacctc 420

aaagtggctg ctgtgggttc agatcctcaa atcagtatga cggttcaaga gaatggagaa 480

atggagctgg agtgcacctc ctctggatgg tacccagagc ctcaggtgca gtggagaaca 540

ggcaacagag agatgctacc atccacgtca gagtccaaga agcataatga ggaaggcctg 600

ttcactgtgg cagtttcaat gatgatcaga gacagctcca taaagaacat gtcctgctgc 660

atccagaata tcctccttgg ccaggggaag gaagtagaga tctccttacc agctcccttc 720

gtgccaaggc tgactccctg gatagtagct gtggctatca tcttactggc cttaggattt 780

ctcaccattg ggtccatatt tttcacttgg aaactataca aggaaagatc cagtctgcgg 840

aagaaggaat ttggctctaa agagagactt ctggaagaac tcagatgcaa aaagactgta 900

ctgcatgaag ttgacgtgac tctggatcca gacacagccc acccccacct cttcctgtat 960

gaagattcaa agtcagttcg attggaagat tcacgtcaga tcctgcctga tagaccagag 1020

agatttgact cctggccctg tgtgttgggc cgtgagacct ttacttcagg gagacattac 1080

tgggaggtgg aggtgggaga tagaactgac tgggccattg gtgtgtgtag ggagaatgtg 1140

gtgaagaaag ggtttgaccc catgactcct gataatgggt tctgggctgt ggagttgtat 1200

ggaaatgggt actgggccct caccccactc aggacctctc tccgattagc agggcccccc 1260

cgcagagttg gggtttttct ggactatgac gcaggagaca tttccttcta caacatgagt 1320

aacggatctc ttatctatac tttccctagc atctctttct ctggcccccc ccgtcccttc 1380

ttttgtctgt ggtcctgtgg taaaaagccc ctgaccatct gttcaactgc caatgggcct 1440

gagaaagtca cagtcattgc taatgtccag gacgacattc ccttgtcccc gctgggggaa 1500

ggctgtactt ctggagacaa agacactctc cattctaaac tgatcccgtt ctcacctagc 1560

caagcggcac cataa 1575

<210> 7

<211> 135

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Met Ala Cys Gly Leu Val Ala Ser Asn Leu Asn Leu Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Cys Leu Arg Val Arg Gly Glu Val Ala Pro Asp Ala Lys Ser Phe Val

20 25 30

Leu Asn Leu Gly Lys Asp Ser Asn Asn Leu Cys Leu His Phe Asn Pro

35 40 45

Arg Phe Asn Ala His Gly Asp Ala Asn Thr Ile Val Cys Asn Ser Lys

50 55 60

Asp Gly Gly Ala Trp Gly Thr Glu Gln Arg Glu Ala Val Phe Pro Phe

65 70 75 80

Gln Pro Gly Ser Val Ala Glu Val Cys Ile Thr Phe Asp Gln Ala Asn

85 90 95

Leu Thr Val Lys Leu Pro Asp Gly Tyr Glu Phe Lys Phe Pro Asn Arg

100 105 110

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

115 120 125

Ile Lys Cys Val Ala Phe Asp

130 135

<210> 8

<211> 408

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

atggcttgtg gtctggtcgc cagcaacctg aatctcaaac ctggagagtg ccttcgagtg 60

cgaggcgagg tggctcctga cgctaagagc ttcgtgctga acctgggcaa agacagcaac 120

aacctgtgcc tgcacttcaa ccctcgcttc aacgcccacg gcgacgccaa caccatcgtg 180

tgcaacagca aggacggcgg ggcctggggg accgagcagc gggaggctgt ctttcccttc 240

cagcctggaa gtgttgcaga ggtgtgcatc accttcgacc aggccaacct gaccgtcaag 300

ctgccagatg gatacgaatt caagttcccc aaccgcctca acctggaggc catcaactac 360

atggcagctg acggtgactt caagatcaaa tgtgtggcct ttgactga 408

<210> 9

<211> 246

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Asn Gly Thr Val Leu Ser Ser Ser Gly Thr Arg Phe Ala Val Asn

35 40 45

Phe Gln Thr Gly Phe Ser Gly Asn Asp Ile Ala Phe His Phe Asn Pro

50 55 60

Arg Phe Glu Asp Gly Gly Tyr Val Val Cys Asn Thr Arg Gln Asn Gly

65 70 75 80

Ser Trp Gly Pro Glu Glu Arg Lys Thr His Met Pro Phe Gln Lys Gly

85 90 95

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

100 105 110

Met Val Asn Gly Ile Leu Phe Val Gln Tyr Phe His Arg Val Pro Phe

115 120 125

His Arg Val Asp Thr Ile Ser Val Asn Gly Ser Val Gln Leu Ser Tyr

130 135 140

Ile Ser Phe Gln Pro Pro Gly Val Trp Pro Ala Asn Pro Ala Pro Ile

145 150 155 160

Thr Gln Thr Val Ile His Thr Val Gln Ser Ala Pro Gly Gln Met Phe

165 170 175

Ser Thr Pro Ala Ile Pro Pro Met Met Tyr Pro His Pro Ala Tyr Pro

180 185 190

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

195 200 205

Ile Leu Leu Ser Gly Thr Val Leu Pro Ser Ala Gln Arg Cys Gly Ser

210 215 220

Cys Val Lys Leu Thr Ala Ser Arg Trp Pro Trp Met Val Ser Thr Cys

225 230 235 240

Leu Asn Thr Thr Ile Ala

245

<210> 10

<211> 971

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 10

atggccttca gcggttccca ggctccctac ctgagtccag ctgtcccctt ttctgggact 60

attcaaggag gtctccagga cggacttcag atcactgtca atgggaccgt tctcagctcc 120

agtggaacca ggtttgctgt gaactttcag actggcttca gtggaaatga cattgccttc 180

cacttcaacc ctcggtttga agatggaggg tacgtggtgt gcaacacgag gcagaacgga 240

agctgggggc ccgaggagag gaagacacac atgcctttcc agaaggggat gccctttgac 300

ctctgcttcc tggtgcagag ctcagatttc aaggtgatgg tgaacgggat cctcttcgtg 360

cagtacttcc accgcgtgcc cttccaccgt gtggacacca tctccgtcaa tggctctgtg 420

cagctgtcct acatcagctt ccagcctccc ggcgtgtggc ctgccaaccc ggctcccatt 480

acccagacag tcatccacac agtgcagagc gcccctggac agatgttctc tactcccgcc 540

atcccactat gatgtacccc caccccgcct atccgatgcc tttcatcacc accattctgg 600

gagggctgta cccatccaag tccatcctcc tgtcaggcac tgtcctgccc agtgctcaga 660

ggttccacat caacctgtgc tctgggaacc acatcgcctt ccacctgaac ccccgttttg 720

atgagaatgc tgtggtccgc aacacccaga tcgacaactc ctgggggtct gaggagcgaa 780

gtctgccccg aaaaatgccc ttcgtccgtg gccagagctt ctcagtgtgg atcttgtgtg 840

aagctcactg cctcaaggtg gccgtggatg gtcagcacct gtttgaatac taccatcgcc 900

tgaggaacct gcccaccatc aacagactgg aagtgggggg cgacatccag ctgacccatg 960

tgcagacata g 971

<210> 11

<211> 926

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Met Asp Met Phe Pro Leu Thr Trp Val Phe Leu Ala Leu Tyr Phe Ser

1 5 10 15

Arg His Gln Val Arg Gly Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu

20 25 30

Asn Ser Lys Asp Ala Gly Tyr Ile Thr Ser Pro Gly Tyr Pro Gln Asp

35 40 45

Tyr Pro Ser His Gln Asn Cys Glu Trp Ile Val Tyr Ala Pro Glu Pro

50 55 60

Asn Gln Lys Ile Val Leu Asn Phe Asn Pro His Phe Glu Ile Glu Lys

65 70 75 80

His Asp Cys Lys Tyr Asp Phe Ile Glu Ile Arg Asp Gly Asp Ser Glu

85 90 95

Ser Ala Asp Leu Leu Gly Lys His Cys Gly Asn Ile Ala Pro Pro Thr

100 105 110

Ile Ile Ser Ser Gly Ser Met Leu Tyr Ile Lys Phe Thr Ser Asp Tyr

115 120 125

Ala Arg Gln Gly Ala Gly Phe Ser Leu Arg Tyr Glu Ile Phe Lys Thr

130 135 140

Gly Ser Glu Asp Cys Ser Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile

145 150 155 160

Glu Ser Pro Gly Phe Pro Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr

165 170 175

Phe Thr Ile Leu Ala Lys Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu

180 185 190

Ile Phe Asp Leu Glu His Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys

195 200 205

Lys Tyr Asp Trp Leu Asp Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro

210 215 220

Leu Ile Gly Lys Tyr Cys Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser

225 230 235 240

Ser Thr Gly Ile Leu Ser Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala

245 250 255

Lys Asp Gly Phe Ser Ala Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu

260 265 270

Glu Asn Phe Gln Cys Asn Val Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile

275 280 285

Ala Asn Glu Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp

290 295 300

Thr Pro Gln Gln Ser Arg Leu His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro

305 310 315 320

Asn Leu Asp Ser Asn Lys Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu

325 330 335

Thr Met Leu Thr Ala Ile Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr

340 345 350

Gln Asn Gly Tyr Tyr Val Lys Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn

355 360 365

Gly Glu Asp Trp Met Val Tyr Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe

370 375 380

Gln Ala Asn Asn Asp Ala Thr Glu Val Val Leu Asn Lys Leu His Ala

385 390 395 400

Pro Leu Leu Thr Arg Phe Val Arg Ile Arg Pro Gln Thr Trp His Ser

405 410 415

Gly Ile Ala Leu Arg Leu Glu Leu Phe Gly Cys Arg Val Thr Asp Ala

420 425 430

Pro Cys Ser Asn Met Leu Gly Met Leu Ser Gly Leu Ile Ala Asp Ser

435 440 445

Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala

450 455 460

Ala Arg Leu Val Ser Ser Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln

465 470 475 480

Ala Gln Pro Gly Glu Glu Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys

485 490 495

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

500 505 510

Thr Ala Val Glu Ala Arg Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr

515 520 525

Ser Leu Asn Gly Lys Asp Trp Glu Tyr Ile Gln Asp Pro Arg Thr Gln

530 535 540

Gln Pro Lys Leu Phe Glu Gly Asn Met His Tyr Asp Thr Pro Asp Ile
545 550 555 560
Arg Arg Phe Asp Pro Ile Pro Ala Gln Tyr Val Arg Val Tyr Pro Glu
565 570 575
Arg Trp Ser Pro Ala Gly Ile Gly Met Arg Leu Glu Val Leu Gly Cys

580 585 590
Asp Trp Thr Asp Ser Lys Pro Thr Val Glu Thr Leu Gly Pro Thr Val
595 600 605
Lys Ser Glu Glu Thr Thr Thr Pro Tyr Pro Thr Glu Glu Glu Ala Thr
610 615 620
Glu Cys Gly Glu Asn Cys Ser Phe Glu Asp Asp Lys Asp Leu Gln Leu
625 630 635 640
Pro Ser Gly Phe Asn Cys Asn Phe Asp Phe Leu Glu Glu Pro Cys Gly

645 650 655
Trp Met Tyr Asp His Ala Lys Trp Leu Arg Thr Thr Trp Ala Ser Ser
660 665 670
Ser Ser Pro Asn Asp Arg Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg
675 680 685
Leu Gln Ser Asp Ser Gln Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser
690 695 700
Pro Pro Val His Leu Pro Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr

705 710 715 720
Gln Ala Thr Gly Gly Arg Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala
725 730 735
Ser Gln Glu Ser Lys Leu Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly
740 745 750
Glu Trp Lys His Gly Arg Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr
755 760 765
Gln Ile Val Phe Glu Gly Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile

770 775 780
Ala Ile Asp Asp Ile Arg Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys

785 790 795 800

Met Glu Pro Ile Ser Ala Phe Ala Val Asp Ile Pro Glu Ile His Glu

805 810 815

Arg Glu Gly Tyr Glu Asp Glu Ile Asp Asp Glu Tyr Glu Val Asp Trp

820 825 830

Ser Asn Ser Ser Ser Ala Thr Ser Gly Ser Gly Ala Pro Ser Thr Asp

835 840 845

Lys Glu Lys Ser Trp Leu Tyr Thr Leu Asp Pro Ile Leu Ile Thr Ile

850 855 860

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

865 870 875 880

Leu Leu Leu Tyr Cys Thr Cys Ser Tyr Ser Gly Leu Ser Ser Arg Ser

885 890 895

Cys Thr Thr Leu Glu Asn Tyr Asn Phe Glu Leu Tyr Asp Gly Leu Lys

900 905 910

His Lys Val Lys Met Asn His Gln Lys Cys Cys Ser Glu Ala

915 920 925

<210> 12

<211> 2775

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

atgtttcctc tcacctgggt tttcttagcc ctctactttt caagacacca agtgagaggc 60

caaccagacc caccgtgcgg aggtcgtttg aattccaaag atgctggcta tatcacctct 120

cccggttacc cccaggacta cccctcccac cagaactgcg agtggattgt ttacgccccc 180

gaacccaacc agaagattgt cctcaacttc aaccctcact ttgaaatcga gaagcacgac 240

tgcaagtatg actttatcga gattcgggat ggggacagtg aatccgcaga cctcctgggc 300

aaacactgtg ggaacatcgc cccgcccacc atcatctcct cgggctccat gctctacatc 360

aagttcacct ccgactacgc ccggcagggg gcaggcttct ctctgcgcta cgagatcttc 420

aagacaggct ctgaagattg ctcaaaaaac ttcacaagcc ccaacgggac catcgaatct 480

cctgggtttc ctgagaagta tccacacaac ttggactgca cctttaccat cctggccaaa 540

cccaagatgg agatcatcct gcagttcctg atctttgacc tggagcatga ccctttgcag 600

gtgggagagg gggactgcaa gtacgattgg ctggacatct gggatggcat tccacatgtt 660

ggcccccctga ttggcaagta ctgtgggacc aaaacaccct ctgaacttcg ttcatcgacg 720

gggatcctct ccctgacctt tcacacggac atggcggtgg ccaaggatgg cttctctgcg 780

cgttactacc tggtccacca agagccacta gagaactttc agtgcaatgt tcctctgggc 840

atggagtctg gccggattgc taatgaacag atcagtgcct catctaccta ctctgatggg 900

aggtggaccc ctcaacaaag ccggctccat ggtgatgaca atggctggac ccccaacttg 960

gattccaaca aggagtatct ccaggtggac ctgcgctttt taaccatgct cacggccatc 1020

gcaacacagg gagcgatttc cagggaaaca cagaatggct actatgtcaa atcctacaag 1080

ctggaagtca gcactaatgg agaggactgg atggtgtacc ggcatggcaa aaaccacaag 1140

gtatttcaag ccaacaacga tgcaactgag gtggttctga acaagctcca cgctccactg 1200

ctgacaaggt ttgttagaat ccgccctcag acctggcact caggtatcgc cctccggctg 1260

gagctcttcg gctgccgggt cacagatgct ccctgctcca acatgctggg gatgctctca 1320

ggcctcattg cagactccca gatctccgcc tcttccaccc aggaatacct ctggagcccc 1380

agtgcagccc gcctggtcag cagccgctcg ggctggttcc ctcgaatccc tcaggcccag 1440

cccggtgagg agtggcttca ggtagatctg ggaacaccca agacagtgaa aggtgtcatc 1500

atccagggag cccgcggagg agacagtatc actgctgtgg aagccagagc atttgtgcgc 1560

aagttcaaag tctcctacag cctaaacggc aaggactggg aatacattca ggaccccagg 1620

acccagcagc caaagctgtt cgaagggaac atgcactatg acacccctga catccgaagg 1680

tttgacccca ttccggcaca gtatgtgcgg gtatacccgg agaggtggtc gccggcgggg 1740

attgggatgc ggctggaggt gctgggctgt gactggacag actccaagcc cacggtagag 1800

acgctgggac ccactgtgaa gagcgaagag acaaccaccc cctaccccac cgaagaggag 1860

gccacagagt gtggggagaa ctgcagcttt gaggatgaca aagatttgca gctcccttcg 1920

ggattcaatt gcaacttcga tttcctcgag gagccctgtg gttggatgta tgaccatgcc 1980

aagtggctcc ggaccacctg ggccagcagc tccagcccaa acgaccggac gtttccagat 2040

gacaggaatt tcttgcggct gcagagtgac agccagagag agggccagta tgcccggctc 2100

atcagccccc ctgtccacct gccccgaagc ccggtgtgca tggagttcca gtaccaggcc 2160

acgggcggcc gcggggtggc gctgcaggtg gtgcgggaag ccagccagga gagcaagttg 2220

ctgtgggtca tccgtgagga ccagggcggc gagtggaagc acgggcggat catcctgccc 2280

agctacgaca tggagtacca gattgtgttc gagggagtga tagggaaagg acgttccgga 2340

gagattgcca ttgatgacat tcggataagc actgatgtcc cactggagaa ctgcatggaa 2400

cccatctcgg cttttgcagt ggacatccca gaaatacatg agagagaagg atatgaagat 2460

gaaattgatg atgaatacga ggtggactgg agcaattctt cttctgcaac ctcagggtct 2520

ggcgcccccct cgaccgacaa agaaaagagc tggctgtaca ccctggatcc catcctcatc 2580

accatcatcg ccatgagctc actgggcgtc ctcctggggg ccacctgtgc aggcctcctg 2640

ctctactgca cctgttccta ctcgggcctg agctcccgaa gctgcaccac actggagaac 2700

tacaacttcg agctctacga tggccttaag cacaaggtca agatgaacca ccaaaagtgc 2760

tgctccgagg catga 2775

<210> 13

<211> 289

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Met Lys Thr Leu Pro Ala Met Leu Gly Thr Gly Lys Leu Phe Trp Val
1 5 10 15

Phe Phe Leu Ile Pro Tyr Leu Asp Ile Trp Asn Ile His Gly Lys Glu
20 25 30

Ser Cys Asp Val Gln Leu Tyr Ile Lys Arg Gln Ser Glu His Ser Ile
35 40 45

Leu Ala Gly Asp Pro Phe Glu Leu Glu Cys Pro Val Lys Tyr Cys Ala
50 55 60

Asn Arg Pro His Val Thr Trp Cys Lys Leu Asn Gly Thr Thr Cys Val
65 70 75 80

Lys Leu Glu Asp Arg Gln Thr Ser Trp Lys Glu Glu Lys Asn Ile Ser
85 90 95

Phe Phe Ile Leu His Phe Glu Pro Val Leu Pro Asn Asp Asn Gly Ser
100 105 110

Tyr Arg Cys Ser Ala Asn Phe Gln Ser Asn Leu Ile Glu Ser His Ser
115 120 125

Thr Thr Leu Tyr Val Thr Asp Val Lys Ser Ala Ser Glu Arg Pro Ser
130 135 140

Lys Asp Glu Met Ala Ser Arg Pro Trp Leu Leu Tyr Arg Leu Leu Pro

145 150 155 160

Leu Gly Gly Leu Pro Leu Leu Ile Thr Thr Cys Phe Cys Leu Phe Cys

165 170 175

Cys Leu Arg Arg His Gln Gly Lys Gln Asn Glu Leu Ser Asp Thr Ala

180 185 190

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

195 200 205

Glu Ala Ser Thr Arg Gln Asn Ser Gln Val Leu Leu Ser Glu Thr Gly

210 215 220

Ile Tyr Asp Asn Asp Pro Asp Leu Cys Phe Arg Met Gln Glu Gly Ser

225 230 235 240

Glu Val Tyr Ser Asn Pro Cys Leu Glu Glu Asn Lys Pro Gly Ile Val

245 250 255

Tyr Ala Ser Leu Asn His Ser Val Ile Gly Pro Asn Ser Arg Leu Ala

260 265 270

Arg Asn Val Lys Glu Ala Pro Thr Glu Tyr Ala Ser Ile Cys Val Arg

275 280 285

Ser

<210> 14

<211> 726

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 14

atgaagacat tgcctgccat gcttggaact gggaaattat tttgggtctt cttcttaatc 60

ccatatctgg acatctggaa catccatggg aaagaatcat gtgatgtaca gctttatata 120

aagagacaat ctgaacactc catcttagca ggagatccct ttgaactaga atgccctgtg 180

aaatactgtg ctaacaggcc tcatgtgact tggtgcaagc tcaatggaac aacatgtgta 240

aaacttgaag atagacaaac aagttggaag gaagagaaga acatttcatt tttcattcta 300

cattttgaac cagtgcttcc taatgacaat gggtcatacc gctgttctgc aaattttcag 360

tctaatctca ttgaaagcca ctcaacaact ctttatgtga caggaaagca aaatgaactc 420

tctgacacag caggaaggga aattaacctg gttgatgctc accttaagag tgagcaaaca 480

gaagcaagca ccaggcaaaa ttcccaagta ctgctatcag aaactggaat ttatgataat 540

gaccctgacc tttgtttcag gatgcaggaa gggtctgaag tttattctaa tccatgcctg 600

gaagaaaaca aaccaggcat tgtttatgct tccctgaacc attctgtcat tggaccgaac 660

tcaagactgg caagaaatgt aaaagaagca ccaacagaat atgcatccat atgtgtgagg 720

agttaa 726