(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0046283
(43) 공개일자 2025년04월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/40 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/40 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2025-7006108
(22) 출원일자(국제) 2023년08월04일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2025년02월25일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2023/111149
(87) 국제공개번호 WO 2024/027815
국제공개일자 2024년02월08일
(30) 우선권주장
202210937340.1 2022년08월05일 중국(CN)
202310549681.6 2023년05월16일 중국(CN)

(71) 출원인
지앙수 헨그루이 파마슈티컬스 컴퍼니 리미티드
중국, 지앙수 222047, 리안윈강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨롭먼트 존, 7 곤륜샨 로드
샹하이 헨그루이 파마수티컬 컴퍼니 리미티드
중국, 샹하이 200245, 민항 디스트릭트, 웬징 로드, 279
(72) 발명자
예 신
중국 상하이 200245 민항 디스트릭트 웬징 로드 279
천 위시아오
중국 상하이 200245 민항 디스트릭트 웬징 로드 279
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인(유)

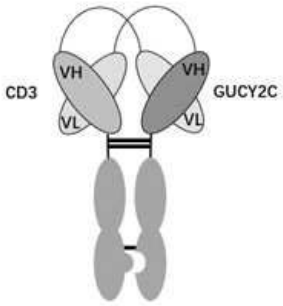
전체 청구항 수 : 총 28 항

(54) 발명의 명칭 **GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자 및 이의 의약적 용도**

(57) 요 약

GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자 및 이의 의약적 용도. 상기 항원 결합 분자는 종양을 치료하는 데 사용될 수 있다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
C07K 16/2809 (2013.01)
C07K 16/2818 (2013.01)
C07K 16/2863 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
(72) 발명자
아미나 아불라
중국 상하이 200245 민항 디스트릭트 웬징 로드 279
잉 후아
중국 상하이 200245 민항 디스트릭트 웬징 로드 279
타오 웨이캉
중국 상하이 200245 민항 디스트릭트 원징 로드 279

명 세 서

청구범위

청구항 1

GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자로서, 이는 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 모듈 및 CD3에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 중쇄 가변 영역 GUCY2C-VH 및 경쇄 가변 영역 GUCY2C-VL을 포함하고, 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 중쇄 가변 영역 CD3-VH 및 경쇄 가변 영역 CD3-VL을 포함하며; 여기서:

i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47, 22, 43, 44, 45 또는 46의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27 또는 6의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8, 28, 29 또는 30의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 40 또는 12의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 39 또는 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-1) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 250의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 251의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 252의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 253의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 254의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 255의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-2) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 256의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 257의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 258의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 259의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 260의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-3) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 262의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 263의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 264의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 265의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 266의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-4) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 267의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 268의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 269의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 270의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 271의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 272의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-5) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 281의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 282의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 283의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 284의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 285의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-6) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 286의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 287의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 288의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 289의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 265의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 290의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-7) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 291의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 292의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 293의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 294의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 295의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 296의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-8) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 297의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 298의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 264의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 299의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 300의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-9) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 301의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 302의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 303의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 299의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 304의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-10) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 305의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 306의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-11) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 128의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 307의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 308의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 309의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 310의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 311의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-12) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 312의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 313의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 314의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 315의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-13) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 286의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 287의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 316의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 317의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 265의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 300의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-14) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 318의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 319의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 320의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 321의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 322의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 323의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-15) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 324의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 325의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 326의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 327의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-16) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 328의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 302의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 264의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 329의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 300의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하며;

바람직하게는,

i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서

열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하는, 항원 결합 분자.

청구항 2

제1항에 있어서, 여기서:

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR1, SEQ ID NO: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR2 및 SEQ ID NO: 73 또는 88의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR3을 포함하고; 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR1, SEQ ID NO: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR2 및 SEQ ID NO: 76의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR3을 포함하며;

바람직하게는, 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR1, SEQ ID NO: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR2 및 SEQ ID NO: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR3을 포함하고; 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR1, SEQ ID NO: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR2 및 SEQ ID NO: 76의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR3을 포함하는, 항원 결합 분자.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 여기서:

i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56, 25 또는 57의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54, 55, 26, 48, 49, 50, 51, 52 또는 53의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37, 15 또는 38의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33, 16, 31, 32, 34, 35 또는 36의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42 또는 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41 또는 18의 아미노산 서열을 포함하며;

바람직하게는,

i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54, 55, 48, 49, 50, 51 또는 52의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 38의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33, 32, 34 또는 36의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

보다 바람직하게는:

i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 55의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하는, 항원 결합 분자.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77 또는 89의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며;

바람직하게는,

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하는, 항원 결합 분자.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈 또는 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬을 포함하며;

바람직하게는,

상기 Titin 사슬은 SEQ ID NO: 182 내지 SEQ ID NO: 200으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 Obscurin 사슬은 SEQ ID NO: 201 내지 SEQ ID NO: 241로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하며;

보다 바람직하게는,

상기 Titin 사슬은 SEQ ID NO: 198의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 Obscurin 사슬은 SEQ ID NO: 236의 아미노산 서열을 포함하는, 항원 결합 분자.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 Fc 영역을 포함하고, 상기 Fc 영역은 바람직하게는 IgG Fc 영역, 더욱 바람직하게는 IgG1 Fc 영역이며;

보다 바람직하게는, 상기 Fc 영역은 Fcγ 수용체에 대한 Fc 영역의 결합을 감소시킬 수 있는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하며;

가장 바람직하게는 상기 Fc 영역은 인간 IgG1 Fc 영역이고, 또한 위치 234 및 235에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 A인, 항원 결합 분자.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 Fc 영역을 포함하고, 상기 Fc 영역은 서로 결합 가능한 제1 서브유닛 Fc1 및 제2 서브유닛 Fc2를 포함하며, 상기 Fc1 및 Fc2는 각각 독립적으로 Fc 영역의 동종이량체화를 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 가지며;

바람직하게는, 상기 Fc1은 놉-인투-홀 기술에 따른 놉 구조를 갖고, 상기 Fc2는 놉-인투-홀 기술에 따른 홀 구

조를 가지며;

보다 바람직하게는, 상기 Fc1의 위치 366에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 W이고; 또한 상기 Fc2의 위치 366에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 S이며, 위치 368에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 A이고, 위치 407에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 V이며;

가장 바람직하게는, 상기 Fc1은 SEQ ID NO: 79 또는 85의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 Fc2는 SEQ ID NO: 80 또는 86의 아미노산 서열을 포함하는, 항원 결합 분자.

청구항 8

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈과 CD3에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 모두 scFv이며;

바람직하게는,

상기 항원 결합 분자는 식 (a)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬 및 식 (b)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬을 포함하며,

(a) [GUCY2C-VL]-[링커 1]-[CD3-VH]-[링커 2]-[Fc1],

(b) [CD3-VL]-[링커 3]-[GUCY2C-VH]-[링커 2]-[Fc2],

여기서: 상기 링커 1, 링커 2 및 링커 3은 동일하거나 상이한 펩티드 링커이거나; 또는 링커 1, 링커 2 및 링커 3은 존재하지 않으며;

식 (a) 및 (b)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이며;

보다 바람직하게는, 여기서:

i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 55의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며;

가장 바람직하게는,

i) 상기 항원 결합 분자는:

SEQ ID NO: 99의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 100의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬; 또는

SEQ ID NO: 101의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 100의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하거나; 또는

ii) 상기 항원 결합 분자는:

SEQ ID NO: 102의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 103의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하거나; 또는

iii) 상기 항원 결합 분자는:

SEQ ID NO: 104의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 105의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는, 항원 결합 분자.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 CD3에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈 및 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 Fab이고; 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬과 Obscurin 사슬을 포함하는 대체된 Fab이며;

바람직하게는,

상기 항원 결합 분자는 식 (c)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬, 식 (d)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬, 식 (e)로 표시되는 구조를 갖는 제3 사슬 및 식 (f)로 표시되는 구조를 갖는 제4 사슬을 포함하며,

(c) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc1],

(d) [CD3-VL]-[CL],

(e) [GUCY2C-VH]-[링커 4]-[Obscurin 사슬]-[Fc2],

(f) [GUCY2C-VL]-[링커 4]-[Titin 사슬],

여기서: 상기 링커 4는 펩티드 링커이거나; 또는 링커 4는 존재하지 않으며;

식 (c), (d), (e) 및 (f)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이며;

보다 바람직하게는, 여기서:

i) 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 89의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

ii) 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열

을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iii) 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하며;

가장 바람직하게는,

상기 항원 결합 분자는:

i) SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 113의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 242의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 113의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 108의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 109의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 111의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 114의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 115의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 116의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

ii) SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 106의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 107의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

iii) SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 119의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 117의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 118의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬을 포함하는, 항원 결합 분자.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈 및 CD3에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬과 Obscurin 사슬을 포함하는 대체된 Fab이며; 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 Fab이며;

바람직하게는,

상기 항원 결합 분자는 식 (g)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬, 식 (f)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬, 식 (h)로 표시되는 구조를 갖는 제3 사슬 및 식 (d)로 표시되는 구조를 갖는 제4 사슬을 포함하며,

(g) [GUCY2C-VH]-[링커 4]-[Obscurin 사슬]-[Fc1],

(f) [GUCY2C-VL]-[링커 4]-[Titin 사슬],

(h) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc2],

(d) [CD3-VL]-[CL],

여기서: 상기 링커 4는 펩티드 링커이거나; 또는 링커 4는 존재하지 않으며;

식 (g), (f), (h) 및 (d)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이며;

보다 바람직하게는, 여기서:

i) 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

ii) 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iii) 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하며;

가장 바람직하게는,

상기 항원 결합 분자는:

i) SEQ ID NO: 121의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 107의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사

슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

ii) SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 111의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 113의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 114의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 115의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 116의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

iii) SEQ ID NO: 123의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬을 포함하는, 항원 결합 분자.

청구항 11

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 2개의 항원 결합 모듈 및 CD3에 특이적으로 결합하는 2개의 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 GUCY2C와 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 모두 scFv이며;

바람직하게는,

상기 항원 결합 분자는 식 (i)로 표시되는 구조를 갖는 두 개의 제1 사슬 및 식 (j)로 표시되는 구조를 갖는 두 개의 제2 사슬을 포함하며,

(i) [GUCY2C-VH]-[CH1]-[CD3-VH]-[링커 5]-[CD3-VL]-[링커 6]-[Fc 영역의 하나의 서브유닛],

(j) [GUCY2C-VL]-[CL],

여기서: 상기 링커 5와 링커 6은 펩티드 링커이거나; 또는 링커 5와 링커 6은 존재하지 않으며;

식 (i) 및 (j)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이며;

보다 바람직하게는, 여기서:

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 55의 아미노산 서열을 포함하며;

가장 바람직하게는,

상기 항원 결합 분자는:

SEQ ID NO: 124의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 65의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제2 사슬; 또는

SEQ ID NO: 124의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제2 사슬을 포함하는, 항원 결합 분자.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 두 개의 항원 결합 모듈 및 CD3에 특이적으로 결합하는 두 개의 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 Fab이고; 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬과 Obscurin 사슬을 포함하는 대체된 Fab이며;

바람직하게는,

상기 항원 결합 분자는 식 (k)로 표시되는 구조를 갖는 두 개의 제1 사슬, 식 (j)로 표시되는 구조를 갖는 두 개의 제2 사슬 및 식 (l)로 표시되는 구조를 갖는 두 개의 제3 사슬을 포함하며,

(k) [GUCY2C-VH]-[CH1]-[링커 7]-[CD3-VH]-[링커 4]-[Obscurin 사슬]-[Fc 영역의 하나의 서브유닛],

(j) [GUCY2C-VL]-[CL],

(l) [CD3-VL]-[링커 4]-[Titin 사슬],

여기서: 상기 링커 4와 링커 7은 펩티드 링커이거나; 또는 링커 4와 링커 7은 존재하지 않으며;

식 (k), (j) 및 (l)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이며;

보다 바람직하게는, 여기서:

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 55의 아미노산 서열을 포함하며;

가장 바람직하게는,

상기 항원 결합 분자는:

SEQ ID NO: 125의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제1 사슬, SEQ ID NO: 65의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제2 사슬 및 SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제3 사슬; 또는

SEQ ID NO: 125의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제1 사슬, SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제2 사슬 및 SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제3 사슬을 포함하는, 항원 결합 분자.

청구항 13

GUCY2C에 특이적으로 결합할 수 있는 항-GUCY2C 항체로서, 상기 항-GUCY2C 항체는 중쇄 가변 영역 GUCY2C-VH 및 경쇄 가변 영역 GUCY2C-VL을 포함하며,

(i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47, 22, 43, 44, 45 또는 46의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

(ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27 또는 6의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고;

상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8, 28, 29 또는 30의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 40 또는 12의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 39 또는 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-1) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 250의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 251의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 252의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 253의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 254의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 255의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-2) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 256의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 257의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 258의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 259의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 260의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-3) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 262의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 263의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 264의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 265의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 266의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-4) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 267의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 268의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 269의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 270의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 271의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 272의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-5) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 281의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 282의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 283의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 284의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 285의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-6) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 286의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 287의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 288의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 289의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 265의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 290의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-7) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 291의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 292의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 293의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 294의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 295의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 296의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-8) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 297의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 298의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 264의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 299의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 300의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-9) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 301의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 302의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 303의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 299의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 304의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-10) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 305의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 306의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상

기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-11) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 128의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 307의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 308의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 309의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 310의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 311의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-12) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 312의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 313의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 314의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 315의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-13) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 286의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 287의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 316의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 317의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 265의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 300의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-14) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 318의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 319의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 320의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 321의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 322의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 323의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-15) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 324의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 325의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 326의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 327의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iv-16) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 328의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 302의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 264의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 329의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 300의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하며;

바람직하게는,

i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하는, 항-GUCY2C 항체.

청구항 14

제13항에 있어서,

i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56, 25 또는 57의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54, 55, 26, 48, 49, 50, 51, 52 또는 53의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37, 15 또는 38의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO:

33, 16, 31, 32, 34, 35 또는 36의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42 또는 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41 또는 18의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-1) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 273의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 274의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-2) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 275의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 276의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-3) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 277의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 278의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-4) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 279의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 280의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-5) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 330의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 331의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-6) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 332의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 333의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-7) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 334의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 335의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-8) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 336의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 337의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-9) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 338의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 339의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-10) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 340의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 341의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-11) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 342의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 343의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-12) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 344의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 345의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-13) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 346의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 347의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-14) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 348의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 349의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-15) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 350의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 351의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iv-16) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 352의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 353의 아미노산 서열을 포함하며;

바람직하게는,

i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54, 55, 48, 49, 50, 51 또는 52의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 38의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33, 32, 34 또는 36의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하며;

보다 바람직하게는:

i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 55의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하는, 항-GUCY2C 항체.

청구항 15

제13항 또는 제14항에 있어서, 이는 마우스 유래 항체, 키메라 항체 또는 인간화 항체인, 항-GUCY2C 항체.

청구항 16

제13항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역을 포함하고; 바람직하게는, 상기 중쇄 불변 영역은 인간 IgG1 불변 영역이며, 경쇄 불변 영역은 인간 항체 κ 및 λ 사슬 불변 영역으로부터 선택되고; 보다 바람직하게는, 상기 중쇄 불변 영역은 SEQ ID NO: 58의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄 불변 영역은 SEQ ID NO: 59의 아미노산 서열을 포함하는, 항-GUCY2C 항체.

청구항 17

제13항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서:

상기 중쇄는 SEQ ID NO: 64와 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 65 또는 66과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 중쇄는 SEQ ID NO: 60과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 61과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 중쇄는 SEQ ID NO: 62와 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 63과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며;

바람직하게는, 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 64의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 65 또는 66의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 중쇄는 SEQ ID NO: 60의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 61의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 중쇄는 SEQ ID NO: 62의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 63의 아미노산 서열을 포함하는, 항-GUCY2C 항체.

청구항 18

제13항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 항체 단편이고; 바람직하게는, 상기 항체

단편은 Fab, Fab', F(ab')2, Fd, Fv, scFv, dsFv 또는 dAb인, 항-GUCY2C 항체.

청구항 19

약학적 조성물로서, 이는:

치료 유효량의 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 항원 결합 분자 또는 제13항 내지 제18항 중 어느 한 항에 따른 항-GUCY2C 항체 및 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제, 완충제 또는 부형제를 함유하는, 약학적 조성물.

청구항 20

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 항원 결합 분자 또는 제13항 내지 제18항 중 어느 한 항에 따른 항-GUCY2C 항체를 코딩하는, 분리된 핵산.

청구항 21

제20항에 따른 분리된 핵산을 포함하는, 숙주 세포.

청구항 22

질환을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 치료 유효량의 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 항원 결합 분자 또는 제13항 내지 제18항 중 어느 한 항에 따른 항-GUCY2C 항체 또는 제19항에 따른 약학적 조성물을 피험자에게 투여하는 단계를 포함하며;

바람직하게는, 상기 질환은 종양이고; 보다 바람직하게는, 상기 종양은 위암, 위장암, 장암, 위선암, 소장암, 결장직장암, 식도암, 항문암, 간암, 담낭암, 담관암, 췌장암, 전립선암, 신장암, 요로상피암, 유방암, 방광암, 흉선암, 흑색종, 신경교종, 육종, 골육종, 난소암, 갑상선암, 폐 편평세포암, 폐 선암, 자궁경부 편평세포암, 자궁내막암, 폐암, 피부암, 두경부암, 뇌암, 다형성 교모세포종, 위식관암, 위식관 선암, 간 전이성 선암, 다발성 골수종, 림프종, 백혈병 또는 B 세포 림프종이며; 가장 바람직하게는, 상기 종양의 세포 또는 해당 종양에 근접한 혈관 내피 세포가 GUCY2C를 발현하는, 질환을 치료하는 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 방법은 제2 치료제를 사용하는 단계를 추가로 포함하고, 바람직하게는, 상기 제2 치료제에는 항종양제, 방사선 요법, 항체-약물 접합체, 이중특이성 항체, 항종양제에 접합된 이중특이성 항체, 면역관문 억제제 또는 이들의 조합이 포함되는, 질환을 치료하는 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 제2 치료제는 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체이고, 이는 CD28에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 모듈 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 모듈을 포함하며, 상기 CD28에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 중쇄 가변 영역 CD28-VH 및 경쇄 가변 영역 CD28-VL을 포함하고, 상기 EGFR에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 중쇄 가변 영역 EGFR-VH 및 경쇄 가변 영역 EGFR-VL을 포함하며;

바람직하게는,

i) 상기 CD28-VH는 SEQ ID NO: 146의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR1, SEQ ID NO: 147의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR2 및 SEQ ID NO: 148의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR3을 포함하고; 또한 상기 CD28-VL은 SEQ ID NO: 149의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR1, SEQ ID NO: 150의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR2 및 SEQ ID NO: 151의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR3을 포함하거나; 또는

ii) 상기 CD28-VH는 SEQ ID NO: 160의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR1, SEQ ID NO: 161의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR2 및 SEQ ID NO: 162의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR3을 포함하고; 또한 상기 CD28-VL은 SEQ ID NO: 149의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR1, SEQ ID NO: 150의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR2 및 SEQ ID NO: 163의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR3을 포함하거나; 또는

iii) 상기 CD28-VH는 SEQ ID NO: 168의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR1, SEQ ID NO: 169의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR2 및 SEQ ID NO: 170의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR3을 포함하고; 또한 상기

CD28-VL은 SEQ ID NO: 171의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR1, SEQ ID NO: 172의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR2 및 SEQ ID NO: 173의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR3을 포함하며;

보다 바람직하게는,

i) 상기 CD28-VH는 SEQ ID NO: 154의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD28-VL은 SEQ ID NO: 155의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

ii) 상기 CD28-VH는 SEQ ID NO: 164의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD28-VL은 SEQ ID NO: 165의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

iii) 상기 CD28-VH는 SEQ ID NO: 174의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD28-VL은 SEQ ID NO: 175의 아미노산 서열을 포함하는, 질환을 치료하는 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 EGFR에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 중쇄 가변 영역 EGFR-VH 및 경쇄 가변 영역 EGFR-VL을 포함하며, 여기서:

상기 EGFR-VH는 SEQ ID NO: 140의 아미노산 서열을 포함하는 EGFR-HCDR1, SEQ ID NO: 141의 아미노산 서열을 포함하는 EGFR-HCDR2 및 SEQ ID NO: 142의 아미노산 서열을 포함하는 EGFR-HCDR3을 포함하고; 또한 상기 EGFR-VL은 SEQ ID NO: 143의 아미노산 서열을 포함하는 EGFR-LCDR1, SEQ ID NO: 144의 아미노산 서열을 포함하는 EGFR-LCDR2 및 SEQ ID NO: 145의 아미노산 서열을 포함하는 EGFR-LCDR3을 포함하며;

보다 바람직하게는,

상기 EGFR-VH는 SEQ ID NO: 152의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 EGFR-VL은 SEQ ID NO: 153의 아미노산 서열을 포함하는, 질환을 치료하는 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 Fc 영역을 포함하며;

바람직하게는, 상기 Fc 영역은 서로 결합할 수 있는 제1 서브유닛 Fc1 및 제2 서브유닛 Fc2를 포함하고, 상기 Fc1은 놉-인투-홀 기술에 따른 놉 구조를 가지며, 상기 Fc2는 놉-인투-홀 기술에 따른 홀 구조를 가지며;

보다 바람직하게는, 상기 Fc1의 위치 366에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 W이고; 또한 상기 Fc2의 위치 366에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 S이며, 위치 368에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 A이고, 위치 407에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 V이며;

가장 바람직하게는, 상기 Fc1은 SEQ ID NO: 248의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 Fc2는 SEQ ID NO: 249의 아미노산 서열을 포함하는, 질환을 치료하는 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 CD28에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈을 포함하며, 상기 CD28에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬과 Obscurin 사슬을 포함하는 대체된 Fab이고; 상기 EGFR에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 Fab이며;

바람직하게는,

상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 식 (m)으로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬, 식 (n)으로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬, 식 (o)로 표시되는 구조를 갖는 제3 사슬 및 식 (p)로 표시되는 구조를 갖는 제4 사슬을 포함하며,

(m) [CD28-VH]-[링커 8]-[Titin 사슬]-[Fc1],

(n) [CD28-VL]-[링커 8]-[Obscurin 사슬],

(o) [EGFR-VH]-[CH1]-[Fc2],

(p) [EGFR-VL]-[CL],

여기서: 상기 링커 8은 펩티드 링커이거나; 또는 상기 링커 8은 존재하지 않으며;

식 (m), (n), (o) 및 (p)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이며;

가장 바람직하게는,

상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 SEQ ID NO: 156의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 157의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 158의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 159의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬을 포함하거나; 또는

상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 SEQ ID NO: 166의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 167의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 158의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 159의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬을 포함하는, 질환을 치료하는 방법.

청구항 28

제26항에 있어서, 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 CD28에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈을 포함하며, 상기 CD28에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 Fab이고; 상기 EGFR에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬을 포함하는 대체된 Fab이며;

바람직하게는,

상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 식 (q)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬, 식 (r)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬, 식 (s)로 표시되는 구조를 갖는 제3 사슬 및 식 (t)로 표시되는 구조를 갖는 제4 사슬을 포함하며,

(q) [CD28-VH]-[CH1]-[Fc1],

(r) [CD28-VL]-[CL],

(s) [EGFR-VH]-[링커 8]-[Obscurin 사슬]-[Fc2],

(t) [EGFR-VL]-[링커 8]-[Titin 사슬],

여기서: 상기 링커 8은 펩티드 링커이거나; 또는 상기 링커 8은 존재하지 않으며;

식 (q), (r), (s) 및 (t)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이며;

보다 바람직하게는,

상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 SEQ ID NO: 176의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 177의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 178의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 179의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬을 포함하는, 질환을 치료하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 개시는 생명기술 분야에 관한 것이며, 보다 구체적으로, 본 개시는 GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자 및 이의 의약적 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 여기에서 진술하는 내용은 단지 본 개시와 관련되는 배경 정보를 제공하는 것으로서, 종래기술을 필연적으로 구성하는 것은 아니다.

[0003] GUCY2C(Guanylyl Cyclase C)는 세포외 도메인, 단일 막관통 도메인 및 세포내 촉매 도메인으로 구성된 막횡단 구아닐신 시클라제 패밀리에 속하며, 세포막에 동종이량체 또는 삼량체 방식으로 고정되어 있다. 이의 주요 기능은 장의 항상성과 같은 정상적인 생리적 기능을 유지하기 위해 GTP로 cGMP를 형성하는 것을 촉매하는 것이다(Michaela Kuhn, Physiological Reviews: (2016), 96(2):751-804). 정상 조직에서, GUCY2C는 장 상피 세포에서

만 발현되며 기타 조직에서는 발현되지 않거나 매우 저 발현된다. 동시에, GUCY2C는 모든 단계 결장직장암의 90% 이상, 위암 또는 위식관 접합부암의 50% 이상을 포함하는 위장관 악성 종양에서 발현된다(Ruth Birbe MD., Human Pathology, (2005), 36(2):170-179; Hadi Danaee, PLoS One, (2017), 12(12): e0189953). 또한, 정상적인 장 조직과 장암에서 세포 수준의 발현 극성과 혈관 농축 정도가 현저히 차이성이 있기 때문에, 장암의 GUCY2C는 정상 조직에서 보다 혈관과 접촉할 확률이 높기 때문에(Divya Mathur, Clinical Cancer Research, (2020), 26(9):2188-2202), GUCY2C는 위장암, 특히 장암에 대해 더 특이적이고 매우 유망한 표적이 된다.

[0004] CD3 및 TAA를 표적으로 하는 이중특이성 항체는 T 세포와 종양 세포에 동시에 결합할 수 있는 새로운 면역 요법으로, MHC와 TCR의 상호작용을 시뮬레이션하여 T 세포가 용해성 synapse를 형성한 후, 퍼포린과 그랜자임을 방출하여 종양 세포를 특이적으로 사멸한다. 활성화된 T 세포는 기타 면역 세포를 활성화하고 종양에 대한 면역 반응을 확대하는 사이토카인을 방출할 수 있고, 최종적으로 T 세포의 증식과 종양 세포를 사멸하는 캐스케이드 반응을 일으킬 수 있다.

발명의 내용

[0005] 본 개시는 GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자 및 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다.

[0006] 일 측면에서, 본 개시는 GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자를 제공하며, 이는 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 모듈 및 CD3에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 중쇄 가변 영역 GUCY2C-VH 및 경쇄 가변 영역 GUCY2C-VL을 포함하고, 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 중쇄 가변 영역 CD3-VH 및 경쇄 가변 영역 CD3-VL을 포함한다.

[0007] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서,

[0008] (i) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 25의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 54, 26, 50, 51, 52 또는 53의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0009] (ii) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 37 또는 15의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 16, 34, 35 또는 36의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0010] (iii) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 42 또는 17의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 41 또는 18의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0011] iv-1) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 273의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 274의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0012] iv-2) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 275의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C- LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 276의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0013] iv-3) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 277의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 278의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0014] iv-4) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 279의 GUCY2C-

HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 280의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0015] iv-5) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 330의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 331의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0016] iv-6) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 332의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C- LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 333의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0017] iv-7) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 334의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 335의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0018] iv-8) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 336의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 337의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0019] iv-9) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 338의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 339의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0020] iv-10) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 340의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 341의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0021] iv-11) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 342의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 343의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0022] iv-12) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 344의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 345의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0023] iv-13) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 346의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 347의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0024] iv-14) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 348의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 349의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0025] iv-15) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 350의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 351의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서

열을 포함하거나; 또는

[0026] iv-16) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 352의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 353의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함한다.

[0027] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서,

[0028] (i) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 25의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 54의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0029] (ii) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 37의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 16의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0030] (iii) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 42의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 41의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함한다.

[0031] 일부 실시양태에서, 상기 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2, GUCY2C-HCDR3, GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 Kabat, IMGT, Chothia, AbM 또는 Contact 넘버링 규칙에 따라 정의된다.

[0032] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0033] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47, 22, 43, 44, 45 또는 46의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0034] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27 또는 6의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8, 28, 29 또는 30의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0035] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 40 또는 12의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 39 또는 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0036] iv-1) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 250의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 251의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 252의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 253의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 254의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 255의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0037] iv-2) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 256의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 257의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 258의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 259의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 260의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0038] iv-3) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 262의 아미노

산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 263의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 264의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 265의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 266의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0039] iv-4) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 267의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 268의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 269의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 270의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 271의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 272의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0040] iv-5) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 281의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 282의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 283의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 284의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 285의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0041] iv-6) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 286의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 287의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 288의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 289의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 265의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 290의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0042] iv-7) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 291의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 292의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 293의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 294의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 295의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 296의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0043] iv-8) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 297의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 298의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 264의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 299의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 300의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0044] iv-9) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 301의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 302의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 303의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 299의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 304의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0045] iv-10) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 305의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 306의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0046] iv-11) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 128의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 307의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 308의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 309의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 310의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 311의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0047] iv-12) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 312의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 313의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 314의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 315의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0048] iv-13) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 286의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 287의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 316의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 317의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 265의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 300의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0049] iv-14) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 318의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 319의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 320의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 321의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 322의 아미노산 서열

을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 323의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0050] iv-15) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 324의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 325의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 326의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 327의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0051] iv-16) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 328의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 302의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 264의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 329의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 300의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함한다.

[0052] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0053] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0054] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0055] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함한다.

[0056] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0057] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0058] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 6 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0059] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함한다.

[0060] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0061] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0062] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0063] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을

포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0064] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0065] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함한다.

[0066] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자로서, 상기 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2, GUCY2C-HCDR3, GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 Kabat 넘버링 규칙에 따라 정의된 것이다.

[0067] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 GUCY2C-VH 및 GUCY2C-VL이 인간화되고, 모두 인간 항체의 FR 영역을 포함한다.

[0068] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0069] (i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VH의 FR 영역은 1E, 39L, 43K, 69L, 71V 및 73K로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하며; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47, 22, 43, 44, 45 또는 46의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 FR 영역은 2V, 3V, 68R 및 74K로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나; 또는

[0070] (ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27 또는 6의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VH의 FR 영역은 1E, 38K, 66K 및 67A로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8, 28, 29 또는 30의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 FR 영역은 15P, 16G, 42S, 43S, 45K, 46S, 47W, 49Y, 58V, 71Y 및 76S로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나; 또는

[0071] (iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 40 또는 12의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VH의 FR 영역은 1E, 2F, 28S, 69L, 71V, 73Q 및 75S로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 39 또는 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하며, 상기 GUCY2C-VL의 FR 영역은 42S, 43S, 46P, 47W, 58V 및 71Y로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0072] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0073] (i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VH의 FR 영역은 1E, 39L, 43K, 69L, 71V 및 73K로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하며, 상기 GUCY2C-VL의 FR 영역은 2V, 3V, 68R 및 74K로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나; 또는

[0074] (ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VH의 FR 영역은 1E, 38K, 66K 및 67A로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하며, 상기 GUCY2C-VL의 FR 영역은 15P, 16G, 42S, 43S, 45K, 46S, 47W, 49Y, 58V, 71Y 및 76S로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나; 또는

[0075] (iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VH의 FR 영역은 1E, 2F, 28S, 69L, 71V, 73Q 및 75S로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하며, 상기 GUCY2C-VL의 FR 영역은 42S, 43S, 46P, 47W, 58V 및 71Y로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0076] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0077] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR1, SEQ ID NO: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR2 및 SEQ ID NO: 73 또는 88의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR3을 포함하고; 또한 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR1, SEQ ID NO: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR2 및 SEQ ID NO: 76의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR3을 포함한다.

[0078] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0079] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR1, SEQ ID NO: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR2 및 SEQ ID NO: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR3을 포함하고; 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR1, SEQ ID NO: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR2 및 SEQ ID NO: 76의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR3을 포함한다.

[0080] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0081] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR1, SEQ ID NO: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR2 및 SEQ ID NO: 88의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR3을 포함하고; 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR1, SEQ ID NO: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR2 및 SEQ ID NO: 76의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR3을 포함한다.

[0082] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0083] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56, 25 또는 57의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54, 55, 26, 48, 49, 50, 51, 52 또는 53의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0084] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37, 15 또는 38의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33, 16, 31, 32, 34, 35 또는 36의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0085] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42 또는 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41 또는 18의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0086] iv-1) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 273의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 274의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0087] iv-2) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 275의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 276의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0088] iv-3) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 277의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 278의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0089] iv-4) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 279의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 280의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0090] iv-5) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 330의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 331의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0091] iv-6) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 332의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 333의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0092] iv-7) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 334의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 335의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0093] iv-8) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 336의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 337의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0094] iv-9) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 338의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 339의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0095] iv-10) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 340의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 341의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0096] iv-11) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 342의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 343의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0097] iv-12) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 344의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 345의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0098] iv-13) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 346의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 347의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0099] iv-14) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 348의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 349의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0100] iv-15) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 350의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 351의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0101] iv-16) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 352의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 353의 아미노산 서열을 포함한다.

[0102] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0103] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54, 55, 48, 49, 50, 51 또는 52의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0104] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0105] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0106] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 38의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33, 32, 34 또는 36의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0107] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0108] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0109] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함한다.

[0110] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0111] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0112] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 55의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0113] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0114] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함한다.

[0115] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 56에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 54에 제시된 바와 같다.

[0116] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 56에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 55에 제시된 바와 같다.

[0117] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 37에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 33에 제시된 바와 같다.

[0118] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 42에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 41에 제시된 바와 같다.

[0119] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0120] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77 또는 89의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함한다.

[0121] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0122] 상기 CD3-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 77에 제시된 바와 같고, 상기 CD3-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 78에 제시된 바와 같다.

[0123] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0124] 상기 CD3-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 89에 제시된 바와 같고, 상기 CD3-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 78에 제시된 바와 같다.

[0125] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈 또는 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬을 포함한다.

[0126] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬을 포함한다.

[0127] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬을 포함한다.

[0128] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Titin 사슬은 SEQ ID NO: 182 내지 SEQ ID NO: 200으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 Obscurin 사슬은 SEQ ID NO: 201 내지 SEQ ID NO: 241로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0129] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Titin 사슬은 SEQ ID NO: 198의 아미노산 서열을 포함한다.

[0130] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Obscurin 사슬은 SEQ ID NO: 236의 아미노산 서열을 포함한다.

[0131] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 Fc

영역을 포함한다.

[0132] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 IgG Fc 영역을 포함한다.

[0133] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 IgG1 Fc 영역을 포함한다.

[0134] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 Fc γ 수용체에 대한 Fc 영역의 결합을 감소시킬 수 있는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 Fc 영역을 포함한다.

[0135] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 인간 IgG1 Fc영역인 Fc 영역을 포함하고, 또한, 위치 234와 235에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 A이다.

[0136] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 Fc 영역을 포함하고, 상기 Fc 영역은 서로 결합할 수 있는 제1 서브유닛 Fc1 및 제2 서브유닛 Fc2를 포함하고, 상기 Fc1 및 Fc2는 각각 독립적으로 Fc 영역의 동종이량체화를 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는다.

[0137] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 Fc 영역을 포함하고, 상기 Fc 영역은 서로 결합할 수 있는 제1 서브유닛 Fc1 및 제2 서브유닛 Fc2를 포함하고, 상기 Fc1은 놉-인투-홀 기술에 따라 놉 구조를 가지며, 상기 Fc2는 놉-인투-홀 기술에 따라 홀 구조를 갖는다.

[0138] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 Fc 영역을 포함하고, 상기 Fc 영역은 서로 결합할 수 있는 제1 서브유닛 Fc1 및 제2 서브유닛 Fc2를 포함하고, 상기 Fc1은 놉-인투-홀 기술에 따라 놉 구조를 가지며, 상기 Fc2는 놉-인투-홀 기술에 따라 홀 구조를 가지며, 상기 Fc1의 위치 366에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 W이고; 상기 Fc2의 위치 366에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 S이며, 위치 368에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 A이고, 위치 407에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 V이다.

[0139] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 Fc 영역을 포함하고, 상기 Fc 영역은 서로 결합할 수 있는 제1 서브유닛 Fc1 및 제2 서브유닛 Fc2를 포함하며, 여기서, 상기 Fc1은 SEQ ID NO: 79 또는 85의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 Fc2는 SEQ ID NO: 80 또는 86의 아미노산 서열을 포함한다.

[0140] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 Fc 영역을 포함하고, 상기 Fc 영역은 서로 결합할 수 있는 제1 서브유닛 Fc1 및 제2 서브유닛 Fc2를 포함하며, 상기 Fc1은 놉-인투-홀 기술에 따른 놉 구조를 갖고, 상기 Fc2는 놉-인투-홀 기술에 따른 홀 구조를 가지며, 여기서, 상기 Fc1의 위치 354에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 C이고 위치 366에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 W이며; 또한 상기 Fc2의 위치 349에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 C이고, 위치 366에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 S이며, 위치 368에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 A이고, 위치 407에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 V이다.

[0141] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 Fc 영역을 포함하고, 상기 Fc 영역은 서로 결합할 수 있는 제1 서브유닛 Fc1 및 제2 서브유닛 Fc2를 포함하고, 여기서, 상기 Fc1은 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 Fc2는 SEQ ID NO: 86의 아미노산 서열을 포함한다.

[0142] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 Fc 영역을 포함하고, 상기 Fc 영역은 서로 결합할 수 있는 제1 서브유닛 Fc1 및 제2 서브유닛 Fc2를 포함하며, 상기 Fc1은 놉-인투-홀 기술에 따른 놉 구조를 갖고, 상기 Fc2는 놉-인투-홀 기술에 따른 홀 구조를 가지며, 여기서, 상기 Fc1의 위치 237에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 A이고, 위치 349에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 C이며 위치 366에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 W이고; 또한 상기 Fc2의 위치 237에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 A이며, 위치 354에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 C이고, 위치 366에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 S이며, 위치 368에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 A이고, 위치 407에 있는 아미노산은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 V이다.

[0143] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 Fc 영역을 포함하고, 상기 Fc 영역은 서로 결합할 수 있는 제1 서브유닛 Fc1 및 제2 서브유닛 Fc2를 포함하며, 여기서, 상기 Fc1은 SEQ ID NO: 79의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 Fc2는 SEQ ID NO: 80의 아미노산 서열을 포함한다.

[0144] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈 및 CD3에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈을 포함한다.

[0145] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈 및 CD3에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 모두 scFv이다.

[0146] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는

[0147] 식 (a)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬 및 식 (b)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬을 포함하며,

[0148] (a) [GUCY2C-VL]-[링커 1]-[CD3-VH]-[링커 2]-[Fc1],

[0149] (b) [CD3-VL]-[링커 3]-[GUCY2C-VH]-[링커 2]-[Fc2],

[0150] 여기서: 상기 링커 1, 링커 2 및 링커 3은 동일하거나 상이한 펩티드 링커이거나; 또는 링커 1, 링커 2 및 링커 3은 존재하지 않으며;

[0151] 식 (a) 및 (b)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0152] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0153] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0154] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 55의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0155] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0156] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함한다.

[0157] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0158] 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 56에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 54에 제시된 바와 같으며; 또한 상기 CD3-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 77에 제시된 바와 같고, 상기 CD3-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 78에 제시된 바와 같다.

[0159] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0160] 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 56에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 55에 제시된 바와 같으며; 또한 상기 CD3-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 77에 제시된 바와 같고, 상기 CD3-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 78에 제시된 바와 같다.

[0161] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0162] 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 15에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 16에 제시된 바와 같으며; 또한 상기 CD3-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 77에 제시된 바와 같고, 상기 CD3-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 78에 제시된 바와 같다.

[0163] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 링커 1 및 링커 2는 항원 결합 분자는 원하는 항원 결합 활성을 나타낼 수 있는 한 모두 당업계에 알려진 펩티드 링커이다. 예를 들어, 펩티드 링커는 1~50개 또는 3~20개의 아미노산 잔기를 갖는 유연한 펩티드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커는 각각 독립적으로 L_1-(GGGGS)n-L_2의 구조를 가지며, 여기서, L_1은 결합, A, G(SEQ ID NO: 82), GS, GGG(SEQ ID NO: 96), GGS(SEQ ID NO: 245), GGGS(SEQ ID NO: 246) 또는 GGGG(SEQ ID NO: 247)이고, n은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이며, L2는 결합, G(SEQ ID NO: 82), GG, GGG(SEQ ID NO: 96) 또는 GGGG(SEQ ID NO: 247)이고, 또한 상기 펩티드 링커는 결합이 아니다. 일부 실시양태에서, 상기 링커 1의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 81에 제시된 바와 같고, 링커 2의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 82에 제시된 바와 같으며, 링커 3의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 83에 제시된 바와 같다.

[0164] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Fc1의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 79에 제시된 바와 같고, Fc2의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 80에 제시된 바와 같다.

[0165] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는:

[0166] i) SEQ ID NO: 99의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 100의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬; 또는

[0167] SEQ ID NO: 101의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 100의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬; 또는

[0168] ii) SEQ ID NO: 102의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 103의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬; 또는

[0169] iii) SEQ ID NO: 104의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 105의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함한다.

[0170] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 99에 제시된 바와 같은 제1 사슬 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 100에 제시된 바와 같은 제2 사슬을 포함한다.

[0171] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 101에 제시된 바와 같은 제1 사슬 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 100에 제시된 바와 같은 제2 사슬을 포함한다.

[0172] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 102에 제시된 바와 같은 제1 사슬 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 103에 제시된 바와 같은 제2 사슬을 포함한다.

[0173] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 CD3에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈 및 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 Fab이며, 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬과 Obscurin 사슬을 포함하는 대체된 Fab이다.

[0174] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 식 (c)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬, 식 (d)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬, 식 (e)로 표시되는 구조를 갖는 제3 사슬 및 식 (f)로 표시되는 구조를 갖는 제4 사슬을 포함하며,

[0175] (c) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc1],

[0176] (d) [CD3-VL]-[CL],

[0177] (e) [GUCY2C-VH]-[링커 4]-[Obscurin 사슬]-[Fc2],

[0178] (f) [GUCY2C-VL]-[링커 4]-[Titin 사슬],

[0179] 여기서: 상기 링커 4는 펩티드 링커이거나; 또는 링커 4는 존재하지 않으며;

[0180] 식 (c), (d), (e) 및 (f)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0181] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0182] i) 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0183] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 89의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0184] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0185] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0186] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0187] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0188] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0189] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0190] ii) 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0191] iii) 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0192] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함한다.

[0193] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0194] 상기 CD3-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 77에 제시된 바와 같고, 상기 CD3-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 78에 제시된 바와 같으며; 또한 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 37에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 33에 제시된 바와 같다.

[0195] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0196] 상기 CD3-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 89에 제시된 바와 같고, 상기 CD3-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 78에 제시된 바와 같으며; 또한 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 37에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 33에 제시된 바와 같다.

[0197] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0198] 상기 CD3-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 77에 제시된 바와 같고, 상기 CD3-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 78에 제시된 바와 같으며; 또한 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 42에 제시된 바와 같고, 상

기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 41에 제시된 바와 같다.

[0199] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬은 이량체를 형성할 수 있는 본 개시의 표 3-1 및 표 3-2의 임의의 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬이다. 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Titin 사슬은 SEQ ID NO: 198과 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Obscurin 사슬은 SEQ ID NO: 236과 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0200] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 링커 4는 항원 결합 분자가 원하는 항원 결합 활성을 나타낼 수 있는 한, 모두 당업계에 알려진 펩티드 링커이다. 예를 들어, 펩티드 링커는 1~50개 또는 3~20개의 아미노산 잔기를 포함하는 유연한 펩티드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커의 길이는 3~15개의 아미노산 잔기이다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커는 각각 독립적으로 (GGGGS)n의 구조를 가지며, 여기서 n은 1, 2 또는 3이다. 일부 실시양태에서, 상기 링커 4의 서열은 GGGGS(SEQ ID NO: 90)이다.

[0201] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CH1은 IgG의 CH1 서열이다. 일부 실시양태에서, 상기 CH1은 IgG1의 CH1이다. 일부 실시양태에서, 상기 CH1은 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함한다.

[0202] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CL은 항체의 경쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CL은 kappa 또는 lamada의 경쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 상기 CL은 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함한다.

[0203] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Fc1의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 85에 제시된 바와 같고, Fc2의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 86에 제시된 바와 같다.

[0204] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는:

[0205] i) SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 113의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0206] SEQ ID NO: 242의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 113의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0207] SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 108의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 109의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0208] SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 111의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0209] SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0210] SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 114의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0211] SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 115의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0212] SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 116의 아미노산 서열을 포함하는 제4

사슬; 또는

[0213] ii) SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 106의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 107의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0214] iii) SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 119의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0215] SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 117의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 118의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬을 포함한다.

[0216] 일부 실시형태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 91에 제시된 바와 같은 제1 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 92에 제시된 바와 같은 제2 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 110에 제시된 바와 같은 제3 사슬 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 113에 제시된 바와 같은 제4 사슬을 포함한다.

[0217] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 242에 제시된 바와 같은 제1 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 92에 제시된 바와 같은 제2 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 110에 제시된 바와 같은 제3 사슬 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 113에 제시된 바와 같은 제4 사슬을 포함한다.

[0218] 일부 실시형태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 91에 제시된 바와 같은 제1 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 92에 제시된 바와 같은 제2 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 119에 제시된 바와 같은 제3 사슬 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 120에 제시된 바와 같은 제4 사슬을 포함한다.

[0219] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈 및 CD3에 특이적으로 결합하는 하나의 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬과 Obscurin 사슬을 포함하는 대체된 Fab이며; 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 Fab이다.

[0220] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 식 (g)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬, 식 (f)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬, 식 (h)로 표시되는 구조를 갖는 제3 사슬 및 식 (d)로 표시되는 구조를 갖는 제4 사슬을 포함하며,

[0221] (g) [GUCY2C-VH]-[링커 4]-[Obscurin 사슬]-[Fc1],

[0222] (f) [GUCY2C-VL]-[링커 4]-[Titin 사슬],

[0223] (h) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc2],

[0224] (d) [CD3-VL]-[CL],

[0225] 여기서: 상기 링커 4는 펩티드 링커이거나; 또는 링커 4는 존재하지 않으며;

[0226] 식 (g), (f), (h) 및 (d)로 표시된 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0227] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0228] i) 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0229] ii) 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0230] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을

포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0231] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0232] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0233] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0234] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0235] iii) 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함한다.

[0236] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0237] 상기 CD3-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 77에 제시된 바와 같고, 상기 CD3-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 78에 제시된 바와 같으며; 또한 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 56에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 54에 제시된 바와 같다.

[0238] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬은 이량체를 형성할 수 있는 본 개시의 표 3-1 및 표 3-2의 임의의 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬이다. 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Titin 사슬은 SEQ ID NO: 198과 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Obscurin 사슬은 SEQ ID NO: 236과 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0239] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 링커 4는 항원 결합 분자가 원하는 항원 결합 활성을 나타낼 수 있는 한, 모두 당업계에 알려진 펩티드 링커이다. 예를 들어, 펩티드 링커는 1~50개 또는 3~20개의 아미노산 잔기를 포함하는 유연한 펩티드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커의 길이는 3~15개의 아미노산 잔기이다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커는 각각 독립적으로 (GGGGS)n의 구조를 가지며, 여기서 n은 1, 2 또는 3이다. 일부 실시양태에서, 상기 링커 4의 서열은 GGGGS(SEQ ID NO: 90)이다.

[0240] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CH1은 IgG의 CH1 서열이다. 일부 실시양태에서, 상기 CH1은 IgG1의 CH1이다. 일부 실시양태에서, 상기 CH1은 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함한다.

[0241] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CL은 항체의 경쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CL은 kappa 또는 lamada의 경쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 상기 CL은 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함한다.

[0242] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Fc1의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 85에 제시된 바와 같고, Fc2의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 86에 제시된 바와 같다.

[0243] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는:

[0244] i) SEQ ID NO: 121의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 107의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0245] ii) SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 111의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0246] SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0247] SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 113의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0248] SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 114의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0249] SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 115의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0250] SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 116의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬; 또는

[0251] iii) SEQ ID NO: 123의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬을 포함한다.

[0252] 일부 실시형태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 121에 제시된 바와 같은 제1 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 107에 제시된 바와 같은 제2 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 93에 제시된 바와 같은 제3 사슬 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 92에 제시된 바와 같은 제4 사슬을 포함한다.

[0253] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 2개의 항원 결합 모듈 및 CD3에 특이적으로 결합하는 2개의 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 모두 scFv이다.

[0254] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 식 (i)로 표시되는 구조를 갖는 두 개의 제1 사슬 및 식 (j)로 표시되는 구조를 갖는 두 개의 제2 사슬을 포함하며,

[0255] (i) [GUCY2C-VH]-[CH1]-[CD3-VH]-[링커 5]-[CD3-VL]-[링커 6]-[Fc 영역의 하나의 서브유닛],

[0256] (j) [GUCY2C-VL]-[CL],

[0257] 여기서: 상기 링커 5와 링커 6은 펩티드 링커이거나; 또는 링커 5와 링커 6은 존재하지 않으며;

[0258] 식 (i) 및 (j)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0259] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0260] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0261] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 55의 아미노산 서열을 포함한다.

[0262] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0263] 상기 CD3-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 77에 제시된 바와 같고, 상기 CD3-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 78에 제시된 바와 같으며; 또한 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 56에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 54에 제시된 바와 같다.

[0264] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 링커 5 및 링커 6은 항원 결합 분자가 원하는 항원 결합 활성을 나타낼 수 있는 한, 모두 당업계에 알려진 펩티드 링커이다. 예를 들어, 펩티드 링커는 1~50개 또는 3~20개의 아미노산 잔기를 포함하는 유연한 펩티드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커는 각각 독립적으로 L_1-(GGGGS)n-L_2의 구조를 가지며, 여기서, L_1은 결합, A, G. GS, GGG(SEQ ID NO: 96), GGS(SEQ ID NO: 245), GGGS(SEQ ID NO: 246) 또는 GGGG(SEQ ID NO: 247)이고, n은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이며, L2는 결합, G, GG, GGG(SEQ ID NO: 96) 또는 GGGG(SEQ ID NO: 247)이고, 또한 상기 펩티드 링커는 결합이 아니다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커의 길이는 3~15개의 아미노산 잔기이다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커는 각각 독립적으로 (GGGGS)n의 구조를 가지며, 여기서 n은 1, 2 또는 3이다. 일부 실시양태에서, 링커 5의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 95에 제시된 바와 같고, 링커 6의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 96에 제시된 바와 같다.

[0265] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CH1은 IgG의 CH1 서열이다. 일부 실시양태에서, 상기 CH1은 IgG1의 CH1이다. 일부 실시양태에서, 상기 CH1은 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함한다.

[0266] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CL은 항체의 경쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CL은 kappa 또는 lamada의 경쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 상기 CL은 SEQ ID NO: 59의 아미노산 서열을 포함한다.

[0267] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Fc 영역의 하나의 서브유닛의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 94에 제시된 바와 같다.

[0268] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는:

[0269] SEQ ID NO: 124의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 65의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제2 사슬; 또는

[0270] SEQ ID NO: 124의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제2 사슬을 포함한다.

[0271] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 124에 제시된 바와 같은 두 가닥의 제1 사슬 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 65에 제시된 바와 같은 제2 사슬을 포함한다.

[0272] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 2개의 항원 결합 모듈 및 CD3에 특이적으로 결합하는 2개의 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 Fab이고; 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬과 Obscurin 사슬을 포함하는 대체된 Fab이다.

[0273] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 식 (k)로 표시되는 구조를 갖는 두 개의 제1 사슬, 식 (j)로 표시되는 구조를 갖는 두 개의 제2 사슬 및 식 (l)로 표시되는 구조를 갖는 두 개의 제3 사슬을 포함하며,

[0274] (k) [GUCY2C-VH]-[CH1]-[링커 7]-[CD3-VH]-[링커 4]-[Obscurin 사슬]-[Fc 영역의 하나의 서브유닛],

[0275] (j) [GUCY2C-VL]-[CL],

[0276] (l) [CD3-VL]-[링커 4]-[Titin 사슬],

[0277] 여기서: 상기 링커 4와 링커 7은 펩티드 링커이거나; 또는 링커 4와 링커 7은 존재하지 않으며;

[0278] 식 (k), (j) 및 (l)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0279] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0280] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0281] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 55의 아미노산 서열을 포함한다.

[0282] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0283] 상기 CD3-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 77에 제시된 바와 같고, 상기 CD3-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 78에 제시된 바와 같으며; 또한 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 56에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 54에 제시된 바와 같다.

[0284] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 링커 4 및 링커 7은 항원 결합 분자가 원하는 항원 결합 활성을 나타낼 수 있는 한, 모두 당업계에 알려진 펩티드 링커이다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커의 길이는 3~15개의 아미노산 잔기이다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커는 각각 독립적으로 (GGGGS)n의 구조를 가지며, 여기서 n은 1, 2 또는 3이다. 일부 실시양태에서, 링커 4의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 90에 제시된 바와 같고, 링커 7의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 97에 제시된 바와 같다.

[0285] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬은 이량체를 형성할 수 있는 본 개시의 표 3-1 및 표 3-2의 임의의 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬이다. 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Titin 사슬은 SEQ ID NO: 198과 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Obscurin 사슬은 SEQ ID NO: 236과 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0286] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CH1은 IgG의 CH1 서열이다. 일부 실시양태에서, 상기 CH1은 IgG1의 CH1이다. 일부 실시양태에서, 상기 CH1은 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함한다.

[0287] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CL은 항체의 경쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CL은 kappa 또는 lamada의 경쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 상기 CL은 SEQ ID NO: 59의 아미노산 서열을 포함한다.

[0288] 일부 실시양태에서, 상기 Fc 영역의 하나의 서브유닛의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 86에 제시된 바와 같다.

[0289] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는:

[0290] SEQ ID NO: 125의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제1 사슬, SEQ ID NO: 65의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제2 사슬 및 SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제3 사슬; 또는

[0291] SEQ ID NO: 125의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제1 사슬, SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제2 사슬 및 SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 두 개의 제3 사슬을 포함한다.

[0292] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 항원 결합 분자는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 125에 제시된 바와 같은 두 개의 제1 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 65에 제시된 바와 같은 두 개의 제2 사슬 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 98에 제시된 바와 같은 두 개의 제3 사슬을 포함한다.

[0293] 다른 일 측면에서, 본 개시는 또한 GUCY2C에 특이적으로 결합할 수 있는 항-GUCY2C 항체를 제공하며, 상기 항체는 중쇄 가변 영역 GUCY2C-VH 및 경쇄 가변 영역 GUCY2C-VL을 포함하며, 여기서:

[0294] (i) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 25의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 54, 26, 50, 51, 52 또는 53의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0295] (ii) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 37 또는 15의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 16, 34, 35 또는 36의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0296] (iii) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 42 또는 17의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 41 또는 18의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0297] iv-1) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 273의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 274의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0298] iv-2) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 275의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C- LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 276의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0299] iv-3) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 277의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 278의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0300] iv-4) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 279의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 280의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0301] iv-5) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 330의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 331의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0302] iv-6) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 332의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C- LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 333의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0303] iv-7) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 334의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 335의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0304] iv-8) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 336의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 337의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0305] iv-9) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 338의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 339의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0306] iv-10) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 340의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-

LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 341의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0307] iv-11) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 342의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 343의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0308] iv-12) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 344의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 345의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0309] iv-13) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 346의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 347의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0310] iv-14) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 348의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 349의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0311] iv-15) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 350의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 351의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0312] iv-16) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 352의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 353의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함한다.

[0313] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서:

[0314] (i) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 25의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 54의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0315] (ii) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 37의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 16의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0316] (iii) 상기 GUCY2C-VH의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3은 각각 SEQ ID NO: 42의 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 각각 SEQ ID NO: 41의 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3의 아미노산 서열을 포함한다.

[0317] 일부 실시양태에서, 상기 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2, GUCY2C-HCDR3, GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 Kabat, IMGT, Chothia, AbM 또는 Contact 넘버링 규칙에 따라 정의된다.

[0318] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서:

[0319] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47, 22, 43, 44, 45 또는 46의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO:

23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0320] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27 또는 6의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8, 28, 29 또는 30의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0321] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 40 또는 12의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 39 또는 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0322] iv-1) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 250의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 251의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 252의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 253의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 254의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 255의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0323] iv-2) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 256의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 257의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 258의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 259의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 260의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0324] iv-3) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 262의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 263의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 264의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 265의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 266의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0325] iv-4) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 267의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 268의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 269의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 270의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 271의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 272의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0326] iv-5) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 281의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 282의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 283의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 284의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 285의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0327] iv-6) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 286의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 287의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 288의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 289의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 265의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 290의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0328] iv-7) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 291의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 292의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 293의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 294의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 295의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 296의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0329] iv-8) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 297의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 298의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 264의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 299의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 300의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0330] iv-9) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 301의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 302의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고;

상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 303의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 299의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 304의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0331] iv-10) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 305의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 306의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0332] iv-11) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 128의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 307의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 308의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 309의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 310의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 311의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0333] iv-12) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 312의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 313의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 314의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 315의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0334] iv-13) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 286의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 287의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 316의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 317의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 265의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 300의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0335] iv-14) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 318의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 319의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 320의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 321의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 322의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 323의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0336] iv-15) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 324의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 325의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 326의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 327의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0337] iv-16) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 261의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 328의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 302의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 264의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 329의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 300의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함한다.

[0338] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서:

[0339] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0340] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0341] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함한다.

[0342] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서:

[0343] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서

열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0344] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 6 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0345] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함한다.

[0346] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서:

[0347] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0348] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0349] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0350] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0351] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함한다.

[0352] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2, GUCY2C-HCDR3, GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3은 Kabat 넘버링 규칙에 따라 정의된다.

[0353] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 마우스 유래 항체, 키메라 항체 또는 인간화 항체이며; 바람직하게는 인간화 항체이다.

[0354] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역을 포함하고; 바람직하게는, 상기 중쇄 불변 영역은 인간 IgG1 불변 영역이며, 경쇄 불변 영역은 인간 항체 κ 및 λ 사슬 불변 영역으로부터 선택되고; 보다 바람직하게는, 상기 중쇄 불변 영역은 SEQ ID NO: 58의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 경쇄 불변 영역은 SEQ ID NO: 59의 아미노산 서열을 포함한다.

[0355] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 GUCY2C-VH 및 GUCY2C-VL은 인간화된 것으로, 모두 인간 항체의 FR 영역을 포함한다.

[0356] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서:

[0357] (i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VH의 FR 영역은 1E, 39L, 43K, 69L, 71V 및 73K로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하며; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47, 22, 43, 44, 45 또는 46의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 FR 영역은 2V, 3V, 68R 및 74K로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나; 또는

[0358] (ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27 또는 6의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VH의 FR 영역은 1E, 38K, 66K 및 67A로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8, 28, 29 또는 30의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL의 FR 영역은 15P, 16G, 42S, 43S, 45K, 46S, 47W, 49Y, 58V, 71Y 및 76S로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나; 또는

[0359] (iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 40 또는 12의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VH의 FR 영역은 1E, 2F, 28S, 69L, 71V, 73Q 및 75S로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 39 또는 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하며, 상기 GUCY2C-VL의 FR 영역은 42S, 43S, 46P, 47W, 58V 및 71Y로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0360] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서:

[0361] (i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VH의 FR 영역은 1E, 39L, 43K, 69L, 71V 및 73K로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하며, 상기 GUCY2C-VL의 FR 영역은 2V, 3V, 68R 및 74K로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나; 또는

[0362] (ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VH의 FR 영역은 1E, 38K, 66K 및 67A로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하며, 상기 GUCY2C-VL의 FR 영역은 15P, 16G, 42S, 43S, 45K, 46S, 47W, 49Y, 58V, 71Y 및 76S로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나; 또는

[0363] (iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고, 상기 GUCY2C-VH의 FR 영역은 1E, 2F, 28S, 69L, 71V, 73Q 및 75S로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하며, 상기 GUCY2C-VL의 FR 영역은 42S, 43S, 46P, 47W, 58V 및 71Y로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0364] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서:

[0365] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56, 25 또는 57의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54, 55, 26, 48, 49, 50, 51, 52 또는 53의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0366] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37, 15 또는 38의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO:

33, 16, 31, 32, 34, 35 또는 36의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0367] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42 또는 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41 또는 18의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0368] iv-1) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 273의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 274의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0369] iv-2) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 275의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 276의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0370] iv-3) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 277의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 278의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0371] iv-4) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 279의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 280의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0372] iv-5) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 330의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 331의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0373] iv-6) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 332의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 333의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0374] iv-7) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 334의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 335의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0375] iv-8) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 336의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 337의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0376] iv-9) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 338의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 339의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0377] iv-10) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 340의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 341의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0378] iv-11) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 342의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 343의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0379] iv-12) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 344의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 345의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0380] iv-13) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 346의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 347의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0381] iv-14) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 348의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 349의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0382] iv-15) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 350의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 351의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0383] iv-16) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 352의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 353의 아미노산 서열을 포함한다.

[0384] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0385] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54, 55, 48, 49, 50, 51 또는 52의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0386] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0387] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0388] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 38의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33, 32, 34 또는 36의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0389] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0390] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0391] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함한다.

[0392] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서:

[0393] i) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0394] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 55의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0395] ii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0396] iii) 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함한다.

[0397] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 56에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 54에 제시된 바와 같다.

[0398] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 56에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 55에 제시된 바와 같다.

[0399] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 37에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 33에 제시된 바와 같다.

[0400] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 42에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 41에 제시된 바와 같다.

[0401] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 여기서:

[0402] 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 64와 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 65 또는 66과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0403] 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 60과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 61과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0404] 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 62와 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 63과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0405] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 여기서:

[0406] 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 64의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 65 또는 66의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0407] 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 60의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 61의 아미노산 서열을 포함하

거나; 또는

[0408] 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 62의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 63의 아미노산 서열을 포함한다.

[0409] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 여기서, 상기 중쇄의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 64에 제시된 바와 같고, 상기 경쇄의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 65에 제시된 바와 같다.

[0410] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 여기서, 상기 중쇄의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 64에 제시된 바와 같고, 상기 경쇄의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 66에 제시된 바와 같다.

[0411] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 여기서, 상기 중쇄의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 60에 제시된 바와 같고, 상기 경쇄의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 61에 제시된 바와 같다.

[0412] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 여기서, 상기 중쇄의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 62에 제시된 바와 같고, 상기 경쇄의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 63에 제시된 바와 같다.

[0413] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 항체 단편이고, 여기서 상기 항체 단편은 Fab, Fab', F(ab')2, Fd, Fv, scFv, dsFv 또는 dAb이다.

[0414] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 이중특이성 항체이다.

[0415] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 항-GUCY2C 항체는 이중특이성 항체이고, 상기 이중특이성 항체는 GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합한다.

[0416] 다른 일 측면에서, 본 개시는 치료 유효량의 앞서 어느 한 항에 기재된 항원 결합 분자 또는 앞서 어느 한 항에 기재된 항-GUCY2C 항체 및 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제, 완충제 또는 부형제를 함유하는 약학적 조성물을 제공한다.

[0417] 다른 일 측면에서, 본 개시는 또한 앞서 어느 한 항에 기재된 항원 결합 분자 또는 앞서 어느 한 항에 기재된 항-GUCY2C 항체를 코딩하는 분리된 핵산을 제공한다.

[0418] 다른 일 측면에서, 본 개시는 또한 전술한 분리된 핵산을 포함하는 담체를 제공한다.

[0419] 다른 일 측면에서, 본 개시는 또한 전술한 분리된 핵산을 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

[0420] 다른 일 측면에서, 본 개시는 또한 질환을 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 치료 유효량의 앞서 어느 한 항에 기재된 항원 결합 분자 또는 앞서 어느 한 항에 기재된 항-GUCY2C 항체 또는 앞서 어느 한 항에 기재된 조성물을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0421] 다른 일 측면에서, 본 개시는 또한 질환을 치료하는 약물의 제조에 있어서 앞서 어느 한 항에 기재된 항원 결합 분자 또는 앞서 어느 한 항에 기재된 항체 또는 이의 조성물의 용도를 제공한다.

[0422] 다른 일 측면에서, 본 개시는 또한 약물로서 사용하기 위한 앞서 어느 한 항에 기재된 항원 결합 분자 또는 앞서 어느 한 항에 기재된 항-GUCY2C 항체 또는 앞서 어느 한 항에 기재된 조성물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 약물은 질환을 치료하는 데 사용된다.

[0423] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 질환은 증식성 질환 또는 종양이다. 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 질환은 종양이며, 상기 종양은 위장암(위암(위선암) 및 장암(소장암, 결장직장암(결장암 및 직장암))), 식도암(즉, 식관암), 항문암, 간암(간세포암), 담낭암, 담관암, 췌장암, 전립선암, 신장암(신장세포암), 요로상피암, 유방암, 방광암, 흉선암, 흑색종, 신경교종(교모세포종), 육종(골육종), 난소암, 갑상선암, 자궁경부 편평세포암, 자궁내막암, 폐암(비소세포폐암(폐 편평세포암, 폐선암) 및 소세포폐암), 피부암, 두경부암(두경부 편평세포암), 뇌암, 다형성 교모세포종, 위식관암(위식관선암), 간의 전이성 선암, 다발성 골수종, 림프종(호지킨 림프종, 비호지킨 림프종 또는 B 세포 림프종) 또는 백혈병(예를 들어, 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 만성 림프구성 백혈병(CLL))이다.

[0424] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같이 종양의 세포 또는 해당 종양에 인접한 혈관 내피 세포는 GUCY2C를 발현한다.

[0425] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 종양은 고형 종양이다.

[0426] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 종양은 고형 종양이고, 상기 고형 종양은 위장암(위암(위선암) 및 장암(소장암 및 결장직장암(결장암 및 직장암))), 식도암(즉 식관암), 항문암, 간암(간세포암), 담낭암, 담관암, 췌장암, 전립선암, 신장암(신장세포암), 요로상피암, 유방암, 방광암, 흉선암, 흑색종, 신경교종(교모세포종), 육종(골육종), 난소암, 갑상선암, 자궁경부 편평세포암, 자궁내막 선암, 폐암(비소세포폐암(폐 편평세포암, 폐선암) 및 소세포폐암), 피부암, 두경부암(두경부 편평세포암), 뇌암, 다형성 교모세포종, 위식관암(위식관 선암) 또는 간의 전이성 선암이다.

[0427] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 종양은 위장암이고; 바람직하게는 위암 또는 장암이며; 보다 바람직하게는 위선암, 소장암 또는 결장직장암이다.

[0428] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 종양은 비고형 종양이다.

[0429] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 종양은 비고형 종양이고, 상기 비고형 종양은 다발성 골수종, 림프종(호지킨 림프종, 비호지킨 림프종, B 세포 림프종) 또는 백혈병(급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 만성 림프구성 백혈병(CLL))이다.

[0430] 일부 실시양태에서, 전술한 질환은 GUCY2C와 관련된 질환이고; 일부 실시양태에서, 전술한 질환은 GUCY2C를 발현하는 질환이다.

[0431] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법은 제2 치료제를 사용하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제2 치료제는 항종양 시약, 방사선 요법, 항체 약물 접합체, 이중특이성 항체, 항종양 시약과 접합된 이중특이성 항체, 면역관문 억제제 또는 이의 조합을 포함한다.

[0432] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 제2 치료제는 본 개시 중 어느 한 항에 기재된 항원 결합 분자와 동시에, 순차적으로 또는 별도로 투여된다.

[0433] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 제2 치료제는 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체이다.

[0434] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 제2 치료제는 CD28에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 모듈 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 모듈을 포함하는, CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체이다.

[0435] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 제2 치료제는 CD28에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 모듈 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 모듈을 포함하는 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체이며, 상기 CD28에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 중쇄 가변 영역 CD28-VH 및 경쇄 가변 영역 CD28-VL을 포함하고, 상기 EGFR에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 중쇄 가변 영역 EGFR-VH 및 경쇄 가변 영역 EGFR-VL을 포함한다.

[0436] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서:

[0437] i) 상기 CD28-VH는 SEQ ID NO: 146의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR1, SEQ ID NO: 147의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR2 및 SEQ ID NO: 148의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR3을 포함하고; 또한 상기 CD28-VL은 SEQ ID NO: 149의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR1, SEQ ID NO: 150의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR2 및 SEQ ID NO: 151의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0438] ii) 상기 CD28-VH는 SEQ ID NO: 160의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR1, SEQ ID NO: 161의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR2 및 SEQ ID NO: 162의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR3을 포함하고; 또한 상기 CD28-VL은 SEQ ID NO: 149의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR1, SEQ ID NO: 150의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR2 및 SEQ ID NO: 163의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR3을 포함하거나; 또는

[0439] iii) 상기 CD28-VH는 SEQ ID NO: 168의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR1, SEQ ID NO: 169의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR2 및 SEQ ID NO: 170의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-HCDR3을 포함하고; 또한 상기 CD28-VL은 SEQ ID NO: 171의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR1, SEQ ID NO: 172의 아미노산 서열을 포함하

는 CD28-LCDR2 및 SEQ ID NO: 173의 아미노산 서열을 포함하는 CD28-LCDR3을 포함한다.

[0440] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서:

[0441] i) 상기 CD28-VH는 SEQ ID NO: 154의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD28-VL은 SEQ ID NO: 155의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0442] ii) 상기 CD28-VH는 SEQ ID NO: 164의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD28-VL은 SEQ ID NO: 165의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0443] iii) 상기 CD28-VH는 SEQ ID NO: 174의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD28-VL은 SEQ ID NO: 175의 아미노산 서열을 포함하는, 질환을 치료하는 방법.

[0444] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 EGFR에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 중쇄 가변 영역 EGFR-VH 및 경쇄 가변 영역 EGFR-VL을 포함하며, 여기서:

[0445] 상기 EGFR-VH는 SEQ ID NO: 140의 아미노산 서열을 포함하는 EGFR-HCDR1, SEQ ID NO: 141의 아미노산 서열을 포함하는 EGFR-HCDR2 및 SEQ ID NO: 142의 아미노산 서열을 포함하는 EGFR-HCDR3을 포함하고; 또한 상기 EGFR-VL은 SEQ ID NO: 143의 아미노산 서열을 포함하는 EGFR-LCDR1, SEQ ID NO: 144의 아미노산 서열을 포함하는 EGFR-LCDR2 및 SEQ ID NO: 145의 아미노산 서열을 포함하는 EGFR-LCDR3을 포함한다.

[0446] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 EGFR-VH는 SEQ ID NO: 152의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 EGFR-VL은 SEQ ID NO: 153의 아미노산 서열을 포함한다.

[0447] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 Fc 영역은 IgG Fc 영역이다. 일부 실시양태에서, 상기 Fc 영역은 IgG1 Fc 영역이다. 일부 실시양태에서, 상기 Fc 영역은 Fcɣ 수용체에 대한 Fc 영역의 결합을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 Fc 영역은 인간 IgG1의 Fc 영역이고, 위치 234 및 235에 있는 아미노산은 A이고, 넘버링 기준은 EU 인덱스이다.

[0448] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 서로 결합할 수 있는 제1 서브유닛 Fc1 및 제2 서브유닛 Fc2를 포함하는 Fc 영역을 포함하며, 상기 Fc1 및 Fc2는 각각 독립적으로 Fc 영역의 동종이량체화를 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, 상기 Fc1은 놉-인투-홀 기술에 따른 놉 구조를 갖고, 상기 Fc2는 놉-인투-홀 기술에 따른 홀 구조를 갖는다. 일부 실시양태에서, 상기 Fc1의 위치 366에 있는 아미노산은 W이고; 또한 상기 Fc2의 위치 366에 있는 아미노산은 S이며, 위치 368에 있는 아미노산은 A이고, 위치 407에 있는 아미노산은 V이며, 넘버링 기준은 EU 인덱스이다. 일부 실시양태에서, 상기 Fc1의 위치 354에 있는 아미노산은 C이고, 위치 366에 있는 아미노산은 W이며; 또한 상기 Fc2의 위치 349에 있는 아미노산은 C이고, 위치 366에 있는 아미노산 S이며, 위치 368에 있는 아미노산은 A이고, 위치 407에 있는 아미노산은 V이며, 넘버링 기준은 EU 인덱스이다. 일부 실시양태에서, 상기 Fc1은 SEQ ID NO: 248의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 Fc2는 SEQ ID NO: 249의 아미노산 서열을 포함한다.

[0449] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬은 이량체를 형성할 수 있는 본 개시의 표 3-1 및 표 3-2의 임의의 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬이다. 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Titin 사슬은 SEQ ID NO: 198과 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 Obscurin 사슬은 SEQ ID NO: 236과 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0450] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 링커 8은 항원 결합 분자가 원하는 항원 결합 활성을 나타낼 수 있기만 하면, 모두 당업계에 알려진 펩티드 링커이다. 예를 들어, 펩티드 링커는 1~50개 또는 3~20개의 아미노산 잔기를 포함하는 유연한 펩티드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커의 길이는 3~15개의 아미노산 잔기이다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커는 각각 독립적으로 (GGGGS)n의 구조를 가지며, 여기서 n은 1, 2 또는 3이다. 일부 실시양태에서, 상기 링커 8의 서열은 GGGGS(SEQ ID NO: 90)이다.

[0451] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CH1은 IgG의 CH1 서열이다. 일부 실시양태에서, 상기 CH1은 IgG1의 CH1이다. 일부 실시양태에서, 상기 CH1은 SEQ ID NO: 84의 아미노

산 서열을 포함한다.

[0452] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CL은 항체의 경쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CL은 kappa 또는 lamada의 경쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 상기 CL은 SEQ ID NO: 59의 아미노산 서열을 포함한다.

[0453] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 CD28에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈을 포함하고, 상기 CD28에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬과 Obscurin 사슬을 포함하는 대체된 Fab이고; 상기 EGFR에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 Fab이다.

[0454] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서,

[0455] 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 식 (m)으로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬, 식 (n)으로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬, 식 (o)로 표시되는 구조를 갖는 제3 사슬 및 식 (p)로 표시되는 구조를 갖는 제4 사슬을 포함하며,

[0456] (m) [CD28-VH]-[링커 8]-[Titin 사슬]-[Fc1],

[0457] (n) [CD28-VL]-[링커 8]-[Obscurin 사슬],

[0458] (o) [EGFR-VH]-[CH1]-[Fc2],

[0459] (p) [EGFR-VL]-[CL],

[0460] 여기서: 상기 링커 8은 펩티드 링커이거나; 또는 상기 링커 8은 존재하지 않으며;

[0461] 식 (m), (n), (o) 및 (p)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0462] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 SEQ ID NO: 156의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 157의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 158의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 159의 아미노산 서열을 포함하는 제4 서열을 포함하거나; 또는

[0463] 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 SEQ ID NO: 166의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 167의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 158의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 159의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬을 포함한다.

[0464] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 156에 제시된 바와 같은 제1 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 157에 제시된 바와 같은 제2 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 158에 제시된 바와 같은 제3 사슬 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 159에 제시된 바와 같은 제4 사슬을 포함한다.

[0465] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 166에 제시된 바와 같은 제1 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 167에 제시된 바와 같은 제2 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 158에 제시된 바와 같은 제3 사슬 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 159에 제시된 바와 같은 제4 사슬을 포함한다.

[0466] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 CD28에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈을 포함하며, 상기 CD28에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 Fab이고; 상기 EGFR에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이량체를 형성할 수 있는 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬을 포함하는 대체된 Fab이다.

[0467] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서,

[0468] 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 식 (q)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬, 식 (r)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬, 식 (s)로 표시되는 구조를 갖는 제3 사슬 및 식 (t)로 표시되는 구조를 갖는 제4 사슬을 포함하며,

[0469] (q) [CD28-VH]-[CH1]-[Fc1],

[0470] (r) [CD28-VL]-[CL],

[0471] (s) [EGFR-VH]-[링커 8]-[Obscurin 사슬]-[Fc2],

[0472] (t) [EGFR-VL]-[링커 8]-[Titin 사슬],

[0473] 여기서: 상기 링커 8은 펩티드 링커이거나; 또는 상기 링커 8은 존재하지 않으며;

[0474] 식 (q), (r), (s) 및 (t)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0475] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 SEQ ID NO: 176의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 177의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 178의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 179의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬을 포함한다.

[0476] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 질환을 치료하는 방법에 있어서, 상기 CD28 및 EGFR에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 176에 제시된 바와 같은 제1 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 177에 제시된 바와 같은 제2 사슬, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 178에 제시된 바와 같은 제3 사슬 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 179에 제시된 바와 같은 제4 사슬을 포함한다.

[0477] 본 개시에서 제공되는 항원 결합 분자는 우수한 치료 활성, 안전성, 약동학적 특성 및 약물가능성(예컨대, 안정성)의 특징을 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0478] 도 1a: GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 Format 1의 구조 개략도이며; 도 1b: GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 Format 2의 구조 개략도이고, 여기서 Ob는 Obscurin을 나타내며; 도 1c: GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 Format 3의 구조 개략도이며, 여기서 Ob는 Obscurin을 나타내고; 도 1D: GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 Format 4의 구조 개략도이며; 도 1E: GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 Format 5의 구조 개략도이고, 여기서 Ob는 Obscurin을 나타낸다.

도 2a~ 도 2c: HCT116/hGUCY2C 세포에 대한 GUCY2C 단클론 항체의 결합 능력; 도 2d: HT-55 세포에 대한 GUCY2C 단클론 항체의 결합 능력; 도 2E: T84 세포에 대한 GUCY2C 단클론 항체의 결합 능력.

도 3a: HCT116/hGUCY2C 세포에 대한 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 결합 능력; 도 3b: HT55 세포에 대한 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 결합 능력; 도 3c: Jurkat 세포에 대한 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 결합 능력.

도 4a: HCT116/hGUCY2C를 표적 세포로 사용하여 Jurkat/NFAT 세포를 활성화하는 항체의 능력 테스트; 도 4b: LS1034를 표적 세포로 사용하여 Jurkat/NFAT 세포를 활성화하는 항체의 능력 테스트.

도 5a: GUCY2C-CD3 이중특이성 항체와 LS1034 세포의 공동 작용에 의한 IFN-γ 방출 결과; 도 5b 및 도 5c: GUCY2C-CD3 이중특이성 항체와 LS174T 세포의 공동 작용에 의한 IFN-γ 방출 결과.

도 6a: GUCY2C-CD3 이중특이성 항체와 LS1034 세포의 공동 작용에 의한 IL-6 방출 결과; 도 6b 및 도 6c: GUCY2C-CD3 이중특이성 항체와 LS174T 세포의 공동 작용에 의한 IL-6 방출 결과.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0479] **용어**

[0480] 본원에서 사용되는 용어는 단지 실시양태를 설명하기 위한 목적일 뿐, 한정하려는 것은 아니다. 별도로 정의하지 않는 한, 본원에 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시가 속하는 분야의 당업자가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0481] 문맥에서 별도로 명확히 요구하지 않는 한, 명세서 및 청구범위 전반에서 "포함하다", "갖다", "함유하는" 등의 단어는 배타적이거나 철저한 의미가 아니라 포괄적인 의미를 가지며, 즉 "포함하나 이에 한정되지 않는다"는 의미로 이해해야 한다. 별도로 설명하지 않는 한, "포함하다"는 "...으로 이루어지다"가 포함된다. 예를 들어, SEQ ID NO: 1의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1의 경우, 이는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 1에 제시된 바와 같은 GUCY2C-HCDR1을 명확하게 망라한다.

[0482] 본 개시에서 사용되는 아미노산 세글자 코드와 한글자 코드는 *J.biol.chem*, 243, p3558(1968)에 기재된 바와 같다.

[0483] "X 및/또는 Y"와 같은 용어 "및/또는"은 "X 및 Y" 또는 "X 또는 Y"를 의미하는 것으로 이해되어야 하며 두 가지 또는 임의의 하나의 의미에 대한 명확한 지원을 제공하는 데 사용되어야 한다.

[0484] 용어 "CD28"(분화 클러스터 28, Tp44)은 영장류 동물(예를 들어, 인간), 비인간 영장류 동물(예를 들어, 마카카 파시쿨라리스) 및 설치류 동물(예를 들어, 마우스 및 래트)과 같은 포유동물을 포함하는 모든 척추동물 유래의 임의의 CD28 단백질을 가리킨다. CD28은 T 세포에서 발현되며 T 세포 활성화 및 생존에 필요한 공동 자극 신호를 제공한다. T 세포 수용체(TCR) 외에도 CD28에 의한 T 세포 자극은 다양한 인터루킨의 생산을 위한 효과적인 신호를 제공할 수도 있다. CD28은 CD80(B7.1) 단백질 및 CD86(B7.2) 단백질의 수용체이며, 미성숙 T 세포에서 구성적으로 발현되는 유일한 B7 수용체이다. 인간 CD28의 아미노산 서열은 UniProt(www.uniprot.org) 등록 번호 P10747에 표시되어 있다.

[0485] 용어 "아미노산"은 천연적으로 존재하는 아미노산과 합성된 아미노산뿐만 아니라 천연적으로 존재하는 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모사체를 가리킨다. 천연적으로 존재하는 아미노산은 유전자 코드에 의해 코딩되는 아미노산일 뿐만 아니라 히드록시프롤린, γ-카르복시글루탐산 및 O-포스포세린과 같이 나중에 변형된 아미노산이다. 아미노산 유사체는 호모세린, 노르루신, 메티오닌 설폭시드, 메티오닌 메틸설포늄과 같이 천연적으로 존재하는 아미노산과 동일한 기본 화학 구조(즉, 수소, 카르복실, 아미노 및 R 그룹에 결합된 α 탄소)를 갖는 화합물을 가리킨다. 이와 같은 유사체는 변형된 R 그룹(예를 들어, 노르루신) 또는 변형된 펩티드 백본을 갖지만 천연적으로 존재하는 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 유지한다. 아미노산 모사체는 아미노산의 일반적인 화학 구조와는 다른 구조를 갖지만 천연적으로 존재하는 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 화합물을 가리킨다.

[0486] 용어 "아미노산 돌연변이"는 아미노산 치환, 결실, 삽입 및 변형을 포함한다. 최종 작제물이 Fc 수용체에 대한 결합을 감소하는 것과 같은 원하는 특성을 보유하는 한, 치환, 결실, 삽입 및 변형의 임의의 조합을 통해 최종 작제물을 구현할 수 있다. 아미노산 서열의 결실 및 삽입은 폴리펩티드 사슬의 아미노단 및/또는 카르복실 단에서의 결실 및 삽입을 포함한다. 특정 아미노산 돌연변이는 아미노산 치환일 수 있다. 일 실시양태에서, 아미노산 돌연변이는 비보존적인 아미노산 치환, 즉 하나의 아미노산이 구조적 및/또는 화학적 특성이 상이한 또 다른 하나의 아미노산으로 대체되는 것이다. 아미노산 치환은 비천연적으로 존재하는 아미노산 또는 20가지 천연 아미노산의 유도체(예를 들어, 4-히드록시프롤린, 3-메틸히스티딘, 오르니틴, 호모세린, 5-히드록시라이신)에 의한 대체를 포함한다. 아미노산 돌연변이는 당업계에서 공지된 유전적 또는 화학적 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 유전적 방법에는 위치 지정 돌연변이(site-directed mutagenesi), PCR, 유전자 합성 등이 포함될 수 있다. 아미노산 측쇄 그룹을 변경시키는 방법은 유전자 공학 이외에도 화학적 변형과 같은 방법을 이용할 수 있는 것으로 예상된다. 본원에서는 다양한 명칭을 사용하여 동일한 아미노산 돌연변이를 지칭할 수 있다. 본원에서, 특정 위치의 아미노산 잔기는 위치+아미노산 잔기의 방식으로 표시할 수 있는데, 예를 들어 366W는 366 부위에 있는 아미노산 잔기가 W임을 나타낸다. T366W는 366번째 부위에 있는 아미노산 잔기가 원래의 T에서 W로 돌연변이되었음을 나타낸다.

[0487] 용어 "항원 결합 분자"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 원하는 항원 결합 활성을 나타내기만 하면 항원에 특이적으로 결합하는 다양한 분자를 망라하며, 항체, 항원 결합 활성을 갖는 기타 폴리펩티드 및 둘의 융합에 의해 형성된 항체 융합 단백질이 포함되나 이에 한정되지 않는다. 본원의 항원 결합 분자는 가변 영역(VH) 및 가변 영역(VL)을 포함하며, 이들은 함께 항원 결합 도메인을 구성한다. 예시적으로, 본원의 항원 결합 분자는 이중특이성 항원 결합 분자(예를 들어: 이중특이성 항체)이다.

[0488] 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 원하는 항원 결합 활성을 나타내기만 하면 단클론 항체, 다클론 항체, 단일특이성 항체, 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체), 전장 항체 및 항체 단편(또는 항원 결합 단편 또는 항원 결합 모이어티)이 포함되나 이에 한정되지 않는다. 예를 들어, 천연 IgG 항체는 이황화 결합에 의해 결합된 두 개의 동일한 경쇄와 두 개의 동일한 중쇄로 구성된 약 150,000 달톤의 이종사량체 당단백질이다. N 단으로부터 C 단까지, 각 중쇄는 하나의 가변 영역(VH, 가변 중쇄 도메인, 중쇄 가변 영역이라고도 칭함)을 가지며, 이어서 세 개의 불변 영역(CH1, CH2 및 CH3)이 있다. 이와 유사하게, N 단으로부터 C 단까지, 각 경쇄는 하나의 가변 영역(VL, 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 도메인이라고도 칭함)을 가지며, 이어서 하나의 불변 경쇄 도메인(경쇄 불변 영역, CL)이 있다.

[0489] 용어 "이중특이성 항체"는 두 개의 서로 다른 항원 또는 동일한 항원의 적어도 두 개의 서로 다른 항원 에피토

프에 특이적으로 결합할 수 있는 항체(항체 또는 이의 항원 결합 단편 포함, 예컨대 단쇄 항체)를 가리킨다. 다양한 구조의 이중특이성 항체는 종래기술에 개시되어 있으며, IgG 분자의 완전성에 따라 IgG 유사 이중특이성 항체 및 항체 단편형 이중특이성 항체로 나눌 수 있고, 항원 결합 영역의 수에 따라 2가, 3가, 4가 또는 그 이상의 이중특이성 항체로 나눌 수 있으며, 구조가 대칭인지 여부에 따라 대칭구조 이중특이성 항체와 비대칭구조 이중특이성 항체로 나눌 수 있다. 여기서, Fc 단편이 결여된 Fab 단편과 같이, 항체 단편을 기반으로 하는 이중특이성 항체는 한 분자에 2개 이상의 Fab 단편을 결합하여 이중특이성 항체를 형성하며, 이는 면역원성이 비교적 낮고, 분자량이 작으며, 종양 조직 침투성이 높고, 해당 유형의 전형적인 항체 구조는 $F(ab)_2$, scFv-Fab, $(scFv)_2$-Fab와 같고; IgG 유사 이중특이성 항체(예를 들어, Fc 단편을 가짐), 이러한 유형의 항체는 상대 분자량이 크고, Fc 단편은 항체를 정제하고, 이의 용해성 및 안정성을 향상시키는 데 유용하며, Fc 부분은 또한 수용체 FcRn에 결합하여 항체 혈청 반감기를 증가시킬 수 있고, 전형적인 이중특이성 항체 구조 모델은 KiH, CrossMAb, Triomab quadroma, FcΔAdp, ART-Ig, BiMAb, Biclonics, BEAT, DuoBody, Azymetric, XmAb, 2:1 TCBs, 1Fab-IgG TDB, FynomAb, two-in-one/DAF, scFv-Fab-IgG, DART-Fc, LP- DART, CODV-Fab-TL, HLE-BiTE, F(ab)2- CrossMAb, IgG-(scFv)2, Bs4Ab, DVD-Ig, Tetravalent- DART-Fc, (scFv)4-Fc, CODV-Ig, mAb2, F(ab)4-CrossMAb 등(Aran F. Labrijn 등, Nature Reviews Drug Discovery volume 18, pages585-608(2019); Chen S1 등, J Immunol Res. 2019 Feb 11; 2019:4516041 참조)과 같다.

[0490] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항원에 결합하는 항원 결합 분자의 도메인을 가리킨다. 본원에서, GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈의 중쇄 가변 영역은 GUCY2C-VH로 표시되고, 경쇄 가변 영역은 GUCY2C-VL로 표시되며; CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈의 중쇄 가변 영역은 CD3-VH로 표시되고, 경쇄 가변 영역은 CD3-VL로 표시된다. VH 및 VL은 각각 네 개의 보존적 프레임워크 영역(FR)과 세 개의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 여기서, 용어 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 가변 도메인 내에서 항원과의 결합에 주로 기여하는 영역을 가리키고, "프레임" 또는 "FR"은 CDR 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 가리킨다. VH는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3의 3개 CDR 영역을 포함하고; VL은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3의 3개 CDR 영역을 포함한다. 본원에서, GUCY2C-VH의 3개 CDR 영역은 각각 GUCY2C-HCDR1, GUCY2C-HCDR2 및 GUCY2C-HCDR3으로 표시되고; GUCY2C-VL의 3개 CDR 영역은 각각 GUCY2C-LCDR1, GUCY2C-LCDR2 및 GUCY2C-LCDR3으로 표시되며; CD3-VH의 3개 CDR 영역은 각각 CD3-HCDR1, CD3-HCDR2 및 CD3-HCDR3으로 표시되고; CD3-VL의 3개 CDR 영역은 각각 CD3-LCDR1, CD3-LCDR2 및 CD3-LCDR3으로 표시된다. 각 VH 및 VL은 N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4이다. 단일 VH 또는 VL은 항원 결합 특이성을 부여하는 데 충분할 수 있다.

[0491] CDR의 아미노산 서열 경계는 공지된 다양한 방안, 예를 들어 "Kabat" 넘버링 규칙(Kabat 등(1991). "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 제5판, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD 참조), "Chothia" 넘버링 규칙, "ABM" 넘버링 규칙, "contact" 넘버링 규칙(Martin, ACR. Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains[J]. 2001 참조) 및 ImMunoGenTics(IMGT) 넘버링 규칙(Lefranc, M.P. 등, Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77(2003); Front Immunol. 2018 Oct 16;9:2278) 등을 통해 결정할 수 있으며; 다양한 넘버링 시스템 간의 대응 관계는 당업자가 잘 알고 있는 것이다. 본 개시의 넘버링 규칙은 아래 표 1에 나타난 바와 같다.

[0492] [표 1] CDR 넘버링 시스템 간의 관계

[0493]

CDR	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
HCDR1	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
HCDR2	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58
HCDR3	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101
LCDR1	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36
LCDR2	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55
LCDR3	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96

[0494] 별도로 설명하지 않는 한, 본 개시의 실시예에서 가변 영역 및 CDR 서열은 모두 "Kabat" 넘버링 규칙을 적용한다.

[0495] 용어 "항체 단편"은 온전한 항체와 다른 분자를 가리키며, 이는 온전한 항체의 항원 결합 능력을 유지하는 온전한 항체의 부분을 포함한다. 항체 단편의 예시로는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$, 단일 도메인 항체, 단쇄 Fab(scFab), 이중 항체, 선형 항체, 단쇄 항체 분자(예를 들어, scFv) 및 항체 단편으로 형성된 다중특이성 항

체(예를 들어, 이중특이성 항체)가 포함되나 이에 한정되지 않는다.

[0496] 용어 "Fc 영역" 또는 "단편 결정화 가능한 영역"은 항체 중쇄의 C 말단 영역을 정의하는 데 사용되며, 천연 Fc 영역 및 개조된 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 동일하거나 상이한 두 개의 서브유닛을 포함한다. 일부 실시양태에서, 인간 IgG 중쇄의 Fc 영역은 Cys226 위치에 있는 아미노산 잔기 또는 Pro230으로부터 이의 카르복실 말단까지 연장되는 것으로 정의된다. 본원에 기재된 항체의 사용에 적합한 천연 서열 Fc 영역은 인간 IgG1, IgG2(IgG2A, IgG2B), IgG3 및 IgG4의 Fc 영역을 포함한다. 별도로 설명하지 않는 한, Fc 영역에 대한 넘버링 규칙은 EU 인덱스이다.

[0497] 용어 "Titin 사슬"은 Titin Ig-유사 152 도메인을 포함하는 78~118개 아미노산 길이의 Titin 단백질의 펩티드 단편 또는 이의 기능적 변이체를 가리키며, 상기 Titin 사슬은 Obscurin Ig-유사 1 또는 Obscurin-유사 Ig-유사 1 도메인에 결합하여 이량체화 복합체를 형성할 수 있다. 용어 "Obscurin 사슬"은 Obscurin Ig-유사 1 도메인을 포함하는 87~117개 아미노산 길이의 Obscurin 단백질의 펩티드 단편 또는 이의 기능적 변이체, 또는 Obscurin-유사 Ig-유사 1 도메인을 포함하는 78~118개 아미노산 길이의 Obscurin-유사 1 단백질의 펩티드 단편 또는 이의 기능적 변이체를 가리키며, 상기 Obscurin 사슬은 Titin Ig-유사 152 도메인에 결합하여 이량체화 복합체를 형성할 수 있다. 본 개시의 Titin 사슬 및 Obscurin 사슬은 Fab 내의 CH1 및 CL을 대체하여 대체된 Fab(Fab-S)를 형성하는데 사용될 수 있으며, 해당 대체는 항원 결합 분자와 항원의 결합에 영향을 미치지 않는다.

[0498] 용어 "키메라" 항체는 항체 중 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 공급원 또는 물종으로부터 유래되되, 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지 부분은 다른 공급원 또는 물종으로부터 유래되는 항체를 가리킨다.

[0499] 용어 "인간화" 항체는 비인간 항체의 반응성을 유지하면서 인간에서의 면역원성이 비교적 낮은 항체를 가리킨다. 예를 들어, 비인간 CDR 영역을 유지하고 항체의 나머지 부분을 이의 인간 대응 부분(즉, 불변 영역과 가변 영역의 프레임워크 영역 부분)으로 대체함으로써 구현할 수 있다.

[0500] 용어 "친화력"은 분자(예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 이의 결합 리간드(예를 들어, 항원) 사이의 비공유 결합의 상호작용의 전반적인 강도를 가리킨다. 별도로 명시하지 않는 한, 본원에 사용된 바와 같이, "결합 친화력"은 결합 쌍(예를 들어, 항체와 항원)의 구성원 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 내부 결합 친화력을 가리킨다. 분자 X가 이의 리간드 Y에 대한 친화력은 통상적으로 평형 해리 상수(KD)로 표현될 수 있다. 친화력은 당업계에서 알려진 일반적인 방법(본원에 기재된 방법을 포함)에 의해 측정될 수 있다. 용어 "kassoc" 또는 "ka"는 특정 항체-항원의 상호작용의 결합율을 가리키고, 본원에 사용된 바와 같이 용어 "kdis" 또는 "kd"는 특정 항체-항원의 상호작용의 해리율을 가리키는 것을 의미한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "KD"는 kd와 ka의 비율(즉, kd/ka)로부터 획득되며 몰 농도(M)로 표시되는 평형 해리 상수를 가리킨다. 항체의 KD 값은 표면 플라즈몬 공명법, ELISA 또는 용액 평형 적정(SET)과 같은 당업계에서 알려진 방법을 사용하여 측정될 수 있다.

[0501] 용어 "단클론 항체"는 실질적으로 균질한 항체 집단을 가리키며, 즉, 해당 집단에 포함된 항체 분자는 소량으로 존재할 수 있는 천연 돌연변이를 제외하고는 아미노산 서열이 동일하다. 대조적으로, 다클론 항체 제제는 통상적으로 상이한 에피토프에 특이적인 가변 도메인에서 서로 다른 아미노산 서열을 갖는 다양한 항체를 포함한다. "단클론"은 실질적으로 균질한 항체 집단으로부터 획득한 항체의 특징을 나타내며, 항체가 어느 한 특정 방법을 통해 생산되어야 한다는 의미로 해석되어서는 안 된다. 일부 실시양태에서, 본 개시에서 제공되는 항체는 단클론 항체이다.

[0502] 용어 "항원"은 항원 결합 단백질(예를 들어 항체)의 선택적 결합제에 의해 결합될 수 있는 분자 또는 분자의 일부를 가리킨다. 항원은 다양한 항원 결합 단백질(예를 들어, 항체)과 상호작용할 수 있는 하나 이상의 에피토프가 있을 수 있다.

[0503] 용어 "에피토프"는 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 특이적으로 결합할 수 있는 항원의 영역(영역 또는 부위)을 가리킨다. 에피토프는 연속적인 아미노산(선형 에피토프)으로 형성되거나 비연속적인 아미노산(구조적 에피토프)을 포함할 수 있는데, 예를 들어 항원의 접힘으로 인해(즉, 단백질성 항원의 3차 접힘을 통해) 비연속적인 아미노산을 공간적으로 근접하게 하는 것이다. 구조적 에피토프는 변성 용매가 존재할 때 구조적 에피토프에 대한 항체 결합이 없어진다는 점에서 선형 에피토프와 다르다. 에피토프는 독특한 공간적 구조로 존재하는 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개 또는 8~10개의 아미노산을 포함한다. 특정 에피토프에 결합하는 항체(즉, 동일한 에피토프에 결합하는 항체)에 대한 스크리닝은 당업계에서 관례적 방법을 사용하여 수행될 수 있고, 알라닌 스캐닝, 펩티드 블롯팅(Meth. Mol. Biol. 248(2004)443-463 참조), 펩티드 절단 분석, 에피토프 절제, 에피토프 추출, 항원의 화학적 변형(*Prot. Sci.* 9(2000) 487-496 참조) 및 교차 차단

("Antibodies", Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY) 참조)을 예로 들 수있으나 이에 한정되지 않는다.

[0504] 용어 "특이적으로 결합할 수 있는", "특이적으로 결합" 또는 "결합"은 항체가 다른 항원 또는 에피토프에 비해 더 높은 친화력으로 특정 항원 또는 에피토프에 결합할 수 있는 것을 가리킨다. 통상적으로, 항체는 약 1×10^{-7}M 또는 그 이하(예를 들어, 약 1×10^{-8}M 또는 그 이하)의 평형 해리 상수(KD)로 항원 또는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항원에 결합하는 항체의 KD는 비특이적 항원(예를 들어, BSA, 카제인)에 결합된 항체의 KD의 10% 또는 그 이하이다(예를 들어, 1%). KD는 알려진 방법을 사용하여 측정될 수 있는데 예를 들어, FACS 또는 표면 플라즈몬 공명 측정법을 사용하여 측정하는 것이다.그러나, 항원 또는 항원 내 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체는 다른 관련 항원에 대해 교차 반응할 수 있는데, 예를 들어 다른 종(상동종)(예컨대 인간 또는 원숭이, 예를 들어 마카카 파시쿨라리스(Macaca fascicularis)(cynomolgus, cyno), 판 트로글로다이트스(Pan troglodytes)(chimpanzee, chimp)) 또는 칼리스테릭스 자쿠스(Callithrix jacchus)(commonmarmoset, marmoset)로부터 유래된 상응 항원에 대해 교차 반응할 수 있다.

[0505] 용어 "결합하지 않는다"는 항체가 상술한 특이적 결합 방식으로 특정 항원 또는 해당 항원 내의 에피토프에 결합할 수 없다는 것을 가리킨다. 예를 들어, 항체가 약 1×10^{-6}M 또는 그 이상의 평형 해리 상수(KD)로 항원 또는 항원 내의 에피토프에 결합한다.

[0506] 용어 "항원 결합 모듈"은 목표 항원에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드 분자를 가리킨다. 구체적인 항원 결합 모듈은 항체의 항원 결합 도메인을 포함하고, 예를 들어 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 용어 "GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈"은 해당 모듈을 함유하는 분자가 GUCY2C를 표적으로 하는 진단제 및/또는 치료제로 사용될 수 있도록 충분한 친화력으로 GUCY2C에 결합할 수 있는 모듈을 가리킨다. 예를 들어, GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 이하의 평형 해리 상수(KD)를 갖는다: <약 10nM(표면 플라즈몬 공명 측정법으로 측정). 항원 결합 모듈은 Fab, 대체된 Fab 또는 scFv와 같은 본원에 정의된 바와 같은 항체 단편을 포함한다.

[0507] 용어 "링커"는 두 개의 폴리펩티드 단편을 연결하는 연결 유닛을 가리킨다. 본원에서, 동일한 구조식에 나타나는 링커는 동일할 수도 있고 상이할 수도 있다. 링커는 하나 이상의 아미노산, 전형적으로 약 1~30개, 2~24개 또는 3~15개의 아미노산을 포함하는 펩티드 링커일 수 있다. 본원에 사용되는 링커는 동일할 수도 있고 상이할 수도 있다. 구조식에 "-"가 나타나면 양쪽의 유닛은 공유 결합을 통해 직접적으로 연결되어 있음을 나타낸다.

[0508] "Tm"은 용해 변성 온도(내인성 형광)이다. 단백질이 변성되면(가열 또는 변성제 작용) 3차 구조가 열리고 방향족 아미노산의 미세환경이 변화하는 것으로 인해 방출 형광 스펙트럼이 변하게 된다. 본 개시에서 Tm1은 형광이 최대값의 절반으로 변화하는 온도를 가리킨다.

[0509] "Tonset"는 변성 시작 온도이다. 단백질이 변성되기 시작하는 온도, 즉 형광값이 변화하기 시작하는 온도를 의미한다.

[0510] "Tagg"는 응집 시작 온도이다. 정적 광산란에 의해 응집체는 266nm와 473nm의 두 파장에서 검출되며 샘플이 응집되기 시작하는 온도가 모니터링된다. Tagg 266은 266nm에서 모니터링되는 응집 시작 온도를 가리킨다.

[0511] 용어 "핵산"은 본원에서 용어 "폴리뉴클레오티드"와 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 단일 가닥 또는 이중 가닥 형태의 데옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드 및 이의 중합체를 가리킨다. 상기 용어는 알려진 뉴클레오티드 유사체 또는 변형된 백본 잔기 또는 결합을 함유하는 핵산을 망라하며, 상기 핵산은 합성, 천연적으로 존재 및 비천연적으로 존재하는 것이고, 참조 핵산과 유사한 결합 특성을 가지며, 참조 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 대사한다. 이와 같은 유사체의 예시로는 포스포로티오에이트, 포스포르아미데이트, 메틸포스포네이트, 키랄-메틸포스포네이트, 2-O-메틸리보뉴클레오티드, 펩티드 핵산(PNA)이 포함되나 이에 한정되지 않는다.

[0512] "분리된 핵산"은 이의 천연 환경 구성 요소로부터 이미 분리된 핵산 분자를 가리킨다. 분리된 핵산은 통상적으로 핵산 분자가 함유되지만 염색체 외로 또는 천연 염색체 위치와 다른 염색체 위치에 존재하는 세포에 함유된 핵산 분자를 포함한다. 상기 항원 결합 분자를 코딩하는 분리된 핵산은 항체 중쇄 및 경쇄(또는 이의 단편)를 코딩하는 하나 이상의 핵산 분자를 가리키며, 단일 벡터 또는 별도의 벡터에 있는 이러한 하나 이상의 핵산 분자와, 숙주 세포의 하나 이상의 위치에 존재하는 이러한 하나 이상의 핵산 분자를 포함한다. 별도로 설명하지 않는 한, 특정 핵산 서열은 또한 보존적으로 변형된 변이체(예를 들어, 축퇴성 코돈 치환)와 상보성 서열 및 명확히 지적된 서열을 암묵적으로 망라한다. 구체적으로, 아래에 상세히 설명되는 바와 같이, 축퇴성 코돈 치환은

다음과 같은 서열을 생성함으로써 획득할 수 있는데, 이러한 서열에 있어서, 하나 이상의 선택된(또는 모든) 코돈의 3번째 위치가 축퇴 염기 및/또는 데옥시노신 잔기에 의해 치환된다.

[0513] 용어 "폴리펩티드" 및 "단백질"은 본원에서 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 아미노산 잔기의 중합체를 가리킨다. 해당 용어는 하나 이상의 아미노산 잔기가 천연적으로 존재하는 아미노산에 상응하는 인공 화학적 모사체인 아미노산 중합체뿐만 아니라, 천연적으로 존재하는 아미노산 중합체 및 비천연적으로 존재하는 아미노산 중합체에도 적용된다. 별도로 설명하지 않는 한, 특정 폴리펩티드 서열은 또한 이의 보존적으로 변형된 변이체도 암묵적으로 망라한다.

[0514] 용어 서열 "동일성"은 두 개의 서열에 대한 최적 정렬을 수행할 때, 두 개의 서열의 아미노산/핵산이 동등한 위치에서의 동일한 정도(백분율)를 가리킨다. 정렬 과정에서 최대 서열 동일성 백분율을 획득하기 위해 필요한 경우 간격이 도입되도록 허용될 수 있지만 그 어떠한 보존적 치환은 서열 동일성의 일부를 형성하는 것으로 간주되지 않는다. 서열 동일성의 백분율을 측정하기 위해, 정렬은 당업계에 알려진 기술, 예를 들어 BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 또는 Megalign(DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공개적으로 획득 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 구현될 수 있다. 당업자는 정렬 측정에 적합한 파라미터를 결정할 수 있는 것으로서, 비교 대상인 서열 전장에서 최대 정렬을 달성하기 위해 필요한 모든 알고리즘을 포함한다.

[0515] 용어 "융합" 또는 "연결"은 구성 요소(예를 들어, 항원 결합 모듈 및 Fc 도메인)가 직접적으로 또는 링커를 통해 공유적으로 연결된다는 것을 가리킨다.

[0516] 용어 "벡터"는 이에 연결된 다른 폴리뉴클레오티드를 운반할 수 있는 폴리뉴클레오티드 분자를 의미한다. 벡터 유형 중 하나는 "플라스미드"로서, 추가된 DNA 세그먼트를 연결할 수 있는 고리형 이중 가닥 DNA 루프를 가리킨다. 다른 한 가지 유형의 벡터는 아데노 관련 바이러스 벡터(AAV 또는 AAV2)와 같은 바이러스 벡터로서, 바이러스 게놈에 별도의 DNA 세그먼트가 연결될 수 있다. 특정 벡터는 도입된 숙주 세포에서 자율적으로 복제할 수 있다(예를 들어, 박테리아 복제 개시점을 갖는 박테리아 벡터 및 부가형 포유동물 벡터). 기타 벡터(예를 들어, 비부가형 포유동물 벡터)는 숙주 세포에 도입된 후, 숙주 세포의 게놈에 통합됨으로써, 숙주 게놈과 함께 복제될 수 있다. 용어 "발현 벡터" 또는 "발현 작제물"은 숙주 세포를 형질전환시키기에 적용되고, 또한 이에 작동 가능하게 연결된 하나 이상의 이종 코딩 영역의 발현을 지시 및/또는 제어(숙주 세포와 함께)하는 핵산 서열을 함유하는 벡터를 가리킨다. 발현 작제물는 전사, 번역에 영향을 미치거나 제어하는 서열, 및 인트론이 존재하는 경우 이에 작동 가능하게 연결된 코딩 영역의 RNA 스플라이싱에 영향을 미치는 서열이 포함될 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0517] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주", 및 "숙주 세포 배양물"은 상호 교환적으로 사용될 수 있고, 외인성 핵산이 도입된 세포를 가리키며, 이와 같은 세포의 자손을 포함한다. 숙주 세포는 계대 횟수에 관계없이 일차 형질전환된 세포 및 이로부터 유래된 자손을 포함하는 "형질전환체"와 "형질전환된 세포"를 포함한다. 자손의 핵산 내용물이 부모 세포와 완전히 동일하지 않을 수 있으나, 돌연변이를 함유할 수 있다. 본원에서, 해당 용어는 일차 형질전환 세포로부터 스크리닝 또는 선택된 세포와 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손을 포함한다. 숙주 세포는 원핵 세포와 진핵 숙주 세포를 포함하며, 여기서 진핵 숙주 세포는 포유동물 세포, 곤충 세포계 식물 세포 및 진균 세포가 포함되나 이에 한정되지 않는다. 포유동물 숙주 세포는 인간, 마우스, 래트, 견, 원숭이, 돼지, 염소, 소, 말 및 햄스터의 세포를 포함하며, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, NSO, SP2 세포, HeLa 세포, 어린 햄스터 신장(BHK) 세포, 원숭이 신장 세포(COS), 인간 간암 세포(예를 들어, Hep G2), A549 세포, 3T3 세포 및 HEK-293 세포를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 진균 세포는 효모 및 사상 진균 세포를 포함하며, 예를 들어 피키아 파스토리스(*Pichiapastoris*), 피키아 핀란디카(*Pichia finlandica*), 피키아 트레할로필라(*Pichia trehalophila*), 피키아 코클라마에(*Pichia koclamae*), 피키아 멤브라나에파시엔스(*Pichia membranaefaciens*), 피키아 미누타(*Pichia minuta*)(*Ogataea minuta*, *Pichia lindneri*), 피키아 오푼티아에(*Pichiaopuntiae*), 피키아 써모톨레란스(*Pichia thermotolerans*), 피키아 살리크타리아(*Pichia salictaria*), *Pichia guercuum*, 피키아 피페리(*Pichia pijperi*), 피키아 스팁티스(*Pichia stiptis*), 피키아 메탄올리카(*Pichia methanolica*), 피키아 속, 사카로마이세스 세레비시애(*Saccharomycescerevisiae*), 사카로마이세스 세레비시애 속, 한세눌라 폴리모르파(*Hansenula polymorpha*), 클루이버마이세스 속, 클루이버마이세스 락티스(*Kluyveromyces lactis*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*), 아스페르길루스 니둘란스(*Aspergillus nidulans*), 아스페르길루스 니거(*Aspergillus niger*), 아스페르길루스 오리제(*Aspergillus oryzae*), 트리코데르마 리세이(*Trichoderma reesei*), 크리소포리움 럭노웬세(*Chrysosporium lucknowense*), 푸사리움 속(*Fusarium* sp.), 푸사리움 그라미넘(*Fusarium gramineum*), 푸사리움 베네나툼(*Fusarium venenatum*), 피스코미트렐라 파텐스(*Physcomitrella patens*) 및 뉴로스포라 크라사(*Neurospora crassa*)를 포함한다. 피키아 속, 임의의 사카로

마이세스 세레비시애 속, 한세눌라 폴리모르파(*Hansenula polymorpha*), 임의의 클루이버마이세스 속, 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*), 임의의 아스페르길루스 속, 트리코데르마 리세이(*Trichoderma reesei*), 크리소스포리움 럭노우엔세(*Chrysosporium lucknowense*), 임의의 푸사리움 속, 야로비아 리폴리티카(*Yarrowia lipolytica*) 및 뉴로스포라 크라사(*Neurospora crassa*)이다. 본 특허의 숙주 세포에는 특허법에 따라 승인되지 않은 객체는 포함되지 않는다.

[0518] 본 출원에 사용된 바와 같이, 표현 "세포", "세포주" 및 "세포 배양물"은 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 이러한 모든 명칭은 자손을 포함한다. 따라서, 단어 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"는 계대 횟수에 관계없이 일차 피험자 세포 및 이로부터 유래된 이의 배양물을 포함한다. 또한, 유의적 또는 무의적 돌연변이로 인해 모든 자손의 DNA 내용물은 완전히 똑같지 않을 수도 있다는 점을 이해해야 한다. 돌연변이가 스크리닝된 원래의 형질전환 세포와 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이 자손이 포함된다.

[0519] "선택적" 또는 "선택적으로"는 이어서 설명되는 사건 또는 환경이 발생할 수 있으나 반드시 발생하는 것은 아님을 의미하는 것으로서, 해당 설명은 해당 사건 또는 환경이 발생하거나 발생하지 않는 상황을 포함한다.

[0520] 용어"약학적 조성물"은 본원에 기재된 하나 이상의 항원 결합 분자 또는 항체 및 생리학적/약학적으로 허용 가능 담체 및 부형제와 같은 다른 화학적 성분을 함유하는 혼합물을 나타낸다.

[0521] 용어 "약학적으로 허용 가능한 담체"는 활성 성분과 구별되고 피험자에게 독성이 없는 약학적 제제의 성분을 가리킨다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 완충제, 부형제, 안정제 또는 방부제가 포함되나 이에 한정되지 않는다.

[0522] 용어 "피험자" 또는 "개체"는 인간 및 비인간 동물을 포함한다. 비인간 동물은 비인간 영장류(예를 들어, 시노몰구스 원숭이), 양, 견, 소, 닭, 양서류 동물 및 파충류 동물과 같은 모든 척추동물(예를 들어, 포유동물 및 비포유동물)을 포함한다. 별도로 명시되지 않는 한, 상기 용어 "환자" 또는 "피험자"는 본원에서 상호 교환적으로 사용될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "시노(cyno)" 또는 "시노몰구스(cynomolgus)"는 마카카 파시쿨라리스(Macaca Fascularis)를 가리킨다. 특정 실시양태에서, 개체 또는 피험자는 인간이다.

[0523] "투여" 또는 "투약"은, 동물, 인간, 실험 피험자, 세포, 조직, 기관 또는 생물 유체에 적용될 때, 외인성 약물, 치료제, 진단제 또는 조성물이 동물, 인간, 피험자, 세포, 조직, 기관 또는 생물 유체와의 접촉을 가리킨다.

[0524] 용어 "샘플"은 피험자로부터 분리된 유사한 유체, 세포 또는 조직의 채집물일뿐만 아니라 피험자 체내에 존재하는 유체, 세포 또는 조직을 가리킨다. 예시적인 샘플은 혈액, 혈청 및 장막액, 혈장, 림프액, 소변, 타액, 낭종액, 누액, 배설물, 가래, 분비 조직 및 기관의 점막 분비물, 질 분비물, 복수, 흉막, 심낭, 복막, 복강 및 기타 체강의 유체, 기관지 세척액으로부터 수집된 유체, 윤활액, 피험자 또는 생물학적 공급원과 접촉하는 액체 용액과 같은 생물 유체이며, 예를 들어, 세포 및 기관 배지(세포 또는 기관 조건 배지 포함), 세척액, 등이며, 조직 생검 샘플, 미세 바늘 흡인, 수술로 절제한 조직, 기관 배양물 또는 세포 배양물이다.

[0525] "치료(treatment 또는 treat)" 및 "처리"(및 문법적 변형)는 치료 대상의 개체의 투여하려고 시도하는 임상적 개입을 가리키며, 또한 예방 목적을 위해 또는 임상 병리학적 과정에서 수행될 수 있다. 치료의 바람직한 효과는 질환의 발병 또는 재발 예방, 증상의 경감, 질환의 직간접적 병리학적 결과의 경감/감소, 전이 예방, 질환의 진행 속도 감소, 질환 상태의 개선 또는 경감, 및 소퇴 또는 개선의 예후가 포함되나 이에 한정되지 않는다. 일부 실시양태에서, 본 개시의 분자를 사용하여 질환의 발생을 지연시키거나 질환의 진전을 완화시킨다.

[0526] 용어 "재발(recurrence)", "재발(relapse)" 및 "재발된(relapsed)"은 질환 해소에 대한 임상 평가 이후, 암 또는 질환의 회복을 가리킨다. 원격 암 전이 또는 국소 재발의 진단은 재발로 간주될 수 있다.

[0527] 용어 "난치성" 또는 "저항성"은 치료에 반응하지 않는암 또는 질환을 가리킨다.

[0528] "유효량"은 일반적으로 증상의 심각도 및/또는 빈도를 줄이고, 이러한 증상 및/또는 잠재적인 발병 원인을 없애고, 증상 및/또는 잠재적인 발병 원인의 발생을 예방하고, 및/또는 질환 상태로 인한 또는 이와 관련된 부상(예를 들어, 폐질환)을 개진하거나 개선하기에 충분한 양이다. 일부 실시양태에서, 유효량은 치료 유효량 또는 예방 유효량이다. "치료 유효량"은 질환 상태 또는 증상, 특히 해당 질환 상태와 관련된 상태 또는 증상을 치료하거나, 해당 질환의 상태 또는 해당 질환과 어떤 식으로든 관련된 다른 바람직하지 않은 증상의 진행을 예방, 방해, 지연 또는 역전시키기에 충분한 양이다. "예방 유효량"은 피험자에게 투여할 경우, 해당 질환 상태의 발병(또는 재발)을 예방 또는 지연시키거나 해당 질환 상태 또는 관련 증상의 발병(또는 재발)의 가능성을 낮추는 것과 같이 예정되는 예방 효과를 가질 양이다. 완전한 치료 효과 또는 예방 효과는 1회 용량 투여 후에 일어나

지 않을 수 있으며, 일련의 용량으로 투여한 후에 일어날 수 있다. 따라서, 치료 유효량 또는 예방 유효량은 1회 이상의 투여 방식으로 투여될 수 있다. "치료 유효량" 및 "예방 유효량"은 개체의 질환 상태, 연령, 성별과 체중뿐만 아니라 치료제 또는 치료제 조합이 개체에서 원하는 응답을 유발하는 능력과 같은 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다. 효과적인 치료제 또는 치료제 조합의 예시적인 지표로는 환자의 개선된 건강 상태 등이 포함된다.

[0529] 용어 "면역관문"는 CD4 T 세포 및 CD8 T 세포의 세포 표면에 있는 분자 그룹을 의미한다. 이러한 분자는 항종양 면역 반응을 하향 조절하거나 억제하는 "브레이크" 역할을 효과적으로 수행할 수 있다. 면역관문 분자에는 면역 세포를 직접 억제하는 프로그램화 사멸 1(PD-1), 세포 독성 T 림프구 항원 4(CTLA-4), B7H1, B7H4, OX-40, CD137, CD40 및 LAG-3이 포함되나 이에 한정되지는 않다.

[0530] 본 개시에 사용되는 면역관문 억제제는 면역관문 분자의 기능을 억제하는 물질이다. 면역관문 억제제에 대해서는 특별히 제한하지 않으며, 억제제는 면역관문 분자의 기능(신호)을 억제할 수 있는 물질이면 된다. 본 개시 방법에 사용될 수 있는 면역관문 억제제에는 PD-1, PD-L2, CTLA-4, TIM-3, LAG-3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5) 및/또는 TGFRβ 억제제가 포함되나 이에 한정되지 않는다. 억제 분자의 억제는 DNA, RNA 또는 단백질 수준에서의 억제를 통해 구현될 수 있다. 실시양태에서, 억제 핵산(예를 들어, dsRNA, siRNA 또는 shRNA)은 억제 분자의 발현을 억제하는 데 사용될 수 있다. 다른 실시양태에서, 억제 신호의 억제제는 억제 분자에 결합하는 가용성 리간드 또는 항체와 같은 폴리펩티드이다. 본 개시에서 사용되는 면역관문 억제제의 예시로는 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체 및 항-CTLA-4 항체, 또한 바람직하게는 항-PD-1 항체 및 항-PD-L1 항체가 포함될 수 있으나, 특별히 이에 한정되는 것은 아니다.

[0531] **본 개시의 항원 결합 분자**

[0532] 본 개시는 우수한 체외 사멸 활성, 치료 활성, 안전성, 약동학적 특성 및 약물가능성(예를 들어, 수율, 순도 및 안정성 등)과 같은 많은 유리한 특성을 갖는 항원 결합 분자를 제공한다.

[0533] **예시적인 항원 결합 분자**

[0534] 본 개시의 항원 결합 분자는 GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자(예를 들어, 이중특이성 항체) 및 항-GUCY2C 항체를 포함한다. 특히, 본 개시의 항원 결합 분자는 다음과 같은 임의의 성질을 갖는다:

[0535] a. GUCY2C에 대한 높은 친화력. 일부 실시양태에서, 상기 GUCY2C 단클론 항체는 100nM 미만(예를 들어, 80nM 미만, 50nM 미만, 10nM 미만, 8nM 미만, 1nM 미만, 0.5nM 미만)의 KD 값으로 인간 GUCY2C에 결합하며, 상기 KD 값은 Biacore를 통해 측정된다.

[0536] b. 세포 표면에서 GUCY2C에 대한 우수한 특이적 결합. 일부 실시양태에서, GUCY2C 단클론 항체 결합 활성은 1608보다 우수하다. 일부 실시양태에서, 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체는 다양한 수준에서 GUCY2C를 발현하는 세포에 대해 모두 특이적 결합 활성이 우수하며, 결합 활성이 1608-BsAb보다 우수하며; 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체는 Jurkat를 발현하는 세포에 대해 특이적 결합 활성이 우수하며, 결합 활성이 1608-BsAb보다 우수하다.

[0537] c. 비표적 세포(예를 들어, T 세포)에 대한 비특이적 결합 효과가 없다. 일부 실시양태에서, GUCY2C 단클론 항체는 GUCY2C 발현이 없는 Jurkat 세포에 비특이적으로 결합하지 않으며, 1608은 Jurkat 세포에 유의하게 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 개시의 GUCY2C 단클론 항체는 GUCY2C 발현이 없는 PBMC 및 T 세포에 비특이적으로 결합하지 않으며, 대조 항체 1608은 PBMC 및 T 세포에 유의하게 비특이적으로 결합한다. 본 개시의 GUCY2C 단클론 항체의 표적 특이성은 1608보다 우수하다.

[0538] d. GUCY2C 단클론 항체가 결합되는 항원 에피토프는 1608과 크게 다르며, 이와 경쟁적으로 GUCY2C 항원에 결합할 수 없다.

[0539] e. 인간 GUCY2C 단백질에 대한 우수한 결합 효과. 일부 실시양태에서, 상기 GUCY2C-CD3 이중 항체는 1nM 미만(예를 들어, 0.5nM 미만, 0.2nM 미만, 0.1nM 미만)의 KD 값으로 인간 GUCY2C에 결합하고, 상기 EC_{50} 값은 ELISA로 측정된다.

[0540] f. GUCY2C-CD3 이중특이성 항체는 발현량이 상이한 표적 세포에 대해 모두 우수한 세포 독성 활성을 갖는다.

[0541] g. GUCY2C-CD3 이중특이성 항체는 세포 독성 활성과 관련된 IFN-γ의 방출을 효과적으로 유도할 수 있으며, 염증과 관련된 사이토카인 IL-6의 방출 수준은 상대적으로 낮다.

[0542] h. 보다 강한 체내 치료 활성. 일부 실시양태에서, GUCY2C-CD3 이중특이성 항체, 또는 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체와 EGFR-CD28 이중특이성 항체의 병용은 우수한 체내 치료 활성을 갖는다. EGFR-CD28 이중특이성 항체와 병용하면 각 단독 약물의 약효를 효과적으로 향상시킬 수 있다.

[0543] 본 개시는 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 모듈 및 CD3에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 모듈을 포함하는 항원 결합 분자를 제공하며, 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 중쇄 가변 영역 GUCY2C-VH 및 경쇄 가변 영역 GUCY2C-VL을 포함하고, 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈은 중쇄 가변 영역 CD3-VH 및 경쇄 가변 영역 CD3-VL을 포함한다.

[0544] 구체적으로, 본원의 실시예는 항체 시리즈 P3-C7, 81 및 146을 개시한다. 본원의 항체는 항체 P3-C7을 예로서 아래에 설명되어 있다.

[0545] GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자 또는 항-GUCY2C 항체에 있어서:

[0546] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47, 22, 43, 44, 45 또는 46의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함한다.

[0547] GUCY2C 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자 또는 항-GUCY2C 항체에 있어서:

[0548] 상기 GUCY2C-VH는 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 19에 제시된 바와 같은 GUCY2C-HCDR1, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 20에 제시된 바와 같은 GUCY2C-HCDR2 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 21에 제시된 바와 같은 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 47에 제시된 바와 같은 GUCY2C-LCDR1, 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 23에 제시된 바와 같은 GUCY2C-LCDR2 및 아미노산 서열이 SEQ ID NO: 24에 제시된 바와 같은 GUCY2C-LCDR3을 포함한다.

[0549] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 항원 결합 분자 또는 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 GUCY2C-VH 및/또는 상기 GUCY2C-VL은 마우스 유래 또는 인간화된 것이다. 일부 실시양태에서, 상기 GUCY2C-VH 및/또는 상기 GUCY2C-VL은 인간화된 것이다.

[0550] 일부 실시양태에서, 상기 인간화된 GUCY2C-VH는 IGHV1-46*01로부터 유래된 FR1, FR2, FR3 및 IGHJ6*01로부터 유래된 FR4를 가지며, 또한 이는 비치환되거나 1E, 39L, 43K, 69L, 71V 및 73K로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 갖고/갖거나; 상기 인간화된 GUCY2C-VL은 IGKV2-40*01 또는 IGKV1-39*01로부터 유래된 FR1, FR2, FR3 및 IGKJ4*01로부터 유래된 FR4를 가지며, 또한 이는 비치환되거나 2V, 3V, 68R 및 74K로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는다.일부 실시양태에서, 상술한 가변 영역의 아미노산 위치는 Kabat 넘버링 규칙에 따라 정의된다.

[0551] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자 또는 항-GUCY2C 항체에 있어서, 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56, 25 또는 57의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54, 55, 26, 48, 49, 50, 51, 52 또는 53의 아미노산 서열을 포함한다.

[0552] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자 또는 항-GUCY2C 항체에 있어서:

[0553] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54, 55, 48, 49, 50, 51 또는 52의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는

[0554] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함한다.

[0555] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자 또는 항-GUCY2C 항체에 있어서:

[0556] 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 56에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 54에 제시된 바와 같거나; 또는

[0557] 상기 GUCY2C-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 56에 제시된 바와 같고, 상기 GUCY2C-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 55에 제시된 바와 같다.

[0558] 일부 실시양태에서, 앞서 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 71의 아미노산

서열을 포함하는 CD3-HCDR1, SEQ ID NO: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR2 및 SEQ ID NO: 73 또는 88의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-HCDR3을 포함하고; 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR1, SEQ ID NO: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR2 및 SEQ ID NO: 76의 아미노산 서열을 포함하는 CD3-LCDR3을 포함한다.

[0559] 일부 실시양태에서, 앞서 어느 한 항에 기재된 바와 같은 항원 결합 분자에 있어서, 상기 CD3-VH 및/또는 상기 CD3-VL은 마우스 유래 또는 인간화된 것이다.

[0560] 일부 실시양태에서, 상기 CD3-VH 및/또는 상기 CD3-VL은 인간화된 것이다.

[0561] 일부 실시양태에서, 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77 또는 89의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함한다.

[0562] 일부 실시양태에서, 상기 CD3-VH의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 77에 제시된 바와 같고, 상기 CD3-VL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 78에 제시된 바와 같다.

[0563] 일부 실시양태에서, 상술한 가변 영역 및 CDR은 Kabat 넘버링 규칙에 따라 정의된 것이다.

[0564] 본원의 실시예에 개시된 항체 시리즈 81 및 146은 위에 설명된 항체 시리즈 P3-C7과 유사한 기술적 해결방안 범위를 갖는다.

[0565] **항원 결합 분자의 구조**

[0566] 본 개시의 이중특이성 항원 결합 분자는 원하는 항원 결합 기능을 갖는 한 특정 분자 구조에 한정되지 않는다. 예를 들어, 본원에서 이중특이성 항원 결합 분자는 2가(1+1), 3가(2+1) 또는 4가(2+2)일 수 있다. 항원 결합 분자의 항원 결합 모듈은 항원 결합 활성을 갖는 임의의 항체 단편일 수 있으며, 이는 펩티드 링커를 통해 융합된다. 본 개시의 펩티드 링커(예를 들어, 링커 1 내지 11)는 항원 결합 분자가 원하는 항원 결합 활성을 나타낼 수 있는 한, 임의의 적합한 펩티드 사슬일 수 있다. 예를 들어, 펩티드 링커는 1~50개 또는 3~20개의 아미노산 잔기를 포함하는 유연한 펩티드일 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커는 각각 독립적으로 L_1-(GGGGS)n-L_2의 구조를 가지며, 여기서, L_1은 결합, A, G(SEQ ID NO: 82), GS, GGG(SEQ ID NO: 96), GGS(SEQ ID NO: 245), GGGS(SEQ ID NO: 246) 또는 GGGG(SEQ ID NO: 247)이고, n은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이며, L2는 결합, G(SEQ ID NO: 82), GG, GGG(SEQ ID NO: 96) 또는 GGGG(SEQ ID NO: 247)이고, 또한 상기 펩티드 링커는 결합이 아니다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커의 길이는 3~15개의 아미노산 잔기이다. 일부 실시양태에서, 상기 펩티드 링커는 각각 독립적으로 (GGGGS)n의 구조를 가지며, 여기서 n은 1, 2 또는 3이다. 일부 실시양태에서, 상기 링커 1의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 81에 제시된 바와 같고, 링커 2의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 82에 제시된 바와 같으며, 링커 3의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 83에 제시된 바와 같고, 링커 4의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 90에 제시된 바와 같으며, 링커 5의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 95에 제시된 바와 같고, 링커 6의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 96에 제시된 바와 같으며, 링커 7의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 97에 제시된 바와 같다.

[0567] 예시적으로, 본 개시의 상기 항원 결합 분자는 식 (a)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬 및 식 (b)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬을 포함하며,

[0568] (a) [GUCY2C-VL]-[링커 1]-[CD3-VH]-[링커 2]-[Fc1],

[0569] (b) [CD3-VL]-[링커 3]-[GUCY2C-VH]-[링커 2]-[Fc2],

[0570] 여기서: 상기 링커 1, 링커 2 및 링커 3은 동일하거나 상이한 펩티드 링커이거나; 또는 링커 1, 링커 2 및 링커 3은 존재하지 않으며;

[0571] 식 (a) 및 (b)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0572] 예시적으로, 본 개시의 상기 항원 결합 분자는 식 (a)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬 및 식 (b)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬을 포함하며,

[0573] (a) [GUCY2C-VL]-[링커 1]-[CD3-VH]-[링커 2]-[Fc1],

[0574] (b) [CD3-VL]-[링커 3]-[GUCY2C-VH]-[링커 2]-[Fc2],

[0575] 여기서:

[0576] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0577] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 55의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며;

[0578] 상기 링커 1, 링커 2 및 링커 3은 동일하거나 상이한 펩티드 링커이거나; 또는 링커 1, 링커 2 및 링커 3은 존재하지 않으며;

[0579] 상기 Fc1의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 79에 제시된 바와 같고, Fc2의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 80에 제시된 바와 같으며;

[0580] 식 (a) 및 (b)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0581] 예시적으로, 본 개시의 상기 항원 결합 분자는 식 (a)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬 및 식 (b)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬을 포함하며,

[0582] (a) [GUCY2C-VL]-[GGGSGGGG]-[CD3-VH]-[G]-[Fc1],

[0583] (b) [CD3-VL]-[GGGGSGGGG]-[GUCY2C-VH]-[G]-[Fc2],

[0584] 여기서: 식 (a) 및 (b)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0585] 예시적으로, 본 개시의 상기 항원 결합 분자는 식 (a)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬 및 식 (b)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬을 포함하며,

[0586] (a) [GUCY2C-VL]-[GGGSGGGG]-[CD3-VH]-[G]-[Fc1],

[0587] (b) [CD3-VL]-[GGGGSGGGG]-[GUCY2C-VH]-[G]-[Fc2],

[0588] 여기서:

[0589] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 GUCY2C-LCDR3을 포함하며;

[0590] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 71에 제시된 바와 같은 CD3-HCDR1, SEQ ID NO: 72에 제시된 바와 같은 CD3-HCDR2 및 SEQ ID NO: 73에 제시된 바와 같은 CD3-HCDR3을 포함하고; 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 74에 제시된 바와 같은 CD3-LCDR1, SEQ ID NO: 75에 제시된 바와 같은 CD3-LCDR2 및 SEQ ID NO: 76에 제시된 바와 같은 CD3-LCDR3을 포함하며;

[0591] 상기 Fc1의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 79에 제시된 바와 같고, Fc2의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 80에 제시된 바와 같으며;

[0592] 식 (a) 및 (b)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0593] 예시적인 항원 결합 분자는,

[0594] SEQ ID NO: 99의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 100의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬; 또는

[0595] SEQ ID NO: 101의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 SEQ ID NO: 100의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함한다.

[0596] 예시적으로, 상기 항원 결합 분자는 식 (c)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬, 식 (d)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬, 식 (e)로 표시되는 구조를 갖는 제3 사슬 및 식 (f)로 표시되는 구조를 갖는 제4 사슬을 포함하며,

[0597] (c) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc1],

[0598] (d) [CD3-VL]-[CL],

[0599] (e) [GUCY2C-VH]-[링커 4]-[Obscurin 사슬]-[Fc2],

[0600] (f) [GUCY2C-VL]-[링커 4]-[Titin 사슬],

[0601] 여기서: 상기 링커 4는 펩티드 링커이거나; 또는 링커 4는 존재하지 않으며;

[0602] 식 (c), (d), (e) 및 (f)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0603] 예시적으로, 상기 항원 결합 분자는 식 (c)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬, 식 (d)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬, 식 (e)로 표시되는 구조를 갖는 제3 사슬 및 식 (f)로 표시되는 구조를 갖는 제4 사슬을 포함하며,

[0604] (c) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc1],

[0605] (d) [CD3-VL]-[CL],

[0606] (e) [GUCY2C-VH]-[링커 4]-[Obscurin 사슬]-[Fc2],

[0607] (f) [GUCY2C-VL]-[링커 4]-[Titin 사슬],

[0608] 여기서:

[0609] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하며; 또한 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 78의 아미노산 서열을 포함하며;

[0610] 상기 링커 4는 펩티드 링커이거나; 또는 링커 4는 존재하지 않으며;

[0611] 상기 Obscurin 사슬의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 236에 제시된 바와 같고, Titin 사슬의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 198에 제시된 바와 같으며;

[0612] 상기 Fc1의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 85에 제시된 바와 같고, Fc2의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 86에 제시된 바와 같으며;

[0613] 상기 CH1의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 84에 제시된 바와 같고, 상기 CL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 87에 제시된 바와 같으며;

[0614] 식 (c), (d), (e) 및 (f)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0615] 예시적으로, 상기 항원 결합 분자는 식 (c)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬, 식 (d)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬, 식 (e)로 표시되는 구조를 갖는 제3 사슬 및 식 (f)로 표시되는 구조를 갖는 제4 사슬을 포함하며,

[0616] (c) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc1],

[0617] (d) [CD3-VL]-[CL],

[0618] (e) [GUCY2C-VH]-[GGGGS]-[Obscurin 사슬]-[Fc2],

[0619] (f) [GUCY2C-VL]-[GGGGS]-[Titin 사슬],

[0620] 여기서: 식 (c), (d), (e) 및 (f)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0621] 예시적으로, 상기 항원 결합 분자는 식 (c)로 표시되는 구조를 갖는 제1 사슬, 식 (d)로 표시되는 구조를 갖는 제2 사슬, 식 (e)로 표시되는 구조를 갖는 제3 사슬 및 식 (f)로 표시되는 구조를 갖는 제4 사슬을 포함하며,

[0622] (c) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc1],

[0623] (d) [CD3-VL]-[CL],

[0624] (e) [GUCY2C-VH]-[GGGGS]-[Obscurin 사슬]-[Fc2],

[0625] (f) [GUCY2C-VL]-[GGGGS]-[Titin 사슬],

[0626] 여기서:

[0627] 상기 GUCY2C-VH는 SEQ ID NO: 4에 제시된 바와 같은 GUCY2C-HCDR1, SEQ ID NO: 5에 제시된 바와 같은 GUCY2C-HCDR2 및 SEQ ID NO: 27에 제시된 바와 같은 GUCY2C-HCDR3을 포함하고; 상기 GUCY2C-VL은 SEQ ID NO: 7에 제시된 바와 같은 GUCY2C-LCDR1, SEQ ID NO: 8에 제시된 바와 같은 GUCY2C-LCDR2 및 SEQ ID NO: 9에 제시된 바와

같은 GUCY2C-LCDR3을 포함하며;

[0628] 상기 CD3-VH는 SEQ ID NO: 71에 제시된 바와 같은 CD3-HCDR1, SEQ ID NO: 72에 제시된 바와 같은 CD3-HCDR2 및 SEQ ID NO: 73에 제시된 바와 같은 CD3-HCDR3을 포함하고; 상기 CD3-VL은 SEQ ID NO: 74에 제시된 바와 같은 CD3-LCDR1, SEQ ID NO: 75에 제시된 바와 같은 CD3-LCDR2 및 SEQ ID NO: 76에 제시된 바와 같은 CD3-LCDR3을 포함하며;

[0629] 상기 Obscurin 사슬의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 236에 제시된 바와 같고, Titin 사슬의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 198에 제시된 바와 같으며;

[0630] 상기 Fc1의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 85에 제시된 바와 같고, Fc2의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 86에 제시된 바와 같으며;

[0631] 상기 CH1의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 84에 제시된 바와 같고, 상기 CL의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 87에 제시된 바와 같으며;

[0632] 식 (c), (d), (e) 및 (f)로 표시되는 구조는 N 단으로부터 C 단까지 배열된 것이다.

[0633] 예시적인 항원 결합 분자는,

[0634] SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬 및 SEQ ID NO: 113의 아미노산 서열을 포함하는 제4 사슬을 포함한다.

[0635] **항원 결합 분자의 변이체**

[0636] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항원 결합 분자의 아미노산 서열 변이체가 망라된다. 예를 들어, 항체의 결합 친화력 및/또는 기타 생물학적 특성이 개선되기를 기대할 수 있다. 항체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 적절한 변형을 도입하거나, 또는 펩티드 합성을 통해 항체의 아미노산 서열 변이체를 제조할 수 있다. 이와 같은 변형은 예를 들어 항원 결합 분자의 아미노산 서열 내에 있는 잔기에 대한 삭제, 및/또는 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 최종 작제물이 항원 결합 특성과 같은 원하는 특징을 보유하는 한, 삭제, 삽입 및 치환의 모든 조합을 통해 최종 작제물을 얻을 수 있다.

[0637] **변이체의 치환, 삽입 및 삭제**

[0638] 특정 실시양태에서, 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 항원 결합 분자 변이체를 제공한다. CDR 및 FR에서 치환할 수 있다. 보존적 치환은 표 2의 "바람직한 치환"이라는 제목 아래에 표시된다. 보다 실질적인 변화는 표 2의 "예시적인 치환"이라는 제목 아래에 제공되어 있으며, 아미노산 측쇄 유형을 참조하여 아래에 추가로 설명된 바와 같다. 아미노산 치환을 관심이 있는 항체에 도입하고, 보존/개선된 항원 결합, 감소된 면역원성 또는 개선된 ADCC 또는 CDC와 같은 원하는 활성에 대해 생성물을 스크리닝할 수 있다.

[0639] [표 2] 아미노산 치환

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

[0640]

[0641] 흔히 보이는 측쇄 특성에 따라 아미노산은 다음과 같이 그룹을 나눌 수 있다:

[0642] (1) 소수성: 노르루신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0643] (2) 중성, 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0644] (3) 산성: Asp, Glu;

[0645] (4) 염기성: His, Lys, Arg;

[0646] (5) 쇄 방향 확정에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro;

[0647] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0648] 비보존적 치환은 한 유형의 구성원을 다른 유형의 구성원으로 대체하는 것이다.

[0649] 한 유형의 치환 변이체는 부모 항체(예를 들어, 인간화 또는 인간 항체)의 하나 이상의 CDR 잔기를 치환하는 것에 관한다. 일반적으로, 추가 연구를 위해 선택을 거쳐 얻어진 변이체는 부모 항체에 비해 특정 생물학적 특성(예를 들어, 상승된 친화력, 감소된 면역원성)에 대한 변화(예를 들어, 개선)를 가지고, 및/또는 부모 항체의 특정 생물학적 특성을 실질적으로 보존할 것이다. 예시적인 치환 변이체는 친화력이 성숙된 항체이며, 예를 들어, 파지 디스플레이에 기반한 친화력 성숙 기술(본원에 기재된 기술과 같음)을 사용하여 상기 항체를 편리하게 생성할 수 있다. 요약하면, 하나 이상의 CDR 잔기를 돌연변이시키고, 변이체 항체를 파지에 디스플레이하여 이에 대해 특정 생물학적 활성(예를 들어, 결합 친화력)을 스크리닝한다. 예를 들어, 항체 친화력을 개선하기 위해 CDR를 변경(예를 들어, 치환)시킬 수 있다. 이와 같은 변화는 CDR "핫스팟"에 대해, 즉 체세포 성숙 과정에서, 높은 빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 코딩된 잔기 및/또는 항원과 접촉하는 잔기에 대해 이루어질 수 있는 동시에, 얻어진 변이체의 VH 또는 VL에 대해 결합 친화력을 시험할 수 있다. 친화력 성숙의 일부 실시양태에서, 다양한 방법(예를 들어, 오류 유발 PCR, 사슬 셔플링, 또는 올리고뉴클레오티드 지정 돌연변이 유발) 중 어느 한 방법을 통해, 성숙을 위해 선택되는 가변 유전자에 다양성을 도입한다. 그 다음, 2차 라이브러리를 구축한다. 그 다음, 원하는 친화력을 갖는 임의의 항체 변이체를 감정하기 위해 라이브러리를 스크리닝한다. 다양성을 도입하는 또 다른 방법은 여러 개의 CDR 잔기(예를 들어, 한 번에 4~6개의 잔기)가 무작위화되는 CDR-지정 접근법에 관한 것이다. 예를 들어 알라닌 스캐닝 돌연변이 유발 또는 모델링을 사용하여 항원 결합에 관여하는 CDR 잔기를 특이적으로 감정할 수 있다.

[0650] 특정 실시양태에서, 이와 같은 변화가 항체의 항원 결합 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한, 치환, 삽입 또

는 결실은 하나 이상의 CDR 내에서 발생할 수 있다. 예를 들어, 결합 친화력을 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변화(예를 들어, 본원에서 제공하는 바와 같은 보존적 치환)를 CDR에 수행할 수 있다. 위에 제공된 변이체 VH 및 VL 서열의 특정 실시양태에서, 각 CDR은 변경되지 않거나 1, 2 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.

[0651] 돌연변이 유발 표적 부위로 삼을 수 있는 항체 내의 잔기 또는 영역을 감정하는 데 사용할 수 있는 방법을 "알라닌 스캐닝 돌연변이 유발"이라고 한다. 이러한 방법에서, 잔기 또는 잔기 그룹(예를 들어, Arg, Asp, His, Lys 및 Glu와 같은 전하를 띤 잔기)을 감정하고, 중성 또는 음전하를 띤 아미노산(예를 들어, Ala 또는 폴리알라닌)으로 대체하여, 해당 항체와 항원의 상호작용이 영향을 받았는지 여부를 확인한다. 초기 치환에 대한 기능적 민감성을 나타내는 아미노산 위치에 추가 치환을 도입할 수 있다. 또한, 항원-항체 복합체의 결정 구조를 연구함으로써 항체와 항원 사이의 접촉점을 감정할 수 있다. 이러한 접촉 잔기와 인접한 잔기는 치환 후보로서 표적화되거나 제거될 수 있다. 원하는 특성을 함유하는지 여부를 확인하기 위해 변이체를 스크리닝할 수 있다.

[0652] 아미노산 서열 삽입은, 아미노 및/또는 카르복실 단에서 융합이 1개 잔기 또는 길이가 100개 이상의 잔기인 폴리펩티드, 및 단일 또는 복수의 아미노산 잔기의 서열 내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예로는 N 단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 N 단 또는 C 단에 융합된 효소(또는 항체의 혈청 반감기를 연장하는 폴리펩티드)의 융합물을 포함한다.

[0653] **Fab의 개조**

[0654] 일 측면에서, 본 개시의 항원 결합 분자에서, 상기 GUCY2C에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈 및 상기 CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 모듈 양자 중 하나는 대체된 Fab이고, 상기 대체된 Fab는 중쇄 가변 영역, 경쇄 가변 영역, Titin 사슬 및 Obscurin 사슬을 포함한다. 대체된 Fab에서, Fab의 원래 보유된 CH1과 CL은 Titin 사슬과 Obscurin 사슬에 의해 대체된다. 예시적으로, Titin 사슬과 Obscurin 사슬의 서열은 표 3-1 및 표 3-2에 나타난 바와 같다.

[0655] [표 3-1] Titin 사슬의 아미노산 서열

번호	SEQ ID NO	아미노산 서열
T.0	182	GIPPKIEALPSDISIDEGKVLTVACAFTGEPTPEVTWSCGGRKIHSQEQGRF HIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.1	183	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRF HIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.2	184	GIPPKIEALPSDISIDEGKCLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRF HIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.3	185	GIPPKIEALPSDISIDEGKVLTVASCFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRF HIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.4	186	GIPPKIEALPSDISIDEGKVLCVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRF HIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.5	187	KAGIRGIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQ EQGRFHIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.6	188	KAGIRGIPPKIEALPSDISIDEGKVLTVACAFTGEPTPEVTWSCGGRKIHSQ EQGRFHIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.7	189	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRF HIENTDDLTTLIISDVQKQDGGLYSLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.8	190	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRF HIENTDDLTTLIIKDVQRQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI
T.9	191	GIWPKIECLPIDLSIDEGKVLMVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGR FHIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGMEFGSDSATVNIHIRSI
T.10	192	GIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRF HIENTDDLTTLIIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI
T.11	193	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTSGKKISSEEGGRFH IESTEDLTTLIIMDVQKQDGGVYTLSLGNDLGSDSATVNIHIRSI
T.12	194	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSEEGGRF HIESTEDLTTLIIMDVQKQDGGVYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.13	195	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRF HIESTEDLTTLIIMDVQKQDGGVYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.14	196	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRF HIESTEDLTTLIISDVQKQDGGLYSLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.15	197	KAGIRGIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQ EQGRFHIESTEDLTTLIISDVQKQDGGLYSLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.16	198	GIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRF HIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI
T.17	199	GIPPKIECLPIDISIDEGKCLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRF HIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI
T.18	200	GIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASCFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRF HIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI

[0656]

[0657] [표 3-2] Obscurin 사슬의 아미노산 서열

번호	SEQ ID NO	아미노산 서열
O.0	201	SGAPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSCQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVCRARNAIGEAFAAVGLQVDAEA
OL.0	202	QGSPPCFLRFPRPVRVVSGAEAELKCVVLGEPPPVVVWEKGGQQLAASE RLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGVYVCRARNAAGEAYAAAAVTVLEPP
O.1	203	SGAPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSCQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVCRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.2	204	SGCPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSCQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVCRARNAIGEAFAAVGLQVDAEA
O.3	205	SGAPRFLTCPKAFVVSVGKDATLSCQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVCRARNAIGEAFAAVGLQVDAEA
O.4	206	SGAPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.5	207	SGCPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFAAVGLQVDAEA
O.6	208	SGAPRFLTCPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFAAVGLQVDAEA
O.7	209	SGAPRFKTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLAQDGDLYRLKILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.8	210	SGAPRFKTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLAQDGDLYRLHILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.9	211	SGAPRFLTRPLAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLAQDGDLYRLKILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.10	212	SGAPRFLTRPLAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLAQDGDLYRLHILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.11	213	DQPQFSGAPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPV AAGARFRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQV DAEA
O.12	214	DQPQFSGAPRFKTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPV AAGARFRLAQDGDLYRLKILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQ VDAEA
O.13	215	DQPQFSGAPRFKTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPV AAGARFRLAQDGDLYRLHILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQ VDAEA
O.14	216	DQPQFSGAPRFRTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPV AAGARFRLAQDGDLYRLKILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQ VDAEA
O.15	217	DQPQFSGAPRFRTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPV AAGARFRLAQDGDLYRLHILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQ VDAEA
O.16	218	DQPQFSGAPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSCQIVGNPTPQVSWEKDQQPV AAGARFRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVCRARNAIGEAFAAVGLQV DAEA

[0658]

OL.1	219	QGSPPEFLRFPRPVRVVSGAEAELKCVVLGEPPPVVVWEKGGQQLAASE RLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGCYVCRARNAAGEAYAAAAVTVLEPP
OL.2	220	QGSPPEFLRFPRPVRVVSGAEAELKCVVLGEPPPVVVWEKGGQQLAASE RLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGVYVCRARNAACEAYAAAAVTVLEPP
OL.3	221	QGSPPEFLRFPRPVRVVSGAEAELKCVVLGEPPPVVVWEKGGQQLAASE RLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGVYVCRARNAAGECYAAAAVTVLEPP
OL.4	222	QGSPPEFLRFPRPVRVVSGAEAELKSVVLGEPPPVVVWEKGGQQLAASE RLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGCYVSRARNAAGEAYAAAAVTVLEPP
OL.5	223	QGSPPEFLRFPRPVRVVSGAEAELKSVVLGEPPPVVVWEKGGQQLAASE RLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGVYVSRARNAACEAYAAAAVTVLEPP
OL.6	224	QGSPPEFLRFPRPVRVVSGAEAELKSVVLGEPPPVVVWEKGGQQLAASE RLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGVYVSRARNAAGECYAAAAVTVLEPP
O.17	225	SGAPRFLTRPKSYTVSVGKDASLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLAQDGDLYRLKILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.18	226	SEAPRFLTRPLAFVVSEGKDATLSSQIVGDPPPEVTWEKDQQPITAGARFR LAQDGDVYRLEILDLQLSDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQVDAEG
O.19	227	SGAPRFLTRPLAFVVSVGKLAMLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGAR FRLLQDGDLYRLKILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.20	228	SGAPRFLTRPLAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDKQPVTAGARF RLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAIGEAFACLGLQVDAEA
O.21	229	SGAPRFLTRPLAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQLPVTAGARF RLAQDGDLYRLKILDLTLSDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLEVGAEA
O.22	230	SGAPRFLTRPLSYVVSVGKDASLSSQIVGNPTPQVSWEKDQLPVTAGARF RLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLEVGAEA
O.23	231	DQPQFSGAPRFLTRPLSYVVSVGKDASLSSQIVGNPTPQVSWEKDQLPVT AGARFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLEVG AEA
O.24	232	SGAPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVR FRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAIGEAFACLGLQVDAEA
O.25	233	SGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVR FRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAHGEAFACLGLQVDAEA
O.26	234	SGCPRFLTRPKASVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRF RLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAHGEAFACLGLQVDAEA
O.27	235	SGAPRFLTCPKASVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVR FRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAHGEAFACLGLQVDAEA
O.28	236	SGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVR FRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEA
O.29	237	SGCPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVR FRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEA
O.30	238	SGAPRFLTCPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVR FRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEA
O.31	239	SGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVR FRLAQDGDLYRLKILDCQLSDSGQYVSRARNAHGEAFACLGLQCDAEA
O.32	240	SGCPRFLTRPKASVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRF RLAQDGDLYRLKILDCQLSDSGQYVSRARNAHGEAFACLGLQCDAEA
O.33	241	SGAPRFLTCPKASVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVR FRLAQDGDLYRLKILDCQLSDSGQYVSRARNAHGEAFACLGLQCDAEA

[0659]

[0660] **Fc 영역의 개조**

[0661] 일 측면에서, 본 개시의 항원 결합 분자의 Fc 영역은 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하며, 상기 하나 이상의 아미노산 치환은 Fc 수용체와의 결합, 예를 들어 Fcɣ 수용체와의 결합을 감소시키고, 이펙터 기능을 감소시키거나 제거한다. 천연 IgG Fc 영역, 구체적으로 IgG_1 Fc 영역 또는 IgG_4 Fc 영역은 본 개시의 항원 결합 분자가 항원을 발현하는 세포보다는 Fc 수용체를 발현하는 세포를 표적으로 하는 결과를 초래할 수 있다. 본 개시의 개조된 Fc 영역은 Fc 수용체에 대한 감소된 결합 친화력 및/또는 감소된 이펙터 기능을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 개조된 Fc 영역은 천연 Fc 영역에 비해 Fc 수용체에 대한 결합 친화력이 50%, 80%, 90% 또는 95% 이상 감소된다. 일부 실시양태에서, 상기 Fc 수용체는 Fcɣ 수용체이다. 일부 실시양태에서, 상기 Fc 수용체는 FcɣRI, FcɣRIIa, FcɣRIIB, FcɣRIIIa와 같은 인간 Fcɣ 수용체이다. 일부 실시양태에서, 개조된 Fc 영역은 천연 Fc 영역에 비해 C1q와 같은 보체에 대한 결합 친화력도 감소된다. 일부 실시양태에서, 개조된 Fc 영역은 천연 Fc 영역에 비해 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 대한 결합 친화력이 감소되지 않는다. 일부 실시양태에서, 개조된 Fc 영

역은 감소된 이펙터 기능을 가지며, 상기 감소된 이펙터 기능은 감소된 보체 의존성 세포 독성(CDC), 감소된 항체 의존성 세포에 의해 매개된 세포 독성(ADCC), 감소된 항체 의존성 세포 식균(ADCP), 감소된 사이토카인 분비, 감소된 면역 복합체에 의해 매개된 항원 제시 세포의 항원 섭취, 감소된 NK 세포와의 결합, 감소된 대식세포와의 결합, 감소된 단핵세포와의 결합, 감소된 다형 핵세포와의 결합, 감소된 직접적인 신호 전달에 의한 세포 사멸, 감소된 수지상 세포 성숙 또는 감소된 T 세포에 의한 유발 중 하나 이상을 포함할 수 있으나 이에 한정되지 않는다. IgG_1의 Fc 영역의 경우, 위치 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 등에 있는 아미노산 잔기의 치환은 이펙터 기능을 감소시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 Fc 영역은 인간 IgG_1 Fc 영역이고, 위치 234 및 235에 있는 아미노산 잔기는 EU 인덱스에 따라 넘버링된 A이다. IgG_4의 Fc 영역의 경우, 위치 228 등에 있는 아미노산 잔기 치환은 이펙터 기능을 감소시킬 수 있다.

[0662] 항원 결합 분자는 또한 제1 서브유닛의 354C 및 제2 서브유닛의 349C와 같은 이황화 결합 개조를 포함할 수 있다. 항원 결합 분자의 혈청 반감기를 증가시키기 위해, 돌연변이 252Y, 254T 및 256E를 도입할 수 있다.

[0663] 항원 결합 분자가 Fc 영역의 두 개의 서브유닛에 융합된 서로 다른 결합 모듈을 포함하는 경우, 원하지 않은 동종이량체화를 초래할 수 있다. 따라서 수율 및 순도를 향상시키기 위해, 본 개시의 항원 결합 분자의 Fc 영역에 이종이량체화를 촉진하는 변형을 도입하는 것이 유리할 것이다. 일부 실시양태에서, 본 개시의 Fc 영역은 놉-인투-홀(knob-into-hole, KIH) 기술에 따른 개조를 포함하며, 이 방법은 제1 서브유닛의 인터페이스에 놉 구조(knob)를 도입하고 제2 서브유닛의 인터페이스에 홀 구조(hole)를 도입하는 것에 관여한다. 이로하여, 상기 놉 구조가 홀 구조에 위치 고정될 수 있어, 이종이량체의 형성을 촉진하고 동종이량체의 생성을 억제한다. 놉 구조는 제1 서브유닛의 인터페이스로부터 유래된 작은 아미노산 측쇄를 더 큰 측쇄(예를 들어, 티로신 또는 트립토판)로 치환함으로써 구축된 것이다. 홀 구조는 제2 서브유닛의 인터페이스에서 큰 아미노산 측쇄를 더 작은 아미노산 측쇄(예를 들어 알라닌 또는 트레오닌)로 치환함으로써 구축된 것이다. 놉 구조 및 홀 구조는 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 변경시킴으로써 제조된 것이며, 선택적인 아미노산 치환은 아래 표 4에 나타난 바와 같다:

[0664] [표 4] KIH 돌연변이 조합

제1 서브유닛	T366Y	T366W	T394W	F405W	T366W	T366Y F405A	T366W F405W	F405W Y407A
제2 서브유닛	Y407T	Y407A	F405A	T394S	T366S L368A Y407V	T394W Y407T	T394W Y407A	T366W T394S

[0665]

[0666] 놉-인투-홀 기술 이외에, 이종이량체화를 구현하기 위해 중쇄의 CH3 도메인을 변형시키는 데 사용되는 다른 기술도 당업계에 알려져 있으며, 예를 들어, WO1996027011A1, WO1998050431A2, EP1870459A1, WO2007110205A2, WO2009089004A1, WO2010129304A2, WO2011143545A1, WO2012058768A1, WO2013157954A1 및 WO2013096291A2 등이 있다.

[0667] Fc 영역의 C 말단은 아미노산 잔기 PGK로 끝나는 온전한 C 말단일 수 있고; 예를 들어 한 개 또는 두 개의 C 말단 아미노산 잔기가 제거된 단축된 C 말단일 수 있다. 바람직한 일 측면에서, 중쇄의 C 말단은 PG로 끝나는 단축된 C 말단이다. 따라서, 일부 실시양태에서, 온전한 항체의 조성물은 모든 K447 잔기 및/또는 G446+K447 잔기가 제거된 항체 집단을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 온전한 항체의 조성물은 K447 잔기 및/또는 G446+K447 잔기가 제거되지 않은 항체 집단을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 온전한 항체의 조성물은 K447 잔기 및/또는 G446+K447 잔기가 있거나 없는 항체 혼합물의 항체 집단을 갖는다.

[0668] **재조합 방법**

[0669] 항원 결합 분자는 재조합 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 이러한 방법에 대하여, 항원 결합 분자를 코딩하는 하나 이상의 분리된 핵산이 제공된다.

[0670] 천연 항체, 천연 항체 단편 또는 동종이량체 중쇄를 갖는 이중특이성 항체의 경우, 두 개의 핵산이 필요하며, 하나는 경쇄 또는 이의 단편에 사용되고 다른 하나는 중쇄 또는 이의 단편에 사용된다. 이와 같은 핵산은 항체 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 항체 VH를 포함하는 아미노산 서열(예를 들어, 항체의 경쇄 및/또는 중쇄)을 코딩한다. 이러한 핵산은 동일한 발현 벡터에 있을 수도 있고 상이한 발현 벡터에 있을 수도 있다.

[0671] 이종이량체 중쇄를 갖는 이중특이성 항체의 경우, 예를 들어 네 개의 핵산이 필요하며, 하나는 제1 경쇄에 사용

되고, 하나는 제1 이종 단량체 Fc 영역 폴리펩티드를 포함하는 제1 중쇄에 사용되고, 하나는 제2 경쇄에 사용되고, 하나는 제2 이종 단량체 Fc 영역 폴리펩티드를 포함하는 제2 중쇄에 사용된다. 이들 네 개의 핵산은 하나 이상의 핵산 분자 또는 발현 벡터에 포함될 수 있으며, 통상적으로 이러한 핵산은 두 개 또는 세 개의 발현 벡터에 위치하고, 즉, 하나의 벡터는 이러한 핵산 중 두 개 이상을 포함할 수 있다.

[0672] 일 실시양태에서, 본 개시는 앞서 기재된 바와 같은 항체를 코딩하는 분리된 핵산을 제공한다. 이와 같은 핵산은 독립적으로 전술한 임의의 폴리펩티드 사슬을 코딩할 수 있다. 다른 일 측면에서, 본 개시는 이와 같은 핵산을 포함하는 하나 이상의 벡터(예를 들어, 발현 벡터)를 제공한다. 다른 일 측면에서, 본 개시는 이와 같은 핵산을 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 일 실시양태에서, 항원 결합 분자를 제조하는 방법을 제공하며, 여기서, 상기 방법은, 항체 발현에 적합한 조건 하에서, 상기 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포(앞서 제공된 바와 같음)를 배양하고, 선택적으로 상기 항체를 숙주 세포(또는 숙주 세포 배지)로부터 회수하는 단계를 포함한다.

[0673] 항원 결합 분자를 재조합하여 생성하기 위해, 단백질를 코딩하는 핵산을 분리시키고 숙주 세포에서의 추가 클로닝 및/또는 발현을 위해 하나 이상의 벡터에 삽입시킨다. 이와 같은 핵산은 일반적인 절차를 사용하여 쉽게 분리하고 시퀀싱할 수 있거나(예를 들어, 항체 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용하여), 또는 재조합 방법을 통해 생성하거나 화학적 합성을 통해 획득할 수 있다.

[0674] 항체를 코딩하는 벡터를 클로닝하거나 발현시키기에 적합한 숙주 세포는 본원에 설명된 원핵 세포 또는 진핵 세포를 포함한다. 예를 들어, 항체가 특히 글리코실화 및 Fc 이펙터 기능이 필요하지 않은 경우 항체는 박테리아에서 생성될 수 있다. 발현된 후, 항체는 박테리아 세포 페이스트로부터 가용성 분획으로 분리될 수 있고 추가로 정제될 수 있다.

[0675] 원핵 생물 외에도, 사상 진균 또는 효모와 같은 진핵 미생물도 진균 및 효모 균주를 포함한 항체를 코딩하는 벡터에 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이고, 이의 글리코실화 경로는 이미 "인간화"되어 부분적 또는 완전한 인간 글리코실화 패턴을 가진 항체를 생성할 수 있게 되었다. (글리코실화) 항체의 발현에 적합한 숙주 세포는 또한 다세포 유기체(무척추동물 및 척추동물)로부터 유래될 수 있으며, 무척추동물 세포의 예로는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 특히, 스포도프테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포의 형질감염을 위해 곤충 세포와 함께 사용할 수 있는 많은 바큘로바이러스 균주가 이미 검증되었고; 또한 식물 세포 배양물을 숙주로 사용할 수 있는데, 예를 들어 US5959177, US6040498, US6420548, US7125978 및 US6417429; 또한 척추동물 세포를 숙주로 사용할 수 있으며, 예를 들어 현탁액에서 성장하도록 적응된 포유동물 세포주이다. 적합한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예로는 SV40 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주(COS-7); 인간 배아 신장 세포주(293 또는 293T 세포); 어린 햄스터 신장 세포(BHK); 마우스 세르톨리(Sertoli) 세포(TM4 세포); 원숭이 신장 세포(CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포(VERO-76); 인간 자궁경부암 세포(HELA); 견 신장 세포(MDCK); 버팔로 래트(buffalo rat) 간 세포(BRL3A); 인간 폐세포(W138); 인간 간세포(Hep G2); 마우스 유방 종양(MMT 060562); TRI 세포; MRC 5 세포 및 FS4 세포 등이 있다. 다른 적합한 포유동물 숙주 세포주는 DHFR-CHO 세포를 포함한 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 및 Y0, NS0 및 Sp2/0과 같은 골수종 세포주를 포함한다. 항체 생성에 적합한 특정 포유동물 숙주 세포주에 대한 검토는 예를 들어 Yazaki, P. 및 Wu, A.M., *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248, Lo, B.K.C.(편집), Humana Press, Totowa, NJ(2004), 제255-268페이지를 참조한다.

[0676] **면역접합체**

[0677] 본 개시는 또한 면역접합체를 제공하며, 이는 하나 이상의 세포 독성제와 접합된 항원 결합 분자를 포함하고, 상기 하나 이상의 세포 독성제는 예컨대 화학 치료제 또는 약물, 성장 억제제, 독소(예를 들어, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 유래의 단백질 독소, 효소 활성 독소, 또는 이들의 단편) 또는 방사성 동위원소이다.

[0678] **진단 및 치료용 조성물**

[0679] 특정 실시양태에서, 본 개시에서 제공되는 항원 결합 분자는 생물학적 샘플에서 GUCY2C 및/또는 CD3의 존재를 검출하는데 사용될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "검출"은 정량적 또는 정성적 검출을 포함한다. 특정 실시양태에서, 생물학적 샘플은 종양 조직과 같은 세포 또는 조직을 포함한다.

[0680] 일 실시양태에서, 진단 또는 검출 방법에 사용하기 위한 항원 결합 분자가 제공된다. 또 다른 일 측면에서, 생물학적 샘플에서 GUCY2C 및/또는 CD3의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 해당 방법은 적절한 조건 하에서 생물학적 샘플을 항원 결합 분자와 접촉시키고 검출 시약과 항원 사이에 복합체가 형성되는지

여부를 검출하는 단계를 포함한다. 이와 같은 방법은 체외 또는 체내 방법일 수 있다. 일 실시양태에서, 항원 결합 분자는 치료에 적합한 피험자를 선택하는 데 사용되며, 예를 들어 GUCY2C 및/또는 CD3은 환자를 선택하는 데 사용되는 바이오마커이다.

[0681] 본 개시의 항원 결합 분자를 사용하여 증식성 질환 또는 종양(예를 들어,암)과 같은 예시적인 병증을 진단할 수 있다.

[0682] 특정 실시양태에서, 표지된 항원 결합 분자가 제공된다. 마커는 직접적으로 검출할 수 있는 마커 또는 모듈(예컨대, 형광, 발색, 전자 밀도, 화학발광 및 방사성 마커)과 간접적으로 검출할 수 있는 모듈(예를 들어, 효소 또는 리간드와 같이, 효소 반응 또는 분자의 상호작용을 통한 간접적으로 검출하는 모듈)이 포함되나 이에 한정되지는 않는다.

[0683] 다른 측면에서, 예를 들어 이하 임의의 치료 방법에 사용하기 위한 상기 항원 결합 분자를 포함하는 약학적 조성물이 제공된다. 일 측면에서, 약학적 조성물은 본원에 제공된 임의의 항원 결합 분자 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다. 또 다른 일 측면에서, 약학적 조성물은 본원에 제공된 임의의 항원 결합 분자 및 적어도 하나의 별도의 치료제를 포함한다.

[0684] 본 개시에 기재된 항원 결합 분자의 약학적 조성물은 원하는 순도를 갖는 이와 같은 항원 결합 분자를 하나 이상의 선택적으로 약학적으로 허용 가능한 담체와 혼합함으로써 제조되며, 상기 약학적 조성물은 동결건조 조성물 또는 수용액의 형태로 존재한다. 체내 투여를 위한 제제는 일반적으로 무균되어 있다. 무균은 예를 들어 무균 막을 통한 여과를 통해 쉽게 구현할 수 있다.

[0685] **치료 방법 및 투여 경로**

[0686] 본원에 제공된 임의의 항원 결합 분자는 치료 방법에 사용될 수 있다.

[0687] 또 다른 일 측면에서, 본 개시는 약물의 제조 또는 준비에 있어서, 항원 결합 분자의 용도를 제공한다. 일 실시양태에서, 상기 약물은 증식성 질환 또는 종양을 치료하는 데 사용된다. 또한 상기 약물은 상술한 질환에 유효량의 형태로 존재한다. 일부 실시양태에서, 상기 유효량은 단위 일일 용량 또는 단위 주간 용량이다. 이와 같은 일 실시양태에서, 상기 용도는 피험자에게 유효량의 적어도 한 가지의 별도의 치료제(예를 들어, 한 가지, 두 가지, 세 가지, 네 가지, 다섯 가지 또는 여섯 가지의 별도의 치료제)를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 앞서 임의의 실시양태에 따른 "피험자"는 인간일 수 있다.

[0688] 또 다른 일 측면에서, 상기 항원 결합 분자를 포함하는 약학적 조성물이 제공되며, 예를 들어, 이는 이상 임의의 제약 용도 또는 치료 방법에 사용된다. 다른 일 실시양태에서, 약학적 조성물은 또한 적어도 하나의 별도의 치료제를 포함한다.

[0689] 본 개시의 항원 결합 분자는 단독으로 사용하거나 다른 시약과 병용하여 치료에 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 개시의 항원 결합 분자는 적어도 하나의 별도의 치료제와 공동으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 별도의 치료제는 EGFR 및 CD28에 특이적으로 결합하는 이중특이성 항체이다.

[0690] 본 개시의 항원 결합 분자(및 임의의 별도의 치료제)는 비경구, 폐내 및 비강내 투여를 포함한 임의의 적합한 수단으로 투여될 수 있고, 국소 치료가 필요하는 경우 병변 내에 투여하면 된다. 비경구 주사는 근육 내, 정맥 내, 동맥 내, 복막 내 또는 피하 투여를 포함한다. 투약은 임의의 적절한 경로, 예를 들어 정맥 내 또는 피하 주사와 같은 주사(이 부분은 투여가 단기적인지 장기적인지에 따라 결정)를 통해 투약될 수 있다. 본원에서는 다양한 투약 시점 방안이 고려되는데, 한 번 또는 여러 시점에서 여러 번 투여, 푸시 주사 투여 및 펄스 주사가 포함되나 이에 한정되지 않는다.

[0691] 본 개시의 항원 결합 분자는 양호한 의료 실천에 부합되는 방식으로 배합, 투약 및 투여된다. 이러한 배경에서 고려되는 요소는 치료받는 구체적인 병증, 치료받는 구체적인 포유동물, 개인 환자의 임상적 상황, 병증의 기인, 시약의 전달 부위, 투여 방법, 투여 시간 배치 및 의학 종사자가 알려진 기타 요소를 포함한다. 항원 결합 분자는 반드시 그럴 필요는 없으나 선택적으로 상기 병증을 예방 또는 치료하기 위해 현재 사용되고 있는 하나 이상의 시약과 함께 배합된다. 이와 같은 다른 시약의 유효량은 약학적 조성물에 존재하는 항원 결합 분자의 양, 병증 또는 치료 유형 및 위에 토론한 기타 요소에 따라 결정된다. 이들은 통상적으로 본원에 기재된 것과 동일한 용량 및 투여 경로로 사용되거나, 또는 본원에 기재된 용량의 약 1 내지 99%로 사용되거나, 또는 임의의 용량으로 사용되고, 경험/임상에 의해 적절하다고 판단되는 임의의 경로를 통해 사용된다.

[0692] 질환을 예방 또는 치료하기 위해, 본 개시의 항원 결합 분자(단독으로 사용되거나 하나 이상의 다른 별도의 치

료제와 조합하여 사용되는 경우)의 적절한 용량은 치료할 질환의 유형, 치료 분자의 유형, 질환의 심각도 및 병정, 예방이나 치료 목적으로 투여되는지 여부, 이전의 치료, 환자의 임상 병력 및 치료 분자에 대한 반응, 및 주치 의사의 판단에 따라 결정될 것이다. 치료 분자는 한 번의 치료 또는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 적절하게 투여된다. 질환의 유형 및 심각도에 따라, 약 1μg/kg 내지 15mg/kg의 항원 결합 분자가 환자에게 투여하기 위한 초기 후보 용량일 수 있으며, 예를 들어 1회 이상의 개별 투여 또는 연속 주사로 투약할 수 있다. 전형적인 일일 용량은 위에 언급한 요인에 따라 약 1μg/kg 내지 100mg/kg 이상 범위일 수 있다. 이에 상응하여, 체중 50kg을 예로 들면, 예시적인 단위 일일 용량은 50μg~5g이다.

[0693] **제조품**

[0694] 본 개시의 다른 일 측면에서, 상술한 병증을 치료, 예방 및/또는 진단하기 위한 재료를 포함하는 제조품이 제공된다. 해당 제조품은 용기와 용기에 있거나 용기와 함께 있는 라벨 또는 포장 삽입 페이지(package insert)를 포함한다. 적합한 용기는 예를 들어 병, 튜브형 바이알, 주사기 및 IV 용액 백 등을 포함한다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 형성될 수 있다. 용기에는 단독으로 또는 다른 조성물과 조합하여 질환을 효과적으로 치료, 예방 및/또는 진단하는 조성물이 담겨 있고, 무균 접근 개구가 있을 수 있다(예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 갖는 정맥 내 용액 백 또는 튜브형 바이알일 수 있음). 조성물 중 적어도 하나의 활성제는 본 개시의 항원 결합 분자이다. 라벨 또는 패키지 삽입 페이지는 선택된 병세를 치료하기 위해 해당 조성물을 사용하라는 점을 지시한다. 또한, 제조품은 (a) 본 개시의 항원 결합 분자를 포함하는 조성물이 담긴 제1 용기; 및 (b) 별도의 세포 독성제 또는 다른 측면의 치료제를 포함하는 조성물이 담긴 제2 용기를 포함할 수 있다. 본 개시의 해당 실시양태의 제조품은, 상기 조성물이 특정 병세를 치료하는 데 사용될 수 있다는 점을 지시하는 패키지 삽입 페이지를 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 제조품은 약학적으로 허용 가능한 완충액을 포함하는 제2(또는 제3) 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이는 기타 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 주사기를 비롯한 상업적 및 사용자 관점에서 볼 때 필요한 기타 재료를 추가로 포함할 수 있다.

[0695] **실시예 및 시험예**

[0696] 아래는 실시예와 시험예를 결부하여 본 개시를 추가로 설명할 것이나, 이러한 실시예와 시험예는 본 개시의 범위를 제한하는 것이 아니다. 본 개시의 실시예와 시험예에서 구체적인 조건이 명시되지 않은 실험 방법은 통상적으로, 콜드 스프링 하버(Cold Spring Harbor)의 항체 기술 실험 매뉴얼, 분자 클론 매뉴얼과 같은 일반적인 조건에 따르거나 원료 또는 제조품의 제조업체에서 권장하는 조건에 따른다. 구체적인 출처가 명시되지 않은 시약은 시판되는 일반적인 시약이다.

[0697] **실시예 1. Titin 사슬/Obscurin 사슬을 함유하는 항원 결합 분자**

[0698] 본 개시의 Titin 사슬/Obscurin 사슬은 WO2021139758A1(전체가 본원에 참고로 포함됨) 및 CN202110527339.7 및 이를 우선권 문서로 하는 특허(전체가 본원에 참고로 포함됨)로부터 유래된 폴리펩티드를 포함하는 임의의 적합한 폴리펩티드로부터 유래될 수 있다. 이중특이성 항체를 구축함에 있어서, CL은 WO2021139758A1 중의 kappa 경쇄 불변 영역이고, Titin 사슬 및 Obscurin 사슬의 아미노산 서열은 표 3-1 및 3-2를 참조하고, 링커 서열은 GGGGS(SEQ ID NO: 90), ASTKG(SEQ ID NO: 243) 또는 RTVAS(SEQ ID NO: 244)를 포함하며, 본 실시예의 Fc1, Fc2 및 CH1의 아미노산 서열은 아래에 제시된 바와 같다.

[0699] >실시예 1-Fc1(knob, SEQ ID NO: 85)

[0700] DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0701] >실시예 1-Fc2(hole, SEQ ID NO: 86)

[0702] DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0703] >실시예 1-CH1(SEQ ID NO: 84)

[0704] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS

C

[0705] **1.1 DI 이중특이성 항체**

[0706] WO2021139758A1의 실시예 5를 참조하여, 항-hNGF 및 hRANKL의 DI 이중특이성 항체: DI-2 내지 DI-20을 구축하였으며, 이는 하기에 기재된 바와 같은 제1 중쇄, 제2 중쇄, 제1 경쇄 및 제2 경쇄를 포함하며:

[0707] N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 [VH1-I]-[링커 1]-[Obscurin 사슬]-[Fc2]인 제1 중쇄,

[0708] N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 [VL1-I]-[링커 2]-[Titin 사슬]인 제1 경쇄,

[0709] N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 [VH2-D]-[CH1]-[Fc1]인 제2 중쇄, 및

[0710] N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 [VL2-D]-[CL]인 제2 경쇄;

[0711] 여기서, VH1-I 및VL1-I는 각각 WO2021139758A1 중 IO의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역이고, VH2-D 및 VL2-D는 각각 WO2021139758A1 중 DO의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역이다. 본 실시예에서, DI 이중특이성 항체의 Obscurin 사슬, Titin 사슬, 링커 1, 링커 2의 구조는 아래 표를 참조한다.

[0712] [표 5] DI 이중특이성 항체의 Obscurin 사슬/Titin 사슬 및 링커의 대응표

[0713]

번호	제1 중쇄		제1 경쇄	
	Obscurin 사슬	링커 1	Titin 사슬	링커 2
DI-2	O.20	GGGGS	T.10	GGGGS
DI-3	O.25	GGGGS	T.16	GGGGS
DI-4	O.26	GGGGS	T.17	GGGGS
DI-5	O.27	GGGGS	T.18	GGGGS
DI-6	O.28	GGGGS	T.16	GGGGS
DI-7	O.29	GGGGS	T.17	GGGGS
DI-8	O.30	GGGGS	T.18	GGGGS
DI-9	O.31	GGGGS	T.16	GGGGS
DI-10	O.32	GGGGS	T.17	GGGGS
DI-11	O.33	GGGGS	T.18	GGGGS
DI-12	O.25	ASTKG	T.16	RTVAS
DI-13	O.26	ASTKG	T.17	RTVAS
DI-14	O.27	ASTKG	T.18	RTVAS
DI-15	O.28	ASTKG	T.16	RTVAS
DI-16	O.29	ASTKG	T.17	RTVAS
DI-17	O.30	ASTKG	T.18	RTVAS
DI-18	O.31	ASTKG	T.16	RTVAS
DI-19	O.32	ASTKG	T.17	RTVAS
DI-20	O.33	ASTKG	T.18	RTVAS

[0714] 비고: 표에서 Titin 사슬과 Obscurin 사슬의 번호는 표 3-1 및 표 3-2를 참조한다.WO2021139758A1의 시험예 4의 방법을 사용하여 DI-2 내지 DI-20 이중특이성 항체 및 이의 항원의 결합 활성을 검출하였다. 항체의 열 안정성 연구가 수행되었다. 연구 방법: 항체의 농도를 PBS를 사용하여 5mg/mL로 희석하고, 고처리량 시차 주사 형광계(UNCHAINED, 사양 모델: Unit)를 채택하여 이의 열 안정성을 측정하였다. 실험 결과는 개조 후의 이중특이성 항체의 항원에 대한 결합 활성이 현저한 변화가 없고; 또한, DI-2와 비교하여 DI-4 내지 DI-8, DI-10 내지 DI-16, DI-20의 Tm1(℃), Tonset(℃)이 유의하게 향상하였으며 이중특이성 항체의 열 안정성이 더 우수한 것을 보여준다.

[0715] [표 6] DI 이중특이성 항체의 결합 활성 검출

번호	RANKL	NGF	번호	RANKL	NGF
	EC_{50}(nM)			EC_{50}(nM)	
DI-2	0.3832	6.633	DI-12	0.4125	6.5156
DI-3	0.3613	5.7730	DI-13	0.4440	5.5420
DI-4	0.3959	6.2930	DI-14	0.4182	3.2610
DI-5	0.3290	6.1890	DI-15	0.2206	5.2800
DI-6	0.2509	5.6720	DI-16	0.1474	5.5140
DI-7	0.2557	6.6430	DI-17	0.2329	6.7270
DI-8	0.3643	7.6250	DI-18	0.2662	5.9080
DI-9	0.2944	8.4950	DI-19	0.1843	5.9280
DI-10	0.3460	7.1660	DI-20	0.3184	6.4250
DI-11	0.3721	10.9600			

[0716]

[0717] [표 7] DI 이중특이성 항체의 열 안정성 실험 결과

번호	Tm1 (°C)	Tonset (°C)	번호	Tm1 (°C)	Tonset (°C)
DI-2	55.6	48.3	DI-11	57.35	-
DI-4	60.1	52.493	DI-12	59.9	51.726
DI-5	61	51.967	DI-13	61	50.988
DI-6	60.8	53.012	DI-14	61.2	52.191
DI-7	60.34	52.003	DI-15	60.41	50.558
DI-8	60.61	50.425	DI-16	61.5	50.691
DI-10	60.2	52.766	DI-20	60.7	51.859

[0718]

[0719] 10mM 아세트산, pH 5.5, 9% 수크로스 완충액을 채택하여 DI 이중특이성 항체가 함유된 용액을 배합하고, 용액을 40℃ 인큐베이터에 놓고 4주 동안 인큐베이션한 후 항체 농도를 인큐베이션 시작 시 농도로 농축하고 용액의 침전 상황을 관찰하였다. 실험 결과는 DI-2 이중특이성 항체 그룹 용액이 침전되었고 DI-3 내지 DI-7이 DI-2보다 안정성이 더 우수한 것을 보여준다.

[0720] [표 8] DI 이중특이성 항체의 침전

번호	시작 농도	4주째 농축된 농도	용액 침전 상황
DI-2	20 mg/mL	20 mg/mL	침전 발생
DI-3	20 mg/mL	20 mg/mL	침전 없음
DI-4	60 mg/mL	60 mg/mL	침전 없음
DI-5	25 mg/mL	25 mg/mL	침전 없음
DI-6	60 mg/mL	60 mg/mL	침전 없음
DI-7	16 mg/mL	16 mg/mL	침전 없음

[0721]

[0722] **1.2 PL 이중특이성 항체**

[0723] 항-hPDL1 및 hCTLA4의 PL 이중특이성 항체: PL-1 내지 PL-19를 구축하였고, 이는 다음과 같은 제1 중쇄, 제2 중쇄, 제1 경쇄 및 제2 경쇄를 포함한다:

[0724] N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 [VH1-P]-[링커 1]-[Obscurin 사슬]-[Fc1]인 제1 중쇄,

[0725] N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 [VL1-P]-[링커 2]-[Titin 사슬]인 제1 경쇄,

[0726] N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 [VH2-L]-[CH1]-[Fc2]인 제2 중쇄, 및

[0727] N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 [VL2-L]-[CL]인 제2 경쇄;

[0728] 여기서, VH1-P 및 VL1-P는 각각 WO2020177733A1 중 h1831K 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역이고, VH2-L 및 VL2-L의 아미노산 서열은 하기에 표시된 바와 같다.

[0729] > VH2-L(SEQ ID NO: 180)

[0730] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVTFISYDGNNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWL GPFDYWGQGTLVTVSS

[0731] > VL2-L(SEQ ID NO: 181)

[0732] EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQG TKVEIK

[0733] 본 실시예에서, PL 이중특이성 항체의 Obscurin 사슬, Titin 사슬, 링커 1, 링커 2의 구조는 아래 표를 참조한다.

[0734] [표 9] PL 이중특이성 항체의 Obscurin 사슬/Titin 사슬 및 링커의 대응표

번호	제1 중쇄		제1 경쇄	
	Obscurin 사슬	링커 1	Titin 사슬	링커 2
PL-1	O.20	GGGGS	T.10	GGGGS
PL-2	O.25	GGGGS	T.16	GGGGS
PL-3	O.26	GGGGS	T.17	GGGGS
PL-4	O.27	GGGGS	T.18	GGGGS
PL-5	O.28	GGGGS	T.16	GGGGS
PL-6	O.29	GGGGS	T.17	GGGGS
PL-7	O.30	GGGGS	T.18	GGGGS
PL-8	O.31	GGGGS	T.16	GGGGS
PL-9	O.32	GGGGS	T.17	GGGGS
PL-10	O.33	GGGGS	T.18	GGGGS
PL-11	O.25	ASTKG	T.16	RTVAS
PL-12	O.26	ASTKG	T.17	RTVAS
PL-13	O.27	ASTKG	T.18	RTVAS
PL-14	O.28	ASTKG	T.16	RTVAS
PL-15	O.29	ASTKG	T.17	RTVAS
PL-16	O.30	ASTKG	T.18	RTVAS
PL-17	O.31	ASTKG	T.16	RTVAS
PL-18	O.32	ASTKG	T.17	RTVAS
PL-19	O.33	ASTKG	T.18	RTVAS

[0735]

[0736] 비고: 표에서 Titin 사슬과 Obscurin 사슬의 번호는 표 3-1 및 표 3-2를 참조한다.WO2021139758A1 중 시험예 4의 ELISA 방법을 참조하여 PL 이중특이성 항체의 결합 활성을 검출하였으며, 여기서 hPDL1, hCTLA4 항원은 Sino biology로부터 구매하였다. 항체의 열 안정성 연구가 수행되었다. 방법: 항체의 농도를 PBS를 사용하여 1.4~3mg/mL로 희석하고, 고처리량 시차 주사 형광계(UNCHAINED, 사양 모델: Unit)를 채택하여 이의 열 안정성을 측정하였다. 실험 결과는, PL 이중특이성 항체는 항원에 대해 결합 활성이 여전히 우수하며; 또한, PL-1에 비해 PL-2 내지 PL-19의 Tm1(℃), Tagg 266(℃), Tonset(℃)이 유의하게 향상되었으며, 이중특이성 항체의 열 안정성이 더 우수한 것을 보여준다.

[0737] [표 10] PL 이중특이성 항체의 결합 활성 검출

번호	hPDL1	hCTLA4	번호	hPDL1	hCTLA4
	EC_{50}(nM)			EC_{50}(nM)	
PL-1	1.6	16.5	PL-11	0.6	5.6
PL-2	0.5	8.0	PL-12	0.5	8.0
PL-3	0.6	7.9	PL-13	0.5	4.4
PL-4	0.7	6.5	PL-14	1.3	6.0
PL-5	0.7	6.7	PL-15	1.4	3.2
PL-6	0.8	5.3	PL-16	1.7	34.9
PL-7	0.5	7.3	PL-17	1.4	6.2
PL-8	1.4	14.5	PL-18	1.6	6.7
PL-9	0.6	5.5	PL-19	1.6	6.5
PL-10	0.6	6.9			

[0738]

[0739] [표 11] PL 이중특이성 항체의 열 안정성 실험 결과

번호	Tm1 (°C)	Tagg 266 (°C)	Tonset (°C)	번호	Tm1 (°C)	Tagg 266 (°C)	Tonset (°C)
PL-1	61.64	64.82	52.566	PL-11	65.88	-	57.976
PL-2	66.20	66.55	58.317	PL-12	65.54	67.94	-
PL-3	64.07	68.28	57.661	PL-13	71.85	68.17	58.581
PL-4	70.71	67.29	56.246	PL-14	74.18	69.42	58.589
PL-5	74.56	68.11	58.407	PL-15	70.96	69.91	58.622
PL-6	70.43	70.12	61.069	PL-16	63.48	68.98	58.702
PL-7	68.46	67.41	63.031	PL-17	70.15	69.86	56.193
PL-8	65.00	-	-	PL-18	-	69.43	-
PL-9	69.24	67.83	58.597	PL-19	-	69.52	57.766
PL-10	69.63	68.12	56.788				

[0740]

[0741] **1.3 HJ 이중특이성 항체**

[0742] 항-hIL5 및 hTSLP의 HJ 이중특이성 항체: HJ-3 내지 HJ11을 구축하였고, 이는 다음과 같은 제1 중쇄, 제2 중쇄, 제1 경쇄 및 제2 경쇄를 포함한다:

[0743] N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 [VH1-H]-[링커 1]-[Titin 사슬]-[Fc1]인 제1 중쇄,

[0744] N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 [VL1-H]-[링커 2]-[Obscurin 사슬]인 제1 경쇄,

[0745] N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 [VH2-J]-[CH1]-[Fc2]인 제2 중쇄, 및

[0746] N 단으로부터 C 단까지 순차적으로 [VL2-J]-[CL]인 제2 경쇄;

[0747] 여기서, VH1-H 및 VL1-H는 각각WO2021139758A1 중 H0의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역이고, VH2-J 및 VL2-J는 각각WO2021139758A1 중 J1의 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역이다. 본 실시예에서, HJ 이중특이성 항체의 Obscurin 사슬, Titin 사슬, 링커 1, 링커 2의 구조는 아래 표를 참조한다.

[0748] [표 12] HJ 이중특이성 항체의 Obscurin 사슬/Titin 사슬 및 링커의 대응표

번호	제1 중쇄		제1 경쇄	
	Titin 사슬	링커 1	Obscurin 사슬	링커 2
HJ-3	T.10	GGGGS	O.20	GGGGS
HJ-5	T.16	GGGGS	O.25	GGGGS
HJ-6	T.16	GGGGS	O.27	GGGGS
HJ-7	T.16	GGGGS	O.28	GGGGS
HJ-8	T.16	ASTKG	O.25	RTVAS
HJ-9	T.16	ASTKG	O.27	RTVAS
HJ-10	T.16	ASTKG	O.28	RTVAS
HJ-11	T.16	ASTKG	O.29	RTVAS

[0749]

[0750] WO2021139758A1 중시험예 4의 방법을 참조하여 HJ 이중특이성 항체의 항원에 대한 결합 활성을 검출하였다. 항체의 열 안정성에 대해 연구를 수행하였고, 방법은 10mM 아세트산 pH 5.5, 9% 수크로스의 완충액을 사용하여 HJ 이중특이성 항체 희석액을 배합한 다음, 한외여과 농축 방법을 통해 이중특이성 항체를 농축하여 다양한 농도의 HJ 이중특이성 항체 용액(HJ 이중특이성 항체 농도는 표 13-2 참조)을 획득한 다음, 농축액을 40℃ 인큐베이터에서 인큐베이션하고, 0일째(즉, 40℃에서 인큐베이션 시작 전, D0), 7일째(40℃에서 인큐베이션 7일째, D7), 14일째(40℃에서 인큐베이션 14일째, D14), 21일째(40℃에서 인큐베이션 21일째, D21) 및 28일째(40℃에서 인큐베이션 28일째, D28)에 샘플의 SEC 순도를 검출하고, 40℃에서 인큐베이션 28일 후 즉시 샘플을 채취하여 샘플의 CE-SDS 순도를 검출하였다. 실험 결과는 본 개시에서 구축된 HJ 이중특이성 항체의 항원에 대한 결합 활성은 현저한 변화가 없고; HJ-3과 비교하여 HJ-5 내지 HJ-11 이중특이성 항체의 열 안정성이 더 우수한 것을 보여준다.

[0751] [표 13-1] HJ 이중특이성 항체의 결합 활성 검출

번호	hIL5	hTSLP	번호	hIL5	hTSLP
	EC_{50}(nM)			EC_{50}(nM)	
HJ-3	17.38	3.234	HJ-8	18.74	3.332
HJ-5	15.96	2.639	HJ-9	10.86	3.184
HJ-6	37.05	2.884	HJ-10	20.81	3.173
HJ-7	17.69	2.182	HJ-11	9.464	3.005

[0752]

[0753] [표 13-2] HJ 이중특이성 항체 가속 안정성 실험 결과

번호	D0 농도 (mg/mL)	D0 SEC 순도(%)	D28 SEC 순도(%)	D28△ SEC 순도(%)	D28 비환원 CE-SDS 순도(%)
HJ-3	50	98	84	14	67
HJ-5	60.8	98.09	93.86	4.23	82.93
HJ-6	54	98.14	89.68	8.46	80.76
HJ-7	56.8	97.7	92.72	4.98	85.47
HJ-8	62.6	93.39	84.28	9.11	73.03
HJ-9	53.5	90.01	85.93	4.08	80.32
HJ-10	69.8	90.9	88.31	2.59	80.4
HJ-11	50.4	92.55	90.89	1.66	82.96

[0754]

[0755] **실시예 2. 항인간 GUCY2C 마우스 유래 항체의 스크리닝 및 감정**

[0756] **2.1 세포주의 구축**

[0757] CHO-K1/hGUCY2C 및 HCT116/hGUCY2C 세포주를 구축하였으며, 관련 단백질 서열은 다음과 같다:

[0758] 인간 GUCY2C 단백질(UniProtKB: P25092):

[0759] MKTLLLDLALWSLLFQPGWLSFSSQVSQNCHNGSYEISVLMMGNSAFAEPLKNLEDAVNEGLEIVRGRLQNAGLNVTVNATFMYSDGLIHNSGDCRSSTCEG
LDLLRKISNAQRMGCVLIGPSCTYSTFQMYLDTELSYPMISAGSFGLSCDYKETLTRLMSPARKLMYFLVNFWKTNDLPFKTYSWSTSYVYKNGTETEDCFW
YLNALEASVSYFSHELGFKVVLRQDKEFQDILMDHNRKSNVIIMCGGPEFLYKLKGDRAVAEDIVIILVDLFNDQYFEDNVTAPDYMKNVLVLTLSPGNSLL
NSSFSRNLSPTKRDFALAYLNGILLFGHMLKIFLENGENITTPKFAHAFRNLTFEGYDGPVTLDDWGDVDSTMVLLYTSVDTKKYKVLLTYDTHVNKTYPVD
MSPTFTWKNSKLPNDITGRGPQILMIAVFTLTGAVVLLLLVALLMLRKYRKDYELRQKKWSHIPPENIFPLETNETNHVSLKIDDDKRRDTIQRLRQCKYDK
KRVILKDLKHNDGNFTEKQKIELNKLLQIDYYNLTKFYGTVKLDTMIFGVIEYCERGSLREVLNDTISYPDGTFMDWEFKISVLYDIAKGMSYLHSSKTEVH
GRLKSTNCVVDSRMVVKITDFGCNSILPPKKDLWTAPEHLRQANISQKGDVYSYGIIAQEIILRKETFYTLSCRDRNEKIFRVENSNGMKPFRPDLFLETAE
EKELEVYLLVKNCWEEDPEKRPDFKKIETTLAKIFGLFHDQKNESYMDTLIRRLQLYSRNLEHLVEERTQLYKAERDRADRLNFMLLPRLVVKSLKEKGFVE
PELYEEVTIYFSDIVGFTTICKYSTPMEVVDMLNDIYKSFDHIVDHHDVYKVETIGDAYMVASGLPKRNGNRHAIDIAKMALEILSFMGTFELEHLPGLPIW
IRIGVHSGPCAAGVVGIKMPRYCLFGDTVNTASRMESTGLPLRIHVSGSTIAILKRTECQFLYEVRGETYLKGRGNETTYWLTGMKDQKFNLPTPPTVENQQ
RLQAEFSDMIANSLQKRQAAGIRSQKPRRVASYKKGTLEYLQLNTTDKESTYF

[0760] SEQ ID NO: 1

[0761] 인간 GUCY2C를 코딩하는 전체 길이 유전자를 포유동물 세포 발현 벡터 pCDH에 클로닝하고, 세 가지 플라스미드 pVSV-G, pCMV-dR8.91 및 pCDH-인간 GUCY2C를 사용하여 HEK293T 세포(ATCC, CRL-11268)를 공동 형질감염시켜, 바이러스를 패키징하였다. 형질감염 48시간 후, 바이러스에 감염된 CHO-K1(ATCC, CCL-61) 또는 HCT116 세포(ATCC, CCL-247)를 수집하고, 2주 동안 가압 스크리닝한 후 세포를 서브클로닝하고, FACS 검출을 통해 GUCY2C를 고 발현하는 CHO-K1/hGUCY2C 및 HCT116/hGUCY2C 세포주를 얻었다.

[0762] **2.2 면역 또는 스크리닝에 사용되는 융합 단백질의 구축**

[0763] 인간 GUCY2C의 세포외 영역을 선택하고 His 또는 Fc 라벨을 C 단에 연결하여 면역 및 스크리닝 검출을 위해 융합 단백질을 구축하였다. 관련 단백질 서열은 다음과 같다:

[0764] hGUCY2C ECD-hFc:

[0765] SQVSQNCHNGSYEISVLMMGNSAFAEPLKNLEDAVNEGLEIVRGRLQNAGLNVTVNATFMYSDGLIHNSGDCRSSTCEGLDLLRKISNAQRMGCVLIGPSCT
YSTFQMYLDTELSYPMISAGSFGLSCDYKETLTRLMSPARKLMYFLVNFWKTNDLPFKTYSWSTSYVYKNGTETEDCFWYLNALEASVSYFSHELGFKVVLR

QDKEFQDILMDHNRKSNVIIMCGGPEFLYKLKGDRAVAEDIVIILVDLFNDQYFEDNVTAPDYMKNVLVLTLSPGNSLLNSSFSRNLSPTKRDFALAYLNGI
LLFGHMLKIFLENGENITTPKFAHAFRNLTFEGYDGPVTLDDWGDVDSTMVLLYTSVDTKKYKVLLTYDTHVNKTYPVDMSPTFTWKNSKLPNDITGRGPQE
PKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0766] SEQ ID NO: 2

[0767] hGUCY2C ECD-His:

[0768] SQVSQNCHNGSYEISVLMMGNSAFAEPLKNLEDAVNEGLEIVRGRLQNAGLNVTVNATFMYSDGLIHNSGDCRSSTCEGLDLLRKISNAQRMGCVLIGPSCT
YSTFQMYLDTELSYPMISAGSFGLSCDYKETLTRLMSPARKLMYFLVNFWKTNDLPFKTYSWSTSYVYKNGTETEDCFWYLNALEASVSYFSHELGFKVVLR
QDKEFQDILMDHNRKSNVIIMCGGPEFLYKLKGDRAVAEDIVIILVDLFNDQYFEDNVTAPDYMKNVLVLTLSPGNSLLNSSFSRNLSPTKRDFALAYLNGI
LLFGHMLKIFLENGENITTPKFAHAFRNLTFEGYDGPVTLDDWGDVDSTMVLLYTSVDTKKYKVLLTYDTHVNKTYPVDMSPTFTWKNSKLPNDITGRGPQH
HHHHH

[0769] SEQ ID NO: 3

[0770] **2.3 항-GUCY2C 마우스 유래 항체의 스크리닝 및 감정**

[0771] 본 개시는 하이브리도마 융합 또는 Single B 기술을 통해 인간 GUCY2C에 대한 단클론 항체를 제조하였으며, 얻어진 항체는 비교적 높은 친화력으로 인간 GUCY2C에 특이적으로 결합하며, 시노몰구스 GUCY2C와 교차 결합할 수 있고, 세포 표면의 인간 GUCY2C에 대해 결합 활성이 우수하다.

[0772] hGUCY2C ECD-hFc, hGUCY2C ECD-His, CHO-K1/hGUCY2C 세포 또는 HCT116/hGUCY2C 세포는 면역원으로 사용하였다. 단백질은 초회 면역은 50μg으로, 강화 면역은 매번 25μg으로, TiterMax® Gold Adjuvant(Sigma Cat No. T2684)와 Thermo Imject® Alum(Thermo Cat No. 77161)을 보조제로 교차 면역시켰다. 세포 면역은 매번 1*10^7/회/마리로 면역시켰다. 초회 면역과 4 내지 7회의 강화 면역 후, 혈청 내 항체 역가가 높은 마우스를 선택하여 비장 세포 융합 또는 single B 세포의 스크리닝을 수행하였다.

[0773] 융합 후, 하이브리도마 세포 성장 밀도에 따라, 하이브리도마 배양 상청액을 검출하였다. 세포 표면의 인간 GUCY2C 및 항원에 대해 결합 활성이 우수한 하이브리도마를 스크리닝하였다. 단클론 하이브리도마 세포를 수집하고, NucleoZol(MN)로 RNA를 추출하고(키트 설명서의 단계에 따라) 역전사를 수행하였다(PrimeScript™ Reverse Transcriptase, Takara, cat # 2680A). 역전사에 의해 얻은 cDNA를 mouse Ig-Primer Set(Novagen, TB326 Rev.B 0503)을 이용하여 PCR 증폭시킨 후 시퀀싱하여, 항체의 CDR 및 가변 영역의 아미노산 서열을 얻었다.

[0774] [표 14] 하이브리도마 융합 스크리닝하여 얻은 항-GUCY2C 항체의 CDR

항체	중쇄 CDR		경쇄 CDR	
M81	HCDR1	DHNMN (SEQ ID NO: 4)	LCDR1	SASSSVNYMY (SEQ ID NO: 7)
	HCDR2	VMNPKFGTINYNQKFKD(SEQ ID NO: 5)	LCDR2	RTSNLAS (SEQ ID NO: 8)
	HCDR3	DDYPNYFDY (SEQ ID NO: 6)	LCDR3	QQYHDYPPT (SEQ ID NO: 9)
M146	HCDR1	DYNMN (SEQ ID NO: 10)	LCDR1	SASSSLNYMY (SEQ ID NO: 13)
	HCDR2	LINPKYGTTNYNQKFKG(SEQ ID NO: 11)	LCDR2	RTSNLAS (SEQ ID NO: 8)
	HCDR3	DDYPAWFAY (SEQ ID NO: 12)	LCDR3	QQYHSYPPT (SEQ ID NO: 14)
M42	HCDR1	SYAVH	LCDR1	RASSFVGSGYLH
		(SEQ ID NO: 250)		(SEQ ID NO: 253)
	HCDR2	VIWTGGNTRSNAAFMS	LCDR2	STSKLAS
		(SEQ ID NO: 251)		(SEQ ID NO: 254)
	HCDR3	NSLLDYAMDY	LCDR3	QQSSGYPLT
		(SEQ ID NO: 252)		(SEQ ID NO: 255)
M61	HCDR1	DYYMS	LCDR1	SASSSISSNFLH
		(SEQ ID NO: 256)		(SEQ ID NO: 259)
	HCDR2	DINPNNGGTSDNQKFKG	LCDR2	RTSNLAS
		(SEQ ID NO: 257)		(SEQ ID NO: 8)
	HCDR3	GRGMVARYFDI	LCDR3	QQGSGLPLT
		(SEQ ID NO: 258)		(SEQ ID NO: 260)
M64	HCDR1	DYGMH	LCDR1	SASSSVSYMY
		(SEQ ID NO: 261)		(SEQ ID NO: 264)
	HCDR2	YISSGSSTIYYADTVKG	LCDR2	DTSKLAS
		(SEQ ID NO: 262)		(SEQ ID NO: 265)
	HCDR3	TRVYFYGSYWYFDV	LCDR3	QQWSSDPPYT
		(SEQ ID NO: 263)		(SEQ ID NO: 266)
M93	HCDR1	RYWMH	LCDR1	KASQDVSSAVA
		(SEQ ID NO: 267)		(SEQ ID NO: 270)
	HCDR2	MIDPSDSYTKYNQKFMG	LCDR2	SASYRST
		(SEQ ID NO: 268)		(SEQ ID NO: 271)
	HCDR3	SIKVAGWYFDV	LCDR3	QQHFSTTLT
		(SEQ ID NO: 269)		(SEQ ID NO: 272)

[0775]

[0776] >M81 VH:

[0777] EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDHNMNWVKQSNGKSLEWIGVMNPKFGTINYNQKFKDKATLTVDQSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCVRDDYPNYFDYWGQGTTLTVSS

[0778] SEQ ID NO: 15

[0779] >M81 VL:

[0780] QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISCSASSSVNYMYWYQQKPGSSPKSWIYRTSNLASGVSARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQYHDYPPTFGGGTKLEIK

[0781] SEQ ID NO: 16

[0782] >M146 VH:

[0783] EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDYNMNWVKQSNGKSLEWIGLINPKYGTTNYNQKFKGKATLTVDQSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCAIDDYPAWFAYWGQGTLVTVSA

[0784] SEQ ID NO: 17

[0785] >M146 VL:

[0786] QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISCSASSSLNYMYWYQQKPGSSPKSWIYRTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQYHSYPPTFGAGTK
LELK

[0787] SEQ ID NO: 18

[0788] >M42VH:

[0789] QIQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYAVHWVRQSPGKGLEWLGVIWTGGNTRSNAAFMSRLTITKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYFCAKNSLLD
YAMDYWGQGTSVTVSS

[0790] SEQ ID NO: 273

[0791] >M42VL:

[0792] ENVLTQSPVIMSASPGEKVTMTCRASSFVGSGYLHWYQQKSGASPKLWIYSTSKLASGVPARFSGSGSGTSFFLTISRVEIEDAAAYYCQQSSGYPLTFGGG
SKLEIK

[0793] SEQ ID NO: 274

[0794] >M61VH:

[0795] EVQLQQSGPELVRPGASVKISCTASGYTITDYYMSWVKQSHGKSPEWIGDINPNNGGTSDNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMEYRSLTSEDSAVYYCARGRGM
VARYFDIWGTGTTVTVSS

[0796] SEQ ID NO: 275

[0797] >M61VL:

[0798] EILLTQSPTTMAASPGEKITITCSASSSISSNFLHWYQEKPGFSPKLLIYRTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTIGSMEAEDVATYYCQQGSGLPLTFGAG
TKLELK

[0799] SEQ ID NO: 276

[0800] >M64VH:

[0801] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCARTRVY
FYGSYWYFDVWGTGTTVTVSS

[0802] SEQ ID NO: 277

[0803] >M64VL:

[0804] QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLEAEDAATYYCQQWSSDPPYTFGGGT
KLEIK

[0805] SEQ ID NO: 278

[0806] >M93VH:

[0807] QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTRYWMHGVKRRPGQGLEWIGMIDPSDSYTKYNQKFMGKAILTVDTSSSTAYMQFSSLTSEDSAVYYCARSIKV
AGWYFDVWGTGTTVTVSS

[0808] SEQ ID NO: 279

[0809] >M93VL:

[0810] DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASYRSTGVPDRFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAIYYCQQHFSTTLTFGAGT
KLELK

[0811] SEQ ID NO: 280

[0812] 비고: 단일 밑줄을 친 부분은 Kabat 규칙에 따른 CDR이고, 나머지 부분은 FR이다.

[0813] Single B 세포의 스크리닝은 주로 순방향 및 역방향 스크리닝, 10*genomic 및 생물정보학 기술을 통해 일련의 항체 가변 영역 서열을 얻었다. 얻어진 서열을 CDR 분류를 수행하고, 이의 마우스 유래 가변 영역 서열을 선택

하여 인간 항체 불변 영역 서열과 연결시켜 키메라 항체를 발현시키고, hGUCY2C ECD-His 및 cynoGUCY2C ECD-His(ACRO# GUC-C52H6) 단백질에 대한 결합, 표면 플라즈몬 공명 및 세포 결합 등의 방법을 통해 스크리닝하여, hGUCY2C ECD 및 cynoGUCY2C ECD에 특이적으로 결합하는 항체 서열을 선별하였다. 스크리닝하여 얻은 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 서열은 다음과 같다:

[0814] [표 15] Single B를 스크리닝하여 얻은 항-GUCY2C 항체의 CDR

항체	중쇄 CDR		경쇄 CDR	
P3-C7	HCDR1	DHYIH (SEQ ID NO: 19)	LCDR1	RSSQSLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO: 22)
	HCDR2	VINPYNDGATYNQKFKG (SEQ ID NO: 20)	LCDR2	KVSNRFS (SEQ ID NO: 23)
	HCDR3	PPRAYGNYAGY (SEQ ID NO: 21)	LCDR3	SQSTHVPYT (SEQ ID NO: 24)
P1-D2	HCDR1	DHNMN (SEQ ID NO: 281)	LCDR1	SANSSVNYIY (SEQ ID NO: 284)
	HCDR2	VINPKYGTISNNQKFKG (SEQ ID NO: 282)	LCDR2	RTSNLAS (SEQ ID NO: 8)
	HCDR3	DDYPNYFDY (SEQ ID NO: 283)	LCDR3	QQYHSFPPT (SEQ ID NO: 285)
P1-D3	HCDR1	TYGMS (SEQ ID NO: 286)	LCDR1	SASSSVNYMH (SEQ ID NO: 289)
	HCDR2	WINTYSGVPTYADDFKG (SEQ ID NO: 287)	LCDR2	DTSKLAS (SEQ ID NO: 265)
	HCDR3	RGYSNLYYYALDY (SEQ ID NO: 288)	LCDR3	QQWSSNPST (SEQ ID NO: 290)
P1-C6	HCDR1	SYGIT (SEQ ID NO: 291)	LCDR1	RASESVSLIGTNLIH (SEQ ID NO: 294)
	HCDR2	EIYPRSGNTYYNEKFKG (SEQ ID NO: 292)	LCDR2	HASNLEA (SEQ ID NO: 295)
	HCDR3	AITTVVGDWYFDV (SEQ ID NO: 293)	LCDR3	LQSRKIRT (SEQ ID NO: 296)
P1-D9	HCDR1	DYGMH (SEQ ID NO: 261)	LCDR1	SASSSVSYMY (SEQ ID NO: 264)
	HCDR2	HISSGSSTIYYADTVKG (SEQ ID NO: 297)	LCDR2	LTSNLAS (SEQ ID NO: 299)
	HCDR3	SRNYYGSRIFDY (SEQ ID NO: 298)	LCDR3	QQWSSNPPT (SEQ ID NO: 300)

[0815]

[0816]

P1-F10	HCDR1	DYGMH	LCDR1	SASSSVNYMY
		(SEQ ID NO: 261)		(SEQ ID NO: 303)
	HCDR2	HISSGSSTIYYADTVKG	LCDR2	LTSNLAS
		(SEQ ID NO: 301)		(SEQ ID NO: 299)
	HCDR3	SRNYYGSRVFDY	LCDR3	QQWNSNPPT
		(SEQ ID NO: 302)		(SEQ ID NO: 304)
P2-C8	HCDR1	DYYMH	LCDR1	RSSQSLVHSNGNTYLH
		(SEQ ID NO: 305)		(SEQ ID NO: 22)
	HCDR2	LINPYNGVTSYNQKFKG	LCDR2	KVSNRFS
		(SEQ ID NO: 306)		(SEQ ID NO: 23)
	HCDR3	PPRAYGNYAGY	LCDR3	SQSTHVPYT
		(SEQ ID NO: 21)		(SEQ ID NO: 24)
P2-B9	HCDR1	SYWMH	LCDR1	KASKKVTIFGSISALH
		(SEQ ID NO: 128)		(SEQ ID NO: 309)
	HCDR2	MIHPKSDSVNNNEKFKN	LCDR2	NGAKLES
		(SEQ ID NO: 307)		(SEQ ID NO: 310)
	HCDR3	GGDSGYSMDY	LCDR3	LQNKEVPYT
		(SEQ ID NO: 308)		(SEQ ID NO: 311)
P3-D2	HCDR1	DYFMH	LCDR1	RSSQSLVHSNGNTYLH
		(SEQ ID NO: 312)		(SEQ ID NO: 22)
	HCDR2	LINPYSGGTTYNQKFKG	LCDR2	KVSNRFS
		(SEQ ID NO: 313)		(SEQ ID NO: 23)
	HCDR3	PPRAYGDYAGY	LCDR3	SQSTHVPLT
		(SEQ ID NO: 314)		(SEQ ID NO: 315)
P3-B4	HCDR1	TYGMS	LCDR1	SASSSVSYML
		(SEQ ID NO: 286)		(SEQ ID NO: 317)
	HCDR2	WINTYSGVPTYADDFKG	LCDR2	DTSKLAS
		(SEQ ID NO: 287)		(SEQ ID NO: 265)
	HCDR3	RAGSSLYYYAMDY	LCDR3	QQWSSNPPT
		(SEQ ID NO: 316)		(SEQ ID NO: 300)

P3-E4	HCDR1	NYWMH	LCDR1	RASESVSIHGTHLMH
		(SEQ ID NO: 318)		(SEQ ID NO: 321)
	HCDR2	EIDPSDGYTDYNQKFKG	LCDR2	AASNLES
		(SEQ ID NO: 319)		(SEQ ID NO: 322)
	HCDR3	SLRGPITFGPFPY	LCDR3	QHSIEDPRT
		(SEQ ID NO: 320)		(SEQ ID NO: 323)
P3-F6	HCDR1	DYYMN	LCDR1	RSSQSLVHSNGNTYLH
		(SEQ ID NO: 324)		(SEQ ID NO: 22)
	HCDR2	DINPNNGGTSYNQKFKG	LCDR2	KVSNRFS
		(SEQ ID NO: 325)		(SEQ ID NO: 23)
	HCDR3	KTWLPYASVY	LCDR3	SQSTHVPPYT
		(SEQ ID NO: 326)		(SEQ ID NO: 327)
P3-D9	HCDR1	DYGMH	LCDR1	SASSSVSYMY
		(SEQ ID NO: 261)		(SEQ ID NO: 264)
	HCDR2	HISSGSSTIYYGDTVKG	LCDR2	LTSSLAS
		(SEQ ID NO: 328)		(SEQ ID NO: 329)
	HCDR3	SRNYYGSRVFDY	LCDR3	QQWSSNPPT
		(SEQ ID NO: 302)		(SEQ ID NO: 300)

[0817]

[0818] >P3-C7 VH:

[0819] EVQLQQSGPVLLKPGASVKMSCKASGYTFTDHYIHWVKLSHGKSLEWIGVINPYNDGATYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARPPRAYGNYAGYWGQGTTLTVSS

[0820] SEQ ID NO: 25

[0821] >P3-C7 VL:

[0822] DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFIGSGSRTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYTFGGGTRLEIK

[0823] SEQ ID NO: 26

[0824] >P1-D2 VH

[0825] EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDHNMNWVKQSNGKSLEWIGVINPKYGTISNNQKFKGKATLTVDQSSSTAYMQLNSLTAEDSAVYYCARDDYPNYFDYWGQGTTLTVSS

[0826] SEQ ID NO: 330

[0827] >P1-D2 VL

[0828] QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISCSANSSVNYIYWYQQKPGSSPKPWIYRTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQYHSFPPTFGGGTKLEIK

[0829] SEQ ID NO: 331

[0830] >P1-D3 VH

[0831] QIQLIQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTYGMSWVKQAPGKGLKWMGWINTYSGVPTYADDFKGRFAFSLETSANTAYLQINNLKNEDTATYFCARRGYSNLYYYALDYWGQGASVTVSS

[0832] SEQ ID NO: 332

[0833] >P1-D3 VL

[0834] QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVNYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPTRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYFCQQWSSNPSTFGGGTKLEIK

[0835] SEQ ID NO: 333

[0836] >P1-C6 VH

[0837] QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYGITWVKRRTGQGLGWIGEIYPRSGNTYYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCARAITT VVGDWYFDVWGTGTTVTVSS

[0838] SEQ ID NO: 334

[0839] >P1-C6 VL

[0840] DIVLTQSPASLAMSLGKRATISCRASESVSLIGTNLIHWYQQKPGQPPKLLIHHASNLEAGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAIYYCLQSRKIRTFG GGTKLEIK

[0841] SEQ ID NO: 335

[0842] >P1-D9 VH

[0843] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFSFSDYGMHWVRQAPEKGLEWIAHISSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCARSRNY YGSRIFDYWGQGTTLTVSS

[0844] SEQ ID NO: 336

[0845] >P1-D9 VL

[0846] QIVLTQSPARMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWYQQKPRSSPKPWIYLTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPPTFGSGTK LEIK

[0847] SEQ ID NO: 337

[0848] >P1-F10 VH

[0849] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFAFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAHISSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNVKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCARSRNY YGSRVFDYWGQGTPLTVSS

[0850] SEQ ID NO: 338

[0851] >P1-F10 VL

[0852] QIVLTQSPALMSVSPGEKVTMTCSASSSVNYMYWYQQKPRSSPKPWIYLTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWNSNPPTFGSGTK LEIK

[0853] SEQ ID NO: 339

[0854] >P2-C8 VH

[0855] EVQLQQSGPVLVKPGASVKMSCKVSGYTFTDYYMHWVKQSHGKSLEWIGLINPYNGVTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARPPRA YGNYAGYWGQGTTLTVSS

[0856] SEQ ID NO: 340

[0857] >P2-C8 VL

[0858] DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYT FGGGTKLEIK

[0859] SEQ ID NO: 341

[0860] >P2-B9 VH

[0861] QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFSSYWMHWVKQRPGQGLEWIGMIHPKSDSVNNNEKFKNKATLTVDKSSSTVYLQLSSLTSEDSAVYSCARGGDS GYSMDYWGQGTSVTVSS

[0862] SEQ ID NO: 342

[0863] >P2-B9 VL

[0864] DIVLTQSPASLAVSLGQKATISCKASKKVTIFGSISALHWYQQKPGQPPKLIYNGAKLESGVSARFSDSGSQNRSPFGNQLSFTLTIDPVEADDAATYYCLQNKEVPYTFGGGTKLEIK

[0865] SEQ ID NO: 343

[0866] >P3-D2 VH

[0867] EVQLQQSGPVLVKPGASVKMSCKASGYTFTDYFMHWVKQSHGKSLEWIGLINPYSGGTTYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARPPRAYGDYAGYWGQGTTLTVSS

[0868] SEQ ID NO: 344

[0869] >P3-D2 VL

[0870] DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPLTFGTGTKLEIK

[0871] SEQ ID NO: 345

[0872] >P3-B4 VH

[0873] QIQLVQSGPELKKPGEIVKISCKASGYTFTTYGMSWVKQAPGKGLKWMGWINTYSGVPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARRAGSSLYYYAMDYWGQGTSVTVSS

[0874] SEQ ID NO: 346

[0875] >P3-B4 VL

[0876] QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMLWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPPTFGGGTKLEIK

[0877] SEQ ID NO: 347

[0878] >P3-E4 VH

[0879] QVQLQQPGAELVMPGAAVKLSCKASGYTFINYWMHWLKQRPGQGLEWIGEIDPSDGYTDYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAISLRGPITFGPFPYWGQGTLVTVSS

[0880] SEQ ID NO: 348

[0881] >P3-E4 VL

[0882] DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVSIHGTHLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGVPARFSGSGSETDFTLNIHPVAEEDAATYFCQHSIEDPRTFGGGTKLEIK

[0883] SEQ ID NO: 349

[0884] >P3-F6 VH

[0885] EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNNGGTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARKTWLPYASVYWGQGTSVTVSS

[0886] SEQ ID NO: 350

[0887] >P3-F6 VL

[0888] DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPPYTFGGGTKLEIK

[0889] SEQ ID NO: 351

[0890] >P3-D9 VH

[0891] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFAFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAHISSGSSTIYYGDTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCTRSRNYYGSRVFDYWGQGTTLTVSS

[0892] SEQ ID NO: 352

[0893] >P3-D9 VL

[0894] QIVLTQSPALMSVSPGEKVTMTCSASSSVSYMYWYQQKPRSSPKPWIYLTSSLASGVPARFSGSGSGTSYSLTINNVEAEDAATYYCQQWSSNPPTFGSGTK VEIK

[0895] SEQ ID NO: 353

[0896] 비고: 단일 밑줄을 친 부분은 Kabat 규칙에 따른 CDR이고, 나머지 부분은 FR이다.

[0897] 마우스 유래 항-GUCY2C 항체의 가변 영역 서열을 SEQ ID NO: 58 및 SEQ ID NO: 59에 제시된 불변 영역과 조합하여 키메라 항체를 얻었다. 예시적으로, M81CHI 또는 P3-C7 CHI는 M81 또는 P3-C7 마우스 유래 중쇄 가변 영역, 경쇄 가변 영역 및 상기 불변 영역을 포함하는 키메라 항체를 나타내며, 구체적인 서열은 다음과 같다: 나머지 키메라 항체는 M146 CHI, M42 CHI, M61 CHI, M64 CHI, M93 CHI, P1-D2 CHI, P1-D3 CHI, P1-C6 CHI, P1-D9 CHI, P1-F10 CHI, P2-C8 CHI, P2-B9 CHI, P3-D2 CHI, P3-B4 CHI, P3-E4 CHI, P3-F6 CHI, P3-D9 CHI로 유추하며; 공간을 절약하기 위해, 이들의 전장 서열은 의심할 여지 없이 결정할 수 있으므로, 전부 나열하지 않았다.

[0898] 예시적으로, 항-GUCY2C 키메라 항체의 전장 서열은 다음과 같다:

[0899] M81CHI 중쇄:

[0900] EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDHNMNWVKQSNGKSLEWIGVMNPKFGTINYNQKFKDKATLTVDQSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCVRDDYP NYFDYWGQGTTLTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[0901] SEQ ID NO: 354

[0902] M81CHI 경쇄:

[0903] QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISCSASSSVNYMYWYQQKPGSSPKSWIYRTSNLASGVSARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQYHDYPPTFGGGTK LEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC*

[0904] SEQ ID NO: 355

[0905] P3-C7 CHI 중쇄:

[0906] EVQLQQSGPVLLKPGASVKMSCKASGYTFTDHYIHWVKLSHGKSLEWIGVINPYNDGATYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARPPRA YGNYAGYWGQGTTLTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[0907] SEQ ID NO: 356

[0908] P3-C7 CHI 경쇄:

[0909] DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFIGSGSRTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYT FGGGTRLEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC*

[0910] SEQ ID NO: 357

[0911] **실시예 3: 항-GUCY2C 단클론 항체의 인간화**

[0912] 마우스 유래 항체의 인간화는 당업계의 수많은 문헌에 개시된 방법에 따라 수행하였다. 간단히 말하면, 얻어진 마우스 유래 항체 VH/VL CDR의 전형적인 구조를 기반으로, 인간 생식 계열 데이터 베이스에서 경쇄 가변 영역(VL)과 중쇄 가변 영역(VH)의 상동 서열을 검색하여, FR 상동성이 높은 것부터 낮은 순으로 배열하고, FR 상동성이 가장 높은 생식 계열을 탬플릿으로 선택하고, 마우스 유래 항체의 CDR 영역을 인간 탬플릿에 이식하고, 가변 영역의 특정 아미노산을 돌연변이시키고, 마우스 유래 항체의 불변 영역을 인간 불변 영역으로 대체하여, 최

종적인 인간화 항체를 얻었다.

[0913] **3-1. M81 항체의 인간화**

[0914] M81 항체의 인간화 항체는 IGKV3-11*01, IGKV6-21*02 또는 IGKV1-9*01 및 IGKJ4*01을 경쇄 프레임워크 영역 템플릿으로 선택하고; IGHV1-3*01 및 IGHJ6*01을 중쇄 프레임워크 영역 템플릿으로 선택하였다. 마우스 유래 항체의 CDR 영역을 선택된 인간화 템플릿에 이식하고, 가변 영역의 특정 아미노산을 치환하여, 인간화 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 얻었고, 구체적인 프레임워크 대체 및 아미노산 치환은 다음과 같다:

[0915] [표 16] 인간화 항체 M81의 프레임 대체 및 아미노산 치환

VL		VH	
L1	Graft(IGKV3-11*01) + R45K, L46S, L47W, I58V, F71Y	H1	Graft(IGHV1-3*01) + Q1E,R38K,R66K,V67A + D96N
L2	Graft(IGKV6-21*02) + K16G, L46S, L47W, K49Y, N76S	H2	Graft(IGHV1-3*01) + Q1E,R38K,R66K,V67A
L3	Graft(IGKV1-9*01) + V15P, K42S, A43S, L46S, L47W, F71Y		
L4	Graft(IGKV1-9*01) + V15P, K42S, A43S, L46S, L47W, F71Y+L54D		
L5	Graft(IGKV1-9*01) + V15P, K42S, A43S, L46S, L47W, F71Y+ S56Q		
L6	Graft(IGKV1-9*01) + V15P, K42S, A43S, L46S, L47W, F71Y+S52Q		
FR4	IGKJ4*01	FR4	IGHJ6*01

[0916]

[0917] 비고: 아미노산 번호는 Kabat 넘버링 시스템을 따른다.

[0918] M81의 인간화 항체의 CDR은 다음과 같다:

[0919] [표 17] M81 인간화 항체의 CDR

가변 영역	CDR	서열	SEQ ID NO
h81 H1	HCDR3	D**N**YPNYFDY	27
h81 L4	LCDR2	RTSN**D**AS	28
h81 L5	LCDR2	RTSNLA**Q**	29
h81 L6	LCDR2	RT**Q**NLAS	30

[0920]

[0921] M81 인간화 항체의 가변 영역 서열은 다음과 같다:

[0922] > h81 L1:

[0923] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVNYMYWYQQKPGQAP**K**S**W**IYRTSNLASG**V**PARFSGSGSGTD**Y**TLTISSLEPEDFAVYYCQQYHDYPPTFGGGTK VEIK

[0924] SEQ ID NO: 31

[0925] > h81 L2:

[0926] EIVLTQSPDFQSVTP**G**EKVTITCSASSSVNYMYWYQQKPDQSPK**S**W**I**Y**Y**RTSNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI**S**SLEAEDAATYYCQQYHDYPPTFGGGTK VEIK

[0927] SEQ ID NO: 32

[0928] > h81 L3:

[0929] DIQLTQSPSFLSAS**P**GDRVTITCSASSSVNYMYWYQQKPG**S**S**P**K**S**W**I**YRTSNLASGVPSRFSGSGSGTE**Y**TLTISSLQPEDFATYYCQQYHDYPPTFGGGTK VEIK

[0930] SEQ ID NO: 33

[0931] > h81 L4:

[0932] DIQLTQSPSFLSASPGDRVTITCSASSSVNYMYWYQQKPGSSPKSWIYRTSNDASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQYHDYPPTFGGGTK VEIK

[0933] SEQ ID NO: 34

[0934] > h81 L5:

[0935] DIQLTQSPSFLSASPGDRVTITCSASSSVNYMYWYQQKPGSSPKSWIYRTSNLAQGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQYHDYPPTFGGGTK VEIK

[0936] SEQ ID NO: 35

[0937] > h81 L6:

[0938] DIQLTQSPSFLSASPGDRVTITCSASSSVNYMYWYQQKPGSSPKSWIYRTQNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQYHDYPPTFGGGTK VEIK

[0939] SEQ ID NO: 36

[0940] > h81 H1:

[0941] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHNMNWVKQAPGQRLEWMGVMNPKFGTINYNQKFKDKATITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDNYP NYFDYWGQGTTVTVSS

[0942] SEQ ID NO: 37

[0943] > h81 H2:

[0944] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHNMNWVKQAPGQRLEWMGVMNPKFGTINYNQKFKDKATITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDYP NYFDYWGQGTTVTVSS

[0945] SEQ ID NO: 38

[0946] 비고: 단일 밑줄을 친 부분은 CDR이고, 점선으로 밑줄을 친 굵은 부분은 아미노산 치환 부위이며, 나머지 부분은 FR이다.

[0947] **3-2. M146 항체의 인간화**

[0948] M146 항체의 인간화 항체는 IGKV3-11*01 및 IGKJ4*01을 경쇄 프레임워크 영역 탬플릿으로 선택하고; IGHV1-3*01 및 IGHJ6*01을 중쇄 프레임워크 영역 탬플릿으로 선택하였다. 마우스 유래 항체의 CDR 영역을 선택된 인간화 탬플릿에 이식하고, 가변 영역의 특정 아미노산을 치환하여, 인간화 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 얻었고, 구체적인 프레임워크 대체 및 아미노산 치환은 다음과 같다:

[0949] [표 18] 인간화 항체 M146의 프레임 대체 및 아미노산 치환

[0950]

VL		VH	
L1	Graft(IGKV3-11*01) + Q42S,A43S,L46P,L47W,I58V,F71Y+N53Q	H1	Graft(IGHV1-3*01) + Q1E,V2F,T28S,I69L,R71V,T73Q,A75S+D96N
FR4	IGKJ4*01	FR4	IGHJ6*01

[0951] 비고: 아미노산 번호는 Kabat 넘버링 시스템을 따른다.

[0952] M146의 인간화 항체의 CDR은 다음과 같다:

[0953] [표 19] M146 인간화 항체의 CDR

[0954]

가변 영역	CDR	서열	SEQ ID NO
h146 L1	LCDR2	RTSQLAS	39
h146 H1	HCDR3	DNYPAWFAY	40

[0955] 인간화 항체 M146의 가변 영역 서열은 다음과 같다:

[0956] >h146 L1:

[0957] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSLNYMYWYQQKPGSSPRPWIYRTSQLASGVPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQYHSYPPTFGGGTK VEIK

[0958] SEQ ID NO: 41

[0959] > h146 H1:

[0960] EFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYNMNWVRQAPGQRLEWMGLINPKYGTTNYNQKFKGRVTLTVDQSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDNYP AWFAYWGQGTTVTVSS

[0961] SEQ ID NO: 42

[0962] 비고: 단일 밑줄을 친 부분은 CDR이고, 점선으로 밑줄을 친 굵은 부분은 아미노산 치환 부위이며, 나머지 부분은 FR이다.

[0963] **3-3. P3-C7 항체의 인간화**

[0964] P3-C7 항체의 인간화 항체는 IGKV2-40*01 또는 IGKV1-39*01 및 IGKJ4*01을 경쇄 프레임워크 영역 탬플릿으로 선택하고; IGHV1-46*01 및 IGHJ6*01을 중쇄 프레임워크 영역 탬플릿으로 선택하였다. 마우스 유래 항체의 CDR 영역을 선택된 인간화 탬플릿에 이식하고, 가변 영역의 특정 아미노산을 치환하여, 인간화 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 얻었고, 구체적인 프레임워크 대체 및 아미노산 치환은 다음과 같다:

[0965] [표 20] 인간화 항체 P3-C7의 프레임 대체 및 아미노산 치환

[0966]

VL		VH	
L1	Graft(IGKV2-40*01)	H1	Graft(IGHV1-46*01) + Q1E, R71V, T73K
L2	Graft(IGKV2-40*01) + I2V, G68R	H2	Graft(IGHV1-46*01) + Q1E, Q39L, Q43K, M69L, R71V, T73K
L3	Graft(IGKV2-40*01) + I2V, G68R + N28Q		
L4	Graft(IGKV2-40*01) + I2V, G68R + N28S		
L5	Graft(IGKV2-40*01) + I2V, G68R + N28T		
L6	Graft(IGKV2-40*01) + I2V, G68R + G29V		
L7	Graft(IGKV2-40*01) + I2V, G68R + G29Q		
L8	Graft(IGKV1-39*01) + I2V, Q3V, G68R, T74K + G29Q		
FR4	IGKJ4*01	FR4	IGHJ6*01

[0967] 비고: 아미노산 번호는 Kabat 넘버링 시스템을 따른다.

[0968] P3-C7의 인간화 항체 CDR은 다음과 같다:

[0969] [표 21] P3-C7 인간화 항체의 CDR

[0970]

가변 영역	CDR	서열	SEQ ID NO
hP3-C7 L3	LCDR1	RSSQSLVHSQGNTYLH	43
hP3-C7 L4	LCDR1	RSSQSLVHSSGNTYLH	44
hP3-C7 L5	LCDR1	RSSQSLVHSTGNTYLH	45
hP3-C7 L6	LCDR1	RSSQSLVHSNVNTYLH	46
hP3-C7 L7/ hP3-C7 L8	LCDR1	RSSQSLVHSNQNTYLH	47

[0971] 인간화 항체 P3-C7의 가변 영역 서열은 다음과 같다:

[0972] > hP3-C7 L1:

[0973] DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYT
FGGGTKVEIK

[0974] SEQ ID NO: 48

[0975] > hP3-C7 L2:

[0976] D**V**VMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSG**R**TDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYT
FGGGTKVEIK

[0977] SEQ ID NO: 49

[0978] > hP3-C7 L3:

[0979] D**V**VMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHS**Q**GNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSG**R**TDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYT
FGGGTKVEIK

[0980] SEQ ID NO: 50

[0981] > hP3-C7 L4:

[0982] D**V**VMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHS**S**GNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSG**R**TDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYT
FGGGTKVEIK

[0983] SEQ ID NO: 51

[0984] > hP3-C7 L5:

[0985] D**V**VMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHS**T**GNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSG**R**TDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYT
FGGGTKVEIK

[0986] SEQ ID NO: 52

[0987] > hP3-C7 L6:

[0988] D**V**VMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSN**V**NTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSG**R**TDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYT
FGGGTKVEIK

[0989] SEQ ID NO: 53

[0990] > hP3-C7 L7:

[0991] D**V**VMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSN**Q**NTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSG**R**TDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYT
FGGGTKVEIK

[0992] SEQ ID NO: 54

[0993] > hP3-C7 L8:

[0994] D**V**VMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLVHSN**Q**NTYLHWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSG**R**TDFTL**K**ISSLQPEDFATYYCSQSTHVPYT
FGGGTKVEIK

[0995] SEQ ID NO: 55

[0996] > hP3-C7 H1:

[0997] **E**VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHYIHWVRQAPGQGLEWMGVINPYNDGATYNQKFKGRVTMT**V**D**K**STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARPPRA
YGNYAGYWGQGTTVTVSS

[0998] SEQ ID NO: 56

[0999] > hP3-C7 H2:

[1000] **E**VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHYIHWVR**L**APG**K**GLEWMGVINPYNDGATYNQKFKGRVT**L**T**V**D**K**STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARPPRA
YGNYAGYWGQGTTVTVSS

[1001] SEQ ID NO: 57

[1002] 비고: 밑줄을 친 부분은 CDR이고, 점선으로 밑줄을 친 부분은 아미노산 치환 부위이며, 나머지 부분은 FR이다.

[1003] 항-GUCY2C 인간화 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 각각 중쇄 불변 영역 hIgG1:CH1-Fc 및 경쇄 불변 영역 CL과 재조합하여, 전장의 인간화 항체를 얻었다.

[1004] > hIgG1: CH1-Fc:

[1005] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1006] SEQ ID NO: 58

[1007] > CL:

[1008] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC

[1009] SEQ ID NO: 59

[1010] 본 개시에서 얻어진 항-GUCY2C의 인간화 항체는 다음과 같다:

[1011] [표 22-1] 81 시리즈의 인간화 항체

[1012]

가변 영역	h81 L1	h81 L2	h81 L3	h81 L4	h81 L5	h81 L6
h81 H1	81 L1H1	81 L2H1	81 L3H1	81 L4H1	81 L5H1	81 L6H1
h81 H2	81 L1H2	81 L2H2	81 L3H2	81 L4H2	81 L5H2	81 L6H2

[1013] [표 22-2] 146 시리즈의 인간화 항체

[1014]

가변 영역	h146 L1
h146 H1	146 L1H1

[1015] [표 22-3] P3-C7 시리즈의 인간화 항체

[1016]

가변 영역	hP3-C7 L1	hP3-C7 L2	hP3-C7 L3	hP3-C7 L4	hP3-C7 L5	hP3-C7 L6	hP3-C7 L7	hP3-C7 L8
hP3-C7 H1	P3-C7 L1H1	P3-C7 L2H1	P3-C7 L3H1	P3-C7 L4H1	P3-C7 L5H1	P3-C7 L6H1	P3-C7 L7H1	P3-C7 L8H1
hP3-C7 H2	P3-C7 L1H2	P3-C7 L2H2	P3-C7 L3H2	P3-C7 L4H2	P3-C7 L5H2	P3-C7 L6H2	P3-C7 L7H2	P3-C7 L8H2

[1017] 예시적으로, 항-GUCY2C 인간화 항체의 전장 서열은 다음과 같다:

[1018] 81 L3H1 중쇄:

[1019] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHNMNWVKQAPGQRLEWMGVMNPKFGTINYNQKFKDKATITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDNYP
NYFDYWGQGTTVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[1020] SEQ ID NO: 60

[1021] 81 L3H1 경쇄:

[1022] DIQLTQSPSFLSASPGDRVTITCSASSSVNYMYWYQQKPGSSPKSWIYRTSNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQYHDYPPTFGGGTK
VEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNRGEC*

[1023] SEQ ID NO: 61

[1024] 146 L1H1 중쇄:

[1025] EFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYNMNWVRQAPGQRLEWMGLINPKYGTTNYNQKFKGRVTLTVDQSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDNYP AWFAYWGQGTTVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[1026] SEQ ID NO: 62

[1027] 146 L1H1 경쇄:

[1028] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSLNYMYWYQQKPGSSPRPWIYRTSQLASGVPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQYHSYPPTFGGGTK VEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC*

[1029] SEQ ID NO: 63

[1030] P3-C7 L7H1 중쇄:

[1031] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHYIHWVRQAPGQGLEWMGVINPYNDGATYNQKFKGRVTMTVDKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARPPRA YGNYAGYWGQGTTVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[1032] SEQ ID NO: 64

[1033] P3-C7 L7H1 경쇄:

[1034] DVVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNQNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSRTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYT FGGGTKVEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC*

[1035] SEQ ID NO: 65

[1036] P3-C7 L8H1 중쇄(P3-C7 L7H1 중쇄와 동일하며, SEQ ID NO: 64)

[1037] P3-C7 L8H1 경쇄:

[1038] DVVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLVHSNQNTYLHWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSRTDFTLKISSLQPEDFATYYCSQSTHVPYT FGGGTKVEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC*

[1039] SEQ ID NO: 66

[1040] 비고: 단일 밑줄을 친 부분은 CDR이고, 점선으로 밑줄을 친 굵은 부분은 아미노산 치환 부위이며, 기울임꼴 부분은 불변 영역이다.

[1041] 본 개시에 사용된 항-GUCY2C 항체의 대조 항체는 다음과 같다:

[1042] 1608(가변 영역 서열은 특허 WO2019224716A2의 GUCY2c-1608 이중특이성 항체의 GUCY2c 단을 참조하여 구축되었으며, 불변 영역 서열은 SEQ ID NO: 58 및 SEQ ID NO: 59에 제시된 바와 같음), 이의 전장 서열은 다음과 같다:

[1043] > 1608 중쇄:

[1044] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEIKPSNELTNVHEKFKDRFTISVDKAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRTITT TEGYWFFDVWGQGTLVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[1045] SEQ ID NO: 67

[1046] > 1608 경쇄:

[1047] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDYYGSSLLQWYQQKPGKAPKLLIYAASKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTRKAYTFG QGTKLEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC*

[1048] SEQ ID NO: 68

[1049] 항체 5F9(가변 영역 서열은 특허 WO2014134311A1을 참조하여 제조되었으며, 불변 영역 서열은 SEQ ID NO: 58 및 SEQ ID NO: 59에 제시된 바와 같음), 구체적인 서열은 다음과 같다:

[1050] >5F9 중쇄:

[1051] QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVFGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHRGNTNDNPSLKSRVTISVDTSKNQFALKLSSVTAADTAVYYCARERGYT YGNFDHWGQGTLVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[1052] SEQ ID NO: 69

[1053] >5F9 경쇄:

[1054] EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSRNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTIGSLQSEDFAVYYCQQYKTWPRTFGQGT NVEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC*

[1055] SEQ ID NO: 70

[1056] **실시예 4. 항-GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 제조**

[1057] 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 GUCY2C 암은 본 개시의 항-GUCY2C 항체이고, CD3 암은 임의의 적합한 항체로부터 유래될 수 있다. 구체적으로, 본 개시에서 사용된 CD3 암은 S107E 또는 N103QN106Q이다.

[1058] [표 23] S107E의 CDR

[1059]

항체	중쇄		경쇄	
S107E	HCDR1	KYAMN (SEQ ID NO: 71)	LCDR1	GSSTGAVTSGNYPN (SEQ ID NO: 74)
	HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 72)	LCDR2	GTKFLAP (SEQ ID NO: 75)
	HCDR3	HGNFGNEYISYWAY (SEQ ID NO: 73)	LCDR3	VLWYSNRWV (SEQ ID NO: 76)

[1060] S107E 가변 영역 서열은 다음과 같다:

[1061] > S107E-VH:

[1062] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSS

[1063] SEQ ID NO: 77

[1064] > S107E-VL:

[1065] QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL

[1066] SEQ ID NO: 78

[1067] [표 24] N103QN106Q의 CDR

항체	중쇄		경쇄	
N103Q N106Q	HCDR1	KYAMN (SEQ ID NO: 71)	LCDR1	GSSTGAVTSGNYPN (SEQ ID NO: 74)
	HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 72)	LCDR2	GTKFLAP (SEQ ID NO: 75)
	HCDR3	HGQFGQSYISYWAY (SEQ ID NO: 88)	LCDR3	VLWYSNRWV (SEQ ID NO: 76)

[1068]

[1069] N103QN106Q의 가변 영역 서열은 다음과 같다:

[1070] > N103QN106Q-VH:

[1071] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGQFGQSYISYWAYWGQGTLVTVSS

[1072] SEQ ID NO: 89

[1073] > N103QN106Q-VL(S107E-VL과 동일하며, SEQ ID NO: 78)

[1074] 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체는 아래 Format 1 내지 Format 5의 분자 구조를 갖는다:

[1075] Format 1은 비대칭 구조의 분자로, 온전한 분자는 총 두 개 사슬을 포함하고, 두 개의 사슬은 모두 상이하며, 구체적으로는 다음과 같다:

[1076] 사슬 1: [GUCY2C-VL]-[링커 1]-[CD3-VH]-[링커 2]-[IgG1Fc(Knob-DI)]

[1077] 사슬 2: [CD3-VL]-[링커 3]-[GUCY2C-VH]-[링커 2]-[IgG1Fc(Hole-DI)];

[1078] 이의 개략도는 도 1a에 도시된 바와 같다.

[1079] 관련 서열은 다음과 같다:

[1080] > IgG1Fc(Knob-DI, L234A/L235A/G237A/Y349C/T366W):

[1081] CPPCPAPE**AA**G**A**PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV**C**TLPPSREEMTKNQVSL**W**CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[1082] SEQ ID NO: 79

[1083] > IgG1Fc(Hole-DI, L234A/L235A/G237A/S354C/T366S/L368A/Y407V):

[1084] CPPCPAPE**AA**G**A**PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP**C**REEMTKNQVSL**S**C**A**VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL**V**SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[1085] SEQ ID NO: 80

[1086] > 링커 1:

[1087] GGGSGGGG

[1088] SEQ ID NO: 81

[1089] > 링커 2:

[1090] G

[1091] SEQ ID NO: 82

[1092] > 링커 3:

[1093] GGGGSGGGG

[1094] SEQ ID NO: 83

[1095] Format 2는 비대칭 구조의 분자로, 온전한 분자는 총 4개의 사슬로 이루어져 있으며, 4개의 사슬은 모두 상이하고, 구체적으로는 다음과 같다:

[1096] 사슬 1: [CD3-VH]-[IgG1(CH1)]-[IgG1Fc(Knob)];

[1097] 사슬 2: [CD3-VL]-[CL(Lambda)];

[1098] 사슬 3: [GUCY2C-VH]-[링커 4]-[Obscurin 사슬]-[IgG1Fc(Hole)];

[1099] 사슬 4: [GUCY2C-VL]-[링커 4]-[Titin 사슬];

[1100] 이의 개략도는 도 1b에 도시된 바와 같다(여기서: Ob는 Obscurin을 나타냄).

[1101] 관련 서열은 다음과 같다:

[1102] >IgG1(CH1):

[1103] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

[1104] SEQ ID NO: 84

[1105] > IgG1Fc(Knob, L234A/L235A/S354C/T366W):

[1106] DKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP**C**REEMTKNQVSL**W**CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1107] SEQ ID NO: 85

[1108] > IgG1Fc(Hole, L234A/L235A/Y349C/T366S/L368A/Y407V):

[1109] DKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV**C**TLPPSREEMTKNQVSL**S**C**A**VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL**V**SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1110] SEQ ID NO: 86

[1111] > CL(Lambda):

[1112] GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTEC

[1113] SEQ ID NO: 87

[1114] > Titin(T.16):

[1115] GIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDD**S**TTL**T**IKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI

[1116] SEQ ID NO: 198

[1117] > Obscurin(O.28):

[1118] SGAPRFLTRPKA**S**VVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNA**H**GEAFACLGLQVDAEA

[1119] SEQ ID NO: 236

[1120] > 링커 4:

[1121] GGGGS

[1122] SEQ ID NO: 90

[1123] Format 3은 비대칭 구조의 분자로, 온전한 분자는 총 4개의 사슬로 이루어져 있으며, 4개의 사슬은 모두 상이하며, 구체적으로는 다음과 같다:

[1124] 사슬 1: [GUCY2C-VH]-[링커 4]-[Obscurin 사슬]-[IgG1Fc(Knob)];

[1125] 사슬 2: [GUCY2C-VL]-[링커 4]-[Titin 사슬];

[1126] 사슬 3: [CD3-VH]-[IgG1(CH1)]-[IgG1Fc(Hole)];

[1127] 사슬 4: [CD3-VL]-[CL(Lambda)];

[1128] 이의 개략도는 도 1c에 도시된 바와 같다(여기서: Ob는 Obscurin을 나타냄).

[1129] 관련 서열은 다음과 같다:

[1130] > IgG1(CH1)(SEQ ID NO: 84)

[1131] > IgG1Fc(Knob)(SEQ ID NO: 85)

[1132] > IgG1Fc(Hole)(SEQ ID NO: 86)

[1133] > CL(Lambda)(SEQ ID NO: 87)

[1134] > Titin(T.16)(SEQ ID NO: 198)

[1135] > Obscurin(O.28)(SEQ ID NO: 236)

[1136] > 링커 4(SEQ ID NO: 90)

[1137] > 사슬 3(Format 3-3, CD3-VH-IgG1(CH1)-IgG1Fc(Hole)):

[1138] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG
NFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS
DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1139] SEQ ID NO: 93

[1140] > 사슬 4(Format 3-4, Format 2-2와 동일하며, SEQ ID NO: 92)

[1141] Format 4는 대칭 구조 분자로, 온전한 분자는 총 4개의 사슬로 이루어져 있으며, 4개의 사슬은 2개의 동일한 사슬 1과 2개의 동일한 사슬 2로 구성되고, 구체적으로는 다음과 같다:

[1142] 사슬 1: [GUCY2C-VH]-[IgG1(CH1)]-[CD3-VH]-[링커 5]-[CD3-VL]-[링커 6]-[IgG1Fc];

[1143] 사슬 2: [GUCY2C-VL]-[CL];

[1144] 이의 개략도는 도 1D에 도시된 바와 같다.

[1145] 관련 서열은 다음과 같다:

[1146] > IgG1(CH1)(SEQ ID NO: 84)

[1147] > CL(SEQ ID NO: 59)

[1148] > IgG1Fc (L234A/L235A):

[1149] DKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1150] SEQ ID NO: 94

[1151] > 링커 5:

[1152] GGGGSGGGGSGGGGS

[1153] SEQ ID NO: 95

[1154] > 링커 6

[1155] GGG

[1156] SEQ ID NO: 96

[1157] Format 5는 대칭 구조 분자로, 온전한 분자는 총 6개의 사슬로 이루어져 있으며, 6개의 사슬은 2개의 동일한 사슬 1, 2개의 동일한 사슬 2 및 2개의 동일한 사슬 3으로 구성되고, 구체적으로는 다음과 같다:

[1158] 사슬 1: [GUCY2C-VH]-[IgG1(CH1)]-[링커 7]-[CD3-VH]-[링커 4]-[Obscurin 사슬]-[IgG1Fc];

[1159] 사슬 2: [GUCY2C-VL]-[CL];

[1160] 사슬 3: [CD3-VL]-[링커 4]-[Titin 사슬];

[1161] 이의 개략도는 도 1E에 도시된 바와 같다(여기서: Ob는 Obscurin을 나타냄).

[1162] 관련 서열은 다음과 같다:

[1163] > IgG1(CH1)(SEQ ID NO: 84)

[1164] > IgG1Fc(SEQ ID NO: 86)

[1165] > CL(SEQ ID NO: 59)

[1166] > Titin(T.16)(SEQ ID NO: 198)

[1167] > Obscurin(O.28)(SEQ ID NO: 236)

[1168] >링커 4(SEQ ID NO: 90)

[1169] > 링커 7:

[1170] GGGGSGGGGS

[1171] SEQ ID NO: 97

[1172] > 사슬 3(Format 5-3, CD3-VL-링커 4-Titin)

[1173] QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG
GTKLTVLGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSAT
VNIHIRSI

[1174] SEQ ID NO: 98

[1175] 표 25에 따라 항원 결합 분자를 구축하고, 모든 이중 항체 분자는 S107E 또는 N103QN106Q의 가변 영역을 CD3 암으로 사용하였다. 번호에서, 항-GUCY2C 항체 가변 영역은 항체 명칭을 참조하며, 뒤의 숫자 번호는 사용된 Format을 나타내고, Format 뒤의 표시(N103QN106Q)는 이의 이중 항체가 사용하는 CD3 암이 N103QN106Q임을 나타내며, Format 뒤에 표시가 없으면 이의 이중 항체가 사용하는 CD3 암이 S107E임을 나타낸다. 예를 들어, P3-C7 L7H1-1은 해당 분자가 항체 P3-C7 L7H1 항체의 가변 영역을 GUCY2C 결합 도메인으로 사용하였고, Format 1을 분자 구조로 사용하였으며, CD3 암은 S107E이었다. 나머지 것은 이와 같은 방식으로 유추된다.

[1176] [표 25] 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체

번호	사슬 1	사슬 2	사슬 3	사슬 4
P3-C7 L7H1-1	P3-C7 L7H1-1-1	P3-C7 L7H1-1-2		
P3-C7 L8H1-1	P3-C7 L8H1-1-1	P3-C7 L8H1-1-2		
P3-C7 L7H1-2	Format 2-1	Format 2-2	P3-C7 L7H1-2-3	P3-C7 L7H1-2-4
P3-C7 L7H1-3	P3-C7 L7H1-3-1	P3-C7 L7H1-3-2	Format 3-3	Format 3-4
P3-C7 L7H1-4	P3-C7 L7H1-4-1	P3-C7 L7H1-4-2		
P3-C7 L8H1-4	P3-C7 L8H1-4-1	P3-C7 L8H1-4-2		
P3-C7 L7H1-5	P3-C7 L7H1-5-1	P3-C7 L7H1-5-2	P3-C7 L7H1-5-3	
P3-C7 L8H1-5	P3-C7 L8H1-5-1	P3-C7 L8H1-5-2	P3-C7 L8H1-5-3	
M81-1	M81-1-1	M81-1-2		
M81-2	Format 2-1	Format 2-2	M81-2-3	M81-2-4
81 L1H1-2	Format 2-1	Format 2-2	81 L1H1-2-3	81 L1H1-2-4
81 L2H1-2	Format 2-1	Format 2-2	81 L2H1-2-3	81 L2H1-2-4
81 L3H1-2	Format 2-1	Format 2-2	81 L3H1-2-3	81 L3H1-2-4
81 L3H1-2 (N103QN106Q)	Format 2-1 (N103QN106Q)	Format 2-2	81 L3H1-2-3	81 L3H1-2-4
81 L4H1-2	Format 2-1	Format 2-2	81 L4H1-2-3	81 L4H1-2-4
81 L5H1-2	Format 2-1	Format 2-2	81 L5H1-2-3	81 L5H1-2-4
81 L6H1-2	Format 2-1	Format 2-2	81 L6H1-2-3	81 L6H1-2-4
81 L1H1-3	81 L1H1-3-1	81 L1H1-3-2	Format 3-3	Format 3-4
81 L2H1-3	81 L2H1-3-1	81 L2H1-3-2	Format 3-3	Format 3-4
81 L3H1-3	81 L3H1-3-1	81 L3H1-3-2	Format 3-3	Format 3-4
81 L4H1-3	81 L4H1-3-1	81 L4H1-3-2	Format 3-3	Format 3-4
81 L5H1-3	81 L5H1-3-1	81 L5H1-3-2	Format 3-3	Format 3-4
81 L6H1-3	81 L6H1-3-1	81 L6H1-3-2	Format 3-3	Format 3-4
M146-1	M146-1-1	M146-1-2		
M146-2	Format 2-1	Format 2-2	M146-2-3	M146-2-4
146 L1H1-2	Format 2-1	Format 2-2	146 L1H1-2-3	146 L1H1-2-4
146 L1H1-3	146 L1H1-3-1	146 L1H1-3-2	Format 3-3	Format 3-4

[1177]

[1178] 예시적으로, 본 개시에서 Format 1을 사용하여 구축된 이중특이성 항체의 구체적인 아미노산 서열은 다음과 같다:

[1179] **1. P3-C7 L7H1-1의 전장 서열**

[1180] > 사슬 1(P3-C7 L7H1-1-1):

[1181] DVVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNQNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSRTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYT
FGGGTKVEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ
MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSSGCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[1182] SEQ ID NO: 99

[1183] > 사슬 2(P3-C7 L7H1-1-2):

[1184] QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG
GTKLTVLGGGGSGGGGEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHYIHWVRQAPGQGLEWMGVINPYNDGATYNQKFKGRVTMTVDKSTSTVYMELSSL
RSEDTAVYYCARPPRAYGNYAGYWGQGTTVTVSSGCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT

PPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[1185] SEQ ID NO: 100

[1186] **2. P3-C7 L8H1-1의 전장 서열**

[1187] > 사슬 1(P3-C7 L8H1-1-1):

[1188] DVVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLVHSNQNTYLHWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSRTDFTLKISSLQPEDFATYYCSQSTHVPYT
FGGGTKVEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ
MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSSGCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[1189] SEQ ID NO: 101

[1190] > 사슬 2(P3-C7 L8H1-1-2, P3-C7 L7H1-1-2와 동일하며, SEQ ID NO: 100)

[1191] **3. M81-1의 전장 서열**

[1192] > 사슬 1(M81-1-1):

[1193] QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISCSASSSVNYMYWYQQKPGSSPKSWIYRTSNLASGVSARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQYHDYPPTFGGGTK
LEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKT
EDTAVYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSSGCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[1194] SEQ ID NO: 102

[1195] > 사슬 2(M81-1-2):

[1196] QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG
GTKLTVLGGGGSGGGGEFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDHNMNWVKQSNGKSLEWIGVMNPKFGTINYNQKFKDKATLTVDQSSSTAYMQLNSL
TSEDSAVYYCVRDDYPNYFDYWGQGTTLTVSSGCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[1197] SEQ ID NO: 103

[1198] **4. M146-1의 전장 서열**

[1199] > 사슬 1(M146-1-1):

[1200] QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISCSASSSLNYMYWYQQKPGSSPKSWIYRTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQYHSYPPTFGAGTK
LELKGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKT
EDTAVYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSSGCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[1201] SEQ ID NO: 104

[1202] > 사슬 2(M146-1-2):

[1203] QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG
GTKLTVLGGGGSGGGGEFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDYNMNWVKQSNGKSLEWIGLINPKYGTTNYNQKFKGKATLTVDQSSSTAYMQLNSL
TSEDSAVYYCAIDDYPAWFAYWGQGTLVTVSAGCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[1204] SEQ ID NO: 105

[1205] 예시적으로, 본 개시에서 Format 2를 사용하여 구축된 이중특이성 항체의 구체적인 아미노산 서열은 다음과 같

다:

[1206] **1. P3-C7 L7H1-2의 전장 서열**

[1207] > 사슬 1 (Format 2-1):

[1208] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG
NFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1209] SEQ ID NO: 91

[1210] > 사슬 2(Format 2-2):

[1211] QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG
GTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTEC

[1212] SEQ ID NO: 92

[1213] > 사슬 3(P3-C7 L7H1-2-3):

[1214] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHYIHWVRQAPGQGLEWMGVINPYNDGATYNQKFKGRVTMT**V**D**K**STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARPPRA
YGNYAGYWGQGTTVTVSSGGGGSSGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRAR
NAHGEAFACLGLQVDAEA*DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[1215] SEQ ID NO: 106

[1216] > 사슬 4(P3-C7 L7H1-2-4):

[1217] D**V**VMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSN**Q**NTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGS**R**TDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYT
FGGGTKVEIKGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSD
SATVNIHIRSI

[1218] SEQ ID NO: 107

[1219] **2. M81-2의 전장 서열**

[1220] > 사슬 1(Format 2-1, SEQ ID NO: 91)

[1221] > 사슬 2(Format 2-2, SEQ ID NO: 92)

[1222] > 사슬 3(M81-2-3):

[1223] EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDHNMNWVKQSNGKSLEWIGVMNPKFGTINYNQKFKDKATLTVDQSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCVRDDYP
NYFDYWGQGTTLTVSSGGGGSSGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNA
HGEAFACLGLQVDAEA*DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[1224] SEQ ID NO: 108

[1225] > 사슬 4(M81-2-4):

[1226] QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISCSASSSVNYMYWYQQKPGSSPKSWIYRTSNLASGVSARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQYHDYPPTFGGGTK
LEIKGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNI
HIRSI

[1227] SEQ ID NO: 109

[1228] **3. 81 L1H1-2의 전장 서열**

[1229] > 사슬 1(Format 2-1, SEQ ID NO: 91)

[1230] > 사슬 2(Format 2-2, SEQ ID NO: 92)

[1231] > 사슬 3(81 L1H1-2-3):

[1232] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHNMNWV**K**QAPGQRLEWMGVMNPKFGTINYNQKFKD**KA**TITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARD**N**YP
NYFDYWGQGTTVTVSSGGGGSSGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNA
HGEAFACLGLQVDAEA*DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[1233] SEQ ID NO: 110

[1234] > 사슬 4(81 L1H1-2-4):

[1235] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVNYMYWYQQKPGQAP**KSW**IYRTSNLASG**V**PARFSGSGSGTD**Y**TLTISSLEPEDFAVYYCQQYHDYPPTFGGGTK
VEIKGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNI
HIRSI

[1236] SEQ ID NO: 111

[1237] **4. 81 L2H1-2의 전장 서열**

[1238] > 사슬 1(Format 2-1, SEQ ID NO: 91)

[1239] > 사슬 2(Format 2-2, SEQ ID NO: 92)

[1240] > 사슬 3(81 L2H1-2-3, 81 L1H1-2-3과 동일하며, SEQ ID NO: 110)

[1241] > 사슬 4(81 L2H1-2-4):

[1242] EIVLTQSPDFQSVTP**G**EKVTITCSASSSVNYMYWYQQKPDQSPK**SW**IY**Y**RTSNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI**S**SLEAEDAATYYCQQYHDYPPTFGGGTK
VEIKGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNI
HIRSI

[1243] SEQ ID NO: 112

[1244] **5. 81 L3H1-2의 전장 서열**

[1245] > 사슬 1(Format 2-1, SEQ ID NO: 91)

[1246] > 사슬 2(Format 2-2, SEQ ID NO: 92)

[1247] > 사슬 3(81 L3H1-2-3, 81 L1H1-2-3과 동일하며, SEQ ID NO: 110)

[1248] > 사슬 4(81 L3H1-2-4):

[1249] DIQLTQSPSFLSAS**P**GDRVTITCSASSSVNYMYWYQQKPG**SS**PK**SW**IY**Y**RTSNLASGVPSRFSGSGSGTE**Y**TLTISSLQPEDFATYYCQQYHDYPPTFGGGTK
VEIKGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNI
HIRSI

[1250] SEQ ID NO: 113

[1251] **6. 81 L3H1-2(N103QN106Q)의 전장 서열**

[1252] > 사슬 1(Format 2-1(N103QN106Q))

[1253] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG
QFGQSYISYWAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1254] SEQ ID NO: 242

[1255] > 사슬 2(Format 2-2, SEQ ID NO: 92)

[1256] > 사슬 3(81 L3H1-2-3, 81 L1H1-2-3과 동일하며, SEQ ID NO: 110)

[1257] > 사슬 4(81 L3H1-2-4, SEQ ID NO: 113):

[1258] **6. 81 L4H1-2의 전장 서열**

[1259] > 사슬 1(Format 2-1, SEQ ID NO: 91)

[1260] > 사슬 2(Format 2-2, SEQ ID NO: 92)

[1261] > 사슬 3(81 L4H1-2-3, 81 L1H1-2-3과 동일하며, SEQ ID NO: 110)

[1262] > 사슬 4(81 L4H1-2-4):

[1263] DIQLTQSPSFLSAS**P**GDRVTITCSASSSVNYMYWYQQKPG**SS**PK**SW**IYRTSN**D**ASGVPSRFSGSGSGTE**Y**TLTISSLQPEDFATYYCQQYHDYPPTFGGGTK
VEIKGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNI
HIRSI

[1264] SEQ ID NO: 114

[1265] **7. 81 L5H1-2의 전장 서열**

[1266] > 사슬 1(Format 2-1, SEQ ID NO: 91)

[1267] > 사슬 2(Format 2-2, SEQ ID NO: 92)

[1268] > 사슬 3(81 L5H1-2-3, 81 L1H1-2-3과 동일하며, SEQ ID NO: 110)

[1269] > 사슬 4(81 L5H1-2-4):

[1270] DIQLTQSPSFLSAS**P**GDRVTITCSASSSVNYMYWYQQKPG**SS**PK**SW**IYRTSNLA**Q**GVPSRFSGSGSGTE**Y**TLTISSLQPEDFATYYCQQYHDYPPTFGGGTK
VEIKGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNI
HIRSI

[1271] SEQ ID NO: 115

[1272] **8. 81 L6H1-2의 전장 서열**

[1273] > 사슬 1(Format 2-1, SEQ ID NO: 91)

[1274] > 사슬 2(Format 2-2, SEQ ID NO: 92)

[1275] > 사슬 3(81 L6H1-2-3, 81 L1H1-2-3과 동일하며, SEQ ID NO: 110)

[1276] > 사슬 4(81 L6H1-2-4)

[1277] DIQLTQSPSFLSAS**P**GDRVTITCSASSSVNYMYWYQQKPG**SS**PK**SW**IYRT**Q**NLASGVPSRFSGSGSGTE**Y**TLTISSLQPEDFATYYCQQYHDYPPTFGGGTK
VEIKGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNI
HIRSI

[1278] SEQ ID NO: 116

[1279] **9. M146-2의 전장 서열**

[1280] > 사슬 1(Format 2-1, SEQ ID NO: 91)

[1281] > 사슬 2(Format 2-2, SEQ ID NO: 92)

[1282] > 사슬 3 (M146-2-3):

[1283] EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDYNMNWVKQSNGKSLEWIGLINPKYGTTNYNQKFKGKATLTVDQSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCAIDDYP
AWFAYWGQGTLVTVSAGGGGSSGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNA
HGEAFACLGLQVDAEA*DKTHTCPPCPAPE*AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL

TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1284] SEQ ID NO: 117

[1285] > 사슬 4(M146-2-4):

[1286] QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISCSASSSLNYMYWYQQKPGSSPKSWIYRTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQYHSYPPTFGAGTKLELKGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI

[1287] SEQ ID NO: 118

[1288] **10. 146 L1H1-2의 전장 서열**

[1289] > 사슬 1(Format 2-1, SEQ ID NO: 91)

[1290] > 사슬 2(Format 2-2, SEQ ID NO: 92)

[1291] > 사슬 3(146 L1H1-2-3):

[1292] E**F**QLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY**S**FTDYNMNWVRQAPGQRLEWMGLINPKYGTTNYNQKFKGRVT**L**T**V**D**Q**S**S**STAYMELSSLRSEDTAVYYCARD**N**YPAWFAYWGQGTTVTVSSGGGGSSGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEA*DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[1293] SEQ ID NO: 119

[1294] > 사슬 4(146 L1H1-2-4):

[1295] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSLNYMYWYQQKPG**SS**PR**PW**IYRTS**Q**LASG**V**PARFSGSGSGTD**Y**TLTISSLEPEDFAVYYCQQYHSYPPTFGGGTKVEIKGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI

[1296] SEQ ID NO: 120

[1297] 예시적으로, 본 개시에서 Format 3을 사용하여 구축된 이중특이성 항체의 구체적인 아미노산 서열은 다음과 같다:

[1298] **1. P3-C7 L7H1-3의 전장 서열**

[1299] > 사슬 1(P3-C7 L7H1-3-1):

[1300] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHYIHWVRQAPGQGLEWMGVINPYNDGATYNQKFKGRVTMTVDKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARPPRAYGNYAGYWGQGTTVTVSSGGGGSSGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEADKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1301] SEQ ID NO: 121

[1302] > 사슬 2(P3-C7 L7H1-3-2, P3-C7 L7H1-2-4와 동일하며, SEQ ID NO: 107)

[1303] > 사슬 3(Format 3-3, SEQ ID NO: 93)

[1304] > 사슬 4(Format 3-4, Format 2-2와 동일하며; SEQ ID NO: 92)

[1305] **2. 81 L1H1-3의 전장 서열**

[1306] > 사슬 1(81 L1H1-3-1):

[1307] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHNMNWV**K**QAPGQRLEWMGVMNPKFGTINYNQKFKD**KA**TITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARD**N**YPNYFDYWGQGTTVTVSSGGGGSSGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEADKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL

TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1308] SEQ ID NO: 122

[1309] > 사슬 2(81 L1H1-3-2, 81 L1H1-2-4와 동일하며, SEQ ID NO: 111)

[1310] > 사슬 3(Format 3-3, SEQ ID NO: 93)

[1311] > 사슬 4(Format 3-4, Format 2-2와 동일하며, SEQ ID NO: 92)

[1312] **3. 81 L2H1-3의 전장 서열**

[1313] > 사슬 1(81 L2H1-3-1, 81 L1H1-3-1과 동일하며, SEQ ID NO: 122)

[1314] > 사슬 2(81 L2H1-3-2, 81 L2H1-2-4와 동일하며, SEQ ID NO: 112)

[1315] > 사슬 3(Format 3-3, SEQ ID NO: 93)

[1316] > 사슬 4(Format 3-4, Format 2-2와 동일하며, SEQ ID NO: 92)

[1317] **4. 81 L3H1-3의 전장 서열**

[1318] > 사슬 1(81 L3H1-3-1, 81 L1H1-3-1과 동일하며, SEQ ID NO: 122)

[1319] > 사슬 2(81 L3H1-3-2, 81 L3H1-2-4와 동일하며, SEQ ID NO: 113)

[1320] > 사슬 3(Format 3-3, SEQ ID NO: 93)

[1321] > 사슬 4(Format 3-4, Format 2-2와 동일하며, SEQ ID NO: 92)

[1322] **5. 81 L4H1-3의 전장 서열**

[1323] > 사슬 1(81 L4H1-3-1, 81 L1H1-3-1과 동일하며, SEQ ID NO: 122)

[1324] > 사슬 2(81 L4H1-3-2, 81 L4H1-2-4와 동일하며, SEQ ID NO: 114)

[1325] > 사슬 3(Format 3-3, SEQ ID NO: 93)

[1326] > 사슬 4(Format 3-4, Format 2-2와 동일하며; SEQ ID NO: 92)

[1327] **6. 81 L5H1-3의 전장 서열**

[1328] > 사슬 1(81 L5H1-3-1, 81 L1H1-3-1과 동일하며, SEQ ID NO: 122)

[1329] > 사슬 2(81 L5H1-3-2, 81 L5H1-2-4와 동일하며, SEQ ID NO: 115)

[1330] > 사슬 3(Format 3-3, SEQ ID NO: 93)

[1331] > 사슬 4(Format 3-4, Format 2-2와 동일하며; SEQ ID NO: 92)

[1332] **7. 81 L6H1-3의 전장 서열**

[1333] > 사슬 1(81 L6H1-3-1, 81 L1H1-3-1과 동일하며, SEQ ID NO: 122)

[1334] > 사슬 2(81 L6H1-3-2, 81 L6H1-2-4와 동일하며, SEQ ID NO: 116)

[1335] > 사슬 3(Format 3-3, SEQ ID NO: 93)

[1336] > 사슬 4(Format 3-4, Format 2-2와 동일하며, SEQ ID NO: 92)

[1337] **8. 146 L1H1-3의 전장 서열**

[1338] > 사슬 1(146 L1H1-3-1):

[1339] E**F**QLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY**S**FTDYNMNWVRQAPGQRLEWMGLINPKYGTTNYNQKFKGRVT**L**T**V**D**Q**S**S**STAYMELSSLRSEDTAVYYCARD**N**YP
AWFAYWGQGTTVTVSSGGGGSSGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNA
HGEAFACLGLQVDAEADKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS

KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1340] SEQ ID NO: 123

[1341] > 사슬 2(146 L1H1-3-2, 146 L1H1-2-4와 동일하며, SEQ ID NO: 120)

[1342] > 사슬 3(Format 3-3, SEQ ID NO: 93)

[1343] > 사슬 4(Format 3-4, Format 2-2와 동일하며, SEQ ID NO: 92)

[1344] 예시적으로, 본 개시에서 Format 4를 사용하여 구축된 이중특이성 항체의 구체적인 아미노산 서열은 다음과 같다:

[1345] **1. P3-C7 L7H1-4의 전장 서열**

[1346] > 사슬 1(P3-C7 L7H1-4-1):

[1347] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHYIHWVRQAPGQGLEWMGVINPYNDGATYNQKFKGRVTMTVDKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARPPRAYGNYAGYWGQGTTVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGG*DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[1348] SEQ ID NO: 124

[1349] > 사슬 2(P3-C7 L7H1-4-2, P3-C7 L7H1 경쇄와 동일하며, SEQ ID NO: 65)

[1350] **2. P3-C7 L8H1-4의 전장 서열**

[1351] > 사슬 1(P3-C7 L8H1-4-1, P3-C7 L7H1-4-1과 동일하며, SEQ ID NO: 124)

[1352] > 사슬 2(P3-C7 L8H1-4-2, P3-C7 L8H1 경쇄와 동일하며, SEQ ID NO: 66)

[1353] 본 개시에서 Format 5를 사용하여 구축된 이중특이성 항체의 구체적인 아미노산 서열은 다음과 같다.

[1354] **1. P3-C7 L7H1-5의 전장 서열**

[1355] > 사슬 1(P3-C7 L7H1-5-1):

[1356] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHYIHWVRQAPGQGLEWMGVINPYNDGATYNQKFKGRVTMTVDKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARPPRAYGNYAGYWGQGTTVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC*GGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSSGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEA*DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[1357] SEQ ID NO: 125

[1358] > 사슬 2(P3-C7 L7H1-5-2, P3-C7 L7H1 경쇄와 동일하며, SEQ ID NO: 65)

[1359] > 사슬 3(Format 5-3, SEQ ID NO: 98)

[1360] **2. P3-C7 L8H1-5의 전장 서열**

[1361] > 사슬 1(P3-C7 L8H1-5-1, P3-C7 L7H1-5-1과 동일하며, SEQ ID NO: 125)

[1362] > 사슬 2(P3-C7 L8H1-5-2, P3-C7 L8H1 경쇄와 동일하며, SEQ ID NO: 66)

[1363] > 사슬 3(Format 5-3, SEQ ID NO: 98)

[1364] 또한, 본 개시는 또한 특허 WO2019224716A2를 참조하여 제조된 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체 GUCY2c-1608(본 개시에서1608-BsAb로 명명함)을 사용하였으며, 이는 DIABODY 구조를 가지며, 온전한 분자는 두 개의 사슬을 포함

하며, 구체적으로는 다음과 같다:

[1365] > 사슬 1(GUCY2c-1608-Knob 서열):

[1366] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDYYGSSLLQWYQQKPGKAPKLLIYAASKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTRKAYTFG QGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMTWVRQAPGKGLEWVAFIRNQARGYTSDHNPSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDRPSYYVLDYWGQGTTVTVSSG*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*

[1367] SEQ ID NO: 126

[1368] > 사슬 2(GUCY2c-1608-Hole 서열):

[1369] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCTSSQSLFNVRSQKNYLAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCKQSYDLFT FGGGTKVEIKGGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEIKPSNELTNVHEKFKDRFTISVDKAKNSAYLQM NSLRAEDTAVYYCTRTITTTEGYWFFDVWGQGTLVTVSSG*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*

[1370] SEQ ID NO: 127

[1371] [표 26] 1608-BsAb의 CDR 서열

GUCY2C	HCDR1	SYWMH (SEQ ID NO: 128)
	HCDR2	EIKPSNELTNVHEKFKD (SEQ ID NO: 129)
	HCDR3	TITTTEGYWFFDV (SEQ ID NO: 130)
	LCDR1	RASESVDYYGSSLLQ (SEQ ID NO: 131)
	LCDR2	AASKLAS (SEQ ID NO: 132)
	LCDR3	QQTRKAYT (SEQ ID NO: 133)
CD3	HCDR1	DYYMT (SEQ ID NO: 134)
	HCDR2	FIRNQARGYTSDHNPSVKG (SEQ ID NO: 135)
	HCDR3	DRPSYYVLDY (SEQ ID NO: 136)
	LCDR1	TSSQSLFNVRSQKNYLA (SEQ ID NO: 137)
	LCDR2	WASTRES (SEQ ID NO: 138)
	LCDR3	KQSYDLFT (SEQ ID NO: 139)

[1372]

[1373] 또한, 본 개시는 또한 특허 CN202210371538.8을 참조하여 제조된 EGFR-CD28 이중특이성 항체 97H2L3OT-ZAL을 사용하였으며, 이의 서열은 구체적으로 다음과 같다:

[1374] [표 27] EGFR-CD28 이중특이성 항체 97H2L3OT-ZAL의 CDR

	중쇄		경쇄	
EGFR	HCDR1	TYGMH(SEQ ID NO: 140)	LCDR1	RASQDISSALV(SEQ ID NO: 143)
	HCDR2	VIWDDGSYKYYGDSVKG(SEQ ID NO: 141)	LCDR2	DASSLES(SEQ ID NO: 144)
	HCDR3	DGITMVRGVMKDYFDY (SEQ ID NO: 142)	LCDR3	QQFNSYPLT(SEQ ID NO: 145)
CD28	HCDR1	SYWIT (SEQ ID NO: 146)	LCDR1	RASQDISNYLN(SEQ ID NO: 149)
	HCDR2	DIYPGSGRTNYNEMFKN(SEQ ID NO: 147)	LCDR2	YTSRLHS(SEQ ID NO: 150)
	HCDR3	RHYGTGYESFDV (SEQ ID NO: 148)	LCDR3	QQGNTLPWT(SEQ ID NO: 151)

[1375]

[1376] EGFR-VH:

[1377] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGIT MVRGVMKDYFDYWGQGTLVTVSS

[1378] SEQ ID NO: 152

[1379] EGFR-VL:

[1380] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSALVWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSESGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGT KVEIK

[1381] SEQ ID NO: 153

[1382] CD28-VH:

[1383] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTSYWITWVRQAPGQGLEWMGDIYPGSGRTNYNEMFKNRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHYG TGYESFDVWGQGTTVTVSS

[1384] SEQ ID NO: 154

[1385] CD28-VL:

[1386] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPDGTIKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGGGT KVEIK

[1387] SEQ ID NO: 155

[1388] EGFR-CD28 이중특이성 항체 97H2L30T-ZAL의 전장 서열:

[1389] >사슬 1:

[1390] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTSYWITWVRQAPGQGLEWMGDIYPGSGRTNYNEMFKNRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHYG TGYESFDVWGQGTTVTVSSGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTL TLRNEFGSDSATVNIHIRSIDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1391] SEQ ID NO: 156

[1392] >사슬 2:

[1393] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPDGTIKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGGGT KVEIKGGGGSSGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQ VDAEA

[1394] SEQ ID NO: 157

[1395] >사슬 3:

[1396] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGIT MVRGVMKDYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1397] SEQ ID NO: 158

[1398] >사슬 4:

[1399] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSALVWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSESGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

[1400] SEQ ID NO: 159

[1401] 또한, 본 개시는 또한 EGFR-CD28 이중특이성 항체 129H4L10T-ZAL 및 94H6L12-ZALOT를 사용하였으며, 모두 특허 CN202210371538.8을 참조하여 제조되었고, 그 서열은 구체적으로 다음 같다:

[1402] [표 28] EGFR-CD28 이중특이성 항체 129H4L1OT-ZAL의 CDR

	중쇄		경쇄	
EGFR	HCDR1	TYGMH(SEQ ID NO: 140)	LCDR1	RASQDISSALV(SEQ ID NO: 143)
	HCDR2	VIWDDGSYKYYGDSVKG(SEQ ID NO: 141)	LCDR2	DASSLES(SEQ ID NO: 144)
	HCDR3	DGITMVRGVMKDYFDY(SEQ ID NO: 142)	LCDR3	QQFNSYPLT(SEQ ID NO: 145)
CD28	HCDR1	SHWIQ(SEQ ID NO: 160)	LCDR1	RASQDISNYLN(SEQ ID NO: 149)
	HCDR2	EIFPGSGSTHYNEKFKG(SEQ ID NO: 161)	LCDR2	YTSRLHS(SEQ ID NO: 150)
	HCDR3	LHYGTSYDAMDY(SEQ ID NO: 162)	LCDR3	QQGYTLPRT(SEQ ID NO: 163)

[1403]

[1404] EGFR-VH(129H4L1OT-ZAL의 EGFR-VH와 동일하며, SEQ ID NO: 152)

[1405] EGFR-VL(129H4L1OT-ZAL의 EGFR-VL과 동일하며, SEQ ID NO: 153)

[1406] CD28-VH:

[1407] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAPGYTFTSHWIQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGSTHYNEKFKGRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLHYG TSYDAMDYWGQGTTVTVSS

[1408] SEQ ID NO: 164

[1409] CD28-VL:

[1410] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGYTLPRTFGGGT KVEIK

[1411] SEQ ID NO: 165

[1412] EGFR-CD28 이중특이성 항체 129H4L1OT-ZAL의 전장 서열:

[1413] >사슬 1(SEQ ID NO: 166):

[1414] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAPGYTFTSHWIQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGSTHYNEKFKGRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLHYG TSYDAMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTL TLRNEFGSDSATVNIHIRSIDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1415] >사슬 2(SEQ ID NO: 167):

[1416] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGYTLPRTFGGGT KVEIKGGGGSSGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQ VDAEA

[1417] >사슬 3(97H2L3OT-ZAL의 사슬 3과 동일하며, SEQ ID NO: 158)

[1418] >사슬 4(97H2L3OT-ZAL의 사슬 4와 동일하며, SEQ ID NO: 159)

[1419] [표 29] EGFR-CD28 이중특이성 항체 94H6L12-ZALOT의 CDR

	중쇄		경쇄	
EGFR	HCDR1	TYGMH(SEQ ID NO: 140)	LCDR1	RASQDISSALV(SEQ ID NO: 143)
	HCDR2	VIWDDGSYKYYGDSVKG(SEQ ID NO: 141)	LCDR2	DASSLES(SEQ ID NO: 144)
	HCDR3	DGITMVRGVMKDYFDY (SEQ ID NO: 142)	LCDR3	QQFNSYPLT(SEQ ID NO: 145)
CD28	HCDR1	GYYMN(SEQ ID NO: 168)	LCDR1	LASQTIGTWLA(SEQ ID NO: 171)
	HCDR2	EINPSTGDTTYNQKFKA (SEQ ID NO: 169)	LCDR2	AATTGAD(SEQ ID NO: 172)
	HCDR3	PYYDLTPFLY(SEQ ID NO: 170)	LCDR3	QQLYSTPYT(SEQ ID NO: 173)

[1420]

[1421] EGFR-VH(129H4L10T-ZAL의 EGFR-VH와 동일하며, SEQ ID NO: 152)

[1422] EGFR-VL(129H4L10T-ZAL의 EGFR-VL과 동일하며, SEQ ID NO: 153)

[1423] CD28-VH:

[1424] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMNWVRQAPGQRLEWMGEINPSTGDTTYNQKFKAKVTLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCASPYYDLTPFLYWGQGTLVTVSS

[1425] SEQ ID NO: 174

[1426] CD28-VL:

[1427] DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCLASQTIGTWLAWYQQKPGKSPKLLIYAATTGADGVPSRFSGSGSGTKFTLTISSLQPEDFATYYCQQLYSTPYTFGGGTKVEIK

[1428] SEQ ID NO: 175

[1429] EGFR-CD28 이중특이성 항체 94H6L12-ZALOT의 전장 서열:

[1430] >사슬 1:

[1431] EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMNWVRQAPGQRLEWMGEINPSTGDTTYNQKFKAKVTLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCASPYYDLTPFLYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1432] SEQ ID NO: 176

[1433] >사슬 2:

[1434] DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCLASQTIGTWLAWYQQKPGKSPKLLIYAATTGADGVPSRFSGSGSGTKFTLTISSLQPEDFATYYCQQLYSTPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[1435] SEQ ID NO: 177

[1436] >사슬 3:

[1437] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGITMVRGVMKDYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSSGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEADKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1438] SEQ ID NO: 178

[1439] >사슬 4:

[1440] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSALVWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSESGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKGGGGSGIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI

[1441] SEQ ID NO: 179

[1442] > IgG1Fc-Knob(L234A/L235A/S354C/T366W)

[1443] DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1444] SEQ ID NO: 248

[1445] > IgG1Fc-Hole(L234A/L235A/Y349C/T366S/L368A/Y407V)

[1446] DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1447] SEQ ID NO: 249

[1448] >링커 8(SEQ ID NO: 90)

[1449] **시험예**

[1450] **시험예 1. 항원에 대한 본 개시의 GUCY2C 단클론 항체의 친화력**

[1451] GUCY2C에 대한 본 개시의 GUCY2C 단클론 항체의 친화력을 시험하기 위해, 본 시험예에서는 기기 Biacore 8K 및 Biacore T200을 사용하여 항체와 hGUCY2C-ECD-His(SEQ ID NO: 3)의 결합 능력을 검출하였다. 구체적인 방법은 다음과 같다: 항인간 항체와 커플링된 Protein A 바이오센서 칩을 사용하여 항체를 친화성 포획한 후, GUCY2C 단백질이 포함된 용액을 칩 표면에 통과시키고 기기를 사용하여 반응 신호를 실시간으로 검출하여 결합 및 해리 곡선을 얻었다. 각 실험 주기에서 해리가 완료된 후, 바이오센서 칩을 10mM의 글라이신-염산(pH 1.5)으로 세척하여 재생시켰다. 데이터 피팅 모델은 1:1 모델을 사용하였다. 본 개시의 GUCY2C 단클론 항체가 상응하는 항원에 결합하는 친화력 데이터는 아래 표에 나타난 바와 같다.

[1452] [표 30-1] 단클론 항체와 인간 GUCY2C 항원의 결합 효과

[1453]

항체	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
81 L3H1	1.81E+05	5.19E-05	0.29
146 L1H1	1.27E+05	1.17E-04	0.92

[1454] [표 30-2] 단클론 항체와 인간 GUCY2C 항원의 결합 효과

[1455]

항체	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
81 L2H2	2.74E+05	1.27E-04	0.46
81 L3H2	2.51E+05	1.03E-04	0.41
81 L4H2	2.12E+05	2.07E-04	0.98
81 L6H2	2.41E+05	1.14E-04	0.47
M81 CHI	2.16E+05	5.90E-05	0.27
M146 CHI	2.03E+05	9.22E-05	0.46

[1456] [표 30-3] 단클론 항체와 인간 GUCY2C 항원의 결합 효과

항체	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
P3-C7 CHI	2.26E+04	1.49E-04	6.61
P3-C7 L1H1	2.37E+04	1.56E-04	6.55
P3-C7 L2H1	3.10E+04	1.66E-04	5.35
P3-C7 L3H1	2.84E+04	1.35E-03	47.50
P3-C7 L4H1	2.85E+04	2.09E-03	73.40
P3-C7 L5H1	2.69E+04	7.19E-04	26.70
P3-C7 L7H1	2.39E+04	1.86E-04	7.77

[1457]

[1458] [표 30-4] 단클론 항체와 인간 GUCY2C 항원의 결합 효과

항체	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
M42 CHI	3.73E+04	3.35E-04	8.99
M61 CHI	5.08E+04	2.28E-04	4.49
M64 CHI	1.71E+04	3.48E-04	20.40
M93 CHI	2.12E+04	3.60E-04	17.00

[1459]

[1460] [표 30-5] 단클론 항체와 인간 GUCY2C 항원의 결합 효과

항체	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
P1-D2 CHI	1.95E+05	1.80E-04	0.92
P1-D3 CHI	4.60E+04	2.33E-04	5.06
P1-C6 CHI	7.07E+04	1.81E-04	2.57
P1-D9 CHI	2.03E+04	3.99E-04	19.60
P1-F10 CHI	3.23E+04	2.79E-04	8.64
P2-C8 CHI	3.49E+04	1.78E-04	5.12
P2-B9 CHI	5.81E+04	1.75E-04	3.02
P3-D2 CHI	3.86E+04	1.73E-04	4.50
P3-B4 CHI	2.58E+04	2.14E-04	8.28
P3-E4 CHI	1.77E+04	2.28E-04	12.90
P3-F6 CHI	6.61E+03	2.45E-04	37.00
P3-D9 CHI	1.90E+04	5.04E-04	26.50

[1461]

[1462] 결과는, 본 개시의 GUCY2C 단클론 항체와 인간 GUCY2C는 모두 결합 친화력이 우수한 것으로 나타났다.

[1463] **시험예 2. 세포 표면 항원에 대한 항-GUCY2C 단클론 항체의 결합 활성**

[1464] 본 시험예에서는 인간 GUCY2C를 과발현하는 안정적으로 형질전환된 세포주 HCT116/hGUCY2C, 장암 세포 HT-55 및 T84 세포 표면에서 인간 GUCY2C에 대한 GUCY2C 단클론 항체의 결합 활성을 유세포 분석법을 사용하여 검출하였다. 구체적으로는 다음과 같다:

[1465] 1%의 BSA 재현탁된 1E5 세포를 반응 웰에 첨가하고, 원심분리한 후 상청액을 제거하였다. 희석된 해당 농도의 항체를 첨가하고 실온에서 30분 동안 인큐베이션한 후 1%의 BSA로 1회 세척하였다. 그 다음, F(ab')2-염소 항인간 IgG Fc 2차 항체, PE(Cat. # H10104, Invitrogen) 2차 항체를 첨가하고, 재현탁시킨 후 차광하면서 실온에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 1%의 BSA로 2회 세척한 후, 유세포 분석기를 사용하여 형광 신호값을 판독하였다. 예시적인 FACS 결과는 도 2a 내지 도 2E에 도시된 바와 같다.

[1466] 결과는 본 개시의 GUCY2C 단클론 항체는 세포 표면의 GUCY2C에 대한 특이적 결합이 우수하며, 결합 활성이 1608보다 우수한 것으로 나타났다.

[1467] **시험예 3. 본 개시의 GUCY2C 인간화 항체의 비특이적 결합 효과**

[1468] 본 시험예는 GUCY2C 인간화 항체가 비표적 세포(예를 들어, T세포)에 비특이적으로 결합하는 효과를 검출하였다. 구체적으로는 다음과 같다:

[1469] 실험 1: 유세포 분석법을 사용하여, 1%의 BSA 재현탁된 1E5 Jurkat 세포(ATCC#TIB-152)를 각 웰에 첨가하고 원심분리한 후 상청액을 제거하였다. 희석된 해당 농도의 항체를 첨가하고 실온에서 30분 동안 인큐베이션한 후

1%의 BSA로 1회 세척하였다. 그 다음, F(ab')$_2$-염소 항인간 IgG Fc 2차 항체, PE(Cat. # H10104, Invitrogen)를 첨가하고, 재현탁시킨 후 차광하면서 실온에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 1%의 BSA로 2회 세척한 후, 유세포 분석기를 사용하여 형광 신호값을 판독하였다. 항체가 결합된 평균 형광 강도에서 항체가 인큐베이션되지 않은 세포의 배경 형광 강도를 빼서 상대 평균 형광 강도 값을 얻었다. 결과는 아래 표 31에 나타난 바와 같다.

[1470] [표 31] GUCY2C 인간화 단클론 항체와 Jurkat의 결합 효과

[1471]

항체	상대 평균 형광 강도 값	
	100nM	25nM
P3-C7 L7H1	27	결합되지 않음
1608	1714	970
1608-BsAb	1352	613

[1472] 결과는 본 개시의 GUCY2C 인간화 단클론 항체가 GUCY2C 발현이 없는 Jurkat 세포에 비특이적으로 결합하지 않으며, 1608이 Jurkat 세포에 유의하게 결합하는 것으로 나타났다.

[1473] 실험 2: 유세포 분석법을 사용하여, 본 개시의 GUCY2C 인간화 단클론 항체가 인간 PBMC 및 PBMC의 CD3+ T 세포에 비특이적 결합하는지 여부를 검출하였다. 1%의 BSA 재현탁된 3E5의 인간 말초 혈액 세포를 각 웰에 첨가하고 원심분리한 후 상청액을 제거하였다. 희석된 해당 농도의 항체를 첨가하고 실온에서 30분 동안 인큐베이션한 후 1%의 BSA로 1회 세척하였다. 그 다음, PE-Cy7 항인간 CD3(BD#557851) 및 APC 항인간 IgG Fc(BioLegend#409306)의 2차 항체 작업 용액을 첨가하고, 재현탁시킨 후 차광하면서 실온에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 1%의 BSA로 2회 세척한 후, 유세포 분석기를 사용하여 형광 신호값을 판독하였다. 항체가 결합된 평균 형광 강도에서 항체가 인큐베이션되지 않은 세포의 배경 형광 강도를 빼서 상대 평균 형광 강도 값을 얻었다. 결과는 아래 표 32에 나타난 바와 같다.

[1474] [표 32] GUCY2C 인간화 단클론 항체와 인간 PBMC의 결합 효과

[1475]

항체	상대 평균 형광 강도 값			
	PBMC		$CD3^+$T 세포	
P3-C7 L7H1	1	결합되지 않음	3	결합되지 않음
1608	560	541	503	499

[1476] 결과는 본 개시의 GUCY2C 인간화 단클론 항체가 GUCY2C 발현이 없는 PBMC 및 T 세포에 비특이적으로 결합하지 않으며, 대조 항체 1608이 PBMC 및 T 세포에 유의하게 비특이적으로 결합하는 것으로 나타났다. 본 개시의 GUCY2C 인간화 단클론 항체의 표적 특이성은 1608보다 우수하다.

[1477] **시험예 4. 본 개시의GUCY2C 단클론 항체의 에피토프 분석**

[1478] 본 개시의 GUCY2C 단클론 항체가 항원에 결합하는 에피토프를 시험하기 위해, ELISA 방법을 이용하여 항원에 결합하는 항체의 에피토프 차이를 검출하였다. 구체적으로는 다음과 같다:

[1479] 시험 단클론 항체 100ng을 플레이트에 코팅하여 4℃에서 밤새 보관하고 플레이트를 세척한 후 1%의 BSA로 블로킹하였다. 그 다음, 50ng의 hGUCY2C ECD-His 항원을 첨가하고 37℃에서 1시간 동안 인튜베이션하고, 플레이트를 세척한 다음, 100ng의 비오티닐화 항체를 각각 첨가하고 37℃에서 1시간 동안 인튜베이션하고, 마지막으로 HRP-스트렙타비딘을 사용하여 신호를 검출하였다. 상대 경쟁 계수=(항체 자체 경쟁의 신호값/다른 항체 경쟁의 신호값)*100. 에피토프가 완전히 동일한 두 항체는 경쟁적 결합에서 경쟁 계수가 100이고, 에피토프 차이가 클수록 항체 사이의 그 경쟁 계수가 더 작다. 구체적으로는 아래 표 33에 나타난 바와 같다:

[1480] [표 33] 항원에 대한 GUCY2C 단클론 항체의 경쟁적 결합 효과

경쟁적 결합 / 코팅	1608-비오티닐화	P3-C7 L7H1-비오티닐화	81 L3H1-비오티닐화	146 L1H1-비오티닐화
	100ng	100ng	100ng	100ng
1608	100	3	6	12
P3-C7 L7H1	10	100	6	13
81 L3H1	11	3	100	81
146 L1H1	12	4	99	100

[1481]

[1482] 결과는 개시된 GUCY2C 단클론 항체가 결합된 항원 에피토프가 1608과 차이가 비교적 크며, 이와 경쟁적으로 GUCY2C 항원에 결합할 수 없는 것으로 나타났다.

[1483] **시험예 5. 항원에 대한 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 단백질 결합 활성**

[1484] 본 시험예에서는 ELISA 방법을 이용하여 인간 GUCY2C에 대한 GUCY2C-CD3 이중 항체의 결합 활성을 검출하였다. 구체적으로는 다음과 같다:

[1485] 100ng의 스트렙타비딘(ACRO#STN-N5116)을 반응 웰에 첨가하고 플레이트를 코팅하여 4℃에서 밤새 보관하였다. 1%의 BSA(PBS)로 블로킹한 후, 100ng의 hGUCY2C ECD-His를 첨가하고 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척한 후 희석된 구배 항체를 첨가하고 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 그 다음, Peroxidase AffiniPure 염소 항인간 IgG(H+L)(Cat. #109-035-003, Jackson ImmunoResearch)를 첨가하고 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척한 후 발색액을 첨가하고, 충분히 발색시킨 후 중지 용액을 첨가하여 반응을 종결시켰다. 마이크로플레이트 리더로 450nM에서 신호값을 판독하였다. 항체의 결합 활성은 아래 표에 34에 나타난 바와 같다.

[1486] [표 34] 인간 GUCY2C 단백질에 대한 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 결합 활성(흡광도 값)

항체	Top	EC_{50} (nM)
P3-C7 L7H1-1	2.402	0.37
81 L3H1-2	2.334	0.12
146 L1H1-2	2.353	0.06
1608-BsAb	2.153	1.23

[1487]

[1488] 결과는 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체가 인간 GUCY2C 단백질에 대한 결합 효과가 우수한 것으로 나타났다.

[1489] **시험예 6. 세포 표면 항원에 대한 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 결합 활성**

[1490] 이 시험예에서는 유세포 분석법을 사용하여 인간 GUCY2C를 과발현하는 안정적으로 형질전환된 세포주 HCT116/hGUCY2C 및 장암 세포 HT55(Nanjing Kebai #CBP60012) 및 CD3을 발현하는 Jurkat 세포(ATCC #TIB-152)에 대한 GUCY2C-CD3 이중 항체의 결합 활성을 검출하였다. HCT116/hGUCY2C 세포와 장암 세포 HT55에서 GUCY2C의 발현량은 각각 고 발현(++++)과 중간 정도 발현(++)이었다. 구체적으로는 다음과 같다:

[1491] 실험 1: 1%의 BSA에 재현탁된 1E5의 세포를 반응 웰에 첨가하고 원심분리하여 상청액을 제거하였다. 희석된 해당 농도의 항체를 첨가하고 실온에서 30분 동안 인큐베이션한 후 1%의 BSA로 2회 세척하였다. 그 다음, 1:400으로 희석된 염소 항인간 IgG(ɣ) R-PE conjugate F(ab') 2차 항체(life technology #H10104)를 첨가하고, 재현탁시킨 후 차광하면서 실온에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 1%의 BSA로 2회 세척한 후, 유세포 분석기를 사용하여 형광 신호값을 판독하였다. 예시적인 FACS 결과는 도 3a~ 도 3b에 도시된 바와 같다.

[1492] 결과는 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중 항체가 GUCY2C를 다양한 수준으로 발현하는 세포에 대해 모두 우수한 특이적 결합 활성을 가지며, 결합 활성이 1608-BsAb보다 우수한 것으로 나타났다.

[1493] 실험 2: 실험 1과 동일한 방법을 사용하였다. Jurkat 세포에 대한 항체의 결합 활성은 도 3c에 도시된 바와 같다.

[1494] 결과는 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중 항체가 CD3을 발현하는 Jurkat 세포에 대해 우수한 특이적 결합 활성을 가지며, 이의 결합 활성이 1608-BsAb보다 우수한 것으로 나타났다.

[1495] **시험예 7. T 세포에 대한 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 활성화**

[1496] 표적 세포 HCT116/GUCY2C 및 LS1034 세포의 공동 작용 하에서, 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체가 T 세포에 대한 활성화 상황을 시험하였다. 본 시험예에서는 세포 검출을 위해 Jurkat-Lucia™ NFAT(InvivoGen, jktl-nfat)를 사용하였다. 방법은 다음과 같다:

[1497] Jurkat Lucia™ NFAT 세포와 표적 세포를 각각 완전 배지 및 대응하는 배지에서 계대 배양하여, Jurkat-NFAT lum 세포 세트를 원심분리하여 수집하고, 1640+10% FBS의 배지를 사용하여 재현탁시켜 계수하여 세포 수를 1E6 세포/mL로 조정하였고; 표적 세포 HCT116/GUCY2C 및 LS1034 세포를 재현탁시키고 계수한 다음, 세포 수를 각각 2E5 세포/mL 및 4E5 세포/mL로 조정하였다. 상술한 Jurkat Lucia™ NFAT와 표적 세포를 동일한 부피로 혼합하고, 각 웰에 100μL 첨가하고, HCT116/GUCY2C와 LS1034 세포의 E:T 비율을 5:1과 2.5:1로 확보하였다. 항체를 1640+10% FBS 배지로 희석하고, 세포 웰에 20μL를 첨가한 후, 37℃에서 5시간 동안 방치하였고, 설명서의 요구 사항에 따라, 25mL의 ddH_2O를 사용하여 QUANTI-Luc™ Gold 시약을 용해시켰다. 50μL의 QUANTI-Luc™ Gold를 첨가하고, 실온에서 5분 동안 인큐베이션한 다음, Vendor를 사용하여 발광을 검출하고, 다양한 농도에서 Jurkat Lucia™ NFAT 세포에 대한 항체의 활성화 효과를 계산하였다. 항체가 작용한 후의 Lumin 값을 배경 Lumin 값으로 나눈 상대 배수를 사용하여 곡선 그래프를 작성하였다. 상대 배수 값과 EC_{50} 결과는 도 4a~도 4b를 참조한다.

[1498] 결과는 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중 항체가 표적 세포와 공동 작용하며, T 세포에 대한 활성화 효과가 우수하며, 이의 활성화 효과가 1608-BsAb보다 우수한 것으로 나타났다.

[1499] **시험예 8. 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 세포 독성 활성**

[1500] 본 시험예는 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체가 T 세포 어댑터 분자로서 종양 세포에 대한 사멸 활성을 연구하였다. 구체적으로는 다음과 같다:

[1501] GUCY2C를 발현하는 장암 세포주 LS1034, HT-55 및 LS174T(ATCC#CL-188)로 구축된 LucG 안정적으로 형질감염된 세포주를 각각 고 발현, 중간 정도로 발현 및 저 발현하는 표적 세포로 사용하여 본 개시의 이중특이성 항체의 표적 특이적 세포 독성 활성을 검출하였다. 냉동 보관된 PBMC(Milestone Biotechnologies로부터 구입함)를 부활시킨 후, 1640+10% FBS 완전 배지로 재현탁시키고, T75 배양 플라스크에 넣고 4시간 동안 배양하였다(밀도는 2E6세포/mL임). PBMC를 수집하고 원심분리한 다음, 1640+10% FBS로 재현탁시키고, 계수하여 세포 수를 1.5E6세포/mL로 조정하였다. 표적 세포를 수집하고 1000rpm에서 3분 동안 원심분리한 후, 재현탁시키고 계수하여, 세포 농도를 1.5E5세포/mL로 조정하였다. 상술한 PBMC 현탁액과 표적 세포 현탁액을 동일한 부피로 혼합하고, 각 웰에 100μL를 첨가하고 E:T 비율을 10:1로 확보하였다. 또한, PBMC ONLY 그룹을 설정하고, 상술한 PBMC 현탁액과 1640+10% FBS 완전 배지를 동일한 부피로 혼합하였다. 항체를 1640+10% FBS 배지로 희석하고, 시작 농도는 600nM(6×최종 농도)로, 5배 희석하며, 9개의 용량 지점으로, 각 웰에 20μL을 첨가하였다. 처리된 세포를 37℃, 5% CO_2의 인큐베이터에 놓고 48시간 동안 배양한 후 발광 검출을 수행하였다. Graphpad Prism8.0 소프트웨어를 사용하여 항체의 로그 농도와 신호값을 기반으로 용량-효과 곡선을 작성하고, 피팅하여 항체를 매개로 하는 사멸의 최대 억제율(Imax)과 IC_{50}을 얻었다. 항체가 없는 표적 세포와 PBMC만 있는 웰을 0% 억제로 설정하고 항체의 최대 억제율을 계산하였다. 결과는 하기 표 35-1, 35-2 및 35-3을 참조한다.

[1502] [표 35-1] 표적 세포에 대한 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 세포 독성 활성

항체	LS1034(+++)		HT-55(++)		LS174T(+)	
	Imax (%)	IC_{50} (nM)	Imax (%)	IC_{50} (nM)	Imax (%)	IC_{50} (nM)
P3-C7 L7H1-1	87	0.75	39	0.85	65	0.75
P3-C7 L8H1-1	86	0.17	41	0.60	62	0.33
81 L3H1-2	92	0.31	47	0.39	67	0.58
146 L1H1-2	87	0.17	46	0.56	69	0.49

[1503]

[1504] 비고: +는 GUCY2C의 발현량을 나타내며, 여기서, +가 높을수록 GUCY2C의 발현량이 높다는 것을 나타낸다.

[1505] [표 35-2] 표적 세포에 대한 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 세포 독성 활성

[1506]

항체	LS174T	
	Max (%)	IC50 (nM)
P3-C7 L7H1-3	92	0.49

[1507] [표 35-3] 표적 세포에 대한 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 세포 독성 활성

[1508]

항체	LS174T	
	Max (%)	IC_{50} (nM)
81 L3H1-2 (N103QN106Q)	82	0.16

[1509] 결과는 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체가 발현량이 다른 표적 세포에 대해 모두 우수한 세포 독성 활성이 있는 것으로 나타났다.

[1510] **시험예 9. 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체 사이토카인의 방출**

[1511] 본 시험예에서는 GUCY2C-CD3 이중 항체와 표적 세포(시험예 8의 LS1034 세포 및 LS174T 세포)의 공동 작용하에, PBMC에서 사이토카인 IFN-γ 및 IL-6의 분비 변화를 검출하였다.

[1512] 세포 사멸 실험(시험예 8)에서 수집한 -20℃에서 냉동 보관된 상청액을 상온에서 해동시킨 후, 진탕하여 고르게 혼합하고, 샘플을 1640+4% FBS 배지로 20배 희석하여 사용하기 위해 준비하였다. 무균수를 사용하여 IL-6 및 IFN-γ 표준 물질 분말을 용해시키고, 1640+4% FBS 배지를 사용하여 표준 물질을 필요한 농도로 희석하였다. 인간 IL6 ELISA 키트(NeoBioscience Technology Co., Ltd., EHC007.96) 및 인간 IFN-γ 키트(CISBIO, 62HIFNGPEG)를 포함하는 검출할 사이토카인의 키트를 꺼내어 상온으로 키트를 평형화하고 설명서에 따라 검출하였다. 결과는 도 5a~도 5c 및 도 6a~도 6c를 참조한다.

[1513] 결과는 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체가 세포 독성 활성과 관련된 IFN-γ의 방출을 효과적으로 유도할 수 있으며, 염증과 관련된 사이토카인 IL-6의 방출 수준이 상대적으로 낮은 것으로 나타났다.

[1514] **체내 활성 생물학적 평가**

[1515] **시험예 10. LS1034 피하 이식 종양 모델에서 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 약효**

[1516] 본 개시에서는 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 체내 약효를 평가하기 위해, 인간 결장암 세포 LS1034 마우스 피하 이식 종양 모델을 사용하였다.

[1517] 암컷 NOG 마우스는 Beijing Weitong Lihua Experimental Animal Technology Co., Ltd.(Shanghai Branch)로부터 구입하였다. 구입 시는 6~8주령이었다. 본 시험예에 사용된 인간 PBMC는 Milestone Biotechnologies로부터 상업적으로 구입한 것이다.

[1518] LS1034 세포를 1×10^6개 세포/마리/200μL(50% 마트리겔 함유)로 NOG 마우스의 오른쪽 옆구리에 피하 접종하고, 접종 후 다음 날에 부활시킨 후 상태가 양호한 인간 PBMC를 5×10^6개 세포/마리/100μL로 NOG 마우스의 복강에 주입하며, 종양 보유 마우스의 종양 부피가 약 150mm^3에 도달하면, 부피가 너무 크거나, 너무 작거나, 체중이 너무 작은 마우스를 제거하고 무작위로 각 그룹에 8마리씩으로 그룹화하였다. 그룹화 당일을 해당 실험의 0일째로 정의하고, 0일째부터 각 등몰량의 항체를 매주 2회씩 총 2~3주 동안 복강 내 주사로 투약하였다. 종양 부피 및 동물 체중을 매주 2회 측정하고 데이터를 기록하였다. 실험 동물의 종양 부피가 1000mm^3을 초과하거나 대부분의 종양이 파열되거나 체중이 20% 감소되면 종양 보유 동물을 실험 종점으로 안락사시켰다.

[1519] 종양 부피(V)의 계산 공식은 $V=1/2\times a\times b^2$이고, 여기서 a, b는 각각 길이, 너비를 나타낸다.

[1520] 상대 종양 증식률은 $T/C(\%)=(T-T_0)/(C-C_0)\times100(\%)$이고, 여기서, T, C는 실험 종료 시점의 치료 그룹과 대조 그룹의 종양 부피이며, T_0, C_0은 실험 시작 시점의 종양 부피이다.

[1521] 종양 억제율 TGI(%)=1-T/C(%).

[1522] [표 36-1] GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 항종양 활성

그룹별	0일째 평균값±SEM(mm^3)	21일째 평균값±SEM(mm^3)	TGI (%)
용매 대조	140.5±9.7	1327.6±103.5	-
P3-C7 L7H1-1(0.3 mpk)	140.5±11.8	123.2±15.7***	> 100%
P3-C7 L7H1-1(0.06 mpk)	138.3±10.8	363.5±52***	81.03%
P3-C7 L7H1-4(0.12 mpk)	138.4±11.7	160.1±25.5***	98.17%
P3-C7 L7H1-5(0.12 mpk)	139.1±9.8	321.6±157.3***	84.63%

[1523]

[1524] 비고: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 대 용매 대조, T 검정.

[1525] [표 36-2] GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 항종양 활성

그룹별	0일째 평균값±SEM(mm^3)	21일째 평균값±SEM(mm^3)	TGI (%)
용매 대조	159±15.3	921.7±80.4	-
P3-C7 L8H1-1(0.2 mpk)	158.7±15.9	77.4±15.9***	> 100%
P3-C7 L8H1-1(0.05 mpk)	158.4±15.0	422.4±96.3**	65.39%
81 L3H1-2(0.3 mpk)	158.4±13.7	94.5±8.26***	> 100%
81 L3H1-2(0.075 mpk)	160.8±15.2	135.2±10.4***	> 100%

[1526]

[1527] 비고: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 대 용매 대조, T 검정.

[1528] 결과는 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중 항체가 해당 모델에 대해 유의한 종양 억제 효과가 있는 것으로 나타났다.

[1529] **시험예 11. LS174T 피하 이식 종양 모델에서 본 개시의 이중특이성 항체의 약효**

[1530] 본 개시에서는 체내에서 GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 약효를 평가하기 위해, 인간 결장암 세포 LS174T 마우스 피하 이식 종양 모델을 사용하였다.

[1531] 암컷 NOG 마우스는 Beijing Weitong Lihua Experimental Animal Technology Co., Ltd.(Shanghai Branch)로부터 구입하였다. 구입 시는 6~8주령이었다. 본 시험예에 사용된 인간 PBMC는 Milestone Biotechnologies로부터 상업적으로 구입한 것이다.

[1532] 1×10^6개 세포/마리/100μL의 LS174T 세포와, 냉동 보관을 거쳐 부활시킨 후의 PBMC를 혼합한 후(E:T=1:1), NOG 마우스의 오른쪽 옆구리에 피하 접종하였다. 종양 보유 마우스의 종양 부피가 약 150mm^3에 도달하면, 종양 부피가 너무 크거나 너무 작고, 체중이 너무 작은 마우스를 제거하고, 무작위로 각 그룹에 8마리씩으로 그룹화하였다. 그룹화 당날을 해당 실험의 0일째로 정의하고, 각 항체를 0일째, 3일째, 7일째 및 10일째에 총 4회 복강내 주사로 투약하고, 종양의 부피, 동물 체중을 매주 2회 측정하고 데이터를 기록하였다. 실험 동물의 종양 부피가 1000mm^3을 초과하거나 대부분의 종양이 파열되거나 체중이 20% 감소되면 종양 보유 동물을 실험 종점으로 안락사시켰다.

[1533] [표 37-1] GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 항종양 활성

그룹별	0일째 평균값±SEM(mm^3)	14일째 평균값±SEM(mm^3)
용매 대조	193.4±21.9	-
P3-C7 L7H1-1(0.5 mpk)	193.7±20.9	481.5±76.5
1608-BsAb(0.5 mpk)	194.4±23.5	809.9±227

[1534]

[1535] 비고: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 대 용매 대조, T 검정.

[1536] [표 37-2] GUCY2C-CD3 이중특이성 항체의 항종양 활성

[1537]

그룹별	0일째 평균값±SEM(mm^3)	13일째 평균값±SEM(mm^3)
용매 대조	181.0±13.8	1506.3±237.3
81 L3H1-2(0.75 mpk)	180.2±15.7	377.2±70.5***
81 L3H1-2(0.375 mpk)	181.1±14.7	346.2±63.8***
81 L3H1-2(0.188 mpk)	181.1±14.9	415.1±92.5***

[1538] 비고: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 대 용매 대조, T 검정.

[1539] 결과는 본 개시의 GUCY2C-CD3 이중 항체가 해당 모델에 대해 유의한 종양 억제 효과가 있는 것으로 나타났다. 실험 기간에 종양의 중량 데이터는 기본적으로 종양의 부피 추세와 일치하다.

[1540] **시험예 12. GUCY2C-CD3 이중 항체와 EGFR-CD28 이중 항체를 병용한 항종양 활성**

[1541] 본 개시에서는 LS174T 피하 종양 모델을 사용하여 GUCY2C-CD3 이중 항체와 EGFR-CD28 이중 항체(97H2L3OT-ZAL, 특허 CN202210371538.8을 참조하여 제조함)를 병용한 항종양 활성 효과를 연구하였다.

[1542] 암컷 NOG 마우스는 Beijing Weitong Lihua Experimental Animal Technology Co., Ltd.(Shanghai Branch)로부터 구입하였다. 구입 시는 6~8주령이었다. 본 시험예에 사용된 인간 PBMC는 Milestone Biotechnologies로부터 상업적으로 구입한 것이다.

[1543] 1×10^6개 세포/마리/100μL의 LS174T 세포와, 냉동 보관을 거쳐 부활시킨 후의 PBMC를 혼합한 후(E:T=1:1), NOG 마우스의 오른쪽 옆구리에 피하 접종하였다. 종양 보유 마우스의 종양 부피가 약 150mm^3에 도달하면, 종양 부피가 너무 크거나 너무 작고, 체중이 너무 작은 마우스를 제거하고, 무작위로 각 그룹에 8마리씩으로 그룹화하였다. 그룹화 당날을 실험 0일째로 정의하고, 각 항체를 0일째, 3일째, 7일째 및 11일째에 총 4회 복강 주사로 투약하며, 여기서 병용 그룹의 약물은 별도로 제조한 후 동시에 투약하고, 종양 부피, 동물 체중을 매주 2회 측정하고 데이터를 기록하였다. 실험 동물의 종양 부피가 1000mm^3을 초과하거나 대부분의 종양이 파열되거나 체중이 20% 감소되면 종양 보유 동물을 실험 종점으로 안락사시켰다. 구체적인 결과는 하기 표 38에 나타난 바와 같다.

[1544] [표 38] EGFR-CD28 이중 항체와 GUCY2C-CD3 이중 항체를 병용한 항종양 활성

[1545]

그룹별	0일째 평균값±SEM(mm^3)	13일째 평균값±SEM(mm^3)	TGI (%)
용매 대조	181.0±13.8	1506.3±237.3	-
P3-C7 L7H1-1(0.25 mpk)	181.4±15.7	520.5±91.3**	74.41%
81 L3H1-2(0.188 mpk)	181.1±14.9	415.1±92.5***	82.34%
97H2L3OT-ZAL(2.5 mpk)	180.8±13.7	742.3±104.9*	57.63%
P3-C7 L7H1-1(0.25 mpk) + 97H2L3OT-ZAL(2.5 mpk)	180.5±12.3	241.3±95.2***	95.41%
81 L3H1-2(0.188 mpk) + 97H2L3OT-ZAL(2.5 mpk)	181.0±12.2	195.5±34.4***	98.91%

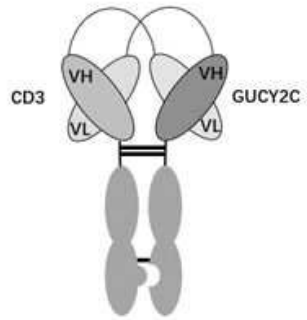
[1546] 비고: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 대 용매 대조, T 검정.

[1547] 결과는 본 개시의 EGFR-CD28 이중 항체와 GUCY2C-CD3 이중 항체의 병용은 각 단일 약물의 약효를 효과적으로 향상시킬 수 있는 것으로 나타났다.

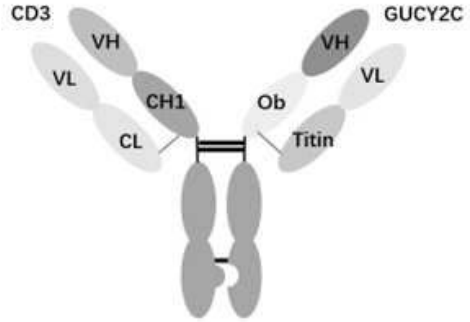
[1548] 명확한 이해를 돕기 위해, 이미 첨부된 도면과 예시에 의해 상술한 발명을 상세히 설명하였지만, 이러한 설명과 예시는 본 개시의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본원에 인용된 모든 특허와 과학 문헌의 개시 내용은 인용을 통해 완전하고 명확하게 통합되어 있다.

도면

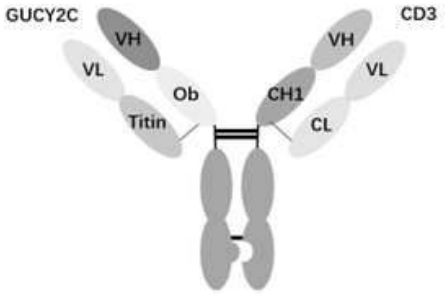
도면1a



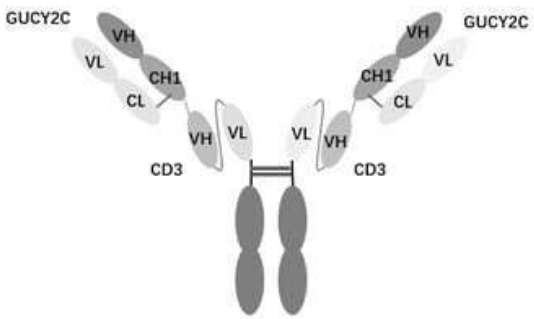
도면1b



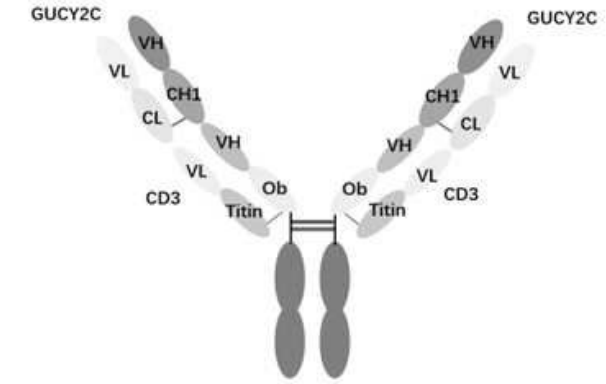
도면1c



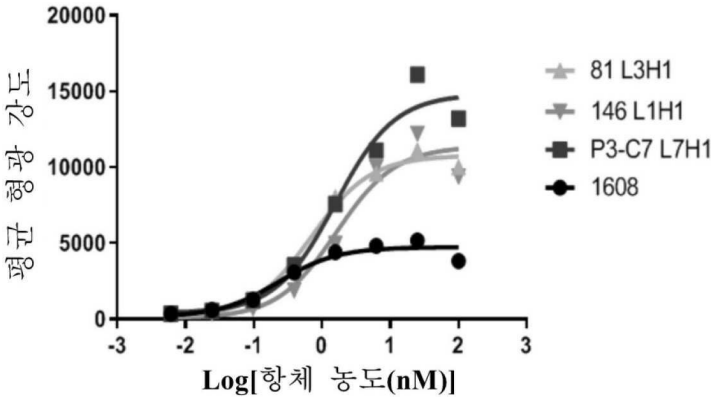
도면1d



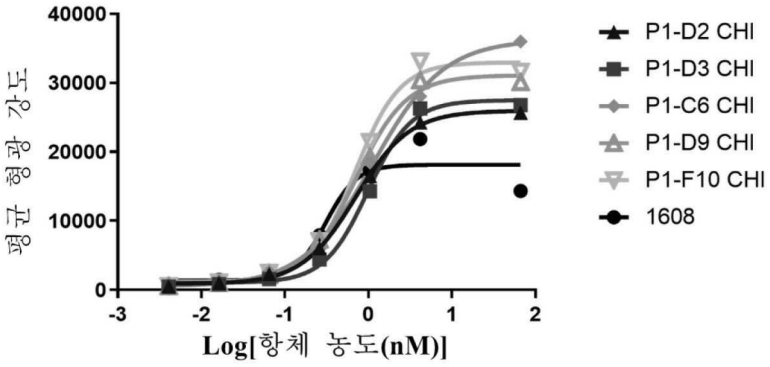
도면1e



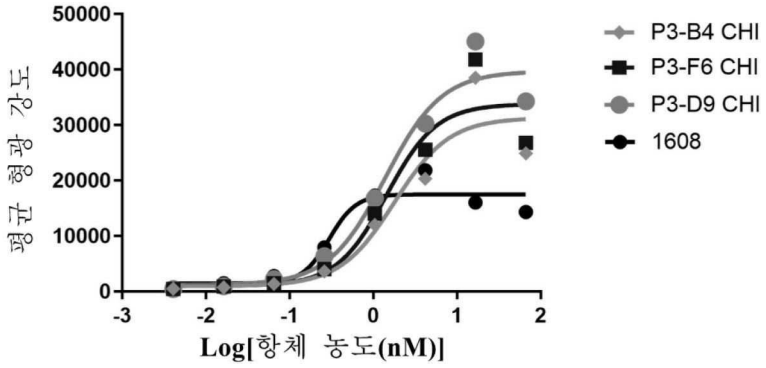
도면2a



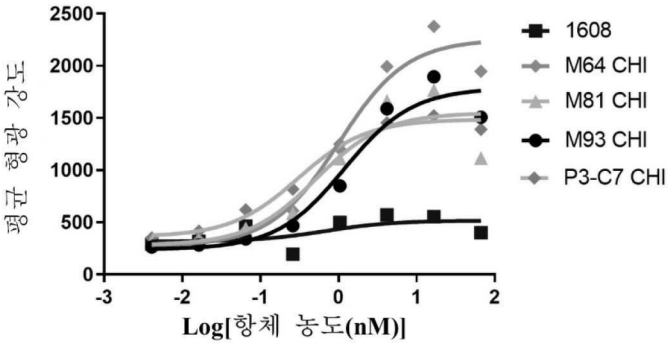
도면2b



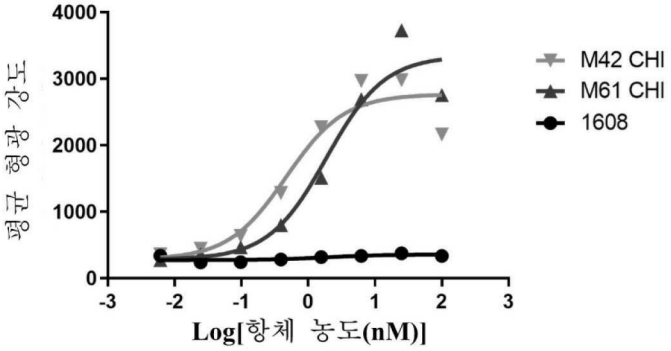
도면2c



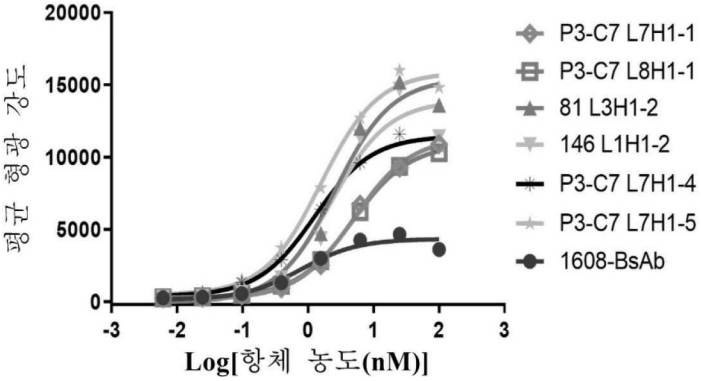
도면2d



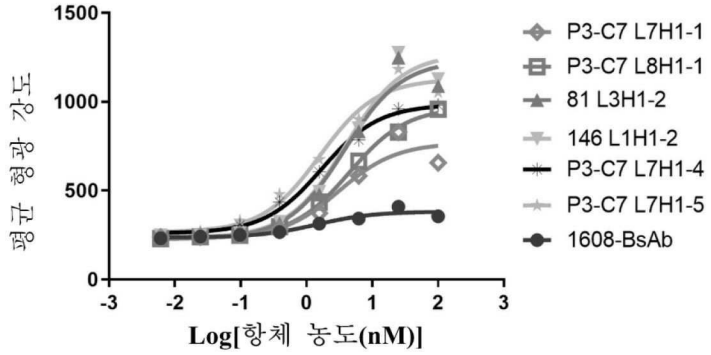
도면2e



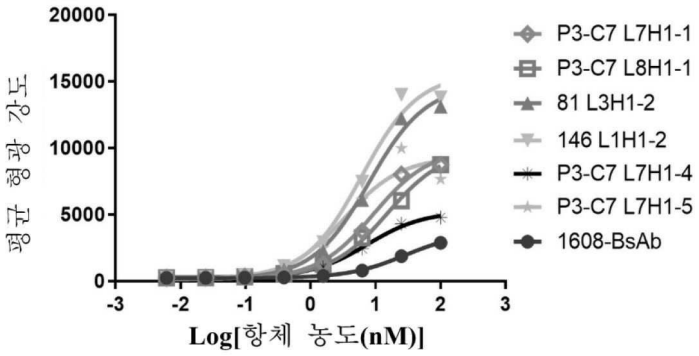
도면3a



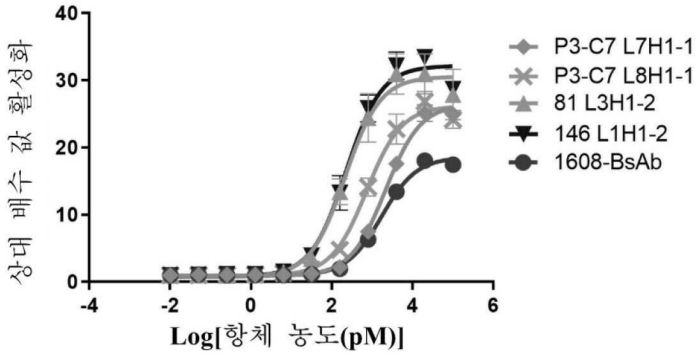
도면3b



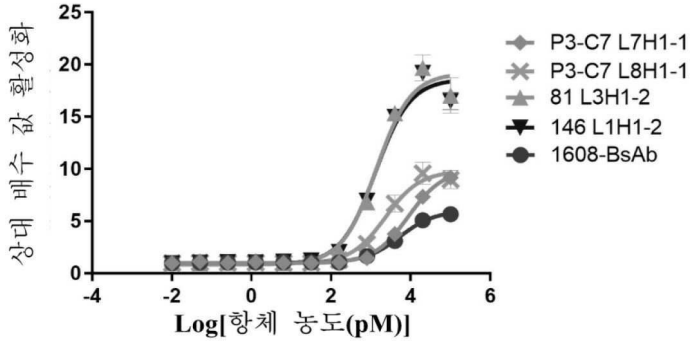
도면3c



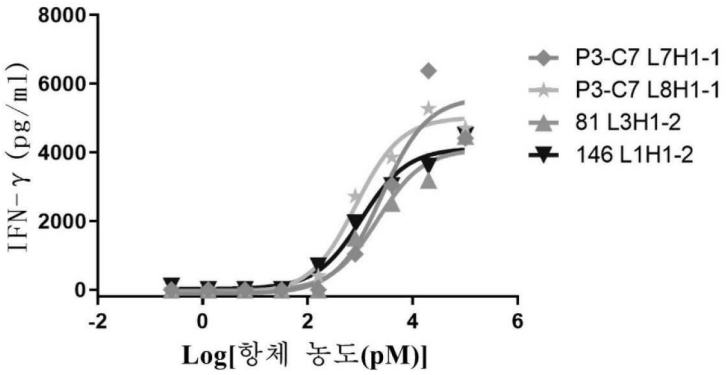
도면4a



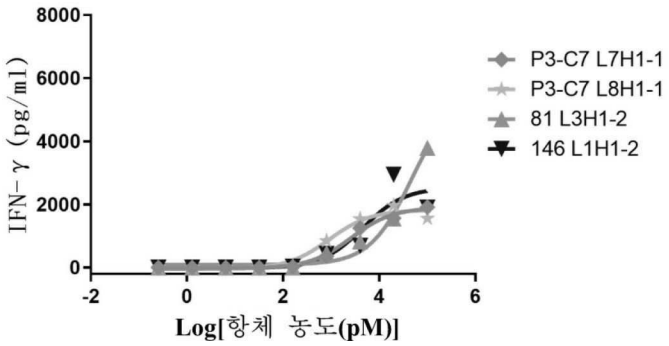
도면4b



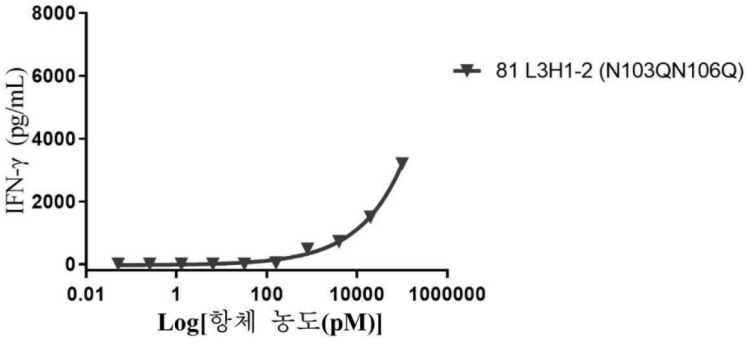
도면5a



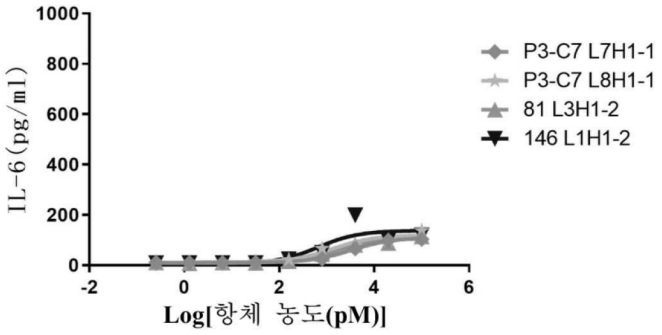
도면5b



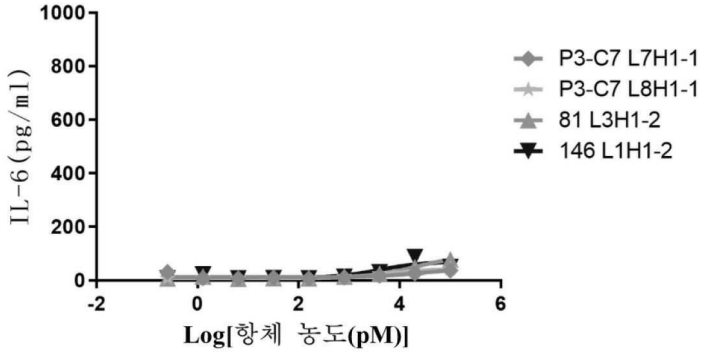
도면5c



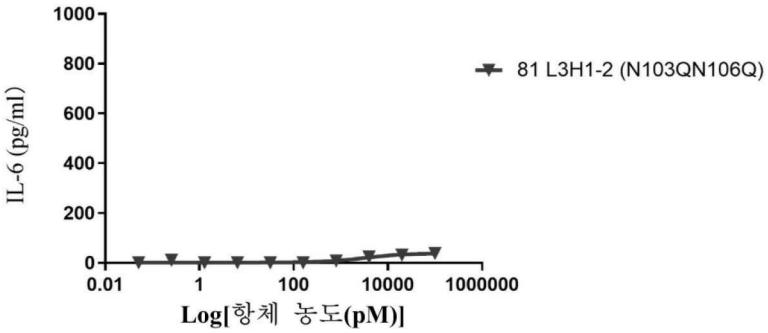
도면6a



도면6b


1000
800
600
400
200
0
IL-6 (pg/ml)
-2
0
2
4
6
Log[항체 농도(pM)]
P3-C7 L7H1-1
P3-C7 L8H1-1
81 L3H1-2
146 L1H1-2

도면6c


1000
800
600
400
200
0
IL-6 (pg/ml)
0.01
1
100
10000
1000000
Log[항체 농도(pM)]
81 L3H1-2 (N103QN106Q)

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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