(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0024819
(43) 공개일자 2024년02월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 39/395* (2006.01) *A61K 31/136* (2006.01)
*A61K 31/635* (2014.01) *A61K 31/704* (2006.01)
*A61K 31/706* (2006.01) *A61K 31/7068* (2006.01)
*A61K 39/00* (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
*A61P 35/00* (2006.01) *A61P 35/02* (2006.01)
*C07K 16/28* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 39/39558* (2013.01)
*A61K 31/136* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7043188
(22) 출원일자(국제) 2022년05월20일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년12월13일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/030323
(87) 국제공개번호 WO 2022/246244
국제공개일자 2022년11월24일
(30) 우선권주장
63/191,488 2021년05월21일 미국(US)
63/253,714 2021년10월08일 미국(US)

(71) 출원인
**압테보 리서치 앤드 디벨롭먼트 엘엘씨**
미국 워싱턴주 98121 시애틀 스위트 1050 포스 애비뉴 2401
(72) 발명자
**우쿤 파티**
미국 워싱턴주 98121 시애틀 스위트 1050 포스 애비뉴 2401 압테보 리서치 앤드 디벨롭먼트 엘엘씨 내
**스트로맷 스콧**
미국 워싱턴주 98121 시애틀 스위트 1050 포스 애비뉴 2401 압테보 리서치 앤드 디벨롭먼트 엘엘씨 내
(74) 대리인
**특허법인아주**

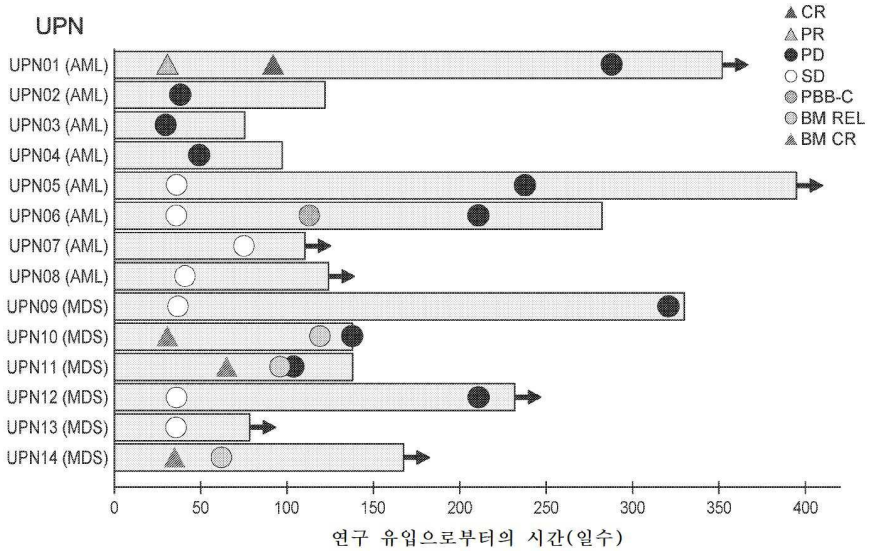
전체 청구항 수 : 총 95 항

(54) 발명의 명칭 **단백질 치료제의 투약 요법**

## (57) 요 약

본 명세서에서는, i) CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질; 및 ii) 제2 항암제를 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암 치료 방법이 제공된다. 본 명세서에 기재된 방법에서 사용되는 항암제는, 예를 들어, 화학 요법 약물일 수 있다. 일부 실시형태에서, 화학 요법 약물은 베네토클락스, 아자시티딘, 데시타빈, 다우노마이신, 사이타라빈, 이다루비신, 미톡산트론 또는 에토포사이드이다.

*대 표 도* - 도12



(52) CPC특허분류
*A61K 31/635* (2020.08)
*A61K 31/704* (2013.01)
*A61K 31/706* (2013.01)
*A61K 31/7068* (2013.01)
*A61K 45/06* (2013.01)
*A61P 35/00* (2018.01)
*A61P 35/02* (2018.01)
*C07K 16/2809* (2013.01)
*C07K 16/2866* (2013.01)

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

암 치료 방법으로서,

i) CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질; 및

ii) 제2 항암제

를 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 방법은 제3 항암제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제2 항암제는 화학 요법 약물인, 방법.

### 청구항 4

제3항에 있어서, 상기 화학 요법 약물은 베네토클락스, 아자시티딘(azacitidine), 데시타빈, 다우노마이신, 사이타라빈, 이다루비신, 미톡산트론 또는 에토포사이드인, 방법.

### 청구항 5

제1항에 있어서, 상기 제2 항암제는 사이타라빈인, 방법.

### 청구항 6

제5항에 있어서, 상기 사이타라빈은 약 1g/㎡의 용량으로 투여되는, 방법.

### 청구항 7

제2항에 있어서, 상기 제2 항암제는 미톡산트론이고, 상기 제3 항암제는 에토포사이드이되, 상기 방법은 사이타라빈인 제4 항암제를 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

### 청구항 8

제7항에 있어서, 상기 미톡산트론은 약 6㎎/㎡/일의 용량으로 투여되고, 상기 에토포사이드는 약 80㎎/㎡/일의 용량으로 투여되며, 상기 사이타라빈은 약 1g/㎡/일의 용량으로 투여되는, 방법.

### 청구항 9

제1항에 있어서, 상기 제2 항암제는 베네토클락스인, 방법.

### 청구항 10

제9항에 있어서, 상기 베네토클락스는 1일당 약 100 내지 약 400㎎의 용량으로 투여되는, 방법.

### 청구항 11

제1항에 있어서, 상기 제2 항암제는 아자사이티딘(azacytidine)인, 방법.

### 청구항 12

제11항에 있어서, 상기 아자사이티딘은 약 75㎎/㎡/일의 용량으로 투여되는, 방법.

**청구항 13**

제2항에 있어서, 상기 제2 항암제는 아자시티딘이고, 상기 제3 항암제는 베네토클락스인, 방법.

**청구항 14**

제13항에 있어서, 상기 아자시티딘은 약 75㎎/㎡/일의 용량으로 투여되고, 상기 베네토클락스는 약 100 내지 약 400㎎/일의 용량으로 투여되는, 방법.

**청구항 15**

제1항에 있어서, 상기 제2 항암제는 데시타빈인, 방법.

**청구항 16**

제15항에 있어서, 상기 데시타빈은 약 20㎎/㎡/일의 용량으로 투여되는, 방법.

**청구항 17**

제2항에 있어서, 상기 제2 항암제는 데시타빈이고, 상기 제3 항암제는 베네토클락스인, 방법.

**청구항 18**

제17항에 있어서, 상기 데시타빈은 약 20㎎/㎡/일의 용량으로 투여되고, 상기 베네토클락스는 약 100 내지 약 400㎎/일의 용량으로 투여되는, 방법.

**청구항 19**

제2항에 있어서, 상기 제2 항암제는 다우노마이신이고, 상기 제3 항암제는 사이타라빈인, 방법.

**청구항 20**

제19항에 있어서, 상기 다우노마이신은 약 30 내지 90㎎/㎡의 용량으로 투여되고, 상기 사이타라빈은 약 100 내지 약 200㎎/㎡의 용량으로 투여되는, 방법.

**청구항 21**

제1항에 있어서, 상기 항암제는 이다루비신인, 방법.

**청구항 22**

제21항에 있어서, 상기 이다루비신은 약 12㎎/㎡의 용량으로 투여되는, 방법.

**청구항 23**

제2항에 있어서, 상기 제2 항암제는 이다루비신이고, 상기 제3 항암제는 사이타라빈인, 방법.

**청구항 24**

제23항에 있어서, 상기 이다루비신은 약 12㎎/㎡의 용량으로 투여되고, 사이타라빈은 약 100 내지 약 200㎎/㎡의 용량으로 투여되는, 방법.

**청구항 25**

제1항에 있어서, 상기 제2 항암제는 아자시티딘인, 방법.

**청구항 26**

제5항에 있어서, 상기 아자시티딘은 약 75㎎/㎡/일의 용량으로 투여되는, 방법.

**청구항 27**

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 두 동일한 폴리펩타이드의 이량체를 포

함하되, 각 폴리펩타이드는, 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로, 또는 카복시-말단에서 아미노-말단의 순서로:

(i) CD123 결합 도메인,

(ii) 힌지 영역,

(iii) 면역글로불린 불변 영역, 및

(iv) CD3 결합 도메인

을 포함하는, 방법.

**청구항 28**

제27항에 있어서, 상기 폴리펩타이드는, N-말단에서 C-말단으로, 상기 CD123 결합 도메인, 상기 힌지 영역, 상기 면역글로불린 불변 영역 및 상기 CD3 결합 도메인을 포함하는, 방법.

**청구항 29**

제28항에 있어서, 상기 CD123 및 상기 CD3 결합 도메인 중 적어도 하나는,

(i) HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH); 및

(ii) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL)

을 포함하는, 방법.

**청구항 30**

제29항에 있어서, 상기 CD123 결합 도메인은,

서열번호 10을 포함하는 HCDR1, 서열번호 11을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 12를 포함하는 HDCR3; 및

서열번호 13을 포함하는 LCDR1, 서열번호 14를 포함하는 LCDR2 및 서열번호 15를 포함하는 LCDR3

을 포함하는 scFv인, 방법.

**청구항 31**

제29항에 있어서, 상기 CD123 결합 도메인은,

서열번호 136과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및

서열번호 134와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL

을 포함하는 scFv인, 방법.

**청구항 32**

제29항에 있어서, 상기 CD123 결합 도메인은 scFv이고, 상기 scFv는 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

**청구항 33**

제29항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CD3 결합 도메인은,

서열번호 19를 포함하는 HCDR1, 서열번호 20을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 21을 포함하는 HDCR3; 및

서열번호 22를 포함하는 LCDR1, 서열번호 23을 포함하는 LCDR2 및 서열번호 24를 포함하는 LCDR3

을 포함하는 scFv인, 방법.

**청구항 34**

제29항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CD3 결합 도메인은,

서열번호 383 또는 387과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및

서열번호 384와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL

을 포함하는 scFv인, 방법.

**청구항 35**

제29항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CD3 결합 도메인은 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 scFv인, 방법.

**청구항 36**

제29항에 있어서, 각 폴리펩타이드는 서열번호 31과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

**청구항 37**

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되는, 방법.

**청구항 38**

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항암제는 상기 대상체에게 경구로 또는 IV 주입에 의해 투여되는, 방법.

**청구항 39**

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 0.3, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 48, 50, 60, 75 또는 100㎍의 용량으로 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되는, 방법.

**청구항 40**

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 1주당 1회 투여되는, 방법.

**청구항 41**

제40항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 상기 처음 28일 주기에서, 6㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제8일에 투여되고; 12㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제15일에 투여되고; 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 42**

제41항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 상기 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 43**

제42항에 있어서, 사이타라빈은 상기 처음 28일 주기의 제1일 내지 제5일 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제5일에 정맥내로 투여되는, 방법.

**청구항 44**

제43항에 있어서, 상기 사이타라빈의 용량은 약 1g/㎡인, 방법.

**청구항 45**

제42항에 있어서, 미톡산트론, 에토포사이드 및 사이타라빈은 상기 처음 28일 주기 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제6일에 정맥내로 투여되는, 방법.

**청구항 46**

제45항에 있어서, 상기 미톡산트론의 용량은 약 6㎎/㎡/일이고, 상기 에토포사이드의 용량은 약 80㎎/㎡/일이고, 상기 사이타라빈의 용량은 약 1g/㎡/일인, 방법.

**청구항 47**

제40항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제15일에 투여되고; 12㎍의 상기 다중특이성 단백질은 상기 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 48**

제47항에 있어서, 다중특이성 단백질은 상기 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 49**

제48항에 있어서, 베네토클락스는 처음 28일 주기의 제1일 내지 제21일, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제21일에 경구 투여되는, 방법.

**청구항 50**

제49항에 있어서, 상기 베네토클락스의 용량은 약 100 내지 약 400㎎/일인, 방법.

**청구항 51**

제48항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 아자사이티딘은 상기 처음 28일 주기 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제7일에 정맥내로 투여되는, 방법.

**청구항 52**

제51항에 있어서, 상기 아자사이티딘의 용량은 약 75㎎/㎡인, 방법.

**청구항 53**

제40항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 상기 처음 28일 주기에서, 6㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제1일에 투여되고; 8㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제12일에 투여되며; 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질은 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 54**

제53항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 상기 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 55**

제54항에 있어서, 사이타라빈은 처음 28일 주기의 제1일 내지 제7일, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제7일에 정맥내 주입에 의해 투여되는, 방법.

**청구항 56**

제55항에 있어서, 상기 사이타라빈의 용량은 약 100 내지 약 200㎎/㎡인, 방법.

**청구항 57**

제53항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 이다루비신은 상기 처음 28일 주기의 제1일 내지 제3일, 및 적어

도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제3일에 정맥내 주입에 의해 투여되는, 방법.

**청구항 58**

제57항에 있어서, 상기 이다루비신의 용량은 약 12㎎/㎡인, 방법.

**청구항 59**

제40항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 상기 처음 28일 주기에서, 6㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제1일에 투여되고; 8㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제12일에 투여되며; 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제15일에 투여되고; 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 60**

제59항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 상기 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 61**

제60항에 있어서, 아자사이티딘은 상기 처음 28일 주기, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제14일에 경구 투여되는, 방법.

**청구항 62**

제61항에 있어서, 상기 아자사이티딘의 용량은 약 300㎎/일인, 방법.

**청구항 63**

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 암종 또는 육종인, 방법.

**청구항 64**

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 흑색종, 신장암, 췌장암, 폐암, 장암, 전립선암, 유방암, 간암, 뇌암, 결장암, 난소암 또는 혈액암인, 방법.

**청구항 65**

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성증후군(MDS), 털세포 백혈병(HCL), 모구 형질세포양 수지세포 신생물, B-세포 급성 림프모구 백혈병(ALL) 또는 만성 골수성 백혈병(CML)인, 방법.

**청구항 66**

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 급성 골수성 백혈병(AML)인, 방법.

**청구항 67**

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 골수이형성 증후군(MDS)인, 방법.

**청구항 68**

암 치료 방법으로서,

CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질을 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 69**

제68항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 두 동일한 폴리펩타이드의 이량체를 포함하되, 각 폴리펩타이드는, 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로, 또는 카복시-말단에서 아미노-말단의 순서로,

(i) CD123 결합 도메인,

(ii) 힌지 영역,

(iii) 면역글로불린 불변 영역, 및

(iv) CD3 결합 도메인

을 포함하는, 방법.

**청구항 70**

제69항에 있어서, 상기 폴리펩타이드는, N-말단에서 C-말단으로, 상기 CD123 결합 도메인, 상기 힌지 영역, 상기 면역글로불린 불변 영역 및 상기 CD3 결합 도메인을 포함하는, 방법.

**청구항 71**

제69항에 있어서, 상기 CD123 및 상기 CD3 결합 도메인 중 적어도 하나는,

(i) HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH); 및

(ii) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL)

을 포함하는, 방법.

**청구항 72**

제69항에 있어서, 상기 CD123 결합 도메인은,

서열번호 10을 포함하는 HCDR1, 서열번호 11을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 12를 포함하는 HDCR3; 및

서열번호 13을 포함하는 LCDR1, 서열번호 14를 포함하는 LCDR2 및 서열번호 15를 포함하는 LCDR3

을 포함하는 scFv인, 방법.

**청구항 73**

제69항에 있어서, 상기 CD123 결합 도메인은,

서열번호 136과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및

서열번호 134와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL

을 포함하는 scFv인, 방법.

**청구항 74**

제69항에 있어서, CD123 결합 도메인은 scFv이고, 상기 scFv는 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

**청구항 75**

제69항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CD3 결합 도메인은,

서열번호 19를 포함하는 HCDR1, 서열번호 20을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 21을 포함하는 HDCR3; 및

서열번호 22를 포함하는 LCDR1, 서열번호 23을 포함하는 LCDR2 및 서열번호 24를 포함하는 LCDR3

을 포함하는 scFv인, 방법.

**청구항 76**

제69항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CD3 결합 도메인은,

서열번호 383 또는 387과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및

서열번호 384와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL

을 포함하는 scFv인, 방법.

**청구항 77**

제69항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CD3 결합 도메인은 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 scFv인, 방법.

**청구항 78**

제69항에 있어서, 각 폴리펩타이드는 서열번호 31과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

**청구항 79**

제68항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되는, 방법.

**청구항 80**

제68항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 또는 0.8㎍/kg의 용량으로 IV 주입에 의해 상기 대상체에게 투여되는, 방법.

**청구항 81**

제68항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 0.3, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 48, 50, 60, 75 또는 100㎍의 용량으로 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되는, 방법.

**청구항 82**

제68항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 1주당 1회 투여되는, 방법.

**청구항 83**

제82항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서 6㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제8일에 투여되고; 12㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제15일에 투여되고; 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 84**

제83항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 상기 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 85**

제82항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서 6㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제15일에 투여되고; 12㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 86**

제85항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 상기 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 87**

제82항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 상기 처음 28일 주기에서, 6㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제1일에 투여되고; 8㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제12일에 투여되며; 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제15일에 투여되고; 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제

22일에 투여되는, 방법.

**청구항 88**

제87항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 상기 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 89**

제82항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제1일에 투여되고; 8㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제12일에 투여되며; 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제15일에 투여되고; 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 90**

제89항에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 상기 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 상기 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 상기 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

**청구항 91**

제68항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 암종 또는 육종인, 방법.

**청구항 92**

제68항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 흑색종, 신장암, 췌장암, 폐암, 장암, 전립선암, 유방암, 간암, 뇌암, 결장암, 난소암 또는 혈액암인, 방법.

**청구항 93**

제68항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성증후군(MDS), 털세포 백혈병(HCL), 모구 형질세포양 수지세포 신생물, B-세포 급성 림프모구 백혈병(ALL) 또는 만성 골수성 백혈병(CML)인, 방법.

**청구항 94**

제68항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 급성 골수성 백혈병(AML)인, 방법.

**청구항 95**

제68항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 골수이형성 증후군(MDS)인, 방법.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2021년 10월 8일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/253,714호 및 2021년 5월 21일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/191,488호에 대한 우선권을 주장하며, 이들 각각은 이들의 전문이 모든 목적을 위해 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.

[0003] **전자적으로 제출된 텍스트 파일의 설명**

[0004] 본 명세서와 함께 전자적으로 제출된 텍스트 파일의 내용은 본 명세서에 이들의 전문에 참조에 의해 원용된다: 서열목록의 컴퓨터 판독 가능한 형식 사본(파일명: APVO_069_02WO_SeqList_ST25.txt, 기록일: 2022년 5월 20일, 파일 용량: ~105,091 바이트).

[0005] **기술분야**

[0006] 본 개시내용은 암을 치료하기 위한 이중특이성 또는 다중특이성 단백질 치료제에 관한 것이다. 더 구체적으로는, 본 개시내용은 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 이중특이성 또는 다중특이성 단백질에 관한 것이다. 본 개시내용은 또한 임상 방법을 필요로 하는 대상체에 단독으로 또는 1종 이상의 추가적인 항암제와 병용되는 단백질 치료제의 투여를 위한 투약 요법을 비롯한, 임상 방법에 관한 것이다.

## *배 경 기 술*

[0007] 이중특이성, T-세포 관여 항체의 사용과 관련된 가장 의미있고 빈번한 부작용 중 하나는 신경학적 독성이다. 신경학적 독성은 중증이거나, 생명을 위협하거나, 치명적일 수 있다. 이러한 항체를 사용하는 치료와 관련된 다른 잠재적 합병증은 사이토카인 방출 증후군(Cytokine Release Syndrome: CRS)으로 알려진 전신 염증 증후군이다. 따라서, T-세포 관여에 의해 작용하는 이중특이성 및 다중특이성 치료제(즉, T-세포 관여자)로 치료된 환자에서의 사이토카인 방출 및 다른 독성의 효과와 연관된 위험을 완화시키기 위한 투약 전략에 대한 요구가 있다. 이런 치료제의 부류는 CD123 및 CD3을 표적화하는 이중특이성 치료제를 포함한다. 재발 또는 난치성 급성 골수성 백혈병 및 기타 CD123-발현 혈액 악성종양을 갖는 환자에서 평가 중인 CD123×CD3 이중특이성 항체 분자인 mAb14045(Xencor)를 CRS에 의해 야기된 1명의 사망을 비롯하여, I상 시험에서 2명의 환자의 사망으로 인해 2019년에 FDA에 의해 부분적 임상 보류에 놓였다.

[0008] CRS를 포함하는 사이토카인 방출의 심각한 효과의 가능성을 감소시키도록 설계된 투약 전략은 치료적으로 효과적이지 못할 수도 있다. 따라서, 사이토카인 독성을 포함하는 독성 위험을 완화시키는 방식으로 환자에게 치료적 유효 용량의 T-세포 관여자(예컨대, CD123×CD3 치료제)를 전달하는 방법에 대한 요구가 남아있다.

## *발명의 내용*

[0009] 투약 전략을 비롯한 암 치료 방법이 본 명세서에 기재된다. 상기 방법은 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질, 예컨대, 다중특이성 단백질을 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 제2 항암제, 예컨대, 화학 요법 약물과 병용하여 투여된다. 본 명세서에 기재된 투약 전략은 신경학적 독성 및/또는 사이토카인 방출 증후군의 가능성을 최소화하면서 치료 효과를 제공할 수 있다.

[0010] 따라서, 일부 실시형태에서, 암 치료 방법이 본 명세서에 제공되며, 상기 방법은, i) CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질; 및 ii) 제2 항암제를 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 제3 항암제를 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함한다. 본 명세서에 기재된 방법에서 사용되는 항암제는, 예를 들어, 화학 요법 약물일 수 있다. 일부 실시형태에서, 화학 요법 약물은 베네토클락스, 아자시티딘(azacitidine), 데시타빈, 다우노마이신, 사이타라빈, 이다루비신, 미톡산트론 또는 에토포사이드이다.

[0011] 일부 실시형태에서, 암 치료 방법이 본 명세서에 제공되며, 상기 방법은 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질을 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0012] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 두 동일한 폴리펩타이드의 이량체를 포함하되, 각 폴리펩타이드는, 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로, 또는 카복시-말단에서 아미노-말단의 순서로: (i) CD123 결합 도메인, (ii) 힌지 영역, (iii) 면역글로불린 불변 영역, 및(iv) CD3 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는, N-말단에서 C-말단으로, CD123 결합 도메인, 힌지 영역, 면역글로불린 불변 영역 및 CD3 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD123 및 CD3 결합 도메인 중 적어도 하나는 (i) HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH); 및 (ii) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD123 결합 도메인은 서열번호 10을 포함하는 HCDR1, 서열번호 11을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 12를 포함하는 HDCR3; 및 서열번호 13을 포함하는 LCDR1, 서열번호 14를 포함하는 LCDR2 및 서열번호 15를 포함하는 LCDR3을 포함하는, scFv이다. 일부 실시형태에서, CD123 결합 도메인은 서열번호 136과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 134와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하는 scFv이다. 일부 실시형태에서, CD123 결합 도메인은 scFv이고, scFv는 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 도메인은 서열번호 19를 포함하는 HCDR1, 서열번호 20을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 21를 포함하는 HDCR3; 및 서열번호 22를 포함하는 LCDR1, 서열번호 23을 포함하는 LCDR2 및 서열번호 24를 포함하는 LCDR3을 포함하는, scFv이다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 도메인은 서열번호 383 또는 387과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 384와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한

서열을 포함하는 VL을 포함하는 scFv이다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 도메인은 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 scFv이다. 일부 실시형태에서, 각 폴리펩타이드는 서열번호 31과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함한다.

[0013] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 대상체에게 IV 주입에 의해 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 0.3, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 48, 50, 60, 75 또는 100㎍의 용량으로 대상체에게 IV 주입에 의해 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 1주당 1회 또는 2회 투여된다. 일부 실시형태에서, 제2 항암제는 대상체에게 경구로 또는 IV 주입에 의해 투여된다.

[0014] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제8일에 투여되고; 12㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 사이타라빈은 처음 28일 주기의 제1일 내지 제5일 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제5일에 정맥내로 투여된다. 일부 실시형태에서, 사이타라빈의 용량은 약 1g/㎡이다. 일부 실시형태에서, 미톡산트론, 에토포사이드 및 사이타라빈은 처음 28일 주기 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제6일에 정맥내로 투여된다. 일부 실시형태에서, 미톡산트론의 용량은 약 6㎎/㎡/일이고, 에토포사이드의 용량은 약 80㎎/㎡/일이고, 사이타라빈의 용량은 약 1g/㎡/일이다.

[0015] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 12㎍의 다중특이성 단백질은 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 베네토클락스는 처음 28일 주기의 제1일 내지 제21일, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제21일에 경구 투여된다. 일부 실시형태에서, 베네토클락스의 용량은 약 100 내지 약 400㎎/일이다. 일부 실시형태에서, 아자사이티딘(azacytidine)은 처음 28일 주기 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제7일에 정맥내로 투여된다. 일부 실시형태에서, 아자사이티딘의 용량은 약 75㎎/㎡이다.

[0016] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 IV 주입에 의해 대상체에게 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제1일에 투여되고; 8㎍의 다중특이성 단백질이 제12일에 투여되며; 18㎍의 다중특이성 단백질은 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질은 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 사이타라빈은 처음 28일 주기의 제1일 내지 제7일, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제7일에 정맥내 주입에 의해 투여된다. 일부 실시형태에서, 사이타라빈의 용량은 약 100 내지 약 200㎎/㎡이다. 일부 실시형태에서, 이다루비신은 처음 28일 주기의 제1일 내지 제3일, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제3일에 정맥내 주입에 의해 투여된다. 일부 실시형태에서, 이다루비신의 용량은 약 12㎎/㎡이다.

[0017] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제1일에 투여되고; 8㎍의 다중특이성 단백질이 제12일에 투여되며; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 아자사이티딘은 처음 28일 주기, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제14일에 경구 투여된다. 일부 실시형태에서, 아자사이티딘의 용량은 약 300㎎/일이다.

[0018] 일부 실시형태에서, 암은 암종 또는 육종이다. 일부 실시형태에서, 암은 흑색종, 신장암, 췌장암, 폐암, 장암, 전립선암, 유방암, 간암, 뇌암, 결장암, 난소암 또는 혈액암이다. 일부 실시형태에서, 암은 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성증후군(MDS), 털세포 백혈병(HCL), 모구 형질세포양 수지세포 신생물, B-세포 급성 림프모구 백혈병(ALL) 또는 만성 골수성 백혈병(CML)이다.

## *도면의 간단한 설명*

[0019] **도 1A** 및 **도 1B**는 본 개시내용의 조성물 및 방법과 함께 사용하기 위한 예시적인 치료용 단백질(therapeutic

protein)의 구조를 나타내는 개략도를 도시한 도면. **도 1A**은 CD3 결합 도메인 및 Fc 도메인을 각각 포함하는 두 동일한 폴리펩타이드를 포함하는 동형이량체 단백질을 도시한 도면. **도 1B**는 종양 결합 도메인(예를 들어, CD123 결합 도메인), Fc 도메인 및 CD3 결합 도메인을 각각 포함하는 두 동일한 폴리펩타이드를 포함하는 동형이량체 단백질을 도시한 도면. 예시적인 CD123×CD3 이중특이성 치료용 단백질은 본 명세서에서 TRI130으로서 지칭된다.

**도 2**는 1/1b상 용량 증량 임상 연구의 설계를 나타내는 개략도로서, TRI130이 재발 또는 난치성 급성 골수성 백혈병(AML) 또는 골수이형성증후군(MDS)을 갖는 환자에게 투여되는, 개략도를 도시한 도면.

**도 3A 내지 도 3D**는 **도 2** 및 실시예 2에 기재된 1/1b상 연구에서 환자에 대해 시간에 따라 플롯팅된 골수 흡입물에서의 아세포 백분율을 나타낸 도면. 데이터는 12㎍ 이상의 가장 고용량을 받고 있는 코호트에서의 환자에 대해 그래프화된다. 기준선으로부터의 변화에 대해 평가 가능한 N = 14 환자. 코호트 6a 및 6b는 표 10에 나타낸 바와 같은 상이한 단계의 투약 요법을 시험하였다.

**도 4A 내지 도 4D**는 **도 2** 및 실시예 2에 기재된 1/1b상 연구에서 예정된 혈액 수집으로부터의 환자 샘플(투약 전, 투약 후 약 15 내지 30분, 및 투약 후 약 20 내지 26시간; N=26)에서 인터류킨-6(IL-6, **도 4A**), 인터류킨-10(IL-10, **도 4B**), 인터페론-감마(IFN-ɣ, **도 4C**) 및 종양 괴사 인자-알파(TNF-α, **도 4D**)의 혈청 농도를 나타낸 도면. 각 환자에 대해 가장 고용량으로 계획된 용량의 첫 번째 투여 시 예정된 혈액 수집물을 수집하였다. 비교를 위해 IRR/CRS 사건 동안 예정되지 않은 수집 시 관찰된 최고 사이토카인 수준을 나타낸다(4명 환자에서 N=6 사건).

**도 5A 내지 도 5E**는 실시예 3에 기재된 확장 연구의 코호트 1 내지 코호트 5에서 사용된 투약 요법을 나타내는 개략도이다. 당업자는 **도 5A 내지 도 5E**에 예시된 투약 요법이 본 명세서에 개시된 임의의 다중특이성 단백질을 투여하는 데 사용될 수 있다는 것을 이해할 것이다.

**도 6A**는 약물동력학(PK) 데이터를 제공한다. 다양한 시점에 용량 증량 연구의 코호트 6a로부터의 환자에서의 TRI130 농도를 나타낸다. 수평의 끊겨있는 선(hashed line)은 분석의 정량하한(LLOQ)을 나타낸다. 모든 다른 측정은 검출 한계 이내이지만, 정량 가능한 범위는 아니었다. 점으로 된 수직선은 각 환자에 대한 치료 종료(end of treatment: EOT)를 나타낸다.

**도 6B**는 다양한 연구 시점에 용량 증량 연구의 코호트 6a로부터의 환자에서의 항-약물 항체(anti-drug antibody: ADA) 반응값 및 역가를 나타낸다. 점으로 된 수직선은 각 환자에 대한 EOT를 나타낸다. 각각의 기호는 추적 샘플을 나타낸다.

**도 7A**는 PK 데이터를 제공한다. 다양한 시점에 용량 증량 연구의 코호트 6b로부터의 다양한 환자에서의 TRI130 농도를 나타낸다. 점으로 된 수직선은 각 환자에 대한 치료 종료(EOT)를 나타낸다.

**도 7B**는 다양한 연구 시점에 용량 증량 연구의 코호트 6a로부터의 다양한 환자에서의 ADA 반응값 및 역가를 나타낸다. 점으로 된 수직선은 각 환자에 대한 EOT를 나타낸다. 각각의 기호는 추적 샘플을 나타낸다.

**도 8A**는 코호트 7에 비해서 코호트 A에서 시간에 따라 TRI130 농도를 비교하는 PK 시뮬레이션을 나타낸다. **도 8B**는 코호트 7에 비해서 코호트 B에서 시간에 따라 TRI130 농도를 비교하는 PK 시뮬레이션을 나타낸다. **도 8C**는 코호트 7에 비해서 코호트 C에서 시간에 따라 TRI130 농도를 비교하는 PK 시뮬레이션을 나타낸다. **도 8D**는 코호트 7에 비해서 코호트 D에서 시간에 따라 TRI130 농도를 비교하는 PK 시뮬레이션을 나타낸다. 이러한 시뮬레이션으로부터의 추적은 **도 8E**에 오버레이된다.

**도 9A**는 다양한 코호트에 대한 추정 최대 농도(Cmax), 최대 시간(Tmax), 최소 농도(Cmin), 및 곡선하 면적(AUC)을 나타낸다. **도 9B**는 다양한 코호트에 대해 Cmax 대 Cmax에서의 Cmin의 비, AUC:Cmax, 및 주기 1에서의 최고 Cmax:Cmin을 나타낸다.

**도 10**은 TRI130 단일요법을 투여받는 VENAZA-내성 재발 AML 환자에서의 순환 추정 AML-LSC 세포의 고갈을 나타낸다. 그래프의 첫 번째 및 두 번째 열에서 각 그래프의 좌측 상부 코너의 숫자는 총 LSC 번호를 나타내며, 이 중 대다수는 CD123과 CD33을 모두 공동 발현시켰다. CD34+CD38- 세포의 사실상 모두는 AML과 일치되는 CD123+ 및 CD33+였다. 패널 A, 세 번째 열에서 화살표로 표시한 이런 CD123+CD33+CD34+CD38- AML LSC 집단의 크기는 TRI130 단일요법에 의해 유의미하게 감소되었다. 또한 **도** 15를 참조한다.

**도 11**은 TRI130 단일요법을 투여받는 VENAZA-내성 재발 AML 환자에서의 순환 AML-LSC 세포를 나타낸다. CD34+CD38- 세포의 사실상 모두는 AML과 일치되는 CD123+ 및 CD33+였다. CD123+CD33+CD34+CD38- AML LSC 집단

의 크기(그래프의 세 번째 열에서 화살표로 표시함)는 TRI130 단일요법의 과정 동안 유의미하게 변하지 않았다. 또한 **도** 15를 참조한다.

**도 12**는 안정적 질환(SD), PR, CR의 발병 및 지속기간, 말초 아세포의 제거, 및 PD 발병을 나타내며, 각각은 특정 기호로 표시된다. 화살표는 환자가 살아있다는 것을 나타낸다. 또한 **도 13A 내지 도 13B**를 참조한다.

**도 13A 내지 도 13B**는 실시예 4에 기재된 연구에 등록된 AML 환자(**도 13A**) 및 MDS 환자(**도 13B**)에 대한 환자 특징을 나타내는 표이다. C: 주기 수; D: 특정 주기의 일수; AZA: 아자시티딘; MDS: MDS-rf: MDS-관련 특징; abn: 이상(abnormalities); AZA: 아자사이티딘; MDS: 골수이형성 증후군; 골수이형성 증후군들; PD: 진행성 질환; IM-1: 중간-1; IM-2: 중간-2; SD: 안정적 질환; NA: 해당없음; M: 남성; F: 여성; C: 백인; A: 아시아인; IPSS: 국제 예후 점수 시스템(International Prognosis Scoring System); 2016 WHO 골수이형성 증후군 아형: 과량의 아세포가 있는 MDS(MDS-EB); *UPN09는 해소된 다수의 일시적 등급 3 내지 4종의 AE를 갖고; 그녀는 C1D2에 대해 2일간 지속되는 종양 용해 증후군(TLS) 등급 3; C4D1에 대해 2일간 지속되는 TLS 등급 3; C5D1에 대해 8일 지속되는 빈혈, 등급 3, C7D22에 대해 8일 지속되는 빈혈 등급 3, C6D22에 대해 12일 지속되는 빈혈 등급 3, C7D8에 대해 4일 지속되는 빈혈 등급 3; C4D15에 대해 7일간 지속되는 감소된 혈소판 수 등급 3, C4D22에 대해 50일간 지속되는 감소된 혈소판 수 등급 4, C6D15에 대해 2일간 지속되는 감소된 혈소판 수 등급 3, C6D22에 대해 33일간 지속되는 감소된 혈소판 수 등급 4; C5D5에 대해 2일간 지속되는 고혈당증 등급 3을 가졌다. $$UPN09: 빈혈(Hgb 9.7g/dℓ), 혈소판감소증(Plt 30,000개/㎕), 중간 위험 핵형, 47,XX+8, 다중 유전자 돌연변이(NRAS, ASXL-1, PTPNII, RUNX1, STAG2), 대략 주기 10에 절대 단핵구 수 17,600개/㎕를 갖는 CMML-MPN으로 진행됨. UPN10: 빈혈(Hgb 8.0g/dℓ), 혈소판감소증(Plt: 9,000개/㎕), 중증의 호중구 감소증(ANC: 0.29×103개/㎕), 골수에서 7.7%의 아세포, 세포유전학은 이용 가능하지 않음. 2.4%의 골수아세포 수를 갖는 골수 CR을 달성하였다. UPN-11: 빈혈(Hgb 9.3g/dℓ, 혈소판감소증(Plt: 23,000개/㎕)(- ANC 1.3×103개/㎕를 갖는 중증이 아닌 호중구 감소증), MDS 관련 이상 11q- 및 -7, 골수에서 11.3%의 아세포인 중간 위험 세포유전학. 골수아세포 수가 C2D1에서 0%까지 하락되는 골수 CR을 달성하였다. UPN12: 범혈구 감소증 없음(Hgb 11 g/dℓ, Plt: 100,000개/㎕, ANC: 1.1×103개/㎕), 바람직한 핵형: 46, XY, 골수에서 8.2% 아세포. 골수아세포 수가 C2D1에서 2%까지 감소되는 골수 CR을 달성하였다. UPN13: 빈혈(Hgb 7.2g/dℓ), 혈소판감소증(Plt: 8,000개/㎕), 중증의 호중구 감소증(ANC: 0.5×103개/㎕), 골수에서 5% 아세포, 복합적 핵형(불량한 위험도 범주): 46,XY,der(12;19)(q10;p10), +mar[8]/46,XY, del(20)(q11.2q13.1). 세포유전학에 대해 12(p)의 이상을 갖는 중간 위험 핵형. 골수에서 5% 아세포. UPN14: 빈혈(Hgb 9.3/dℓ), 호중구 감소증(ANC: 0×103/㎕), 세포유전학에 대해 t(1;2)(p36.3;p21)를 갖는 중간 위험도 핵형, 골수에서 6% 아세포.

**도 14**는 TRI130이 재발/난치성 AML 및 MDS 환자로부터의 TH1 및 TH2 세포를 활성화시킨다는 것을 나타내는 표이다. E: 주기 2의 시작 시 얻은 초기 샘플; L: 주기 2 동안 얻은 후기 샘플. *IL-10 유도가 UPN01(46-배), UPN05(8.3-배), UPN06(17.3-배) 및 UPN10(24.5-배)에서 관찰되었다. SD를 갖는 2명의 MDS 환자만이 이들의 BOR로서 유의미한 IL-10 유도를 갖지 않았다. **UPN01 및 UPN05에서 IFN-γ 유도가 관찰되었다. ***UPN06에 대해서만 IL-5 유도가 관찰되었다.

**도 15**는 순환 추정 LSC에 대해 TRI130의 약력학 효과를 나타내는 표이다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0020] 이중특이성, T-세포 관여 항체의 사용과 관련된 가장 의미있고 빈번한 부작용 중 하나는 신경학적 독성이다. 신경학적 독성은 중증이거나, 생명을 위협하거나, 치명적일 수 있다. 본 출원은 TRI130을 비롯한, CD123 결합 도메인 및 CD3 결합을 포함하는 다중특이성 단백질을 기재한다. TRI130이 심각한 신경학적 독성과 연관되지 않는다는 것을 나타내는 임상 데이터가 제공된다. 이중특이성, T-세포 관여 항체를 사용하는 치료와 관련된 다른 잠재적 합병증은 사이토카인 방출 증후군(CRS)으로 알려진 전신 염증 증후군이다. TRI130은 일부 환자에서 CRS를 생성하였지만, 이는 표준 CRS 치료를 이용하여 관리되었다. TRI130은 임상 활성의 징후, 백혈병의 지속적 안정화, 결과적으로 치료가 어려운 재발/난치성 AML 환자 2명에서의 부분 관해 및 완전 관해로 악화된 반응을 나타냈다.

[0021] CD123은, AML 아세포 상에서 상당히 발현되지만, 또한 감염과 싸우는 백혈구를 생성하는 정상 골수 조혈 줄기세포 및 골수 전구 세포에서도 발현된다. 따라서, CD123을 표적화하는 치료 플랫폼은 호중구 감소증으로 알려진 백혈구 수의 장기간 및 심각한 감소, 및 감염, 특히 폐렴과 빈번하게 연관되었다. 표준 화학요법 약물의 부작용을 낮추는 혈구수와 중복되는 이런 통상적인 부작용은 현대의 최전선뿐만 아니라 2선(second-line) 표준 치료 요법에의 CD123 표적화 약물의 목적하는 혼입을 방해하는 주요 장애물 중 하나이다. 따라서, 정상 골수 세포를

손상시키는 일 없이 백혈병 세포를 파괴할 수 있는 AML 환자를 치료하기 위한 활성 신규 약물에 대한 긴급한 요구가 있다. 특히, 본 발명자들은, 예상치 못하게, - 다른 CD123 표적화 약물과 달리 - TRI130이 매주 주입의 몇 개월 후조차, 완전한 관해를 초래한 용량에서 중증의 또는 연장된 호중구 감소증을 야기하지 않는다는 것을 발견하였다. 이러한 독특한 특징은 1종 이상의 추가 항암제, 예컨대, 화학 요법 약물과 병용한 TRI130의 사용을 가능하게 한다.

[0022] 본 발명의 이런 양상 및 다른 양상은 아래에 더욱 상세하게 기재할 것이다.

[0023] 본 명세서에서 사용되는 표제 부문은 단지 조직적 목적을 위한 것이며, 기재된 대상을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 특허, 특허 출원, 논문, 책 및 협약을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 본 명세서에 인용된 모든 문헌 또는 문헌의 일부는 임의의 목적을 위해 이들의 전문에 본 명세서에 분명하게 참조에 의해 원용된다. 하나 이상의 원용된 문헌 또는 문헌의 일부가 본 출원의 용어의 정의와 모순되는 용어를 정하는 사건에서, 본 출원에 나타나는 정의로 제어한다. 그러나, 본 명세서에 인용된 임의의 참고문헌, 논문, 간행물 및 특허 출원의 언급은 세계의 임의의 국가에서 이들이 유효한 선행 기술을 구성하거나 공통의 일반적 기술의 일부를 형성한다는 승인 또는 임의의 형태의 암시가 아니며, 이렇게 취해져서도 안 된다.

[0024] 본 설명에서, 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비 범위 또는 정수 범위는 열거된 범위 내의 임의의 정수 값, 달리 표시되지 않는 한, 적절한 경우, 이의 부분(예컨대, 정수의 1/10 및 1/100)을 포함하는 것으로 이해될 것이다. 본 명세서에서 사용되는 단수의 용어는 달리 표시되지 않는 한 열거된 성분 중 "하나 이상"을 지칭하는 것으로 이해되어야 한다. 대안의 용어(예를 들어, "또는")는 대안 중 하나, 둘 다 또는 이들의 임의의 조합을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "포함한다(include)"와 "포함한다(comprise)"는 동의어로 사용된다. 또한, 본 명세서에 기재된 성분(예를 들어, 도메인 또는 영역) 및 치환체를 포함하는 폴리펩타이드는, 각 폴리펩타이드가 개개로 제시되는 것과 동일한 정도로 본 출원에 의해 개시된다는 것이 이해되어야 한다. 따라서, 개개 폴리펩타이드의 특정 성분의 선택은 본 개시내용의 범주 이내이다.

[0025] **정의**

[0026] 용어 "약"은 수치적 값 바로 앞에 있을 때, 수치적 값의 ± 최대 10%를 의미한다. 예를 들어, "약 40"은 ± 최대 10%의 40(즉, 36 내지 44), 예를 들어, ± 최대 10%, ± 최대 9%, ± 최대 8%, ± 최대 7%, ± 최대 6%, ± 최대 5%, ± 최대 4%, ± 최대 3%, ± 최대 2%, ± 최대 1%, ± 최대 1% 미만, 또는 임의의 다른 값 또는 이들 값의 범위를 의미한다.

[0027] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 실질적으로는 당업계에서 사용되는 이의 보통의 의미를 갖는다. 예를 들어, "실질적으로"는 "유의미하게", "상당히", "대체로", "대부분" 또는 "본질적으로"를 의미할 수 있다. 일부 실시형태에서, "실질적으로"는 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99%를 지칭할 수 있다.

[0028] 용어 "CD123"은 분화 123의 클러스터, 인터류킨-3 수용체 알파 쇄 및 IL3RA으로도 알려진 CD123의 임의의 아이소폼(isoform)을 지칭할 수 있다. CD123은 인터류킨-3 수용체의 베타 쇄와 회합되어 수용체를 형성한다. CD123은 예측된 Ig-유사 도메인 및 2개의 FnIII 도메인을 포함하는 세포외 도메인을 갖는 I형 막관통 당단백질이다. 본 개시내용의 CD123-결합 도메인은 CD123의 세포외 도메인에 결합한다. CD123은 인간 인터류킨-3(IL-3) 수용체의 알파쇄로도 알려져 있다. CD123은 I형 막관통 당단백질이고, 사이토카인 수용체 슈퍼패밀리의 구성원이다. 인터류킨-3 수용체는 CD123 및 베타쇄(CD131)에 의해 형성된 이형이량체이다. IL-3은 CD123에 결합하고, 신호 전달은 CD131에 의해 제공된다. IL-3은 조혈 및 면역 세포의 기능 및 생산을 조절하고, 내피세포 증식을 자극한다(Testa et al., Biomark Res. 2:4 (2014)).

[0029] CD123은 급성 골수성 백혈병(AML), B-림프성 백혈병, 모구 형질세포양 수지세포 신생물(BPDCN) 및 털세포 백혈병의 서브세트를 비롯한 다수의 혈액 악성종양에서 과발현된다. 대부분의 AML 환자가 초기 요법에 잘 반응하지만, 대다수의 AML 환자는 궁극적으로 재발 또는 난치성 질환으로 진단된다(Ramos et al., J. Clin. Med. 4:665-695 (2015)). 증가된 효율 및 효력 및 감소된 유해효과를 갖고 CD123의 조절장애와 연관된 장애를 치료하기 위해 사용될 수 있는 CD123을 표적화하는 분자에 대한 요구가 있다.

[0030] "CD3"은 T-세포 수용체 복합체의 서브유닛인 6개 쇄의 다중-단백질 복합체로서 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Abbas and Lichtman, 2003; Janeway et al., p. 172 및 178, 1999]). 포유류에서, T-세포 수용체 복합체의 CD3 서브유닛은 CD3γ 쇄, CD3δ 쇄, 2개의 CD3ε 쇄 및 CD3ζ 쇄의 동형이량체이다. CD3γ, CD3δ 및 CD3ε 쇄는 단일 면역글로불린 도메인을 함유하는 면역글로불린 슈퍼패밀리의 고도로 관련된 세포 표면 단백질

이다. CD3γ, CD3δ 및 CD3ε 쇄의 막관통 영역은 음으로 하전되며, 이는 이들 쇄가 양으로 하전된 T-세포 수용체 쇄와 회합되는 것을 허용하는 특징이다. CD3γ, CD3δ 및 CD3ε 쇄의 세포내 꼬리는 각각 면역수용체 타이로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM로 알려진 단일 보존 모티프를 함유하는 반면, 각 CD3ζ 쇄는 3개를 갖는다. ITAM는 TCR 복합체의 신호전달 능력에 중요한 것으로 여겨진다. 본 개시내용에서 사용되는 바와 같은 CD3은 인간, 원숭이, 마우스, 래트 또는 기타 포유류를 비롯한 다양한 동물 종으로부터 유래될 수 있다.

[0031] "사이토카인 방출" 또는 "사이토카인 폭풍" 또는 "주입 반응"은 T-세포로부터의 사이토카인 방출을 지칭한다. 사이토카인이 순환에 방출될 때, 전신 증상, 예컨대, 발열, 오심, 오한, 저혈압, 심박 급속증, 무력증, 두통, 발진, 목통증 및 호흡곤란이 초래될 수 있다. 일부 환자는 사이토카인의 엄청난 방출로부터 초래되는 중증의, 생명을 위협하는 반응을 경험할 수 있다. "감소된" 사이토카인 방출은 OKT3 항체(CD3에 결합함) 또는 기타 CD3 결합 이중특이성 분자에 비해서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 이중특이성 분자의 투여 후에 적어도 하나의 사이토카인(예를 들어, IFN-γ, TNF-α, IL-6, IL-2, IL-8, IL-10, IL-17, GM-CSF, IL-4, IL-12, IL-13 또는 IL-1β)의 방출 감소를 지칭한다. 감소된 사이토카인 방출은 시험관내 검정 또는 생체내 검정을 이용하여 측정될 수 있다.

[0032] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "단계 투약" 또는 "단계적 투약" 또는 유사한 용어는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 다중특이성 폴리펩타이드가 적어도 첫날 또는 둘째날에 환자에게 투여되고, 환자에게 투여되는 용량이 첫날과 둘째날 사이에 일정하게 유지되거나 증가된, 투약 요법을 지칭한다. 예를 들어, 일부 단계 투약 요법에서, 환자는 제1, 제2, 제3 및 제4 용량이 투여될 수 있되, 각 용량은 다른 날에 투여되고, 제2 용량은 제1 용량보다 더 크다. 제3 용량은 제2 용량보다 더 클 수 있거나, 또는 제2 용량과 동일할 수 있다. 제4 용량은 제3 용량보다 더 클 수 있거나, 또는 제3 용량과 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, 환자가 특정 용량에 대해 유해반응을 갖는다면, 후속 용량은 감소될 수 있다.

[0033] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "결합 도메인" 또는 "결합 영역"은 표적 분자, 예컨대, 항원, 리간드, 수용체, 기질 또는 저해제를 특이적으로 인식하고 결합하는 능력을 갖는 항체, 수용체 또는 리간드로부터 유래된 단백질, 폴리펩타이드, 올리고펩타이드, 펩타이드, 항체 또는 결합 도메인의 도메인, 영역, 일부 또는 부위를 지칭한다. 예시적인 결합 도메인은 항체 및 항체-유사 단백질 또는 도메인, 항체 중쇄 및 경쇄 가변 영역, 및 단일쇄 항체 가변 영역(예를 들어, 도메인 항체, sFv, scFv, scFab), 수용체 엑토도메인 및 리간드(예를 들어, 사이토카인, 케모카인)를 포함한다. 특정 실시형태에서, 결합 도메인은 항원 결합 부위(예를 들어, 대안의 프레임워크 영역(FR)(예를 들어, 하나 이상의 아미노산 치환을 선택적으로 포함하는 인간 FR)에 위치된 항체로부터의 가변 중쇄 서열 및 가변 경쇄 서열 또는 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 중쇄 CDR을 포함함)를 포함하거나, 이들로 이루어진다. 웨스턴 블롯, ELISA, 파지 디스플레이 라이브러리 선별 및 BIACORE® 상호작용 분석을 비롯한 특정 표적에 특이적으로 결합하는 본 개시내용의 결합 도메인을 확인하기 위한 다양한 검정이 공지되어 있다.

[0034] 결합 도메인 또는 결합 도메인을 포함하는 단백질이 $10^{5}M^{-1}$ 이상의 친화도 또는 $K_a$(즉, 1/M의 단위로 특정 결합 상호작용의 평형)로 표적에 결합하는 한편, 시험 샘플에 존재하는 다른 성분에 유의미하게 결합하지 않는다면, 표적에 "특이적으로 결합한다". 결합 도메인은 "고친화도" 결합 도메인 및 "저친화도" 결합 도메인으로 분류될 수 있다. "고친화도" 결합 도메인은 적어도 $10^{7}M^{-1}$, 적어도 $10^{8}M^{-1}$, 적어도 $10^{9}M^{-1}$, 적어도 $10^{10}M^{-1}$, 적어도 $10^{11}M^{-1}$, 적어도 $10^{12}M^{-1}$ 또는 적어도 $10^{13}M^{-1}$의 $K_a$를 갖는 해당 결합 도메인을 지칭한다. "저친화도" 결합 도메인은 최대 $10^{7}M^{-1}$, 최대 $10^{6}M^{-1}$, 최대 $10^{5}M^{-1}$의 $K_a$를 갖는 해당 결합 도메인을 지칭한다. 대안적으로, 친화도는 M의 단위를 갖는 특정 결합 상호작용의 평형 해리 상수($K_d$)(예를 들어, $10^{-5}M$ 내지 $10^{-13}$, 또는 약 500nM, 약 300nM, 약 250nM, 약 200nM, 약 150nM, 약 100nM, 약 50nM, 약 25nM, 약 10nM, 또는 약 5nM)로 정의될 수 있다. 본 개시내용에 따른 결합 도메인 폴리펩타이드 및 단일 쇄 폴리펩타이드의 친화도는 통상적인 기법을 이용하여 용이하게 결정될 수 있다(예를 들어, 문헌[Scatchard et al. (1949) Ann. N.Y. Acad. Sci. 51:660]; 및 미국 특허 제5,283,173호, 제5,468,614호 또는 균등물 참조).

[0035] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "보존적 치환"은 유사한 특성을 갖는 다른 아미노산을 하나의 아미노산으로 치환하는 것으로서 당업계에서 인식된다. 예시적인 보존적 치환은 당업계에 잘 공지되어 있다(예를 들어, PCT 출원 공개 WO 97/09433, 페이지 10, 1997년 3월 13일자로 공개; 문헌[Lehninger, Biochemistry, Second Edition; Worth Publishers, Inc. NY:NY (1975), pp.71-77; Lewin, Genes IV, Oxford University Press, NY and Cell

Press, Cambridge, MA (1990), p. 8] 참조). 특정 실시형태에서, 보존적 치환은 류신의 세린으로의 치환을 포함한다.

[0036] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "유도체"는 효소와 함께 또는 효소 없이 화학적 또는 생물학적 수단에 의한, 예를 들어, 글리코실화, 알킬화, 아실화, 에스터 형성 또는 아마이드 형성에 의한, 펩타이드의 하나 이상의 아미노산 잔기의 변형을 지칭한다.

[0037] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 표기된 폴리폴리펩타이드 또는 아미노산 서열"로부터 유래된"은 폴리펩타이드 유래를 지칭한다. 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 또는 아미노산 서열은 특정 서열(때때로 "개시" 또는 "모" 또는 "모체" 서열로 지칭됨)로부터 유래되며 모 서열 또는 이의 일부와 본질적으로 동일한 아미노산을 갖고, 일부는 적어도 10 내지 20개의 아미노산, 적어도 20 내지 30개의 아미노산, 또는 적어도 30 내지 50개의 아미노산, 또는 적어도 50 내지 150개의 아미노산으로 이루어지거나, 또는 모 서열에 이의 유래를 갖는 것으로 당업자에 의해 달리 확인 가능하다. 예를 들어, 결합 도메인은 항체, 예를 들어, Fab, F(ab')2, Fab', scFv, 단일 도메인 항체(sdAb) 등으로부터 유래될 수 있다.

[0038] 다른 폴리펩타이드로부터 유래된 폴리펩타이드는 모 폴리펩타이드에 비해서 하나 이상의 돌연변이 또는 변경, 예를 들어, 다른 아미노산 잔기로 치환되거나 하나 이상의 아미노산 삽입 또는 결실을 갖는 하나 이상의 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 이러한 실시형태에서, 모 폴리펩타이드로부터 유래되고 하나 이상의 돌연변이 또는 변경을 포함하는 폴리펩타이드는 "변이체"로 지칭된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "변이체" 또는 "변이체들"은 참조 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드와 상이하지만 이의 본질적 특성을 보유하는 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일반적으로, 변이체 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 서열은 전반적으로 밀접하게 유사하고, 다수 영역에서, 참조 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드와 동일하다. 예를 들어, 변이체 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드는 활성 부분 또는 전장 참조 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드에 비해서 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 나타낼 수 있다. 폴리펩타이드는 천연 유래가 아닌 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이러한 변형은 필수적으로 모 폴리펩타이드와 100% 미만의 서열 동일성 또는 유사성을 갖는다. 일 실시형태에서, 변이체는 모 폴리펩타이드의 아미노산 서열과 약 60%에서 100% 미만의 아미노산 서열 동일성 또는 유사성의 아미노산 서열을 가질 것이다. 다른 실시형태에서, 변이체는 모 폴리펩타이드의 아미노산 서열과 약 75% 내지 100% 미만, 약 80% 내지 100% 미만, 약 85% 내지 100% 미만, 약 90% 내지 100% 미만, 약 95% 내지 100% 미만의 아미노산 서열 동일성 또는 유사성의 아미노산 서열을 가질 것이다.

[0039] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "서열 동일성"은 둘 이상의 폴리뉴클레오타이드 서열 사이의 관계 또는 둘 이상의 폴리펩타이드 서열 사이의 관계를 지칭한다. 하나의 서열에서의 위치가 비교 서열의 대응하는 위치에서의 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기에 의해 점유될 때, 서열은 해당 위치에서 "동일한" 것으로 언급된다. 서열 동일성 백분율은 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 서열 둘 다에서 생기는 위치의 수를 결정하여 동일한 위치의 수를 수득함으로써 계산된다. 이어서, 동일한 위치의 수를 비교창에서 위치의 총 수로 나누고, 100을 곱하여서 서열 동일성 백분율을 수득한다. 서열 동일성 백분율은 비교창에 걸쳐 2개의 최적으로 정렬된 서열을 비교함으로써 결정된다. 폴리뉴클레오타이드 서열에 대한 비교창은, 예를 들어, 적어도 약 20, 약 30, 약 40, 약 50, 약 60, 약 70, 약 80, 약 90, 약 100, 약 110, 약 120, 약 130, 약 140, 약 150, 약 160, 약 170, 약 180, 약 190, 약 200, 약 300, 약 400, 약 500, 약 600, 약 700, 약 800, 약 900 또는 약 1000개 이상의 핵산 길이일 수 있다. 폴리펩타이드 서열에 대한 비교창은, 예를 들어, 적어도 약 20, 약 30, 약 40, 약 50, 약 60, 약 70, 약 80, 약 90, 약 100, 약 110, 약 120, 약 130, 약 140, 약 150, 약 160, 약 170, 약 180, 약 190, 약 200, 약 300개 이상의 아미노산 길이일 수 있다. 비교를 위한 서열을 최적으로 정렬하기 위해, 비교창에서 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 서열의 일부는 첨가 또는 갭으로 지칭되는 결실을 포함하는 한편, 참조 서열은 일정하게 유지된다. 최적의 정렬은 갭에 의할 때조차, 참조 서열과 비교기 서열 사이의 "동일한" 위치의 가장 큰 가능한 수를 생성하는 정렬이다. 두 서열 사이의 "서열 동일성" 백분율은 미국 국가생물공학센터(National Center for Biotechnology Information)로부터 2004년 9월 1일자로 입수 가능한 프로그램 "BLAST 2 Sequences"의 버전을 이용하여 결정될 수 있고, 이 프로그램은 프로그램 BLASTN(뉴클레오타이드 서열 비교용) 및 BLASTP(폴리펩타이드 서열 비교용)을 포함하며, 이 프로그램들은 Karlin과 Altschul의 알고리즘에 기반한다(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(12):5873-5877, 1993). "BLAST 2 Sequences"을 이용할 때, 2004년 9월 1일자의 디폴트 파라미터인 파라미터는 단어 크기(3), 오픈 갭 페널티(11), 익스텐션 갭 페널티(1), 갭 드롭오프(50), 예상치(10) 및 매트릭스 옵션을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 임의의 다른 필요한 파라미터에

대해 사용될 수 있다. 두 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열은 두 서열이 서로와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는다면, "실질적으로 유사한 서열 동일성" 또는 "실질적인 서열 동일성"을 갖는 것으로 간주된다.

[0040] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 달리 제공되지 않는 한, 면역글로불린 분자의 가변 영역에서 아미노산 잔기의 위치는 IMGT 넘버링 협약에 따라 넘버링되고(Brochet, X, *et al*, Nucl. Acids Res. (2008) 36, W503-508), 면역글로불린 분자의 불변 영역에서 아미노산 잔기의 위치는 EU 명명법에 따라 넘버링된다(Ward *et al.*, 1995 *Therap. Immunol.* 2:77-94). 다른 넘버링 협약은 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, Kabat 넘버링 협약(Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed. Bethesda, MD: Public Health Service, National Institutes of Health (1991)).

[0041] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "이량체"는 공유 결합(예를 들어, 이황화결합) 및 다른 상호작용(예를 들어, 정전기적 상호작용, 염 브리지, 수소결합 및 소수성 상호작용)을 포함하는 분자내 힘의 하나 이상의 형태를 통해 서로 회합되는 두 서브유닛으로 이루어진 생물학적 독립체를 지칭하며, 적절한 조건 하에서(예를 들어, 생리적 조건 하에, 재조합 단백질의 발현, 정제 및/또는 저장에 적합한 수용액에서, 또는 비변성 및/또는 비환원 전기영동을 위한 조건 하에서) 안정하다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "이형이량체" 또는 "이형이량체 단백질"은 두 상이한 폴리펩타이드로부터 형성된 이량체를 지칭한다. 이형이량체는 4개의 폴리펩타이드(즉, 2개의 경쇄 및 2개의 중쇄)로부터 형성된 항체를 포함하지 않는다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "동형이량체" 또는 "동형이량체 단백질"은 두 동일한 폴리펩타이드로부터 형성된 이량체를 지칭한다. 특징 및 활성(예컨대, 결합 및 RTCC)을 포함하는 폴리펩타이드의 모든 개시내용은 이량체 형태뿐만 아니라 다른 다량체 형태의 폴리펩타이드를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0042] 본 개시내용의 폴리펩타이드가 이량체 형태(즉, 이량체 단백질)일 때, 이는 아미노-말단에서 2개의 결합 부위 및 카복실 말단에서 2개의 결합 부위를 함유한다. 따라서 단일 쇄 폴리펩타이드가 이량체화될 때 결합 도메인은 2가(즉, 각 말단에 2개의 결합 부분)로 간주된다.

[0043] "면역글로불린 불변 영역" 또는 "불변 영역"은 면역글로불린의 하나 이상의 불변 도메인의 부분 또는 모두에 대응하거나 이로부터 유래된 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 지칭하기 위해 본 명세서에 정의된 용어이다. 특정 실시형태에서, 불변 영역은 IgG CH2 및 CH3 도메인, 예를 들어, IgG1 CH2 및 CH3 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 불변 영역은 CH1 도메인을 포함하지 않는다. 특정 실시형태에서, 불변 영역을 구성하는 불변 도메인은 인간이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 융합 단백질의 불변 영역은 효과기 기능을 결여하거나 또는 최소 효과기 기능을 갖는 한편, 일부 Fc 수용체, 예컨대, 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 결합하는 능력을 보유하고 생체 내에서 상대적으로 긴 반감기를 보유한다. 예를 들어, 본 개시내용의 융합 단백질의 불변 영역은 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC), 항체-의존적 세포-매개 식세포 작용(ADCP), 보체 활성화 및/또는 보체-의존적 세포독성(CDC)의 유도를 초래하지 않거나 또는 실질적으로 감소시키지 않는다. 다른 변형에서, 본 개시내용의 융합 단백질은 ADCC 및 CDC 중 하나 또는 둘 다와 같은 하나 이상의 효과기 기능을 보유하는 불변 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 결합 도메인은 인간 IgG1 불변 영역에 융합되되, IgG1 불변 영역은 다음의 돌연변이된 아미노산 중 하나 이상을 갖는다: 234번 위치에서 류신(L234), 235번 위치에서 류신(L235), 237번 위치에서 글리신(G237), 318번 위치에서 글루타메이트(E318), 320번 위치에서 라이신(K320), 322번 위치에서 라이신(K322), 또는 이들의 임의의 조합(EU에 따른 넘버링). 예를 들어, 이들 아미노산 중 임의의 하나 이상은 알라닌으로 바꿀 수 있다. 추가 실시형태에서, IgG1 Fc 도메인은 L234, L235, G237, E318, K320 및 K322(EU 넘버링에 따름) 각각이 알라닌으로 돌연변이되고(즉, 각각 L234A, L235A, G237A, E318A, K320A 및 K322A), 선택적으로 N297A 돌연변이도 갖는다(즉, CH2 도메인의 글리코실화를 본질적으로 제거함).

[0044] 용어 "경쇄 가변 영역"("경쇄 가변 도메인" 또는 "$V_L$"로도 지칭됨) 및 "중쇄 가변 영역"("중쇄 가변 도메인" 또는 "$V_H$"로도 지칭됨)은 각각 항체 경쇄 및 중쇄로부터의 가변 결합 영역을 지칭한다. 가변 결합 영역은 "상보성 결정 영역"(CDR) 및 "프레임워크 영역"(FR)으로 알려진 별개의, 잘 규정된 하위영역으로 구성된다. 일 실시형태에서, FR은 인간화된다. 용어 "CL"은 "면역글로불린 경쇄 불변 영역" 또는 "경쇄 불변 영역", 즉, 항체 경쇄로부터의 불변 영역을 지칭한다. 용어 "CH"는 항체 아이소타입에 따라서 CH1, CH2 및 CH3(IgA, IgD, IgG), 또는 CH1, CH2, CH3 및 CH4 도메인(IgE, IgM)으로 추가로 나눌 수 있는 "면역글로불린 중쇄 불변 영역" 또는 "중쇄 불변 영역"을 지칭한다. "Fab"(단편 항원 결합)는 항원에 결합하는 항체의 부분이고, 쇄간 이황화결합을 통해 경쇄에 연결된 중쇄의 가변 영역 및 CH1 도메인을 포함한다.

[0045] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "링커"는 일반적으로 폴리펩타이드의 두 하위-도메인을 연결하는 짧은 폴리펩타이드 서열을 지칭한다. 링커의 비제한적 예는 글리신-세린 반복부를 포함하는 가요성 링커, 및 (a) 막관통 단백질(예를 들어, I형 막관통 단백질)의 도메인간 영역; 또는 (b) 면역글로불린 힌지로부터 유래된 링커를 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는, 얻어진 폴리펩타이드가 동일한 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 동일한 표적 분자에 대해 특이적 결합 친화도를 보유하도록 2개의 하위-결합 도메인의 상호작용과 양립 가능한 스페이서 기능을 제공한다. 특정 실시형태에서, 링커는 5개 내지 약 35개의 아미노산, 예를 들어, 약 15개 내지 약 25개의 아미노산으로 이루어진다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 어구 "CH3과 CH1 또는 CL 사이의 링커"는 CH3 도메인의 C-말단(예를 들어, 야생형 CH3 또는 돌연변이된 CH3)과 CH1 도메인 또는 CL 도메인의 N-말단(예를 들어, Cκ) 사이의 하나 이상의 아미노산 잔기(예를 들어, 약 2 내지 12, 약 2 내지 10, 약 4 내지 10, 약 5 내지 10, 약 6 내지 10, 약 7 내지 10, 약 8 내지 10, 약 9 내지 10, 약 8 내지 12, 약 9 내지 12, 또는 약 10 내지 12개)를 지칭한다.

[0046] 일부 실시형태에서, 문맥에 따라, 링커는 (1) 단일쇄 Fv(scFv)에서 $V_H$와 $V_L$ 영역 사이의 폴리펩타이드 영역 또는 (2) 두 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 폴리펩타이드에서 제1 결합 도메인과 제2 결합 도메인 사이의 폴리펩타이드 영역을 지칭할 수 있다. 후자의 예에서, 링커는 둘 이상의 결합 도메인을 연결하며, 이러한 링커는 본 명세서에서 "Fc-결합 도메인 링커"로 지칭된다. 일부 실시형태에서, Fc-결합 도메인 링커는 둘 이상의 결합 도메인을 직접 연결하여, 다음의 구조를 포함하는 작제물을 생성할 수 있다: 결합 도메인 - Fc-결합 도메인 링커 - 결합 도메인. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 다중특이성 폴리펩타이드는, 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로 (i) 제1 결합 도메인, (ii) Fc-결합 도메인 링커, 및 (iii) 제2 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 폴리펩타이드는 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로 (i) 제2 결합 도메인, (ii) Fc-결합 도메인 링커, 및 (iii) 제1 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc-결합 도메인 링커는 적어도 하나의 결합 도메인을 비-결합 도메인 폴리펩타이드, 예컨대, 면역글로불린 Fc 도메인에 연결함으로써 둘 이상의 결합 도메인을 연결할 수 있다(즉, 다음의 구조를 포함하는 폴리펩타이드: Ig 힌지 - Ig 불변 영역). 이러한 실시형태에서, 얻어진 작제물은 다음의 구조를 포함할 수 있다: 결합 도메인 - Fc 도메인 - Fc-결합 도메인 링커 - 결합 도메인. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 다중특이성 폴리펩타이드는, 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로: (i) 제1 결합 도메인, (ii) 힌지 영역, (iii) 면역글로불린 불변 영역, (iv) Fc-결합 도메인 링커, 및 (v) 제2 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 폴리펩타이드는, 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로 (i) 제2 결합 도메인, (ii) Fc-결합 도메인 링커, (iii) 면역글로불린 불변 영역, (iv) 힌지 영역, 및 (v) 제1 결합 도메인을 포함한다. 두 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 폴리펩타이드에서 면역글로불린 불변 영역과 제2 결합 도메인 사이의 폴리펩타이드 영역(예를 들어, Fc-결합 도메인 링커)은 또한 다중특이성 폴리펩타이드 내의 도메인의 배향에 따라서 "카복시-말단 링커" 또는 "아미노-말단 링커"로도 지칭될 수 있다. 링커의 비제한적 예는 표 1에 제공된다.

[0047] 일부 실시형태에서, "힌지" 또는 "힌지 영역"은 면역글로불린 힌지 영역으로부터 유래되고 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드에서 결합 도메인과 면역글로불린 불변 영역 사이에 위치된 폴리펩타이드를 지칭한다. "야생형 면역글로불린 힌지 영역"은 항체 중쇄에서 발견되는 (IgG, IgA 및 IgD에 대해) CH1과 CH2 도메인 사이에 개재되거나 이들을 연결하거나, 또는 (IgE 및 IgM에 대해) CH1과 CH3 도메인 사이에 개재되거나 이들을 연결하는 천연 유래의 상부 및 중간 힌지 아미노산 서열을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 야생형 면역글로불린 힌지 영역 서열은 인간이고, 인간 IgG 힌지 영역(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 힌지 영역)을 포함할 수 있다.

[0048] "변경된 면역글로불린 힌지 영역" 또는 "변이체 면역글로불린 힌지 영역"은 대응하는 모 야생형 면역글로불린 힌지 영역에 비해서 하나 이상의 돌연변이, 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 힌지 영역 폴리펩타이드를 지칭한다. 특정 실시형태에서, 변경된 면역글로불린 힌지 영역은 야생형 면역글로불린 힌지 영역과 적어도 약 70% 동일(예를 들어, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일)하다. 특정 실시형태에서, 변경된 면역글로불린 힌지 영역은 약 5개의 아미노산(예를 들어, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20개 이상의 아미노산) 내지 최대 약 120개의 아미노산 길이를 갖는(예를 들어, 약 10 내지 약 40개의 아미노산 또는 약 15 내지 약 30개의 아미노산 또는 약 15 내지 약 20개의 아미노산 또는 약 20 내지 약 25개의 아미노산 길이를 가짐) 야생형 면역글로불린 힌지 영역의 단편이다. 전형적으로, 야생형 면역글로불린 힌지 영역의 단편인 변경된 면역글로불린 힌지 영역은 미국 특허 공개 제2013/0129723호 및 제2013/0095097호에 개시된 바와 같은 IgG 코어 힌지 영역(예를 들어, 서열 C-X-X-C를 포함하는 폴리펩타이드, 여기서, X는 임의의 아미노산(서열번호 390)임)을 포함한다. 힌지의 비제한적 예는 표 2에 제공된다.

[0049] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "인간화된"은 인간에 대해 덜 면역원성인 한편, 유전자 조작 기법을 이용하여 본래 항체의 항원-결합 특성을 여전히 보유하는 비인간 종(예를 들어, 마우스 또는 래트)으로부터 유래된 항체 또는 면역글로불린 결합 단백질 및 폴리펩타이드의 제조 방법을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 면역글로불린 결합 단백질 및 폴리펩타이드의 결합 도메인(들)(예를 들어, 경쇄 및 중쇄 가변 영역, Fab, scFv)은 인간화된다. 비인간 결합 도메인은 CDR 접합(Jones *et al.*, Nature 321:522 (1986)) 및 이의 변이체, 예를 들어, "정형(reshaping)"(Verhoeyen, *et al.*, 1988 Science 239:1534-1536; Riechmann, *et al.*, 1988 Nature 332:323-337; Tempest, *et al.*, Bio/Technol 1991 9:266-271), "초키메라화(hyperchimerization)"(Queen, *et al.*, 1989 Proc Natl Acad Sci USA 86:10029-10033; Co, *et al.*, 1991 Proc Natl Acad Sci USA 88:2869-2873; Co, *et al.*, 1992 J Immunol 148:1149-1154), 및 "베니어링(veneering)"(Mark, *et al.*, "Derivation of therapeutically active humanized and veneered anti-CD18 antibodies." In: Metcalf BW, Dalton BJ, eds. Cellular adhesion: molecular definition to therapeutic potential. New York: Plenum Press, 1994: 291-312)으로 알려진 기법을 이용하여 인간화될 수 있다. 비-인간 공급원으로부터 유래된다면, 항체 또는 면역글로불린 결합 단백질 및 폴리펩타이드의 다른 영역, 예컨대, 힌지 영역 및 불변 영역 도메인은 또한 인간화될 수 있다.

[0050] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "면역글로불린 이량체화 도메인" 또는 "면역글로불린 이형이량체화 도메인"은 제2 폴리펩타이드 쇄의 상이한 면역글로불린 도메인과 우선적으로 상호작용 또는 회합하는 폴리펩타이드 쇄의 면역글로불린 도메인을 지칭하되, 상이한 면역글로불린 이형이량체화 도메인의 상호작용은 제1 폴리펩타이드와 제2 폴리펩타이드 쇄의 이형이량체화(즉, "이형이량체"로도 지칭되는 두 상이한 폴리펩타이드 쇄 사이의 이량체 형성)에 실질적으로 기여하거나 이를 효율적으로 촉진시킨다. 면역글로불린 이형이량체화 도메인 사이의 상호작용은 제1 폴리펩타이드 쇄의 면역글로불린 이형이량체화 도메인 및/또는 제2 폴리펩타이드 쇄의 면역글로불린 이형이량체화 도메인의 부재 하에 제1 폴리펩타이드와 제2 폴리펩타이드 사이의 이량체화의 통계적으로 유의미한 감소가 있다면, 제1 폴리펩타이드와 제2 폴리펩타이드의 이형이량체화에 "실질적으로 기여하거나 또는 이를 효율적으로 촉진시킨다". 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄와 제2 폴리펩타이드 쇄가 공동발현될 때, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄의 적어도 60%, 적어도 약 60% 내지 약 70%, 적어도 약 70% 내지 약 80%, 적어도 80% 내지 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99%는 서로 이형이량체를 형성한다. 대표적인 면역글로불린 이형이량체화 도메인은 본 명세서에 제공된 바와 같은 면역글로불린 CH1 도메인, 면역글로불린 CL 도메인(예를 들어, Cκ 또는 Cλ 아이소타입), 또는 이들의 유도체, 예를 들어, 야생형 면역글로불린 CH1 및 CL 도메인 및 변경된(또는 돌연변이된) 면역글로불린 CH1 및 CL 도메인을 포함한다.

[0051] 용어 환자 및 대상체는 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "필요로 하는 환자" 또는 "필요로 하는 대상체"는 본 명세서에 제공된 결합 단백질 또는 다중특이성 폴리펩타이드 또는 이들의 조성물에 의해 치료 또는 개선될 수 있는 질환, 장애 또는 병태의 위험에 있거나, 이를 앓고 있는 환자 또는 대상체를 지칭한다. "환자"와 "대상체"는 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용된다.

[0052] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "약제학적으로 허용 가능한"은 당업계에 잘 공지된 경로를 이용하여 투여될 때 알레르기 또는 다른 심각한 유해반응을 일반적으로 생성하지 않는 분자 독립체 및 조성물을 지칭한다. 연방정부 또는 주정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 또는 미국 약전 또는 동물에서의 사용을 위해 일반적으로 인식되는 기타 약전에 의해 열거된 분자 독립체 및 조성물은 "약제학적으로 허용 가능한" 것으로 간주된다.

[0053] 본 명세서에서 사용되는 용어 "핵산", "핵산 분자" 또는 "폴리뉴클레오타이드"는 단일- 또는 이중 가닥 형태로 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 및 이들의 중합체를 지칭한다. 구체적으로 제한되지 않는 한, 상기 용어는 참조 핵산과 유사한 결합 특성을 갖고 천연 유래 뉴클레오타이드와 유사한 방식으로 대사된 천연 뉴클레오타이드의 핵산 함유 유사체를 포함한다. 달리 표시되지 않는 한, 특정 핵산 서열은 또한 상보적으로 변형된 이의 변이체(예를 들어, 축퇴 코돈 치환) 및 상보성 서열뿐만 아니라 분명하게 표시된 서열을 절대적으로 포함한다. 구체적으로는, 축퇴 코돈 치환은 하나 이상의 선택된(또는 모든) 코돈의 세 번째 위치가 혼합-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환되는 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다(Batzer *et al.* (1991) *Nucleic Acid Res.* 19:5081; Ohtsuka *et al.* (1985) *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608; Cassol *et al.* (1992); Rossolini *et al.* (1994) *Mol. Cell. Probes* 8:91-98). 용어 핵산은 유전자, cDNA, 및 유전자에 의해 암호화된 mRNA와 상호 호환적으로 사용된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "핵산", "핵산 분자" 또는 "폴리뉴클레오타이드"는 뉴클레오타이드 유사체, 및 유도체, 단편 및 상동체를 이용하여 생성된 DNA 또는 RNA의 유사체, DNA 분자(예를 들어, cDNA 또는 게놈 DNA), RNA 분자(예를 들어, mRNA)를 포함하는 것으로 의도된다.

[0054] 용어 "발현"은 핵산에 의해 암호화된 생성물의 생합성을 지칭한다. 예를 들어, 관심의 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 세그먼트의 경우에, 발현은 핵산 세그먼트의 mRNA로의 전사 및 mRNA의 하나 이상의 폴리펩타이드로의 번역을 수반한다.

[0055] 용어 "발현 단위"와 "발현 카세트"는 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되고, 관심의 폴리펩타이드를 암호화하고 숙주 세포에서 핵산 세그먼트의 발현을 제공할 수 있는 핵산 세그먼트를 의미한다. 발현 단위는 전형적으로 전사 프로모터, 관심의 폴리펩타이드를 암호화하는 오픈 리딩 프레임, 및 전사 종결자를 모두 작동 가능한 입체배치로 포함한다. 전사 프로모터 및 종결자에 추가로, 발현 단위는 다른 핵산 세그먼트, 예컨대, 인핸서 또는 폴리아데닐화 신호를 추가로 포함할 수 있다.

[0056] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "발현 벡터"는 하나 이상의 발현 단위를 포함하는 선형 또는 원형의 핵산 분자를 지칭한다. 하나 이상의 발현 단위에 추가로, 발현 벡터는 또한 추가적인 핵산 세그먼트, 예컨대, 하나 이상의 복제기점 또는 하나 이상의 선택 가능한 마커를 포함할 수 있다. 발현 벡터는 일반적으로 플라스미드 또는 바이러스 DNA로부터 유래되거나, 또는 둘 다의 요소를 포함할 수 있다.

[0057] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, "폴리펩타이드", "폴리펩타이드 쇄" 또는 "단백질"은 공유적으로 연결된 아미노산의 인접한 배열을 지칭한다. 폴리펩타이드는 하나 이상의 쇄내 이황화결합을 형성할 수 있다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 폴리펩타이드에 대해, 서열번호에 의해 명시되는 것에 대응하는 아미노산 잔기의 변형 또는 변경에 대한 언급은 이러한 잔기의 번역 후 변형을 포함한다. 용어 폴리펩타이드 및 단백질은 또한 비선형 방식으로, 예컨대 쇄간 이황화결합을 통해 두 폴리펩타이드쇄가 함께 연결되는 실시형태를 포함한다. 예를 들어, 천연 면역글로불린 분자는 2개의 중쇄 폴리펩타이드 및 2개의 경쇄 폴리펩타이드로 이루어진다.

[0058] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "다중특이성 폴리펩타이드"는 표적 항원에 각각 특이적으로 결합할 수 있는 둘 이상의 결합 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 지칭한다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드는 2, 3, 4개 이상의 결합 도메인을 포함할 수 있고, 2, 3, 4개 이상의 표적 항원에 결합할 수 있다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 폴리펩타이드는 이중특이성 폴리펩타이드이다. 본 명세서의 "이중특이성 폴리펩타이드"는 2개의 결합 도메인을 포함하고, 2개의 별개의 표적 항원에 결합할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 이중특이성 폴리펩타이드는 표적 세포 상에서 발현된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 제1 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 이중특이성 폴리펩타이드는 효과기 세포 상에서 발현된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함한다. 결합 도메인은 항체(예를 들어, 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄 변화, scFv), 리간드 또는 수용체로부터 유래될 수 있다.

[0059] 다중특이성 폴리펩타이드는, 예를 들어, PCT 공개 WO 2007/146968; WO 2010/040105; WO 2010/003108; WO 2016/094873; WO 2017/053469; 미국 특허 공개 제2006/0051844호; 및 미국 특허 제7,166,707호; 및 제8,409,577호에 개시되며, 이들은 각각 본 명세서에 이들의 전문이 참조에 의해 원용된다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 다중특이성 폴리펩타이드는 이중특이성 폴리펩타이드이고, 본 명세서에서 ADAPTIR™ 폴리펩타이드로도 지칭되는 scFv-Fc-scFv 구조를 포함할 수 있다. 이러한 구조를 포함하는 폴리펩타이드의 구조는, N-말단에서 C-말단으로, 제1 scFv 결합 도메인 - 면역글로불린(Ig) 힌지 영역 - Ig 불변 영역 - 제2 scFv 결합 도메인을 포함한다.

[0060] 단백질 또는 폴리펩타이드는 항체 또는 항체의 항원-결합 단편일 수 있다. 일부 실시형태에서, 단백질은 재조합 다중특이성 단백질일 수 있다. 다른 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 두 상이한 단클론성 항체를 화학적으로 연결함으로써 또는 두 하이브리도마 세포주를 융합시킴으로써 생성되어 혼성-하이브리도마를 생성할 수 있다. 사용될 수 있는 다른 다가 형식은, 예를 들어, 쿼드로마, Kλ-바디, dAb, 다이어바디, TandAb, 나노바디, 스몰 모듈 이뮤노파마슈티컬스(Small Modular ImmunoPharmaceutials: SMIPs™), DOCK-AND-LOCKs®(DNLs®), CrossMab Fab, CrossMab VH-VL, 가닥-교환 조작된 도메인 바디(SEEDbodies), 애피바디, 파이노머(Fynomer), Kunitz 도메인, Albu-dab, 교환된 VH를 갖는 2개의 조작된 Fv 단편(예를 들어, 이중-친화도 재표적화 분자(D.A.R.T.s)), scFv×scFv(예를 들어, BiTE), DVD-IG, Covx-바디, 펩티바디, scFv-Ig, SVD-Ig, dAb-Ig, 노브-인-홀, CH3 도메인에 매칭 돌연변이를 포함하는 IgG1 항체(예를 들어, DuoBody 항체) 및 triomAb를 포함한다. 예시적인 이중특이성 형식은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 원용된 문헌[Garber et al., Nature Reviews Drug Discovery 13:799-801 (2014)]에 논의되어 있다. 추가적인 예시적인 이중특이성 형식은 문헌[Liu et al. Front. Immunol. 8:38 doi: 10.2289/fimmu.2017.00038, 및 Brinkmann and Kontermann, MABS 9: 2, 182-212 (2017)]에서 논의되며, 이들 각각은 본 명세서에 이의 전문이 참조에 의해 원용된다. 특정 실시형태에서, 이중특이성 항체는 F(ab')2 형식일 수 있다. F(ab')2 단편은 힌지 영역에서 이황화결합에 의해 연결된 사량체 항체

분자의 2개의 항원-결합 아암을 포함한다.

[0061] 당업자에 의해 인식될 바와 같이, 단백질 및 폴리펩타이드는 본 개시내용 전체적으로 언급되는 서열번호로 표시되는 개개 폴리펩타이드 쇄의 아미노산 서열에 관해 본 명세서에 정의된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서 본 명세서에 기재된 scFv-Fc-scFv 단백질 또는 폴리펩타이드는 쇄간 결합(예를 들어, 쇄간 이황화결합)에 의해 회합된 2개의 scFv-Fc-scFv 폴리펩타이드 쇄로 이루어져서 이량체 scFv-Fc-scFv 단백질(예를 들어, 동형이량체 또는 이형이량체 scFv-Fc-scFv 단백질)을 형성한다. 이러한 실시형태에서, scFv-Fc-scFv 단백질은 개개 scFv-Fc-scFv 폴리펩타이드 쇄의 아미노산 서열에 의해 정해진다. 폴리펩타이드 및 단백질은 또한 비펩타이드 성분, 예컨대, 탄수화물기를 포함할 수 있다. 탄수화물 및 기타 비펩타이드 치환체는 단백질이 생성된 세포에 의해 단백질 또는 폴리펩타이드에 첨가될 수 있고, 세포 유형에 따라 다를 것이다. 단백질 및 폴리펩타이드는 이들의 아미노산 골격 구조에 관해 본 명세서에 정의되며; 탄수화물기와 같은 치환체는 일반적으로 명시되지 않지만, 그럼에도 불구하고 존재할 수 있다.

[0062] 용어 "경쇄 가변 영역"("경쇄 가변 도메인" 또는 "VL" 또는 $V_L$로도 지칭됨) 및 "중쇄 가변 영역"("중쇄 가변 도메인" 또는 "VH" 또는 $V_H$로도 지칭됨)은 각각 항체 경쇄 및 중쇄로부터의 가변 결합 영역을 지칭한다. 가변 결합 영역은 아미노-말단에서 카복시-말단으로 일반적으로 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4의 순서로 "상보성 결정 영역"(CDR) 및 "프레임워크 영역"(FR)으로 알려진 별개의 잘 규정된 하위-영역으로 구성된다. 일 실시형태에서, FR은 인간화된다. 용어 "CL"은 "면역글로불린 경쇄 불변 영역" 또는 "경쇄 불변 영역", 즉, 항체 경쇄로부터의 불변 영역을 지칭한다. 용어 "CH"는 항체 아이소타입에 따라서 CH1, CH2 및 CH3(IgA, IgD, IgG), 또는 CH1, CH2, CH3 및 CH4 도메인(IgE, IgM)으로 추가로 나눌 수 있는 "면역글로불린 중쇄 불변 영역" 또는 "중쇄 불변 영역"을 지칭한다. "Fab"(단편 항원 결합)는 항원에 결합하는 항체의 부분이고, 쇄간 이황화결합을 통해 경쇄에 연결된 중쇄의 가변 영역 및 CH1 도메인을 포함한다.

[0063] 용어 "아미노-말단" 및 "카복시-말단"은 폴리펩타이드 내의 위치를 정하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 문맥이 허용하는 경우, 이들 용어는 근위 또는 상대 위치를 나타내기 위해 특정 서열 또는 폴리펩타이드의 부분과 관련하여 사용된다. 예를 들어, 폴리펩타이드 내의 참조 서열에 대해 카복시-말단에 위치된 특정 서열은 참조 서열의 카복시-말단에 대해 근위에 위치되지만, 반드시 완전한 폴리펩타이드의 카복시-말단에 있지는 않다.

[0064] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "형질전환", "형질감염" 및 "형질도입"은 세포 내로의 핵산(즉, 뉴클레오타이드 중합체)의 전달을 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "유전자 형질전환"은 DNA, 특히 재조합 DNA의 세포 내로의 전달 및 혼입을 지칭한다. 전달된 핵산은 발현 벡터를 통해 세포 내로 도입될 수 있다.

[0065] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "항체-의존적 세포-매개 세포독성" 및 "ADCC"는 FcγR(예를 들어, 단핵구 세포, 예컨대, 자연살해(NK) 세포 및 대식세포)을 발현시키는 비특이적 세포독성 세포가 표적 세포 상에서 결합 항체(또는 FcγR에 결합할 수 있는 다른 단백질)를 인식하고, 후속적으로 표적 세포의 용해를 야기하는 세포-매개 과정을 지칭한다. 원칙적으로, 활성화 FcγR을 갖는 임의의 효과기 세포는 ADCC를 매개하도록 촉발될 수 있다. ADCC를 매개하기 위한 1차 세포는 FcγRIII만을 발현시키는 NK 세포인 반면, 활성화, 국소화 또는 분화 상태에 따라서, 단핵구는 FcγRI, FcγRII 및 FcγRIII을 발현시킬 수 있다. 조혈 세포 상에서 FcγR 발현의 검토를 위해, 예를 들어, 문헌[Ravetch et al., 1991, Annu. Rev. Immunol., 9:457-92]을 참조한다.

[0066] 폴리펩타이드 또는 단백질에 관해 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "ADCC 활성을 갖는"은, 폴리펩타이드 또는 단백질, 예를 들어, Fc 도메인을 포함하는 것(예를 들어, CH2 및 CH3 도메인을 갖는 면역글로불린 힌지 영역 및 면역글로불린 불변 영역), 예컨대 IgG로부터 유래된 것(예를 들어, IgG1)이 Fc 수용체를 발현시키는 세포용해 면역 효과기 세포(예를 들어, NK 세포) 상에서의 세포용해 Fc 수용체(예를 들어, FcγRIII)의 결합을 통해 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC)을 매개할 수 있다는 것을 의미한다. 일부 실시형태에서, Fc 도메인을 포함하는 다중특이성 폴리펩타이드 또는 단백질은 CH2 및/또는 CH3 도메인에서 돌연변이의 결과로서 효과기 기능(예를 들어, 삭제(null) ADCC 활성)을 결여할 수 있다.

[0067] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "보체-의존적 세포독성" 및 "CDC"는 항체 또는 표적 항원에 결합된 다른 C1q-보체-결합 단백질과 함께 정상 혈청("보체") 중 성분이 표적 항원을 발현시키는 표적 세포의 용해를 나타내는 과정을 지칭한다. 보체는 이들의 효과를 발휘하기 위해 협력하고 질서 있는 순서로 작용하는 혈청 단백질의 그룹으로 이루어진다.

[0068] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "고전적 보체 경로"와 "고전적 보체 시스템"은 동의어이며, 보체의 활성화를 위한 특정 경로를 지칭한다. 고전적 경로는 저해를 위해 항원-항체 복합체를 필요로 하며, 질서 있는 방식

으로 C1 내지 C9로 표기되는 9가지 주요 단백질 성분의 활성화를 수반한다. 활성화 과정에서의 몇 단계를 위해, 생성물은 후속 단계를 촉매하는 효소이다. 이 캐스케이드는 상대적으로 작은 초기 신호에 의해 다량의 상보체의 증폭 및 활성화를 제공한다.

[0069] 폴리펩타이드 또는 단백질에 관해 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "CDC 활성을 갖는"은, 폴리펩타이드 또는 단백질, 예를 들어, Fc 도메인을 포함하는 것(예를 들어, CH2 및 CH3 도메인을 갖는 면역글로불린 힌지 영역 및 면역글로불린 불변 영역), 예컨대 IgG로부터 유래된 것(예를 들어, IgG1)이 C1q 보체 단백질의 결합 및 고전적 보체 시스템의 활성화를 통해 보체-의존적 세포독성(CDC)을 매개할 수 있다는 것을 의미한다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 폴리펩타이드 또는 단백질은 CH2 및/또는 CH3 도메인에서 하나 이상의 돌연변이의 결과로서 효과기 기능(예를 들어, 삭제 CDC 활성)을 결여할 수 있다.

[0070] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "향상된 효과기 세포 활성화"는 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질에 의한 효과기 세포 반응의 증가, 연장 및/또는 강화 작용을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 향상된 효과기 세포 활성화는 효과기 세포의 세포독성 활성 증가를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 향상된 효과기 세포 활성화는 표적 세포를 용해하는 효과기 세포의 능력이 향상되도록 세포 표면 분자 발현에서의 사이토카인 생성, 세포 증식 또는 변화의 증가를 지칭한다.

[0071] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "효과기 세포"는 표적 세포, 예컨대, 종양 세포를 용해 또는 사멸시킬 수 있는 면역계의 세포를 지칭한다. 본 명세서에서, 효과기 세포는 림프구, 예컨대, T 세포, 자연살해(NK) 세포 또는 NKT 세포, 단핵구, 대식세포, 수지상 세포 또는 과립구를 지칭할 수 있다. 특정 실시형태에서, 용어 효과기 세포는 T 세포, NK 세포 또는 NKT 세포를 지칭한다.

[0072] 본 명세서에서 사용되는 용어 "치료", "치료하는" 또는 "개선시키는"은 치료적 치료 또는 예방적/방지적 치료 중 하나를 지칭한다. 치료를 받는 개체에서의 질환의 적어도 하나의 증상이 개선되거나 또는 치료가 개체에서의 진행성 질환의 악화를 지연시킬 수 있거나, 또는 추가적인 연관된 질환의 발병을 방지한다면, 치료는 치료적이다.

[0073] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "치료적 유효량(또는 용량)" 또는 "효과적인 양(또는 용량)"의 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질 또는 이의 조성물은 기관 기능에서 통계학적으로 유의미한 방식 또는 통계학적으로 유의미한 개선에서 치료 중인 질환의 하나 이상의 증상의 개선을 초래하는 데 충분한 화합물의 양을 지칭한다. 단독으로 투여되는 개개 활성 성분을 언급할 때, 치료적 유효 용량은 성분 단독을 지칭한다. 조성물을 언급할 때, 치료적 유효 용량은 연속적으로 투여되든 또는 동시에 투여되든(동일한 제형으로 또는 별개의 제형으로 병행하여) 치료적 효과를 초래하는 활성 성분의 조합된 양을 지칭한다.

[0074] **약제학적 조성물**

[0075] 특히 냉동 시에, 변성을 방지하고/하거나 응집물의 형성을 방지하거나 실질적으로 감소시키는 단백질 치료제, 예컨대 다중특이성 폴리펩타이드의 안정적인 약제학적 제형이 본 명세서에 기재된다. 치료용 단백질에 추가로, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 완충제, 부형제 및 계면활성제 중 하나 이상을 추가할 수 있다. 일부 실시형태에서, 조성물은 완충제, 부형제 및 계면활성제를 포함하거나, 이들로 이루어지거나, 본질적으로 이루어지되, 다중특이성 단백질은 두 동일한 폴리펩타이드의 이량체이고, 각 폴리펩타이드는, 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로, 또는 카복시-말단에서 아미노-말단의 순서로 (i) 제1 결합 도메인, (ii) 힌지 영역, (iii) 면역글로불린 불변 영역, 및 (iv) 제2 결합 도메인을 포함하고; 완충제는 석신산염 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 산을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0076] 일부 실시형태에서, 조성물은 약 0.1mg/㎖ 내지 약 10mg/㎖의 다중특이성 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 1mg/㎖ 내지 약 5mg/㎖의 다중특이성 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 2mg/㎖의 다중특이성 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 2mg/㎖의 다중특이성 단백질, 약 5mM 석신산염, 약 6.5% 중량/용적(w/v) 수크로스 및 약 0.02% w/v 폴리솔베이트 80을 포함한다.

[0077] 일부 실시형태에서, 조성물은 다중특이성 단백질의 분해를 실질적으로 방지한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 동일한 저장 조건 하에서 히스티딘 완충제 중에 저장된 동일한 다중특이성 폴리펩타이드에 비해서 다중특이성 폴리펩타이드의 분해를 늦추거나 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 조성물은 적어도 1년 동안 4℃에서 실질적으로 안정하다. 일부 실시형태에서, 조성물은 다중특이성 단백질의 응집물 형성에 대해 실질적으로 저항성이다.

[0078] 일부 실시형태에서, 조성물은 냉동 내지 해동 조건을 견딜 수 있다. 일부 실시형태에서, 조성물은 동일한 냉동 내지 해동 조건 하에서 히스티딘 완충제 중에 저장된 다중특이성 폴리펩타이드에 비해서 냉동 내지 해동 저건에

서 다중특이성 폴리펩타이드의 분해를 늦추거나 감소시킨다.

[0079] 다른 실시형태에서, CD123×CD3 표적화 다중특이성 폴리펩타이드는 본 명세서에 개시된 바와 같이 제형화될 때 동결건조 후에 분해를 거의 내지 전혀 겪지 않는다. 예를 들어, CD123×CD3 표적화 다중특이성 폴리펩타이드는 히스티딘 완충제와 함께 제형화된 동일한 폴리펩타이드에 비해서 동결건조 후에 감소된 분해를 나타내는 석신산염 및 수크로스 제형으로 제형화될 수 있다. 또한 TRI130 및 TRI129를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 동결건조된 항-CD123×항-CD3 다중특이성 폴리펩타이드가 본 명세서에 제공되며, 약 5mM 석신산염, 약 6.5% 중량/용적(w/v) 수크로스 및 약 0.02% w/v 폴리솔베이트 80에서 제형화된다. 일부 실시형태에서, 조성물은 동결건조된다.

[0080] *완충제*

[0081] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "완충제" 또는 "완충 제제"는 수용액에 첨가될 때 산 또는 알칼리를 첨가할 때, 또는 용매로 희석 시, pH의 변화에 대해 용액을 보호할 수 있는 하나 이상의 성분을 지칭한다.

[0082] 일부 실시형태에서, 완충제는 임의의 약제학적으로 허용 가능한 완충제를 포함하거나, 이들로 이루어지거나, 또는 본질적으로 이루어진다. 예를 들어, 완충제는 인산칼륨, 아세트산/아세트산나트륨, 시트르산/시트르산나트륨, 석신산/석신산나트륨, 타르타르산/타르타르산나트륨, 히스티딘/히스티딘 HCl, 글리신, Tris, 글루타메이트, 아세테이트, 이들의 혼합물 또는 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 이들의 산일 수 있다. 특정 실시형태에서, 완충제는 석신산염 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 산을 포함하거나, 이들로 이루어지거나, 본질적으로 이루어진다.

[0083] 일부 실시형태에서, 조성물 중 완충제의 농도는 약 1mM 내지 약 500mM, 약 1mM 내지 약 100mM, 약 1mM 내지 약 50mM, 약 1 내지 약 10mM, 약 5mM 내지 약 50mM, 또는 약 5mM 내지 약 20mM, 약 5mM 내지 약 10mM이다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 1mM 내지 약 10mM 석신산염, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 5mM 석신산염, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 산을 포함한다.

[0084] 일부 실시형태에서, 조성물의 pH는 3.0, 3.25, 3.5, 3.75, 4.0, 4.25, 4.5, 4.75, 5.0, 5.25, 5.5, 5.75, 6.0, 6.25, 6.5, 6.75, 7.0, 7.25, 7.5, 7.75, 8.0, 8.25, 8.5, 8.75, 9.0, 9.25, 9.5, 9.75, 10.0, 10.25, 10.5, 10.75, 11.0, 11.25 또는 11.5이다. 일부 실시형태에서, 조성물의 pH는 약 3.0 내지 약 6.0이다. 일부 실시형태에서, 조성물은 pH가 약 4.0 내지 약 5.5이다. 일부 실시형태에서, 조성물의 pH는 약 4.8이다.

[0085] *부형제*

[0086] 본 명세서에 언급되는 바와 같이, 부형제는 조성물의 활성 약제학적 성분과 함께 제형화된 약학적으로 비활성인 물질이다. 부형제는 윤활성, 유동성, 붕괴 또는 맛에 도움을 줄 수 있고, 항미생물 작용의 일부 형태를 부여할 수 있다.

[0087] 본 명세서에 개시된 조성물에 사용될 수 있는 예시적인 부형제는 약제학적 결합제, 희석제, 방출 지연 부형제, 윤활제, 활택제, 기체 생성제, 코팅 시스템, 용매 및 착색제를 포함한다. 적합한 부형제는 문헌[Handbook of Pharmaceutical Excipients, Third Edition, Edited by A. H. Kibbe, American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press (2000)], 및 문헌[E. T. Cole et al., Advanced Drug Delivery Reviews 60 (2008), 747-756]의 표 3 내지 표 5의 부형제로서 언급되는 물질을 포함한다. 예를 들어, 부형제는 폴리프로필렌 글리콜; 폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 피마자유 유도체, 폴리옥시에틸렌 글리세롤 옥시스테아레이트, 포화 폴리글리콜 글리세라이드, 폴리에틸렌 폴리프로필렌 글리콜, 비타민 E, 및 비타민 E TPGS(d-알파 - 토코페릴 폴리에틸렌 글리콜 1000 석신산염)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0088] 일부 실시형태에서, 조성물은 약 1% 중량/용적(w/v) 내지 약 20% w/v, 약 1% w/v 내지 약 10% w/v, 약 5% w/v 내지 약 15% w/v 또는 약 10% w/v의 부형제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 1% w/v 내지 약 12% w/v의 부형제, 예컨대, 약 6.5% w/v의 부형제를 포함한다.

[0089] 일부 실시형태에서, 부형제는 당을 포함하거나, 이들로 이루어지거나, 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 1% w/v 내지 약 12% w/v의 당을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 4% 내지 약 8% w/v의 당을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 6.5% w/v의 당을 포함한다. 일부 실시형태에서, 당은 수크로스이다.

[0090] *계면활성제*

[0091] 본 명세서에 기재된 바와 같은 "계면활성제"는 소수성 부분(예를 들어, 알킬쇄)과 친수성 부분(예를 들어, 카복실 및 카복실레이트 기)을 둘 다 포함하는 표면 활성 분자이다.

[0092] 본 명세서에 기재된 조성물에서 사용하기에 적합한 계면활성제는 폴리솔베이트(예를 들어, 폴리솔베이트 20 또는 80); 폴록사머(예를 들어, 폴록사머 188); 솔비탄 에스터 및 유도체; Triton; 라우릴황산나트륨; 소듐 옥틸글리코사이드; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-설포베타딘; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-사르코신; 리놀레일-, 미리스틸-, 또는 세틸-베타인; 라우르아미도프로필-코라미도프로필-, 리놀레아미도프로필-, 미리스트아미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 아이소스테아르아미도프로필베타인(예를 들어, 라우로아미도프로필); 미리스트아미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 아이소스테아르아미도프로필-다이메틸아민; 소듐 메틸 코코일-, 또는 다이소듐 메틸 올레일-타우레이트); 및 MONAQUAT™ 시리즈(Mona Industries, Inc., 뉴저지주 패터슨 소재), 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필 글리콜, 및 에틸렌과 프로필렌 글리콜의 공중합체(예를 들어, Pluronics, PF68 등)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 특정 실시형태에서, 계면활성제는 폴리솔베이트 80을 포함하거나, 이것으로 이루어진다.

[0093] 일부 실시형태에서, 조성물은 약 0.001% w/v 내지 약 1% w/v, 약 0.01% w/v 내지 약 0.5% w/v, 또는 약 0.01% w/v 내지 약 0.1% w/v의 계면활성제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 0.02% w/v의 계면활성제를 포함한다.

[0094] 일부 실시형태에서, 조성물은 약 0.001% w/v 내지 약 1% w/v, 약 0.01% w/v 내지 약 0.5% w/v, 또는 약 0.01% w/v 내지 약 0.1% w/v의 폴리솔베이트 80을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 0.02% w/v의 폴리솔베이트 80을 포함한다.

[0095] *치료용 단백질*

[0096] 본 명세서에 기재된 조성물은 본 명세서에 기재된 바와 같은 다수의 상이한 단백질 치료제와 함께 사용될 수 있다.

[0097] *결합 도메인*

[0098] 일부 실시형태에서, 치료용 단백질은 결합 도메인을 포함한다. 결합 도메인은 적어도 하나의 세포-표면 분자(예를 들어, 세포-표면 수용체)에 특이적 결합을 제공할 수 있다. 결합 도메인은 항체, 또는 이의 단편, 또는 임의의 다양한 상이한 형식의 융합 단백질 형태일 수 있다(예를 들어, 융합 단백질은 이중특이성 또는 다중특이성 분자의 형태일 수 있다). 다른 실시형태에서, 결합 도메인은 결합 도메인 폴리펩타이드를, 예를 들어, 특정 세포 유형, 독소, 추가적인 세포 수용체, 또는 항체에 표적화하는, 예를 들어, 특정 사이토카인 또는 분자를 포함할 수 있다.

[0099] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 결합 도메인은 항체로부터 유래되고, 가변 중쇄($V_H$) 및 가변 경쇄($V_L$)를 포함한다. 예를 들어, scFv는 $V_H$ 및 $V_L$ 쇄를 포함한다. 이들 결합 도메인 및 가변 쇄는 표적(들)에 일부 결합을 여전히 보유하는 임의의 순서로 배열될 수 있다. 일부 실시형태에서, 결합 도메인은 (i) HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역($V_H$); 및 (ii) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역($V_L$)을 포함한다.

[0100] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 및 단백질은 scFv인 결합 도메인을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 결합 도메인은 scFv 도메인으로 지칭될 수 있다. 일부 실시형태에서, 결합 도메인은 관심의 표적에 특이적인 $V_H$ 및 $V_L$ 영역을 포함하는 단일쇄 Fv 단편(scFv)이다. 특정 실시형태에서, $V_H$ 및 $V_L$ 영역은 인간이거나 인간화된다. 일부 변형에서, 결합 도메인은 펩타이드 링커에 의해 결합된 $V_L$ 및 $V_H$ 영역을 포함하는 단일쇄 Fv(scFv)이다.

[0101] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드의 결합 도메인은 (i) CDR LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역($V_L$), 및 (ii) CDR HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역($V_H$)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드 작제물에 제공되는 아미노산 서열은 인간 면역글로불린 리더 서열을 포함하지 않는다. CDR 서열 및 나타낸 아미노산 치환 위치는 IMGT 기준을 이용하여 정해진 것이다(Brochet et al, Nucl. Acids Res. (2008) 36, W503-508).

[0102] 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 결합 도메인 $V_L$ 및/또는 $V_H$ 영역은 모 $V_L$ 및/또는 $V_H$ 영역의 $V_L$ 및/또는 $V_H$로부터 유래되고(예를 들어, PCT 공개 WO 2016/185016에 기재된 바와 같은 1618/1619), 선택적으로, 알려진 단클론성 항체의 $V_L$ 및/또는 $V_H$ 서열에 비해서, 약 하나 이상의(예를 들어, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의) 삽입, 약 하나 이상의(예를 들어, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의) 결실, 약 하나 이상의(예를 들어, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의) 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환 또는 비보존적 아미노산 치환), 또는 상기 언급한 변화의 조합을 포함한다. 삽입(들), 결실(들) 또는 치환(들)은 아미노- 또는 카복시-말단 또는 이 영역의 단부 둘 다에서를 포함하는 $V_L$ 및/또는 $V_H$ 영역 어디에서나 있을 수 있으며, 단, 각각의 CDR은 0개의 변화 또는 1, 2 또는 3개 이하의 변화를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형된 $V_L$ 및/또는 $V_H$ 영역을 포함하는 결합 도메인은 여전히 모 결합 도메인과 유사하거나 더 큰 친화도로 이의 표적에 특이적으로 결합할 수 있다.

[0103] $V_L$ 및 $V_H$ 영역에 결합하기 위한 펩타이드 링커의 사용은 당업계에 잘 공지되어 있으며, 다수의 간행물이 본 특정 분야에 존재한다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(서열번호 128) 아미노산 서열 $((Gly_4Ser)_3)$(서열번호 59)의 3개의 반복부로 이루어진 15량체이다. 다른 링커가 사용되었고, 적절한 링커 서열을 다양화 및 선택하기 위해 파지 디스플레이 기술뿐만 아니라 선택적 감염 파지 기술이 사용되었다(Tang *et al.*, *J. Biol. Chem.* 271, 15682-15686, 1996; Hennecke *et al.*, *Protein Eng.* 11, 405-410, 1998). 특정 실시형태에서, $V_L$ 및 $V_H$ 영역은 식 $(Gly_4Ser)_n$을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 펩타이드 링커에 의해 결합되되, n = 1 내지 5이다(서열번호 129). 예를 들어, 일부 실시형태에서, 링커는 $(Gly4Ser)_4$(서열번호 61)를 포함한다. 다른 적합한 링커는 무작위 돌연변이유발을 통해 단순한 링커를 최적화함으로써 얻을 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 scFv의 $V_H$ 영역은 링커 서열에 대해 N-말단에 위치될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 scFv의 $V_L$ 영역은 링커 서열에 대해 C-말단에 위치될 수 있다.

[0104] 일부 실시형태에서, 결합 도메인은 종양 항원, 예컨대, CD123, PSMA, CD19, CD33, 5T4 또는 HER2에 결합할 수 있다. 일부 실시형태에서, 결합 도메인은 CD3 결합 도메인일 수 있다. 일부 실시형태에서, 결합 도메인은 4-1-BB에 결합할 수 있다. 일부 실시형태에서, 결합 도메인은 OX40에 결합할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형화된 다중특이성 단백질은 4-1BB와 OX40 둘 다에 결합한다.

[0105] *힌지*

[0106] 결합 도메인에 추가로, 치료 폴리펩타이드는 힌지 영역을 더 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 힌지는, 야생형 면역글로불린 힌지 영역에서 하나 이상의 시스테인 잔기가 하나 이상의 다른 아미노산 잔기(예를 들어, 세린 또는 알라닌)로 치환되는 변경된 면역글로불린 힌지이다. 예시적인 변경된 면역글로불린 힌지, 카복시-말단 링커 및 아미노-말단 링커는 1, 2 또는 3개의 상이한 아미노산 잔기(예를 들어, 세린 또는 알라닌)로 치환된 야생형 인간 IgG1 힌지에서 발견되는 1, 2 또는 3개의 시스테인 잔기를 갖는 면역글로불린 인간 IgG1 힌지 영역을 포함한다. 변경된 면역글로불린 힌지는 다른 아미노산(예를 들어, 세린 또는 알라닌)으로 치환되는 프롤린을 추가로 가질 수 있다. 예를 들어, 위에서 기재한 변경된 인간 IgG1 힌지는 다른 아미노산 잔기(예를 들어, 세린, 알라닌)로 치환되는 야생형 인간 IgG1 힌지 영역의 3개의 시스테인에 대해 카복시-말단에 위치된 프롤린을 추가로 가질 수 있다. 일 실시형태에서, 코어 힌지 영역의 프롤린은 치환되지 않는다. 특정 실시형태에서, 힌지, 카복시-말단 링커 또는 아미노-말단 링커 폴리펩타이드는 야생형 면역글로불린 힌지 영역, 예컨대, 야생형 인간 IgG1 힌지, 야생형 인간 IgG2 힌지 또는 야생형 인간 IgG4 힌지와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나, 이러한 서열이다.

[0107] *면역글로불린 불변 도메인*

[0108] 치료용 단백질은 또한 면역글로불린 불변(Fc) 도메인(본 명세서에서 불변 영역, Fc 도메인, Fc 영역 등으로 지칭됨)을 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 불변 영역은 IgG CH2 및 CH3 도메인, 예를 들어, IgG1 CH2 및 CH3 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 불변 영역은 CH1 도메인을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 인간 Fc 도메인이다. 일부 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 FcγR1, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIa 및 FcγRIIIb에 대한 결합을 감소시키거나 방지하기 위해 야생형 면역글로불린 불변 영역에

비해서 1, 2, 3개 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 불변 영역을 구성하는 불변 도메인을 구성하는 불변 도메인은 인간이거나 또는 인간 서열로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, Fc 도메인은 보체 고정 및 Fcɣ 수용체와의 상호작용을 감소 또는 방지하기 위해 Fc 영역에 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 Fc-매개 T-세포 활성화를 방지하거나 또는 감소시키기 위해 야생형 면역글로불린 불변 영역에 비해서 1, 2, 3개 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 CDC 활성을 방지하거나 또는 감소시키기 위해 야생형 면역글로불린 불변 영역에 비해서 1, 2, 3개 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 ADCC 활성을 방지하거나 또는 감소시키기 위해 야생형 면역글로불린 불변 영역에 비해서 1, 2, 3개 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0109] 일부 실시형태에서, Fc 영역은 EU 넘버링 시스템에 따라, CH2 도메인의 234, 235, 237 및 322번 위치에서 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 도메인은 EU 넘버링 시스템에 따라 CH2 도메인의 234, 235, 237, 318, 320 및 322번 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 도메인은 EU 넘버링 시스템에 따라 CH2 도메인의 돌연변이 L234A, L235A, G237A 및 K322A를 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 도메인은 EU 넘버링 시스템에 따라 CH2 도메인의 돌연변이 L234A, L235A, G237A, E318A, K320A 및 K322A를 포함한다. 일부 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 EU 넘버링 시스템에 따라 치환 E233P, L234A, L235A, G237A 및 K322A, 및 G236의 결실을 포함하는 인간 IgG1 CH2 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 도메인은 인간 IgG1로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, IgG1 Fc 도메인에서 둘 이상의 돌연변이는 Fc-매개 가교를 통해 신호 전달을 방지하거나 실질적으로 감소시킨다.

[0110] 일부 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 서열번호 32 내지 35 중 임의의 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 변이체를 포함한다. 면역글로불린 불변 영역의 포함은 대상체에 대한 투여 후 순환으로부터의 본 개시내용의 폴리펩타이드 및 단백질의 제거를 늦춘다. 돌연변이 또는 다른 변경에 의해, 면역글로불린 불변 영역은 폴리펩타이드 효과기 기능(예를 들어, ADCC, ADCP, CDC, 보체 고정, 및 Fc 수용체에 대한 결합)의 상대적으로 용이한 조절을 추가로 가능하게 하며, 이는 당업계에 알려져 있고 본 명세서에 기재된 바와 같은 치료 중인 질환에 따라서 증가 또는 감소될 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 및 단백질은 이들 효과기 기능 중 하나 이상을 매개할 수 있는 면역글로불린 불변 영역을 포함한다. 다른 실시형태에서, 이들 효과기 기능 중 하나 이상은 대응하는 야생형 면역글로불린 불변 영역에 비해서, 본 개시내용에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 면역글로불린 불변 영역에서 감소되거나 또는 존재하지 않는다.

[0111] 본 개시내용의 폴리펩타이드 및 단백질에 존재하는 면역글로불린 불변 영역은 CH2 도메인, CH3 도메인, CH4 도메인 또는 이들의 임의의 조합의 일부 또는 모두를 포함하거나, 이들로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 면역글로불린 불변 영역은 CH2 도메인, CH3 도메인, CH2와 CH3 도메인 둘 다, CH3과 CH4 도메인 둘 다, 2개의 CH3 도메인, CH4 도메인, 2개의 CH4 도메인, 및 CH2 도메인, 및 CH3 도메인의 부분을 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질은 CH1 도메인을 포함하지 않는다.

[0112] 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질은 특정 면역글로불린 부류 또는 하위부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 또는 IgD)로부터의 그리고 다양한 종(인간, 마우스, 래트 및 다른 포유류를 포함함)으로부터의 야생형 면역글로불린 CH2 도메인 또는 변경된 면역글로불린 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 CH2 도메인은 미국 특허 공개 제 2013/0129723호의 각각 서열번호 115, 199 내지 201 및 195 내지 197(상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)에 제시된 바와 같은 야생형 인간 면역글로불린 CH2 도메인, 예컨대, 인간 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 또는 IgD의 야생형 CH2 도메인이다. 특정 실시형태에서, CH2 도메인은 미국 특허 공개 US 2013/0129723의 서열번호 115(상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)에 제시된 바와 같은 야생형 인간 IgG1 CH2 도메인이다.

[0113] 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 폴리펩타이드 또는 단백질에서 변경된 CH2 영역은 야생형 면역글로불린 CH2 영역, 예컨대, 야생형 인간 IgG1, IgG2 또는 IgG4, 또는 마우스 IgG2a의 CH2 영역(예를 들어, IGHG2c)과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 동일한 서열을 포함하거나, 이러한 서열이다.

[0114] 본 개시내용의 폴리펩타이드 또는 단백질에서 변경된 면역글로불린 CH2 영역은 다양한 종(인간, 마우스, 래트 및 다른 포유류를 포함함)으로부터의 다양한 면역글로불린 아이소타입, 예컨대, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 및 IgD의 CH2 영역으로부터 유래될 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 융합 단백질에서 변경된 면역글로불린 CH2 영역은 인간 IgG1, IgG2 또는 IgG4, 또는 마우스 IgG2a의 CH2 영역(예를 들어, IGHG2c)으로

부터 유래될 수 있으며, 이의 서열은 미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 115, 199, 201 및 320에 제시되어 있다(상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 변경된 CH2 도메인은 면역학적 활성(즉, 효과기 기능), 예컨대, ADCC, ADCP, CDC, 보체 고정, Fc 수용체 결합 또는 이들의 임의의 조합을 향상시키거나 감소시키는 당업계에 공지된 돌연변이를 갖는 변경된 인간 IgG1 CH2 도메인이다.

[0115] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 CH2 도메인은 하나 이상의 아미노산 결실 또는 치환을 포함하는 변경된 면역글로불린 CH2 영역(예를 들어, 변경된 인간 IgG1 CH2 도메인)이다. 일부 실시형태에서, CH2 도메인은 297번 위치의 아스파라긴에서의 아미노산 치환(예를 들어, 아스파라긴의 알라닌으로의 치환)을 포함한다. 이러한 아미노산 치환은 이 부위에서 글리코실화를 감소시키거나 제거하고, FcɣR 및 C1q에 대해 효율적인 Fc 결합을 없앤다. 297번 위치에서 Asn에서 Ala으로의 치환을 갖는 변경된 인간 IgG1 CH2 도메인의 서열은 미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 324(상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)에 제시된다. 일부 실시형태에서, 변경된 CH2 도메인은 234 내지 238번 위치에서 적어도 하나의 치환 또는 결실을 포함한다. 예를 들어, 면역글로불린 CH2 영역은 234, 235, 236, 237 또는 238번 위치; 234 및 235번 위치; 234 및 236번 위치; 234 및 237번 위치; 234 및 238번 위치; 234 내지 236번 위치; 234, 235 및 237번 위치; 234, 236 및 238번 위치; 234, 235, 237 및 238번 위치; 236 내지 238번 위치; 또는 234 내지 238번 위치에서 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산의 임의의 다른 조합에서 치환을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 변경된 CH2 영역은 234 내지 238 위치에서, 예를 들어, 236번 위치 또는 237번 위치 중 하나에서 하나 이상의(예를 들어, 2, 3, 4 또는 5개의) 아미노산 결실을 포함하는 한편, 다른 위치는 치환된다. 특정 실시형태에서, 234 내지 238번 위치 중 하나 이상에서 아미노산 잔기는 하나 이상의 알라닌 잔기로 대체되었다. 추가 실시형태에서, 234 내지 238번 위치에서 아미노산 잔기 중 하나만이 결실된 한편, 234 내지 238번 위치에서 남아있는 아미노산 중 하나 이상은 다른 아미노산(예를 들어, 알라닌 또는 세린)으로 치환될 수 있다.

[0116] 일부 실시형태에서, 상기 언급한 돌연변이(들)는 변경된 CH2 도메인을 포함하는 폴리펩타이드의 ADCC 활성 또는 Fc 수용체-결합 능력을 감소 또는 제거한다.

[0117] 특정 다른 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 CH2 도메인은 253, 310, 318, 320, 322 및 331번 위치에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 변경된 면역글로불린 CH2 영역(예를 들어, 변경된 인간 IgG1 CH2 도메인)이다. 예를 들어, 면역글로불린 CH2 영역은 253, 310, 318, 320, 322 또는 331번 위치, 318 및 320번 위치, 318 및 322번 위치, 318, 320 및 322번 위치, 또는 253, 310, 318, 320, 322 및 331번 위치에서 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산의 임의의 다른 조합에서 치환을 포함할 수 있다. 이러한 실시형태에서, 상기 언급한 돌연변이(들)는 변경된 CH2 도메인을 포함하는 폴리펩타이드의 CDC 활성을 감소 또는 제거한다.

[0118] 특정 다른 실시형태에서, 297번 위치에서의 아미노산 치환에 추가로, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 변경된 CH2 영역(예를 들어, 변경된 인간 IgG1 CH2 도메인)은 234 내지 238번 위치에서 하나 이상의(예를 들어, 2, 3, 4 또는 5개의) 추가적인 치환을 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 면역글로불린 CH2 영역은 234 및 297번 위치, 234, 235 및 297번 위치, 234, 236 및 297번 위치, 234 내지 236 및 297번 위치, 234, 235, 237 및 297번 위치, 234, 236, 238 및 297번 위치, 234, 235, 237, 238 및 297번 위치, 236 내지 238 및 297번 위치, 또는 297번 위치에 추가로 234 내지 238번 위치에서 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산의 임의의 조합에서 치환을 포함할 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 변경된 CH2 영역은 234 내지 238번 위치에서, 예컨대, 236번 위치 또는 237번 위치에서 하나 이상의(예를 들어, 2, 3, 4 또는 5개의) 아미노산 결실을 포함할 수 있다. 추가적인 돌연변이(들)는 변경된 CH2 도메인을 포함하는 폴리펩타이드의 ADCC 활성 또는 Fc 수용체-결합 능력을 감소 또는 제거한다. 특정 실시형태에서, 234 내지 238번 위치 중 하나 이상에서 아미노산 잔기는 하나 이상의 알라닌 잔기로 대체되었다. 추가 실시형태에서, 234 내지 238번 위치에서 아미노산 잔기 중 하나만이 결실된 한편, 234 내지 238번 위치에서 남아있는 아미노산 중 하나 이상은 다른 아미노산(예를 들어, 알라닌 또는 세린)으로 치환될 수 있다.

[0119] 특정 실시형태에서, 234 내지 238번 위치에서 하나 이상의(예를 들어, 2, 3, 4 또는 5개의) 아미노산 치환에 추가로, 본 개시내용의 융합 단백질에서 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 돌연변이된 CH2 영역(예를 들어, 변경된 인간 IgG1 CH2 도메인)은 보체 고정에 관련된 하나 이상의 위치에서(예를 들어, I253, H310, E318, K320, K322 또는 P331 위치에서) 하나 이상의(예를 들어, 2, 3, 4, 5 또는 6개의) 추가적인 아미노산 치환(예를 들어, 알라닌으로 치환됨)을 포함할 수 있다. 돌연변이된 면역글로불린 CH2 영역의 예는 234, 235, 237(존재하는 경우), 318, 320 및 322번 위치에서 알라닌 치환을 갖는 인간 IgG1, IgG2, IgG4 및 마우스 IgG2a

CH2 영역을 포함한다. 예시적인 돌연변이된 면역글로불린 CH2 영역은 L234, L235, G237, E318, K320 및 K322에서 알라닌 치환을 갖는 마우스 IGHG2c CH2 영역이다.

[0120] 또한 추가 실시형태에서, 297번 위치에서 아미노산 치환 및 234 내지 238번 위치에서 추가적인 결실(들) 또는 치환(들)에 추가로, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 변경된 CH2 영역(예를 들어, 변경된 인간 IgG1 CH2 도메인)은 253, 310, 318, 320, 322 및 331번 위치에서 하나 이상의(예를 들어, 2, 3, 4, 5 또는 6개의) 추가적인 치환을 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 면역글로불린 CH2 영역은 (1) 297번 위치에서 치환, (2) 234 내지 238번 위치에서 하나 이상의 치환 또는 결실 또는 이들의 조합, 및 I253, H310, E318, K320, K322 및 P331 위치에서 하나 이상의(예를 들어, 2, 3, 4, 5 또는 6) 아미노산 치환, 예컨대, E318, K320 및 K322 위치에서 1, 2, 3개의 치환을 포함할 수 있다. 상기 언급한 위치에서 아미노산은 알라닌 또는 세린으로 치환될 수 있다.

[0121] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 면역글로불린 CH2 영역은, (i) 297번 위치의 아스파라긴에서 아미노산 치환 및 234, 235, 236 또는 237번 위치에서 하나의 아미노산 치환; (ii) 297번 위치의 아스파라긴에서 아미노산 치환 및 234 내지 237번 위치 중 둘에서 아미노산 치환; (iii) 297번 위치의 아스파라긴에서 아미노산 치환 및 234 내지 237번 위치의 셋에서 아미노산 치환; (iv) 297번 위치의 아스파라긴에서 아미노산 치환, 234, 235 및 237번 위치에서 아미노산 치환, 및 236번 위치에서 아미노산 결실; (v) 234 내지 237번 위치 중 셋에서 아미노산 치환 및 318, 320 및 322번 위치에서 아미노산 치환; 또는 (vi) 234 내지 237번 위치 중 셋에서 아미노산 치환, 236번 위치에서 아미노산 결실, 및 318, 320 및 322번 위치에서 아미노산 치환을 포함한다.

[0122] 297번 위치의 아스파라긴에서 아미노산 치환을 갖는 예시적인 변경된 면역글로불린 CH2 영역은 L234, L235, G237 및 N297에서 알라닌 치환 및 G236에서 결실을 갖는 인간 IgG1 CH2 영역(미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 325, 상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), V234, G236 및 N297에서 알라닌 치환을 갖는 인간 IgG2 CH2 영역(미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 326, 상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), F234, L235, G237 및 N297에서 알라닌 치환 및 G236의 결실을 갖는 인간 IgG4 CH2 영역(미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 322, 상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), F234 및 N297에서 알라닌 치환을 갖는 인간 IgG4 CH2 영역(미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 343, 상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), L235 및 N297에서 알라닌 치환을 갖는 인간 IgG4 CH2 영역(미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 344, 상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), G236 및 N297에서 알라닌 치환을 갖는 인간 IgG4 CH2 영역(미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 345, 상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), 및 G237 및 N297에서 알라닌 치환을 갖는 인간 IgG4 CH2 영역(미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 346, 상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)을 포함한다. 이러한 CH2 영역은 본 개시내용의 폴리펩타이드에서 사용될 수 있다.

[0123] 특정 실시형태에서, 상기 기재한 아미노산 치환에 추가로, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 변경된 CH2 영역(예를 들어, 변경된 인간 IgG1 CH2 도메인)은 상기 언급한 위치가 아닌 하나 이상의 위치에서 하나 이상의 추가적인 아미노산 치환을 포함할 수 있다. 이러한 아미노산 치환은 보존적 또는 비보존적 아미노산 치환일 수 있다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, P233은 변경된 IgG2 CH2 영역에서 E233으로 바뀔 수 있다(예를 들어, 미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 326 참조, 상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 추가로 또는 대안적으로, 특정 실시형태에서, 변경된 CH2 영역은 하나 이상의 아미노산 삽입, 결실 또는 둘 다를 포함할 수 있다. 삽입(들), 결실(들) 또는 치환(들)은 면역글로불린 CH2 영역의 어디에서나, 예컨대, 야생형 면역글로불린 CH2 영역의 N- 또는 C-말단에 있을 수 있어서, 힌지를 통해 CH2 영역을 다른 영역(예를 들어, 결합 도메인 또는 면역글로불린 이형이량체화 도메인)과 연결하는 것을 초래할 수 있다.

[0124] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 변경된 CH2 도메인은 235, 318, 320 및 322번 위치에서 알라닌 치환을 갖는 인간 IgG1 CH2 도메인(즉, L235A, E318A, K320A 및 K322A 치환을 갖는 인간 IgG1 CH2 도메인)(미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 595, 상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), 및 선택적으로 N297 돌연변이(예를 들어, 알라닌으로)이다. 특정 다른 실시형태에서, 변경된 CH2 도메인은 234, 235, 237, 318, 320 및 322번 위치에서 알라닌 치환을 갖는 인간 IgG1 CH2 도메인(즉, L234A, L235A, G237A, E318A, K320A 및 K322A 치환을 갖는 인간 IgG1 CH2 도메인)(미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 596, 상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), 및 선택적으로 N297 돌연변이(예를 들어, 알라닌으로)이다.

[0125] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 면역글로불린 불변 영역은 EU 넘버링 시스템에 따라 치환 L234A, L235A, G237A 및 K322A를 포함하는, 인간 IgG1 CH2 도메인을 포함한다.

[0126] 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 면역글로불린 불변 영역을 형성할 수 있는 CH3 도메인은 다양한 종(인간, 마우스, 래트 및 다른 포유류를 포함함)의 특정 면역글로불린 부류 또는 하위부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE, IgM)로부터의 야생형 면역글로불린 CH3 도메인 또는 이의 변경된 면역글로불린 CH3 도메인으로부터 유래될 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드의 CH3 도메인은 야생형 인간 면역글로불린 CH3 도메인, 예컨대, 미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 116, 208 내지 210, 204 내지 207 및 212 각각에 제시된 바와 같은 인간 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE 또는 IgM의 야생형 CH3 도메인(상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)이다. 특정 실시형태에서, CH3 도메인은 미국 특허 공개 제2013/0129723의 서열번호 116(상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)에 제시된 바와 같은 야생형 인간 IgG1 CH3 도메인이다.

[0127] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드의 CH3 도메인은 변경된 인간 면역글로불린 CH3 도메인, 예컨대, 인간 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE 또는 IgM 항체의 야생형 CH3 도메인에 기반하거나 이들로부터 유래된 변경된 CH3 도메인이다. 예를 들어, 변경된 CH3 도메인은 H433 및 N434번 위치에서 1 또는 2개의 돌연변이를 갖는 인간 IgG1 CH3 도메인일 수 있다(위치는 EU 넘버링에 따라 넘버링됨). 이러한 위치에서 돌연변이는 보체 고정에 관련될 수 있다. 특정 다른 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드의 변경된 CH3 도메인은 인간 IgG1 CH3 도메인일 수 있지만, F405 또는 Y407 위치에서 1 또는 2개의 아미노산 치환을 갖는다. 이러한 위치에서 아미노산은 다른 CH3 도메인과의 상호작용에 관련된다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드의 변경된 CH3 도메인은 마지막 라이신이 결실된 변경된 인간 IgG1 CH3 도메인일 수 있다. 이 변경된 CH3 도메인의 서열은 미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 761에 제시된다(상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

[0128] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질은 소위 "노브-인투-홀(knobs-into-hole)" 돌연변이를 포함하는 CH3 도메인을 포함한다(문헌[Marvin and Zhu, Acta Pharmacologica Sinica 26:649-58, 2005; Ridgway *et al.*, Protein Engineering 9:617-21, 1966] 참조). 더 구체적으로는, 돌연변이는 각 폴리펩타이드 쇄의 CH3 도메인 각각에 도입될 수 있고, 따라서 CH3/CH3 회합에 필요한 입체 상보성은 이들 2개의 CH3 도메인이 서로 짝지어지게 한다. 예를 들어, 폴리펩타이드 이형이량체의 하나의 단일 쇄 폴리펩타이드에서 CH3 도메인은 T366W 돌연변이(작은 아미노산을 보다 큰 아미노산으로 치환하는 "노브" 돌연변이)를 포함할 수 있고, 폴리펩타이드 이형이량체의 다른 단일 쇄 폴리펩타이드에서 CH3 도메인은 Y407A 돌연변이(큰 아미노산을 보다 작은 아미노산으로 치환하는 "홀" 돌연변이)를 포함할 수 있다. 다른 예시적인 노브-인투-홀 돌연변이는 (1) 하나의 CH3 도메인에서 T366Y 돌연변이 및 다른 CH3 도메인에서 Y407T, 및 (2) 하나의 CH3 도메인에서 T366W 돌연변이 및 다른 CH3 도메인에서 T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이를 포함한다.

[0129] 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 면역글로불린 불변 영역을 형성할 수 있는 CH4 도메인은 IgE 또는 IgM 분자로부터의 야생형 면역글로불린 CH4 도메인 또는 이의 변경된 면역글로불린 CH4 도메인일 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드의 CH4 도메인은 야생형 인간 면역글로불린 CH4 도메인, 예컨대, 미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 213 및 214에 각각 제시된 바와 같은 인간 IgE 및 IgM 분자의 야생형 CH4 도메인이다(상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드의 CH4 도메인은 변경된 인간 면역글로불린 CH4 도메인, 예컨대, 인간 IgE 또는 IgM 분자의 CH4 도메인에 기반하거나 이로부터 유래된 변경된 CH4 도메인이며, 이는 IgE 또는 IgM Fc 영역과 연관된 것으로 알려진 면역학적 활성을 증가 또는 감소시키는 돌연변이를 갖는다.

[0130] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 면역글로불린 불변 영역은 CH2, CH3 또는 CH4 도메인(즉, CH2, CH3 및 CH4로부터 선택된 하나 초과의 불변 영역 도메인)의 조합을 포함한다. 예를 들어, 면역글로불린 불변 영역은 CH2 및 CH3 도메인 또는 CH3 및 CH4 도메인을 포함할 수 있다. 특정 다른 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 2개의 CH3 도메인을 포함하고, CH2 또는 CH4 도메인을 포함하지 않을 수 있다(즉, 2개 이상의 CH3만을 포함함). 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드의 면역글로불린 불변 영역을 형성하는 다중 불변 영역 도메인은 동일한 면역글로불린 분자, 또는 동일한 부류 또는 하위부류 면역글로불린 분자에 기반하거나, 이로부터 유래될 수 있다. 특정 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 IgG CH2-CH3(예를 들어, IgG1 CH2-CH3, IgG2 CH2-CH3, 및 IgG4 CH2-CH3)이고, 인간(예를 들어, 인간 IgG1, IgG2 및 IgG4) CH2CH3일 수 있다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드의 면역글로불린 불변 영역은 (1) 야생형 인간 IgG1 CH2 및 CH3 도메인, (2) N297A 치환을 갖는 인간 IgG1 CH2(즉, CH2(N297A)) 및 야생형 인간 IgG1

CH3, 또는 (3) 마지막 라이신이 결실된 인간 IgG1 CH2(N297A) 및 변경된 인간 IgG1 CH3을 포함한다. 대안적으로, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질의 다중 불변 영역 도메인은 상이한 면역글로불린 분자, 또는 상이한 부류 또는 하위부류 면역글로불린 분자에 기반하거나 또는 이로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 인간 IgM CH3 도메인과 인간 IgG1 CH3 도메인을 둘 다 포함한다. 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드의 면역글로불린 불변 영역을 형성하는 다중 불변 영역 도메인은 함께 직접적으로 연결될 수 있거나, 또는 하나 이상의(예를 들어, 약 2 내지 10개의) 아미노산을 통해 서로 연결될 수 있다.

[0131] 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질에서 사용될 수 있는 예시적인 면역글로불린 불변 영역은 미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 305 내지 309, 321, 323, 341, 342 및 762에 제시되어 있다(상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질에서 사용될 수 있는 추가적인 예시적인 면역글로불린 불변 영역은 이하의 표에 제공된다.

표 1

예시적인 면역글로불린 불변 영역

[0132]

| 명칭 | DNA 서열 | DNA 서열번호 | AA 서열 | AA 서열번호 |
|---|---|---|---|---|
| SS-Fc 도메인 | TCGAGTGAGCCCAAATCTTCT<br>GACAAAACTCACACATGCCCA<br>CCGTGCCCAGCACCTGAAGC<br>CGCGGGTGCACCGTCAGTCTT<br>CCTCTTCCCCCCAAAACCCAA<br>GGACACCCTCATGATCTCCCG<br>GACCCCTGAGGTCACATGCGT<br>GGTGGTGGACGTGAGCCACG<br>AAGACCCTGAGGTCAAGTTCA<br>ACTGGTACGTGGACGGCGTG<br>GAGGTGCATAATGCCAAGACA<br>AAGCCGCGGGAGGAGCAGTA<br>CAACAGCACGTACCGTGTGGT<br>CAGCGTCCTCACCGTCCTGCA<br>CCAGGACTGGCTGAATGGCAA | 32 | SSEPKSSDKTHT<br>CPPCPAPEAAG<br>APSVFLFPPKPK<br>DTLMISRTPEVT<br>CVVVDVSHEDP<br>EVKFNWYVDGV<br>EVHNAKTKPRE<br>EQYNSTYRVVS<br>VLTVLHQDWLN<br>GKEYKCAVSNK<br>ALPAPIEKTISKA<br>KGQPREPQVYT<br>LPPSRDELTKNQ<br>VSLTCLVKGFYP<br>SDIAVEWESNG | 33 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | GGAATACAAGTGCGCGGTCTC<br>CAACAAAGCCCTCCCAGCCCC<br>CATCGAGAAAACCATCTCCAA<br>AGCCAAAGGGCAGCCCCGAG<br>AACCACAGGTGTACACCCTGC<br>CCCCATCCCGGGATGAGCTGA<br>CCAAGAACCAGGTCAGCCTGA<br>CCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT<br>ATCCAAGCGACATCGCCGTGG<br>AGTGGGAGAGCAATGGGCAG<br>CCGGAGAACAACTACAAGACC<br>ACGCCTCCCGTGCTGGACTCC<br>GACGGCTCCTTCTTCCTCTAC<br>AGCAAGCTCACCGTGGACAAG<br>AGCAGGTGGCAGCAGGGGAA<br>CGTCTTCTCATGCTCCGTGAT<br>GCATGAGGCTCTGCACAACCA<br>CTACACGCAGAAGAGCCTCTC<br>CCTGTCTCCGGGT | | QPENNYKTTPP<br>VLDSDGSFFLYS<br>KLTVDKSRWQQ<br>GNVFSCSVMHE<br>ALHNHYTQKSLS<br>LSPG | |
| 델타 **SS-Fc** 도메인 | GAGCCCAAATCTTCTGACAAA<br>ACTCACACATGCCCACCGTGC<br>CCAGCACCTGAAGCCGCGGG<br>TGCACCGTCAGTCTTCCTCTT<br>CCCCCCAAAACCCAAGGACAC<br>CCTCATGATCTCCCGGACCCC<br>TGAGGTCACATGCGTGGTGGT<br>GGACGTGAGCCACGAAGACC<br>CTGAGGTCAAGTTCAACTGGT<br>ACGTGGACGGCGTGGAGGTG<br>CATAATGCCAAGACAAAGCCG<br>CGGGAGGAGCAGTACAACAG<br>CACGTACCGTGTGGTCAGCGT<br>CCTCACCGTCCTGCACCAGGA<br>CTGGCTGAATGGCAAGGAATA<br>CAAGTGCGCGGTCTCCAACAA<br>AGCCCTCCCAGCCCCCATCGA<br>GAAAACCATCTCCAAAGCCAA<br>AGGGCAGCCCCGAGAACCAC<br>AGGTGTACACCCTGCCCCCAT<br>CCCGGGATGAGCTGACCAAG<br>AACCAGGTCAGCCTGACCTGC<br>CTGGTCAAAGGCTTCTATCCA<br>AGCGACATCGCCGTGGAGTG<br>GGAGAGCAATGGGCAGCCGG<br>AGAACAACTACAAGACCACGC<br>CTCCCGTGCTGGACTCCGACG<br>GCTCCTTCTTCCTCTACAGCA<br>AGCTCACCGTGGACAAGAGCA<br>GGTGGCAGCAGGGGAACGTC<br>TTCTCATGCTCCGTGATGCAT<br>GAGGCTCTGCACAACCACTAC<br>ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTG<br>TCTCCGGGT | 34 | EPKSSDKTHTCP<br>PCPAPEAAGAP<br>SVFLFPPKPKDT<br>LMISRTPEVTCV<br>VVDVSHEDPEV<br>KFNWYVDGVEV<br>HNAKTKPREEQ<br>YNSTYRVVSVLT<br>VLHQDWLNGKE<br>YKCAVSNKALPA<br>PIEKTISKAKGQP<br>REPQVYTLPPSR<br>DELTKNQVSLTC<br>LVKGFYPSDIAV<br>EWESNGQPENN<br>YKTTPPVLDSDG<br>SFFLYSKLTVDK<br>SRWQQGNVFSC<br>SVMHEALHNHY<br>TQKSLSLSPG | 35 |

[0133]

[0134] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 동형이량체 또는 이형이량체 단백질의 각 폴리펩타이드 쇄의 면역글로불린 불변 영역은 서로 동일하다. 특정 다른 실시형태에서, 이형이량체 단백질의 하나의 폴리펩타이드 쇄의 면역글로불린 불변 영역은 이형이량체의 다른 폴리펩타이드 쇄의 면역글로불린 불변 영역과 상이하다. 예를 들어, 이형이량체 단백질의 하나의 면역글로불린 불변 영역은 "노브" 돌연변이를 갖는 CH3 도메인을 포함할 수 있는 반면, 이형이량체 단백질의 다른 면역글로불린 불변 영역은 "홀" 돌연변이를 갖는 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

[0135] *Fc-결합 도메인 링커*

[0136] 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 Fc-결합 도메인 링커를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, Fc-결합 도메인 링커는 면역글로불린 불변 영역을 C-말단의 결합 도메인(예를 들어, CD3 결합 도메인)에 연결하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, Fc-결합 도메인 링커는 힌지 도메인으로서 사용되고/되거나 scFv에 혼입될

수 있다. 일부 실시형태에서, Fc-결합 도메인 링커는 $Gly_4Ser$ 링커(서열번호 128)이다. 일부 실시형태에서, Fc-결합 도메인 링커는 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(서열번호 128) 아미노산 서열($(Gly_4Ser)_4$)(서열번호61)의 4개의 반복부로 이루어진 20량체이다. 일부 실시형태에서, Fc-결합 도메인 링커는 서열번호 50 내지 70 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 다른 링커가 사용되었고, 적절한 링커 서열을 다양화 및 선택하기 위해 파지 디스플레이 기술뿐만 아니라 선택적 감염 파지 기술이 사용되었다(Tang *et al.*, *J. Biol. Chem.* 271, 15682-15686, 1996; Hennecke *et al.*, *Protein Eng.* 11, 405-410, 1998). 특정 실시형태에서, $V_L$ 및 $V_H$ 영역은 식 $(Gly_4Ser)_n$을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 펩타이드 링커에 의해 결합되되, n = 1 내지 5이다(서열번호 129). 다른 적합한 링커는 무작위 돌연변이유발을 통해 단순한 링커를 최적화함으로써 얻을 수 있다. 일부 실시형태에서, 이중특이성 분자는 힌지 영역 또는 불변 영역을 포함하지 않는다.

[0137] 특정 실시형태에서, Fc-결합 도메인 링커는 글리신-세린(예를 들어, $Gly_4Ser$, 서열번호 128) 반복부를 포함하는 가요성 링커 서열이다. 특정 실시형태에서, 링커는 3개의 $Gly_4Ser$ 반복부(서열번호 59) 다음에 프롤린 잔기를 포함한다. 특정 실시형태에서, 프롤린 잔기 다음에 글리신, 아르기닌 및 세린으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산이 이어진다. 일부 실시형태에서, Fc-결합 도메인 링커는 서열번호 50 내지 70으로부터 선택된 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진다.

[0138] 본 개시내용에 따른 사용에 적합한 일부 예시적인 힌지, Fc-결합 도메인 링커 서열은 표 2에 나타낸다. 추가적인 예시적인 힌지 및 링커 영역은 미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 241 내지 244, 601, 78, 763 내지 791, 228, 379 내지 434, 618 내지 749에 제시된다(상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

표 2

예시적인 힌지 및 링커

| 명칭 | 아미노산 서열 | 서열번호 |
|---|---|---|
| sss(s)-hIgG1 힌지 | EPKSSDKTHTSPPSS | 서열번호 36 |
| csc(s)-hIgG1 힌지 | EPKSCDKTHTSPPCS | 서열번호 37 |
| ssc(s)-hIgG1 힌지 | EPKSSDKTHTSPPCS | 서열번호 38 |
| scc(s)-hIgG1 힌지 | EPKSSDKTHTCPPCS | 서열번호 39 |
| css(s)-hIgG1 힌지 | EPKSCDKTHTSPPSS | 서열번호 40 |
| scs(s)-hIgG1 힌지 | EPKSSDKTHTCPPSS | 서열번호 41 |
| ccc(s)-hIgG1 힌지 | EPKSCDKTHTSPPCS | 서열번호 42 |
| ccc(p)-hIgG1 힌지 | EPKSCDKTHTSPPCP | 서열번호 43 |
| sss(p)-hIgG1 힌지 | EPKSSDKTHTSPPSP | 서열번호 44 |
| csc(p)-hIgG1 힌지 | EPKSCDKTHTSPPCP | 서열번호 45 |
| ssc(p)-hIgG1 힌지 | EPKSSDKTHTSPPCP | 서열번호 46 |
| scc(p)-hIgG1 힌지 | EPKSSDKTHTCPPCP | 서열번호 47 |
| css(p)-hIgG1 힌지 | EPKSCDKTHTSPPSP | 서열번호 48 |

[0139]

| 명칭 | 아미노산 서열 | 서열번호 |
|---|---|---|
| scs(p)-hIgG1 힌지 | EPKSSDKTHTCPPSP | 서열번호 49 |
| Scppcp | SCPPCP | 서열번호 50 |
| STD1 | NYGGGGSGGGGSGGGGSGNS | 서열번호 51 |
| STD2 | NYGGGGSGGGGSGGGGSGNYGGGGSGGGGSGGGGSGNS | 서열번호 52 |
| H1 | NS | -- |
| H2 | GGGGSGNS | 서열번호 53 |
| H3 | NYGGGGSGNS | 서열번호 54 |
| H4 | GGGGSGGGGSGNS | 서열번호 55 |
| H5 | NYGGGGSGGGGSGNS | 서열번호 56 |
| H6 | GGGGSGGGGSGGGGSGNS | 서열번호 57 |
| H7 | GCPPCPNS | 서열번호 58 |
| $(G_4S)_3$ | GGGGSGGGGSGGGGS | 서열번호 59 |
| H105 | SGGGGSGGGGSGGGGS | 서열번호 60 |
| $(G_4S)_4$ | GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS | 서열번호 61 |
| $(G_4S)_5$ | GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS | 서열번호 62 |
| H94 | SGGGGSGGGGSGGGGSPNS | 서열번호 68 |
| H111 | SGGGGSGGGGSGGGGSPGS | 서열번호 69 |
| H114 | GGGGSGGGGSGGGGSPS | 서열번호 70 |

[0140]

[0141] 앞서 언급한 도메인에 추가로, 치료 폴리펩타이드는 면역글로불린 이량체화/이형이량체화 도메인, 접합 아미노산, 태그, 추가적인 결합 도메인 등을 더 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 및 단백질은 약물 또는 독성 모이어티에 접합된다.

[0142] *이중특이성/다중특이성 단백질*

[0143] 일부 실시형태에서, 치료용 단백질은 이중특이성 또는 다중특이성 단백질일 수 있다. 이중특이성 분자의 비제한적 예는 scFv-Fc-scFv 분자, scFv-Ig 분자 및 scFv-scFv 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 이중특이성 분자는 제2 결합 도메인 scFv에 연결된 제1 결합 도메인 scFv를 포함하거나, 이것으로 이루어지고, 면역글로불린 불변 영역과 같은 다른 서열을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 치료용 단백질은, 아미노-말단에서 카복시-말단으로, 또는 카복시-말단에서 아미노-말단의 순서로, (i) 제1 결합 도메인, (ii) 힌지 영역, (iii) 면역글로불린 불변 영역, (iv) (선택적으로) Fc-결합 도메인 링커, 및 (v) 제2 결합 도메인을 포함하는, 이중특이성 또는 다중특이성 단백질일 수 있다.

[0144] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은, N-말단에서 C-말단으로, CD3 결합 도메인, 힌지 영역, 면역글로불린 불변 영역 및 종양 항원 결합 도메인을 포함할 수 있다. 종양 항원 결합 도메인은, 예를 들어, CD123, PSMA,

CD19, CD33, 5T4 또는 HER2에 결합할 수 있다.

[0145] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 N-말단에서 C-말단까지, 종양 항원 결합 도메인, 힌지 영역, 면역글로불린 불변 영역 및 CD3 결합 도메인을 포함할 수 있다. 종양 항원 결합 도메인은, 예를 들어, CD123, PSMA, CD19, CD33, 5T4 또는 HER2에 결합할 수 있다.

[0146] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은, N-말단에서 C-말단으로, 4-1-BB 결합 도메인, 힌지 영역, 면역글로불린 불변 영역 및 종양 항원 결합 도메인을 포함할 수 있다. 종양 항원 결합 도메인은, 예를 들어, CD123, PSMA, CD19, CD33, 5T4 또는 HER2에 결합할 수 있다.

[0147] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은, N-말단에서 C-말단으로, 종양 항원 결합 도메인, 힌지 영역, 면역글로불린 불변 영역 및 4-1-BB 결합 도메인을 포함할 수 있다. 종양 항원 결합 도메인은, 예를 들어, CD123, PSMA, CD19, CD33, 5T4 또는 HER2에 결합할 수 있다.

[0148] *동형이량체/이형이량체*

[0149] 일부 실시형태에서, 치료용 단백질은 동형이량체 또는 이형이량체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료용 단백질은 두 동일한 폴리펩타이드의 이량체이되, 각 폴리펩타이드는, 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로, 또는 카복시-말단에서 아미노-말단의 순서로 (i) 제1 결합 도메인, (ii) 힌지 영역, 및 (iii) 면역글로불린 불변 영역, (iv) (선택적으로) Fc-결합 도메인 링커, 및 (v) 제2 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이성 또는 다중특이성 단백질은 두 동일한 폴리펩타이드의 이량체이되, 각 폴리펩타이드는, 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로, 또는 카복시-말단에서 아미노-말단의 순서로: (i) 제1 결합 도메인, (ii) 힌지 영역, (iii) 면역글로불린 불변 영역, (iv) (선택적으로) Fc-결합 도메인 링커, 및 (v) 제2 결합 도메인을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 이중특이성 단백질은 다이어바디이다.

[0150] 특정 실시형태에서, 다른 폴리펩타이드 쇄와 함께 이형이량체를 형성하는 폴리펩타이드에 존재하는 힌지는 면역글로불린 힌지, 예컨대, 야생형 면역글로불린 힌지 영역 또는 이의 변경된 면역글로불린 힌지 영역일 수 있다. 특정 실시형태에서, 이형이량체 단백질의 하나의 폴리펩타이드 쇄의 힌지는 이형이량체의 다른 폴리펩타이드 쇄의 대응하는 힌지와 동일하다. 특정 다른 실시형태에서, 하나의 쇄의 힌지는 (이들의 길이 또는 서열이) 다른 쇄의 힌지와 상이하다. 상이한 쇄의 상이한 힌지는 힌지가 연결된 결합 도메인의 결합 친화도의 상이한 조작을 가능하게 하며, 따라서, 이형이량체는 다른 결합 도메인의 표적 이상으로 하나의 결합 도메인의 표적에 우선적으로 결합할 수 있다.

[0151] 다른 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 및 단백질은 제2의, 비-동일 폴리펩타이드 쇄에서 상이한 이형이량체화 도메인과 이형이량체화될 수 있는 이형이량체화 도메인을 포함한다. 특정 변형에서, 이형이량체화에 대한 제2 폴리펩타이드 쇄는 제2 결합 도메인을 포함한다. 따라서, 본 개시내용의 특정 실시형태에서, 2개의 비-동일 폴리펩타이드 쇄, 즉, 제1 결합 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는 것 및 선택적으로 제2 결합 도메인을 포함하는 두 번째는 이형이량체화하여, 이형이량체 결합 단백질을 형성한다. 이량체화/이형이량체화 도메인은 2개의 비-동일 폴리펩타이드 쇄로부터의 이형이량체화를 형성하는 것이 요망되는 경우에 사용될 수 있으며, 하나의 또는 둘 모두의 폴리펩타이드 쇄는 결합 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 특정 이형이량체는 하나의 폴리펩타이드 쇄 구성원은 결합 도메인을 포함하지 않는다. 이형이량체 유형의 예는 미국 특허 공개 제2013/0095097호 및 제2013/0129723호 및 국제특허출원 공개 WO 2016/094873에 기재된 것을 포함한다.

[0152] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄는 "면역글로불린 이량체화 도메인" 또는 "면역글로불린 이형이량체화 도메인"의 포함을 통해 이량체화한다. "면역글로불린 이량체화 도메인" 또는 "면역글로불린 이형이량체화 도메인"은 본 명세서에서 제2 폴리펩타이드 쇄의 상이한 면역글로불린 도메인과 우선적으로 상호작용 또는 회합하는 제1 폴리펩타이드 쇄의 면역글로불린 도메인을 지칭하되, 상이한 면역글로불린 도메인의 상호작용은 제1 폴리펩타이드와 제2 폴리펩타이드 쇄의 이형이량체화(즉, "이형이량체"로도 지칭되는 두 상이한 폴리펩타이드 쇄 사이의 이량체 형성)에 실질적으로 기여하거나 이를 효율적으로 촉진시킨다. 이형이량체의 폴리펩타이드 쇄에서 면역글로불린 이형이량체화 도메인은 서로 상이하고, 따라서, 쇄 둘 다의 이형이량체화를 용이하게 하고 쇄 중 하나의 동형이량체화를 최소화하도록 차별적으로 변형될 수 있다. 본 명세서에 제공된 면역글로불린 이형이량체화 도메인은 상이한 폴리펩타이드 사이의 효율적인 이형이량체화를 가능하게 하고, 얻어진 이형이량체 단백질의 정제를 용이하게 한다.

[0153] 본 명세서에 제공된 바와 같은, 본 개시내용에 따른 두 상이한 폴리펩타이드 쇄의 이형이량체화를 촉진시키는

데 유용한 면역글로불린 이형이량체화 도메인은 야생형 및 변경된 면역글로불린 CH1 및 CL 도메인, 예를 들어, 인간 CH1 및 CL 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 면역글로불린 이형이량체화 도메인은, 예를 들어, 미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 114, 186 내지 192 및 194 또는 미국 특허 공개 제2013/0129723호의 서열번호 114에 각각 제시된 바와 같은 야생형 CH1 도메인, 예컨대, 야생형 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE 또는 IgM CH1 도메인이다(상기 서열은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 추가 실시형태에서, 야생형 면역글로불린 CL 도메인(예를 들어, 인간 CL)과 이황화결합을 형성하는 데 관련되는 야생형 CH1 도메인(예를 들어, 인간 CH1)의 시스테인 잔기는, 이황화결합이 변경된 CH1 도메인과 야생형 CL 도메인 사이에서 형성되지 않도록, 변경된 면역글로불린 CH1 도메인에서 결실 또는 치환된다.

[0154] 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 및 단백질은 미국 특허 공개 제2013/0129723호 및 제2013/0095097호에 일반적으로 개시된 바와 같은 스캐폴딩을 이용하여 생성될 수 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 원용된다. 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드는 2개의 비-동일 폴리펩타이드 쇄를 포함할 수 있고, 각 폴리펩타이드 쇄는 면역글로불린 이형이량체화 도메인을 포함한다. 접해 있는 면역글로불린 이형이량체화 도메인은 상이하다. 일 실시형태에서, 면역글로불린 이형이량체화 도메인은 CH1 도메인 또는 이의 유도체를 포함한다. 다른 실시형태에서, 면역글로불린 이형이량체화 도메인은 CL 도메인 또는 이의 유도체를 포함한다. 일 실시형태에서, CL 도메인은 Cκ 또는 Cλ 아이소타입 또는 이의 유도체이다.

[0155] *예시적인 단백질 치료제: 항-CD123×항-CD3 폴리펩타이드 및 이의 이량체*

[0156] 예시적인 단백질 치료제는 T-세포 상에서 CD123-발현 세포와 T-세포 수용체 복합체 둘 다에 결합하여 표적-의존적 T-세포 세포독성, 활성화 및 증식을 유도할 수 있다.

[0157] 따라서, 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물과 관련하여 사용되는 치료용 단백질은 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 이중특이성 단일 쇄 분자이다. 일부 실시형태에서, CD123 및/또는 CD3 결합 도메인은 항체로부터 유래되고, 가변 중쇄(VH) 및 가변 경쇄(VL)를 포함한다. 예를 들어, CD123 및/또는 CD3 결합 도메인은 VH 및 VL을 포함하는 scFv일 수 있다. 이들 결합 도메인 및 가변 쇄는 표적(들)에 일부 결합을 여전히 보유하는 임의의 순서로 배열될 수 있다. 예를 들어, 가변 도메인은, 예컨대, (VH CD123)-(VL CD123)-(VH CD3)-(VL CD3); (VL CD123)-(VH CD123)-(VH CD3)-(VL CD3); (VH CD123)-(VL CD123)-(VL CD3)-(VH CD3); (VL CD123)-(VH CD123)-(VL CD3)-(VH CD3); (VH CD3)-(VL CD3)-(VH CD123)-(VL CD123); (VL CD3)-(VH CD3)-(VL CD123)-(VH CD123); (VH CD3)-(VL CD3)-(VL CD123)-(VH CD123); 또는 (VL CD3)-(VH CD3)-(VH CD123)-(VL CD123)의 순서로 배열될 수 있다. CD3에 결합하는 결합 도메인에서 VH 영역과 VL 영역의 쌍은 단일 쇄 항체(scFv)의 형식일 수 있다. VH 및 VL 영역은 VH-VL 또는 VL-VH 순서로 배열될 수 있다. 일부 실시형태에서, scFv는 동일한 배향의 동일한 VH 및 VL 영역 서열을 포함하는 항체보다 더 효과적으로 CD123에 결합할 수 있다. 특정 실시형태에서, scFv는 VH-VL 배향에서보다 VL-VH 배향에서, 또는 그 반대의 경우에, CD123에 더 효과적으로 결합할 수 있다. VH-영역은 링커 서열에 대해 N-말단에 위치될 수 있다. VL 영역은 링커 서열에 대해 C-말단에 위치될 수 있다. 이중특이성 단일 쇄 분쇄의 CD3 결합 도메인에서 도메인 배열은 VH-VL일 수 있고, CD3 결합 도메인은 CD123-결합 도메인에 대해 C-말단에 위치된다. 이중특이성 분자는 CD3에 대한 scFv 결합에 연결된 CD123에 대해 scFv 결합을 포함할 수 있다. 이들 scFv는 짧은 펩타이드와 연결될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이중특이성 단일 쇄 분자는 힌지 영역 또는 불변 영역을 포함하지 않는다(예를 들어, US 2013/0295121, WO 2010/037836, WO 2004/106381 및 WO 2011/121110; 각각은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 원용됨).

[0158] CD123-이중특이성 결합 작제물은 표 3, 표 4, 및/또는 표 5에 나타낸 하나 이상의 서열을 포함할 수 있다.

표 3

결합 폴리펩타이드 서열 및 구성성분

| 명칭 | 뉴클레오타이드 서열 | 아미노산 서열 | 서열번호 뉴클레오타이드 (아미노산) |
|---|---|---|---|
| OMT1 가변 경쇄 도메인 | gacatcgtgatgacccagtctccagactccctg gctgtgtctctgggcgagagggccaccatcaac tgcaagtccagccacagtgttttatacagctcc aacaataagaactacttagcttggtaccagcag aaaccaggacagcctcctaagctgctcatttac tgggcatctacccgggaatccggggtccctgac cgattcagtggcagcgggtctgggacagatttc actctcaccatcagcagcctgcaggctgaagat gtggcagtttattactgtcagcaatattatagt actcctccgaccactttcggcggagggaccaag gtggagatcaaa | divmtqspdsl avslgeratin cksshsvlyss nnknylawyqq kpgqppklliy wastresgvpd rfsgsgsgtdf tltisslqaed vavyycqqyys tppttfgggtk veik | 서열번호 133 (서열번호 134) |
| OMT1 가변 중쇄 도메인 | gaggtgcagctgttggagtctgggggaggcttg gtacagcctgggggtccctgagactctcctgt gcagcctctggattcacctttagcagctatggc atgagctgggtccgccaggctccagggaagggg ctggaggggtctcagctattagtggtagtggt ggtagcacatactacgcagactccgtgaagggc cggttcaccatctccagagacaattccaagaac acgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagcc gaggacacggccgtatattactgtgcgaaagaa aagttacgatattttgactggttatccgatgct tttgatatctggggccaagggacaatggtcacc gtctcttca | evqllesgggl vqpggslrlsc aasgftfssyg mswvrqapgkg legvsaisgsg gstyyadsvkg rftisrdnskn tlylqmnslra edtavyycake klryfdwlsda fdiwgqgtmvt vss | 서열번호 135 (서열번호 136) |
| OMT1 CDR L1 | cacagtgttttatacagctccaacaataagaac tac | HSVLYSSNNKN Y | 서열번호 137 (서열번호 138) |
| OMT1 CDR L2 | tgggcatct | WAS | 서열번호 139 (서열번호 140) |
| OMT1 CDR L3 | cagcaatattatagtactcctccgaccact | QQYYSTPPTT | 서열번호 141 (서열번호 142) |
| OMT1 CDR H1 | ggattcacctttagcagctatggc | GFTFSSYG | 서열번호 143 (서열번호 144) |
| OMT1 CDR H2 | attagtggtagtggtggtagcaca | ISGSGGST | 서열번호 145 (서열번호 146) |

[0159]

[0160]

| 명칭 | 뉴클레오타이드 서열 | 아미노산 서열 | 서열번호 뉴클레오타이드 (아미노산) |
|---|---|---|---|
| OMT1 CDR H3 | gcgaaagaaaagttacgatattttgactggtta<br>tccgatgcttttgatatc | AKEKLRYFDWL<br>SDAFDI | 서열번호 147 (서열번호 148) |
| MT1 VHVL x TSC456 scFv-Fc-scFv TRI129 | atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctg<br>ctactctggctcccagataccaccggtgaggtg<br>cagctgttggagtctgggggaggcttggtacag<br>cctgggggtccctgagactctcctgtgcagcc<br>tctggattcacctttagcagctatggcatgagc<br>tgggtccgccaggctccagggaaggggctggag<br>ggggtctcagctattagtggtagtggtggtagc<br>acatactacgcagactccgtgaagggccggttc<br>accatctccagagacaattccaagaacacgctg<br>tatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggac<br>acggccgtatattactgtgcgaaagaaaagtta<br>cgatattttgactggttatccgatgcttttgat<br>atctggggccaagggacaatggtcaccgtctct<br>tcaggtggaggcggttcaggcggaggtggatcc<br>ggcggtggcggctccggtggcggcggatctgac<br>atcgtgatgacccagtctccagactccctggct<br>gtgtctctgggcgagagggccaccatcaactgc<br>aagtccagccacagtgttttatacagctccaac<br>aataagaactacttagcttggtaccagcagaaa<br>ccaggacagcctcctaagctgctcatttactgg<br>gcatctacccgggaatccggggtccctgaccga<br>ttcagtggcagcgggtctgggacagatttcact<br>ctcaccatcagcagcctgcaggctgaagatgtg<br>gcagtttattactgtcagcaatattatagtact<br>cctccgaccactttcggcggagggaccaaggtg<br>gagatcaaatcctcgagtgagcccaaatcttct<br>gacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagca<br>cctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc<br>ttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatc<br>tcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtg<br>gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttc<br>aactggtacgtggacggcgtggaggtgcataat<br>gccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaac<br>agcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtc<br>ctgcaccaggactggctgaatggcaaggaatac<br>aagtgcgcggtctccaacaaagccctcccagcc<br>cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaaggg<br>cagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccc<br>ccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtc<br>agcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcca<br>agcgacatcgccgtggagtgggagagcaatggg<br>cagccggagaacaactacaagaccacgcctccc<br>gtgctggactccgacggctccttcttcctctac<br>agcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcag<br>caggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcat | evqllesgggl<br>vqpggslrlsc<br>aasgftfssyg<br>mswvrqapgkg<br>legvsaisgsg<br>gstyyadsvkg<br>rftisrdnskn<br>tlylqmnslra<br>edtavyycake<br>klryfdwlsda<br>fdiwgqgtmvt<br>vssggggsggg<br>gsggggsgggg<br>sdivmtqspds<br>lavslgerati<br>ncksshsvlys<br>snnknylawyq<br>qkpgqppklli<br>ywastresgvp<br>drfsgsgsgtd<br>ftltisslqae<br>dvavyycqqyy<br>stppttfgggt<br>kveikssepk<br>ssdkthtcppc<br>papeaagapsv<br>flfppkpkdtl<br>misrtpevtcv<br>vvdvshedpev<br>kfnwyvdgvev<br>hnaktkpreeq<br>ynstyrvvsvl<br>tvlhqdwlngk<br>eykcavsnkal<br>papiektiska<br>kgqprepqvyt<br>lppsrdeltkn<br>qvsltclvkgf<br>ypsdiavewes<br>ngqpennyktt<br>ppvldsdgsff<br>lyskltvdksr<br>wqqgnvfscsv<br>mhealhnhytq<br>kslslspgsgg | 서열번호 309<br><br>(서열번호 310) |

[0161]

| 명칭 | 뉴클레오타이드 서열 | 아미노산 서열 | 서열번호 뉴클레오타이드 (아미노산) |
|---|---|---|---|
| | gaggctctgcacaaccactacacgcagaagagc<br>ctctccctgtctccgggttccggaggaggggggt<br>tcaggtgggggaggttctggcggcgggggaagc<br>ccttcacaggtgcaactggtgcagagtggaccc<br>gaggttaaaaaaccagggtcctccgttaaggtt<br>agctgcaaagcctctggctacacattttccagg<br>agtacaatgcactgggtgaggcaggctcctgga<br>cagggactcgagtggatcgggtatatcaaccca<br>tctagcgcctataccaattacaaccaaaagttt<br>aaggaccgagttaccattaccgctgacaaatcc<br>accagtacagcttatatggagctgtcatctctt<br>aggtccgaggacactgctgtttattactgcgct<br>cgtcctcaggttcactatgactataatggtttt<br>ccctactggggtcagggaaccctggtgactgtc<br>tcttctggcggtggaggcagcggtgggggtggg<br>tctggaggcggtggcagtggcggcggaggctct<br>gatattcagatgactcagtctcctagcactctc<br>agcgccagcgtgggggatcgtgtgacaatgact<br>tgctccgctagcagtagtgtgtcttacatgaat<br>tggtatcagcagaagcccgggaaagcacctaag<br>cgctggatctatgactcttccaagctggcaagt<br>ggtgtcccctcacggttctctggctcaggttct<br>ggtactgactatactttgactatctcctccctc<br>cagcccgatgatttcgctacctattattgtcag<br>cagtggagccgtaacccacccactttcggaggc<br>ggtaccaaagtggagatcaagaggtcataa | ggsggggsggg<br>gspsqvqlvqs<br>gpevkkpgssv<br>kvsckasgytf<br>srstmhwvrqa<br>pgqglewigyi<br>npssaytnynq<br>kfkdrvtitad<br>kststaymels<br>slrsedtavyy<br>carpqvhydyn<br>gfpywgqgtlv<br>tvssggggsgg<br>ggsggggsggg<br>gsdiqmtqsps<br>tlsasvgdrvt<br>mtcsasssvsy<br>mnwyqqkpgka<br>pkrwiydsskl<br>asgvpsrfsgs<br>gsgtdytltis<br>slqpddfatyy<br>cqqwsrnpptf<br>gggtkveikrs | |
| OMT1 VLVH x TSC456 scFv-Fc-scFv TRI130 | atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctg<br>ctactctggctcccagataccaccggtgacatc<br>gtgatgacccagtctccagactccctggctgtg<br>tctctgggcgagagggccaccatcaactgcaag<br>tccagccacagtgttttatacagctccaacaat<br>aagaactacttagcttggtaccagcagaaacca<br>ggacagcctcctaagctgctcatttactgggca<br>tctacccgggaatccggggtccctgaccgattc<br>agtggcagcgggtctgggacagatttcactctc<br>accatcagcagcctgcaggctgaagatgtggca<br>gtttattactgtcagcaatattatagtactcct<br>ccgaccactttcggcggagggaccaaggtggag<br>atcaaaggtggaggcggttcaggcggaggtgga<br>tccggcggtggcggctccggtggcggcggatct<br>gaggtgcagctgttggagtctgggggaggcttg<br>gtacagcctggggggtccctgagactctcctgt<br>gcagcctctggattcacctttagcagctatggc<br>atgagctgggtccgccaggctccagggaagggg<br>ctggagggggtctcagctattagtggtagtggt<br>ggtagcacatactacgcagactccgtgaagggc<br>cggttcaccatctccagagacaattccaagaac<br>acgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagcc<br>gaggacacggccgtatattactgtgcgaaagaa | divmtqspdsl<br>avslgeratin<br>cksshsvlyss<br>nnknylawyqq<br>kpgqppklliy<br>wastresgvpd<br>rfsgsgsgtdf<br>tltisslqaed<br>vavyycqqyys<br>tppttfgggtk<br>veikggggsgg<br>ggsggggsggg<br>gsevqllesgg<br>glvqpggslrl<br>scaasgftfss<br>ygmswvrqapg<br>kglegvsaisg<br>sggstyyadsv<br>kgrftisrdns<br>kntlylqmnsl<br>raedtavyyca<br>keklryfdwls<br>dafdiwgqgtm | 서열번호 311 (서열번호 312) |

[0162]

| 명칭 | 뉴클레오타이드 서열 | 아미노산 서열 | 서열번호 뉴클레오타이드 (아미노산) |
|---|---|---|---|
| | aagttacgatattttgactggttatccgatgct<br>tttgatatctggggccaagggacaatggtcacc<br>gtctcctcgagtgagcccaaatcttctgacaaa<br>actcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaa<br>gccgcgggtgcaccgtcagtcttcctcttcccc<br>ccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccgg<br>acccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtg<br>agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactgg<br>tacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaag<br>acaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacg<br>taccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcac<br>caggactggctgaatggcaaggaatacaagtgc<br>gcggtctccaacaaagccctcccagcccccatc<br>gagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccc<br>cgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcc<br>cgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctg<br>acctgcctggtcaaaggcttctatccaagcgac<br>atcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg<br>gagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctg<br>gactccgacggctccttcttcctctacagcaag<br>ctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggg<br>aacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggct<br>ctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcc<br>ctgtctccgggttccggaggaggggttcaggt<br>gggggaggttctggcggcgggggaagcccttca<br>caggtgcaactggtgcagagtggacccgaggtt<br>aaaaaaccagggtcctccgttaaggttagctgc<br>aaagcctctggctacacattttccaggagtaca<br>atgcactgggtgaggcaggctcctggacaggga<br>ctcgagtggatcgggtatatcaacccatctagc<br>gcctataccaattacaaccaaaagtttaaggac<br>cgagttaccattaccgctgacaaatccaccagt<br>acagcttatatggagctgtcatctcttaggtcc<br>gaggacactgctgtttattactgcgctcgtcct<br>caggttcactatgactataatggttttccctac<br>tggggtcagggaaccctggtgactgtctcttct<br>ggcggtggaggcagcggtgggggtgggtctgga<br>ggcggtggcagtggcggcggaggctctgatatt<br>cagatgactcagtctcctagcactctcagcgcc<br>agcgtgggggatcgtgtgacaatgacttgctcc<br>gctagcagtagtgtgtcttacatgaattggtat<br>cagcagaagcccgggaaagcacctaagcgctgg<br>atctatgactcttccaagctggcaagtggtgtc<br>ccctcacggttctctggctcaggttctggtact<br>gactatactttgactatctcctccctccagccc<br>gatgatttcgctacctattattgtcagcagtgg<br>agccgtaacccacccactttcggaggcggtacc<br>aaagtggagatcaagaggtcataa | vtvsssepkss<br>dkthtcppcpa<br>peaagapsvfl<br>fppkpkdtlmi<br>srtpevtcvvv<br>dvshedpevkf<br>nwyvdgvevhn<br>aktkpreeqyn<br>styrvvsvltv<br>lhqdwlngkey<br>kcavsnkalpa<br>piektiskakg<br>qprepqvytlp<br>psrdeltknqv<br>sltclvkgfyp<br>sdiavewesng<br>qpennykttpp<br>vldsdgsffly<br>skltvdksrwq<br>qgnvfscsvmh<br>ealhnhytqks<br>lslspgsgggg<br>sggggsggggs<br>psqvqlvqsgp<br>evkkpgssvkv<br>sckasgytfsr<br>stmhwvrqapg<br>qglewigyinp<br>ssaytnynqkf<br>kdrvtitadks<br>tstaymelssl<br>rsedtavyyca<br>rpqvhydyngf<br>pywgggtlvtv<br>ssggggsgggg<br>sggggsggggs<br>diqmtqspstl<br>sasvgdrvtmt<br>csasssvsymn<br>wyqqkpgkapk<br>rwiydssklas<br>gvpsrfsgsgs<br>gtdytltissl<br>qpddfatyycq<br>qwsrnpptfgg<br>gtkveikrs | |

[0163]

| 명칭 | 뉴클레오타이드 서열 | 아미노산 서열 | 서열번호 뉴클레오타이드 (아미노산) |
|---|---|---|---|
| Cris7 및 DRA222 VH CDR1 (Kabat) | | RSTMH | (서열번호 345) |
| Cris7 및 DRA222 VH CDR2 (Kabat) | | YINPSSAYTNYNQKFK | (서열번호 346) |
| Cris7 및 DRA222 VH CDR3 (Kabat) | | QVHYDYNGFPY | (서열번호 347) |
| Cris7 및 DRA222 VL CDR1 (Kabat) | | SASSSVSYMN | (서열번호 348) |
| Cris7 및 DRA222 VL CDR2 (Kabat) | | DSSKLAS | (서열번호 349) |
| Cris7 및 DRA222 VL CDR3 (Kabat) | | QQWSRNPPT | (서열번호 350) |
| Cris7 및 DRA222 VH CDR1 (IMGT) | | GYTFTRST | (서열번호 351) |
| Cris7 및 DRA222 VH CDR2 (IMGT) | | INPSSAYT | (서열번호 352) |

| 명칭 | 뉴클레오타이드 서열 | 아미노산 서열 | 서열번호 뉴클레오타이드 (아미노산) |
|---|---|---|---|
| Cris7 및 DRA222 VH CDR3 (IMGT) | | QQWSRNPPT | (서열번호 353) |
| Cris7 및 DRA222 VL CDR1 (IMGT) | | ASSSVSY | (서열번호 354) |
| Cris7 및 DRA222 VL CDR2 (IMGT) | | DSS | (서열번호 355) |
| Cris7 및 DRA222 VL CDR3 (IMGT) | | QQWSRNPPT | (서열번호 356) |
| Cris-7 가변 경쇄 서열 | | QVVLTQSPAIM SAFPGEKVTMT CSASSSVSYMN WYQQKSGTSPK RWIYDSSKLAS GVPARFSGSGS GTSYSLTISSM ETEDAATYYCQ QWSRNPPTFGG GTKLQITR | (서열번호 341) |
| Cris-7 가변 중쇄 서열 | | QVQLQQSGAEL ARPGASVKMSC KASGYTFTRST MHWVKQRPGQG LEWIGYINPSS AYTNYNQKFKD KATLTADKSSS TAYMQLSSLTS EDSAVYYCASP QVHYDYNGFPY WGQGTLVTVSA | (서열번호 342) |
| HuM291 가변 경쇄 서열 | | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT CSASSSVSYMN WYQQKPGKAPK RLIYDTSKLAS | (서열번호 343) |

[0164]

[0165]

| 명칭 | 뉴클레오타이드 서열 | 아미노산 서열 | 서열번호 뉴클레오타이드 (아미노산) |
|---|---|---|---|
| | | GVPSRFSGSGS GTDFTLTISSL QPEDFATYYCQ QWSSNPPTFGG GTKVEIK | |
| HuM291 가변 중쇄 서열 | | QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSC KASGYTFISYT MHWVRQAPGQG LEWMGYINPRS GYTHYNQKLKD KATLTADKSAS TAYMELSSLRS EDTAVYYCARS AYYDYDGFAYW GQGTLVTVSS | (서열번호 344) |
| I2C VH CDR1 (Kabat) | | KYAMN | (서열번호 357) |
| I2C VH CDR2 (Kabat) | | RIRSKYNNYAT YYADSVKD | (서열번호 358) |
| I2C VH CDR3 (Kabat) | | HGNFGNSYISY WAY | (서열번호 359) |
| I2C VL CDR1 (Kabat) | | GSSTGAVTSGN YPN | (서열번호 360) |
| I2C VL CDR2 (Kabat) | | GTKFLAP | (서열번호 361) |
| I2C VL CDR3 (Kabat) | | VLWYSNRWV | (서열번호 362) |
| I2C VH CDR1 (IMGT) | | GFTFNKYA | (서열번호 363) |
| I2C VH CDR2 (IMGT) | | IRSKYNNYAT | (서열번호 364) |
| I2C VH CDR3 (IMGT) | | VRHGNFGNSYI SYWAY | (서열번호 365) |

[0166]

| 명칭 | 뉴클레오타이드 서열 | 아미노산 서열 | 서열번호 뉴클레오타이드 (아미노산) |
|---|---|---|---|
| I2C VL CDR1 (IMGT) | | TGAVTSGNY | (서열번호 366) |
| I2C VL CDR2 (IMGT) | | GTK | (서열번호 367) |
| I2C VL CDR3 (IMGT) | | VLWYSNRWV | (서열번호 368) |
| HuM291 VH CDR1 (Kabat) | | SYTMH | (서열번호 369) |
| HuM291 VH CDR2 (Kabat) | | YINPRSGYTHY NQKLKD | (서열번호 370) |
| HuM291 VH CDR3 (Kabat) | | SAYYDYDGFAY | (서열번호 371) |
| HuM291 VL CDR1 (Kabat) | | SASSSVSYMN | (서열번호 372) |
| HuM291 VL CDR2 (Kabat) | | DTSKLAS | (서열번호 373) |
| HuM291 VL CDR3 (Kabat) | | QQWSSNPPT | (서열번호 374) |
| HuM291 VH CDR1 (IMGT) | | GYTFISYT | (서열번호 375) |
| HuM291 VH CDR2 (IMGT) | | INPRSGYT | (서열번호 376) |

| 명칭 | 뉴클레오타이드 서열 | 아미노산 서열 | 서열번호 뉴클레오타이드 (아미노산) |
|---|---|---|---|
| HuM291 VH CDR3 (IMGT) | | ARSAYYDYDGFAY | (서열번호 377) |
| HuM291 VL CDR1 (IMGT) | | ASSSVSY | (서열번호 378) |
| HuM291 VL CDR2 (IMGT) | | DTS | (서열번호 379) |
| HuM291 VL CDR3 (IMGT) | | QQWSSNPPT | (서열번호 380) |
| TSC455 (항-CD3) TSC394 F87Y scFv | | QVQLVQSGPEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSRSTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSAYTNYNQKFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPQVHYDYNGFPYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTMTCSASSSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDSSKLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQQWSRNPPTFGGGTKVEIKRSSS | (서열번호 381) |
| TSC456 (항-CD3) TSC394 E86D F87Y scFv | | QVQLVQSGPEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSRSTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSAYTNYNQKFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRS | (서열번호 382) |

[0167]

[0168]

| 명칭 | 뉴클레오타이드 서열 | 아미노산 서열 | 서열번호 뉴클레오타이드 (아미노산) |
|---|---|---|---|
| | | EDTAVYYCARP<br>QVHYDYNGFPY<br>WGQGTLVTVSS<br>GGGGSGGGGSG<br>GGGSGGGGSDI<br>QMTQSPSTLSA<br>SVGDRVTMTCS<br>ASSSVSYMNWY<br>QQKPGKAPKRW<br>IYDSSKLASGV<br>PSRFSGSGSGT<br>DYTLTISSLQP<br>DDFATYYCQQW<br>SRNPPTFGGGT<br>KVEIKRSSS | |
| TSC455 and TSC456 가변 중쇄 도메인 | | QVQLVQSGPEV<br>KKPGSSVKVSC<br>KASGYTFSRST<br>MHWVRQAPGQG<br>LEWIGYINPSS<br>AYTNYNQKFKD<br>RVTITADKSTS<br>TAYMELSSLRS<br>EDTAVYYCARP<br>QVHYDYNGFPY<br>WGQGTLVTVSS | (서열번호 383) |
| TSC455 가변 경쇄 도메인 | | DIQMTQSPSTL<br>SASVGDRVTMT<br>CSASSSVSYMN<br>WYQQKPGKAPK<br>RWIYDSSKLAS<br>GVPSRFSGSGS<br>GTEYTLTISSL<br>QPDDFATYYCQ<br>QWSRNPPTFGG<br>GTKVEIKRS | (서열번호 384) |
| TSC456 가변 경쇄 도메인 | | DIQMTQSPSTL<br>SASVGDRVTMT<br>CSASSSVSYMN<br>WYQQKPGKAPK<br>RWIYDSSKLAS<br>GVPSRFSGSGS<br>GTDYTLTISSL<br>QPDDFATYYCQ<br>QWSRNPPTFGG<br>GTKVEIKRS | (서열번호 385) |

| 명칭 | 뉴클레오타이드 서열 | 아미노산 서열 | 서열번호 뉴클레오타이드 (아미노산) |
|---|---|---|---|
| DRA222 (항-CD3) scFv | | QVQLVESGGGV VQPGRSLRLSC KASGYTFTRST MHWVRQAPGQG LEWIGYINPSS AYTNYNQKFKD RFTISADKSKS TAFLQMDSLRP EDTGVYFCARP QVHYDYNGFPY WGQGTPVTVSS GGGGSGGGGSG GGGSAQDIQMT QSPSSLSASVG DRVTMTCSASS SVSYMNWYQQK PGKAPKRWIYD SSKLASGVPAR FSGSGSGTDYT LTISSLQPEDF ATYYCQQWSRN PPTFGGGTKLQ ITSSS | (서열번호 386) |
| DRA222 가변 중쇄 도메인 | | QVQLVESGGGV VQPGRSLRLSC KASGYTFTRST MHWVRQAPGQG LEWIGYINPSS AYTNYNQKFKD RFTISADKSKS TAFLQMDSLRP EDTGVYFCARP QVHYDYNGFPY WGQGTPVTVSS | (서열번호 387) |
| DRA222 가변 경쇄 도메인 | | DIQMTQSPSSL SASVGDRVTMT CSASSSVSYMN WYQQKPGKAPK RWIYDSSKLAS GVPARFSGSGS GTDYTLTISSL QPEDFATYYCQ QWSRNPPTFGG GTKLQITS | (서열번호 388) |

[0169]

표 4

인간화된 작제물의 조성

| 작제물 ID | scFv 배향 | 뉴클레오타이드 서열번호 | 아미노산 서열번호 |
|---|---|---|---|
| **TRI129** | VHVL | 309 | 310 |
| **TRI130** | VLVH | 311 | 312 |

[0170]

표 5

예시적인 결합 작제물의 아미노산 서열

| 작제물 명칭 | 서열 | 서열번호 |
|---|---|---|
| **TRI130** (CD123 결합 도메인(볼드체), CD3 결합 도메인(이탤릭체)) (CDR 서열은 단일 밑줄표시됨) | MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG**DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSHSV LYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFT LTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPPTTFGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPG KGLEGVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAKEKLRYFDWLSDAFDIWGQGTMVTVSS**SEPKSSDKTHTCPPCP APEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG*SGGGGSGGGGSGGGGSPS*QVQLVQSGPEV *KKPGSSVKVSCKAS*GYTFSRST*MHWVRQAPGQGLEWIGY*INPSSAYT*NY *NQKFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC*ARPQVHYDYNGFP *YWGQGTLVTVSS*GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGD *RVTMTCS*ASSSVSY*MNWYQQKPGKAPKRWIY*DSS*KLASGVPSRFSGSGS *GTDYTLTISSLQPDDFATYYC*QQWSRNPPT*FGGGTKVEIKRS* | 337 |

[0171]

[0172] 특정 실시형태에서, CD123-결합 도메인은 (i) CDR LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL), 및 (ii) HCDR1이 서열번호 144에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2가 서열번호 146에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3이 서열번호 148에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는, CDR HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH)을 포함한다. 특정 실시형태에서, CD123-결합 도메인은 (i) CDR LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL) 및 (ii) CDR HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH)을 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, (i) LCDR1은 서열번호 138에 제시된 아미노산 서열 또는 적어도 하나의 아미노산 치환만큼 서열번호 138과 상이한 서열을 갖고; (ii) LCDR2는 서열번호 140에 제시된 아미노산 서열 또는 적어도 하나의 아미노산 치환만큼 서열번호 140과 상이한 서열을 갖고; (iii) LCDR3은 서열번호 142에 제시된 아미노산 서열 또는 적어도 하나의 아미노산 치환만큼 서열번호 142와 상이한 서열을 갖고; (iv) HCDR1은 서열번호 144에 제시된 아미노산 서열 또는 적어도 하나의 아미노산 치환만큼 서열번호 144와 상이한 서열을 갖고; (v) HCDR2는 서열번호 146에 제시된 아미노산 서열 또는 적어도 하나의 아미노산 치환만큼 서열번호 146와 상이한 서열을 갖고; (vi) HCDR3은 서열번호 148에 제시된 아미노산 서열 또는 적어도 하나의 아미노산 치환만큼 서열번호 148과 상이한 서열을 갖는다. 상기 기재된 아미노산 치환은 보존적 또는 비보존적 아미노산 치환일 수 있다. 일부 실시형태에서, LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산만큼 열거된 서열과 상이하다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 CDR은 알려진 단클론성 항체의 CDR 서열과 비교할 때, 약 하나 이상의(예를 들어, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의) 삽입, 약 하나 이상의(예를 들어, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의) 결실, 약 하나 이상의(예를 들어, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의) 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환 또는 비보존적 아미노산 치환), 또는 상기 언급한 변화의 조합을 포함한다. 예를 들어, 본 개시내용은 (i) LCDR1은 서열번호 138에 제시된 아미노산 서열 또는 1 또는 2개의 아미노산 치환만큼 서열번호 138과 상이한 서열을 갖고; (ii) LCDR2는 서열번호 140에 제시된 아미노산 서열 또는 1 또는 2개의 아미노산 치환만큼 서열번호 140과 상이한 서열을 갖고; (iii) LCDR3은 서열번호 142에 제시된 아미노산 서열 또는 1 또는 2개의 아미노산 치환만큼 서열번호 142와 상이한 서열을 갖고; (iv) HCDR1은 서열번호 144에 제시된 아미노산 서열 또는 1 또는 2개의 아미노산 치환만큼 서열번호 144와 상이한 서열을 갖고; (v) HCDR2는 서열번호 146에 제시된 아미노산 서열 또는 1 또는 2개의 아미노산 치환만큼 서열번호 146와 상이한 서열을 갖고; (vi) HCDR3은 서열번호 148에 제시된 아미노산 서열 또는 1 또는 2개의 아미노산 치환만큼 서열번호

148과 상이한 서열을 갖는, 재조합 폴리펩타이드를 포함한다. 상기 기재된 아미노산 치환은 보존적 또는 비보존적 아미노산 치환일 수 있다.

[0173] 관련된 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 폴리펩타이드는 경쇄 가변 영역($V_L$)의 아미노산 서열(예를 들어, 서열번호 134) 또는 중쇄 가변 영역($V_H$)의 아미노산 서열(예를 들어, 서열번호 136)에, 또는 둘 다와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 88%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 적어도 약 99.5% 또는 100% 동일한 서열을 포함하거나, 이러한 서열이다. 일 실시형태에서, 재조합 폴리펩타이드의 CD123-결합 도메인은 VHVL 배향에서 서열번호 136을 포함하는 가변 중쇄 및 서열번호 134를 포함하는 가변 중쇄를 포함하는 scFv이다. 다른 실시형태에서, 재조합 폴리펩타이드의 CD123-결합 도메인은 VLVH 배향에서 서열번호 134를 포함하는 가변 경쇄 및 서열번호 136을 포함하는 가변 중쇄를 포함하는 scFv이다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 폴리펩타이드는 서열번호 337의 아미노산 서열을 포함한다. 본 개시내용은 서열번호 337의 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 88%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 적어도 약 99.5% 또는 100% 동일한 재조합 폴리펩타이드를 포함한다.

[0174] 특정 실시형태에서, CD123-결합 도메인은 (i) CDR LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역($V_L$) 및 (ii) CDR HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역($V_H$)을 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, (i) LCDR1은 서열번호 154에 제시된 아미노산 서열 또는 적어도 하나의 아미노산 치환만큼 서열번호 154와 상이한 서열을 갖고; (ii) LCDR2는 서열번호 156에 제시된 아미노산 서열 또는 적어도 하나의 아미노산 치환만큼 서열번호 156과 상이한 서열을 갖고; (iii) LCDR3은 서열번호 158에 제시된 아미노산 서열 또는 적어도 하나의 아미노산 치환만큼 서열번호 158과 상이한 서열을 갖고; (iv) HCDR1은 서열번호 160에 제시된 아미노산 서열 또는 적어도 하나의 아미노산 치환만큼 서열번호 160과 상이한 서열을 갖고; (v) HCDR2는 서열번호 162에 제시된 아미노산 서열 또는 적어도 하나의 아미노산 치환만큼 서열번호 162와 상이한 서열을 갖고; (vi) HCDR3은 서열번호 164에 제시된 아미노산 서열 또는 적어도 하나의 아미노산 치환만큼 서열번호 164와 상이한 서열을 갖는다. 상기 기재된 아미노산 치환은 보존적 또는 비보존적 아미노산 치환일 수 있다. 일부 실시형태에서, LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산만큼 열거된 서열과 상이하다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 CDR은 알려진 단클론성 항체의 CDR 서열과 비교할 때, 약 하나 이상의(예를 들어, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의) 삽입, 약 하나 이상의(예를 들어, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의) 결실, 약 하나 이상의(예를 들어, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의) 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환 또는 비보존적 아미노산 치환), 또는 상기 언급한 변화의 조합을 포함한다.

[0175] 관련된 실시형태에서, CD123-결합 도메인은 경쇄 가변 영역($V_L$)의 아미노산 서열(예를 들어, 서열번호 17) 또는 중쇄 가변 영역($V_H$)의 아미노산 서열(예를 들어, 서열번호 16)에, 또는 둘 다와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 88%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 적어도 약 99.5% 또는 100% 동일한 서열을 포함하거나, 이러한 서열이다.

[0176] 특정 실시형태에서, CD123-결합 도메인은 인간화된 면역글로불린 $V_L$ 및/또는 $V_H$ 영역을 포함한다. 면역글로불린 $V_L$ 및 $V_H$ 영역을 인간화하기 위한 기법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 미국 특허 공개 제2006/0153837호에서 논의된다. 특정 실시형태에서, CD123-결합 도메인은 인간 면역글로불린 $V_L$ 및/또는 $V_H$ 영역을 포함한다.

[0177] 본질적으로, CDR 접합에 의한 인간화는 인간 가변 영역 프레임워크 및 인간 불변 영역 상에 비-인간 항체의 CDR만을 재조합하는 것을 수반한다. 이론적으로, 이는 면역원성을 실질적으로 감소 또는 제거하여야 한다(동종이인자형 또는 이디오타입 차이가 존재하는 경우를 제외). 그러나, 본래 항체의 일부 프레임워크 잔기가 또한 보존될 필요가 있을 수 있다는 것이 보고되었다(Reichmann *et al.*, *Nature*, 332:323 (1988); Queen *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:10,029 (1989)).

[0178] 보존될 필요가 있는 프레임워크 잔기는 컴퓨터 모델링을 통해 확인될 수 있다. 대안적으로, 중요한 프레임워크 잔기는 알려진 항원-결합 부위 구조를 비교함으로써 잠재적으로 확인될 수 있다(Padlan, *Molec. Immunol.*, 31(3):169-217 (1994), 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

[0179] 항원 결합에 잠재적으로 영향을 미치는 잔기는 몇 가지의 그룹에 속한다. 제1 그룹은 항원 부위 표면과 인접한 잔기를 포함하고, 이는 따라서 항원과 직접 접촉된다. 이들 잔기는 아미노-말단 잔기 및 CDR에 인접한 것을 포함한다. 제2 그룹은 항체에서 CDR 또는 다른 펩타이드 쇄를 접촉시킴으로써, CDR의 구조 또는 상대 배열을 변경시킬 수 있는 잔기를 포함한다. 제3 그룹은 가변 도메인의 구조적 완전함에 영향을 미칠 수 있는 파묻힌 측쇄를 갖는 아미노산을 포함한다. 이들 그룹에서 잔기는 보통 동일한 위치에서 발견되지만(Padlan, 1994, 상기 참조), 확인된 바와 같은 이들의 위치는 넘버링 시스템에 따라 다를 수 있다(문헌[Kabat *et al.*, "Sequences of proteins of immunological interest, 5th ed., Pub. No. 91-3242, U.S. Dept. Health & Human Services, NIH, Bethesda, Md., 1991] 참조).

[0180] 당업계의 인간화된 항체에 관한 지식은, 본 개시내용에 따른 폴리펩타이드가 항체가 아니라고 해도, 이들 폴리펩타이드에 적용 가능하다.

[0181] 일부 실시형태에서, 항-CD123 scFv는 서열번호 10을 포함하는 HCDR1, 서열번호 11을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 12를 포함하는 HDCR3; 및 서열번호 13을 포함하는 LCDR1, 서열번호 14를 포함하는 LCDR2 및 서열번호 15를 포함하는 LCDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD123 scFv는 서열번호 136과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 134와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD123 scFv는 서열번호 16과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD123 scFv는 서열번호 17과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, 종양 항원 결합 도메인은 항-CD123 scFv이고, scFv는 서열번호 18과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함한다.

[0182] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 CD123-결합 도메인에 관한 것이되, (i) 면역글로불린 경쇄 가변 영역은 서열번호 134에 제시된 아미노산 서열과 적어도 88%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 면역글로불린 중쇄 가변 영역은 서열번호 136에 제시된 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0183] 추가 실시형태에서, 각각의 CDR은 관심의 표적(예를 들어, CD123)에 특이적으로 결합하는 단클론성 항체 또는 이의 단편 또는 유도체에 비해서, 1, 2 또는 3개 이하의 치환, 삽입 또는 결실을 포함한다.

[0184] 특정 실시형태에서, CD123-결합 도메인은 CD123에 대한 IL-3 결합을 저해하지 않는다.

[0185] 특정 실시형태에서, CD123-결합 분자 또는 단백질은 CD123을 발현시키는 표적 세포에 대한 T-세포의 보충을 위해 T-세포 결합 도메인을 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 CD123-결합 단백질은 (i) TCR 복합체 또는 이의 성분(예를 들어, TCRα, TCRβ, CD3γ, CD3δ 및 CD3ε)에 특이적으로 결합하는 결합 도메인 및 (ii) CD123에 특이적으로 결합하는 다른 결합 도메인을 포함할 수 있다. CD123-결합 단백질은 T-세포에 결합하는 임의의 결합 도메인, 예를 들어, 항체 유래 결합 도메인을 본질적으로 이용할 수 있다. CD3 결합 도메인이 유래될 수 있는 예시적인 항-CD3 항체는 CRIS-7 단클론성 항체(Reinherz, E. L. *et al.* (eds.), *Leukocyte typing II.*, Springer Verlag, New York, (1986); 서열번호 341에 각각 나타낸 $V_L$ 및 $V_H$ 아미노산 서열(QVVLTQSPAIMSAFPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDSSKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMETEDAATYYCQQWSRNPPTFGGGTKLQITR) 및 서열번호 342 (QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRSTMHWVKQRPGQGLEWIGYINP

[0186] SSAYTNYNQKFKDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCASPQVHYDYNGFPYWGQGTLVTVSA)); HuM291(Chau *et al.* (2001) *Transplantation* 71:941-950; 서열번호 343에 각각 나타낸 $V_L$ 및 $V_H$ 아미노산 서열(DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQKPGKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSSNPPTFGGGTKVEIK) 및 서열번호 344 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFISYTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPRSGYTHYNQKLKDKATLTADKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSAYYDYDGFAYWGQGTLVTVSS)); BC3 단클론성 항체(Anasetti *et al.* (1990) *J. Exp. Med.* 172:1691); OKT3 단클론성 항체(Ortho multicenter Transplant Study Group (1985) *N. Engl. J. Med.* 313:337) 및 이들의 유도체, 예컨대, OKT3 ala-ala(또한 OKT3 AA-FL 또는 OKT3 FL로 지칭됨), 234 및 235번 위치에서 알라닌 치환을 갖는 인간화된, Fc 변이체(Herold *et al.* (2003) *J. Clin. Invest.* 11:409); 비실리주맙(visilizumab)(Carpenter *et al.* (2002) *Blood* 99:2712), G19-4 단클론성 항체(Ledbetter *et al.*, 1986, *J. Immunol.* 136:3945), 145-2C11 단클론성 항체(Hirsch *et al.* (1988) *J. Immunol.* 140: 3766) 및 I2C 단클론성 항체(예를 들어, US 2011/0293619 및 US20120244162 참조)를 포함한다. 예를 들어, CD3 결합 도메인은 US 2012/0244162의 서열번호

17, 21, 35, 39, 53, 57, 71, 75, 89, 83, 107, 111, 125, 129, 143, 147, 161, 165, 179 및 183로부터 선택된 VL 영역 및/또는 US 2012/0244162의 서열번호 15, 19, 33, 37, 51, 55, 69, 73, 87, 91, 105, 109, 123, 127, 141, 145, 159, 163, 177 및 181로부터 선택된 VH 영역을 포함하는 CD3 결합 도메인을 비롯한, 미국 특허 공개 제2012/0244162호에 개시된 CD3 결합 도메인을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 도메인은 US 2012/0244162의 서열번호 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 및 187로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 도메인은 WO2004/106380, WO2005/040220A1, US 2014/0099318에 기재된 것 또는 이의 CD3 결합 도메인으로부터 유래된 것이다. 예시적인 항-TCR 항체는 BMA031 단클론성 항체이다(Borst *et al.* (1990) *Human Immunology* 29:175-188). CD3 결합 도메인은 WO 2013/158856에 기재된 임의의 항체 또는 서열로부터 유래될 수 있다(본 명세서에 이의 전문이 참조에 의해 원용됨).

[0187] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 CD123-결합 폴리펩타이드의 제2 결합 도메인은 (i) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역, 및 (ii) HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역을 포함하되, (a) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3은 각각 서열번호 348, 349 및 350에 제시된 아미노산 서열을 갖고, HCDR1, HCDR2 및 HCDR3은 서열번호 345, 346 및 347에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖거나; 또는 (b) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3은 서열번호 354, 서열번호 355 및 서열번호 356에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖고, HCDR1, HCDR2 및 HCDR3은 서열번호 351, 서열번호 352 및 서열번호 353에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 CD123-결합 폴리펩타이드의 제2 결합 도메인은 (i) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역, 및 (ii) HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역을 포함하되, (a) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3은 서열번호: 182, 183 및 184에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖고, HCDR1, HCDR2 및 HCDR3은 서열번호: 351, 352 및 353에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖고, HCDR1, HCDR2 및 HCDR3은 서열번호 357, 359 및 359에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖거나; 또는 (b) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3은 서열번호 359, 367 및 368에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖고, HCDR1, HCDR2 및 HCDR3은 서열번호 363, 364 및 365에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 CD123-결합 폴리펩타이드의 제2 결합 도메인은 (i) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역, 및 (ii) HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역을 포함하되, (a) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3은 서열번호 372, 373 및 374에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖거나; 또는 (b) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3은 서열번호 378, 379 및 380에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖고, HCDR1, HCDR2 및 HCDR3은 서열번호 375, 376 및 377에 각각 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 본 단락에 열거된 CDR 서열을 포함하는 제2 결합 도메인은 인간화된다.

[0188] CD3ε에 특이적으로 결합하는 제2 결합 도메인을 포함하는 CD123-결합 단백질의 일부 실시형태에서, 제2 결합 도메인은 CD3ε에 대한 결합에 대해 CRIS-7, HuM291 또는 I2C 단클론성 항체와 경쟁한다. 일부 실시형태에서, CD3-결합 도메인은 CRIS-7, HuM291 또는 I2C 단클론성 항체로부터 유래된 면역글로불린 경쇄 가변 영역($V_L$) 및 면역글로불린 중쇄 가변 영역($V_H$)을 포함한다(예를 들어, 제2 결합 도메인의 $V_L$ 및 $V_H$는 단클론성 항체의 경쇄 CDR 및 중쇄 CDR을 각각 포함하는 인간화된 가변 영역일 수 있다). 제2 결합 도메인은 DRA222, TSC455, 또는 TSC456 CD3-결합 도메인의 경쇄 가변 영역, 중쇄 가변 영역, 또는 둘 다를 포함할 수 있다. DRA222, TSC455 및 TSC456의 아미노산 서열은 표 4에 제공된다. DRA222 결합 도메인은 또한 WO 2013/158856에 기재된다. TSC455는 또한 TSC394 F87Y로도 지칭될 수 있다. TSC455는 또한 TSC394 E86D F87Y 또는 TSC394 DY로도 지칭될 수 있다.

[0189] 일부 실시형태에서, 제2 결합 도메인은 CD3에 특이적으로 결합하고 면역글로불린 경쇄 가변 영역 및 면역글로불린 중쇄 가변 영역을 포함하되; 면역글로불린 경쇄 가변 영역은 서열번호 384에서 아미노산 서열과 적어도 약 93% 동일, 적어도 약 95% 동일, 적어도 약 97% 동일, 적어도 약 98% 동일 또는 적어도 약 99% 동일하거나; 또는 서열번호 385에서 아미노산 서열과 적어도 약 94% 동일, 적어도 약 95% 동일, 적어도 약 97% 동일, 적어도 약 98% 동일 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 면역글로불린 중쇄 가변 영역은 서열번호 383에서 아미노산 서열과 적어도 약 82% 동일, 적어도 약 85% 동일, 적어도 약 87% 동일, 적어도 약 90% 동일, 적어도 약 92% 동일, 적어도 약 95% 동일, 적어도 약 97% 동일, 적어도 약 98% 동일 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0190] 일부 실시형태에서, 제2 결합 도메인은 서열번호 19를 포함하는 HCDR1, 서열번호 20을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 21을 포함하는 HDCR3; 및 서열번호 22를 포함하는 LCDR1, 서열번호 23을 포함하는 LCDR2 및 서열번호 24를 포함하는 LCDR3을 포함하는 CD3 결합 도메인이다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 도메인은 서열번호 383 또는 387과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 384와 적어도 90%, 적어도

95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-CD3 scFv이다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 도메인은 서열번호 25와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 도메인은 서열번호 26과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 도메인은 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 항-CD3 scFv이다.

[0191] 일부 실시형태에서, CD3-결합 도메인을 더 포함하는 CD123-결합 폴리펩타이드 또는 단백질은 폴리펩타이드 또는 단백질의 재조합 발현 동안 생성된 고분자량 응집물의 낮은 수준을 가질 수 있다. CD3-결합 도메인을 더 포함하는 CD123-결합 폴리펩타이드 또는 단백질은 폴리펩타이드 또는 단백질에 존재하는 CD3-결합 도메인에 따라서, 인간 혈청에서 상대적으로 긴 안정성을 나타낼 수 있다.

[0192] 특정 변형에서, CD3-결합 도메인은 각각 본 명세서에 이의 전문이 참조에 의해 원용되는 US 2013/0129730, US 2011/0293619, US 7,635,472, WO 2010/037836, WO 2004/106381, 또는 WO 2011/121110에 개시된 CD3-결합 서열(예를 들어, CDR 또는 가변 영역) 중 하나 이상을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3-결합 도메인은 표 6에 나타낸 서열 중 하나 이상을 포함한다.

표 6

예시적인 CD3-결합 도메인 경쇄 CDR

[0193]

| LCDR1 | LCDR2 | LCDR3 |
|---|---|---|
| GSSTGAVTSGYYPN (서열번호 110) | GTKFLAP (서열번호 113) | ALWYSNRWV (서열번호 116) |
| RSSTGAVTSGYYPN (서열번호 111) | ATDMRPS (서열번호 114) | ALWYSNRWV (서열번호 117) |
| GSSTGAVTSGNYPN (서열번호 112) | GTKFLAP (서열번호 115) | VLWYSNRWV (서열번호 118) |

[0194] 다양한 실시형태에서, CD3-결합 도메인은 표 7에 나타낸 서열 중 하나 이상을 포함한다.

표 7

예시적인 CD3-결합 도메인 중쇄 CDR

[0195]

| HCDR1 | HCDR2 | HCDR3 |
|---|---|---|
| IYAMN (서열번호 119) | RIRSKYNNYATYYADSVKS (서열번호 122) | HGNFGNSYVSFFAY (서열번호 125) |
| KYAMN (서열번호 120) | RIRSKYNNYATYYADSVKD (서열번호 123) | HGNFGNSYISYWAY (서열번호 126) |
| SYAMN (서열번호 121) | RIRSKYNNYATYYADSVKG (서열번호 124) | HGNFGNSYLSFWAY (서열번호 127) |

[0196] 일부 실시형태에서, 치료용 단백질은, 아미노 말단에서 카복실 말단으로의 순서로, 제1 결합 도메인, 힌지 영역, 면역글로불린 불변 영역 및 제2 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 또는 IgD의 면역글로불린 CH2 및 CH3 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 결합 도메인은 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH); 및 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 일부 실시형태에서, HCDR1은 서열번호 10을 포함하고, HCDR2는 서열번호 11을 포함하고, HDCR3은 서열번호 12를 포함한다. 일부 실시형태에서, LCDR1은 서열번호 13을 포함하고, LCDR2는 서열번호 14을 포함하고, LCDR3은 서열번호 15를 포함한다. 일부 실시형태에서, HCDR1은 서열번호 10을 포함하고, HCDR2는 서열번호 11을 포함하고, HDCR3은 서열번호 12를 포함하며; LCDR1은 서열번호 13을 포함하고, LCDR2는 서열번호 14를 포함하며, LCDR3은 서열번호 15를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 결합 도메인은 서열번호 18과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2

결합 도메인은 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH); (ii) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 일부 실시형태에서, HCDR1은 서열번호 19를 포함하고, HCDR2는 서열번호 20을 포함하고, HDCR3은 서열번호 21을 포함한다. 일부 실시형태에서, LCDR1은 서열번호 22를 포함하고, LCDR2는 서열번호 23을 포함하고, LCDR3은 서열번호 24를 포함한다. 일부 실시형태에서, HCDR1은 서열번호 19를 포함하고, HCDR2는 서열번호 20을 포함하고, HDCR3은 서열번호 21를 포함하며; LCDR1은 서열번호 22를 포함하고, LCDR2는 서열번호 23을 포함하며, LCDR3은 서열번호 24를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 결합 도메인은 서열번호 27과 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료용 단백질은 서열번호 31의 서열을 포함한다.

[0197] 본 명세서에 개시된 다중특이성 항-CD123 및 항-CD3 분자의 구조적 형식은 강한 종양 세포 용해를 유도하지만, 대안의 구조적 형식에서의 다중특이성 항-CD123 및 항-CD3 분자에 비해서 사이토카인 방출이 감소되었다. 임의의 이론에 의해 구속되는 일 없이, 본 명세서에 개시된 폴리펩타이드 구조적 형식은 (예를 들어, 아미노 말단에서 카복실 말단으로의 순서로), (a) CD123-결합 도메인인 제1 결합 도메인; (b) 힌지 영역; (c) 면역글로불린 불변 영역; 및 (d) T-세포, CD3, CD3ε 또는 T-세포 수용체(TCR) 복합체에 특이적으로 결합하는 인간 또는 인간화된 결합 도메인인 제2 결합 도메인을 포함하고, 다른 T-세포 관여자에 비해서 T-세포 수용체(TCR) 자극의 중간 수준을 유도한다. TCR 신호의 강도 또는 구조가 T-세포 활성화의 결과를 조절한다는 것이 광범위하게 보고되었다. TCR 자극은 효과기 기능의 개시(예를 들어, 세포용해 그랜자임), 및 사이토카인 분비 및 세포분열을 포함하는 다수의 세포 사건을 촉발시킨다(Corse, Gottschalk and Allison. J Immunol 2011, 186:5039-5045). 이들 별개의 세포 사건은 상이한 동역학으로 진행되고, TCR 자극 및 추가 인자의 강도에 따라서, 가변적 최대 수준에 도달될 수 있다. 본 명세서에 개시된 다중특이성 구조적 형식은 여러 날에 걸쳐 종양 세포의 용해를 야기하고 T-세포 분열의 다회 라운드를 유도하기에 충분히 강하지만, 사이토카인 분비의 양을 제한하도록 충분히 조정된다.

[0198] 일부 실시형태에서, T 세포 상의 CD3 단백질에 결합될 때 CD123-결합 도메인 및 CD3-결합 도메인을 포함하는 다중특이성 폴리펩타이드는 OKT3 항체 대조군에 비해서 상기 T 세포로부터의 감소된 사이토카인 방출을 유도한다. 일부 실시형태에서, CD123-결합 도메인 및 CD3-결합 도메인을 포함하는 다중특이성 폴리펩타이드는 OKT3 또는 I2C로부터 유래된 CD3-결합 도메인을 포함하는 다중특이성 폴리펩타이드에 비해서 상기 T 세포로부터의 감소된 사이토카인 방출을 유도한다. 일부 실시형태에서, scFv-Fc-scFv 형식으로 CD123-결합 도메인(예를 들어, 서열번호 312 및/또는 서열번호 337과 적어도 93%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CD123-결합 도메인) 및 CD3-결합 도메인을 포함하는 다중특이성 폴리펩타이드는 이중특이성 T-세포 관여자(scFv-scFv) 형식 또는 이중 친화도 재표적화 형식으로 CD123-결합 도메인 및 I2C 유래 CD3-결합 도메인을 포함하는 이중특이성 폴리펩타이드에 비해서 비-인간 영장류 또는 인간에서 감소된 사이토카인 방출을 유도한다.

[0199] 또한 본 명세서에 기재된 치료용 단백질을 포함하는 약제학적 조성물이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시형태에서, 조성물은 1 내지 20㎎/m, 2.5 내지 12㎎/㎖, 또는 5 내지 10㎎/㎖의 치료용 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 2.5㎎/㎖ 내지 약 12㎎/㎖ 또는 약 5㎎/㎖ 내지 약 10㎎/㎖의 치료용 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 또는 약 12㎎/㎖의 치료용 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 5㎎/㎖의 치료용 단백질을 포함한다.

[0200] ***사용 방법***

[0201] 본 개시내용은 질환 또는 장애를 갖는 대상체의 치료 방법을 제공하며, 상기 방법은 치료적 유효량의 적어도 1종의 본 개시내용의 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0202] 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 암일 수 있다. 암은, 예를 들어, 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성증후군(MDS), 털세포 백혈병(HCL), 모구 형질세포양 수지세포 신생물, B-세포 급성 림프모구 백혈병(ALL) 및 만성 골수성 백혈병(CML)으로부터 선택될 수 있다.

[0203] 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 염증성 질환 또는 장애일 수 있다. 실시형태에서, 염증성 질환 또는 장애는 자가면역 질환 또는 장애일 수 있다. 일부 실시형태에서, 자가면역 질환 또는 장애는 과민성 장 증후군, 염증성 장질환(예를 들어, 크론병 또는 궤양성 결장염), 건선, 류마티스 관절염, 청소년 류마티스 관절염, 건선성 관절염, 전신 홍반성 루프스, 천식, 다발성 경화증, 피부근염, 다발성근염, 악성 빈혈, 원발성 담즙성 담관염, 급성 파종성 뇌척수염(ADEM), 에디슨병, 강직성 척추염, 항인지질 항체 증후군(aPL), 자가면역성 간염, 1형 진

성 당뇨병, 굿파스쳐 증후군, 그레이브스병, 길랭-바레 증후군(GBS), 하시모토병, 특발성 혈소판 감소성 자반증, 심상성 천포창, 쇼그렌 증후군, 측두 동맥염, 자가면역 울혈성 빈혈, 수포성 유천포창, 혈관염, 체강 질병, 자궁내막증, 화농성 한선염, 간질성 방광염, 국소피부경화증, 경피증, 기면증, 신경근육긴장증, 백반증, 자가면역 내이질환 및 중증근무력증으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 염증성 질환 또는 장애는 건선이다.

[0204] 일부 실시형태에서, 염증성 질환 또는 장애는 "신경면역 질환", 예컨대, 신경병성 통증, 골관절염, 파킨슨병, 근위축성 측색 경화증, 헌팅턴병 및 알츠하이머병일 수 있다.

[0205] 일부 실시형태에서, 염증성 질환 또는 장애는 유해 이식 연관 사건, 즉, 이식거부, 동종이식편 질환 또는 이식 편대숙주병일 수 있다.

[0206] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 치료 방법 및 용도를 위해, 본 명세서에 기재된 단백질 또는 폴리펩타이드는 치료가 추구하는 질환 또는 장애의 관리와 연관된 통상적인 방법과 일치되는 방식으로 전달된다. 본 명세서의 개시내용에 따라, 치료적 유효량의 단백질 또는 폴리펩타이드는 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하기에 충분한 시간 동안 및 조건 하에서 이러한 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여된다.

[0207] 본 개시내용의 단백질의 투여를 위한 대상체는 특정 장애가 발생할 고위험에 있는 환자뿐만 아니라 현재 이러한 장애가 존재하는 환자를 포함한다. 전형적으로, 대상체는 치료가 추구하는 장애를 갖는 것으로 진단되었다. 추가로, 대상체는 치료 과정 동안 장애의 임의의 변화에 대해(예를 들어, 장애의 임상 증상의 증가 또는 감소에 대해) 모니터링될 수 있다. 또한, 일부 변형에서, 대상체는 치료를 필요로 하는 다른 장애를 앓고 있지 않다.

[0208] 예방적 적용에서, 본 개시내용의 단백질을 포함하는 약제학적 조성물 또는 의약은 장애의 위험을 제거 또는 감소시키거나 발병을 지연시키는 데 충분한 양으로 특정 장애에 걸리기 쉽거나 또 다르게는 위험에 있는 환자에게 투여된다. 치료적 적용에서, 본 개시내용의 단백질을 포함하는 조성물 또는 의약은 장애 및 이의 합병증의 증상을 치유하거나, 또는 적어도 부분적으로 저지하는 데 충분한 양으로 이러한 장애로 의심되거나 이미 앓고 있는 환자에게 투여된다. 이를 달성하는 데 적합한 양은 치료적 유효 용량 또는 양으로 지칭된다. 예방적 요법과 치료적 요법 둘 다에서, 충분한 반응(예를 들어, 부적절한 혈관형성 활성의 저해)이 달성된 때까지 제제는 보통 몇 회의 투약량으로 투여된다. 전형적으로, 반응은 모니터링되며, 목적하는 반응이 희미해지기 시작하면 반복 투약량이 제공된다.

[0209] 본 개시내용의 방법에 따른 치료를 위한 대상 환자를 확인하기 위해, 허용되는 선별 방법은 특정 장애와 연관되는 위험 임자를 결정하거나 대상체에서 확인된 현재의 장애 상태를 결정하는 데 사용될 수 있다. 이러한 방법은, 예를 들어, 개체가 특정 장애로 진단된 친척이 있는지의 여부를 결정하는 단계를 포함할 수 있다. 선별 방법은 또한, 예를 들어, 유전성 성분을 갖는 것으로 알려진 특정 장애에 대한 가족 상태를 결정하기 위해 통상적인 워크업을 포함할 수 있다. 예를 들어, 다양한 암은 또한 특정 유전 성분을 갖는 것으로 알려져 있다. 암의 유전 성분은, 예를 들어, 형질전환되는 다수 유전자(예를 들어, Ras, Raf, EGFR, cMet, 및 기타)의 돌연변이, 특정 HLA 및 살해 저해 수용체(KIR) 분자의 존재 또는 부재, 또는 암 세포가 NK 세포 및 T-세포와 같은 세포의 면역 억제를 직접적으로 또는 간접적으로 조절할 수 있는 메커니즘을 포함한다(예를 들어, 문헌[Ljunggren and Malmberg, *Nature Rev. Immunol.* 7:329-339, 2007; Boyton and Altmann, *Clin. Exp. Immunol.* 149:1-8, 2007] 참조). 이를 위하여, 뉴클레오타이드 프로브는 관심의 특정 장애와 연관된 유전적 마커를 운반하는 개체를 확인하기 위해 일상적으로 사용될 수 있다. 또한, 특정 장애에 대한 마커를 확인하는 데 유용한 매우 다양한 면역학적 방법이 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 특정 종양과 연관된 항원을 검출하기 위해 단클론성 항체 프로브를 사용하는 다양한 ELISA 면역검정 방법을 이용 가능하며, 당업계에 잘 공지되어 있다. 선별은 알려진 환자 증상, 연령 인자, 관련된 위험 인자 등에 의해 나타나는 바와 같이 실행될 수 있다. 이들 방법은 치료를 위해 본 명세서에 기재된 방법을 필요로 하는 환자를 의사가 일상적으로 선택하는 것을 가능하게 한다.

[0210] 투여를 위해, 본 개시내용의 약제학적 조성물은 (i) 치료용 단백질/폴리펩타이드; 및 (ii) 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 (i) 치료용 단백질/펩타이드, (ii) 완충제, (iii) 부형제, 및 (iv) 계면활성제를 포함할 수 있다.

[0211] 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질을 포함하는 약제학적 조성물은 경구 단위 투약 형태, 정맥내 단위 투약 형태, 비강내 단위 투약 형태, 좌약 단위 투약 형태, 진피내 단위 투약 형태, 근육내 단위 투약 형태, 복강내 단위 투약 형태, 피하 단위 투약 형태, 경막외 단위 투약 형태, 설하 단위 투약 형태 및 대뇌내 단위 투약 형태로 이루어진 군으로부터 선택된 투약 형태로 제형화될 수 있다. 경구 단위 투약 형태는 정제, 알약, 펠릿, 캡슐, 분말, 로젠지, 과립, 용액, 현탁액, 에멀션, 시럽, 엘릭서, 지속 방출 제형, 에어로졸 및 스프레이로

이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0212] 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질을 포함하는 약제학적 조성물은 치료적 유효량으로 대상체에게 투여될 수 있다. 본 개시내용의 방법에 따르면, 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 단백질은, 예를 들어, 근육내, 피하, 정맥내, 치료적 유효량, 관절내, 비경구, 비강내, 폐내, 경피, 흉막내, 척추강내 및 경구 투여 경로에 의해 다양한 투여 방식에 의해 대상체에게 투여될 수 있다. 예방 및 치료 목적을 위해, 길항제는 단일 볼루스 전달로, 장기간에 걸쳐 지속적 전달(예를 들어, 지속적 경피 전달)을 통해, 반복된 투여 프로토콜로(예를 들어, 매시간, 매일, 매주 또는 매달 기준) 대상체에게 투여될 수 있다.

[0213] 이와 관련하여 효과적인 투약량의 결정은 전형적으로 동물 모델 연구 다음에 인간 임상 시험에 기반하며, 모델 대상체에서 대상체 장애의 발생 또는 중증도를 유의미하게 감소시키는 효과적인 투약량 및 투여 프로토콜을 결정함으로써 가이드된다. 본 개시내용의 조성물의 유효 용량은 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리적 상태, 환자가 인간인지 동물인지의 여부, 투여되는 다른 의약, 치료가 예방적 또는 치료적인지의 여부뿐만 아니라 조성물 그 자체의 특정 활성 및 개체에서 목적하는 반응을 유발하는 이의 능력을 포함하는 다수의 상이한 인자에 따라 다르다. 보통, 환자는 인간이지만, 일부 질환에서, 환자는 비인간 포유류일 수 있다. 전형적으로, 투약 요법은 최적의 치료 반응을 제공하기 위해, 즉, 안전성 및 효능을 최적화하기 위해 조절된다.

[0214] 또한 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 본 개시내용의 조성물의 용도가 본 명세서에 제공된다. 예를 들어, 본 개시내용의 조성물은 급성 골수성 백혈병(AML) 또는 골수이형성증후군(MDS)의 치료를 위해 사용될 수 있다. 또한 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 폴리펩타이드를 포함하는 조성물을 약 0.3, 약 1, 약 3, 약 6, 약 9, 약 12, 약 18, 약 20, 약 24, 약 30, 약 36, 약 50, 약 48, 약 60, 약 75 또는 약 100㎍의 매주 용량으로 환자에게 IV 주입에 의해 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 전형적으로 환자는 4 내지 6주 동안 1주에 1회 또는 2회 치료된다. 환자는 매주 동일한 투약량을 받을 수 있거나 투약량은, 예를 들어, 매주 증가될 수 있다.

[0215] 일부 실시형태에서, 투약량은 매주 증가되고, 제1 투약량은 환자가 용인할 것으로 예상되는 것보다 적다. 이런 유형의 스텝업(step-up) 치료 요법은 환자에게 주입 관련 반응 또는 사이토카인 방출 증후군이 발생될 위험을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질(예를 들어, TRI130 또는 TRI129)은, 적어도 처음 2회 또는 처음 3회의 용량을 위해 투약량이 매주 증가되도록, 환자에게 정맥내로 투여될 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 조성물은 다음의 매주의 치료 스케줄에 따라 IV 주입에 의해 투여될 수 있다: 제1주 투약량: 6㎍; 제2주 투약량: 9㎍; 제3주 투약량: 12㎍; 및 제4주 투약량 및 후속되는 주의 투약량: 12㎍. 일부 실시형태에서, 환자는 다음의 매주 치료 스케줄에 따라 본 개시내용의 조성물이 정맥내로 투여될 수 있다: 제1주 투약량: 6㎍; 제2주 투약량: 9㎍; 제3주 투약량: 12㎍; 및 제4주 투약량 및 후속되는 주의 투약량: 18㎍. 일부 실시형태에서, 조성물은 매주 치료 스케줄: 제1주 투약량 6㎍; 및 제2주 및 후속적인 주의 투약량: 9㎍에 따라 환자에게 정맥내로 투여되고, 일부 실시형태에서, 조성물은 매주 치료 스케줄: 제1주 투약량 9㎍; 및 제2주 및 후속적인 주의 투약량: 12㎍에 따라 환자에게 정맥내로 투여된다. 다른 실시형태에서, 조성물은 매주 치료 스케줄: 제1주 투약량 12㎍, 및 제2주 및 후속적인 주의 투약량: 18㎍에 따라 환자에게 정맥내로 투여된다.

[0216] 일부 실시형태에서, 환자는 다음의 매주 치료 스케줄에 따라 본 개시내용의 조성물이 정맥내로 투여될 수 있다: 제1주 투약량: 6㎍; 제2주 투약량: 9㎍; 제3주 투약량: 12㎍; 제4주 투약량 및 후속되는 주의 용량: 12㎍. 일부 실시형태에서, 환자는 다음의 매주 치료 스케줄에 따라 본 개시내용의 조성물이 정맥내로 투여될 수 있다: 제1주 투약량: 6㎍; 제2주 투약량: 9㎍; 제3주 투약량: 12㎍; 제4주 투약량 및 후속되는 주의 용량: 18㎍. 일부 실시형태에서, 환자는 다음의 매주 치료 스케줄에 따라 본 개시내용의 조성물이 정맥내로 투여될 수 있다: 제1주 투약량: 6㎍; 제2주 투약량: 12㎍; 제3주 투약량: 12㎍; 제4주 투약량 및 후속되는 주의 용량: 12㎍. 일부 실시형태에서, 환자는 다음의 매주 치료 스케줄에 따라 본 개시내용의 조성물이 정맥내로 투여될 수 있다: 제1주 투약량: 6㎍; 제2주 투약량: 12㎍; 제3주 투약량: 18㎍; 제4주 투약량 및 후속되는 주의 용량: 24㎍. 일부 실시형태에서, 환자는 다음의 매주 치료 스케줄에 따라 본 개시내용의 조성물이 정맥내로 투여될 수 있다: 제1주 투약량: 6㎍; 제2주 투약량: 12㎍; 제3주 투약량: 18㎍; 제4주 투약량 및 후속되는 주의 용량: 36㎍. 일부 실시형태에서, 환자는 다음의 매주 치료 스케줄에 따라 본 개시내용의 조성물이 정맥내로 투여될 수 있다: 제1주 투약량: 6㎍; 제2주 투약량: 12㎍; 제3주 투약량: 18㎍; 제4주 투약량 및 후속되는 주의 용량: 48㎍. 일부 실시형태에서, 환자는 다음의 매주 치료 스케줄에 따라 본 개시내용의 조성물이 정맥내로 투여될 수 있다: 제1주 투약량: 6㎍; 제2주 투약량: 12㎍; 제3주 투약량: 18㎍; 제4주 투약량 및 후속되는 주의 용량: 60㎍.

[0217] 일부 실시형태에서, 환자는 다음의 치료 스케줄에 따라 본 개시내용의 조성물이 정맥내로 투여될 수 있다: 제1일: 6㎍; 제2일: 9㎍; 제3일: 12㎍; 제4일: 18㎍; 제8일: 18㎍; 제11일: 18㎍; 제15일: 36㎍; 제22일: 36㎍; 다음에 매주 36㎍의 용량.

[0218] 일부 실시형태에서, 환자는 다음의 치료 스케줄에 따라 본 개시내용의 조성물이 정맥내로 투여될 수 있다: 제1일: 6㎍; 제2일: 12㎍; 제3일: 18㎍; 제4일: 24㎍; 제8일: 24㎍; 제11일: 24㎍; 제15일: 48㎍; 제22일: 48㎍; 다음에 매주 48㎍의 용량.

[0219] 일부 실시형태에서, 환자는 다음의 치료 스케줄에 따라 본 개시내용의 조성물이 정맥내로 투여될 수 있다: 제1일: 6㎍; 제2일: 12㎍; 제3일: 24㎍; 제4일: 36㎍; 제8일: 36㎍; 제11일: 36㎍; 제15일: 60㎍; 제22일: 60㎍, 다음에 매주 60㎍의 용량.

[0220] 일부 실시형태에서, 환자는 다음의 치료 스케줄에 따라 본 개시내용의 조성물이 정맥내로 투여될 수 있다: 제1일: 6㎍; 제2일: 12㎍; 제3일: 24㎍; 제4일: 36㎍; 제8일: 48㎍; 제11일: 48㎍; 제15일: 100㎍; 제22일: 100㎍, 다음에 매주 100㎍의 용량.

[0221] 일부 실시형태에서, 치료를 필요로 하는 환자를 치료하는 방법은 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질을 포함하는 조성물을 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1일에 6㎍이 투여되고, 제8일에 9㎍이 투여되며, 제15일에 12㎍이 투여되고, 제22일에 12㎍이 투여된다. 일부 실시형태에서, 제1일에 6㎍이 투여되고, 제8일에 9㎍이 투여되며, 제15일에 12㎍이 투여되고, 제22일에 18㎍이 투여된다. 일부 실시형태에서, 제1일에 6㎍이 투여되고, 제8일에 9㎍이 투여되며, 제15일에 9㎍이 투여되고, 제22일에 9㎍이 투여된다. 일부 실시형태에서, 제1일에 9㎍이 투여되고, 제8일에 12㎍이 투여되며, 제15일에 12㎍이 투여되고, 제22일에 12㎍이 투여된다. 일부 실시형태에서, 제1일에 12㎍이 투여되고, 제8일에 18㎍이 투여되며, 제15일에 18㎍이 투여되고, 제22일에 18㎍이 투여된다.

[0222] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 따라 치료된 환자는 골수 아세포 백분율의 감소를 나타내고, 일부 실시형태에서, 환자는 혈액 중 절대 아세포 계수를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 치료는 치료 직전 환자 수준에 비해서, 적어도 0.5%, 적어도 1%, 적어도 2%, 적어도 3%, 적어도 4%, 적어도 5%, 적어도 6%, 적어도 7%, 적어도 8%, 적어도 9%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50% 이상만큼 환자 아세포 수준의 감소를 초래한다.

[0223] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 따라 치료된 환자는 완전 관해(complete remission: CR)를 나타낸다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 완전 관해는 약 5% 미만으로 골수 아세포의 감소, 순환 아세포 및 아우어 막대(Auer rod)가 있는 아세포의 부재, 골수외 질환의 부재, 및 절대 호중구 수(ANC) ≥ $1.0 \times 10^9$/ℓ(1,000/㎕) 및 PLT ≥ $100 \times 10^9$/ℓ(100,000/㎕)를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 따라 치료된 환자는 최소잔류질환이 없는 CR($CR_{MRD}$)을 나타낸다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, $CR_{MRD}$는 정량적 역전사 중합효소 연쇄반응(RT-qPCR)에 의한 유전자 마커에 대한 부정성(negativity)을 갖는 CR 또는 다중파라미터 유세포 분석에 의해 부정성을 갖는 CR을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 따라 치료된 환자는 불완전한 혈액학적 회복($CR_i$)을 갖는 CR을 나타낸다. $CR_i$는 잔류 호중구감소증(ANC < $1.0\times10^9$/ℓ [1,000/㎕]) 또는 혈소판감소증(PLT < $100\times10^9$/ℓ[100,000/㎕])을 제외하고, 위에 기재한 CR 기준을 모두 포함한다.

[0224] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 따라 치료된 환자는 형태학적 무백혈병 상태(MLFS)를 나타낸다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, MLFS는 골수 아세포 < 5%(즉, 골수는 단지 "재생불량성"이 아니어야 하며; 적어도 200개의 세포가 열거되어야 하거나 또는 세포질은 적어도 10%여야 함); 아우어 막대를 갖는 아세포의 부재; 및 골수외 질환의 부재를 지칭한다. 혈액학적 회복은 필요하지 않다.

[0225] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 따라 치료된 환자는 부분 관해(PR)를 나타낸다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, PR은 위에 기재한 CR의 모든 혈액학적 기준에, 5 내지 25%로의 골수 아세포 백분율의 감소 및 전처리 골수 아세포 백분율의 적어도 50% 감소를 더한 것을 포함한다.

[0226] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 따라 치료된 환자는 $CR_{MRD}$, CR, $CR_i$, PR 및 MLFS의 부재를 특징으로 하지만, 진행성 질환(즉, 골수 아세포 백혈구의 증가 및/또는 혈액 중 절대 아세포 계수의 증가)이 없는 안정형 질환(SD)을 나타낸다.

[0227] 매주 동일한 투약량으로 또는 스텝업 치료 요법으로 CD123×CD3 표적화 다중특이성 폴리펩타이드(예를 들어, TRI130 또는 TRI129)로 치료한 환자는 또한 주입 반응 또는 사이토카인 방출 증후군의 가능성을 추가로 감소시키도록 변형된 주입 시간(즉, 주입 길이)을 가질 수 있다. 이상반응 위험을 감소시키기 위해, 제1 용량은 몇 시간에 걸쳐, 예를 들어, 20 내지 24시간에 걸쳐 환자에게 IV로 투여된다. 일부 실시형태에서, 조성물의 제1 용량은 약 20 내지 24시간의 기간에 걸쳐 투여되고, 제2 용량은 약 8시간의 기간에 걸쳐 투여되며, 제3 용량은 약 6시간의 기간에 걸쳐 투여되고, 제4 용량 및 후속 용량은 약 4시간의 기간에 걸쳐 투여된다. 일부 실시형태에서, 조성물의 제1 용량은 약 20 내지 24시간의 기간에 걸쳐 투여되고, 제2 용량은 약 8시간의 기간에 걸쳐 투여되며, 제3 용량은 약 6시간의 기간에 걸쳐 투여되고, 제4 용량 및 후속 용량은 약 4시간의 기간에 걸쳐 투여되되, 제1, 제2, 제3 및 제4 용량 각각은 동일하다. 조성물은 또한 최대 약 72시간의 지속기간까지 대상체에게 지속적 IV 주입, 예를 들어, 지속적 IV 주입에 의해 투여될 수 있다.

[0228] CD123×CD3 표적화 다중특이성 폴리펩타이드(예를 들어, TRI130 또는 TRI129)로 치료된 환자는 또한 1종 이상의 추가적인 치료제로 치료될 수 있다. 1종 이상의 추가적인 치료제는 CD123×CD3 표적화 다중특이성 폴리펩타이드와 동시에 또는 주변에서 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 1종 이상의 추가적인 치료제는 다중특이성 폴리펩타이드의 투여 전(즉, "의약 투여 전"으로서), 예컨대, 이의 투여 전 약 1 내지 3시간에 투여된다. 일부 실시형태에서, 1종 이상의 추가적인 치료제는 다중특이성 폴리펩타이드의 1회 이상의 용량의 투여 후에 투여된다.

[0229] 일부 실시형태에서, 1종 이상의 추가적인 치료제는 다이펜하이드라민, 아세트아미노펜 및/또는 덱사메타손이다. 일부 실시형태에서, 1종 이상의 추가적인 치료제는 정맥내로 또는 경구로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 덱사메타손은 약 10 내지 약 20㎎의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 메틸프레드니솔론은 약 1㎎/㎏의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 아세트아미노펜은 약 650 또는 약 1,000㎎의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 아세트아미노펜은 1일 동안 1일 3회 투여될 수 있으며, 제1 용량은 CD123×CD3 표적화 다중특이성 폴리펩타이드의 투여 전 1 내지 3시간에 투여된다. 일부 실시형태에서, 1종 이상의 추가적인 치료제는 항히스타민, 예컨대, 다이펜하이드라민을 포함할 수 있다. 다이펜하이드라민은 약 50㎎의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 1종 이상의 치료제는 알로퓨리놀을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 알로퓨리놀은 CD123×CD3 표적화 다중특이성 폴리펩타이드 투여의 적어도 2일 전에 투여된다. 일부 실시형태에서, 1종 이상의 추가적인 치료제는 토실리주맙을 포함할 수 있다.

[0230] 일부 실시형태에서, 장애의 치료를 필요로 하는 환자에서의 CD123의 과발현을 특징으로 하는 장애를 치료하는 방법은 본 명세서에 기재된 임의의 용량 또는 요법에서 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 재조합 폴리펩타이드(예를 들어, TRI130 또는 TRI129)를 포함하는 약제학적 조성물의 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 장애의 치료를 필요로 하는 환자에서의 CD123의 과발현을 특징으로 하는 장애를 치료하는 방법은 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 재조합 폴리펩타이드(예를 들어, TRI130 또는 TRI129)를 포함하는 약제학적 조성물의 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 포함하되; 약제학적 조성물의 투여는 (a) 재조합 폴리펩타이드의 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 이중 친화도 재표적화 항체; 또는 (b) 재조합 폴리펩타이드의 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 이중특이성 T-세포 관여자 분자의 투여에 비해서 대상체에서의 감소된 사이토카인 수준을 유도한다. 일부 실시형태에서, 장애는 AML 또는 MDS와 같은 암이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 이전에 상이한 CD123-결합 분자로 치료되었고, 대상체는 이전의 치료 후에 이상반응을 경험하였다. 일부 실시형태에서, 이상반응은 과도한 사이토카인 방출이었다. 일부 실시형태에서, 사이토카인 수준은 IFN-γ, TNF-α, IL-6, IL-2, IL-8, IL-10, IL-17, GM-CSF, IL-4, IL-12, IL-13 또는 IL-1β, 또는 이들의 임의의 조합의 수준이었다. 일부 실시형태에서, 사이토카인 수준은 IFN-γ, IL-2, TNF-α 및 IL-10의 수준이었다. 일부 실시형태에서, 사이토카인 수준은 시험관내 활성화된 T 세포 검정에서 측정된다.

[0231] 본 명세서에 기재된 단백질 및 폴리펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물은 본 명세서에 기재된 바와 같은 약제학적 조성물을 포함하는 용기를 포함하는 키트로서 공급될 수 있다. 약제학적 조성물은, 예를 들어, 단일 또는 다회 용량을 위해 주사용 용액의 형태로, 또는 주사 전에 재구성될 멸균 분말로서 제공될 수 있다. 이러한 키트는 약제학적 조성물의 적응증 및 용법에 대한 기재 정보를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 키트는 약제학적 조성물 및 IV 안정화 용액(다중특이성 폴리펩타이드가 플라스틱 관 및 백(bag)에 부착될 가능성을 방지하거나 감소시키도록 설계된 pH 6.0 또는 유사한 용액에서의 0.1M 석신산염 완충제, 및 0.08% 중량/용적 폴리솔베이트 80)을 포함한다.

[0232] ***병용 요법***

[0233] 또한 본 명세서에서 병용 요법이 제공된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "병용 요법"은 치료적 이점을 달성하기 위해 동시에 또는 순차적으로 제1 치료제와 제2 치료제의 투여를 지칭한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 병용 요법은 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인 및 제2 항암제를 포함하는 다중특이성 단백질의 투여를 포함한다. 다중특이성 단백질은 "제1 항암제"로 지칭될 수 있다. 다중특이성 단백질 및 제2 항암제는 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있고, 단일 조성물로 또는 별도의 조성물로 투여될 수 있다.

[0234] 일부 실시형태에서, 암 치료 방법은, i) CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질; 및 ii) 제2 항암제를 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 암 치료 방법은 제3, 제4, 제5, 제6, 제7 또는 제8 항암제를 투여하는 단계를 포함한다.

[0235] 항암제는 악성 또는 암성 질환의 치료에서 효과적인 임의의 약물일 수 있다. 단클론성 항체, 알킬화제, 항대사물질 및 호르몬을 포함하는 항암제의 여러 주요 부류가 있다. 일부 실시형태에서, 항암제는 화학 요법 약물이다. 예를 들어, 화학 요법 약물은 베네토클락스, 아자시티딘, 데시타빈, 다우노마이신, 사이타라빈, 이다루비신, 미톡산트론 또는 에토포사이드일 수 있다. 일부 실시형태에서, 1종 이상의 화학 요법 약물의 조합물은 대상체에게 투여된다.

[0236] 베네토클락스는 만성 림프구 백혈병, 소형 림프구성 림프종 또는 급성 골수성 백혈병을 치료하기 위해 전형적으로 사용되는 화학요법 약물이다. 베네토클락스는 고도로 선택적인 BCL-2 저해제이다. 이는 BCL-2의 항세포자멸사 활성을 차단하여, 세포사를 촉진시킨다. 일부 실시형태에서, 베네토클락스는 1일당 약 100mg 내지 약 400mg, 예컨대, 약 100mg, 약 110mg, 약 120mg, 약 130mg, 약 140mg, 약 150mg, 약 160mg, 약 170mg, 약 180mg, 약 190mg, 약 200mg, 약 210mg, 약 220mg, 약 230mg, 약 240mg, 약 250mg, 약 260mg, 약 270mg, 약 280mg, 약 290mg, 약 300mg, 약 310mg, 약 320mg, 약 330mg, 약 340mg, 약 350mg, 약 360mg, 약 370mg, 약 380mg, 약 390mg, 약 400mg, 또는 그 사이의 임의의 범위의 용량으로 투여될 수 있다.

[0237] 아자시티딘은 DNA 및 RNA에서 뉴클레오사이드인 사이티딘의 화학적 유사체이다. 세포사를 야기하는 두 메커니즘을 통해(DNA 메틸트랜스퍼라제(DNA의 과메틸화를 야기)를 저해함으로써 저용량에서 그리고 DNA 및 RNA에의 혼입을 통해 골수의 비정상적 조혈 세포에 대한 직접 세포독성에 의해 고용량에서) 항신생물 활성을 갖는 것으로 여겨진다. 아자시티딘 및 이의 데옥시 유도체 데시타빈(5-아자-2'-데옥시사이티딘으로도 불림)은 종종 골수이형성 증후군의 치료에서 사용된다. 일부 실시형태에서, 아자사이티딘은 약 50 내지 약 100mg/㎡/일, 예컨대, 약 50, 약 55, 약 60, 약 65, 약 70, 약 75, 약 80, 약 85, 약 90, 약 95, 또는 약 100mg/㎡/일의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 아자사이티딘은 약 75mg/㎡/일의 용량으로 투여된다.

[0238] 데시타빈은 뉴클레오타이드 합성 저해제로서 작용하는 사이티딘 유사체이다. 이는 복제 시 DNA 가닥에 혼입되고, 이어서, DNA 메틸트랜스퍼라제(DNMT), 예컨대, DNMT1이 관여하여 DNA에 결합하고 딸 가닥에 메틸화를 복제할 때, DNMT는 데시타빈에 비가역적으로 결합되고, 분리될 수 없다. 이는 전형적으로 골수이형성 증후군 및 급성 골수성 백혈병을 치료하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 데시타빈은 약 10 내지 약 30mg/㎡/일, 예컨대, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 또는 약 30mg/㎡/일의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 데시타빈은 약 20mg/㎡/일의 용량으로 투여된다.

[0239] 다우노마이신으로도 알려진 다우노루비신은 급성 골수성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 및 카포시 육종을 치료하기 위해 사용되는 화학요법 약물이다. 이는 전형적으로 정맥내로 투여된다. 다우노루비신은 DNA에서 끼워넣기되고, 거대분자 생합성을 저해하여, 국소이성질화효소 II의 기능을 차단한다. 다우노루비신은 또한 복제를 위해 DNA 쇄를 파괴한 후에 국소이성질화효소 II 복합체를 안정화시켜, DNA 이중 나선이 재밀봉되는 것을 방지하고, 이에 의해 복제 과정을 중단시킨다. 일부 실시형태에서, 다우노마이신은 약 30 내지 90mg/㎡, 예컨대, 약 30, 약 35, 약 40, 약 45, 약 50, 약 55, 약 60, 약 65, 약 70, 약 75, 약 80, 약 85, 또는 약 90mg/㎡의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 다우노마이신은 약 60mg/㎡의 용량으로 투여된다.

[0240] 사이토신 아라비노사이드(Ara-C)로도 알려진 사이타라빈은 급성 골수성 백혈병, 급성 림프구 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 및 비호지킨 림프종을 포함하는 다양한 형태의 백혈병 및 림프종을 치료하기 위해 전형적으로 사용되는 화학요법 약물이다. 이는 정맥내로, 피하로 또는 뇌척수액에 투여될 수 있다. 사이타라빈은 항대사물질이며; 이는 DNA 중합효소의 기능을 차단함으로써 작용한다. 일부 실시형태에서, 사이타라빈은 약 2 내지 약 3g/㎡ 체표면적의 용량(고용량 사이타라빈, 또는 HIDAC)으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 사이타라빈은 약 1g/㎡ 체표면적의 용량(중간 용량 사이타라빈, 또는 IDAC)으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 사이타라빈은 약 1.5g/㎡ 체표면적의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 사이타라빈은 약 100mg 내지 약 400mg

/㎡ 체표면적의 용량으로 투여될 수 있다.

[0241] 4-데메톡시다우노루비신으로도 불리는 이다루비신은 DNA에 그 자체를 삽입하고 효소 국소이성질화효소 II를 방해함으로써 DNA 풀림을 방해하는 화학요법 약물이다. 이는 다우노루비신의 유사체이지만, 메톡시기의 부재는 이의 지방 용해도 및 세포 흡수를 증가시킨다. 이는 또한 염색질로부터 히스톤 제거를 유도한다. 이는 급성 림프구성 백혈병 및 만성 골수성 백혈병의 치료를 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 이다루비신은 1일에 약 1 내지 약 20mg/㎡, 예컨대, 1일에 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19 또는 약 20mg/㎡의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 이다루비신은 1일에 약 12mg/㎡의 용량으로 투여된다.

[0242] 미톡산트론은 항신생물 활성을 갖는 안트라센다이온 항생제이다. 미톡산트론은 DNA에 끼어들고 가교됨으로써, DNA 및 RNA 복제를 방해한다. 이 제제는 또한 국소이성질화효소 II에 결합하여, DNA 가닥 파손 및 DNA 수선의 저해를 초래한다. 급성 백혈병, 림프종 및 전립선 및 유방암뿐만 아니라 후기의 경우, 중증의 다발성 경화증의 치료에서 사용된다. 일부 실시형태에서, 미톡산트론은 약 1 내지 약 20mg/㎡/일, 예컨대, 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 또는 약 20mg/㎡/일의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 미톡산트론은 약 6mg/㎡/일의 용량으로 투여된다.

[0243] 에토포사이드는 고환암, 폐암, 림프종, 백혈병, 신경모세포종 및 난소암뿐만 아니라 혈구 탐식성 림프조직구 증가증의 치료를 위해 사용된다. 이는 경구로 또는 정맥내로 투여될 수 있다. 에토포사이드는 DNA 및 국소이성질화효소 II 효소와 삼원 복합체를 형성하고, DNA 가닥의 재결찰을 방지하고, DNA 가닥 파손을 야기한다. 이는 DNA 합성의 오류 및 암 세포의 세포자멸사를 야기한다. 일부 실시형태에서, 에토포사이드는 약 10 내지 약 100 mg/㎡/일, 예컨대, 약 10, 약 20, 약 30, 약 40, 약 50, 약 60, 약 70, 약 80, 약 90, 또는 약 100mg/㎡/일의 용량으로 투여된다.

[0244] 일부 실시형태에서, 암 치료 방법은 본 명세서에 기재된 바와 같은 다중특이성 단백질 및 1종 이상의 추가 항암제를 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 1종 이상의 추가 항암제는 베네토클락스, 아자시티딘, 데시타빈, 다우노마이신, 사이타라빈, 이다루비신, 미톡산트론 및 에토포사이드로부터 개개로 선택될 수 있다. 암은, 예를 들어, 암종 또는 육종일 수 있다. 일부 실시형태에서, 암은 흑색종, 신장암, 췌장암, 폐암, 장암, 전립선암, 유방암, 간암, 뇌암, 결장암, 난소암 또는 혈액암이다. 일부 실시형태에서, 암은 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성증후군(MDS), 털세포 백혈병(HCL), 모구 형질세포양 수지세포 신생물, B-세포 급성 림프모구 백혈병(ALL) 또는 만성 골수성 백혈병(CML)이다. 일부 실시형태에서, 암은 급성 골수성 백혈병(AML)이다. 일부 실시형태에서, 암은 골수이형성 증후군(MDS)이다.

[0245] 일부 실시형태에서, 암 치료 방법은 본 명세서에 기재된 바와 같은 다중특이성 단백질 및 미톡산트론, 에토포사이드 및 사이타라빈을 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 화학요법 약물의 이런 조합물은 본 명세서에서 "MEC"로도 지칭된다. 일부 실시형태에서, 미톡산트론, 에토포사이드 및 사이타라빈은 대상체에게 투여되되, 미톡산트론은 약 6mg/㎡/일의 용량으로 투여되고, 에토포사이드은 약 80mg/㎡/일의 용량으로 투여되며, 사이타라빈은 약 1g/㎡/일의 용량으로 투여된다. 미톡산트론, 에토포사이드 및 사이타라빈은 동시에 투여될 수 있거나, 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0246] 일부 실시형태에서, 암 치료 방법은 본 명세서에 기재된 바와 같은 다중특이성 단백질, 아자사이티딘 및 베네토클락스를 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아자시티딘은 약 75mg/㎡/일의 용량으로 투여되고, 베네토클락스는 약 100 내지 약 400mg/일의 용량으로 투여된다. 아자사이티딘 및 베네토클락스는 동시에 투여될 수 있거나 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0247] 일부 실시형태에서, 암 치료 방법은 본 명세서에 기재된 바와 같은 다중특이성 단백질, 데시타빈 및 베네토클락스를 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 데시타빈은 약 20mg/㎡/일의 용량으로 투여되고, 베네토클락스는 약 100 내지 약 400mg/일의 용량으로 투여된다. 데시타빈 및 베네토클락스는 동시에 투여될 수 있거나 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0248] 일부 실시형태에서, 암 치료 방법은 본 명세서에 기재된 바와 같은 다중특이성 단백질, 다우노마이신 및 사이타라빈을 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 다우노마이신은 약 30 내지 90mg/㎡의 용량으로 투여되고, 사이타라빈은 약 100 내지 약 200mg/㎡의 용량으로 투여된다. 다우노마이신과 사이타라빈은 동시에 투여될 수 있거나, 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0249] 일부 실시형태에서, 암 치료 방법은 본 명세서에 기재된 바와 같은 다중특이성 단백질, 이다루비신 및 사이타라빈을 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이다루비신은 약 12㎎/㎡의 용량으로 투여되고, 사이타라빈은 약 100 내지 약 200㎎/㎡의 용량으로 투여된다. 이다루비신과 사이타라빈은 동시에 투여될 수 있거나, 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0250] 일부 실시형태에서, 암 치료 방법은 i) CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질; 및 ii) 제2 항암제를 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, 다중특이성 단백질은 정맥내 주입에 의해 투여되고, 제2 항암제는 정맥내 주입에 의해 또는 경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 0.3, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 48, 50, 60, 75 또는 100㎍의 용량으로 대상체에게 IV 주입에 의해 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 1주당 1회 또는 2회 투여된다.

[0251] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제8일에 투여되고; 12㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 사이타라빈은 처음 28일 주기의 제1일 내지 제5일 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제5일에 정맥내로 투여된다. 일부 실시형태에서, 사이타라빈의 용량은 약 1g/㎡이다. 일부 실시형태에서, 미톡산트론, 에토포사이드 및 사이타라빈은 처음 28일 주기 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제6일에 정맥내로 투여된다. 일부 실시형태에서, 미톡산트론의 용량은 약 6㎎/㎡/일이고, 에토포사이드의 용량은 약 80㎎/㎡/일이고, 사이타라빈의 용량은 약 1g/㎡/일이다.

[0252] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 12㎍의 다중특이성 단백질은 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 베네토클락스는 처음 28일 주기의 제1일 내지 제21일, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제21일에 경구 투여된다. 일부 실시형태에서, 베네토클락스의 용량은 약 100 내지 약 400㎎/일이다. 일부 실시형태에서, 아자사이티딘은 처음 28일 주기 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제7일에 정맥내로 투여된다. 일부 실시형태에서, 아자사이티딘의 용량은 약 75㎎/㎡이다.

[0253] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제1일에 투여되고; 8㎍의 다중특이성 단백질이 제12일에 투여되며; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 사이타라빈은 처음 28일 주기의 제1일 내지 제7일, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제7일에 정맥내 주입에 의해 투여된다. 일부 실시형태에서, 사이타라빈의 용량은 약 100 내지 약 200㎎/㎡이다. 일부 실시형태에서, 이다루비신은 처음 28일 주기의 제1일 내지 제3일, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제3일에 정맥내 주입에 의해 투여된다. 일부 실시형태에서, 이다루비신의 용량은 약 12㎎/㎡이다.

[0254] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제1일에 투여되고; 8㎍의 다중특이성 단백질이 제12일에 투여되며; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 아자사이티딘은 처음 28일 주기, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제14일에 경구 투여된다. 일부 실시형태에서, 아자사이티딘의 용량은 약 300㎎/일이다.

[0255] ***단일요법***

[0256] 또한 암을 치료하기 위한 단일요법으로서 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질의 사용을 위한 조성물 및 방법이 본 명세서에 제공된다.

[0257] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 단일요법으로서, 즉, 임의의 제2 항암제 없이 대상체에게 투여된다.

일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 1주당 1회, 예를 들어, 1, 3, 9, 12, 18, 24, 36, 48 또는 60㎍의 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질에 대한 매주의 표적 용량 수준은 1, 3, 9, 12, 18, 24, 36, 48 또는 60㎍이다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 또는 0.8㎍/kg의 용량으로 주당 1회 투여된다.

[0258] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 및 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 매주 2회 투여된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 처음 28일 주기에서 6㎍의 다중특이성 단백질이 제1일에 투여되고; 6㎍의 다중특이성 단백질이 제4일에 투여되고; 12㎍의 다중특이성 단백질이 제8일에 투여되며; 12㎍의 다중특이성 단백질이 제11일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제18일에 투여되며; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제11일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기, 예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8회 이상의 추가 28일 주기 동안 단일요법으로서 대상체에게 투여된다.

[0259] 일부 실시형태에서, 암 치료 방법은 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질을 (즉, 단일요법으로서) 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 두 동일한 폴리펩타이드의 이량체를 포함하되, 각 폴리펩타이드는, 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로, 또는 카복시-말단에서 아미노-말단의 순서로: (i) CD123 결합 도메인, (ii) 힌지 영역, (iii) 면역글로불린 불변 영역, 및(iv) CD3 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는, N-말단에서 C-말단으로, CD123 결합 도메인, 힌지 영역, 면역글로불린 불변 영역 및 CD3 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD123 및 CD3 결합 도메인은 (i) HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH); 및 (ii) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD123 결합 도메인은 서열번호 10을 포함하는 HCDR1, 서열번호 11을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 12를 포함하는 HDCR3; 및 서열번호 13을 포함하는 LCDR1, 서열번호 14를 포함하는 LCDR2 및 서열번호 15를 포함하는 LCDR3을 포함하는, scFv이다. 일부 실시형태에서, CD123 결합 도메인은 서열번호 136과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 134와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하는 scFv이다. 일부 실시형태에서, CD123 결합 도메인은 scFv이고, scFv는 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 도메인은 서열번호 19를 포함하는 HCDR1, 서열번호 20을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 21를 포함하는 HDCR3; 및 서열번호 22를 포함하는 LCDR1, 서열번호 23을 포함하는 LCDR2 및 서열번호 24를 포함하는 LCDR3을 포함하는, scFv이다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 도메인은 서열번호 383 또는 387과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 384와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하는 scFv이다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 도메인은 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 scFv이다. 일부 실시형태에서, 각 폴리펩타이드는 서열번호 31과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 대상체에게 IV 주입에 의해 투여된다.

[0260] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 또는 0.8㎍/kg의 용량으로 대상체에게 IV 주입에 의해 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 0.3, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 48, 50, 60, 75 또는 100㎍의 용량으로 대상체에게 IV 주입에 의해 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 1주당 1회 투여된다.

[0261] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제8일에 투여되고; 12㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여된다.

[0262] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 12㎍의 다중특이성 단백질은 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여된다.

[0263] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일

주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제1일에 투여되고; 8㎍의 다중특이성 단백질이 제12일에 투여되며; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여된다.

[0264] 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제1일에 투여되고; 8㎍의 다중특이성 단백질이 제12일에 투여되며; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여된다.

[0265] 일부 실시형태에서, 암은 암종 또는 육종이다. 일부 실시형태에서, 암은 흑색종, 신장암, 췌장암, 폐암, 장암, 전립선암, 유방암, 간암, 뇌암, 결장암, 난소암 또는 혈액암이다. 일부 실시형태에서, 암은 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성증후군(MDS), 털세포 백혈병(HCL), 모구 형질세포양 수지세포 신생물, B-세포 급성 림프모구 백혈병(ALL) 또는 만성 골수성 백혈병(CML)이다. 일부 실시형태에서, 암은 급성 골수성 백혈병(AML)이다. 일부 실시형태에서, 암은 골수이형성 증후군(MDS)이다.

[0266] **넘버링된 실시형태**

[0267] 첨부하는 청구범위에도 불구하고, 본 개시내용은 다음의 넘버링된 실시형태를 제시한다:

[0268] 1. 암 치료 방법으로서, i) CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질; 및 ii) 제2 항암제를 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0269] 2. 실시형태 1에 있어서, 상기 방법은 제3 항암제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

[0270] 3. 실시형태 1 또는 2에 있어서, 상기 제2 항암제는 화학 요법 약물인, 방법.

[0271] 4. 실시형태 3에 있어서, 상기 화학 요법 약물은 베네토클락스, 아자시티딘, 데시타빈, 다우노마이신, 사이타라빈, 이다루비신, 미톡산트론 또는 에토포사이드인, 방법.

[0272] 5. 실시형태 1에 있어서, 상기 제2 항암제는 사이타라빈인, 방법.

[0273] 6. 실시형태 5에 있어서, 상기 사이타라빈은 약 1g/㎡의 용량으로 투여되는, 방법.

[0274] 7. 실시형태 2에 있어서, 상기 제2 항암제는 미톡산트론이고, 상기 제3 항암제는 에토포사이드이되, 상기 방법은 사이타라빈인 제4 항암제를 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

[0275] 8. 실시형태 7에 있어서, 상기 미톡산트론은 약 6㎎/㎡/일의 용량으로 투여되고, 상기 에토포사이드는 약 80㎎/㎡/일의 용량으로 투여되며, 상기 사이타라빈은 약 1g/㎡/일의 용량으로 투여되는, 방법.

[0276] 9. 실시형태 1에 있어서, 상기 제2 항암제는 베네토클락스인, 방법.

[0277] 10. 실시형태 9에 있어서, 상기 베네토클락스는 1일당 약 100 내지 약 400㎎의 용량으로 투여되는, 방법.

[0278] 11. 실시형태 1에 있어서, 상기 제2 항암제는 아자사이티딘인, 방법.

[0279] 12. 실시형태 11에 있어서, 상기 아자사이티딘은 약 75㎎/㎡/일의 용량으로 투여되는, 방법.

[0280] 13. 실시형태 2에 있어서, 상기 제2 항암제는 아자시티딘이고, 상기 제3 항암제는 베네토클락스인, 방법.

[0281] 14. 실시형태 13에 있어서, 상기 아자시티딘은 약 75㎎/㎡/일의 용량으로 투여되고, 상기 베네토클락스는 약 100 내지 약 400㎎/일의 용량으로 투여되는, 방법.

[0282] 15. 실시형태 1에 있어서, 상기 제2 항암제는 데시타빈인, 방법.

[0283] 16. 실시형태 15에 있어서, 상기 데시타빈은 약 20㎎/㎡/일의 용량으로 투여되는, 방법.

[0284] 17. 실시형태 2에 있어서, 상기 제2 항암제는 데시타빈이고, 상기 제3 항암제는 베네토클락스인, 방법.

[0285] 18. 실시형태 17에 있어서, 상기 데시타빈은 약 20㎎/㎡/일의 용량으로 투여되고, 상기 베네토클락스는 약 100 내지 약 400㎎/일의 용량으로 투여되는, 방법.

[0286] 19. 실시형태 2에 있어서, 상기 제2 항암제는 다우노마이신이고, 상기 제3 항암제는 사이타라빈인, 방법.

[0287] 20. 실시형태 19에 있어서, 다우노마이신은 약 30 내지 90㎎/㎡의 용량으로 투여되고, 사이타라빈은 약 100 내지 약 200㎎/㎡의 용량으로 투여되는, 방법.

[0288] 21. 실시형태 1에 있어서, 상기 항암제는 이다루비신인, 방법.

[0289] 22. 실시형태 21에 있어서, 상기 이다루비신은 약 12㎎/㎡의 용량으로 투여되는, 방법.

[0290] 23. 실시형태 2에 있어서, 상기 제2 항암제는 이다루비신이고, 상기 제3 항암제는 사이타라빈인, 방법.

[0291] 24. 실시형태 23에 있어서, 상기 이다루비신은 약 12㎎/㎡의 용량으로 투여되고, 사이타라빈은 약 100 내지 약 200㎎/㎡의 용량으로 투여되는, 방법.

[0292] 25. 실시형태 1에 있어서, 상기 제2 항암제는 아자시티딘인, 방법.

[0293] 26. 실시형태 5에 있어서, 상기 아자시티딘은 약 75㎎/㎡/일의 용량으로 투여되는, 방법.

[0294] 27. 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 두 동일한 폴리펩타이드의 이량체를 포함하되, 각 폴리펩타이드는, 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로, 또는 카복시-말단에서 아미노-말단의 순서로: (i) CD123 결합 도메인, (ii) 힌지 영역, (iii) 면역글로불린 불변 영역, 및(iv) CD3 결합 도메인을 포함하는, 방법.

[0295] 28. 실시형태 27에 있어서, 상기 폴리펩타이드는, N-말단에서 C-말단으로, CD123 결합 도메인, 힌지 영역, 면역글로불린 불변 영역 및 CD3 결합 도메인을 포함하는, 방법.

[0296] 29. 실시형태 28에 있어서, CD123 및 CD3 결합 도메인 중 적어도 하나는 (i) HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH); 및 (ii) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는, 방법.

[0297] 30. 실시형태 29에 있어서, CD123 결합 도메인은 서열번호 10을 포함하는 HCDR1, 서열번호 11을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 12를 포함하는 HDCR3; 및 서열번호 13을 포함하는 LCDR1, 서열번호 14를 포함하는 LCDR2 및 서열번호 15를 포함하는 LCDR3을 포함하는, scFv인, 방법.

[0298] 31. 실시형태 29에 있어서, CD123 결합 도메인은 서열번호 136과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 134와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하는 scFv인, 방법.

[0299] 32. 실시형태 29에 있어서, CD123 결합 도메인은 scFv이고, scFv는 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0300] 33. 실시형태 29 내지 32 중 어느 하나에 있어서, CD3 결합 도메인은 서열번호 19를 포함하는 HCDR1, 서열번호 20을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 21를 포함하는 HDCR3; 및 서열번호 22를 포함하는 LCDR1, 서열번호 23을 포함하는 LCDR2 및 서열번호 24를 포함하는 LCDR3을 포함하는 scFv인, 방법.

[0301] 34. 실시형태 29 내지 32 중 어느 하나에 있어서, CD3 결합 도메인은 서열번호 383 또는 387과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 384와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하는 scFv인, 방법.

[0302] 35. 실시형태 29 내지 32 중 어느 하나에 있어서, CD3 결합 도메인은 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 scFv인, 방법.

[0303] 36. 실시형태 29에 있어서, 각 폴리펩타이드는 서열번호 31과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0304] 37. 실시형태 1 내지 36 중 어느 하나에 있어서, 다중특이성 단백질은 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되는, 방법.

[0305] 38. 실시형태 1 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 제2 항암제는 대상체에게 경구로 또는 IV 주입에 의해 투여되는, 방법.

[0306] 39. 실시형태 1 내지 38 중 어느 하나에 있어서, 다중특이성 단백질은 0.3, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30,

36, 48, 50, 60, 75 또는 100㎍의 용량으로 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되는, 방법.

[0307] 40. 실시형태 1 내지 39 중 어느 하나에 있어서, 다중특이성 단백질은 1주당 1회 투여되는, 방법.

[0308] 41. 실시형태 40에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제8일에 투여되고; 12㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여되는, 방법.

[0309] 42. 실시형태 41에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

[0310] 43. 실시형태 42에 있어서, 사이타라빈은 처음 28일 주기의 제1일 내지 제5일 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제5일에 정맥내로 투여되는, 방법.

[0311] 44. 실시형태 43에 있어서, 사이타라빈의 용량은 약 1g/㎡인, 방법.

[0312] 45. 실시형태 42에 있어서, 미톡산트론, 에토포사이드 및 사이타라빈은 처음 28일 주기 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제6일에 정맥내로 투여되는, 방법.

[0313] 46. 실시형태 45에 있어서, 미톡산트론의 용량은 약 6㎎/㎡/일이고, 에토포사이드의 용량은 약 80㎎/㎡/일이고, 사이타라빈의 용량은 약 1g/㎡/일인, 방법.

[0314] 47. 실시형태 40에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 12㎍의 다중특이성 단백질은 제22일에 투여되는, 방법.

[0315] 48. 실시형태 47에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

[0316] 49. 실시형태 48에 있어서, 베네토클락스는 처음 28일 주기의 제1일 내지 제21일, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제21일에 경구 투여되는, 방법.

[0317] 50. 실시형태 49에 있어서, 베네토클락스의 용량은 약 100 내지 약 400㎎/일인, 방법.

[0318] 51. 실시형태 48 내지 50 중 어느 하나에 있어서, 아자사이티딘은 처음 28일 주기 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제7일에 정맥내로 투여되는, 방법.

[0319] 52. 실시형태 51에 있어서, 아자사이티딘의 용량은 약 75㎎/㎡인, 방법.

[0320] 53. 실시형태 40에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제1일에 투여되고; 8㎍의 다중특이성 단백질이 제12일에 투여되며; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여되는, 방법.

[0321] 54. 실시형태 53에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

[0322] 55. 실시형태 54에 있어서, 사이타라빈은 처음 28일 주기의 제1일 내지 제7일, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제7일에 정맥내 주입에 의해 투여되는, 방법.

[0323] 56. 실시형태 55에 있어서, 사이타라빈의 용량은 약 100 내지 약 200㎎/㎡인, 방법.

[0324] 57. 실시형태 53 내지 56 중 어느 하나에 있어서, 이다루비신은 처음 28일 주기의 제1일 내지 제3일, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제3일에 정맥내 주입에 의해 투여되는, 방법.

[0325] 58. 실시형태 57에 있어서, 이다루비신의 용량은 약 12㎎/㎡인, 방법.

[0326] 59. 실시형태 40에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제1일에 투여되고; 8㎍의 다중특이성 단백질이 제12일에 투여되며; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여되는, 방법.

[0327] 60. 실시형태 59에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

[0328] 61. 실시형태 60에 있어서, 아자사이티딘은 처음 28일 주기, 및 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일 내지 제14일에 경구 투여되는, 방법.

[0329] 62. 실시형태 61에 있어서, 아자사이티딘의 용량은 약 300㎎/일인, 방법.

[0330] 63. 실시형태 1 내지 62 중 어느 하나에 있어서, 암은 암종 또는 육종인, 방법.

[0331] 64. 실시형태 1 내지 62 중 어느 하나에 있어서, 암은 흑색종, 신장암, 췌장암, 폐암, 장암, 전립선암, 유방암, 간암, 뇌암, 결장암, 난소암 또는 혈액암인, 방법.

[0332] 65. 실시형태 1 내지 62 중 어느 하나에 있어서, 암은 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성증후군(MDS), 털세포 백혈병(HCL), 모구 형질세포양 수지세포 신생물, B-세포 급성 림프모구 백혈병(ALL) 또는 만성 골수성 백혈병(CML)인, 방법.

[0333] 66. 실시형태 1 내지 62 중 어느 하나에 있어서, 암은 급성 골수성 백혈병(AML)인, 방법.

[0334] 67. 실시형태 1 내지 62 중 어느 하나에 있어서, 암은 골수이형성 증후군(MDS)인, 방법.

[0335] 68. 암 치료 방법으로서, CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질을 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0336] 69. 실시형태 68에 있어서, 상기 다중특이성 단백질은 두 동일한 폴리펩타이드의 이량체를 포함하되, 각 폴리펩타이드는, 아미노-말단에서 카복시-말단의 순서로, 또는 카복시-말단에서 아미노-말단의 순서로: (i) CD123 결합 도메인, (ii) 힌지 영역, (iii) 면역글로불린 불변 영역, 및(iv) CD3 결합 도메인을 포함하는, 방법.

[0337] 70. 실시형태 69에 있어서, 상기 폴리펩타이드는, N-말단에서 C-말단으로, CD123 결합 도메인, 힌지 영역, 면역글로불린 불변 영역 및 CD3 결합 도메인을 포함하는, 방법.

[0338] 71. 실시형태 69에 있어서, CD123 및 CD3 결합 도메인 중 적어도 하나는 (i) HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH); 및 (ii) LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는, 방법.

[0339] 72. 실시형태 69에 있어서, CD123 결합 도메인은 서열번호 10을 포함하는 HCDR1, 서열번호 11을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 12를 포함하는 HDCR3; 및 서열번호 13을 포함하는 LCDR1, 서열번호 14를 포함하는 LCDR2 및 서열번호 15를 포함하는 LCDR3을 포함하는, scFv인, 방법.

[0340] 73. 실시형태 69에 있어서, CD123 결합 도메인은 서열번호 136과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 134와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하는 scFv인, 방법.

[0341] 74. 실시형태 69에 있어서, CD123 결합 도메인은 scFv이고, scFv는 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0342] 75. 실시형태 69 내지 74 중 어느 하나에 있어서, CD3 결합 도메인은 서열번호 19를 포함하는 HCDR1, 서열번호 20을 포함하는 HCDR2 및 서열번호 21를 포함하는 HDCR3; 및 서열번호 22를 포함하는 LCDR1, 서열번호 23을 포함하는 LCDR2 및 서열번호 24를 포함하는 LCDR3을 포함하는 scFv인, 방법.

[0343] 76. 실시형태 69 내지 74 중 어느 하나에 있어서, CD3 결합 도메인은 서열번호 383 또는 387과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 384와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 VL을 포함하는 scFv인, 방법.

[0344] 77. 실시형태 69 내지 74 중 어느 하나에 있어서, CD3 결합 도메인은 서열번호 27과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 scFv인, 방법.

[0345] 78. 실시형태 69에 있어서, 각 폴리펩타이드는 서열번호 31과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0346] 79. 실시형태 68 내지 78 중 어느 하나에 있어서, 다중특이성 단백질은 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되는,

방법.

[0347] 80. 실시형태 68 내지 79 중 어느 하나에 있어서, 다중특이성 단백질은 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 또는 0.8㎍/kg의 용량으로 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되는, 방법.

[0348] 81. 실시형태 68 내지 79 중 어느 하나에 있어서, 다중특이성 단백질은 0.3, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 48, 50, 60, 75 또는 100㎍의 용량으로 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되는, 방법.

[0349] 82. 실시형태 68 내지 81 중 어느 하나에 있어서, 다중특이성 단백질은 1주당 1회 투여되는, 방법.

[0350] 83. 실시형태 82에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제8일에 투여되고; 12㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여되는, 방법.

[0351] 84. 실시형태 83에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

[0352] 85. 실시형태 82에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 12㎍의 다중특이성 단백질은 제22일에 투여되는, 방법.

[0353] 86. 실시형태 85에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

[0354] 87. 실시형태 82에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제1일에 투여되고; 8㎍의 다중특이성 단백질이 제12일에 투여되며; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여되는, 방법.

[0355] 88. 실시형태 87에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

[0356] 89. 실시형태 82에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되; 처음 28일 주기에서, 6㎍의 다중특이성 단백질이 제1일에 투여되고; 8㎍의 다중특이성 단백질이 제12일에 투여되며; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제15일에 투여되고; 18㎍의 다중특이성 단백질이 제22일에 투여되는, 방법.

[0357] 90. 실시형태 89에 있어서, 다중특이성 단백질은 처음 28일 주기 후 적어도 1회의 추가 28일 주기 동안 대상체에게 IV 주입에 의해 투여되되, 18㎍의 다중특이성 단백질은 적어도 1회의 추가 28일 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 투여되는, 방법.

[0358] 91. 실시형태 68 내지 90 중 어느 하나에 있어서, 암은 암종 또는 육종인, 방법.

[0359] 92. 실시형태 68 내지 90 중 어느 하나에 있어서, 암은 흑색종, 신장암, 췌장암, 폐암, 장암, 전립선암, 유방암, 간암, 뇌암, 결장암, 난소암 또는 혈액암인, 방법.

[0360] 93. 실시형태 68 내지 90 중 어느 하나에 있어서, 암은 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성증후군(MDS), 털세포 백혈병(HCL), 모구 형질세포양 수지세포 신생물, B-세포 급성 림프모구 백혈병(ALL) 또는 만성 골수성 백혈병(CML)인, 방법.

[0361] 94. 실시형태 68 내지 90 중 어느 하나에 있어서, 암은 급성 골수성 백혈병(AML)인, 방법.

[0362] 95. 실시형태 68 내지 90 중 어느 하나에 있어서, 암은 골수이형성 증후군(MDS)인, 방법.

[0363] 본 개시내용은 본 개시내용의 순수하게 예시적인 것으로 의도되는 다음의 실시예에 의해 더욱 분명하게 될 것이다.

[0364] **실시예**

[0365] 본 발명은 다음의 실시예를 참조로 하여 상세하게 더욱 기재한다. 이들 실시예는 단지 예시적인 목적을 위해 제공하며, 달리 구체화하지 않는 한, 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 따라서, 본 발명은 다음의 실시예로 제한

되는 것으로 해석되어서는 안 되며, 오히려, 본 명세서에 제공된 교시의 결과로서 분명하게 되는 임의의 및 모든 변형을 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

[0366] 추가적인 설명 없이, 당업자는, 앞의 설명 및 다음의 예시적인 실시예를 이용하여, 본 발명의 화합물을 제조하고 이용하며, 특허청구된 방법을 실행할 수 있는 것으로 여겨진다. 따라서, 다음의 작업 실시예는 본 발명의 바람직한 실시형태를 구체적으로 지적하며, 본 개시내용의 나머지를 어떤 방법으로 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0367] **실시예 1: TRI130에 대한 최대무독성량(No Observed Adverse Effect Level: NOAEL) 및 최소 예상 생물학적 효과 수준(MABEL)의 결정**

[0368] 본 실시예는 CD123 결합 도메인 및 CD3 결합 도메인을 포함하는 다중특이성 단백질인 TRI130에 대한 NOAEL 및 MABEL을 결정하기 위해 사용한 실험을 기재한다. 본 데이터는 다음의 실시예에 기재하는 임상시험을 위한 인간 투약 코호트를 확립하기 위해 사용하였다.

[0369] 최대무독성량(NOAEL)

[0370] 5주 회복 기간과 함께 28일의 반복-용량 독성 연구를 비-인간 영장류(NHP)에서 수행하였다. 4개의 연구 그룹에서 동물에 비히클 또는 0.5, 2.5 또는 10㎎/㎏의 TRI130의 매주 용량을 투여하였다. 측정한 파라미터는 완전한 조직병리학과 함께 안전성 약리학, 실험실 평가 및 부검을 포함하였다. TRI130과 관련된 조직병리학에서 임상적 이상 소견이 없고, 동물 체중 또는 기관 중량의 변화가 없었으며, 비정상적인 육안 또는 현미경적 소견이 없었다. 투약 후에 최소 사이토카인이 검출되었고, 제1 용량에 비해서 제2 용량 후에 약화되었다. T 세포의 일시적 재분포에 의해 분자의 항-CD3 결합 도메인의 예상된 약력학적 효과가 관찰되었다. 반감기의 제거는 고용량에서 대략 73시간이었다. 최대무독성량(NOAEL)은 NHP에서 10㎎/㎏이었고, 이는 대략 3.2㎎/㎏의 인간 등가 용량(HED)으로 번역된다.

[0371] 최소 예상 생물학적 효과 수준(MABEL)

[0372] TRI130은 표적 항원 CD123을 발현시키는 종양 세포를 용해시키도록 T 세포를 동원하고, 매우 저수준의 TCR 점유도에서 최대 활성이 생긴다(데이터 미제시). 최소 예상 생물학적 효과 수준(MABEL)을 계산하기 위해, 시험관내 수용체 점유도 대신에 시험관내 활성 검정을 사용하였다.

[0373] 시험관내 검정에서 인간 T-세포 활성화에서 10% 활성(EC10)을 유발하는 데 필수적인 유효 농도를 이용하여 MABEL을 결정하였다(Muller et al., 2009). 이들 T-세포 활성화 검정에서 TRI130의 효력은 T 세포의 활성화도 및 효과기-대-표적(E:T) 세포비에 따라 다를 수 있지만, 활성화 검정은 전용된(redirected) T 세포 세포독성(RTCC) 검정에 비해서, MABEL의 계산을 위해 더 민감한 검정을 나타낸다. 개시 임상 용량에 대한 MABEL을 예측하기 위해 가능한 검정으로서 RTCC와 T-세포 활성화를 둘 다 평가하였다. 10:1 E:T 비로 CD123+ KG1a 종양 세포주와 함께 정제된 T 세포를 이용하는 RTCC 검정은 평균 EC10가 5.8pM이었고, 5명의 공여자로부터 평가하였다(평가한 공여자에 걸쳐 4.4 내지 6.7pM 범위). 대조적으로, T-세포 활성화 검정은 MABEL을 추정하기 위한 더 민감한 검정이었다. 시험관내에서 유도된 T-세포 활성화를 측정하기 위해, T 세포를 말초 혈액 단핵 세포로부터 단리시켰고, CD123+ 종양 세포(MOLM-13)의 존재 하에 TRI130과 함께 인큐베이션시켰다. 생 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에 접합시킨 후에 멀티-컬러 유세포분석을 이용하여 20시간에 T 세포 상의 CD69 및 CD25의 상향조절을 모니터링하였다. 이들 검정은 CD4와 CD8 T 세포 둘 다의 활성화에 대해 3명의 공여자를 평가하였다. 이들 검정에 대한 평균 EC10 계산은 CD4 T 세포에 대해 1.2pM이었고(범위 0.7 내지 1.6pM), CD8 T 세포에 대해 1.3pM(범위 0.9 내지 2.0pM)이었다. 이 검정은 MABEL의 더 보존적인 추정을 나타내고, 환자에 대한 개시 용량을 추정하는 데 사용하였다. TRI130에 대해, 0.7pM(0.113ng/㎖)은 공여자로부터의 CD4+ T-세포 반응에 기반하여 MABEL에 대해 가장 보존적인 접근이었다.

[0374] 단일 용량 NHP 연구에서 그룹 4에 대한 제거율 및 용적 추정치를 정맥내(IV) 투약을 위해 WinNonlin(v6.4) 사전컴파일된(precompiled) 2 구획 모델을 이용하여 결정하였다. 활성화 검정에서 사용되는 개개 공여자로부터 결정된 가장 낮은 EC10인, 0.7pM의 EC10(MABEL) 값 미만의 Cmax을 초래하는 투약 전략을 시뮬레이션하기 위해 사용할 수 있는 상태변화 측정법(Allometric scaling)을 이용하여 인간 제거 및 용적 파라미터 추정치를 예측하였다. 이 모델링에 의해, 약 0.005㎍/㎏의 용량은 0.113ng/㎖의 MABEL 농도 미만의 Cmax(0.7pM)를 가진다.

[0375] 중량 기반 용량 대신 고른 또는 고정된 용량을 이 연구에서 이용한다. 몇몇 연구는 고른 용량을 다수의 단클론성 항체에 걸쳐 유사하게 수행한 중량-기반 투약과 비교하였고, 투약 요법 중 하나에 의해 도입된 PK 가변성이

약력학, 효능 및 안전성에서 일반적으로 관찰되는 가변성에 비해 보통이라는 것을 나타내었다(Wang et al., 2009). 60kg 환자 및 0.005㎍/kg의 MABEL 용량으로 가정하면, 연구를 위한 개시 용량은 0.3㎍이다.

[0376] **실시예 2: 환자에 대한 TRI130, 항-CD123×항-CD3 치료 후보의 투여**

[0377] 재발 또는 난치성 급성 골수성 백혈병(AML) 또는 골수이형성증후군(MDS)을 갖는 환자의 진행중인 1/1b상 개방-표지, 용량-상승 연구에서 환자에게 제형화한 TRI130(5mM 석신산염, 6.5% 수크로스, 0.02% 중량/용적 폴리솔베이트-80, pH 4.8)을 투여 중이다. 연구를 2 파트로 수행한다. 제1 파트는 1b상에 대한 권장 용량을 결정하기 위한 1상 개방-표지, 용량 증량 연구이다. 1b상은 권장 용량으로 약물의 임상 활성 및 안전성을 평가하기 위한 개방-표지 확장 연구이다. 연구 설계를 **도 2**에 약술한다. 종점은 안전성, 면역원성, 약물동력학, 약력학 및 임상 활성을 포함한다.

[0378] 표 8은 코호트 1 내지 10에 매주 (IV 투여에 의해) 투약한 양으로 설정한 투약 스케줄이다(용량 증량 코호트). 연구 부분 둘 다에서, 질환 진행, 용인되지 않는 독성 또는 동의서의 철회가 보다 조기에 일어나지 않는 한, 환자는 6회의 28일 주기 동안 정맥내로 매주 약물을 투여 받는다. 환자가 반응한다면 더 긴 치료를 위한 옵션이 있다.

*표 8*

**용량 증량 코호트 1 내지 10**

[0379]

| 코호트 | 1 번째 IV 용량 | 2 번째 IV 용량 | 3 번째 IV 용량 | 4 번째 이상의 IV 용량 | 환자의 수 |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0.3 μg | 0.3 μg | 0.3 μg | 0.3 μg | 1 |
| 2 | 1 μg | 1 μg | 1 μg | 1 μg | 1 |
| 3 | 3 μg | 3 μg | 3 μg | 3 μg | 1 |
| 4 | 9 μg | 9 μg | 9 μg | 9 μg | 3 + 3 |
| 5 | 6 μg | 9 μg | 12 μg | 12 μg | 3 + 3 |
| 6 | 코호트 6은 병행하여 수행한 2 용량 코호트, 즉, 6a 및 6b로 이루어질 것임 | | | | |
| 6a | 6 μg | 9 μg | 12 μg | 18 μg | 3 + 3 |
| 6b | 6 μg | 12 μg | 12 μg | 12 μg | 3 + 3 |
| 7 | 6 μg | 12 μg | 18 μg | 24 μg | 3 + 3 |
| 8 | 6 μg | 12 μg | 18 μg | 36 μg | 3 + 3 |
| 9 | 6 μg | 12 μg | 18 μg | 48 μg | 3 + 3 |
| 10 | 6 μg | 12 μg | 18 μg | 60 μg | 3 + 3 |

[0380] 2mg/㎖의 농도로 1㎖의 액체에서 2mg 약물 제품을 함유하는 일회용 바이알로 약물을 공급한다. IV 백 및 IV 관 세트에 약물 제품이 부착되는 것을 방지하기 위해 IV 안정화 용액과 약물 제품을 혼합한다. 안정화 용액을 멸균으로 공급하고, pH 6.0에서 0.1M 석신산염 완충제, 및 0.08% 중량/용적 폴리솔베이트 80으로 이루어진 10㎖ 바이알에서 냉장시킨다(2 내지 8℃).

[0381] 코호트 1 내지 4에 대해, 제1 용량에 대해 대략 20 내지 24시간에 걸쳐(주기 1, 제1일), 제2 용량에 대해 8시간(±1시간)에 걸쳐(주기 1, 제8일), 제3 용량에 대해 6시간(±1시간)에 걸쳐(주기 1, 제15일) 그리고 모든 후속 용량에 대해 4시간(±1시간)(주기 1, 제22일 및 이후)에 걸쳐 IV 주입에 의해 투여한다. 코호트 5 이상에 대해, 제1 용량에 대해 20 내지 24시간에 걸쳐 IV 주입에 의해 투여하고, 매시간 용량을 증가시킨다. 두 번째로, 8시간(±30분)에 걸쳐, 세 번째에 대해 6시간(±30분)에 걸쳐, 그리고 네 번째 및 모든 추가적인 회차에 대해 4시간(±30분)에 걸쳐 주입한 것과 동일한 용량을 투여한다.

[0382] 필요하다면, 임의의 이상반응, 특히, 주입 관련 반응(IRR) 또는 사이토카인 방출 증후군(CRS)을 관리 또는 방지하기 위해, 임의의 용량 주입은 늦춰지고/지거나 중단될 수 있고, 투여 시간은 최대 72시간까지 늘어난다. 주입이 60시간을 초과한다면, 주입이 완료된 후 12시간 동안 환자를 관찰하여야 한다. 표 10은 IRR 및/또는 CRS의 가능성을 감소시키는 잠재력으로 단계적 투약 요법을 개시한다(코호트 5에서 개시).

[0383] 환자 투약 빈도는 최대 6개월 동안 매주이다. 상승적 TRI130 용량의 사이노몰거스 원숭이 독성 연구(데이터 미제시)에 기반하여 매주 투약 스케줄을 선택하였다. 단일 용량 후 TRI130의 반감기는 0.25 내지 1mg/kg을 투약한 개개 동물에 대해 대략 25 내지 113시간의 범위였고; 반감기 추정치가 길수록 고용량 그룹(1mg/kg)의 동물과 연관되었다.

[0384] 주입 관련 반응(IRR) 및 사이토카인 방출 증후군(CRS)을 완화하기 위해, 환자에게 다음의 사전 의약품을 투여한다: 다이펜하이드라민, 아세트아미노펜 및 덱사메타손. 주입을 개시하기 전 1 내지 3시간에 모든 사전 의약품을 투여한다. 연구자의 의견에서, 동반질환이 용량 감소를 필요로 하는 경우에, 임의의 사전의약의 용량을 감소시킬 수 있다. 환자가 보다 앞선 용량에 의해 임의의 IRR 또는 CRS를 경험하지 못했다면, 제15일, 주기 2 후에 덱사메타손은 선택적이다. 3회의 사전의약 용량은 다음과 같다:

[0385] 1. 덱사메타손 10 내지 20mg IV, 또는 메틸프레드니솔론 1mg/kg IV, 또는 동등물; 용량은 환자의 동반질환에 기반하여 연구자의 재량이다;

[0386] 2. 아세트아미노펜 650 또는 1,000mg, 또는 동등물, 경구로(PO) 1일 동안 1일 3회(연구자의 재량으로 650- 내지 1,000mg 용량), 연구 약물 주입의 1 내지 3시간 전에 제1 용량을 투여함; 및

[0387] 3. 항히스타민: 다이펜하이드라민 50mg PO 또는 IV; 또는 동등물.

[0388] 연구자가 종양 용해 예방을 위해 알로퓨리놀 투여를 선택한다면, 연구 약물의 개시 전 적어도 2일에 이를 시작하여야 한다.

[0389] 1상 - 용량 증량 연구

[0390] 환자 코호트에서 최소 예상 생물학적 효과 수준(MABEL)에서 투약을 시작하였다. 등록한 환자는 다음 중 하나이다: 1) 집중 화학요법 또는 동종이계 줄기 세포 이식물을 거절하거나 적격이 아닌 재발 또는 난치성 AML, 또는 2) 골수에 5% 초과의 아세포 또는 말초 혈액 중 임의의 순환 아세포를 갖고, 사전 저메틸화제(HMA)에 실패한 재발 또는 난치성 MDS; 실패는 HMA에 대한 불내성, 반응 결여(적어도 6주기까지 CR 없음)로서 정의하거나, 또는 IWG는 HMA에 의한 치료 동안 또는 치료 후 진행성 질환으로 정의함. 진행 중인 1상 용량 증량 연구에 (코호트 7을 통해) 등록한 32명의 환자에 대한 인구 통계를 아래의 표 9에 나타낸다. 코호트 7을 통해 등록한 환자에 대해, 중위 연령은 67세였고, 환자의 79%는 AML을 가졌다. 환자당 투여한 용량의 평균 횟수는 8.5였고, 평균 치료 지속기간은 54일이었다.

표 9

인구통계학 및 노출, 코호트 7을 통해 등록한 환자

| 특징 | 통계 | 모든 환자(N=32) |
|---|---|---|
| 연령 | 중앙값(범위) | 67 (18, 81) |
| 여성 | N (%) | 15 (47%) |
| 사전 계통의 요법 | 중앙값(범위) | 3 (1, 13) |
| **질환** | | |
| MDS | N (%) | 7 (22%) |
| AML 원발성 | N (%) | 21 (66%) |
| 관련된 AML 요법 | N (%) | 4 (13%) |
| **세포유전학 위험** | | |
| 바람직함 | N (%) | 3 (9%) |
| 중간 | N (%) | 7 (22%) |
| 불량 | N (%) | 6 (19%) |
| 알려지지 않음 | N (%) | 16 (50%) |

| 치료 노출의 요약 | 32명의 환자 평균(SD) |
|---|---|
| 투여한 용량 | 8.5 (8.3) |
| 치료 지속기간(일수) | 54 (59) |

[0391]

[0392] 진행 중인 1상 용량 증량 연구에 등록한 32명의 환자에 대한 치료-관련 유해 사건을 아래의 표 10에 나타낸다. 환자의 34%는 하나 이상의 IRR/CRS 사건을 경험하였다(16%에서 3등급 이상으로 보고됨). 가장 통상적인 증상은 호흡곤란, 발열, 저혈압, 저산소증, 심박 급속증 및 고됨/오한이었다. 특히, IRR/CRS는 2명 이상의 환자에서의 유일한 치료-관련 심각한 이상반응이었다. IRR/CRS 사건을 경험한 11명의 환자 중 3명은 이를 치료하기 위해 토실리주맙을 투여 받았다.

표 10

치료-관련 이상 반응

| 치료-관련 이상 반응* | 모두(N=32) | 등급 ≥ 3 (N=32) |
|---|---|---|
| IRR/CRS** | 11 (34%) | 5 (16%) |
| 피로 | 5 (16%) | 1 (3%) |
| 설사 | 3 (9%) | |
| 발열 | 3 (9%) | |
| 빈혈 | 2 (6%) | 2 (6%) |
| 플러싱 | 2 (6%) | |
| 저혈압 | 2 (6%) | |
| 구역 | 2 (6%) | 1 (3%) |
| 말초 부종 | 2 (6%) | |
| 경직/오한 | 2 (6%) | |
| 치료-관련 심각한 이상 반응 | | |
| IRR/CRS | 8 (25%) | 4 (13%) |
| *2명 이상의 환자에서 생기는 치료-관련 AE 및 SAE 사건<br>**주입 관련 반응/사이토카인 방출 증후군<br>독성 등급은 CTCAE 기준 버전 5.0에 기반함 | | |

[0393]

[0394] 골수 흡입물 중 아세포 백분율을 환자에 대해 시간에 따라 모니터링하였다. **도 3A 내지 도 3D**에 나타낸 바와 같이, 12㎍ 이상의 가장 높은 용량을 받은 몇 명의 환자에서 골수 아세포의 감소가 관찰되었다. 두 명의 환자는 각각 29% 내지 0%(코호트 6b, **도 3C**), 및 33% 내지 4%(코호트 6a, **도 3B**)의 골수 아세포 감소가 있었다. 절대 호중구 및 혈소판 계수는 완전 관해 기준을 충족시켰다. 환자 둘 다 연구에 남아있었을 뿐만 아니라, 한 명의 환자는 코호트 7에서 아세포가 감소되었다.

[0395] 각 환자에서 투여 전 및 가장 고용량으로 투여 후 예정 시점에 혈청 사이토카인을 평가하였고, 또한 주입 관련 반응 또는 사이토카인 방출 증후군 사건 동안 간격을 두고 평가하였다. **도 4A 내지 도 4D**에 나타낸 바와 같이, 예정된 수집 동안 사이토카인을 상승시키지 않았다. IRR/CRS의 이상반응 동안에 상승된 사이토카인, 특히 IL-6이 관찰되었다. 특히, 이런 가장 작은 데이터 세트에서, 가장 높은 사이토카인 농도와 용량 수준 또는 사건 등급 간에 상관관계는 관찰되지 않았다.

[0396] 코호트 6A(**도 6A**) 및 6B(**도 7A**)의 환자에 대해 약물동력학(PK) 데이터를 분석하였다. 코호트 6A에서, 1명의 환자에 대해 C3D1 후 TRI130의 정량 가능한 농도가 보였다(제56일). 모든 다른 샘플은 현재의 분석 형식(2.5ng/㎖)의 경우 정량 한계 미만(BLQ)이었지만, 다수의 샘플이 검출 가능한 분석 범위에 있었다.

[0397] 코호트 6A(**도 6B**) 및 6B(**도 7B**)의 환자에 대해 항-약물 항체 수준을 또한 결정하였다. 코호트 6A에서, 1명의 환자(환자 4)를 선별하였고, 양성을 확인하였지만, 역가는 낮았다. 또한, 환자는 투약 전 ADA의 경우 양성이었고, 이러한 항체의 역가는 시간에 따라 감소되었는데, 이는 반응이 치료 관련되지 않았다는 것을 나타낸다. 코호트 6B에서, 환자 6은 항-TRI130 항체의 경우 투약 후 양성으로 측정되었다. 이 환자에서, 역가는 또한 낮았다. 특히, 투약 전 배경은 컷 오프 지점 미만이었지만, 다른 음성 개체에 비해서 상대적으로 높았고, 이는 이 반응이 TRI130 치료와 관련되지 않을 수도 있다는 것을 나타낸다.

[0398] 따라서, 이런 예비 연구에서, 24㎍의 용량을 통한 TRI130의 투여는 관리 가능한 안전성 프로파일에 의해 용인되었다. 상기 언급한 바와 같이, 2명의 환자는 완전 관해(CR)를 가졌다. IRR/CRS의 동시 이상반응이 있지 않은 경우라면, 사이토카인은 유의미하게 상승되지 않았다. 예비 데이터는 치료-유발 항-약물 항체(ADA)의 증거를 시사

하지 않았다.

[0399] 장래의 2상 연구를 위한 TRI130의 권장 용량 수준, 구체적으로는, 환자에 대해 안전성 위험을 제기하는 임의의 급성, 임상적으로 유의미한 사이토카인 방출을 생성하지 않는 TRI130의 용량을 결정하기 위해 이런 개방-표지, 다회 용량 상승 용량 증량 상을 설계하였다. 이런 시험 단계는 TRI130이 관리 가능한 안전성 프로파일을 갖고, 권장된 2상 용량("RP2D")을 확립하였다는 것을 입증하였다. 추가로, 용량 증량 연구로부터의 약물동력학(PK) 데이터는 최대 허용 용량("MTD") 수준 미만인 RP2D 수준에서 단일 제제로서의 치료가 백혈병의 장기간 안정화, 결과적으로 치료가 어려운 재발/난치성 AML 환자 2명에서의 부분 관해 및 완전 관해("CR")로 악화된 반응을 달성하였다는 것을 나타냈다. 1B상 연구 중 파트 1에서 경험한 주입-관련 반응 및 사이토카인 방출 증후군 사례는 용량 중단, 덱사메타손 및/또는 토실리주맙의 투여에 의해 관리 가능하였다.

[0400] 1상 - 추가적인 용량-상승 코호트

[0401] 코호트 7에 대한 용량-제한 독성(DLT) 관찰 기간의 완료 후, 4개의 추가적인 순차적 코호트(코호트 A, B, C 및 D)에 환자를 등록한 한편, 8 이상의 코호트를 치료한다. 이들 코호트를 순차적으로 실행하고, 코호트 8 내지 10과 독립적이며, 더 빠른 용량 증량을 달성할 것이다.

[0402] 코호트 A, B, C 및 D의 환자는 주기 1의 처음 4일 동안 연속 IV 투약을 가질 것이며(20 내지 24시간/일), 이어서, 2주 동안 1주 2회 투약, 다음에 주기 1 및 모든 후속적 주기에서 이후에 1주 1회 투약이 이어질 것이다. 표 11은 코호트 A, B, C 및 D에 대한 투약 스케줄을 나타낸다. 코호트 A에서 투약 첫 주는 코호트 6a에서 시험한 용량을 이용한다(6㎍의 제1일, 9㎍의 제2일, 12㎍의 제3일, 및 18㎍의 제4일). 둘째 주 동안에, 18㎍의 용량을 제8일 및 제11일에 투여한다. 제3주에, 용량을 36㎍까지 상승시키고, 해당 수준에서 유지한다. 첫 주 동안 매일의 용량을 상승시키는 것의 이점은 $C_{max}$가 점진적으로 증가되고, 이는 IRR/CRS의 발생 경향을 낮출 수 있다는 것이다. 토실리주맙에 의한 적극적인 치료는 증상 치료 및 용량 중단의 2시간 이내에 반응하지 않는 2등급 이상의 IRR 또는 CRS에 대해 투여할 것이다.

*표 11*

코호트 A, B, C 및 D에 대한 투약

| | 제 1 주 | | | | 제 2 주 | | 제 3 주 및 제 4 주 | 주기 2 이상 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 코호트 | 제 1 일 | 제 2 일 | 제 3 일 | 제 4 일 | 제 8 일 | 제 11 일 | 제 15 일, 및 제 22 일 | 제 1 일, 제 8 일, 제 15 일 및 제 22 일 | 환자의 수 |
| A | 6 μg | 9 μg | 12 μg | 18 μg | 18 μg | 18 μg | 36 μg | 36 μg | 3 + 3 |
| B | 6 μg | 12 μg | 18 μg | 24 μg | 24 μg | 24 μg | 48 μg | 48 μg | 3 + 3 |
| C | 6 μg | 12 μg | 24 μg | 36 μg | 36 μg | 36 μg | 60 μg | 60 μg | 3 + 3 |
| D | 6 μg | 12 μg | 24 μg | 36 μg | 48 μg | 48 μg | 100 μg | 100 μg | 3 + 3 |

[0403]

[0404] 코호트 A 내지 D에 대해, 제1 용량에 대해 20 내지 24시간에 걸쳐 IV 주입에 의해 투여하고, 매시간 용량을 증가시킨다. 두 번째로, 8시간(±30분)에 걸쳐, 세 번째에 대해 6시간(±30분)에 걸쳐, 그리고 네 번째 및 모든 추가적인 회차에 대해 4시간(±30분)에 걸쳐 주입한 것과 동일한 용량을 투여한다.

[0405] 주기 1, 제1일; 주기 1, 제8일; 주기 1, 제11일; 주기 1, 제15일; 및 주기 1, 제22일 전에 사전 의약을 투여한다. 모든 후속 용량을 위해, 덱사메타손은 선택적이지만, 아세트아미노펜과 다이펜하이드라민이 필요하다.

[0406] **도 8A 내지 도 8E**에서 $C_{max}$가 시간에 따라 얼마나 점진적으로 증가되는지를 나타내는 코호트 A, B, C 및 C 각각에 대한 PK 시뮬레이션이 제공된다. 추가적인 PK 파라미터에 대한 시뮬레이션을 또한 **도 9A** 및 **도 9B**에 제공한다. 이런 시뮬레이션은 제한된 양의 TMDD(표적-매개 약물 성질)를 설명하기 위해 사이노몰거스 원숭이에서의 저용량 날짜의 모델링에 기반하였다.

[0407] **실시예 3: AML 및 MDS 환자에서의 TRI130의 1b상 확장 연구**

[0408] TRI130에 대한 최대-허용 용량(MTD)은 실시예 2에 기재한 용량 증량 연구에서 240㎍/주기의 용량 수준에 도달되지 않았다(표 10의 코호트 10). 코호트 6A의 하위-MTD 용량 수준은 확장상 동안 추가 평가를 위한 TRI130의 권장 2상 용량(RP2D) 수준으로서 확인되었다. 이 용량 수준은 용량-제한 독성(DLT)이 없는 코호트 10의 주기 1에서 투여한 TRI130의 50% 초과의 더 낮은 양(즉, 주기 1에서 45㎍ 대 96㎍) 및 제2 및 후속 주기에서 코호트 10의 용량 수준보다 70% 낮은 양(주기 2 내지 4에서 72㎍ 대 240㎍)을 제공한다. 확장상 동안 추가 시험을 위해 선택한 이런 서브-MTD 용량 수준에서 단일 제제로서 TRI130에 대한 최고의 전체 반응으로서 6개월 초과 동안 장기간의 안정적 질환과 완전 관해가 관찰되었다.

[0409] 따라서, 이런 1b상 확장 연구에서, 용량 증량 상의 코호트 6A에서 사용한 용량 수준(실시예 2)을 사용하여 표준 치료에 대한 아쥬반트로서 사용하였을 때 RP2D 수준에서의 TRI130의 안전성 및 내약성을 평가할 것이다. TRI130의 항-백혈병 활성을 이러한 확장 상 동안 단일요법으로서뿐만 아니라 표준 화학요법 약물과 병용하여 평가할 것이다.

[0410] 본 연구는 각각 18명 환자의 5개 코호트에 총 90명의 원발성 AML 환자를 등록하는 개방-표지, 다기관, 용량 확장 연구이다. 안전성 및 효능 종점을 평가하기 위해 처리 아암을 설계한다. 코호트 1 내지 4에서, TRI130을 주기 1(코호트 1, 3, 4) 또는 주기 1 내지 2(코호트 2) 동안에 매주 증가시킨 후에 18㎍의 고정 투약량으로 투여할 것이다. 코호트 5에서, TRI130을 주기 1 동안 매주 증가시킨 후에 매주 2회 18㎍의 고정된 용량으로 투여할 것이다. 이러한 코호트 각각을 아래에서 추가로 상세하게 기재한다.

[0411] 코호트 1 - 화학요법에 TRI130을 더한 것에 의한 유도

[0412] 환자를 화학요법(ChT)에 TRI130을 더한 것의 조합물로 치료할 것이다. ChT의 경우, 환자는 사이타라빈 중간 용량(IDAC) 또는 미톡산트론, 에토포사이드와 사이타라빈의 조합물(MEC) 중 하나를 투여받을 것이다.

[0413] 12개월 미만의 마지막 완전 관해(CR)를 갖는 제1 또는 제2 재발 또는 원발성 난치성 질환에서 원발성 또는 2차 AML 환자(연령: 18세 초과)는 (i) TRI130과 중간 용량 사이타라빈(IDAC)의 조합물, 또는 (ii) TRI130과 MEC(미톡산트론, 에토포사이드, 사이타라빈)의 조합물을 포함하는 조합된 2-약물 면역화학요법의 4×28일 주기를 투여받을 것이다. 원발성 난치성 질환은 집중 유도 치료의 2 과정 후에 불완전 혈액 회수(CRi)에 의한 CR 또는 완전 관해를 달성하는 것의 불능으로서 유럽 백혈병 네트워크(European LeukemiaNet: ELN)에 의해 정의된다.

[0414] IDAC가 ChT로서 선택되는 경우, 환자는 TRI130과 병용하여 IDAC의 4주기를 투여받을 것이다. 사이타라빈(1g/㎡)은 각 28일 주기(D1 내지 D5) 동안 제1일 내지 제5일에 1일 2시간에 걸쳐 정맥내로 투여할 것이다. 주기 2(D29), 주기 3(D57) 및 주기 4(D85)의 제1일에 TRI130 주입의 종료 4시간 후에 사이타라빈을 투여할 것이다. 이 투약 요법을 **도 5A**에 예시한다.

[0415] MEC를 ChT로서 선택하는 경우, 환자는 제1일 내지 제6일에 2 주기의 미톡산트론 6mg/㎡/일 IV, 제1일 내지 제6일에 에토포사이드 80mg/㎡/일 IV 및 제1일 내지 제6일에 사이타라빈 1g/㎡/일 IV를 투여받을 것이다. TRI130을 2 주기 동안 MEC와 병용하여 투여할 것이고, 후속적으로 2 주기 동안 단일요법으로서 투여할 것이다. 이 투약 요법을 **도 5A**에 예시한다.

[0416] TRI130의 경우 주기 1, 제1일(C1D1)은 IDAC 또는 MEC 화학요법의 개시 후 8일일 것이다. 처음 TRI130 주기는 1주까지 분리되는 3 용량의 TRI130(C1D1, C1D8, C1D15)만을 포함할 것이다. 모든 후속 주기는 TRI130을 매주 4회 주입할 것이다. TRI130은 TRI130의 주기 1동안 매주 증가 후에 18㎍의 고정 투약량에서 각 TRI130 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 4시간에 걸쳐 정맥내로 투여할 것이다. 표 12에 나타낸 바와 같이 스텝업 투약을 진행할 것이다.

*표 12*

스텝업 투약

| 치료일 | TRI130의 용량 | 주입 시간 | 용량 후 관찰 기간 |
|---|---|---|---|
| D8 = TRI130 캘린더의 C1D1 | 6 μg | 20 내지 24시간 | 24시간 |
| D15 = TRI130 캘린더의 C1D8 | 12 μg | 20 내지 24시간 | 24시간 |
| D22 = TRI130 캘린더의 C1D15 | 18 μg | 20 내지 24시간 | 24시간 |
| D29 = TRI130 캘린더의 C2D1 | 18 μg | 8시간 | 4시간 |
| D36 = TRI130 캘린더의 C2D8 | 18 μg | 6시간 | 2시간 |
| 모든 후속 용량 | 18 μg | 4시간 | 2시간 |

[0417]

[0418] 코호트 1에 대한 1차 결과 척도는 (1) 안전성의 경우: 등급 3 내지 4 이상반응(AE)의 누적 발생률, 및 중증의 이상반응(SAE), 및 안전성에 대한 관심 AE의 발생률(등급 2 이상의 사이토카인 방출 증후군(CRS), 등급 2 이상의 주입 관련 반응, 2 이상의 심장 독성 및 CRS의 합병증으로서 2 이상의 신경독성) 및 (2) 효능의 경우: 백혈병 무진행 생존(Leukemia-free survival: LFS); 각 주기 후 복합 CR 비율(CR/CRi/CRh), 및 CR을 달성한 환자에 대한 Central Lab 결정에 의한 다색/다중 파라미터 유세포분석기(MFC)에 의한 최소 잔여 질환(MRD) 상태이다.

[0419] 코호트 2 - TRI130 + 베네토클락스 + 아자시티딘 - 최전선 또는 제1 재발에 의한 유도

[0420] 치료-미경험이거나 1번째 재발인 불량한 예후이지만 원발성 또는 2차 AML 환자(18세 초과의 연령)는 TRI130에 베네토클락스 및 아자시티딘을 더한 것을 포함하는 병용되는 3-약물 면역화학요법의 4×28일 주기를 투여받을 것이다. 환자가 TRI130을 시작하면서 종양 용해 증후군(TLS)의 위험을 최소화하는 베네토클락스의 제1 용량 이후로 최소 15일이 지나야 한다. 처음 TRI130 주기에서 처음 TRI130 용량을 베네토클락스의 첫 용량 후 15일에 투여할 것이다. 후속 주기에서, TRI130 및 베네토클락스의 제1 용량을 15일 분리 없이 동일한 날에 투여할 수 있다.

[0421] TRI130은 TRI130의 주기 1동안 매주 증가 후에 18㎍의 고정 투약량에서 각 TRI130 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 매주 4시간에 걸쳐 정맥내로 투여할 것이다. 표 13에 나타낸 바와 같이 스텝업 투약을 진행할 것이다.

*표 13*

스텝업 투약

| 치료일 | TRI130의 용량 | 주입 시간 | 용량 후 관찰 기간 |
|---|---|---|---|
| 베네토클락스 캘린더에 따라 C1D15 (TRI130 캘린더에 따라 C1D1) | 6 μg | 20-24시간 | 24시간 |
| 베네토클락스 캘린더에 따라 C2D22 | 12 μg | 20-24시간 | 24시간 |
| 베네토클락스 캘린더에 따라 C2D8 | 18 μg | 8시간 | 4시간 |
| 모든 후속 용량 | 18 μg | 4시간 | 2시간 |

[0422]

[0423] 베네토클락스를 매일 증가시킨 후에 400mg/1일의 고정 투약량에서 각 주기의 제1일 내지 제21에 매일, 경구 투여할 것이다(제1일: 100mg; 제2일: 200mg; 제3일 내지 제21일: 400mg). 아졸 항진균제에 대해 환자에 대한 표준 치료에 따라 베네토클락스 용량을 조정할 것이다. 베네토클락스는 골수 아세포가 5% 미만인 환자의 경우 2주기 후에만 제1일 내지 제14일에 제공할 수 있다.

[0424] 75mg/㎡의 투약량으로 각 주기의 제1일 내지 제7일에 매일 30분에 걸쳐 아자시티딘을 정맥내로 투여할 것이다.

[0425] 코호트 2의 경우 투약 요법을 **도 5B**에 예시한다.

[0426] 코호트 2에 대한 1차 결과 척도는 (1) 안전성의 경우: 등급 3 내지 4 AE의 누적 발생률, 및 SAE, 및 안전성에 대한 관심 AE의 발생률(등급 2 이상의 CRS, 등급 2 이상의 주입 관련 반응, 2 이상의 심장 독성 및 CRS의 합병증으로서 2 이상의 신경독성) 및 (2) 효능의 경우: 백혈병 무진행 생존(LFS); 각 주기 후 복합 CR 비율(CR/CRi/CRh), 및 CR을 달성한 환자에 대한 MFC(Central Laboratory)에 의한 MRD 상태이다. HSCT 적격 환자는 유세포분석에서 CR 및 MRD-음성인 경우 삼중 APVA의 2 주기 후에 HSCT를 받을 수 있다. 그 외에, 프로토콜당 TRI130의 4회 주기를 적극 권장하였다. TRI130+베네토클락스+아자시티딘 삼중 요법의 4주기 후에, 환자는 연구자의 재량에 따라 추적검사 시 베네토클락스+아자시티딘을 계속할 것이다. 4 주기의 TRI130 후에 완전 관해에 최소 잔여 질환(CRMRD) 상태를 더한 것을 달성하지만 조혈 줄기 세포 이식(HSCT)을 받는 것에 적격이 아닌 환자는 연구자 선호도에 따라 추가 4회의 TRI130 단일요법 주기를 투여받을 것이다.

[0427] 코호트 3 - 7+3 후 강화 - 최전선 + 제1 재발

[0428] 1년 미만의 CR1의 지속기간으로 치료-미경험 이거나 1번째 재발인 FLT3-음성 중간 또는 유해 위험 AML(TP53, *RUNX1* 및 *ASXL1* 돌연변이 및/또는 복합 세포유전학을 포함하지만, 이들로 제한되지 않음)을 갖는 원발성 AML 환자(연령: 18세 초과)는 아래에 기재하는 바와 같이 (a) 또는 (b) 중 하나에 의한 유도 후 혈액 회수 후 TRI130에 의한 면역요법의 4×28일 주기를 투여받을 것이다(ANC>1,000/㎕; Hgb≥9g/dℓ; Plt≥100,000/㎕).

[0429] (a) 새로 진단된 환자의 경우: 하기로 이루어진 표준 7+3 요법: 제1일 내지 제7일에 7 연속일 동안 지속 주입으로서 매일 정맥내로 투여한 사이타라빈 100 내지 200mg/㎡에; 제1일 내지 제3일에 15분에 걸쳐 정맥내로 투여한 이다루비신 12mg/㎡(또는 3시간에 걸쳐 정맥내로 다우노루비신 60[30 내지 90]mg/㎡)를 더한 것. 표준 용량 및 스케줄에서 CPX-351 유도는 또한 연구자가 선호하는 경우에 허용 가능하다. 7+3 유도 요법 후 1 주기의 고용량

사이타라빈(HiDAC) 강화 또는 1 내지 2 주기의 IDAC 또는 CPX-351을 투여받는 환자는 적격이다(HiDAC는 기관의 실행 및/또는 연구자의 재량에 따라 60세 초과의 환자에 대해 1.5 그램/㎡으로 감소될 수 있음). 유도 1(아세포 지속) 후에 골수에서 아세포가 5% 이상인 환자는 제2 유도 주기를 투여받아야 하지만, 이는 유도 1과 동일한 ChT일 필요는 없을 수 있다. 환자가 1 또는 2 유도 주기 후에 CR/CRi를 달성하자마자, 이들은 강화 치료로 진행하여야 한다.

[0430] (b) 제1 재발 환자의 경우, 사이타라빈-기반 표준 구제 요법, 예컨대, 미톡산트론 + 에토포사이드 + 사이타라빈(MEC)을 또한 사용할 수 있다. MEC로 치료하는 경우, 환자는 제1일 내지 제6일에 미톡산트론 6㎎/㎡/일 IV, 제1일 내지 제6일에 에토포사이드 80㎎/㎡/일 IV 및 제1일 내지 제6일에 사이타라빈 1g/㎡/일 IV를 투여받을 것이다. FLAG 또는 FLAG-IDA는 TRI130에 의해 향상되는 플루다라빈-연관 신경독성 및 자가면역 합병증의 잠재적 위험으로 인해 사용해서는 안 된다.

[0431] 7+3 유도 또는 HiDAC 강화 연관된 부작용의 해소를 가능하게 하기 위해 마지막 사이타라빈 용량 이후에 최소 21일이 경과해야 한다. TRI130은 최종 고려되는 ChT 주기 후에 개시되어야 한다. 환자는 TRI130에 의한 면역요법을 투여받기 위해 모든 적격 기준을 충족하여야 한다. 환자는 CR이 아니거나 CR일 것이 요구되며, TRI130 치료에 적격인 유도/강화 후 MFC(Central Laboratory)에 의해 MRD 양성(≥01% 수준)이다.

[0432] 첫 번째 TRI130 강화 주기는 연구자 선호도에 따라 7+3 또는 MEC 유도 또는 HiDAC/IDAC 함유 강화 후 21일 이상(바람직하게는 21 내지 28일)에 시작할 것이다.

[0433] TRI130은 주기 1동안 매주 증가 후에 18㎍의 고정 투약량에서 각 TRI130 강화 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 매주 4시간에 걸쳐 정맥내로 투여할 것이다. 표 14에 나타낸 바와 같이 스텝업 투약을 진행할 것이다.

*표 14*

스텝업 투약

[0434]

| 치료일 | TRI130의 용량 | 주입 시간 | 용량 후 관찰 기간 |
|---|---|---|---|
| C1D1 - TRI130 주기 1의 제1일: 주기 1은 첫 번째 HiDAC 강화의 제22일에 시작함 (제36일까지) | 6 μg | 20-24시간 | 24시간 |
| C1D8 | 12 μg | 20-24시간 | 24시간 |
| C1D15 | 18 μg | 20-24시간 | 4시간 |
| C1D22 | 18 μg | 8시간 | 4시간 |
| C2D21(제22일 내지 제36일에 시작해서 HiDAC 강화의 2번째 주기 후에 일어남) | 18 μg | 6시간 | 2시간 |
| 모든 후속 용량 | 18 μg | 4시간 | 2시간 |

[0435] 코호트 3의 경우 투약 요법을 **도 5C**에 예시한다.

[0436] 코호트 3에 대한 1차 결과 척도는 (1) 안전성의 경우: 등급 3 내지 4 AE의 누적 발생률, 및 SAE, 및 안전성에

대한 관심 AE의 발생률(등급 3 이상의 CRS, 등급 2 이상의 주입 관련 반응, 2 이상의 심장 독성 및 CRS의 합병증으로서 2 이상의 신경독성) 및 (2) 효능의 경우: 백혈병 무진행 생존(LFS); TRI130 강화의 시작 시 관해에 있는 환자의 경우 MFC에 의한 MRD 상태, 및 TRI130 강화의 시작 시 CR/CRi/CRh에 있지 않은 환자의 경우 복합 CR 비율이다.

[0437] 적격 환자는 MFC에 의해 CR 및 MRD 음성인 경우에 TRI130의 2주기 후에 HSCT를 받을 수 있다. 그 외에, 프로토콜당 TRI130의 4회 주기를 적극 권장하였다.

[0438] TRI130의 4주기 후에 CRMRD-상태를 달성하지만, HSCT를 받는 것에 적격이 아닌 환자는 의사 선호도에 따라 추가 4회의 TRI130 단일요법 주기를 투여받을 수 있다.

[0439] 코호트 4 - MRd-양성(MRD+) 제1 관해, TRI130 + 경구 아자시티딘

[0440] (Central Lab에서 다색-다중 파라미터 유세포분석[MFC]에 의해 0.1% 이상의 수준에서) 최소 잔여 질환을 갖는 18세 초과의 환자, 고위험 제1 관해 AML 환자를 TRI130 + 경구 아자시티딘(Onureg, CC-486)의 4×28일 주기로 처리할 것이다.

[0441] 저메틸화제에 베네토클락스를 더한 것 또는 저용량 사이타라빈에 베네토클락스를 더한 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 최전선 표준 7+3 요법 또는 다른 표준 유도 요법을 투여받은 제1 관해 AML 환자는 적격이다. 1 주기의 고용량 사이타라빈(HiDAC) 강화 또는 7+3 유도 요법 후 1 내지 2주기의 IDAC 또는 CPX-351을 투여받는 환자는 이들이 MRD+ CR을 갖는 경우에 적격이다.

[0442] 최소 4 주기의 베네토클락스-기반 요법 후 MRD+ 제1 관해의 환자는 적격이다.

[0443] TRI130의 주기 1, 용량 1은 HiDAC 또는 IDAC-함유 강화 후 21일 이상이어야 한다. TRI130은 주기 1동안 매주 증가 후에 18㎍의 고정 투약량에서 각 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 매주 4시간에 걸쳐 정맥내로 투여할 것이다. 표 15에 나타낸 바와 같이 스텝업 투약을 진행할 것이다.

*표 15*

스텝업 투약

[0444]

| 치료일 | TRI130의 용량 | 주입 시간 | 용량 후 관찰 기간 |
|---|---|---|---|
| C1D1 - TRI130의 주기 1의 제1일 | 6 μg | 20-24시간 | 24시간 |
| C1D8 | 12 μg | 20-24시간 | 24시간 |
| C1D15 | 18 μg | 20-24시간 | 4시간 |
| C1D22 | 18 μg | 8시간 | 4시간 |
| C2D1 | 18 μg | 6시간 | 2시간 |
| 모든 후속 용량 | 18 μg | 4시간 | 2시간 |

[0445] 경구 아자시티딘을 300㎎ 1일 용량 수준×14일로 투여할 것이다. 코호트 4의 경우 투약 요법을 **도 5D**에 예시한다.

[0446] 적격 환자는 이들이 MFC에 의해 MRD- 상태를 달성하는 경우 TRI130 + 아자시티딘의 2 주기 후에 HSCT를 받을 수 있다. 그 외에, 프로토콜당 TRI130 + 아자시티딘의 4회 주기를 적극 권장하였다. TRI130의 4주기 후에 CRMRD-상태를 달성하지만, HSCT를 받는 것에 적격이 아닌 환자는 연구자 선호도에 따라 추가 4회의 TRI130 단일요법 주기를 투여받을 수 있다.

[0447] 코호트 5 - MRD+ 제2 관해, 단일 제제 TRI130

[0448] 18세 초과의 AML 환자, (Central Lab에서 MFC에 의해 0.1% 이상의 수준에서) 표준 치료 요법에 의한 유도 후 제

2 관해에 있는 MRD+를 TRI130 단일요법의 4×28일 주기로 치료할 것이다.

[0449] 표준 치료 요법에 의한 유도 후 강화가 있는 환자뿐만 아니라 강화가 없는 환자는 적격이다. 환자 등록은 연속 환자 1 내지 5에서 적어도 7일에 처음 5명의 환자에서 시차를 둘 것이다(= 안전성 도입부).

[0450] TRI130의 주기 1, 용량 1은 HiDAC 또는 IDAC-함유 강화 후 21일 이상이어야 한다. TRI130은 주기 1동안 매주 증가 후에 18㎍의 고정 투약량에서 각 주기의 제1일, 제4일, 제8일, 제11일, 제15일, 제18일 및 제22일에 매주 2회 4시간에 걸쳐 정맥내로 투여할 것이다(스텝업 투약: TRI130은 주기 1동안 매주 증가 후에 18㎍의 고정 투약량에서 각 주기의 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 매주 4시간에 걸쳐 정맥내로 투여할 것이다.

[0451] 표 16에 나타낸 바와 같이 스텝업 투약을 진행할 것이다.

*표 16*

**스텝업 투약**

[0452]

| 치료일 | TRI130의 용량 | 주입 시간 | 용량 후 관찰 기간 |
|---|---|---|---|
| C1D1 및 C1D4 | 6 μg | 20-24시간 | 24시간 |
| C1D8 및 C1D11 | 12 μg | 20-24시간 | 24시간 |
| C1D15 및 C1D18 | 18 μg | 20-24시간 | 4시간 |
| C1D22 | 18 μg | 8시간 | 4시간 |
| C2D1 | 18 μg | 6시간 | 2시간 |
| 모든 후속 용량 | 18 μg | 4시간 | 2시간 |

[0453] 코호트 5의 경우 투약 요법을 **도 5E**에 예시한다.

[0454] 매주 2회 투약이 안전성 도입부 동안에 등급 3 IRR 또는 CRS를 초래하는 경우, TRI130의 C1D4 및 C1D11 용량을 생략할 수 있다.

[0455] 적격 환자는 FCM에 의해 CR 및 MRD 음성인 경우에 TRI130의 2주기 후 TRI130 후에 HSCT를 받을 수 있다. 그 외에, 프로토콜당 4회 주기를 적극 권장하였다. TRI130의 4주기 후에 CRMRD-상태를 달성한 환자는 연구자 선호도에 따라 추가 4회의 TRI130 단일요법 주기를 투여받을 수 있다.

[0456] **실시예 4: 재발/난치성 AML 또는 MDS를 갖는 환자에서의 TRI130의 단일 제제 활성**

[0457] 이러한 개념증명 연구의 주요 목적은 저메틸화제(HMA, N=2) 또는 베네토클락스에 HMA를 더한 것(N=6)에 의한 치료에 실패한 재발 또는 난치성(R/R) AML이 있는 8명의 환자 및 HMA(N=5) 또는 베네토클락스에 HMA를 더한 것(N=1)에 의한 치료에 실패한 R/R MDS를 갖는 6명의 환자를 평가하는 것이었다. TRI130의 임상 활성을 AML의 전임상 NOD/SCID 마우스 이종이식 모델에서 활성인 0.08㎍/kg 초과의 서브마이크로그램 용량 수준에서 시험하였다. 이 분석은 R/R AML 및 MDS 환자에서 TRI130의 최근에 완료된 1B상 연구로부터의 주요 데이터를 이용해서 수행한 임상 개념 증명을 평가하였다.

[0458] 임상 연구

[0459] 이 개념증명 연구를 재발/난치성 AML 및 보다 고위험의 골수이형성 증후군(MDS)을 갖는 환자에서 TRI130의 다중기관 1B상 임상 용량 증량 시험의 일부로서 IND 135552 하에서 수행하였다. 이를 식별자 번호 NCT03647800로 임상시험 데이터베이스 ClinicalTrials.gov에 등록하였다. 코호트 2 내지 10에 대한 매주 목표 용량 수준은 코호트 2의 경우 1㎍, 코호트 3의 경우 3 mcg, 코호트 4의 경우 9 mcg, 코호트 6A의 경우 18 mcg, 코호트 6B의 경우 12 mcg, 코호트 7의 경우 24 mcg, 코호트 8의 경우 36 mcg, 코호트 9의 경우 48 mcg 및 코호트 10의 경우 60 mcg[28]이었다(위의 실시예 2, 표 10 참조). 3+3 설계를 사용해서 용량 증량을 가이드하였다. 각 코호트에서, 매주 정맥내 주입을 통해 단일 제제로서 TRI130의 지정된 고른 용량을 투여받도록 적격 AML/MDS 환자를 배정하였다. TRI130을 매주 정맥내 주입을 통해 단일 제제로서 표시된 용량 수준으로 투여하였다[28]. 프

로토콜을 수정한 코호트 5에서 실행한 사이토카인 방출 증후군(CRS)에 대한 위험을 감소시키기 위해 환자내 스텝업 전략에 따라 TRI130을 투여하였다. Genoptix(캘리포니아주 칼스베드 소재) 플랫폼을 이용해서 백혈병 아세포의 분자 프로파일링을 위한 DNA 서열분석을 수행하였다. AML의 경우 ELN 2017 기준 및 MDS의 경우 IWG 2006 기준에 의해 모든 반응을 평가하였다. TRI130은 허용 가능한 내약성 및 관리 가능한 약물 투여 후 이상 반응(treatment-emergent AE)과 함께 바람직한 안전성 프로파일을 나타냈다[28]. MTD는 매주 60㎍의 고른 용량에 도달되지 않았다(60㎏ 대상체의 경우 1㎍/㎏)[28]. TRI130-관련인 것으로 의심되는 가장 통상적인 등급 3 AE는 46명의 환자 중 4명에서 생기는 등급 3 내지 4의 CRS(8.7%), 46명의 환자 중 2명에서 생기는 등급 3 내지 4 빈혈(4.3%), 및 26명의 환자 중 2명에서 생기는 주입-관련 반응(IRR)(4.3%)이었다[28].

[0460] 혈청 사이토카인 수준 및 유세포분석의 측정

[0461] 2회 중복 혈청 샘플에서 전기화학발광에 의한 전염증 사이토카인 인터류킨-5(IL-5), 인터류킨-10(IL-10), 및 인터페론-감마(IFN-γ)의 혈청 수준 측정을 위한 중앙 연구소 셋업에서 중규모 디스커버리(Meso Scale Discovery: MSD) U-PLEX 분석 플랫폼 및 MSD Meso Quickplex SQ 120 판독 기기(Meso Scale Diagnostics, 메릴랜드주 락빌 소재)를 사용하였다. CD5(항-인간 CD5, 클론 REA782 [PE-Vio770), CD45(항-인간 CD45, 클론 H130, V500, BD Biosciences #560777), CD34(항-인간 CD34, 클론 REA1164, VioBright 515, Miltenyl Biotech #130-120-517) 및 CD123(항-인간 CD123, 클론 9F5, AF647, BD Biosciences #563599) 항원과 반응성인 BD LSR II 유세포분석기 및 FACSDiva 소프트웨어 버전 8.0.2 플루오로크롬-표지 단클론성 항체를 이용하는 표준 유세포 분석에 의해 환자로부터의 동결보존 말초혈액 단핵 세포에 대해 면역표현법(Immunophenotyping)을 수행하였다.

[0462] 통계학적 분석

[0463] 임상 데이터의 분석을 위해 표준 통계학적 방법을 적용하였다. GraphPad Prism 9 통계 프로그램(GraphPad Software, LLC, 캘리포니아주 샌디에이고 소재)을 이용하는 Kaplan-Meier 방법에 의해 생존 데이터를 분석하였다. 환자 하위그룹 간의 차이를 비교하기 위해 Log-순위 통계를 사용하였다[29,30].

[0464] 결과

[0465] **환자 특징:** 중앙값 연령이 66세(평균 ± SE = 65±6세)인 3명의 남성 및 5명의 여성을 포함하는 8명의 환자는 7명이 백인이고 1명이 아프리카계 미국인이며, 1 내지 8가지 계통의 사전 AML 요법에 의해 R/R AML을 가졌다(**도 13A**). 4명의 남성 및 2명의 여성은 R/R MDS를 가졌다. 이들은 중앙값 연령이 75세(평균± SE = 75±2세)이고, 이들 중 5명이 백인이고 1명이 아시아인이며, 1 내지 3가지 계통의 사전 MDS 요법에 의한 R/R MDS를 가졌다(**도 13B**). 8명의 AML 환자 중에서, 4명(UPN01, UPN02, UPN04, UPN06)은 MDS-관련 특징을 갖는 AML을 가졌다 - 이러한 환자 중 1명(UPN04)은 또한 FLT3-ITD 유전자 돌연변이를 가졌고, 1명(UPN03)은 재발 유전자 이상을 갖는 AML을 가졌고, 2명은 유전자 돌연변이(UPN07, UPN08)를 갖는 AML을 가졌고, 1명은 AML-NOS(M0-AML)를 가졌다(**도 13A**). 모두 6명의 MDS 환자는 WHO 분류(MDS-EB-1 또는 MDS-EB-2)에 따라 과량의 아세포를 갖는 MDS를 가졌다. 이러한 환자 중 5명은 중간-1(IM-1) 또는 중간-2(IM-2) 위험 그룹과 일치되는 IPSS 예후 점수를 가졌고, 1명은 고위험 MDS를 가졌다(**도 13B**). 환자 특징 및 치료 결과 데이터를 **도 13A 내지 도 13B**에 나타낸다.

[0466] 분석한 14개의 사례 중 어느 것에서도 용량 제한 독성(DLT) 또는 등급 5 이상반응(AE)은 관찰되지 않았다. 8명의 AML 환자 중에서, 6명(UPN01, UPN02, UPN03, UPN04, UPN-7 및 UPN08)은 CRS를 갖지 않았고, 1명의 환자(UPN05)는 2일 지속되는 등급 1 CRS를 갖고, 1명의 환자(UPN06)는 2일간 지속되는 일시적 등급 2 CRS를 가졌다(**도 13A 내지 도 13B**). 2가지의 중증의 이상반응(SAE)이 있었다: 5일 이내 완전한 회복을 나타내는 C6D5에 대해 패혈증, 설사 및 구토가 진행된 UPN05의 경우 1명의 SAE가 보고되었다. UPN06의 등급 2 CRS는 또한 입원으로 인해 SAE로 보고되었지만, 제2일에만 지속되었고, 완전히 해소되었다(**도 13A 내지 도 13B**). 임의의 6명의 MDS 환자에 대해 SAE는 보고되지 않았다. 1명의 MDS 환자(UPN13)는 C2D1에 대해 1일간 지속되는 등급 1 CRS를 경험하였고, 다른 MDS 환자(UPN09)는 종양 용해 증후군(TLS), 빈혈, 혈소판 수 감소 및 고혈당증을 비롯한 일시적인 여러 등급 3 내지 4 AE를 경험하였다(**도 13A 내지 도 13B**).

[0467] **TRI130의 약력학 효과:** TRI130이 대리 약력학 바이오마커로서3종의 T-세포 유래 사이토카인(IFN-γ, IL-5 및 IL-10)의 혈청 수준을 측정함으로써 T-세포를 활성화시킬 수 있는지의 여부를 결정하기 위한 분석을 수행하였다: T-헬퍼 1 사이토카인: IFN-γ, IL-10; T-헬퍼 2 사이토카인: IL-5, IL-10; 효과기 T 세포 사이토카인: IL-10). IFN-γ 및 IL-10의 혈청 수준은 T-세포의 치료-유도 활성화와 일치되는 R/R AML 환자로부터의 치료 후 혈액 샘플(UPN01, UPN05 및 UPN06)에서 기준선 초과로 현저하게 상승되었다. 마찬가지로, IL-10 수준은 1명의 MDS 환자 UPN10으로부터의 치료 후 샘플에서 기준선을 초과하였다(그러나 MDS 환자 UPN09 또는 UPN13은 초

과하지 않음)(**도 14**).

[0468] 다음에, CD123+ 표적 아세포에 의해 반영되는 종양 부담에 대한 TRI130의 효과를 시험하기 위해 다중파라미터 유세포분석에 의한 면역표현법을 사용하였다. 정상 CD34+CD38- 조혈 줄기 세포와 달리, AML에서 추정 백혈병 줄기 세포(LSC) 집단은 CD123(19)를 발현시키는 것으로 보고되었다. 이러한 세포 중 대부분은 CD33 항원을 공동 발현시킨다(즉, 이들은 CD33+CD34+CD38-이다). 4명의 AML 환자 중 3명으로부터의 치료 후 혈액 샘플(UPN01, UPN03, UPN06)의 유세포분석은 감소된 수의 순환 CD123+CD34+CD38- 및 CD33+CD34+CD38- 추정 LSC 집단을 나타냈다(**도 15**). CD123+ LSC 집단 수의 최대 감소는 UPN01에서 76.1%(C6D1 샘플), UPN03에서 57.8%(C1D30 샘플) 및 UPN06에서 99.2%(C4D1 샘플)였다. **도 10**은 UPN06에서 TRI130 단일요법에 의한 CD123+CD34+CD38- 및 CD33+CD34+CD38- LSC 집단의 빠르고 현저한 고갈을 설명하는 다중-파라미터 유세포분석 시험으로부터의 다색 도트 프로파일을 도시한다. CD34+CD38- 세포의 사실상 모두는 AML과 일치되는 CD123+ 및 CD33+였다. 패널 A, 3번째 열에서 화살표로 표시한 이런 CD123+CD33+CD34+CD38- AML LSC 집단의 크기는 TRI130 단일요법에 의해 유의미하게 감소되었다. 이러한 3명의 AML 사례와 대조적으로, **도 15** 및 **도 11**은 4번째 AML 환자로부터의 CD34+CD38-CD123+ 세포인 UPN05가 TRI130 치료로 고갈되지 않았지만, 이들의 확장은 방지되었고, 이는 238일의 진행 시간으로 안정적 질환과 연관되어 있음을 설명한다. **도 15**에 나타낸 바와 같이, 2명의 MDS 환자의 치료 후 샘플에서 CD123+CD34+CD38- 및 CD33+CD34+CD38- 세포의 감소가 또한 관찰되었다.

[0469] 이러한 약력학 결과는 CD3xCD123 이중특이성 TRI130이 T-세포를 활성화시키고 MDS 및 AML이 있는 환자에서 표적화된 CD123+ 아세포의 고갈을 야기할 수 있다는 초기 개념 정의를 제공한다. 특히, 진행 시, UPN10에서 CD123+ 집단의 유의미한 확장이 있었고, 고갈되지 않은 UPN03의 세포는 CD123+였다. 이러한 결과는 TRI130의 항-백혈병 활성이 CD123+ AML/MDS 세포로 전용된 CD3-발현 T 세포 집단의 세포독성 T-세포(CTL) 활성에 의존하기 때문에, TRI130 단일요법 실패가 CD123 확장과 독립적으로 일어날 수 있다는 것을 설명한다.

[0470] **효능:** 8명의 R/R AML 환자 중에서, 2명의 환자(UPN2 및 UPN4)는 진행성 질환(PD)을 가졌고, 1명은 최적 전반적 반응(best overall response: BOR)으로서 안정적 질환(SD)/내성 질환(RES)(UPN3)을 가졌고, 75 내지 122일에 백혈병으로 사망하였다(**도 13A 내지 도 13B**). 3명의 환자(UPN01, UPN05 및 UPN06)는 장기간의 SD를 가졌다. 이들의 진행 시간은 106일 초과에서 238일까지의 범위였다. 최적 전체 반응으로서 SD를 갖는 3명의 AML 환자 중에서, 1명의 환자(UPN06; MDS 관련 특징을 갖는 AML)는 113일에 완전한 말초 아세포의 제거(치료 전 21%에서 주기 2에서 14%, 주기 3에서 2% 그리고 주기 4에서 0%까지) 그리고 치료 전 골수 아세포 백분율의 50% 초과의 감소(치료 전 78%에서 치료 후 37%까지), 이어서, 지속된 SD를 가졌다. 이러한 환자는 또한 TRI130에 의한 T-세포의 약력학 활성화(**도 14**) 및 표적 CD123+CD34+CD38- AML 세포의 고갈(**도 15**)의 증거를 가졌다. 29% 골수 아세포, 바람직하지 않은 세포유전학(del 5q 및 일염색체성 7) 및 TP53 돌연변이를 갖고, 질환에 대해 이전에 베네토클락스 + 데시타빈 요법을 진행한 MDS-관련 특징을 갖는 다른 AML 환자(UPN01)는 제31일에 PR을 달성하였고, BOR(최적 전반적 반응)로서 완전한 혈액학적 회복과 함께 TRI130 단일요법 후 92일에 CR을 달성하였다. 이러한 환자는 또한 TRI130에 의한 T-세포의 약력학 활성화(**도 14**) 및 표적 CD123+CD34+CD38- 아세포의 고갈(**도 15**)의 증거를 가졌다. 이러한 환자에서 SD, 말초 혈액 아세포 계수 제거(PBBC-C), PR 또는 CR의 개시 및 지속기간은 **도 12**에 도시되는 스위머 플롯으로 도시한다.

[0471] 마찬가지로, 3명의 MDS 환자는 SD(50%)를 가졌고, 3명의 추가 MDS 환자(50%)는 0.1mcg/kg 내지 0.8mcg/kg 범위의 용량 수준에서 골수 CR을 가졌다(**도 13A 내지 도 13B**). 치료 후 샘플이 T 세포의 활성화를 나타낸 1명의 환자(코호트 9로부터의 UPN10)(**도 14**)는 15% 골수 세포질과 함께 8.2%의 치료 전 BM 및 20% 세포질과 함께 2% 아세포를 나타내는 C2D1 치료 후 BM을 가졌다. 다른 환자(코호트 7로부터의 2000003)는 20 내지 30% 세포질과 함께 11.3%의 기준선 BM 아세포 및 50% 세포질과 함께 0%의 C2D1 치료 후 BM 아세포 백분율을 가졌다. 3번째 환자(코호트 6A로부터의 2190001)는 10% 세포질과 함께 7.5%의 치료 전 BM 아세포 백분율 및 20% 세포질과 함께 2.4%의 C2D1 치료 후 BM 아세포 백분율을 가졌다(**도 13A 내지 도 13B**). 이러한 MDS 환자에서의 골수 CR의 발병 및 진행 시간은 **도 12**에 도시하는 스위머 플롯으로 도시한다. ASXL-1 돌연변이를 갖는 1명의 MDS 환자, 즉, 코호트 4의 UPN09는 골수에서 골수아세포의 백분율 감소를 나타냈지만, 이는 주기 10 근처에서 절대 단핵구 수가 17,600/㎕인 고위험 만성 골수단핵구 백혈병-골수증식성 신생물(CMMN-MPN)로 사례가 전환되는 부분이었다(**도 13A 내지 도 13B**).

[0472] **요약**: 본 명세서에 제시된 데이터는 TRI130이 혈청 Th1/Th2 사이토카인 IL-10의 현저한 상승에 의해 입증되는 바와 같이 R/R AML 및 MDS 환자에서 T 세포를 활성화시켰고, 순환 CD123+CD34+ 및 CD33+CD34+ 말초 아세포 수를 감소시켰다는 것을 나타낸다. 장기간 안정적 질환(SD)을 갖는 3명의 환자 및 완전 관해(CR)를 갖는 1명의 환자를 포함하는 4명의 R/R AML 환자(50%)에서 0.1㎍/kg에서 0.7㎍/kg 범위의 용량 수준에서 단일 제제 활성이 관

찰되었다. 마찬가지로, 3명의 MDS 환자는 SD(50%)를 가졌고, 3명의 추가 MDS 환자(50%)는 0.1㎍/kg에서 0.8㎍/kg 범위의 용량 수준에서 골수 CR을 가졌다. 이러한 데이터는 TRI130의 생체내 면역조절 및 항백혈병 활성을 뒷받침하는 개념 증명을 제공한다.

[0473] 이 분석은 또한 R/R AML 및 MDS 환자에서 최근에 완료된 1B상 연구로부터의 1차 데이터를 이용해서 TRI130의 작용 메커니즘을 뒷받침하는 임상 개념 증명을 제공한다[28]. 이러한 결과는 1B상 연구의 확장 상의 현재 누적되는 코호트 2의 설계에 영향을 미쳤다(NCT03647800). 이러한 데이터는 AML의 경우 베네토클락스에 HMA를 더한 것 또는 MDS의 경우 HMA 단독에 의한 사전 치료에 실패한 환자에서의 TRI130(매주 IV 주입으로 주어짐)의 유망한 초기 단일 제제 활성 및 면역조절 효과를 입증한다. 단일 제제 TRI130이 용량-제한 골수억제와 연관되지 않았지만, 베네토클락스에 아자시티딘 골격을 더한 것과 조합한 TRI130의 내약성 및 효능은 75세 이상인 새로 진단된 AML 환자 또는 60세 이상이며 집중 화학요법 또는 HSCT에 부적합한 환자에서의 IB상 연구에서 공식적으로 평가할 것이다(Clinicaltial.gov identifier: NCT04973618). TLS 및 사이토카인 방출 증후군(CRS)의 위험을 완화시키기 위해 베네토클락스에 아자시티딘을 더한 것의 2주 도입부 상이 있을 것이다. TRI130의 첨가가 베네토클락스에 내성이 있는 잔여 CD123+ 아세포뿐만 아니라 백혈병 줄기 세포를 근절하여, 더 많은 지속 가능한 반응을 야기한다는 가설을 세운다.

[0474] 노인이거나(>=75) 또는 강력한 화학요법을 투여받는 것에 부적합한 AML을 갖는 요법-미경험 환자는 HMA 단독에 비해 베네토클락스 및 HMA로 처리될 때 개선된 생존을 갖고[7,31], 미국식품의약국(Food and Drug Administration: FDA)은 이 집단에 대해 HMA와 병용하여 승인된 베네토클락스를 갖는다[15]. 그러나, 최근의 간행물에서 강조되는 바와 같이 베네토클락스의 사용을 수반하는 임상 경험이 증가함에 따라, 베네토클락스-기반 요법의 여러 문제 및 제한이 나타났다[13, 32].

[0475] 요법-미경험 노인/부적합 AML 환자에서의 베네토클락스-유도 관해는 베네토클락스 및 HMA의 조합된 사용 후조차 12개월 미만(중앙값)으로 단기간 지속된다. 더 나아가, 2차 AML을 갖는 환자뿐만 아니라 HMA로 이전에 치료한 AML 환자는 실질적으로 더 불량한 CR 비율 및 6개월 미만의 전체 생존 시간과 함께 베네토클락스-기반 치료 요법에 덜 반응성이다[13]. 마찬가지로, 유해 위험 범주의 일부 AML 환자 집단, 예컨대, TP53 돌연변이 및 RTK 돌연변이를 갖는 환자는 내재하는 베네토클락스-내성을 나타낼 수 있다[13]. 요법-미경험 AML 환자에서의 이의 주목할 만한 활성과 달리, 베네토클락스는 재발 AML 환자에서 매우 유효하지 않다. 보고된 전체 반응 비율은 HMA, LDAC, 또는 다른 제제, 예컨대, 클라드리빈 또는 미도스타우린과 병용하여 베네토클락스로 치료되는 재발 또는 난치성 AML 환자에 대해 단지 21%였다[33]. 따라서, 노인 AML 환자에 대한 베네토클락스-기반 치료 요법의 임상 효능과 잠재적으로 조합되고 개선시킬 수 있는 신규한 제제가 긴급히 필요하다.

[0476] 참고문헌

1. Ferrara, F.; Lessi, F.; Vitagliano, O.; Birkenghi, E.; Rossi, G. Cancers (Basel). 2019; 11(2). pii: E224. doi: 10.3390/cancers11020224.

2. DiNardo CD, Wei AH. Blood (2020) 135(2):85–96. 10.1182/blood.2019001239.

3. Blum WG, Mims AS. Cancer 2020; 126(21): 4668-4677. https://doi.org/10.1002/cncr.32904.

4. Short, N.J., Konopleva, M., Kadia, T.M., Borthakur, G., Ravandi, F., DiNardo, C.D., Daver, N. Cancer Discov. 2020;10(4):506-525. doi: 10.1158/2159-8290.CD-19-1011.

5. Daver, N., Wei, A.H., Pollyea, D.A, Fath,i A.T., Vyas, P., DiNardo, C.D. Blood Cancer J 2020; 10:107. 10.1038/s41408-020-00376-1.

6. Dohner, H.; Estey, E.; Grimwade, D.; Amadori, S.; Appelbaum, F.R.; Buchner, T.; Dombret, H.; Ebert, B.L.; Fenaux, P.; Larson, R.A.; Levine, R.L.; Lo-Coco, F.; Naoe, T.; Niederwieser, D.; Ossenkoppele, G.J.; Sanz, M.; Sierra, J.; Tallman, M.S.; Tien, H.F.; Wei, A.H.; Lowenberg, B.; Bloomfield, C.D. Blood 2017, 129, 424–447.

7. DiNardo, C.D.; Pratz, K.; Pullarkat, V.; Jonas, B.A.; Arellano, M.; Becker, P.S.; Frankfurt, O.; Konopleva, M.; Wei, A.H.; Kantarjian, H.M.; et al. Blood. 2019, 133, 7–17. doi: 10.1182/blood-2018-08-868752.

8. Othman TA, Azenkot T, Moskoff BN, Tenold ME, Jonas BA. Future Oncol. 2021 May 24. doi: 10.2217/fon-2021-0262.

9. DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat V, Thirman MJ, Garcia JS, Wei AH, et al. *New Engl J Med* (2020) 383(7):617–29. 10.1056/NEJMoa2012971.

10. Mims, A.S.; Blum, W. Curr Opin Hematol. 2019; 26(2), 88-95. doi: 10.1097/MOH.0000000000000490.

11. Schlenk, R.F.; Muller-Tidow, C.; Benner, A. Curr Opin Oncol 2017, 29, 467–473.

12. Kapoor, I., Bodo, J., Hill, B.T. et al. Cell Death Dis 11, 941 (2020). https://doi.org/10.1038/s41419-020- 03144-y.

13. Pollyea, D.A., Stevens, B.M., Jones, C.L., Winters, A., Pei, S., Minhajuddin, M., D'Alessandro, A., Culp-Hill, R., Riemondy, K.A., Gillen, A.E., et al. (2018). Nat. Med. https://doi.org/10. 1038/s41591-018-0233-1.

14. Lagadinou ED, Sach A, Callahan K, Rossi RM, Neering SJ, Minhajuddin M, Ashton JM, Pei S, Grose V, O'Dwyer KM, Liesveld JL, Brookes PS, Becker MW, Jordan CT. Cell Stem Cell. 2013 Mar 7;12(3):329-41. doi: 10.1016/j.stem.2012.12.013. Epub 2013 Jan 17.

15. Jones CL, Stevens BM, D'Alessandro A, Reisz JA, Culp-Hill R, Nemkov T, Pei S, Khan N, Adane B, Ye H, Krug A, Reinhold D, Smith C, DeGregori J, Pollyea DA,

[0477]

Jordan CT. Cancer Cell. 2018 Nov 12;34(5):724-740.e4. doi: 10.1016/j.ccell.2018.10.005. Erratum in: Cancer Cell. 2019 Feb 11;35(2):333-335.

16. Testa, U., Riccion,i R., Coccia, E., Stellacci, E., Samoggia, P., Latagliata, R., Latagliata, R., Mariani, G., Rossini, A., Battistini, A., Lo-Coco, F., Peschle, C. Blood 2002; 100(8):2980–2988.

17. Hwang, K., Park, C.J., Jang, S., Chi, H.S., Kim, D.Y., Lee, J.H., Im, H.J., Seo, J.J. Ann Hematol 2012; 91(10):1541–1546.

18. Jin, L., Lee, E.M., Ramshaw, H.S., Busfiled, S.J., Peoppl, A.G., Wilkinson, L., Wilkinson, L., Guthridge, M.A., Thomas, D., Barry, E.F., Boyd, A., Gearing, D.P, Vairo, G., Lopez, A.F., Dick, J.E., Lock, R.B. Cell Stem Cell 2009; 5(1):31–42.

19. Al-Mawali A, Pinto AD, Al-Zadjali S. Acta Haematol. 2017;138(3):175-181. doi: 10.1159/000480448.

20. Vergez F, Green AS, Tamburini J, et al. *Haematologica*. 2011;96(12):1792-1798.

21. AL Hussaini MH, Ritchey J, Rettig MP, Eissenberg L, Uy GL, Chichili G, et al. Blood (2013) 122:360–0. 10.1182/blood.V122.21.360.360.

22. Uy GL, Aldoss I, Foster MC, Sayre PH, Wieduwilt MJ, Advani AS, et al. Blood (2021) 137(6):751–62. 10.1182/blood.2020007732.

23. Daver N, Alotaibi AS, Bucklein V, Subklewe M. Leukemia. 2021 May 5. doi:10.1038/s41375-021-01253-x.

24. Isidori A, Cerchione C, Daver N, DiNardo C, Garcia-Manero G, Konopleva M, Jabbour E, Ravandi F, Kadia T, Burguera AF, Romano A, Loscocco F, Visani G, Martinelli G, Kantarjian H, Curti A. Front Oncol. 2021 May 10;11:656218. doi: 10.3389/fonc.2021.656218.

25. Comeau, M.R.; Gottschalk, R.; Daugherty, M.; Sewell, T.; Sewell, T.; Misher, L.; Bannink, J.; Johnson, S.; Parr, L.; Kumer, J.; Jablonski,D.; DeFrancesco, M.; Bienvenue, D.; Hoyos, G.H.; McMahan, C.J.; Gross, J.A. [abstract]. In: Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2019; 2019 Mar 29-Apr 3; Atlanta, GA. Philadelphia (PA): AACR; Cancer Res 2019;79(13 Suppl):Abstract nr LB-199.

26. Comeau, M.R.; Miller, R.E.; Bannink, J.; Johnson, S.; Bader, R.; Gottschalk, R.; Misher, L.; Mitchell, D.; Parr, L.; DeFrancesco, M.; Bienvenue, D.; McMahan, C.J.; Hoyos, G.H.; Gross, J.A. [abstract]. In: Proceedings of the AACR-NCI-EORTC International Conference: Molecular Targets and Cancer Therapeutics; 2017 Oct 26-30; Philadelphia, PA. Philadelphia (PA): AACR; Mol Cancer Ther 2018;17(1 Suppl):Abstract nr B111.

27. Comeau, M.R.; Miller, R.E.; Bannink, J.; Johnson, S.; Bader, R.; Gottschalk, R.; Daugherty, M.; Sewell, T.; Misher, L.; Mitchell, D.; Parr, L.; DeFrancesco, M.; Bienvenue, D.; McMahan, C.J.; Hoyos, G.H.; Gross, J.A. [abstract]. In: Proceedings

[0478]

of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2018; 2018 Apr 14-18; Chicago, IL. Philadelphia (PA): AACR; Cancer Res 2018;78(13 Suppl):Abstract nr 1786.

28. Uckun, F.M.; Lin, T.L.; Mims, A.; Patel, P.; Lee, C.; Shahidzadeh, A.; Shami, P.; Cull, E.; Cogle, C.R.; Watts, J. *Cancers* **2021**, *13*, Aug 15;13(16):4113. doi: 10.3390/cancers13164113.

29. Uckun FM, Cogle CR, Lin TL, Qazi S, Trieu VN, Schiller G, Watts JM. Cancers (Basel). 2019 Dec 26;12(1):74. doi: 10.3390/cancers12010074.

30. Uckun FM, Qazi S, Hwang L, Trieu VN. Cancers (Basel). 2019 Nov 28;11(12):1892. doi: 10.3390/cancers11121892.

31. DiNardo CD, Pratz KW, Letai A, et al. *Lancet Oncol*. 2018;19(2):216-228

32. Feld, J., Tremblay, D., Dougherty, M., Czaplinska, T., Sanchez, G., Brady, C., Kremyanskaya, M., Bar-Natan, M., Keyzner, A., Marcellino, B. K., Gabrilove, J., Navada, S. C., Silverman, L. R., El Jamal, S. M., Mascarenhas, J., & Shih, A. H. (2021). *HemaSphere*, *5*(4), e549. https://doi.org/10.1097/HS9.0000000000000549.

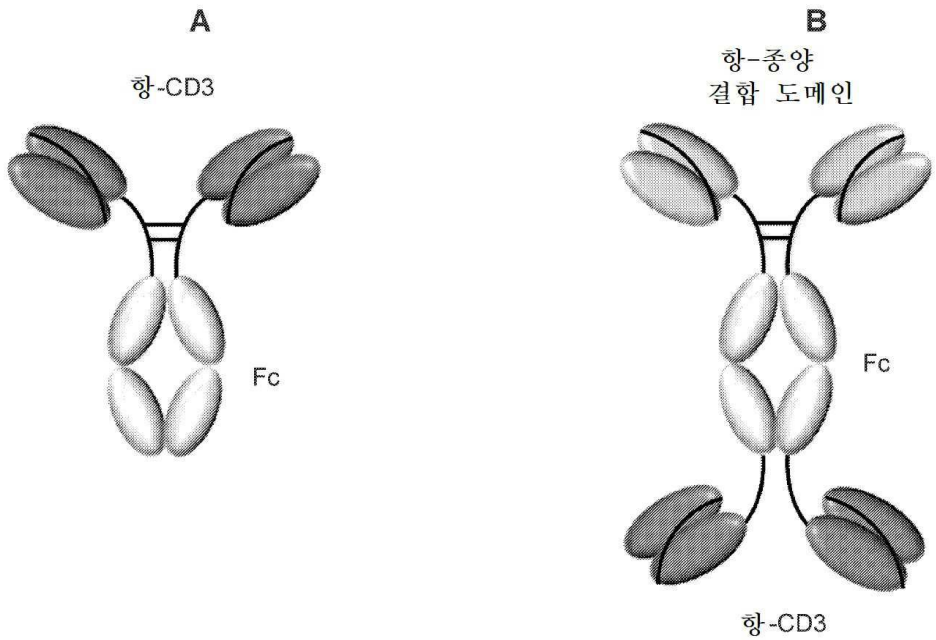
33. DiNardo CD, Rausch CR, Benton C, et al. *Am J Hematol*. 2018;93(3):401-407.

34. Lee JB, Khan DH, Hurren R, Xu M, Na Y, Kang H, Mirali S, Wang X, Gronda M, Jitkova Y, MacLean N, Arruda A, Alaniz Z, Konopleva MY, Andreeff M, Minden MD, Zhang L, Schimmer AD. Blood. 2021 Jul 22;138(3):234-245. doi: 10.1182/blood.2020009081.

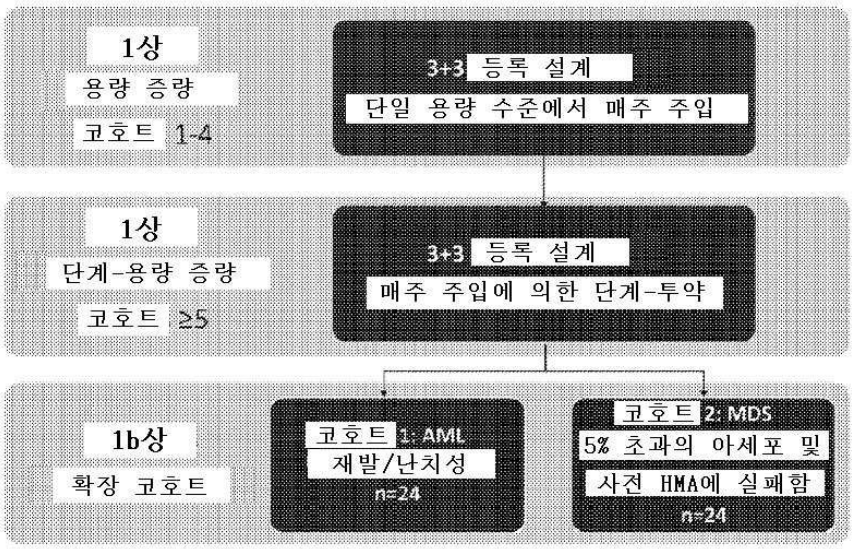
[0479]

## 도면

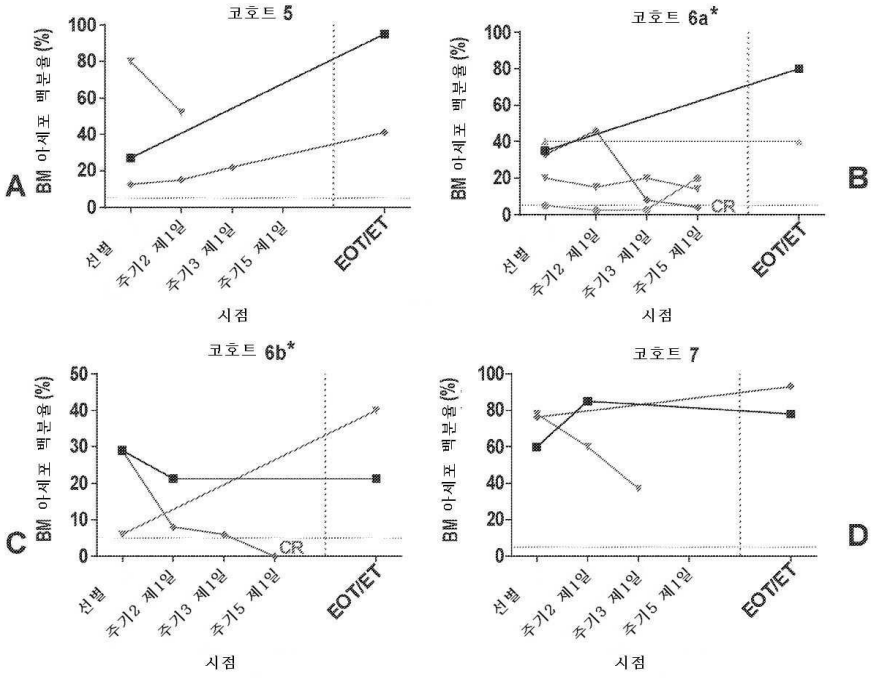
### 도면1



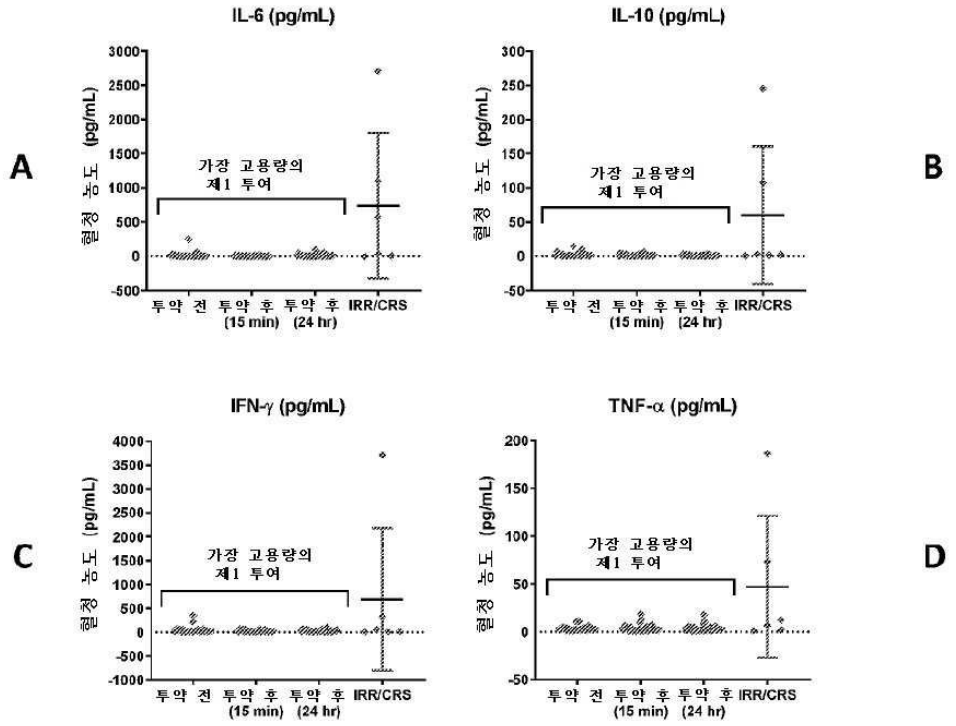
도면2


1상
용량 증량
코호트 1-4
3+3 등록 설계
단일 용량 수준에서 매주 주입
1상
단계-용량 증량
코호트 ≥5
3+3 등록 설계
매주 주입에 의한 단계-투약
1b상
확장 코호트
코호트 1: AML
재발/난치성
n=24
코호트 2: MDS
5% 초과의 아세포 및
사전 HMA에 실패함
n=24

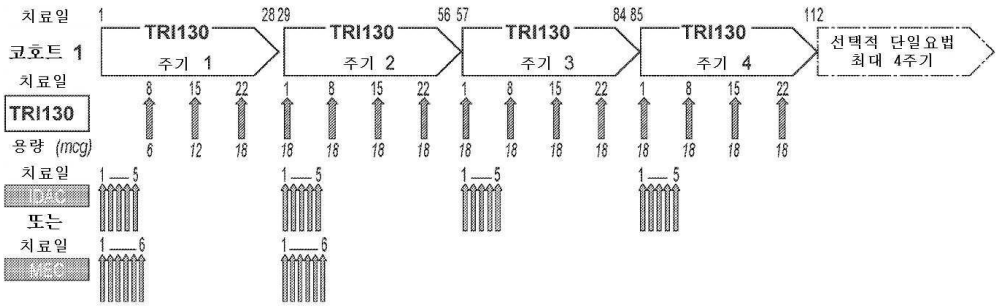
도면3


A
코호트 5
BM 아세포 백분율 (%)
시점
신별
주기2 제1일
주기3 제1일
주기5 제1일
EOT/ET
B
코호트 6a*
CR
C
코호트 6b*
D
코호트 7

도면4

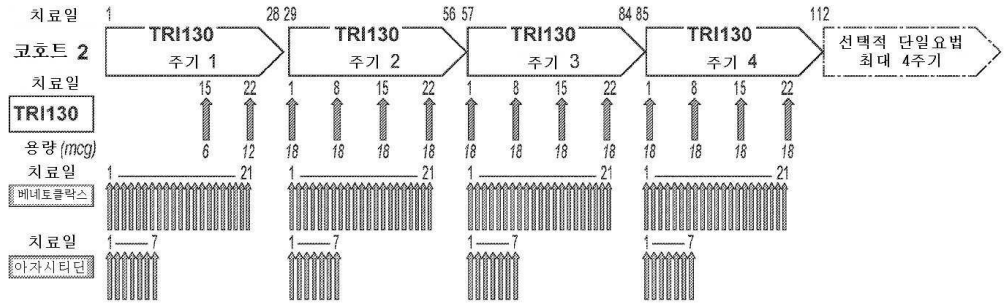

A
IL-6 (pg/mL)
혈청 농도 (pg/mL)
가장 고용량의
제1 투여
투약 전
투약 후 (15 min)
투약 후 (24 hr)
IRR/CRS
B
IL-10 (pg/mL)
혈청 농도 (pg/mL)
가장 고용량의
제1 투여
투약 전
투약 후 (15 min)
투약 후 (24 hr)
IRR/CRS
C
IFN-γ (pg/mL)
혈청 농도 (pg/mL)
가장 고용량의
제1 투여
투약 전
투약 후 (15 min)
투약 후 (24 hr)
IRR/CRS
D
TNF-α (pg/mL)
혈청 농도 (pg/mL)
가장 고용량의
제1 투여
투약 전
투약 후 (15 min)
투약 후 (24 hr)
IRR/CRS

도면5a


치료일
코호트 1
치료일
TRI130
용량 (mcg)
치료일
또는
치료일
TRI130
주기 1
주기 2
주기 3
주기 4
선택적 단일요법
최대 4주기

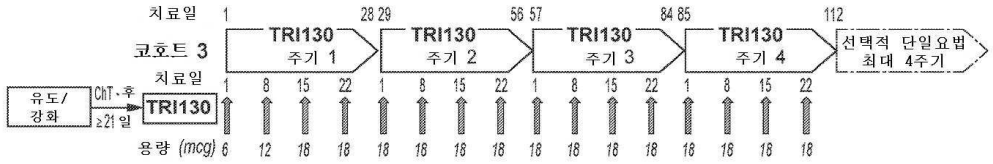
A

도면5b



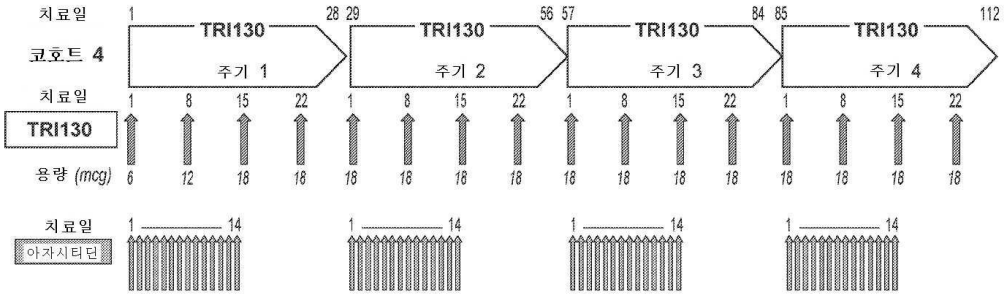

B

도면5c



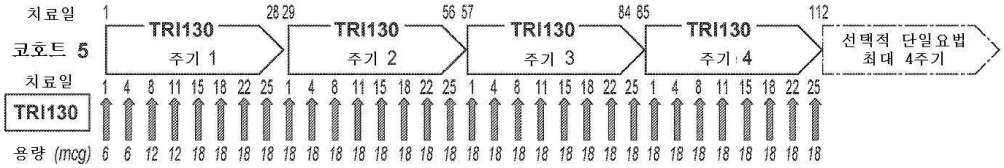

C

도면5d



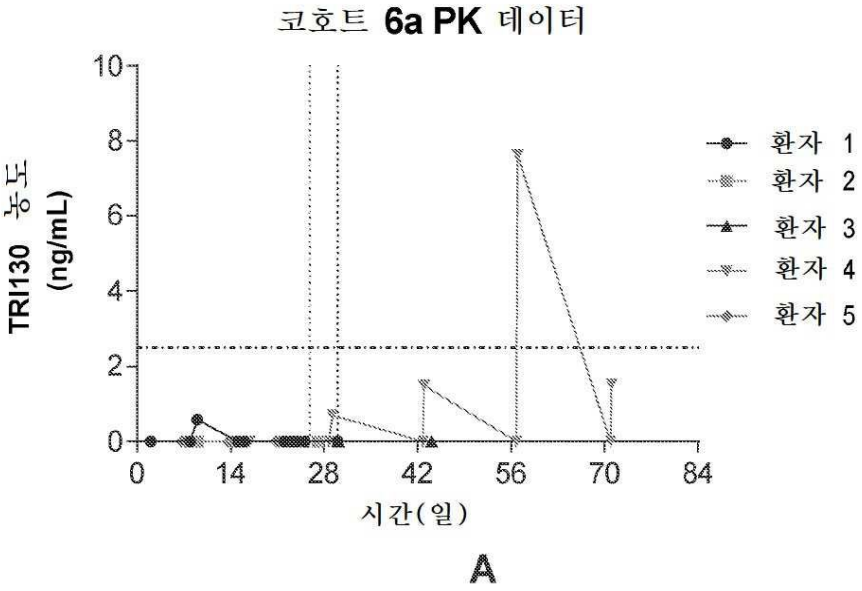

D

도면5e

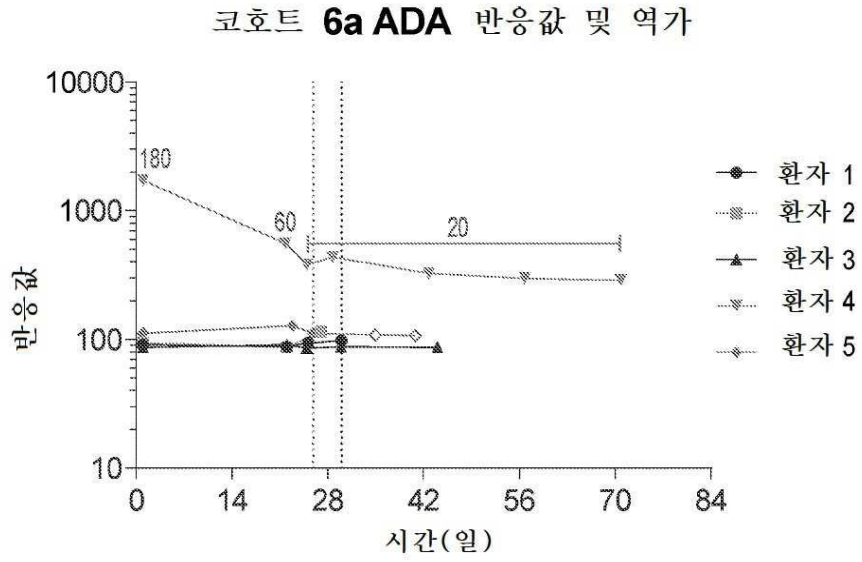



E

도면6

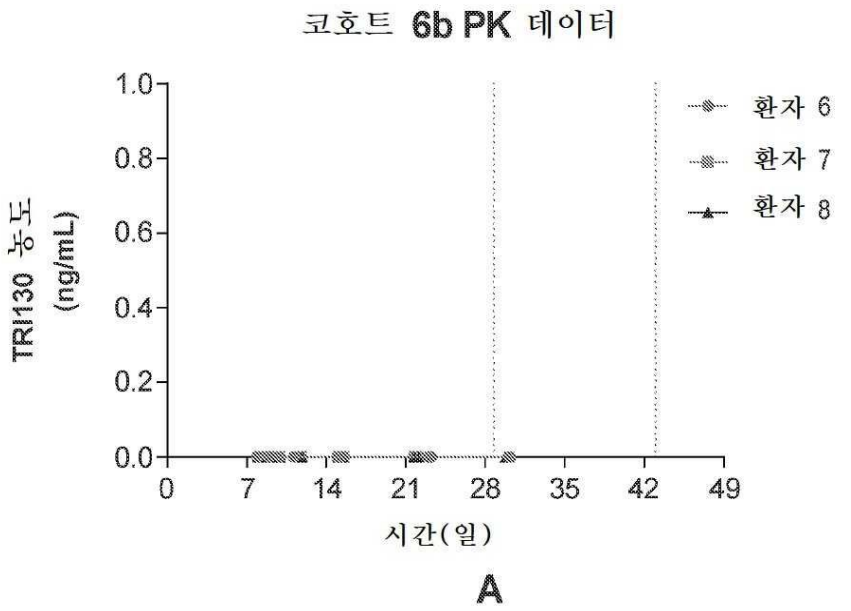

코호트 6a PK 데이터
TRI130 농도 (ng/mL)
10
8
6
4
2
0
0
14
28
42
56
70
84
시간(일)
환자 1
환자 2
환자 3
환자 4
환자 5

A

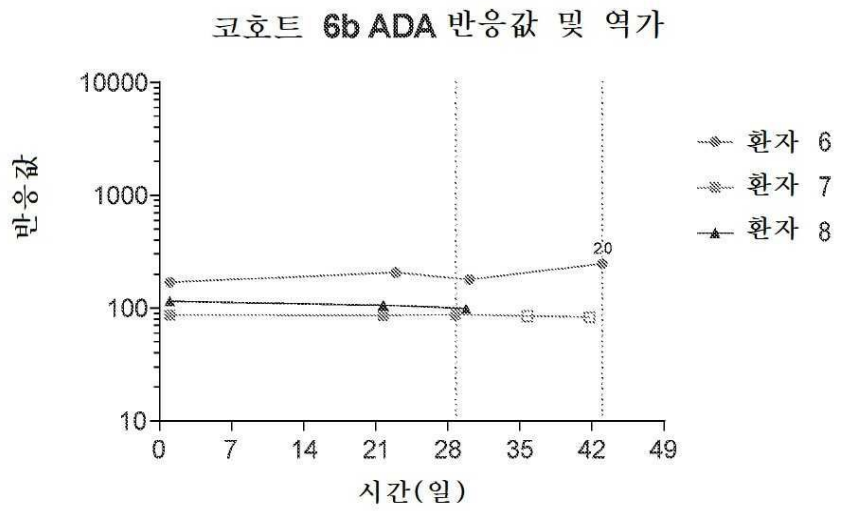

코호트 6a ADA 반응값 및 역가
반응값
10000
1000
100
10
180
60
20
0
14
28
42
56
70
84
시간(일)
환자 1
환자 2
환자 3
환자 4
환자 5

B

도면7

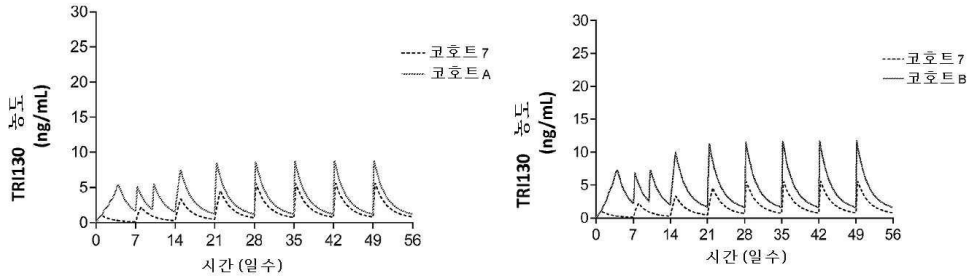

코호트 6b PK 데이터
TRI130 농도 (ng/mL)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
7
14
21
28
35
42
49
시간(일)
환자 6
환자 7
환자 8

A


코호트 6b ADA 반응값 및 역가
반응값
10000
1000
100
10
0
7
14
21
28
35
42
49
시간(일)
20
환자 6
환자 7
환자 8

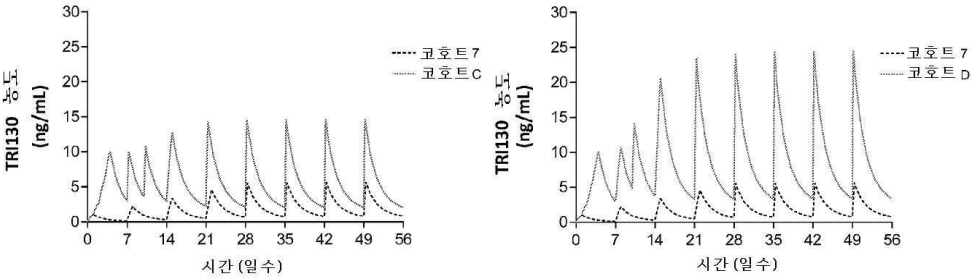
B

도면8ab



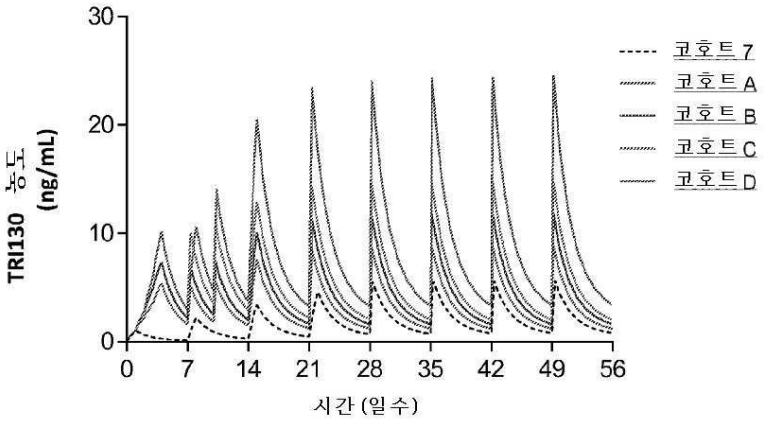

A B

도면8cd




C D

도면8e




E

도면9

A

| 파라미터 | 코호트 7 | 코호트 A | 코호트 B | 코호트 C | 코호트 D |
|---|---|---|---|---|---|
| Cmax (ng/mL) | 5.7 | 8.8 | 11.8 | 14.7 | 24.5 |
| Tmax (일수) | 49.3 | 49.2 | 49.2 | 49.2 | 49.2 |
| Cmin* (ng/mL) | 0.80 | 1.22 | 1.62 | 2.04 | 3.37 |
| AUC** (ng*일 /mL) | 92.7 | 179.4 | 239.2 | 308.5 | 466.3 |

*Cmin: Cmax 전 최저 농도

** D1 내지 D56에 대해 계산함(주기 2 내내)

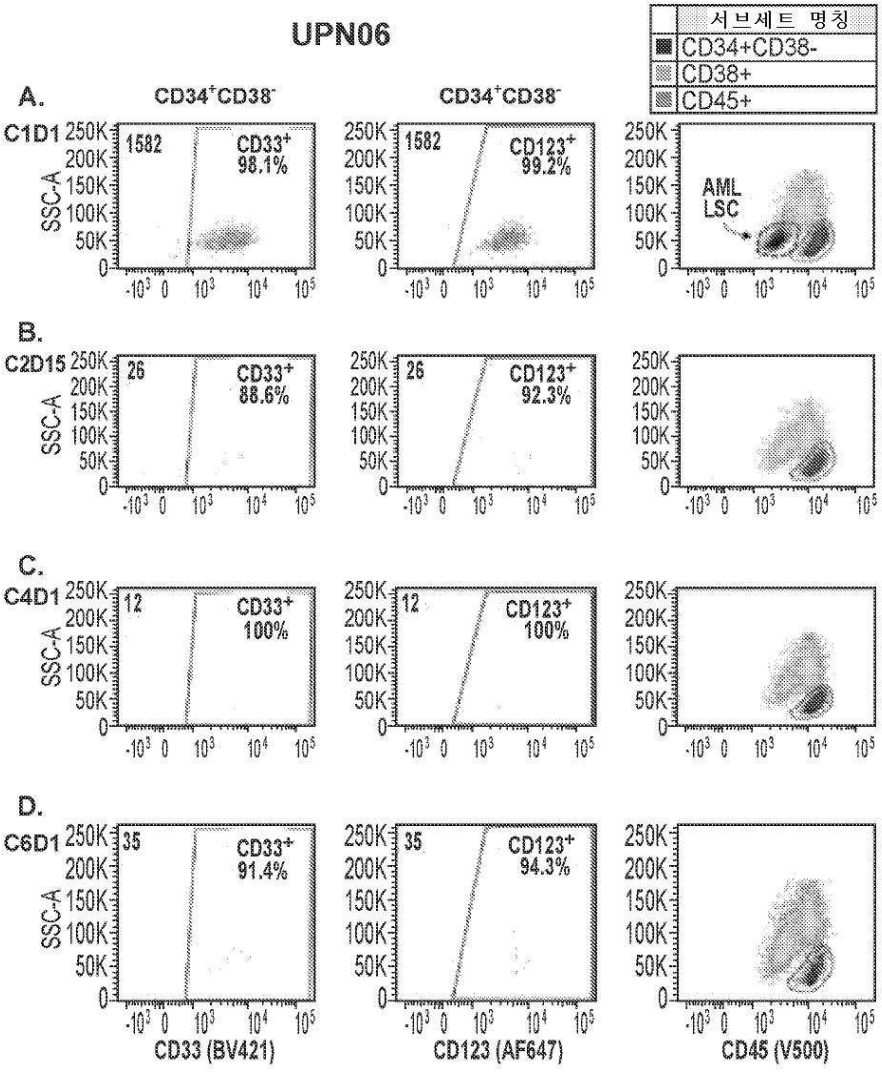
B

| 코호트 | Cmax:Cmax 에서의 Cmin* | ACU:Cmax | 주기 1에서 가장 높은 Cmax:Cmin | |
|---|---|---|---|---|
| | | | 용량 | 용량 Cmax:Cmin* |
| 코호트 7 | 7.07 | 16.3 | C1D22 | 9.54 |
| 코호트 A | 7.26 | 20.4 | C1D22 | 6.76 |
| 코호트 B | 7.26 | 20.3 | C1D22 | 6.75 |
| 코호트 C | 7.23 | 21.0 | C1D22 | 6.42 |
| 코호트 D | 7.29 | 19.0 | C1D22 | 7.18 |

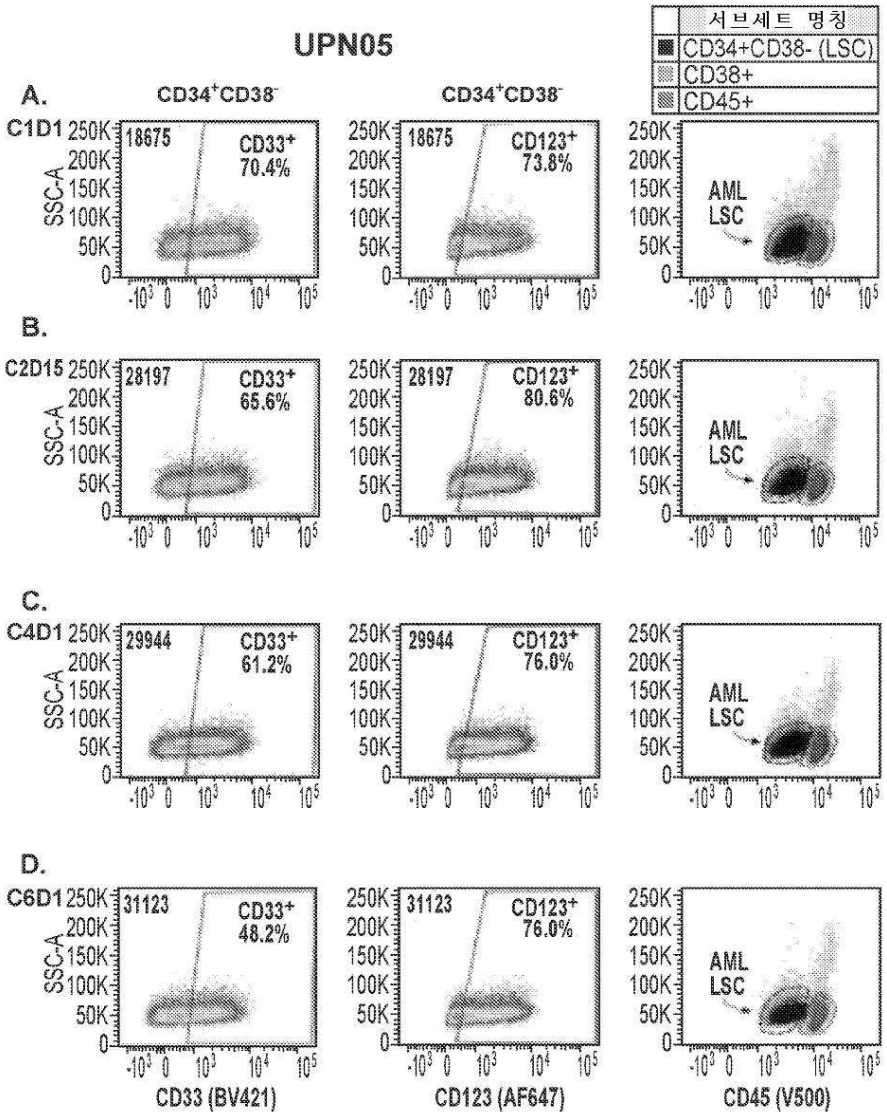
*Cmin: C1 Cmax 전 C1 Cmin

54

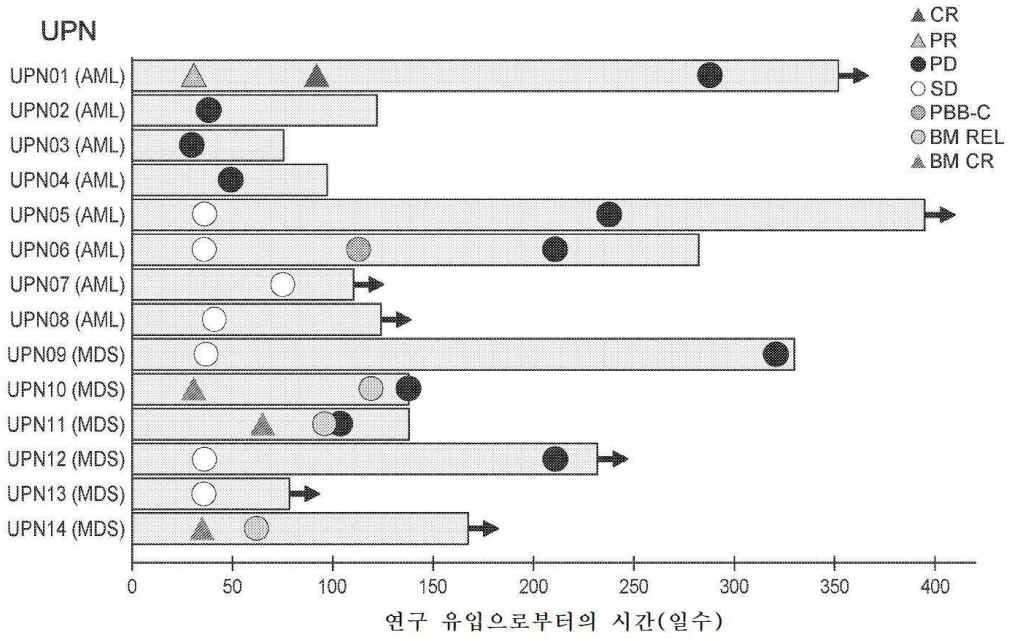
도면10



도면11


UPN05
서브세트 명칭
CD34+CD38- (LSC)
CD38+
CD45+
A.
B.
C.
D.
CD34+CD38-
CD34+CD38-
C1D1
C2D15
C4D1
C6D1
SSC-A
18675
CD33+ 70.4%
CD123+ 73.8%
28197
CD33+ 65.6%
CD123+ 80.6%
29944
CD33+ 61.2%
CD123+ 76.8%
31123
CD33+ 48.2%
CD123+ 76.0%
AML LSC
CD33 (BV421)
CD123 (AF647)
CD45 (V500)

도면12




도면13a

A

| 환자 ID | 코호트 | TRI130 용량 (μg/kg) | TRI130 용량 (고른 용량, μg/주) | 연령/성별/인종 | WHO 분류 | 이전의 요법 (번호: 베네토클락스 및/또는 HMA) | 골수 관여: 골수아세포 빈분율 | 골수 관여: 핵형/돌연변이 | 치료 결과: CRS (등급) | 치료 결과: 등급 3-5 AE | 치료 결과: SAE | 치료 결과: 신경독성 | 치료 결과: DLT | 치료 결과: 최적 전체 반응 | 치료 결과: 진행시간(일수) | 치료 결과: 사망 또는 임원 캐지의 시간 | 치료 결과: 마지막 PI에서의 생존 상태 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| UPN01 | 6B | 0.1 | 12 | 76/M/C | MDS-rf를 수반한 AML | 1;베네토클락스+데시타빈 | 29 | 7,del(5q)/TP53 NF1 | 없음 | 없음 | 없음 | 불면증 (G1), C1D11, 18d | 없음 | CR | 288 | >352 | A |
| UPN02 | 6B | 0.2 | 12 | 58/F/C | MDS-rf를 수반한 AML | 2; 베네토클락스+데시타빈 | 6 | 7,del(5q),del(17p) /TP53 | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | PD | 38 | 122 | D |
| UPN03 | 6A | 0.2 | 18 | 65/F/C | 재발 유전자 이상을 수반한 AML | 4;베네토클락스+AZA | 40 | inv(16)/ND | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | SD/RES | NA | 75 | D |
| UPN04 | 6B | 0.3 | 12 | 40/F/C | MDS-rf+유전자 돌연변이를 수반한 AML | 8;베네토클락스+데시타빈 | 29 | t(1;15),t(5;10) 11q23/FLT3-ITD | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | PD | 49 | 97 | D |
| UPN05 | 6A | 0.4 | 18 | 73/F/C | AML-NOS/M0 | 2; 베네토클락스+AZA | 15 | 46, XX, del(20)(q11.2q13.1)/ND | C6D17 (G1,2d) | 패혈증(3), 설사 (3), 구토 (3) (C6D15, 5d) | 패혈증(3), 설사 (3), 구토 (3) (C6D15, 5d) | 어지럼증 (1) 무기력증(1), C8D15-22 | 없음 | SD | 288 | >395 | A |
| UPN06 | 7 | 0.4 | 24 | 78/F/C | MDS-rf를 수반한 AML | 4; AZA | 78 | 46,XX/없음 | C5D1 (G2,2d) | 착란 (G3,C1D1,1d) 없음 | C5D1 (G2 CRS,2d) | 착란 (G3,C1D1,1d) | | SD+ PBBC-C+ >50% BLR-BM | 211 | 282 | D |
| UPN07 | 10 | 0.7 | 60 | 47/M/B | 돌연변이된 RUNX1을 수반한 AML | 3;데시타빈 | 4 | t(2;15)/ NF1,RUNX1, GATA2,IKZF1 | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | | SD | >106 | >110 | A |
| UPN08 | 10 | 0.7 | 60 | 82/M/C | 유전자 돌연변이를 수반한 AML | 2;베네토클락스+AZA | 50 | -Y/FLT3-ITD | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | SD/RES | >117 | >124 | A |

도면13b

B

| 환자 ID[ss] | 코호트 | APVO 436 용량 (mcg/kg) | APVO 436 용량 (mcg/주) | 연령/성별/인종 | WHO 분류 | IPSS 진행 점수 (위험 그룹) | 핵형 | 이전의 요법 (번호: : HMA 또는 베네토클락스 + HMA) | 치료 결과 | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | CRS (등급) | 등급 3-5 AE | SAE | 신경독성 | DLT | 골수아세포 전 백분율 | 골수아세포 후 백분율 | 최적 전체 반응 | 진행 시간 (일수) | 사망 또는 호스피스까지의 시간 (일수) | 마지막 FU에서의 생존 상태 |
| UPN09 | 4 | 0.1 | 9 | 77/F/C | MDS-EB-1 | 1.5(IM-2) | 중간 | 1: 데시타빈 | 없음 | >3* | 없음 | 없음 | 없음 | 8 | 4(C10D22) | SD | 321 | 330 | D |
| UPN10 | 6A | 0.2 | 18 | 80/M/C | MDS-EB-1 | 1.0(IM-1) | 양호 | 1: AZA | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 7.5 | 2.4(C2D1) | 골수 CR - SD | 138 | 138 | D |
| UPN11 | 7 | 0.3 | 24 | 75/M/C | MDS-EB-2 | 2.5(High) | 중간 | 3: 데시타빈 | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 11.3 | 0(C2D1) | 골수 CR - SD | 104 | 138 | D |
| UPN12 | 9 | 0.4 | 48 | 75/M/C | MDS-EB-1 | 0.5(IM-1) | 양호 | 1: AZA | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 8.2 | 2(C2D1) | 골수 CR - SD | 147 | >167 | A |
| UPN13 | 8 | 0.5 | 36 | 69/M/A | MDS-EB-1 | 2.0(IM-2) | 불량 | 2:베네토클락스 AZA | C2D1 (G1) | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 5 | 5(C2D1) | SD | 211 | >232 | A |
| UPN14 | 10 | 0.8 | 60 | 74/F/C | MDS-EB-1 | 1.5(IM-2) | 중간 | 1: AZA | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 없음 | 6 | 6(C3D1) | SD | >78 | >78 | A |

도면14

| UPN | 임상 반응 | IFN-γ (pg/mL) | | IL-5 (pg/mL) | | IL-10 (pg/mL) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 용량 전 | C2D1 후 | 용량 전 | Post C2D1 | 용량 전 | C2D1 후 |
| UPN01(AML) | PR—CR | 16.7 (0.4) | 34.7** (1.3)-E<br>10.0 (1.9)-L | 0.4 (0.08) | 0.6 (0.1)-E<br>0.2 (0.05)L | 0.2 (0.04) | 0.3 (0.05)-E<br>9.2* (0.3)-L |
| UPN05(AML) | SD | 5.0 (0.7) | 9.0 (2.6)-E<br>9.7** (1.3)-L | - | - | 0.4 (0.08) | 0.4 (0.01)-E<br>3.3* = 0.2-L |
| UPN06(AML) | PBBC-C | 2.9 (-) | 3.5 (0.5) | 5.4 (0.2) | 10.4*** (4.3)-E<br>7.5 (0.2)-L | 0.7 (0.02) | 1.7 (0.07)-E<br>12.1* (0.7)-L |
| UPN09(MDS) | SD | 350.2 (4.1) | 130.6 (12.2) | 0.1 | 0.2 | 7.1 (0.2) | 1.7 ± 0.2 |
| UPN10(MDS) | 골수 CR | 3.4 (1.3) | 3.1 (-) | 1.4 (0.03) | 1.1 (0.07)<br>0.4 (0.05) | 0.4 (0.05) | 0.3 (0.01)-E<br>9.8* (0.3)-L |
| UPN13(MDS) | SD | 2.6 (-) | - | 0.4 (0.05) | 0.6 (0.03) | 0.8 (0.03) | 0.7 (0.03) |

## 도면15

| UPN | 추정 $CD123^+$ LSC $CD123^+CD34^+CD38^-$ 수 ($CD45^+$의%)/ 고갈% | 추정 $CD33^+$ LSC $CD33^+CD34^+CD38^-$ 수 ($CD45^+$의%)/ 고갈% | $CD45^+$ |
|---|---|---|---|
| **UPN01/AML** | | | |
| 기준선/C1D1 | 155 (0.16%) | 156 (0.17%) | 94,415 |
| C2D15 | 74 / 52.3% | 73 / 53.2% | 86,266 |
| C4D1 | 717 54.2% | 72 / 53.8% | 89848 |
| C6D1 | 37 (0.04%) / 76.1% | 36 (0.04%) / 76.9% | 84,337 |
| | | | |
| **UPN03/AML** | | | |
| 기준선/C1D1 | 2757 (2.8%) | 2732 (2.8%) | 97928 |
| EOT/C1D30 | 1163 (1.2%) /57.8% | 1153 (1.2%) /57.8% | 93827 |
| | | | |
| **UPN05/AML** | | | |
| 기준선/C1D1 | 13782 (15.4%) | 13147 (14.7%) | 99598 |
| C2D15 | 21115 / 0% | 17185 / 0% | 94131 |
| C4D1 | 22787 / 0% | 18565 /0% | 96053 |
| C6D1 | 23653 (=CD45+의 24.3%) / 0% | 15001 (=CD45+의 15.4%) /0% | 97346 |
| | | | |
| **UPN06/AML** | | | |
| 기준선/C1D1 | 1569 (1.7%) | 1552 (1.7%) | 92694 |
| C2D15 | 24 / 98.5% | 23 / 98.5% | 92219 |
| C4D1 | 12 (0.01%) / 99.2% | 12 (0.01%) / 99.2% | 92694 |
| C6D1 | 33 (=CD45+의 0.01%) / 97.9% | 32 (=CD45+의 0.01%) / 97.9% | 93863 |
| | | | |
| **UPN09/MDS** | | | |
| 기준선/C1D1 | 1441 (1.52%) | 907 (0.96%) | 94715 |
| C2D1 | 1489 / 0% | 1191 / 0% | 94300 |
| C4D1 | 947 / 34.3% | 575 / 36.6% | 95129 |
| C6D1 | 1419 /4.7% | 1421 / 0% | 94893 |
| | | | |
| **UPN10/MDS** | | | |
| 기준선/C1D1 | 833 (0.9%) | 836 (0.9%) | 972155 |
| C2D15 | 833 / 0% | 775 / 7.3% | 101335 |
| C4D1 | 477 (0.48%) / 42.7% | 457 / 45.8% | 99979 |
| EOT/C5D20 | 2567 (2.5%) /3.1-배 확장) | 2296 (2.3%) / 2.7-배 확장 | 100884 |

UPN03 은 선별 시 40%의 골수 아세포를 가졌고, 또한 C1D30에 대해 C1D22.EOT 에서 40% 였다.
UPN10 은 선별 시 7.5% 골수 아세포를 가졌고, C5D20 에 대해서는 C5D1.EOT 상에서 20% 골수아세포였다.

## 서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Aptevo Research and Development LLC

<120> DOSING REGIMENS FOR PROTEIN THERAPEUTICS

<130> WO/2022/246244

<140> PCT/US2022/030323

<141> 2022-05-20

<150> US 63/253,714

<151> 2021-10-08

<150> US 63/191,488

<151> 2021-05-21

<160> 390

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<400> 1

000

<210> 2

<400> 2

000

<210> 3

<400> 3

000

<210> 4

<400> 4

000

<210> 5

<400> 5

000

<210> 6

<400> 6

000

<210> 7

<400> 7

000

<210> 8

<400> 8

000

<210> 9

<400> 9

000

<210> 10

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD123 HCDR1

<400> 10

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 11

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD123 HCDR2

<400> 11

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 12

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD123 HCDR3

<400> 12

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

1 5 10 15

Ile

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD123 LCDR1

<400> 13

His Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD123 LCDR2

<400> 14

Trp Ala Ser

1

<210> 15

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD123 LCDR3

<400> 15

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Thr

1 5 10

<210> 16

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD123 VH

<400> 16

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser His Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

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

Tyr Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
100 105 110
Ile Lys

<210> 17
<211> 124
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> anti-CD123 VL
<400> 17
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Lys Glu Lys Leu Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Ser Asp Ala Phe Asp
100 105 110
Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 18

<211> 258

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD123 scFv

<400> 18

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser His Ser Val Leu Tyr Ser

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

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

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

195 200 205

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

210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Glu Lys Leu Arg Tyr Phe Asp Trp

225 230 235 240

Leu Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val

245 250 255

Ser Ser

<210> 19

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3epsilon HCDR1

<400> 19

Gly Tyr Thr Phe Ser Arg Ser Thr

1 5

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3epsilon HCDR2

<400> 20

Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr

1 5

<210> 21

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3epsilon HCDR3

<400> 21

Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr

1 5 10

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3epsilon LCDR1

<400> 22

Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr

1 5

<210> 23

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3epsilon LCDR2

<400> 23

Asp Ser Ser

1

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3epsilon LCDR3

<400> 24

Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr

1 5

<210> 25

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3epsilon VH

<400> 25

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

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

<210> 26

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3epsilon VL

<400> 26

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

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ser
100 105

<210> 27

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223

> anti-CD3epsilon scFv

<400> 27

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Arg Ser
20 25 30

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

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

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

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

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

<210> 28

<400> 28

000

<210> 29

<400> 29

000

<210> 30

<400> 30

000

<210> 31

<211> 777

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD123 x anti-CD3epsilon bispecific construct amino acid sequence

<400> 31

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

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

100 105 110
Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Thr Phe Gly Gly Gly
115 120 125
Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
145 150 155 160
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys

165 170 175
Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg
180 185 190
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Gly Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser
195 200 205
Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220
Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu

225 230 235 240
Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Glu Lys Leu Arg

245 250 255

Tyr Phe Asp Trp Leu Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr

260 265 270

Met Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His

275 280 285

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val

290 295 300

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

305 310 315 320

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

385 390 395 400

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

405 410 415

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

420 425 430

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

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

500 505 510

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro Ser

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

610 615 620

Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly

625 630 635 640

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

645 650 655

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln

660 665 670

Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val

675 680 685

Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr

690 695 700

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser

705 710 715 720

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

725 730 735

Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala

740 745 750

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly

755 760 765

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ser

770 775

<210> 32

<211> 699

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> modified immunoglobulin constant region

<400> 32

tcgagtgagc ccaaatcttc tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa 60

gccgcgggtg caccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc 120

tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc 180

aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag 240

gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg 300

ctgaatggca aggaatacaa gtgcgcggtc tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag 360

aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca 420

tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat 480

ccaagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 540

acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct acagcaagct caccgtggac 600

aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 660

aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggt 699

<210> 33

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> modified immunoglobulin constant region

<400> 33

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

1 5 10 15

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

20 25 30

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

35 40 45

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

50 55 60

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

65 70 75 80

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

130 135 140

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

145 150 155 160

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

165 170 175

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

180 185 190

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

195 200 205

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

210 215 220

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

225 230

<210> 34

<211> 693

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> modified immunoglobulin constant region

<400> 34

gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg 60

ggtgcaccgt cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 120

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 180

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 240

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 300

ggcaaggaat acaagtgcgc ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 360

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 420

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc 480

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 540

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 600

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 660

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggt 693

<210> 35

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> modified immunoglobulin constant region

<400> 35

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

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

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

225 230

<210> 36

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 36

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Ser

1 5 10 15

<210> 37

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 37

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

1 5 10 15

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 38

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

1 5 10 15

<210> 39

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 39

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

1 5 10 15

<210> 40

<

211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 40

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

1 5 10 15

<210> 41

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 41

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

1 5 10 15

<210> 42

<211> 15

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 42

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

1 5 10 15

<210> 43

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 43

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

1 5 10 15

<210> 44

<211> 15

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 44

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Pro

1 5 10 15

<210> 45

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 45

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

1 5 10 15

<210> 46

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 46

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

1 5 10 15

<210> 47

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 47

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

1 5 10 15

<210> 48

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223

> immunoglobulin hinge region

<400> 48

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

1 5 10 15

<210> 49

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> immunoglobulin hinge region

<400> 49

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

1 5 10 15

<210> 50

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 50

Ser Cys Pro Pro Cys Pro

1 5

<210> 51

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 51

Asn Tyr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Gly Asn Ser

20

<210> 52

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 52

Asn Tyr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Gly Asn Tyr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Ser Gly Asn Ser

35

<210> 53

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 53

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asn Ser

1 5

<210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

>

<223> Fc binding domain linker

<400> 54

Asn Tyr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asn Ser

1 5 10

<210> 55

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 55

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asn Ser

1 5 10

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 56

Asn Tyr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asn Ser

1 5 10 15

<210> 57

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 57

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Asn Ser

<210> 58

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 58

Gly Cys Pro Pro Cys Pro Asn Ser

1 5

<210> 59

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 59

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 60

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 60

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 61

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 61

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 62

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 62

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25

<210> 63

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 63

Gln Arg His Asn Asn Ser Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Met Ala Gly

1 5 10 15

His Ser Pro Asn Ser

20

<210> 64

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 64

Ser Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Met Ala Gly His Ser Pro Asn Ser

1 5 10 15

<210> 65

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 65

Gln Arg His Asn Asn Ser Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Met Ala Gly

1 5 10 15

His Ser

<210> 66

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 66

Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu Ser Tyr Ser Pro Asn Ser

1 5 10

<210> 67

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 67

Asn Ser Leu Ala Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu Ser Tyr

1 5 10 15

Ser Pro Asn Ser

20

<210> 68

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 68

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Pro Asn Ser

<210> 69

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 69

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Pro Gly Ser

<210> 70

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 70

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro

1 5 10 15

Ser

<210> 71

<400> 71

000

<210> 72

<400> 72

000

<210> 73

<400> 73

000

<210> 74

<400> 74

000

<210> 75

<400> 75

000

<210> 76

<400> 76

000

<210> 77

<400> 77

000

<210> 78

<400> 78

000

<210> 79

<400> 79

000

<210> 80

<400> 80

000

<210> 81

<400> 81

000

<210> 82

<400> 82

000

<210> 83

<400> 83

000

<210> 84

<400> 84

000

<210> 85

<

400> 85

000

<210> 86

<400> 86

000

<210> 87

<400> 87

000

<210> 88

<400> 88

000

<210> 89

<400> 89

000

<210> 90

<400> 90

000

<210> 91

<400> 91

000

<210> 92

<400> 92

000

<210> 93

<400> 93

000

<210> 94

<400> 94

000

<210> 95

<400> 95

000

<210> 96

<400> 96

000

<210> 97

<400> 97

000

<210> 98

<400> 98

000

<210> 99

<400> 99

000

<210> 100

<400> 100

000

<210> 101

<400> 101

000

<210> 102

<400> 102

000

<210> 103

<400> 103

000

<210> 104

<400> 104

000

<210> 105

<400> 105

000

<210> 106

<400> 106

000

<210> 107

<400> 107

000

<210> 108

<400> 108

000

<210> 109

<400> 109

000

<210> 110

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 LCDR1

<400> 110

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn

1 5 10

<210> 111

<211> 14

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 LCDR1

<400> 111

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn

1 5 10

<210> 112

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 LCDR1

<400> 112

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn

1 5 10

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 LCDR2

<400> 113

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro

1 5

<210> 114

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 LCDR2

<400> 114

Ala Thr Asp Met Arg Pro Ser

1 5

<210> 115

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 LCDR2

<400> 115

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro

1 5

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 LCDR3

<400> 116

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val

1 5

<210> 117

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 LCDR3

<400> 117

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val

1 5

<210> 118

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 LCDR3

<400> 118

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val

1 5

<210> 119

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 HCDR1

<400> 119

Ile Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 120

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 HCDR1

<400> 120

Lys Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 121

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 HCDR1

<400> 121

Ser Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 122

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 HCDR2

<400

> 122

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

1 5 10 15

Val Lys Ser

<210> 123

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 HCDR2

<400> 123

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

1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 124

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 HCDR2

<400> 124

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 125

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 HCDR3

<400> 125

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Phe Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 126

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 HCDR3

<400> 126

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr

1 5 10

<210> 127

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD3 HCDR3

<400> 127

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

1 5 10

<210> 128

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> peptide linker

<400> 128

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 129

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> peptide linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(10)

<223> may be present or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(15)

<223> may be present or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(20)

<223> may be present or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (21)..(25)

<223> may be present or absent

<400> 129

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25

<210> 130

<400> 130

000

<210> 131

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Modified immunoglobulin constant region

<400> 131

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser Asn Lys

85 90 95

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

100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu

115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

210 215

<210> 132

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fc binding domain linker

<400> 132

Ser Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Pro Asn Ser

1 5 10

<210> 133

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 variable light chain domain

<400> 133

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca cagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctacccgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact 300

cctccgacca ctttcggcgg agggaccaag gtggagatca aa 342

<210> 134

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 variable light chain domain

<400> 134

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser His Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ile Lys

<210> 135

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 variable heavy chain domain

<400> 135

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatggca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggaggg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagaaaag 300

ttacgatatt ttgactggtt atccgatgct tttgatatct ggggccaagg gacaatggtc 360

accgtctctt ca 372

<210> 136

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 variable heavy chain domain

<400> 136

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 137

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 CDRL1

<400> 137

cacagtgttt tatacagctc caacaataag aactac 36

<210> 138

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 CDRL1

<400> 138

His Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 139

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 CDRL2

<400> 139

tgggcatct 9

<210> 140

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 CDRL2

<400> 140

Trp Ala Ser

1

<210> 141

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 CDRL3

<400> 141

cagcaatatt atagtactcc tccgaccact 30

<210> 142

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 CDRL3

<400> 142

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Thr

1 5 10

<210> 143

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 CDRH1

<400> 143

ggattcacct ttagcagcta tggc 24

<210> 144

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 CDRH1

<400> 144

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 145

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 CDRH2

<400> 145

attagtggta gtggtggtag caca 24

<210> 146

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 CDRH2

<400> 146

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 147

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 CDRH3

<400> 147

gcgaaagaaa agttacgata ttttgactgg ttatccgatg cttttgatat c 51

<210> 148

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OMT1 CDRH3

<400> 148

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

1 5 10 15

Ile

<210> 149

<400> 149

000

<210> 150

<400> 150

000

<210> 151

<400> 151

000

<210> 152

<400> 152

000

<210> 153

<400> 153

000

<210> 154

<400> 154

000

<210> 155

<400> 155

000

<210> 156

<400> 156

000

<210> 157

<400> 157

000

<210> 158

<400> 158

000

<210> 159

<400> 159

000

<210> 160

<400> 160

000

<210> 161

<400> 161

000

<210> 162

<400> 162

000

<210> 163

<400> 163

000

<210> 164

<400> 164

000

<210> 165

<400> 165

000

<210> 166

<400> 166

000

<210> 167

<

400> 167

000

<210> 168

<400> 168

000

<210> 169

<400> 169

000

<210> 170

<400> 170

000

<210> 171

<400> 171

000

<210> 172

<400> 172

000

<210> 173

<400> 173

000

<210> 174

<400> 174

000

<210> 175

<400> 175

000

<210> 176

<400> 176

000

<210> 177

<400> 177

000

<210> 178

<400> 178

000

<210> 179

<400> 179

000

<210> 180

<400> 180

000

<210> 181

<400> 181

000

<210> 182

<400> 182

000

<210> 183

<400

> 183

000

<210> 184

<400> 184

000

<210> 185

<400> 185

000

<210> 186

<400> 186

000

<210> 187

<400> 187

000

<210> 188

<400> 188

000

<210> 189

<400> 189

000

<210> 190

<400> 190

000

<210> 191

<400> 191

000

<210> 192

<400> 192

000

<210> 193

<400> 193

000

<210> 194

<400> 194

000

<210> 195

<400> 195

000

<210> 196

<400> 196

000

<210> 197

<400> 197

000

<210> 198

<400> 198

000

<210> 199

<400>

199

000

<210> 200

<400> 200

000

<210> 201

<400> 201

000

<210> 202

<400> 202

000

<210> 203

<400> 203

000

<210> 204

<400> 204

000

<210> 205

<400> 205

000

<210> 206

<400> 206

000

<210> 207

<400> 207

000

<210> 208

<400> 208

000

<210> 209

<400> 209

000

<210> 210

<400> 210

000

<210> 211

<400> 211

000

<210> 212

<400> 212

000

<210> 213

<400> 213

000

<210> 214

<400> 214

000

<210> 215

<400> 215

000

<210> 216

<400> 216

000

<210> 217

<400> 217

000

<210> 218

<400> 218

000

<210> 219

<400> 219

000

<210> 220

<400> 220

000

<210> 221

<400> 221

000

<210> 222

<400> 222

000

<210> 223

<400> 223

000

<210> 224

<400> 224

000

<210> 225

<400> 225

000

<210> 226

<400> 226

000

<210> 227

<400> 227

000

<210> 228

<400> 228

000

<210> 229

<400> 229

000

<210> 230

<400> 230

000

<210> 231

<400> 231

000

<210> 232

<400> 232

000

<210> 233

<400> 233

000

<210> 234

<400> 234

000

<210> 235

<400> 235

000

<210> 236

<400> 236

000

<210> 237

<400> 237

000

<210> 238

<400> 238

000

<210> 239

<400> 239

000

<210> 240

<400> 240

000

<210> 241

<400> 241

000

<210> 242

<400> 242

000

<210> 243

<400> 243

000

<210> 244

<400> 244

000

<210> 245

<400> 245

000

<210> 246

<400> 246

000

<210> 247

<400> 247

000

<

210> 248

<400> 248

000

<210> 249

<400> 249

000

<210> 250

<400> 250

000

<210> 251

<400> 251

000

<210> 252

<400> 252

000

<210> 253

<400> 253

000

<210> 254

<400> 254

000

<210> 255

<400> 255

000

<210> 256

<400> 256

000

<210> 257

<400> 257

000

<210> 258

<400> 258

000

<210> 259

<400> 259

000

<210> 260

<400> 260

000

<210> 261

<400> 261

000

<210> 262

<400> 262

000

<210> 263

<400> 263

000

<210

> 264

<400> 264

000

<210> 265

<400> 265

000

<210> 266

<400> 266

000

<210> 267

<400> 267

000

<210> 268

<400> 268

000

<210> 269

<400> 269

000

<210> 270

<400> 270

000

<210> 271

<400> 271

000

<210> 272

<400> 272

000

<210> 273

<400> 273

000

<210> 274

<400> 274

000

<210> 275

<400> 275

000

<210> 276

<400> 276

000

<210> 277

<400> 277

000

<210> 278

<400> 278

000

<210> 279

<400> 279

000

<210>

280

<400> 280

000

<210> 281

<400> 281

000

<210> 282

<400> 282

000

<210> 283

<400> 283

000

<210> 284

<400> 284

000

<210> 285

<400> 285

000

<210> 286

<400> 286

000

<210> 287

<400> 287

000

<210> 288

<400> 288

000

<210> 289

<400> 289

000

<210> 290

<400> 290

000

<210> 291

<400> 291

000

<210> 292

<400> 292

000

<210> 293

<400> 293

000

<210> 294

<400> 294

000

<210> 295

<400> 295

000

<210> 296

<400> 296

000

<210> 297

<400> 297

000

<210> 298

<400> 298

000

<210> 299

<400> 299

000

<210> 300

<400> 300

000

<210> 301

<400> 301

000

<210> 302

<400> 302

000

<210> 303

<400> 303

000

<210> 304

<400> 304

000

<210> 305

<400> 305

000

<210> 306

<400> 306

000

<210> 307

<400> 307

000

<210> 308

<400> 308

000

<210> 309

<211> 2340

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> humanized bispecific construct TRI129

<400> 309

atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 120

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatggca tgagctgggt ccgccaggct 180

ccagggaagg ggctggaggg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 240

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 300

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagaaaag 360

ttacgatatt ttgactggtt atccgatgct tttgatatct ggggccaagg gacaatggtc 420

accgtctctt caggtggagg cggttcaggc ggaggtggat ccggcggtgg cggctccggt 480

ggcggcggat ctgacatcgt gatgacccag tctccagact ccctggctgt gtctctgggc 540

gagagggcca ccatcaactg caagtccagc cacagtgttt tatacagctc caacaataag 600

aactacttag cttggtacca gcagaaacca ggacagcctc ctaagctgct catttactgg 660

gcatctaccc gggaatccgg ggtccctgac cgattcagtg gcagcgggtc tgggacagat 720

ttcactctca ccatcagcag cctgcaggct gaagatgtgg cagtttatta ctgtcagcaa 780

tattatagta ctcctccgac cactttcggc ggagggacca aggtggagat caaatcctcg 840

agtgagccca aatcttctga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaagcc 900

gcgggtgcac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc 960

cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag 1020

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 1080

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 1140

aatggcaagg aatacaagtg cgcggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1200

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc 1260

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtcaaagg cttctatcca 1320

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1380

cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag 1440

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac 1500

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggttccg gaggaggggg ttcaggtggg 1560

ggaggttctg gcggcggggg aagcccttca caggtgcaac tggtgcagag tggacccgag 1620

gttaaaaaac cagggtcctc cgttaaggtt agctgcaaag cctctggcta cacattttcc 1680

aggagtacaa tgcactgggt gaggcaggct cctggacagg gactcgagtg gatcgggtat 1740

atcaacccat ctagcgccta taccaattac aaccaaaagt ttaaggaccg agttaccatt 1800

accgctgaca aatccaccag tacagcttat atggagctgt catctcttag gtccgaggac 1860

actgctgttt attactgcgc tcgtcctcag gttcactatg actataatgg ttttccctac 1920

tggggtcagg gaaccctggt gactgtctct tctggcggtg gaggcagcgg tgggggtggg 1980

tctggaggcg gtggcagtgg cggcggaggc tctgatattc agatgactca gtctcctagc 2040

actctcagcg ccagcgtggg ggatcgtgtg acaatgactt gctccgctag cagtagtgtg 2100

tcttacatga attggtatca gcagaagccc gggaaagcac ctaagcgctg gatctatgac 2160

tcttccaagc tggcaagtgg tgtcccctca cggttctctg gctcaggttc tggtactgac 2220

tatactttga ctatctcctc cctccagccc gatgatttcg ctacctatta ttgtcagcag 2280

tggagccgta acccacccac tttcggaggc ggtaccaaag tggagatcaa gaggtcataa 2340

<210> 310

<211> 759

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> humanized bispecific construct TRI129

<400> 310

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Glu Lys Leu Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Ser Asp Ala Phe Asp
100 105 110
Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

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

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

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

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro Ser Gln Val

500 505 510

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

515 520 525

Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Arg Ser Thr Met

530 535 540

His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr

545 550 555 560

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

565 570 575

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu

580 585 590

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
595 600 605

Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
610 615 620

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
625 630 635 640

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
645 650 655

Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met
660 665 670

Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln
675 680 685

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu
690 695 700

Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
705 710 715 720

Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr
725 730 735

Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr
740 745 750

Lys Val Glu Ile Lys Arg Ser
755

<210> 311

<211> 2334

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> humanized bispecific construct TRI130

<400> 311

atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 120

atcaactgca agtccagcca cagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 180

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctacccgg 240

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 300

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact 360

cctccgacca ctttcggcgg agggaccaag gtggagatca aaggtggagg cggttcaggc 420

ggaggtggat ccggcggtgg cggctccggt ggcggcggat ctgaggtgca gctgttggag 480

tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg tccctgagac tctcctgtgc agcctctgga 540

ttcaccttta gcagctatgg catgagctgg gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag 600

ggggtctcag ctattagtgg tagtggtggt agcacatact acgcagactc cgtgaagggc 660

cggttcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atctgcaaat gaacagcctg 720

agagccgagg acacggccgt atattactgt gcgaaagaaa agttacgata ttttgactgg 780

ttatccgatg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ctcgagtgag 840

cccaaatctt ctgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agccgcgggt 900

gcaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 960

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 1020

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 1080

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 1140

aaggaataca agtgcgcggt ctccaacaaa gccctcccag cccccatcga gaaaaccatc 1200

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggat 1260

gagctgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta tccaagcgac 1320

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1380

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1440

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1500

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt tccggaggag ggggttcagg tgggggaggt 1560

tctggcggcg ggggaagccc ttcacaggtg caactggtgc agagtggacc cgaggttaaa 1620

aaaccagggt cctccgttaa ggttagctgc aaagcctctg gctacacatt ttccaggagt 1680

acaatgcact gggtgaggca ggctcctgga cagggactcg agtggatcgg gtatatcaac 1740

ccatctagcg cctataccaa ttacaaccaa aagtttaagg accgagttac cattaccgct 1800

gacaaatcca ccagtacagc ttatatggag ctgtcatctc ttaggtccga ggacactgct 1860

gtttattact gcgctcgtcc tcaggttcac tatgactata atggttttcc ctactggggt 1920

cagggaaccc tggtgactgt ctcttctggc ggtggaggca gcggtggggg tgggtctgga 1980

ggcggtggca gtggcggcgg aggctctgat attcagatga ctcagtctcc tagcactctc 2040

agcgccagcg tgggggatcg tgtgacaatg acttgctccg ctagcagtag tgtgtcttac 2100

atgaattggt atcagcagaa gcccgggaaa gcacctaagc gctggatcta tgactcttcc 2160

aagctggcaa gtggtgtccc ctcacggttc tctggctcag gttctggtac tgactatact 2220

ttgactatct cctccctcca gcccgatgat ttcgctacct attattgtca gcagtggagc 2280

cgtaacccac ccactttcgg aggcggtacc aaagtggaga tcaagaggtc ataa 2334

<210> 312

<211> 757

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> humanized bispecific construct TRI130

<400> 312

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser His Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

165 170 175

Lys Gly Leu Glu Gly Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Glu Lys Leu Arg Tyr Phe Asp Trp

225 230 235 240

Leu Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

290 295 300

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

305 310 315 320

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

325 330 335

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

340 345 350

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

355 360 365

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

370 375 380

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp

385 390 395 400

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

405 410 415

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

420 425 430

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

485 490 495

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

500 505 510

Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val

515 520 525

Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Arg Ser Thr Met His Trp

530 535 540

Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn

545 550 555 560

Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val

565 570 575

Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser

580 585 590

Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Pro Gln

595 600 605

Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

610 615 620

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

625 630 635 640

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser

645 650 655

Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr Cys

660 665 670

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

675 680 685

Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser

690 695 700

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

705 710 715 720

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

725 730 735

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

740 745 750

Glu Ile Lys Arg Ser

755

<210> 313

<400> 313

000

<210> 314

<400> 314

000

<210> 315

<400> 315

000

<210> 316

<400> 316

000

<210> 317

<400> 317

000

<210> 318

<400> 318

000

<210> 319

<400> 319

000

<210> 320

<400> 320

000

<210> 321

<400> 321

000

<210> 322

<400> 322

000

<210> 323

<400> 323

000

<210> 324

<400> 324

000

<210> 325

<400> 325

000

<210> 326

<400> 326

000

<210> 327

<400> 327

000

<210> 328

<400> 328

000

<210> 329

<400> 329

000

<210> 330

<400> 330

000

<210> 331

<400> 331

000

<210> 332

<400> 332

000

<210> 333

<400> 333

000

<210> 334

<400> 334

000

<210> 335

<400> 335

000

<210> 336

<400> 336

000

<210> 337

<

211> 777

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> humanized bispecific construct TRI130

<400> 337

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala
20 25 30

Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser His Ser
35 40 45

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

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

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

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

290 295 300

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

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

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
435 440 445
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
450 455 460
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
465 470 475 480
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
485 490 495

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly
500 505 510
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro Ser
515 520 525
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
530 535 540

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Arg Ser
545 550 555 560

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
565 570 575
Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
580 585 590
Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
595 600 605
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
610 615 620

Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly
625 630 635 640
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
645 650 655
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
660 665 670
Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
675 680 685

Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr
690 695 700
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser
705 710 715 720
Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
725 730 735
Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala
740 745 750

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly
755 760 765
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ser
770 775

<210> 338

<400> 338

000

<210> 339

<400> 339

000

<210> 340

<400> 340

000

<210> 341

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris-7 variable light chain sequence

<400> 341

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Thr Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Arg
100 105

<210> 342

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris-7 variable heavy chain sequence

<400> 342

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser

20 25 30

Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ser Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 343

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 variable light chain sequence

<400> 343

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr
35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 344

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 variable heavy chain sequence

<400> 344

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Arg Ser Gly Tyr Thr His Tyr Asn Gln Lys Leu

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 345

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris7 and DRA222 VH CDR1 (Kabat)

<400> 345

Arg Ser Thr Met His

1 5

<210> 346

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

>

<223> Cris7 and DRA222 VH CDR2 (Kabat)

<400> 346

Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

<210> 347

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris7 and DRA222 VH CDR3 (Kabat)

<400> 347

Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr

1 5 10

<210> 348

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris7 and DRA222 VL CDR1 (Kabat)

<400> 348

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn

1 5 10

<210> 349

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris7 and DRA222 VL CDR2 (Kabat)

<400> 349

Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser

1 5

<210> 350

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris7 and DRA222 VL CDR3 (Kabat)

<400> 350

Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr

1 5

<210> 351

<211

> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris7 and DRA222 VH CDR1 (IMGT)

<400> 351

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser Thr

1 5

<210> 352

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris7 and DRA222 VH CDR2 (IMGT)

<400> 352

Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr

1 5

<210> 353

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris7 and DRA222 VH CDR3 (IMGT)

<400> 353

Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr

1 5

<210> 354

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris7 and DRA222 VL CDR1 (IMGT)

<400> 354

Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr

1 5

<210> 355

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris7 and DRA222 VL CDR2 (IMGT)

<400> 355

Asp Ser Ser

1

<210> 356

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cris7 and DRA222 VL CDR3 (IMGT)

<400> 356

Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr
1 5

<210> 357

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> I2C VH CDR1 (Kabat)

<400> 357

Lys Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 358

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> I2C VH CDR2 (Kabat)

<400> 358

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 359

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> I2C VH CDR3 (Kabat)

<400> 359

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr

1 5 10

<210> 360

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> I2C VL CDR1 (Kabat)

<400> 360

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn

1 5 10

<210> 361

<211> 7

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220>

<223> I2C VL CDR2 (Kabat)

<400> 361

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro

1 5

<210> 362

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> I2C VL CDR3 (Kabat)

<400> 362

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val

1 5

<210> 363

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> I2C VH CDR1 (IMGT)

<400> 363

Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala

1 5

<210> 364

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> I2C VH CDR2 (IMGT)

<400> 364

Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr

1 5 10

<210> 365

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> I2C VH CDR3 (IMGT)

<400> 365

Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr

1 5 10 15

<210> 366

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> I2C VL CDR1 (IMGT)

<400> 366

Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr

1 5

<210> 367

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> I2C VL CDR2 (IMGT)

<400> 367

Gly Thr Lys

1

<210> 368

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> I2C VL CDR3 (IMGT)

<400> 368

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val

1 5

<210> 369

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 VH CDR1 (Kabat)

<400> 369

Ser Tyr Thr Met His

1 5

<210> 370

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 VH CDR2 (Kabat)

<400> 370

Tyr Ile Asn Pro Arg Ser Gly Tyr Thr His Tyr Asn Gln Lys Leu Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 371

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 VH CDR3 (Kabat)

<400> 371

Ser Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 372

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 VL CDR1 (Kabat)

<400> 372

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn

1 5 10

<210> 373

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 VL CDR2 (Kabat)

<400> 373

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser

1 5

<210> 374

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<

223> HuM291 VL CDR3 (Kabat)

<400> 374

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr

1 5

<210> 375

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 VH CDR1 (IMGT)

<400> 375

Gly Tyr Thr Phe Ile Ser Tyr Thr

1 5

<210> 376

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 VH CDR2 (IMGT)

<400> 376

Ile Asn Pro Arg Ser Gly Tyr Thr

1 5

<210> 377

<

211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 VH CDR3 (IMGT)

<400> 377

Ala Arg Ser Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 378

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 VL CDR1 (IMGT)

<400> 378

Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr

1 5

<210> 379

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 VL CDR2 (IMGT)

<400> 379

Asp Thr Ser

1

<210> 380

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HuM291 VL CDR3 (IMGT)

<400> 380

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr

1 5

<210> 381

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TSC455 (anti-CD3) TSC394 F87Y scFv

<400> 381

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln

130 135 140

Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val

145 150 155 160

Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr

165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly

225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ser Ser Ser

245 250

<210> 382

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TSC456 (anti-CD3) TSC394 E86D F87Y scFv

<400> 382

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Arg Ser
20 25 30

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

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

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
130 135 140

Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
145 150 155 160

Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr
165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser
180 185 190

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

195 200 205

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

<210> 383
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> TSC455 and TSC456 variable heavy domain
<400> 383
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

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

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

<210> 384
<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TSC455 variable light domain

<400> 384

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

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

<210> 385

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TSC456 variable light domain

<400> 385

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp

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

<210> 386
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> DRA222 (anti-CD3) scFv
<400> 386
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

130 135 140

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

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
210 215 220
Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240
Leu Gln Ile Thr Ser Ser Ser
245

<210> 387
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> DRA222 variable heavy domain
<400> 387
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 388

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DRA222 variable light domain

<400> 388

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu

65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Ser

100 105

<210> 389

<400> 389

000

<210> 390

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hinge region

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 390

Cys Xaa Xaa Cys

1