(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0107202
(43) 공개일자 2024년07월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *C12N 15/113* (2010.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2881 (2013.01)
C12N 15/113 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7010811
(22) 출원일자(국제) 2022년08월31일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년03월29일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/042196
(87) 국제공개번호 WO 2023/034409
국제공개일자 2023년03월09일
(30) 우선권주장
63/239,630 2021년09월01일 미국(US)
63/388,088 2022년07월11일 미국(US)

(71) 출원인
바이오젠 엠에이 인코포레이티드
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 비니 스트리트 225
(72) 발명자
달킬릭-리들 이신
미국 매사추세츠주 02142 캠브릿지 비니 스트리트 225
스미스 벤자민 에이.
미국 매사추세츠주 02142 캠브릿지 비니 스트리트 225
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장훈

전체 청구항 수 : 총 42 항

(54) 발명의 명칭 **항-트랜스페린 수용체 항체 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 개시는 항-트랜스페린 수용체 항체, 이를 포함하는 조성물 및 이의 사용 방법을 제공한다. 본 개시는 또한 항-트랜스페린 수용체 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 및 벡터, 및 이를 포함하는 세포, 항체의 제조 방법, 및 항체를 포함하는 분자를 제공한다.

대 표 도 - 도1a

항체-A 계열 VH

```
1   5    10   15   20   25  30    a    40   45   50 a  55   60   65   70   75   80 abc  85   90   95    abcdefghi    105     113 카바트 위치 #
1   5  9     15   20   25 29   38      45   50   55      65   70   75   80   85   90   95   100  105  110     130  135  140  145 149 AHo 위치 #
-1   5    10   15   20   25   30   35   40   45   50   55   60   65   70  -74   80   85   90   95   100  105  110  115  120  125 순차적인 위치 #, rabAB-A_VH
-QSLEESGGGLVQPGASLTLTCKASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWIGCIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKT-SSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   rabAB-A_VH (서열 번호 4)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H0 (서열 번호 5)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H1 (서열 번호 6)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H2 (서열 번호 7)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3 (서열 번호 8)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMSWVRQAPGKGLEWVGVIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3(SV) (서열 번호 9)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMSWVRQAPGKGLEWVGRIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3(SR) (서열 번호 10)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMSWVRQAPGKGLEWVGYIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3(SY) (서열 번호 11)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMHWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A H3(HA) (서열 번호 12)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H4 (서열 번호 13)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A H0C (서열 번호 14)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H1C (서열 번호 15)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H2C (서열 번호 16)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3C (서열 번호 17)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H4C (서열 번호 18)
  L ESGGGLVQPG SL L C ASGIDFSSSGYM WVRQAPGKGLEW G IYTYSSNTYYA  KGRFTIS  S    LQM SL  DTA Y CARGTYGYTGYTYTMGYFSLWG GTLVTVSS   보존됨
```

(52) CPC특허분류
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
(72) 발명자
한프 칼 제이. 엠.
미국 매사추세츠주 02142 캠브릿지 비니 스트리트 225
첸 팡
미국 매사추세츠주 02142 캠브릿지 비니 스트리트 225
페핀스키 알. 블레이크
미국 매사추세츠주 02142 캠브릿지 비니 스트리트 225
카메론 토마스 오.
미국 매사추세츠주 02142 캠브릿지 비니 스트리트 225

명 세 서

청구범위

청구항 1

인간 트랜스페린 수용체에 결합하는 항체로서, 중쇄 가변 영역[heavy chain variable region, VH] 상보성 결정 부위[complementary determining region, CDR]1, VH CDR2, 및 VH CDR3을 포함하는 VH를 포함하되,

상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMX(서열 번호 149)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이고,

상기 VH CDR2는 아미노산 서열 XIYTYSSNTYYAXXXKG(서열 번호 151)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이고,

상기 VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하고,

상기 항체는 경쇄 가변 영역[light chain variable region, VL] CDR1, VL CDR2, 및 VL CDR3을 포함하는 VL을 포함하되,

상기 VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하고,

상기 VL CDR2는 아미노산 서열 RASXLXS(서열 번호 153)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이고,

상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하는, 항체.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMX$_1$(서열 번호 150)을 포함하되, X$_1$은 C, A, 또는 H이고,

상기 VH CDR2는 아미노산 서열 X$_2$IYTYSSNTYYAX$_3$X$_4$X$_5$KG(서열 번호 152)를 포함하되, X$_2$는 C 또는 A이고, X$_3$은 S 또는 A이며, X$_4$는 W 또는 S이고, X$_5$는 A 또는 V이며,

상기 VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하고,

상기 VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하며,

상기 VL CDR2는 아미노산 서열 RASX$_6$LX$_7$S(서열 번호 154)를 포함하되, X$_6$은 T 또는 S이고, X$_7$은 A 또는 E이며,

상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하는, 항체.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 VH-CDR1, 상기 VH-CDR2 및 상기 VH-CDR3은 단일 VH 클론에 대하여 도 1a에 기재된 VH CDR에 각각 상응하고, 상기 VL-CDR1, 상기 VL-CDR2 및 상기 VL-CDR3은 단일 VL 클론에 대하여 도 1c에 기재된 VL CDR에 각각 상응하는, 항체.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 VH-CDR1, 상기 VH-CDR2, 상기 VH-CDR3, 상기 VL-CDR1, 상기 VL-CDR2 및 상기 VL-CDR3은 단일 클론에 대해 표 1A에 기재된 VH 및 VL CDR에 각각 상응하는, 항체.

청구항 5

제1항에 있어서,

(a) 상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)를 포함하고, 상기 VH CDR2는 아미노산 서열 CIYTYSSNTYYASWAKG(서열 번호 104)를 포함하며, 상기 VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하고, 상기 VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하며, 상기 VL CDR2는 아미노산 서열 RASTLAS(서열 번호 109)를 포함하고, 상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호

110)를 포함하거나,

(b) 상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMH(서열 번호 102)를 포함하고, 상기 VH CDR2는 아미노산 서열 AIYTYSSNTYYASWAKG(서열 번호 105)를 포함하며, 상기 VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하고, 상기 VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하며, 상기 VL CDR2는 아미노산 서열 RASSLES(서열 번호 108)를 포함하고, 상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하거나,

(c) 상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)를 포함하고, 상기 VH CDR2는 아미노산 서열 CIYTYSSNTYYAASVKG(서열 번호 103)를 포함하며, 상기 VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하고, 상기 VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하며, 상기 VL CDR2는 아미노산 서열 RASSLES(서열 번호 108)를 포함하고, 상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하거나,

(d) 상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)를 포함하고, 상기 VH CDR2는 아미노산 서열 CIYTYSSNTYYASWAKG(서열 번호 104)를 포함하며, 상기 VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하고, 상기 VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하며, 상기 VL CDR2는 아미노산 서열 RASSLES(서열 번호 108)를 포함하고, 상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하는, 항체.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 상기 VH는 서열 번호 12 또는 15 내지 18 중 어느 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100% 동일하고,

(ii) 상기 VL은 서열 번호 35 내지 37 중 어느 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100% 동일한, 항체.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 VH는 서열 번호 4, 12, 또는 15 내지 18 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 34 내지 37의 아미노산 서열을 포함하는, 항체.

청구항 8

제1항에 있어서,

(a) 상기 VH는 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 34의 아미노산 서열을 포함하거나,

(b) 상기 VH는 서열 번호 12의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하거나,

(c) 상기 VH는 서열 번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하거나,

(d) 상기 VH는 서열 번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하거나,

(e) 상기 VH는 서열 번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하거나,

(f) 상기 VH는 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는, 항체.

청구항 9

인간 트랜스페린 수용체에 결합하는 항체로서,

(a) VH는 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 34의 아미노산 서열을 포함하거나,

(b) VH는 서열 번호 12의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하거나,

(c) VH는 서열 번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하거나,

(d) VH는 서열 번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하거나,

(e) VH는 서열 번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하거나,

(f) VH는 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 항체와 인간 트랜스페린 수용체에 대한 결합에 관하여 경쟁하는, 항체.

청구항 10

인간 트랜스페린 수용체에 결합하는 항체로서, 중쇄 가변 영역[VH] 상보성 결정부위[CDR]1, VH CDR2, 및 VH CDR3을 포함하는 VH를 포함하되,

상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIX(서열 번호 155)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이고,

상기 VH CDR2는 아미노산 서열 XINTDADSTNYAXXXXG(서열 번호 157)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이고,

상기 VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고,

상기 항체는 경쇄 가변 영역[VL] CDR1, VL CDR2, 및 VL CDR3을 포함하는 VL을 포함하되,

상기 VL CDR1은 아미노산 서열 XASQNIGSNLA(서열 번호 159)를 포함하고,

상기 VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLXS(서열 번호 161)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이고,

상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QXTVRGGAYGXA(서열 번호 163)를 포함하되, X는 임의의 아미노산인, 항체.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIX$_1$(서열 번호 156)을 포함하되, X$_1$은 C, A, 또는 H이고,

상기 VH CDR2는 아미노산 서열 X$_2$INTDADSTNYAX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$G(서열 번호 158)를 포함하되, X$_2$는 C 또는 A이고, X$_3$은 S 또는 D이며, X$_4$는 W 또는 S이고, X$_5$는 A 또는 V이며, X$_6$은 R 또는 K이고,

상기 VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고,

상기 VL CDR1은 아미노산 서열 X$_7$ASQNIGSNLA(서열 번호 160)를 포함하되, X$_7$은 Q 또는 R이고,

상기 VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLX$_8$S(서열 번호 162)를 포함하되, X$_8$은 A 또는 E이고,

상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QX$_9$TVRGGAYGX$_{10}$A(서열 번호 164)를 포함하되, X$_9$는 C, Q, A, S, T, 또는 V이고, X$_{10}$은 N 또는 L인, 항체.

청구항 12

제10항에 있어서, 상기 VH-CDR1, 상기 VH-CDR2 및 상기 VH-CDR3은 단일 VH 클론에 대하여 도 1b에 기재된 VH CDR에 각각 상응하고, 상기 VL-CDR1, 상기 VL-CDR2 및 상기 VL-CDR3은 단일 VL 클론에 대하여 도 1d에 기재된 VL CDR에 각각 상응하는, 항체.

청구항 13

제10항에 있어서, 상기 VH-CDR1, 상기 VH-CDR2, 상기 VH-CDR3, 상기 VL-CDR1, 상기 VL-CDR2 및 상기 VL-CDR3은 단일 클론에 대해 표 2A에 기재된 VH 및 VL CDR에 각각 상응하는, 항체.

청구항 14

제10항에 있어서,

(a) 상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하고, 상기 VH CDR2는 아미노산 서열 CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하며, 상기 VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고, 상기 VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNIGSNLA(서열 번호 121)를 포함하며, 상기 VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLAS(서열 번호 123)를 포함하고, 상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QCTVRGGAYGNA(서열 번호 124)를 포함하거나,

(b) 상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하고, 상기 VH CDR2는 아미노산 서열 CINTDADSTNYADSVKG(서열 번호 118)를 포함하며, 상기 VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고, 상기 VL CDR1은 아미노산 서열 RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하며, 상기 VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLES(서열 번호 122)를 포함하고, 상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QCTVRGGAYGNA(서열 번호 124)를 포함하거나,

(c) 상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하고, 상기 VH CDR2는 아미노산 서열 CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하며, 상기 VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고, 상기 VL CDR1은 아미노산 서열 RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하며, 상기 VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLES(서열 번호 122)를 포함하고, 상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QCTVRGGAYGNA(서열 번호 124)를 포함하거나,

(d) 상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하고, 상기 VH CDR2는 아미노산 서열 CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하며, 상기 VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고, 상기 VL CDR1은 아미노산 서열 RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하며, 상기 VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLES(서열 번호 122)를 포함하고, 상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QSTVRGGAYGNA(서열 번호 125)를 포함하거나,

(e) 상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하고, 상기 VH CDR2는 아미노산 서열 CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하며, 상기 VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고, 상기 VL CDR1은 아미노산 서열 RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하며, 상기 VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLES(서열 번호 122)를 포함하고, 상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QTTVRGGAYGNA(서열 번호 126)를 포함하거나,

(f) 상기 VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하고, 상기 VH CDR2는 아미노산 서열 CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하며, 상기 VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고, 상기 VL CDR1은 아미노산 서열 RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하며, 상기 VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLES(서열 번호 122)를 포함하고, 상기 VL CDR3은 아미노산 서열 QVTVRGGAYGNA(서열 번호 127)를 포함하는, 항체.

청구항 15

제10항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 상기 VH는 서열 번호 30 내지 33 중 어느 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100% 동일하고,

(ii) 상기 VL은 서열 번호 41 내지 44 중 어느 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100% 동일한, 항체.

청구항 16

제10항에 있어서, 상기 VH는 서열 번호 30 내지 33 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 41 내지 44 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 항체.

청구항 17

제10항에 있어서,

(a) 상기 VH는 서열 번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 38의 아미노산 서열을 포함하거나,

(b) 상기 VH는 서열 번호 30의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하거나,

(c) 상기 VH는 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하거나,

(d) 상기 VH는 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하거나,

(e) 상기 VH는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하거나,

(f) 상기 VH는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 42의 아미노산 서열을 포함하거나,

(g) 상기 VH는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 43의 아미노산 서열을 포함하거나,

(h) 상기 VH는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열 번호 44의 아미노산 서열을 포함하는, 항체.

청구항 18

인간 트랜스페린 수용체에 결합하는 항체로서,

(a) 서열 번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 VL,

(b) 서열 번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 VL,

(c) 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 VL,

(d) 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 VL,

(e) 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 VL,

(f) 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 42의 아미노산 서열을 포함하는 VL,

(g) 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 43의 아미노산 서열을 포함하는 VL, 또는

(h) 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항체와 인간 트랜스페린 수용체에 대한 결합에 관하여 경쟁하는, 항체.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 Fab 단편 또는 Fab' 단편인 항체.

청구항 20

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 이중특이적 항체, 단일 사슬 항체, Fab 단편, $F(ab')_2$ 단편, Fab' 단편, Fsc 단편, Fv 단편, scFv, $sc(Fv)_2$ 또는 이량항체[diabody]인 항체.

청구항 21

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 불변 중쇄[constant heavy chain, CH] 도메인 및 불변 경쇄[constant light chain, CL] 도메인을 포함하는 항체.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 CH 도메인은 서열 번호 45 내지 52 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 CH1 도메인을 포함하는, 항체.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 CH1 도메인은 서열 번호 45, 47 및 49 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열을 포함하는, 항체.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 CH1 도메인은 서열 번호 53 내지 55 및 57 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 힌지에 융합되는, 항체.

청구항 25

제22항에 있어서, 상기 CH1 도메인은 서열 번호 51에 기재된 아미노산 서열을 포함하는, 항체.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 CH1 도메인은 아미노산 서열 ES 또는 서열 번호 56에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 힌지에 융합되는, 항체.

청구항 27

제23항 또는 제25항에 있어서, 상기 CH1 도메인은 아미노산 서열 ES, ESK, 또는 서열 번호 53 내지 90 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 힌지에 융합되는, 항체.

청구항 28

제21항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CL 도메인은 서열 번호 91 또는 92에 기재된 아미노산 서열을 포함하는, 항체.

청구항 29

제21항에 있어서, 상기 항체는

(i) 서열 번호 93에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열 번호 94에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄,

(ii) 서열 번호 95에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열 번호 96에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄,

(iii) 서열 번호 97에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열 번호 96에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄,

(iv) 서열 번호 98에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열 번호 96에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄, 또는

(v) 서열 번호 99에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열 번호 100에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 항체를 암호화하는 한 개 또는 복수의 핵산.

청구항 31

프로모터에 작동가능한 상태로 연결된, 제30항의 한 개 또는 복수의 핵산을 포함하는 한 개 또는 복수의 발현 벡터.

청구항 32

제30항의 한 개 또는 복수의 핵산 또는 제31항의 한 개 또는 복수의 발현 벡터를 포함하는 단리된 세포.

청구항 33

단리된 세포로서, 프로모터에 작동가능한 상태로 연결된, 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 항체의 VH를 포함

하는 제1 폴리펩타이드를 암호화하는 제1 핵산을 포함하는 제1 발현 벡터, 및 프로모터에 작동 가능하게 연결된, 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 항체의 VL을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 제2 핵산을 포함하는 제2 발현 벡터를 포함하는 단리된 세포.

청구항 34

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 항체를 제조하는 방법으로서, 제32항 또는 제33항의 세포를 배양하고 상기 항체를 단리하는 것을 포함하는 방법.

청구항 35

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 항체 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 36

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 항체 및 작용제[agent]를 포함하는 접합체.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 작용제는 핵산인, 접합체.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 핵산은 mRNA, siRNA, 안티센스 올리고뉴클레오타이드(antisense oligonucleotide), 마이크로RNA(miRNA), 가이드 RNA(gRNA), 또는 포스포로아미데이트 모폴리노 올리고머(phosphoroamidate morpholino oligomer, PMO)인, 접합체.

청구항 39

제37항에 있어서, 상기 핵산은 안티센스 올리고뉴클레오타이드인, 접합체.

청구항 40

제36항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작용제는 링커를 통해 상기 항체에 연결된, 접합체.

청구항 41

생체 내에서 작용제를 전달하는 방법으로서, 제36항 내지 제40항 중 어느 한 항의 접합체를 인간 대상에게 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 42

제41항에 있어서,

(a) 상기 인간 대상은 근육 질환, 근위축 질환, 동맥경화성 질환, 심장 관련 질환 또는 리소좀 축적 질환을 앓고 있고, 상기 방법은 근육 조직에 작용제를 전달하거나,

(b) 상기 인간 대상은 뇌 질환을 앓고 있고, 상기 방법은 뇌 조직에 작용제를 전달하거나,

(c) 상기 인간 대상은 간 질환을 앓고 있고, 상기 방법은 간세포에 작용제를 전달하거나,

(d) 상기 인간 대상은 암을 앓고 있고, 상기 방법은 종양 세포에 작용제를 전달하거나,

(e) 상기 인간 대상은 면역 병태를 앓고 있고, 상기 방법은 면역세포에 작용제를 전달하는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2021년 9월 1일에 출원된 미국 가출원 제63/239,630호 및 2022년 7월 11일에 출원된 미국 가출원 제

63/388,088호에 대한 우선권을 주장한다. 앞선 출원의 내용은 본원에 전문이 참조로 포함된다.

[0003] 본 개시는 항-트랜스페린 수용체 항체, 이를 포함하는 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다. 본 개시는 또한 항-트랜스페린 수용체 항체를 암호화하는 관련 폴리뉴클레오타이드 및 벡터 및 이를 포함하는 세포를 제공한다.

배 경 기 술

[0004] 트랜스페린 수용체[transferrin receptor, TfR]는 철의 세포 내 흡수 및 세포 성장 조절에 관여하는 세포막 관련 당단백질이다. 철 흡수는 TfR과의 상호작용에 의해 매개되는 철 탑재 트랜스페린(transferrin, Tf)의 내재화를 통해 이루어진다. 트랜스페린 수용체 1[TfR1; CD71 또는 p90으로도 알려짐]은 근육 발달 및 탈신경계-유도 근위축증에서 중요한 역할을 하는, 고친화성의 조직 전체적으로 발현되는 수용체이다(문헌[Li Y, et al. Neural Regen Res 2021;16:1308-16]). 근육 조직에서 TfR이 널리 퍼져있는 것을 고려하면, 생체 내에서 근육으로 약물을 전달하는 것은 TfR의 표적화에 의해 달성될 수 있다(문헌[Schnyder A, et al. Biochem J. 2004 Jan 1;377(Pt 1):61-7]). TfR은 수용체의 세포 외 도메인에 특이적인 단일클론항체에 의해 표적화될 수 있다. (문헌[Daniels TR et al., Clin Immunol. 2006 Nov;121(2):144-58]).

[0005] 근육 표적화에는 근육에서는 흡수되고 다른 조직에서는 흡수를 제한하는 것 모두에 대하여 몇 가지 특정한 어려움이 있다. 근육 내 혈관 내피가 약물 섭취에 대한 장벽 역할을 하기 때문에 근육 조직은 약물 전달이 어려운 조직으로 여겨진다(문헌[Ebner DC et al., Current pharmaceutical design. 21. 10.2174/1381612820666140929095755] 및 US20190240346).

[0006] 따라서, 근이영양증 및 리소좀 축적 질환을 포함하여 다양한 근육 관련 질환의 치료에 사용할 수 있는, 근육 내로의 약물 전달을 위한 보다 효율적인 방법으로서, 예컨대, 신규한 개선된 항TfR 항체를 개발할 필요가 있다. 또한, 이러한 항체는 비근육 장애에 대한 유전자 치료에도 사용될 수 있다. 비근육 조직, 예컨대, 간 세포, 종양 세포, 면역 세포 및 혈액뇌장벽의 내피 세포에서 TfR1가 널리 발현된다는 점을 고려할 때, 약물 전달 및/또는 치료 목적을 위해 이러한 조직을 표적으로 삼는 항체를 개발할 필요성 또한 존재한다.

발명의 내용

[0007] 본 개시는 근육 장애, 동맥경화성 질환, 심장 관련 질환 및 리소좀 축적 장애의 치료를 위한 항-트랜스페린 수용체 항체 및 이의 용도에 관한 것이다. 본 개시의 항체는 또한 뇌 조직, 간 조직, 종양 세포 및 면역 세포를 표적화하기 위해서 사용될 수 있다.

[0008] 제1 양태에서, 본 개시는 중쇄 가변 영역[heavy chain variable region, VH] 상보성 결정 부위 1[complementarity determining region, CDR1], VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역[VH]을 포함하는 인간트랜스페린 수용체에 결합하는 항체를 특징으로 하되, VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMX(서열 번호 149)를 포함하고, X는 임의의 아미노산이다. VH CDR2는 아미노산 서열 XIYTYSSNTYYAXXXKG(서열 번호 151)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함한다. 항체는 경쇄 가변 영역[light chain variable region, VL] CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 VL을 포함하되, VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함한다. VL CDR2는 아미노산 서열 RAXLXS(서열 번호 153)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함한다.

[0009] 일부 구현예에서, VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMX$_1$(서열 번호 150)을 포함하되, X$_1$은 C, A 또는 H이다. VH CDR2는 아미노산 서열 X$_2$IYTYSSNTYYAX$_3$X$_4$X$_5$KG(서열 번호 152)를 포함하되, X$_2$는 C 또는 A이고, X$_3$은 S 또는 A이며, X$_4$는 W 또는 S이고, X$_5$는 A 또는 V이다. VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함한다. VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함한다. VL CDR2는 아미노산 서열 RASX$_6$LX$_7$S(서열 번호 154)를 포함하되, X$_6$은 T 또는 S이고, X$_7$은 A 또는 E이다. VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함한다. 일부 구현예에서, VH-CDR1, VH-CDR2 및 VH-CDR3은 단일 VH 클론에 대하여 도 1a에 기재된 VH CDR에 각각 상응하되, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3은 단일 VL 클론에 대하여 도 1c에 기재된 VL CDR에 각각 상응한다. 일부 구현예에서, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3은 단일 클론에 대해 **표 1A**에 기재된 VH 및 VL CDR에 각각 상응한다.

[0010] 일부 구현예에서, (a) VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)를 포함하고. VH CDR2는 아미노산 서열 CIYTYSSNTYYASWAKG(서열 번호 104)를 포함하며, VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호

106)을 포함하고, VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하며, VL CDR2는 아미노산 서열 RASTLAS(서열 번호 109)를 포함하고, VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하거나, (b) VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMH(서열 번호 102)를 포함하고, VH CDR2는 아미노산 서열 AIYTYSSNTYYASWAKG(서열 번호 105)를 포함하며, VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하고, VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하며, VL CDR2는 아미노산 서열 RASSLES(서열 번호 108)를 포함하고, VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하거나, (c) VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)를 포함하고, VH CDR2는 아미노산 서열 CIYTYSSNTYYAASVKG(서열 번호 103)를 포함하며, VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하고, VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하며, VL CDR2는 아미노산 서열 RASSLES(서열 번호 108)를 포함하고, VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하거나, (d) VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)를 포함하고, VH CDR2는 아미노산 서열 CIYTYSSNTYYASWAKG(서열 번호 104)를 포함하며, VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하고, VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하며, VL CDR2는 아미노산 서열 RASSLES(서열 번호 108)를 포함하고, VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함한다.

[0011] 일부 구현예에서, (i) VH는 서열 번호 12 또는 15 내지 18 중 어느 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 100% 동일하고, (ii) VL은 서열 번호 35 내지 37 중 어느 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100% 동일하다. 일부 구현예에서, VH는 서열 번호 4, 12, 또는 15 내지 18 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 34 내지 37의 아미노산 서열을 포함한다.

[0012] 일부 구현예에서, (a) VH는 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 34의 아미노산 서열을 포함하거나, (b) VH는 서열 번호 12의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하거나, (c) VH는 서열 번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하거나, (d) VH는 서열 번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하거나, (e) VH는 서열 번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하거나, (f) VH는 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함한다.

[0013] 제2 양태에서, 본 개시는 인간 트랜스페린 수용체에 결합하고, 인간 트랜스페린 수용체에 대한 결합에 관해 다음을 포함하는 항체와 경쟁하는 항체를 특징으로 한다. (a) 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 서열 번호 34의 아미노산 서열을 포함하는 VL, (b) 서열 번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 VL, (c) 서열 번호 15의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 VL, (d) 서열 번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 VL, (e) 서열 번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 VL, 또는 (f) 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함하는VH, 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 VL.

[0014] 제3 양태에서, 본 개시는 중쇄 가변 영역[VH] 상보성 결정 부위 1[CDR1], VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 VH를 포함하되, VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIX(서열 번호 155)를 포함하고, X는 임의의 아미노산이다. VH CDR2는 아미노산 서열XINTDADSTNYAXXXXG(서열 번호 157)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함한다. 항체는 경쇄 가변 영역[VL] CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 VL을 포함하되, VL CDR1은 아미노산 서열 XASQNIGSNLA(서열 번호 159)를 포함한다. VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLXS(서열 번호 161)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. VL CDR3은 아미노산 서열 QXTVRGGAYGXA(서열 번호 163)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이다.

[0015] 제3 양태의 일부 구현예에서, VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIX$_1$(서열 번호 156)을 포함하되, X$_1$은 C, A, 또는 H이다. VH CDR2는 아미노산 서열 X$_2$INTDADSTNYAX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$G(서열 번호 158)를 포함하되, X$_2$는 C 또는 A이고, X$_3$은 S 또는 D이며, X$_4$는 W 또는 S이고, X$_5$는 A 또는 V이며, X$_6$은 R 또는 K이다. VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함한다. VL CDR1은 아미노산 서열 X$_7$ASQNIGSNLA(서열 번호 160)를 포함하되, X$_7$은 Q 또는 R이다. VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLX$_8$S(서열 번호 162)를 포함하되, X$_8$은 A 또는 E이다. 그리고 VL CDR3은 아미노산 서열 QX$_9$TVRGGAYGX$_{10}$A(서열 번호 164)를 포함하되, X$_9$는 C, Q, A, S, T 또는 V이고, X$_{10}$은 N 또는 L이다.

[0016] 제3 양태의 일부 구현예에서, VH-CDR1, VH-CDR2 및 VH-CDR3은 단일 VH 클론에 대하여 도 1b에 기재된 VH CDR에 각각 상응하되, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3은 단일 VL 클론에 대하여 도 1d에 기재된 VL CDR에 각각 상응한

다. 제3 양태의 일부 구현예에서, VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3은 단일 클론에 대해 **표 2A**에 기재된 VH 및 VL CDR에 각각 상응한다.

[0017] 제3 양태의 일부 구현예에서, (a) VH CDR1은 아미노산 서열 GFSSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하고, VH CDR2는 아미노산 서열 CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하며, VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고, VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNIGSNLA(서열 번호 121)를 포함하며, VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLAS(서열 번호 123)를 포함하고, VL CDR3은 아미노산 서열 QCTVRGGAYGNA(서열 번호 124)를 포함하거나, (b) VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하고, VH CDR2는 아미노산 서열 CINTDADSTNYADSVKG(서열 번호 118)를 포함하며, VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고, VL CDR1은 아미노산 서열 RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하며, VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLES(서열 번호 122)를 포함하고, VL CDR3은 아미노산 서열 QCTVRGGAYGNA(서열 번호 124)를 포함하거나, (c) VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하고, VH CDR2는 아미노산 서열 CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하며, VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고, VL CDR1은 아미노산 서열 RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하며, VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLES(서열 번호 122)를 포함하고, VL CDR3은 아미노산 서열 QCTVRGGAYGNA(서열 번호 124)를 포함하거나, (d) VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)을 포함하고, VH CDR2는 아미노산 서열 CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하며, VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고, VL CDR1은 아미노산 서열 RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하며, VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLES(서열 번호 122)를 포함하고, VL CDR3은 아미노산 서열 QSTVRGGAYGNA(서열 번호 125)를 포함하거나, (e) VH CDR1은 아미노산 서열 GFSSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하고, VH CDR2는 아미노산 서열 CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하며, VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고, VL CDR1은 아미노산 서열 RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하며, VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLES(서열 번호 122)를 포함하고, VL CDR3은 아미노산 서열 QTTVRGGAYGNA(서열 번호 126)를 포함하거나, (f) VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하고, VH CDR2는 아미노산 서열 CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하며, VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하고, VL CDR1은 아미노산 서열 RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하며, VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLES(서열 번호 122)를 포함하고, VL CDR3은 아미노산 서열 QVTVRGGAYGNA(서열 번호 127)를 포함한다.

[0018] 제3 양태의 일부 구현예에서, (i) VH는 서열 번호 30 내지 33 중 어느 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 100% 동일하고, (ii) VL은 서열 번호 41 내지 44 중 어느 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100% 동일하다. 일부 구현예에서, VH는 서열 번호 30 내지 33 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 41 내지 44 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다.

[0019] 제3 양태의 일부 구현예에서, (a) VH는 서열 번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 38의 아미노산 서열을 포함하거나, (b) VH는 서열 번호 30의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하거나, (c) VH는 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하거나, (d) VH는 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하거나, (e) VH는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하거나, (f) VH는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 42의 아미노산 서열을 포함하거나, (g) VH는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 43의 아미노산 서열을 포함하거나, (h) VH는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호 44의 아미노산 서열을 포함한다.

[0020] 제4 양태에서, 본 개시는 인간 트랜스페린 수용체에 결합하고, 인간 트랜스페린 수용체에 대한 결합에 관해 다음을 포함하는 항체와 경쟁하는 항체를 특징으로 한다. (a) 서열 번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 서열 번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 VL, (b) 서열 번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 VL, (c) 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 VL, (d) VH는 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 VH, VL은 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 VL, (e) VH는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 VH, VL은 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 VL, (f) VH는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 VH, VL은 서열 번호 42의 아미노산 서열을 포함하는 VL, (g) VH는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 VH, VL은 서열 번호 43의 아미노산 서열을 포함하는VL, 또는, (h) 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 서열 번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 VL.

[0021] 임의의 전술한 양태 중 일부 구현예에서, 항체는 Fab 단편 또는 Fab' 단편이다. 일부 구현예에서, 항체는 이중

특이적 항체, 단일 사슬 항체, Fab 단편, $F(ab')_2$ 단편, Fab' 단편, Fsc 단편, Fv 단편, scFv, $sc(Fv)_2$, 또는 이량항체[diabody]이다.

[0022] 일부 구현예에서, 항체는 불변 중쇄[constant heavy chain, CH] 도메인 및 불변 경쇄[constant light chain, CL] 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, CH 도메인은 서열 번호 45 내지 52 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 CH1 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, CH1 도메인은 서열 번호 45, 47, 및 49 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, CH1 도메인은 서열 번호 53 내지 55 및 57 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 힌지에 융합된다. 일부 구현예에서, CH1 도메인은 서열 번호 51에 기재된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, CH1 도메인은 아미노산 서열 ES 또는 서열 번호 56에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 힌지에 융합된다. 일부 구현예에서, 항체 CH1 도메인은 아미노산 서열 ES, ESK, 또는 서열 번호 53 내지 90 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 힌지에 융합된다. 일부 구현예에서, CL 도메인은 서열 번호 91 또는 92에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.

[0023] 일부 구현예에서, 항체는 다음을 포함한다. (i) 서열 번호 93에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 94에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄, (ii) 서열 번호 95에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 96에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄, (iii) 서열 번호 97에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 96에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄, (iv) 서열 번호 98에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 96에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄, 또는 (v) 서열 번호 99에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 100에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.

[0024] 또 다른 양태에서, 본 개시는 서열 번호 1의 아미노산 K231 내지 E369 내에 전체적으로 또는 부분적으로 위치한 에피토프에서 인간 트랜스페린 수용체에 결합하는 항체를 특징으로 한다. 일부 구현예에서, 항체는 서열 번호1의 잔기 K231, D245, L246, Y247, T248, P249, E350, G351, D352, C353, P354, S355, D356, K358, T359, D360, S361, R364, M365, V366, T367, 및 E369으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 잔기에 결합한다. 일부 구현예에서, 항체는 K231, D245 내지 P249, E244 내지 V250, E350 내지 S361, M349 내지 T362, R364 내지 E369, 그리고 C363 내지 S370으로 이루어진 군에서 선택되는, 서열 번호 1 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다.

[0025] 다른 양태에서, 본 개시는 서열 번호 1의 아미노산 D139 내지 K145 및 G490 내지 E582 내에 전체적으로 또는 부분적으로 위치한 에피토프에서 인간 트랜스페린 수용체에 결합하는 항체를 특징으로 한다. 일부 구현예에서, 항체는 서열 번호1의 잔기 D139, T141, K145, G490, T491, V517, T518, Y573, K574, I577, E578, R579, I580, P581, 및 E582으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 잔기에 결합한다. 일부 구현예에서, 항체는 임의의 다음 서열 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 서열 번호 1의 D139 내지 E369, D139 내지 E582, T141 내지 E369, T141 내지 E582, K145 내지 E369, K145 내지 E582, K231 내지 E369, K231 내지 E582, D245 내지 E369, D245 내지 E582, E350 내지 E369, E350 내지 E582, K358 내지 E369, K358 내지 E582, R364 내지 E369, R364 내지 E582, G490 내지 E582, V517 내지 E582, K573 내지 E582, I577 내지 E582, 또는 Y573 내지 E582. 일부 구현예에서, 항체는 임의의 다음 서열 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 서열 번호 1의 D139 내지 T141, D139 내지 K145, T141 내지 K145, T138 내지 K145, T138 내지 L146, G490 내지 T491, L489 내지 T491, L489 내지 S492, V517 내지 T518, P516 내지 T518, P516 내지 G519, Y573 내지 E582, Y573 내지 L583, T572 내지 E582, 또는 T572 내지 L583.

[0026] 또 다른 양태에서, 본 개시는 전술한 양태 중 어느 하나의 항체를 암호화하는 하나 또는 복수의 핵산을 특징으로 한다. 또 다른 추가 양태에서, 본 개시는 프로모터에 작동가능한 상태로 연결된 하나 또는 복수의 핵산을 포함하는 하나 또는 복수의 발현 벡터를 특징으로 한다. 또 다른 양태에서, 본 개시는 하나의 또는 복수의 핵산, 또는 하나의 또는 복수의 발현 벡터를 포함하는 단리된 세포를 특징으로 한다.

[0027] 또 다른 양태에서, 본 개시는 프로모터에 작동가능한 상태로 연결된 본 개시의 항체의 VH를 포함하는 제1 폴리펩타이드를 암호화하는 제1 핵산을 포함하는 제1 발현 벡터, 및 프로모터에 작동 가능하게 연결된 본 개시의 항체의 VL을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 제2 핵산을 포함하는 제2 발현 벡터를 포함하는 단리된 세포를 특징으로 한다.

[0028] 또 다른 추가 양태에서, 본 개시는 본 개시의 세포를 배양하는 것과 항체를 단리하는 것을 포함하는, 본 개시의 항체를 제작하는 방법을 특징으로 한다. 또 다른 양태에서, 본 개시는 본 개시의 항체 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학적 조성물을 특징으로 한다. 또 다른 양태에서, 본 개시는 본 개시의 항체 및 작용제

[agent]를 포함하는 접합체를 특징으로 한다.

[0029] 일부 구현예에서, 작용제는 핵산이다. 일부 구현예에서, 핵산은 RNA, siRNA, 안티센스 올리고뉴클레오타이드(antisense oligonucleotide), 마이크로RNA(microRNA, miRNA), 가이드 RNA(guide RNA, gRNA), 또는 포스포로아미데이트 모폴리노 올리고머(a phosphoroamidate morpholino oligomer, PMO)이다. 일부 구현예에서, 핵산은 안티센스 올리고뉴클레오타이드이다. 일부 구현예에서, 작용제는 링커를 통해 항체와 연결된다.

[0030] 또 다른 양태에서, 본 개시는 생체 내에서 작용제를 전달하는 방법을 특징으로 하되, 해당 방법은 본 개시의 접합체를 인간 대상에게 투여하는 방법을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, (a) 인간 대상은 근육 질환, 근위축 질환, 동맥경화 질환, 심장 관련 질환 또는 리소좀 축적 질환을 앓고 있고, 해당 방법은 근육 조직에 작용제를 전달하거나, (b) 인간 대상은 신경 장애(예를 들어, 뇌 질환)를 갖고, 해당 방법은 뇌 조직에 작용제를 전달하거나, (c) 인간 대상은 간 질환을 앓고 있고, 해당 방법은 간 세포에 작용제를 전달하거나, (d) 인간 대상은 암을 앓고 있고, 해당 방법은 암 세포에 작용제를 전달하거나, (e) 인간 대상은 면역 병태를 앓고 있고, 해당 방법은 면역 세포에 작용제를 전달한다.

도면의 간단한 설명

[0031] **도 1a** 내지 **1d**는 항체-A(ANTIBODY-A) 및 항체-B(ANTIBODY-B) 항-TfR1 항체 계열의 VH 및 VL 서열과 유니온 CDR(Union CDR)(밑줄 표시)의 정렬이다.

도 2a 내지 **2d**는 항체-A 및 항체-B 항-TfR1 계열 항체의 VH 및 VL 서열과 코티아 CDR(Chothia CDR)(밑줄 표시)의 정렬이다.

도 3은 3.4 Å 분해능에서 초저온 전자현미경 밀도에 구축된 내인성 리간드 트랜스페린의 존재하에 인간 트랜스페린 수용체에 결합한 인간화 항체-A Fab의 원자 모델이다.

도 4는 트랜스페린 수용체 정점 도메인[apical domain] 서열과 항체-A 에피토프의 부분 정렬이다. 인간 트랜스페린 수용체의 세포 외 도메인[ectodomain]에 결합된 항체-A의 초저온 전자현미경 구조에서 관찰된 항체-A Fab의 5 Å 내의 잔기는 회색으로 강조 표시된다. 인간 트랜스페린 수용체와 상이한 에피토프 잔기는 굵게 표시된다. 정확하게 보존된 잔기는 별표로 표시되고, 강하게 보존된 잔기는 콜론으로, 보통으로 보존된 잔기는 마침표로 표시된다. 서열의 공급원은 다음과 같다. 인간[호모 사피엔스(*Homo sapiens*), Uniprot P02786.2), 시노몰구스[마카사 파시쿨라리스(*Macaca fasciculars*), Uniprot G8F602], 마우스[무스 무스쿨러스(*Mus musculus*), GenBank NP_035768.1].

도 5는 3.96 Å 분해능에서 초저온 전자현미경 밀도로 쌓인 내인성 리간드 트랜스페린의 존재하에 인간 트랜스페린 수용체에 결합한 인간화 항체-B Fab의 원자 모델이다.

도 6은 트랜스페린 수용체 정점 도메인 서열과 항체-B 에피토프의 부분 정렬이다. 시노 트랜스페린 수용체 세포 외 도메인에 결합된 항체-B의 초저온 전자현미경 구조에서 관찰된 항체-B Fab의 5 Å 내의 잔기는 회색으로 강조 표시된다. 인간 트랜스페린 수용체와 상이한 에피토프 잔기는 굵게 표시된다. 정확하게 보존된 잔기는 별표로 표시되고, 강하게 보존된 잔기는 콜론으로, 보통으로 보존된 잔기는 마침표로 표시된다. 서열의 공급원은 다음과 같다. 인간[호모 사피엔스(*Homo sapiens*), Uniprot P02786.2), 시노몰구스[마카사 파시쿨라리스(*Macaca fasciculars*), Uniprot G8F602], 마우스[무스 무스쿨러스(*Mus musculus*), GenBank NP_035768.1].

도 7a는 단백 지수[protein index] 1('A'), 단백 지수 2('B'), 단백 지수 3('C') 및 단백 지수 4('D')에 상응하는 항체의 구조를 도시한다.

도 7b는 단백 지수 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 및 12에 상응하는 항체의 구조를 도시한다.

도 7c는 단백 지수 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 및 20에 상응하는 항체의 구조를 도시한다.

도 7d는 단백 지수 21에 상응하는 항체의 구조를 도시한다.

도 7e는 단백 지수 22에 상응하는 항체의 구조를 도시한다.

도 8a는 시노몰구스 트랜스페린 수용체[cynomolgus transferrin receptor, cyTfR]에 결합하는, 단백 지수 1, 2, 3 및 4에 의해 식별되는 항체를 도시하는 그래프이다.

도 8b는 인간 트랜스페린 수용체[human transferrin receptor, huTfR]에 결합하는, 단백 지수 1, 2, 3 및 4에 의해 식별되는 항체를 도시하는 그래프이다.

도 9a는 인간 트랜스페린 수용체에 결합하는, 단백 지수 1 및 2에 의해 식별되는 항체에 의한 트랜스페린 변위를 도시하는 그래프이다.

도 9b는 인간 트랜스페린 수용체에 결합하는, 단백 지수 3 및 4에 의해 식별되는 항체에 의한 트랜스페린 변위를 도시하는 그래프이다.

도 10은 인간 트랜스페린 수용체에 결합하는, 단백 지수 3('x') 및 단백 지수 14(삼각형)에 의해 식별되는 항체에 의한 트랜스페린 변위를 도시하는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 본 개시는 트랜스페린 수용체 1[transferrin receptor, TfR1]에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 관련 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 세포, 항체를 포함하는 조성물 및 접합체, 항체의 제조 방법, 그리고 조성물 및 접합체를 전달하는 방법 또한 제공된다. 본 개시는 신규한 항-TfR 항체를 사용하는 방법 또한 제공한다.

[0033] **정의**

[0034] 본원에 달리 정의되지 않는 한, 본 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용에 사용된 기술 및 과학 용어는 당업자가 일반적으로 이해하는 의미를 갖는다. 본 명세서를 해석할 목적으로 용어에 대한 다음 설명이 적용될 것이고, 적절한 경우 단수로 사용된 용어는 복수도 포함할 것이며, 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 기재된 용어에 대한 임의의 설명이 본원에 참조로 포함된 문서와 충돌하는 경우, 아래에 기재된 용어에 대한 설명이 우선한다.

[0035] 본원에 사용된 용어 '항체'는 적어도 하나의 항원 결합 부위를 통해 표적을 인식하여 결합하는 면역 글로불린 분자를 지칭한다. '항체'는 본원에서 가장 넓은 의미로 사용되며, '항체 단편' 및 '항원 결합 단편'을 포함하여 다양한 항체 구조를 포괄한다. 따라서, 용어 '항체는 원하는 항원 결합 활성을 나타내는 한, 재조합 항체, 단일클론항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체, 이중특이적 항체, 다중특이적 항체, 이량항체, 삼량항체[tribody], 사량항체[tetrabody], 단일 사슬 Fv[single chain Fv, scFv] 항체 및 항체 단편을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0036] 용어 '온전한 항체' 또는 '전장 항체'는 비변형 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖는 항체를 의미한다. 예를 들어, 이는 가변 영역 및 경쇄 불변 영역[light chain constant region, CL]을 각각 포함하는 두 개의 경쇄, 그리고 가변 영역 및 적어도 중쇄 불변 영역 CH1, CH2 및 CH3을 각각 포함하는 두 개의 중쇄, 그리고 CH1과 CH2 영역 사이의 힌지 영역을 포함하는 항체를 포함한다.

[0037] 본원에 사용된 용어 '항원 결합 단편'은 항체의 일부와 항원 결합 부위를 포함하는, 온전한 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예시는 Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, 단일 사슬 항체 분자[예를 들어, scFv, $sc(Fv)_2$], 이황화 연결 scFv[disulfide-linked scFv, dsscFv], 이량항체, 삼량항체, 사량항체, 미니바디(minibody), 이중 가변 도메인 항체[dual variable domain antibody, DVD], 단일 가변 도메인 항체(예를 들어, 낙타 항체) 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0038] 본원에 사용된 용어 '단일클론항체'는 단일 항원 결정 인자[single antigenic determinant] 또는 에피토프의 고도로 특이적인 인식 및 결합에 관여하는, 실질적으로 상동성인 항체 집단을 지칭한다. 용어 '단일클론항체'는 온전한 전장 단일클론항체 뿐만 아니라 항체 단편[예를 들어, Fab, Fab′ , $F(ab′)_2$, Fv], 단일 사슬 항체(예를 들어, scFv), 항체 단편을 포함하는 융합 단백질, 및 적어도 하나의 항원 결합 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 면역 글로불린 분자를 포괄한다. 나아가, '단일클론항체'는 하이브리도마 생산물, 페이지 라이브러리 디스플레이(phage library display), 재조합 발현 및 형질전환 동물을 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 수의 기술로 제작된 항체를 지칭한다.

[0039] 용어 '키메라 항체'는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 제1 공급원 또는 종[species]에서 유래하는 반면, 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지 부분은 다른 공급원 또는 종에서 유래하는 항체를 지칭한다.

[0040] 본원에 사용된 용어 '인간화 항체'는 인간 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체를 지칭하되, 비변형 CDR 아미노산 잔기는 비인간 항체(예를 들어, 마우스, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류)의 상응하는 CDR의

잔기로 대체되고, 비인간 항체는 원하는 특이성, 친화성, 및/또는 활성을 갖는다. 일부 구현예에서, 인간 중쇄 또는 경쇄 가변 영역의 하나 이상의 프레임워크 영역 아미노산 잔기는 비인간 항체의 상응하는 잔기로 대체된다. 나아가, 인간화 항체는 인간 항체 또는 비인간 항체에서는 발견되지 않는 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 이러한 변형은 항체 특성을 더욱 개선하고/하거나 최적화하기 위해 이루어진다. 일부 구현예에서, 인간화 항체는 면역 글로불린 불변 영역(예를 들어, CH1, 힌지, CH2, CH3, Fc)의 적어도 일부, 일반적으로는 인간 면역 글로불린의 적어도 일부를 포함한다.

[0041] 본원에 사용된 용어 '인간 항체'는 인간에 의해 생산된 항체에 상응하는 아미노산 서열을 보유하는 항체 및/또는 인간 항체를 제작하기 위해 당업자에게 공지된 임의의 기술을 사용하여 제작된 항체를 지칭한다. 이들 기술은 페이지 디스플레이 라이브러리, 효모 디스플레이 라이브러리, 형질전환 동물, 재조합 단백질 생산, 및 B 세포 하이브리도마 기술을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0042] 용어 '에피토프' 및 '항원 결정 인자'는 본원에서 상호교환 가능하게 사용되고, 특정 항체에 의해 인식되고 결합될 수 있는 항원 또는 표적의 일부를 지칭한다. 항원 또는 표적이 폴리펩타이드인 경우, 에피토프는 단백질의 삼차 접힘에 의해 병치된 연속 아미노산 및 비연속 아미노산 모두로부터 형성될 수 있다. 연속 아미노산으로부터 형성된 에피토프(선형 에피토프로도 지칭됨)는 일반적으로 단백질 변성 시 유지되는 반면, 삼차 접힘에 의해 형성된 에피토프(구조적 에피토프로도 지칭됨)는 일반적으로 단백질 변성 시 손실된다. 에피토프는 고유한 공간 형태에 적어도 세 개 이상, 대개는 적어도 다섯 개, 여섯 개, 일곱 개 또는 여덟 내지 열 개의 아미노산 서열을 일반적으로 포함한다. 에피토프는 인터넷에서 이용가능한 수많은 소프트웨어 생물정보학 도구 중 임의의 하나를 사용하여 예측할 수 있다. X선 결정학 또는 전자 현미경(예를 들어, 초저온 전자현미경)을 사용하여 항원/항체 복합체의 아미노산 잔기 상호작용을 분석함으로써 표적 단백질의 에피토프를 특성 분석할 수 있다.

[0043] 본원에 사용된 용어 '특이적으로 결합하다' 또는 '결합하다'는 대체 물질보다 특정 항원, 에피토프, 단백질, 또는 표적 분자에 대해 보다 빈번하게, 보다 신속하게, 보다 긴 지속 시간으로, 보다 큰 친화성으로, 또는 전술한 것들의 일부 조합으로 상호작용하는 항체를 지칭한다. 항원에 특이적으로 결합하는 항체는 예를 들어, 면역검정, ELISA, 표면 플라즈몬 공명[surface plasmon resonance, SPR], 또는 당업자에게 공지된 다른 기술에 의해 식별될 수 있다. 일부 구현예에서, 항원(예를 들어, 인간 TfR1)에 특이적으로 결합하는 항체는 관련 항원(예를 들어, 시노 TfR1)에 결합할 수 있다. 항원에 특이적으로 결합하는 항체는 다른 항원에 대한 친화성보다 높은 친화성으로 표적 항원에 결합할 수 있다. 다른 항원은 관련 항원일 수 있다. 일부 구현예에서, 항원에 특이적으로 결합하는 항체는 다른 항원에 대한 친화성보다 적어도 20배 초과하거나, 적어도 30배 초과하거나, 적어도 40배 초과하거나, 적어도 50배 초과하거나, 적어도 60배 초과하거나, 적어도 70배 초과하거나, 적어도 80배 초과하거나, 적어도 90배 초과하거나, 적어도 100배 초과하는 친화성으로 표적 항원에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 특정 항원에 특이적으로 결합하는 항체는 본원에 기술되거나 당업계에 공지된 검정을 사용해서는 결합을 검출할 수 없을 정도로 낮은 친화성으로 다른 항원에 결합한다. 일부 구현예에서, 친화성은 본원에 기술되거나 당업자에게 공지된 바와 같이 Biacore 시스템에서 SPR 기술을 사용하여 측정된다.

[0044] 용어 '폴리펩타이드' 및 '펩타이드' 및 '단백질'은 본원에서 상호교환 가능하게 사용되고, 임의의 길이의 아미노산 중합체를 지칭한다. 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있고, 변형된 아미노산을 포함할 수 있으며, 비아미노산에 의해 중단될 수 있다. 본 용어는 또한 자연적으로 또는 간섭[intervention], 예를 들어, 이황화 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 임의의 다른 조작 또는 변형에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포함한다. 예를 들어, 비자연적인 아미노산뿐만 아니라 당업계에 공지된 다른 변형을 포함하지만 이에 제한되지 않는 아미노산의 유사체를 하나 이상 포함하는 폴리펩타이드 또한 본 정의 내에 포함된다. 본 개시의 폴리펩타이드는 항체에 기반할 수 있기 때문에, 용어 '폴리펩타이드'는 단일 사슬로서의 폴리펩타이드 및 두 개 이상의 연관 사슬의 폴리펩타이드를 포함하는 것으로 이해된다.

[0045] 용어 '폴리뉴클레오타이드' 및 '핵산' 및 '핵산 분자'는 본원에서 상호교환 가능하게 사용되고, 임의의 길이의 뉴클레오타이드 중합체를 지칭하며, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오타이드는 디옥시리보뉴클레오타이드, 리보뉴클레오타이드, 변형된 뉴클레오타이드 또는 염기, 및/또는 이의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 중합효소에 의해 중합체에 통합될 수 있는 임의의 기질일 수 있다.

[0046] 두 개 이상의 핵산 또는 폴리펩타이드에 대한 맥락에서, 용어 '동일한' 또는 백분율 '동일성'은 최대 상응성을 위해 (필요한 경우, 간격을 추가하여) 비교 및 정렬되었을 때 동일하거나 특정 백분율의 동일한 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기를 갖는 두 개 이상의 서열 또는 하위서열을 지칭하고, 이때 서열 동일성의 부분으로서 보존적 아미노산 치환은 고려하지 않는다. 백분율 동일성은 서열 비교 소프트웨어 또는 알고리즘을 사용하거나 육안

검사를 통해 측정할 수 있다. 아미노산 또는 뉴클레오타이드 서열 정렬을 얻기 위해 사용될 수 있는 다양한 알고리즘 및 소프트웨어는 당업계에 널리 공지되어 있다. 이는 BLAST, ALIGN, Megalign, BestFit, GCG Wisconsin Package 및 이의 변형을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 본 개시의 두 개의 핵산 또는 폴리펩타이드는 실질적으로 동일하며, 이는 서열 비교 알고리즘을 사용하거나 육안 검사로 측정했을 때 최대 상응성을 위해 비교하고 정렬할 시, 이들이 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 그리고 일부 구현예에서는 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기 동일성을 갖는다는 것을 의미한다. 일부 구현예에서, 동일성은 길이가 적어도 약 10개, 적어도 약 20개, 적어도 약 20 내지 40개, 적어도 약 40 내지 60개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기, 적어도 약 60 내지 80개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기 또는 그 사이의 임의의 정수 값인 서열 영역에 걸쳐 존재한다. 일부 구현예에서, 동일성은 60 내지 80개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기, 예컨대, 적어도 약 80 내지 100개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기보다 긴 영역에 걸쳐 존재하고, 일부 구현예에서 서열은 비교되는 서열, 예를 들어, (i) 뉴클레오타이드 서열의 코딩 영역 또는 (ii) 아미노산 서열의 전체 길이에 걸쳐 실질적으로 동일하다.

[0047] 본원에 사용된 구절 '보존적 아미노산 치환'은 하나의 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 다른 아미노산 잔기로 대체되는 치환을 지칭한다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 계열은 일반적으로 당업계에 정의되어 있으며, 염기성 측쇄(예를 들어, 라이신, 아르지닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파트산, 글루탐산), 비전하 극성 측쇄(예를 들어, 글리신, 아스파라진, 글루타민, 세린, 트레오닌, 타이로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 아이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어, 타이로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 포함한다. 예를 들어, 타이로신을 페닐알라닌으로 치환하는 것은 보존적 치환으로 간주된다. 일반적으로, 폴리펩타이드 및/또는 항체 서열의 보존적 치환은 표적 결합 부위에 대한 폴리펩타이드 또는 항체의 결합을 저해하지 않는다. 결합을 제거하지 않는 뉴클레오타이드 및 아미노산 보존적 치환을 식별하는 방법은 당업계에 공지되어 있다.

[0048] 본원에 사용된 용어 '벡터'는 숙주 세포에서 하나 이상의 관심 유전자(들) 또는 서열(들)을 전달할 수 있고 대개 발현시킬 수 있는 작제물을 의미한다. 벡터의 예시는 바이러스 벡터, 노출[naked] DNA 또는 RNA 발현 벡터, 플라스미드, 코스미드 또는 파지 벡터, 양이온 축합제와 연관된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 및 리포솜에 캡슐화된 DNA 또는 RNA 발현 벡터를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0049] 본원에 사용된 용어 '단리되다'는 자연에서 발견되지 않는 형태의 폴리펩타이드, 가용성 단백질, 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 세포 또는 조성물을 지칭한다. '단리된' 항체는 이것이 유래한 세포 공급원의 물질을 실질적으로 갖지 않는다. 일부 구현예에서, 단리된 폴리펩타이드, 가용성 단백질, 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 세포 또는 조성물은 자연에서 더 이상 발견되는 형태가 아닌 정도로 정제되었다. 일부 구현예에서, 단리된 폴리펩타이드, 가용성 단백질, 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 세포 또는 조성물은 실질적으로 순수하다. 폴리펩타이드, 가용성 단백질, 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 세포 또는 조성물은 자연적인 공급원(예를 들어, 조직) 또는 유전자 조작된 세포주와 같은 공급원에서 단리될 수 있다.

[0050] 본원에 사용된 용어 '실질적으로 순수한'은 적어도 50% 순수하거나(즉, 오염물질이 없거나), 적어도 90% 순수하거나, 적어도 95% 순수하거나, 적어도 98% 순수하거나, 적어도 99% 순수한 물질을 지칭한다.

[0051] 본원에 사용된 용어 '약학적으로 허용되는'은 규제 기관에 의해 승인되었거나 승인 가능하거나, 미국 약전, 유럽 약전 또는 인간을 포함한 동물에 사용하기 위해 일반적으로 인식되는 기타 약전에 등재된 물질을 지칭한다.

[0052] 본원에 사용된 용어 '약학적으로 허용되는 부형제, 담체, 또는 보조제'는 본 개시의 적어도 하나의 항체와 함께 대상에게 투여될 수 있고, 일반적으로 안전하고 비독성이며, 치료제의 약리학적 활성에 영향을 미치지 않는 부형제, 담체 또는 보조제를 지칭한다. 일반적으로, 당업자 및 미국 FDA는 약학적으로 허용되는 부형제, 담체, 또는 보조제가 임의의 제형의 불활성 성분인 것으로 간주한다.

[0053] 본원에 사용된 용어 '약학적 조성물'은 항체의 생물학적 활성이 효과적이도록 하는 형태의 제제[preparation]를 지칭한다. 약학적 제형 또는 조성물은 일반적으로 약학적으로 허용되는 부형제, 담체, 보조제, 완충제 등과 같은 추가 성분을 포함한다.

[0054] 본원에 사용된 용어 '접합체'는 두 물질이 공유 결합에 의해 연결된 조합(예를 들어, 치료제에 접합된 본 개시의 항체)을 지칭한다. 접합체에서, 두 물질은 직접 연결될 수 있거나 링커를 통해 연결될 수 있다. 본 개시내용에서, 두 물질 중 하나는 본 개시의 항체이고, 다른 하나는 약물(예를 들어, 생리학적 활성물질)이다. 링커는

절단성 링커 또는 비절단성 링커일 수 있다.

[0055] 본원에 사용된 용어 '유효량' 또는 '치료 유효량'은 관심 조직에 도달하는 데 필요한 본 개시의 항체의 양, 또는 접합체, 융합 단백질 또는 폴리펩타이드, 또는 본 개시의 항체를 포함하는 복합체의 양 및 (i) 대상의 질환, 대상의 장애 또는 병태, 및/또는 (ii) 대상의 증상의 중증도 및/또는 기간을 감소시키고/시키거나 개선하기에 충분한 치료제의 양을 지칭한다. 본 용어는 또한 (i) 특정 질환, 장애 또는 병태의 진행 또는 진전의 감소 또는 개선, (ii) 특정 질환, 장애 또는 병태의 재발, 발달, 또는 발병의 감소 또는 개선, 및/또는 (iii) 다른 작용제 또는 치료제(예를 들어, 본원에 제공된 접합체 이외의 작용제)의 예방 또는 치료 효과의 개선 또는 향상에 필요한 접합체의 양을 포괄한다.

[0056] 본원에 사용된 용어 '치료 효과'는 작용제, 예를 들어, 항체, 접합체, 융합 단백질 또는 폴리펩타이드, 또는 (i) 대상의 질환, 장애, 또는 병태 및/또는 (ii) 대상의 증상의 중증도 및/또는 기간을 감소시키고/시키거나 개선하는 항체를 포함하는 복합체의 효과 및/또는 능력을 지칭한다. 본 용어는 또한 (i) 특정 질환, 장애, 병태를 감소 또는 개선하고/하거나, (ii) 특정 질환, 장애, 또는 병태의 재발, 발달, 또는 발병을 감소 또는 개선하고/하거나, (iii) 다른 작용제 또는 치료법(예를 들어, 본원에 제공된 접합체 외의 작용제)의 예방 또는 치료 효과를 개선 또는 향상하기 위한 작용제, 예를 들어, 접합체의 능력을 포괄한다.

[0057] 본원에 사용된, '약' 또는 '대략'의 값 또는 매개변수에 대한 지칭은 해당 값 또는 매개변수에 관한 구현예를 포함(및 설명)한다. 예를 들어, '약 X'에 관한 설명에는 'X'에 관한 설명이 포함된다. '약 X'는 X의 +/- 10%를 의미한다. 따라서, '약 10'은 9 내지 11의 값을 의미한다.

[0058] **TfR1 및 항-TfR1 항체**

[0059] CD71로도 알려진 트랜스페린 수용체는 인체의 다양한 부위에서 다양한 수준으로 발현되는 막관통 당단백질로, 그 기능은 혈장 당단백질인 트랜스페린에서 세포의 철 흡수를 매개하는 것이다. 트랜스페린에서의 철 흡수는 트랜스페린 수용체에 대한 트랜스페린의 결합, 수용체 매개 세포내섭취[endocytosis]에 의한 세포내섭취 소포 내의 트랜스페린의 내재화, 및 엔도솜 pH의 감소에 의한 단백질에서 철의 방출을 포함한다. 문헌[Ponka P, Lok CN., Int J Biochem Cell Biol. 1999 Oct;31(10):1111-37] 및 문헌[Xiaopeng Mo, in Brain Targeted Drug Delivery System, 2019]. TfR은 근육(예를 들어, 심근 및 비복근)에서 높게 발현된다. 아포트랜스페린(즉, 비철[non-iron] 접합체)은 두 개의 Fe 3+ 이온과 결합할 때 TfR에 결합하여 홀로트랜스페린(즉, 철[iron] 접합체)을 형성한다. TfR과 홀로트랜스페린의 복합체는 수용체 매개 세포내섭취에 의해 세포 내로 전좌된다. CD71과 트랜스페린은 엔도솜 환경에서 해리되고, 트랜스페린은 세포 안으로 이동하는 반면 CD71은 세포막으로 재활용된다. 따라서, 트랜스페린은 TfR에 대한 적절한 결합과 적절한 해리를 통해 세포 내로 전좌되는 것으로 생각된다. 트랜스페린 수용체 시스템은 항암제와 단백질, 치료 유전자를 악성 세포에 전달하고 다른 치료제를 혈액뇌장벽을 통해 뇌로 전달하는 데 활용되어 왔다.

[0060] 인간과 시노몰구스 원숭이[cynomolgus monkey]에서는 두 가지 트랜스페린 수용체인 TfR1과 TfR2가 특성 분석되었다. TfR1은 편재적으로 발현되는 고친화성 수용체인 반면, TfR2의 발현은 특정 세포 유형으로 제한되고 세포 내 철 농도에 영향을 받지 않는다. TfR2는 TfR1보다 25 내지 30배 낮은 친화성으로 트랜스페린에 결합한다. 본 개시의 항체는 TfR1에 결합한다.

[0061] 인간 TfR1(UniProt No. P02786.2), 시노몰구스 원숭이 TfR1('시노' TfR1 (Genbank No. XP_005545315.1), 및 마우스 TfR1(Genbank No. Np_035768.1)에 대한 대표적인 아미노산[amino acid, aa] 서열은 각각 서열 번호 1, 서열 번호 2, 및 서열 번호 3으로 본원에 제공된다. 본원에 사용된, TfR1의 아미노산 위치에 대한 언급은 신호 서열을 포함하는 아미노산 서열의 넘버링을 지칭한다. 인간 TfR1, 시노 TfR1 및 마우스 TfR1의 서열은 다음과 같다.

[0062] 인간 TfR1(UniProt No. P02786.2; 서열 번호 1)

[0063] MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLAVDEEENADNNTKANVTKPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLGYCKGVEPKTECERLA
GTESPVREEPGEDFPAARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFTGTIKLLNENSYVPREAGSQKDENLALYVENQFREFKLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVD
KNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTG
DPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQ
RDAWGPGAAKSGVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFGSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTM
QNVKHPVTGQFLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYE
RYNSQLLSFVRDLNQYRADIKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRVMRVEYHFLSPYVSPKESPFRHVFWGSGSHTLPALLE

NLKLRKQNNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF

[0064] 시노 TfR1(UniProt No. G8F602; 서열 번호 2)

[0065] MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLAVDDEENADNNTKANGTKPKRCGGNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLGYCKGVEPKTECERLA
GTESPAREEPEEDFPAAPRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQFREFKLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVD
KNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKADLSFFGHAHLGTG
DPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQ
RDAWGPGAAKSSVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFGSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTM
QDVKHPVTGRSLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTHDTELNLDYE
RYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFRNAEKRDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKESPFRHVFWGSGSHTLSALLE
SLKLRRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF

[0066] 마우스 TfR1(Genbank No. NP_035768.1; 서열 번호 3)

[0067] MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLAADEEENADNNMKASVRKPKRFNGRLCFAAIALVIFFLIGFMSGYLGYCKRVEQKEECVKLA
ETEETDKSETMETEDVPTSSRLYWADLKTLLSEKLNSIEFADTIKQLSQNTYTPREAGSQKDESLAYYIENQFHEFKFSKVWRDEHYVKIQVKSSIGQNMVT
IVQSNGNLDPVESPEGYVAFSKPTEVSGKLVHANFGTKKDFEELSYSVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAQSFNAIGVLIYMDKNKFPVVEADLALFGHAHLG
TGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGKMEGSCPARWNIDSSCKLELSQNQNVKLIVKNVLKERRILNIFGVIKGYEEPDRYVVVG
AQRDALGAGVAAKSSVGTGLLLKLAQVFSDMISKDGFRPSRSIIFASWTAGDFGAVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKVVLGTSNFKVSASPLLYTLMG
KIMQDVKHPVDGKSLYRDSNWISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDADYPYLGTRLDTYEALTQKVPQLNQMVRTAAEVAGQLIIKLTHDVELNL
DYEMYNSKLLSFMKDLNQFKTDIRDMGLSLQWLYSARGDYFRATSRLTTDFHNAEKTNRFVMREINDRIMKVEYHFLSPYVSPRESPFRHIFWGSGSHTLSA
LVENLKLRQKNITAFNETLFRNQLALATWTIQGVANALSGDIWNIDNEF

[0068] 본 개시는 TfR1에 결합하는 항체를 제공한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TfR1의 단편에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TfR1의 세포 외 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TfR1의 단백질분해효소-유사 도메인, 나선형 도메인[helical domain], 및/또는 정점 도메인[apical domain]에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TfR1의 구조적 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TfR1의 정점 도메인에 위치하는 구조적 에피토프[conformational epitope]에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TfR1의 단백질분해효소-유사 도메인에 위치한 구조적 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TfR1의 나선형 도메인에 위치하는 구조적 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 인간 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 시노 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 인간 TfR1 및 시노 TfR1에 결합한다.

[0069] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 1의 아미노산 K231 내지 E369 내에서 인간 TfR1에 전체적으로 또는 부분적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 1의 아미노산 K231 내지 E369 내의 아미노산을 포함하는 에피토프에서 인간 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 1의 아미노산 K231 내지 E369 내의 적어도 하나의 아미노산에 결합한다.

[0070] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 1의 아미노산 D139 내지 K145 및 G490 내지 E582에서 인간 TfR1에 전체적으로 또는 부분적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 1의 D139 내지 K145 및 G490 내지 E582 내의 아미노산을 포함하는 에피토프에서 인간 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 1의 D139 내지 K145 및 G490 내지 E582 내의 적어도 하나의 아미노산에 결합한다.

[0071] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 인간 또는 시노몰구스 TfR1의 비연속적 에피토프에 특이적으로 결합한다. 하나의 경우에, 항-TfR1 항체는 인간 TfR1에 특이적으로 결합하되, 항체는 잔기 K231, D245, L246, Y247, T248, P249, E350, G351, D352, C353, P354, S355, D356, K358, T359, D360, S361, R364, M365, V366, T367, 및 E369로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 잔기에 결합한다. 또 다른 경우에, 항-TfR1 항체는 시노몰구스 TfR1에 특이적으로 결합하되, 항체는 잔기 K231, D245, L246, D247, S248, P249, E350, G351, D352, C353, P354, S355, D356, K358, T359, D360, S361, K364, M365, V366, T367, 및 E369으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 잔기에 결합한다. 하나의 경우에, 항-TfR1 항체는 인간 TfR1에 특이적으로 결합하되, 항체는 잔기 D139, T141, K145, G490, T491, V517, T518, Y573, K574, I577, E578, R579, I580, P581, 및 E582으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 잔기에 결합한다. 또 다른 경우에, 항-TfR1 항체는 시노몰구스 TfR1에 특이적으로 결합하되, 항체는 잔기 D139, T141, K145, G490, T491, V517, T518, Y573, K574, V577, E578, R579, I580, P581, 및 E582으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 잔기에 결합한다.

[0072] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 1의 아미노산 D139 내지 E582 내의 하나 이상의 아미노산에서 인간 TfR1에 결합하고, 하나 이상의 아미노산은 임의의 다음 서열 내에 있다. D139 내지 E369, D139 내지 E582, T141 내지 E369, T141 내지 E582, K145 내지 E369, K145 내지 E582, K231 내지 E369, K231 내지 E582, D245 내지 E369, D245 내지 E582, E350 내지 E369, E350 내지 E582, K358 내지 E369, K358 내지 E582, R364 내지 E369, R364 내지 E582, G490 내지 E582, V517 내지 E582, K573 내지 E582, I577 내지 E582, 및/또는 Y573 내지 E582.

[0073] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 1의 하나 이상의 다음 아미노산에서 인간 TfR1에 결합한다. K231, D245 내지 P249, E244 내지 V250, E350 내지 S361, M349 내지 T362, R364 내지 E369, 및/또는 C363 내지 S370.

[0074] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 1의 아미노산 K231 내지 S370 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다.

[0075] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 1의 아미노산 D139 내지 L583 내의 하나 이상의 아미노산에서 인간 TfR1에 결합하고, 하나 이상의 아미노산은 임의의 다음 서열 내에 있다. D139 내지 T141, D139 내지 K145, T141 내지 K145, T138 내지 K145, T138 내지 L146, G490 내지 T491, L489 내지 T491, L489 내지 S492, V517 내지 T518, P516 내지 T518, P516 내지 G519, Y573 내지 E582, Y573 내지 L583, T572 내지 E582, 및/또는 T572 내지 L583.

[0076] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 인간 TfR1(서열 번호 1)의 아미노산 607 내지 760에 걸쳐 있는 영역 내의 하나 이상의 잔기에 결합한다. 예를 들어, 항체는 인간 TfR1의 아미노산 607 내지 730, 607 내지 700, 607 내지 670, 640 내지 760, 640 내지 730, 640 내지 700, 670 내지 760, 670 내지 730, 700 내지 760, 또는 730 내지 760에 걸쳐 있는 영역 내의 하나 이상의 잔기에 결합한다.

[0077] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 인간 TfR1(서열 번호 1)의 아미노산 189 내지 383에 걸쳐 있는 영역 내의 하나 이상의 잔기에 결합한다. 예를 들어, 항체는 인간 TfR1의 아미노산 189 내지 350, 189 내지 320, 189 내지 290, 189 내지 260, 189 내지 230, 220 내지 383, 220 내지 350, 220 내지 320, 220 내지 290, 220 내지 260, 230 내지 383, 230 내지 350, 230 내지 320, 230 내지 290, 230 내지 260, 240 내지 383, 240 내지 350, 240 내지 320, 240 내지 290, 240 내지 260, 250 내지 383, 250 내지 350, 250 내지 320, 250 내지 290, 280 내지 383, 280 내지 350, 280 내지 320, 310 내지 383, 310 내지 350, 330 내지 383, 330 내지 370, 340 내지 370, 340 내지 383, 350 내지 370, 또는 350 내지 383에 걸쳐 있는 영역 내의 하나 이상의 잔기에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 인간 TfR1의 아미노산 208 내지 348에 걸쳐 있는 영역 내의 하나 이상의 잔기에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 인간 TfR1의 아미노산 340 내지 370에 걸쳐 있는 영역 내의 하나 이상의 잔기에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 인간 TfR1의 아미노산 190 내지 230에 걸쳐 있는 영역 내의 하나 이상의 잔기에 결합한다.

[0078] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 인간 TfR1(서열 번호 1)의 아미노산 122 내지 188에 걸쳐 있는 영역 내의 하나 이상의 잔기에 결합한다. 예를 들어, 항체는 인간 TfR1의 아미노산 122 내지 170, 122 내지 150, 130 내지 188, 130 내지 170, 130 내지 150, 140 내지 188, 140 내지 170, 150 내지 188, 또는 150 내지 170에 걸쳐 있는 영역 내의 하나 이상의 잔기에 결합한다.

[0079] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 인간 TfR1(서열 번호 1)의 아미노산 384 내지 606에 걸쳐 있는 영역 내의 하나 이상의 잔기에 결합한다. 예를 들어, 항체는 인간 TfR1의 아미노산 384 내지 570, 384 내지 540, 384 내지 510, 384 내지 480, 384 내지 450, 384 내지 420, 410 내지 606, 410 내지 570, 410 내지 540, 410 내지 510, 410 내지 480, 410 내지 450, 440 내지 606, 440 내지 570, 440 내지 540, 440 내지 510, 440 내지 480, 470 내지 606, 470 내지 590, 470 내지 570, 470 내지 540, 470 내지 510, 490 내지 606, 490 내지 590, 490 내지 570, 490 내지 540, 490 내지 510, 510 내지 606, 510 내지 590, 510 내지 570, 510 내지 540, 540 내지 606, 540 내지 590, 540 내지 570, 570 내지 590, 또는 570 내지 606에 걸쳐 있는 영역 내의 하나 이상의 잔기에 결합한다.

[0080] 일부 구현예에서, 항-TfR1 Ab(예를 들어, 본원에 기술된 항체 A 또는 항체 B)는 TfR1의 세포 외 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 Ab(예를 들어, 본원에 기술된 항체 A 또는 항체 B)는 TfR1의 단백질분해효소-유사 도메인, 나선형 도메인, 및/또는 정점 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 Ab(예를 들어, 본원에 기술된 항체 A 또는 항체 B)는 TfR1의 구조적 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 Ab(예를 들어, 본원에 기술된 항체 A 또는 항체 B)는 TfR1의 정점 도메인에 위치한 구조적 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 Ab(예를 들어, 본원에 기술된 항체 A 또는 항체 B)는 TfR1의 단백질분해효소-유사 도메인

에 위치한 구조적 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 Ab(예를 들어, 본원에 기술된 항체 A 또는 항체 B)는 TfR1의 나선형 도메인에 위치한 구조적 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 Ab(예를 들어, 본원에 기술된 항체 A 또는 항체 B)는 인간 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 Ab(예를 들어, 본원에 기술된 항체 A 또는 항체 B)는 시노 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 Ab(예를 들어, 본원에 기술된 항체 A 또는 항체 B)는 인간 TfR1 및 시노 TfR1에 결합한다.

[0081] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 재조합 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 단일클론항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 키메라 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 인간화 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 인간 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 IgA, IgD, IgE, IgG, 또는 IgM 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 IgG 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 IgG1 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 IgG2 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 IgG3 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 IgG4 항체이다. 일부 경우에, 항체는 인간 카파(kappa) 경쇄 불변 영역을 포함한다. 다른 구현예에서, 항체는 인간 람다(lambda) 경쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는 항원 결합 부위를 포함하는 항체 단편이다. 일부 구현예에서, 항체는 scFv이다. 일부 구현예에서, 항체는 이황화 결합된 scFv이다. 일부 구현예에서, 항체는 이중특이적 항체 또는 다중특이적 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 1가 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 단일특이적 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 2가 항체이다.

[0082] 일부 경우에, 항체는 Fab, Fab', $F(ab)_2$, scFv, $sc(Fv)_2$, 이량항체, 또는 나노바디이다. 일부 구현예에서, 항체 또는 항원 결합 단편(예를 들어, Fab)의 사슬 간 이황화물이 제거된다. Fab 또는 Fab'는 가변 중쇄[VH] 및 가변 경쇄 도메인[VL]을 포함한다.

[0083] 일부 구현예에서, 항체는 단리된다. 일부 구현예에서, 항체는 실질적으로 순수하다.

[0084] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 단일클론항체이다. 단일클론항체는 당업자에게 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 일부 구현예에서, 단일클론항체는 당업자에게 공지된 하이브리도마 방법을 사용하여 제조된다. 예를 들어, 하이브리도마 방법을 사용하여, 마우스, 래트, 토끼, 햄스터 또는 기타 적절한 숙주 동물을 전술한 바와 같이 면역화한다. 일부 구현예에서, 림프구는 시험관 내에서 면역화된다. 일부 구현예에서, 면역화 항원은 인간 단백질 또는 이의 단편이다. 일부 구현예에서, 면역화 항원은 시노 단백질 또는 이의 단편이다.

[0085] 면역화 후, 림프구를 단리하고 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜을 사용하여 적합한 골수종 세포주와 융합한다. 하이브리도마 세포는 당업계에 공지된 특수 배지를 사용하여 선택되며, 융합되지 않은 림프구 및 골수종 세포는 선택 과정에서 살아남지 못한다. 선택된 항원에 대한 단일클론항체를 생산하는 하이브리도마는 면역침강법[immunoprecipitation], 면역블러팅법[immunobloting] 및 시험관 내 결합 검정[예를 들어, 유세포 분석, FACS, ELISA, SPR(예를 들어, Biacore)및 방사면역측정법[radioimmunoassay]]을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 방법으로 식별할 수 있다. 원하는 특이성, 친화성 및/또는 활성의 항체를 생산하는 하이브리도마 세포가 식별되면, 한계희석법[limiting dilution] 또는 기타 기술을 통해 클론을 서브클로닝할 수 있다. 하이브리도마는 표준 방법을 사용하여 시험관 내 배양에서, 또는 동물의 복수 종양으로서 생체 내에서 증식될 수 있다. 단일클론항체는 친화성 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 겔 전기영동 및 투석을 포함하지만 이에 제한되지 않는 당업계의 표준 방법에 따라 배양 배지 또는 복수액으로부터 정제될 수 있다.

[0086] 일부 구현예에서, 단일클론항체는 당업자에게 공지된 재조합 DNA 기술을 사용하여 제작된다. 예를 들어, 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자를 특이적으로 증폭시키는 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 사용하는 RT-PCR과 같은 방법으로 성숙한 B 세포 또는 하이브리도마 세포로부터 단리되고, 그 서열은 표준 기술을 사용하여 결정된다. 대장균[*E. coli*], 유인원 COS 세포, 중국 햄스터 난소[Chinese hamster ovary, CHO] 세포 또는 달리 면역 글로불린 단백질을 생성하지 않는 골수종 세포와 같은 숙주 세포 내로 형질감염될 때, 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오타이드는 단일클론항체를 생성하는 적합한 발현 벡터로 클로닝된다.

[0087] 일부 구현예에서, 재조합 단일클론항체는 원하는 종의 가변 도메인 또는 CDR을 발현하는 페이지 디스플레이 라이브러리로부터 단리된다. 페이지 라이브러리의 스크리닝은 당업계에 공지된 다양한 기술에 의해 완수할 수 있다.

[0088] 일부 구현예에서, 단일클론항체는 대체 항체를 생성하기 위해 재조합 DNA 기술을 사용하여 변형된다. 일부 구현예에서, 마우스 단일클론항체의 경쇄 및 중쇄 불변 도메인은 인간 항체의 불변 영역으로 대체되어 키메라 항체를 생성한다. 일부 구현예에서, 불변 영역은 절단되거나 제거되어 단일클론항체의 원하는 항체 단편을

생성한다. 일부 구현예에서, 가변 영역(들)의 특정 부위 돌연변이 유발[site-directed mutagenesis] 또는 고밀도 돌연변이 유발[high-density mutagenesis]을 사용하여 단일클론항체의 특이성 및/또는 친화성을 최적화한다.

[0089] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 인간화 항체이다. 인간화 항체를 생성하기 위한 다양한 방법이 당업계에 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 인간화 항체는 비인간 공급원에서 이의 서열로 도입된 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화는 인간 항체의 상응하는 CDR 서열을 하나 이상의 비인간 CDR 서열로 치환함으로써 수행된다. 일부 구현예에서, 인간화 항체는 인간 항체의 상응하는 CDR을 비인간 항체(예를 들어, 마우스 항체)의 모든 여섯 개 CDR로 치환함으로써 작제된다.

[0090] 인간화 항체를 생성하기 위해 사용되는 인간 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역의 선택은 다양한 요인에 기반하고 당업계에 공지된 다양한 방법에 의해 이루어질 수 있다. 일부 구현예에서, 공지된 인간 가변 영역 서열의 전체 라이브러리에 대해 비인간(예를 들어, 설치류) 항체의 가변 영역 서열을 스크리닝하는 '최적 적합[best-fit]' 방법이 사용된다. 비인간(예를 들어, 설치류) 서열과 가장 유사한 인간 서열이 인간화 항체에 대한 인간 가변 영역 프레임워크로 선택된다. 일부 구현예에서, 경쇄 또는 중쇄의 특정 하위집단의 모든 인간 항체의 공통 서열[consensus sequence]에서 유래한 특정 가변 영역 프레임워크가 가변 영역 프레임워크로 선택된다. 일부 구현예에서, 가변 영역 프레임워크 서열은 가장 풍부한 인간 하위클래스의 공통 서열에서 유래한다. 일부 구현예에서, 인간 생식세포계열 유전자는 가변 영역 프레임워크 서열의 공급원으로서 사용된다.

[0091] 기타 인간화 방법은 (i) 인간 생식세포계열 프레임워크로 CDR을 직접 전달하는 것으로 기술되는 '초인간화[superhumanization]'라고 하는 방법, (ii) '항체 인간화[antibody humanness]' 정도에 기반한 HSC(Human String Content)라고 하는 방법, (iii) 인간화 변이체의 대규모 라이브러리(페이지, 리보솜 및 효모 디스플레이 라이브러리 포함) 생성에 기반한 방법, 및 (iv) 프레임워크 영역 셔플링(shuffling)에 기반한 방법을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0092] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 '인간 항체'이다. 인간 항체는 당업계에 공지된 다양한 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 일부 구현예에서, 인간 항체는 시험관 내에서 면역화된 불멸화[immortalized] 인간 B 림프구로부터 생성된다. 일부 구현예에서, 인간 항체는 면역화된 개인에서 단리된 림프구로부터 생성된다. 임의의 경우에, 표적 항원에 대한 항체를 생산하는 세포가 생성되고 단리될 수 있다. 일부 구현예에서, 인간 항체는 페이지 라이브러리에서 선택되며, 해당 페이지 라이브러리는 인간 항체를 발현한다. 또는, 페이지 디스플레이 기술을 사용하여 면역화되지 않은 공여체의 면역 글로불린 가변 영역 유전자 레퍼토리(repertoire)로부터 시험관 내에서 인간 항체 및 항체 단편을 생산할 수 있다. 항체 페이지 라이브러리의 생성 및 사용에 대한 기술은 당업계에 널리 공지되어 있다. 항체가 확인되면, 사슬 셔플링 및 특정 부위 돌연변이 유발을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 당업계에 공지된 친화성 성숙 전략을 사용하여 더 높은 친화성의 인간 항체를 생성할 수 있다. 일부 구현예에서, 인간 항체는 인간 면역 글로불린 유전자좌를 포함하는 형질전환 마우스에서 생산된다. 면역화 시에, 이들 마우스는 내인성 면역 글로불린을 생산하지 않아도 인간 항체의 전체 레퍼토리를 생산할 수 있다.

[0093] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 이중특이적 항체이다. 이중특이적 항체는 적어도 두 개의 서로 다른 항원 또는 에피토프를 인식하고 결합할 수 있다. 서로 다른 에피토프는 동일한 분자(예를 들어, TfR1의 두 개 에피토프) 내에 있거나 다른 분자(예를 들어, TfR1의 한 개 에피토프 및 다른 표적의 한 개 에피토프)에 있을 수 있다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 개별 항체 또는 하나 이상의 항체의 조합과 비교하여 효능이 향상된다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 개별 항체 또는 하나 이상의 항체의 조합과 비교하여 독성이 감소된다. 임의의 치료제는 고유한 약동학[pharmacokinetics, PK](예를 들어, 순환 반감기)을 가질 수 있다는 것이 당업자에게 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 두 가지의 활성 결합제의 PK를 동시에 만족하게 하는 능력을 갖되, 두 가지의 개별 결합제는 서로 다른 PK 프로파일을 갖는다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 대상의 공통 영역(예를 들어, 조직)에 두 가지 작용제의 작용을 모으는[concentrate] 능력이 있다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 대상의 공통 표적(예를 들어, 특이적 세포 유형)에 두 가지 작용제의 작용을 모으는 능력이 있다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 두 가지 작용제의 작용을 하나 이상의 생물학적 경로 또는 기능에 표적화하는 능력이 있다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 두 가지의 서로 다른 세포를 표적으로 삼고 서로 더 가깝게 하는 능력이 있다.

[0094] 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 독성 및/또는 부작용이 감소되었다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 두 가지 개별 항체의 혼합물 또는 단일 작용제로서의 항체에 비하여 독성 및/또는 부작용이 감소되었다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 증가된 치료 지수[therapeutic index]를 갖는다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 두 가지의 개별 항체의 혼합물 또는 단일 작용제로서의 항체에 비하여 증가된 치료 지수를 갖는다.

[0095] 이중특이적 항체를 제조하기 위한 여러 기술은 당업자에게 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 두 중쇄 사이의 경계의 일부인 아미노산이 변형된 중쇄 불변 영역을 포함한다. 이러한 변형은 이종이량체 형성을 향상시키고 일반적으로 동종이량체 형성을 감소시키거나 제거하기 위해 이루어진다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 놉-인투-홀스(knobs-into-holes, KIH) 전략을 사용하여 생성된다. 예를 들어, 문헌[Ridgway et al. Protein Eng. 1996;9(7):617-21 and Klein et al. MAbs. 2012;4(6):653-663.]을 참조한다.

[0096] 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 두 경쇄 사이의 경계의 일부인 아미노산이 변형된 경쇄 불변 영역을 포함한다. 이러한 변형은 경쇄 잘못짝짓기[mispairing]를 감소시키거나 제거하기 위해 이루어진다. 예를 들어, 문헌[Lewis et al. Nat Biotech 2014;32(2):191-98.]을 참조한다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 VH와 VL을 공유적으로 연결하고 CH1과 CL을 제거하는 scFv를 포함한다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 scFab 또는 Fcab(예를 들어, 문헌[Wozniak-Knopp et al. PEDS 2010;23(4):289-97]을 참조한다), 단일 도메인 항체(예를 들어, 낙타 종 또는 상어의 VHH를 포함한다), 또는 듀엣 맙스(Duet Mabs)(예를 들어, 문헌[Mazor et al. Mabs 2015;7(2):377-89]을 참조한다)를 포함한다.

[0097] 이중특이적 항체는 항원 결합 부위를 포함하는 온전한 항체 또는 항체 단편일 수 있다.

[0098] 두 개를 초과하는 특이성을 갖는 항-TfR1 항체가 본 개시에서 고려된다. 일부 구현예에서, 삼중특이적 또는 사중특이적 항체가 생성된다. 2가를 초과하는 원자가를 갖는 항-TfR1 항체가 고려된다. 일부 구현예에서, 3가 또는 4가 항체가 생성된다.

[0099] 항체의 CDR은 다양한 방법/시스템을 사용하여 당업자에 의해 정의된다. 이러한 시스템 및/또는 정의는 수 년에 걸쳐 개발되고 개선되었으며, 카바트(Kabat), 코티아(Chothia), IMGT, AbM 및 콘택트(Contact)를 포함한다. 카바트 정의는 서열 가변성에 기반하며 흔히 사용된다. 코티아 정의는 구조적 루프 영역의 위치에 기반한다. IMGT 시스템은 가변 도메인 구조 내의 서열 가변성과 위치에 기반한다. AbM 정의는 카바트와 코티아 간의 절충안이다. 콘택트 정의는 이용가능한 항체 결정 구조의 분석에 기반한다. 예시적인 시스템은 카바트와 코티아의 조합이다. 소프트웨어 프로그램(예를 들어, abYsis)은 항체 서열 분석 및 CDR 결정에 이용할 수 있고 당업자에게 공지되어 있다.

[0100] 도 1a 내지 1d에 기재된 CDR 서열은 카바트 CDR 정의(문헌[Kabat, E. A., Wu, T. T., Perry, H. M., Gottesman, K. S. & Foeller, C. (1991). Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edit. National Institutes of Health, Bethesda, MD]) 및 코티아 CDR 정의(문헌[Chothia, C. & Lesk, A.M. J. Mol. Biol (1987) 196, 901-917) (Chothia, C. et al. Nature (1989) 342, 877-883) (Al-Lazikani, B., Lesk, A.M. & Chothia, C. J. Mol. Biol (1997) 273, 927-948])의 모든 위치의 결합을 포함한다. CDR의 이러한 '결합(union)' 정의는 Bujotzek 등에 의한 '울프가이(Wolfguy)' 정의로도 공지되어 있다 (문헌[Bujotzek A1, Dunbar J, Lipsmeier F, Schäfer W, Antes I, Deane CM, Georges G. (2015) "Prediction of VH-VL domain orientation for antibody variable domain modeling." Proteins Apr;83(4):681-95. doi: 10.1002/prot.24756)]). 일부 구현예에서, CDR 정의는 카바트 정의와 코티아 정의의 조합(예시적인 시스템)에 기반한다. 그러나 특정 항체의 하나 또는 복수의 중쇄 CDR 및/또는 하나 또는 복수의 경쇄 CDR에 대한 언급은 당업자에게 공지된 모든 CDR 정의를 포괄하는 것으로 이해될 것이다. 하나의 경우에, 본원에 기술된 방법에 사용된 항-TfR1 항체는 울프가이 또는 유니온(Union) 정의에 기반하여 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론 또는 본원에 개시된 항체-B 클론의 여섯 개 CDR을 포함한다. 하나의 경우에, 본원에 기술된 임의의 방법에 사용된 항-TfR1 항체는 코티아 정의에 기반하여 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론 또는 본원에 개시된 항체-B 클론의 여섯 개 CDR을 포함한다. 하나의 경우에, 본원에 기술된 방법에 사용된 항-TfR1 항체는 카바트 정의에 기반하여 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론 또는 본원에 개시된 항체-B 클론의 여섯 개 CDR을 포함한다. 하나의 경우에, 본원에 기술된 방법에 사용된 항-TfR1 항체는 AbM 정의에 기반하여 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론 또는 본원에 개시된 항체-B 클론의 여섯 개 CDR을 포함한다. 하나의 경우에, 본원에 기술된 임의의 방법에 사용된 항-TfR1 항체는 IMGT 정의에 기반하여 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론 또는 본원에 개시된 항체-B 클론의 여섯 개 CDR을 포함한다. 하나의 경우에, 본원에 기술된 방법에 사용된 항-TfR1 항체는 콘택트 정의에 기반하여 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론 또는 본원에 개시된 항체-B 클론의 여섯 개 CDR을 포함한다.

[0101] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 항체 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 세 개, 네 개, 다섯 개 및/또는 여섯 개의 CDR을 포함하는 항-TfR1 항체이다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 (i) **표 1A**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 중쇄 CDR, 및/또는 (ii) **표 1A**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 (i) **표 2A**에 나타낸 클

론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 중쇄 CDR, 및/또는 (ii) **표 2A**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0102] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 항체 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 세 개, 네 개, 다섯 개 및/또는 여섯 개의 CDR을 포함하는 항-TfR1 항체이다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 (i) **표 1B**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 중쇄 CDR, 및/또는 (ii) **표 1B**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 (i) **표 2B**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 중쇄 CDR, 및/또는 (ii) **표 2B**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0103] 일부 구현예에서, 항-TfR1항체는 **표 1A**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 세 개의 중쇄 CDR 및 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1항체는 **표 2A**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 세 개의 중쇄 CDR 및 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0104] 일부 구현예에서, 항-TfR1항체는 **표 1B**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 세 개의 중쇄 CDR 및 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1항체는 **표 2B**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 세 개의 중쇄 CDR 및 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0105] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 (i) **표 3A**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 중쇄 CDR, 및/또는 (ii) **표 3B**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 (i) **표 4A**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 중쇄 CDR, 및/또는 (ii) **표 4B**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0106] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 (i) **표 3C**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 중쇄 CDR, 및/또는 (ii) **표 3D**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 (i) **표 4C**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 중쇄 CDR, 및/또는 (ii) **표 4D**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0107] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 (i) **표 3A**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 세 개의 중쇄 CDR, 및/또는 (ii) **표 3B**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 (i) **표 4A**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 세 개의 중쇄 CDR, 및/또는 (ii) **표 4B**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 한 개, 두 개, 및/또는 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0108] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 (i) **표 3C**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 세 개의 중쇄 CDR, 및/또는 (ii) **표 3D**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 (i) **표 4C**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 세 개의 중쇄 CDR, 및/또는 (ii) **표 4D**에 나타낸 클론 중 어느 하나의 세 개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[표 1A] 항체-A 클론에 대한 유니온 CDR

클론	H2C/ L0	H3C/ L0	H4C/ L0	H1C/ L0	H3C(HA)/L0	RabAB-A
중쇄 CDR1	GIDFSSSGYMC (서열 번호 101)	GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)	GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)	GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)	GIDFSSSGYMH(서열 번호 102)	GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)
중쇄 CDR2	CIYTYSSNTYYAASVKG (서열 번호 103)	CIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 104)	CIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 104)	CIYTYSSNTYYAASVKG (서열 번호 103)	AIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 105)	CIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 104)
중쇄 CDR3	GTYGYTGYTYTMGYFSL (서열 번호 106)	GTYGYTGYTYTMGYFSL (서열 번호 106)	GTYGYTGYTYTMGYFSL (서열 번호 106)	GTYGYTGYTYTMGYFSL (서열 번호 106)	GTYGYTGYTYTMGYFSL (서열 번호 106)	GTYGYTGYTYTMGYFSL (서열 번호 106)
경쇄 CDR1	QASQNINSYLA (서열 번호 107)	QASQNINSYLA (서열 번호 107)	QASQNINSYLA (서열 번호 107)	QASQNINSYLA (서열 번호 107)	QASQNINSYLA (서열 번호 107)	QASQNINSYLA (서열 번호 107)
경쇄 CDR2	RASSLES (서열 번호 108)	RASSLES (서열 번호 108)	RASSLES (서열 번호 108)	RASSLES (서열 번호 108)	RASSLES (서열 번호 108)	RASTLAS (서열 번호 109)
경쇄 CDR3	QSYYYSGSSNYNA (서열 번호 110)	QSYYYSGSSNYNA (서열 번호 110)	QSYYYSGSSNYNA (서열 번호 110)	QSYYYSGSSNYNA (서열 번호 110)	QSYYYSGSSNYNA (서열 번호 110)	QSYYYSGSSNYNA (서열 번호 110)

[표 1B] 항체-A 클론에 대한 코티아 CDR

클론	H2C/ L0	H3C/ L0	H4C/ L0	H1C/ L0	H3C(HA)/L0	RabAB-A
중쇄 CDR1	GIDFSSSG (서열 번호 111)	GIDFSSSG (서열 번호 111)	GIDFSSSG (서열 번호 111)	GIDFSSSG (서열 번호 111)	GIDFSSSG (서열 번호 111)	GIDFSSSG (서열 번호 111)

[0109]

중쇄 CDR 2	TYSS (서열 번호 112)	TYSS (서열 번호 112)	TYSS (서열 번호 112)	TYSS (서열 번호 112)	TYSS (서열 번호 112)	TYSS (서열 번호 112)
중쇄 CDR 3	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
경쇄 CDR 1	SQNINSY (서열 번호 114)	SQNINSY (서열 번호 114)	SQNINSY (서열 번호 114)	SQNINSY (서열 번호 114)	SQNINSY (서열 번호 114)	SQNINSY (서열 번호 114)
경쇄 CDR 2	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS
경쇄 CDR 3	YYYSGSSNYN (서열 번호 115)	YYYSGSSNYN (서열 번호 115)	YYYSGSSNYN (서열 번호 115)	YYYSGSSNYN (서열 번호 115)	YYYSGSSNYN (서열 번호 115)	YYYSGSSNYN (서열 번호 115)

[표 2A] 항체-B 클론에 대한 유니온 CDR

클론	H4C/ L2	H1C/ L2	H3C/ L2	H4C (C90S) /L2	H4C (C90T)/ L2	H4C (C90V)/ L2	H2C/ L2	Rab 항체 -B
중쇄 CDR1	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)

[0110]

중쇄 CDR2	CINTDADSTNYASWARG (서열번호 117)	CINTDADSTNYADSVKG (서열번호 118)	CINTDADSTNYASWARG (서열번호 117)	CINTDADSTNYASWARG (서열번호 117)	CINTDADSTNYASWARG (서열번호 117)	CINTDADSTNYASWARG (서열번호 117)	CINTDADSTNYADSVKG (서열번호 118)	CINTDADSTNYASWARG (서열번호 117)
중쇄 CDR3	QNNVFDPGYNL (서열번호 119)	QNNVFDPGYNL (서열번호 119)	QNNVFDPGYNL (서열번호 119)	QNNVFDPGYNL (서열번호 119)	QNNVFDPGYNL (서열번호 119)	QNNVFDPGYNL (서열번호 119)	QNNVFDPGYNL (서열번호 119)	QNNVFDPGYNL (서열번호 119)
경쇄 CDR1	RASQNIGSNLA (서열번호 120)	RASQNIGSNLA (서열번호 120)	RASQNIGSNLA (서열번호 120)	RASQNIGSNLA (서열번호 120)	RASQNIGSNLA (서열번호 120)	RASQNIGSNLA (서열번호 120)	RASQNIGSNLA (서열번호 120)	QASQNIGSNLA (서열번호 121)
경쇄 CDR2	DASKLES (서열번호 122)	DASKLES (서열번호 122)	DASKLES (서열번호 122)	DASKLES (서열번호 122)	DASKLES (서열번호 122)	DASKLES (서열번호 122)	DASKLES (서열번호 122)	DASKLAS (서열번호 123)
경쇄 CDR3	QCTVRGGAYGNA (서열번호 124)	QCTVRGGAYGNA (서열번호 124)	QCTVRGGAYGNA (서열번호 124)	QSTVRGGAYGNA (서열번호 125)	QTTVRGGAYGNA (서열번호 126)	QVTVRGGAYGNA (서열번호 127)	QCTVRGGAYGNA (서열번호 124)	QCTVRGGAYGNA (서열번호 124)

[표 2B] 항체-B 클론에 대한 코티아 CDR

클론	H4C/ L2	H1C/ L2	H3C/ L2	H4C (C90S) /L2	H4C (C90T)/ L2	H4C (C90V)/ L2	H2C/ L2	Rab 항체 -B

[0111]

중쇄 CDR1	GFSFSNSY (서열 번호 128)	GFSFSNSY (서열 번호 128)	GFSFSNSY (서열 번호 128)	GFSFSNSY (서열 번호 128)	GFSFSNSY (서열 번호 128)	GFSFSNSY (서열 번호 128)	GFSFSNSY (서열 번호 128)	GFSFSNSY (서열 번호 128)
중쇄 CDR2	TDAD (서열 번호 129)	TDAD (서열 번호 129)	TDAD (서열 번호 129)	TDAD (서열 번호 129)	TDAD (서열 번호 129)	TDAD (서열 번호 129)	TDAD (서열 번호 129)	TDAD (서열 번호 129)
중쇄 CDR3	NNVFDPGYN (서열 번호 130)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
경쇄 CDR1	SQNIGSN (서열 번호 131)	SQNIGSN (서열 번호 131)	SQNIGSN (서열 번호 131)	SQNIGSN (서열 번호 131)	SQNIGSN (서열 번호 131)	SQNIGSN (서열 번호 131)	SQNIGSN (서열 번호 131)	SQNIGSN (서열 번호 131)
경쇄 CDR2	DAS	DAS	DAS	DAS	DAS	DAS	DAS	DAS
경쇄 CDR3	TVRGGAYGN (서열 번호 132)	TVRGGAYGN (서열 번호 132)	TVRGGAYGN (서열 번호 132)	TVRGGAYGN (서열 번호 132)	TVRGGAYGN (서열 번호 132)	TVRGGAYGN (서열 번호 132)	TVRGGAYGN (서열 번호 132)	TVRGGAYGN (서열 번호 132)

[표 3A] 항체-A 클론에 대한 유니온 중쇄 CDR

클론	중쇄 CDR1	중쇄 CDR2	중쇄 CDR3
H0	GIDFSSSGYMA (서열 번호 133)	AIYTYSSNTYYAASVKG (서열 번호 135)	GTYGYTGYTYTMGYFSL (서열 번호 106)
H1	GIDFSSSGYMA (서열 번호 133)	AIYTYSSNTYYAASVKG (서열 번호 135)	GTYGYTGYTYTMGYFSL (서열 번호 106)

[0112]

H2	GIDFSSSGYMA (서열 번호 133)	AIYTYSSNTYYAASVKG (서열 번호 135)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)
H3	GIDFSSSGYMA (서열 번호 133)	AIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 105)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)
H3(SV)	GIDFSSSGYMS (서열 번호 134)	VIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 136)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)
H3(SR)	GIDFSSSGYMS (서열 번호 134)	RIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 137)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)
H3(SY)	GIDFSSSGYMS (서열 번호 134)	YIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 138)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)
H3(HA)	GIDFSSSGYMH (서열 번호 102)	AIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 105)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)
H4	GIDFSSSGYMA (서열 번호 133)	AIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 105)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)
H0C	GIDFSSSGYMC (서열 번호 101)	CIYTYSSNTYYAASVKG (서열 번호 103)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)
H1C	GIDFSSSGYMC (서열 번호 101)	CIYTYSSNTYYAASVKG (서열 번호 103)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)
H2C	GIDFSSSGYMC (서열 번호 101)	CIYTYSSNTYYAASVKG (서열 번호 103)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)
H3C	GIDFSSSGYMC (서열 번호 101)	CIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 104)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)
H4C	GIDFSSSGYMC (서열 번호 101)	CIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 104)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)
RabAb	GIDFSSSGYMC (서열 번호 101)	CIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 104)	GTYGYTGYTYTMGYF SL (서열 번호 106)

[0113]

[표 3B] 항체-A 클론에 대한 유니온 경쇄 CDR

클론	L0	L1	L2	RabAb-A
경쇄 CDR1	QASQNINSYLA (서열 번호 107)	QASQNINSYLA (서열 번호 107)	QASQNINSYLA (서열 번호 107)	QASQNINSYLA (서열 번호 107)
경쇄 CDR2	RASSLES (서열 번호 108)	RASTLAS (서열 번호 109)	RASTLAS (서열 번호 109)	RASTLAS (서열 번호 109)
경쇄 CDR3	QSYYYSGSSNYNA (서열 번호 110)	QSYYYSGSSNYNA (서열 번호 110)	QSYYYSGSSNYNA (서열 번호 110)	QSYYYSGSSNYNA (서열 번호 110)

[표 3C] 항체-A 클론에 대한 코티아 중쇄 CDR

클론	중쇄 CDR1	중쇄 CDR2	중쇄 CDR3
H0	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
H1	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
H2	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
H3	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
H3(SV)	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
H3(SR)	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
H3(SY)	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)

[0114]

H3(HA)	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
H4	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
H0C	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
H1C	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
H2C	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
H3C	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
H4C	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)
RabAb	GIDFSSSG (서열 번호 111)	TYSS (서열 번호 112)	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)

[표 3D] 항체-A 클론에 대한 코티아 경쇄 CDR

클론	L0	L1	L2	RabAb-A
경쇄 CDR1	SQNINSY (서열 번호 114)	SQNINSY (서열 번호 114)	SQNINSY (서열 번호 114)	SQNINSY (서열 번호 114)
경쇄 CDR2	RAS	RAS	RAS	RAS
경쇄 CDR3	YYYSGSSNYN (서열 번호 115)	YYYSGSSNYN (서열 번호 115)	YYYSGSSNYN (서열 번호 115)	YYYSGSSNYN (서열 번호 115)

[0115]

[표 4A] 항체-B 클론에 대한 유니온 중쇄 CDR

클론	중쇄 CDR1	중쇄 CDR2	중쇄 CDR3
H0	GFSFSNSYWIA(서열 번호 139)	AINTDADSTNYADSVKG (서열 번호 142)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H1	GFSFSNSYWIA (서열 번호 139)	AINTDADSTNYADSVKG (서열 번호 142)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H1(SV)	GFSFSNSYWIS (서열 번호 140)	VINTDADSTNYADSVKG (서열 번호 143)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H1(SR)	GFSFSNSYWIS (서열 번호 140)	RINTDADSTNYADSVKG (서열 번호 144)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H1(SY)	GFSFSNSYWIS (서열 번호 140)	YINTDADSTNYADSVKG (서열 번호 145)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H1(HA)	GFSFSNSYWIH (서열 번호 141)	AINTDADSTNYADSVKG (서열 번호 142)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H2	GFSFSNSYWIA (서열 번호 139)	AINTDADSTNYADSVKG (서열 번호 142)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H3	GFSFSNSYWIA (서열 번호 139)	AINTDADSTNYASWARG (서열 번호 146)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H4	GFSFSNSYWIA (서열 번호 139)	AINTDADSTNYASWARG (서열 번호 146)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H0C	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)	CINTDADSTNYADSVKG (서열 번호 118)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H1C	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)	CINTDADSTNYADSVKG (서열 번호 118)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H2C	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)	CINTDADSTNYADSVKG (서열 번호 118)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H3C	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)	CINTDADSTNYASWARG (서열 번호 117)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
H4C	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)	CINTDADSTNYASWARG (서열 번호 117)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
RabAb	GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)	CINTDADSTNYASWARG (서열 번호 117)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)

[표 4B] 항체-B 클론에 대한 유니온 경쇄 CDR

클론	경쇄 CDR1	경쇄 CDR2	경쇄 CDR3

[0116]

L0	RASQNIGSNLA (서열 번호 120)	DASKLES (서열 번호 122)	QQTVRGGAYGLA (서열 번호 147)
L1	RASQNIGSNLA (서열 번호 120)	DASKLES (서열 번호 122)	QATVRGGAYGLA (서열 번호 148)
L2	RASQNIGSNLA (서열 번호 120)	DASKLES (서열 번호 122)	QCTVRGGAYGNA (서열 번호 124)
L2(C90S)	RASQNIGSNLA (서열 번호 120)	DASKLES (서열 번호 122)	QSTVRGGAYGNA (서열 번호 125)
L2(C90T)	RASQNIGSNLA (서열 번호 120)	DASKLES (서열 번호 122)	QTTVRGGAYGNA (서열 번호 126)
L2(C90V)	RASQNIGSNLA (서열 번호 120)	DASKLES (서열 번호 122)	QVTVRGGAYGNA (서열 번호 127)
rabAB-B	QASQNIGSNLA (서열 번호 121)	DASKLAS (서열 번호 123)	QCTVRGGAYGNA (서열 번호 124)

[표 4C] 항체-B 클론에 대한 코티아 중쇄 CDR

클론	중쇄 CDR1	중쇄 CDR2	중쇄 CDR3
H0	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
H1	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
H1(SV)	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
H1(SR)	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
H1(SY)	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
H1(HA)	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)

[0117]

H2	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
H3	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
H4	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
H0C	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
H1C	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
H2C	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
H3C	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
H4C	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
RabAb	GFSFSNSY (서열 번호 128)	TDAD (서열 번호 129)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)

[표 4D] 항체-B 클론에 대한 코티아 경쇄 CDR

클론	경쇄 CDR1	경쇄 CDR2	경쇄 CDR2
L0	SQNIGSN (서열 번호 131)	DAS	TVRGGAYGN (서열 번호 132)
L1	SQNIGSN (서열 번호 131)	DAS	TVRGGAYGN (서열 번호 132)
L2	SQNIGSN (서열 번호 131)	DAS	TVRGGAYGN (서열 번호 132)
L2(C90S)	SQNIGSN (서열 번호 131)	DAS	TVRGGAYGN (서열 번호 132)
L2(C90T)	SQNIGSN (서열 번호 131)	DAS	TVRGGAYGN (서열 번호 132)
L2(C90V)	SQNIGSN (서열 번호 131)	DAS	TVRGGAYGN (서열 번호 132)

[0118]

rabAB-B	SQNIGSN (서열 번호 131)	DAS	TVRGGAYGN (서열 번호 132)

[0119]

[0120] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 항체로부터 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 및/또는 경쇄 가변 영역 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 항체로부터 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 및 경쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 항체의 인간화 버전 또는 인간화 변이체를 포함한다.

[0121] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론, 이의 인간화 버전, 또는 이의 변이체로부터 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 및/또는 경쇄 가변 영역 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론으로부터 중쇄 CDR1, 중쇄 가변 영역 CDR2, 및 중쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 다른 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론으로부터 경쇄 가변 영역 CDR1, 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 특정 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개

시된 임의의 항체-A 클론으로부터 중쇄 CDR1, 중쇄 가변 영역 CDR2, 중쇄 가변 영역 CDR3, 경쇄 가변 영역 CDR1, 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론의 인간화 버전이다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론의 변이체이다.

[0122] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-B 클론, 이의 인간화 버전, 또는 이의 변이체로부터 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 및/또는 경쇄 가변 영역 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-B 클론으로부터 중쇄 CDR1, 중쇄 가변 영역 CDR2, 및 중쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 다른 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-B 클론으로부터 경쇄 가변 영역 CDR1, 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 특정 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-B 클론 항체로부터 중쇄 CDR1, 중쇄 가변 영역 CDR2, 중쇄 가변 영역 CDR3, 경쇄 가변 영역 CDR1, 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 항체-B의 인간화 버전이다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 항체-B의 변이체이다.

[0123] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 1 내지 30개의 보존적 아미노산 치환을 포함하는, 본원에 개시된 항-TfR1 항체의 변이체이다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체의 변이체는 1 내지 25개의 보존적 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체의 변이체는 1 내지 20개의 보존적 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체의 변이체는 1 내지 15개의 보존적 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체의 변이체는 1 내지 10개의 보존적 아미노산 치환(들)을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체의 변이체는 1 내지 5개의 보존적 아미노산 치환(들)을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체의 변이체는 1 내지 3개의 보존적 아미노산 치환(들)을 포함한다. 일부 구현예에서, 보존적 아미노산 치환(들)은 항체의 CDR 내에 존재한다. 일부 구현예에서, 보존적 아미노산 치환(들)은 항체의 CDR 내에 존재하지 않는다. 일부 구현예에서, 보존적 아미노산 치환(들)은 항체의 프레임워크 영역 내에 존재한다.

[0124] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 다음을 포함한다. (a) GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1, CIYTYSSNTYYAASVKG(서열 번호 103)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2, 및 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3, 및/또는 (b) QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1, RASSLES(서열 번호 108)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1, CIYTYSSNTYYAASVKG(서열 번호 103)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2, 및 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1, RASSLES(서열 번호 108)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 다음을 포함한다. (a) IDFSSSGYMC(서열 번호 101)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1, CIYTYSSNTYYAASVKG(서열 번호 103)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2, 및 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3, 및 (b) QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1, RASSLES(서열 번호 108)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 다음을 포함한다. (a) GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)를 포함하는 중쇄 CDR1, CIYTYSSNTYYAASVKG(서열 번호 103)를 포함하는 중쇄 CDR2, 및 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 또는 (b) QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하는 경쇄 CDR1, RASSLES(서열 번호 108)를 포함하는 경쇄 CDR2, 및 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0125] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 다음을 포함한다. GIDFSSSGYMC(서열 번호 101), 또는 한 개, 두 개, 세 개, 또는 네 개의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1, CIYTYSSNTYYAASVKG(서열 번호 103), 또는 한 개, 두 개, 세 개, 또는 네 개의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2, TYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106), 또는 한 개, 두 개, 세 개, 또는 네 개의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3, QASQNINSYLA(서열 번호 107), 또는 한 개, 두 개, 세 개, 또는 네 개의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1, RASSLES(서열 번호 108), 또는 한 개, 두 개, 세 개, 또는 네 개의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110), 또는 한 개, 두 개, 세 개, 또는 네 개의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3. 일부 구현예에서, CDR은 한 개의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, CDR은 두 개의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, CDR은 세 개의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, CDR은 네 개의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상

의 아미노산 치환은 보존적 치환이다. 일부 구현예에서, CDR은 중쇄 CDR1이다. 일부 구현예에서, CDR은 중쇄 가변 영역 CDR2이다. 일부 구현예에서, CDR은 중쇄 가변 영역 CDR3이다. 일부 구현예에서, CDR은 경쇄 가변 영역 CDR1이다. 일부 구현예에서, CDR은 경쇄 가변 영역 CDR2이다. 일부 구현예에서, CDR은 경쇄 가변 영역 CDR3이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 치환은 인간화 공정의 일부로서 이루어진다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 치환은 생식세포계열 인간화 공정의 일부로서 이루어진다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 치환은 친화성 성숙 공정의 일부로서 이루어진다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 치환은 최적화 공정의 일부로서 이루어진다.

[0126] 일부 구현예에서, 본 개시의 항-TfR1 항체는 중쇄 가변 영역 [VH] CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 VH를 포함하되, VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMX(서열 번호 149)를 포함하고, X는 임의의 아미노산이다. VH CDR2는 아미노산 서열 XIYTYSSNTYYAXXXKG(서열 번호 151)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함한다. 항체는 경쇄 가변 영역[VL] CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 VL을 포함하되, VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함한다. VL CDR2는 아미노산 서열 RAXLXS(서열 번호 153)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함한다. 일부 구현예에서, VH CDR1은 아미노산 서열 GIDFSSSGYMX$_1$(서열 번호 150)을 포함하되, X_1은 C, A 또는 H이다. VH CDR2는 아미노산 서열 X_2IYTYSSNTYYAX$_3$X$_4$X$_5$KG(서열 번호 152)를 포함하되, X_2는 C 또는 A이고, X_3은 S 또는 A이며, X_4는 W 또는 S이고, X_5는 A 또는 V이다. VH CDR3은 아미노산 서열 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함한다. VL CDR1은 아미노산 서열 QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함한다. VL CDR2는 아미노산 서열 RASX$_6$LX$_7$S(서열 번호 154)를 포함하되, X_6은 T 또는 S이고, X_7은 A 또는 E이다. VL CDR3은 아미노산 서열 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함한다.

[0127] 본원에 기술된 방법의 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론의 세 개의 VH CDR을 갖고, 서열 번호 16에 기재된 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론의 세 개의 VL CDR을 갖고, 서열 번호 35에 기재된 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0128] 본원에 기술된 방법의 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16에 기재된 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 35에 기재된 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 본원에 기술된 방법의 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16에 기재된 서열에서 하나 이상(예를 들어, 한 개, 두 개, 또는 세 개)의 치환, 결실, 또는 삽입을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 35에 기재된 서열에서 하나 이상의 치환, 결실, 또는 삽입을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 본원에 기술된 방법의 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-A 클론의 세 개의 VH CDR을 갖고, **도 1a**에 기재된 VH 서열 중 어느 하나와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및, 본원에 개시된 임의의 항체-B 클론의 세 개의 VL CDR을 갖고, **도 1c**에 기재된 서열 중 어느 하나와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0129] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및/또는 서열 번호 35와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 35와 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0130] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및/또는 서열 번호 35와 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 35와 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16과 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및/또는 서열 번호 35와 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 35와 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16과 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및/또는 서열 번호 35와 적어도 약

95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 35와 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0131] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 35를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 35를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0132] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 16의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역으로부터 CDR1, CDR2, 및 CDR3, 그리고 서열 번호 35의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역으로부터 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 다음을 포함한다. (i) 서열 번호 16의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역으로부터 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 (ii) 서열 번호 35의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역으로부터 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0133] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 다음을 포함한다. (a) GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1, CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2, 및 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3, 및/또는 (b) RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1, DASKLES(서열 번호 122)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 QCTVRGGAYGNA(서열 번호 124)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1, CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2, 및 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1, DASKLES(서열 번호 122)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 QCTVRGGAYGNA(서열 번호 124)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 다음을 포함한다. (a) GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1, CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2, 및 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3, 및 (b) RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1, DASKLES(서열 번호 122)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 QCTVRGGAYGNA(서열 번호 124)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 다음을 포함한다. (a) GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하는 중쇄 CDR1, CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하는 중쇄 CDR2, 및 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 또는 (b) RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하는 경쇄 CDR1, DASKLES(서열 번호 122)를 포함하는 경쇄 CDR2, 및 QCTVRGGAYGNA(서열 번호 124)를 포함하는 경쇄 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0134] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 다음을 포함한다. GFSFSNSYWIC(서열 번호 116), 또는 한 개, 두 개, 세 개, 또는 네 개의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1, CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117), 또는 한 개, 두 개, 세 개, 또는 네 개의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2, QNNVFDPGYNL(서열 번호 119), 또는 한 개, 두 개, 세 개, 또는 네 개의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3, RASQNIGSNLA(서열 번호 120), 또는 한 개, 두 개, 세 개, 또는 네 개의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1, DASKLES(서열 번호 122), 또는 한 개, 두 개, 세 개, 또는 네 개의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 QCTVRGGAYGNA(서열 번호 124), 또는 한 개, 두 개, 세 개, 또는 네 개의 아미노산 치환을 포함하는 이의 변이체를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3. 일부 구현예에서, CDR은 한 개의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, CDR은 두 개의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, CDR은 세 개의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, CDR은 네 개의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 보존적 치환이다. 일부 구현예에서, CDR은 중쇄 CDR1이다. 일부 구현예에서, CDR은 중쇄 가변 영역 CDR2이다. 일부 구현예에서, CDR은 중쇄 가변 영역 CDR3이다. 일부 구현예에서, CDR은 경쇄 가변 영역 CDR1이다. 일부 구현예에서, CDR은 경쇄 가변 영역 CDR2이다. 일부 구현예에서, CDR은 경쇄 가변 영역 CDR3이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 치환은 인간화 공정의 일부로서 이루어진다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 치환은 생식세포계열 인간화 공정의 일부로서 이루어진다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 치환은 친화성 성숙 공정의 일부로서 이루어진다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 치환은 최적화 공정의 일부로서 이루어진다.

[0135] 일부 구현예에서, 본 개시의 항-TfR1 항체는 중쇄 가변 영역[VH] CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하는 VH를 포함하되, VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIX(서열 번호 155)를 포함하고, X는 임의의 아미노산이다. VH CDR2는 아미노산 서열 XINTDADSTNYAXXXXG(서열 번호 157)을 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. VH CDR3은 아미노산 서열 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. 항체는 경쇄 가변 영역[VL]

CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 VL을 포함하되, VL CDR1은 아미노산 서열 XASQNIGSNLA(서열 번호 159)를 포함한다. VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLXS(서열 번호 161)를 포함하되, X는 임의의 아미노산이다. VL CDR3은 아미노산 서열 QXTVRGGAYGXA(서열 번호 163)를 포함한다. 일부 구현예에서, VH CDR1은 아미노산 서열 GFSFSNSYWIX$_1$(서열 번호 156)을 포함하되, X$_1$은 C, A, 또는 H이다. VH CDR2는 아미노산 서열 X$_2$INTDADSTNYAX$_3$X$_4$X$_5$X$_6$G(서열 번호 158)를 포함하되, X$_2$는 C 또는 A이고, X$_3$은 S 또는 D이며, X$_4$는 W 또는 S이고, X$_5$는 A 또는 V이며, X$_6$은 R 또는 K이다. VH CDR3은 아미노산 서열QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함한다. VL CDR1은 아미노산 서열 X$_7$ASQNIGSNLA(서열 번호 160)를 포함하되, X$_7$은 Q 또는 R이다. VL CDR2는 아미노산 서열 DASKLX$_8$S(서열 번호 162)를 포함하되, X$_8$은 A 또는 E이다. 그리고 VL CDR3은 아미노산 서열 QX$_9$TVRGGAYGX$_{10}$A(서열 번호 164)를 포함하되, X$_9$는 C, Q, A, S, T 또는 V이고, X$_{10}$은 N 또는 L이다.

[0136] 본원에 기술된 방법의 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-B 클론의 세 개의 VH CDR을 갖고, 서열 번호 33에 기재된 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및, 본원에 개시된 임의의 항체-B 클론의 세 개의 VL CDR을 갖고, 서열 번호 41에 기재된 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0137] 본원에 기술된 방법의 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33에 기재된 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 41에 기재된 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0138] 본원에 기술된 방법의 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33에 기재된 서열에서 하나 이상의 치환, 결실, 또는 삽입을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 41에 기재된 서열에서 하나 이상의 치환, 결실, 또는 삽입을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0139] 본원에 기술된 방법의 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 개시된 임의의 항체-B 클론의 세 개의 VH CDR을 갖고, **도 1b**에 기재된 VH 서열 중 어느 하나와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및, 본원에 개시된 임의의 항체-B 클론의 세 개의 VL CDR을 갖고, **도 1d**에 기재된 서열 중 어느 하나와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0140] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및/또는 서열 번호 41과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 41과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0141] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및/또는 서열 번호 41과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 41과 적어도 약 80% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33과 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및/또는 서열 번호 41과 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 41과 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33과 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및/또는 서열 번호 41과 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 41과 적어도 약 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0142] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 41를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 41을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0143] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역으로부터 CDR1, CDR2, 및 CDR3, 및 서열 번호 41의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역으로부터 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 다음을 포함한다. (i) 서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역으로부터 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 (ii) 서열 번호 41의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역으로부터 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0144] 본 개시의 인간화 VH/VL 작제물은 **도 1a** 내지 **1d**에 나타낸 서열 번호를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0145] 항-TfR1 항체의 불변 영역

[0146] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 가변 영역은 불변 영역에 융합된다. 불변 영역은 불변 중쇄[constant heavy chain, CH] 도메인[예를 들어, CH1 힌지, CH2, 및/또는 CH3 도메인(들) 또는 이의 임의의 조합] 및 불변 경쇄[constant light chain, CL] 도메인을 갖는다. 일부 구현예에서, CH 도메인은 IgG1 분자 또는 IgG4 분자에서 유래한다. 일부 구현예에서, CH 도메인은 IgG2 분자, IgG3 분자, 또는 IgG 분자에서 유래한다. 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 VH는 아래 **표 5**에 나타낸 다음의 불변 중쇄[CH] 작제물 중 어느 하나에 융합될 수 있다. 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 VL은 아래 **표 5**에 나타낸 다음의 불변 경쇄[CL] 작제물 중 어느 하나에 융합될 수 있다. 일부 구현예에서, VH/CH1(IgG1에서 유래한 CH1) 작제물은 아래 **표 5**에 나타낸 힌지 영역(예를 들어, ES)에 추가로 융합된다. 일부 구현예에서, VH/CH1(IgG1에서 유래한 CH1) 작제물은 아미노산 서열 E, EP, EPK, 또는 서열 번호 58 내지 74 중 어느 하나를 포함하는 힌지 영역에 추가로 융합된다. 일부 구현예에서, VH/CH1(IgG4에서 유래한 CH1) 작제물은 아래 **표 5**에 나타낸 힌지 영역(예를 들어, ES)에 추가로 융합될 수 있다. 일부 구현예에서, VH/CH1(IgG4에서 유래한 CH1) 작제물은 아미노산 서열 E, ES, ESK, 또는 서열 번호 75 내지 90 중 어느 하나를 포함하는 힌지 영역에 추가로 융합될 수 있다. 일부 구현예에서, VH/VL-CH1/CL 작제물은 힌지를 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 힌지 영역은 당업계에 공지된 임의의 힌지 영역이다. 일부 구현예에서, 힌지 영역은 자연적으로 발생하는 것, 예를 들어, 자연적으로 발생하는 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 분자이다. 다른 구현예에서, 힌지 영역은 자연적으로 발생하는 힌지와 관련된 변형(들)을 포함한다.

[0147] 일부 구현예에서, 본 개시의 항-TfR1 항체는 적어도 하나 이상의 불변 영역이 변형되었거나 결실되었다. 일부 구현예에서, 항체는 중쇄 불변 도메인(CH1, CH2 또는 CH3) 및/또는 경쇄 불변 영역[CL]에 대한 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 변형된 항체의 중쇄 불변 영역은 적어도 하나의 인간 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 항체의 중쇄 불변 영역은 하나를 초과하는 인간 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 당업계에 공지된 임의의 CH1에 융합되며, VL은 당업계에 공지된 임의의 CL에 융합된다. 일부 구현예에서, 작제물의 불변 경쇄[CL]는 자연적으로 발생하는 인간 카파 불변 영역이다. 일부 구현예에서, 불변 영역으로의 변형은 하나 이상의 영역에서 하나 이상의 아미노산의 첨가, 결실, 또는 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 영역은 변형된 항체의 불변 영역으로부터 부분적으로 또는 전체적으로 결실된다. 일부 구현예에서, 전체 CH2 및 CH3 도메인은 항체로부터 제거되었다. 일부 구현예에서, 결실된 불변 영역은 부재하는 불변 영역에 의해 일반적으로 첨가되는 일부 분자 융통성을 제공하는 짧은 아미노산 스페이서(spacer)로 대체된다. 일부 구현예에서, 변형된 항체는 항체의 힌지 영역에 직접 융합되는 CH1 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 항체는 Fc의 바닥에 융합된 Fab를 포함한다.

[0148] 일부 구현예에서, 본 개시의 항-TfR1 항체는 링커(예를 들어, 아래 **표 5**에 나타낸 링커)를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 본 개시의 항-TfR1 항체의 Fc 영역 및 Fab 영역 사이에 위치한다.

[표 5] 불변 영역 및 힌지 서열

도메인	서열
IgG1 또는 IgG4 CH1	
IgG1 CH1(힌지 없음) (서열 번호 45)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKV
IgG1 CH1(힌지는 밑줄 표시됨) (서열 번호 46)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
IgG1 CH1(힌지 없음) (서열 번호 47)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRV
IgG1 CH1(힌지는 밑줄 표시됨) (서열 번호 48)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP
IgG1 CH1(힌지 없음) (서열 번호 49)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKV
IgG1 CH1(힌지는 밑줄 표시됨) (서열 번호 50)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSC
IgG4 CH1(힌지 없음) (서열 번호 51)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRV
IgG4 CH1(힌지는 밑줄 표시됨) (서열 번호 52)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVES
Fc hIgG1.agly DelPG (서열 번호 198)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN

[0149]

	NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLS
Fc hIgG1.agly DelG (서열 번호 199)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSP
Fc hIgG1.agly (서열 번호 200)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
HingeFc hIgG1.agly (서열 번호 201)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG
힌지 Fc hIgG1.agly(KnobS) (서열 번호 202)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG
Fc hIgG1.agly(KnobS) (서열 번호 203)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
힌지 Fc hIgG1.agly(HoleS) (서열 번호 195)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
힌지 영역	

[0150]

IgG1 힌지 A(서열 번호 53)	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
IgG1 힌지 B(서열 번호 54)	EP**K**S**C**DKTHT**C**PP
IgG1 힌지 C(서열 번호 55)	EP**K**S**C**
IgG4 힌지 D(서열 번호 56)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGP
IgG4 힌지 E(서열 번호 57)	ESKYGPP**C**P
IgG4 힌지 F	ES
IgG1 힌지 G(서열 번호 58)	EPKS
IgG1 힌지 H(서열 번호 59)	EPKSCD
IgG1 힌지 I(서열 번호 60)	EPKSCDK
IgG1 힌지 J(서열 번호 61)	EPKSCDKT
IgG1 힌지 K(서열 번호 62)	EPKSCDKTH
IgG1 힌지 L(서열 번호 63)	EPKSCDKTHT
IgG1 힌지 M(서열 번호 64)	EPKSCDKTHTC
IgG1 힌지 N(서열 번호 65)	EPKSCDKTHTCP

[0151]

IgG1 힌지 O(서열 번호 66)	EPKSCDKTHTCPPC
IgG1 힌지 P(서열 번호 67)	EPKSCDKTHTCPPCP
IgG1 힌지 Q(서열 번호 68)	EPKSCDKTHTCPPCPA
IgG1 힌지 R(서열 번호 69)	EPKSCDKTHTCPPCPAP
IgG1 힌지 S(서열 번호 70)	EPKSCDKTHTCPPCPAPE
IgG1 힌지 T(서열 번호 71)	EPKSCDKTHTCPPCPAPEL
IgG1 힌지 U(서열 번호 72)	EPKSCDKTHTCPPCPAPELL
IgG1 힌지 V(서열 번호 73)	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
IgG1 힌지 W(서열 번호 74)	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
IgG4 힌지 X	ESK
IgG4 힌지 Y(서열 번호 75)	ESKY
IgG4 힌지 Z(서열 번호 76)	ESKYG
IgG4 힌지 ZA(서열 번호 77)	ESKYGP
IgG4 힌지 ZB(서열 번호 78)	ESKYGPP

[0152]

IgG4 힌지 ZC(서열 번호 79)	ESKYGPPC
IgG4 힌지 ZD(서열 번호 80)	ESKYGPPCPP
IgG4 힌지 ZE(서열 번호 81)	ESKYGPPCPPC
IgG4 힌지 ZF(서열 번호 82)	ESKYGPPCPPCP
IgG4 힌지 ZG(서열 번호 83)	ESKYGPPCPPCPA
IgG4 힌지 ZH(서열 번호 84)	ESKYGPPCPPCPAP
IgG4 힌지 ZI(서열 번호 85)	ESKYGPPCPPCPAPE
IgG4 힌지 ZJ(서열 번호 86)	ESKYGPPCPPCPAPEF
IgG4 힌지 ZK(서열 번호 87)	ESKYGPPCPPCPAPEFL
IgG4 힌지 ZL(서열 번호 88)	ESKYGPPCPPCPAPEFLG
IgG4 힌지 ZM(서열 번호 89)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGG
IgG4 힌지 ZN(서열 번호 90)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGP
CL 도메인	
인간 카파 CL(서열 번호 91)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0153]

인간 카파 CL(Δ C214) (서열 번호 92)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
링커	
링커 S	S
링커 SG2	SGG
링커 SG4(서열 번호 204)	SGGGG
링커 SG4SG4(서열 번호 205)	SGGGGSGGGG
링커 SG4SG4SG4(서열 번호 206)	SGGGGSGGGGSGGGG
링커 G3SG5(서열 번호 207)	GGGSGGGGG
링커 G4SG4SG4S(서열 번호 208)	GGGGSGGGGSGGGGS
링커 TG	TG

[0154]

[0155] 본원에 기재된 항체 가변 영역과 조합될 수 있는 다른 예시적인 불변 영역, 예를 들어, 힌지 영역은 문헌 [Peters SJ, et al. J Biol Chem. 2012 Jul 13;287(29):24525-33; and Heads JT, et al. Protein Sci. 2012 Sep;21(9):1315-22; 그 전체가 본원에 참조로 포함됨]에 기재된 힌지 영역을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0156] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1796(서열 번호 192)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1775(서열 번호 94)를 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0157] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1797(서열 번호 193)을 포함하는 제1 폴리펩타이드, TOC1801(서열 번호 195)을 포함하는 제2 폴리펩타이드, 및 TOC1775(서열 번호 94)를 포함하는 제3 폴리펩타이드를 포함한다.

[0158] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1798(서열 번호 180)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1775(서열 번호 94)를 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0159] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1799(서열 번호 194)를 포함하는 제1 폴리펩타이드, TOC1801(서열 번호 195)을 포함하는 제2 폴리펩타이드, 및 TOC1775(서열 번호 94)를 포함하는 제3 폴리펩타이드를 포함한다.

[0160] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1785(서열 번호 174)를 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1715(서열 번호 196)를 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0161] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1786(서열 번호 175)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1715(서열 번호 196)를 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0162] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1787(서열 번호 176)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1715(서열 번호 196)를 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0163] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1710(서열 번호 177)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1715(서열 번호 196)를 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0164] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1711(서열 번호 178)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1715(서열 번호 196)를 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0165] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1712(서열 번호 179)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1715(서열 번호 196)를 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0166] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1713(서열 번호 180)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1715(서열 번호 196)를 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0167] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1714(서열 번호 181)를 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1715(서열 번호 196)를 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0168] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1788(서열 번호 182)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1721(서열 번호 197)을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0169] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1789(서열 번호 183)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1721(서열 번호 197)을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0170] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1790(서열 번호 184)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1721(서열 번호 197)을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0171] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1791(서열 번호 185)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1721(서열 번호 197)을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0172] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1792(서열 번호 186)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1721(서열 번호 197)을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0173] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1793(서열 번호 187)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1721(서열 번호 197)을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0174] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1794(서열 번호 188)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1721(서열 번호 197)을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0175] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1795(서열 번호 189)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 TOC1721(서열 번호 197)을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.

[0176] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1728(서열 번호 190)을 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0177] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TOC1729(서열 번호 191)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0178] 또한 인간 TfR1에 결합하기 위해 본원에 기재된 항체 중 하나 이상과 경쟁하는 항체가 본원에 제공된다. 일부 구현예에서, 본 개시의 항체는 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 하나와 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항체는 본원에 기재된 항-TfR1 항체 중 하나에 의해 결합된 에피토프와 중첩되는 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, TfR1에 결합하기 위해 본원에 기재된 항체 중 하나 이상과 경쟁하는 항체가 본원에 기재된 에피토프 비닝 방법[epitope binning method]을 사용하여 식별된다.

[0179] 일부 구현예에서, 항체는 본원에 기재된 항-TfR1 항체와 TfR1에 대한 결합에 관하여 경쟁한다. 일부 구현예에서, 항체는 본원에 기재된 항-TfR1 항체와 인간 TfR1에 대한 결합에 관하여 경쟁한다. 일부 구현예에서, 항체는 참조 항체와 TfR1(예를 들어, 인간 TfR1)에 대한 결합에 관하여 경쟁하되, 참조 항체는 다음을 포함한다. (a) GIDFSSSGYMC(서열 번호 101)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1, CIYTYSSNTYYAASVKG(서열 번호 103)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2, 및 GTYGYTGYTYTMGYFSL(서열 번호 106)을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 (b) QASQNINSYLA(서열 번호 107)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1, RASSLES(서열 번호 108)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 QSYYYSGSSNYNA(서열 번호 110)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3. 일부 구현예에서, 항체는 참조 항체와 TfR1(예를 들어, 인간 TfR1)에 대한 결합에 관하여 경쟁하되, 참조 항체는 서열 번호 16을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 35를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0180] 일부 구현예에서, 항체는 참조 항체와 TfR1(예를 들어, 인간 TfR1)에 대한 결합에 관하여 경쟁하되, 참조 항체는 다음을 포함한다. (a) GFSFSNSYWIC(서열 번호 116)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1, CINTDADSTNYASWARG(서열 번호 117)를 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2, 및 QNNVFDPGYNL(서열 번호 119)을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 (b) RASQNIGSNLA(서열 번호 120)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1, DASKLES(서열 번호 122)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2, 및 QCTVRGGAYGNA(서열 번호 124)를 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역. 일부 구현예에서, 항체는 참조 항체와 TfR1(예를 들어, 인간 TfR1)에 대한 결합에 관하여 경쟁하되, 참조 항체는 서열 번호 33을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 41을

포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0181] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 적어도 하나 이상의 불변 영역이 변형되었거나 결실된 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는 하나 이상의 중쇄 불변 영역(CH1, 힌지, CH2 또는 CH3) 및/또는 경쇄 불변 영역[CL]에 대한 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 변형된 항체의 중쇄 불변 영역은 적어도 하나의 인간 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 항체의 중쇄 불변 영역은 하나를 초과하는 인간 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 불변 영역으로의 변형은 하나 이상의 영역에서 하나 이상의 아미노산의 첨가, 결실, 또는 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 영역은 변형된 항체의 불변 영역 또는 힌지 영역으로부터 부분적으로 또는 전체적으로 결실된다. 일부 구현예에서, 전체 CH2 도메인은 항체로부터 제거되었다. 일부 구현예에서, 결실된 불변 영역은 부재하는 불변 영역에 의해 일반적으로 첨가되는 일부 분자 융통성을 제공하는 짧은 아미노산 스페이서로 대체된다. 일부 구현예에서, 변형된 항체는 항체의 힌지 영역에 직접 융합되는 CH3 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 항체는 힌지 영역과 변형된 CH2 및/또는 CH3 도메인 사이에 삽입되는 펩타이드 스페이서를 포함한다.

[0182] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 93과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 94와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 93과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 및 서열 번호 94와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 93과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 94와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 93과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄, 및 서열 번호 94와 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 93에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 94에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 93에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 94에 기재된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 93의 중쇄 및/또는 서열 번호 94의 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 93의 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 94의 경쇄를 포함하는 항체이다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 93의 중쇄 및 서열 번호 94의 경쇄를 포함한다.

[0183] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 93에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 94에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 93에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산을 갖는 중쇄 및, 서열 번호 94에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산을 갖는 경쇄를 포함한다.

[0184] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 95와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 95와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 및 서열 번호 96과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 95와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 95와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는 중쇄, 및 서열 번호 96과 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 95에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 95에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 96에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 95의 중쇄 및/또는 서열 번호 96의 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 95의 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96의 경쇄를 포함하는 항체이다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 95의 중쇄 및 서열 번호 96의 경쇄를 포함한다.

[0185] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 95에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 95에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산을 갖는 중쇄를 포함하고, 서열 번호 96에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산을 갖는 경쇄를 포함한다.

[0186] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 97과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 97과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 및 서열 번호 96와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 97과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 97과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄, 및 서열 번호 96와 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 97에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 97에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 96에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 97의 중쇄 및/또는 서열 번호 96의 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 97의 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96의 경쇄를 포함하는 항체이다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 97의 중쇄 및 서열 번호 96의 경쇄를 포함한다.

[0187] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 97에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 97에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산을 갖는 중쇄를 포함하고, 서열 번호 96에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산을 갖는 경쇄를 포함한다.

[0188] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 98과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 98와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 및 서열 번호 96과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 98과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 98과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄, 및 서열 번호 96와 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 98에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 98에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 96에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 98의 중쇄 및/또는 서열 번호 96의 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 98의 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96의 경쇄를 포함하는 항체이다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 98의 중쇄 및 서열 번호 96의 경쇄를 포함한다.

[0189] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 98에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산 서열을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 96에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 98에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산 서열을 갖는 중쇄를 포함

하고, 서열 번호 96에 한 개, 두 개, 또는 세 개 또는 이를 초과하는 변형(예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입)을 갖는 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함한다.

[0190] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 99과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 100과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 99와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 중쇄 및 서열 번호 100과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 99와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 100과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 99와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 중쇄, 및 서열 번호 100과 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 99에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 100에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 99에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 100에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 99의 중쇄 및/또는 서열 번호 100의 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 99의 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 100의 경쇄를 포함하는 항체이다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 서열 번호 99의 중쇄 및 서열 번호 100의 경쇄를 포함한다.

[0191] 본 개시는 본원에 기재된 재조합, 단일클론, 키메라, 인간화 및 인간 항체 또는 이의 항체 단편과 실질적으로 상동성인 추가적인 변이체 및 동등물을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 항체의 결합 친화성을 개선하는 것이 바람직하다. 일부 구현예에서, 특이성, 열안정성, 발현 수준, 효과기 기능(들), 글리코실화, 면역원성 및/또는 용해도를 포함하지만 이에 제한되지 않는 항체의 생물학적 특성을 조절하는 것이 바람직하다. 당업자는 아미노산 변화가 항체의 번역 후 공정을 변경하는 것, 예컨대, 글리코실화 부위의 수 또는 위치를 변화시키거나 막 고정 특성을 변경할 수 있음을 이해할 것이다.

[0192] 항체의 효과기 기능은 아미노산 돌연변이 및/또는 도메인 치환에 의해 조절될 수 있다(예를 들어, 문헌[Dumet et al. MABS 2019; 11(8):1341-50)]에 기술된 것을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다). 추가적인 특성, 예컨대, 약동학(예를 들어, 문헌[Dall'acqua et al J of Immunology 2002;169 (9) 5171-80]), 글리코실화, 면역원성, 용해도, 및 안정성은 돌연변이 또는 치환에 의한 Fc의 변형에 의해 조작될 수 있다. 또한, 신규한 항원 특이도가 조작되어 불변 도메인 내에 새로운 파라토프를 생성할 수 있다(예를 들어, 문헌[Wozniak-Knopp et al. PEDS 2010;23(4):289-97]). Fab의 친화성 또는 결합력은 항체의 도메인 사이의 연결을 변경함으로써 조절될 수 있다. 예컨대, 항체의 상단 부분에서 Fab를 제거하고, 0 내지 40개의 아미노산으로부터 임의의 길이의 링커를 사용하여, 항원 결합에 대한 친화성 또는 결합력이 잠재적으로 조절되고 효과기 기능이 조절된 역위 항체[upside-down antibody]를 생성하는 Fab를 Fc C-말단에 연결하고 VH 또는 VL 도메인의 N-말단에 융합시키는 것이 있다(예를 들어, 문헌[Weber et al. Cell Reports 2018;22:149-62]).

[0193] 변이는 미접촉 항체 또는 폴리펩타이드 서열과 비교하여 아미노산 서열의 변화를 초래하는 항체 또는 폴리펩타이드를 암호화하는 하나 이상의 뉴클레오타이드의 치환, 결실 또는 삽입일 수 있다. 일부 구현예에서, 아미노산 치환은 하나의 아미노산을 유사한 구조적 및/또는 화학적 특성을 갖는 다른 아미노산으로 대체한 결과이다(예컨대, 류신을 세린으로 대체, 예를 들어, 보존적 아미노산 대체물). 삽입 또는 결실은 임의로, 약 한 개 내지 다섯 개의 아미노산 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 치환, 결실, 또는 삽입은 모 분자[parent molecule]에 비하여 25개 미만의 아미노산 치환, 20개 미만의 아미노산 치환, 15개 미만의 아미노산 치환, 10개 미만의 아미노산 치환, 5개 미만의 아미노산 치환, 4개 미만의 아미노산 치환, 3개 미만의 아미노산 치환, 또는 2개 미만의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 생물학적으로 유용하고/하거나 관련된 아미노산 서열의 변이는 체계적으로 서열에 삽입, 결실 또는 치환을 만들고 생성된 변이 단백질의 활성을 모 단백질[parent protein]과 비교하여 시험함으로써 결정될 수 있다.

[0194] 일부 구현예에서, 변이체는 항체 또는 폴리펩타이드의 아미노-말단 및/또는 카복실-말단에 아미노산 잔기의 첨가를 포함할 수 있다. 추가적인 아미노산 잔기의 길이는 1개 잔기부터 100개 이상의 잔기까지 다양할 수 있다. 일부 구현예에서, 변이체는 N-말단 메티오닐 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서, 변이체는 융합 단백질을 생성하기 위한 추가적인 폴리펩타이드/단백질(예를 들어, Fc 영역)을 포함한다. 일부 구현예에서, 변이체는 검출가능하도록 조작되며, 검출가능한 표지 및/또는 단백질(예를 들어, 형광 태그 또는 효소)을 포함할 수 있다.

[0195] 일부 구현예에서, 항체의 적절한 형태를 유지하는 데 관여하지 않는 시스테인 잔기는 항체의 특성을 조절하기 위해, 예를 들어, 산화 안정성을 개선하고/하거나 비정상적인 이황화물 가교를 방지하기 위해 치환되거나 결실된다. 반대로, 일부 구현예에서는 하나 이상의 시스테인 잔기가 첨가되어 이황화 결합(들)을 생성함으로써 안정성을 개선시킨다.

[0196] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체는 동일한 중쇄 사이에 이황화 결합을 형성할 수 없는 변이체 힌지 영역을 포함한다(예를 들어, 단량체 형성을 감소시킨다). 일부 구현예에서, 항체는 아미노산이 변화되어 변경된 정전기적 상호작용을 초래하는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는 아미노산이 변경되어 소수성/친수성 상호작용이 변형되는 중쇄를 포함한다.

[0197] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체는 '탈면역화[deimmunized]'된다. 항체의 탈면역화는 일반적으로 항체의 결합 친화성이나 기타 원하는 특성을 유의하게 감소시키지 않고 예측된 T 세포 에피토프를 제거하는 특정 아미노산 돌연변이(예를 들어, 치환, 결실, 첨가)를 도입하는 것으로 이루어진다.

[0198] 본원에 기재된 변이체 항체 또는 폴리펩타이드는 특정 부위 돌연변이 유발, 알라닌 스캐닝(scanning) 돌연변이 유발, 및 PCR 돌연변이 유발을 포함하지만 이에 제한되지 않는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다.

[0199] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 화학적으로 변형된다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 글리코실화, 아세틸화, 페길화, 인산화, 아마이드화, 공지된 보호기/차단기에 의한 유도체화, 단백질 분해 절단 및/또는 세포 리간드 또는 기타 단백질과의 연결에 의해 화학적으로 변형되었다. 수많은 화학적 변형 중 임의의 것이 공지된 기술에 의해 수행될 수 있다.

[0200] 일반적으로 말하자면, 항원-항체 상호작용은 비공유적이고 가역적이며, 수소 결합, 소수성 상호작용, 정전기적 힘 및 반데르발스 힘의 조합에 의해 형성된다. 항원-항체 복합체의 강도를 설명할 때 용어 친화성 및/또는 결합력이 자주 사용된다. 항체와 항원의 결합은 가역적 과정이며, 결합 친화성은 일반적으로 평형 해리 상수(K_D)로 보고된다. K_D는 항체 해리율(koff)(항원으로부터 해리되는 속도)과 항체 결합률(kon)(항원에 결합하는 속도)의 비율이다. 일부 구현예에서, K_D 값은 특정 항체/항원 상호작용의 kon 및 koff 비율을 측정한 다음 이들 값의 비율을 사용하여 K_D 값을 계산함으로써 측정된다. 일부 구현예에서, K_D 값은 개별 항체/항원 상호작용의 강도를 평가하고 순위를 매기는 데 사용된다. 항체의 K_D가 낮을수록 표적에 대한 항체의 친화성은 높아진다. 일부 구현예에서, 친화성은 Biacore 시스템의 SPR 기술을 사용하여 측정된다. 결합력은 항체-항원 복합체의 전반적인 강도를 측정한다. 이것은 세 가지 주요 매개변수에 의존한다. (i) 표적에 대한 항체의 친화성, (ii) 항체와 항원 모두의 원자가, 및 (iii) 상호작용하는 부분의 구조적 배열.

[0201] **항-TfR1 항체의 결합 특성**

[0202] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 100 내지 약 0.1 nM의 K_D 범위(1가 친화성) 내로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-Tfr1 항체는 약 1 μM 이하, 약 100 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 1 nM 이하, 약 0.1 nM 이하, 50 pM 이하, 10 pM 이하, 또는 1 pM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 20 nM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 10 nM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 1 nM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 0.5 nM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 0.1 nM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 50 pM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 25 nM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 10 pM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 1 pM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, TfR1에 대한 항체의 해리 상수는 Biacore 칩 위로 유동시킨 결합제로 해당 칩상에 고정된 TfR1 단백질 또는 이의 단편을 사용하여 결정된 해리 상수이다. 일부 구현예에서, TfR1에 대한 결합제(예를 들어, 항체)의 해리 상수는 칩 위로 흐르는 가용성 TfR1으로 Biacore 칩에 포획된 결합제를 사용하여 결정된 해리 상수이다.

[0203] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 5 nM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 3 nM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 2 nM 이하의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 0.01 내지 약 2.5 nM의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 0.1 내지 약 5 nM의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 1 내지 약 5 nM의 K_D(1가 친화성)로 TfR1에 결합한다.

[0204] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 1 내지 약 1 nM 범위(1가 친화도)의 절반최대유효농도[half maximal effective concentration, EC_{50}]로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 1 μM 이하, 약 100 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 1 nM 이하, 또는 약 0.1 nM 이하의 EC_{50}(1가 친화성)으로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 1 μM 이하, 약 100 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 1 nM 이하, 또는 약 0.1 nM 이하의 EC_{50}(1가 친화성)으로 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 약 40 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 1 nM 이하, 또는 약 0.1 nM 이하의 EC_{50}(1가 친화성)으로 시노 TfR1 및/또는 인간 TfR1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 0.1 내지 3 nM, 0.1 내지 2 nM, 0.1 내지 1 nM, 0.5 내지 3 nM, 0.5 내지 2 nM, 또는 0.5 내지 1 nM의 EC_{50}(1가 친화성)으로 TfR1에 결합한다.

[0205] 일부 구현예에서, EC_{50}값은 형광활성화 세포선택장치[Fluorescence Activated Cell Sorting, FACS]를 사용하여, TfR1을 발현하는 세포에 대한 항-TfR1 항체의 결합으로 측정된다. 일부 구현예에서, EC_{50}값은 효소결합면역흡착검사[Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA] 및 메소 스케일 디스커버리(Meso Scale Discovery, MSD)를 포함하지만 이에 제한되지 않는, huTfR1 세포 외 도메인으로 코팅된 플레이트에서의 분석에 의해 측정된다.

[0206] **항-TfR1 항체의 제작 방법**

[0207] 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해 생산될 수 있다. 이러한 방법은 직접적인 단백질 합성 방법부터 폴리펩타이드 서열을 암호화하는 DNA 서열을 작제하고 적합한 숙주에서 이러한 서열을 발현시키는 것까지 다양하다. 일부 구현예에서, DNA 서열은 관심 야생형 단백질을 암호화하는 DNA 서열을 분리하거나 합성함으로써 재조합 기술을 사용하여 작제된다. 임의로, 서열은 부위-특이적 돌연변이 유발에 의해 돌연변이 유발되어 이의 기능적 변이체를 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 관심 폴리펩타이드를 암호화하는 DNA 서열은 올리고뉴클레오타이드 합성기를 사용하는 화학적 합성에 의해 작제된다. 올리고뉴클레오타이드는 원하는 폴리펩타이드의 아미노산 서열에 기반하고 관심 재조합 폴리펩타이드가 생산될 숙주 세포에서 선호되는 코돈을 선택하여 설계될 수 있다. 단리된 관심 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 합성하기 위해 표준 방법을 적용할 수 있다. 예를 들어, 완전한 아미노산 서열을 사용하여 역번역 유전자를 작제할 수 있다. 나아가, 특정 단리된 폴리펩타이드를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 DNA 올리고머가 합성될 수 있다. 예를 들어, 원하는 폴리펩타이드의 일부를 코딩하는 여러 개의 작은 올리고뉴클레오타이드를 합성한 다음 연결할 수 있다. 개별 올리고뉴클레오타이드는 일반적으로 상보적 조립을 위해 5' 또는 3' 돌출부를 포함한다.

[0208] 일단 (합성, 특정 부위 돌연변이 유발, 또는 다른 방법에 의해) 조립되면, 특정 관심 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 발현 벡터에 삽입될 수 있고 원하는 숙주에서 단백질의 발현에 적합한 발현 조절 서열에 작동가능한 상태로 연결될 수 있다. 적절한 조립은 뉴클레오타이드 서열 분석, 제한 효소 매핑 및/또는 적합한 숙주에서의 생물학적 활성 폴리펩타이드의 발현을 통해 확인할 수 있다. 당업계에 널리 공지된 바와 같이, 숙주에서 형질감염된 유전자의 높은 발현 수준을 얻기 위해서는 선택된 발현 숙주에서 유전자가 기능적인 전사 및 번역 발현 조절 서열에 작동가능한 상태로 연결되어야 한다.

[0209] 일부 구현예에서, 재조합 발현 벡터는 인간 TfR1에 대한 항체를 암호화하는 DNA를 증폭시키고 발현시키는 데 사용된다. 예를 들어, 재조합 발현 벡터는 포유동물, 미생물, 바이러스, 또는 곤충 유전자에서 유래한 적합한 전사 및/또는 번역 조절 요소에 작동가능한 상태로 연결된 항-TfR1 항체의 폴리펩타이드 사슬을 암호화하는 합성 또는 cDNA 유래 DNA 단편을 포함하는 복제성 DNA 작제물일 수 있다. 전사 단위는 일반적으로 (1) 유전자 발현에서 조절 역할을 하는 하나의 또는 복수의 유전적 요소, 예를 들어, 전사 프로모터 또는 인핸서, (2) mRNA로 전사되고 단백질로 번역되는 구조적 또는 코딩 서열, 및 (3) 적절한 전사 및 번역 개시 및 종료 서열의 조립을 포함한다. 조절 요소는 전사를 제어하기 위해 작동유전자 서열을 포함할 수 있다. 대개 복제 원점에 의해 부여되

는 숙주 내 복제 능력과 형질전환체의 인식을 촉진하는 선택 유전자 역시 포함될 수 있다. DNA 영역은 기능적으로 서로 관련되어 있을 때 '작동가능한 상태로 연결'되어 있다. 예를 들어, 신호 펩타이드(분비성 선도 서열)의 DNA는 폴리펩타이드의 분비에 참여하는 전구체로 발현되는 경우 폴리펩타이드의 DNA에 작동가능한 상태로 연결된다. 프로모터는 서열의 전사를 조절하는 경우 코딩 서열에 작동가능한 상태로 연결된다. 또는 리보솜 결합 부위는 번역이 가능하도록 위치하는 경우, 코딩 서열에 작동가능한 상태로 연결된다. 일부 구현예에서, 효모 발현 시스템에 사용하기 위해 의도된 구조적 요소는 숙주 세포에 의해 번역된 단백질의 세포 외 분비를 가능하게 하는 선도 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 단백질이 선도 서열 또는 수송 서열 없이 발현되는 상황에서, 폴리펩타이드는 N-말단 메티오닌 잔기를 포함할 수 있다. 이 잔기는 임의로, 발현된 재조합 단백질로부터 이후 절단되어 최종 생산물을 제공할 수 있다.

[0210] 발현 조절 서열 및 발현 벡터의 선택은 일반적으로 숙주의 선택에 따라 달라진다. 다양한 발현 숙주/벡터 조합을 사용할 수 있다. 진핵 숙주에 유용한 발현 벡터는 예를 들어, SV40, 소 유두종 바이러스[bovine papilloma virus], 아데노바이러스[adenovirus] 및 거대세포바이러스[cytomegalovirus]로부터의 발현 조절 서열을 포함하는 벡터를 포함한다. 박테리아 숙주에 유용한 발현 벡터는 공지된 박테리아 플라스미드, 예컨대, pCR1, pBR322, pMB9 및 그 유도체를 포함하는 대장균(*E. coli*)의 플라스미드와 더 넓은 숙주 범위의 플라스미드, 예컨대, M13 및 기타 섬유상 단일 가닥 DNA 페이지를 포함한다.

[0211] 일부 구현예에서, 본 개시의 항-TfR1 항체는 하나 이상의 벡터로부터 발현된다. 일부 구현예에서, 중쇄 폴리펩타이드는 하나의 벡터에 의해 발현되고 경쇄 폴리펩타이드는 제2 벡터에 의해 발현된다. 일부 구현예에서, 중쇄 폴리펩타이드와 경쇄 폴리펩타이드는 하나의 벡터에 의해 발현된다. 따라서, 본 개시는 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 암호화하는 벡터를 제공한다. 일 구현예에서, 벡터는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄 폴리펩타이드를 암호화한다. 일 구현예에서, 벡터는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 경쇄 폴리펩타이드를 암호화한다. 일 구현예에서, 벡터는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄 폴리펩타이드 및 경쇄 폴리펩타이드를 암호화한다.

[0212] 항원 또는 면역원으로 사용하기 위한 항-TfR1 항체 또는 TfR1 단백질 또는 이의 단편의 발현에 적합한 숙주 세포는 적절한 프로모터의 조절하에 있는 원핵 생물, 효모 세포, 곤충 세포, 또는 고등 진핵 생물 세포를 포함한다. 원핵생물은 그람 음성 또는 그람 양성 유기체, 예를 들어, 대장균 또는 바실러스(*Bacillus*)를 포함한다. 고등 진핵 세포는 본원에 기술된 바와 같이 포유류 기원의 확립된 세포주를 포함한다. 무세포 번역 시스템 또한 사용될 수 있다. 박테리아, 진균, 효모 및 포유동물 세포 숙주에 사용하기 위한 적절한 클로닝 및 발현 벡터뿐만 아니라 항체 생산을 포함한 단백질 생산 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다.

[0213] 다양한 포유동물 배양 시스템을 사용하여 재조합 폴리펩타이드를 발현시킬 수 있다. 포유동물 세포에서 재조합 단백질의 발현은 이들 단백질이 일반적으로 적절하게 접혀지고, 적절하게 변형되고, 생물학적으로 기능하기 때문에 바람직할 수 있다. 적합한 포유류 숙주 세포주의 예시는 COS-7(원숭이 신장 유래), L-929(마우스 섬유아세포 유래), C127(마우스 유선 종양 유래), 3T3(마우스 섬유아세포 유래), CHO(중국 햄스터 난소 유래), HeLa (인간 자궁경부암 유래), BHK(햄스터 신장 섬유아세포 유래), HEK-293(인간 배아 신장 유래) 세포주 및 이의 변이를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 포유류 발현 벡터는 전사되지 않은 요소, 예컨대, 복제원점, 발현될 유전자에 연결된 적합한 프로모터 및 인핸서, 및 기타 5' 또는 3' 측면의 전사되지 않은 서열, 그리고 5' 또는 3' 전사되지 않은 서열, 예컨대, 필요한 리보솜 결합 부위, 폴리아데닐화 부위, 스플라이싱 공여체 및 수용체 부위, 및 전사 종결 서열을 포함할 수 있다.

[0214] 곤충 세포 배양 시스템[예를 들어, 바큘로바이러스(*baculovirus*)]에서 재조합 단백질의 발현은 적절하게 접혀 있고 생물학적으로 기능적인 단백질을 생산하기 위한 강력한 방법 또한 제공한다. 곤충 세포에서 이종 단백질을 생산하기 위한 바큘로바이러스 시스템은 당업자에게 널리 공지되어 있다.

[0215] 따라서, 본 개시는 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 포함하는 세포를 제공한다. 본 개시는 또한 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 암호화하는 하나 이상의 벡터를 포함하는 세포를 제공한다. 일 구현예에서, 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일 구현예에서, 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄를 암호화하는 제1 폴리뉴클레오타이드 및 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 경쇄를 암호화하는 제2 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일 구현예에서, 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일 구현예에서, 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 암호화하는 벡터를 포함한다. 일 구현예에서, 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄를 암호화하는 제1 벡터 및 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 경쇄를 암호화하는 제2 벡터를 포함한다. 일 구현예에서, 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 벡터를

포함한다. 일부 구현예에서, 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 생산한다. 일부 구현예에서, 세포는 항체를 생산한다. 일부 구현예에서, 세포는 인간 TfR1에 결합하는 항체를 생산한다. 일부 구현예에서, 세포는 시노 TfR1에 결합하는 항체를 생산한다. 일부 구현예에서, 세포는 인간 TfR1 및 시노 TfR1에 결합하는 항체를 생산한다. 일부 구현예에서, 세포는 항체-A로 지명된 항체를 생산한다. 일부 구현예에서, 세포는 항체-A의 인간화 버전을 생산한다. 일부 구현예에서, 세포는 항체-B로 지명된 항체를 생산한다. 일부 구현예에서, 세포는 항체-B의 인간화 버전을 생산한다. 일부 구현예에서, 세포는 원핵 세포(예를 들어, 대장균)이다. 일부 구현예에서, 세포는 진핵 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 포유류 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 하이브리도마 세포이다.

[0216] 숙주 세포에 의해 생산된 단백질은 임의의 적합한 방법에 따라 정제될 수 있다. 표준 방법은 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환, 친화성, 크기 컬럼 크로마토그래피), 원심분리, 분별 용해도, 또는 단백질 정제에 대한 임의의 다른 표준 기술을 포함한다. 헥사-히스티딘(서열 번호 209), 말토스 결합 도메인, 인플루엔자 코트 서열 및 글루타치온-S-트랜스퍼레이스와 같은 친화성 태그를 단백질에 부착하여 적절한 친화성 컬럼을 통과시킴으로써 용이하게 정제할 수 있다. 면역 글로불린을 정제하는 데 사용되는 친화성 크로마토그래피는 단백질 A, 단백질 G 및 단백질 L 크로마토그래피를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 단리된 단백질은 단백질분해, 크기 배제 크로마토그래피[size exclusion chromatography, SEC], 질량 분석법[mass spectrometry, MS], 핵자기공명[nuclear magnetic resonance, NMR], 등전점 전기영동[isoelectric focusing, IEF], 고성능 액체 크로마토그래피[high performance liquid chromatography, HPLC], 및 X선 결정학을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 물리적으로 특성화할 수 있다. 단리된 단백질의 순도는 SDS-PAGE, SEC, 모세관 겔 전기영동, IEF 및 모세관 등전점 전기영동[capillary isoelectric focusing, cIEF]을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 결정될 수 있다.

[0217] 일부 구현예에서, 재조합 단백질을 배양 배지로 분비하는 발현 시스템의 상청액은 시판되는 단백질 농축 필터, 예를 들어, Amicon® 또는 Millipore Pellicon® 한외여과 장치를 사용하여 먼저 농축된다. 농축 단계 후에 농축물은 적합한 정제 매트릭스에 도포될 수 있다. 일부 구현예에서, 음이온 교환 수지, 예를 들어, 펜던트 다이에틸아미노에틸(diethylaminoethyl, DEAE) 기를 갖는 매트릭스 또는 기질이 사용된다. 매트릭스는 아크릴아마이드, 아가로스, 덱스트란, 셀룰로스 또는 단백질 정제에 흔히 사용되는 기타 유형일 수 있다. 일부 구현예에서, 양이온 교환 단계가 사용된다. 적합한 양이온 교환체는 설포프로필 또는 카복시메틸 기를 포함하는 다양한 불용성 매트릭스를 포함한다. 일부 구현예에서, 세라믹 수산화인회석[ceramic hydroxyapatite, CHT]을 포함하지만 이에 제한되지 않는 수산화인회석 배지가 사용된다. 일부 구현예에서, 소수성 RP-HPLC 배지, 예를 들어, 펜던트 메틸 또는 다른 지방족 기를 갖는 실리카겔을 사용하는 하나 이상의 역상 HPLC 단계가 재조합 단백질을 추가로 정제하기 위해 사용된다. 일부 구현예에서, 소수성 상호작용 크로마토그래피[hydrophobic interaction chromatography, HIC]는 소수성에 기반하여 재조합 단백질을 분리하는 데 사용된다. HIC는 일부 다른 기술보다 덜 변성되는 조건에서 작동하는 조건과 매트릭스를 사용하기 때문에 생물학적 활성을 유지하면서 단백질을 정제하는 데 유용한 분리 기술이다. 균질한 재조합 단백질을 제공하기 위해 전술한 정제 단계 중 일부 또는 전부를 다양한 조합으로 사용할 수 있다.

[0218] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체는 먼저 전장 단일클론 Ab를 제작한 후, 화학적 또는 효소적 절단(예를 들어, 펩신, 파파인, 또는 피신 소화)으로 단일클론항체를 분해하여 $F(ab')_2$ 단편을 산출하고, 이후 이들 단편을 환원시켜 산출된 Fab 단편에 의해 생성될 수 있는 Fab이다. 이러한 기술은 당업계에 공지되어 있다. 문헌[Victor C-G et al., Biosensors and Bioelectronics, 2016 (85):32-45.]을 참조한다. 또한, 본 개시의 항체는 $F(ab')_2$ 항체 단편의 재조합 합성에 이어 이들 단편의 화학적 환원에 의해 Fab 단위를 산출함으로써 제작된다.

[0219] **폴리뉴클레오타이드**

[0220] 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기재된 폴리펩타이드(예를 들어, 항-TfR1 항체)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 포괄한다. 용어 '폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드'는 폴리펩타이드에 대한 코딩 서열만을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 뿐만 아니라 추가적인 코딩 및/또는 비코딩 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 포괄한다. 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드는 RNA 형태 또는 DNA 형태일 수 있다. DNA는 cDNA, 게놈 DNA 및 합성 DNA를 포함한다. 그리고 이는 이중 가닥 또는 단일 가닥일 수 있고, 단일 가닥인 경우 코딩 가닥 또는 비코딩(안티센스) 가닥일 수 있다. 일부 구현예에서, 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 뉴클레오타이드 서열)를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 뉴클레오타

이드 서열)를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 뉴클레오타이드 서열) 및 항-TfR1 항체의 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 뉴클레오타이드 서열)를 포함한다.

[0221] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 서열 번호 4 내지 164 중 임의의 어느 하나로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 뉴클레오타이드 서열)를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 서열 번호 4, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7, 서열 번호 8, 서열 번호 9, 서열 번호 10, 서열 번호 11, 서열 번호 12, 서열 번호 13, 서열 번호 14, 서열 번호 15, 서열 번호 16, 서열 번호 17, 서열 번호 18, 서열 번호 19, 서열 번호 20, 서열 번호 21, 서열 번호 22, 서열 번호 23, 서열 번호 24, 서열 번호 25, 서열 번호 26, 서열 번호 27, 서열 번호 28, 서열 번호 29, 서열 번호 30, 서열 번호 31, 서열 번호 32, 서열 번호 33, 서열 번호 34, 서열 번호 35, 서열 번호 36, 서열 번호 37, 서열 번호 38, 서열 번호 39, 서열 번호 40, 서열 번호 41, 서열 번호 42, 서열 번호 43, 서열 번호 44, 서열 번호 93, 서열 번호 94, 서열 번호 95, 서열 번호 96, 서열 번호 97, 서열 번호 98, 서열 번호 99 및 서열 번호 100 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 뉴클레오타이드 서열)을 포함한다.

[0222] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 서열 번호 4 내지 164 중 어느 하나로 이루어진 군에서 선택되는 하나 초과의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 뉴클레오타이드 서열)를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 98의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0223] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 34의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 15의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0224] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 42의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타

이드는 (i) 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 43의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 및 (ii) 서열 번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0225] 본 개시는 또한 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드의 변이체를 제공하되, 변이체는 예를 들어 폴리펩타이드의 단편, 유사체 및/또는 유도체를 암호화한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기재된 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드와 적어도 약 80% 동일한, 적어도 약 85% 동일한, 적어도 약 90% 동일한, 적어도 약 95% 동일한, 그리고 일부 구현예에서는, 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

[0226] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 서열 번호 4 내지 164로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드와 적어도 약 80% 동일한, 적어도 약 85% 동일한, 적어도 약 90% 동일한, 적어도 약 95% 동일한, 그리고 일부 구현예에서는, 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 또한 서열 번호 4 내지 164로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 혼성화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 일부 구현예에서, 혼성화는 당업자에게 공지된 바와 같이 매우 엄격한 조건하에서 이루어진다.

[0227] 본원에 사용된 구절 '참조 뉴클레오타이드 서열과 적어도, 예를 들어, 95% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드'는 폴리뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 서열이 참조 서열과 동일하다는 것을 의미하는 것으로 의도되는데, 이때 폴리뉴클레오타이드 서열은 참조 뉴클레오타이드 서열의 각 100개 뉴클레오타이드당 최대 5개의 점 돌연변이를 포함할 수 있다는 점은 제외된다. 다시 말해서, 참조 뉴클레오타이드 서열과 적어도 95% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 얻기 위해서는 참조 서열 중 최대 5%의 뉴클레오타이드가 결실되거나, 다른 뉴클레오타이드로 치환되거나, 참조 서열 중 총 뉴클레오타이드의 최대 5%인 다수의 뉴클레오타이드가 참조 서열에 삽입될 수 있다. 참조 서열의 이들 돌연변이는 참조 뉴클레오타이드 서열의 5' 또는 3' 말단 위치에, 또는 참조 서열 내의 뉴클레오타이드 사이에 개별적으로, 또는 참조 서열 내의 하나 이상의 인접 기에 산재된 이들 말단 위치 사이 어디에서나 발생할 수 있다.

[0228] 폴리뉴클레오타이드 변이체는 코딩 영역, 비코딩 영역, 또는 둘 모두에서의 변경을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 침묵 치환, 첨가 또는 결실을 생산하는 변경을 포함하지만, 암호화된 폴리펩타이드의 특성 또는 활성을 변경하지는 않는다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 (유전자 코드의 축중[degeneracy]으로 인해) 폴리펩타이드의 아미노산 서열에 변화를 초래하지 않는 침묵 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 코돈에 의해 암호화된 아미노산을 변경하는 코돈에 대한 한 개 이상(예를 들어, 한 개, 두 개, 또는 세 개)의 치환을 포함하는 한 개 이상의 돌연변이된 코돈을 포함한다. 한 개 이상의 치환을 코돈에 도입하는 방법은, 예를 들어, PCR 돌연변이 유발 및 특정 부위 돌연변이 유발과 같이 당업계에 공지되어 있다. 폴리뉴클레오타이드 변이체는 다양한 이유로, 예를 들어, 특정 숙주에 대한 코돈 발현을 최적화(예를 들어, 인간 mRNA의 코돈을 대장균과 같은 박테리아 숙주가 선호하는 코돈으로 변경)하기 위해 생산될 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 서열의 비코딩 또는 코딩 영역에 적어도 하나의 침묵 돌연변이를 포함한다.

[0229] 일부 구현예에서, 암호화된 폴리펩타이드의 발현(또는 발현 수준)을 조절하거나 변경하기 위해 폴리뉴클레오타이드 변이체가 생산된다. 일부 구현예에서, 암호화된 폴리펩타이드의 발현을 증가시키기 위해 폴리뉴클레오타이드 변이체가 생산된다. 일부 구현예에서, 암호화된 폴리펩타이드의 발현을 감소시키기 위해 폴리뉴클레오타이드 변이체를 생산한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 모 폴리뉴클레오타이드 서열과 비교하여 암호화된 폴리펩타이드의 발현이 증가된다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 모 폴리뉴클레오타이드 서열과 비교하여 암호화된 폴리펩타이드의 발현이 감소된다.

[0230] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 동일한 해독틀[reading frame]에서 숙주 세포로부터 폴리펩타이드의 발현 및 분비를 돕는 폴리뉴클레오타이드에 융합된 폴리펩타이드(예를 들어, 항체)에 대한 코딩 서열(예를 들어, 폴리펩타이드의 수송을 조절하기 위해 분비 서열로서 기능하는 선도 서열)을 포함한다. 폴리펩타이드는 숙주 세포에 의해 절단되어 '성숙한' 형태의 폴리펩타이드를 형성하는 선도 서열을 가질 수 있다.

[0231] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 동일한 해독틀에서 마커 또는 태그 서열에 융합된 폴리펩타이드(예를 들어, 항체)에 대한 코딩 서열을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 마커 서열은 마커에 융합된 폴리펩타이드의 효율적인 정제를 가능하게 하는 헥사-히스티딘(서열 번호 209) 태그(HIS-태그)이다. 일부 구현예에서,

마커 서열은 포유동물 숙주(예를 들어, COS-7 세포)가 사용되는 경우 인플루엔자 헤마글루티닌[hemagglutinin, HA] 단백질에서 유래한 헤마글루티닌 태그이다. 일부 구현예에서, 마커 서열은 FLAG™ 태그이다. 일부 구현예에서, 마커는 다른 마커 또는 태그와 함께 사용된다.

[0232] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 단리된다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 실질적으로 순수하다.

[0233] **벡터 및 세포**

[0234] 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드 각각 및 모두를 포함하는 벡터 및 세포 또한 제공된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함한다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 부분인 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함한다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함한다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 경쇄 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함한다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄 폴리펩타이드 및 경쇄 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 일부분인 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 경쇄 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄 폴리펩타이드를 암호화하는 제1 폴리뉴클레오타이드 및 경쇄 폴리펩타이드를 암호화하는 제2 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서 숙주 세포는 다음을 포함한다. (ii) 본원에 기재된 항-TfR1 항체의 중쇄 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함하는 제1 발현 벡터, 및 (ii) 항-TfR1 항체의 경쇄 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함하는 제2 발현 벡터.

[0235] **항-TfR1 항체의 물리적/화학적 특성의 분석**

[0236] 본 개시의 항-TfR1 항체는 당업계에 공지된 다양한 방법에 의해 이의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대해 분석될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TfR1(예를 들어, 인간 TfR1 및/또는 시노 TfR1)과 결합하는 이의 능력에 대해 테스트된다. 결합 검정은 SPR(예를 들어, Biacore), ELISA, 및 FACS를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 이의 TfR1 수용체에 대한 트랜스페린의 결합을 억제, 감소 또는 차단하는 이의 능력에 대해 테스트된다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TfR1 활성을 억제, 감소 또는 차단하는 이의 능력에 대해 테스트된다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 TfR1에 내입하고 TfR1의 증가된 내입을 유도하는 이의 능력에 대해 테스트된다. 추가적으로, 항체는 용해도, 안정성, 열안정성, 점도, 발현 수준, 발현 품질 및/또는 정제 효율성에 대해 평가될 수 있다.

[0237] 일부 구현예에서, TfR1에 대해 생성된 단일클론항체는 각 개별 항체가 인식하는 에피토프를 기준으로 그룹화되며, 이 공정은 '에피토프 비닝(epitope binning)'으로 알려져 있다. 일반적으로 항체는 쌍을 이루는 조합의 방식으로 테스트되며, 서로 경쟁하는 항체는 빈(bin)에 함께 그룹화된다. 예를 들어, 프리믹스 비닝 검정[premix binning assay]에서, 제1 항체는 표면에 고정되고, 제2 항체와 항원의 사전 혼합된 용액은 고정된 제1 항체 위로 흘러간다. 동시에, 표적 단백질은 표면에 고정되고 두 항체는 고정된 항원 위로 흘러 표적에 결합하기 위해 경쟁한다. 이 기술을 통해 서로를 차단하는 항체를 식별할 수 있다. 다른 항체와 비교하여, 각 항체에 대한 경쟁적 차단 프로파일이 생성된다. 결과에 따라 각 항체가 어느 빈(bin)에 배치될지 결정된다. 에피토프 비닝의 고처리량 방법은 당업계에 공지되어 있으며 다수의 항체를 스크리닝하고 특성화할 수 있다. 유사한 에피토프에 결합하는 항체는 유사한 기능을 종종 공유한다. 반대로, 서로 다른 에피토프에 결합하는 항체는 서로 다른 기능적 활성을 가질 수 있다.

[0238] 일부 구현예에서, 에피토프 빈은 항체-A 및 항체-B로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나의 항체를 포함한다.

[0239] 에피토프 매핑(epitope mapping)은 항체(또는 기타 결합제)가 결합하는 표적 단백질의 결합 부위, 영역 또는 에피토프를 식별하는 방법이다. 표적 단백질의 에피토프를 매핑하기 위한 다양한 방법이 당업계에 공지되어 있다.

이러한 방법은 샷건 돌연변이 유발[shotgun mutagenesis], 특정 부위 돌연변이 유발 및 알라닌 스캐닝, 도메인 또는 단편 스캐닝, 펩타이드 스캐닝[예를 들어, 펩스칸(Pepscan) 기술], 디스플레이 방법(예를 들어, 페이지 디스플레이, 미생물 디스플레이, 및 리보솜/mRNA 디스플레이), 단백질 분해 및 질량 분광학을 포함하는 방법, 및 구조적 결정(예를 들어, X선 결정학 및 NMR)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 항체가 결합하는 에피토프를 매핑하는 상세한 예시적 방법은 문헌[Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, N.J.)]에 제공된다.

[0240] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 N-말단 서열분석, 아미노산 분석, HPLC, 질량 분석법, 이온 교환 크로마토그래피 및 파파인 소화를 포함하지만 이에 제한되지 않는 검정에 의해 특성 분석된다.

[0241] 일부 구현예에서, TfR1 활성에 영향을 미치는 항-TfR1 항체를 식별하기 위한 검정이 제공된다. 일부 구현예에서, SPR, ELISA 또는 FACS 검정은 TfR1과 Tf의 결합을 차단하는 항-TfR1 항체의 능력을 평가하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 세포독성 검정은 자연 살해[natural killer, NK] 세포 활성에 영향을 미치는 항-TfR1 항체의 능력을 평가하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 증식 검정은 T 세포 활성에 영향을 미치는 항-TfR1 항체의 능력을 평가하는 데 사용된다.

[0242] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 인간 TfR1의 길항제이다. 일부 경우에, 용어 '억제하는', '유도하는', '감소시키는', '증가시키는', '향상시키는'은 항-TfR1 항체를 포함하는 접합체를 사용한 치료를 하지 않은 수준/활성에 상대적이다. 일부 경우에, 용어 '억제하는', '유도하는', '감소시키는', '증가시키는', '향상시키는'는 항-TfR1 항체를 포함하는 접합체를 사용한 치료 전의 수준/활성에 상대적이다.

[0243] **항-TfR1 항체 접합체, 융합체 및 복합체**

[0244] 본 개시는 또한 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 포함하는 접합체, 융합 단백질 및 복합체를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 개시의 항-TfR1 항체는 제2 분자에 접합될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 세포독성제 또는 모이어티에 접합된다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 세포독성제에 접합되어 항체약물접합체[antibody-drug conjugate, ADC]를 형성한다.

[0245] 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 포함하는 접합체는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법을 사용하여 제작될 수 있다. 일부 구현예에서, 접합체의 성분은 공유적 상호작용에 의해 연결된다. 일부 구현예에서, 접합체는 다양한 이작용성 단백질 결합제, 예컨대, N-석신이미딜-3-(2-파이리디이티올)프로피오네이트(N-succinimidyl-3-(2-pyridyidithiol) propionate, SPDP), 아이미노티올레인(iminothiolane, IT), 아이미도에스터스의 이작용성 유도체(예컨대, 다이메틸 아디피미데이트 HCl), 활성 에스터(예컨대, 다이석신이미딜 서버레이트), 알데하이드(예컨대, 글루탈알데하이드), 비스-아지도 화합물(예컨대, 비스(p-아지도벤조일) 헥세인다이아민), 비스-다이아조늄 유도체(예컨대, 비스-(p-다이아조니움벤조일)-에틸렌다이아민), 디노사이아네이트(예컨대, 톨루엔 2,6디아이소시아네이트), 및 비스-활성화 플루오린 화합물(예컨대, 1,5-다이플루오르-2,4-다이나이트로벤젠)을 사용하여 제작된다.

[0246] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 작용제가 진단 및/또는 검출에 사용될 수 있게 하는 검출성 물질 또는 분자에 접합된다. 검출가능한 물질은 효소, 예컨대 홀스래디쉬 퍼옥시데이스, 알칼라인 포스파테이스, 베타-갈락토시데이스, 및 아세틸콜린에스터레이스, 프로스테틱기, 예컨대, 비오틴 및 플라바인(들), 형광 물질, 예컨대, 엄벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 아이소티오시아네이트(fluorescein isothiocyanate, FITC), 로다마인, 테트라메틸로다마인, 아이소티오사이아네이트(tetramethylrhodamine isothiocyanate, TRITC), 다이클로로트리아지닐아마인 플루오레세인, 단실 클로라이드, 시아나인(Cy3), 및 파이코에리스린, 생물 발광 물질, 예컨대 루시퍼레이스, 방사성 물질, 예컨대, ^{212}Bi, ^{14}C, ^{57}Co, ^{51}Cr, ^{67}Cu, ^{18}F, ^{68}Ga, ^{67}Ga, ^{153}Gd, ^{159}Gd, ^{68}Ge, ^{3}H, ^{166}Ho, ^{131}I, ^{125}I, ^{123}I, ^{121}I, ^{115}In, ^{113}In, ^{112}In, ^{111}In, ^{140}La, ^{177}Lu, ^{54}Mn, ^{99}Mo, ^{32}P, ^{103}Pd, ^{149}Pm, ^{142}Pr, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{105}Rh, ^{97}Ru, ^{35}S, ^{47}Sc, ^{75}Se, ^{153}Sm, ^{113}Sn, ^{117}Sn, ^{85}Sr, ^{99m}Tc, ^{201}Ti, ^{133}Xe, ^{90}Y, ^{69}Yb, ^{175}Yb, ^{65}Zn, 양전자 방출 금속, 및 자성 금속 이온을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0247] 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 또한 제2 항체에 접합되어 항체 이종접합체를 형성할 수 있다.

[0248] 본원에 기재된 항-TfR1 항체는 고체 지지체에 부착될 수 있다. 이러한 고체 지지체는 유리, 셀룰로스, 폴리아크릴아마이드, 나일론, 폴리스티렌, 폴리비닐 클로라이드, 또는 폴리프로필렌을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 고정된 항-TfR1 항체가 면역검정에 사용된다. 일부 구현예에서, 고정된 항-TfR1 항체는 표적 항원(예를 들어, 인간 TfR1 또는 시노 TfR1)의 정제에 사용된다.

[0249] 일부 구현예에서, 본 개시의 항-TfR1 항체는 분자 또는 약물, 예컨대, 핵산, 예를 들어 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 짧은 간섭 RNA[short interfering RNA, siRNA], RNA, 예컨대, 전령 RNA[mRNA], 마이크로 RNA(microRNA, miRNA), 가이드 RNA(gRNA), 포스포로아미데이트 모폴리노 올리고머 또는 압타머 등에 접합될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 것과 같은 치료제를 함유할 수 있는 입자, 예를 들어, 지질 입자 또는 나노입자에 접합된다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 바이러스 입자, 예를 들어, 치료 핵산 및/또는 단백질을 포함하는 바이러스 입자, 예를 들어, 유전자 치료법을 위한 바이러스 입자에 접합된다. 항-TfR1 항체는 링커에 의해 약물에 연결될 수 있다. 본 개시에서 고려되는 접합체와 같은 항체-핵산 접합체를 제작하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다. 그 전체가 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 출원 제US20190240346호, 및 미국 특허 제US10881743호 및 제US10550188호, 및 국제 특허 출원 공개 제WO1991004753호를 참조한다.

[0250] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 포함하는 융합 단백질은 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 이러한 융합 단백질은 본원에 기재된 본 개시의 항-TfR1 항체(이중특이적, 다중특이적 또는 다가 항-TfR1 항체 포함)와 치료 폴리펩타이드 또는 단백질의 융합을 포함할 수 있다. 하나의 경우에, 문헌[Candelaria PVet al. Front Immunol. 2021, 12, 607692.]에 기술된 바와 같이, 융합 단백질을 생산하기 위해 중쇄의 C 말단에 아비딘(avidin)을 첨가할 수 있다. 융합 단백질은 제2 분자 또는 약물, 예컨대, 문헌[Daniels TR, et al. Biochim Biophys Acta. 2012;1820(3):291-317.]에 기술된 바와 같이, 바이오티닐화된 약물에 추가로 접합되거나 복합체화될 수 있다.

[0251] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-TfR1 Ab를 포함하는 복합체는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법을 사용하여 제작될 수 있다. 일부 구현예에서, 복합체의 성분은 비공유적 상호작용에 의해 연결된다. 이러한 화합물은 또 다른 작용제, 예를 들어, 치료제와 복합체화되거나, 치료 폴리펩타이드 또는 단백질을 갖는 지질 또는 나노입자와 복합체화되는 항-TfR1 항체를 포함한다.

[0252] **조직 표적화 및 항-TfR1 항체의 사용**

[0253] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체는 근육 조직, 예를 들어, 골격근 또는 수의근, 심장근, 평활근 등을 표적화하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 포함하는 치료 유효량의 접합체/융합체/복합체를 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 근육 위축증 또는 근긴장 이영양증을 치료하는 방법이 본원에 기술된다. 일부 경우에, 근육 위축증은 악액질(예를 들어, 암 악액질), 신경제거, 근육병증, 운동신경 질환, 당뇨병, 만성 폐쇄성 폐질환, 간 질환, 울혈성 심부전, 만성 신부전, 만성 감염, 패혈증, 단식, 근육감소증, 글루코코르티코이드-유도 위축증, 사용불능, 또는 우주 비행과 연관되고/되거나 이에 의해 유도된다. 일부 경우에, 근긴장성 이영양증은 DM1이다. 본 개시의 항-TfR1 항체를 포함하는 접합체로 치료할 수 있는 근육 질환의 예시는 근육 질환, 근위축증 질환, 동맥경화증 질환, 심장 관련 질환 및 리소좀 축적 질환을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0254] 근육 질환의 예시로는 근이영양증(예를 들어, 뒤센 근이영양증[Duchenne muscular dystrophy, DMD], 베커 근이영양증[Becker muscular dystrophy, Becker MD], 에머리-드라이퍼스 근이영양증, 안면견갑상완근이영양증, 눈인두근이영양증, 원위부 근이영양증, 지대근이영양증, 후쿠야마형 선천성 근이영양증, 근긴장성 이영양증), 주기성 마비, 횡격막 마비, 횡격막 무력증, 원위 근육병증, 근긴장 증후군, 미토콘드리아 질환, 및 근육 소모 질환을 포함한다.

[0255] 근위축증 질환의 예시는 근육감소증(연령 관련 근위축증), 불용성 근위축증, 악액질, 근위축성 측색경화증[amyotrophic lateral sclerosis, ALS], 척수근위축증을 포함한다.

[0256] 근육 소모와 관련된 질환의 예시는 DMD, 베커 MD, 지대근 MD, 근긴장성 MD, 안면 견갑 상완형 근육위측증[Facioscapulohumeral muscular dystrophy, FSHD], 근염, 근육병증(유전성 근육병증 및 후천성 근육병증 포함), 운동신경 질환(예컨대, 루게릭병 또는 ALS) 및 신경퇴행성 질환(예컨대, 파킨슨병, 헌팅턴병, 알츠하이머병)을 포함한다.

[0257] 동맥경화성 질환의 예시는 말초 동맥 폐쇄성 질환을 포함한다.

[0258] 심장 관련 질환의 예시는 협심증(노력협심증, 변이형 협심증 포함), 급성관상동맥증후군(불안정협심증, 급성심근경색, 심근경색후 심부전 포함), 심부전(HFrEF, HFpEF, 급성 심부전, 만성 심부전, 비대상성 심부전 포함), 심근병증(확장성 심근병증, 비대성 심근병증, 제한성 심근병증 포함), 폐성심, 무증상 심근 허혈, 부정맥(전도장애, 동방결절 기능 장애, 이소성 심실상 리듬, 방실 차단, 심방 세동, 심방 조동, 재진입 상심실성 빈맥

[supraventricular tachycardia, SVT, PSVT], 볼프-파킨슨-화이트[Wolff-Parkinson-White, WPW] 증후군, 다리 및 다발 차단(다발 분지 차단 및 다발 차단), 심실 수축기외, 심실성빈맥, 심실세동, 심장돌연사 포함), 판막 이상(대동맥 부전, 대동맥 판막 협착증, 승모판 탈출증[mitral valve prolapse, MVP], 승모판 역류, 승모판 협착증, 폐동맥판 부전, 폐동맥 협착증, 삼첨판 역류, 삼첨판 협착증 포함), 심내막염, 심장 종양, 심폐 우회술 후 심장 기능 저하, 중증 심부전에 대한 비약물 치료(예를 들어, 대동맥 내 풍선 펌핑, 심실 보조 장치, 바티스타 수술, 세포 이식, 유전자 치료, 심장 이식) 중 심장 기능 유지 및 심장 사고 예방을 포함한다. 본 개시의 항-TfR1 항체를 포함하는 접합체로 치료될 수 있는 질병의 목록에 대해서는, 그 전체가 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 출원 공개 제US20190240346호, 및 미국 특허 제US10881743호 및 제US10550188호, 및 국제 특허 출원 공개 제WO1991004753호를 참조한다.

[0259] 근육과는 별개로, 본 개시의 항체는 TfR1이 발현되는 다른 조직을 표적화하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 조직의 예시는 간 세포, 면역 세포, 종양 및 뇌 조직을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 트랜스페린 수용체는 빈혈, 신경퇴행성 질환, 및 암을 포함하여 다양한 종류의 질병과 관련이 있다. TfR은 간 조직에서 발현되는 것으로 알려져 있으며 알코올성 간 질환[alcoholic liver disease, ALD]의 간 철분 과부하와 관련이 있다(문헌[Suzuki Y, et al., Alcohol Clin Exp Res. 2002 Aug;26(8 Suppl):26S-31S]). 또한 혈액뇌장벽의 내피세포에서도 발현된다(문헌[Johnsen KB, et al. Progress in Neurobiology. 181: 101665]). 또한, TfR1은 다양한 암에서도 비정상적으로 발현되는 것으로 알려져 있다(문헌[Shen Y, et al. Am J Cancer Res. 2018;8(6):916-931]). TfR 발현은 면역 세포 활성화 시에도 증가된다(문헌[Harel E, et al. PLoS ONE 2011; 6(9): e24202]). TfR은 증식하는 세포에서 발현되고, 이들의 성장에 필요하며, 정상적인 말초혈액 T 및 B 세포의 유사분열 자극 후에 검출될 수 있다(문헌[Neckers, LM et al., J Immunol November 1, 1984, 133 (5) 2437-2441]).

[0260] **약학적 조성물**

[0261] 본 개시는 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 포함하는 조성물을 제공한다. 본 개시는 본원에 기재된 항-TfR1 항체 및 약학적으로 허용되는 비히클을 포함하는 약학적 조성물 또한 제공한다.

[0262] 본 개시의 항-TfR1 항체를 약학적으로 허용되는 비히클(예를 들어, 담체 또는 부형제)과 조합함으로써 저장 및/또는 사용을 위한 제형을 제조한다. 당업자는 일반적으로, 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 및/또는 안정화제를 제형 또는 약학적 조성물의 불활성 성분으로 간주한다.

[0263] 약학적으로 허용되는 적합한 비히클은 무독성 완충액, 예컨대, 포스페이트, 사이트레이트, 및 기타 유기산, 염, 예컨대, 소듐 클로라이드, 아스코빅산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제, 보존제, 예컨대, 옥타데실다이메틸벤질 암모늄 클로라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 벤잘코늄 클로라이드, 벤제소늄 클로라이드, 페놀, 뷰틸 또는 벤질 알코올, 알킬 파라벤, 예컨대, 메틸 또는 프로필 파라벤, 카테콜, 레소시놀, 사이클로헥사놀, 3-펜타놀, 및 m-크레솔, 저분자량(예를 들어, 열 개 아미노산 잔기 미만) 폴리펩타이드, 단백질, 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역 글로불린, 친수성 중합체, 예컨대, 폴리비닐피롤리돈, 아미노산, 예컨대, 글리신, 아스파라진, 히스티딘, 아르지닌, 또는 라이신, 탄수화물, 예컨대, 모노사카라이드, 다이사카라이드, 글루코스, 만노스, 또는 덱스트린, 킬레이트제, 예컨대, EDTA, 당, 예컨대, 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소비톨, 염 형상 반대 이온, 예컨대 소듐, 금속 복합체, 예컨대, Zn-단백질 복합체, 및 비이온성 계면활성제, 예컨대 TWEEN 또는 폴리에틸렌 글리콜[polyethylene glycol, PEG]을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. (문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd Edition, 2012, Pharmaceutical Press, London]). 일부 구현예에서, 제형은 수용액 형태이다. 일부 구현예에서, 제형은 동결건조되거나, 또는 건조된 형태이다.

[0264] 치료 제형은 단위 투여 형태일 수 있다. 이러한 제형은 정제, 알약, 캡슐, 분말, 과립, 물 또는 비수성 매질 중의 용액 또는 현탁액, 또는 좌제를 포함한다. 고체 조성물, 예컨대, 정제에서 주요 활성 성분은 약학적 담체와 혼합된다. 기존의 정제 성분은 옥수수 전분, 유당, 수크로스, 소비톨, 활석, 스테아산, 스테아산 마그네슘, 인산이칼슘 또는 검, 및 희석제(예를 들어, 물)를 포함한다. 이들은 본 개시의 화합물 또는 이의 무독성인 약학적으로 허용되는 염의 균질한 혼합물을 함유하는 고체 예비제형 조성물을 형성하는 데 사용될 수 있다. 이후, 고체 예비제형 조성물은 전술한 유형의 단위 투여 형태로 세분된다. 제형 또는 조성물의 정제, 알약 등은 코팅되거나 달리 배합되어 장기간 작용한다는 이점이 있는 투여 형태를 제공할 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 알약은 외부 성분으로 덮인 내부 조성물을 포함할 수 있다. 나아가, 두 성분은 분해에 저항하고 내부 성분이 위장을 온전하게 통과하거나 방출이 지연되도록 하는 장용층에 의해 분리될 수 있다. 다양한 물질이 이러한 장용층 또는 코팅에 사용될 수 있으며, 이러한 물질은 다수의 중합체성 산 및 중합체성 산과 셸락(shellac), 세틸 알코올 및 셀룰로스 아세테이트와 같은 물질의 혼합물을 포함한다.

[0265] 본 개시의 결합제는 표적 세포/조직으로의 전달을 위해 임의의 적합한 형태로 제형화될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 리포솜, 마이크로입자, 마이크로캡슐, 알부민 미세구, 마이크로에멀젼, 나노입자, 나노캡슐 또는 매크로에멀젼으로 제형화될 수 있다. 일부 구현예에서, 약학적 제형은 리포솜과 복합체화된 본 개시의 항-TfR1 항체를 포함한다. 리포솜을 생산하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 일부 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화된 포스파티딜에탄올아민[PEG-derivatized phosphatidylethanolamine,PEG-PE]을 포함하는 지질 조성물을 사용한 역상 증발에 의해 생성될 수 있다.

[0266] 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 지속 방출 제제[preparation]로 제형화된다. 지속 방출 제제의 적합한 예시는 제제를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 매트릭스는 성형품[shaped article] 형태(예를 들어, 필름 또는 마이크로캡슐)이다. 지속 방출 매트릭스는 폴리에스터, 하이드로겔, 예컨대, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐 알코올), 폴리락타이드, L-글루타민산 및 7 에틸-L-글루탐산의 중합체, 비분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 젖산-글리콜산 공중합체, 예컨대, LUPRON DEPOT™ (젖산-글리콜산 공중합체와 류프롤리드 아세테이트로 구성된 주사형 미소구), 수크로스 아세테이트 아이소뷰티레이트, 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시뷰티릭산을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0267] 본 개시의 약학적 조성물 또는 제형은 국소 또는 전신 치료를 위해 임의의 횟수의 방식으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 투여는 표피 또는 경피 패치, 연고, 로션, 크림, 젤, 방울, 좌약, 스프레이, 액체 및 분말로 국소적으로 이루어진다. 일부 구현예에서, 투여는 흡입기, 기관 내 및 비강 내를 포함하여 분말 또는 에어로졸의 흡입[inhalation] 또는 통기[insufflation]에 의해 폐로 이루어진다. 일부 구현예에서, 투여는 경구이다. 일부 구현예에서, 투여는 정맥 내, 동맥 내, 종양 내, 피하, 복강 내, 근육 내(예를 들어, 주사 또는 주입), 또는 두개 내(예를 들어, 척수강 내 또는 뇌실 내)를 포함하여 비경구적이다. 일부 구현예에서, 투여는 정맥 내 주사 또는 정맥 내 주입에 의해 이루어진다. 일부 구현예에서, 투여는 근육 내 주사에 의해 이루어진다.

[0268] 다양한 전달 시스템이 공지되어 있고 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 투여하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-TfR1 항체 또는 조성물은 제어 방출 또는 지속 방출 시스템으로 전달된다. 일부 구현예에서, 제어 방출 또는 지속 방출을 구현하기 위해 펌프가 사용된다. 일부 구현예에서, 본원에서 항-TfR1 항체의 제어 또는 지속 방출을 달성하기 위해 중합체 물질이 사용된다. 지속 방출 제형에 사용되는 중합체의 예시는 폴리 2-히드록시 에틸 메타크릴레이트, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리아크릴산, 폴리에틸렌-코-비닐 아세테이트, 폴리메타크릴산, 폴리글리콜리드[polyglycolides, PLG], 폴리무수물, 폴리N-비닐피롤리돈, 폴리비닐알코올[polyvinyl alcohol, PVA], 폴리아크릴아마이드, 폴리에틸렌 글리콜[polyethylene glycol, PEG], 폴리락타이드[polylactides, PLA], 폴리락타이드-코-글리코라이드[polylactide-co-glycolides, PLGA] 및 폴리오소에스터를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 지속 방출 제형에 사용되는 임의의 중합체는 불활성이고, 침출 가능한 불순물이 없어야 하며, 보관 시 안정하고, 멸균되고, 생분해성이어야 한다.

[0269] 주사할 수 있는 약물 전달 장치 및 삼투성 펌프를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 추가 전달 시스템을 사용하여 본원에 기재된 항-TfR1 항체를 투여할 수 있다. 주사할 수 있는 약물 전달 장치는, 예를 들어, 휴대용 장치(예를 들어, 자가 주사기) 또는 웨어러블 장치를 포함한다. 다양한 유형의 삼투 펌프 시스템은 단일 구획 시스템, 이중 구획 시스템 및 다중 구획 시스템을 포함할 수 있다.

[0270] 다음 실시예는 청구된 발명을 더 잘 설명하기 위해 제공되며, 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 특정 물질이 언급되는 정도[extent]는 단지 예시를 위한 것이며 본 발명을 제한하려는 의도는 아니다. 당업자는 독창적인 능력을 행사하지 않고 본 발명의 범위를 벗어나지 않으면서 동등한 수단이나 반응물을 개발할 수 있다.

[0271] 실시예

[0272] **실시예 1: 토끼 항-트랜스페린 수용체 1(TfR1) 단일클론항체의 생산**

[0273] 토끼 단일클론 항-TfR1 항체는 다음 과정으로 생성하였다. 화이트 뉴질랜드 토끼에게 시노 트랜스페린 수용체를 면역원으로 두 번 면역시킨 후 인간 트랜스페린 수용체를 추가로 투여하였다. 인간 및 시노 트랜스페린 수용체에 대한 혈청 반응성은 Ba/F3 세포주를 발현하는 인간 및 시노 트랜스페린 수용체에 대한 결합으로 확인하였다. 마지막 면역으로부터 2주 후 전혈을 채취하였고, Ficoll-Paque를 이용하여 말초혈액단핵세포[peripheral blood mononuclear cell, PBMC]를 단리하였다.

[0274] 단일클론항체 생성을 위해, 시노 트랜스페린 수용체를 플레이트에 고정하고 PBMC와 함께 배양한 후 적절한 특이성을 갖는 B 세포를 포획하는 데 사용하였다. 부착 B 세포를 항체 분비 세포의 분화 및 증식을 촉진하는 세포

배양 조건에서 1주 동안 배양하였다. 형광활성화 세포선택장치[FACS] 및 효소결합면역흡착검사[ELISA]를 사용하여 개별 웰의 상청액을 인간 및 시노 트랜스페린 수용체 반응성에 대해 평가하였다. ELISA 검정으로는 홀로 트랜스페린(holo transferrin)과 복합체를 이루는 트랜스페린 수용체에 대한 결합을 측정하였다. ELISA에 사용한 형식은 인간 또는 시노 트랜스페린 수용체를 96웰 플레이트에 코팅한 다음 각 웰에 홀로 트랜스페린을 추가하는 것이었다. 1.5시간의 인큐베이션 후, 희석된 상청액을 플레이트에 1시간 동안 첨가하였다. 플레이트에 결합된 항체는 항-토끼 IgG HRP 시약을 사용하여 검출하였다. FACS 검정에는 Baf/3 세포주를 발현하는 인간 및 시노 트랜스페린 수용체를 사용하였다. 인간 및 시노 트랜스페린 수용체 모두에 대해 양성인 웰의 B 세포를 VH 및 VL 항체 서열 검색을 위해 채취하였다.

[0275] RNA는 B 세포에서 단리하여 cDNA 합성에 사용하였다. 중쇄 및 경쇄(V카파)를 PCR 증폭시키고 TOPO/TA 클로닝을 통해 pCR4 벡터에 클로닝하였다. 클로닝한 생산물을 대장균으로 형질전환시키고, 생어(Sanger) 서열 분석을 사용하여 저항성 콜로니를 서열 분석하였다.

[0276] **실시예 2: 키메라 항체 Rab항체-A 및 Rab항체-B의 선택**

[0277] VH 및 VL 공통염기서열을 식별하여 인간 IgG1 프레임워크를 사용하여 앞서 생성한 토끼 항체를 발현하는 데 사용하였다. 키메라 토끼 항체 후보는 중국 햄스터 난소 S[Chinese Hamster Ovary S, CHO-S] 세포에서 일시적으로 발현시켜 정제하였다. 인간 또는 시노 TfR1을 과발현하는 Ba/F3 세포에 결합하는 FAC를 사용하여 인간 및 시노 TfR1에 대한 결합을 확인한 다음, SPR 분석을 사용하여 인간 또는 시노 TfR1의 재조합 세포 외 도메인에 대한 친화성을 측정하였다.

[0278] 두 가지 항체(Rab항체-A 및 Rab항체B)는 다음 특성에 기반하여 인간화를 위해 선택하였다.

[0279] 1) 인간 TfR1에 대한 한 자릿수 nM 1가 친화성,

[0280] 2) 시노 TfR1에 대한 교차 반응성,

[0281] 3) 시노 및 인간 TfR1 사이의 친화성 차이가 10배 미만임,

[0282] 4) TfR2에 대한 교차 반응성이 없음, 및

[0283] 5) TfR1의 트랜스페린 결합 영역과 에피토프가 중첩되지 않음.

[0284] Rab항체-A 및 Rab항체-B의 상보성 결정 부위[CDR]와 성숙한 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열을 아래에 나타내었다. 후술하고 본원에 기술한 CDR은 카바트 CDR 정의의 모든 위치의 결합을 포함한다(문헌 [Kabat, E. A., Wu, T. T., Perry, H. M., Gottesman, K. S. & Foeller, C. (1991) and the Chothia CDR definitions (Chothia, C. & Lesk, A.M. J. Mol. Biol (1987) 196, 901-917) (Chothia, C. et al. Nature (1989) 342, 877-883) (Al-Lazikani, B., Lesk, A.M. & Chothia, C. J. Mol. Biol (1997) 273, 927-948]). Bujotzek 등에 의한 '울프가이(Wolfguy)' 정의로도 알려져 있는 CDR의 이러한 '결합(union)' 정의는 (문헌 [Bujotzek A,. (2015) Proteins Apr;83(4):681-95]) 본원의 **표 6**에 나타내었으며, 도 1a 내지 1d의 서열 정렬에서 밑줄 표시한 위치로 나타내었다. CDR의 코티아 정의는 본원의 **표 7**에 나타내었으며, 도 2a 내지 2d의 서열 정렬에서 밑줄 표시한 위치로 나타내었다.

[표 6] Rab 항체-A CDRs(결합 정의)

도메인	Rab 항체-A	Rab 항체-B
VH CDR1	GIDFSSSGYMC (서열 번호 101)	GFSFSNSYWIC (서열 번호 116)
VH CDR2	CIYTYSSNTYYASWAKG (서열 번호 104)	CINTDADSTNYASWARG (서열 번호 117)
VH CDR3	GTYGYTGYTYTMGYFSL (서열 번호 106)	QNNVFDPGYNL (서열 번호 119)
VL CDR1	QASQNINSYLA (서열 번호 107)	QASQNIGSNLA (서열 번호 121)
VL CDR3	RASTLAS (서열 번호 109)	DASKLAS (서열 번호 123)
VL CDR3	QSYYYSGSSNYNA (서열 번호 110)	QCTVRGGAYGNA (서열 번호 124)

[0285]

[표 7] Rab 항체-B CDR(코티아 정의)

도메인	Rab 항체-A	Rab 항체-B
VH CDR1	GIDFSSSG (서열 번호 111)	GFSFSNSY (서열 번호 128)
VH CDR2	TYSS (서열 번호 112)	TDAD (서열 번호 129)
VH CDR3	TYGYTGYTYTMGYFS (서열 번호 113)	NNVFDPGYN (서열 번호 130)
VL CDR1	SQNINSY (서열 번호 114)	SQNIGSN (서열 번호 131)
VL CDR3	RAS	DAS
VL CDR3	YYYSGSSNYN (서열 번호 115)	TVRGGAYGN (서열 번호 132)

[0286]

[0287] Rab항체-A 중쇄 가변 영역[VH]:

[0288] QSLEESGGGLVQPGASLTLTCKASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWIGCIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGTYGY TGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS(서열 번호 4)

[0289] Rab항체-A 경쇄 가변 영역[VL]:

[0290] ELDMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQNINSYLAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVPSRFKGSGSGTEFTLTISDLECADAATYYCQSYYYSGSSNYNAF GGGTELEIL(서열 번호 34)

[0291] Rab항체-B VH:

[0292] QSLEESGGGLVQPEGSLTLTCKASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWIGCINTDADSTNYASWARGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTASYFCARQNNVF DPGYNLWGPGTLVTVSS(서열 번호 19)

[0293] Rab항체-B VL:

[0294] ELVLTQTPASVSEAVGGTVTIKCQASQNIGSNLAWYQQKPGQPPKLLIYDASKLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISDLECADAATYYCQCTVRGGAYGNAFG GGTEVVVK(서열 번호 38)

[0295] **실시예 3: 항-TfR1 항체의 인간화**

[0296] Rab항체-A 및 Rab항체-B 항체는 미국 특허 제8,961,976호에 기술된 방법을 사용하여 인간화하였으며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 간단하게 말하면, 방법은 성숙한 비인간 CDR을 선택된 인간 프레임워크에 접목시킨 후, 성숙한 비인간 서열의 아미노산 서열에 인간 프레임워크 잔기의 '역돌연변이'를 도입하여 안정성 및 결합 친화성을 보호하는 것을 포함한다. 면역원성을 최소화하려는 추가적인 시도를 하였는데, (i) 친화성에 영향을 주지 않을 수 있는 CDR의 일부 섹션에 대해 인간 서열을 사용하고, (ii) 인간 항체의 아미노산 서열에 대한 일부 비인간 CDR 잔기의 '전진 돌연변이'를 선택하였으며, 여기서 생성된 보다 인간적인 서열은 결합 친화성을 유의하게 감소시키지 않을 것으로 예측된다. 이러한 방법은 미국 특허 제8,349,324호에 기술되며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0297] **1단계: 인간 수용체 프레임워크의 선택:**

[0298] 선택 방법은 다음을 포함하였다.

[0299] (a) 구조적으로 중요한 특정 위치에서 일치하는 것에 더 많은 가중치를 부여하여 여러 가지 서열 비교 방법을 결합한 방법으로 모든 인간 생식세포계열 후보에 점수를 매기고,

[0300] (b) 상동성 모델 3D 구조를 사용하여 각각의 불일치 위치를 평가하고,

[0301] (c) humVH3의 더 큰 전형적인 안정성 및 이의 잠재적인 SpA 결합으로 인해 humVH1보다 humVH3에 대해 더 큰 선호도를 부여하고, 토끼 항체 인간화를 과거에 더 오래 사용해왔기 때문에 humVK3보다 humVK1에 대해 더 큰 선호도를 부여하였다.

[0302] 항체-A의 경우, 인간 생식세포계열 humIGHV3-72*1 + humIGHJ1*1 및 humIGKV1-5*1 + humIGKJ4*1을 인간 수용체 프레임워크로 선택하였다. 항체-B의 경우, 인간 생식세포계열 humIGHV3-30*1 + humIGHJ4*1 및 humIGKV1-5*1 + humIGKJ4*1을 인간 수용체 프레임워크로 선택하였다.

[0303] **2단계: 가장 인간적인 설계인 H0 및 L0의 설계:**

[0304] 가장 인간적인 설계는 'H0' 및 'L0'으로 불렸다. 이는 전술한 바와 같이, 인간 CDR 서열의 일부 섹션을 사용하고/하거나 '전진 돌연변이'를 사용하기 때문에 잠재적으로 일부 인간 CDR 잔기가 더해진 CDR 이식편 서열이다. CDR은 카바트 CDR 정의(문헌[Kabat, E. A., Wu, T. T., Perry, H. M., Gottesman, K. S. & Foeller, C. (1991). Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edit. National Institutes of Health, Bethesda, MD)] 및 코티아 CDR 정의(문헌[Chothia, C. & Lesk, A.M. J. Mol. Biol (1987) 196, 901-917) (Chothia, C. et al. Nature (1989) 342, 877-883) (Al-Lazikani, B., Lesk, A.M. & Chothia, C. J. Mol. Biol (1997) 273, 927-948)])의 모든 위치의 결합을 포함하도록 정의되었다 CDR의 이러한 '결합(union)' 정의는 Bujotzek 등에 의한 '울프가이(Wolfguy)' 정의로도 공지되어 있다(문헌[Bujotzek A et al., Proteins Apr;83(4):681-95]). CDR의 이러한 '결합' 정의는 본원에서 **도 1a** 내지 **도 1d**의 서열 정렬에서 밑줄 표시한 위치로 나타내었다. AHo 위치 넘버링이 이 인간화 섹션 전체에서 사용된다. 예를 들어, 문헌[Honegger A & Plueckthun A, JMB 2001 309:657-670]을 참조한다. 항체-A 및 항체-B 각각에 대해 설계 H0에는 AHo # C42A C57A를 포함하였다(성숙한 토끼 CDR에서 추가 이황화 결합을 제거함). 항체-A에 대해, 설계 L0에는 토끼 R58을 제외하고 인간 CDR-L2를 포함하였다. 항체-B에 대해, 설계 L0에는 성숙 토끼의 쌍을 이루지 않은 시스테인인 CDR-L3의 108C, L137, CDR-L1의 R24, 및 CDR-L2의 E71 대신 CDR-L3의 Q108을 포함하였다.

[0305] **3단계: 제안된 돌연변이 목록을 구성하기 위한 예측된 구조의 시험**

[0306] 각 토끼/인간 불일치에 대해, 그리고 이들의 다수의 구조적으로 가까운 개체에 대해, (그리고 일부 경우에, 컴퓨터로 계산한 에너지에 대해), 성숙한 토끼 아미노산에 대한, 또는, 일부 경우에 다른 새로운 아미노산에 대한 돌연변이가 어떻게 안정성을 향상시키거나 위험을 초래할 수 있는지, 결합 친화력을 보존하기 위해 필요할 수 있는지, 또는 면역원성 위험을 증가시킬 수 있는지 예측하기 위해 합리적인 설계를 사용하였다.

[0307] 항체-A에 대해, 사용한 VH 돌연변이는 'CDR-H2 카바트 연장'의 세트{E1-(결실) V2Q Q3S}, Q141P, A24K, 세트{A42C A57C}, 세트{ASV 72-74 SWA}, 및 세트{RDDSKNSL 82-89 KT-SSTTV}(서열 번호 210에는 'RDDSKNSL'으로 개시되고, 서열 번호 211에는 'KT-SSTTV'로 개시됨), 또는, 성숙 토끼 서열에서 보다 짧은 이른바 'CDR-H4' 프레임워크 루프의 세트{R82K D84- L89V}를 포함한다.

[0308] 항체-B에 대해, 사용한 VH 돌연변이는 세트{Q1-(결실) V2Q Q3S}, Q141P, 42C 57C 이황화 결합에 영향을 줄 수 있는 세트{A42C A57C}, A56G, 'CDR-H2 카바트 연장'의 세트{DSVK 72-75 SWAR}(서열 번호 212에는 'DSVK'로 개시되고, 서열 번호 213에는 'SWAR'로 개시됨), 세트{A24K N87T} 및/또는 D83T 및/또는 N84-(결실) 및/또는 세트{N87T A24K} 및/또는, 성숙 토끼 서열에서 보다 짧은, 이른바 'CDR-H4' 프레임워크 루프의 세트 L89V를 포함한다.

[0309] 항체-A VK에 대해, 사용한 돌연변이는 C98P, 세트 DIQ 1-3 ELD 및 세트 S69T E71A를 포함한다.

[0310] 항체-B VK에 대해, 사용한 돌연변이는 C98P, 성숙한 토끼 서열의 짝을 이루지 않은 시스테인을 재도입하기 위한 Q108C, 세트{DIQM 1-4 ELVL}(서열 번호 214에는 'DIQM'으로 개시되고, 서열 번호 215에는 'ELVL'로 개시됨), 108C만큼 작지만 부적절한 이황화 결합의 가능성이 없는 아미노산을 시도하기 위한 Q108A, 및 L137N을 포함한다.

[0311] **4단계: 돌연변이를 몇 가지 설계로 그룹화:**

[0312] 예측된 위험을 선별하기 위해 관심 돌연변이를 몇 가지 VH 설계와 몇 가지 VK 설계로 그룹화하였다. 면역원성 위험은 인간 생식세포계열과의 비교 및 CD4 에피스코어(episcore) 방법을 통해 예측하였다. 예를 들어, 문헌[Dhanda et. al., Frontiers in Immunology, 2018, 9, 1369]을 참조한다. 각각의 항체-A 및 항체-B에 대해, 토끼 추가 이황화물 VH 42C 57C('C' 설계)와 인간 VH A42 A57을 시도하기 위해 설계 수를 두 배로 하였다.

[0313] 항체-A에 대해, 열 개의 VH 설계(H0, H1, H2, H3, H4, H1C, H2C, H3C, 및 H4C) 및 세 개의 VL 설계(L0, L1 및 L2)를 제작하였다.

[0314] 항체-B에 대해, 항체-A와 유사하지만 동일하지는 않은 이유로 열 개의 VH 설계와 세 개의 VL 설계를 제작하였다.

[0315] 결합 CDR의 인간화 변이를 **도 1a** 내지 **1d**에 나타내었다. 코티아 CDR의 인간화 변이를 **도 2a** 내지 **2d**에 나타내었다. 인간화 중쇄 및 경쇄 플라스미드의 다양한 조합을 CHO-S 세포에서 일시적으로 발현시켰다. 상청액의 역가는

옥텟(Octet) 항-인간 Fab-CH1 2세대[Fab-CH1 2nd Generation, FAB2G] 바이오센서를 사용하여 추정하였다.

[0316] FACS 결합 분석은 인간 TfR1 또는 시노 TfR1을 과발현하는 Ba/F3 세포를 사용하여 수행하였다. 세포를 U자형 바닥 96웰 플레이트에 50,000개 세포/웰/50㎕ FACS 완충액으로 분주하고 얼음 위에 두었다. 연속희석한 Fab 상청액 또는 정제된 Fab를 세포에 첨가한 후 얼음 위에서 인큐베이션하였다. 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척하고 이차 항체를 1:400으로 희석하여 웰에 첨가한 후 얼음 위에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척하고 PBS에 준비된 2% PFA에 고정하였다. 마지막으로, PE 형광을 측정하여 유세포 분석을 수행하였다.

[0317] **표 8** 및 **9**는 일시적 형질감염의 상청액으로부터 각각 인간화 버전의 항체-A 및 항체-B의 옥텟 및 EC_{50}으로 측정한 발현 역가를 나타낸다. 옥텟 역가는 항-인간 Fab-CH1 2세대(FAB2G) 바이오센서를 사용하여 추정하였다. FACS 결합 분석은 연속희석된 상청액을 사용하여 수행하였다. GraphPad Prism을 사용하여 최적 곡선으로부터 EC_{50} 값을 측정하였다. ~ = Prism으로 외삽한 대략적인 EC_{50}. > = GraphPad Prism으로 외삽한 값보다 큰 EC_{50}. NA = 테스트된 농도 범위에서 EC_{50}이 달성되지 않음 인간 TfR1 및 시노 TfR1 둘 모두에 대해 강한 친화성을 나타낸 Fab를 정제하고, 정제된 물질로 FACS 결합 분석을 반복하였다.

[표 8] 항체-A 인간화 버전의 발현 역가/EC_{50}

항체 이름	옥텟 역가(mg/L)	EC_{50}(nM)	
		인간	시노
TfR1 항체-A HC-H0 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	116.9	18	> 85
TfR1 항체-A HC-H0 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	80.3	~ 19	> 107
TfR1 항체-A HC-H0 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	97.6	> 70	NA
TfR1 항체-A HC-H1 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	110.8	25	> 176
TfR1 항체-A HC-H1 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	75.3	~ 30	> 162
TfR1 항체-A HC-H1 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	84.9	> 74	NA
TfR1 항체-A HC-H2 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	88.8	2.8	> 26
TfR1 항체-A HC-H2 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	87.9	4.4	> 36
TfR1 항체-A HC-H2 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	94.5	6.5	> 52
TfR1 항체-A HC-H3 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	107.8	2.6	약 19
TfR1 항체-A HC-H3 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	90.3	3.3	> 26
TfR1 항체-A HC-H3 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	102.7	7.6	> 38
TfR1 항체-A HC-H4 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	110.8	4.1	> 29
TfR1 항체-A HC-H4 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	60.3	3.3	> 21
TfR1 항체-A HC-H4 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	88.3	7.2	> 64
TfR1 항체-A HC-H0C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	126.2	1.9	11.5
TfR1 항체-A HC-H0C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	99.4	3.2	~ 22
TfR1 항체-A HC-H0C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	112.1	3.6	약 32

[0318]

TfR1 항체-A HC-H1C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	112.2	2.5	15.5
TfR1 항체-A HC-H1C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	90.7	3.6	~ 26
TfR1 항체-A HC-H1C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	103.2	3.6	~ 39
TfR1 항체-A HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	117.2	1.7	2.8
TfR1 항체-A HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	93.9	2.6	3.3
TfR1 항체-A HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	105.2	2.8	7.4
TfR1 항체-A HC-H3C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	120.7	2.5	2.7
TfR1 항체-A HC-H3C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	100.2	2.1	4.5
TfR1 항체-A HC-H3C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	108.3	1.6	10.4
TfR1 항체-A HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	114.2	1.4	1.8
TfR1 항체-A HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	97.9	2.2	1.8
TfR1 항체-A HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	106.5	1.6	3.3

[표 9] 항체-B 인간화 버전의 발현 역가/EC_{50}

항체 이름	옥텟 역가 (mg/L)	EC_{50}(nM)	
		인간	시노
TfR1 항체-B HC-H0 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	142.9	-	-
TfR1 항체-B HC-H0 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	128.2	-	-
TfR1 항체-B HC-H0 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	148.4	167.6	44.5
TfR1 항체-B HC-H1 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	119.4	-	-
TfR1 항체-B HC-H1 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	126.6	-	-

[0319]

TfR1 항체-B HC-H1 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	122.4	9.6	4.9
TfR1 항체-B HC-H2 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	141.3	-	-
TfR1 항체-B HC-H2 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	92.0	-	-
TfR1 항체-B HC-H2 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	130.0	10.2	7.7
TfR1 항체-B HC-H3 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	167.8	-	-
TfR1 항체-B HC-H3 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	105.3	-	-
TfR1 항체-B HC-H3 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	163.8	15.7	5.7
TfR1 항체-B HC-H4 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	141.8	-	-
TfR1 항체-B HC-H4 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	79.6	-	-
TfR1 항체-B HC-H4 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	141.3	2.3	4.6
TfR1 항체-B HC-H0C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	160.3	-	-
TfR1 항체-B HC-H0C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	102.2	-	-
TfR1 항체-B HC-H0C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	163.7	9.3	5.5
TfR1 항체-B HC-H1C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	167.5	-	-
TfR1 항체-B HC-H1C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	104.9	-	-
TfR1 항체-B HC-H1C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	149.3	3.8	2.8
TfR1 항체-B HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	169.7	-	-
TfR1 항체-B HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	108.5	-	-
TfR1 항체-B HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	161.8	3.3	2.2
TfR1 항체-B HC-H3C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	176.2	-	-

[0320]

TfR1 항체-B HC-H3C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	119.3	-	-
TfR1 항체-B HC-H3C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	178.9	6.8	2.6
TfR1 항체-B HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	173.1	-	-
TfR1 항체-B HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	106.1	-	-
TfR1 항체-B HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	172.9	4.7	2.9

[0321]

[0322] **표 10** 및 **11**은 각각 정제된 물질로부터의 항체-A 및 항체-B의 선택된 인간화 버전의 EC_{50}을 나타낸다. FACS 결합 분석은 연속희석되고 정제된 물질을 사용하여 수행하였다. GraphPad Prism을 사용하여 최적 곡선으로부터 EC_{50}

값을 측정하였다.

[표 10] 항체-A의 선택된 인간화 버전의 EC_{50}

항체 이름	EC_{50}(nM)	
	인간	시노
TfR1 항체-A HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	1.7	1.5
TfR1 항체-A HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	1.3	3.3
TfR1 항체-A HC-H3C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	1.6	5.0
TfR1 항체-A HC-H3C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	1.5	5.5
TfR1 항체-A HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	1.4	2.0
TfR1 항체-A HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	1.8	2.4

[0323]

[표 11] 항체-B의 선택된 인간화 버전의 EC_{50}

항체 이름	EC_{50}(nM)	
	인간	시노
TfR1 항체-B HC-H4 hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	9.8	3.4
TfR1 항체-B HC-H1C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	8.2	2.3
TfR1 항체-B HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	6.5	2.6
TfR1 항체-B HC-H3C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	5.5	1.9
TfR1 항체-B HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	4.8	2.0

[0324]

[0325] 전술한 예시적 작제물의 전체 중쇄 및 경쇄 서열은 아래 **표 12**에 제시된다.

[표 12] 예시적 작제물에 대한 중쇄 및 경쇄 서열

항체	도메인	서열
(i) TfR1 항체-A HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L0 h카파	중쇄 (서열 번호 93) (불변 영역은 굵게 표시, 힌지는 굵은 밑줄로 표시)	QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEW VGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVYY CARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV**EPKSCDKTHTCP P
	경쇄 (서열 번호 94) (불변 영역은 굵게 표시)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLL IYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYS GSSNYNAFGGGTKVEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC**
(ii) TfR1 항체-A HC-H2C hIgG4Fab / LC-L0 h 카파(AC214)	중쇄 (서열 번호 95) (불변 영역은 굵게 표시, 힌지는 굵은 밑줄로 표시)	QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEW VGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVYY CARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVES**
	경쇄 (서열 번호 96) (불변 영역은 굵게 표시)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLL IYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYS GSSNYNAFGGGTKVEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE**
(iii) TfR 항체-A HC-H2C hIgG1G4 Fab'(1C)(PPCP)/LC-L0 h 카파(AC214)	중쇄 (서열 번호 97) (불변 영역은 굵게 표시, 힌지는 굵은 밑줄로 표시)	QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEW VGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVYY CARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**

[0326]

	경쇄 (서열 번호 96) (불변 영역은 굵게 표시)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLL IYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYS GSSNYNAFGGGTKVEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN** **NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA** **DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE**
(iv) TfR1 항체-A HC-H2C hIgG1Fab/LC-L0 h 카파(ΔC214)	중쇄 (서열 번호 98) (불변 영역은 굵게 표시, 힌지는 굵은 밑줄로 표시)	QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEW VGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVYY CARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSK** **STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY** **SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV<u>EPKSC</u>**
	경쇄 (서열 번호 96) (불변 영역은 굵게 표시)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLL IYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYS GSSNYNAFGGGTKVEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN** **NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA** **DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE**
(v) TfR1 항체-B HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h카파	중쇄 (서열 번호 99) (불변 영역은 굵게 표시, 힌지는 굵은 밑줄로 표시)	QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEW VGCINTDADSTNYASWARGRFTISKTSSTTVYLQMNSLRAEDTAVYY CARQNNVFDPGYNLWGPGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT** **AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV** **TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV<u>EPKSCDKTHTCPP</u>**
	경쇄 (서열 번호 100) (불변 영역은 굵게 표시)	ELVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLL IYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQCTVRG GAYGNAFGGGTKVEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN** **FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD** **YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC**

[0327]

[0328] **실시예 4: 추가 이황화물과 짝을 이루지 않은 시스테인을 제거하기 위한 후속 항-TfR1 항체 설계 및 선택 과정**

[0329] 초기 설계에서는 C35 C50(AHo#C42 C57)을 C,C에서 A,A로 돌연변이시켜 여분의 토끼 VH 이황화 결합을 제거하였다. 나아가, 짝을 이루지 않은 시스테인 C90(AHo # C108) 항체-B VL을 Q 또는 A로 돌연변이시켜 제거하였다. 이러한 시도는 테스트한 작제물에서 결합 친화성을 약화시키는 것으로 밝혀졌으며 이에 따라 후속 설계가 이루어졌다. 항체-A H3/L0의 맥락에서, 그리고 또한 항체-B H1/L2의 맥락에서, 제2 이황화물의 C,C는 S,V 또는 S,R 또는 S,Y 또는 H,A로 돌연변이되었으며, 각각은 다양한 유사한 인간 생식세포계열 서열에서 빌려온 다음, 분자 모델링, 에너지학 계산 및/또는 공개적으로 이용가능한 구조인 것으로 확인하였다. 항체-B H1C/L2의 맥락에서, 그리고 또한 항체-B H4C/L2의 맥락에서, 짝을 이루지 않은 시스테인은 S 또는 T 또는 V로 돌연변이되었다. 여분의 이황화물과 짝을 이루지 않은 시스테인을 제거하기 위한 후속 설계를 **도1a** 내지 **1d**에 나타내었다.

[0330] **표 13**은 일시적 형질감염의 상청액으로부터 항-TfR1 항체 항체-A 및 항체-B의 인간화 버전의 변이체의 옥텟 및 EC_{50}으로 측정한 발현 역가를 나타낸다. 옥텟 역가는 항-인간 Fab-CH1 2세대[FAB2G] 바이오센서를 사용하여 추정하였다. FACS 결합 분석은 연속희석된 상청액을 사용하여 수행하였다. GraphPad Prism을 사용하여 최적 곡선으로부터 EC_{50} 값을 측정하였다.

[표 13] 항체-A 및 항체-B 이황화물 변이체의 인간화 버전의 발현 역가/EC_{50}

항체 이름	옥텟 역가(mg/L)	EC_{50}(nM) 인간	시노
TfR 항체-A HC-H3(SV) hIgG1Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	158	> 150	결합 없음
TfR 항체-A HC-H3(SR) hIgG1Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	105.5	> 290	결합 없음
TfR 항체-A HC-H3(SY) hIgG1Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	141.3	> 125	결합 없음
TfR 항체-A HC-H3(HA) hIgG1Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	145.2	16.8	약 30
TfR 항체-A HC-H3C hIgG1Fab'(1C)/LC-L0 h 카파	165	1.1	1.5
TfR 항체-B HC-H1(SV) hIgG1Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	307.9	98.6	30
TfR 항체-B HC-H1(SR) hIgG1Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	349.6	결합 없음	결합 없음
TfR 항체-B HC-H1(SY) hIgG1Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	256.2	113.4	> 55
TfR 항체-B HC-H1(HA) hIgG1Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	325.2	18.2	7.1
TfR 항체-B HC-H1C hIgG1Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	291.2	10.1	2.8

[0331]

[0332] **표 14**는 여분의 토끼 이황화물 쌍이 제거된 인간화 버전의 항체-A 및 항체-B의 변이체의 일시적 형질감염의 상청액으로부터의 옥텟 역가 및 EC_{50}을 나타낸다. 옥텟 역가는 항-인간 Fab-CH1 2세대(FAB2G) 바이오센서를 사용하여 추정하였다. FACS 결합 분석은 연속희석된 상청액을 사용하여 수행하였다. GraphPad Prism을 사용하여 최적 곡선으로부터 EC_{50} 값을 측정하였다.

[표 14] 항체-B 변이체의 인간화 버전의 발현 역가/EC_{50}

항체 이름	옥텟 역가(mg/L)	EC_{50}(nM) 인간	시노
TfR 항체-B HC-H1C/LC-L2 (C90V) hIgG1Fab'(1C)	149.2	10.7	2.9
TfR 항체-B HC-H3C/LC-L2 (C90V) hIgG1Fab'(1C)	167.5	7.7	3.2
TfR 항체-B HC-H4C/LC-L2 (C90V) hIgG1Fab'(1C)	167.6	4.9	2.2
TfR 항체-B HC-H1C/LC-L2 (C90S) hIgG1Fab'(1C)	133.6	14.9	4.4
TfR 항체-B HC-H3C/LC-L2 (C90S) hIgG1Fab'(1C)	155.8	16.8	6.2
TfR 항체-B HC-H4C/LC-L2 (C90S) hIgG1Fab'(1C)	139.7	11.3	3.3
TfR 항체-B HC-H1C/LC-L2 (C90T) hIgG1Fab'(1C)	168.8	12.6	5.4
TfR 항체-B HC-H3C/LC-L2 (C90T) hIgG1Fab'(1C)	160.6	15.9	6.3
TfR 항체-B HC-H4C/LC-L2 (C90T) hIgG1Fab'(1C)	154.9	7.7	2.9
TfR 항체-B HC-H1C/LC-L2 hIgG1Fab'(1C)	187.3	5.9	2.3
Tf 항체-B HC-H3C/LC-L2 hIgG1Fab'(1C)	278.3	7.0	4.0
Tf 항체-B HC-H4C/LC-L2 hIgG1Fab'(1C)	192	5.4	1.9

[0333]

[0334] **표 15**는 각각 정제된 물질로부터의 항체-B의 선택된 변이체의 EC_{50}을 나타낸다. 이러한 변이체에서는 짝을 이루지 않은 시스테인이 경쇄에서 돌연변이되었다. FACS 결합 분석은 연속적으로 희석되고 정제된 Fab를 사용하여 수행하였다. GraphPad Prism을 사용하여 최적 곡선으로부터 EC_{50} 값을 측정하였다.

[표 15] 항체-B의 선택된 인간화 변이체의 EC_{50}

항체 이름	EC_{50}(nM)	
	인간	시노
TfR 항체 B HC-H1C/LC-L2 (C90S) hIgG1Fab'(1C)	6.1	3.2
TfR 항체 B HC-H4C/LC-L2 (C90S) hIgG1Fab'(1C)	7.3	1.5
TfR 항체 B HC-H1C/LC-L2 (C90T) hIgG1Fab'(1C)	13.6	3.2
TfR 항체 B HC-H4C/LC-L2 (C90T) hIgG1Fab'(1C)	5.1	3.4

[0335]

[0336] **실시예 5: 인간과 시노몰구스 TfR1 결합에 대한 친화성 및 동역학**

[0337] 키메라 토끼 형태 및 인간화된 형태에서 재조합 인간 및 시노 트랜스페린 수용체의 세포 외 도메인에 결합하는 항-TfR1 Fab 단편의 평가로부터 동역학 및 친화성 값을 SPR을 사용하여 평가하였다.

[0338] SPR 결과는 제조업체(His Capture Kit, Cytiva)의 프로토콜에 따라, 히스티딘 태그가 지정된 리간드를 포획하기 위해 준비된 CM5 센서 칩(Series S, Cytiva)이 포함된 Biacore 8K+(Cytiva)를 사용하여 획득하였다. 작동 완충액은 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% 소 혈청 알부민, 0.005% 계면활성제 P20, pH 7.4였으며 30 ul/분으로 흘렀다. 동역학 및 친화성 측정을 위해, 재조합 인간 또는 시노 원숭이 TfR1 ECD-His를 15-20 센서 반응 단(RU)에서 포획하고 Fab 단편을 0.78, 3.1, 12.5, 50, 및 200 nM에서 각각 4분 동안 (단일 주기 동역학 모드에서) 연속 주입한 후 15분 동안 완충액 유체를 주입하여 해리를 모니터링하였다. Tf 경쟁 결합 분석을 위해, 인간 또는 시노 TfR1 ECD-His를 25 내지 40 RU에서 포획한 후 완충액 또는 1 mM 홀로 인간 트랜스페린(Sigma T0665)을 4분 동안 주입하고, 1 mM 홀로 인간 트랜스페린의 존재 또는 부재하에 50 및 500 nM에서 Fab를 3분간 연속 주입하였으며, 각각 해리[dissociation]를 10분 동안 모니터링하였다. TfR1이 없는 센서 표면의 신호 및 Fab 대신 완충액을 주입하는 SPR 반응, 주기는 제외하였다. Biacore Insight Evaluation Software(Cytiva)를 사용하여 데이터를 1:1 결합 모델에 맞춰 동역학 및 친화성 매개변수를 결정하였다.

[0339] TfR1 ECD 단백질을 SPR 센서 표면에 포획하였다. 결합 속도(k_a), 해리 속도(k_d) 및 상응하는 평형 해리 상수(K_D)는 Fa의 연속 주입(0.78 내지 200 nM)으로부터의 SPR 결합 반응을 1:1 결합 모델에 피팅함으로써 측정하였다. **표 16**은 테스트된 각 Fab에 대한 친화성 및 동역학 매개변수를 나타낸다.

[표 16] 테스트한 항-TfR1 항체에 대한 친화성 및 동역학 매개변수

항-TfR1 Fab	인간 TfR1 ECD			시노 TfR1 ECD		
	k_a(/M /s)	k_d(1/s)	K_D(nM)	k_a(/M /s)	k_d(1/s)	K_D(nM)
토끼 항체-A chi Fab	1.92E+05	1.01E-03	5.2	3.17E+05	9.25E-03	29
항체-A HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-LO h 카파	8.62E+05	1.03E-03	1.2	1.60E+06	6.74E-03	4.2
항체-A HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	7.73E+05	9.47E-04	1.2	6.56E+06	1.95E-02	3.0
항체-A HC-H2C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	9.52E+05	2.13E-03	2.2	1.76E+06	1.37E-02	7.8
항체-A HC-H3C hIgG1 Fab'(1C)/LC-LO h 카파	8.35E+05	1.20E-03	1.4	4.10E+06	1.03E-02	2.5
항체-A HC-H3C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	1.02E+06	1.26E-03	1.2	2.58E+06	1.06E-02	4.1
항체-A HC-H3C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	8.86E+05	2.15E-03	2.4	2.16E+06	1.78E-02	8.3
항체-A HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-LO h 카파	8.87E+05	8.78E-04	0.99	1.75E+06	5.83E-03	3.3
항체-A HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L1 h 카파	9.83E+05	8.94E-04	0.91	4.40E+06	1.14E-02	2.6
항체-A HC-H4C hIgG1 Fab'(1C)/LC-L2 h 카파	9.31E+05	1.48E-03	1.6	2.16E+06	1.34E-02	6.2
토끼 항체-B chi Fab	9.92E+04	5.73E-04	5.8	2.83E+05	4.36E-04	1.5
항체-B HC-H1 hIgG1 Fab' (1C)/LC-L2 h 카파	9.47E+04	4.53E-03	47.8	8.83E+04	1.05E-03	12
항체-B HC-H2 hIgG1 Fab' (1C)/LC-L2 h 카파	8.32E+04	3.28E-03	39.4	1.29E+05	1.13E-03	8.7
항체-B HC-H3 hIgG1 Fab' (1C)/LC-L2 h 카파	9.15E+04	5.95E-03	65.0	1.43E+05	1.72E-03	12
항체-B HC-H4 hIgG1 Fab' (1C)/LC-L2 h 카파	1.34E+05	1.55E-03	11.6	2.28E+05	5.08E-04	2.2
항체-B HC-HOC hIgG1	2.44E+05	3.43E-03	14.1	2.10E+05	1.36E-03	6.5

[0340]

Fab' (1C)/LC-L2 h 카파						
항체-B HC-H1C hIgG1 Fab' (1C)/LC-L2 h 카파	1.71E+05	1.15E-03	6.7	3.15E+05	4.25E-04	1.3
항체-B HC-H2C hIgG1 Fab' (1C)/LC-L2 h 카파	1.70E+05	9.99E-04	5.8	4.45E+05	4.72E-04	1.1
항체-B HC-H3C hIgG1 Fab' (1C)/LC-L2 h 카파	2.00E+05	1.47E-03	7.4	3.48E+05	6.08E-04	1.7
항체-B HC-H4C hIgG1 Fab' (1C)/LC-L2 h 카파	2.23E+05	7.67E-04	3.4	3.98E+05	2.79E-04	0.7

[0341]

[0342] **실시예 6: 인간과 시노몰구스 TfR1 결합에 대한 트랜스페린 경쟁**

[0343] SPR에 의한 인간 및 시노 TfR1에 대한 항-TfR1 Fab 단편의 결합에서 홀로 인간 트랜스페린의 효과를 평가하였다. 홀로 인간 트랜스페린 포화 농도(1 mM)의 존재 및 부재하에서 표면-포획된 인간 및 시노 TfR1에 결합하는 키메라 토끼 Fab 단편(50 및 500 nM에 사용됨)에 대해 결합 동역학(k_a, k_d), 친화성(K_D) 및 반응 수준(R_{max}) 매개변수를 결정하였다(**표 17**).

[표 17] 항-TfR1 Fab 단편에 대한 결합에 관한 홀로 인간 트랜스페린의 효과

	인간 TfR1 ECD				시노 TfR1 ECD			
	k_a(/M/s)	k_d(1/s)	K_D(nM)	R_{max}(RU)	k_a(/M/s)	k_d(1/s)	K_D(nM)	R_{max}(RU)
토끼 항체-A chi Fab	1.7E+05	1.2E-03	7.0	22	2.3E+05	1.0E-02	43	18
토끼 항체-A chi Fab + 1 mM 홀로-huTf	1.7E+05	1.2E-03	6.8	22	2.3E+05	1.0E-02	43	18
토끼 항체-B chi Fab	1.4E+05	1.8E-03	12	7.3	2.5E+05	9.5E-04	3.8	11
토끼 항체-B chi Fab + 1 mM 홀로-huTf	1.8E+05	1.5E-03	8.2	7.7	2.7E+05	9.4E-04	3.5	10

[0344]

[0345] 이들 검정은 경쟁 검정에서 홀로-huTf의 존재가 인간 TfR1 세포 외 도메인[extracellular domain, ECD] 또는 시노 TfR1 ECD에 대한 토끼 항체-A chi Fab 또는 토끼 항체-B chi Fab의 결합을 유의하게 변화시키지 않았음을 나타낸다. 이는 항체 중 어느 것도 트랜스페린과 경쟁하지 않는다는 점을 제시한다.

[0346] **실시예 7: 항-TfR1 항체는 TfR2에 결합하지 않는다**

[0347] FACS 동안 항-TfR1 항체와 TfR2의 교차 반응성을 평가하였다. 간략하게 말하자면, FACS 결합 검정은 인간 TfR2를 과발현하는 BaF3 세포를 사용하여 수행하였다. 세포를 U자형 바닥 96웰 플레이트에 50,000개 세포/웰/50 μl FACS 완충액으로 분주하고 얼음 위에 두었다. 그런 다음, 250 nM 2가 huIgG1 항체를 세포에 첨가한 후 얼음 위에서 배양하였다. 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척하고 이차 항체를 1:400으로 희석하여 웰에 첨가한 후 얼음 위에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척하고 PBS에 준비된 2% PFA에 고정하였다. 마지막으로, PE 형광을 측정하여 유세포 분석을 수행하였다.

[0348] 이차 항체 단독으로 인큐베이션한 세포와 비교하여, 키메라 항체-A mAb 또는 키메라 항체 B mAb와 함께 인큐베

이션한 세포는 PE 신호의 어떠한 변화도 나타내지 않았으며, 이는 세포 표면의 TfR2 수용체에 대한 결합이 결여되어 있음을 나타낸다(데이터는 나타내지 않음).

[0349] **실시예 8: 예시적인 항-TfR1 항체**

[0350] 다음의 예시적인 항-TfR1 항체가 작제되었고 높은 친화성으로 표적(TfR1)에 결합하는 것으로 나타났다.

[0351] (1) (i) 서열 번호 93의 중쇄 + 서열 번호 94의 경쇄,

[0352] (2) (ii) 서열 번호 95의 중쇄 + 서열 번호 96의 경쇄,

[0353] (3) (iii) 서열 번호 97의 중쇄 + 서열 번호 96의 경쇄,

[0354] (4) (iv) 서열 번호 98의 중쇄 + 서열 번호 96의 경쇄, 및

[0355] 이들 항체 중 임의의 것을 작용제, 예컨대, 핵산[예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 짧은 간섭 RNA[siRNA], 전령 RNA[mRNA], 마이크로RNA(miRNA), 가이드 RNA(gRNA), 포스포로아미데이트 모폴리노 올리고머 또는 압타머]에 연결하여 접합체를 생성할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-TfR1 항체는 본원에 기재된 것과 같은 치료제를 함유할 수 있는 입자, 예를 들어, 지질 입자 또는 나노입자에 접합된다.

[0356] **실시예 9: 항체-A 초저온 전자현미경 구조**

[0357] 항원 인식을 위한 분자 기반을 탐구하기 위해, 3.4 Å 분해능에서 인간(hu) 트랜스페린 수용체(TfR) 및 hu 트랜스페린(Tf)과 복합체를 이루는 인간화 항체-A Fab(서열 번호 95에 기재된 중쇄 서열 및 서열 번호 96에 기재된 경쇄 서열을 포함함)의 초저온 전자현미경 구조를 측정하였다. 복합체의 원자 모델은 항체-A의 상동성 모델과 TfR 및 Tf의 이용가능한 결정 구조를 초저온 전자현미경 밀도 맵에 적용하여 획득하였다(**도 3**). 최종 모델은 항체-A가 TfR의 정점 도메인에 위치한 구조적 에피토프에 결합한다는 것을 보여주었다. 결합 파트너의 5 Å 이내에 TfR의 잔기 22개와 항체-A Fab의 잔기 18개가 존재한다. 불연속 에피토프는 hu TfR의 잔기 K231, D245, L246, Y247, T248, P249, E350, G351, D352, C353, P354, S355, D356, K358, T359, D360, S361, R364, M365, V366, T367, E369에 의해 형성되며, 소수성, 친수성 및 하전된 잔기의 조합을 포함한다. 항원-A의 항원 결합 부위는 네 개의 CDR(H1, H2, H3, L3)에 의해 형성되며, 중쇄의 S29, S30, S31, Y33, Y52, Y54, S55, N57, Y59, Y100, Y102, T103, G104, Y105, T106, 및 Y107, 그리고 경쇄의 Y93 및 G95로 이루어진다(**표 18**).

[표 18] TfR과 접촉하는 항체-A 파라토프 잔기

CDR	콘택트 잔기(< 5 Å)	CDR 서열
CDR H1	S29, S30 S31, Y33	GIDF**SSS**G**Y**MC(서열 번호 101)
CDR H2	Y52, Y54, S55, N57, Y59	CI**Y**T**YS**S**N**T**Y**YAASVKG(서열 번호 103)
CDR H3	Y100, Y102, T103, G104, Y105, T106, Y107	GT**Y**G**YTGYTY**TMGYFSL(서열 번호 106)
CDR L1		QASQNINSYLA(서열 번호 107)
CDR L2		RASSLES(서열 번호 108)
CDR L3	Y93, G95	QSYY**Y**S**G**SSNYNA(서열 번호:110)

[0358]

[0359] TfR의 5.0 Å 내의 콘택트 잔기는 **굵은 밑줄**로 표시하였다.

[0360] 항체-A는 인간과 시노몰구스 원숭이에서 TfR을 인식하지만 마우스 TfR과 교차 반응하지 않는다. 이러한 구조 연구는 항체-A의 결합 특성에 대해 상세한 통찰력을 제공한다. TfR의 정점 도메인에 있는 결합 에피토프는 인간과 시노몰구스 원숭이 간에 대부분 보존되지만, 마우스와는 유의하게 상이하며, 이는 이 종[species]의 항체-A 결합이 결여되어 있다는 점과 일치한다(**도 4**).

[0361] **실시예 10: 항체-B 초저온 전자현미경 구조**

[0362] 항원 인식을 위한 분자 기반을 탐색하기 위해, 3.96 Å 분해능에서 hu TfR 및 hu Tf와 복합체를 이루는 인간화 항체-B Fab(서열 번호 99에 기재된 중쇄 서열 및 서열 번호 100에 기재된 경쇄 서열을 포함함)의 초저온 전자형미경 구조를 측정하였다. 복합체의 원자 모델은 항체-B의 상동성 모델과 TfR 및 Tf의 이용가능한 결정 구조를 초저온 전자현미경 밀도 맵에 적용하여 획득하였다(**도 5**). 최종 모델은 항체-B가 TfR의 단백질분해효소-유사 도메인에 위치한 구조적 에피토프에 결합한다는 것을 보여주었다. 결합 파트너의 5 Å 이내에 TfR의 잔기 15개와 항체-B Fab의 잔기 18개가 존재한다. 불연속 에피토프는 hu TfR의 잔기 D139, T141, K145, G490, T491, V517, T518, Y573, K574, I577, E578, R579, I580, P581, 및 E582에 의해 형성되며, 소수성, 친수성 및 하전된 잔기의 조합을 포함한다. 항원-B의 항원 결합 부위는 다섯 개의 CDR(H1, H2, H3, L1 및 L3)에 의해 형성되며, 중쇄의 N30, W33, N52, D54, A55, D56, S57, T58, N59, N100, 및 V101, 그리고 경쇄의 N28, I29, G30, V92, R93, G94, 및 G95로 이루어진다(**표 19**).

[**표 19**] TfR과 접촉하는 항체-B 파라토프 잔기

CDR	콘택트 잔기(< 5 Å)	CDR 서열
CDR H1	N30, W33	GFSFS**N**SY**W**IC(서열 번호 116)
CDR H2	N52, D54, A55, D56, S57, T58, N59	CI**NTDADSTN**YASWARG(서열 번호 117)
CDR H3	N100, V101	QN**NV**FDPGYNL(서열 번호 119)
CDR L1	N28, I29, G30	RASQ**NIG**SNLA(서열 번호 120)
CDR L2		DASKLES(서열 번호 122)
CDR L3	V92, R93, G94, G95	QCT**VRGG**AYGNA(서열 번호 124)

[0363]

[0364] TfR의 5.0 Å 내의 콘택트 잔기는 **굵은 밑줄**로 표시하였다.

[0365] 항체-B는 인간과 시노몰구스 원숭이에서 TfR을 인식하지만 마우스 TfR과 교차 반응하지 않는다. 이러한 구조 연구는 항체-B의 결합 특성에 대해 상세한 통찰력을 제공한다. TfR의 단백질분해효소-유사 도메인에 있는 결합 에피토프는 인간과 시노몰구스 원숭이 간에 대부분 보존되지만, 마우스와는 유의하게 상이하며, 이는 이 종의 항체-B 결합이 결여되어 있다는 점과 일치한다(**도 6**).

[0366] **실시예 11: 항체-A의 선택된 인간화 버전의 형식 변이체**

[0367] 항체-A의 인간화 버전의 22가지 다른 형식 변이체를 준비하였다. **표 20**은 지수 번호(실험에 사용된 항체를 식별하는 데 사용됨), 항체를 구성하는 각각의 단백질(Fc 사슬 및/또는 비-Fc 사슬)의 이름, 항체의 일반적인 구조를 도시하는 도면 (**도 7a** 내지 **7e**에서 선택됨)의 식별 및 항체에 대한 설명을 기준으로 각 항체 변이체를 기술한다. 각 항체를 구성하는 각각의 개별 단백질(Fc 사슬 및/또는 비-Fc 사슬)에 대한 아미노산 서열을 **표 21**에 나타내었다.

[표 20] 인간화 항체-A 형식 변이체의 단백질 설명

단백질 지수	Fc 사슬 #1	Fc 사슬 #2	비-Fc 사슬	'코드' / 도면 도시	설명
1	TOC1796		TOC1775	도 7a의 A	hu 항체-A 2 가 RSU hIgG1.agly
2	TOC1797	TOC1801	TOC1775	도 7a의 B	Hu 항체-A 1 가 RSU hIgG1.agly(KIH-SS)
3	TOC1798		TOC1775	도 7a의 C	Fc hIgG1.agly 항체-A Fab 2 가 USD
4	TOC1799	TOC1801	TOC1775	도 7a의 D	Fc hIgG1.agly 항체-A Fab 1 가 USD (KIH-SS)
5	TOC1785		TOC1715	VH 융합 세트 / 도 7b	Fc hIgG1.agly-DelPG-항체-A Fab VH 융합
6	TOC1786		TOC1715	VH 융합 세트	Fc hIgG1.agly-DelG-항체-A Fab VH 융합
7	TOC1787		TOC1715	VH 융합 세트 / 도 7b	Fc hIgG1.agly-항체-A Fab VH 융합
8	TOC1710		TOC1715	VH 융합 세트 / 도 7b	Fc hIgG1.agly-S-항체-A Fab VH 융합
9	TOC1711		TOC1715	VH 융합 세트 / 도 7b	Fc hIgG1.agly-SG2-항체-A Fab VH 융합
10	TOC1712		TOC1715	VH 융합 세트 / 도 7b	Fc hIgG1.agly-SG4-항체-A Fab VH 융합
11	TOC1713		TOC1715	VH 융합 세트 / 도 7b	Fc hIgG1.agly-SG4SG4-항체-A Fab VH 융합
12	TOC1714		TOC1715	VH 융합 세트 / 도 7b	Fc hIgG1.agly-SG4SG4SG4-항체-A Fab VH 융합
13	TOC1788		TOC1721	VL 융합 세트 / 도 7c	Fc hIgG1.agly-DelPG-항체-A Fab VL 융합
14	TOC1789		TOC1721	VL 융합 세트 / 도 7c	Fc hIgG1.agly-DelG-항체-A Fab VL 융합

[0368]

15	TOC1790		TOC1721	VL 융합 세트 / 도 7c	Fc hIgG1.agly-항체-A Fab VL 융합
16	TOC1791		TOC1721	VL 융합 세트 / 도 7c	Fc hIgG1.agly-S-항체-A Fab VL 융합
17	TOC1792		TOC1721	VL 융합 세트 / 도 7c	Fc hIgG1.agly-SG2-항체-A Fab VL 융합
18	TOC1793		TOC1721	VL 융합 세트 / 도 7c	Fc hIgG1.agly-SG4-항체-A Fab VL 융합
19	TOC1794		TOC1721	VL 융합 세트 / 도 7c	Fc hIgG1.agly-SG4SG4-항체-A Fab VL 융합
20	TOC1795		TOC1721	VL 융합 세트 / 도 7c	Fc hIgG1.agly-SG4SG4SG4-항체-A Fab VL 융합
21	TOC1728			J / 도 7d	Fc hIgG1.agly-SG4SG4-항체-A VH-VL scFv
22	TOC1729			K / 도 7e	Fc hIgG1.agly-SG4SG4-항체-A VL-VH scFv

[0369]

[표 21] 항체 성분의 단백질 서열

단백질 ID	단백질 설명	단백질 서열
TOC1785	hIgG1.agly-DelPG-항체-A VH-CH1 (서열 번호 174)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSQSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASV KGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGY TYTMGYFSLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
TOC1786	hIgG1.agly-DelG-항체-A VH-CH1 (서열 번호 175)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPQSLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYAAS VKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTG YTYTMGYFSLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS C
TOC1787	hIgG1.agly-항체-A VH-CH1 (서열 번호 176)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGQSLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYAA SVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYT GYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SC
TOC1710	hIgG1.agly-S-항체-A VH-CH1	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR

[0370]

	(서열 번호 177)	EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSQSLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYA ASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGY TGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSC
TOC1711	hIgG1.agly-SG2-항체-A VH-CH1 (서열 번호 178)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGQSLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTY YAASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTY GYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSC
TOC1712	hIgG1.agly-SG4-항체-A VH-CH1 (서열 번호 179)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGQSLVESGGGLVQPGGS LRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSN TYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARG TYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSC
TOC1713	hIgG1.agly-SG4SG4-항체-A VH-CH1 (서열 번호 180)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGQSLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIY TYSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVY YCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSSASTKGPSVF

[0371]

		PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSC
TOC1714	hIgG1.agly-SG4SG4SG4-항체-A VH-CH1 (서열 번호 181)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGQSLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEW VGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTE DTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSC
TOC1788	hIgG1.agly-DelPG-항체-A VL-Ck (서열 번호 182)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC QASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
TOC1789	hIgG1.agly-DelG-항체-A VL-Ck (서열 번호 183)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPDIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASSLESGVPSRFS GSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYSGSSNYNAFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
TOC1790	hIgG1.agly-항체-A VL-Ck	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS

[0372]

	(서열 번호 184)	VMHEALHNHYTQKSLSLSPGDIQMTQSPSTLSASVGDRVTI TCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASSLESGVPSRF SGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYSGSSNYNAFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
TOC1791	hIgG1.agly-S-항체-A VL-Ck (서열 번호 185)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSDIQMTQSPSTLSASVGDRVT ITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASSLESGVPSR FSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYSGSSNYNAF GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
TOC1792	hIgG1.agly-SG2-항체-A VL-Ck (서열 번호 186)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGDIQMTQSPSTLSASVGDR VTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASSLESGVP SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYSGSSNYN AFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
TOC1793	hIgG1.agly-SG4-항체-A VL-Ck (서열 번호 187)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGDIQMTQSPSTLSASVG DRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASSLESG VPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYSGSSN YNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
TOC1794	hIgG1.agly-SG4SG4-	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR

[0373]

	항체-A VL-Ck (서열 번호 188)	EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGDIQMTQSPSTL SASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYY SGSSNYNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
TOC1795	hIgG1.agly-SG4SG4SG4-항체-A VL-Ck (서열 번호 189)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGDIQMTQ SPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLL IYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC QSYYYSGSSNYNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
TOC1728	IgG1.agly-SG4SG4-항체-A VH-VL scFv (서열 번호 190)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGQSLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIY TYSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVY YCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAW YQQKPGKAPKLLIYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS SLQPDDFATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGTKVEIK
TOC1729	IgG1.agly-SG4SG4-항체-A VL-VH scFv (서열 번호 191)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGDIQMTQSPSTL SASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYY SGSSNYNAFGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSQSLVESGG

[0374]

[0375]

		GLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVG CIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDT AVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS
TOC1796	hu 항체-A 2 가 RSU hIgG1.agly (서열 번호 192)	QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAP GKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQM NSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
TOC1797	hu 항체-A 단일-팔[one-armed] RSU hIgG1.agly (놉+시스) (서열 번호 193)	QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAP GKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQM NSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
TOC1798	Fc hIgG1.agly 항체-A Fab 2 가 USD (서열 번호 180)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGQSLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIY TYSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVY YCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSC
TOC1799	Fc hIgG1.agly 항체-A Fab	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR

	단일-팔 USD(놉+시스) (서열 번호 194)	EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGGQSLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYT YSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQMNSLKTEDTAVYY CARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSC
TOC1801	Fc hIgG1.ag(N297Q)(홀+시스) (서열 번호 195)	KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
TOC1715	항체-A LCh 카파 Cterm HA (서열 번호 196)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPG KAPKLLIYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDD FATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGECTGYPYDVPDYA
TOC1721	항체-A VH CH1 HA 융합 (서열 번호 197)	QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAP GKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKTSSTTVYLQM NSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCTGYPYDVPDYA
TOC1775	항체-A LCh 카파 (서열 번호 94)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPG KAPKLLIYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDD FATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC

[0376]

[0377] 햄스터 TfR이 결여된 CHO 세포를 렌티바이러스 플라스미드를 사용하여 형질도입함으로써 전장 인간 또는 시노몰구스 원숭이 TfR을 발현시켰다. CHO 세포를 시노몰구스 또는 인간 TfR과 함께 웰당 50,000개 세포, 100 마이크로리터, 시험 물질(단백 지수 1, 2, 3 또는 4로 식별되는 항체)의 적정과 함께 얼음 위에서 1시간 인큐베이션한 후 2회 세척하고, 이차 항-인간 Fc PE 표지된 접합체(Jackson Immunoresearch)와 인큐베이션한 후, 2회 세척하고 유세포 분석기로 분석하기 이전에 1% 파라포름알데하이드로 고정한 후 유세포 분석을 수행하였다.

[0378] 테스트된 모든 네 가지 항체(단백 지수 1, 2, 3 및 4로 식별된 항체) 형식은 두 가지 종에 대해 거의 동일한 결합으로 시노몰구스와 인간 TfR 둘 모두에 잘 결합하였다 (**도 8a** 내지 **8b** 및 **표 22**). 2가 작제물은 결합의 결합력으로 인해 세포에 대한 결합이 경미하게 더 높았다.

[표 22] 시노몰구스 및 인간 TfR 에 대한 인간화 항체-A 형식 변이체의 결합

단백 지수	설명	EC50(nM) cyTfR	EC50(nM) huTfR
1	hu 항체-A 2 가 RSU hIgG1.agly	0.1	0.3
2	Hu 항체-A 1 가 RSU hIgG1.agly(KIH-SS)	1.3	0.7
3	Fc hIgG1.agly 항체-A Fab 2 가 USD	1.7	0.5
4	Fc hIgG1.agly 항체-A Fab 1 가 USD (KIH-SS)	2.5	0.8

[0379]

[0380] 인간화 버전의 항체-A에 의한 트랜스페린 변위는 다양한 형식으로 평가하였다. 햄스터 TfR이 결여되고 인간 TfR을 과발현하는 CHO 세포를 3 nM의 AlexaFluor647-접합 트랜스페린과 함께 배양하고, 지정된 농도의 시험 물질(단백 지수 1, 2, 3, 또는 4로 식별되는 항체) 적정과 함께 얼음 위에서 1시간 동안 배양하며, 3회 세척하고 1% 파라포름알데히드로 고정하고 형광성 트랜스페린의 변위를 위한 유세포 분석으로 분석하였다.

[0381] 정위[Right-side up, RSU] 작제물(단백 지수 1 및 2)은 둘 모두 최소한의 Tf 변위를 나타내었다(**도 9a**). 2가 RSU(단백 지수 1)는 > 2nM 농도에서 약 10% Tf 변위를 나타내었다.

[0382] 역위[USD] 작제물(단백 지수 3 및 4)은 둘 모두 약 40% Tf 변위를 나타내었다(**도 9b**). 이는 아마도 이들 구조물의 Fc와 트랜스페린 사이의 입체적 충돌에 의해 야기된 것으로 보인다.

[0383] 인간 홀로-트랜스페린의 존재 또는 부재하에 TfR에 대한 항-TfR 인간화 항체-A 1가 Fc 융합체(단백 지수 2 및 4)의 결합을 CM5 칩 상의 항-His 태그 포획을 사용하여, N-말단 His6 태그를 사용하여 인간 또는 시노몰구스 원숭이 TfR의 세포 외 도메인[ECD]을 포획함으로써 25 ℃에서 Biacore 8K+ 기기에서 표면 플라스몬 공명으로 연구하였다. 결합은 pH 7.4에서 3 mM EDTA, 0.05% BSA, 0.005% P20을 포함하는 헤페스(hepes) 완충 식염수에서 수행하였다. 트랜스페린과의 경쟁 테스트를 위해, 시험 물질(단백 지수 2 또는 4)을 주입하기 전에 표면 포획된 TfR ECD를 1 마이크로몰 홀로-인간 트랜스페린으로 미리 포화시켰다. 1가 항체는 0.2 내지 200 nM까지 4배 연속 희석으로 적정하였다. 다중 주기 동역학을 1:1 결합 모델에 맞춰 결합 매개변수를 생성하였다. TfR에 대한 항-TfR 인간화 항체-A 1가 Fc 융합체의 결합은 트랜스페린에 의해 영향을 받지 않았다(**표 23**).

[표 23] 트랜스페린의 존재 또는 부재하에 TfR 에 대한 인간화 항체-A 1 가 Fc 융합체의 결합

		인간 TfR ECD 결합				시노 TfR ECD 결합			
	Tf(1 uM)	k_a(/M.s)	k_d(/s)	K (nM)	R_{max} (%)	k_a(/M.s)	k_d(/s)	K (nM)	R_{max} (%)
단백 지수 2 [hu 항체-A 1 가 RSU hIgG1.agly(KIH-SS)]	-	6.3E+05	1.1E-03	1.7	74	1.4E+06	6.8E-03	5.0	80
	+	7.0E+05	8.9E-04	1.3	73	1.5E+06	7.6E-03	5.2	76
단백 지수 4 [Fc hIgG1.agly 항체-A Fab 1 가 USD(KIH-SS)]	-	4.1E+05	9.8E-04	2.4	75	8.2E+05	4.9E-03	6.0	80
	+	3.0E+05	7.6E-04	2.5	76	6.0E+05	5.8E-03	9.6	78

[0384]

[0385] 인간화 항체-A의 1가 버전(단백 지수 2 및 4)의 존재 또는 부재하에 시노 TfR ECD에 대한 항-TfR 인간화 항체-A 1가 Fc 융합체의 결합을 CM5 칩 상의 항-His 태그 포획을 사용하여, N-말단 His6 태그를 사용하여 인간 또는 시

노몰구스 원숭이 TfR의 세포 외 도메인[ECD]을 포획함으로써 25 ℃에서 Biacore 8K+ 기기에서 표면 플라스몬 공명으로 연구하였다. 결합은 pH 7.4에서 3 mM EDTA, 0.05% BSA, 0.005% P20을 포함하는 헤페스(hepes) 완충 식염수에서 수행하였다. TfR과의 경쟁 테스트를 위해 표면 포획 TfR ECD를 200 nM의 인간화 항체-A(단백 지수 2 또는 4)로 사전 포화시킨 후 0.2 내지 200 nM의 4배 연속 희석으로 인간 홀로-트랜스페린을 주입하였다. 다중 주기 동역학을 1:1 결합 모델에 맞춰 결합 매개변수를 생성하였다. 역위 형식(USD, Fc-Fab)에서, 1가 항-TfR 인간화 항체-A는 TfR에 대한 트랜스페린 결합을 약화시켰다(**표 24**). 정위 형식(RSU, Fab-Fc)에서, 1가 항-TfR 인간화 항체-A는 TfR에 대한 트랜스페린 결합에 영향을 미치지 않았다(**표 24**).

[표 24] TfR에 대한 트랜스페린 결합에 관한 1가 인간화 항체-A Fc 융합체의 효과

시험 물질	사전 포화된 경쟁자	cyTfR ECD	
		겉보기 KD (nM)	Rmax(%)
홀로 huTf	없음	3.1	38
홀로 huTf	200 nM **단백 지수 2** (항체-A hIgG1.agly 1가 RSU)	3.9	34
홀로 huTf	200 nM **단백 지수 4** (hIgG1.agly - 항체-A 1가 USD)	9.8	31

[0386]

[0387] 햄스터 TfR이 결여되고 인간 TfR을 과발현하는 CHO 세포를 3 nM의 AlexaFluor647-접합 트랜스페린과 함께 배양하고, 지정된 농도의 시험 물질(단백 지수 3 또는 14 항체) 적정과 함께 얼음 위에서 1시간 동안 배양하며, 3회 세척하고 1% 파라포름알데히드로 고정하고 형광성 트랜스페린의 치환을 위한 유세포 분석으로 분석하였다. Fab VH N-말단을 통해 Fc의 C-말단에 연결된 Fab를 갖는 USD 형식의 인간화 항체-A는 세포 표면 huTfR로부터 트랜스페린(Tf-AF647)의 대략 40% 변위를 유도한다(**도 10**; 'x'로 식별되는 단백질 지수 3). 이는 VL 도메인의 N-말단을 통해 Fab를 Fc에 연결하고 Fc와 Fab 사이의 링커를 단축함으로써 최소화하였다(**도 10**; 삼각형으로 식별된 단백 지수 14).

[0388] 햄스터 TfR이 결여되고 전장 인간 TfR을 과발현하는 CHO 세포를 사용하여 유세포 분석 실험에서 항-TfR 항체의 결합을 테스트하였다. 인간 TfR을 발현하는 CHO 세포를 웰당 대략 50,000개 세포, 100 마이크로리터, 시험 물질(단백 지수 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 또는 20)의 적정과 함께 얼음 위에서 1시간 인큐베이션한 후 2회 세척하고, 이차 항-인간 IgG PE 표지된 접합체(Jackson Immunoresearch)와 인큐베이션한 후, 2회 세척하고 유세포 분석기로 분석하기 이전에 1% 파라포름알데하이드로 고정한 후 유세포 분석을 수행하였다.

[0389] VH N-말단(단백 지수 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 및 12) 또는 VL N-말단(단백 지수 13, 14, 16, 17, 18, 19, 및 20)을 통해 Fc의 C-말단에 융합된 인간화 항체-A는 유사한 결합 결과를 산출하였다(**표 25**). 나아가, Fc와 Fab 사이의 링커는 15개 아미노산(3x SG4)부터 '음성 2'[CH3 도메인(Pro-Gly)의 마지막 두 잔기가 제거됨]까지 다양할 수 있다. Fc가 Fab의 VL 도메인에 융합되고 링커가 짧을 때 최대 평균 형광 강도가 변화한다는 점에 유의해야 하는데, 이는 시험 물질의 이차 항체의 입체 장해[steric hindrance]로 인한 것일 수 있다.

[표 25] 인간화 항체-A는 VH 또는 VL N-말단을 통해, 그리고 더 길거나 더 짧은 링커를 사용하여 명백한 결합 손실 없이 Fc에 융합될 수 있다

단백 지수	EC50(nM)	최대 MFI(적합)
5	0.29	1191
6	0.35	1189
7	0.27	1183
8	0.21	1232
9	0.26	1244
10	0.20	1290
11	0.22	1300
12	0.15	1359
13	0.20	553
14	0.31	498
16	0.20	567
17	0.32	497
18	0.26	527
19	0.33	659
20	0.32	1167

[0390]

[0391] 햄스터 TfR이 결여되고 전장 인간 TfR을 과발현하는 CHO 세포를 사용하여 유세포 분석 실험에서 항-TfR 항체의 결합을 테스트하였다. 인간 TfR을 발현하는 CHO 세포를 웰당 대략 50,000개 세포, 100 마이크로리터, 시험 물질(단백 지수 3, 21, 또는 22)의 적정과 함께 얼음 위에서 1시간 인큐베이션한 후 2회 세척하고, 이차 항-인간 IgG PE 접합체(Jackson Immunoresearch)와 인큐베이션한 후, 2회 세척하고 유세포 분석기로 분석하기 이전에 1% 파라포름알데하이드로 고정한 후 유세포 분석을 수행하였다.

[0392] 인간화 항체-A의 VH 및 VL 도메인이 scFv 형식으로 전환되고 인간 IgG Fc의 C-말단에 융합되었을 때, 인간 TfR에 대한 결합을 유지하였다(**표 26**). MFI의 명백한 차이는 비scFv 형식의 이차 검출 항체에 사용할 수 있는 에피토프가 더 크기 때문일 가능성이 높다.

[표 26] scFv로 재형식화된 인간화 항체-A는 TfR에 대한 결합을 유지한다

단백 지수	설명	EC50(nM)	최대 MFI(적합)
3	Fc hIgG1.agly 항체-A Fab 2가 USD	0.28	1325
21	Fc hIgG1.agly-SG4SG4-항체-A VH-VL scFv	0.21	415
22	Fc hIgG1.agly-SG4SG4-항체-A VL-VH scFv	0.18	395

[0393]

[0394] 기타 구현예

[0395] 본 발명은 이의 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용과 함께 설명되었지만, 전술한 내용은 첨부된 청구항의 범위에 의해 정의되는 본 발명의 범위를 설명하기 위한 것이며, 제한하려는 것은 아니다. 기타 양태, 이점 및 변형은 다음 청구항의 범위 내에 있다.

도면

도면1a

항체-A 계열 VH

```
1   5    10   15   20   25   30    a    40   45   50 a  55   60   65   70   75   80 abc  85   90   95    abcdefghi   105     113 카바트 위치 #
1   5  9     15   20   25 29   38     45   50   55      65   70   75   80   85   90   95   100  105 110     130  135  140  145 149 AHo 위치 #
-1   5    10   15   20   25   30   35   40   45   50   55   60   65   70  -74    80   85   90   95  100  105  110  115  120  125 순차적인 위치 #, rabAB-A_VH
-QSLEESGGGLVQPGASLTLTCKASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWIGCIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKT-SSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   rabAB-A_VH (서열 번호 4)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H0 (서열 번호 5)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H1 (서열 번호 6)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H2 (서열 번호 7)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3 (서열 번호 8)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMSWVRQAPGKGLEWVGVIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3(SV) (서열 번호 9)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMSWVRQAPGKGLEWVGRIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3(SR) (서열 번호 10)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMSWVRQAPGKGLEWVGYIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3(SY) (서열 번호 11)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMHWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A H3(HA) (서열 번호 12)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H4 (서열 번호 13)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A HOC (서열 번호 14)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H1C (서열 번호 15)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H2C (서열 번호 16)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3C (서열 번호 17)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H4C (서열 번호 18)
  L ESGGGLVQPG SL L C ASGIDFSSSGYM WVRQAPGKGLEW G IYTYSSNTYYA  KGRFTIS  S    LQM SL   DTA Y CARGTYGYTGYTYTMGYFSLWG GTLVTVSS   보존됨
```

도면1b

항체-B 계열 VH
1 5 10 15 20 25 30 a 40 45 50 a 55 60 65 70 75 80 abc 85 90 95 abc 105 113
1 5 9 15 20 25 29 38 45 50 55 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 133 140 145 149
-1 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 -74 80 85 90 95 100 105 110 115 119
QSLEESGGGLVQPEGSLTLTCKASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWIGCINTDADSTNYASWARGRFTISKT-SSTTVTLQMTSLTAADTASYFCARQNNVFDPGYNLWGPGTLVTVSS
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWIAWVRQAPGKGLEWVAAINTDADSTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWIAWVRQAPGKGLEWVAAINTDADSTNYADSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWISWVRQAPGKGLEWVAVINTDADSTNYADSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWISWVRQAPGKGLEWVARINTDADSTNYADSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWISWVRQAPGKGLEWVAYINTDADSTNYADSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWIHWVRQAPGKGLEWVAAINTDADSTNYADSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGFSFSNSYWIAWVRQAPGKGLEWVAAINTDADSTNYADSVKGRFTISKD-SSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWIAWVRQAPGKGLEWVAAINTDADSTNYASWARGRFTISKDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGFSFSNSYWIAWVRQAPGKGLEWVAAINTDADSTNYASWARGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGPGTLVTVSS
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWVGCINTDADSTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWVGCINTDADSTNYADSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWVGCINTDADSTNYADSVKGRFTISKD-SSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWVGCINTDADSTNYASWARGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGPGTLVTVSS
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWVGCINTDADSTNYASWARGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGPGTLVTVSS
L ESGGG VQP SL L C ASGFSFSNSYWI WVRQAPGKGLEW INTDADSTNYA GRFTIS S T LQM SL A DTA Y CARQNNVFDPGYNLWG GTLVTVSS
카바트 위치 #
ΔHo 위치 #
손차적인 위치 #, rabAB-B_VH
항체-B_H0 (서열 번호 19)
항체-B_H1 (서열 번호 20)
항체-B_H1(SV) (서열 번호 21)
항체-B_H1(SR) (서열 번호 22)
항체-B_H1(SY) (서열 번호 23)
항체-B_H1(HA) (서열 번호 24)
항체-B_H2 (서열 번호 25)
항체-B H3 (서열 번호 26)
항체-B_H4 (서열 번호 27)
항체-B H0C (서열 번호 28)
항체-B_H1C (서열 번호 29)
항체-B_H2C (서열 번호 30)
항체-B_H3C (서열 번호 31)
항체-B_H4C (서열 번호 32)
보존됨
항체-B (서열 번호 33)

항체-A 계열 VL

```
1   5    10   15   20   25   30  35   40   45   50   55   60   65   70   75   80   85   90   abcd   100    107  카바트 위치 #
1   5    10   15   20    29  39   45   50   55  67 70   75   80   87 90   95   100  105  110 133   140    148  AHo 위치 #
1   5    10   15   20   25   30  35   40   45   50   55   60   65   70   75   80   85   90   95   100  105  111  순차적인 위치 #, rabAB-A_VL
ELDMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQNINSYLAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVPSRFKGSGSGTEFTLTISDLECADAATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGTELEIL    rabAB-A_VL (서열 번호 34)
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGTKVEIK    항체-A_L0 (서열 번호 35)
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGTKVEIK    항체-A_L1 (서열 번호 36)
ELDMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGTKVEIK    항체-A_L2 (서열 번호 37)
   MTQ P    A VG  VTI CQASQNINSYLAWYQQKPG  PKLLIYRAS L SGVPSRF GSGSGTEFTLTIS L   D ATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGT  EI     보존됨
```

도면1d

항체-B 계열 VL

```
1  5   10  15  20   25  30  35   40  45   50  55   60  65   70  75   80  85   90    abc    100   107 카바트 위치 #
1  5   10  15  20    29  39  45   50  55  67 70   75  80   87 90  95  100 105  110 134   140   148 Allo 위치 #
1  5   10  15  20   25  30  35   40  45   50  55   60  65   70  75   80  85   90   96  100  105  110 순차적인 위치 #, rabAB-B_VL
ELVLTQTPASVSEAVGGTVTIKCQASQNIGSNLAWYQQKPGQPPKLLIYDASKLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISDLECADAATYYCQCTVRGGAYGNAFGGGTEVVVK   rabAB-B_VL (서열 번호 38)
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQTVRGGAYGLAFGGGTKVEIK   항체-B_L0 (서열 번호 39)
ELVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQATVRGGAYGLAFGGGTKVEIK   항체-B_L1 (서열 번호 40)
ELVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQCTVRGGAYGNAFGGGTKVEIK   항체-B_L2 (서열 번호 41)
ELVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSTVRGGAYGNAFGGGTKVEIK   항체-B_L2(C90S) (서열 번호 42)
ELVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQTTVRGGAYGNAFGGGTKVEIK   항체-B_L2(C90T) (서열 번호 43)
ELVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQVTVRGGAYGNAFGGGTKVEIK   항체-B_L2(C90V) (서열 번호 44)
   TQ P   S  VG  VTI C ASQNIGSNLAWYQQKPG  PKLLIYDASKL SGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS L   D ATYYCQ TVRGGAYG AFGGGT V  K   보존됨
```

항체-A 계열 VH

```
1   5    10   15   20   25   30   a    40   45   50 a  55   60   65   70   75   80 abc  85   90   95    abcdefghi    105     113   카바트 위치 #
1   5  9     15   20   25 29   38     45   50   55     65   70   75   80   85   90   95   100  105  110     130  135  140  145 149  AHo 위치 #
-1   5    10   15   20   25   30   35   40   45   50   55   60   65   70  -74    80   85   90   95   100  105  110  115  120  125  순차적인 위치 #, rabAB-A_VH
-QSLEESGGGLVQPGASLTLTCKASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWIGCIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKT-SSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   rabAB-A_VH (서열 번호 4)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H0 (서열 번호 5)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H1 (서열 번호 6)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H2 (서열 번호 7)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3 (서열 번호 8)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMSWVRQAPGKGLEWVGVIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3(SV) (서열 번호 9)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMSWVRQAPGKGLEWVGRIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3(SR) (서열 번호 10)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMSWVRQAPGKGLEWVGYIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3(SY) (서열 번호 11)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMHWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A H3(HA) (서열 번호 12)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMAWVRQAPGKGLEWVGAIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H4 (서열 번호 13)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A H0C (서열 번호 14)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H1C (서열 번호 15)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYAASVKGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGQGTLVTVSS   항체-A_H2C (서열 번호 16)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKD-SKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H3C (서열 번호 17)
-QSLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGIDFSSSGYMCWVRQAPGKGLEWVGCIYTYSSNTYYASWAKGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLKTEDTAVYYCARGTYGYTGYTYTMGYFSLWGPGTLVTVSS   항체-A_H4C (서열 번호 18)
   L ESGGGLVQPG SL L C ASGIDFSSSGYM WVRQAPGKGLEW G IYTYSSNTYYA   KGRFTIS   S     LQM SL   DTA Y CARGTYGYTGYTYTMGYFSLWG GTLVTVSS   보존됨
```


공개특허 10-2024-0107202

도면2b

항체-B 계열 VH

```
1   5    10   15   20   25   30   a    40   45   50 a  55   60   65   70   75   80 abc  85   90   95    abc    105     113  카바트 위치 #
1   5  9     15   20   25 29   38     45   50   55    65   70   75   80   85   90   95   100  105  110 133    140  145 149  AHo 위치 #
-1   5    10   15   20   25   30   35   40   45   50   55   60   65   70  -74    80   85   90   95   100  105  110  115 119  순차적인 위치 #, rabAB-B_VH
-QSLEESGGGLVQPEGSLTLTCKASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWIGCINTDADSTNYASWARGRFTISKT-SSTTVTLQMTSLTAADTASYFCARQNNVFDPGYNLWGPGTLVTVSS  rabAB-B_VH (서열 번호 19)
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWIAWVRQAPGKGLEWVAAINTDADSTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS  항체-B_H0 (서열 번호 20)
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWIAWVRQAPGKGLEWVAAINTDADSTNYADSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS  항체-B_H1 (서열 번호 21)
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWISWVRQAPGKGLEWVAVINTDADSTNYADSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS  항체-B_H1(SV) (서열 번호 22)
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWISWVRQAPGKGLEWVARINTDADSTNYADSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS  항체-B_H1(SR) (서열 번호 23)
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWISWVRQAPGKGLEWVAYINTDADSTNYADSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS  항체-B_H1(SY) (서열 번호 24)
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWIHWVRQAPGKGLEWVAAINTDADSTNYADSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS  항체-B_H1(HA) (서열 번호 25)
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGFSFSNSYWIAWVRQAPGKGLEWVAAINTDADSTNYADSVKGRFTISKD-SSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS  항체-B_H2 (서열 번호 26)
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWIAWVRQAPGKGLEWVAAINTDADSTNYASWARGRFTISKDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS  항체-B H3 (서열 번호 27)
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGFSFSNSYWIAWVRQAPGKGLEWVAAINTDADSTNYASWARGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGPGTLVTVSS  항체-B_H4 (서열 번호 28)
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWVGCINTDADSTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS  항체-B H0C (서열 번호 29)
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWVGCINTDADSTNYADSVKGRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS  항체-B_H1C (서열 번호 30)
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWVGCINTDADSTNYADSVKGRFTISKD-SSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS  항체-B_H2C (서열 번호 31)
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWVGCINTDADSTNYASWARGRFTISKDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGQGTLVTVSS  항체-B_H3C (서열 번호 32)
-QSLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGFSFSNSYWICWVRQAPGKGLEWVGCINTDADSTNYASWARGRFTISKT-SSTTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARQNNVFDPGYNLWGPGTLVTVSS  항체-B_H4C (서열 번호 33)
   L ESGGG VQP  SL L C ASGFSFSNSYWI WVRQAPGKGLEW   INTDADSTNYA    GRFTIS   S  T  LQM SL A DTA Y CARQNNVFDPGYNLWG GTLVTVSS  보존됨
```

도면2c

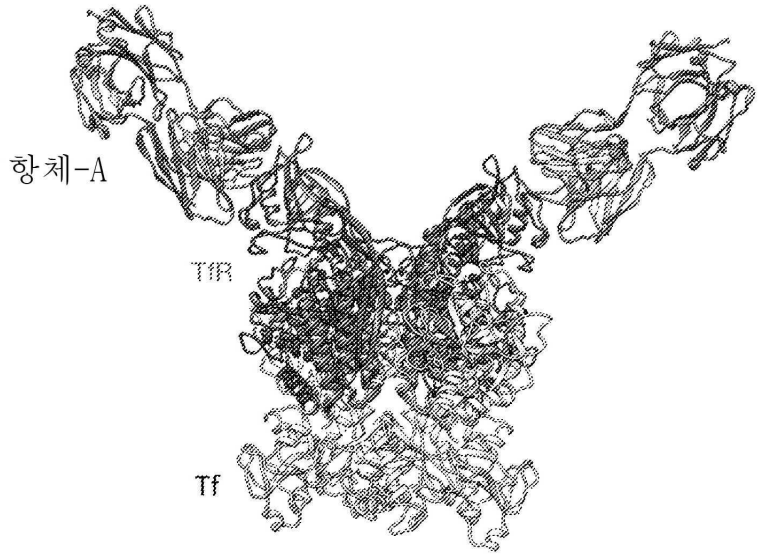
항체-A 계열 VL

```
1   5    10   15   20   25   30  35   40   45   50  55   60   65   70   75   80   85   90    abcd    100    107  카바트 위치 #
1   5    10   15   20    29  39    45   50   55  67 70   75   80   87 90   95   100  105 110 133   140     148  AHo 위치 #
1   5    10   15   20   25   30  35   40   45   50  55   60   65   70   75   80   85   90   95   100  105  111  순차적인 위치 #, rabAB-A_VL
ELDMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQNINSYLAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVPSRFKGSGSGTEFTLTISDLECADAATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGTELEIL    rabAB-A_VL (서열 번호 34)
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGTKVEIK    항체-A_L0 (서열 번호 35)
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGTKVEIK    항체-A_L1 (서열 번호 36)
ELDMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNINSYLAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGTKVEIK    항체-A_L2 (서열 번호 37)
   MTQ P    A VG  VTI CQASQNINSYLAWYQQKPG  PKLLIYRAS L SGVPSRF GSGSGTEFTLTIS L   D ATYYCQSYYYSGSSNYNAFGGGT  EI    보존됨
```

도면2d

항체-B 계열 VL
1 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 abc 100 107
1 5 10 15 20 29 39 45 50 55 67 70 75 80 87 90 95 100 105 110 134 140 148
1 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 96 100 105 110
ELVLTQTPASVSEAVGGTVTIKCQASQNIGSNLAWYQQKPGQPPKLLIYDASKLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISDLECADAATYYCQCTVRGGAYGNAFGGGTEVVVK
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQTVRGGAYGLAFGGGTKVEIK
ELVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQATVRGGAYGLAFGGGTKVEIK
ELVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQCTVRGGAYGNAFGGGTKVEIK
ELVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQSTVRGGAYGNAFGGGTKVEIK
ELVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQTTVRGGAYGNAFGGGTKVEIK
ELVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQVTVRGGAYGNAFGGGTKVEIK
TQ P S VG VTI C ASQNIGSNLAWYQQKPG PKLLIYDASKL SGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS L D ATYYCQ TVRGGAYG AFGGGT V K
항체-B_L0 (서열 번호 38)
항체-B_L1 (서열 번호 39)
항체-B_L2 (서열 번호 40)
항체-B_L2(C90S) (서열 번호 41)
항체-B_L2(C90T) (서열 번호 42)
항체-B_L2(C90V) (서열 번호 43)
보존됨
카바트 위치 #
AHo 위치 #
순차적인 위치 #, rabAB-B_VL (서열 번호 44)
rabAB-B_VL (서열 번호 38)

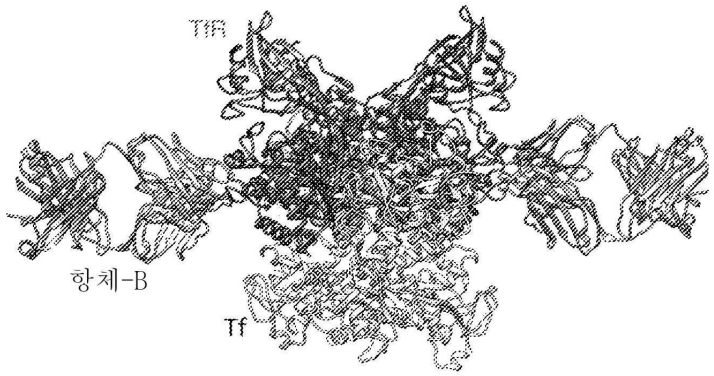
도면3



도면4

인간
시노
마우스
SKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFG
SKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFG
SKVWRDEHYVKIQVKSSIGQNMVTIVQSNGNLDPVESPEGYVAFSKPTEVSGKLVHANFG
인간
시노
마우스
TKKDFEDLYTEVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFF
TKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKADLSFF
TKKDFEELSYSVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAQSFNAIGVLIYMDKNKFPVVEADLALF
인간
시노
마우스
GHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWK
GHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWK
GHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGKMEGSCPARWN
인간
시노
마우스
TDSTCRMVTSESKNVKLTVSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGPGA-A
TDSTCKMVTSENKSVKLTVSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGPGA-A
IDSSCKLELSQNQNVKLIVKNVLKERRILNIFGVIKGYEEPDRYVVVGAQRDALGAGVAA
:*:*:; *;:.:.*** *.****** ;********** ***;********** * *. *
238
238
240
298
298
300
358
358
360
417 (서열 번호 165)
417 (서열 번호 166)
420 (서열 번호 167)

도면5



도면6

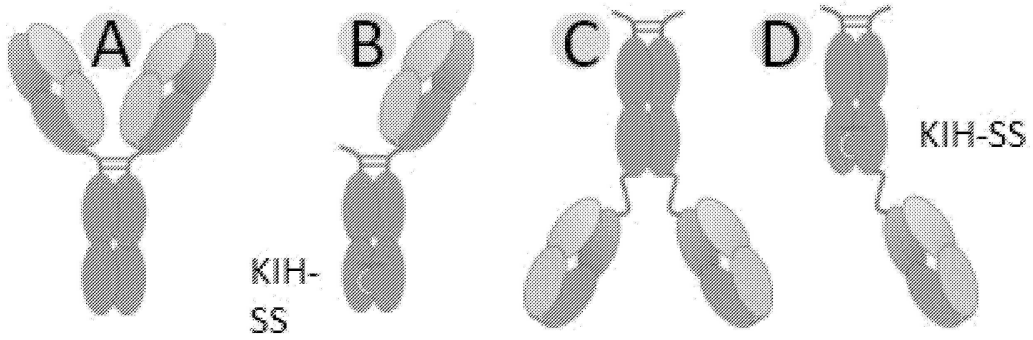
```
인간    ARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFTGTIKLLNENSYVPREAGSQKDENLALYVENQFREFKL   178  (서열 번호 168)
시노    APRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQFREFKL   178  (서열 번호 169)
마우스  SSRLYWADLKTLLSEKLNSIEFADTIKQLSQNTYTPREAGSQKDESLAYYIENQFHEFKF   180  (서열 번호 170)
        :  *****  ***   ******:: :*:.*** *.:* *.*************.** *:****:***:

------------------------------------------------------------------------

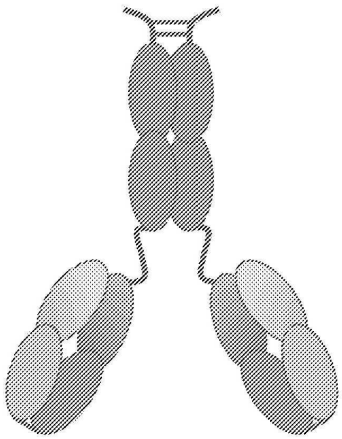
인간    AFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQFLYQDSNWASKVEKLTL   537
시노    AFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSLYQDSNWASKVEKLTL   537
마우스  AFTYINLDKVVLGTSNFKVSASPLLYTLMGKIMQDVKHPVDGKSLYRDSNWISKVEKLSF   540
        ********** ********************: * **:***** *: **:**** ******::

인간    DNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNKVARAAAEVAGQF   597  (서열 번호 171)
시노    DNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVARAAAEVAGQF   597  (서열 번호 172)
마우스  DNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDADYPYLGTRLDTYEALTQKVPQLNQMVRTAAEVAGQL   600  (서열 번호 173)
        *****:*********************;********** :***** * ::::*;**::.*;*******;
```

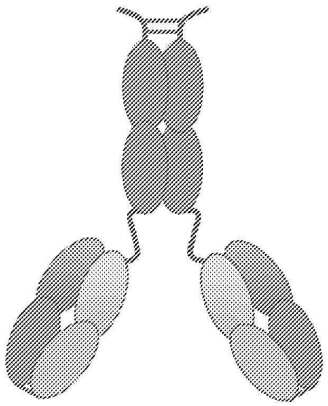
도면7a



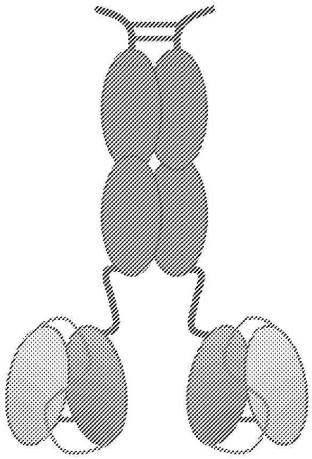
도면7b



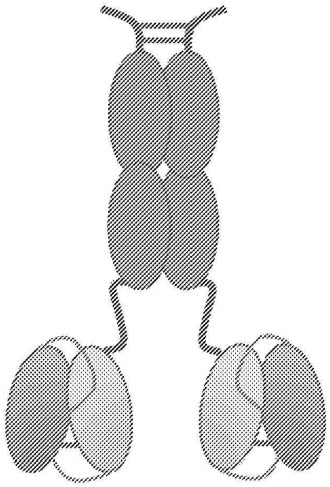
도면7c



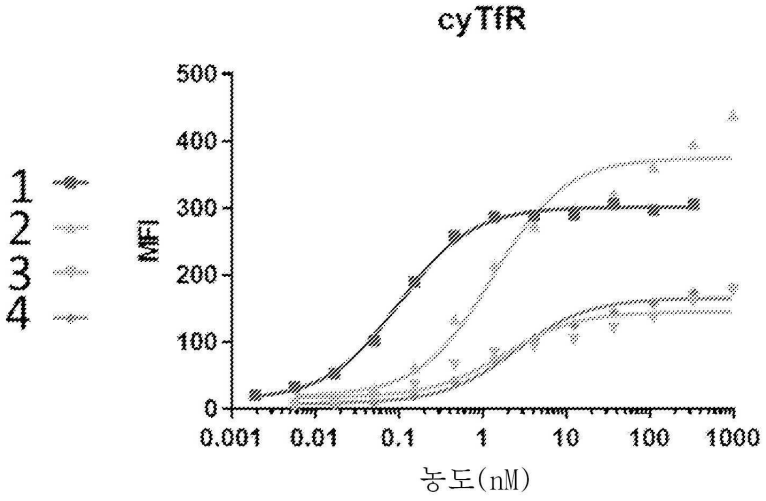
도면7d



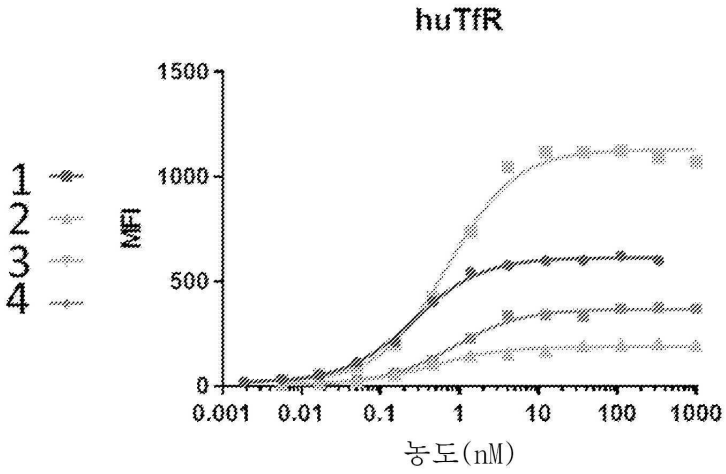
도면7e



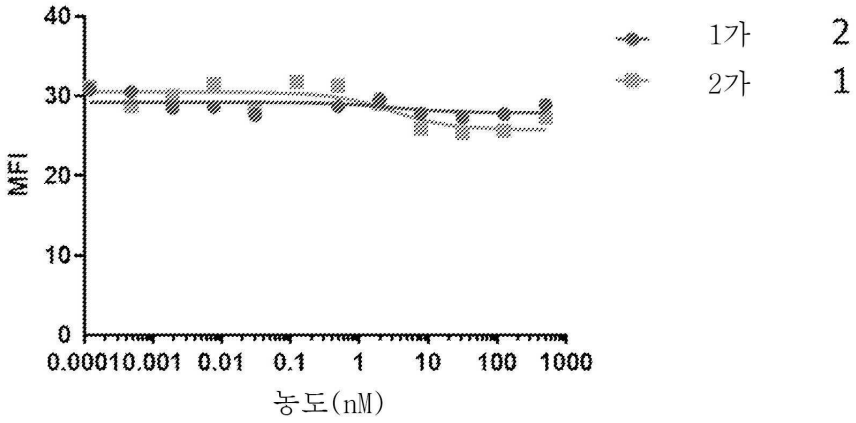
도면8a



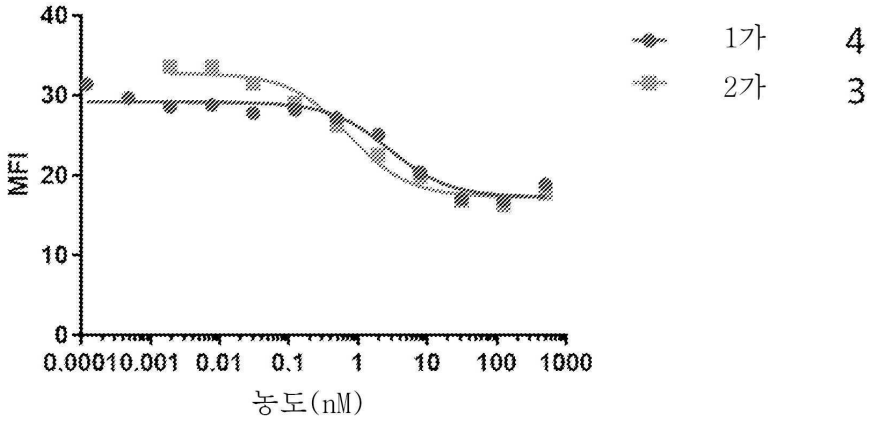
도면8b



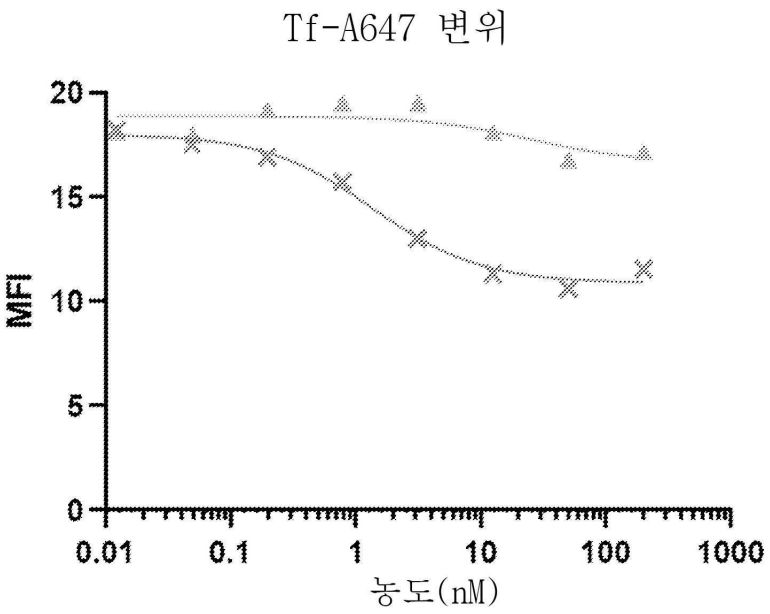
도면9a



도면9b



도면10



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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