



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0162569
(43) 공개일자 2024년11월15일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07K 16/28 (2013.01)
A61K 47/6803 (2023.08)</p> <p>(21) 출원번호 10-2024-7035214
(22) 출원일자(국제) 2023년03월24일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2024년10월22일
(86) 국제출원번호 PCT/CA2023/050405
(87) 국제공개번호 WO 2023/178451
국제공개일자 2023년09월28일</p> <p>(30) 우선권주장
63/323,957 2022년03월25일 미국(US)
(뒷면에 계속)</p> | <p>(71) 출원인
자임워크스 비씨 인코포레이티드
캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1쥬4,
밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114</p> <p>(72) 발명자
리치, 제임스 알.
캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1쥬4,
밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114
데이비스, 루퍼트 에이치.
미국, 워싱턴 98161, 시애틀, 스위트 2100, 4번
애비뉴 1215
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
김영철, 김민정, 김 순 영</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 44 항

(54) 발명의 명칭 **항-엽산 수용체 알파 항체 및 사용 방법**

(57) 요약

인간 엽산 수용체 알파(FR α 또는 FOLR1)에 결합하는 항체 작제물 및 세포독소 또는 면역 조절제와 같은 약물에 접합된 항-FR α 항체 작제물을 포함하는 항체-약물 접합체(ADC), 및 예를 들어, 암의 치료 또는 진단에서 치료제 또는 진단제로서의 이들의 용도.

대표도

1a 중쇄

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS **GFSLSYGV**S WVRQAPGKLEWVS **AVNSGGSAY**
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK **SGSGYPMDYLA**I WGQGTILVTVSS

도 1a

1b 경쇄

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC **QASQSIGDWLA** WYQQKPGKAPKLLIY **EASTLAS**
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC **QQGYGRSNVDNI** FGGGTKVEIK

도 1b

(52) CPC특허분류

A61K 47/6849 (2017.08)
A61K 47/6877 (2017.08)
A61K 47/6889 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/524 (2013.01)
C07K 2317/526 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/77 (2013.01)

(30) 우선권주장

63/417,293 2022년10월18일 미국(US)
 63/450,602 2023년03월07일 미국(US)

(72) 발명자

반서, 스투어트 다니엘

캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1취4, 밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114

유로세브, 던자

캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1취4, 밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114

강, 수크비르 싱

캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1취4, 밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114

찬, 피터 윙 이우

캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1취4, 밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114

다스, 사미르

캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1취4, 밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114

헤르난데즈 로자스, 안드레아

캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1취4, 밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114

진, 로버트 윌리엄

캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1취4, 밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114

영, 아다 지. 에이치.

캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1취4, 밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114

론, 사무엘 올리버

캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1취4, 밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114

추이, 대니

캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1취4, 밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114

브로우맨, 던칸

캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1취4, 밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114

클라베테, 브랜든

캐나다, 브리티시 콜럼비아 브이5티 1취4, 밴쿠버, 스위트 800, 이스트 4번 애비뉴 114

명세서

청구범위

청구항 1

인간 엽산 수용체 알파(hFR α)에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체 작제물로서, 항체 작제물이 서열 번호 15의 아미노산 잔기 E120, D121, R123, T124, S125 및 Y126을 포함하는 hFR α 내의 에피토프에 특이적으로 결합하는 참조 항체와 hFR α 에 대한 결합에 대해 경쟁하는, 항체 작제물.

청구항 2

제1항에 있어서, 에피토프가 불연속 에피토프인, 항체 작제물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 참조 항체가 서열 번호 20, 23, 26, 28 또는 31 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 21, 24, 27, 29 또는 32 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열; 서열 번호 22, 25 또는 30 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR3 아미노산 서열; 서열 번호 40, 43 또는 45 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 41, 44 또는 46 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 42 또는 47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR3 아미노산 서열을 포함하는, 항체 작제물.

청구항 4

서열 번호 15의 아미노산 잔기 E120, D121, R123, T124, S125 및 Y126을 포함하는 인간 엽산 수용체 알파(hFR α) 내의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인을 포함하는, 항체 작제물.

청구항 5

제4항에 있어서, 에피토프가 불연속 에피토프인, 항체 작제물.

청구항 6

인간 엽산 수용체 알파(hFR α)에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체 작제물로서, 항원 결합 도메인이 서열 번호 3, 4 및 5에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 CDR 아미노산 서열(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3), 및 서열 번호 6, 7 및 8에 제시된 서열을 포함하는 경쇄 CDR 아미노산 서열(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는, 항체 작제물.

청구항 7

제4항 또는 제6항에 있어서, 항원 결합 도메인이 서열 번호 19, 50, 54, 57, 61, 76, 79, 82, 85, 88, 91, 99, 106, 113, 116, 133 또는 136 중 어느 하나에 제시된 서열을 갖는 VH 도메인의 CDR 서열을 포함하는, 항체 작제물.

청구항 8

제4항, 제6항 및 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인이 서열 번호 39, 64, 119, 124 또는 130 중 어느 하나에 제시된 서열을 갖는 VL 도메인의 CDR 서열을 포함하는, 항체 작제물.

청구항 9

제4항 또는 제6항에 있어서, 항원 결합 도메인이 다음을 포함하는, 항체 작제물:

(i) 서열 번호 20, 23, 26, 28, 31, 92, 93, 94, 95 또는 96 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 21, 24, 27, 29, 32, 51, 58, 100, 101, 102, 103, 109, 137, 138 또는 139 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 22, 25, 30, 107,

청구항 13

제4항 또는 제6항에 있어서, 항원 결합 도메인이 다음을 포함하는, 항체 작제물:

- (i) 서열 번호 19에 제시된 VH 아미노산, 및 서열 번호 39에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (ii) 서열 번호 50에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (iii) 서열 번호 54에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (iv) 서열 번호 57에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (v) 서열 번호 61에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (vi) 서열 번호 76에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (vii) 서열 번호 79에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (viii) 서열 번호 82에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (ix) 서열 번호 85에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (x) 서열 번호 88에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (xi) 서열 번호 91에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 124에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (xii) 서열 번호 99에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (xiii) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (xiv) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 119에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (xv) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (xvi) 서열 번호 113에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (xvii) 서열 번호 116에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 119에 제시된 VL 아미노산 서열 또는
- (xviii) 서열 번호 116에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (xix) 서열 번호 133에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- (xx) 서열 번호 136에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 스캐폴드를 추가로 포함하고, 항원-결합 도메인이 스캐폴드에 작동 가능하게 연결된, 항체 작제물.

청구항 15

제14항에 있어서, 스캐폴드가 IgG Fc 영역을 포함하는, 항체 작제물.

청구항 16

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 작제물이 제2 항원 결합 도메인을 추가로 포함하는, 항체 작제물.

청구항 17

제16항에 있어서, 제2 항원 결합 도메인이 hFR α 에 특이적으로 결합하는, 항체 작제물.

청구항 18

제16항에 있어서, 제2 항원 결합 도메인이 hFR α 이외의 항원에 결합하는, 항체 작제물.

청구항 19

제16항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 추가적인 항원 결합 도메인을 추가로 포함하는, 항체 작제물.

청구항 20

제16항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 스캐폴드를 추가로 포함하고, 적어도 하나의 항원-결합 도메인이 스캐폴드에 작동 가능하게 연결된, 항체 작제물.

청구항 21

제20항에 있어서, 스캐폴드가 IgG Fc 영역을 포함하는, 항체 작제물.

청구항 22

IgG Fc 영역에 작동 가능하게 연결된 2개의 항원 결합 도메인을 포함하는 항체 작제물로서, 각 항원 결합 도메인이 인간 엽산 수용체 알파(hFR α)에 특이적으로 결합하고 다음을 포함하는, 항체 작제물:

- (a) 서열 번호 39에 제시된 VL 아미노산 서열, 및 서열 번호 19에 제시된 VH 아미노산 서열; 또는
- (b) 서열 번호 124에 제시된 VL 아미노산 서열, 및 서열 번호 91에 제시된 VH 아미노산 서열; 또는
- (c) 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 및
 - (i) 서열 번호 50에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (ii) 서열 번호 54에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (iii) 서열 번호 57에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (iv) 서열 번호 61에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (v) 서열 번호 76에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (vi) 서열 번호 79에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (vii) 서열 번호 82에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (viii) 서열 번호 85에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (ix) 서열 번호 88에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (x) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열; 또는
- (d) 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 및
 - (i) 서열 번호 99에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (ii) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (iii) 서열 번호 113에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (iv) 서열 번호 116에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (v) 서열 번호 133에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (vi) 서열 번호 136에 제시된 VH 아미노산 서열; 또는
- (e) 서열 번호 119에 제시된 VL 아미노산 서열, 및
 - (i) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
 - (ii) 서열 번호 116에 제시된 VH 아미노산 서열.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항체 작제물을 암호화하는, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 세트.

청구항 24

제23항에 따른 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 세트를 포함하는, 발현 벡터 또는 발현 벡터 세트.

청구항 25

제24항에 따른 발현 벡터 또는 발현 벡터 세트를 포함하는, 숙주 세포.

청구항 26

하나 이상의 약물 모이어티에 접합된 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항체 작제물을 포함하는, 항체-약물 접합체.

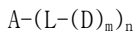
청구항 27

제26항에 있어서, 항체 접합체가 1 내지 약 8개의 약물 모이어티에 접합된, 항체-약물 접합체.

청구항 28

화학식 I을 갖는, 항체-약물 접합체:

[화학식 I]



식 중,

A는 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항체 작제물이고;

L은 링커이고;

D는 약물 모이어티이고;

m은 1 내지 약 8이고,

n은 1 내지 약 12임.

청구항 29

제28항에 있어서, m은 1 또는 2인, 항체-약물 접합체.

청구항 30

제28항 또는 제29항에 있어서, n은 약 2 내지 약 8인, 항체-약물 접합체.

청구항 31

제26항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 약물 모이어티는 메이탄시노이드, 메이탄시노이드 유사체, 벤조디아제핀, 피롤로벤조디아제핀, 듀오카르마이신, 칼리케아미신, 칼리케아미신 유사체, 아우리스타틴, 아우리스타틴 유사체, 헤미아스테를린, 헤미아스테를린 유사체, 튜블리신, 튜블리신 유사체, 아마톡신, 아마톡신 유사체, 캄프토테신, 캄프토테신 유사체, 에리블린, TLR 작용제 또는 STING 작용제인, 항체-약물 접합체.

청구항 32

제26항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 약물 모이어티는 아우리스타틴, 아우리스타틴 유사체, 헤미아스테를린, 헤미아스테를린 유사체, 캄프토테신, 캄프토테신 유사체 또는 에리블린인, 항체-약물 접합체.

청구항 33

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항체 작제물, 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는, 약학 조성물.

청구항 34

제26항 내지 제32항 중 어느 한 항에 따른 항체-약물 접합체, 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는, 약학 조성물.

청구항 35

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 치료법에서 사용하기 위한, 항체 작제물.

청구항 36

제35항에 있어서, 치료법이 암의 치료를 포함하는, 항체 작제물.

청구항 37

제26항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 치료법에서 사용하기 위한, 항체-약물 접합체.

청구항 38

제37항에 있어서, 치료법이 암의 치료를 포함하는, 항체-약물 접합체.

청구항 39

암 치료용 약제의 제조에서 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항체 작제물의 용도.

청구항 40

암 치료용 약제의 제조에서 제26항 내지 제32항 중 어느 한 항에 따른 항체-약물 접합체의 용도.

청구항 41

세포를 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항체 작제물과 접촉시키는 단계를 포함하는, FR α -양성 종양 세포의 성장을 억제하는 방법.

청구항 42

세포를 제26항 내지 제32항 중 어느 한 항에 따른 항체-약물 접합체와 접촉시키는 단계를 포함하는, FR α -양성 종양 세포의 성장을 억제하는 방법.

청구항 43

대상체에 유효량의 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항체 작제물을 투여하는 단계를 포함하는, 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법.

청구항 44

대상체에 유효량의 제26항 내지 제32항 중 어느 한 항에 따른 항체-약물 접합체를 투여하는 단계를 포함하는, 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시는 항체 치료제 분야, 특히 인간 엽산 수용체 알파(hFR α)를 표적화하는 항체에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 엽산 수용체 알파(FR α)는 FOLR1에 의해 암호화된 글리코실-포스파티딜이노시톨(GPI)-고정 세포 표면 단백질이며 FR β (FOLR2), FR γ (FOLR3) 및 FR δ (FOLR4)도 포함하는 고친화도 FR 패밀리에 속한다. FR α 는 난소암, 삼중 음성 유방암(TNBC), 자궁내막암, 중피종 및 폐암을 포함하는 다양한 암에서 과발현되고 비악성 조직에서는 최소 발현되므로, 관련성이 높은 암 치료법 표적으로 확인되었다.

[0003] 항-FR α 항체, 파클레투주맙, 및 FR α -표적화 항체-약물 접합체(ADC), 미르베크시맙 소라브탄신(ImmunoGen, Inc.), MORAb-202(Eisai Inc.) 및 STRO-002(Sutro Biopharma, Inc.)를 포함하여 암 치료에서 FR α 표적화제가

관련되는 몇몇 임상 연구가 현재 진행 중이다.

[0004] 이 배경 정보는 본 출원인이 본 개시과 관련성이 있을 수 있다고 믿는 알려진 정보를 만들기 위한 목적으로 제공된다. 위의 정보 중 어느 것이 청구되는 발명에 대한 선행 기술을 구성한다고 반드시 인정할 의도는 없으며 이렇게 해석되어서도 안 된다.

발명의 내용

[0005] 항-FR α 항체 및 사용 방법이 본원에 기재된다. 본 개시의 한 측면은 인간 엽산 수용체 알파(hFR α)에 특이적으로 결합하는 항원-결합 도메인을 포함하는 항체 작제물에 관한 것이며, 항체 작제물은 서열 번호 15의 아미노산 잔기 E120, D121, R123, T124, S125 및 Y126을 포함하는 hFR α 내의 에피토프에 특이적으로 결합하는 참조 항체와 hFR α 에 대한 결합에 대해 경쟁한다.

[0006] 본 개시의 또 다른 측면은 서열 번호 15의 아미노산 잔기 E120, D121, R123, T124, S125 및 Y126을 포함하는 인간 엽산 수용체 알파(hFR α) 내의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체 작제물에 관한 것이다.

[0007] 본 개시의 또 다른 측면은 인간 엽산 수용체 알파(hFR α)에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체 작제물에 관한 것이며, 항원 결합 도메인은 서열 번호 3, 4 및 5에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 CDR 아미노산 서열(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3), 및 서열 번호 6, 7 및 8에 제시된 서열을 포함하는 경쇄 CDR 아미노산 서열(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다.

[0008] 본 개시의 또 다른 측면은 IgG Fc 영역에 작동 가능하게 연결된 2개의 항원 결합 도메인을 포함하는 항체 작제물에 관한 것이며, 각 항원 결합 도메인은 인간 엽산 수용체 알파(hFR α)에 특이적으로 결합하고 다음을 포함한다:

[0009] (a) 서열 번호 39에 제시된 VL 아미노산 서열, 및 서열 번호 19에 제시된 VH 아미노산 서열; 또는

[0010] (b) 서열 번호 124에 제시된 VL 아미노산 서열, 및 서열 번호 91에 제시된 VH 아미노산 서열; 또는

[0011] (c) 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 및

[0012] (i) 서열 번호 50에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0013] (ii) 서열 번호 54에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0014] (iii) 서열 번호 57에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0015] (iv) 서열 번호 61에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0016] (v) 서열 번호 76에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0017] (vi) 서열 번호 79에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0018] (vii) 서열 번호 82에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0019] (viii) 서열 번호 85에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0020] (ix) 서열 번호 88에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0021] (x) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열; 또는

[0022] (d) 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 및

[0023] (i) 서열 번호 99에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0024] (ii) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0025] (iii) 서열 번호 113에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0026] (iv) 서열 번호 116에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0027] (v) 서열 번호 133에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0028] (vi) 서열 번호 136에 제시된 VH 아미노산 서열; 또는

- [0029] (e) 서열 번호 119에 제시된 VL 아미노산 서열, 및
- [0030] (i) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는
- [0031] (ii) 서열 번호 116에 제시된 VH 아미노산 서열.
- [0032] 본 개시의 또 다른 측면은 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 세트에 관한 것이다.
- [0033] 본 개시의 또 다른 측면은 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 세트를 포함하는 발현 벡터 또는 발현 벡터 세트에 관한 것이다. 본 개시의 또 다른 측면은 발현 벡터 또는 발현 벡터 세트를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0034] 본 개시의 또 다른 측면은 하나 이상의 약물 모이어티에 접합된 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물을 포함하는 항체-약물 접합체에 관한 것이다.
- [0035] 본 개시의 또 다른 측면은 화학식 I을 갖는 항체-약물 접합체에 관한 것이다:
- [0036] [화학식 I]
- [0037] $A-(L-(D)_m)_n$
- [0038] 식 중,
- [0039] A는 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물이고;
- [0040] L은 링커이고;
- [0041] D는 약물 모이어티이고;
- [0042] m은 1 내지 약 8이고,
- [0043] n은 1 내지 약 12이다.
- [0044] 본 개시의 또 다른 측면은 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물, 또는 본원에 기재된 바와 같은 항체-약물 접합체 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0045] 본 개시의 또 다른 측면은 치료법에서, 예를 들어 암의 치료에서 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물 또는 본원에 기재된 바와 같은 항체-약물 접합체에 관한 것이다.
- [0046] 본 개시의 또 다른 측면은 암 치료용 약제의 제조에서 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물 또는 본원에 기재된 바와 같은 항체-약물 접합체의 용도에 관한 것이다.
- [0047] 본 개시의 또 다른 측면은 세포를 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물 또는 본원에 기재된 바와 같은 항체-약물 접합체와 접촉시키는 단계를 포함하는, FR α 양성 종양 세포의 성장을 억제하는 방법에 관한 것이다.
- [0048] 본 개시의 또 다른 측면은 대상체에 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물 또는 본원에 기재된 바와 같은 항체-약물 접합체를 투여하는 단계를 포함하는, 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0049] **도 1a**는 인간 VH 프레임워크(IGHV3-23*01) 상으로 포팅된 키메라 항체 v23924의 토끼 중쇄 가변 도메인 CDR의 서열(서열 번호 155)을 나타내며, **도 1b**는 인간 VL 프레임워크(IGKV1-39*01)에 포팅된 키메라 항체 v23924의 토끼 경쇄 가변 도메인 CDR의 서열(서열 번호 156)을 나타낸다. CDR에는 AbM 정의가 배정되었으며 진한 이탤릭체로 표시된다.
- 도 2a-d**는 전기영동 및 UPLC-SEC로 분석된 정제된 모체 키메라 변이체 v23924 및 정제된 대표적 인간화 변이체 v30384의 프로파일을 나타낸다. **도 2a** 및 **c**는 모체 키메라 변이체 v23924(**2a**) 및 정제된 대표적 인간화 변이체 v30384(**2c**)의 분취용 SEC 정제 후(분취용-SEC 후) 또는 단백질 A 정제 후(pA 후) 후 비환원(NR) 및 환원(R) 조건 하의 전기영동으로부터의 프로파일을 나타내며, **도 2b** 및 **d**는 분취용 SEC 정제 후 모체 키메라 변이체

v23924(2b) 및 단백질 A 정제 후 정제된 대표적 인간화 변이체 v30384(2d)의 UPLC-SEC 프로파일을 나타낸다.

도 3a 및 b는 모체 키메라 변이체 v23924(3a) 및 정제된 대표적 인간화 변이체 v30384(3b)의 생물층 간섭계 (BLI) 센서그램을 도시한다.

도 4a-d는 대표적 인간화 변이체 v30384(4a, 4b는 주요 피크의 확대도) 및 v31422(4c, 4d는 주요 피크의 확대도)에 대한 온전한 LC/MS 프로파일을 도시한다.

도 5a 및 b는 6시간 인큐베이션(5a) 및 24시간 인큐베이션(5b) 후 유세포 측정으로 결정된, FR α 발현 세포주 IGROV-1에서 다양한 농도의 키메라 항체 v23924, 대표적 인간화 변이체 v30384, 그리고 FR α 표적화 항체 미르베톡시맵 및 파르레투주맵의 수용체-매개 내재화 능력을 나타낸다. 항-RSV 항체 팔리비주맵이 음성 대조군으로 포함되었다.

도 6a 및 b는 6시간 인큐베이션(6a) 및 24시간 인큐베이션(6b) 후 유세포 측정으로 결정된, FR α 발현 세포주 OVCAR-3에서 다양한 농도의 키메라 항체 v23924, 대표적 인간화 변이체 v30384, 그리고 FR α 표적화 항체 미르베톡시맵 및 파르레투주맵의 수용체 매개 내재화 능력을 나타낸다. 항-RSV 항체 팔리비주맵이 음성 대조군으로 포함되었다.

도 7은 hFR α 의 펩신 소화에 의해 생성된 펩티드에 의한 hFR α 서열(서열 번호 15)의 적용범위를 나타낸다. 서열 아래의 각 막대는 펩티드를 나타낸다.

도 8a 및 b는 hFR α :hFOLR1(hFR α) 대 hFOLR1-v23924 복합체의 펩신 소화에 의해 생성된 펩티드의 수소/중수소 교환 질량 분광측정(HDX-MS) 동력학의 요약 그래프(8a) 및 차등 그래프(8b)를 나타낸다.

도 9a-c는 1시간 동안: hFOLR1(9a) 대 hFOLR1-v23924 복합체(9b) 수소/중수소 교환 질량 분광측정(HDX-MS) 후 펩티드 119-126(WEDCRYSY)(서열 번호 152)의 아마이드 중수소화 수준 및 차등 그래프(9c)를 나타낸다.

도 10a 및 b는 5시간 및 24시간 인큐베이션 기간 후 유세포 측정으로 결정된, FR α 발현 세포주 IGROV-1(10a) 및 JEG-3(10b)에서 모체 인간화 변이체 v30384 및 대표적 친화도 성숙 변이체 v35356의 수용체-매개 내재화 능력을 나타낸다. 팔리비주맵이 비표적 대조군으로 포함되었다.

도 11a-d는 질량 분광측정으로 평가된 세포주 JEG-3(11a), Caov-3(11b), H2110(11c) 및 HEC-1-A(11d)에서 대표적 ADC의 세포내 페이로드 전달 능력을 나타낸다. ADC는 각각 약물-링커 DL1에 접합된 인간화 항체 변이체 v30384 및 친화도 성숙 변이체 v35356이었다.

도 12a-h는 생체내 이중이식편 모델: CTG-0848 PDX(12a), OV90 CDX(12b), OVCAR-3 CDX(12c), LXFA737 PDX(12d), JEG3 CDX(12e), HCC1954 CDX(12f), SKOV3 CDX(12g) 및 KB CDX(12h)에서 평가된 약물-링커 DL1 또는 DL7에 접합된 키메라 항-FR α 항체 v23924의 항종양 활성을 나타낸다. 대조군 ADC는 약물-링커 DL1 또는 DL6에 접합된 v17717(HetFc를 포함하는 미르베톡시맵 Fab)이었다.

도 13은 중/고수준 FR α 발현 OVCAR3 난소암 모델에서 4 mg/kg 또는 9 mg/kg으로 투여된, 각각 약물-링커 DL1에 접합된 키메라 항체 v23924 또는 인간화 변이체 v30384 또는 v30399를 포함하는 ADC의 생체내 항종양 활성을 나타낸다.

도 14a-e는 이중이식편 모델: H2110 CDX(14a), SKOV3 CDX(14b 및 14c), IGROV-1 CDX(14d) 및 LXFA737 PDX(14e)에서 평가된 바와 같은, 나타낸 투여량으로 투여된, 약물-링커 DL1 또는 DL8에 접합된 인간화 변이체 v30384를 포함하는 ADC의 생체내 항종양 활성을 나타낸다. 대조군 ADC는 약물-링커 DL6에 접합된 v17717(HetFc를 포함하는 미르베톡시맵 Fab); 약물 링커 DL6에 접합된 v17716(homoFc를 포함하는 미르베톡시맵 Fab), 및 H2110 CDX의 경우, 약물 링커 DL4에 접합된 v31629(파르레투주맵)였다.

도 15a-d는 이중이식편 모델: OV90(15a), H2110(15b) 및 OVCAR-3(15c 및 15d)에서, 나타낸 투여량으로 투여된, 약물-링커 DL5에 접합된 인간화 변이체 v30384를 포함하는 ADC의 생체내 항종양 활성을 나타낸다.

도 16a-h는 다양한 항-FR α 항체: OV90 모델(16a), OVCAR-3 모델(16b), LXFA737 모델(16c), JEG3 모델(16d) 또는 SKOV-3 모델(16e)에서 약물-링커 DL1에 접합된 키메라 항-FR α 항체 v23924; H2110 모델(16f)에서 약물-링커 DL1에 접합된 인간화 변이체 v30384, 그리고 OV90 모델(16g) 또는 H2110 모델(16h)에서 약물-링커 DL5에 접합된 인간화 변이체 v30384를 포함하는 ADC로 처리된 동물로부터 채취된 혈청에서 시간 경과에 따른 혈청 IgG 또는 ADC의 농도를 표시하는 약동학적 분석 결과를 나타낸다.

도 17는 IMGT, Chothia, Kabat, 접촉 및 AbM 정의에 의해 정의된 바와 같은 대표적 항-FR α 항체의 CDR 서열을 나타내는 표를 제시한다.

도 18은 대표적 항-FR α 항체의 VH 및 VL 서열을 나타내는 표를 제시한다.

도 19는 세포주: KB-HeLa(19a), IGROV-1(19b), JEG-3(19c), SKOV-3(19d) 및 MDA-MB-468(19e)에서 약물-링커 DL1에 접합된 인간화 항체 v30384를 포함하는 ADC 및 약물-링커 DL1에 접합된 친화도 성숙 변이체 v35356을 포함하는 ADC의 세포 성장 억제(세포독성) 능력을 나타낸다.

도 20a-d는 4시간(20a), 24시간(20b), 48시간(20c) 및 96시간(20d)째에, 미르베톡시맵 및 음성 대조군 팔리비주맵과 비교하여 JEG-3 세포 구형체에서 항-FR α 인간화 항체 변이체 v36675의 침투를 나타낸다.

도 21a 및 b는 20 μ g/mL의 항-FR α 인간화 항체 변이체 v36675(21a) 및 1 μ g/mL의 대조군 항체(리톡시맵 바이오시밀러)(21b)에 대해 Retrogenix 세포 마이크로어레이 기술을 사용하는 특이적 표적-외 결합 상호작용에 대한 스크리닝으로부터의 고정된 세포 확인 스크리닝 이미지를 나타낸다.

도 22는 H2110 세포에서 평가된 키메라 항-FR α 항체 v23294와 항-FR α 항체 미르베톡시맵 및 파르레투주맵 간 경쟁 결합을 나타낸다.

도 23은 5시간 인큐베이션 기간 후 유세포 측정으로 결정된 FR α 발현 세포주 IGROV-1에서의 이중파라토프 항-FR α 항체 B5327A(v36264) 및 항-FR α 항체 미르베톡시맵(v17716)과 비교하여 인간화 변이체 v30384의 수용체 매개 내재화 능력을 나타낸다.

도 24는 96시간째에 이중파라토프 항-FR α 항체 B5327A(v36264) 및 항-FR α 항체 미르베톡시맵(v17716)과 비교하여 JEG-3 세포 구형체에서의 항-FR α 인간화 항체 변이체 v36675의 침투를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0050] 본 개시는 인간 엽산 수용체 알파(FR α ; 본원에서 FOLR1로도 지칭됨)에 결합하지만 엽산 수용체 베타(FOLR2), 감마(FOLR3) 또는 델타(FOLR4)에 대해 상당한 결합을 나타내지 않는 항체 작제물에 관한 것이다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 또한 시노몰구스 원숭이 FR α 에 결합할 수 있다.

[0051] 본 개시는 또한 세포독소 또는 면역 조절제와 같은 약물에 접합된 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물을 포함하는 항체-약물 접합체(ADC)에 관한 것이다. 본 개시의 항-FR α 항체 작제물 및 ADC는, 예를 들어 치료제 또는 진단제로서의 용도를 찾을 수 있다. 본 개시의 특정 측면은, 예를 들어 암의 치료에서 항-FR α 항체 작제물 및 ADC의 치료 방법 및 용도에 관한 것이다. 일부 측면은, 예를 들어 암의 진단 또는 분석에서, 항-FR α 항체 작제물 및 ADC의 진단 방법 및 용도에 관한 것이다.

[0052] 정의

[0053] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 당업자에게 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0054] 본원에 사용된 용어 "약"은 주어진 값으로부터 대략 +/-10%의 변이를 지칭한다. 이러한 변이는 구체적으로 언급되는지 여부에 관계없이 본원에 제공된 임의의 주어진 값에 항상 포함됨이 이해되어야 한다.

[0055] 본원에서 용어 "포함하는"과 함께 단어 하나("a" 또는 "an")의 사용은 "하나"를 의미할 수 있지만, "하나 이상", "적어도 하나" 및 "하나 또는 하나 초과"의 의미와도 일치한다.

[0056] 본원에 사용된 용어 "포함하는(comprising)", "갖는", "포함하는(including)" 및 "함유하는" 및 이의 문법적 변이는 포괄적이거나 개방적이며 추가적인, 인용되지 않은 요소 및/또는 방법 단계를 배제하지 않는다. 조성물, 용도 또는 방법과 관련하여 본원에 사용될 때 용어 "본질적으로 구성되는"은 추가 요소 및/또는 방법 단계가 존재할 수 있지만 이러한 추가가 언급된 조성물, 방법 또는 사용이 기능하는 방식에 실질적으로 영향을 미치지 않음을 표시한다. 조성물, 용도 또는 방법과 관련하여 본원에 사용될 때 용어 "구성되는"은 추가적인 요소 및/또는 방법 단계의 존재를 배제한다. 특정 요소 및/또는 단계를 포함하는 것으로 본원에 기재된 조성물, 용도 또는 방법은 또한 특정 구현예에서는 본질적으로 이러한 요소 및/또는 단계로 구성될 수 있고, 다른 구현예에서는 이러한 구현예가 구체적으로 언급되는지 여부와 관계없이 이러한 요소 및/또는 단계로 구성될 수 있다.

[0057] "상보성 결합 영역" 또는 "CDR"은 항원 결합 특이성 및 친화도에 기여하는 아미노산 서열이다. "프레임워크" 영역(FR)은 항원 결합 영역과 항원 간 결합을 촉진하기 위해 CDR의 적절한 입체형태를 유지하는 데 도움을 줄 수

있다. N-말단에서 C-말단까지, 항체의 경쇄 가변 영역(VL)과 중쇄 가변 영역(VH)은 둘 모두 전형적으로 도메인 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함한다. 3개의 중쇄 CDR은 본원에서 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3으로 지칭되고, 3개의 경쇄 CDR은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3으로 지칭된다. CDR은 항원 또는 에피토프에 대한 항체의 결합을 위한 대부분의 접촉 잔기를 제공한다. 종종 항원과 결합하려면 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR이 요구된다. 그러나 일부 경우에는, 단일 가변 도메인이라도 항원에 결합 특이성을 부여할 수 있다. 또한, 당분야에 알려진 바와 같이, 일부 경우에 항원 결합은 VH 및/또는 VL 도메인으로부터 선택된 최소 하나 이상의 CDR, 예를 들어 HCDR3의 조합을 통해 발생할 수도 있다.

[0058] Kabat 등(1983, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, NIH Publication No. 369-847, Bethesda, MD), Chothia 등(1987, *J Mol Biol*, 196:901-917)에 의해 기재된 정의뿐만 아니라 IMGT, AbM(University of Bath) 및 접촉(MacCallum, *et al.*, 1996, *J Mol Biol*, 262(5):732-745) 정의를 포함하는 CDR 서열의 여러 상이한 정의가 일반적으로 사용된다. 예로서, Kabat, Chothia, IMGT, AbM 및 접촉에 따른 CDR 정의를 아래 표 1에 제공한다. 따라서, 당업자에게 쉽게 명백할 바와 같이, CDR의 정확한 넘버링 및 배치는 사용되는 넘버링 시스템에 따라 상이할 수 있다. 그러나, VH의 본원의 개시는 임의의 알려진 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같은 연관된(고유한) 중쇄 CDR(HCDR)의 개시를 포함함이 이해되어야 한다. 유사하게, VL의 본원의 개시는 임의의 알려진 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같은 연관된(고유한) 경쇄 CDR(LCDR)의 개시를 포함한다.

[0059] [표 1]

일반적인 CDR 정의¹

정의	중쇄			경쇄		
	CDR1 ²	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
Kabat	H31-H35B	H50-H65	H95-H102	L24-L34	L50-L56	L89-L97
Chothia	H26-H32, H33 또는 H34	H52-H56	H95-H102	L24-L34	L50-L56	L89-L97
IMGT	H26-H33, H34, H35, H35A 또는 H35B	H51-H57	H93-H102	L27-L32	L50-L52	L89-L97
AbM	H26-H35B	H50-H58	H95-H102	L24-L34	L50-L56	L89-L97
접촉	H30-H35B	H47-H58	H93-H101	L30-L36	L46-L55	L89-L96

¹ Chothia 넘버링을 사용하는 접촉 정의를 제외한 모든 정의에 있어서, Kabat 또는 Chothia 넘버링 시스템이 HCDR2, HCDR3 및 경쇄 CDR에 대해 사용될 수 있다.

² Kabat 넘버링을 사용할 때, Kabat은 위치 35A 및 35B에서 해당 CDR 정의 외부에 삽입을 배치하기 때문에, Chothia 및 IMGT CDR-H1 루프의 말단을 구분하는 Kabat 넘버링 방식의 위치는 루프의 길이에 따라 달라진다. 그러나 IMGT 및 Chothia CDR-H1 루프는 Chothia 넘버링을 사용하여 명확하게 정의될 수 있다. Chothia 넘버링을 사용한 CDR-H1 정의: Kabat H31-H35, Chothia H26-H32, AbM H26-H35, IMGT H26-H33, 접촉 H30-H35.

[0060]

[0061] 2개 이상의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열과 관련하여 용어 "동일한"은 동일한 2개 이상의 서열 또는 하위서열을 지칭한다. 서열은 당업자에게 알려진 일반적으로 사용되는 서열 비교 알고리즘 중 하나를 사용하거나 수동 정렬 및 육안 검사에 의해 측정된 비교 창 또는 지정된 영역에 걸쳐 최대 일치치를 위해 비교 및 정렬될 때, 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드의 백분율(예를 들어 특정된 영역에 걸쳐 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95% 또는 약 98% 동일성)을 갖는 경우 "실질적으로 동일"하다. 서열 비교의 경우 전형적으로 시험 서열은 지정된 참조 서열과 비교된다. 서열 비교 알고리즘을 사용할 때, 시험 및 참조 서열은 컴퓨터에 입력되고, 필요한 경우 하위서열 좌표가 지정되고, 서열 알고리즘 프로그램 매개변수가 지정된다. 기본 프로그램 매개변수가 사용되거나 대안적 매개변수가 지정될 수 있다. 그런 다음 서열 비교 알고리즘으로 프로그램 매개변수에 기반하여, 참조 서열 대비 시험 서열의 서열 동일성%를 계산한다.

- [0062] "비교 창"은 예를 들어 두 서열이 최적으로 정렬된 후 시험 서열이 동일한 수의 연속 위치의 참조 서열과 비교될 수 있는 약 10 내지 600개의 연속 아미노산 또는 뉴클레오티드 위치, 또는 약 10 내지 약 200개, 또는 약 10 내지 약 150개의 연속 아미노산 또는 뉴클레오티드 위치일 수 있는, 연속 아미노산 또는 뉴클레오티드 위치를 포함하는 서열 절편을 지칭한다. 비교를 위한 서열 정렬 방법은 당업자에게 알려져 있다. 비교를 위한 서열의 최적 정렬은 예를 들어 문헌(Smith & Waterman, 1970, *Adv. Appl. Math.*, 2:482c)의 국소 상동성 정렬 알고리즘, 문헌(Needleman & Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.*, 48:443)의 상동성 정렬 알고리즘, 문헌(Pearson & Lipman, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85:2444)의 유사성 검색 방법, 또는 이러한 알고리즘의 컴퓨터화된 구현(예를 들어, Wisconsin Genetics Software Package(Genetics Computer Group, Madison, WI)의 GAP, BESTFIT, FASTA 또는 TFASTA) 또는 수동 정렬 및 육안 검사(예를 들어, Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, (1995 supplement), Cold Spring Harbor Laboratory Press 참고)에 의해 수행될 수 있다. 서열 동일성%를 결정하는 데 적합한 이용 가능한 알고리즘의 예는 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이며, 각각 문헌(Altschul *et al.*, 1997, *Nuc. Acids Res.*, 25:3389-3402, 및 Altschul *et al.*, 1990, *J. Mol. Biol.*, 215:403-410)에 기재되어 있다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 미국 국립 생명공학 정보 센터(NCBI) 웹사이트를 통해 공개적으로 이용 가능하다.
- [0063] 본원에 사용된 용어 "대상체"는 치료, 관찰 또는 실험의 대상인 동물, 일부 구현예에서는 포유동물을 지칭한다. 동물은 인간, 비인간 영장류, 반려 동물(예를 들어, 개, 고양이 등), 농장 동물(예를 들어, 소, 양, 돼지, 말 등) 또는 실험실 동물(예를 들어, 래트, 마우스, 기니피그, 비인간 영장류 등)일 수 있다. 특정 구현예에서, 대상체는 인간이다.
- [0064] 본원에 논의된 임의의 구현예는 본원에 개시된 임의의 방법, 용도 또는 조성물과 관련하여 구현될 수 있고, 그 반대도 가능성이 고려된다.
- [0065] 본원에 개시된 구현예와 관련하여 기재된 특정 특징, 구조 및/또는 특성은 하나 이상의 추가 구현예를 제공하기 위해 임의의 적합한 방식으로 본원에 개시된 또 다른 구현예와 관련하여 기재된 특징, 구조 및/또는 특성과 조합될 수 있다.
- [0066] 또한, 한 구현예에서 특징의 긍정적인 인용이 대안적 구현예에서는 특징을 배제하기 위한 기초로 작용함이 이해되어야 한다. 예를 들어, 주어진 구현예 또는 청구항에 대해 옵션 목록이 제시되는 경우, 하나 이상의 옵션이 목록에서 삭제될 수 있고 단축된 목록은 이러한 대안적 구현예가 구체적으로 언급되는지 여부에 관계없이 대안적 구현예를 형성할 수 있음이 이해되어야 한다.
- [0067] **항-FR α 항체 작제물**
- [0068] 본 개시는 인간 FR α (hFR α)에 특이적으로 결합하는 항체 작제물에 관한 것이다. 이러한 맥락에서, 용어 "항체 작제물"은 하나 이상의 항원 결합 도메인을 포함하는 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 세트르를 지칭하며, 하나 이상의 항원 결합 도메인은 각각 에피토프 또는 항원에 특이적으로 결합한다. 항체 작제물이 2개 이상의 항원 결합 도메인을 포함하는 경우, 각 항원 결합 도메인은 동일한 에피토프 또는 항원에 결합할 수 있거나(즉, 항체 작제물은 단일특이적임) 상이한 에피토프 또는 항원에 결합할 수 있다(즉, 항체 작제물은 이중특이적 또는 다중특이적임). 항체 작제물은 스캐폴드를 추가로 포함할 수 있고, 하나 이상의 항원-결합 도메인은 본원에 기재된 바와 같이, 임의로 링커를 통해, 스캐폴드에 융합되거나 공유 부착될 수 있다.
- [0069] 본 개시에 따르면, 항-FR α 항체 작제물은 hFR α 에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 도메인을 포함한다. hFR α 에 "특이적으로 결합한다"란 항체 작제물이 hFR α 에 결합하지만 인간 염산 수용체 베타(FOLR2), 감마(FOLR3) 또는 델타(FOLR4) 중 어느 것보다 상당한 결합을 나타내지 않음을 의미한다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 하나 이상의 비인간 종으로부터의 FR α 에 결합할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 시노몰구스 원숭이 FR α 에 결합할 수 있다.
- [0070] 인간 FR α 는 "인간 염산 수용체 1" 또는 "FOLR1"로도 알려져 있다. 다양한 원천으로부터의 hFR α 의 단백질 서열이 당분야에 알려져 있으며 GenBank 또는 UniProtKB와 같은 공개적으로 접근 가능한 데이터베이스로부터 쉽게 이용 가능하다. hFR α 서열의 예는 예를 들어 NCBI 참조 번호 P15328, AAX29268.1, AAX37119.1, NP_057937.1 및 NP_057936.1 하에 제공된 서열을 포함한다. 예시적인 hFR α 단백질 서열은 표 2에 서열 번호 1(NCBI 참조 서열: NP_057936.1)로 제공된다. 예시적인 시노몰구스 원숭이 FR α 단백질 서열을 또한 표 2에 제공한다(서열 번호 2; NCBI 참조 서열: XP_005579002.2).

[0071] [표 2]

인간 및 시노물구스 원숭이 FR α 단백질 서열

유기체	서열	서열 번호
인간	MAQRMTTQLLLLLVWVAVVGEAQTRIAWARTELLNVCMNAKHHKEKPGPEDKLHE QCRPWWRKNACCSTNTSQEAHKDVSYLRFNWNHCGEMAPACKRHF IQDTCLYECS PNLGPWIQQVDQSWRKERVLNVPLCKEDCEQWEDCRTSYTCKSNWHKGNWNTSG FNKCAVGAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTHSYKVSNSYRSGRGIQWFDPAQGN PNEEVARFYAAAMSGAGPWAAWPFLSLALMLLWLLS	1
시노물구스 원숭이	MAQRMTTQLLLLLVWVAVVGEAQTRTRARTELLNVCMNAKHHKEKPGPEDKLHE QCRPWKKNACCSTNTSQEAHKDVSYLRFNWNHCGEMAPACKRHF IQDTCLYECS PNLGPWIQQVDQSWRKERVLNVPLCKEDCEQWEDCRTSYTCKSNWHKGNWNTSG FNKCPVGAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTHSYKVSNSYRSGRGIQWFDPAQGN PNEEVARFYAAAMSGAGPWAAWPFLSLALTLWLLS	2

[0072]

[0073]

표적 항원 또는 에피토프에 대한 항원 결합 도메인의 특이적 결합은, 예를 들어 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA), 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 기술(예를 들어 BIAcore 기기 사용)(Liljeblad *et al.*, 2000, *Glyco J.*, 17:323-329), 유세포 측정 또는 전통적인 결합 검정(Heeley, 2002, *Endocr Res.*, 28:217-229)을 통해 측정될 수 있다. 특정 구현예에서, 특이적 결합은, 예를 들어 ELISA 또는 유세포 측정으로 측정되어 hFR α 에 대한 결합의 약 10% 미만인 비표적 단백질(예컨대 FOLR2, FOLR3 또는 FOLR4)에 대한 결합 정도로서 정의될 수 있다. 특정 구현예에서, FR α 에 대한 항체 작제물의 특이적 결합은 $\leq 1 \mu\text{M}$, 예를 들어 $\leq 500 \text{ nM}$, $\leq 250 \text{ nM}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, 또는 $\leq 10 \text{ nM}$ 의 해리 상수(K_D)에 의해 정의될 수 있다. 특정 구현예에서, 특정 항원 또는 에피토프에 대한 항체 작제물의 특이적 결합은 10^{-6} M 이하, 예를 들어 10^{-7} M 이하, 또는 10^{-8} M 이하의 해리 상수(K_D)에 의해 정의될 수 있다. 일부 구현예에서, 특정 항원 또는 에피토프에 대한 항체 작제물의 특이적 결합은 10^{-6} M 내지 10^{-9} M , 예를 들어 10^{-7} M 내지 10^{-9} M 의 해리 상수(K_D)에 의해 정의될 수 있다.

[0074]

특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 참조 항체 미르베크시맵(huMov19 또는 huFR107) 및 파를레 투주맵(MORAb-003)보다 FR α -발현 세포로의 더 높은 내재화를 나타낸다.

[0075]

항체 내재화는 당분야에 알려진 방법, 예를 들어 문헌(Schmidt, M. *et al.*, 2008, *Cancer Immunol. Immunother.*, 57:1879-1890)에 상세히 나타낸 프로토콜에 따른 직접적 내재화 방법에 의해, 또는 pHAb 염료 (Promega Corporation, Madison, WI), pHrodo iFL 및 Deep Red 염료(ThermoFisher Scientific Corporation, Waltham, MA)와 같은 시판되는 형광 염료 및 Incucyte® Fabflur-pH 항체 표지 시약(Sartorius AG, Göttingen, Germany) 및 현미경검사, FACS, 하이 컨텐츠 이미징 또는 다른 플레이트 기반 분석과 같은 분석 기술을 사용하여 측정될 수 있다.

[0076]

특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 FR α -발현 세포로 내재화된 항-FR α 항체 작제물의 양이 동일한 시험 조건 하에 동일한 FR α 발현 세포로 내재화된 참조 항체의 양보다 적어도 1.2배 더 클 때, 해당 참조 항체(미르 베크시맵 또는 파를레투주맵)보다 FR α -발현 세포로 더 높은 내재화를 실증하는 것으로 간주된다. 특정 구현예에서, 내재화된 항체의 양은 적절한 형광 염료 및 하이 컨텐츠 이미징을 사용하여 결정된다. 일부 구현예에서, 내재화된 항체의 양은 FR α 를 높은 수준으로 발현하는 세포에서 결정된다. 일부 구현예에서, 내재화된 항체의 양은 IGROV-1 세포 또는 IGROV-1 세포와 유사한 수준으로 FR α 를 발현하는 세포에서 결정된다. 일부 구현예에서, 내재화된 항체의 양은 6시간의 인큐베이션 기간 후에 결정된다. 일부 구현예에서, 내재화된 항체의 양은 24시간의 인큐베이션 기간 후에 결정된다.

[0077]

특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 FR α -발현 세포로 내재화된 항-FR α 항체 작제물의 양이 동일한 시험 조건 하에 동일한 FR α 발현 세포로 내재화된 참조 항체의 양보다 적어도 1.3배 더 크거나, 적어도 1.4배 더 크거나, 적어도 1.5배 더 크거나, 1.6배 더 크거나, 1.7배 더 크거나, 1.8배 더 크거나, 1.9배 더 크거나, 2.0배 더 클 때, 해당 참조 항체(미르베크시맵 또는 파를레투주맵)보다 FR α -발현 세포로 더 높은 내재화를 실증하는 것으로 간주된다. 특정 구현예에서, 내재화된 항체의 양은 적절한 형광 염료 및 하이 컨텐츠 이미징을 사용하여 결정된다. 일부 구현예에서, 내재화된 항체의 양은 FR α 를 높은 수준으로 발현하는 세포에서 결정된다. 일부 구

현예에서, 내재화된 항체의 양은 IGROV-1 세포 또는 IGROV-1 세포와 유사한 수준으로 FR α 를 발현하는 세포에서 결정된다. 일부 구현예에서, 내재화된 항체의 양은 6시간의 인큐베이션 기간 후에 결정된다. 일부 구현예에서, 내재화된 항체의 양은 24시간의 인큐베이션 기간 후에 결정된다.

[0078] **항원 결합 도메인**

[0079] 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 hFR α 에 결합할 수 있는 적어도 하나의 항원-결합 도메인을 포함한다. hFR α 에 결합할 수 있는 적어도 하나의 항원 결합 도메인은 전형적으로 항원 결합 항체 단편과 같은 면역글로불린 기반 결합 도메인이다. 항원 결합 항체 단편의 예는 Fab 단편, Fab' 단편, 단일 사슬 Fab(scFab), 단일 사슬 Fv(scFv) 및 단일 도메인 항체(sdAb)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0080] "Fab 단편"은 경쇄 및 중쇄의 가변 도메인(각각 VL 및 VH)과 함께 경쇄의 불변 도메인(CL) 및 중쇄의 제1 불변 도메인(CH1)을 함유한다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터의 하나 이상의 시스테인을 포함하여, 중쇄 CH1 도메인의 C-말단에 소수의 아미노산 잔기를 부가한다는 점에서 Fab 단편과 상이하다. Fab 단편은 또한 단일 사슬 Fab 분자, 즉 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄가 펩티드 링커에 의해 연결되어 단일 펩티드 사슬을 형성하는 Fab 분자일 수 있다. 예를 들어, 단일쇄 Fab 분자에서 Fab 경쇄의 C-말단은 Fab 중쇄의 N-말단에 연결될 수 있다.

[0081] "scFv"는 단일 폴리펩티드 사슬에 항체의 중쇄 가변 도메인(VH) 및 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. scFv는 임의로 scFv가 항원 결합을 위해 원하는 구조를 형성할 수 있도록 하는 VH와 VL 도메인 간 폴리펩티드 링커를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, scFv는 폴리펩티드 링커에 의해 그 C-말단에서 VH의 N-말단으로 연결된 VL을 포함할 수 있다. 대안적으로, scFv는 폴리펩티드 링커에 의해 그 C-말단을 통해 VL의 N-말단에 연결된 VH를 포함할 수 있다(Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)의 리뷰 참고).

[0082] "sdAb" 형식은 단일 면역글로불린 도메인을 지칭한다. sdAb는 예를 들어 낙타류 기원일 수 있다. 낙타류 항체에는 경쇄가 없으며 이의 항원 결합 부위는 "VHH"라고 불리는 단일 도메인으로 구성된다. sdAb는 항원 결합 부위를 형성하는 3개의 CDR/초가변 루프: CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. sdAb는 상당히 안정하고 예를 들어 항체의 Fc 사슬과의 융합물로 발현하기 쉽다(예를 들어 Harmsen & De Haard, 2007, *Appl. Microbiol Biotechnol.*, 77(1):13-22 참고).

[0083] 항-FR α 항체 작제물이 2개 이상의 항원 결합 도메인을 포함하는 구현예에서, 각각의 추가적인 항원 결합 도메인은 독립적으로 항원 결합 항체 단편과 같은 면역글로불린 기반 도메인 또는 비면역글로불린 기반 항체 모방체, 또는 그 표적, 예를 들어 천연 또는 조작된 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 다른 폴리펩티드 또는 소분자와 같은 비면역글로불린 기반 도메인일 수 있다. 비면역글로불린 기반 항체 모방체 형식은, 예를 들어 안티칼린, 파이노머, 아피머, 알파바디, DARPin 및 아비머를 포함한다.

[0084] 본 개시는 hFR α 에 특이적으로 결합하는 항체(변이체 v23924)뿐만 아니라 이 항체의 대표적 인간화 버전(변이체 v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425 및 v31426) 및 이 항체의 대표적 친화도 성숙 버전(변이체 v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 및 v36675)(실시예 및 서열 표 참고)의 확인을 본원에 기재한다. 도 7에 나타낸 hFR α 서열(서열 번호 15)을 사용하는 에피토프 매핑으로 변이체 v23924에 의해 결합된 hFR α 단백질 내의 에피토프가 서열 번호 15의 아미노산 잔기 E120, D121, R123, T124, S125 및 Y126을 포함함을 결정하였다(실시예 13 참고).

[0085] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물에 포함된 hFR α 에 결합하는 적어도 하나의 항원-결합 도메인은 서열 번호 15의 아미노산 잔기 E120, D121, R123, T124, S125 및 Y126을 포함하는 hFR α 단백질 내의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물에 의해 결합된 hFR α 에피토프는 서열 번호 15의 아미노산 잔기 E120, D121, R123, T124, S125 및 Y126을 포함하는 비선형(또는 불연속) 에피토프이다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 hFR α 에 대한 결합에 대해 아미노산 잔기 E120, D121, R123, T124, S125 및 Y126을 포함하는 hFR α 단백질 내의 에피토프에 결합하는 항체와 경쟁하는 항원-결합 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 hFR α 에 대한 결합에 대해 본원에 기재된 항체 v23924와 경쟁하는 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0086] 당분야에 알려진 경쟁 검정을 사용하여 항체 작제물이 hFR α 에 대한 결합에 대해 아미노산 잔기 E120, D121, R123, T124, S125 및 Y126을 포함하는 hFR α 단백질 내의 에피토프에 결합하는 항체 또는 항체 v23924와 경쟁하는지 여부를 결정할 수 있다. 예를 들어, 아미노산 잔기 E120, D121, R123, T124, S125 및 Y126을 포함하는 hFR α 단백질 내의 에피토프에 결합하는 항체 또는 항체 v23924(참조 항체)가 먼저 포화 조건 하에 hFR α 에 결

합하도록 허용된 후 hFRa에 결합하는 시험 항체 작제물의 능력이 측정된다. 시험 항체 작제물이 참조 항체와 동시에 hFRa에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체 작제물은 참조 항체와 상이한 에피토프에 결합하는 것으로 간주된다. 반대로, 시험 항체 작제물이 참조 항체와 동시에 hFRa에 결합할 수 없는 경우, 시험 항체 작제물은 동일한 에피토프, 중첩되는 에피토프 또는 참조 항체에 의해 결합된 에피토프에 가까이 근접한 에피토프에 결합하는 것으로 간주된다. 참조 항체와 시험 항체의 결합 순서가 역전되는, 즉, 먼저 시험 항체가 포화 조건 하에서 hFRa에 결합하도록 허용된 다음 참조 항체 작제물이 hFRa에 결합하는 능력이 측정되는 경쟁 검정이 또한 실행될 수 있다.

[0087] 이러한 경쟁 검정은 ELISA, 방사성면역검정, 표면 플라즈몬 공명(SPR), 생물층 간섭계, 유세포 측정 등과 같은 기술을 사용하여 수행될 수 있다. 참조 항체와 "경쟁하는 항체"는 경쟁 검정에서 참조 항체의 그 에피토프에 대한 결합을 50% 이상 차단하는 항체를 지칭한다.

[0088] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FRa 항체 작제물은 hFRa에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항원-결합 도메인을 포함하며, 항원-결합 도메인은 본원에 기재된 항체 변이체 v23924의 CDR에 기반한 CDR 세트를 포함한다. 항체 v23924 및 이 항체의 대표적 인간화 또는 친화도 성숙 버전의 CDR 서열을 도 17에 나타낸다. 모체 및 친화도 성숙 항-FRa 항체로부터의 CDR 서열 분석으로 IMGT, Chothia, Kabat, 접촉 또는 AbM 넘버링 시스템 중 어느 하나에 의해 정의된 각 CDR에 존재하는 최소 아미노산 서열을 확인하였다. 이들 아미노산 서열은 표 3에 제공된 최소 공통 CDR 서열로 표시된다. AbM 넘버링 시스템에 의해 정의된 CDR 서열에 기반한 이들 CDR 공통 서열의 확장된 버전을 표 4에 나타낸다.

[0089] [표 3]

항-FRa 항체의 최소 CDR 공통 서열

CDR	서열	가변적(X)	서열 번호
<i>중쇄</i>			
HCDR1	X ¹ YGVS	X ¹ 은 S 또는 L 임	3
HCDR2	NSGGS		4
HCDR3	SGSGYPMDYX ² X ³ I	X ² 는 L 또는 H 임 X ³ 은 A 또는 P 임	5
<i>경쇄</i>			
LCDR1	QSIX ⁴ X ⁵ W	X ⁴ 는 G 또는 W 임 X ⁵ 는 D 또는 Y 임	6
LCDR2	EAS		7
LCDR3	QQGYGRX ⁶ X ⁷ X ⁸ X ⁹ N	X ⁶ 은 S 또는 W 임 X ⁷ 은 N 또는 H 임 X ⁸ 은 V 또는 I 임 X ⁹ 는 D 또는 L 임	8

[0090]

[0091] [표 4]

AbM 넘버링 시스템에 기반한 항-FR α 항체의 CDR 공통 서열

CDR	서열	가변적	서열 번호
<i>중쇄</i>			
HCDR1	GFSLSX ¹⁰ YGVS	X ¹⁰ 은 S 또는 L 임	9
HCDR2	X ¹¹ X ¹² NSGG SAY	X ¹¹ 은 S 또는 A 임 X ¹² 는 V 또는 L 임	10
HCDR3	SGSGYPMDYX ¹³ X ¹⁴ I	X ¹³ 은 L 또는 H 임 X ¹⁴ 는 A 또는 P 임	11
<i>경쇄</i>			
LCDR1	X ¹⁵ ASQSIX ¹⁶ X ¹⁷ WLA	X ¹⁵ 는 R 또는 Q 임 X ¹⁶ 은 G 또는 W 임 X ¹⁷ 은 D 또는 Y 임	12
LCDR2	EASTLAS		13
LCDR3	QQGYGRX ¹⁸ X ¹⁹ X ²⁰ X ²¹ NI	X ¹⁸ 은 S 또는 W 임 X ¹⁹ 는 N 또는 H 임 X ²⁰ 은 V 또는 I 임 X ²¹ 은 D 또는 L 임	14

[0092]

[0093]

특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 서열 번호 3, 4 및 5에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 CDR 아미노산 서열(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 서열 번호 6, 7 및 8에 제시된 서열을 포함하는 경쇄 CDR 아미노산 서열(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 갖는 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0094]

특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 다음을 갖는 항원-결합 도메인을 포함한다:

[0095]

(i) 서열 번호 3에 제시된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 4에 제시된 HCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 5에 제시된 HCDR3 아미노산 서열(X²는 L이고 X³은 A이거나, X²는 H이고 X³은 P임), 및

[0096]

(ii) 서열 번호 6에 제시된 LCDR1 아미노산 서열(X⁴는 G이고 X⁵는 D이거나, X⁴는 W이고 X⁵는 Y임); 서열 번호 7에 제시된 LCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 8에 제시된 LCDR3 아미노산 서열(X⁶은 S이고 X⁷은 N이고 X⁸은 V이고 X⁹는 D이거나, X⁶은 W이고 X⁷은 H이고 X⁸은 I이고 X⁹는 L임).

[0097]

특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 서열 번호 9, 10 및 11에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 CDR 아미노산 서열(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 서열 번호 12, 13 및 14에 제시된 서열을 포함하는 경쇄 CDR 아미노산 서열(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 갖는 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0098]

특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 다음을 갖는 항원-결합 도메인을 포함한다:

[0099]

(i) 서열 번호 9에 제시된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 10에 제시된 HCDR2 아미노산 서열(X¹¹은 S 또는 A이고 X¹²는 V이거나, X¹¹은 S이고 X¹²는 L임), 및 서열 번호 11에 제시된 HCDR3 아미노산 서열(X¹³은 L이고 X¹⁴는 A이거나, X¹³은 H이고 X¹⁴는 P임), 및

[0100]

(ii) 서열 번호 12에 제시된 LCDR1 아미노산 서열(X¹⁵는 R 또는 Q이고 X¹⁶은 G이고 X¹⁷은 D이거나, X¹⁵는 R이고 X¹⁶은 W이고 X¹⁷은 Y임); 서열 번호 13에 제시된 LCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 14에 제시된 LCDR3 아미노산 서열(X¹⁸은 S이고 X¹⁹는 N이고 X²⁰은 V이고 X²¹은 D이거나, X¹⁸은 W이고 X¹⁹는 H이고 X²⁰은 I이고 X²¹은 L임).

[0101]

특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 다음:

[0102]

(i) 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 한

나의 HCDR1 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 HCDR2 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열, 및 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 HCDR3 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR3 아미노산 서열, 및

[0103] (ii) 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 LCDR1 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR1 아미노산 서열; 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 LCDR2 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR2 아미노산 서열, 및 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 LCDR3 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR3 아미노산 서열,

[0104] 을 갖는 항원-결합 도메인을 포함하며, CDR 아미노산 서열은 IMGT, Chothia, Kabat, 접촉 또는 AbM 넘버링 시스템 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다(도 17 참고).

[0105] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 IMGT, Chothia, Kabat, 접촉 또는 AbM 넘버링 시스템 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같은, 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 중쇄 CDR 아미노산 서열(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)로부터 선택된 중쇄 CDR 아미노산 서열(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3), 및 IMGT, Chothia, Kabat, Contact 또는 AbM 넘버링 시스템 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 경쇄 CDR 아미노산 서열(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)로부터 선택된 경쇄 CDR 아미노산 서열(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 갖는 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0106] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 IMGT, Chothia, Kabat, 접촉 또는 AbM 넘버링 시스템 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 중쇄 CDR 아미노산 서열(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 경쇄 CDR 아미노산 서열(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0107] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 VH 도메인의 CDR 서열을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 VL 도메인의 CDR 서열을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다. v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 및 v36675의 VH 및 VL 서열을 도 18에 제공한다.

[0108] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 VH 아미노산 서열로부터 선택된 VH 아미노산 서열을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 VL 아미노산 서열로부터 선택된 VL 아미노산 서열을 포함하는 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0109] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356,

v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 VH 및 VL 아미노산 서열로부터 선택된 VH 아미노산 서열 및 VL 아미노산 서열을 포함하는 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0110] 당업자는 항체가 그 표적에 결합하는 능력을 잃지 않으면서 제한된 수의 아미노산 치환이 CDR 서열에 또는 알려진 항체의 VH 또는 VL 서열에 도입될 수 있음을 이해할 것이다. 후보 아미노산 치환은 컴퓨터 모델링 또는 알려진 스캐닝과 같은 당분야에 알려진 기술에 의해 확인될 수 있으며, 생성된 변이체는 표준 기술에 의해 결합 활성에 대해 시험된다. 따라서, 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 CDR 세트와 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CDR 세트(즉, 중쇄 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3, 및 경쇄 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)를 포함하는 항원-결합 도메인을 포함하며, 서열 동일성은 모든 6개 CDR에 걸쳐 계산되고 항원-결합 도메인은 hFR α 에 결합하는 능력을 유지한다.

[0111] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 CDR 서열 세트의 변이체를 포함하는 항원-결합 도메인을 포함하며, 변이체는 CDR 세트에 걸쳐 1 내지 10개의 아미노산 치환을 포함하고(즉, CDR은 변형되는 6개의 CDR의 임의의 조합으로 최대 10개의 아미노산 치환에 의해 변형될 수 있음), 항원 결합 도메인은 hFR α 에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 CDR 서열 세트의 변이체를 포함하는 항원-결합 도메인을 포함하며, 변이체는 CDR 세트에 걸쳐 1 내지 7개의 아미노산 치환, 1 내지 5개의 아미노산 치환, 1 내지 4개의 아미노산 치환, 1 내지 3개의 아미노산 치환, 1 내지 2개의 아미노산 치환, 또는 1개의 아미노산 치환을 포함하고, 항원 결합 도메인은 hFR α 에 결합하는 능력을 유지한다.

[0112] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 VH 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 VH 서열을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함하며, 항원 결합 도메인은 hFR α 에 결합하는 능력을 유지한다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나의 VL 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 VL 서열을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함하며, 항원 결합 도메인은 hFR α 에 결합하는 능력을 유지한다.

[0113] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 다음을 갖는 항원-결합 도메인을 포함한다:

[0114] (i) 서열 번호 20, 23, 26, 28, 31, 92, 93, 94, 95 또는 96 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 21, 24, 27, 29, 32, 51, 58, 100, 101, 102, 103, 109, 137, 138 또는 139 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 22, 25, 30, 107, 108 또는 110 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR3 아미노산 서열, 및

[0115] (ii) 서열 번호 40, 43, 45, 65, 125, 126 또는 127 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 41, 44 또는 46 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 42, 47, 120 또는 121 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR3 아미노산 서열.

[0116] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 서열 번호 19, 50, 54, 57, 61, 76, 79, 82, 85, 88, 91, 99, 106, 113, 116, 133 또는 136 중 어느 하나에 제시된 서열을 갖는 VH 도메인의 CDR 서열을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 서열 번호 39, 64, 119, 124 또는 130 중 어느 하나에 제시된 서열을 갖는 VL 도메인의 CDR 서열을 포함하는 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0117] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 다음을 갖는 항원-결합 도메인을 포함한다:

- [0129] (v) 서열 번호 20, 23, 26, 28 또는 31 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 21, 24, 29, 32 또는 109 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열; 서열 번호 22, 25 또는 30 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR3 아미노산 서열, 또는
- [0130] (vi) 서열 번호 92, 93, 94, 95 또는 96 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 21, 24, 137, 138 또는 139 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열; 서열 번호 22, 25 또는 30 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR3 아미노산 서열; 또는
- [0131] (e) 서열 번호 40, 45 또는 65 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 41, 44 또는 46 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 120 또는 121 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR3 아미노산 서열, 및
- [0132] (i) 서열 번호 92, 93, 94, 95 또는 96 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 21, 24, 29, 32 또는 109 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열; 서열 번호 107, 108 또는 110 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR3 아미노산 서열, 또는
- [0133] (ii) 서열 번호 20, 23, 26, 28 또는 31 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 21, 24, 29, 32 또는 109 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열; 서열 번호 107, 108 또는 110 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR3 아미노산 서열.
- [0134] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 다음을 갖는 항원-결합 도메인을 포함한다:
- [0135] (a) 서열 번호 20, 23, 26, 28 또는 31 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 21, 24, 27, 29 또는 32 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열; 서열 번호 22, 25 또는 30 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR3 아미노산 서열; 서열 번호 40, 43 또는 45 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 41, 44 또는 46 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 42 또는 47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR3 아미노산 서열, 또는
- [0136] (b) 서열 번호 20, 23, 26, 28 또는 31 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 21, 24, 29, 32 또는 51 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열; 서열 번호 22, 25 또는 30 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR3 아미노산 서열; 서열 번호 40, 45 또는 65 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 41, 44 또는 46 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 42 또는 47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR3 아미노산 서열, 또는
- [0137] (c) 서열 번호 20, 23, 26, 28 또는 31 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 21, 24, 29, 32 또는 58 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열; 서열 번호 22, 25 또는 30 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR3 아미노산 서열; 서열 번호 40, 45 또는 65 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 41, 44 또는 46 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 42 또는 47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR3 아미노산 서열, 또는
- [0138] (d) 서열 번호 92, 93, 94, 95 또는 96 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 21, 24, 29, 32 또는 51 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열; 서열 번호 22, 25 또는 30 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR3 아미노산 서열; 서열 번호 125, 126 또는 127 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 41, 44 또는 46 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 42 또는 47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR3 아미노산 서열, 또는
- [0139] (e) 서열 번호 92, 93, 94, 95 또는 96 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 24, 100, 101, 102 또는 103 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산

열; 서열 번호 21, 24, 137, 138 또는 139 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR2 아미노산 서열; 서열 번호 22, 25 또는 30 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 HCDR3 아미노산 서열; 서열 번호 125, 126 또는 127 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR1 아미노산 서열; 서열 번호 41, 44 또는 46 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR2 아미노산 서열, 및 서열 번호 120 또는 121 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열로부터 선택된 LCDR3 아미노산 서열.

[0148] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 서열 번호 19, 50, 54, 57, 61, 76, 79, 82, 85, 88, 91, 99, 106, 113, 116, 133 또는 136 중 어느 하나에 제시된 VH 아미노산 서열로부터 선택된 VH 아미노산 서열을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 서열 번호 39, 64, 119, 124 또는 130 중 어느 하나에 제시된 VL 아미노산 서열로부터 선택된 VL 아미노산 서열을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0149] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 서열 번호 19, 50, 54, 57, 61, 76, 79, 82, 85, 88, 91, 99, 106, 113, 116, 133 또는 136 중 어느 하나에 제시된 VH 아미노산 서열로부터 선택된 VH 아미노산 서열 및 서열 번호 39, 64, 119, 124 또는 130 중 어느 하나에 제시된 VL 아미노산 서열로부터 선택된 VL 아미노산 서열을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0150] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 다음을 포함하는 항원-결합 도메인을 포함한다:

[0151] (a) 서열 번호 39에 제시된 VL 아미노산 서열, 및 서열 번호 19에 제시된 VH 아미노산 서열; 또는

[0152] (b) 서열 번호 124에 제시된 VL 아미노산 서열, 및 서열 번호 91에 제시된 VH 아미노산 서열; 또는

[0153] (c) 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 및

[0154] (i) 서열 번호 50에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0155] (ii) 서열 번호 54에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0156] (iii) 서열 번호 57에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0157] (iv) 서열 번호 61에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0158] (v) 서열 번호 76에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0159] (vi) 서열 번호 79에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0160] (vii) 서열 번호 82에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0161] (viii) 서열 번호 85에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0162] (ix) 서열 번호 88에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0163] (x) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열; 또는

[0164] (d) 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 및

[0165] (i) 서열 번호 99에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0166] (ii) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0167] (iii) 서열 번호 113에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0168] (iv) 서열 번호 116에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0169] (v) 서열 번호 133에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0170] (vi) 서열 번호 136에 제시된 VH 아미노산 서열; 또는

[0171] (e) 서열 번호 119에 제시된 VL 아미노산 서열, 및

[0172] (i) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열, 또는

[0173] (ii) 서열 번호 116에 제시된 VH 아미노산 서열.

[0174] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 다음을 포함하는 항원-결합 도메인을 포함한다:

- [0175] (i) 서열 번호 19에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 39에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0176] (ii) 서열 번호 50에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0177] (iii) 서열 번호 54에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0178] (iv) 서열 번호 57에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0179] (v) 서열 번호 61에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0180] (vi) 서열 번호 76에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0181] (vii) 서열 번호 79에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0182] (viii) 서열 번호 82에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0183] (ix) 서열 번호 85에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0184] (x) 서열 번호 88에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0185] (xi) 서열 번호 91에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 124에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0186] (xii) 서열 번호 99에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0187] (xiii) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 64에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0188] (xiv) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 119에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0189] (xv) 서열 번호 106에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0190] (xvi) 서열 번호 113에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0191] (xvii) 서열 번호 116에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 119에 제시된 VL 아미노산 서열 또는
- [0192] (xviii) 서열 번호 116에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0193] (xix) 서열 번호 133에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열, 또는
- [0194] (xx) 서열 번호 136에 제시된 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호 130에 제시된 VL 아미노산 서열.

[0195] **형식**

- [0196] 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 다양한 형식을 가질 수 있다. 항-FR α 항체 작제물의 최소 성분은 hFR α 에 결합하는 항원 결합 도메인이다. 항-FR α 항체 작제물은 임의로 하나 이상의 추가적인 항원 결합 도메인 및/또는 스캐폴드를 추가로 포함할 수 있다. 항-FR α 항체 작제물이 2개 이상의 항원 결합 도메인을 포함하는 구현예에서, 각각의 추가적인 항원 결합 도메인은 hFR α 내의 동일한 에피토프에 결합할 수 있거나, hFR α 내의 상이한 에피토프에 결합할 수 있거나, 상이한 항원에 결합할 수 있다. 따라서, 항-FR α 항체 작제물은, 예를 들어 단일 특이적, 이중과라토프, 이중특이적 또는 다중특이적일 수 있다.
- [0197] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 hFR α 에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 도메인 및 스캐폴드를 포함하며, 항원 결합 도메인은 스캐폴드에 작동 가능하게 연결된다. 본원에 사용된 용어 "작동 가능하게 연결된"은 기재된 성분이 이의 의도된 방식으로 기능하도록 허용하는 관계에 있음을 의미한다. 적합한 스캐폴드의 예가 아래에 기재된다.
- [0198] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 임의로 스캐폴드에 작동 가능하게 연결된 2개의 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 3개 또는 4개의 항원 결합 도메인 및 임의로 스캐폴드를 포함할 수 있다. 이들 형식에서, 스캐폴드를 포함할 때, 적어도 제1 항원 결합 도메인은 스캐폴드에 작동 가능하게 연결되고 나머지 항원 결합 도메인(들)은 각각 독립적으로 스캐폴드 또는 제1 항원 결합 도메인에, 또는 2개 이상의 항원 결합 도메인이 존재할 때, 또 다른 항원 결합 도메인에 작동 가능하게 연결될 수 있다.
- [0199] 스캐폴드가 결합된 항-FR α 항체 작제물은 sdAb와 같은 적절한 형식의 단일 항원 결합 도메인을 포함할 수 있거나, 임의로 하나 이상의 링커에 의해 작동 가능하게 연결된 2개 이상의 항원 결합 도메인을 포함할 수 있다. 이러한 항-FR α 항체 작제물에서, 항원 결합 도메인은 scFv, Fab, sdAb 또는 이의 조합의 형태일 수 있다. 예를 들어, scFv를 항원 결합 도메인으로 사용하면, scFv가 가요성 링커에 의해 함께 연결된 직렬 scFv((scFv)₂) 또는

taFv)와 같은 형식이 작제될 수 있다. scFv는 또한 짧은 링커(보통 약 5개 아미노산 길이)로 연결된 2개의 scFv를 포함하는 디아바디 형식을 작제하기 위해 사용될 수 있다. 링커의 제한된 길이는 scFv의 머리-대-꼬리 방식의 이량체화를 초래한다. 임의의 이전 형식에서, scFv는 도메인간 디설피드 결합을 포함함으로써 추가로 안정화될 수 있다. 예를 들어, 각 사슬에 추가적인 시스테인 잔기(예를 들어, VH의 위치 44 및 VL의 위치 100)의 도입을 통해 VL과 VH 사이에 디설피드 결합이 도입될 수 있거나(예를 들어, Fitzgerald *et al.*, 1997, *Protein Engineering*, 10:1221-1225 참고) 디설피드 결합이 두 VH 사이에 도입되어 DART 형식을 갖는 작제물을 제공할 수 있다(예를 들어 Johnson *et al.*, 2010, *J Mol. Biol.*, 399:436-449 참고).

[0200] 유사하게, 적합한 링커를 통해 함께 연결된 VH 또는 VHH와 같은 2개의 sdAb를 포함하는 형식이 일부 구현예에서 사용될 수 있다. 스캐폴드가 결여된 항-FR α 항체 작제물 형식의 다른 예는 Fab 단편에 기반한 형식, 예를 들어 Fab₂ 및 F(ab')₂ 형식을 포함하며, Fab 단편은 링커 또는 IgG 힌지 영역을 통해 연결된다.

[0201] 상이한 형태의 항원 결합 도메인의 조합이 또한 대안적인 스캐폴드가 없는 형식을 생성하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, scFv 또는 sdAb는 Fab 단편의 경쇄 및 중쇄 중 하나 또는 둘 모두의 C-말단에 융합되어 2가 (Fab-scFv/sdAb) 작제물을 생성할 수 있다.

[0202] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 면역글로불린(Ig)에 기반한 항체 형식일 수 있다. 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 IgG 클래스 면역글로불린, 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 면역글로불린에 기반할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 IgG1 면역글로불린에 기반할 수 있다. 본 개시의 맥락에서, 항-FR α 항체 작제물이 특정 면역글로불린 이소형에 기반할 때, 이는 항-FR α 항체 작제물이 특정된 면역글로불린 이소형의 불변 영역의 전부 또는 일부를 포함함을 의미한다. 예를 들어, 주어진 Ig 이소형에 기반한 항-FR α 항체 작제물은 Ig 스캐폴드에 작동 가능하게 연결된 적어도 하나의 항원-결합 도메인을 포함할 수 있으며, 스캐폴드는 주어진 이소형으로부터의 Fc 영역 및 임의로 동일하거나 상이한 이소형으로부터의 Ig 힌지 영역을 포함한다. 항-FR α 항체 작제물이 또한 일부 구현예에서 이소형 및/또는 하위클래스의 하이브리드를 포함할 수 있음이 이해되어야 한다. Fc 영역 및/또는 힌지 영역이 당분야에 알려진 바와 같이 하나 이상의 원하는 기능적 특성을 부여하기 위해 임의로 변형될 수 있음이 또한 이해되어야 한다.

[0203] 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 상이한 종으로부터 유래된 2개 이상의 면역글로불린으로부터 유래될 수 있으며, 예를 들어 항-FR α 항체 작제물은 키메라 항체 또는 인간화 항체일 수 있다. 용어 "키메라 항체" 및 "인간화 항체"는 둘 모두 일반적으로 하나 초과의 종으로부터의 면역글로불린 영역 또는 도메인을 조합하는 항체를 지칭한다.

[0204] "키메라 항체"는 전형적으로 토끼 또는 설치류(예를 들어 쥐) 항체와 같은 비인간 항체로부터의 적어도 하나의 가변 도메인 및 인간 항체로부터의 적어도 하나의 불변 도메인을 포함한다. 키메라 항체의 인간 불변 도메인이 이것이 대체하는 비인간 불변 도메인과 동일한 이소형일 필요는 없다. 키메라 항체는 예를 들어 문헌 (Morrison *et al.*, 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-55, 및 U.S. 특허 번호 4,816,567)에서 논의된다.

[0205] "인간화 항체"는 비인간 항체로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체의 한 유형이다. 일반적으로 인간화 항체는 수신체의 초가변 영역(CDR)으로부터의 잔기가 표적 항원에 대해 원하는 특이성 및 친화도를 갖는, 마우스, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류와 같은 비인간 종(공여체 항체)의 초가변 영역(CDR)으로부터의 잔기로 대체된 인간 면역글로불린(수신체 항체)이다. 인간화 항체를 생성하기 위한 이 기술은 종종 "CDR 이식"으로 지칭된다.

[0206] 일부 경우에는 항체 성능을 추가 정련하기 위해 인간화 항체에 추가적인 변형이 이루어질 수 있다. 예를 들어, 인간 면역글로불린의 프레임워크 영역(FR) 잔기는 상응하는 비인간 잔기로 대체되거나, 인간화 항체는 수신체 항체 또는 공여체 항체에서 확인되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체의 가변 도메인은 비인간 면역글로불린으로부터의 초가변 영역 전부 또는 실질적으로 전부 및 인간 면역글로불린 서열로부터의 FR의 전부 또는 실질적으로 전부를 포함할 것이다. 인간화 항체는, 예를 들어 문헌 (Jones, *et al.*, 1986, *Nature*, 321:522-525; Riechmann, *et al.*, 1988, *Nature*, 332:323-329, 및 Presta, 1992, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2:593-596)에 보다 상세히 기재된다.

[0207] 비인간 CDR을 이식하기 위한 가장 적절한 인간 프레임워크를 선택하기 위한 여러 접근이 당분야에 알려져 있다. 초기 접근은 CDR을 제공하는 비인간 항체에 대한 서열 동일성과 관계없이, 잘 특성규명된 인간 항체의 제한된 하위셋을 사용했다("고정 프레임워크" 접근). 보다 최근의 접근은 CDR을 제공하는 비인간 항체의 가변 영역에

대해 높은 아미노산 서열 동일성을 갖는 가변 영역을 사용했다("상동성 매칭" 또는 "최적 적합" 접근). 대안적 접근은 몇몇 상이한 인간 항체로부터의 각 경쇄 또는 중쇄 가변 영역 내의 프레임워크 서열의 단편을 선택하는 것이다. CDR 이식은 일부 경우에는 이식된 분자의 그 표적 항원에 대한 친화도의 부분적인 또는 완전한 상실을 초래할 수 있다. 이러한 경우, 인간 기원의 잔기 중 일부를 상응하는 비인간 잔기로 역돌연변이시키므로써 친화도가 회복될 수 있다. 이들 접근에 의해 인간화 항체를 제조하는 방법은 당분야에 잘 알려져 있다(예를 들어, Tsurushita & Vasquez, 2004, *Humanization of Monoclonal Antibodies*, Molecular Biology of B Cells, 533-545, Elsevier Science (USA); Jones *et al.*, 1986, *Nature*, 321:522-525; Riechmann *et al.*, 1988, *Nature*, 332:323-329; Presta *et al.*, 1997, *Cancer Res*, 57(20):4593-4599 참고).

[0208] 대안적으로, 또는 이들 전통적 접근에 추가하여, CDR-이식 인간화 항체의 면역원성을 추가로 감소시키기 위해 보다 최근 기술이 사용될 수 있다. 예를 들어, 인간 생식계열 서열 또는 공통 서열에 기반한 프레임워크가 체세포 돌연변이(들)를 갖는 인간 프레임워크보다는 수신체 인간 프레임워크로 사용될 수 있다. 비인간 CDR의 잠재적인 면역원성을 감소시키는 것을 목표로 하는 또 다른 기술은 특이성 결정 잔기(SDR)만을 이식하는 것이다. 이 접근에서는, 항원 결합 활성화에 요구되는 최소 CDR 잔기("SDR")만이 인간 생식계열 프레임워크에 이식된다. 이 방법은 인간화 항체의 "인간성"(즉, 인간 생식계열 서열과의 유사성)을 개선하여 가변 영역의 면역원성 위험을 줄이는 데 도움이 될 수 있다. 이러한 기술은 다양한 간행물에 기재되었다(예를 들어 Almagro & Fransson, 2008, *Front Biosci*, 13:1619-1633; Tan, *et al.*, 2002, *J Immunol*, 169:1119-1125; Hwang, *et al.*, 2005, *Methods*, 36:35-42; Pelat, *et al.*, 2008, *J Mol Biol*, 384:1400-1407; Tamura, *et al.*, 2000, *J Immunol*, 164:1432-1441; Gonzales, *et al.*, 2004, *Mol Immunol*, 1:863-872, 및 Kashmiri, *et al.*, 2005, *Methods*, 36:25-34 참고).

[0209] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 인간화 항체 서열, 예를 들어 하나 이상의 인간화 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 인간화 항체일 수 있다. 항-FR α 항체 v23924에 기반한 인간화 항체의 비제한적 예가 본원에 기재된다(v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425 및 v31426; 실시예 및 서열 표 참고).

[0210] **스캐폴드**

[0211] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 스캐폴드에 작동 가능하게 연결된 하나 이상의 항원-결합 도메인을 포함한다. 항원 결합 도메인(들)은 상기 기재된 형태 중 하나 또는 조합일 수 있다(예를 들어, scFv, Fab 및/또는 sdAb). 적합한 스캐폴드의 예가 아래에 더 상세히 기재되며 면역글로불린 Fc 영역, 알부민, 알부민 유사체 및 유도체, 이중이량체화 펩티드(예컨대 류신 지퍼, Jun 및 Fos로부터 유래된 이중이량체 형성 "지퍼" 펩티드, IgG CH1 및 CL 도메인 또는 바르나제-바르스타 독소), 사이토카인, 케모카인 또는 성장 인자를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 다른 예는 IBC Pharmaceuticals, Inc. 및 Immunomedics, Inc.에 의해 개발된 DOCK-AND-LOCK™(DNL™) 기술에 기반한 항체를 포함한다(예를 들어, Chang, *et al.*, 2007, *Clin. Cancer Res.*, 13:5586s-5591s 참고).

[0212] 스캐폴드는 펩티드, 폴리펩티드, 중합체, 나노입자 또는 다른 화학적 실체일 수 있다. 스캐폴드가 폴리펩티드인 경우, 항-FR α 항체 작제물의 각 항원 결합 도메인은 폴리펩티드 스캐폴드의 N- 또는 C-말단에 연결될 수 있다. 하나 이상의 항원 결합 도메인이 예를 들어 링커를 포함하거나 포함하지 않고 아미노산의 측쇄를 통해 N- 또는 C-말단 이외의 영역에 연결되는 폴리펩티드 스캐폴드를 포함하는 항-FR α 항체 작제물도 특정 구현예에서 고려된다.

[0213] 항-FR α 항체 작제물이 펩티드 또는 폴리펩티드인 스캐폴드를 포함하는 구현예에서, 항원-결합 도메인(들)은 유전적 융합 또는 화학적 접합에 의해 스캐폴드에 연결될 수 있다. 전형적으로, 스캐폴드가 펩티드 또는 폴리펩티드일 때, 항원 결합 도메인(들)은 유전적 융합에 의해 스캐폴드에 연결된다. 스캐폴드가 중합체 또는 나노입자인 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인(들)은 화학적 접합에 의해 스캐폴드에 연결될 수 있다.

[0214] 2개의 상이한 폴리펩티드의 선택적 쌍을 포함하고 스캐폴드를 형성하기 위해 사용될 수 있는 여러 단백질 도메인이 당분야에 알려져 있다. 한 예는 선택적으로 함께 쌍을 이루는 Fos 및 Jun과 같은 류신 지퍼 도메인이다(Kostelny, *et al.*, *J Immunol*, 148:1547-53 (1992); Wranik, *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 287: 43331-43339 (2012)). 다른 선택적으로 쌍을 이루는 분자 쌍은, 예를 들어 바르나제-바르스타 쌍(Deyev, *et al.*, *Nat Biotechnol*, 21:1486-1492 (2003)), DNA 가닥 쌍(Chaudri, *et al.*, *FEBS Letters*, 450(1-2):23-26 (1999)) 및 분할 형광 단백질 쌍(국제 특허 출원 공개 번호 WO 2011/135040)을 포함한다.

- [0215] 단백질 스캐폴드의 다른 예는 면역글로불린 Fc 영역, 알부민, 알부민 유사체 및 유도체, 독소, 사이토카인, 케모카인 및 성장 인자를 포함한다. 항원-결합 모이어티와 조합된 단백질 스캐폴드의 사용이 기재되었다(예를 들어, Müller *et al.*, 2007, *J. Biol. Chem.*, 282:12650-12660; McDonough *et al.*, 2012, *Mol. Cancer Ther.*, 11:582-593; Vallera *et al.*, 2005, *Clin. Cancer Res.*, 11:3879-3888; Song *et al.*, 2006, *Biotech. Appl. Biochem.*, 45:147-154, 및 U.S. 특허 출원 공개 번호 2009/0285816 참고).
- [0216] 예를 들어, scFv, 디아바디 또는 단일쇄 디아바디와 같은 항원 결합 모이어티를 알부민에 융합시키는 것이 항원 결합 모이어티의 혈청 반감기를 개선하는 것으로 나타났다(Müller *et al.*, 상기 문헌). 항원 결합 모이어티는 임의로 링커를 통해, 알부민의 N- 및/또는 C-말단에 융합될 수 있다.
- [0217] 트랜스포터 폴리펩티드가 자가 조립되어 준천연 알부민을 형성하도록 알부민 단백질의 분할에 의해 얻어진 2개의 트랜스포터 폴리펩티드를 포함하는 이종다량체 형태의 알부민 유도체가 기재되었다(국제 특허 출원 공개 WO 2012/116453 및 WO 2014/012082 참고). 알부민 분할의 결과, 이종다량체는 4개의 말단을 포함하므로, 임의로 링커를 통해, 최대 4개의 상이한 항원 결합 모이어티에 융합될 수 있다.
- [0218] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 단백질 스캐폴드를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 면역글로불린 Fc 영역, 알부민 또는 알부민 유사체 또는 유도체에 기반한 단백질 스캐폴드를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 면역글로불린 Fc 영역, 예를 들어 IgG Fc 영역에 기반한 단백질 스캐폴드를 포함할 수 있다.
- [0219] *Fc* 영역
- [0220] 본원에 사용된 용어 "Fc 영역", "Fc" 또는 "Fc 도메인"은 불변 영역의 적어도 일부를 함유하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 지칭한다. 이 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 본원에 달리 특정되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역의 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌(Kabat, *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))에 기재된 바와 같은, EU 인덱스로도 불리는 EU 넘버링 시스템에 따른다.
- [0221] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-FR α 항체 작제물은 면역글로불린 Fc 영역에 기반한 스캐폴드를 포함할 수 있다. Fc 영역은 이량체이고 2개의 Fc 폴리펩티드로 이루어질 수 있거나, 대안적으로 Fc 영역은 단일 폴리펩티드로 이루어질 수 있다.
- [0222] 이량체 Fc와 관련하여 "Fc 폴리펩티드"는 이량체 Fc 도메인을 형성하는 2개의 폴리펩티드 중 하나, 즉 안정한 자가 회합이 가능한 면역글로불린 중쇄의 하나 이상의 C-말단 불변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 이량체 Fc 영역을 형성하는 폴리펩티드를 지칭할 때, Fc 영역이 하나의 제1 Fc 폴리펩티드 및 하나의 제2 Fc 폴리펩티드를 포함하는 한, 용어 "제1 Fc 폴리펩티드" 및 "제2 Fc 폴리펩티드"는 상호교환적으로 사용될 수 있다.
- [0223] Fc 영역은 CH3 도메인을 포함할 수 있거나 CH3 및 CH2 도메인을 둘 모두 포함할 수 있다. 예를 들어, 특정 구현예에서, 이량체 IgG Fc 영역의 Fc 폴리펩티드는 IgG CH2 도메인 서열 및 IgG CH3 도메인 서열을 포함할 수 있다. 이러한 구현예에서, CH3 도메인은 이량체 Fc 영역의 2개의 Fc 폴리펩티드 각각으로부터 하나씩, 2개의 CH3 서열을 포함하고, CH2 도메인은 이량체 Fc 영역의 2개의 Fc 폴리펩티드 각각으로부터 하나씩, 2개의 CH2 서열을 포함한다.
- [0224] 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 IgG Fc 영역에 기반한 스캐폴드를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 인간 IgG Fc 영역에 기반한 스캐폴드를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 IgG1 Fc 영역에 기반한 스캐폴드를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 인간 IgG1 Fc 영역에 기반한 스캐폴드를 포함할 수 있다.
- [0225] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 각각 CH3 서열 및 임의로 CH2 서열을 포함하는 제1 Fc 폴리펩티드 및 제2 Fc 폴리펩티드를 포함하는 동종이량체 Fc 영역인 IgG Fc 영역에 기반한 스캐폴드를 포함할 수 있으며, 제1 및 제2 Fc 폴리펩티드의 아미노산 서열은 동일하다.
- [0226] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 각각 CH3 서열 및 임의로 CH2 서열을 포함하는 제1 Fc 폴리펩티드 및 제2 Fc 폴리펩티드를 포함하는 이종이량체 Fc 영역인 IgG Fc 영역에 기반한 스캐폴드를 포함할 수 있으며, 제1 및 제2 Fc 폴리펩티드의 아미노산 서열은 상이하다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 2개의 CH3 서열을 포함하는 Fc 영역에 기반한 스캐폴드를 포함할 수 있으며, 그 중 적어도 하나는 하나 이상의 아미노산 변형을

포함한다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 2개의 CH3 서열 및 2개의 CH2 서열을 포함하는 Fc 영역에 기반한 스캐폴드를 포함할 수 있으며, CH2 서열 중 적어도 하나는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다.

[0227] 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 변형된 CH3 도메인을 포함하는 이중이량체 Fc 영역을 포함할 수 있으며, 변형된 CH3 도메인은 하나 이상의 비대칭 아미노산 변형을 포함하는 비대칭으로 변형된 CH3 도메인이다. 본원에 사용된 바와 같은 "비대칭 아미노산 변형"은 제1 CH3 또는 CH2 서열의 특정 위치의 아미노산이 동일한 위치의 제2 CH3 또는 CH2 서열의 아미노산과 상이한 치환 또는 삽입과 같은 변형을 지칭한다. 이러한 비대칭 아미노산 변형은 각 서열의 동일한 각 아미노산 위치에 있는 2개의 아미노산 중 하나만의 변형, 또는 제1 및 제2 CH3 또는 CH2 서열 각각의 동일한 각 위치에 있는 두 아미노산 모두의 상이한 변형의 결과일 수 있다. 이중이량체 Fc의 제1 및 제2 CH3 또는 CH2 서열 각각은 하나 또는 하나 초과 of 비대칭 아미노산 변형을 포함할 수 있다.

[0228] 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 변형된 CH3 도메인을 포함하는 이중이량체 Fc를 포함할 수 있으며, 변형된 CH3 도메인은 동중이량체 Fc의 형성에 비해 이중이량체 Fc의 형성을 촉진하는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 변형 중 하나 이상은 비대칭 아미노산 변형이다.

[0229] 이중이량체 Fc의 형성을 촉진하기 위해 Fc의 CH3 도메인에 이루어질 수 있는 아미노산 변형은 당분야에 알려져 있으며, 예를 들어 문헌(국제 공개 번호 WO 96/027011("놉 인투 홀"), Gunasekaran *et al.*, 2010, *J Biol Chem*, 285, 19637-46("정전기적 스티어링"), Davis *et al.*, 2010, *Prot Eng Des Sel*, 23(4):195-202(가닥 교환 조작 도메인(SEED) 기술) 및 Labriijn *et al.*, 2013, *Proc Natl Acad Sci USA*, 110(13):5145-50(Fab-아암 교환))에 기재된 것들을 포함한다. 다른 예는 국제 공개 번호 WO 2012/058768 및 WO 2013/063702에 기재된 바와 같은 안정한 비대칭으로 변형된 Fc 영역을 생성하기 위한 양성 및 음성 설계 전략을 조합하는 접근을 포함한다. 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 국제 공개 번호 WO 2012/058768 및 WO 2013/063702에 기재된 바와 같은 변형된 Fc 영역에 기반한 스캐폴드를 포함할 수 있다.

[0230] 표 5는 전장 인간 IgG1 중쇄의 아미노산 231 내지 447에 상응하는, 인간 IgG1 Fc 서열(서열 번호 16)의 아미노산 서열을 제공한다. CH3 서열은 전장 인간 IgG1 중쇄의 아미노산 341-447을 포함한다. 국제 특허 출원 공개 번호 WO 2012/058768 및 WO 2013/063702에 기재된 바와 같이 이중이량체 Fc의 형성을 촉진하는 CH3 도메인 아미노산 변형을 또한 표 5에 나타낸다.

[0231] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 표 5에 나타난 바와 같이, 변이체 1, 변이체 2, 변이체 3, 변이체 4 또는 변이체 5 중 어느 하나의 변형을 포함하는 변형된 CH3 도메인을 갖는 이중이량체 Fc 스캐폴드를 포함할 수 있다.

[0232] [표 5]

이중이량체 형성을 촉진하는 인간 IgG1 Fc 서열¹ 및 CH3 도메인 아미노산 변형

APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 16)		
변이체 번호	사슬	돌연변이
1	A	L351Y_F405A_Y407V
	B	T366L_K392M_T394W
2	A	L351Y_F405A_Y407V
	B	T366L_K392L_T394W
3	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
	B	T350V_T366L_K392L_T394W
4	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
	B	T350V_T366L_K392M_T394W
5	A	T350V_L351Y_S400E_F405A_Y407V
	B	T350V_T366L_N390R_K392M_T394W

¹ 위치 231-447로부터의 서열(EU 넘버링)

[0233]

[0234] 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 2개의 CH3 서열 및 2개의 CH2 서열을 포함하는 Fc 영역에 기반한 스캐

폴드를 포함할 수 있으며, CH2 서열 중 적어도 하나는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다. CH2 도메인의 변형은 Fc γ RI, Fc γ RRII 및 Fc γ RRIII 하위클래스의 수용체와 같은 Fc 수용체(FcR)의 Fc에 대한 결합에 영향을 미칠 수 있다.

- [0235] 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 변형된 CH2 도메인을 갖는 IgG Fc에 기반한 스캐폴드를 포함하며, CH2 도메인의 변형은 Fc γ RI, Fc γ RRII 및 Fc γ RRIII 수용체 중 하나 이상에 대한 결합 변경을 초래한다.
- [0236] 상이한 Fc γ 수용체에 대한 Fc의 친화도를 선택적으로 변경하는 CH2 도메인에 대한 여러 아미노산 변형이 당분야에 알려져 있다. 결합 증가를 초래하는 아미노산 변형 및 결합 감소를 초래하는 아미노산 변형은 각각 특정 적응증에 유용할 수 있다. 예를 들어, Fc γ RRIIIa(활성화 수용체)에 대한 Fc의 결합 친화도가 증가하면 항체의 존적 세포 매개 세포독성(ADCC) 증가를 초래할 수 있으며, 이는 결과적으로 표적 세포의 용해 증가를 초래한다. 마찬가지로 Fc γ RRIIb(억제 수용체)에 대한 결합 감소는 일부 상황에서 유익할 수 있다. 특정 적응증에서는 ADCC 및 보체 매개 세포독성(CDC)의 감소 또는 제거가 바람직할 수 있다. 이러한 경우, Fc γ RRIIb에 대한 결합 증가를 초래하는 아미노산 변형 또는 모든 Fc γ 수용체에 대한 Fc 영역의 결합을 감소시키거나 제거하는 아미노산 변형을 포함하는 변형된 CH2 도메인("녹아웃" 변이체)이 유용할 수 있다.
- [0237] Fc γ 수용체에 의한 Fc의 결합을 변경하는 CH2 도메인에 대한 아미노산 변형의 예는 하기를 포함하지만 이에 제한되지 않는다: S298A/E333A/K334A 및 S298A/E333A/K334A/K326A(Fc γ RRIIIa에 대해 증가된 친화도)(Lu, *et al.*, 2011, *J Immunol Methods*, 365(1-2):132-41); F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L(Fc γ RRIIIa에 대해 증가된 친화도)(Stavenhagen, *et al.* 2007, *Cancer Res* 67(18):8882-90); F243L/R292P/Y300L/L235V/P396L(Fc γ RRIIIa에 대해 증가된 친화도)(Nordstrom JL, *et al.*, 2011, *Breast Cancer Res*, 13(6):R123); F243L(Fc γ RRIIIa에 대해 증가된 친화도)(Stewart, *et al.*, 2011, *Protein Eng Des Sel.*, 24(9):671-8); S298A/E333A/K334A(Fc γ RRIIIa에 대해 증가된 친화도)(Shields, *et al.*, 2001, *J Biol Chem*, 276(9):6591-604); S239D/I332E/A330L 및 S239D/I332E(Fc γ RRIIIa에 대해 증가된 친화도)(Lazar, *et al.*, 2006, *Proc Natl Acad Sci USA*, 103(11):4005-10), 및 S239D/S267E 및 S267E/L328F(Fc γ RRIIb에 대해 증가된 친화도)(Chu, *et al.*, 2008, *Mol Immunol*, 45(15):3926-33). Fc γ RRIIb에 의한 Fc의 결합을 변경하는 CH2 도메인에 대한 다양한 아미노산 변형이 국제 공개 번호 WO 2021/232162에 기재된다. Fc γ 수용체에 대한 Fc 결합에 영향을 미치는 추가적인 변형은 문헌(*Therapeutic Antibody Engineering* (Strohl & Strohl, Woodhead Publishing series in Biomedicine No 11, ISBN 1 907568 37 9, Oct 2012, page 283)에 기재된다.
- [0238] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 변형된 CH2 도메인을 갖는 IgG Fc에 기반한 스캐폴드를 포함하며, 변형된 CH2 도메인은 Fc γ 수용체 전체에 대한 Fc 영역의 결합 감소 또는 제거를 초래하는 하나 이상의 아미노산 변형(즉, "녹아웃" 변이체)을 포함한다.
- [0239] 다양한 간행물이 "녹아웃" 변이체를 생성하기 위해 항체를 조작하는 데 사용된 전략을 기재한다(예를 들어 Strohl, 2009, *Curr Opin Biotech* 20:685-691, 및 Strohl & Strohl, "Antibody Fc engineering for optimal antibody performance" In *Therapeutic Antibody Engineering*, Cambridge: Woodhead Publishing, 2012, pp 225-249 참고). 이들 전략은 글리코실화의 변형, IgG2/IgG4 스캐폴드의 사용, 또는 Fc의 힌지 또는 CH2 도메인에서의 돌연변이 도입을 통한 효과기 기능의 감소를 포함한다(또한 U.S. 특허 공개 번호 2011/0212087, 국제 공개 번호 WO 2006/105338, U.S. 특허 공개 번호 2012/0225058, U.S. 특허 공개 번호 2012/0251531 및 Strop *et al.*, 2012, *J. Mol. Biol.*, 420: 204-219 참고).
- [0240] "녹아웃" 변이체를 생성하기 위해 힌지 또는 CH2 도메인에 도입될 수 있는 돌연변이의 예는 아미노산 변형 L234A/L235A, 및 L234A/L235A/D265S를 포함한다.
- [0241] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항-FR α 항체 작제물은 천연 글리코실화가 변형된 IgG Fc에 기반한 스캐폴드를 포함할 수 있다. 당분야에 알려진 바와 같이, Fc의 글리코실화는 효과기 기능을 증가시키거나 감소시키기 위해 변형될 수 있다. 예를 들어, 위치 297에서 보존된 아스파라긴 잔기의 알라닌, 글루타민, 라이신 또는 히스티딘(즉, N297A, Q, K 또는 H)으로의 돌연변이는 모든 효과기 기능이 결여된 비글리코실화 Fc 생성한다(Bolt *et al.*, 1993, *Eur. J. Immunol.*, 23:403-411; Tao & Morrison, 1989, *J. Immunol.*, 143:2595-2601).
- [0242] 반대로, 중쇄 N297 연결 올리고당으로부터 푸코스의 제거는 Fc γ RRIIIa에 대한 개선된 결합에 기반하여, ADCC를 향상시키는 것으로 나타났다(예를 들어 Shields *et al.*, 2002, *J Biol Chem.*, 277:26733-26740, 및 Niwa *et al.*, 2005, *J. Immunol. Methods*, 306:151-160 참고). 이러한 저 푸코스 항체는, 예를 들어 푸코실트랜스퍼라제(FUT8)가 결여된 녹아웃 차이니스 햄스터 난소(CHO) 세포(Yamane-Ohnuki *et al.*, 2004, *Biotechnol.*

Bioeng., 87:614-622); N297-연결 탄수화물에 푸코스를 부착하는 능력이 감소된 변이체 CHO 세포주 Lec 13(국제 공개 번호 WO 03/035835), 또는 비푸코실화 항체를 생성하는 다른 세포(예를 들어 *Li et al.*, 2006, *Nat Biotechnol.*, 24:210-215; *Shields et al.*, 2002, 상기 문헌, 및 *Shinkawa et al.*, 2003, *J. Biol. Chem.*, 278:3466-3473 참고)에서 생성될 수 있다. 또한, 국제 공개 번호 WO 2009/135181은 항체 상의 탄수화물로의 푸코스 혼입을 억제하기 위한 항체 생성 동안 배양 배지에 대한 푸코스 유사체 첨가를 기재한다.

[0243] Fc 글리코실화 부위(N297)에 푸코스가 거의 없거나 전혀 없는 항체를 생성하는 다른 방법은 당분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어, GlymaX® 기술(ProBioGen AG)(*Horsten et al.*, 2010, *Glycobiology*, 20(12):1607-1618 및 U.S. 특허 번호 8,409,572 참고).

[0244] 다른 글리코실화 변이체는 이분된 올리고당을 갖는 것들, 예를 들어 항체의 Fc 영역에 부착된 2안테나성 올리고당이 N-아세틸글루코사민(GlcNAc)에 의해 이분된 변이체를 포함한다. 이러한 글리코실화 변이체는 감소된 푸코실화 및/또는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다(예를 들어, 국제 공개 번호 WO 2003/011878, U.S. 특허 번호 6,602,684 및 US 특허 출원 공개 번호 US 2005/0123546 참고). 유용한 글리코실화 변이체는 또한 Fc 영역에 부착된 올리고당에 적어도 하나의 갈락토스 잔기를 갖는 것들을 포함하며, 이는 개선된 CDC 기능을 가질 수 있다(예를 들어, 국제 공개 번호 WO 1997/030087, WO 1998/58964 및 WO 1999/22764 참고).

[0245] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 전체 크기 항체(FSA)의 형식을 갖는다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 IgG FSA, 예를 들어 IgG1 FSA의 형식을 갖는다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 제1 중쇄 서열(H1), 제2 중쇄 서열(H2), 제1 경쇄 서열(L1) 및 제2 경쇄 서열(L2)을 포함하는 FSA이다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 동종이량체 Fc를 갖는 단일특이적 FSA이고 H1, H2, L1 및 L2 서열을 포함하며, H1 및 H2는 동일한 아미노산 서열을 갖고, L1 및 L2는 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 이종이량체 Fc를 갖는 단일특이적 FSA이고 H1, H2, L1 및 L2 서열을 포함하며, H1 및 H2는 상이한 아미노산 서열을 갖고, L1 및 L2는 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 이종이량체 Fc를 갖는 이종특이적 또는 이종과라토프 FSA이고 H1, H2, L1 및 L2 서열을 포함하며, H1 및 H2는 상이한 아미노산 서열을 갖고, L1 및 L2는 상이한 아미노산 서열을 갖는다.

[0246] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나에 대해 표 A 및 B에 제시된 H1, H2, L1 및 L2 아미노산 서열을 포함하는 H1, H2, L1 및 L2 서열 세트를 갖는 FSA이다. 당분야에 알려진 바와 같이, 특정 세포주에서의 또는 특정 발현 벡터로부터의 항체 중쇄 서열의 발현은 중쇄 중 하나 또는 둘 모두에 대한 C-말단 라이신 잔기의 혼입을 초래할 수 있다. 따라서, 본 개시의 특정 구현예는 변이체 v23924, v30618, v30384, v30389, v30394, v30399, v31422, v31423, v31424, v31425, v31426, v35305, v35342, v35347, v35348, v35350, v35354, v35356, v35358, v36167, v36168 또는 v36675 중 어느 하나에 대해 표 A 및 B에 제시된 H1, H2, L1 및 L2 아미노산 서열을 포함하는 H1, H2, L1 및 L2 서열 세트를 갖는 FSA인 항-FR α 항체 작제물에 관한 것이며, H1 및 H2 서열 중 하나 또는 둘 모두가 C-말단 라이신을 포함한다(예를 들어 서열 번호 157 참고).

[0247] **항-FR α 항체 작제물의 제조**

[0248] 본원에 기재된 항-FR α 항체 작제물은 당분야에 알려진 표준 재조합 방법을 사용하여 생성될 수 있다(예를 들어, U.S. 특허 번호 4,816,567 및 "*Antibodies: A Laboratory Manual*," 2nd Edition, Ed. Greenfield, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 2014 참고).

[0249] 전형적으로, 항체 작제물의 재조합 생성을 위해, 항-FR α 항체 작제물을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 세트가 생성되고 숙주 세포에서의 추가 클로닝 및/또는 발현을 위해 하나 이상의 벡터에 삽입된다. 항-FR α 항체 작제물을 암호화하는 폴리뉴클레오티드(들)는 당분야에 알려진 표준 방법에 의해 생성될 수 있다(예를 들어, *Ausubel et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York, 1994 & update, 및 "*Antibodies: A Laboratory Manual*," 2nd Edition, Ed. Greenfield, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 2014 참고). 당업자에게 이해될 바와 같이, 항-FR α 항체 작제물의 발현에 요구되는 폴리뉴클레오티드의 수는 항체 작제물이 스캐폴드를 포함하는지 여부를 포함하여, 작제물의 형식에 의존할 것이다. 예를 들어, 항-FR α 항체 작제물이 동종이량체 Fc를 갖는 mAb 형식일 때, 각각 하나의 폴리펩티드 사슬을 암호화하는 2개의 폴리뉴클레오티드가 요구될 것인 반면, 항-FR α 항체 작제물이 이종이량체 Fc를 갖는 mAb 형식일 때, 각각 하나의 폴리펩티드 사슬을 암호화하는 3개의 폴리뉴클레오티드가 요구될 것이다. 다수의 폴리

뉴클레오티드가 요구될 때, 이들은 하나의 벡터 또는 하나 초과 벡터에 혼입될 수 있다.

- [0250] 일반적으로, 발현을 위해, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 세트는 폴리뉴클레오티드의 효율적인 전사에 요구되는 전사 요소와 같은 하나 이상의 조절 요소와 함께, 발현 벡터 또는 벡터들에 혼입된다. 이러한 조절 요소의 예는 프로모터, 인핸서, 종결인자 및 폴리아데닐화 신호를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 당업자는 조절 요소의 선택이 항체 작제물의 발현을 위해 선택된 숙주 세포에 의존하고 이러한 조절 요소가 박테리아, 진균, 바이러스, 포유동물 또는 곤충 유전자를 포함하는 다양한 원천으로부터 유래될 수 있음을 이해할 것이다. 발현 벡터는 임의로 발현된 단백질의 발현 또는 정제를 촉진하는 이중성 핵산 서열을 추가로 함유할 수 있다. 예는 신호 펩티드 및 금속 친화도 태그, 히스티딘 태그와 같은 친화도 태그, 아비딘/스트렙타비딘 암호화 서열, 글루타치온-S-트랜스퍼라제(GST) 암호화 서열 및 비오틴 암호화 서열을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 발현 벡터는 염색체의 벡터 또는 통합 벡터일 수 있다.
- [0251] 항-FR α 항체 작제물의 클로닝 또는 발현에 적합한 숙주 세포는 당분야에 알려진 바와 같은 다양한 원핵 또는 진핵 세포를 포함한다. 진핵 숙주 세포는, 예를 들어 포유동물 세포, 식물 세포, 곤충 세포 및 효모 세포(예컨대 사카로마이세스(*Saccharomyces*) 또는 피치아(*Pichia*) 세포)를 포함한다. 원핵 숙주 세포는 예를 들어 대장균(*E. coli*), 에이. 살모니시다(*A. salmonicida*) 또는 비. 서브틸리스(*B. subtilis*) 세포를 포함한다.
- [0252] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물은, 예를 들어 문헌(U.S. 특허 번호 5,648,237; 5,789,199, 및 5,840,523, 그리고 Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248, pp. 245-254, B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003)에 기재된 바와 같이, 박테리아에서, 특히 글리코실화 및 Fc 효과기 기능이 필요하지 않을 때, 생성될 수 있다.
- [0253] 사상균 또는 효모와 같은 진핵 미생물이, 특히 글리코실화 경로가 "인간화"되어 부분적으로 또는 완전히 인간 글리코실화 패턴을 갖는 항체 작제물 생성을 초래하는 진균 및 효모 균주가 특정 구현예에서 적합한 발현 숙주 세포일 수 있다(예를 들어, Gerngross, 2004, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414, 및 Li *et al.*, 2006, *Nat. Biotech.* 24:210-215 참고).
- [0254] 글리코실화된 항-FR α 항체 작제물의 발현에 적합한 숙주 세포는 일반적으로 진핵 세포이다. 예를 들어, U.S. 특허 번호 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978 및 6,417,429는 트랜스제닉 식물에서 항원 결합 작제물을 생성하기 위한 PLANTIBODIES™ 기술을 기재한다. 현탁액에서 성장하도록 적응된 포유동물 세포주가 항체 작제물의 발현에 특히 유용할 수 있다. 예는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주(COS-7), 인간 배아 신장(HEK) 세포주 293 또는 293 세포(예를 들어 Graham *et al.*, 1977, *J. Gen Virol.*, 36:59 참고), 베이비 햄스터 신장 세포(BHK), 마우스 세르톨리 TM4 세포(예를 들어, Mather, 1980, *Biol Reprod.* 23:243-251 참고), 원숭이 신장 세포(CV1), 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포(VERO-76), 인간 자궁경부 암종(HeLa) 세포, 개 신장 세포(MDCK), 버팔로 래트 간 세포(BRL 3A), 인간 폐 세포(W138), 인간 간 세포(Hep G2), 마우스 유방 종양(MMT 060562), TRI 세포(예를 들어, Mather *et al.*, 1982, *Annals N.Y. Acad Sci.* 383:44-68 참고), MRC 5 세포, FS4 세포, 차이니스 햄스터 난소(CHO) 세포(DHFR⁻ CHO 세포 포함, Urlaub *et al.*, 1980, *Proc Natl Acad Sci USA*, 77:4216 참고), 및 골수종 세포주(예컨대 YO, NSO 및 Sp2/0)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 항체 작제물의 생성에 적합한 예시적인 포유동물 숙주 세포주는 문헌(Yazaki & Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248, pp. 255-268 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003))에서 리뷰로 다뤄진다.
- [0255] 특정 구현예에서, 숙주 세포는 포유동물 세포주와 같은 일시적이거나 안정한 고등 진핵 세포주일 수 있다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 포유동물 HEK293T, CHO, HeLa, NSO 또는 COS 세포주, 또는 이들 세포주 중 어느 하나로부터 유래된 세포주일 수 있다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 항체 작제물의 성숙한 글리코실화를 허용하는 안정한 세포주일 수 있다.
- [0256] 항-FR α 항체 작제물을 암호화하는 발현 벡터(들)를 포함하는 숙주 세포는 항-FR α 항체 작제물을 생성하기 위한 일상적인 방법을 사용하여 배양될 수 있다. 대안적으로, 일부 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물을 암호화하는 발현 벡터(들)를 포함하는 숙주 세포가 항-FR α 항체 작제물을 대상체에 전달하기 위해 치료적으로 또는 예방적으로 사용될 수 있거나, 폴리뉴클레오티드 또는 발현 벡터가 생체외로 대상체로부터의 세포에 투여된 후 그 세포를 대상체의 몸으로 돌려보낼 수 있다.
- [0257] 전형적으로 항-FR α 항체 작제물은 발현 후 정제된다. 단백질은 당업자에게 알려진 다양한 방식으로 단리 또는 정제될 수 있다(예를 들어, *Protein Purification: Principles and Practice*, 3rd Ed., Scopes, Springer-Verlag, NY, 1994 참고). 표준 정제 방법은 대기압에서 또는 FPLC 및 HPLC와 같은 시스템을 사용하여 고압에서

수행되는, 이온 교환, 소수성 상호작용, 친화도, 분립 또는 겔 여과, 및 역상을 포함하는 크로마토그래피 기술을 포함한다. 추가적인 정제 방법은 전기영동, 면역학적, 침전, 투석 및 크로마토포커싱 기술을 포함한다. 단백질 농축과 함께 한외여과 및 정용여과 기술도 유용하다. 당분야에 잘 알려진 바와 같이, 다양한 천연 단백질이 Fc 및 항체에 결합하고, 이들 단백질은 특정 항체 약제물의 정제에 사용될 수 있다. 예를 들어, 박테리아 단백질 A 및 G는 Fc 영역에 결합한다. 마찬가지로, 박테리아 단백질 L은 일부 항체의 Fab 영역에 결합한다. 정제는 또한 특정 용합 파트너에 의해 구현될 수 있다. 예를 들어, 항체는 GST 용합이 사용되는 경우 글루타치온 수지, His-태그가 사용되는 경우 Ni⁺² 친화도 크로마토그래피, 또는 플러그-태그가 사용되는 경우 고정화된 항-플러그 항체를 사용하여 정제될 수 있다. 필요한 정제 정도는 항-FR α 항체 약제물의 용도에 따라 달라질 것이다. 일부 경우에는 정제가 필요하지 않을 수 있다.

[0258] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 약제물은 실질적으로 순수하다. 본원에 기재된 항-FR α 항체 약제물과 관련하여 사용될 때 용어 "실질적으로 순수한"(또는 "실질적으로 정제된")은 항체 약제물에 일반적으로 천연 세포 또는 재조합적으로 생성된 약제물의 경우 숙주 세포와 같은, 그 자연 발생 환경에서 확인되는 단백질과 동반되거나 상호작용하는 성분이 실질적으로 또는 본질적으로 없음을 의미한다. 특정 구현예에서, 실질적으로 순수한 항-FR α 항체 약제물은 약 30% 미만, 약 25% 미만, 약 20% 미만, 약 15% 미만, 약 10% 미만, 또는 약 5%(건조 중량 기준) 미만의 오염 단백질을 갖는 단백질 조제물이다.

[0259] 본 개시의 특정 구현예는 항-FR α 항체 약제물을 항-FR α 항체 약제물의 발현에 적합한 조건 하에, 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드, 또는 항-FR α 항체 약제물을 암호화하는 하나 이상의 발현 벡터가 도입된 숙주 세포를 배양하는 단계 및 숙주 세포(또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 항-FR α 항체 약제물을 회수하는 단계를 포함하는, 항-FR α 항체 약제물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

[0260] **번역 후 변형**

[0261] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항-FR α 항체 약제물은 하나 이상의 번역 후 변형을 포함할 수 있다. 이러한 번역 후 변형은 생체내 발생할 수 있거나, 숙주 세포로부터의 항-FR α 항체 약제물의 단리 후 시험관내 수행될 수 있다.

[0262] 번역 후 변형은 당분야에 알려진 다양한 변형을 포함한다(예를 들어 *Proteins - Structure and Molecular Properties*, 2nd Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York, 1993; *Post-Translational Covalent Modification of Proteins*, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, pgs. 1-12, 1983; Seifter *et al.*, 1990, *Meth. Enzymol.*, 182:626-646, 및 Rattan *et al.*, 1992, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 663:48-62 참고). 항-FR α 항체 약제물이 하나 이상의 번역 후 변형을 포함하는 구현예에서, 약제물은 하나 또는 몇몇 부위에서 동일한 유형의 변형을 포함할 수 있거나, 상이한 부위에서 상이한 변형을 포함할 수 있다.

[0263] 번역 후 변형의 예는 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 아마이드화, 알려진 보호기/차단기에 의한 유도체화, 포르밀화, 산화, 환원, 단백질 분해 절단 또는 시아노젠 브로마이드, 트립신, 키모트립신, 파파인, V8 프로테아제 또는 NaBH₄에 의한 특이적 화학적 절단을 포함한다.

[0264] 번역 후 변형의 다른 예는, 예를 들어 N-연결 또는 O-연결 탄수화물 사슬의 부가 또는 제거, N-연결 또는 O-연결 탄수화물 사슬의 화학적 변형, N-말단 또는 C-말단 단부의 처리, 아미노산 골격에 대한 화학적 모이머티의 부착, 및 원핵 숙주 세포 발현으로 인한 N-말단 메티오닌 잔기의 부가 또는 결실을 포함한다. 번역 후 변형은 단백질의 검출 및 단리를 허용하는 효소, 형광, 발광, 동위원소 또는 친화도 표지와 같은 검출 가능 표지를 사용한 변형을 또한 포함할 수 있다. 적합한 효소 표지의 예는 홀스래디쉬 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제, 베타-갈락토시다제 및 아세틸콜린에스테라제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 적합한 보철기 복합체의 예는 스트렙타비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 적합한 형광 물질의 예는 움벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 단실 클로라이드 및 피코에리트린을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 발광 물질의 예는 루미놀, 및 루시페라제, 루시페린 및 애쿼린과 같은 생물발광 물질을 포함한다. 적합한 방사활성 물질의 예는 요오드, 탄소, 황, 삼중수소, 인듐, 테크네튬, 탈륨, 갈륨, 팔라듐, 몰리브덴, 제논 및 불소를 포함한다.

[0265] 번역 후 변형의 추가적인 예는 아실화, ADP-리보실화, 아마이드화, 플라빈의 공유 부착, 헴 모이머티의 공유 부착, 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유도체의 공유 부착, 지질 또는 지질 유도체의 공유 부착, 포스포티달이노시톨의 공유 부착, 가교, 고리화, 디설피드 결합 형성, 탈메틸화, 공유 가교의 형성, 시스템인의 형성, 피로글루타메이트의 형성, 감마-카복실화, GPI 앵커 형성, 하이드록실화, 요오드화, 메틸화, 미리스틸화, 페길화,

프레닐화, 라세미화, 셀레노일화, 황산화, 아르기닐화 및 유비퀴틴화와 같은 단백질에 아미노산의 전달 RNA 매개 부가를 포함한다.

[0266] **폴리뉴클레오티드, 벡터 및 숙주 세포**

[0267] 본 개시의 특정 구현에는 본원에 기재된 항-FR α 항체 작제물을 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 세트에 관한 것이다. 이와 관련하여 폴리뉴클레오티드는 항-FR α 항체 작제물의 전부 또는 일부를 암호화할 수 있다.

[0268] 용어 "핵산", "핵산 분자" 및 "폴리뉴클레오티드"는 본원에서 상호교환적으로 사용되며, 데옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드, 또는 이의 유사체 중 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합체 형태를 지칭한다. 폴리뉴클레오티드의 비제한적인 예는 유전자, 유전자 단편, 메신저 RNA(mRNA), cDNA, 재조합 폴리뉴클레오티드, 플라스미드, 벡터, 임의의 서열의 단리된 DNA, 임의의 서열의 단리된 RNA, 핵산 프로브 및 프라이머를 포함한다.

[0269] 주어진 폴리펩티드를 "암호화"하는 폴리뉴클레오티드는 적절한 조절 서열의 제어 하에 배치될 때 생체내 폴리펩티드로 전사(DNA의 경우)되고 번역(mRNA의 경우)되는 폴리뉴클레오티드이다. 코딩 서열의 경계는 5'(아미노) 말단의 시작 코돈과 3'(카복시) 말단의 번역 정지 코돈에 의해 결정된다. 전사 종결 서열은 코딩 서열의 3'에 위치할 수 있다.

[0270] 본 개시의 특정 구현에는 본원에 기재된 항-FR α 항체 작제물을 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터(예컨대 발현 벡터)에 관한 것이다. 폴리뉴클레오티드(들)는 단일 벡터 또는 하나 초과개의 벡터에 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 멀티시스템 벡터에 포함된다.

[0271] 본 개시의 특정 구현에는 본원에 기재된 항-FR α 항체 작제물을 암호화하는 폴리뉴클레오티드(들) 또는 폴리뉴클레오티드(들)를 포함하는 하나 이상의 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 진핵 세포, 예를 들어 차이니스 햄스터 난소(CHO) 세포, 인간 배아 신장(HEK) 세포 또는 림프 세포(예를 들어 YO, NS0, Sp20 세포)이다.

[0272] **항체-약물 접합체**

[0273] 본 개시의 특정 구현에는 세포독소 또는 면역 조절제와 같은 하나 이상의 약물 모이어티에 접합된 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물을 포함하는 항체-약물 접합체(ADC)에 관한 것이다.

[0274] 전형적으로, ADC에서 항-FR α 항체 작제물은 절단 가능 또는 절단 불가능 링커일 수 있는 링커를 통해 약물 모이어티에 접합된다. 항-FR α 항체 작제물은 단일 약물 분자에 접합될 수 있거나, 다중 약물 분자에 접합될 수 있다. 단일 항-FR α 항체 작제물에 접합된 약물 분자의 수는 약물 대 항체 비(DAR)에 의해 정의된다. 특정 구현예에서, 본 개시의 ADC에서, DAR은 약 1 내지 약 12, 또는 약 2 내지 약 12, 또는 약 2 내지 약 8의 범위이다.

[0275] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물을 포함하는 ADC는 화학식 I을 갖는다:

[0276] [화학식 I]

[0277] $A-(L-(D))_m)_n$

[0278] 식 중, A는 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물이고; L은 링커이고; D는 약물 모이어티이고; m은 1 내지 약 8이고, n은 1 내지 약 12이다.

[0279] 화학식 I의 특정 구현예에서, m은 1 내지 6이다. 일부 구현예에서, m은 1 또는 2이다. 일부 구현예에서, n은 약 1 내지 약 8, 예를 들어 약 2 내지 약 8이다.

[0280] 세포독성 또는 면역조절 ADC 페이로드로서 유용한 것으로 알려진 다양한 화합물이 항-FR α 항체 작제물을 포함하는 ADC에서 약물 모이어티로 사용될 수 있다. 예는 메이탄시노이드 및 메이탄시노이드 유사체, 벤조디아제핀 및 피롤로벤조디아제핀, 듀오카르마이신, 예컨대 CC-1065 및 이의 유사체, 칼리케아미신 및 칼리케아미신 유사체, 아우리스타틴 및 아우리스타틴 유사체, 헤미아스테를린 및 헤미아스테를린 유사체, 튜블리신 및 튜블리신 유사체, 아마톡신 및 아마톡신 유사체, 캄프토테신 및 캄프토테신 유사체, 에리블린, TLR 작용제(예컨대 TLR7 및/또는 TLR8의 작용제) 및 STING 작용제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0281] 특정 구현예에서, 본 개시의 ADC에 포함되는 약물 모이어티는 아우리스타틴 또는 아우리스타틴 유사체, 헤미아스테를린 또는 헤미아스테를린 유사체, 캄프토테신 또는 캄프토테신 유사체, 또는 에리블린이다.

- [0282] 전형적으로, 본 개시의 ADC에서, 약물 모이어티는 링커에 의해 항-FR α 항체 작제물에 연결된다. 링커는 하나 이상의 약물 분자를 항체 작제물에 연결할 수 있는 2기능성 또는 다기능성 모이어티이다. 일부 구현예에서, 링커는 단일 약물 분자를 항체 작제물 상의 단일 부위에 연결하도록 하는 2기능성(또는 1가)일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 하나 초과인 약물 분자를 항체 작제물 상의 단일 부위에 연결하도록 하는 다기능성(또는 다가)일 수 있다. 일부 구현예에서는 다기능성 링커가 또한 하나의 약물 분자를 항체 작제물 상의 하나 초과인 부위에 연결하기 위해 사용될 수 있다.
- [0283] 항-FR α 항체 작제물에 대한 링커의 부착은 표면 라이신, 산화된 탄수화물에 대한 환원성 커플링을 통하거나 사슬 간 디설피드 결합을 감소시켜 방출된 시스테인 잔기를 통하는 것과 같은 다양한 방식으로 달성될 수 있다. 대안적으로, 항-FR α 항체 작제물에 대한 링커의 부착은 추가적인 시스테인 잔기(예를 들어, U.S. 특허 번호 7,521,541; 8,455,622 및 9,000,130 참고) 또는 부위 특이적 접합을 허용하는 셀레노메티오닌, *p*-아세틸페닐알라닌, 포르밀글리신 또는 *p*-아지도메틸-L-페닐알라닌과 같은 반응성 핸들을 제공하는 비천연 아미노산을 포함하도록 항체 작제물을 변형함으로써 달성될 수 있다(예를 들어 Hofer *et al.*, 2009, *Biochemistry*, 48:12047-12057; Axup *et al.*, 2012, *PNAS*, 109:16101-16106; Wu *et al.*, 2009, *PNAS*, 106:3000-3005; Zimmerman *et al.*, 2014, *Bioconj. Chem.*, 25:351-361 참고). 추가 옵션은 무금속 클릭 화학에 의해 링커의 부착을 허용하는 항체 글리칸의 효소적 리모델링이 관여되는 GlycoConnect™ 기술(Synaffix BV, Nijmegen, Netherlands)을 사용하는 것이다(예를 들어, 유럽 특허 번호 EP 2 911 699 참고).
- [0284] 링커는 전형적으로 항원 결합 작제물 상의 표적기 또는 기들과 반응할 수 있는 작용기, 및 약물 모이어티 상의 상의 표적기와 반응할 수 있는 하나 이상의 작용기를 포함한다. 적합한 작용기는 문헌에 알려져 있고 예를 들어 문헌(*Bioconjugate Techniques* (G.T. Hermanson, 2013, Academic Press))에 기재된 것들을 포함한다. 유리 시스테인 또는 티올과 반응하기 위한 작용기의 비제한적 예는 말레이미드, 할로아세트아미드, 할로아세틸, 숙신이미드 에스테르, 4-니트로페닐 에스테르, 펜타플루오로페닐 에스테르, 테트라플루오로페닐 에스테르와 같은 활성화된 에스테르, 무수물, 산 클로라이드, 설폰일 클로라이드, 이소시아네이트 및 이소티오시아네이트를 포함한다. 이와 관련하여, 문헌(Lyon *et al.*, 2014, *Nat. Biotechnol.*, 32:1059-1062)에 기재된 것들과 같은 "자가-안정화" 말레이미드도 유용하다. 표면 라이신 및 아민과 반응하기 위한 작용기의 비제한적 예는 활성화된 에스테르(예컨대, N-하이드록시숙신아미드(NHS) 에스테르, 및 설폰-NHS 에스테르), 이미도 에스테르(예컨대 트라우트(Traut) 시약), 이소티오시아네이트, 알데히드 및 산 무수물(예컨대, 디에틸렌트리아민펜타아세트산 무수물(DTPA))을 포함한다. 다른 예는 카복실산을 이어서 아민과 반응시킬 수 있는 활성화 에스테르로 전환하기 위한 숙신이미도-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트(TSTU) 또는 벤조트리아졸-1-일-옥시트리피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스페이트(PyBOP)의 사용을 포함한다. 항체 작제물 또는 약물 모이어티 상의 친전자기(예컨대 알데히드 또는 케톤 카보닐기)와 반응할 수 있는 작용기의 비제한적인 예는 하이드라지드, 옥심, 아미노, 하이드라진, 티오세미카바존, 하이드라진 카복실레이트 및 아릴하이드라지드를 포함한다.
- [0285] 특정 구현예에서, ThioBridge™ 링커(Badescu *et al.*, 2014, *Bioconj. Chem.*, 25:1124-1136), 디티오말레이미드(DTM) 링커(Behrens *et al.*, 2015, *Mol. Pharm.*, 12:3986-3998), 디티오아릴(TCEP)피리다진디온 기반 링커(Lee *et al.*, 2016, *Chem. Sci.*, 7:799-802) 또는 디브로모피리다진디온 기반 링커(Maruani *et al.*, 2015, *Nat. Commun.*, 6:6645)와 같은, 항체 결합 작제물 상의 2개의 사슬간 시스테인의 가교를 허용하는 작용기를 포함하는 링커가 사용될 수 있다.
- [0286] 하이드라존-, 디설피드- 및 펩티드-기반 링커를 포함하는, 약물을 항체에 연결하기 위한 다양한 링커가 당분야에 알려져 있다. 링커는 절단 가능하거나 절단 불가능할 수 있다. 절단 가능 링커는 전형적으로 세포내 조건 하에, 예를 들어 리소좀 공정을 통해 절단되기 쉽다. 예는 프로테아제 민감성, 산 민감성 또는 환원 민감성 링커를 포함한다. 대조적으로 절단 불가능 링커는 세포 내 항체의 분해에 의존하며, 이는 전형적으로 아미노산-링커-약물 모이어티의 방출을 초래한다.
- [0287] 특정 구현예에서 유용할 수 있는 절단 가능 링커의 예는 리소좀 프로테아제 또는 엔도솜 프로테아제와 같은 세포내 프로테아제에 의해 절단 가능한 펩티드 함유 링커이다. 예는 디펩티드 Val-Cit, Phe-Lys, Val-Lys, Ala-Lys, Phe-Lys, Val-Cit, Phe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Phe-Arg, Ala-Phe, Val-Ala, Met-Lys, Asn-Lys, Ile-Pro, Ile-Val, Asp-Val, His-Val, Met-(D)Lys, Asn-(D)Lys, Val-(D)Asp, NorVal-(D)Asp, Ala-(D)Asp, Me₃Lys-Pro, PhenylGly-(D)Lys, Met-(D)Lys, Asn-(D)Lys, Pro-(D)Lys 또는 Met-(D)Lys을 포함하는 것들과 같은 디펩티드 함유 링커; 트리펩티드 Met-Cit-Val, Gly-Cit-Val, (D)Phe-Phe-Lys 또는 (D)Ala-Phe-Lys을 포함하는 것들과 같은 트리펩티드 함유 링커, 및 테트라펩티드 Gly-Phe-Leu-Gly, Gly-Gly-Phe-Gly 또는 Ala-

Leu-Ala-Leu을 포함하는 것들과 같은 테트라펩티드 함유 링커를 포함한다.

[0288] 추가적인 유용한 절단 가능 링커는 디설피드 함유 링커 및 하이드라존 링커와 같은, 특정 pH에서 또는 pH 범위 내에서 가수분해 가능한 링커를 포함한다. 디설피드 함유 링커의 예는 N-숙신이미딜-4-(2-피리딜디티오) 부타노에이트(SPDB) 및 N-숙신이미딜-4-(2-피리딜디티오)-2-설포 부타노에이트(설포-SPDB)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 디설피드-함유 링커는 링커의 세포외 안정성을 개선하기 위해 디설피드 결합에 인접한 입체 장애를 제공하는 추가적 기, 예를 들어 이중(geminal) 디메틸기의 혼입을 임의로 포함할 수 있다. 이들 작용기의 조합을 포함하는 링커도 유용할 수 있으며, 예를 들어 하이드라존 및 디설피드를 둘 모두 포함하는 링커가 당분야에 알려져 있다.

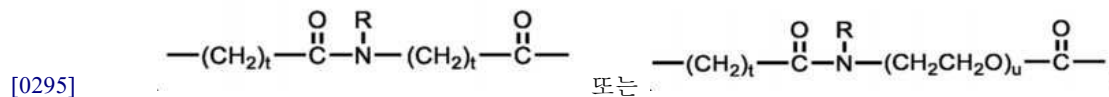
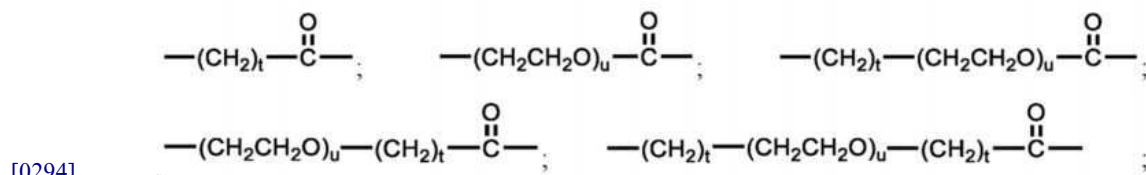
[0289] 절단 가능 링커의 추가 예는 리소좀 및 종양 간질에 존재하는 효소인 β-글루쿠로니다제에 의해 절단 가능한, β-글루쿠로니다스를 포함하는 링커이다(예를 들어 De Graaf *et al.*, 2002, *Curr. Pharm. Des.* 8:1391-1403 참고).

[0290] 절단 가능 링커는 임의로 하나 이상의 추가적 기능, 예컨대 자가 희생/자가 제거기, 스트레처 또는 친수성 모이어티를 추가로 포함할 수 있다.

[0291] 링커에서 사용되는 자가 희생 및 자가 제거기는 예를 들어 *p*-아미노벤질(PAB) 및 *p*-아미노벤질옥시카보닐(PABC)기, 메틸화된 에틸렌 디아민(MED) 및 헤미-아미날기를 포함한다. 자가 희생기의 다른 예는 PABC 또는 PABE 기와 전자적으로 유사한 방향족 화합물, 예컨대 헤테로사이클릭 유도체, 예를 들어 미국 특허 7,375,078에 기재된 바와 같은 2-아미노이미다졸-5-메탄올 유도체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 다른 예는 아마이드 결합 가수분해 시 고리화를 거치는 기, 예컨대 치환 및 비치환 4-아미노부티르산 아마이드(Rodrigues *et al.*, 1995, *Chemistry Biology* 2:223-227) 및 2-아미노페닐프로피온산 아마이드(Amsberry, *et al.*, 1990, *J. Org. Chem.* 55:5867-5877)를 포함한다. 자가 희생/자가 제거기는 단독으로 또는 조합으로 종종 펩티드 기반 링커에 포함되지만 다른 유형의 링커에도 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 하나 이상의 자가 희생/자가 제거기, 예를 들어 PABC 기, PABE 기, 또는 PABC 또는 PABE 기 및 MED의 조합을 포함할 수 있다.

[0292] ADC를 위한 링커에서 사용되는 스트레처는 예를 들어 알킬렌기 및 지방족 산, 이산, 아민 또는 디아민에 기반한 스트레처, 예를 들어 디글리콜레이트, 말로네이트, 카프로에이트 및 카프로아미드를 포함한다. 다른 스트레처는 예를 들어 글리신 기반 스트레처 및 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 또는 모노메톡시 폴리에틸렌 글리콜(mPEG) 스트레처를 포함한다. PEG 및 mPEG 스트레처는 또한 친수성 모이어티로도 기능하며 다른 약물과 함께 링커에서의 이의 사용이 또한 일부 구현예에서 고려되지만, 소수성 약물과 함께 특히 유용할 수 있다.

[0293] 특정 구현예에서, 스트레처는 하기 구조 중 하나를 가질 수 있다:



[0296] 식 중,

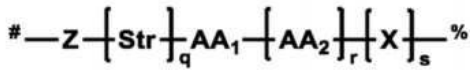
[0297] R은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

[0298] t는 2 내지 10의 정수이고,

[0299] u는 1 내지 10의 정수이다.

[0300] 일부 구현예에서, 화학식 I의 ADC에서, 링커 L은 화학식 II를 갖는 절단 가능 링커이다:

[0301] [화학식 II]



[0302]

[0303] 식 중,

[0304] Z는 링커를 항-FR α 항체 작제물 A 상의 표적기에 연결하는 연결기이고;

[0305] Str은 스트레처이고;

[0306] AA₁ 및 AA₂는 각각 독립적으로 아미노산이고, AA₁-[AA₂]_r은 프로테아제 절단 부위를 형성하고;

[0307] X는 자가 희생기이고;

[0308] q는 0 또는 1이고;

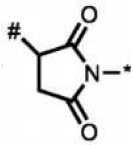
[0309] r은 1, 2 또는 3이고;

[0310] s는 0, 1 또는 2이고;

[0311] #은 항-FR α 항체 작제물 A에 대한 부착점이고,

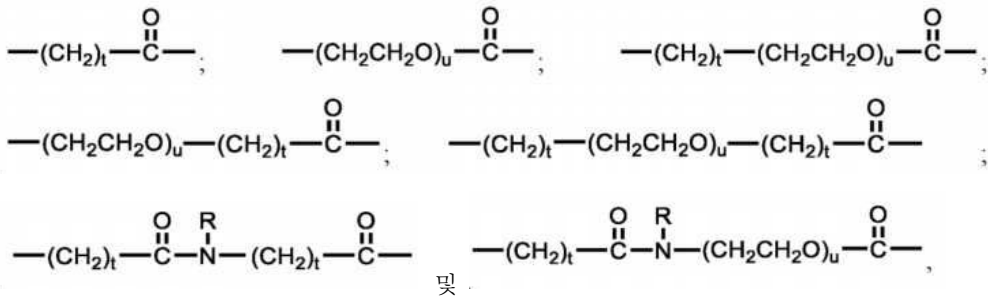
[0312] %는 약물 모이어티 D에 대한 부착점이다.

[0313] 일부 구현예에서, 화학식 II의 링커에서,



[0314] Z는 이고, #은 A에 대한 부착점이고, *는 링커의 나머지에 대한 부착점이다.

[0315] 일부 구현예에서, 화학식 II의 링커에서, Str은 다음으로부터 선택된다:



[0316]

[0317] 식 중,

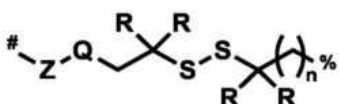
[0318] R은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

[0319] t는 2 내지 10의 정수이고,

[0320] u는 1 내지 10의 정수이다.

[0321] 일부 구현예에서, 화학식 I의 ADC는 디설피드 함유 링커를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 화학식 I의 ADC에서, 링커 L은 화학식 III을 갖는 절단 가능 링커이다:

[0322] [화학식 III]



[0323]

- [0324] 식 중,
- [0325] Z는 링커를 항-FR α 항체 작제물 A 상의 표적기에 연결하는 연결기이고;
- [0326] Q는 $-(CH_2)_p-$ 또는 $-(CH_2CH_2O)_q-$ 이고, p 및 q는 각각 독립적으로 1 내지 10의 정수이고;
- [0327] 각 R은 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;
- [0328] n은 1, 2 또는 3이고;
- [0329] #은 항-FR α 항체 작제물 A에 대한 부착점이고,
- [0330] %는 약물 모이어티 D에 대한 부착점이다.
- [0331] 일부 구현예에서, 화학식 I의 ADC는 β -글루쿠로니드 함유 링커를 포함할 수 있다.
- [0332] 약물을 항체에 연결하기 위한 다양한 절단 불가능 링커가 당분야에 알려져 있으며 특정 구현예에서 본 개시의 ADC에 유용할 수 있다. 절단 불가능 링커의 예는 항체와의 반응을 위한 N-숙신이미딜 에스테르 또는 N-셀포숙신 이미딜 에스테르 모이어티뿐만 아니라 약물과의 반응을 위한 말레이미도- 또는 할로아세틸-기반 모이어티를 갖는 또는 그 반대의 링커를 포함한다. 이러한 절단 불가능 링커의 예는 셀포숙신이미딜-4-[N-말레이미도메틸]사이클로헥산-1-카복실레이트(셀포-SMCC)에 기반한다. 셀포-SMCC 접합은 전형적으로 설프하이드릴(티올, -SH)과 반응하는 말레이미드기를 통해 발생하는 반면, 셀포-NHS 에스테르는 1차 아민에 대해 반응성이다. 이러한 링커의 다른 비제한적인 예는 N-숙신이미딜 4-(말레이미도메틸)사이클로헥산카복실레이트(SMCC), N-숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)-사이클로헥산-1-카복시-(6-아미도카프로에이트)("장쇄" SMCC 또는 LC-SMCC), κ -말레이미도 운데칸산 N-숙신이미딜 에스테르(KMUA), γ -말레이미도부티르산 N-숙신이미딜 에스테르(GMBS), ϵ -말레이미도카 프로산 N-하이드록시숙신이미드 에스테르(EMCS), m-말레이미도벤조일-N-하이드록시숙신이미드 에스테르(MBS), N-(α -말레이미도아세톡시)-숙신이미드 에스테르(AMAS), 숙신이미딜-6-(β -말레이미도프로피온아미도)헥사노에 이트(SMPH), N-숙신이미딜 4-(p-말레이미도페닐)-부티레이트(SMPB) 및 N-(p-말레이미도페닐)이소시아네이트 (PMPI)에 기반한 것들을 포함한다. 다른 예는 할로아세틸 기반 작용기를 포함하는 것들, 예컨대 N-숙신이미딜-4-(요오도아세틸)-아미노벤조에이트(SIAB), N-숙신이미딜 요오도아세테이트(SIA), N-숙신이미딜 브로모아세테이 트(SBA) 및 N-숙신이미딜 3-(브로모아세틸아미도)프로피오네이트(SBAP)를 포함한다.
- [0333] 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물을 포함하는 ADC는 표준 유기 화학 반응, 조건 및 시약을 사용하여, 당분야에 알려진 몇몇 경로 중 하나에 의해 제조될 수 있다(예를 들어, *Bioconjugate Techniques* (G.T. Hermanson, 2013, Academic Press) 참고. 예를 들어, 접합은 (1) 공유 결합을 통해 항체-링커 중간체 A-L을 형 성하는, 항체 작제물의 작용기와 2가 링커 시약의 반응에 이어 활성화된 약물 모이어티 D와의 반응에 의해 또는 (2) 공유 결합을 통해 약물-링커 중간체 D-L을 형성하는, 약물 모이어티와 링커 시약의 작용기의 반응에 이어 항체 작제물의 작용기와 반응에 의해 달성될 수 있다. 접합 방법 (1) 및 (2)는 다양한 항체 작제물, 약물 모 이어티 및 링커와 함께 사용되어 본원에 기재된 바와 같은 ADC를 제조할 수 있다.
- [0334] 다양한 제조된 링커, 링커 성분 및 약물은 시판되거나 표준 합성 유기 화학 기술을 사용하여 제조될 수 있다(예 를 들어, *March's Advanced Organic Chemistry* (Smith & March, 2006, Sixth Ed., Wiley); Toki *et al.*, 2002, *J. Org. Chem.*, 67:1866-1872; Frisch *et al.*, 1997, *Bioconj. Chem.*, 7:180-186; *Bioconjugate Techniques* (G.T. Hermanson, 2013, Academic Press), 및 *Antibody-Drug Conjugates: Methods in Molecular Biology* (Ducry (Ed.), 2013, Springer) 참고). 또한, 선택 항체 작제물과의 반응에 적합한 여러 사전-형성된 약물-링커가 또한 시판되며, 예를 들어 DM1, DM4, MMAE, MMAF 또는 듀오카르마이신 SA를 포함하는 약물-링커는 Creative BioLabs(Shirley, NY)으로부터 이용 가능하다. 다양한 항체 약물 접합 서비스가 또한 Lonza Inc.(Allendale, NJ), Abzena PLC(Cambridge, UK), ADC Biotechnology(St. Asaph, UK), Baxter BioPharma Solutions(Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, IL) 및 Piramal Pharma Solutions(Grangemouth, UK)와 같은 회사로부터 시판된다.
- [0335] 일단 제조된 ADC는 크로마토그래피(예를 들어, HPLC, 크기 배제, 흡착, 이온 교환 및/또는 친화도 포획), 투석 및/또는 접선 유동 여과와 같은 표준 기술에 의해 정제될 수 있다.
- [0336] **사용 방법**
- [0337] 본 개시의 특정 측면은 항-FR α 항체 작제물 및 ADC의 치료 또는 진단 용도에 관한 것이다. FR α 는 매우 다양한 암에서 과발현되며, 따라서 본 개시의 특정 구현예는 FR α 양성 암의 치료 또는 진단에서 항-FR α 항체 작제물

및 ADC를 사용하는 방법에 관한 것이다.

- [0338] 특정 구현에는 세포를 본원에 기재된 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC와 접촉시키는 단계를 포함하는 FR α 양성 종양 세포의 성장을 억제하는 방법에 관한 것이다. 세포는 시험관내 또는 생체내 세포일 수 있다. 특정 구현에서, 항-FR α 항체 작제물 및 ADC는 대상체에서 FR α 양성 암 또는 종양을 치료하는 방법에서 사용될 수 있다.
- [0339] FR α 를 과발현하는 암은 전형적으로 고형 종양이다. 예는 난소암, 자궁내막암, 폐암(예컨대 비소세포 폐암(NSCLC)), 중피종, 유방암(삼중 음성 유방암(TNBC) 포함), 결장직장암, 담도암, 췌장암 및 식도암을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 개시의 특정 구현에는 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC를 사용하여 FR α 양성 암을 치료하는 방법에 관한 것이며, 암은 난소암, 자궁내막암, 폐암(예컨대 비소세포 폐암(NSCLC)), 중피종, 유방암, 결장직장암, 담도암, 췌장암 또는 식도암이다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC는 삼중 음성 유방암(TNBC)을 치료하는 데 유용할 수 있다.
- [0340] FR α 양성 암의 치료는 증상 완화, 종양 크기 축소, 종양 성장 억제, 질환의 하나 이상의 직간접적 병리적 결과 감소, 전이 방지, 질환 진행 속도 감소, 질환 상태의 개선 또는 경감, 생존 개선, 무진행 생존 증가, 관해 및/또는 예후 개선 중 하나 이상을 초래할 수 있다.
- [0341] 특정 구현예에서, 암의 치료에서 사용될 때, 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC는, 예를 들어 대상체의 혈류로의 볼루스 주사 또는 연속 주입에 의해 치료될 대상체에 전신 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 암의 치료에서 사용될 때, 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC는 치료될 부위에 국소적으로 대상체에 투여될 수 있다.
- [0342] 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC가 단독으로 사용될 수 있거나 암 치료에서 전형적으로 사용되는 하나 이상의 알려진 화학치료제 또는 면역치료제와 조합하여 사용될 수 있음이 고려된다. 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC와 표준 화학치료제 또는 면역치료제의 조합은 화학치료제 또는 면역치료제의 유효성을 개선하는 역할을 할 수 있으며, 따라서 표준 암 치료법을 개선할 수 있다. 이 적용은 표준 치료에 반응하지 않는 약물 내성 암의 치료에서 중요할 수 있다. 하나 이상의 알려진 화학치료제 또는 면역치료제와 함께 사용될 때, 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC는 화학치료제 또는 면역치료제의 투여 전에 또는 후에 투여될 수 있거나, 이들은 동시에 투여될 수 있다.
- [0343] 투여될 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC의 투여량에는 정의된 제한이 적용되지 않지만, 이는 치료 유효량일 것이다. "치료 유효량"은 대상체에 투여될 때, 특정 적응증을 치료하기 충분한, 본원에 기재된 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC의 양을 지칭한다. 암 치료와 관련하여 치료 유효량의 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC는, 예를 들어 하기 효과: 암 세포 수 감소, 종양 크기 감소, 말초 장기로의 암 세포 침윤 억제, 종양 전이 억제, 종양 성장 억제; 생존 시간 증가 및/또는 암과 관련된 하나 이상의 증상의 어느 정도까지의 완화 중 하나 이상을 가질 수 있다. 암 치료법의 경우, 유효성은 대안적으로, 예를 들어 질환 진행까지의 시간(TTP)을 평가하고/하거나 반응률(RR)을 결정함으로써 측정될 수 있다.
- [0344] 특정 구현에는 본원에 기재된 항-FR α 항체 작제물을 사용하여, 세포 또는 조직을 포함하는 샘플과 같은 생물학적 샘플에서 FR α 의 존재를 검출하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 환자, 예를 들어 암을 갖는 것으로 알려졌거나 의심되는 환자로부터 채취되었을 수 있다. 일부 구현에는 샘플을 본원에 기재된 항-FR α 항체 작제물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 생물학적 샘플에서 FR α 의 존재를 검출하는 방법에 관한 것이다.
- [0345] 특정 구현에는 본원에 기재된 항-FR α 항체 작제물을 사용하여, 암과 같은 FR α 의 발현 증가와 관련된 장애를 진단하는 방법에 관한 것이다. 진단 방법은 항-FR α 항체 작제물이 대상체에 투여되는 생체내 방법일 수도 있고, 대상체로부터 채취된 샘플이 항-FR α 항체 작제물과 접촉되는 시험관내 방법일 수도 있다. 생체내 방법의 경우, 투여는 전신적이거나 국소적일 수 있다.
- [0346] FR α 의 존재를 검출하거나 FR α 의 발현 증가와 관련된 장애를 진단하는 방법에서, 항-FR α 항체 작제물은 당분야에 알려진 바와 같은 형광, 발광, 발색, 화학발광, 방사활성 또는 효소 표지와 같은 검출 가능 표지로 표시될 수 있다.
- [0347] **약학 조성물**
- [0348] 치료적 용도를 위해, 항-FR α 작제물 및 ADC는 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약학 조성물 형태로 제공될 수 있다. 이 조성물은 잘 알려져 있고 쉽게 이용 가능한 구성분을 사용하여 알려진 절차에 의해 제조될 수 있다.
- [0349] 약학 조성물은 예를 들어 비경구, 경구(예를 들어 협측 또는 설하 포함), 국소, 직장 또는 질 경로에 의해, 또

는 흡입 또는 스프레이에 의해 대상체에 대한 투여를 위해 제형화될 수 있다. "비경구" 투여는 피하 주사, 또는 피내, 관절내, 정맥내, 근육내, 혈관내, 흉골내 또는 척수강내 주사 또는 주입일 수 있다. 약학 조성물은 전형적으로 대상체에 대한 투여에 적합한 형식, 예를 들어 시럽, 엘릭서, 정제, 트로키, 로젠지, 경질 또는 연질 캡슐, 알약, 좌제, 유성 또는 수성 현탁액, 분산성 분말 또는 과립, 유제, 주사제 또는 용액으로 제형화될 것이다. 약학 조성물은 단위 투여량 제형으로 제공될 수 있다.

[0350] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC를 포함하는 약학 조성물은 주입에 의한 비경구 투여용으로 또는 단위 투여량 주사제 형태로, 예를 들어 동결건조 제형물 또는 수용액으로 제형화될 수 있다.

[0351] 약학적으로 허용 가능한 담체는 일반적으로 사용되는 투여량 및 농도에서 수신체에 무독성이다. 이러한 담체의 예는 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기 산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌과 같은 항산화제; 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 벤잘코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드, 페놀, 부틸 알코올, 벤질 알코올, 알킬 파라벤(예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤), 카테콜, 레조르시놀, 사이클로헥산올, 3-펜탄올 및 m-크레졸과 같은 보존제; 저분자량(약 10개 미만 잔기의) 폴리펩티드; 혈청 알부민 또는 젤라틴과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 라이신과 같은 아미노산; 단당류, 이당류 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트린과 같은 다른 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨과 같은 당; 나트륨과 같은 염 형성 짝이온; Zn-단백질 복합체와 같은 금속 복합체 및 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 비이온성 계면활성제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0352] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC를 포함하는 약학 조성물은 멸균 주사제 수성 또는 유성 용액 또는 현탁액의 형태일 수 있다. 이러한 현탁액은 당분야에 알려진 적합한 분산제 또는 수화제 및/또는 현탁화제를 사용하여 제형화될 수 있다. 멸균 주사제 용액 또는 현탁액은 무독성의 비경구적으로 허용 가능한 희석제 또는 용매 중 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC를 포함할 수 있다. 사용될 수 있는 허용 가능한 희석제 및 용매는 예를 들어 1,3-부탄디올, 물, 링거 용액 또는 등장성 나트륨 클로라이드 용액을 포함한다. 또한 멸균 신전유가 용매 또는 현탁 매질로서 사용될 수 있다. 이러한 목적을 위해 합성 모노글리세리드 또는 디글리세리드를 포함하는 다양한 무자극 신전유가 사용될 수 있다. 또한, 지방산, 예컨대 올레산이 주사제의 제조에서 사용된다. 보존제, 예컨대 국소 마취제, 보존제 및/또는 완충제도 주사제 용액 또는 현탁액에 포함될 수 있다.

[0353] 특정 구현예에서, 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC를 포함하는 약학 조성물은 대상체, 예를 들어 인간에 대한 정맥내 투여용으로 제형화될 수 있다. 전형적으로, 정맥내 투여용 조성물은 멸균 등장성 수성 완충액 중 용액이다. 필요한 경우, 조성물은 또한 가용화제 및/또는 주사 부위의 통증을 완화시키기 위한 리그노카인과 같은 국소 마취제를 포함할 수 있다. 일반적으로, 구성분은 별도로 또는 단위 투여형으로 함께 혼합되어, 예를 들어 활성 제제의 양을 표시하는 앰플 또는 사체트와 같이 습윤 밀봉된 용기 중 건조 동결건조 분말 또는 무수 농축물로서 공급된다. 조성물이 주입에 의해 투여되는 경우, 멸균 약학 등급의 물 또는 식염수를 함유하는 주입병을 사용하여 분배될 수 있다. 조성물이 주사제로 투여되는 경우, 투여 전에 각 구성분이 혼합될 수 있도록 멸균 주사용수 또는 식염수 앰플이 제공될 수 있다.

[0354] 다른 약학 조성물 및 약학 조성물을 제조하는 방법이 당분야에 알려져 있으며, 예를 들어 문헌("Remington: The Science and Practice of Pharmacy" (formerly "Remingtons Pharmaceutical Sciences"); Gennaro, A., Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, PA (2000))에 기재되었다.

[0355] **약학 키트**

[0356] 특정 구현예는 본원에 기재된 바와 같은 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC를 포함하는 약학 키트에 관한 것이다.

[0357] 키트는 전형적으로 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC를 보유하는 용기 및 용기 상에 또는 이와 관련된 표지 또는 패키지 삽입물을 포함할 것이다. "표지 또는 패키지 삽입물"은 이러한 치료 제품의 사용에 관한 적응증, 용법, 투여량, 투여, 금기 및/또는 경고에 대한 정보를 제공하는, 치료 제품의 상업적 패키지에 통상적으로 포함된 지침을 함유한다. 표지 또는 패키지 삽입물은 의약품 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 당국에 의해 규정된 형식의 공지를 추가로 포함할 수 있으며, 이 공지는 인간 또는 동물 투여를 위한 사용 또는 판매에 대한 제조 당국의 승인을 반영한다. 일부 구현예에서 용기는 멸균 접근 포트를 가질 수 있다. 예를 들어, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 갖는 바이알일 수 있다.

[0358] 항-FR α 항체 작제물 또는 ADC를 보유하는 용기에 더하여, 키트는 임의로 키트의 다른 성분을 포함하는 하나 이상의 추가 용기를 포함할 수 있다. 예를 들어, 약학적으로 허용 가능한 완충액(예컨대 정균 주사용수(BWFI), 인

산업 완충 식염수, 링거 용액 또는 텍스트로스 용액), 다른 완충액 또는 희석제.

- [0359] 적합한 용기는, 예를 들어 병, 바이알, 주사기, 정맥내 용액 백 등을 포함한다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 물질로 형성될 수 있다. 적절한 경우, 키트의 하나 이상의 성분은 동결건조되거나 건조 형태, 예컨대 분말 또는 과립으로서 제공될 수 있으며, 키트는 추가로 동결건조되거나 건조된 성분(들)의 재구성을 위해 적합한 용매를 함유할 수 있다.
- [0360] 키트는 필터, 바늘 및 주사기와 같이 상업적 또는 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.
- [0361] 하기 실시예는 설명의 목적으로 제공되며 어떤 방식으로든 발명의 범위를 제한하도록 의도되지 않는다.
- [0362] **실시예**
- [0363] **일반사항**
- [0364] **생물학적 검정:** 세포주 및 CDX 모델에서 FR α 의 발현 수준은 연구 수준 IHC 검정을 사용하여 자체적으로 평가하고 상대 발현 수준(고/중/저 또는 강함/중등도/약함)을 배정했다. PDX 모델은 보관 종양 샘플을 사용하여 유사하게 평가하였다.
- [0365] **실시예 1: 항-엽산 수용체 알파 항체의 제조**
- [0366] 아래에 기재된 바와 같이 토끼를 인간 FR α 항원으로 면역화하고, 단리하고 시퀀싱하여 엽산 수용체 알파(FR α)에 특이적으로 결합하는 항체를 생성하였다.
- [0367] **1.1 면역화**
- [0368] 가용성 HIS-태그화 인간 엽산 수용체 1 항원(FR α -HIS)(ACROBiosystems, Newark, DE; Cat# F01-H82E2)으로 면역화된 토끼에서 FR α 에 대한 항체를 생성하였다. 간략하게, 토끼의 등쪽 몸을 따라 3개 부위(0.333 mL/부위)에 피하 투여되는 명반(5 mg/주사)/CpG(10 μ g/주사)와 혼합된 200 μ g의 FR α -HIS 항원으로 구성된 1차 부스팅으로 2마리의 뉴질랜드 흰토끼를 면역화하였다. 이어서 명반(5 mg/주사)/CpG(10 μ g/주사)와 혼합된 100 μ g의 FR α -HIS 항원으로 4회 면역화했다. 각 면역화는 14일 간격으로 구분되었다. 혈청학적 검사를 위해 4차 면역화 전에 동물에서 채혈했다.
- [0369] **1.2 수확을 위한 동물의 선택**
- [0370] 항-인간 FR α 항체 역가는 인간 FR α 를 발현하는 CHO 세포를 사용하여 유세포 측정으로 결정하였다. 간략하게, CHO 세포를 Lipofectamine™ 2000(Thermo Fisher Scientific Corp., Waltham, MA)에 대한 제조업체의 지침에 따라 인간 FR α 를 암호화하는 pTT5 기반 발현 플라스미드(National Research Council of Canada)로 일시적으로 형질감염시켰다. 1:400에서 시작하여 11개 지점에 걸쳐 연속적으로 1:2로 희석된 면역화된 토끼 혈청의 희석액을 인간 FR α 를 일시적으로 발현하는 50,000개의 CHO 세포와 함께 30분 동안 인큐베이션했다. 그런 다음 샘플을 세척하고, 유세포 측정으로 Alexa Fluor-647(Jackson Immuno Research Labs, West Grove, PA)에 접합된 염소 항-토끼 2차 항체를 사용하여 항체 결합을 검출했다. 배경보다 적어도 2배 높은 형광 신호를 나타내는 가장 높은 희석 샘플을 확인하여 역가를 결정했다.
- [0371] **1.3 B 세포 회수 및 항-인간 FR α 항체의 발견**
- [0372] 100,000 초과인 원하는 역가를 갖는 면역화된 토끼를 희생시키고, 비장을 수확하였다. 림프구 세포를 FACS 완충액(PBS, 2% v/v FBS) 중 분쇄함으로써 해리하여 조직으로부터 세포를 방출시켰다. 세포를 펠릿화한 후 5 mL의 Pharm Lyse™(Becton, Dickinson & Co., Franklin Lakes, NJ) 중 1분 동안 현탁하여 적혈구를 용해시켰다. 동일한 부피의 FACS 완충액을 첨가하여 Pharm Lyse™를 중화하고, 생성된 림프구 샘플을 펠릿화하고 FACS 완충액 중 재현탁하였다.
- [0373] 그런 다음 림프구 현탁액을 염소 항-토끼 IgG Alexa Fluor-647(Jackson Immuno Research Labs, West Grove, PA)로 염색하여 IgG+ B 세포를 확인했다. 염색 30분 후, IgG+ B 세포를 FACSaria™(Becton, Dickinson & Co., Franklin Lakes, NJ)에서 분류하고 계수했다. 선택 림프구 항체 방법(SLAM)(Babcock *et al.*, 1996, *Proc Natl Acad Sci USA*, 93(15):7843-7848)을 사용하여, B 세포를 384웰 플레이트에서 단일 세포부터 최대 50개 세포까지의 범위인 상이한 밀도로 플레이팅하고, 7일 동안 배양에서 증식시키고 항-인간 FR α 항체 검출을 위해 상청액을 수확했다. 384웰 플레이트는 -80°C에서 보관하였다.

- [0374] 상청액을 ELISA에 의해 인간 FR α 특이적 모노클로날 항체에 대해 스크리닝하였다. 384웰 ELISA 플레이트를 PBS 중 25 μ L/웰의 인간 FR α -HIS(2 μ g/mL)로 코팅한 다음, 4°C에서 밤새 인큐베이션했다. 인큐베이션 후, 플레이트를 물로 2회 세척하고, 90 μ L/웰 차단 완충액(2% 탈지유, PBS)을 첨가하고 플레이트를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션했다. 인큐베이션 후, 플레이트를 세척하고 12.5 μ L/웰의 항체 함유 상청액 + 12.5 μ L 차단 완충액, 그리고 양성 및 음성 대조군을 첨가하고 플레이트를 실온에서 2시간 동안 인큐베이션했다.
- [0375] 인큐베이션 후, 플레이트를 세척하고, 25 μ L의 0.4 μ g/mL 염소 항-토끼 IgG Fc-HRP 검출 항체(Jackson Immuno Research Labs, West Grove, PA)를 각 웰에 첨가하고 플레이트를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션했다. 인큐베이션 후, 플레이트를 세척하고 25 μ L의 테트라메틸벤지딘(TMB)을 첨가하고 플레이트를 약 10분 동안 현상하였다(음성 대조군 웰에서 신호가 나타나기 시작할 때까지). 그 다음 25 μ L 정지 용액(1 N HCL)을 각 웰에 첨가하고 플레이트를 Synergy™ H1 마이크로플레이트(BioTek Instruments, Winooski, VT)에서 파장 450 nm에서 판독했다.
- [0376] **1.4 항-인간 FR α 항체 시퀀싱**
- [0377] 제조업체의 프로토콜에 따라 RNeasy(Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하여 원하는 특성을 갖는 항체를 함유하는 웰로부터 총 RNA를 추출했다. 생성된 총 RNA를 SuperScript™ III(Thermo Fisher Scientific Corp., Waltham, MA) 및 올리고-dT20(Integrated DNA Technologies, Inc., Coralville, IA)과 함께 주형으로 사용하여 mRNA로부터 cDNA를 전사했다. 이어서 cDNA를 RNaseH(New England Biolabs, Ipswich, MA)로 처리했다. 중쇄 및 경쇄 항체-코딩 서열의 초기 PCR은 cDNA를 핵산 주형으로 사용하여 문헌(Babcock *et al.*, 1996, *Proc Natl Acad Sci USA*, 93(15):7843-7848 및 von Boehmer *et al.*, 2016, *Nat Protoc.*, 11(10):1908)으로부터 변형된 프라이머 및 방법을 사용하여 수행하였다. Zero Blunt™ TOPO™ PCR 클로닝 키트(Thermo Fisher Scientific Corp., Waltham, MA)를 사용하여 PCR 생성물을 pCRTOP04에 클로닝하고 E. cloni® 세포(Lucigen Corporation, Middleton, WI)에 형질전환하였다. 항생제 내성 클론을 Sanger 시퀀싱하고 고유한 항체-코딩 서열을 분석했다.
- [0378] 그런 다음 V-절편 패밀리 및 J-절편 패밀리 특이적 프라이머를 사용하여 이러한 고유한 서열에 대해 후속 PCR 반응을 수행했다. 생성된 앰플리콘을 pTT5 기반 발현 플라스미드(National Research Council of Canada)에 클로닝했다. 단일 웰 샘플에서 나온 고유한 중쇄 서열 및 경쇄 서열을 HEK293-6E 세포(National Research Council of Canada)에서 가능한 모든 조합으로 공동 발현시켜 올바른 중쇄 및 경쇄 쌍 형성을 결정했다. 생성된 항체를 HEK293 세포에서 일시적으로 발현된 항원인에 대한 결합에 대해 검정했다.
- [0379] **1.5 키메라 항체의 생성**
- [0380] 항체 가변 영역에 대한 코딩 서열을 huIgG1 발현 및 huCK 발현 벡터(pTT5 벡터 기반)에 프레임 내로 클로닝하였다. huIgG1 불변 영역은 알라닌 Kabat-118에서 시작하고 huCK 불변 영역은 아르기닌 Kabat-108에서 시작한다. 생성된 재조합 키메라 항체의 활성을 특이성 결합 검정에서 확인하였으며 모체 활성과 필적하는 것으로 확인되었다.
- [0381] **실시예 2: 항-FR α 항체의 인간화**
- [0382] 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성된 키메라 항-인간 FR α (항-hFR α) 중 하나인 변이체 v23924를 인간화를 위해 선택했다. v23924의 CDR 서열을 표 2.1에 제공하고, VH 및 VL 서열을 표 2.2에 제공한다. 인간화는 아래 기재된 바와 같이 수행하였다.

[0383] [표 2.1]

항-hFR α 항체 v23924의 CDR 서열

넘버링 시스템	서열					
	중쇄 CDR1	서열 번호	중쇄 CDR2	서열 번호	중쇄 CDR3	서열 번호
IMGT	GFSLSSYG	20	VNSGGSA	21	ARSGSGYPMDYLAI	22
Kabat	SYGVS	26	AVNSGGSAYYANWAKS	27	SGSGYPMDYLAI	25
Chothia	GFSLSSY	23	NSGGS	24	SGSGYPMDYLAI	25
AbM	GFSLSSYGVS	31	AVNSGGSAY	32	SGSGYPMDYLAI	25
접촉	SSYGVS	28	WIGAVNSGGSAY	29	ARSGSGYPMDYLA	30
	경쇄 CDR1	서열 번호	경쇄 CDR2	서열 번호	경쇄 CDR3	서열 번호
IMGT	QSIGDW	40	EAS	41	QQGYGRSNVDNI	42
Kabat	QASQSIGDWLA	43	EASTLAS	44	QQGYGRSNVDNI	42
Chothia	QASQSIGDWLA	43	EASTLAS	44	QQGYGRSNVDNI	42
AbM	QASQSIGDWLA	43	EASTLAS	44	QQGYGRSNVDNI	42
접촉	GDWLAWY	45	LLIYEASTLA	46	QQGYGRSNVDN	47

[0384]

[0385] [표 2.2]

항-hFR α 항체 v23924의 VH 및 VL 서열

	서열	서열 번호
VH	QSVKESEGGLFKPTDITLTLCTVSGFSLSSYGVSWVRQAPNGLEWIGAVNSGGSAYYANWAKSRSTITRNTNLFVTILKMTSLAVADTATYFCARSGSGYPMDYLAIWGPGLVTVSS	19
VL	AYDMTQTPASVEVAVGGTVTIKCQASQSIGDWLAWYQQKPGQPPRLLIYEASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVECADAAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGTEVVK	39

[0386]

[0387] **2.1 인간화**

[0388] 각 인간 생식계열 서열에 대한 v23924의 토끼 VH 및 VL 서열의 서열 정렬은 IGHV3-23*01 및 IGVK1-39*01을 가장 가까운 뿐만 아니라 가장 빈번한 인간 생식계열 서열로 확인하였다. AbM 정의(표 2.1 참고)에 따른 CDR 서열을 도 1에 나타난 바와 같이 이러한 선택 인간 생식계열 서열의 프레임워크 상으로 포팅하였다. 항원, hFR α 에 대한 결합 친화도의 유지에 중요할 것으로 판단되는 위치에서 생성된 서열의 토끼 잔기에 대한 역 돌연변이를 포함시켜 대부분 이전 서열을 기반으로 구축된 서열을 생성하고 첫 번째 인간화 서열이 최소 수의 역 돌연변이를 함유하는 몇몇 인간화 서열을 생성했다. AbM 방법에 의해 정의된 바와 같이 변이체 중 어느 것도 모체 항체의 CDR을 변형하지 않았다.

[0389] 이 공정은 2개의 사이클로 수행하였으며, 첫 번째 사이클("사이클 1")은 6개의 가변 중쇄 인간화 서열 및 5개의 가변 경쇄 인간화 서열을 생성하였다. 두 번째 사이클("사이클 2")은 hFR α 에 대한 인간화 항체의 보다 가까운 모체 유사 친화도를 추구하기 위해 추가적인 5개의 가변 중쇄 인간화 서열로 확장시켰다. 인간화 중쇄 가변 도메인(VH) 및 hIgG1 중쇄 불변 도메인(CH1, 힌지, CH2, CH3)을 함유하는 전체 중쇄 서열, 및 인간화 경쇄 가변 도메인(VL) 및 인간 카파 경쇄 불변 도메인(카파 CL)을 함유하는 전체 경쇄 서열을 조립했다. 그런 다음 모노클로날 항체(mAb) 변이체를 조립하여 첫 번째 사이클에서 각 인간화 중쇄를 각 인간화 경쇄와 짝을 이루어 30개의 인간화 변이체를 제공하였고 사이클 2에서 추가적인 인간화 중쇄를 선택 인간화 경쇄와 짝을 이루어 추가적인 15개의 인간화 변이체를 제공하여 실험적으로 평가될 총 45개의 인간화 변이체를 얻었다.

[0390] **2.2 인간화 항체 생성**

[0391] 45개의 인간화 mAb 작제물 각각뿐만 아니라 모체 v23924 mAb 작제물을 2개의 동일한 전장 중쇄(모체 v23924 및

15개의 인간화 변이체)를 함유하여 동중이량체 Fc 영역(homoFc)을 생성하거나, 배타적인 중쇄 쌍 형성(30개의 인간화 변이체)을 유도하기 위해 CH3 영역에 상보적 돌연변이를 포함하는 이중이량체 전장 중쇄를 함유하여 이중이량체 Fc 영역(HetFc)을 생성하는 전체 크기 항체(FSA) 형식으로 생성하였다. homoFc 대신 HetFc를 함유하는 v23924 버전도 생성하였다(변이체 v30618). 모든 작제물은 2개의 동일한 카파 경쇄를 포함하였다.

[0392] homoFc 영역에 포함된 2개의 동일한 전장 중쇄는 IGHG1*01의 인간 CH1-힌지-CH2-CH3 도메인 서열(서열 번호 146; 표 2.3 참고)을 함유했다. HetFc 영역(HetFc-A 및 HetFc-B)에 포함된 이중이량체 전장 중쇄는 Fc 영역에 하기 돌연변이를 갖는 IGHG1*01의 인간 CH1-힌지-CH2-CH3 도메인 서열을 함유했다:

[0393] HetFc-A: T350V_L351Y_F405A_Y407V

[0394] HetFc-B: T350V_T366L_K392L_T394W

[0395] HetFc-A(서열 번호 148) 및 HetFc-B(서열 번호 149)의 서열을 표 2.3에 제공한다. IGKC*01의 인간 카파 CL 서열(서열 번호 147; 표 2.3 참고)을 모든 작제물에 사용했다.

[0396] [표 2.3]

HomoFc 및 HetFc 서열

	서열	서열 번호
CH1-힌지-CH2-CH3 (IGHG1*01)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPVVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKLSLSPG	146
CL(카파) (IGKC*01)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	147
CH1-힌지-CH2-CH3 (HetFc-A) (IGHG1*01)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPVVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKLSLSPG	148
CH1-힌지-CH2-CH3 (HetFc-B) (IGHG1*01)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPVVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPVPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKLSLSPG	149

[0397] .

[0398] 사이클 1로부터의 인간화 VH 도메인 서열 각각을 IGHG1*01의 인간 CH1-힌지-CH2-CH3(HetFc-A 및 HetFc-B) 도메인 서열에 첨부하여 12개의 인간화 전체 중쇄 서열(6개의 인간화 VH x2)을 제공하였다. 토끼 VH 및 사이클 2로부터의 추가적인 5개 인간화 VH 도메인 서열 각각을 IGHG1*01의 인간 CH1-힌지-CH2-CH3 도메인 서열에 첨부하여 모체 토끼-인간 키메라 전체 중쇄 서열 및 5개의 추가적인 인간화 전체 중쇄 서열을 제공했다. 각 VL 도메인 서열을 IGKC*01의 인간 카파 CL 서열에 첨부하여 5개의 인간화 경쇄 서열을 제공하였다. 모든 서열을 DNA로 역번역하고, 포유동물 발현을 위해 코돈 최적화하고 유전자를 합성하였다.

[0399] 신호 펩티드(인공적으로 설계된 서열: MRPTWAWWFLVLLALWAPARG(서열 번호 150)(Barash *et al.*, 2002, *Biochem and Biophys Res. Comm.*, 294:835-842)) 및 CH3 도메인의 잔기 G446(EU 넘버링)에서 종결되는 중쇄 클론을 포함하는 중쇄 벡터 삽입물을 pTT5 벡터에 결합하여 중쇄 발현 벡터를 생성하였다. 동일한 신호 펩티드를 포함하는 경쇄 벡터 삽입물을 pTT5 벡터에 결합하여 경쇄 발현 벡터를 생성하였다. 생성된 중쇄 및 경쇄 발현 벡터를 시퀀싱하여 코딩 DNA의 올바른 판독 프레임 및 서열을 확인했다.

[0400] 각 인간화 항체 변이체의 중쇄 및 경쇄를 CHO-3E7 세포의 200 ml 배양에서 발현시켰다. 간략하게, 1.7-2 x 10⁶ 세포/ml의 밀도, 생활성 >95%의 CHO-3E7 세포를 4 mM 글루타민(GE Life Sciences, Marlborough, MA) 및 0.1% Pluronic® F-68(Gibco/Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)이 보충된 FreeStyle™ F17 배지(Thermo

Fisher Scientific, Waltham, MA)에서 37°C에서 배양했다. 총 부피 200 ml의 CHO-3E7 세포 + 1x 항생제/항진균제(GE Life Sciences, Marlborough, MA)를 DNA:PEI 비 1:4(w/w)로 PEI-MAX®(Polyscience, Inc., Philadelphia, PA)를 사용하여 총 200 ug DNA(항체 DNA 100 ug 및 GFP/AKT/스터퍼 DNA 100 ug)로 형질감염시켰다. DNA-PEI 혼합물 첨가 24시간 후, 0.5 mM 발프로산(최종 농도) + 1% w/v 트립톤(최종 농도)을 세포에 첨가한 후 32°C로 옮겨서 수확 전 6일 동안 인큐베이션하였다.

[0401] 단백질 A 정제는 회분식 모드로 또는 1 mL HiTrap™ MabSelect™ SuRe™ 컬럼(Cytiva, Marlborough, MA)을 사용하여 수행하였다. 회분식 모드에서, 정화된 상청액 샘플을 NaOH로 제자리-세정(CIP'd)되고 돌베코 PBS(DPBS)에서 평형화된 mAb Select SuRe™ 수지(GE Healthcare, Chicago, IL)와 회분식으로 인큐베이션했다. 수지를 제자리-세정 컬럼에 붓고 컬럼을 DPBS로 세척했다. 두 정제 모드에서 모두, 단백질은 100 mM 나트륨 시트레이트 완충액(pH 3.0)으로 용출하였다. 10%(v/v) 1 M HEPES(pH 약 10.6-10.7)를 첨가하여 용출된 분획의 pH를 조정하여 6-7의 최종 pH를 산출했다. 샘플을 DPBS로 완충액 교환했다. 단백질은 280 nm에서의 흡광도(A280nm)에 기반하여 정량하였다. 모체 토끼-인간 항체 키메라 변이체(v23924 및 v30618)는 단백질 A 정제 후 DPBS 이동상으로 Superdex 200 Increase 10/30 컬럼(GE Healthcare, Chicago, IL)에서 분취용 SEC 크로마토그래피로 추가 정제하였다.

[0402] 정제 후, 샘플의 순도는 고처리량 단백질 발현 검정 및 캘리퍼 LabChip® GXII 또는 GXII Touch HT(Perkin Elmer, Waltham, MA)를 사용하여 비환원 및 환원 조건 하에 전기영동으로 평가하였다. 질차는 하기 변형을 포함하여 HT 단백질 발현 LabChip® 사용자 가이드 버전 2에 따라 수행하였다. 항체 샘플, 2 µl 또는 5 µl(농도 범위 5-2000 ng/µl)를 7 µl의 HT 단백질 발현 샘플 완충액(Perkin Elmer, Cat # 760328)과 함께 96웰 플레이트(BioRad, Hercules, CA)의 별도의 웰에 첨가하였다. 이어서 항체 샘플은 70°C에서 15분 동안 변성시켰다. HT 단백질 발현 칩(Perkin Elmer, Waltham, MA) 및 Ab-200 검정 설정을 사용하여 LabChip® 기기를 작동시켰다.

[0403] 45개의 인간화 항체 변이체 및 모체 키메라 항체 v23924에 걸친 수율(단백질 A 정제 후)은 약 9-17 mg(또는 45-85 mg/L) 범위였다. 도 2a 및 2c는 모체 키메라 항체 v23924 및 대표적 인간화 변이체 v30384에 대한 캘리퍼 전기영동 결과를 나타낸다. 도 2에서 볼 수 있듯이, 대표적 인간화 항체 샘플의 경우, 비환원(NR) 및 환원(R) 캘리퍼는 전체 크기 항체 그리고 온전한 중쇄 및 경쇄에 상응하는 단일 종을 반영하였다. 이는 다른 인간화 변이체의 경우에도 마찬가지였다.

[0404] **2.3 인간화 항체의 품질 평가**

[0405] 인간화 항체 변이체의 중 동질성을 단백질 A 정제 후 및 모체 키메라 항체 v23924에 대한 분취용 SEC 정제 후 UPLC-SEC으로 평가하였다.

[0406] UPLC-SEC는 30°C로 설정되고 광다이오드 어레이(PDA) 검출기를 갖는 Waters Acquity UPLC™ H-클래스 바이오시스템에 실장된 Waters Acquity BEH200 SEC 컬럼(2.5 mL, 4.6 x 150 mm, 스테인레스 스틸, 1.7 µm 입자)(Waters LTD, Mississauga, ON)을 사용하여 수행하였다. 이동상은 0.02% Tween 20 pH 7.4를 포함하는 돌베코 인산염 완충 식염수(DPBS)였으며 유속은 0.4 ml/분이었다. 각 주입에 대한 총 실행 시간은 7분이었고 총 이동상 부피는 2.8 mL였다. 210-500 nm 범위의 UV 흡광도로 용출을 모니터링하고 280 nm에서 크로마토그램을 추출했다. 피크 적분은 Apex Track™을 사용하는 Waters Empower® 3 소프트웨어를 사용하여 수행하고 쇼울더(shoulder) 특징을 검출한다.

[0407] 도 2b 및 2d는 각각 모체 키메라 항체 v23924(SEC 정제 후) 및 대표적 인간화 항체 v30384(단백질 A 정제 후)에 대한 UPLC-SEC 프로파일을 나타낸다. 대표적 인간화 항체 샘플에 대한 UPLC-SEC 프로파일은 모체 키메라 항체 샘플과 필적하는 높은 중 동질성을 반영했다. 나머지 인간화 항체 변이체로부터의 샘플은 대표적 인간화 항체 샘플에 대해 나타난 것과 유사한 프로파일을 가졌다.

[0408] **실시예 3: hFR a에 대한 인간화 항체의 결합**

[0409] **3.1 hFR a에 대한 인간화 항체의 친화도 평가**

[0410] 인간화 공정이 표적에 대한 인간화 변이체의 친화도에 영향을 미치는지 여부를 결정하기 위해, hFR a 항원에 결합하는 45개의 정제된 인간화 항체 변이체의 능력을 하기와 같이 생물층 간섭계(BLI)로 평가했다.

[0411] hFR a 항원 결합은 하기 단계를 순환시킴으로써 Octet® RED96 시스템(ForteBio, Fremont, CA)을 사용하여 평가하였다: 200초에 걸친 항-인간 IgG Fc 포획(AHC) 바이오센서 상으로의 항체(0.9 µg/mL) 로딩; 60초 동안 기준선 안정화; 400-500초 동안 예상되는 K_D에 걸쳐 있는 다수의 관련 농도에서 재조합 His-태그화 인간 FR a

(ACROBiosystems, Newark, DE)에 대한 회합; 500-1000초 동안 해리 기록; 및 다음 항체로 진행하기 전에 10 mM 글리신 pH 1.5(15초) 및 검정 완충액(1초) 간 3회 순환에 의해 수행되는 재생. 사용된 검정 완충액은 0.06% Tween 20 및 일부 경우에는 1% BSA가 또한 보충된 KB 완충액(동력학 완충액, PBS pH 7.4, 0.1% BSA, 0.02% Tween 20, 0.05% 나트륨 아지드로 이루어짐)이었다. 실험은 30°C에서 1000 rpm의 진탕 속도로 수행하였다.

[0412] 데이터 분석은 데이터 분석 소프트웨어 9.0(ForteBio, Fremont CA)을 사용하여 수행하였다. 참조-감산 결합 곡선을 1:1 상호작용 모델에 전반적으로 피팅시켜 결합 동력학 매개변수 k_{on} , k_{off} 및 해리 상수 K_D 를 생성했다.

[0413] 45개의 인간화 항체 변이체 중 9개가 hFR α 에 결합하는 것으로 확인되었고 K_D 값은 약 63 nM 내지 210 nM 범위였다(표 3.1 참고). 모체 키메라 항체(v23924)의 K_D 는 27 nM인 것으로 결정되었다. hFR α 에 대한 결합을 나타낸 인간화 항체 변이체는 모체 키메라 항체에서와 비교하여 약 2배 내지 약 8배 감소된 친화도를 특징으로 하였다. 표 3.1에서 볼 수 있듯이, 모든 성공적인 인간화 변이체는 동일한 가변 경쇄(4L)를 공유했지만 가변 중쇄 조성은 상이하였다. 성공적인 인간화 변이체의 경쇄 및 중쇄 서열을 표 3.2에 제공한다. 도 3은 모체 키메라 항체 v23924 및 대표적 인간화 항체 v30384에 대한 BLI 센서그램을 나타낸다.

[0414] [표 3.1]

Octet®에 의한 인간화 변이체의 항원 결합 평가

변이체	조성 (VH + VL)	Fc 영역 ¹	평균 K_D (M) ²	표준 편차 K_D (M)
v23924 (모체)	—	HomoFc	2.7E-08	8.4E-09
사이클 1 변이체				
v30384	3H4L	HetFc	1.1E-07	4.2E-09
v30389	3bH4L	HetFc	1.0E-07	1.4E-09
v30394	4H4L	HetFc	6.3E-08	7.1E-11
v30399	4bH4L	HetFc	6.9E-08	2.5E-09
사이클 2 변이체				
v31422	3cH4L	HomoFc	1.8E-07	2.8E-08
v31423	3dH4L	HomoFc	1.1E-07	1.2E-08
v31424	3eH4L	HomoFc	1.1E-07	1.9E-08
v31425	3fH4L	HomoFc	1.6E-07	4.2E-10
v31426	3gH4L	HomoFc	2.1E-07	3.5E-10

¹ HetFc = 이종이량체 Fc 영역; HomoFc = 동종이량체 Fc 영역(실시에 2 참고)

² n=2

[0415]

[0416] [표 3.2]

인간화 VH 및 VL 사슬의 아미노산 서열

이름	아미노산 서열	서열 번호
3H_VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGGSAY YADSVKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWGQGTLV TVSS	50
3bH_VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGGSAY YADSVKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWGQGTLV TVSS	54
3cH_VH	EVQLLESGGGLFQPGGSLRLSCAIVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGGSAY YADSVKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWGQGTLV TVSS	76
3dH_VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGGSAY YADSVKGRSTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWGQGTLV TVSS	79
3eH_VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGGSAY YADSVKGRSTISRDTSKFTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWGQGTLV TVSS	82
3fH_VH	EVQLLESGGGLFQPGGSLRLSCAIVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGGSAY YADSVKGRSTISRDTSKFTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWGQGTLV TVSS	85
3gH_VH	QQLLESGGGLFQPGGSLRLSCAIVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGGSAY ADSVKGRSTISRDTSKFTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWGQGTLV VSS	88
4H_VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGGSAY YADWAKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWGQGTLV TVSS	57
4bH_VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGGSAY YADWAKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWGQGTLV TVSS	61
4L_VL	DYQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQSIGDWLAWYQQKPKGKAPKLLIYEASTLASGV PSRFSGSGSGTDFTLTISVQPEDAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGKVEVK	64

[0417]

[0418] **3.2 hFR α 에 대한 인간화 항체의 친화력 평가**

[0419] FSA 형식의 모체 및 선택 인간화 변이체에 대한 항원 결합의 친화력을 아래에 기재된 바와 같이 표면 플라즈몬 공명 (SPR)으로 평가했다.

[0420] 모체 키메라 항체(v23924) 및 인간화 변이체의 hFR α 친화도 및 친화력 결정을 위한 SPR 검정은 PBS-T(PBS + 0.05%(v/v) Tween 20) 실행 완충액(0.5 M EDTA 스톱 용액을 3.4 mM 최종 농도로 첨가)을 사용하여 25°C의 온도에서 Biacore™ T200 SPR 시스템에서 수행하였다. CM5 시리즈 S 센서 칩, Biacore™ 아민 커플링 키트(NHS, EDC 및 1 M 에탄올아민) 및 10 mM 나트륨 아세테이트 완충액은 GE Healthcare Life Science(Mississauga, ON, Canada)에서 구입했다. 0.05% Tween20을 포함하는 PBS 실행 완충액(PBST)은 Teknova Inc.(Hollister, CA)에서 구입했다. 재조합 인간 FR α는 ACROBiosystems(Newark, DE)에서 구입했다.

[0421] hFR α 항원에 대한 결합에 대한 변이체의 스크리닝은 두 단계로, 즉 hFR α를 표면 상에 포획한 후 3 내지 5개 농도의 변이체를 주입하는 단계로 수행하였다. hFR α 표면은 제조업체(GE Healthcare Life Science, Mississauga, ON, Canada)에 의해 기재된 바와 같은 표준 아민 커플링 방법을 사용하여 CM5 시리즈 S 센서 칩 상에서 제조하였다. hFR α의 고정화는 5 내지 200 RU 범위의 공명 단위(RU)를 목표로 하는 아민 커플링 방법으로 Biacore™ T200 고정화 마법사를 사용하여 수행하였다. 다중 사이클 동력학을 사용하여, 블랭크 완충액 대조군을 사용해서 300 nM에서 시작하는 2배 희석 시리즈 샘플의 3 내지 5개 농도를 600초 해리 단계와 함께 180초 동안 50 uL/분으로 주입하여, 완충액 블랭크 참조를 포함하는 센서그램 세트를 생성했다. hFR α 표면은 30 uL/

분으로 30초 동안 10 mM 글리신/HCl pH 1.5의 1회 펄스에 의해 다음 주입 사이클을 준비하기 위해 재생시켰다. 블랭크-감산 센서그램은 Biacore™ T200 평가 소프트웨어 v3.0을 사용하여 분석하였다. 블랭크-감산 센서그램을 1:1 Langmuir 결합 모델에 피팅시켰다.

[0422] 결과를 표 3.3에 나타낸다. 정규 2가 항체 형식(FSA)의 모체 항체(v23924) 및 2개의 인간화 변이체(v30384 및 v30399)는 둘 모두 hFR α 항원에 대한 결합에서 친화력을 실증했다. 즉, 모체 샘플의 경우 약 17배 더 낮은 K_D 값 및 인간화 샘플의 경우 약 27-39배 더 낮은 K_D 값을 중간-낮은 항원 밀도에서 1-아암 항체(OAA) 형식과 비교하여 FSA에서 얻었고, 높은 항원 밀도에서는 각각 약 108배 및 약 116-181배로 추가 감소했다.

[0423] [표 3.3]

SPR에 의한 선택 인간화 변이체의 친화력 평가

변이체	형식 ¹	평균 K_D (M) ²		
		높은 항원 밀도	중간 항원 밀도	중간-낮은 항원 밀도
v23924	FSA	2.78E-10	1.37E-09	2.29E-09
v32596	OAA v23924 동등	3E-08	3.03E-08	3.79E-08
v30384	FSA	7.9E-10	2.58E-09	3.76E-09
v32597	OAA v30384 동등	1.43E-07	1.39E-07	1.46E-07
v30399	FSA	7.09E-10	2.67E-09	3.71E-09
v32598	OAA v30399 동등	8.2E-08	8.08E-08	9.15E-08

¹ OAA = 1-아암 항체, FSA = 전체 크기 항체; OAA 항체 샘플은 각각의 FSA 샘플과 동등하며 실시예 2에 기재된 FSA 샘플과 유사한 방식으로 생성하였다.

² n=2

[0424]

[0425] **실시예 4: 인간화 항-FR α 항체의 순도**

[0426] 실시예 3의 인간화 항체 변이체의 겔보기 순도를 단백질 A 정제(실시예 2) 및 비변성 탈글리코실화 후 질량 분광측정을 사용하여 평가하였다.

[0427] 항체 변이체 샘플은 Fc N-연결 글리칸만 함유하므로, 샘플은 N-글리코시다제 F(PNGase-F)로만 처리하였다. 정제된 샘플을 하기와 같이 PNGaseF를 사용하여 탈글리코실화하였다: 50 mM 트리스-HCl pH 7.0 중 0.1 U PNGaseF/항체 μ g, 37°C에서 밤새 인큐베이션, 최종 단백질 농도 0.48 mg/mL. 탈글리코실화 후, 샘플을 LC-MS 분석 전에 4°C에서 보관하였다.

[0428] 탈글리코실화된 단백질 샘플은 Ion Max 전기분무 소스를 통해 LTQ-Orbitrap™ XL 질량 분광계(ThermoFisher, Waltham, MA)에 커플링된 Agilent 1100 HPLC 시스템을 사용하여 온전한 LC-MS로 분석하였다(더 큰 단백질(>50 kDa)의 최적 검출을 위해 조정됨). 샘플을 2.1 x 30 mm Poros R2 역상 컬럼(Applied Biosystems Corp., Waltham, MA) 상으로 주입하고 증가하는 농도(20-90%)의 아세트오니트릴로 구성된 0.1% 포름산 aq/아세트오니트릴(탈기) 선형 구배를 사용하여 분해했다. 컬럼을 82.5°C로 가열하고 용매를 컬럼 전에 80°C로 가열하여 단백질 피크 모양을 개선하였다. 콘 전압(소스 단편화 설정)은 대략 40 V였고, FT 분해능 설정은 7,500이었고, 스캔 범위는 m/z 400-4,000이었다. LC-MS 시스템은 탈글리코실화된 IgG 표준(Waters IgG 표준)뿐만 아니라 탈글리코실화된 mAb 표준 믹스(25:75 절반:전체 크기 항체)을 사용하여 IgG 샘플 분석을 위해 평가하였다. 각 LC-MS 분석에 대해, 항체 피크에 걸쳐 획득된 질량 스펙트럼(전형적으로 3.6 내지 4.1분)을 합산하고 전체 다중 하전 이온 엔벨로프(m/z 1,200-4,000)를 MassLynx™ 데이터 분석 소프트웨어(Waters, Milford, MA)의 MaxEnt 1 모듈을 사용하여 분자량 프로파일로 디콘볼루션하였다. 각 샘플에서 각 항체 종의 겔보기 양을 생성된 분자량 프로파일의 피크 높이로부터 결정하였다.

[0429] 결과를 표 4.1에 나타낸다. 거의 모든 인간화 변이체는 약 89-100%의 원하는 종의 범위로 순도가 높았으며,

v30389만 더 낮은 순도(82.6%)를 나타냈다. 나머지 변이체와 비교하여 4개 변이체 v30384, v30389, v30394 및 v30399의 순도가 약간 더 낮은 것은 일부 절반-항체의 존재를 초래하는 이중이량체 CH3 영역(실시예 2 참고)을 포함하는 이들 변이체에 기인한다. 도 4는 2개의 대표적 인간화 변이체 v30384 및 v31422에 대한 LC/MS 프로파일 일을 도시한다. 모든 샘플의 LC/MS 프로파일에서, 약 +266 Da의 측면 피크가 관찰되었으며, 이는 분석의 인공물 일 가능성이 높다.

[0430] [표 4.1]

LC/MS 로 결정된 인간화 변이체의 순도

변이체	원하는 중%
v30384	93.2
v30389	82.6
v30394	89.1
v30399	91.8
v31422	100
v31423	100
v31424	100
v31425	100
v31426	100

[0431]

[0432] **실시예 5: 인간화 항-FR α 항체의 열 안정성**

[0433] 인간화 항체 변이체의 열 안정성을 아래 기재된 바와 같이 시차 주사 열량측정(DSC)으로 평가하였다.

[0434] 주로 PBS 중 0.4 mg/mL 농도의 정제된 샘플 400 μ L를 VP-Capillary DSC(GE Healthcare, Chicago, IL)를 사용하는 DSC 분석에 사용했다. 각 DSC 실행 시작 시, 5회 블랭크 주입을 수행하여 기준선을 안정화하고, 참조를 위해 각 샘플 주입 전에 완충액 주입을 배치했다. 각 샘플은 낮은 피드백, 8초 필터, 3분 스캔-전 온도조절 및 70 psi 질소 압력을 사용하여, 60°C/hr의 속도로 20°C에서 100°C까지 스캔하였다. Origin 7 소프트웨어(OriginLab Corporation, Northampton, MA)를 사용하여 생성된 열분석도를 참조하고 분석하여 용융 온도(T_m)를 열 안정성의 지표로서 결정하였다.

[0435] 인간화 변이체에 대해 결정된 Fab T_m 값을 표 5.1에 나타낸다. 모든 인간화 변이체는 모체 항체 v23924(Fab T_m 약 72°C)와 비교하여 증가된 열 안정성을 나타냈으며, Fab T_m 값은 약 81-84°C 범위였다. 인간화 변이체 중, v30394가 가장 높은 열 안정성을 나타냈다.

[0436] [표 5.1]

인간화 변이체의 열 안정성

변이체	Fab T _m (°C)
v23924 (모체)	72.1
v30384	81.7
v30389	80.7
v30394	84.4
v30399	83.4
v31422	82.6
v31423	83.0
v31424	81.3
v31425	82.4
v31426	81.9

[0437]

[0438] **실시예 6: 인간화 항-FR α 항체에 대한 등전점의 결정**

[0439] 인간화 항체 변이체의 등전점을 아래 기재된 바와 같이 모세관 등전점 포커싱(cIEF)으로 결정하였다.

[0440] cIEF는 CE-UV Agilent 7100 모세관 전기영동(CE) 시스템을 사용하여 수행하였다. 5 μ g(또는 최대 2.5 μ L)의 샘플을 모세관(양성전해질 범위 3.0-10.0)에 적용했다. 시스템 적합성 시험을 위해 pI 마커 믹스 4.1, 4.22, 5.5, 7.0 및 10.0 그리고 샘플 분석을 위해 4.1 및 10.0을 사용하였다. 6°C로 설정된 외부 수조, 검출기 필터 어셈블리(280 nm) 및 9 bar 외부 압력이 장착된 Agilent 7100 CE 시스템을 모든 CE 실행에 사용하였다. 중성 코팅 모세관(플루오로카본)을 녹색 정렬 인터페이스가 장착되고 Agilent 모세관 카세트에 피팅된 검출 창으로부터 각각 8.5 cm 및 24.5 cm 거리에서 양쪽 단부를 절단하였다. 하루에 한 번, 모세관을 하기와 같이 컨디셔닝했다: 3.5 bar에서 350 mM 아세트산으로 5분, 물로 2분, 및 cIEF 겔로 5분 동안 고압 플러싱. 매 실행 전에, 모세관을 하기와 같이 컨디셔닝했다: 3.5 bar에서 4.3 M 요소 용액으로 3분 및 물로 2분 동안 고압 플러싱. 100초 동안 2 bar 고압을 적용하여 샘플을 주입한 후, 입구 및 출구 전극을 둘 모두 물에 담그었다. 애노드액으로 200 mM 인산 및 캐소드액으로 300 mM NaOH를 사용하여 25 kV에서 10분 동안 포커싱을 수행했다. 화학적 동원을 사용하여, 출구 바이알을 350 mM 아세트산으로 교환하고 30 kV를 30분 동안 적용했다. 각 실행 후, 물로 3.5 bar의 고압 플러싱을 2분 동안 수행했다. Agilent OpenLAB Intelligent Reporting A.01.06.111 소프트웨어를 사용하여 피크 RT에 대한 수동 적분 및 전기영동도를 얻었다. 미가공 데이터(신호 대 체류 시간)를 CVS 파일로 내보내고 주요 이소형 pI, pI 범위 및 질량 중심의 pI를 Microsoft Excel에서 계산했다(내부 pI 마커에 기반하여).

[0441] 결과를 표 6.1에 나타낸다. 대부분의 인간화 변이체에 대한 주요 이소형에 있어서 결정된 pI 값은 7.78 내지 7.97 범위였으며, 한 변이체의 pI는 8.25였고(v31426), 이는 모두 치료용 항체의 전형적인 범위 내에 속하며 모체 키메라 항체 v23924(pI 7.65)에서와 비교적 필적한다.

[0442] [표 6.1]

인간화 변이체에 대한 등전점

변이체	pI (주요 이소형)
v23924 (모체)	7.65
v30384	7.79
v30389	7.78
v30394	7.89
v30399	7.89
v31422	7.93
v31423	7.94
v31424	7.97
v31425	7.93
v31426	8.25

[0443]

[0444] **실시예 7: 항-FR α 항체의 크로마토그래피 분석**

[0445] 모체 및 인간화 변이체를 아래 기재된 바와 같이 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC) 및 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 분석하였다.

[0446] **7.1 HIC 분석**

[0447] 항체의 소수성/친수성을 문헌(*Antibody Drug Conjugates, Methods in Molecular Biology*, 2013, vol. 1045, pp. 275-284. L. Ducry, Ed)에 기재된 바와 같이 HIC로 평가하였다. 실온에서 5개의 컬럼 부피의 완충액 A(1.5 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 25 mM NaH_2PO_4 , pH = 6.95)로 사전 평형화된 TSKgel® 부틸-NPR 컬럼(2.5 μ m, 4.6 x 35 mm, TOSOH Bioscience GmbH, Griesheim, Germany)을 사용하여 Agilent Infinity II 1290 HPLC에서 실험을 수행하였다. 전형적으로 2-3 mg/mL 농도의 샘플 20-30 μ g을 95% 완충액 A 및 5% 완충액 B(75% 25 mM PO_4^{3-} + 25% 이소프로판올, pH 6.95)가 포함된 컬럼에 로딩하고 표 7.1에 나타낸 구배를 사용하여 0.5 mL/분으로 15분 동안 실

행하였다. HIC 크로마토그램은 완전한 기준선 대 기준선 적분을 제공하는 적절한 매개변수를 사용하여 적분하였다.

[0448] [표 7.1]

HIC 용매 구배

시간(분)	완충액 A%	완충액 B%
0	95	5
0.1	95	5
5	80	20
9.5	65	35
11.5	50	50
12.5	5	95
13.5	5	95
12.6	95	5
15	95	5

[0449]

7.2 SEC 분석

[0450]

[0451]

실온에서 5 컬럼 부피의 이동상 A(150 mM Na₂PO₄, pH 6.95)를 사용하여 평형화된 Advance Bio SEC 컬럼(300 Å, 2.7 μm, 7.8 × 150 mm)을 포함하는 Agilent Infinity II 1260 HPLC를 사용하여 분석용 SEC를 수행하였다. 전형적으로 2-3 mg/mL 농도의 샘플 20-30 μg을 1 mL/분의 속도로 7분 동안 등방적으로 용출하고 A280에서 흡광도를 모니터링하였다. 부분적으로 분해된 피크 사이를 합리적으로 분리하는, 각 피크의 완전한 기준선 대 기준선 적분을 제공하도록 크로마토그램을 적분했다. IgG의 주요 성분에 상응하는 피크(대략 체류 시간 3.3분)는 대조군 트라스투주맙의 SEC 프로파일에 기반한 단량체로 보고되었다. 용매 피크(5.2분 초과)를 제외하고, 3.3분 이전에 발생한 모든 피크는 중합체량 중(HMWS)으로 지정되었고, 3.3분 이후에 발생한 모든 피크는 저분자량 중(LMWS)으로 지정되었다.

[0452]

7.3 결과

[0453]

모체 및 인간화 변이체의 HIC 체류 시간(HIC-RT) 및 SEC 단량체%의 요약을 표 7.2에 제공한다. 전반적으로, HIC 및 SEC는 모든 인간화 변이체의 바람직한 생물리적 거동을 나타내었다. 모체 키메라 항체 v23924는 HIC 구배에서 6.5분에 용출된 반면, 모든 인간화 변이체는 6.0-6.7분 사이에 용출되었다. SEC 프로파일은 모든 인간화 변이체에 대해 >90% 단량체를 나타냈으며, 변이체 v30389가 가장 낮은 단량체%(94%)를 가졌다. 모든 이들 변이체는 HMWS가 5% 미만이고 LMWS가 5% 미만이었다.

[0454] [표 7.2]

모체 항체 및 인간화 항-FR α 항체의 HIC 및 SEC 분석

변이체	항체	HIC-RT (분)	SEC		
			단량체 %	HMWS %	LMWS %
v23924	키메라 (모체)	6.5	100	0	0
v30618	키메라 (HetFc)	6.7	94	6	0
v30384	인간화 사이클 1*	6.2	97	3	0
v30389		6.2	94	3	4
v30394		6.0	95	4	2
v30399		6.1	96	4	0
v31422	인간화 사이클 2	6.0	100	0	0
v31423		6.0	100	0	0
v31424		6.1	100	0	0
v31425		6.2	100	0	0
v31426		6.5	100	0	0

* 이전 분취용-SEC 없음

[0455]

[0456]

실시예 8: 추가적인 안정성 연구

[0457]

인간화 항체 변이체의 안정성을 추가 조사하기 위해, 실시예 2에 기재된 바와 같이 샘플을 특정 시점에 캘리퍼 및 UPLC-SEC로 및 40°C 안정성 연구의 경우 각각 실시예 6 및 3에 기재된 바와 같이, 추가적으로 cIEF 및 Octet 항원 결합으로 특성규명하는 40°C 안정성 및 산 안정성 연구를 수행하였다. 트라스투주맙을 이 연구에서 대조군으로 사용하였다.

[0458]

선택 인간화 변이체(v30389, v30394, v30399, v31423 및 v31424)는 PBS pH 7.4 완충액에서 약 1 mg/ml 샘플 농도로 14일의 기간 동안 40°C 안정성 연구를 거쳤다. 샘플은 0, 5, 7, 11 및 14일 시점에 특성규명하였다. 25°C에서 1시간의 기간 동안 다양한 샘플 농도에서 샘플을 pH 3.6의 아세트이트 완충액으로 완충제 교환 시 산 안정성 연구를 수행했으며, 0, 15, 30 및 60분 시점에 특성규명하였다. 또한, 사이클당 30분씩 3 사이클로 구성된 냉동-해동(-80°C에서 실온까지)을 PBS pH 7.4에서 약 1 mg/ml 샘플 농도로 수행했다.

[0459]

결과를 표 8.1에 나타낸다. 연구에서는 인간화 변이체의 안정성과 관련된 주요한 문제가 확인되지 않았다. 냉동-해동 및 산 안정성 연구는 캘리퍼 및 UPLC-SEC으로 결정된 바와 같이, 연구 과정에 걸쳐 샘플 조성에서 임의의 변화를 드러내지 않았다. 40°C 안정성 연구는 연구가 진행됨에 따라 캘리퍼 및 UPLC-SEC 프로파일에서 약간의 변화를 나타내었다(구체적으로, 약 10-17% 범위의 일부 양의 저분자량 종의 출현). 항원 결합 친화도에 대한 변화는 관찰되지 않았다. cIEF는 주요 이소형에 비해 더 산성인 종에서 약간의 증가가 예상됨을 드러내었다.

[0460] [표 8.1]

40℃, 산 안정성 및 냉동-해동 연구에서 인간화 변이체의 안정성 평가

변이체	UPLC-SEC에 의한 단량체%		
	40℃ 연구 제 0/7/14 일	산 안정성 연구 0/30/60 분	냉동-해동 연구
v6738 ¹	99.93/99.71/99.43	Err ² /100/100	ND
v30389	92.75/87.64/82.02	Err/94.91/93.83	ND
v30394	95.49/89.01/83.51	95.12/95.53/95.49	ND
v30399	96.13/89.25/81.68	Err/100/100	ND
v31423	100/90.92/82.58	Err/100/100	99.22
v31424	100/90.96	100/100/100	99.36

¹ 트라스투주맙 대조군

² Err = 잘못된 기준선

[0461]

[0462] 실시예 9: 항-FR α 항체의 기능적 특성규명 - FR α 특이성

[0463]

FR α (FOLR1), FOLR2, FOLR3 및 FOLR4에 대한 모체 키메라 항체 v23924의 결합 교차 반응성을 유세포 측정 및 ELISA로 평가했다. FR α , FOLR2 및 FOLR4 결합은 HEK293 형질감염 세포를 사용하여 유세포 측정을 통해 평가하였다. FOLR3이 가용성 단백질이므로 FOLR3 결합은 ELISA를 통해 평가하였다. 대조군 항-FOLR2(마우스 항-인간 FOLR2; Nordic BioSite AB, Täby, Sweden; Cat. No. AFC-4544-2), 항-FOLR3(마우스 항-인간 FOLR3; LS Bio, Seattle, WA; Cat. No. LS-C125621) 및 항-FOLR4(마우스 항-His DyLight™ 650; Novus Biologicals, Littleton, CO; Cat. No. NBP2-31055C) 항체를 이들 실험에 포함시켰다.

[0464]

FR α , FOLR2 및 FOLR4 결합: 간략하게, HEK293-6e 100만개 세포당 1 ug DNA로 세포를 약 24시간 동안 형질감염시켜 인간 FR α (Cat. No. 13420), FOLR2 (Cat. No. 13481) 및 FOLR4 (Cat. No. 13483) (모두 GenScript Biotech, Piscataway, NJ 제품)로 일시적으로 발현시켰다. 형질감염 후, 50,000개 세포를 V-바닥 96-웰 플레이트에 시딩하고 표준 배양 조건 하에 45분 동안 50 nM 1차 항체와 함께 인큐베이션했다. 인큐베이션 후, 세포를 세척하고 항-인간 IgG Fc AF647 접합체 (Jackson Immuno Research Labs, West Grove, PA; Cat. No. 109-605-098)로 실온에서 45분 동안 염색했다. 인큐베이션 및 세척 후, BD LSRFortessa™ 세포 분석기 (BD Biosciences, Franklin Lake, NJ)에서 유세포 측정으로 형광을 검출하였고 웰당 1,000개의 최소 이벤트를 수집하였다.

[0465]

FOLR3 결합: ELISA 96웰 플레이트를 상업용으로 정제된 FOLR3 단백질 (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, Cat. No. 5319-FR)로 1시간 동안 37℃에서 코팅했다. 플레이트를 PBS pH 7.4 중 1% 우유로 1시간 동안 실온에서 차단했다. 차단 후, 1차 항체를 1시간 동안 실온에서 7 nM로 첨가했다. HRP-접합 2차 항체 (Jackson Immuno Research Labs, West Grove, PA, Cat. No. 109-035-098)를 1시간 동안 실온에서 0.4 μ g/ml로 첨가했다. 테트라메틸벤지딘 (TMB)을 사용하여 플레이트를 현상하고 HCl을 사용하여 반응을 정지시켰다. Synergy™ H1 마이크로 플레이트 판독기 (BioTek Instruments, Winooski, VT)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 판독했다.

[0466]

결과

[0467]

결과를 표 9.1 및 9.2에 나타낸다.

[0468]

항-FR α , 항-FOLR2, 항-FOLR3 및 항-FOLR4 대조군 항체는 유세포 측정 또는 ELISA에 의해 각 표적 단백질에 대한 예상된 결합을 나타내었다. 유세포 측정에 의해, 살아있는 단일체 세포 집단을 FlowJo™ v8 소프트웨어 (BD Biosciences, Franklin Lake, NJ) 및 AF647 기하평균을 사용하여 관문화하고, 각 항체에 대해 이 집단에서 양성 결합%를 결정했다. ELISA의 경우, 음성 대조군 흡광도 신호와 비교한 미가공 흡광도 값을 사용하여 항-FOLR3

및 v23924 항체의 양성 결합%를 결정했다. v23924는 인간 FR α 에 대해 예상된 결합을 나타냈고, FOLR2, FOLR3 또는 FOLR4에 대한 결합 교차 반응성을 나타내지 않아서, FR α 특이성을 표시하였다.

[0469] [표 9.1]

유세포 측정으로 평가된 FR α , FOLR2 및 FOLR4에 대한 결합

항체	AF647/DyLight650 기하평균 단일체 집단			양성 결합% 단일체 집단		
	FR α	FOLR2	FOLR4	FR α	FOLR2	FOLR4
v23924	7663	7	27	71	0	0
항-FR α 대조군	17971	227	188	86	1	0
항-FOLR2 대조군	17	4267	15	1	87	0
항-FOLR4 대조군	32	32	164	1	1	48
인간 IgG	59	20	23	0	0	0

[0470]

[0471] [표 9.2]

ELISA로 평가된 FOLR3에 대한 결합

항체	450 nm 흡광도	결합%
v23924	0.29	8.9
항-FR α 대조군	0.24	7.4
항-FOLR3 대조군	3.27	100.0
인간 IgG	0.15	4.5

[0472]

실시예 10: 항-FR α 항체의 기능적 특성규명 - 시노물구스 FR α 에 대한 결합

[0474] 인간 및 시노물구스 원숭이 FR α 에 대한 모체 키메라 항체 v23924의 교차 반응성을 아래 기재된 바와 같이 형질 감염된 CHO-S 세포를 사용하여 유세포 측정으로 평가하였다. 팔리비주맙(항-RSV)(v22277)을 음성 대조군으로 사용했다.

[0475] 간략하게, CHO-S 세포를 100만개 세포당 1 ug DNA로 약 24시간 동안 형질감염시켜 인간 또는 시노물구스 원숭이 FR α 를 일시적으로 발현시켰다. 형질감염 후, 세포를 V 바닥 96웰 플레이트에서 50,000개 세포/웰로 시딩하고 내재화를 방지하기 위해 24시간 동안 4°C에서 항체로 처리했다. 인큐베이션 후, 세포를 세척하고 항-인간 IgG Fc AF647 접합체(Jackson Immuno Research Labs, West Grove, PA; Cat. No. 109-605-098)로 4°C에서 30분 동안 염색했다. 인큐베이션 및 세척 후, BD LSRFortessa™ 세포 분석기(BD Biosciences, Franklin Lake, NJ)에서 유세포 측정으로 형광을 검출했다.

[0476] 결과를 표 10.1에 나타낸다. v23924는 CHO-S 형질감염 세포에서 인간 및 시노물구스 FR α 에 대해 필적하는 결합을 나타냈으며, 인간 FR α 및 시노물구스 원숭이 FR α 형질감염 세포에서 각각 83.89 pM 및 121.60 pM의 겔보기 Kd 값을 가졌다. 예상된 바와 같이 대조군 v22277에 의한 결합은 관찰되지 않았다.

[0477] [표 10.1]

시노물구스 원숭이 FR α 에 대한 결합

항체	세포	Bmax	결보기 Kd (nM)
v23924	CHO-S 인간 FR α	398.90	0.08
v22277		6.94	>50
v23924	CHO-S Cyno FR α	7626	0.12
v22277		79.62	>50

[0478]

실시예 11: 항-FR α 항체의 기능적 특성규명 - 세포 결합

[0479] 모체 키메라 항체 v23924 및 대표적 인간화 변이체 v30384의 세포-상 결합 능력을 아래 기재된 바와 같이 유세포 측정으로 JEG-3 및 HEC-1-A 내인성 FR α 발현 세포주에서 평가하였다.

[0481] 간략하게, 세포를 V-바닥 96-웰 플레이트에서 50,000개 세포/웰로 시딩하고 내재화를 방지하기 위해 24시간 동안 4°C에서 항체로 처리했다. 인큐베이션 후, 세포를 세척하고 항-인간 IgG Fc AF647 접합체(Jackson Immuno Research Labs, West Grove, PA; Cat. No. 109-605-098)로 4°C에서 30분 동안 염색했다. 인큐베이션 및 세척 후, BD LSRFortessa™ 세포 분석기(BD Biosciences, Franklin Lake, NJ)에서 유세포 측정으로 형광을 검출하고 웰당 1,000개의 최소 이벤트를 수집하였다. 살아있는 세포 집단의 AF647/APC-A 기하평균(형광 신호 기하 평균, 항-인간 AF647 결합에 비해)을 GraphPad Prism 버전 9(GraphPad Software, San Diego, CA)를 사용하여 그래프화했다.

[0482] 결과를 표 11.1에 나타낸다. 키메라(v23924) 및 인간화(v30384) 항체는 둘 모두 JEG-3 및 HEC-1-A 세포주 둘 모두에서 필적하는 결보기 Kd 및 Bmax 값을 산출하였다(각각 높은 및 중등도 내인성 FR α 발현).

[0483] [표 11.1]

세포 결합

항체	JEG-3			HEC-1-A		
	Bmax	곡선 힐 기울기 (h)	Kd (nM)	Bmax	곡선 힐 기울기 (h)	Kd (nM)
v23924	20337	1.18	0.32	2490	1.38	0.05
v30384	18299	1.73	0.31	2125	1.31	0.07
인간 IgG	NA	NA	NA	NA	NA	NA

[0484]

실시예 12: 항-FR α 항체의 기능적 특성규명 - 내재화

[0486] FR α 발현 세포주(IGROV-1 및 OVCAR-3)에서 모체 키메라 항체 v23924 및 대표적 인간화 변이체 v30384의 수용체-매개 내재화 능력을 아래 기재된 바와 같이 하이 컨테츠 이미징으로 결정하였다. FR α 표적화 항체 미르베크시맙 및 파르레투주맙을 양성 대조군으로 사용하였고, 팔리비주맙(항-RSV)(v22277)을 음성 대조군으로 사용하였다.

[0487] 간략하게, 항체를 24시간 동안 4°C에서 항-인간 IgG Fc Fab 단편 pHAb 염료 접합체(Promega Corporation, Madison, WI, Cat. No. G9841)(Fab 단편당 약 3개 염료 분자)에 5:1 몰 과량으로 커플링하여 형광 표지하였다. 세포를 시딩하고 96웰 플레이트에서 5% CO₂로 37°C에서 밤새 인큐베이션했다. 다음날 커플링된 항체를 세포에 첨가하고 37°C에서 6 내지 24시간 동안 인큐베이션하여 내재화를 허용했다. 인큐베이션 후, 생활성 세포 확인을 위해 세포를 염료 Cycle Violet(ThermoFisher Scientific Corporation, Waltham, MA, Cat. No. V35003)으로 염색하고 살아있는 세포에서 내재화된 형광을 CellInsight™ CX5 하이 컨테츠 스크리닝(HCS) 플랫폼(ThermoFisher Scientific Corporation, Waltham, MA)을 사용하여 하이 컨테츠 이미징으로 분석하였다. 키메라

항체 v23924의 초과-배율 형광을 GraphPad Prism, 버전 9(GraphPad Software, San Diego, CA)를 사용하여 그래프화했다.

[0488] **결과**

[0489] 결과를 도 5a 및 5b(IGROV-1 세포) 그리고 도 6a 및 6b(OVCAR-3 세포)에 나타낸다. 키메라 항체 v23924 및 인간화 변이체 v30384는 IGROV-1 세포(높은 FR α) 및 OVCAR-3 세포(중등도 FR α) 둘 모두에서 필적하는 수준의 내재화를 나타내었다. IGROV-1 및 OVCAR 세포 둘 모두에서, 키메라 항체 v23924 및 인간화 변이체 v30384는 모든 시험 농도(25에서 1 nM까지) 및 시점(6 및 24시간)에 걸쳐 미르베톡시맙 및 파르레투주맙 양성 대조군과 비교하여 증가된 내재화를 나타내었다. 예를 들어, IGROV-1 세포에서 6시간 인큐베이션 후, 인간화 변이체 v30384는 25 nM에서 미르베톡시맙 및 파르레투주맙과 비교하여 내재화 형광에서 각각 3.3배 및 6.1배 증가 및 5 nM에서 미르베톡시맙 및 파르레투주맙과 비교하여 내재화 형광에서 각각 2.6배 및 19.1배 증가를 나타내었다(도 5a). 유사하게, IGROV-1 세포에서 24시간 인큐베이션 후, 인간화 변이체 v30384는 25 nM에서 미르베톡시맙 및 파르레투주맙과 비교하여 내재화 형광에서 각각 2.1배 및 3.9배 증가 및 5 nM에서 미르베톡시맙 및 파르레투주맙과 비교하여 내재화 형광에서 각각 1.9배 및 4.7배 증가를 나타내었다(도 5b).

[0490] **실시예 13: 에피토프 매핑**

[0491] 인간 FR α 항원(hFR α)에 대한 모체 키메라 항체 v23924의 고분해능 에피토프 매핑을 아래 기재된 바와 같이 NovoAb Bioanalytics Inc.(Victoria, BC, Canada)에서 수소/중수소 교환 질량 분광측정(HDX-MS)으로 수행하였다.

[0492] **13.1 HDX-MS를 위한 샘플 제조**

[0493] 동결건조된 hFR α 는 ACROBiosystems(Newark, DE, Catalogue no: F01-H5229)에서 구입하여 2.5 mg/ml의 농도로 용해시켰다. 항원-항체 복합체는 hFR α 와 모체 키메라 항체 v23924를 2:1의 몰비로 혼합하여 제조하였다. 모든 샘플의 pH는 7.4였으며 투명했다(침전이 관찰되지 않음). 펩티드 확인을 위해, 10 μ M 농도의 hFR α 를 pH 2.4에서 2 M 구아니딘의 존재 하에 100 mM의 트리스-(2-카복시에틸)포스핀(TCEP)으로 환원시킨 다음, 효소-대-단백질 몰비 1:1로 펩신으로 소화시켰다. HDX는 단백질 샘플을 D₂O 완충액과 2:8(v/v) 비로 혼합하여 개시하였다. 생성된 용액을 26°C에서 인큐베이션하고 20초, 7분, 1시간 및 4시간째에 분취량을 취하고 4 M 구아니딘을 함유하는 200 mM TCEP 용액을 첨가하여 즉시 켄칭했다. 이들 샘플을 액체 질소에서 급속 냉동하고 -80°C에서 보관하였다. LC-MS 실험 동안, 단백질 분취량을 빠르게 해동하고 얼음 상에 보관하여 환원을 2분 동안 진행시킨 다음 0°C에서 펩신으로 2분 동안 소화시켰다.

[0494] **13.2 LC-MS 및 LC-MS/MS**

[0495] LC-MS 실험에서, 각 샘플의 20 μ L 분취량을 C18 분석 컬럼에 즉시 주입하고 100 μ L/분의 유속으로 Dionex UHPLC 시스템(Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany)을 사용하여 역상 액체 크로마토그래피로 분리했다. UHPLC 시스템을 가열 전기분무 이온화(HESI) II 소스가 장착된 Thermo Scientific Orbitrap Fusion™ 질량 분광계에 커플링하였다. H/D 역교환을 최소화하기 위해 컬럼, 액세서리, 주입기 및 용매 전달 라인을 얼음통에 내장했다. 주입에 사용된 주사기를 얼음 상에서 냉각하였다. 이동상은 0.1% 포름산(A) 및 100% 아세토니트릴/0.1% 포름산(B)이었고, 펩티드는 13분 구배로 분리하였다. MS 조사 스캔은 m/z 300-1600 범위 내에서 수행하였고, 질량 분해능은 120,000 FWHM이었다. Orbitrap 검출기는 보정 믹스(Calmix, ThermoFisher Scientific Corporation, Waltham, MA)를 사용하여 < 3 ppm 오류가 되도록 보정하였다. 전자 전달 해리(ETD) 실험에서, 플루오란텐 라디칼 음이온을 50 ms에 걸쳐 이온 트랩에 도입하였다. 충돌 유도 해리(CID) 및 ETD 단편 이온은 150-2000 m/z의 스캔 범위를 사용하여 Orbitrap에서 검출하였다.

[0496] 데이터 분석을 위해, Proteome Discoverer™ 소프트웨어 제품군(Thermo Fisher Scientific)을 사용하여 미가공 상향식 LC-MS/MS 데이터를 처리했다. 생성된 피크 목록을 사내 Mascot 2.2 서버에 제출하였으며 hFR α 의 서열에 대해 검색하였다. 이렇게 확인된 펩티드를 HDX 데이터 분석에 사용하였다. ETD 데이터는 Xcalibur™ 소프트웨어(ThermoFisher Scientific Corporation, Waltham, MA)를 사용하여 처리하고 생성된 ETD 피크 목록을 Protein Prospector(the University of California, San Francisco 웹사이트, <http://prospector.ucsf.edu>에서 온라인으로 이용 가능)를 사용하여 hFR α 의 서열에 대해 검색했다. 일치하는 이온도 확인하고 수동 검사로 확인했다. 펩티드의 질량 이동 및 개별 아미드의 중수소화 상태는 H/D 교환 전후 이의 중심 m/z 값에 기반하여 결정하였다. 모든 HDX 데이터는 100% D₂O 함량(모든 시점에 대해 완충액 중 80% D 교환)에 대해 정규화하였다.

획득한 중수소의 수를 각 펩티드에 함유된 아마이드 수소의 총 수와 비교하여 중수소 혼입 값을 얻었다. 아마이드 수준 중수소화 정보는 ETD 단편의 중수소 흡수에 기반하여 계산하였다.

[0497] **13.3 결과**

[0498] 단백질 서열 적용범위 및 펩티드 확인

[0499] 단백질 디설피드 결합의 존재는 펩티드 기반 HDX-MS 분석에서 펩신 소화 패턴 및 효율에 상당한 영향을 미친다. hFR α 와 항체 v23924가 둘 모두 다중 디설피드 가교를 함유하므로, 신속한 단백질 디설피드 환원 및 펩신 소화를 위한 최적화된 프로토콜을 먼저 개발하였다. 환원 시간 및 소화 시간은 각각 2분으로 최적화하였으며, 이러한 조건은 hFR α 및 hFR α -v23924 복합체 둘 모두에 적용 가능했다. 이렇게 확인된 펩티드는 항원 서열의 100%를 적용범위로 하였다(도 7 참고).

[0500] 펩티드 수준 HDX 비교

[0501] hFR α 및 v23924 복합체로부터의 펩티드의 중수소 혼입 수준을 HDX 시간(20초, 7분, 1시간 및 4시간)에 대해 그래프화했다. 결과를 도 8에 요약하여 나타낸다. 대부분의 펩티드는 항체 결합 전후에 동일한 중수소 흡수 거동을 가져서(도 8a), v23924 항체의 결합 부위(에피토프)가 상당히 편재됨을 제시한다. 도 8b에 나타난 차등 그래프에서, 3개의 펩티드(번호 14, 15 및 16)는 v23924 결합 후 중수소 흡수의 상당한 감소를 나타내어, 이들이 에피토프 영역에 있음을 표시한다. 이들 펩티드의 서열은 각각 WWEDCRTSY(118-126)(서열 번호 151), WEDCRTSY(119-126)(서열 번호 152) 및 WEDCRTSYTCKSNWHKGNWTS(119-142)(서열 번호 153)이다.

[0502] 아미노산 수준에서의 에피토프 결정

[0503] 3개의 에피토프 펩티드는 서열이 상이하지만, 이의 HDX 차이는 동일하며(도 8), 모두 서열 WEDCRTSY(119-126)(서열 번호 152)를 함유한다. 이는 모든 에피토프 잔기가 가장 짧은 펩티드 119-126에 포함됨을 표시한다. 동일한 영역에서 여러 차등 펩티드의 관찰은 단백질의 이 영역이 v23924 항체의 결합 부위라는 추가 확인을 제공한다. HDX 차이를 더 찾아내고 에피토프를 개별 아미노산까지 세밀하게 찾아내기 위해, ETD를 사용하여 펩티드 119-126에 대해 MSMS를 수행했다. HDX 시점 1시간이 가장 큰 차이를 제공하므로 이를 선택하였다. ETD 단편은 단일 잔기 분해능을 제공했다. 각 아미노산의 중수소화 수준을 계산하고 hFR α 와 v23924 복합체 간에 비교하였다(도 9). 차이 그래프의 결과에 기반하여, 에피토프 잔기는 서열 번호 15의 E120, D121, R123, T124, S125 및 Y126인 것으로 결정하였다(즉, 에피토프 서열은 EDRTSY임; 서열 번호 154).

[0504] **실시예 14: 항-FR α 항체의 친화도 성숙**

[0505] 인간화 항체 v30384(실시예 3 참고)를 HuTarg™ 시스템(Innovative Targeting Solutions, Vancouver, BC, Canada)을 사용하여 친화도 성숙시켰다. 인간화 변이체 v30384의 가변 영역에 유전자 재조합을 적용하고, 차세대 시퀀싱(NGS)을 사용하여 고친화도 돌연변이체를 확인했다.

[0506] **14.1 라이브러리 플라스미드 풀의 설계**

[0507] 인간화 변이체 v30384 가변 도메인의 CDR 루프에는 RAG1/2 재조합 신호 서열(RSS)이 산재되어 있었다. 이들 가변 도메인을 Integrated DNA Technologies, Inc.(Coralville, IA)에서 합성하고 플라스미드 E951(Innovative Targeting Solutions, Vancouver, BC, Canada)에 클로닝하였다.

[0508] **14.2 HuTarg™ 라이브러리 생성**

[0509] 하기 단계는 Innovative Targeting System의 프로토콜에 따라 수행하였다. E951 기반 플라스미드 풀을 HuTarg™ 세포에 통합시키고, RAG1/2 발현을 48시간 동안 유도했다. 이어서 PE-접합 염소 항-인간 카파 경쇄 항체(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA; cat#206009)로 염색한 후 나타난 성공적으로 재조합된 항체를 나타내는 HuTarg™ 세포를 추가 조사를 위해 선택했다.

[0510] **14.3 친화도 돌연변이체의 FACS 기반 선택**

[0511] HuTarg™ 세포는 BD FACSAria™ 유세포 측정기(BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ)에서 여러 라운드의 FACS 기반 분류를 거쳤으며, 각 라운드에서는 AlexaFluor-647(Thermo Fisher Scientific Corp., Waltham, MA; cat# S11223)에 접합된 스트렙타비딘으로 검출되는, 감소된 양의 비오틴화 가용성 HIS-태그화 FR α 항원(FR α -HIS, ACROBiosystems Newark, DE; cat# F01-H82E2)을 사용하였다. 비오틴화 FR α -HIS에 대해 증가된 결합을 나타낸 HuTarg™ 세포를 차세대 시퀀싱을 위한 준비에서 RNazol RT(Sigma-Aldrich, St. Louis, MI, cat# R4533)로 직

접 분류했다.

[0512] 14.4 친화도 돌연변이체의 차세대 시퀀싱

[0513] RNAzol에 용해된 세포로부터의 총 RNA를 제조업체의 지침에 따라 단리했다. 그런 다음 RNA를 ezDNase™(Thermo Fisher Scientific Corp., Waltham, MA, cat# 11766051)로 소화시키고 Superscript™ IV(Thermo Fisher Scientific Corp., Waltham, MA, cat# 18090010) 및 유전자 특이적 프라이머를 사용하여 cDNA로 전사하였다. VH 및 VK 도메인을 PCR 증폭을 위해 표적화하고, NEBNext® Ultra™ DNA 라이브러리 제조 키트(New England Biolabs, Ipswich, MA; cat# E7370L)를 사용하여 분자적으로 바코딩하였다. 샘플을 풀링하고 v2 화학(Illumina, San Diego, CA; cat# MS-102-2003)을 사용하는 500-사이클 키트로 Illumina MiSeq™ 시퀀싱 장치에서 실행했다. 친화도 증가를 부여할 가능성이 높은 VH 및 VK 서열 내 돌연변이를 확인하기 위해 서열 분석을 수행하였다.

[0514] 14.5 친화도 돌연변이체의 재조합 발현

[0515] 돌연변이된 VH 및 VK 도메인을 암호화하는 DNA 서열을 "MiniGenes"(Integrated Technologies, Inc., Coralville, IA)로서 합성하고 발현 벡터에 클로닝하여 각각 완전한 인간 IgG1 중쇄 및 인간 카파 경쇄를 코딩하는 발현 플라스미드를 제공했다. 모든 중쇄 플라스미드와 모든 경쇄 플라스미드가 쌍을 이루도록 발현 플라스미드를 서로 매트릭스화하였다. 이 매트릭스를 제조업체의 지침에 따라 Expi293™ 세포(Thermo Fisher Scientific Corp., Waltham, MA, cat# A14635)에서 재조합적으로 발현시켜 64개 샘플을 생성하였다.

[0516] 14.6 친화도 돌연변이체의 평가

[0517] 단백질 G 입자(Spherotech Inc., Lake Forest, IL)를 정규화된 농도로 인간화 변이체 v30384 또는 친화도 성숙 항체로 코팅했다. 가용성 인간 FR α 를 제한 항원 농도로 희석하고 항체 코팅 비드와 함께 인큐베이션했다. FR α 항원 결합 및 항체 포획은 각각 AlexaFluor-647 접합 스트렙타비딘 및 AlexaFluor-488 접합 염소 항-인간 IgG Fcy(둘 모두 Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME)를 사용하여 검출하였다. 샘플을 BD LSRFortessa™ 세포 분석기(BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ)에서 유세포 측정으로 분석했다. FR α 결합 및 항체 포획에 대한 기하 평균을 각 샘플에 대해 분석했다. 항체 포획을 FR α 결합에 대해 정규화하여 친화도 성숙 항체에 대한 인간화 변이체 v30384의 친화도 순위를 설정하였다.

[0518] 비드 상에 포획된 항체 대 항체에 의해 포획된 항원의 양의 비를 측정하여 단일 지점 친화도 순위설정을 수행했다. 1.9 nM의 인간 FR α 농도를 사용하는 변이체 v30384 결합은 최소(배경 대비 3배)인 반면, 돌연변이된 변이체의 대부분은 더 높은 결합 비를 나타냈다. 64개의 돌연변이된 변이체 중 3개의 변이체가 결합 비에서 4배 증가를 나타내었고, 10개는 동등한 결합 비를 나타냈다.

[0519] 실시예 15: FR α 에 대한 친화도 성숙 항체의 친화도 평가

[0520] 실시예 14에 기재된 친화도 성숙 변이체 중 10개를 CHO-K1 세포에서의 일시적 형질감염 및 주로 분취용 SEC 또는 CEX 크로마토그래피가 관여되는 후속 연마 단계(필요한 경우)를 포함하는 친화도 포획 정제를 통해 WuXi Biologics(Hong Kong) Limited, China에서 전체 크기 항체(FSA) 형식으로 생성하여, HPLC-SEC에 따라 97% 초과 의 샘플 순도를 산출하였다. FSA 형식은 이러한 변이체가 HetFc가 아닌 homoFc로 이루어진다는 점을 제외하면 모체 인간화 변이체 v30384의 형식과 유사했다. 실시예 3에 기재된 바와 같이 Octet® RED96 시스템을 사용하여 hFR α 에 대한 결합에 대해 10개의 친화도 성숙 변이체를 특성규명하였다.

[0521] 결과

[0522] 결과를 표 15.1에 나타낸다. 친화도 성숙은 약 12 내지 58배 개선 범위의, 모체 인간화 항체 v30384(K_D 1.27E-07 M)보다 실질적으로 더 높은 hFR α 에 대한 친화도를 갖는 인간화 변이체를 얻는 데 성공적이었다. 변이체 v35348의 경우 가장 낮은 K_D 2.2E-09 M이 관찰되었다. 친화도 획득은 주로 해리 상수를 낮춤으로써 달성되는 것으로 결정되었다.

[0523] [표 15.1]

친화도 성숙 변이체의 친화도 평가

변이체	평균 K_D (M)*	표준 편차 K_D (M)
v30384 (모체 인간화)	1.27E-07	2.49E-08
v35305	1.08E-08	9.12E-10
v35342	4.1E-09	1.3E-10
v35347	8.65E-09	9.18E-10
v35348	2.2E-09	1.8E-10
v35350	3.55E-09	2.89E-10
v35354	3.13E-09	7.64E-11
v35356	4.98E-09	1.8E-10
v35358	7.22E-09	4.21E-10
v36167	7.29E-09	1E-10
v36168	4.97E-09	2.64E-10

* n=2

[0524]

[0525] **실시예 16: 친화도 성숙 항체의 크로마토그래피 분석**

[0526]

실시예 15으로부터 10개의 친화도 성숙 변이체를 실시예 7에 기재된 바와 같이 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC) 및 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 분석하였다. 결과를 표 16.1에 나타낸다. 항체의 친화도 성숙은 가변적 HIC-RT에 의해 실증된 바와 같이 소수성/친수성에 대한 변화를 초래했다. 항체 단량체 함량은 모든 경우에 97% 초과였고 HIC-RT와 상관관계가 없었다.

[0527] [표 16.1]

친화도 성숙 항-FR α 항체의 HIC 및 SEC 분석

변이체	HIC-RT (분)	SEC		
		단량체 %	HMWS %	LMWS %
v30384 (모체 인간화)	6.2	97	3	0
v36167	8.4	98.8	1.2	0
v36168	10.0	99.4	0.6	0
v35305	9.2	100.0	0.0	0
v35342	10.1	100.0	0.0	0
v35347	4.9	97.3	2.7	0
v35348	5.6	98.4	1.6	0
v35350	9.9	100.0	0.0	0
v35354	9.6	100.0	0.0	0
v35356	5.0	98.7	1.3	0
v35358	8.7	98.7	1.3	0

[0528]

[0529] **실시예 17: 친화도 성숙 항체의 기능적 특성규명 - 세포 결합**

[0530]

대표적 친화도 성숙 변이체 v35356의 세포-상 결합 능력을 실시예 11에 기재된 바와 같이 유세포 측정으로 IGROV-1 및 JEG-3 내인성 FR α -발현 세포주에서 평가하였다.

[0531] **결과**

[0532] 결과를 표 17.1에 나타낸다. 모체 인간화 변이체 v30384 및 친화도 성숙 변이체 v35356은 IGROV-1 및 JEG-3 세포주 둘 모두에서 필적하는 겔보기 Kd 및 Bmax 값을 산출하였다(각각 높은 및 중등도 내인성 FR α 발현).

[0533] [표 17.1]

세포 결합

항체	IGROV-1			JEG-3		
	Bmax	곡선 힐 기울기 (h)	Kd (nM)	Bmax	곡선 힐 기울기 (h)	Kd (nM)
v30384(모체 인간화)	42,611	1.442	1.38	35,942	1.598	0.50
v35356(친화도 성숙)	43,842	1.537	1.31	40,110	2.119	0.44
인간 IgG	208	NA	NA	144	NA	NA

[0534] **실시예 18: 친화도 성숙 항체의 기능적 특성규명 - 내재화**

[0535] FR α 발현 세포주(IGROV-1 및 JEG-3)에서 모체 인간화 변이체 v30384 및 대표적 친화도 성숙 변이체 v35356의 수용체 매개 내재화 능력을 아래 기재된 바와 같이 유세포 측정으로 결정하였다. 팔리비주맙(항-RSV)(v22277)을 음성 대조군으로 사용했다.

[0536] 간략하게, 항체를 24시간 동안 4°C에서 Fab-AF488 항-인간 Ig Fc 표지 시약(Jackson Immuno Research Labs, West Grove, PA; Cat. No. 109-547-008)에 1:1 몰비로 커플링하여 형광 표지하였다. 세포를 시딩하고 48웰 플레이트에서 5% CO₂로 37°C에서 밤새 인큐베이션했다. 커플링된 항체를 다음날 세포에 첨가하고 37°C에서 24시간 동안 인큐베이션하여 내재화를 허용하였다. 인큐베이션 후, 세포를 해리하고, 세척하고, 4°C에서 45분 동안 인큐베이션된 100 nM의 항-488 항체를 사용하여 표면 AF488 형광을 쉐킷했다. 쉐킷된 AF488 형광(내재화된 형광)을 BD LSRFortessa™ 세포 분석기(BD Biosciences, Franklin Lake, NJ)에서 모든 샘플에 대해 유세포 측정으로 분석하였으며, 웰당 1,000개의 최소 이벤트를 수집하였다. 살아있는 세포 집단에서 AF488/FITC-A 기하평균을 GraphPad Prism 버전 9(GraphPad Software, San Diego, CA)를 사용하여 그래프화하였다.

[0537] **결과**

[0538] 결과를 도 10에 나타낸다. 모체 인간화 변이체 v30384 및 친화도 성숙 변이체 v35356은 5시간 및 24시간 노출 둘 모두에서, 20 nM으로 투여될 때, IGROV-1(도 10(a)) 및 JEG-3(도 10(b)) 세포에서 필적하는 내재화를 나타냈다.

[0539] **실시예 19: 항체-약물 접합체의 제조 - 시스테인 접합**

[0540] 말레이미드-함유 약물-링커에 접합된 키메라 모체 항체 v23924, 인간화 항체 변이체 또는 친화도 성숙 항체 변이체를 포함하는 항체-약물 접합체(ADC)를 다양한 약물-대-항체 비(DAR)로 제조하였다. 예시적인 프로토콜을 아래에 제공한다. 사용된 약물-링커는 표 19.1에 나열한다. 제조된 ADC 및 사용된 접합 조건은 표 19.2에 요약한다.

[0541] **19.1 사슬 간 디설피드 결합의 부분적 환원(DAR 4)에 의한 v23924의 접합**

[0542] 키메라 항체 v23924(25 mg)의 용액(5.14 mL)을 PBS(pH 7.4) 중 5 mM DTPA(디에틸렌트리아민 펜타아세트산) 용액을 사용하여 3.57 mg/mL로 희석하고, 이 용액에 10 mM 트리스(2-카복시에틸)포스핀(TCEP)(1.78 eq, 31 μ L)을 첨가하였다. 37°C 수조에서 2시간 동안 인큐베이션 후, 약물-링커 DL1의 20 mM DMSO 스톱 용액(10 eq, 87 μ L)을 첨가했다. 접합 반응물을 피펫팅으로 철저히 혼합하고 반응물을 얼음 상에서 최대 1시간 동안 진행시킨 후 과량의 약물-링커를 N-아세틸 시스테인의 20 mM 수성 스톱(9 eq, 78 μ L)으로 30분 동안 쉐킷한 후 소분자로부터 ADC를 정제하였다. v23924를 또한 동일한 접합 절차를 사용하여 DAR 4로 약물-링커 DL2 및 DL3에 접합하였다.

[0543] **19.2 사슬 간 디설피드 결합의 완전한 환원(DAR 10) 후 v23924의 접합**

- [0545] 키메라 항체 v23924(15 mg)의 용액(3.1 mL)을 PBS(pH 7.4) 중 5 mM DTPA 용액을 사용하여 3.57 mg/mL로 희석했다. 10 mM TCEP(18 eq, 188 μ L)를 첨가하고 반응 혼합물을 37°C 수조에서 3시간 동안 인큐베이션한 후 PBS, pH 7.4로 사전 평형화된 10 mL 40 kD Zeba™ 스핀 탈염 컬럼(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)을 사용하여 과량의 TCEP를 제거하였다. 완전히 환원된 항체를 얼음 상에서 최대 1시간 동안 약물-링커 DL1의 20 mM DMSO 스탁(18 eq, 94 μ L)에 접합시킨 후 N-아세틸 시스테인의 20 mM 수성 스탁(12 eq, 63 μ L)을 사용해서 과량의 약물-링커를 30분 동안 켄칭한 후 소분자로부터 ADC를 정제하였다.
- [0546] **19.3 사슬 간 디설피드 결합의 부분적 환원(DAR 4)에 의한 v30384의 접합**
- [0547] 인간화 항체 변이체 v30384(10 mg)의 용액(2.1 mL)을 PBS(pH 7.4) 중 5 mM DTPA 용액을 사용하여 3.52 mg/mL로 희석했다. 1 mM TCEP(2.37 eq, 164.5 μ L)를 첨가하고 반응 혼합물을 37°C 수조에서 2시간 동안 인큐베이션한 후 약물-링커 DL1의 20 mM DMSO 스탁(10 eq, 34.7 μ L)에 얼음 상에서 최대 1시간 동안 접합시킨 후 N-아세틸 시스테인의 20 mM 수성 스탁(9 eq, 31.2 μ L)을 사용해서 과량의 약물 링커를 30분 동안 켄칭한 후 소분자로부터 ADC를 정제하였다.
- [0548] **19.4 사슬 간 디설피드 결합의 완전한 환원(DAR 8) 후 v30384의 접합**
- [0549] 인간화 항체 변이체 v30384(20 mg)의 용액(958.3 μ L)을 PBS(pH 7.4) 중 5 mM DTPA 용액을 사용하여 5 mg/mL로 희석했다. 10 mM TCEP(12 eq, 167 μ L)를 첨가하고 반응 혼합물을 37°C 수조에서 3시간 동안 인큐베이션한 후 0 mM Na-아세테이트, pH 5.5로 사전 평형화된 10 mL 40 kD Zeba™ 스핀 탈염 컬럼(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)을 사용해서 과량의 TCEP를 제거하였다. 완전히 환원된 항체를 10% DMSO(vol/vol)의 존재 하에 암소에서 계속 교반하면서 실온에서 최대 2시간 동안 약물-링커 DL5의 10 mM DMSO 스탁(15 eq, 208 μ L)에 접합시킨 후 N-아세틸 시스테인의 10 mM 수성 스탁(20 eq, 274 μ L)을 사용해서 과량의 약물-링커에 의해 30분 동안 켄칭한 후 소분자로부터 ADC를 정제하였다.

[0550]

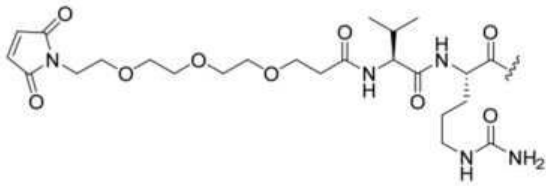
[표 19.1]

시스테인-접합 ADC의 제조에서 사용된 약물-링커

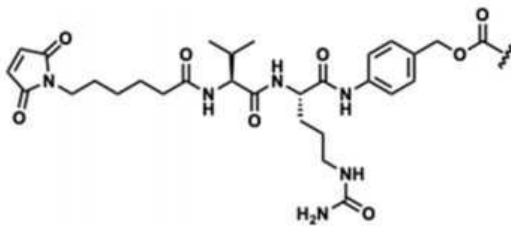
약물-링커	링커 ¹	페이로드
DL1	MTvc	화합물 1 ¹
DL2	MTvc	화합물 2 ¹
DL3	MCvc-PABC	MMAE
DL4	MCvc-PABC	에리블린
DL5	MC-GGFG	Dxd
DL7	MTvk	화합물 2 ¹

¹ 구조는 아래 나타냄.

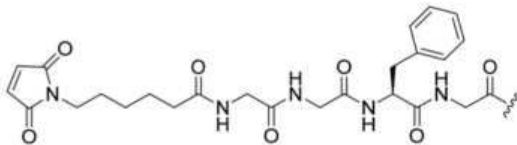
MTvc:



MCvcPABC:

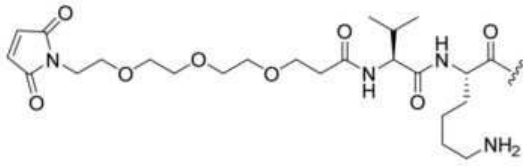


MC-GGFG:

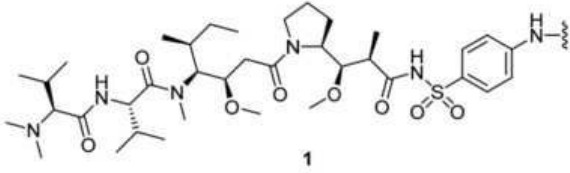


[0551]

MTvk:

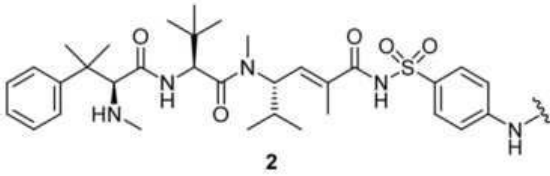


화합물 1:



(국제 특허 출원 공개 번호 WO 2016/041082 참고)

화합물 2:



(국제 특허 출원 공개 번호 WO 2014/144871 참고)

[0552]

[0553] [표 19.2]

시스테인-접합 ADC의 제조 요약

변이체	항체 유형	Fc 유형 ¹	약물-링커	표적 DAR	규모 (mg)	TCEP 물과량 (eq)	반응 중 항체 농도 (mg/mL)	접합 완충액
v23924	키메라	HomoFc	DL1	2	0.5	0.9	3.6	PBS, pH 7.4
v23924	키메라	HomoFc	DL1	4	25.0	1.8	3.6	PBS, pH 7.4
v23924	키메라	HomoFc	DL1	10	15.0	18.0	3.6	PBS, pH 7.4
v30384	인간화	HetFc	DL1	4	0.3	2.3	3.1	PBS, pH 7.4
v30389	인간화	HetFc	DL1	4	0.3	2.3	3.1	PBS, pH 7.4
v30394	인간화	HetFc	DL1	4	0.3	2.3	3.1	PBS, pH 7.4
v30399	인간화	HetFc	DL1	4	0.3	2.3	2.5	PBS, pH 7.4
v30618	Cys 포함 키메라	HetFc	DL1	4	0.3	1.8	3.1	PBS, pH 7.4
v31422	인간화	HomoFc	DL1	4	0.3	2.3	3.5	PBS, pH 7.4
v31423	인간화	HomoFc	DL1	4	0.3	2.3	3.5	PBS, pH 7.4
v31424	인간화	HomoFc	DL1	4	0.3	2.3	3.5	PBS, pH 7.4
v31425	인간화	HomoFc	DL1	4	0.3	2.3	3.5	PBS, pH 7.4
v31426	인간화	HomoFc	DL1	4	0.3	2.3	3.5	PBS, pH 7.4
v30384	인간화	HomoFc	DL1	4	10.0	2.4	3.5	PBS, pH 7.4
v30399	인간화	HomoFc	DL1	4	10.0	2.4	3.5	PBS, pH 7.4
v31423	인간화	HomoFc	DL1	4	10.0	2.3	3.3	PBS, pH 7.4
v31424	인간화	HomoFc	DL1	4	9.1	2.3	3.3	PBS, pH 7.4
v36167	친화도 성숙	HomoFc	DL1	4	0.15	2.3	2.0	PBS, pH 7.4
v36168	친화도 성숙	HomoFc	DL1	4	0.15	2.5	2.0	PBS, pH 7.4
v35305	친화도 성숙	HomoFc	DL1	4	0.22	2.1	2.2	PBS, pH 7.4
v35342	친화도 성숙	HomoFc	DL1	4	0.22	2.1	2.2	PBS, pH 7.4

[0554]

변이체	항체 유형	Fc 유형 ¹	약물-링커	표적 DAR	규모 (mg)	TCEP 몰 과량 (eq)	반응 중 항체 농도 (mg/mL)	접합 완충액
v35347	친화도 성숙	HomoFc	DL1	4	0.22	2.1	2.2	PBS, pH 7.4
v35348	친화도 성숙	HomoFc	DL1	4	0.22	2.1	2.2	PBS, pH 7.4
v35350	친화도 성숙	HomoFc	DL1	4	0.22	2.1	2.2	PBS, pH 7.4
v35354	친화도 성숙	HomoFc	DL1	4	0.22	2.1	2.2	PBS, pH 7.4
v35356	친화도 성숙	HomoFc	DL1	4	0.22	2.1	2.2	PBS, pH 7.4
v35358	친화도 성숙	HomoFc	DL1	4	0.22	2.1	2.2	PBS, pH 7.4
v23924	키메라	HomoFc	DL2	10	0.7	12.0	3.5	PBS, pH 7.4
v23924	키메라	HomoFc	DL3	4	0.5	12.0	3.3	PBS, pH 7.4
v30384	인간화	HetFc	DL3	4	1.0	2.8	3.0	PBS, pH 7.4
v30384	인간화	HetFc	DL4	4	1.0	2.4	3.2	50% 프로필렌 글리콜(v/v) 포함 PBS, pH 7.4
v30384	인간화	HetFc	DL5	8	20.0	12.0	4.1	10% DMSO(v/v) 포함 10 mM Na-아세테이트, pH 5.5
v36167	친화도 성숙	HomoFc	DL5	8	1.8	10	2.5	10% DMSO(v/v) 포함 10 mM Na-아세테이트, pH 5.5
v36168	친화도 성숙	HomoFc	DL5	8	1.8	10	2.5	10% DMSO(v/v) 포함 10 mM

[0555]

변이체	항체 유형	Fc 유형 ¹	약물-링커	표적 DAR	규모 (mg)	TCEP 몰 과량 (eq)	반응 중 항체 농도 (mg/mL)	접합 완충액
								Na-아세테이트, pH 5.5
v35347	친화도 성숙	HomoFc	DL5	8	1.8	10	3.0	10% DMSO(v/v) 포함 10 mL Na-아세테이트, pH 5.5
v35348	친화도 성숙	HomoFc	DL5	8	1.8	10	3.0	10% DMSO(v/v) 포함 10 mL Na-아세테이트, pH 5.5
v35356	친화도 성숙	HomoFc	DL5	8	1.8	10	3.0	10% DMSO(v/v) 포함 10 mL Na-아세테이트, pH 5.5
v35358	친화도 성숙	HomoFc	DL5	8	1.8	10	3.0	10% DMSO(v/v) 포함 10 mL Na-아세테이트, pH 5.5
v36675 ²	인간화	HomoFc	DL5	8	1500	12	5	7% DMSO(v/v) 포함 10 mL Na-아세테이트, pH 5.5
v23924	키메라	HomoFc	DL7	10	0.7	12.0	3.5	PBS, pH 7.4
v23924	키메라	HomoFc	DL7	4	20.0	1.8	3.6	PBS, pH 7.4

¹ 실시예 2 참고

² 변이체 v36675는 v30384와 동일하지만 HetFc가 아닌 HomoFc를 포함함

[0556]

[0557]

실시예 20: 항체-약물 접합체의 제조 - 라이신 접합

[0558]

각각 표적 DAR 3.3 또는 4로 약물-링커 DL6 또는 DL8(표 20.1 참고)에 접합된 인간화 항체 변이체 v30384를 포함하는 항체-약물 접합체(ADC)를 아래에 기재된 바와 같이 제조하고 표 20.2에 요약했다.

[0559]

DL6: 인간화 항체 v30384(1 mg)의 용액(207 μL)을 PBS, pH 7.4 중 약물-링커 DL6의 10 mM DMSO 스탁(14 eq, 9.7 μL)과 반응시켰다. 접합 반응물을 피펫팅을 통해 철저히 혼합하고 반응물을 실온에서 최대 17시간 동안 진행시켰다.

[0560]

DL8: 인간화 항체 v30384(30 mg)의 용액(5.9 mL)을 PBS, pH 7.4 중 약물-링커 DL8의 20 mM DMSO 스탁(9.5 eq, 99 μL)과 반응시켰다. 접합 반응물을 피펫팅을 통해 철저히 혼합하고 반응물을 실온에서 최대 18시간 동안 진행시켰다.

[0561] [표 20.2]

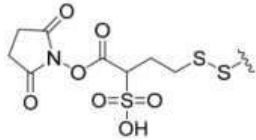
라이신-접합 ADC의 제조에서 사용된 약물-링커

약물-링커	링커 ¹	페이로드
DL6	sSPDB	DM4
DL8	NHS-ADvc	화합물 1 ²

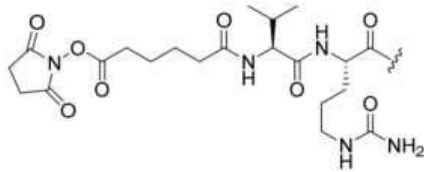
¹ 구조는 아래 나타냄.

² 표 19.1에 대한 주석 참고

sSPDB:



NHS-ADvc:



[0562]

[0563] [표 20.2]

라이신-접합 ADC의 제조 요약

변이체	항체 유형	Fc 유형*	약물-링커	표적 DAR	규모 (mg)	TCEP 몰 과량 (eq)	반응 중 항체 농도 (mg/mL)	접합 완충액
v30384	인간화	HetFc	DL6	3.3	1.0	14.0	4.8	PBS, pH 7.4
v30384	인간화	HetFc	DL8	4	30	9.5	5.1	PBS, pH 7.4

* 실시예 2 참고

[0564]

[0565] 실시예 21: ADC의 정제 및 특성규명

[0566] 실시예 19 및 20에 기재된 바와 같이 제조된 ADC를 PBS(pH 7.4) 또는 10 mM Na-아세트레이트, pH 5.5로 사전 평형화된 적절한 크기의 40 kD Zeba™ 스핀 탈염 컬럼(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)을 사용하여 정제하였다. >1 mg 규모로 생성된 ADC는 평균 여과하였다(0.22 μm).

[0567] 정제된 ADC를 4°C에서 보관하고 280 nm의 흡광도를 사용하거나 트라스투주맙 1 mg/mL으로 생성된 표준 곡선을 참조하는 BCA(비신코닌산) 검정을 사용하여 총 단백질 함량에 대해 분석했다. ADC를 또한 아래 기재된 바와 같이 HPLC-HIC, SEC, CE-SDS 및 RP-HPLC-MS로 특성규명하였다. ADC에 대한 평균 DAR 및 DAR 분포를 HIC 및 LC-MS 데이터로부터 유도하였다. 내독소 수준은 0.5 EU/mg으로 설정된 임계값을 갖는 ToxinSensor™ 단일 시험 키트(Genescript BioTech, Piscataway, NJ, Cat# L00450)를 사용하여 평가하였다. 잔류 유리 약물 및 약물-링커 수준(FD%)을 RP-HPLC-MS로 평가하고 임계값을 1몰% DAR로 설정한 하기 공식에 기반하여 계산했다.

[0568]

$$FD\% = \frac{[\text{유리 약물}] + [\text{유리 약물-링커}] + [\text{약물-링커 TCEP 부가물}]}{[ADC] \times DAR}$$

[0569]

ADC에 대해 결정된 생물리적 특성을 표 21.4에 요약한다.

[0570]

21.1 시스템인 결합 ADC에 대한 HIC에 의한 DAR 결정

[0571] HIC에 의한 평균 DAR은 문헌(*Antibody Drug Conjugates, Methods in Molecular Biology*, 2013, vol. 1045, pp. 275-284. L. Ducry, Ed)에 기재된 바와 같이 평가하였다. 실험은 5개 컬럼 부피의 완충액 A(1.5 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 25 mM NaH_2PO_4 , pH = 6.95)로 사전 평형화된 TSKgel® Butyl-NPR 컬럼(2.5 μm , 4.6 x 35 mm; TOSOH Bioscience GmbH, Griesheim, Germany)을 사용하여 실온에서 Agilent Infinity II 1290 HPLC(Agilent Technologies, Santa Clara, CA)에서 수행하였다. 전형적으로 2-3 mg/mL 농도의 샘플 20-30 μg 을 95% 완충액 A 및 5% 완충액 B(75% 25 mM NaH_2PO_4 + 25% 이소프로판올, pH 6.95)를 포함하는 컬럼 상으로 로딩하고 표 21.1에 나타난 구배를 사용하여 0.5 mL/분으로 15분 동안 실행했다. HIC 크로마토그램은 각 피크의 완전한 기준선대 기준선 통합에 이어 합리적인 분리를 나타내는 각 피크의 통합을 제공하는 적절한 매개변수를 사용하여 통합하였다. 참고로, 접합되지 않은 네이키드 항체를 동일한 구배에서 실행하여 DAR = 0인 종의 HIC 체류 시간을 얻었다.

[0572] [표 21.1]

HIC 구배

시간(분)	완충액 A%	완충액 B%
0	95	5
0.1	95	5
5	80	20
9.5	65	35
11.5	50	50
12.5	5	95
13.5	5	95
12.6	95	5
15	95	5

[0573]

21.2 라이신 결합 ADC에 대한 RP-HPLC-MS에 의한 DAR 결정

[0575] ADC 샘플은 Endo S를 사용하여 1시간 동안 실온에서 탈글리코실화하고 Agilent 6545 사중극자 비행 시간(Q-TOF) 질량 분광계(Agilent Technologies, Santa Clara, CA)와 커플링된 Agilent 1290 Infinity II LC 상으로 주입하였다. 단백질 종은 표 21.2에 나타난 구배를 사용하여 0.3 ml/분의 유속으로 PLRP-S 컬럼(1000Å, 8 μm , 50 x 2.1 mm)을 사용하여 분리하였다. 완충액 A: 수중 0.1% 포름산(FA), 0.025% 트리플루오르아세트산(TFA) 및 10% 이소프로필 알코올(IPA). 완충액 B: 아세토니트릴(ACN) 중 0.1% FA 및 10% IPA.

[0576] [표 21.2]

RP-HPLC-MS 구배

시간(분)	완충액 A%	완충액 B%
0	80	20
20	60	40
22	10	90
22.5	1	99
24	1	99

[0577]

[0578] MS 소스 조건을 표 21.3에 나타내며 획득 매개변수는 하기와 같았다:

[0579] 방식: MS; 질량 범위: 500 내지 7000 m/z; 획득 속도: 1 스펙트럼/초 및 1000 ms/스펙트럼, 3354 과도 신호/스펙트럼.

[0580] [표 21.3]

MS 소스 조건

기체 온도: 300℃	VCap: 5000V
건조 기체: 13 l/분	노즐 전압: 2000V
분무기: 45 psig	단편화기: 170V
쉬쓰(Sheath) 기체 온도: 400℃	스키머: 65V
쉬쓰 기체 유속: 12 l/분	Oct RF Vpp: 750V

[0581]

[0582] MassHunter 소프트웨어(Agilent Technologies, Santa Clara, CA)를 사용하는 정성 분석을 디콘볼루션 및 데이터 분석에 사용했다. 디콘볼루션 매개변수는 하기와 같았다:

[0583] 디콘볼루션 알고리즘: 최대 엔트로피; 질량 범위: 70000-160000; 질량 단계: 1.0; 사용된 제한 m/z 범위: 1000-7000; 감산 기준선: 7.0; 부가물: 양성자; 동위원소 폭: 자동; 높이 필터: 피크 신호 대 노이즈 >=30.0; 최대 피크 수: 높이 100으로 제한됨.

[0584] 평균 DAR은 하기 공식을 사용하여 디콘볼루션된 스펙트럼으로부터 계산하였다.

$$\text{평균 DAR} = \sum_{i=0}^n \frac{\text{약물 로드}_i \cdot \text{피크 강도}_i}{\text{총 피크 강도}}$$

[0585]

21.3 ADC의 SEC-HPLC 분석

[0587] 분석 SEC는 5 컬럼 볼륨의 완충액(150 mM Na₂PO₄, pH 6.95)으로 평형화된 Advance Bio SEC 컬럼(300 Å, 2.7 μm, 7.8 X 150 mm; Agilent Technologies)을 포함하는 Agilent Infinity II 1260 HPLC(Agilent Technologies, Santa Clara, CA)를 사용하여 실온에서 수행하였다. 전형적으로 2-3 mg/mL 농도의 샘플 20-30 μg을 7분 동안 1 mL/분으로 등방적으로 용출하고 흡광도를 A280에서 모니터링했다. 부분적으로 분해된 피크 간을 합리적으로 분리하며, 각 피크의 완전한 기준선-대-기준선 통합을 제공하도록 크로마토그램을 통합하였다. IgG의 주요 성분 에 상응하는 피크(대략 체류 시간 3.3분)는 비변형 키메라 항체 v23924의 SEC 프로파일에 기반하여 단량체로 보고되었다. 3.3분 이전에 발생한 모든 피크는 고분자량 중(HMWS)으로 지정되었으며, 3.3분 이후에 발생한 모든 피크는 용매 피크(5.2분 초과)를 제외하고, 저분자량 중(LMWS)으로 지정되었다.

21.4 ADC의 CE-SDS 분석

[0589] 처음에 모든 샘플을 1 mg/mL로 희석한 후, 샘플을 제조업체의 프로토콜(단백질 발현 검정 LabChip™; PerkinElmer, Inc., Waltham, MA)에 따라 96웰 PCR 플레이트에서 제조하였다. 간략하게, 2 μg의 ADC를 400 mM 디티오트레이톨(DTT)의 존재(환원) 또는 부재(비환원) 하에 7 uL 단백질 발현 완충액과 혼합한 후 95℃에서 5분 동안 열 변성시켰다. 이어서 샘플을 dH₂O 중 1:2 비로 희석한 후 데이터를 수집하였다. 각 CE-SDS 실행 후, LabChip™ 리뷰어(PerkinElmer, Inc., Waltham, MA)를 사용하여 겔 및 상응하는 전기영동도를 분석했다.

[0590] [표 21.4]

ADC의 생물리학적 특성

ADC ¹	표적 DAR	보고된 DAR		단량체% (HPLC-SEC)	FD% (몰%/DAR)	내독소 (EU/mg)
		HPLC-HIC	LC-MS			
v23924-DL1	2	2.1	1.9	100	ND ²	ND
v23924-DL1	4	4.0	4.0	99	0.4	<0.15
v23924-DL1	10	9.4	9.7	99	0.4	<0.23
v30384-DL1 ³	4	3.8	4.0	98	ND	ND
v30384-DL1 ⁴	4	3.8	4.1	97	<0.1	<0.23
v30389-DL1	4	3.8	3.9	93	ND	ND
v30394-DL1	4	3.9	3.7	96	ND	ND
v30399-DL1 ³	4	3.9	4.1	97	ND	ND
v30399-DL1 ⁴	4	3.8	4.1	98	<0.1	<0.21
v30618-DL1	4	4.2	4.2	97	ND	ND
v31422-DL1	4	3.9	4.2	99	ND	ND
v31423-DL1 ³	4	4.1	4.6	99	ND	ND
v31423-DL1 ⁴	4	3.9	4.3	99	<0.1	<0.42
v31424-DL1 ³	4	4.0	4.3	100	ND	ND
v31424-DL1 ⁴	4	3.8	4.4	100	<0.1	<0.5
v31425-DL1	4	3.9	4.3	100	ND	ND
v31426-DL1	4	3.9	4.4	99	ND	ND
v36167-DL1	4	4.0	ND	100	ND	ND
v36168-DL1	4	4.0	ND	100	ND	ND
v35305-DL1	4	4.0	ND	100	ND	ND
v35342-DL1	4	4.2	ND	100	ND	ND
v35347-DL1	4	3.5	ND	98	ND	ND
v35348-DL1	4	3.3	ND	99	ND	ND
v35350-DL1	4	3.3	ND	100	ND	ND
v35354-DL1	4	4.2	ND	100	ND	ND

[0591]

ADC ¹	표적 DAR	보고된 DAR		단량체% (HPLC-SEC)	FD% (물%/DAR)	내독소 (EU/mg)
		HPLC-HIC	LC-MS			
v35356-DL1	4	3.7	ND	100	ND	ND
v35358-DL1	4	3.8	ND	99	ND	ND
v23924-DL2	10	9.5	9.7	98	ND	ND
v23924-DL3	4	3.5	2.9	100	ND	ND
v30384-DL3	4	4.0	ND	91	ND	ND
v30384-DL4	4	3.8	ND	93	ND	ND
v30384-DL5	8	ND	8	96	<1.0	<0.25
v36167-DL5	8	8.0	ND	100	ND	ND
v36168-DL5	8	8.0	ND	100	ND	ND
v35347-DL5	8	8.0	ND	100	ND	ND
v35348-DL5	8	8.0	ND	100	ND	ND
v35356-DL5	8	8.0	ND	100	ND	ND
v35358-DL5	8	8.0	ND	100	ND	ND
v36675-DL5	8	8.0	8.0	99	0.8	<0.02
v30384-DL6	3.3	ND	3.3	100	ND	ND
v23924-DL7	10	9.5	9.8	100	ND	ND
v23924-DL7	4	4.0	3.6	100	<0.1	<0.19
v30384-DL8	4.0	ND	3.9	97	0.4	<0.25

¹ 약물-링커(DL)의 상세사항에 대해서는 실시예 19 및 20 참고

² ND = 결정되지 않음

³ 소규모 제조, FD% 및 내독소는 결정되지 않음

⁴ 대규모 제조

[0592]

[0593]

실시예 22: ADC의 시험관내 세포독성

[0594]

약물-링커 DL1(실시예 19 참고)에 각각 접합된 인간화 변이체 v30384 또는 친화도 성숙 변이체 v35356을 포함하는 ADC의 세포 성장 억제(세포독성) 능력을 아래 기재된 바와 같이 FR α 발현 세포주 패널에서 결정했다.

[0595]

간략하게, 세포를 384웰 플레이트에서 1,000개 세포/웰 밀도로 시딩하고 완전 세포 성장 배지에서 생성된 시험 물질의 적정으로 처리했다. 처리된 세포를 표준 배양 조건(37°C/5% CO₂)에서 4일 동안 인큐베이션했다. 인큐베이션 후, CellTiter-Glo® 시약(Promega Corporation, Madison, WI; Cat. No. G7570)을 모든 웰에 스파이크첨가하고 각 웰에 존재하는 ATP에 해당하는 발광성을 Synergy™ H1 플레이트 판독기(BioTek Instruments, Winooski, VT)를 사용하여 측정했다. 블랭크 웰(시험 항목이 첨가되지 않음, 블랭크 배지만 있음)에 기반하여 ATP 측정 RLU 값(상대 광 단위)을 사용해서 세포독성% 값을 계산하고 GraphPad Prism 9 소프트웨어(GraphPad Software, San Diego, CA)를 사용하여 시험 항목 농도에 대해 그래프화했다.

[0596]

결과

[0597]

결과를 표 22.1 및 도 19에 나타낸다. 인간화 변이체 v30384를 포함하는 ADC 및 친화도 성숙 변이체 v35356을 포함하는 ADC는 둘 모두 FR α 발현 세포 KB-Hela, IGROV-1, JEG-3 및 SKOV-3에서 필적하는 시험관내 세포독성을 나타냈다. 어느 ADC도 FR α 음성 MDA-MB-468 세포주에서 임의의 비특이적 세포독성을 나타내지 않았다.

[0598] [표 22.1]

시험관내 세포독성

ADC	DAR	EC50 (nM) DAR-수정				
		KB-HeLa	IGROV-1	JEG-3	SKOV-3	MDA-MB-468
v30384-DL1	3.9	0.0528	0.169	0.102	0.1767	>15
v35356-DL1	3.7	0.0307	0.0395	0.0409	0.0545	>15

[0599]

[0600] 실시예 23: 세포내 페이로드 방출 및 정량

[0601] 세포주 JEG-3(고 FR α), Caov-3(중등도 FR α), HEC-1-A(중등도 FR α) 및 H2110(중등도/저 FR α)에서 대표적 ADC의 세포내 페이로드 전달 능력을 아래 기재된 바와 같이 질량 분광측정을 사용하여 평가하였다. 시험된 ADC는 각각 약물-링커 DL1(실시예 19 참고)에 접합된 인간화 변이체 v30384 또는 친화도 성숙 변이체 v35356을 포함하였다.

[0602] 간략하게, 세포를 12웰 플레이트에서 80,000개 세포/웰로 시딩하고 표준 배양 조건 하에 24시간 동안 다양한 농도의 ADC로 처리했다. 인큐베이션 후, 세포를 PBS pH 7.4를 사용하여 세척하고, 수집하고, 계수하고 -80°C에서 냉동하였다. 해동 후, 순수 아세트니트릴을 사용하여 세포를 용해시켰다. 세포 용해물 상청액을 Agilent 6470 삼중 사중극자(QQQ) 질량 분광계(Agilent Technologies, Santa Clara, CA)와 커플링된 Agilent 1290 Infinity II LC에 주입하고 세포 용해물 샘플의 유리 페이로드(화합물 1)를 알려진 농도의 유리 페이로드 표준을 사용하여 정량하였다.

[0603] 결과

[0604] 결과를 도 11에 나타낸다. 고 FR α -발현 세포주 JEG-3에서, 두 ADC 모두 필적하는 세포내 페이로드(화합물 1) 전달을 나타냈다. 더 낮은 FR α 발현 세포주 Caov-3, H2110 및 HEC-1-A에서, 친화도 성숙 변이체 v35356을 포함하는 ADC는 모체 인간화 변이체 v30384를 포함하는 ADC와 비교하여 24시간째에 더 높은 페이로드 전달을 나타내었다.

[0605] 실시예 24: 생체내 유효성 연구 - 키메라 항-FR α 항체 ADC

[0606] 약물-링커 DL1 또는 DL7에 접합된 모체 키메라 항체 v23924의 생체내 항종양 활성을 아래에 기재된 바와 같이 다양한 수준의 FR α 를 발현하는 다수의 이종이식편 모델에서 평가하였다. 알려진 FR α 표적화 항체인 미르베크시맵을 포함하는 대조군 ADC의 활성을 비교를 위해 평가했다. 대조군 ADC는 약물-링커 DL1에 접합된 v17717(HetFc를 포함하는 미르베크시맵 Fab) 및 약물-링커 DL6에 접합된 v17717이었다. 통계 분석을 위해, 선형 혼합 효과 모델을 로그 변환된 종양 부피에 피팅시킨 후, 평균 성장률이 동일하다는 귀무 가설에 대한 F 시험 및 사후 쌍별 비교를 수행했다.

[0607] 각 이종이식편 연구에서 사용된 ADC, 이종이식편 모델, 투여량 및 연구 기간을 표 24.1에 요약한다. 각 이종이식편 연구에 대해, 동물의 종양 부피 및 체중을 주 2회 측정하였다.

[0608] [표 24.1]

연구 매개변수

이종이식 편 모델	암 유형	FR α 발현	ADC	용량 수준(들) mg/kg	연구 기간
CTG0848	비소세포 폐암	중/고	v23924-DL1	5, 10	28 일
OV90	난소암	중	v23924-DL1	9, 18	60 일
			v17717-DL6	9	
OVCAR3	난소암	중/고	v23924-DL1	9	60 일
			v17717-DL6	9	
LXFA737	폐암	중	v23924-DL1	5	45 일
			v17717-DL6	5	
			v17717-DL1	5	
JEG3	용모막암종	결정되지 않음	v23924-DL1	3	25 일
			v17717-DL6	3	
			v17717-DL1	3	
HCC1954	유방암	저	v23924-DL1	10	49 일
			v17717-DL6	10	
			v17717-DL1	10	
SKOV3	난소암	저	v23924-DL1	10	40 일
			v17716-DL6	10	
			v17717-DL1	10	
KB	자궁경부암	중	v23924 DL1	5, 10	28 일
			v23924-DL7	5, 10	
			v17717-DL6	5, 10	

[0609]

[0610]

CTG-0848 PDX 모델의 경우, 종양 단편을 암컷 누드 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 100-250 mm³에 도달했을 때, 동물을 종양 크기에 따라 매칭하고 치료 그룹(그룹당 n=5)으로 배정하고 표 24.1에 나타낸 바와 같이 0일째에 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다.

[0611]

OV90 모델의 경우, 종양 세포 현탁액(0.1 ml 50% Matrigel® 중 1x10⁷개 세포)을 암컷 CB.17 SCID 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 100-150 mm³에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=9)으로 배정하고 표 24.1에 나타낸 바와 같이 연구 1일째에 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다.

[0612]

OVCAR3 모델의 경우, 종양 단편(약 1 mm³)을 암컷 CB.17 SCID 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 100-150 mm³에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=8)으로 배정하고 연구 1일째에 표 24.1에 나타낸 바와 같이 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다.

[0613]

LXFA737 PDX 모델의 경우, 종양 단편(3-4 mm 가장자리 길이)을 암컷 누드 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 80-200 mm³에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=6)으로 배정하고 표 24.1에 나타낸 바와 같이 연구 0일째에 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다.

[0614]

JEG3 CDX 모델의 경우, 종양 세포 현탁액(0.1 ml 50% Matrigel® 중 1x10⁷개 세포)을 NOD/SCID 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 100 mm³에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=5)으로 배정하고 표 24.1에 나타낸 바와 같이 연구 0일째에 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다.

- [0615] HCC1954 CDX 모델의 경우, 종양 세포 현탁액(0.1 ml 50% Matrigel® 중 5×10^6 개 세포)을 누드 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 150 mm^3 에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=5)으로 배정하고 연구 0일째에 표 24.1에 나타낸 바와 같이 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다.
- [0616] SKOV3 CDX 모델의 경우, 종양 세포 현탁액(0.1 ml 50% Matrigel® 중 1×10^7 개 세포)을 누드 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 170 mm^3 에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=5)으로 배정하고 표 24.1에 나타낸 바와 같이 연구 0일째에 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다.
- [0617] KB CDX 모델의 경우, 종양 세포 현탁액(0.1 ml PBS 중 3×10^6 개 세포)을 누드 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 $100\text{--}150 \text{ mm}^3$ 에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=5)으로 배정하고 표 24.1에 나타낸 바와 같이 연구 1일째에 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다.
- [0618] HCC1954 및 KB CDX 모델을 제외한 모든 모델의 경우, 실시예 28에 기재된 바와 같이 약동학적 분석을 위해 여러 시점에서 혈청을 수집하였다.
- [0619] **결과**
- [0620] 결과를 도 12에 나타낸다.
- [0621] CTG-0848 PDX 모델에서, 5 및 10 mg/kg으로 투약될 때 v23924-DL1은 종양 성장의 지속적인 퇴행을 초래했다(도 12a). OV90 모델에서, 9 및 18 mg/kg으로 투약될 때, v23924-DL1은 종양 성장율의 중등도 억제를 초래했지만(도 12b), 이는 비히클 대조군과 통계적으로 유의하게 상이하지 않았다(혼합 효과 모델). OVCAR3 모델에서 9 mg/kg으로 투약될 때, v23924-DL1 및 v17717-DL6은 둘 모두 종양 성장율의 통계적으로 유의한 억제를 초래하였다($p < 0.001$ 혼합 효과 모델). v23924-DL1은 v17717-DL6보다 종양 성장율을 유의하게 더 억제하며, 지속적인 종양 퇴행을 초래하였다($p < 0.001$)(도 12c).
- [0622] LXFA737 PDX 모델에서, 5 mg/kg으로 투약될 때, v23924-DL1, v17717-DL6 및 v17717-DL1은 각각 198%, 144% 및 165%의 종양 성장을 억제해 초래하였다(각 종양 성장율은 대조군과 유의하게 상이함, $p < 0.001$)(도 12d). JEG3 CDX 모델에서, 3 mg/kg으로 투약될 때, v23924-DL1, v17717-DL6 및 v17717-DL1은 각각 132%, 148% 및 139%의 종양 성장을 억제해 가지며, 일시적인 종양 퇴행을 초래했다(각 종양 성장율은 대조군과 유의하게 상이함, $p < 0.001$)(도 12e). HCC1954 CDX 모델에서, 10 mg/kg으로 투약될 때, v23924-DL1, v17717-DL6 및 v17717-DL1은 각각 287%, 278% 및 242%의 종양 성장을 억제해 가지며, 일시적인 종양 퇴행을 초래했다(각 종양 성장율은 대조군과 유의하게 상이함, $p < 0.01$)(도 12f).
- [0623] SKOV3 CDX 모델에서, 10 mg/kg으로 투약될 때, v23924-DL1, v17716-DL6 및 v17717-DL1은 각각 287%, 243% 및 278%의 종양 성장을 억제해 가지며, 일시적인 종양 퇴행을 초래했다(각 종양 성장율은 대조군과 유의하게 상이함, $p < 0.01$)(도 12g). KB CDX 모델에서 5 mg/kg으로 투약될 때, v23924-DL1, v23924-DL7 및 v17717-DL6은 각각 289%, 171% 및 -1%의 종양 성장을 억제해 초래했으며, 두 v23924 ADC는 모두 비히클 대조군 및 v17717-DL6에 비해 유의하게 더 우수했다($p < 0.01$). 10 mg/kg으로 투약될 때, 모든 ADC는 이 모델에서 지속적인 종양 퇴행을 초래했다(도 12h).
- [0624] **실시예 25: 생체내 유효성 연구 - 키메라 및 인간화 항-FR α 항체 ADC**
- [0625] 약물-링커 DL1(실시예 19 참고)에 접합된 키메라 항체 v23924 그리고 인간화 변이체 v30384 및 v30399(실시예 3 참고)의 생체내 항종양 활성을 아래에 기재된 바와 같은 중/고수준 FR α 발현 OVCAR3 난소암 모델에서 평가했다. 통계 분석을 위해, 선형 혼합 효과 모델을 로그 변환된 종양 부피에 피팅시킨 후, 평균 성장률이 동일하다는 귀무 가설에 대한 F 시험 및 사후 쌍별 비교를 수행했다.
- [0626] 종양 단편(약 1 mm^3)을 암컷 CB.17 SCID 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 $100\text{--}150 \text{ mm}^3$ 에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=8)으로 배정하고 연구 1일째에 단일 IV 용량의 4 mg/kg 또는 9 mg/kg ADC로 처리했다. 종양 부피 및 체중은 60일의 연구 기간 동안 주 2회 측정하였다.
- [0627] **결과**
- [0628] 결과를 도 13에 나타낸다. 4 mg/kg으로 투약될 때, v23924-DL1 그리고 인간화 v30384-DL1 및 v30399-DL1은 유사한 종양 퇴행에 이어 재성장을 초래했다. 9 mg/kg으로 투약될 때, 모든 ADC는 지속적인 종양 퇴행을

초래했다.

[0629] 실시예 26: 생체내 유효성 연구 - 인간화 항-FR α 항체 ADC #1

[0630] 약물-링커 DL1 또는 DL8(실시예 19 및 20 참고)에 접합된 인간화 변이체 v30384(실시예 3 참고)의 생체내 항종양 활성을 아래 기재된 바와 같이 다양한 수준의 FR α 를 발현하는 다수의 이종이식편 모델에서 평가했다. 알려진 FR α 표적화 항체인 미르베크시맴을 포함하는 대조군 ADC의 활성을 비교를 위해 선택 모델에서 평가했다. 대조군 ADC는 약물 링커 DL6에 접합된 v17717(HetFc를 갖는 미르베크시맴 Fab)(v17717-DL6) 및 약물 링커 DL6에 접합된 v17716(homoFc를 갖는 미르베크시맴 Fab)(v17716-DL6)이었다. H2110 CDX 모델에서, 약물-링커 DL4에 접합된 v31629(파를레투주맴)(v31629-DL4)도 대조군으로 포함시켰다. 통계 분석을 위해, 선형 혼합 효과 모델을 로그 변환된 종양 부피에 피팅시킨 후, 평균 성장률이 동일하다는 귀무 가설에 대한 F 시험 및 사후 쌍별 비교를 수행했다.

[0631] 각 이종이식편 연구에서 사용된 ADC, 이종이식편 모델, 투여량 및 연구 기간을 표 26.1에 요약한다. 각 이종이식편 연구에 대해, 동물의 종양 부피 및 체중은 주 2회 측정하였다.

[0632] [표 26.1]

연구 매개변수

이종이식편 모델	암 유형	FR α 발현	ADC	용량 수준(들) mg/kg	연구 기간
H2110	폐암	중/저	v30384-DL1	1.25, 2.5, 5	28 일
			v17716-DL6	1.24, 2.5, 5	
			v31629-DL4	2.5	
SKOV3	난소암	저	v30384-DL1	8	42 일
				4 및 8, q10d x4	
			v17717-DL6	8	
IGROV-1	난소암	고	v30384-DL1	4 및 8, q10d x4	60 일
			v17716-DL6	4 및 8, q15d x3	
LXFA737	폐암	중	v30384-DL1	4, 8	45 일
			v17717-DL6	4, 8	

[0633]

[0634] H2110 CDX 모델의 경우, 종양 세포 현탁액(0.1 ml 50% Matrigel® 중 1×10^7 개 세포)을 CB.17 SCID 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 155 mm^3 에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=8)으로 배정하고 표 26.1에 나타난 바와 같이 연구 0일에 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다. 실시예 28에 기재된 바와 같이 약동학적 분석을 위해 여러 시점에서 혈청을 수집하였다.

[0635] SKOV3 CDX 모델의 경우, 종양 세포 현탁액(0.1 ml 50% Matrigel® 중 1×10^7 개 세포)을 누드 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 175 mm^3 에 도달했을 때, 동물을 그룹(반복 투약 그룹의 경우 그룹당 n=9, 단일 투약 그룹의 경우 n=7)으로 배정하고 표 26.1에 나타난 바와 같은 용량 수준 및 일정에 따라 연구 0일째에 시작하여 ADC로 처리하였다. 실시예 28에 기재된 바와 같이 약동학적 분석을 위해 여러 시점에서 혈청을 수집하였다.

[0636] IGROV-1 모델의 경우, 종양 세포 현탁액(0.1 ml 50% Matrigel® 중 1×10^7 개 세포)을 암컷 누드 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 $100\text{-}150 \text{ mm}^3$ 에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=12)으로 배정하고 표

26.1에 나타난 바와 같은 용량 수준 및 일정에 따라 ADC로 처리했다.

[0637] LXFA737 CDX 모델의 경우, 종양 단편(3-4 mm 가장자리 길이)을 nude 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 100 mm³에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=10)으로 배정하고 표 26.1에 나타난 바와 같이 연구 0일째에 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다.

[0638] **결과**

[0639] 결과를 도 14에 나타낸다.

[0640] H2110 CDX 모델에서, 1.25, 2.5 및 5 mg/kg으로 투약될 때, v30384-DL1 및 v17716-DL6은 둘 모두 낮은 용량 반응에 걸쳐 경도 내지 중등도 종양 성장 억제를 초래했지만, 이는 통계적으로 유의하지 않았다(도 14a). 2.5 mg/kg으로 투약된 v31629-DL4는 v17716-DL6 및 v30384-DL1에 필적하는 경도 종양 성장을 억제를 초래하였다.

[0641] SKOV3 CDX 모델에서, 8 mg/kg의 v30384-DL1, v30384-DL8 및 v17716-DL6의 단일 투여는 각각 203%, 178% 및 232%의 유의한 종양 성장을 억제를 초래하였으며(p<0.01), v17716-DL6에 의해서는 중등도이지만 통계적으로 유의한 더 큰 종양 성장을 억제를 가졌다(p<0.01)(도 14b). 반복 투약(총 4개 용량에 대해 10일마다 v30384-DL1, 총 3개 용량에 대해 15일마다 v17716-DL6)은 단일 용량 투여와 비교하여 종양 성장에 대해 경도 효과를 가졌다(도 14c).

[0642] IGROV-1 모델에서, 8 mg/kg으로 투약될 때, v30384-DL1(총 4개 용량에 대해 10일마다) 및 v17716-DL6(총 3개 용량에 대해 15일마다)은 둘 모두 대조군과 비교하여 유의한 종양 성장 억제를 초래하였다(p<0.001). 4 mg/kg으로 투약될 때, v30384-DL1(총 4개 용량에 대해 10일마다)만 대조군과 비교하여 유의한 종양 성장 억제를 초래하였다(p<0.001). v30384-DL1은 4 및 8 mg/kg 용량 수준 둘 모두에서 v17716-DL6보다 유의하게 더 큰 종양 성장을 억제를 초래하였다(각각 p<0.001 및 p=0.014)(도 14d).

[0643] LXFA737 CDX 모델에서, 8 mg/kg으로 투약될 때, v30384-DL8 및 v17716-DL6은 각각 154% 및 313%의 유의한 종양 성장을 억제를 초래하였다(p<0.01). v17716-DL6은 v30384-DL8과 비교하여 4 mg/kg(132% 및 21%) 및 8 mg/kg(313% 및 154%) 용량 수준 둘 모두에서 유의하게 더 큰 종양 성장을 억제를 초래하였다(p<0.01)(도 14e).

[0644] **실시예 27: 생체내 유효성 연구 - 인간화 항-FR α 항체 ADC #2**

[0645] 약물-링커 DL5(실시예 19 참고)에 접합된 인간화 변이체 v30384(실시예 3 참고)의 생체내 항종양 활성을 아래 기재된 바와 같이 다양한 수준의 FR α 를 발현하는 다수의 이종이식편 모델에서 평가하였다. 통계 분석을 위해, 선형 혼합 효과 모델을 로그 변환된 종양 부피에 피팅시킨 후, 평균 성장률이 동일하다는 귀무 가설에 대한 F 시험 및 사후 쌍별 비교를 수행했다.

[0646] 각 이종이식편 연구에서 사용된 ADC, 이종이식편 모델, 투여량 및 연구 기간을 표 27.1에 요약한다. 각 이종이식편 연구에 대해, 동물의 종양 부피 및 체중은 주 2회 측정하였다.

[0647] [표 27.1]

연구 매개변수

이종이식편 모델	암 유형	FR α 발현	용량 수준(들) mg/kg	연구 기간
OV90	난소암	중	1, 3, 10	61 일
H2110	폐암	중/저	0.3, 1, 3, 10	28 일
OVCAR3	난소암	중/고	0.25, 0.75, 1.5, 3	61 일
OVCAR3	난소암	중/고	6	61 일

[0648]

[0649] OV90 CDX 모델의 경우, 종양 세포 현탁액(0.1 ml 50% Matrigel® 중 1x10⁷개 세포)을 CB.17 SCID 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 100-150 mm³에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=6)으로 배정하고 표 27.1에 나타난 바와 같이 연구 1일째에 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다.

[0650] H2110 CDX 모델의 경우, 종양 세포 현탁액(0.1 ml 50% Matrigel® 중 1x10⁷개 세포)을 CB.17 SCID 마우스에 피하

하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 150 mm³에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=5)으로 배정하고 표 27.1에 나타낸 바와 같이 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다.

[0651] OVCAR3 CDX 모델의 경우, 종양 단편(약 1 mm³)을 CB.17 SCID 마우스에 피하 임플란트했다. 평균 종양 부피가 약 100-150 mm³에 도달했을 때, 동물을 그룹(그룹당 n=5)으로 배정하고 표 27.1에 나타낸 바와 같이 연구 1일째에 단일 IV 용량의 ADC로 처리했다.

[0652] 각 모델에 대해, 실시예 28에 기재된 바와 같이 약동학적 분석을 위해 여러 시점에서 혈청을 수집했다.

[0653] **결과**

[0654] 결과를 도 15에 나타낸다. 세 가지 모델 모두에서, v30384-DL5는 시험된 투여량에 걸쳐 용량 반응을 초래하였다.

[0655] OV90 CDX 모델에서 v30384-DL5는 1, 3 및 10 mg/kg에 걸쳐 용량 반응을 초래하였다(각각 25%, 47% 및 185% 종양 성장을 억제, 3 및 10 mg/kg 용량 수준에서 유의함(p<0.01))(도 15a). H2110 CDX 모델에서, v30384-DL5는 0.3, 1, 3 및 10 mg/kg 용량 수준에 걸쳐 용량 반응을 초래하였다(도 15b). OVCAR3 CDX 모델에서, v30384-DL5는 0.25, 0.75, 1.5 및 3 mg/kg 용량 수준에 걸쳐 용량 반응을 초래하였으며, 더 높은 용량 그룹은 투약 약 5주 후 재성장을 포함하는 지속적인 퇴행을 야기했다(도 15c). OVCAR3 CDX 모델의 추가 연구에서, v30384-DL5는 6 mg/kg으로 투약하여 지속적인 퇴행을 야기했다(도 15d).

[0656] **실시예 28: 약동학적 연구**

[0657] 실시예 24, 26 및 27에 기재된 이중이식편 연구의 하위세트로부터, 주지된 바와 같이 혈청을 수집하고 아래 기재된 바와 같이 평가 중인 ADC의 약동학(PK)에 대해 분석했다. 전반적으로, 면역저하된 종양 보유 마우스에서의 이들 연구는 v30384에 기반한 ADC가 유리한 PK 특성을 가짐을 실증한다.

[0658] 시험 항목(총 항체 및/또는 온전한 ADC) 농도를 384웰 플레이트 ELISA에 의해 마우스 혈청으로부터 측정하였다. 키메라 v23924, 인간화 v30384 및 비교인자 v17717 및 v17716 기반 ADC가 투약된 마우스로부터의 혈청에서 총 IgG의 검출을 위해, ELISA 플레이트를 염소 항-인간 IgG Fc 포획 항체(Jackson Immuno Research Laboratories, West Grove, PA)로 코팅했다. DL1 온전한 ADC의 ELISA를 위해, 토끼 항-화합물 1 포획 항체를 사용했다. DL6 온전한 ADC의 ELISA를 위해, 마우스 항-DM1/4 포획 항체를 사용했다(Levena Biopharma, San Diego, CA). 차단 후 혈청 샘플을 적용한 후 검출 항체: 홀스래디쉬 퍼옥시다제(HRP)에 접합된 염소 항-인간 IgG F(ab')₂(Jackson Immuno Research Laboratories, West Grove, PA)를 적용했다. 450 nm에서의 흡광도는 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)의 적용 및 HCl 켄칭 후에 측정하였다. 농도는 표준을 참조하여 결정하였다(GraphPad Prism 소프트웨어(GraphPad Software, San Diego, CA)).

[0659] 결과를 도 16에 나타낸다. 여러 연구에 걸친 분석은 v23924-DL1 및 v17717-DL1 각각의 총 IgG 및 ADC PK가 전형적인 항체 유사 장기 노출을 가지며, 유사함을 실증하였다(도 16a-f 참고). v17717-DL6 및 v17716-DL6 ADC PK는 이의 각각의 총 IgG PK와 비교하여 더 낮은 노출 및 더 높은 제거율을 초래함을 일관되게 실증하였다.

[0660] v30384-DL5는 OV90 모델에서 1, 3 및 10 mg/kg 용량에 걸쳐 비례적인 PK를 실증하였다(도 16g). H2110 모델에서, v30384-DL5는 10 mg/kg에서 장기 노출 및 더 낮은 용량에서 더 큰 제거율을 실증하였다(도 16h).

[0661] **실시예 29: 다세포 종양 구형체에서 항-FR α 항체의 침투**

[0662] 항-FR α 항체가 FR α 발현 세포주 구형체에 침투하는 능력을 아래 기재된 방법에 따라 평가하였다. 구형체는 뚜렷한 세포 집단 층을 갖고 외부에서 내부 영역으로 상이한 구배를 형성하는 세포의 3차원 구성을 제공한다. 세포 신호전달은 2차원 세포 배양보다 구형체에서 더 복잡하다. 이러한 특징의 결과, 구형체는 약물 내성 및 대사 적응을 개괄할 수 있는 잠재력을 갖는다.

[0663] 인간화 변이체 v36675의 구형체 침투 능력을 미르베톡시맵(v17716) 및 비FR α -표적화 대조군 팔리비주맵(항-RSV)(v22277)과 비교했다. 변이체 v36675는 변이체 v30384와 동일하지만 HetFc가 아닌 homoFc를 포함한다. 사용된 세포주는 고 FR α 발현 JEG-3(태반 용모막암종)이었다.

[0664] 24시간 동안 4°C에서 PBS pH 7.4(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, Cat. No. 10010-023)에서 1:1 몰비로 항-인간 IgG Fc를 표적화하는 Fab 단편 AF488 접합체(Jackson Immuno Research Labs, West Grove, PA, Cat. No. 109-547-008)에 커플링하여 항체를 형광 표지하였다.

[0665] JEG-3 세포를 TrypLE™ Express 효소(1X)(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)를 사용하여 배양 용기로부터 탈착시키고 Cellca® MX 고처리량 자동화 세포 계수기(Nexcelom Bioscience LLC, Lawrence, MA)를 사용하여 계수했다. 세포를 완전 성장 배지(10% 우태 혈청으로 보충된 최소 필수 배지(둘 모두 Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA))에서 희석하고 96-웰 CellCarrier 구형체 초저부착 플레이트(Perkin Elmer, Waltham, MA)에 3,000개 세포/웰로 시딩하고, 원심분리하고, 구형체 형성 및 성장을 허용하기 위한 표준 배양 조건 하에 3일 동안 인큐베이션했다.

[0666] 구형체 형성 후, Fab-AF488 커플링된 항체를 최종 농도 25 nM로 구형체에 첨가하고 표준 배양 조건 하에 4-96시간 동안 인큐베이션했다. 인큐베이션 후, 100 µL 완전 성장 배지를 첨가하여 과량의 항체를 제거하고 웰로부터 100 µL 배지를 제거하여 총 3회 세척한다. 구형체를 1 µM Hoechst 33342(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) 및 100 nM 항-Alexa Fluor 488 항체(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, Cat. No. A-11094) 용액으로 처리하고 37°C/5% CO₂에서 2시간 동안 인큐베이션하였다.

[0667] 공초점 획득 및 10x 배율 공기 대물렌즈를 포함하는 Operetta CLS™ 하이 컨텐츠 분석 시스템(Perkin Elmer, Waltham, MA)을 사용하여 이미징을 수행했다. 15 µm 간격으로 분리된 15개 평면의 AZ 스택을 획득하고 구형체 중심 슬라이스를 나타내는 최대 직경의 슬라이스를 2D 분석을 위해 선택했다. Harmony® 4.5 소프트웨어(Perkin Elmer, Waltham, MA)를 사용하여 이미지 분석을 수행했다. 간략하게, 웰당 하나의 구형체에 Hoechst 33342 양성 개체 주위 마스크를 적용하여 구형체 확인을 수행했다. 구형체 영역은 각각 구형체 영역의 10% 면적을 나타내는, 동심원 밴드의 하위영역으로 나누었다. 각 하위영역 밴드 내의 평균 AF488 형광을 정량하고, 내부 10% 평균 AF488 형광을 감산해서 수정하고, GraphPad Prism 버전 9(GraphPad Software, San Diego, CA)를 사용하여 그래프화했다.

[0668] **결과**

[0669] 결과를 표 29.1 및 도 20에 요약한다. 인간화 항체 변이체 v36675는 각 하위영역 밴드의 AF488 강도 및 평가된 모든 시점에 AF488 형광이 검출 가능한 구형체 가장자리로부터의 거리에 의해 미르베크시맵보다 JEG-3 구형체에 대해 더 큰 침투 정도를 나타내었다. 비결합 대조군 팔리비주맵은 평가된 모든 시점에서 두 항-FR α 항체와 비교하여 구형체에 걸쳐 더 적은 AF488 신호를 나타냈다.

[0670] [표 29.1]

JEG-3 구형체에서 항-FR α 항체의 침투

시간 (h)	샘플	평균 수정된 AF488 평균 강도									구형체 중심
		밴드 1	밴드 2	밴드 3	밴드 4	밴드 5	밴드 6	밴드 7	밴드 8	밴드 9	
4	v36675	-11.2	97.5	129.6	107.1	56.1	33.0	23.9	14.6	7.8	0.0
	미르베크시맵	9.8	100.1	57.1	17.0	0.1	-13.5	-15.9	-13.7	-7.1	0.0
	팔리비주맵	-16.0	5.1	31.7	31.2	21.6	25.4	23.5	14.8	7.5	0.0
24	v36675	-133.1	576.7	643.2	370.2	199.2	95.3	25.7	6.4	-1.7	0.0
	미르베크시맵	-134.5	129.0	427.8	374.6	187.3	71.3	17.9	10.1	0.3	0.0
	팔리비주맵	-18.2	18.0	50.9	62.1	53.5	37.4	21.5	7.3	1.8	0.0
48	v36675	303.6	1017.6	648.1	418.6	324.6	214.1	106.6	47.2	17.5	0.0
	미르베크시맵	153.2	542.7	332.1	206.6	146.2	112.5	71.7	28.9	4.2	0.0
	팔리비주맵	17.8	136.1	133.9	148.9	141.8	125.0	69.6	12.8	4.0	0.0
96	v36675	-60.5	1519.5	1213.0	815.5	507.5	305.5	196.5	121.5	48.5	0.0
	미르베크시맵	-24.8	698.9	495.9	261.9	134.9	44.7	5.8	-12.1	-11.6	0.0
	팔리비주맵	-147.8	-25.7	-0.1	-20.1	-28.2	-18.8	-13.6	-9.9	-5.3	0.0

[0671] -

[0672] **실시예 30: 항-FR α 항체의 특이성 평가**

[0673] Retrogenix 세포 마이크로어레이 기술(Charles River Laboratories, Wilmington, MA)를 사용하여 하기 항-FR α 항체: 인간화 변이체 v36675 및 친화도 성숙 변이체 v35356의 임의의 특이적 표적-외 결합 상호작용을 스크리닝했다.

- [0674] Retrogenix 세포 마이크로어레이 기술은 6,300개 초과의 인간 단백질을 나타내는 cDNA 클론 라이브러리 대비 결합에 대해 시험 리간드를 스크리닝함으로써 세포 표면 수용체 및 분비 단백질 둘 모두와의 상호작용을 확인한다. 이러한 단백질은 원형질막 단량체, 이종이량체(별도 서브유닛의 공동발현에 의해 형성됨) 및 분비 단백질(불활성 세포막 테더와 함께 발현됨)을 포함한다. 각 cDNA를 특수 슬라이드에 이중으로 스팟팅하고 HEK293 세포와 중첩시킨다. 이들 세포를 역형질감염시켜, 각각 상이한 개별 단백질(또는 이종이량체 복합체)을 과발현하는 세포 클러스터를 생성한다.
- [0675] 연구는 사전 스크리닝, 라이브러리 스크리닝 및 확인 스크리닝의 3 단계로 구성되어 Charles River Laboratories에서 수행하였다. 라이브러리 스크리닝을 위한 시험 항체의 적합한 농도(즉, 고정된 형질감염되지 않은 HEK293 세포에 대한 낮은 수준의 배경 결합 및 FR α 를 과발현하는 세포에 대한 강력한 결합이 관찰되는 농도)를 결정하기 위해 사전 스크리닝을 먼저 수행했다. 라이브러리 스크리닝 단계에서, 시험 항체를 개별적으로 약 6,300개의 인간 단백질을 발현하는, 고정된 HEK293 세포 대비 풀로서 스크리닝하였다. 확인 스크리닝 단계에서, 각 라이브러리 히트를 재발현하고 고정된 HEK293 세포 및 살아있는 HEK293 세포를 둘 모두 사용하여 개별적으로 각 시험 항체와 함께 재시험하였다.
- [0676] 3 단계 모두에서, 슬라이드에 ZsGreen1(형질감염 효율 평가용) 및 (1) 사전 스크리닝 단계에서: 인간 FR α 또는 대조군 수용체(EGFR 및 CD20); (2) 라이브러리 스크리닝 단계에서: 각 슬라이드 세트에 대해 스크리닝된 2개의 반복 슬라이드와 함께 여러 마이크로어레이 슬라이드("슬라이드 세트")에 걸쳐 이중으로 개별적으로 배열된 상기 기재된 단백질 라이브러리; 또는 (3) 확인 스크리닝 단계에서: 이중으로 배열된 라이브러리 스크리닝 또는 대조군 수용체(EGFR 및 CD20)에서 확인된 단백질 히트 둘 모두를 암호화하는 발현 벡터로 개별적으로 스팟팅하였다
- [0677] 사전 스크리닝 단계에서, 선택된 각 항체 2, 5 또는 20 $\mu\text{g/mL}$, 대조군 항체(CD20에 결합하는, 리툽시맵 바이오시밀러) 1 $\mu\text{g/mL}$ 또는 PBS를 세포 고정 후 슬라이드에 첨가했다. 라이브러리 스크리닝 단계에서, 세포 고정 후 두 항체(변이체 v36675, 20 $\mu\text{g/mL}$ 및 변이체 v35356, 5 $\mu\text{g/mL}$)의 풀을 각 슬라이드에 첨가했다. 확인 스크리닝 단계에서, 슬라이드를 개별 항체로 처리하였다: 변이체 v36675, 20 $\mu\text{g/mL}$, 변이체 v35356, 5 $\mu\text{g/mL}$ 또는 대조군 항체(리툽시맵 바이오시밀러), 1 $\mu\text{g/mL}$, 또는 고정의 부재 하에(살아있는 세포; 처리당 n=1 슬라이드) 및 세포 고정 후(처리당 n=2 슬라이드) 시험 항목 없음.
- [0678] AlexaFluor[®] 647 표지된 항-인간 IgG H+L(AF647 항-hIgG H+L)을 사용하여 결합을 검출한 후 형광 이미징을 수행했다. ImageQuant[™] 소프트웨어(버전 8.2; GE Healthcare, Chicago, IL)를 사용하여 형광 이미지를 분석하고 정량했다(형질감염에 대해). 단백질 히트는 배경 수준에 비해 증가된 신호를 나타내는 이중 지점으로 정의되었으며 ImageQuant[™] 소프트웨어에 격자로 표시된 이미지를 사용하여 육안 검사로 확인하였다. 이중 스팟의 강도에 기반하여 2명의 숙련된 과학자에 의한 육안 검사에 의해 히트를 강함, 중간, 약함 또는 매우 약함으로 분류했다.
- [0679] **결과**
- [0680] 매우 약함부터 강함까지 범위의 스팟 강도로, 라이브러리 스크리닝에서 확인된 초기 히트의 대부분은 변형 v36675와 변형 v35356 모두에 대한 확인 스크리닝에서 히트로 확인되었다. 그러나, FR α 와의 예상된 강한 상호작용을 반영한 히트를 제외하고, 다른 히트는 이러한 히트가 1) Fc γ R 수용체(Fc-도메인 매개 상호작용으로 인한 신호)를 포함하므로 대조군 항체(리툽시맵 바이오시밀러)에 대해서도 관찰되었거나, 2) 검출 항체에 의해 인식되는 다양한 면역글로불린을 포함하였으므로 비특이적인 것으로 간주되었다.
- [0681] 인간화 변이체 v36675의 경우, 다른 상호작용은 확인되지 않아서(도 28 참고), 그 1차 표적인 FR α 에 대한 변이체 v36675의 높은 특이성을 표시하였다. 대조군에서는 관찰되지 않은 이종이량체 FCGR3A + CD247로 이 변이체에 대해 관찰된 약한 상호작용은(도 21a 및 b 비교) 히트일 만큼 충분히 강한 것으로 간주되지 않았다.
- [0682] 친화도 성숙 변이체 v35356의 경우, 라이브러리 스크리닝에서 단백질 COL6A2 이소형 2C2A에 대해 약한 강도의 신호가 검출되었다. 이 "히트"는 고정된 세포 스크리닝에서는 확인되었지만 살아있는 세포 스크리닝에서는 확인되지 않아서, 관찰된 불일치가 고정 인공물로 인한 것일 수 있음을 표시하였다.
- [0683] **실시예 31: 경쟁 검정**
- [0684] 모체 키메라 항체 v23924와 항-FR α 항체 미르베툽시맵(v17716) 및 파를레투주맵(v31629) 간 FR α 표적에 대한 경쟁 결합을 하기와 같이 유세포 측정으로 중등도 FR α -발현 종양 세포주 H2110에서 평가하였다.

[0685] 간략하게, 항체를 세포 처리 전에 제조업체의 지침에 따라 Alexa Fluor 647(AF647; ThermoFisher Scientific, Waltham, MA; Cat. No. A20006)로 형광 표지하였다. 종양 세포를 V 바닥 96웰 플레이트에서 50,000개 세포/웰로 시딩하고 내재화를 방지하기 위해 1시간 동안 4°C에서 미표지 항체로 처리했다. 인큐베이션 후, 세포를 세척하고 형광 표지된 항체를 1시간 동안 4°C에서 첨가했다. 인큐베이션 및 세척 후, BD LSRFortessa™ 세포 분석기(BD Biosciences, Franklin Lake, NJ)에서 유세포 측정으로 형광을 검출했으며, 웰당 1,000개의 최소 이벤트를 수집하였다. 살아있는 세포 집단의 AF647/APC-A 기하평균(형광 신호 기하 평균, 항-인간 AF647 결합에 비례함)을 사용하여 미처리 대조군 대비 경쟁 결합%를 계산하고 데이터를 GraphPad Prism 버전 9(GraphPad Software, San Diego, CA)를 사용하여 그래프화했다.

[0686] **결과**

[0687] 결과를 도 22 및 표 31.1에 나타낸다. 키메라 항체 v23924는 H2110 세포주에서 FR α 결합에 대해 파르레투주맵과 경쟁하는 것으로 확인되어, 두 결합 배향(1차 항체 파르레투주맵 및 2차 형광 표지된 항체 변이체 v23924, 그리고 1차 항체 변이체 v23924 및 2차 형광 표지된 항체 파르레투주맵) 모두에서 100%에 가까운 경쟁 결합을 산출했다. 키메라 항체 v23924는 H2110 세포주에서 미르베크시맵과 FR α 결합에 대해 경쟁하지 않는 것으로 확인되었다. 이들 항체는 두 결합 배향 모두에서 낮은 수준의 경쟁%를 나타냈다. 대조적으로, 파르레투주맵은 미르베크시맵과 경쟁 결합을 나타내었다. 따라서 키메라 항체 v23924는 미르베크시맵 및 파르레투주맵 둘 모두와 구별되는 결합 프로파일을 실증한다.

[0688] [표 31.1]

H2110 세포 상에서 파르레투주맵 및 미르베크시맵과의 경쟁 결합

	경쟁 결합%							
	v23924		미르베크시맵		파르레투주맵		미처리	
v23924	98	99	11	21	99	98	0	0
미르베크시맵	13	7	100	98	99	100	0	0
파르레투주맵	99	72	91	75	98	100	0	0
미처리	1	1	0	0	0	0	0	0

[0689]

[0690] **실시예 32: 항-FR α 항체의 추가적인 기능적 특성구명**

[0691] 인간화 항체 변이체 v30384(HetFc) 또는 v36675(homoFc)의 기능적 활성을 FR α -발현 종양 세포주를 사용하여 세포 결합, 항원 매개 항체 내재화, 종양 세포 구형체로의 항체 침투 및 구형체의 3D 세포 성장 억제에 의해 이중파라토프 항-FR α 항체 B5327A(IMG151; v36264) 및 항-FR α 항체 미르베크시맵(v17716)과 비교하여 평가했다.

[0692] **32.1 세포 결합**

[0693] 인간화 항체 변이체 v30384(HetFc), v36264(B5327A) 및 v17716(미르베크시맵)이 FR α -발현 종양 세포주에 결합하는 능력을 실시예 11에 기재된 것과 동일한 일반 절차에 따라 유세포 측정으로 내인성 FR α -발현 종양 세포주 IGROV-1(난소 샘암종; FR α -고)에서 평가했다.

[0694] 결과를 표 32.1에 나타낸다. 인간화 변이체 v30384 및 미르베크시맵(v17716)은 필적하는 Bmax 값(각각 16,599 및 19,505 강도 기하 평균) 및 겘보기 Kd 값(각각 0.43 및 0.69 nM)을 가지며, 유사한 세포 상 결합 능력을 실증하였다. 이중파라토프 항체 B5327A(v36264)는 이중파라토프 항체에서 예상되는 바와 같이 다른 2개의 항체(26,267 강도 기하 평균)와 비교하여 증가된 Bmax를 실증했다.

[0695] [표 32.1]

IGROV-1 세포주 상에서 항-FR α 항체의 세포 결합

샘플	Bmax	Kd (nM)	힐 기울기(h)
v30384	16,599	0.43	1.2
v36264 (B5327A)	26,267	0.70	1.4
v17716 (미르베크시맵)	19,505	0.69	1.4

[0696]

[0697] **32.2 내재화**

[0698] 인간화 항체 변이체 v30384(HetFc), v36264(B5327A) 및 v17716(미르베크시맵)의 수용체 매개 내재화 능력을 하기와 같이 유세포 측정으로 내인성 FR α -발현 중앙 세포주 IGROV-1(난소 샘암종)로의 흡수에 의해 평가했다.

[0699] 항체를 24시간 동안 4°C에서 PBS pH 7.4(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA; Cat. No. 10010-023) 중 1:1 몰비로 항-인간 IgG Fc Fab 단편 AF488 접합체(Jackson Immuno Research Labs, West Grove, PA; Cat. No. 109-547-008)에 커플링하여 형광 표지하였다. 세포를 48-웰 플레이트에서 50,000개 세포/웰로 시딩하고 표준 배양 조건(37°C/5% CO₂) 하에 밤새 인큐베이션하여 부착을 허용하였다. 커플링된 항체를 다음날 25 nM로 세포에 첨가하고 표준 배양 조건 하에 5시간 동안 인큐베이션하여 내재화를 허용했다. 인큐베이션 후, 세포를 해리하고, 세척하고, 표면 AF488 형광을 100 nM로 항-AF488 항체(Life Technologies, Carlsbad, CA, Cat. No. A-11094)를 사용하여 30분 동안 4°C에서 켄칭했다. 켄칭된 AF488 형광(내재화된 형광)을 BD LSRFortessa™ 세포 분석기(BD Biosciences, Franklin Lake, NJ)에서 유세포 측정으로 검출하였고 웰당 1,000개의 최소 이벤트를 수집하였다. AF488/FITC-A 기하평균(항-인간 Fab AF488 표지화에 비례하는, 형광 신호 기하 평균)을 FlowJo™ 버전 10.8.1(BD Biosciences, Franklin Lake, NJ)을 사용하여 살아있는 단일 세포 집단에 대해 계산하고 GraphPad Prism 버전 9(GraphPad Software, San Diego, CA)를 사용하여 그래프화하였다.

[0700] 결과를 도 23에 나타낸다. IGROV-1 세포를 25 nM 시험 항체와 5시간 인큐베이션한 후, 인간화 항체 변이체 v30384는 이중파라토프 항체 v36264(v30384 대비 1.1배)와 필적하는 내재화된 형광을 나타낸 반면, 미르베크시맵(v17716)은 현저히 더 낮은 정도의 내재화된 형광을 나타냈다(v30384 대비 0.5배).

[0701] **32.3 3D 구형체로의 항체 침투**

[0702] 인간화 항체 변이체 v36675(homoFc), v36264(B5327A) 및 v17716(미르베크시맵)이 FR α 발현 세포주 구형체에 침투하는 능력을 실시예 29에 기재된 바와 동일한 일반 절차에 따라 형광 표지된 항체로 고 FR α -발현 세포주 JEG-3(태반 용모막암종)으로부터 형성된 구형체 처리로 평가하였다.

[0703] 결과를 도 24에 나타낸다. JEG-3 구형체를 25 nM 형광-표지 항체와 96시간 인큐베이션한 후, 인간화 항체 변이체 v36675는 이중파라토프 항체 B5327A(v36264) 또는 미르베크시맵(v17716)보다 두 번째 층 안쪽으로부터 더 큰 형광 강도를 나타내어, 모든 층에서 v36675에 대한 더 큰 정도의 세포 흡수 및 전반적인 더 큰 구형체로의 침투 거리를 표시하였다. 대조적으로, 이중파라토프 항체는 B5327A(v36264)는 가장 바깥쪽 층에서 v36675 또는 v17716보다 더 큰 형광 강도를 나타내어, 구형체 표면 상에 항체 축적을 표시하였다.

[0704] **32.4 3D 구형체 성장 억제**

[0705] 각각 약물 링커 DL1에 접합된 인간화 항체 변이체 v30384(HetFc), v36264(B5327A) 및 v17716(미르베크시맵)의 3D 세포독성 능력을 하기와 같이 FR α 발현 IGROV-1(난소 샘암종) 및 JEG-3(태반 용모막암종) 세포주 구형체에서 평가했다.

[0706] 간략하게, 세포를 초저부탁 384-웰 플레이트(Corning, New York, NY)에 3,000개 세포/웰로 시딩하고, 원심분리하고, 표준 배양 조건 하에 3일 동안 인큐베이션하여 구형체 형성 및 성장을 허용했다. 그런 다음 구형체를 세포 성장 배지에서 생성된 시험 항목의 적정으로 처리했다. 구형체를 표준 배양 조건 하에 6일 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, CellTiter-Glo® 3D 시약(Promega Corporation, Madison, WI)을 모든 웰에 첨가했다. 플레이트를 암소에서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하고 BioTek Cytation 5 세포 이미징 다중모드 판독기(Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA)를 사용하여 발광을 정량했다. 세포독성% 값을 블랭크 웰(시험

항목이 첨가되지 않음)에 기반하여 계산하고 GraphPad Prism 9 소프트웨어(GraphPad Software, San Diego, CA)를 사용하여 시험 항목 농도에 대해 그래프화하였다. EC₅₀ 값은 GraphPad Prism 9에 의한 비선형 회귀 log(작용제) 대 반응, 가변 기울기(4 매개변수)에 기반하여 계산하였다.

[0707] 결과를 표 32.2에 나타낸다. IGROV-1 구형체에 대해, 모든 3개의 항제-약물 접합체(ADC)는 필적하는 세포 성장 억제 능력을 실증하였다. JEG-3 구형체에 대해, v30384-DL1은 v17716-DL1과 역가에 있어서 유사한 반면(각각 EC₅₀ 0.18 및 0.17 nM), 이중과라토프 ADC인 v36264-DL1은 약간 더 낮은 역가(0.35 nM)를 실증하였다.

[0708] [표 32.4]

3D 시험관내 세포 성장 억제

ADC	DAR	EC ₅₀ (nM)	
		IGROV-1 구형체	JEG-3 구형체
v30384-DL1	3.9	0.22	0.18
v36264-DL1	3.8	0.34	0.35
v17716-DL1	3.9	0.23	0.17

[0709]

[0710] 본 명세서에서 언급된 모든 특허, 특허 출원, 간행물 및 데이터베이스 엔트리의 개시는 이러한 각 개별 특허, 특허 출원, 간행물 및 데이터베이스 엔트리가 구체적이고 개별적으로 참조로 포함됨이 표시된 것과 동일한 정도로 이의 전체가 본원에 구체적으로 참조로 포함된다.

[0711] 당업자에게 명백할 본원에 기재된 특정 구현예의 변형은 하기 청구범위의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.

[0712] **서열 표**

[0713] [표 A]

변이체에 대한 클론 번호

변이체	클론 번호			
	H1	H2	L1	L2
23924	18894	18894	18915	18915
30618	18908	18901	18915	18915
30384	22046	22057	22054	22054
30389	22047	22058	22054	22054
30394	22048	22059	22054	22054
30399	22049	22060	22054	22054
31422	22874	22874	22054	22054
31423	22875	22875	22054	22054
31424	22876	22876	22054	22054
31425	22877	22877	22054	22054
31426	22878	22878	22054	22054
35305	26434	26434	26449	26449
35342	26443	26443	26450	26450
35347	26445	26445	27276	27276
35348	26445	26445	26448	26448
35350	26445	26445	26450	26450
35354	26446	26446	26450	26450
35356	26447	26447	26448	26448
35358	26447	26447	26450	26450
36167	27272	27272	27274	27274
36168	27273	27273	27274	27274
36675	27275	27275	22054	22054

[0714]

[0715] [표 B]

클론 서열

클론 ID	영역	서열	서열 번호
18894	전체	QSVKESEGGLFKPTD LTLTCTVSGFSLSSYGVS WVRQAPGNLEWIGAVNSGG S AYYANWAKSRST ITRNTNLFVTLKMTSLAVADTATYFCARSGSGYPMDYLAIWG PGLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPK SCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAP I EKT I SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	17
	전체	CAGAGCGTGAAGGAGTCCGAGGGCGCCTGTTC AAGCCCACCGACACTGACCC TGACATGCACCGTGTCTGGCTTAGCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTGGGTGGC GCAGGCCCCGAAACGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACAGCGCGGCTCT GCCTACTATGCCAACTGGGCCAAGTCCCGTCTACAATCACCAGAAACAAAATC TGTTACAGTGACCCCTGAAGATGACCTCCCTGGCCGTGGCAGACACAGCAACTA TTTTGTGCAAGGAGCGGCTCCGGATACCCAATGGATTATCTGGCCATCTGGGGC CCTGGCACACTGGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGGCTTCCGTGTTT CACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATGCT GGTGAAGGATTACTCCCTGAACAGTACAGTGAGTGGAACTCAGGGGCTCTG ACAAGTGGAGTCCATACTTTCCCGCAGTCTCAGTCAAGCGGACTGACTCCC TGTCCTCTGTGGTCAACCGTCTAGTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATATCTG CAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAAATCATACTGCCACCTTGTCCGGGCGCCAGAAGTGTGGGAG GACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCAAGCCTAAAGACACCCCTGATGATTTCCCG GACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTCTGACGCTGCTCAGGAGACCCGAAAGT AAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCAAGTGCATAATGCCAAGACCAAAACCC GGGAGGAACAGTACAACCTACTATAGAGTCTGTGAGTCTCTGACAGTGTGCA CCAGGACTGGTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAAGCAACAAAGCCCTG CCCGCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAGGACAGCCTCGCGAACCC AGGTGTACACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGTACTAAGAACCAGGTGAGTCT GACCTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCAGCGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCC AATGGCCAGCCTGAGAACAATTACAAGACCACCCCTGTGCTGGACTCTGATG GCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCAGGATGGCAGCAGGG GAACGTGTTCAAGTGTTCAGTGTGACGAAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAG AAGAGCCTGAGCCTGTCTCCCGG	18
	VH	QSVKESEGGLFKPTD LTLTCTVSGFSLSSYGVS WVRQAPGNLEWIGAVNSGG S AYYANWAKSRST ITRNTNLFVTLKMTSLAVADTATYFCARSGSGYPMDYLAIWG PGLLVTVSS	19
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGSA	21

[0716]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLA1	22
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLA1	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYANWAKS	27
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLA1	25
	접속 CDR1	SSYGVS	28
	접속 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접속 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLA1	25
18901	전체	QSVKESEGGFLFKPTDILTLTCTVSGFSLSSYGVSWVRQAPGNLEWIGAVNSGGS AYYANWAKSRSTITRNTNLFVTLKMTSLAVADTATYFCARSGSGYPMDYLA1WG PGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQYICNVNHKPSNTKVDKVEPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	33
	전체	CAGAGCGTGAAGGAGTCCGAGGGCGGCTGTTCAGCCACCGACACACTGACCC TGACATGCACCGTGTCTGGCTTTAGCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTTGGGTGCG GCAGGCCCCGGAAACGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACAGCGGCGGCTCT GCCTACTATGCCAACTGGGCAAGTCCCGGTCTACAATCACCAGAAACACAAATC TGTTACAGTGACCCGAAGATGACCTCCCTGGCCGTGGCAGACACAGCAACCTA TTTTGTGCAAGGAGCGGCTCCGGATACCCAATGGATTATCTGGCCATCTGGGGC CCTGGCACACTGGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGGCTTCCGTGTTTC CACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATGTCT GGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGAACTCAGGGGCTCTG ACAAGTGGAGTCCATACTTTCCCGCAGTGTGAGTCAAGCGGACTGTACTCCC TGTCTCTGTGGTACCCTGCTAGTTCAAGCCTGGGACCCAGACATATATCTG CAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCAAAG AGCTGTGATAAAAATCATACTGCCACCTTGTCCGGCCAGAACTGCTGGGAG GACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTTCCCG GACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCGAAAGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACAAAACCC GGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCGTGAGTGTCTGACAGTGTGCA CCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAGCCCTG CCCGCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAGCAAAAGGACAGCCTCGCGAACCAC	34

[0717]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
		AGGTCTACGTCTACCCCATCAAGAGATGAACTGACAAAAATCAGGTCTCTCT GACATGCCTGGTCAAAGGATTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGT AACGGCCAGCCCGAGAACAATTACAAGACCACACCCCTGTCTGGACTCTGATG GGAGTTTCGCTCTGGTGTCAAAGCTGACCGTCGATAAAAGCCGGTGGCAGCAGGG CAATGTGTTTAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCCCTGCACAATCACTACACACAG AAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC	
	VH	QSVKESEGLFKPTDITLTLTCTVSGFSLSSYGVSWVRQAPGNLEWIGAVNSGGG AYYANWAKSRSTIIRNTNLFVTLKMTSLAVADTATYFCARSGSGYPMDYLAIWG PGTLTVSS	19
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGGSA	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22
	Chothia CDR1	GFSLSSYG	23
	Chothia CDR2	NSGGG	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAAYANWAKS	27
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	접촉 CDR1	SSYGVS	28
	접촉 CDR2	WIGAVNSGGGSA	29
	접촉 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31
	AbM CDR2	AVNSGGGSA	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
18908	전체	QSVKESEGLFKPTDITLTLTCTVSGFSLSSYGVSWVRQAPGNLEWIGAVNSGGG AYYANWAKSRSTIIRNTNLFVTLKMTSLAVADTATYFCARSGSGYPMDYLAIWG PGTLTVSSASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPK SCDKTHITCPPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	35

[0718]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	전체	CAGAGCGTGAAGGAGTCCGAGGGCGCCTGTTCAAGCCCACCGACACTGACCC TGACATGCACCGTGTCTGGCTTTAGCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTGGGTGGG GCAGGCCCCGGAAACGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACAGCGGGCTCT GCCTACTATGCCAACTGGGCAAGTCCCGGTCTACAATCACCAGAAACAAAATC TGTTACAGTGACCGTGAAGATGACCTCCCTGGCCGTGGCAGACAGCAACCTA TTTTTGTGCAAGGAGCGGCTCCGGATACCCAATGGATTATCTGGCCATCTGGGGC CCTGGCACACTGGTGACCGTGTCTAGCGTAGCTAAGGGCCCTCCGTGTTTC CACTGGTCCCCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATGTCT GGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGAACTCAGGGCTCTG ACAAGTGGAGTCCATACTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACTCCC TGTCCTCTGTGGTCAACCGTCCCTAGTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATATCTG CAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAACTACATACCTGCCACCTTGTCGGCGCCAGAACTGCTGGGAG GACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCCTGATGATTTCCCG GACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTCTGGACGTGTCTACGAGGACCCCGAAGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACCAACCC GGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCGTGAGTGTCTGACAGTGTGCA CCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAAGCCCTG CCCGCCCAATCGAAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAGGACAGCCTCGGAACCCAC AGGTCTACGTGTGCCCCCTAGCCGCGACGAAGTACTAAAAATCAGGTCTCTCT GCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGT AACGGCCAGCCGAGAACAAATTACCTGACCTGGCCCTGTGTGGACTCTGATG GGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTGCATAAAAGCCGGTGGCAGCAGGG CAATGTGTTCAGCTGCTCCGTCATGCAGGAAGCTGCACAACCATTACACTCAG AAGTCCCTGTCCCTGCACCTGGC	36
	VH	QSVKESEGGLFKPTDTLTLCTVSGFSLSSYGVSWVRQAPNGLEWIGAVNSGGS AYYANWAKSRST I TRNTNLFIVTLKMTSLAVADTATYFCARSGSGYPMDYLAIWG PGLVTVSS	19
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGGS	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYANWAKS	27
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	접촉 CDR1	SSYGVS	28
	접촉 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접촉 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31

[0719]

클론 ID	영역	서열	서열 번호	
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32	
	AbM CDR3	SGSGYPM DYLA I	25	
18915	전체	AYDMTQTPASVEVAVGGT VTIKCQASQSIGDWLAWYQQKPGQPPRLLIYEASTLA SGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVECADAAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGTEVVVK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKSTYLSSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	37	
	전체	GCCTACGACATGACCCAGACACCCGCTCCGTGGAGGTGGCAGTGGGAGGAACCG TGACAATCAAGTGCCAGGCCAGCCAGTCCATCGGCGATTGGCTGGCCTGGTACCA GCAGAAGCTGGACAGCCACCTCGGCTGCTGATCTATGAGGCCTCTACCCCTGGCC AGCCGAGTGCCATCCAGATTCTCTGGCAGCGGCTCCGGCACACAGTTTACCCTGA CAATCTCTGGAGTGGAGTGGCAGCAGCAACCTACTATTGTCAGCAGGGCTA TGGCAGGAGCAACGTGGATAATATCTTTGGAGGAGGAACCGAGGTGGTGGTGAAG AGGACAGTGGCGGCGCCAGTGTCTTATTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGA AGTCTGGGACAGCCAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACCTTACCCCTAGAGAGGC TAAAGTGCAGTGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCCGGAAATTCAGGAGAGT GTGACTGAACAGGACTCAAAGATAGCACCTATTCCTGTCAAGCACACTGACTC TGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGAAGTCAACCACCA GGGGCTGAGTTCACCAGTCAAAAAATCATTCAACAGAGGGGAGTGC	38	
	VL	AYDMTQTPASVEVAVGGT VTIKCQASQSIGDWLAWYQQKPGQPPRLLIYEASTLA SGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVECADAAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGTEVVVK	39	
	IMGT CDR1	QSIGDW	40	
	IMGT CDR2	EAS	41	
	IMGT CDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
	Chothia CDR1	QASQSIGDWLA	43	
	Chothia CDR2	EASTLAS	44	
	Chothia CDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
	Kabat CDR1	QASQSIGDWLA	43	
	Kabat CDR2	EASTLAS	44	
	Kabat CDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
	접촉 CDR1	GDWLAWY	45	
	접촉 CDR2	LLIYEASTLA	46	
	접촉 CDR3	QQGYGRSNVDN	47	
	AbM CDR1	QASQSIGDWLA	43	
	AbM CDR2	EASTLAS	44	
	AbM CDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
	22046	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPM DYLA IW GQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP KSCDKTHICTPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE	48

[0720]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
		VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKSLSLSPG	
	전체	GAGGTGCAGCTGCTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGCAGCCTGC GGCTGTCCGCGCGTGAGCGGCTTTTCCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTGGGT GAGACAGGCCCGGCAAGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACCTGCGCGC AGCGCTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGGTCCACCATCTTAGAGATAACT CTAAGAATACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGT G TACTATTGTGCAGCTCCGGCTCTGGCTACCCCATGGATTATCTGGCCATCTGG GGACAGGGCACCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGGCCTTCCGTGT TTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCAGTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAACAGGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACT CCCTGTCTCTGTGGTCAACCGTGCCTAGTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATACAAGCCATCAAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAAACTACACCTGCCACCTTGTCCGGCGCCAGAAGTGTGG GAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCGTGATGATTTT CCGGACTCTGAGGTACCTGCGTGGTGTGGACGTGTCTACGAGGACCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAAC CCCGGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTGTGAGTGTCTGCAGTGTCT GCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAAGCC CTGCCGCCCCAATCGAAAAACAATCTTAAAGCAAAAGGACAGCCTCGCGAAC CACAGTCTACGTCTACCCCCATCAAGAGATGAAC TGACAAAAATCAGGTCTC TGTGACATGCCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCGACATCGCCGTGGAGTGGGAA AGTAACGGCCAGCCGAGAACAAATTACAAGACCACACCCCTGTCTGGACTCTG ATGGGAGTTTCGCTCTGGTGTCAAAGCTGACCGTCGATAAAAGCCGGTGGCAGCA GGGCAATGTGTTAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCCCTGCACAATCACTACACA CAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC	49
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSS	50
	IMGT CDR1	GFSLSYSG	20
	IMGT CDR2	VNSGGSA	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22
	Chothia CDR1	GFSLSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSVKG	51
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLAI	25

[0721]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	접속 CDR1	SSYGVS	28
	접속 CDR2	WIGAVNSGG SAY	29
	접속 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31
	AbM CDR2	AVNSGG SAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLA I	25
22047	전체	EVQVLES GGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVS WVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDN SKNTVYLQMN SLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLA IW GQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP KSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKKVSNKA LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	52
	전체	GAGGTGCAGGTGCTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGCAGCCTGC GGCTGTCCTGCGCCGTGAGCGGCTTTTCCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTGGGT GAGACAGGCCCCCGCAAGGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACCTCTGGCGGC AGCGCTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGGTCCACCATCTCTAGAGATAACT CTAAGAATACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGT GTACTATTGTGCACGCTCCGGCTCTGGTACCCATGGATTATCTGGCATCTGG GGACAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCTCCGTGT TTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGTGCCTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAACCTCAGGGCT CTGACAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGTGAGTCAAGCGGACTGTACT CCCTGTCTCTGTGGTCAACCGTCCAGTTC AAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAAAATCATACTGCCACCTTGTCCGGCGCCAGAACTGCTGG GAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCGTGATGATTC CCGGACTCCTGAGGTACCTGCGTGGTGTGACGCTGTCTCACGAGGACCCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAC CCCGGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCGTGAGTGTCTGACAGTGTCT GCACAGGACTGGTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAAGCAACAAAGCC CTGCCCGCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAGGACAGCCTCGCGAAC CACAGGTCTACGTCTACCCCCATCAAGAGATGAACGACAAAAATCAGGTCTC TCTGACATGCCTGGTCAAAGGATTCTACCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAA AGTAACGGCCAGCCGAGAACAAATTACAAGACCACCCCTGTCTGGACTCTG ATGGGAGTTTCGCTCTGGTGTCAAAGCTGACCGTCGATAAAAGCCGGTGGCAGCA GGGCAATGTGTTAGTCTCGTCAATGCACGAAGCCCTGCACAATCACTACACA CAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC	53

[0722]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	VH	EVQVLESQGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GGGTLVTYSS	54
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGSA	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLA	22
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLA	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSVKG	51
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLA	25
	접촉 CDR1	SSYGVS	28
	접촉 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접촉 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLA	25
22048	전체	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGG SAYYADWAKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GGGTLVTYSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVWSNGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEVEP KSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG	55
	전체	GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGCAGCTGC GGCTGTCTGCGCCGTGAGCGGCTTTTCCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTTGGGT GAGACAGGCCCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAAGCTGGAGGC AGCGCCTACTATGCAGACTGGGCAAGGGCCGGTCCACCATCTCTAGAGATAACT CTAAGAATACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGT GTACTATTGTGCACGCTCCGGCTCTGGCTACCCCATGGATTATCTGGCCATCTGG GGACAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCTTCCGTGT TTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACTCTGGAGGCACAGCTGCCTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAAGCTCAGGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACT CCCTGTCTCTGTGGTCAACCGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAACTCATACCTGCCACCTTGTCCGGCGCCAGAAGTCTGG GAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTTCCACCCAAGCCTAAGACACCCTGATGATTTT	56

[0723]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
		CCGGACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCACGAGGACCCGAA GTCAAGTTCACCTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAAC CCCCGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCGTGAGTGTCTGACAGTGTCT GCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAGCC CTGCCCGCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAGGACAGCCTCGCGAAC CACAGGTCTACGTCTACCCCCATCAAGAGATGAACTGACAAAAATCAGGTCTC TCTGACATGCCTGGTCAAAGGATTCTACCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAA AGTAACGGCCAGCCGAGAACAATTACAAGACCACACCCCTGTCTGGACTCTG ATGGGAGTTTCGCTCTGGTGTCAAAGCTGACCGTCGATAAAAGCCGGTGGCAGCA GGCAATGTGTTTAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCCCTGCACAATCACTACACA CAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC	
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSIVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADWAKGRSTISRDNKNTVYLQMNLSRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGLTVTVSS	57
	IMGT CDR1	GFSLSY	20
	IMGT CDR2	VNSGSA	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLA	22
	Chothia CDR1	GFSLSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLA	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADWAKG	58
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLA	25
	접속 CDR1	SSYGVS	28
	접속 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접속 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSYGV	31
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLA	25
22049	전체	EVQVLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSIVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADWAKGRSTISRDNKNTVYLQMNLSRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG	59

[0724]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	전체	GAGGTGCAGGTGCTGGAGTCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGCAGCCTGC GGCTGTCCGCGCCGTGAGCGGCTTTCCCTGAGTCCTACGGCGTGTCTTGGGT GAGACAGGCCCCCGCAAGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAAGTCTGGAGGC AGCGCTACTATGCAGACTGGGCAAAGGGCCGGTCCACCATCTCTAGAGATAACT CTAAGAATACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGT GTAATAATTGTGCAGCTCCGGCTCTGGCTACCCCATGGATTATCTGGCCATCTGG GGACAGGGCACCCTGGTACAGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGGCCTTCCGTGT TTCCACTGGTCCCTTAGTAAATCCACCCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATG CTGGTGAAGGATTACTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAAGTCAAGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTAAGT CCCTGTCTCTGTGGTACCCTGCTAGTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAATAACAAAAGTGCACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAACTACATACCTGCCACCTGTCCGGCGCCAGAACTGCTGG GAGGACCAAGCGTGTCTGTTTCCACCCAAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTTT CCGGACTCCTGAGGTACCTGCGTGGTCTGGACGTGTCTACGAGGACCCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAA CCCGGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCGTGAGTGTCTGACAGTGTCT GCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGAAGTGAAGTGAACAAGCC CTGCCGCCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAAGGACAGCCTCGCGAAC CACAGGTCACGTCTACCCCCATCAAGAGATGAAGTACAAAAAATCAGGTCTC TCTGACATGCCCTGGTCAAAGGATTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGAA AGTAAACGGCCAGCCGAGAACAAATTACAAGACACACCCCTGTCTCTGGACTCTG ATGGGAGTTTCGCTCTGGTGTCAAAGCTGACCGTGCATAAAAGCCGGTGGCAGCA GGGCAATGTGTTAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCCCTGCACAATCACTACACA CAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC	60
	VH	EVQVLESGGLVQPGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADWAKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGLVTVSS	61
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGSA	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLA	22
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLA	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADWAKG	58
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLA	25
	접촉 CDR1	SSYGVS	28
	접촉 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접촉 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31

[0725]

클론 ID	영역	서열	서열 번호	
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32	
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLA I	25	
22054	전체	DYQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQSIGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASTLA SGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSVQPEDAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGTRKVEVK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSYSLSSITLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	62	
	전체	GACTACCAGATGACCCAGTCTCCAAGCTCCGTGTCCGCTCTGTGGGGCAGAGGG TGACCATCACATGCAGAGCCAGCCAGTCCATCGGCGATTGGCTGGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGGCAAGGCCCTAAGCTGTGATCTATGAGGCTCTACCCTGGCC AGCGGGTGCCTTCCCGTTCTCTGGCAGCGGCTCCGGCACAGACTTTACCTGGA CAATCTTAGCGTGCAGCCAGAGGATGCCGCCACTACTATTGTACAGAGGGCTA TGGCAGGTCCAACGTGGATAATATCTTGGAGGAGGCACCAAGGTGGAGGTGAAG AGGACAGTGGCGGCCAGTGTCTTCAATTTTCCCCTAGCGACGAACAGCTGA AGTCTGGGACAGCCAGTGTGGTCTGTCTGTAACAACCTTCTACCTAGAGAGGC TAAAGTGCAGTGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCCGGAAATTCTCAGGAGAGT GTGACTGAACAGGACTAAAAGATAGCACCTATTCCTGTCAAGCACACTGACTC TGAGCAAGGCCACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGAAGTACCCACCA GGGGCTGAGTTACCAGTACAAAAATCATCAACAGAGGGGAGTGC	63	
	VL	DYQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQSIGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASTLA SGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSVQPEDAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGTRKVEVK	64	
	IMGT CDR1	QSIGDW	40	
	IMGT CDR2	EAS	41	
	IMGT CDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
	Chothia CDR1	RASQSIGDWLA	65	
	Chothia CDR2	EASTLAS	44	
	Chothia CDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
	Kabat CDR1	RASQSIGDWLA	65	
	Kabat CDR2	EASTLAS	44	
	Kabat CDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
	접촉 CDR1	GDWLAWY	45	
	접촉 CDR2	LLIYEASTLA	46	
	접촉 CDR3	QQGYGRSNVDN	47	
	AbM CDR1	RASQSIGDWLA	65	
	AbM CDR2	EASTLAS	44	
	AbM CDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
	22057	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GGTILVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEP KSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE	66

[0726]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
		VKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG	
	전체	GAGGTGCAGCTGCTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGCAGCCTGC GGCTGTCTGCGCCGTGAGCGGCTTTCCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTGGGT GAGACAGGCCCCCGCAAGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACCTGCGCGG AGCGCTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGTCCACCATCTCTAGAGATAACT CTAAGAATACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGT GACTATTGTGCAGCTCCGGCTCTGGCTACCCATGGATTATCTGGCCATCTGG GGACAGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCTCCGTGT TTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCAGTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAATCAGGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACT CCCTGTCTCTGTGGTCACCGTGCCTAGTTC AAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAACTCATACTGCCACCTGTGCCGGCCGAGAACTGTGG GAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCAAGCCTAAAGACACCCGTGATGATTTC CCGACTCTGAGGTCACCTGCGTGGTGTGGACGTGTCTCAGGAGACCCCGAA GTCAAGTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAAC CCCGGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTGTGAGTGTCTGACAGTGT GCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAAGCC CTGCCGCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAGGACAGCCTCGCGAAC CACAGTCTACGTGTGCCCTAGCCGCGACGAACCTGACTAAAAATCAGGTCTC TCTGTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAA AGTAACGGCCAGCCCGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGTGGACTCTG ATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTGCATAAAAGCCGGTGGCAGCA GGGCAATGTGTTCAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACT CAGAAGTCCCTGTCCCTGTACCTGGC	67
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSS	50
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGGS	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSVK	51
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLAI	25

[0727]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	접속 CDR1	SSYGVS	28
	접속 CDR2	WIGAVNSGG SAY	29
	접속 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31
	AbM CDR2	AVNSGG SAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLA I	25
22058	전체	EVQVLES GGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVS WVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLA IW GQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEVPE KSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSRDELTKNQVSLCLVKGFPYSDIAVEWE SNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMH EALHNHYT QKSLSLSPG	68
	전체	GAGGTGCAGGTGCTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGCAGCCTGC GGCTGTCTGCGCCGTGAGCGGCTTTCCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTGGGT GAGACAGGCCCCCGCAAGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACCTCTGGCGGC AGCGCCTACTATGCCGACTCTGTGAAGGCCGCTCCACCATCTCTAGAGATAACT CTAAGAATACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGT GTACTATTGTGCACGCTCCGGCTCTGGCTACCCATGGAATTATCTGGCCATCTGG GGACAGGGCACCTGGTGACAGTGTCTAGCGTAGCACTAAGGGCCCTCCGTGT TTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAATCAGGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACT CCCTGTCTCTGTGGTACCGTGCTAGTTCAAGCC TGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAAAACATACCTGCCACCTTGTCCGGCGCCAGAACTGCTGG GAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCAAGCCTAAAGACCCCTGATGATTTCC GGGACTCCTGAGGTACCTGCGTGGTGTGGACGTGTCTACGAGGACCCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAC CCCGGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCGTGAGTGTCTGACAGTGTCT GCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAACAACAAGCC CTGCCCGCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAAGGACAGCCTCGCGAAC CACAGGTCTACGTGCTGCCCTAGCCGCGACGAACTGACTAAAAATCAGGTCTC TCTGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGAA AGTAAACGGCCAGCCGAGAACAAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTG ATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTGCATAAAAAGCCGGTGGCAGCA GGGCAATGTGTCTGCTGCTCCGTATGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACT CAGAAGTCCCTGTCCCTGTACCTGGC	69

[0728]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	VH	EVQVLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSS	54
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGGS	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSVKGR	51
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	접촉 CDR1	SSYGVS	28
	접촉 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접촉 CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
AbM CDR3	SGSGYPMDYLAI	25	
22059	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADWAKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP KSCDKTHITCPPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE LRFNRYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVLP PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHREALHNYT QKSLSLSPG	70
	전체	GAGGTGCAGTCTGGAGTCCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGCAGCCTGC GGCTGTCTGCGCCGTGAGCGGCTTTTCCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTTGGGT GAGACAGGCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACCTCTGAGAGC AGCGCCTACTATGCAGACTGGGCAAGGGCCGGTCCACCATCTCTAGAGATAACT CTAAGAATACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGT GTACTATTGTGCACGCTCCGGCTCTGGCTACCCCATGGATTATCTGGCCATCTGG GGACAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGGCCTCCGTGT TTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAACCTCAGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTCCCGCAGTGTCTGAGTCAAGCGGACTGTACT CCCTGTCTCTGTGGTACCGTGCTAGTTCAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAACTCATACTGCCACCTTGTCCGGCGCCAGAAGTGTCTGG GAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCGTGATGATTC	71

[0729]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
		CCGGACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTGGTGGACGTGCTCACGAGGACCCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAA CCCGGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCGTGAGTGTCTGACAGTGT GCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAAGCC CTGCCCGCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAGGACAGCCTCGCGAAC CACAGGTCACGTGCTGCCCCTAGCCGCGACGAACGACTAAAAATCAGGTCTC TCTGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCGACATCGCCGTGGAGTGGGAA AGTAACGGCCAGCCGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTG ATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTCGATAAAAGCCGGTGGCAGCA GGGAATGTGTTACAGTGTCCGTCATGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACT CAGAAGTCCCTGTCCCTGTACCTGGC	
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADWAKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGLTVTVSS	57
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGGSA	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLAIW	22
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLAIW	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADWAKG	58
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLAIW	25
	접촉 CDR1	SSYGVS	28
	접촉 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접촉 CDR3	ARSGSGYPMDYLAIW	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLAIW	25
22060	전체	EVQVLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADWAKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	72

[0730]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	전체	GAGGTGCAGGTGCTGGAGTCCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGCAGCCTGC GGCTGTCCGCGCGTGAAGCGGCTTTCCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTTGGGT GAGACAGGCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACCTGAGGAGC AGCGCTACTATGCAGACTGGGCAAGGGCCGGTCCACCATCTCTAGAGATAACT CTAAGAATACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGT GTAATAATTGTCACGCTCCGGCTCTGGCTACCCCATGGATTATCTGGCCATCTGG GGACAGGGCACCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCTTCCGTGT TTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCCTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAACCTAGGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTA CCCTGTCCCTGTGGTCAACCGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAACTACATACCTGCCACCTTGTCCGGCCGAGAACTGCTGG GAGGACCAAGCGTGTCTGTTCACCCAAAGCCTAAAGACACCCCTGATGATTTT CCGGACTCCTGAGGTACCTGCGTGGTCTGAGGACGCTGTCACGAGGACCCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAA CCCGGGAGGAAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCGTGAGTGTCTGACAGTGT GCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAAGCAAAAAGCC CTGCCGCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAAGGACAGCCTCGCGAAC CACAGGTCTACGTGCTGCCCTAGCCGCGACGAAGTACTAAAAATCAGGTCTC TCTGTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAA AGTAAACGGCCAGCCGAGAACAAATTACCTGACCTGGCCCTGTGTGGACTCTG ATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTCGATAAAAAGCCGGTGGCAGCA GGGAATGTGTTACAGTGTCCGTCATGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACT CAGAAGTCCCTGTCCTGTCACCTGGC	73
	VH	EVQVLESGGLVQPGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADWAKRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGLVTVSS	61
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGGS	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLA	22
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLA	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADWARG	58
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLA	25
	접속 CDR1	SSYGVS	28
	접속 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접속 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31

[0731]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	AbM CDR2	AVNSGG SAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
22874	전체	EVQLLESGGGLFQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP KSCDKHTHTCPPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTITPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYT QRSLSLSPG	74
	전체	GAGGTGCAGCTGCTGGAGAGCGGAGGAGGACTGTTCCAGCCAGGAGGCAGCCTGC GGCTGTCCGCGGTGAGCGGCTTTTCCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTGGGT GAGACAGGCCCCCGCAAGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACCTCGGCGGC AGCGCTACTATGCCGACTCTGTGAAGGCGCGTCCACCATCTCTAGAGATAACT CTAAGAATACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGT GTACTATTGTGCAGCTCCGGCTCTGGCTACCCATGGATTATCTGCCATCTGG GGACAGGGCACCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCTCCGTGT TCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAATCAGGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACT CCTGTCTCTGTGGTCAACCGTCCAGTCAAGCCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAACTACACTGCCACCTTGTCCGGCGCCAGAACTGTGG GAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTTCCACCAAGCCTAAAGACCCCTGATGATTTC CCGGACTCTGAGGTCACTGCGTGGTCTGTGGACGTGTCTACGAGGACCCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACAAAC CCCGGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCTGTGAGTGTCTGACAGTGT GCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAACAACAAGCC CTGCCGCCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAGGACAGCCTCGCGAAC CACAGGTGTACTCTGCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAG TCTGACCTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCAGCGATATCGCTGTGGAGTGGGAA TCCAATGGCCAGCCTGAGAACAAATTACAAGACCACACCCCTGTGTGGACTCTG ATGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCACGATGGCAGCA GGGGAACGTGTTCAAGTGTTCAGTGTGACGAAAGCCCTGCACAACCATTACACC CAGAAGAGCCTGAGCCTGTCTCCCGGC	75
	VH	EVQLLESGGGLFQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSS	76
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGGSA	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22

[0732]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSVKG	51
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	접촉 CDR1	SSYGVS	28
	접촉 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접촉 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGV	31
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
22875	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDTSKNTVYLQMSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEP KSCDKHTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVNSKA LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG	77
	전체	GAGGTGCAGCTGCTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGCAGCCTGC GGCTGTCTGCGCCGTGAGCGGCTTTCCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTGGGT GAGACAGGCCCCCGCAAGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACCTGGCGGC AGCGCCTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGGTCCACCATCTCTAGAGATACCT CTAAGAACACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGT GTACTATTGTGCACGCTCCGGCTCTGGCTACCCCATGGATTATCTGGCCATCTGG GGACAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCCTAAGGGCCCTTCGTGT TTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGTGCCTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTACAGTGAGTTGGAACCTAGGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACT CCCTGTCTCTGTGGTACCGTGCCTAGTTC AAGCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAAAACCTACCTGCCACCTTGTCCGGGCCAGAACTGCTGG GAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTTC CCGGACTCTGAGGTACCTGCGTGGTCTGTGGACGTGTCTACGAGGACCCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGATAATGCCAAGACAAAC CCCGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCTGTGAGTGTCTGACAGTGTCT GCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAAGCC CTGCCCGCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAGGACAGCCTCGCGAAC CACAGGTGTACACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGTCTCAG	78

[0733]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
		TCTGACCTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCACGCGATATCGCTGTGGAGTGGGAA TCCAATGGCCAGCCTGAGAACAATTACAAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCTG ATGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCACGATGGCAGCA GGGGAACGTGTTACAGCTGTTTCAGTGATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACC CAGAAGAGCCTGAGCCTGTCTCCCGGC	
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSIVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDTSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTILVTVSS	79
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGGSA	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAAYYADSVKG	51
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	접속 CDR1	SSYGVS	28
	접속 CDR2	WIGAVNSGGSA	29
	접속 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31
	AbM CDR2	AVNSGGSA	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
22876	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSIVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDTSKFTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTILVTVSSASTKGPVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEP KSCDKHTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTIPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	80

[0734]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	전체	GAGGTGCAGCTGCTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGCAGCCTGC GGCTGTCTGCGCCGTGAGCGGCTTTTCCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTGGGT GAGACAGGCCCCCGCAAGGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACTCTGGCGGC AGCGCTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGGTCCACCATCTCTAGAGATACCT CTAAGTTCACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGT GTACTATTGTGCACGCTCCGGCTCTGGCTACCCCATGGATTATCTGGCCATCTGG GGACAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGGCCTTCCGTGT TTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCAGTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACAGTCACAGTGAGTTGGAACACAGGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACT CCCTGTCTCTGTGGTACCGTGCCTAGTTC AAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAAACTCATACCTGCCACCTTGTCCGGCCAGAACTGTGG GAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCCTGATGATTC CCGGACTCTGAGGTACCTGGCTGGTCTGGACGTGCTCAGAGGACCCCGAA GTCAAGTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAAC CCCGGAGGAAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCGTGAGTGTCTGACAGTGTCT GCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAGCC CTGCCCGCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAGGACAGCCTCGCGAAC CACAGGTGTACACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAG TCTGACCTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCAGCGATATCGCTGTGGAGTGGGAA TCCAATGGCCAGCCTGAGAACAATTACAAGACCACACCCCTGTGTGGACTCTG ATGGCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCAGATGGCAGCA GGGGAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGATGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACCC CAGAAGAGCCTGAGCCTGTCTCCCGGC	81
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDTSKFTVYVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTILTVSS	82
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGGS	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLA	22
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLA	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSVKG	51
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLA	25
	접속 CDR1	SSYGVS	28
	접속 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접속 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31

[0735]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
22877	전체	EVQLLESGGGLFQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDTSKFTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP KSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	83
	전체	GAGGTGCAGCTGCTGGAGAGCGGAGGAGGACTGTTCCAGCCAGGAGGCAGCCTGC GGCTGTCTCGCCGTGAGCGGCTTTCCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTGGGT GAGACAGGCCCCCGGCAAGGGACTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACCTGGCGGC AGCGCTACTATGCCACTCTGTGAAGGCCGGTCCACCATCTCTAGAGATACT CTAAGTTTACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGT GTACTATTGTGCACGCTCCGGCTTGGCTACCCCATGGATTATCTGGCCATCTGG GGACAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGGCTTCCGTGT TTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGAGGCACAGTGCAGTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACAGTACAGTGAAGTGGAACTCAGGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACT CCCTGTCTCTGTGGTACCCGTGCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAACTCATACTGCCACCTGTGTCGGCGCCAGAACTGTGG GAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTTTC CCGGACTCCTGAGGTACCTGCGTGGTGGTGGAGTGTCTCACGAGGACCCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAAAC CCCGGAGGAACAGTACAACCTACTATAGAGTCGTGAGTGTCTGACAGTGTCT GCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAAGCC CTGCCC GCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAGGACAGCCTCGCGAAC CACAGGTGTACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGTACTAAGAACCAGGTGAG TCTGACCTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCAGCGATATCGCTGTGGAGTGGGAA TCCAATGGCCAGCCTGAGAACAATTACAAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCTG ATGGCAGTTTCTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCAGATGGCAGCA GGGGAACGTGTTCACTGTTCAGTGTGCACGAAGCCCTGCACAACCATACACC CAGAAGAGCCTGAGCCTGTCTCCCGGC	84
	VH	EVQLLESGGGLFQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDTSKFTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSS	85
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGSA	21
IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22	

[0736]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLA1	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSVKG	51
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLA1	25
	접속 CDR1	SSYGVS	28
	접속 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접속 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGV	31
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLA1	25
22878	전체	QQLLESGGGLFQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGS AYYADSVKGRSTISRDTSKFTVYLQMNLSRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLA1WG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPK SCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	86
	전체	CAGCAGCTGCTGGAGAGCGGCGGCGCTGTTCAGCCTGGAGGCAGCCTGAGAC TGTCTGCGCGGTGAGCGGCTTTCCCTGAGCTCCTACGGCGTGTCTGGGTGAG GCAGGCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGAGCCGTGAACCTGGCGGCAGC GCCTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGGTCCACCATCTCTAGAGATACCTCTA AGTTTACAGTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCCGAGGACACAGCCGTGTA CTATTGTGCACGCTCCGGCTCTGGCTACCCCATGGATTATCTGGCCATCTGGGGA CAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCTCCGTGTTTC CACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATGTCT GGTGAAGGATTACTTCCCTGAACAGTCACAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAG ACAAGTGGAGTCCATACTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACTCCC TGTCTCTGTGGTCACCGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGACCCAGACATATATCTG CAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAACTCATACTGCCACCTTGTCCGGCGCCAGAAGTGTGGGAG GACCAAGCGTGTTCCTGTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTTCCCG GACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTCTGGACGTGTCTACGAGGACCCCGAAGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACAAACCCC GGGAGGAACAGTACAACCTACCTATAGAGTCTGTGAGTGTCTGACAGTGTGCA CCAGGACTGGTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAGCCCTG CCCGCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAAGGACAGCCTCGCGAACCAC AGGTGTACACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGTCACT	87

[0737]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
		GACCTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCAGCGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCC AATGGCCAGCCTGAGAACAATTACAAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCTGATG GCAGTTTCTTTCTGTATAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCAGGATGGCAGCAGGG GAACGTGTTCAAGTGTTCAGTGTGCACGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAG AAGAGCCTGAGCCTGTCTCCCGGC	
	VH	QQLLESGGGLFQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGGS AAYADSVKGRSTISRDTSKFTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWG QGTLVTVSS	88
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGGS	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSVKGR	51
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	접촉 CDR1	SSYGVS	28
	접촉 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접촉 CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	30
	AbM CDR1	GFSLSSYGVS	31
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
26434	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSLYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDNKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GGTGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP KSCDKHTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	89

[0738]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	전체	GAGGTCCAGTTGCTGGAATCAGGAGGTGGACTCGTGCAGCCTGGGGTTCCCTGC GCTTGTCTTGCCTGTTCAGCGGTTTTAGCTTATCTTTATACGGTGAAGTTGGGT TCGGCAGGCTCCTGGCAAAGGCTGGAATGGATCGGGGCTGTAACAGCGGGGG TCCGCTACTATGCTGATTCTGTTAAGGGGAGGTCACCATTAGCAGAGATAATT CCAAGAACACCGTTTATCTCCAGATGAACCTCTGAGGGCGGAGGACACTGCTGT CTATTATTGTGCGCGGTGAGGCAGCGGATACCCGATGGACTATCTGGCGATCTGG GGCCAGGGAACCCCTGTGACAGTCTCTTCCGCTAGCACCAAGGGACCTAGCGTAT TTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTCCCTGAACAGTCACAGTGAGTTGGAATCAGGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCGCACTGCTGCAGTCAAGCGGACTGTACT CCCTGTCTCTGTGGTCACCGTGCTTAGTCAAGCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCACAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCC AAGAGCTGTGATAAACTCATACCTGCCACCTTGTCCGGCTCCAGAGCTGCTCG GCGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCCAAAGCCTAAAGATACACTGATGATTAG CCGCACTCCCGAAGTCACTGTGTGGTGGTGGAGCTGTCACGAGGACCCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGCGCTCGAGGTGATAATGCCAAGACTAAAC CAAGAGAGGAACAGTACAATTCAACCTATAGGGTCGTGAGCGTCTGACAGTGCT GCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTCAAAGTGTCTAACAAAGCC CTGCCGCTCCTATCGAGAAGACTATTAGCAAGGCAAAAGGCAGCCACGGAAAC CCCAGGTCTACACTCTGCCCTAGCAGAGACGAGCTGACCAAAAACAGGTGTC CCTGACTGTCTGGTGAAGGCTTTTATCCTAGTGATATCGCTGTGGAGTGGAA TCAAATGGGCAGCCAGAAAACAATTACAAAACAATCCACCCGTGCTGGACAGCG ATGGTCTCTTTCTGTATTCCAACTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCA GGGAAACGTCTTCAGCTGTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACC CAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCCGGC	90
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSLYGVSFVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDN SKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLTVVSS	91
	IMGT CDR1	GFSLSLYG	92
	IMGT CDR2	VNSGGSA	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLA I	22
	Chothia CDR1	GFSLSLY	93
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLA I	25
	Kabat CDR1	LYGVS	94
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSVKG	51
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLA I	25
	접속 CDR1	SLYGVS	95
	접속 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접속 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSLYGVS	96

[0739]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	AbM CDR2	AVNSGG SAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
26443	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGFSLSLYGVSWVRQAPGKLEWIGSLNSGG SAYYADSVKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP KSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	97
	전체	GAGGTTCAAGTCTGAGTCTGAGGTTGGTACAACCAGGTGGATCTCTCC GCCTTCTGTGTCAGTCTCAGGCTTCTCTCAGCCTGTACGGCGTGCATGGGT TAGACAAGCTCCGGGTAAGGCTTGTAGTGGATTGGAAGCTTAATAGTGGGGGA AGCGCTACTATGCAGATAGCGTAAAAGGAAGATCAACTATATCCAGAGACAATT CTAAGAATAACCGTCTACTTGCAGATGAACCTCTCGCGGGCAGAGGATACTGCGGT TACTATTGTGCGGAAGCGGTAGTGGATACCCATGATTATCTGTCTATTGG GGTCAAGGTACCTCGTAACGGTCTTAGTGTAGCACCAAGGACCTAGCGTAT TTCCACTGGCTCCCTAGTAAATCCACCTCGGAGGCACAGTGCAGTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCGTAACAGTCACAGTGAAGTGAAGTCAAGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACT CCCTGTCTCTGTGGTACCGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCAAGCCATCAAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAAACTCATACTGCCACCTGTGCGGCTCCAGAGCTGCTCG CGGACCATCCGTGTTCTGTTTCTCCAAAGCCTAAAGATACACTGATGATTAG CCGCACTCCCGAAGTCACTGTGTGGTGTGGACGTGCCACGAGGACCCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAAC CAAGAGAGGAACAGTACAATTCAACCTATAGGGTCGTGAGCGTCTGACAGTGT GCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTCAAAGTGTCTAACAGGCC CTGCCGCTCCTATCGAGAAGACTATTAGCAAGGCAAAAGGGCAGCCACGGGAAC CCCAGGTCTACTCTGCCCCCTAGCAGAGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTGTC CCTGACTGTGTGGAAGGGCTTTTATCCTAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAA TCAATGGGCAGCCAGAAAACAATTACAAAACAACCTCACCCGTGCTGGACAGCG ATGGGTCCTTCTTCTGTATTCCAAACTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCA GGGAAACGTCTTCAGCTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACC CAGAAGTCTCTGAGTCTGTACCCGGC	98
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGFSLSLYGVSWVRQAPGKLEWIGSLNSGG SAYYADSVKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSS	99
	IMGT CDR1	GFSLSLYG	92
	IMGT CDR2	LNSGGSA	100
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22

[0740]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	Chothia CDR1	GFSLSLY	93
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	Kabat CDR1	LYGVS	94
	Kabat CDR2	SLNSGGSAYYADSVKG	101
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	접촉 CDR1	SLYGV	95
	접촉 CDR2	WIGSLNSGGSAY	102
	접촉 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSLYGV	96
	AbM CDR2	SLNSGGSAY	103
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
26445	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSLYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSFGRSTISRDNKNTVYLQMNLSRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYHP I W GGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDK KVEPKSCDKHTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKA LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNQGPENNYKTTTPVPLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG	104
	전체	GAGGTCAGCTCTGGAGTCAGGAGGCGCCTGGTTCAGCCGGGGGTTCACTCA GACTTAGTGTGCGGTAAGCGGTTAGCCTTAGTCTGTATGGCGTATCATGGGT CCGGCAAGCGCCTGGTAAGGGCCTGGAGTGGATAGGTGCTGTCAATAGCGGTGGC TCCGCATACTACGCGGACTCTTTAAGGGCAGATCCACCATCAGCCGGGACAACA GCAAGAACTGTATATCTTCAGATGAACACTCAGGGCGGAGGATACTGCGGT ATACTACTGTGCACGAAGTGGTAGTGGTTACCAATGGATTACCATCCCATTTGG GGCAAGGGACACTCGTTACAGTGAGTAGTGTAGCACCAAGGGACCTAGCGTAT TTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAACACTAGGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACT CCCTGTCTCTGTGGTACCGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAAACTCATACTGCCACCTTGTCCGGCTCCAGAGCTGTCTCG CGGACCATCCGTGTTCTGTTTCTCCAAAGCCTAAAGATACACTGATGATTAG CCGCACTCCCGAAGTCACCTGTGTGGTGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAAC CAAGAGAGGAACAGTACAATTCAACCTATAGGGTCGTGAGCGTCTGACAGTGTCT GCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGTCTAACAAGGCC CTGCCCGCTCCTATCGAGAAGACTATTAGCAAGGCAAAAGGGCAGCCACGGGAAC CCCAGGTCTACTCTGCCCTTAGCAGAGACGAGCTGACCAAAAACAGGTGTC	105

[0741]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
		CCTGACTTGTCTGGTGAAGGGCTTTTATCCTAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAA TCAAATGGGCAGCCAGAAAACAATTACAAAACAATCCACCCGTGCTGGACAGCG ATGGGTCCCTTCTTTCTGTATTCCAACTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCA GGGAAACGTCTTCAGCTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACC CAGAAGTCTCTGAGTCTGTACCCGGC	
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSLYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSFKGRSTISRDNKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYHP1W GGGTLVTVSS	106
	IMGT CDR1	GFSLSLYG	92
	IMGT CDR2	VNSGGSA	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYHP1	107
	Chothia CDR1	GFSLSLY	93
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYHP1	108
	Kabat CDR1	LYGVS	94
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSFKG	109
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYHP1	108
	접속 CDR1	SLYGVS	95
	접속 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접속 CDR3	ARSGSGYPMDYHP1	110
	AbM CDR1	GFSLSLYGVS	96
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYHP1	108
26446	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSLYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSFKGRSTISRDNKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLA1W GGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNFYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTRNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	111

[0742]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	전체	GAGGTACAGCTTCTGGAAAGTGGTGGCGGCTTGTCCAGCCTGGAGGAAGTCTCAGGTTGTCAATGTGCAGTCTCTGGTTTTTCCCTCTCATTGTACGGCGTGAGTTGGGTAGACAAAGCGCCAGGTAAGGGGTTGGAGTGGATCGGGCGGTC AATTCCGGCGGTCTGCCTATTAGCCGACTCATTCAAAGCCGCTCCACGATTAGTCGAGATAATCCAAAAATACTGTGTATCTCCAAATGAATAGTCTCCGCGCGGAGGACACAGCTGTTATTATTGTGCCCGGTCCGGAAGTGGCTATCCAATGGACTATCTGCCATCTGGGGTCAGGGCACGTTGGTAACGGTGTCTCCGCTAGCACCAAGGGACCTAGCGTATTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCCTGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACAGTCACAGTGAGTTGGAACCTAGGGGCTCTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGTACTCCCTGTCTGTGGTCAACCGTCTAGTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAAAACATACCTGCCACCTTGTCCGGCTCCAGAGCTGCTCGGGACCACCTCCGTTCTCTGTTTCTCCAAAGCCTAAAGATACACTGATGATTAGCCGACTCCCGAAGTCACCTGTGTGGTCGTGGACGTGCCACGAGGACCCGAA GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAAC CAAGAGAGGAACAGTACAATTCAACCTATAGGGTCGTGAGCGTCTGACAGTGTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGTCTAACAAGGCC CTGCCCGTCCATCGAGAAGACTATTAGCAAGGCAAAAAGGGCAGCCACGGGAAC CCCAGGTCTACTCTGCCCTAGCAGAGACGAGCTGACCAAAAACAGGTGTC CCTGACTTGTCTGGTGAAGGGCTTTTATCCTAGTGATATCGCTGTGAGTGGGAA TCAAATGGGCAGCCAGAAAACAATTACAAAACAATCCACCCGTCTGGACAGCG ATGGGTCTCTTTCTGTATTCCAAACTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCA GGGAAACGTCTTACAGCTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACCAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCCGGC	112
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSLYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGG SYYADSFKGRSTISRDN SKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGLVTVSS	113
	IMGT CDR1	GFSLSLYG	92
	IMGT CDR2	VNSGGS	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLA I	22
	Chothia CDR1	GFSLSLY	93
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLA I	25
	Kabat CDR1	LYGVS	94
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSFKG	109
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLA I	25
	접촉 CDR1	SLYGV S	95
	접촉 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접촉 CDR3	ARSGSGYPMDYLA I	30
	AbM CDR1	GFSLSLYGV S	96

[0743]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
26447	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSAYYADSFKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYHP1WGGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP1IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWEWSNGQFPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	114
	전체	GAGGTGCAACTGTTGGAATCCGGAGGTGGTTTGGTGCAGCCTGGCGGTAGTCTCGGCTTAGTTGCGCTGTTTCAGGCTTTTCTCTCTCATCATAACGGGTATCATGGGTGAGACAGGCACCAGGAAAGGCTTTGAATGGATTGGGGCCGTAATTCGGAGGTAGTGATACTATGCTGACTCATTCAAGGGCAGGTCCACCATTAGTCGAGATAACTCAAAGAACACGGTTTATCTGCAGATGAATAGCCTTAGAGCGGAGGACACGGCAGTATATTATTGCGCGAGAAGCGGGTCTGGATATCCGATGGACTACCATCCAATCTGGGCCAGGGAACACTCGTAACGGTGAGCAGCGTAGCACCAAGGGACCTAGCGTATTTCCACTGGTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCCTGGGATGCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCACTCACAGTGAGTTGGAAGTCAAGGGCTCTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTCTGAGTCAAGCGGACTGTACTCCCTGTCTCTGTGGTCACCGTGCTAGTTC AAGCCTGGGCACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCACAAGAAGTGGAGCC AAGAGCTGTGATAAACTCATACTGCCCACCTTGTCCGGCTCCAGAGCTGCTCGGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCCAAAGCCTAAAGATACACTGATGATTAGCCGCACTCCGAAGTCACCTGTGTGGTCGTGGACGTGCCACGAGGACCCCGAA GTCAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACAAGAGAGGAACAGTACAATTCAACCTATAGGGTCGTGAGCGTCTGACAGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGTCTAACAAGGCCCTGCCCGTCCATCGAGAAGACTATTAGCAAGGCAAAAGGGCAGCCACGGGAACCCCAGGTCTACACTCTGCCCCTAGCAGAGACGAGCTGACCAAAAACAGGTGTCCTGACTGTCTGGTGAAGGGCTTTTATCCTAGTGATATCGCTGTGGAGTGGAA TCAAATGGGCAGCCAGAAAACAATTACAAAACAACCCACCGTGTGGACAGGATGGGTCTCTTCTGTATTCCAACTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGAAACGTCTTCAGCTGTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACCAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCCGGC	115
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSAYYADSFKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYHP1WGGQTLVTVSS	116
	IMGT CDR1	GFSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGGSAY	21
IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYHP1	107	

[0744]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	Chothia CDR1	GFSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYHP I	108
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSFKG	109
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYHP I	108
	접속 CDR1	SSYGVS	28
	접속 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접속 CDR3	ARSGSGYPMDYHP	110
	AbM CDR1	GFSLSSYGV S	31
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYHP I	108
26448	전체	DYQMTQSPSSVSASVGD RVTITCRASQSIGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASTLA SGVPSRFSGSGSDFTLT I SSVQPEDAATYYCQQGYGRWHILNIFGGGTRKVEVK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNFPYREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSYLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	117
	전체	GACTATCAAATGACGCAGTCCCCGTCCTCCGTTTCCGCCTCAGTTGGTGACCGGG TTACAATCACTTGCAGAGCATCTCAGTCTATTGGTGATGGCTGGCGTGGTATCA ACAGAAGCCCGCAAAGCCCCTAAATCCTGATATACGAAGCATCAACGCTTGCT TCTGGAGTACCTCCCGGTTTTCTGGGTCAGGAAGCGGCACGGATTTTACCTGA CTATCTCTTCTGTT CAGCCTGAGGATGCCGCAACCTATTATTGCCAACAGGGGTA TGGCAGATGGC ATATCCTAAATATTTTCGGTGGCGGGACCAAAGTTGAGGTAAA CGTACGGTAGCAGCTCCAGCGTATTTATTTTCCCTAGCGACGAACAGCTGA AGTCTGGGACAGCCAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACA ACTTCTACCTAGAGAGGC TAAAGTGCAGTGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCCGAAATTCTCAGGAGAGT GTGACTGAACAGGACTCAAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTC TGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTGTGAAAGTCACCCACCA GGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATCATTCAACAGAGGGGAGTGC	118
	VL	DYQMTQSPSSVSASVGD RVTITCRASQSIGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASTLA SGVPSRFSGSGSDFTLT I SSVQPEDAATYYCQQGYGRWHILNIFGGGTRKVEVK	119
	IMGT CDR1	QSIGDW	40
	IMGT CDR2	EAS	41
	IMGT CDR3	QQGYGRWHILNI	120
	Chothia CDR1	RASQSIGDWLA	65
	Chothia CDR2	EASTLAS	44
	Chothia CDR3	QQGYGRWHILNI	120
	Kabat CDR1	RASQSIGDWLA	65
	Kabat CDR2	EASTLAS	44
	Kabat CDR3	QQGYGRWHILNI	120
	접속 CDR1	GDWLAWY	45

[0745]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	접촉 CDR2	LLIYEASTLA	46
	접촉 CDR3	QQGYGRWHILN	121
	AbM CDR1	RASQSIGDWLA	65
	AbM CDR2	EASTLAS	44
	AbM CDR3	QQGYGRWHILNI	120
26449	전체	DYQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQSIWYWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASTLA SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISVVQPEDAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGKVEVK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	122
	전체	GACTATCAAATGACGCAGTCCCGTCTCCGTTCCGCCTCAGTTGGTGACCGGG TTACAATCACTTGCAGAGCATCTCAGTCTATTTGGTATTGGCTGGCGTGGTATCA ACAGAAGCCCGGCAAGCCCTAAACTCCTGATATACGAAGCATCAACGCTTGCT TCTGGAGTACCCTCCCGTTTCTGGGTCAGGAAGCGGCACGGATTTACCTGA CTATCTCTTCTGTTACGCTGAGGATGCCGAACCTATTATTGCCAACAGGGGTA TGGCAGATCAAACGTGGATAATATTTTCGGTGGCGGGACCAAAGTTGAGGTTAAA CGTACGGTAGCAGCTCCAGCGTATTTATTTTCCCTAGCGACGAACAGCTGA AGTCTGGGACAGCCAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTCTACCTAGAGAGGC TAAAGTGCAGTGAAGGTCGATAACGCACTGCAGTCCGAAAATTCTCAGGAGAGT GTGACTGAACAGGACTCAAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACTGACTC TGAGCAAGGCCACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGAAGTCACCCACCA GGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATCATCAACAGAGGGGAGTGC	123
	VL	DYQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQSIWYWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASTLA SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISVVQPEDAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGKVEVK	124
	IMGT CDR1	QSIWYW	125
	IMGT CDR2	EAS	41
	IMGT CDR3	QQGYGRSNVDNI	42
	Chothia CDR1	RASQSIWYWLA	126
	Chothia CDR2	EASTLAS	44
	Chothia CDR3	QQGYGRSNVDNI	42
	Kabat CDR1	RASQSIWYWLA	126
	Kabat CDR2	EASTLAS	44
	Kabat CDR3	QQGYGRSNVDNI	42
	접촉 CDR1	WYWLAWY	127
	접촉 CDR2	LLIYEASTLA	46
	접촉 CDR3	QQGYGRSNVDN	47
	AbM CDR1	RASQSIWYWLA	126
	AbM CDR2	EASTLAS	44
	AbM CDR3	QQGYGRSNVDNI	42
26450	전체	DYQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQSIWYWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASTLA SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISVVQPEDAATYYCQQGYGRWHILNIFGGGKVEVK	128

[0746]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
		RTVAAPSVFIFPPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
	전체	GATTATCAGATGACACAGAGTCCTTCTCAGTCAGCGCATCTGTGGGAGATCGGGTTACAATTACCTGCCGAGCATCTCAATCAATCTGGTATTGGCTGGCCTGGTACCA GCAAAAACCAGGAAAAGCACCTAAACTGTTGATTTATGAGGCCAGCACTCTTGCT AGTGGGGTCCCAAGTAGGTTACGGGCAGCGGTTACGGGACGGATTTTACCTTGA CCATAAGTTCCTTCAGCCAGAAGACGGCGGACCTATTATTGCCAACAGGGTA CCGTAGATGGCACATTTTGAACATATTGGTGGAGGTACTAAGGTCGAGGTGAAG CGTACGGTAGCAGCTCCCAGCGTATTTATTTTCCCCTAGCGACGACAGCTGA AGTCTGGGACAGCCAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAGGC TAAAGTGCAGTGGGAGGTCGATAACGCACTGCAGTCGGAAATTCAGGAGAGT GTGACTGAACAGGACTCAAAGATAGCACCTATTCCTGTCAAGCACACTGACTC TGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTTGTGAAGTACCCACCA GGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATCATTCAACAGAGGGGAGTGC	129
	VL	DYQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQSIWYWLAWYQQKPKAPKLLIYEASTLA SGVPSRFSGSGSDFTLTISVQPEDAATYYCQQGYGRWHILNIFGGGKVEVK	130
	IMGT CDR1	QSIWYW	125
	IMGT CDR2	EAS	41
	IMGT CDR3	QQGYGRWHILNI	120
	Chothia CDR1	RASQSIWYWLA	126
	Chothia CDR2	EASTLAS	44
	Chothia CDR3	QQGYGRWHILNI	120
	Kabat CDR1	RASQSIWYWLA	126
	Kabat CDR2	EASTLAS	44
	Kabat CDR3	QQGYGRWHILNI	120
	접속 CDR1	WYWLAWY	127
	접속 CDR2	LLIYEASTLA	46
	접속 CDR3	QQGYGRWHILN	121
	AbM CDR1	RASQSIWYWLA	126
	AbM CDR2	EASTLAS	44
	AbM CDR3	QQGYGRWHILNI	120
27272	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNMSGG SAYYADSFKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP KSCDKHTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK	131

[0747]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	AbM CDR2	AVNSGG SAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
27273	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSLYGVSWVRQAPGKLEWIGSVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHITCPPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK	134
	전체	GAGGTTACAGTCTTCGAGTCTGGCGGTGGCTGGTTCAACCTGGTGGTAGTCTCC GACTGAGCTGTGCTGTTTCGGGCTTCAGCCTGAGCCTTTACGGCGTGTCTGGGT CAGGCAGGCTCCAGGCAAGGGCTGGAGTGGATCGGCTCCGTGAACAGCGGTGGA AGTGCTACTATGCTGATTCTGTGAAGGGCCGAAACAGCATTCTCGCGATAACA GCAAGAATACTGTGTAATTTGCAAATGAACCTCTCTGCGTCCGAGGATAACCGTGT GTACTACTGCGCTCGATCGGGTCCGGTTACCCTATGGATTACCTGGCATCTGG GGTACAGGTACCCTTGTACTGTATCCTCTGTAGACCAAGGGCCATCGGTCT TCCCCCTGGCACCCCTCCAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGCCCTGGGCTG CCTGTGCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAATCAGGCGCC CTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCGGCTCTACAGTCTCAGGACTCTACT CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTCCAGCAGCTGGGCACCCAGACTACAT CTGCAACGTGAATCAAGCCAGCAACACCAAGGTGGAACAAGAGTTGAGCCC AAATCTTGACAAAACACACATGCCACCGTCCAGCACCTGAACTCTGG GGGACCGTCACTCTCTCTTCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTC CCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGAACCCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGATAATGCAAGACAAAGC CGCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGCGTCTCACCGTCT GCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCC CTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC CACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGACGAGCTGACCAAGAACAGGTGAG CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGCAGCCGAGAACTACAAGACCAGCCTCCCGTGTGGACTCCG ACGGCTCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGCTCTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAA	135
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSLYGVSWVRQAPGKLEWIGSVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGT LVTVSS	136
	IMGT CDR1	GFSLSLYG	92
	IMGT CDR2	VNSGGSA	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22

[0749]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	Chothia CDR1	GFSLSLY	93
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	Kabat CDR1	LYGVS	94
	Kabat CDR2	SVNSGGSAYYADSVKG	137
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
	접촉 CDR1	SLYGV	95
	접촉 CDR2	WIGSVNSGGSAY	138
	접촉 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GFSLSLYGV	96
	AbM CDR2	SVNSGGSAY	139
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLAI	25
27274	전체	DYQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQSIWYWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASTLASGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISVQPEDAATYYCQQGYGRWHILNIFGGGTKVEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	140
	전체	GACTACCAGATGACCCAGAGCCCAAGTTCAGTATCGGCCTCCGTGGTGACAGAGTCACCATCACCTGCCGGCCAGCCAATCCATCTGGTACTGGCTGGCCTGGTATCAACAAAAGCCGGGCAAAGCACCAAGCTCCTCATCTACGAGGCTAGCACACTGGCCGCCGGCTTCTTCGCGATTTCAGTGGTTCGGGCTCGGAACAGACTCACTTTGACCATTTCTCTGTGCAACCCGAGGATGCTGCAACATATTACTGCCAACAAGGCTATGGCCGGTGGCACATTCTGAACATCTTGGCGCGGAACTAAGGTTGAAGTCAAA CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTCCGCCATCTGATGAGCAGTTGA AATCTGGAAGTGCCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGC CAAAGTACAGTGGGAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGT GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAGCG TGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAACCATCA GGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT	141
	VL	DYQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQSIWYWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASTLASGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISVQPEDAATYYCQQGYGRWHILNIFGGGTKVEVK	130
	IMGT CDR1	QSIWYW	125
	IMGT CDR2	EAS	41
	IMGT CDR3	QQGYGRWHILNI	120
	Chothia CDR1	RASQSIWYWLA	126
	Chothia CDR2	EASTLAS	44
	Chothia CDR3	QQGYGRWHILNI	120
	Kabat CDR1	RASQSIWYWLA	126
	Kabat CDR2	EASTLAS	44
	Kabat CDR3	QQGYGRWHILNI	120
	접촉 CDR1	WYWLAWY	127

[0750]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	접속 CDR2	LLIYEASTLA	46
	접속 CDR3	QQGYGRWHILN	121
	AbM CDR1	RASQSIWYWLA	126
	AbM CDR2	EASTLAS	44
	AbM CDR3	QQGYGRWHILNI	120
27275	전체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP KSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG	142
	전체 + C-말단 Lys	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP KSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPGK	157
	전체	GAGGTCCAGTGTGCTGGAATCAGGAGGTGGACTCGTCAGCCTGGGGTTCCTGC GCTTGCTTGCCTGTCAGCGGTTTTAGCTTATCTTCATACGGTGAAGTTGGGT TCGGCAGGCTCCTGGCAAAGGTCTGGAATGGATCGGGGCTGTAACAGCGGGGG TCCGCTACTATGCTGATTCTGTAAAGGGAGGTCCACCATTAGCAGAGATAATT CCAAGAACCCTTTATCTCCAGATGAACCTTGGAGGCGGAGGACTGCTGT CTATTATTGTGCGCGGTCAGGCAGCGGATACCCGATGGACTATCTGGCGATCTGG GGCCAGGGAACCTTGTGACAGTCTCTTCGCTAGCACTAAGGGGCTTCCGTGT TTCCACTGGTCCCTTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATG TCTGGTGAAGGATTACTCCCTGAACCAGTACAGTGAGTTGGAATCAGGGGCT CTGACAAGTGGAGTCCATACTTTCCCGCAGTCTGAGTCAAGCGGACTGACT CCCTGTCTCTGTGGTCAACCGTCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATAT CTGCAACGTGAATCAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATAAACTCATACTGCCACCTTGTCCGGCTCCAGAGCTGCTCG GCGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCCAAAGCCTAAAGATACACTGATGATTAG CCGCACTCCCGAAGTCACTGTGTGGTCTGAGCGTGTCCACGAGGACCCCGAA GTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAAC CAAGAGAGGAACAGTACAATTCAACCTATAGGGTCTGTAGCGTCTGACAGTGT GCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTCAAAGTGTCTAACAAGGCC CTGCCGCTCTATCGAGAAGACTATTAGCAAGGCAAAAAGGGCAGCCACGGGAAC	143

[0751]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
		CCCAGGTCTACACTCTGCCCCCTAGCAGAGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTGTC CCTGACTTGTCTGGTGAAGGGCTTTTATCCTAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAA TCAAATGGGCAGCCAGAAAACAATTACAAAACAACCCACCCGTGCTGGACAGCG ATGGGTCTCTTTCTGTATTCCAACCTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCA GGGAAACGTCTTCAGCTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACCC CAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCCGGC	
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSIVRQAPGKLEWIGAVNSGG SAYYADSVKGRSTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIW GQGTILVTYSS	50
	IMGT CDR1	GPSLSSYG	20
	IMGT CDR2	VNSGGSA	21
	IMGT CDR3	ARSGSGYPMDYLA I	22
	Chothia CDR1	GPSLSSY	23
	Chothia CDR2	NSGGS	24
	Chothia CDR3	SGSGYPMDYLA I	25
	Kabat CDR1	SYGVS	26
	Kabat CDR2	AVNSGGSAYYADSVKG	51
	Kabat CDR3	SGSGYPMDYLA I	25
	접속 CDR1	SSYGVS	28
	접속 CDR2	WIGAVNSGGSAY	29
	접속 CDR3	ARSGSGYPMDYLA	30
	AbM CDR1	GPSLSSYGVS	31
	AbM CDR2	AVNSGGSAY	32
	AbM CDR3	SGSGYPMDYLA I	25
27276	전체	DYQMTQSPSSVSASVGRVTITCRASQSIGDWLAWYQQKPKAPKLLIYEASTLA SGVPSRFSGSGSGTDFLTLSVQPEDAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGTKVEVK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	144
	전체	GACTATCAAATGAGCAGTCCCGTCTCCGTTCCGCCTCAGTTGGTGACCGGG TTACAATCACTTGACAGCATCTCAGTCTATTGGTGATTGGCTGGCGTGGTATCA ACAGAAGCCCGCAAAGCCCTAAACTCCTGATATACGAAGCATCAACGCTTGCT TCTGGAGTACCCTCCCGTTTTCTGGGTCAGGAAGCGCACGGATTTTACCCTGA CTATCTCTTCTGTTTCAGCCTGAGGATGCCGAACCTATTATTGCCAACAGGGGTA TGGCAGATCAAACGTGGATAATATTTCCGGTGGCGGGACCAAAGTTGAGGTTAAA CGTACGGTGGCGGCCAGTGTCTTCATTTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGA AGTCTGGGACAGCCAGTGTGGTCTGCTGCTGAACAACCTTCTACCCTAGAGAGGC TAAAGTGCAGTGAAGTTCGATAACGCACTGCAGTCCGAAATTCTCAGGAGAGT GTGACTGAACAGGACTCAAAGATAGCACCTATTCCCTGTCAAGCACACTGACTC TGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAGTGTATGCTGTGGAAGTCAACCCACCA GGGGCTGAGTTCACCAGTCACAAAATCATTCAACAGAGGGGAGTGC	145

[0752]

클론 ID	영역	서열	서열 번호
	VL	DYQMTQSPSSVSASVGRVTITCRASQSIGDWLAWYQQKPKAPKLLIYEASTLA SGVPSRFSGSGSGTDFLTLSVQPEDAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGTKVEVK	64
	IMGT CDR1	QSIGDW	40
	IMGT CDR2	EAS	41
	IMGT CDR3	QQGYGRSNVDNI	42
	Chothia CDR1	RASQSIGDWLA	65
	Chothia CDR2	EASTLAS	44
	Chothia CDR3	QQGYGRSNVDNI	42
	Kabat CDR1	RASQSIGDWLA	65
	Kabat CDR2	EASTLAS	44
	Kabat CDR3	QQGYGRSNVDNI	42
	접속 CDR1	GDWLAWY	45
	접속 CDR2	LLIYEASTLA	46
	접속 CDR3	QQGYGRSNVDN	47
	AbM CDR1	RASQSIGDWLA	65
	AbM CDR2	EASTLAS	44
	AbM CDR3	QQGYGRSNVDNI	42

[0753]

도면

도면1

1a 중쇄

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS **GFSLSYGV**S WVRQAPGKGLEWVS **AVNSGGSAY**
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK **SGSGYPMDYLAI** WGQGLTIVTSS

도 1a

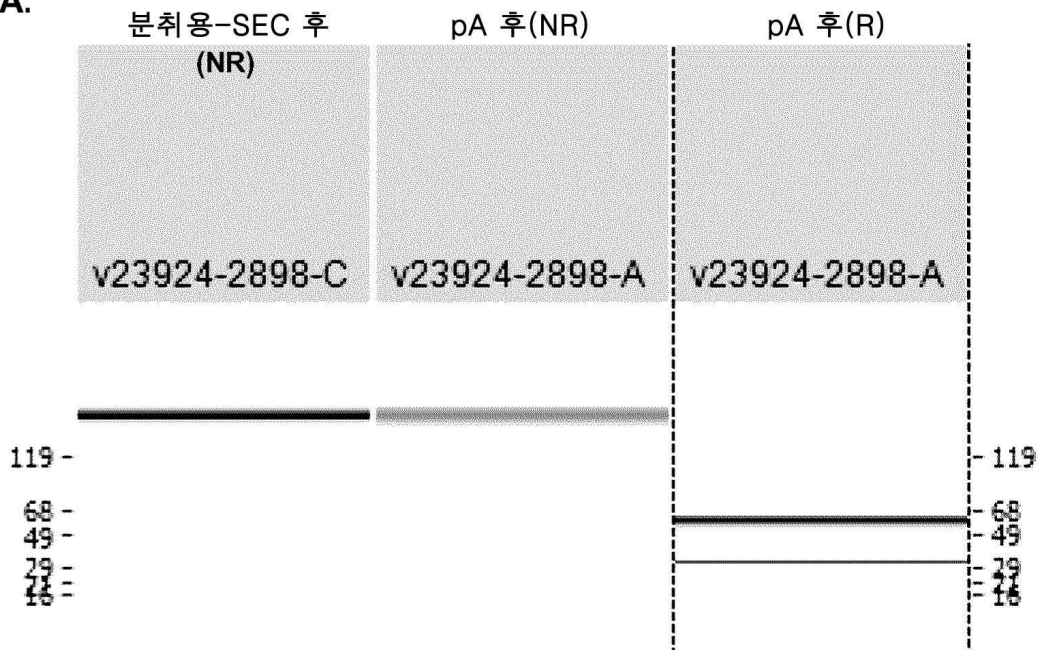
1b 경쇄

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC **QASQSIGDWLA** WYQQKPGKAPKLLIY **EASTLAS**
 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC **QQGYGRSNVDNI** FGGGTKVEIK

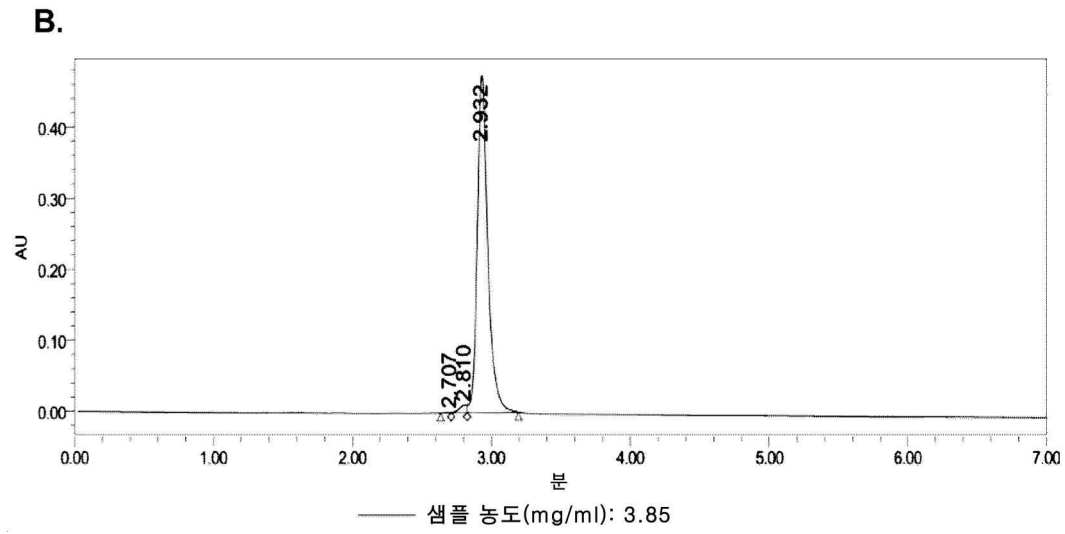
도 1b

도면2a

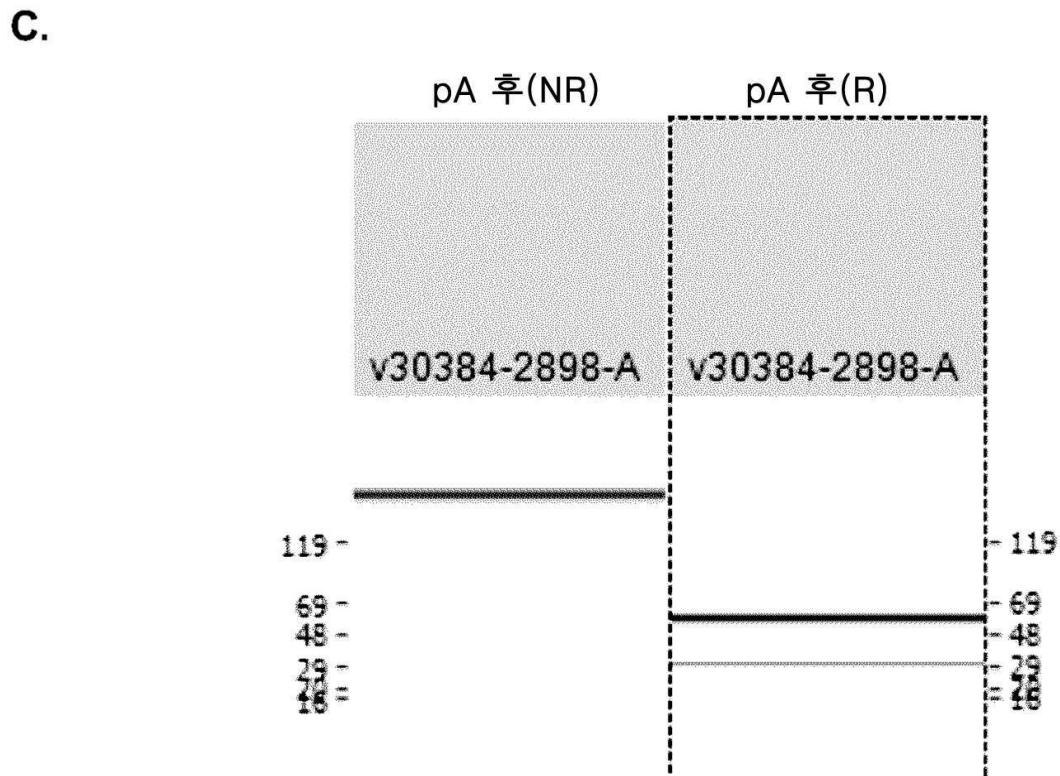
A.



도면2b

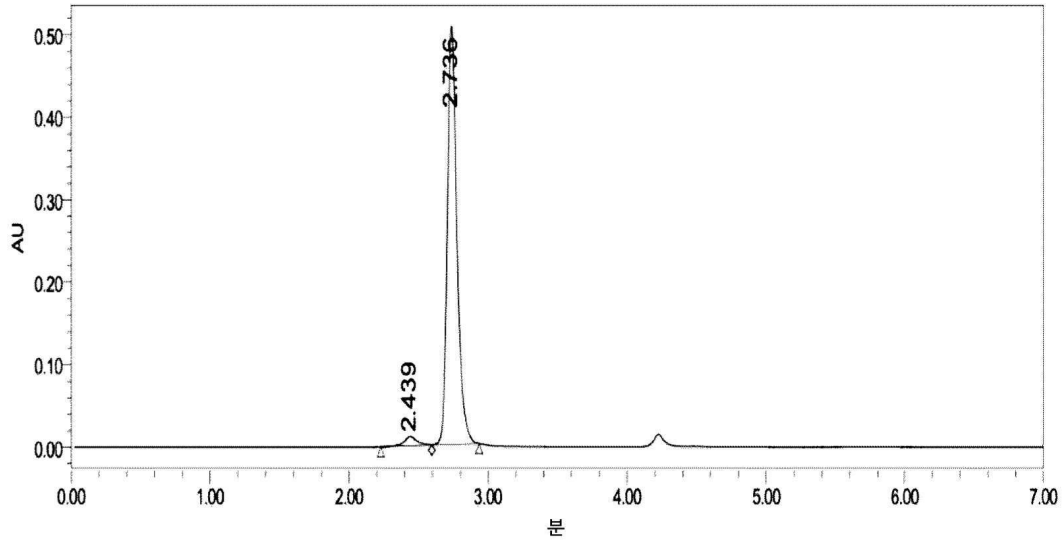


도면2c



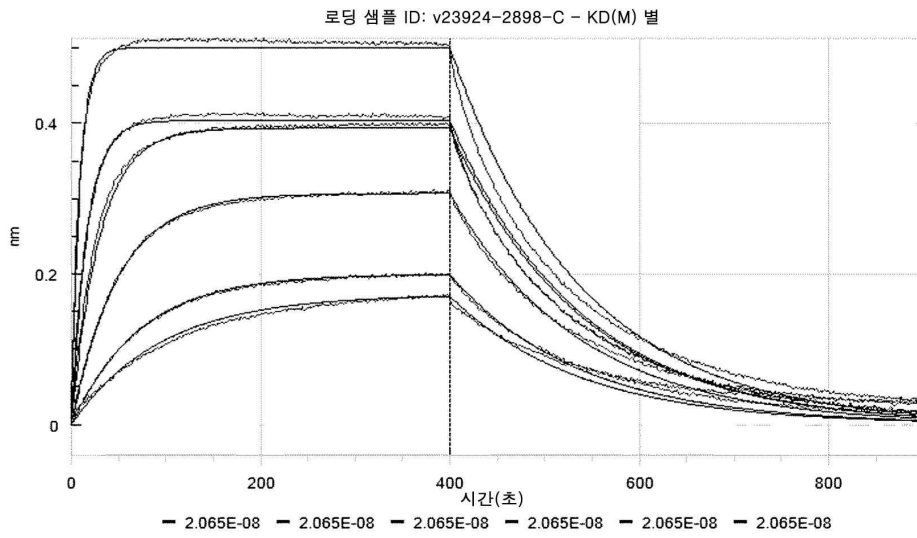
도면2d

D.

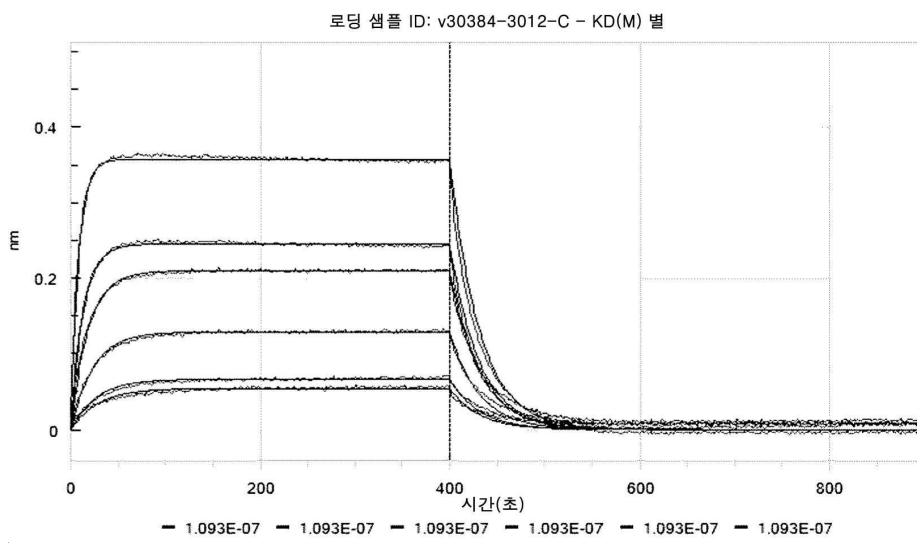


도면3

A.

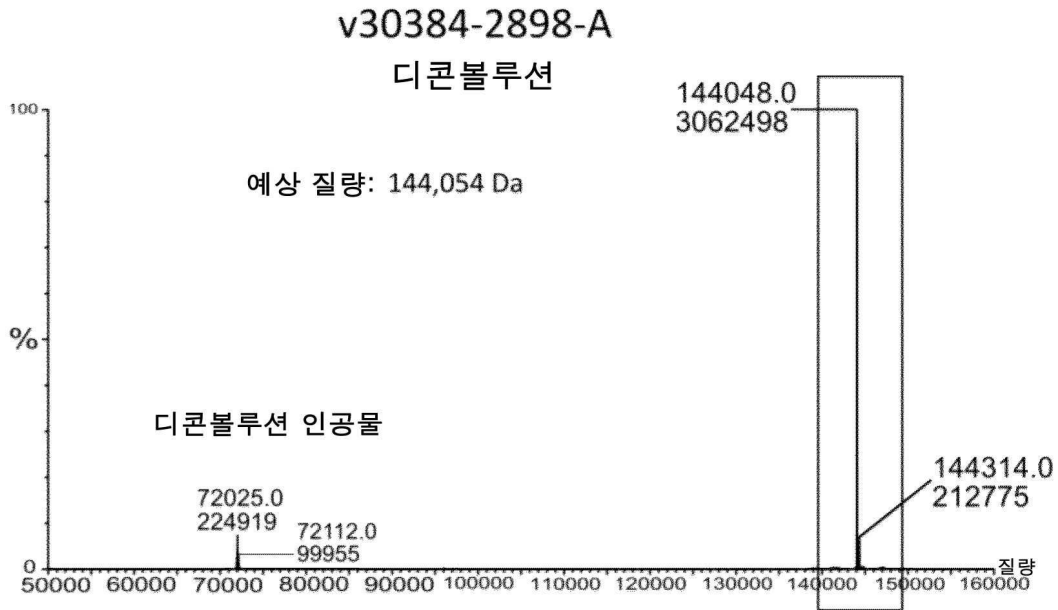


B.



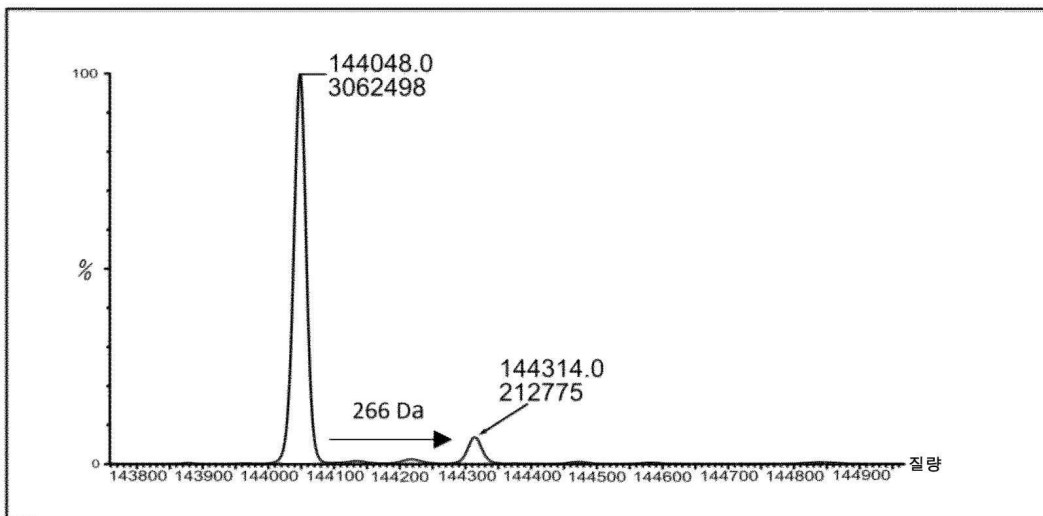
도면4a

A.



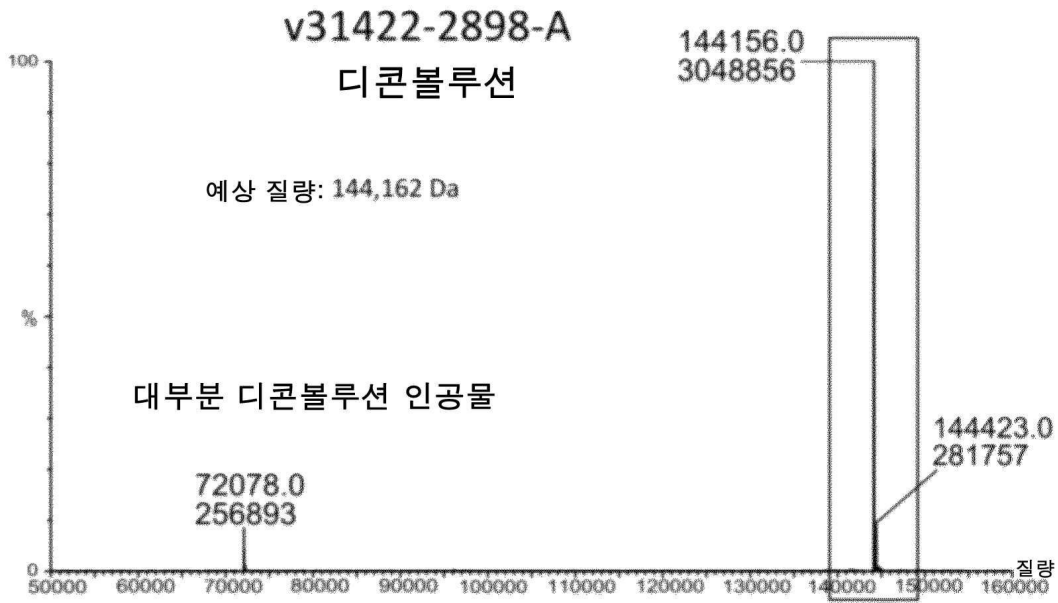
도면4b

B.



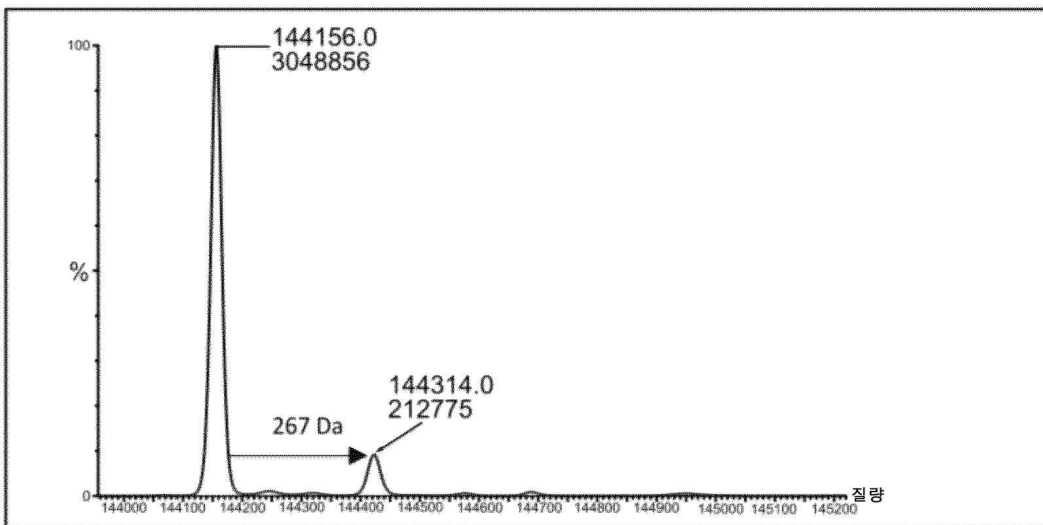
도면4c

C.

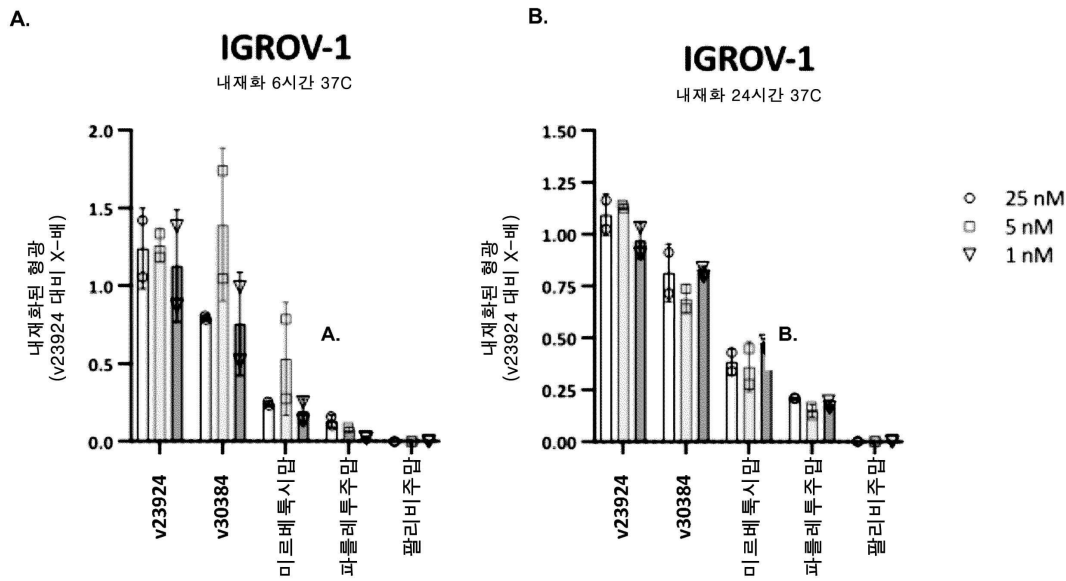


도면4d

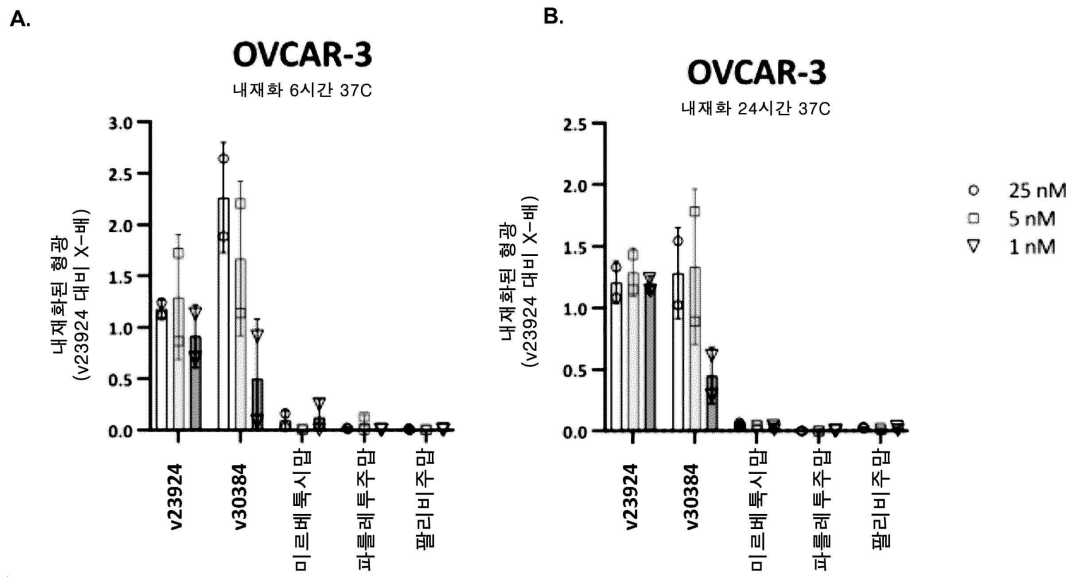
D.



도면5



도면6



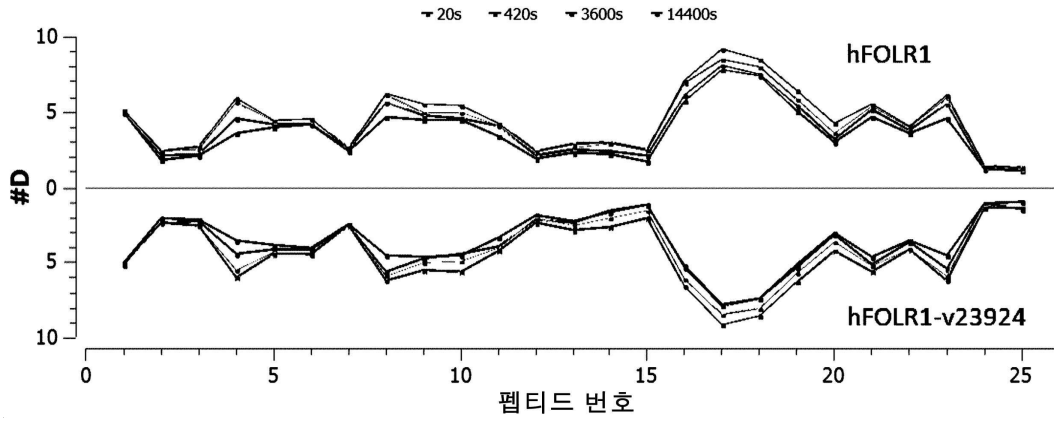
도면7

```

5      10     15     20     25     30     35     40     45     50
1  RIAWA RTELL NVCMN AKHHK EKPGP EDKLH EQCRP WRKNA CCSTN TSQEA
55     60     65     70     75     80     85     90     95     100
51 HKDVS YLYRF NWNHC GEMAP ACKRH FIQDT CLYEC SPNLG PWIQQ VDQSW
105    110    115    120    125    130    135    140    145    150
101 RKERV LNVPL CKEDC EQWWE DCRTS YTCKS NWHKG WNWTS GFNKC AVGAA
155    160    165    170    175    180    185    190    195    200
151 CQPFH FYFPT PTVLC NEIWT HSYKV SNYSR GSGRC IQMWF DPAQG NPNEE
205    210    215    220    225
201 VARFY AAAMG GSGGG GSHHH HHHHH HH
    
```

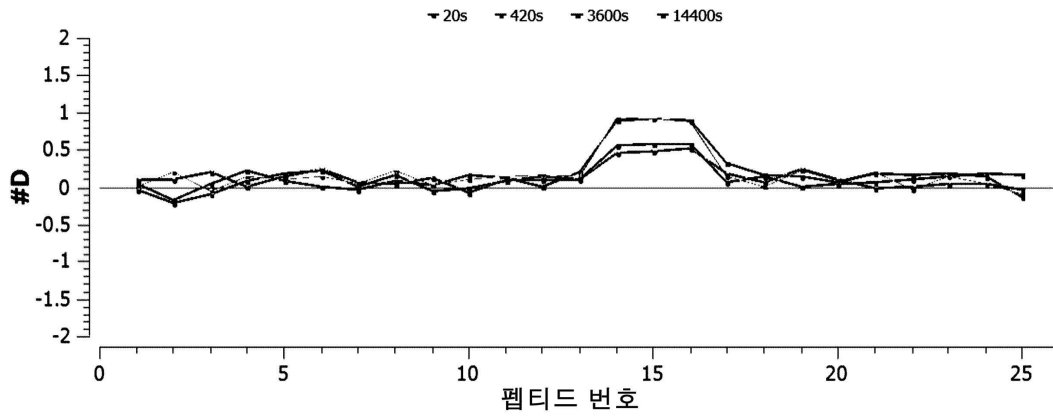
도면8a

A.

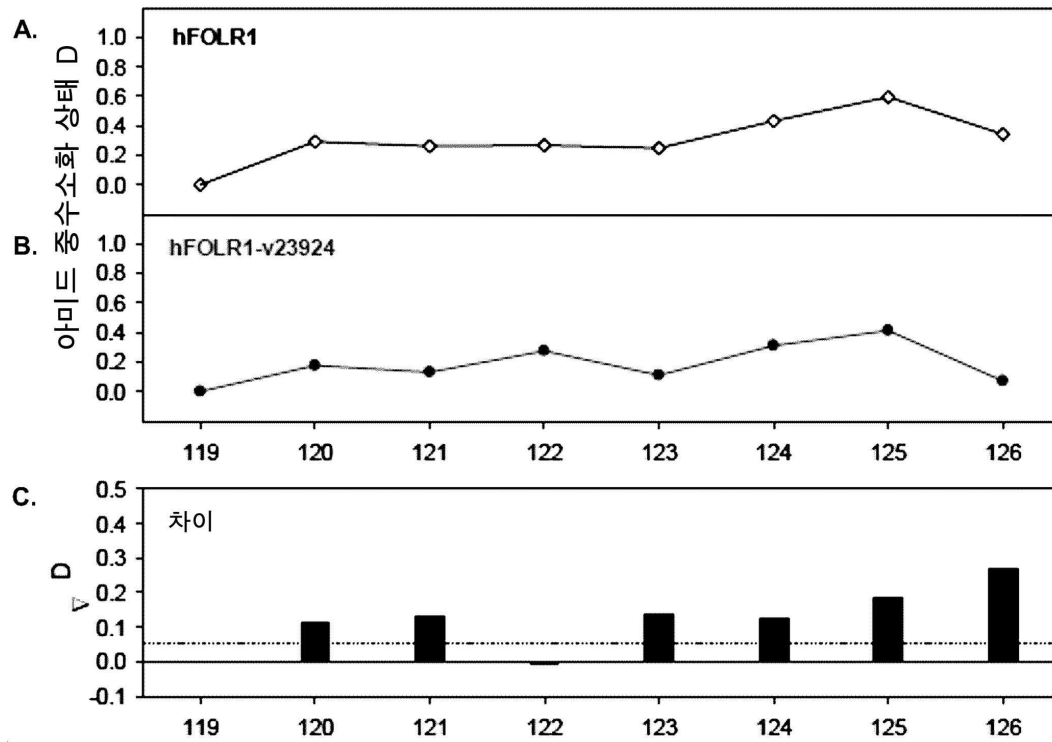


도면8b

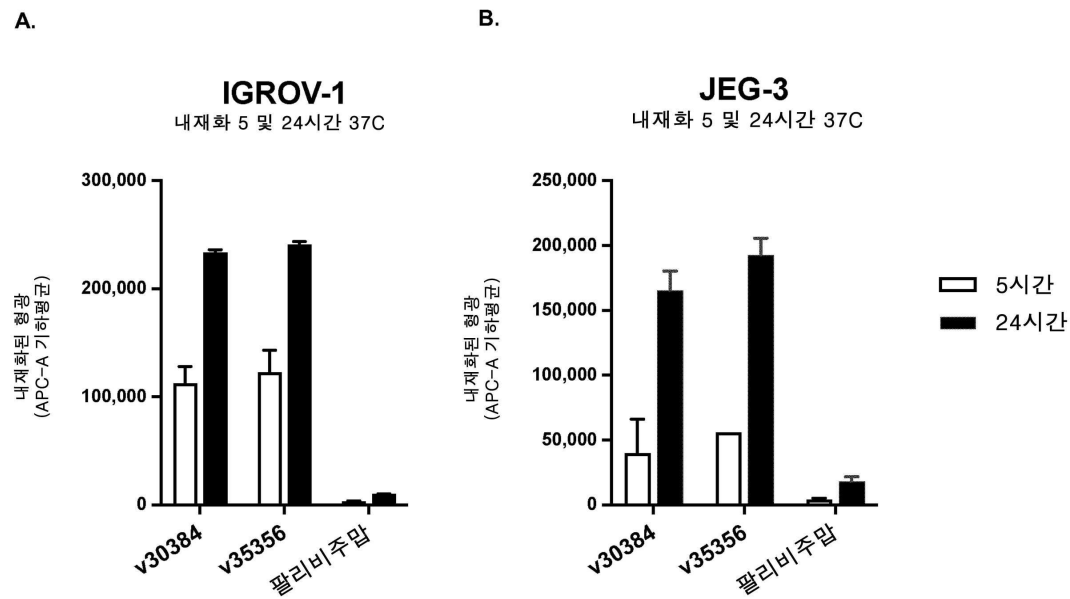
B.



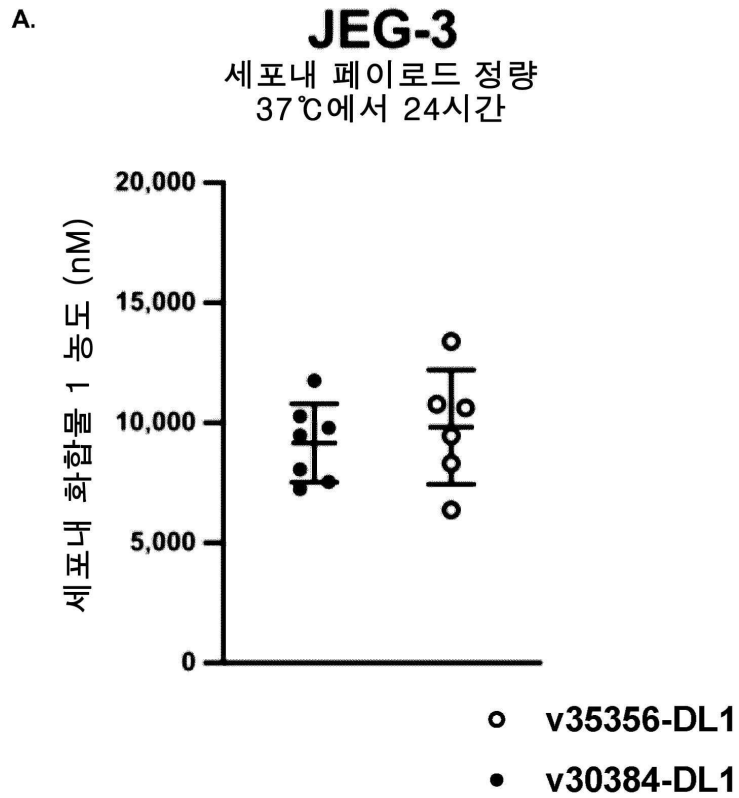
도면9



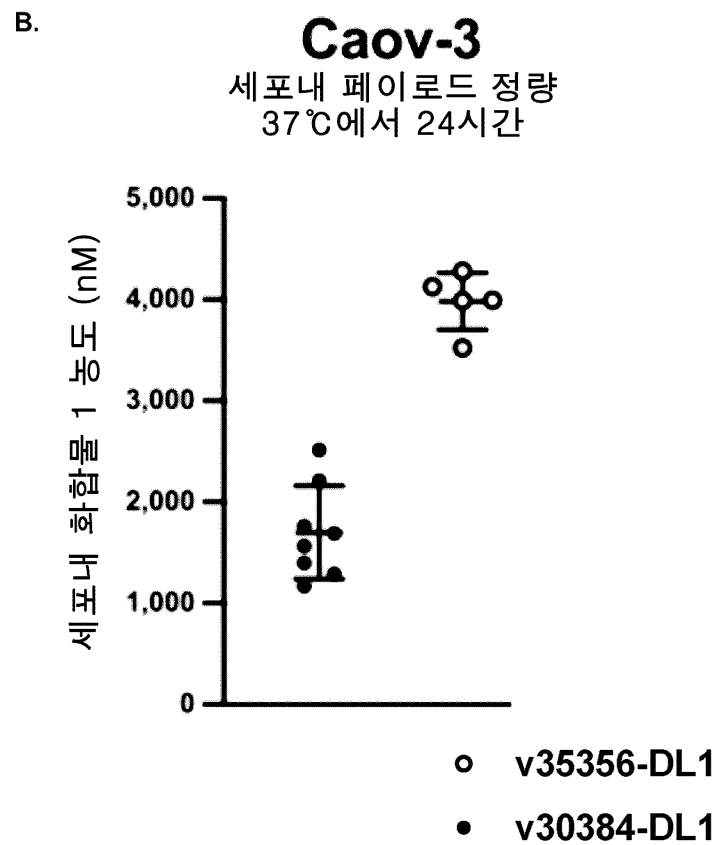
도면10



도면11a

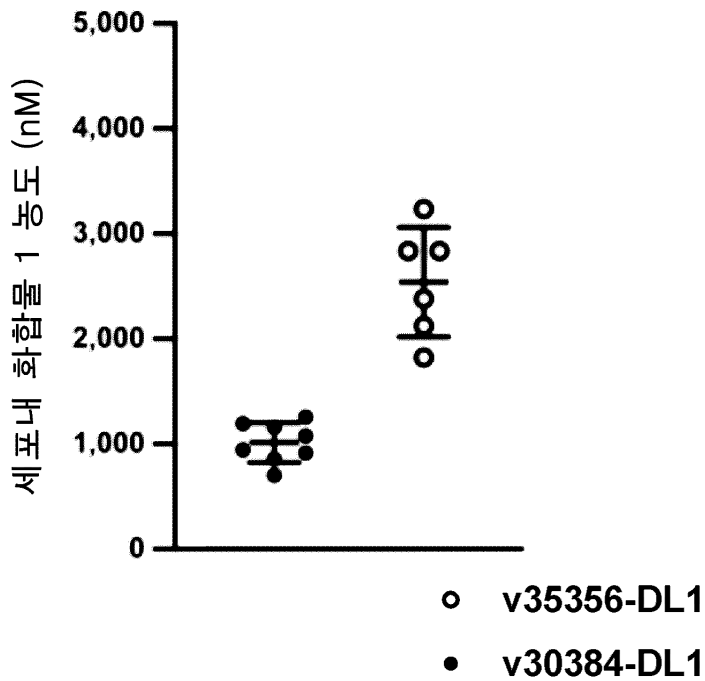


도면11b



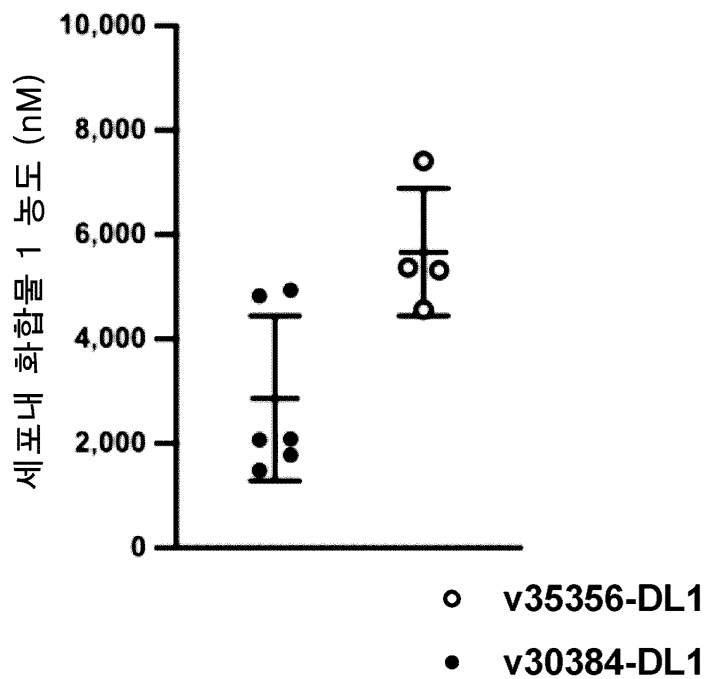
도면11c

C. **H2110**
세포내 페이로드 정량
37°C에서 24시간



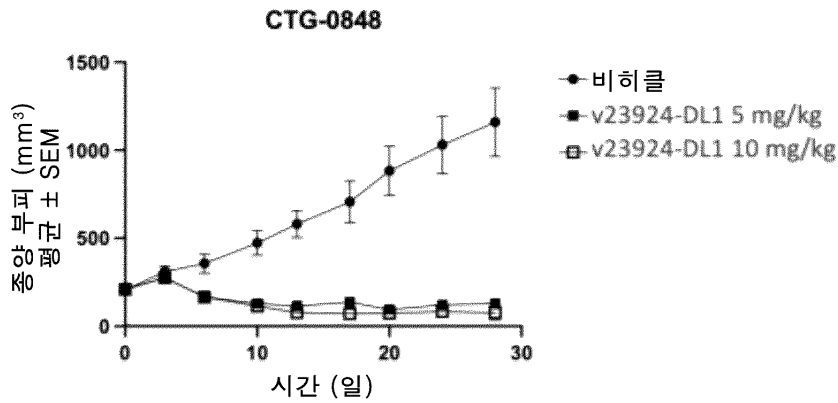
도면11d

D. **HEC-1-A**
세포내 페이로드 정량
37°C에서 24시간



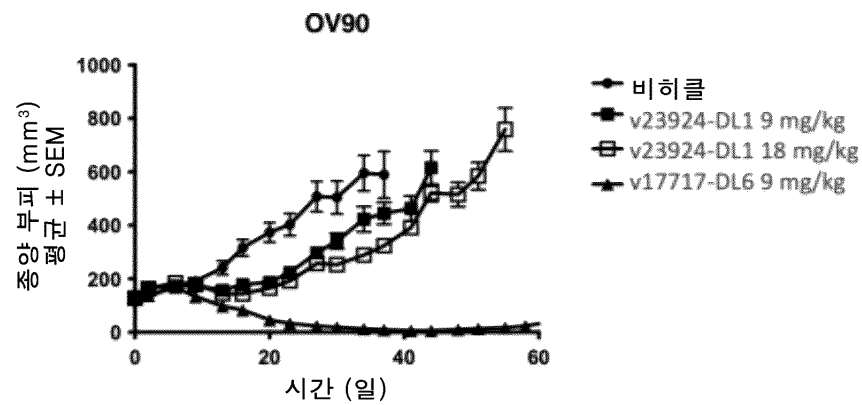
도면12a

A.



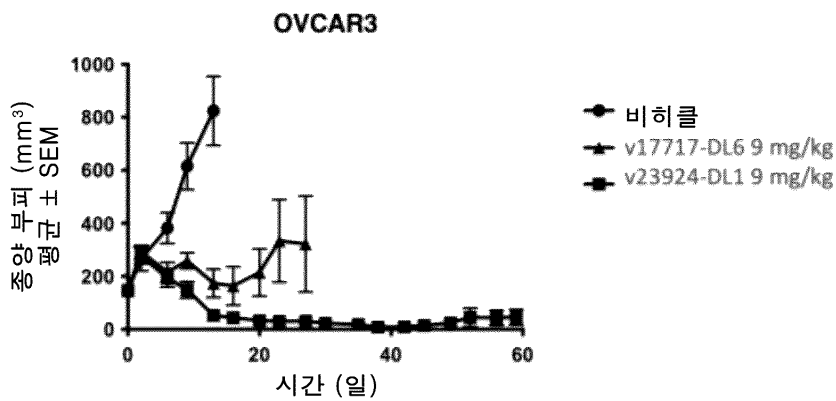
도면12b

B.

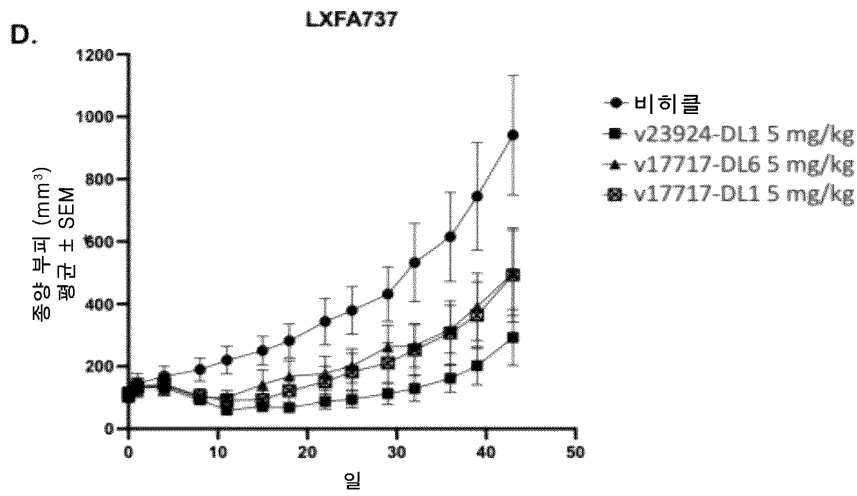


도면12c

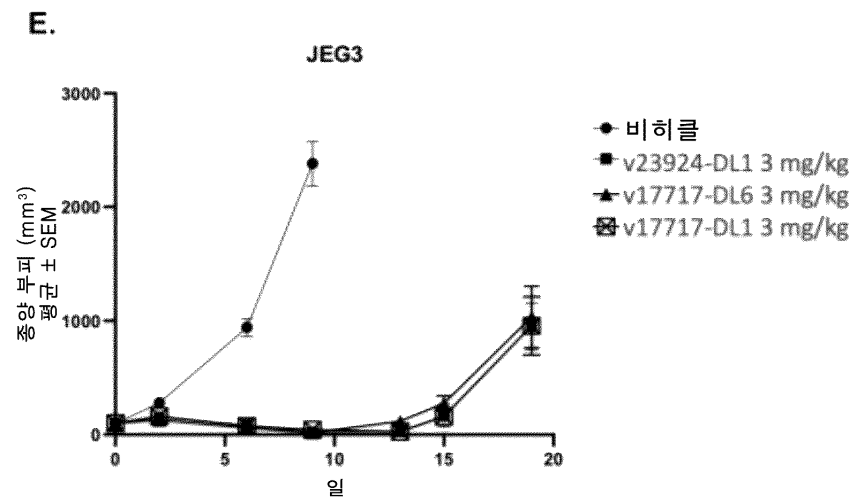
C.



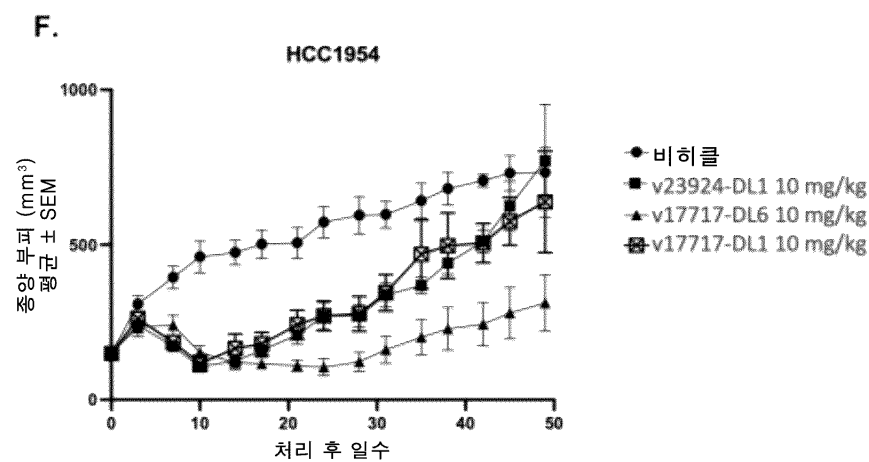
도면12d



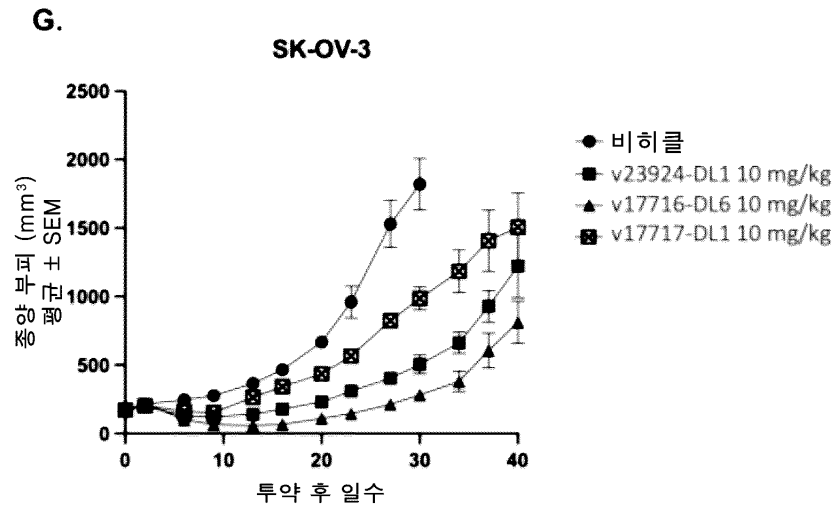
도면12e



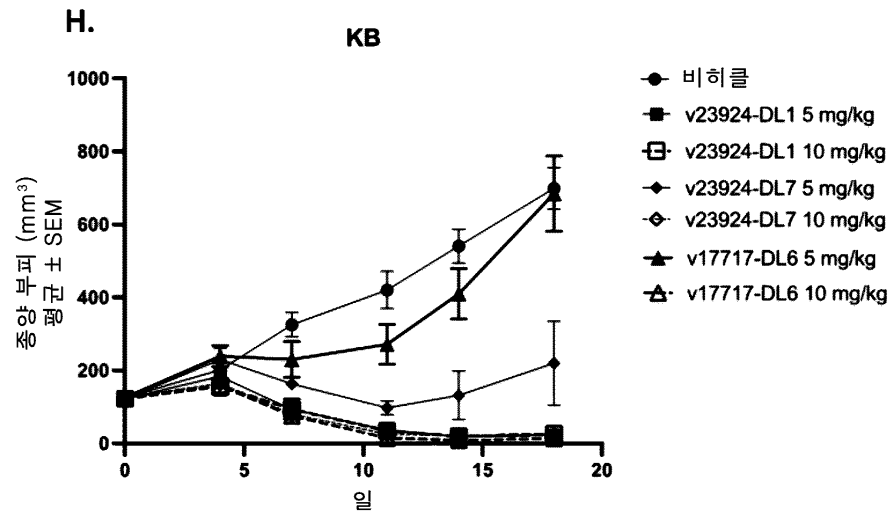
도면12f



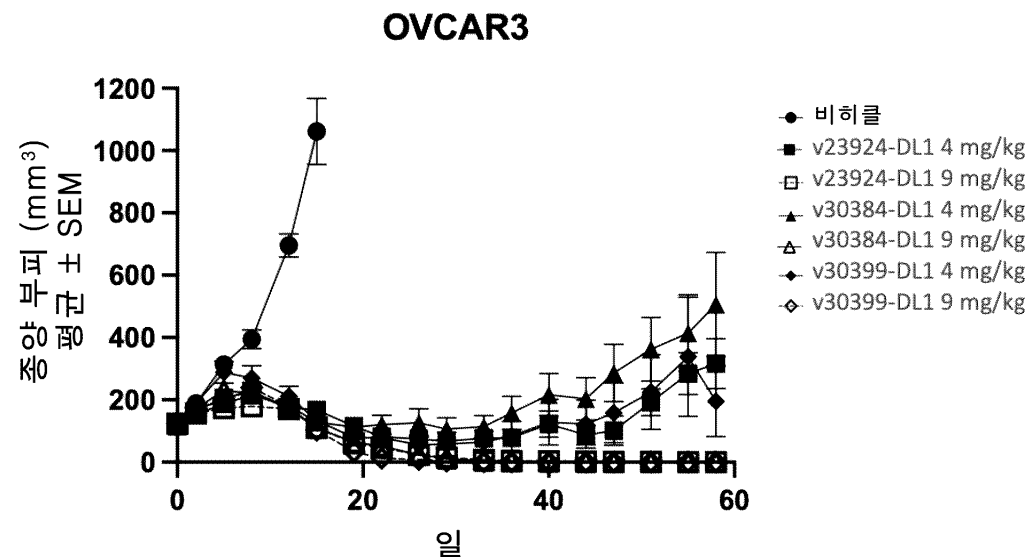
도면12g



도면12h

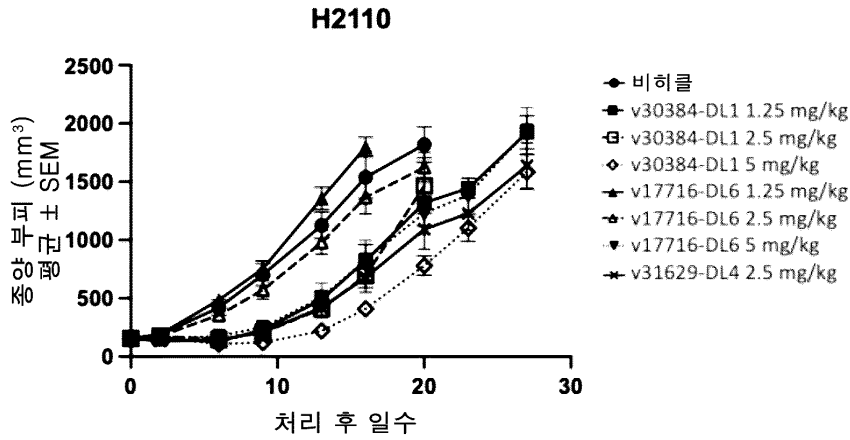


도면13



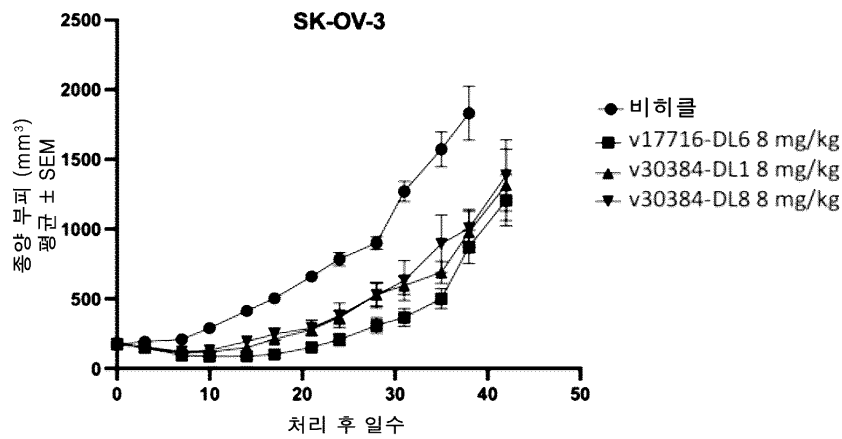
도면14a

A.



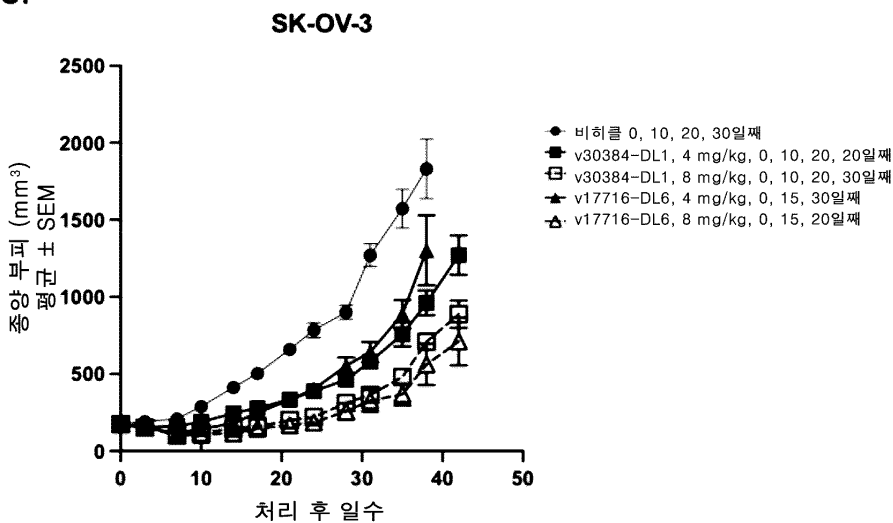
도면14b

B.



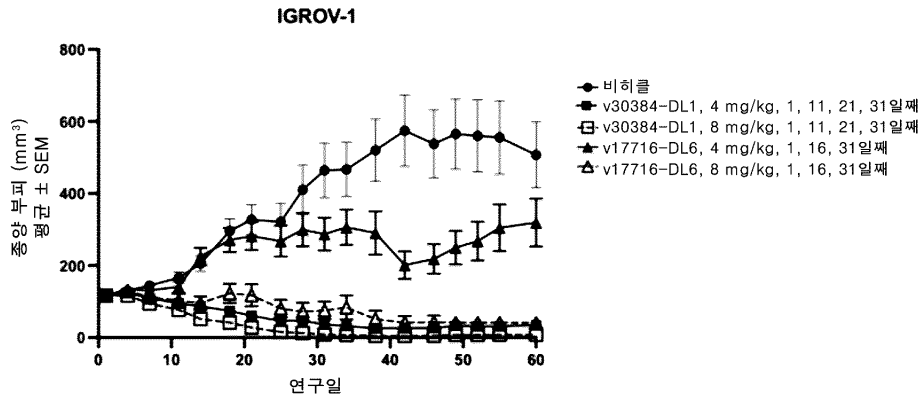
도면14c

C.



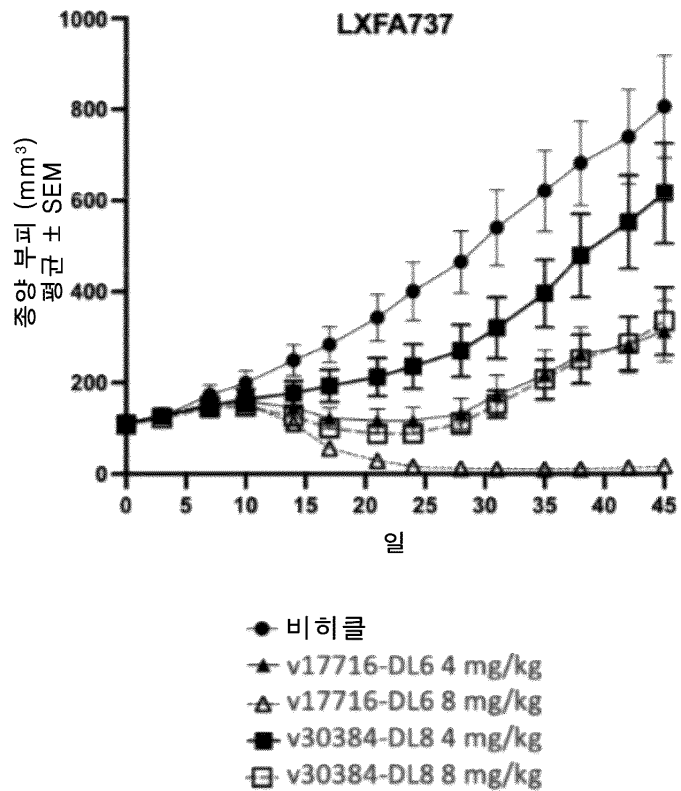
도면14d

D.

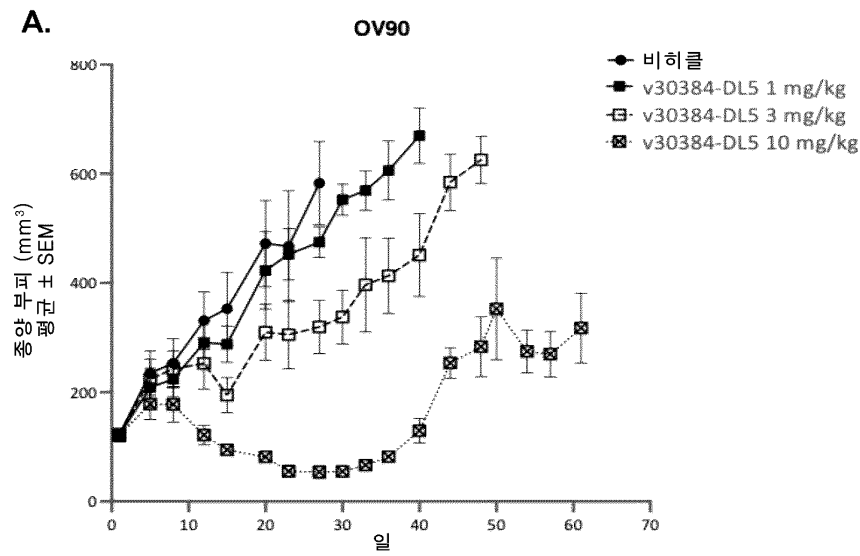


도면14e

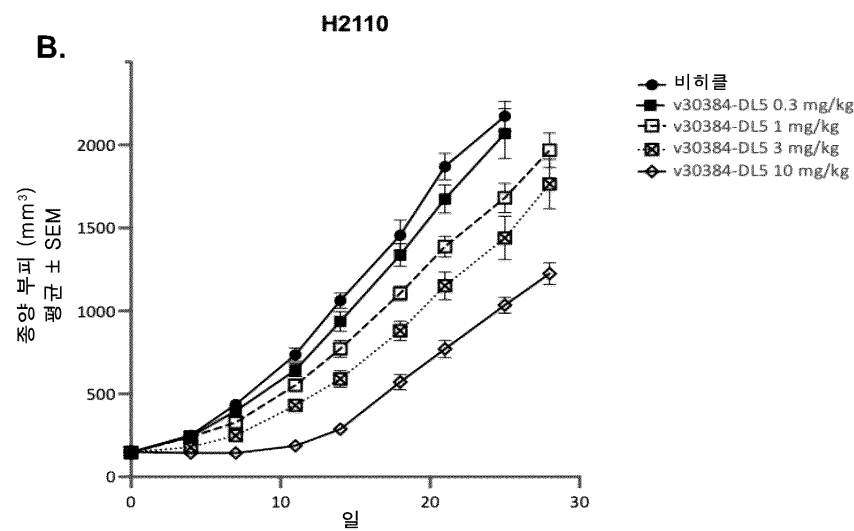
E.



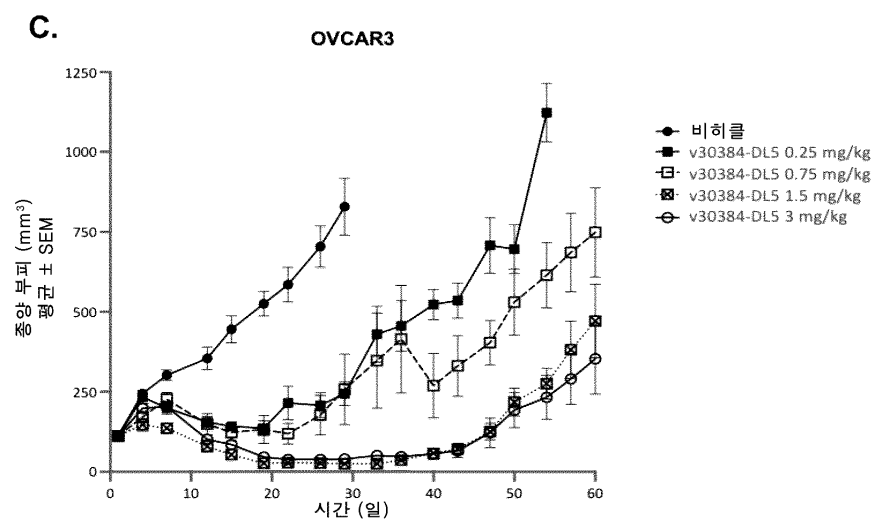
도면15a



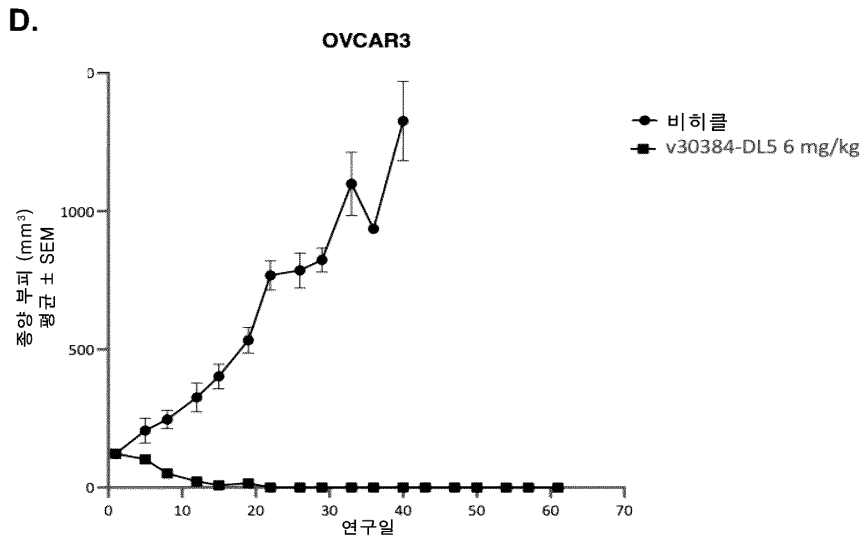
도면15b



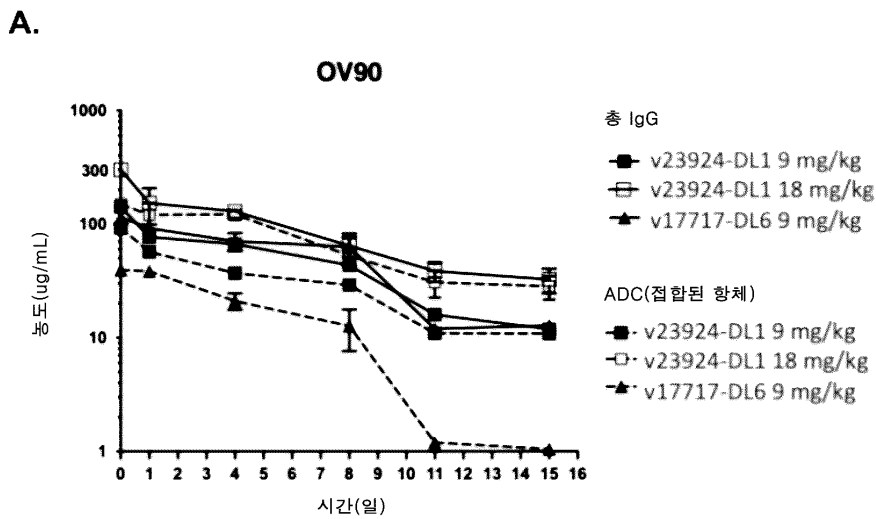
도면15c



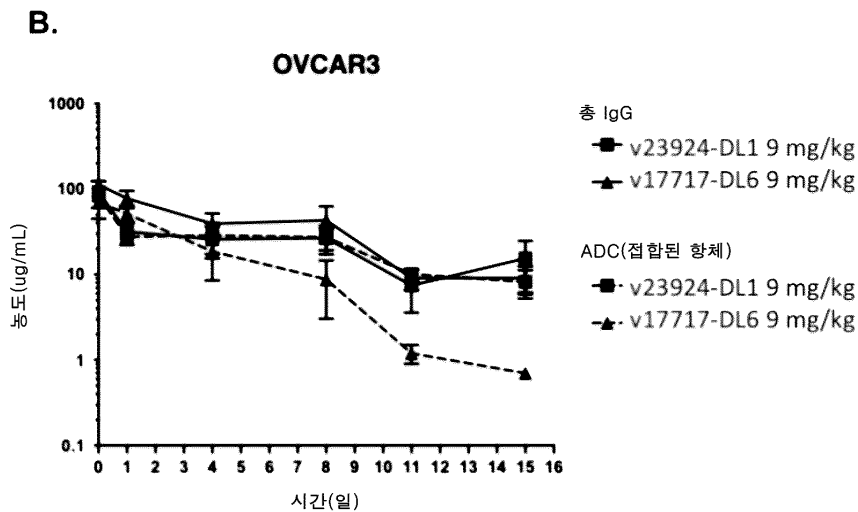
도면15d



도면16a

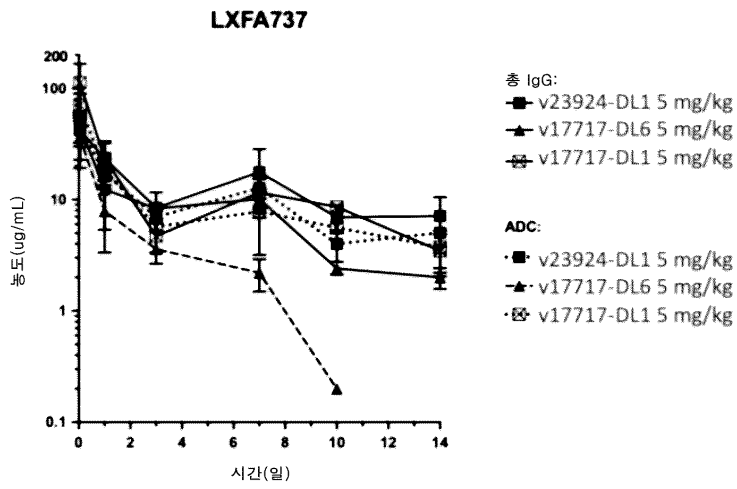


도면16b



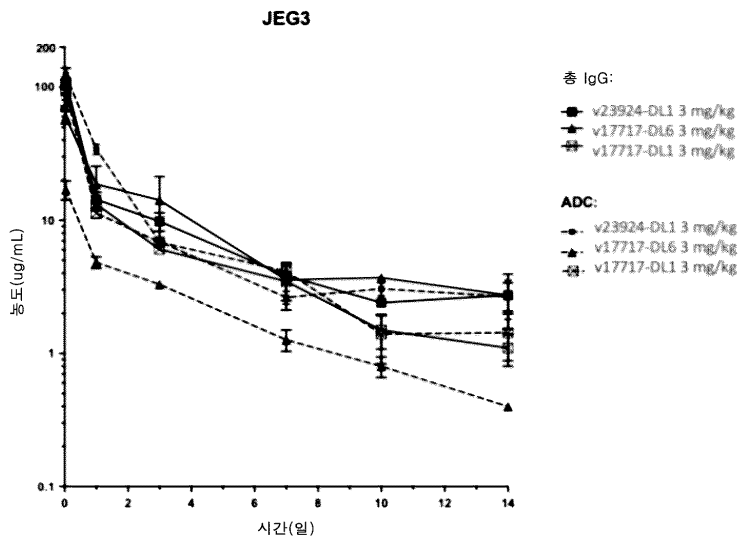
도면16c

C.



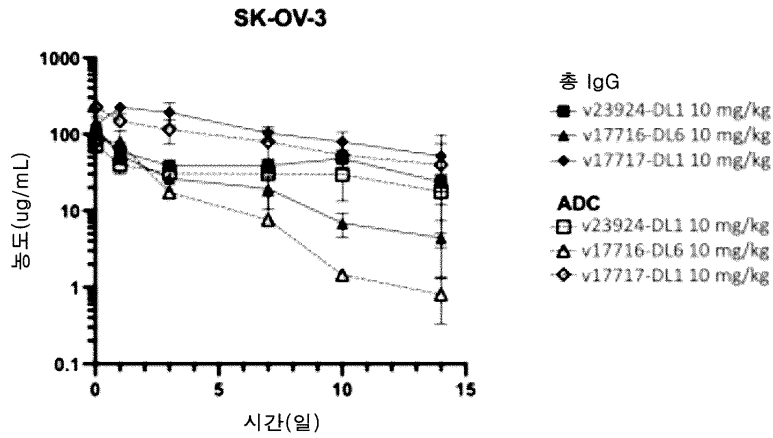
도면16d

D.



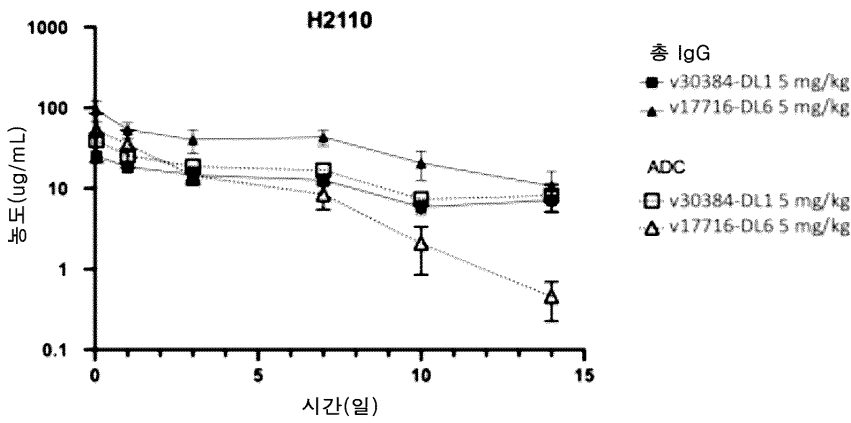
도면16e

E.



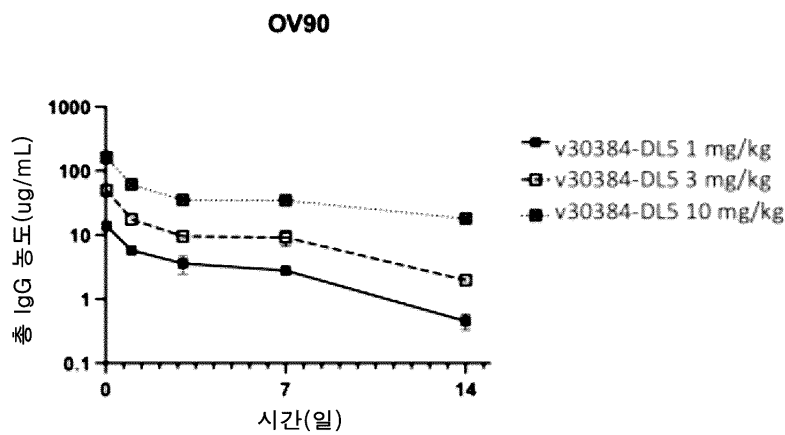
도면16f

F.

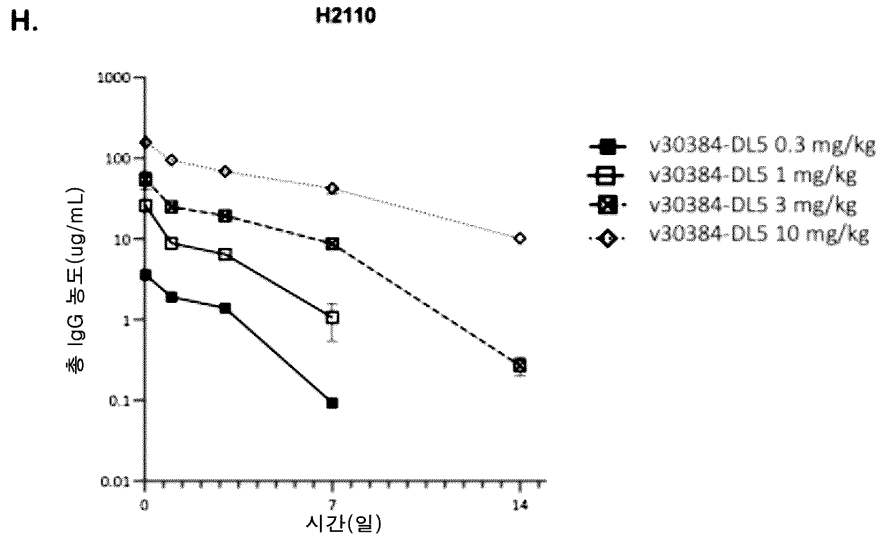


도면16g

G.



도면16h



도면17a

항-FR α 항체의 CDR 서열

변이체	넘버링 시스템	중쇄 CDR	서열	서열 번호	경쇄 CDR	서열	서열 번호
v23924 v30618	IMGT	HCDR1	GFSLSSYG	20	LCDR1	QSIGDW	40
		HCDR2	VNSGGSA	21	LCDR2	EAS	41
		HCDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42
	Chothia	HCDR1	GFSLSSY	23	LCDR1	QASQSIGDWLA	43
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42
	Kabat	HCDR1	SYGVS	26	LCDR1	QASQSIGDWLA	43
		HCDR2	AVNSGGSAYYANWAKS	27	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42
	접촉	HCDR1	SSYGVS	28	LCDR1	GDWLAWY	45
		HCDR2	WIGAVNSGGSAY	29	LCDR2	LLIYEASTLA	46
		HCDR3	ARSGSGYPMDYLA	30	LCDR3	QQGYGRSNVDN	47
AbM	HCDR1	GFSLSSYGVS	31	LCDR1	QASQSIGDWLA	43	
	HCDR2	AVNSGGSAY	32	LCDR2	EASTLAS	44	
	HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
v30384 v30389 v31422 v31423 v31424 v31425 v31426 v36675	IMGT	HCDR1	GFSLSSYG	20	LCDR1	QSIGDW	40
		HCDR2	VNSGGSA	21	LCDR2	EAS	41
		HCDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42
	Chothia	HCDR1	GFSLSSY	23	LCDR1	RASQSIGDWLA	65
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42
	Kabat	HCDR1	SYGVS	26	LCDR1	RASQSIGDWLA	65
		HCDR2	AVNSGGSAYYADSVKVG	51	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42
	접촉	HCDR1	SSYGVS	28	LCDR1	GDWLAWY	45
		HCDR2	WIGAVNSGGSAY	29	LCDR2	LLIYEASTLA	46
		HCDR3	ARSGSGYPMDYLA	30	LCDR3	QQGYGRSNVDN	47
AbM	HCDR1	GFSLSSYGVS	31	LCDR1	RASQSIGDWLA	65	

도면17b

변이체	넘버링 시스템	중쇄 CDR	서열	서열 번호	경쇄 CDR	서열	서열 번호	
v30394 v30399		HCDR2	AVNSGGGSAY	32	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
		IMGT	HCDR1	GFSLSYSG	20	LCDR1	QSIGDW	40
	Chothia	HCDR2	VNSGGSA	21	LCDR2	EAS	41	
		HCDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
		HCDR1	GFSLSY	23	LCDR1	RASQSIGDWLA	65	
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
		Kabat	HCDR1	SYGVS	26	LCDR1	RASQSIGDWLA	65
			HCDR2	AVNSGGGSAYYADWAKG	58	LCDR2	EASTLAS	44
			HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42
		접촉	HCDR1	SSYGVS	28	LCDR1	GDWLAWY	45
	HCDR2		WIGAVNSGGGSAY	29	LCDR2	LLIYEASTLA	46	
	HCDR3		ARSGSGYPMDYLA	30	LCDR3	QQGYGRSNVDN	47	
	AbM	HCDR1	GFSLSYSGVS	31	LCDR1	RASQSIGDWLA	65	
		HCDR2	AVNSGGGSAY	32	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
	v35305	IMGT	HCDR1	GFSLSLYG	92	LCDR1	QSIWYW	125
HCDR2			VNSGGSA	21	LCDR2	EAS	41	
HCDR3			ARSGSGYPMDYLAI	22	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
Chothia		HCDR1	GFSLSLY	93	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
Kabat		HCDR1	LYGVS	94	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	AVNSGGGSAYYADSVKG	51	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
접촉		HCDR1	SLYGVS	95	LCDR1	WYWLAWY	127	
		HCDR2	WIGAVNSGGGSAY	29	LCDR2	LLIYEASTLA	46	
		HCDR3	ARSGSGYPMDYLA	30	LCDR3	QQGYGRSNVDN	47	

도면17c

변이체	넘버링 시스템	중쇄 CDR	서열	서열 번호	경쇄 CDR	서열	서열 번호	
	AbM	HCDR1	GFSLSLYGVS	96	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	AVNSGGGSAY	32	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
v35342	IMGT	HCDR1	GFSLSLYG	92	LCDR1	QSIWYW	125	
		HCDR2	LNSGGSA	100	LCDR2	EAS	41	
		HCDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
	Chothia	HCDR1	GFSLSLY	93	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
	Kabat	HCDR1	LYGVS	94	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	SLNSGGGSAYYADSVKG	101	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
	접촉	HCDR1	SLYGVS	95	LCDR1	WYWLAWY	127	
		HCDR2	WIGSLNSGGGSAY	102	LCDR2	LLIYEASTLA	46	
		HCDR3	ARSGSGYPMDYLA	30	LCDR3	QQGYGRWHILN	121	
	AbM	HCDR1	GFSLSLYGVS	96	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	SLNSGGGSAY	103	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
	v35347	IMGT	HCDR1	GFSLSLYG	92	LCDR1	QSIGDW	40
			HCDR2	VNSGGSA	21	LCDR2	EAS	41
			HCDR3	ARSGSGYPMDYHPI	107	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42
Chothia		HCDR1	GFSLSLY	93	LCDR1	RASQSIGDWLA	65	
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
Kabat		HCDR1	LYGVS	94	LCDR1	RASQSIGDWLA	65	
		HCDR2	AVNSGGGSAYYADSFKG	109	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42	
접촉		HCDR1	SLYGVS	95	LCDR1	GDWLAWY	45	
		HCDR2	WIGAVNSGGGSAY	29	LCDR2	LLIYEASTLA	46	

도면17d

변이체	넘버링 시스템	중쇄 CDR	서열	서열 번호	경쇄 CDR	서열	서열 번호
	AbM	HCDR3	ARSGSGYPMDYHP	110	LCDR3	QQGYGRSNVDN	47
		HCDR1	GFSLSLYGVS	96	LCDR1	RASQSIGDWLA	65
		HCDR2	AVNSGGSAY	32	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRSNVDNI	42
v35348	IMGT	HCDR1	GFSLSLYG	92	LCDR1	QSIGDW	40
		HCDR2	VNSGGSA	21	LCDR2	EAS	41
		HCDR3	ARSGSGYPMDYHPI	107	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
	Chothia	HCDR1	GFSLSLY	93	LCDR1	RASQSIGDWLA	65
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
	Kabat	HCDR1	LYGVS	94	LCDR1	RASQSIGDWLA	65
		HCDR2	AVNSGGSAYYADSFKG	109	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
	접촉	HCDR1	SLYGVS	95	LCDR1	GDWLAWY	45
		HCDR2	WIGAVNSGGSAY	29	LCDR2	LLIYEASTLA	46
		HCDR3	ARSGSGYPMDYHP	110	LCDR3	QQGYGRWHILN	121
	AbM	HCDR1	GFSLSLYGVS	96	LCDR1	RASQSIGDWLA	65
		HCDR2	AVNSGGSAY	32	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
	v35350	IMGT	HCDR1	GFSLSLYG	92	LCDR1	QSIWYW
HCDR2			VNSGGSA	21	LCDR2	EAS	41
HCDR3			ARSGSGYPMDYHPI	107	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
Chothia		HCDR1	GFSLSLY	93	LCDR1	RASQSIWYWLA	126
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
Kabat		HCDR1	LYGVS	94	LCDR1	RASQSIWYWLA	126
		HCDR2	AVNSGGSAYYADSFKG	109	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
접촉		HCDR1	SLYGVS	95	LCDR1	WYWLAWY	127

도면17e

변이체	넘버링 시스템	중쇄 CDR	서열	서열 번호	경쇄 CDR	서열	서열 번호
	AbM	HCDR2	WIGAVNSGGSAY	29	LCDR2	LLIYEASTLA	46
		HCDR3	ARSGSGYPMDYHP	110	LCDR3	QQGYGRWHILN	121
		HCDR1	GFSLSLYGVS	96	LCDR1	RASQSIWYWLA	126
		HCDR2	AVNSGGSAY	32	LCDR2	EASTLAS	44
v35354	IMGT	HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
		HCDR1	GFSLSLYG	92	LCDR1	QSIWYW	125
		HCDR2	VNSGGSA	21	LCDR2	EAS	41
	Chothia	HCDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
		HCDR1	GFSLSLY	93	LCDR1	RASQSIWYWLA	126
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44
	Kabat	HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
		HCDR1	LYGVS	94	LCDR1	RASQSIWYWLA	126
		HCDR2	AVNSGGSAYYADSFKG	109	LCDR2	EASTLAS	44
	접촉	HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
		HCDR1	SLYGVS	95	LCDR1	WYWLAWY	127
		HCDR2	WIGAVNSGGSAY	29	LCDR2	LLIYEASTLA	46
	AbM	HCDR3	ARSGSGYPMDYLA	30	LCDR3	QQGYGRWHILN	121
		HCDR1	GFSLSLYGVS	96	LCDR1	RASQSIWYWLA	126
		HCDR2	AVNSGGSAY	32	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
v35356	IMGT	HCDR1	GFSLSSYG	20	LCDR1	QSIGDW	40
		HCDR2	VNSGGSA	21	LCDR2	EAS	41
		HCDR3	ARSGSGYPMDYHPI	107	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
	Chothia	HCDR1	GFSLSSY	23	LCDR1	RASQSIGDWLA	65
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
	Kabat	HCDR1	SYGVS	26	LCDR1	RASQSIGDWLA	65
		HCDR2	AVNSGGSAYYADSFKG	109	LCDR2	EASTLAS	44
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120

도면17f

변이체	넘버링 시스템	중쇄 CDR	서열	서열 번호	경쇄 CDR	서열	서열 번호	
	접촉	HCDR1	SSYGVS	28	LCDR1	GDWLAWY	45	
		HCDR2	WIGAVNSGGSAY	29	LCDR2	LLIYEASTLA	46	
		HCDR3	ARSGSGYPMDYHP	110	LCDR3	QQGYGRWHILN	121	
	AbM	HCDR1	GFSLSSYGVS	31	LCDR1	RASQSIGDWLA	65	
		HCDR2	AVNSGGSAY	32	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
v35358	IMGT	HCDR1	GFSLSSYG	20	LCDR1	QSIWYW	125	
		HCDR2	VNSGGSA	21	LCDR2	EAS	41	
		HCDR3	ARSGSGYPMDYHPI	107	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
	Chothia	HCDR1	GFSLSSY	23	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
	Kabat	HCDR1	SYGVS	26	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	AVNSGGSAYYADSFKG	109	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
	접촉	HCDR1	SSYGVS	28	LCDR1	WYWLAWY	127	
		HCDR2	WIGAVNSGGSAY	29	LCDR2	LLIYEASTLA	46	
		HCDR3	ARSGSGYPMDYHP	110	LCDR3	QQGYGRWHILN	121	
		AbM	HCDR1	GFSLSSYGVS	31	LCDR1	RASQSIWYWLA	126
			HCDR2	AVNSGGSAY	32	LCDR2	EASTLAS	44
			HCDR3	SGSGYPMDYHPI	108	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
	v36167	IMGT	HCDR1	GFSLSSYG	20	LCDR1	QSIWYW	125
			HCDR2	VNSGGSA	21	LCDR2	EAS	41
			HCDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120
Chothia		HCDR1	GFSLSSY	23	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44	
		HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
Kabat		HCDR1	SYGVS	26	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	AVNSGGSAYYADSFKG	109	LCDR2	EASTLAS	44	

도면17g

변이체	넘버링 시스템	중쇄 CDR	서열	서열 번호	경쇄 CDR	서열	서열 번호	
	접촉	HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
		HCDR1	SSYGVS	28	LCDR1	WYWLAWY	127	
		HCDR2	WIGAVNSGGSAY	29	LCDR2	LLIYEASTLA	46	
	AbM	HCDR3	ARSGSGYPMDYLA	30	LCDR3	QQGYGRWHILN	121	
		HCDR1	GFSLSSYGVS	31	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	AVNSGGSAY	32	LCDR2	EASTLAS	44	
v36168	IMGT	HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
		HCDR1	GFSLSLYG	92	LCDR1	QSIWYW	125	
		HCDR2	VNSGGSA	21	LCDR2	EAS	41	
	Chothia	HCDR3	ARSGSGYPMDYLAI	22	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
		HCDR1	GFSLSLY	93	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	NSGGS	24	LCDR2	EASTLAS	44	
	Kabat	HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
		HCDR1	LYGVS	94	LCDR1	RASQSIWYWLA	126	
		HCDR2	SVNSGGSAYYADSVKG	137	LCDR2	EASTLAS	44	
	접촉	HCDR3	SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	
		HCDR1	SLYGVS	95	LCDR1	WYWLAWY	127	
		HCDR2	WIGSVNSGGSAY	138	LCDR2	LLIYEASTLA	46	
		HCDR3	ARSGSGYPMDYLA	30	LCDR3	QQGYGRWHILN	121	
		AbM	HCDR1	GFSLSLYGVS	96	LCDR1	RASQSIWYWLA	126
			HCDR2	SVNSGGSAY	139	LCDR2	EASTLAS	44
	HCDR3		SGSGYPMDYLAI	25	LCDR3	QQGYGRWHILNI	120	

도면18a

항-FR α 항체의 VH 및 VL 서열

변이체	영역	서열	서열 번호
v23924 v30618	VH	QSVKESEGGLFKPTDITLTLCTVSGFSLSSYGVSWVRQAPGNLEWIGAVNSGGSAAY ANWAKSRSTITRNTNLFVTLKMTSLAVADTATYFCARSGSGYPMDYLAIWGPGTLV TVSS	19
v30384 v36675	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YYADSVKGRSTISRDNNSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQT LVTVSS	50
v30389	VH	EVQVLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YYADSVKGRSTISRDNNSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQT LVTVSS	54
v30394	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YYADWAKGRSTISRDNNSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQ TLVTVSS	57
v30399	VH	EVQVLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YYADWAKGRSTISRDNNSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQ TLVTVSS	61
v31422	VH	EVQLLESGGGLFQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YADSVKGRSTISRDNNSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQTL VTVSS	76
v31423	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YYADSVKGRSTISRDTSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQT LVTVSS	79
v31424	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YYADSVKGRSTISRDTSKFTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQT LVTVSS	82
v31425	VH	EVQLLESGGGLFQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YADSVKGRSTISRDTSKFTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQTL VTVSS	85
v31426	VH	QQLLESGGGLFQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSAAY ADSVKGRSTISRDTSKFTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQTLV TVSS	88
v35305	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YYADSVKGRSTISRDNNSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQT LVTVSS	91

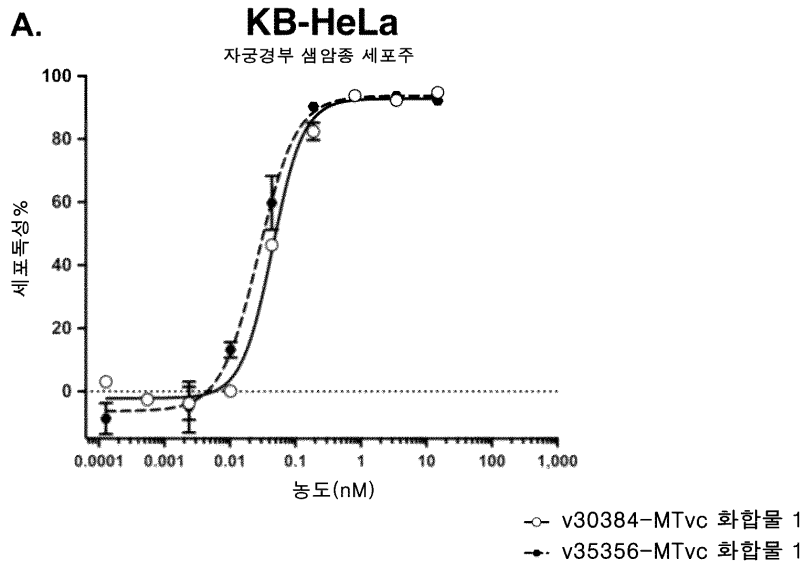
도면18b

변이체	영역	서열	서열 번호
v35342	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGSLNSGGSA YADSVKGRSTISRDNNSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQTL VTVSS	99
v35347 v35348 v35350	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YYADSVKGRSTISRDNNSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYHPIWQGQT LVTVSS	106
v35354	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YYADSVKGRSTISRDNNSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQT LVTVSS	113
v35356 v35358	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YYADSVKGRSTISRDNNSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYHPIWQGQT LVTVSS	116
v36167	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGAVNSGGSA YYADSVKGRSTISRDNNSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQT LVTVSS	133
v36168	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKLEWIGVNSGGSA YADSVKGRSTISRDNNSKNTVYLMNSLRAEDTAVYYCARSGSGYPMDYLAIWQGQTL VTVSS	136
v23924 v30618	VL	AYDMTQTPASVEVAVGGTVTIKQASQSIGDWLAWYQKPGQPPRLIYEASTLASG VPSRFGSGSGTQFTLIIISGVECAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGTEVVVK	39
v30384 v30389 v30394 v30399 v31422 v31423 v31424 v31425 v31426 v35347 v36675	VL	DYQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQSIGDWLAWYQKPGKAPKLLIYEASTLASGV PSRFGSGSGTDFLTISSVQPEDAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGTEVVVK	64
v35348 v35356	VL	DYQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQSIGDWLAWYQKPGKAPKLLIYEASTLASGV PSRFGSGSGTDFLTISSVQPEDAATYYCQQGYGRWHILNIFGGGTEVVVK	119

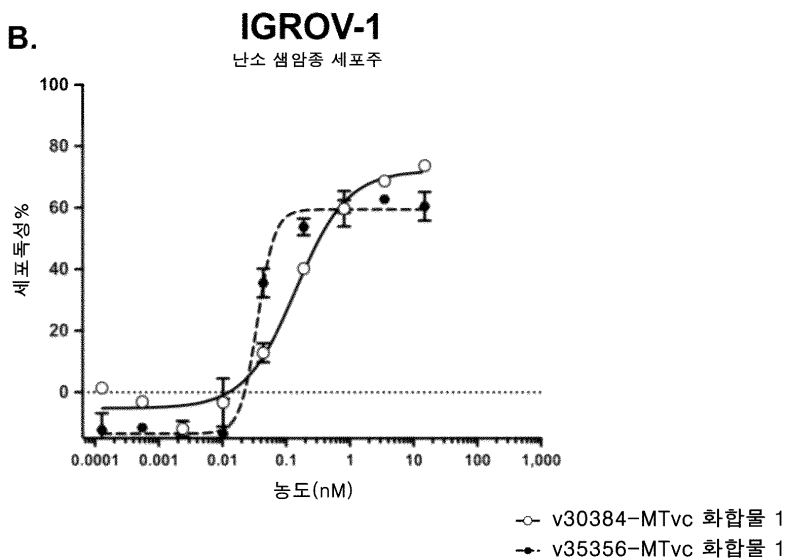
도면18c

변이체	영역	서열	서열 번호
v35305	VL	DYQMTQSPSSVSASVGDRTTTCRASQSIWYWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASTLASGV PSRFSGSGSGTDFILTISSVQPEDAATYYCQQGYGRSNVDNIFGGGKVEVK	124
v35342 v35350 v35354 v35358 v36167 v36168	VL	DYQMTQSPSSVSASVGDRTTTCRASQSIWYWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASTLASGV PSRFSGSGSGTDFILTISSVQPEDAATYYCQQGYGRWHILNIFGGGKVEVK	130

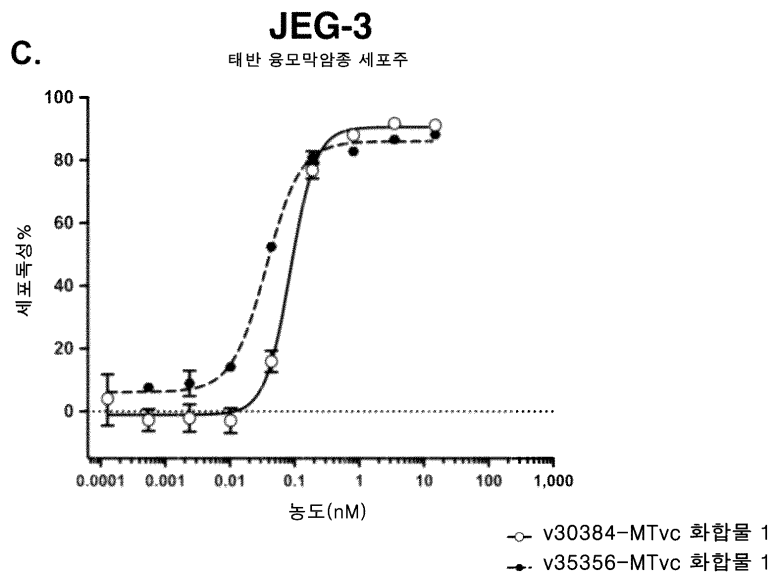
도면19a



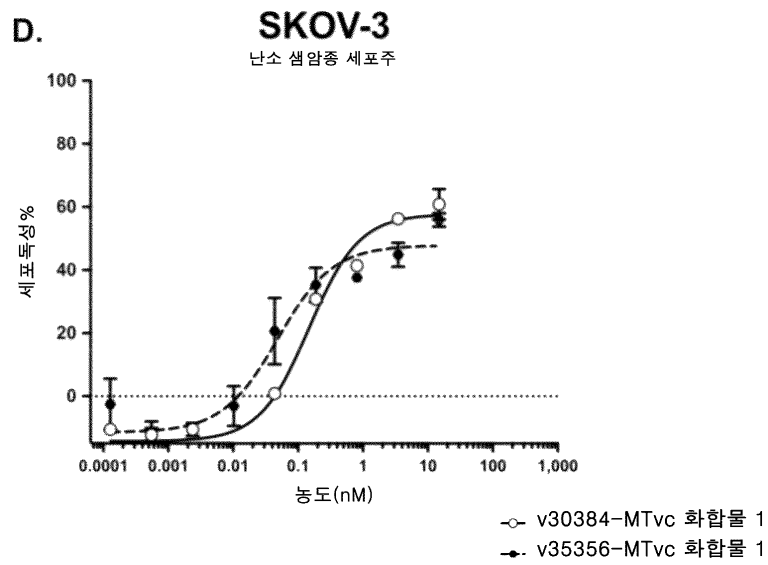
도면19b



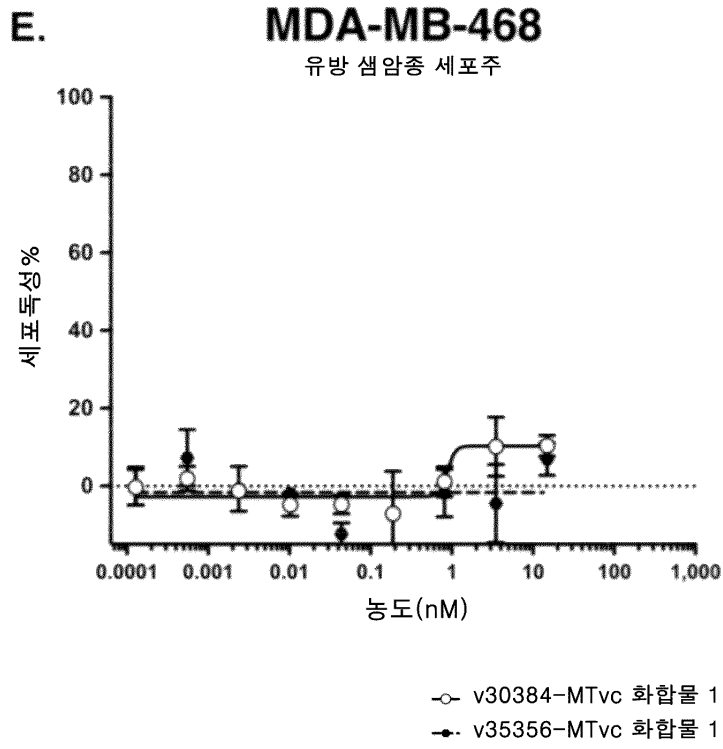
도면19c



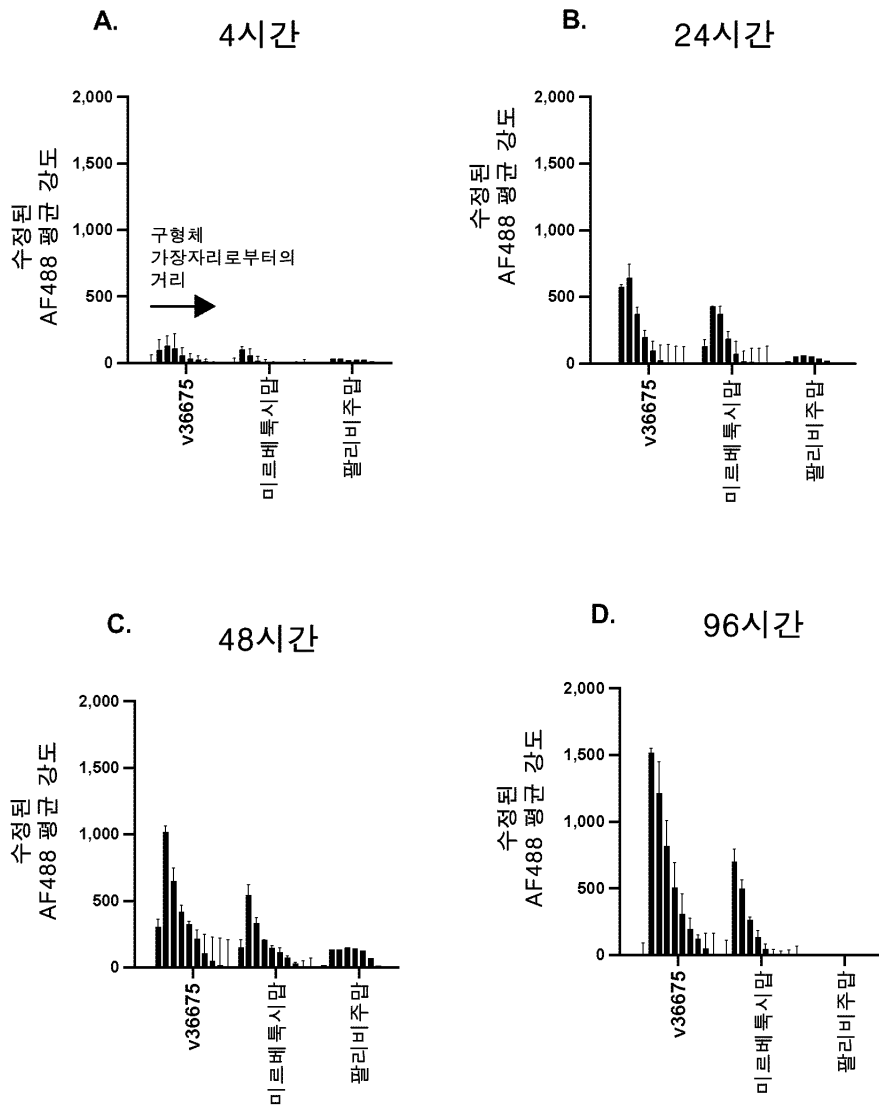
도면19d



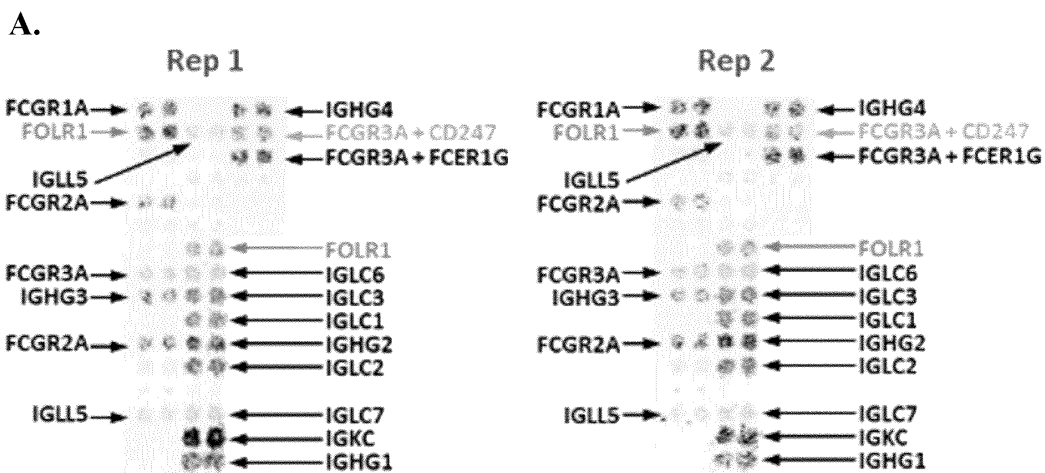
도면19e



도면20

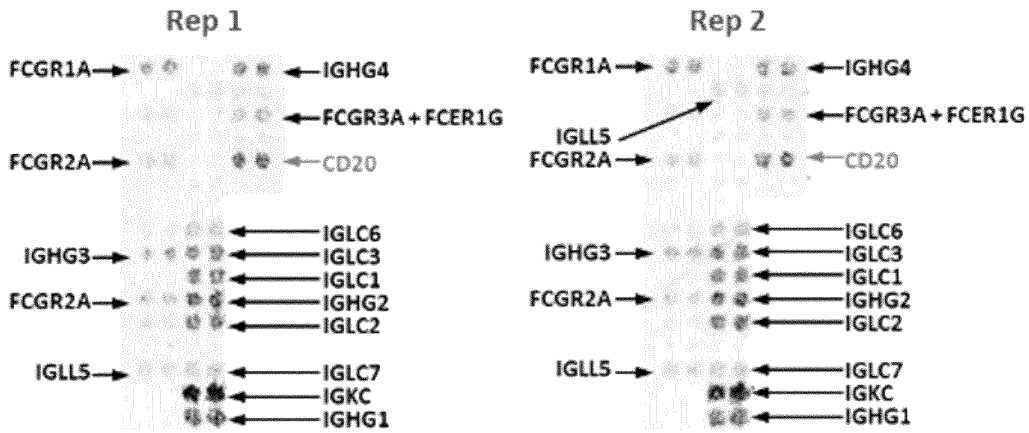


도면21a



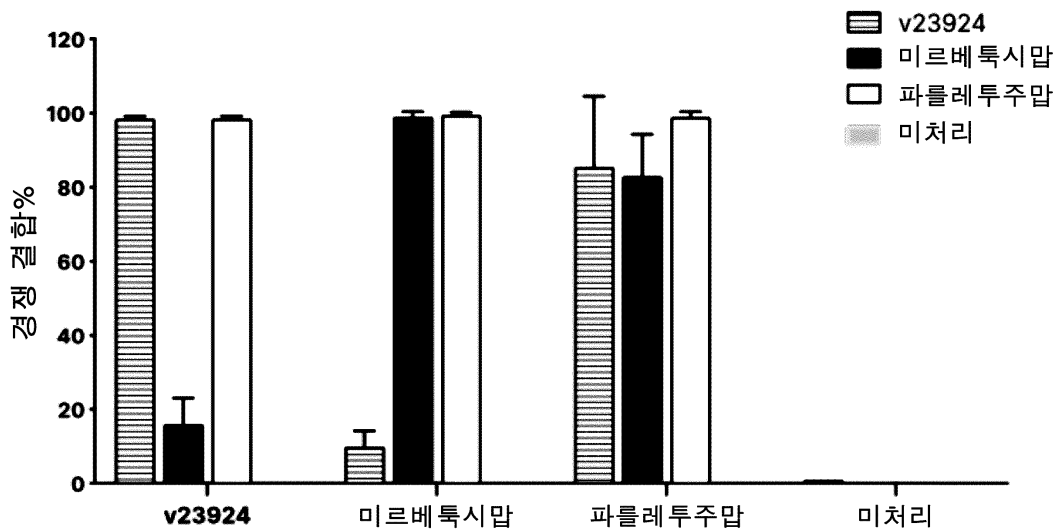
도면21b

B.



도면22

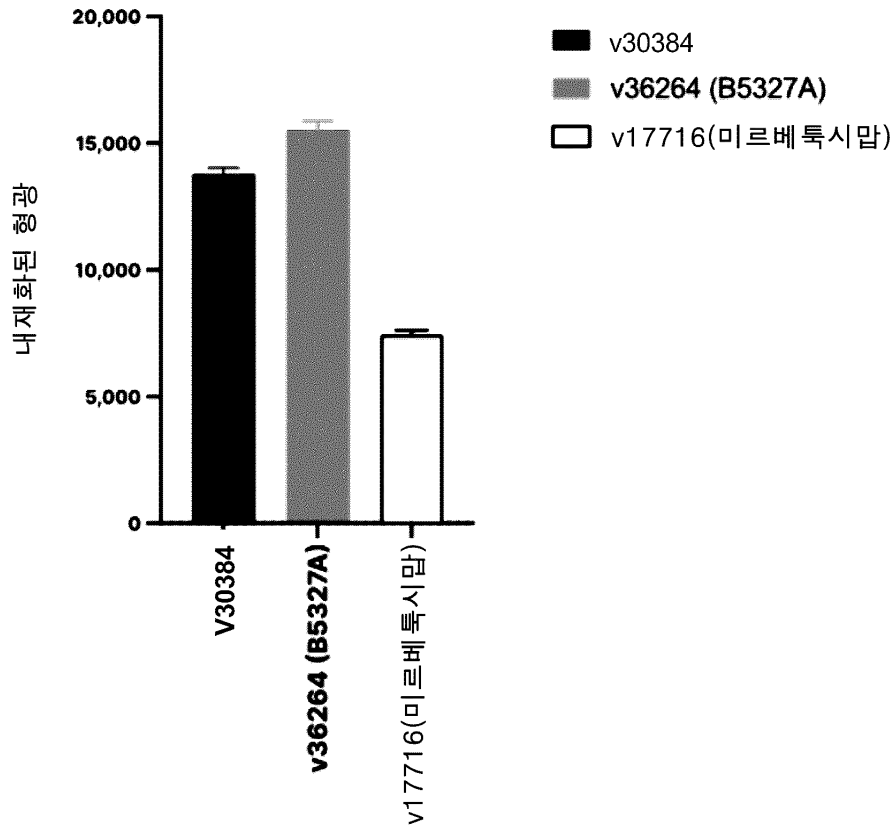
경쟁 결합%
H2110 FRa 중등도 세포주



도면23

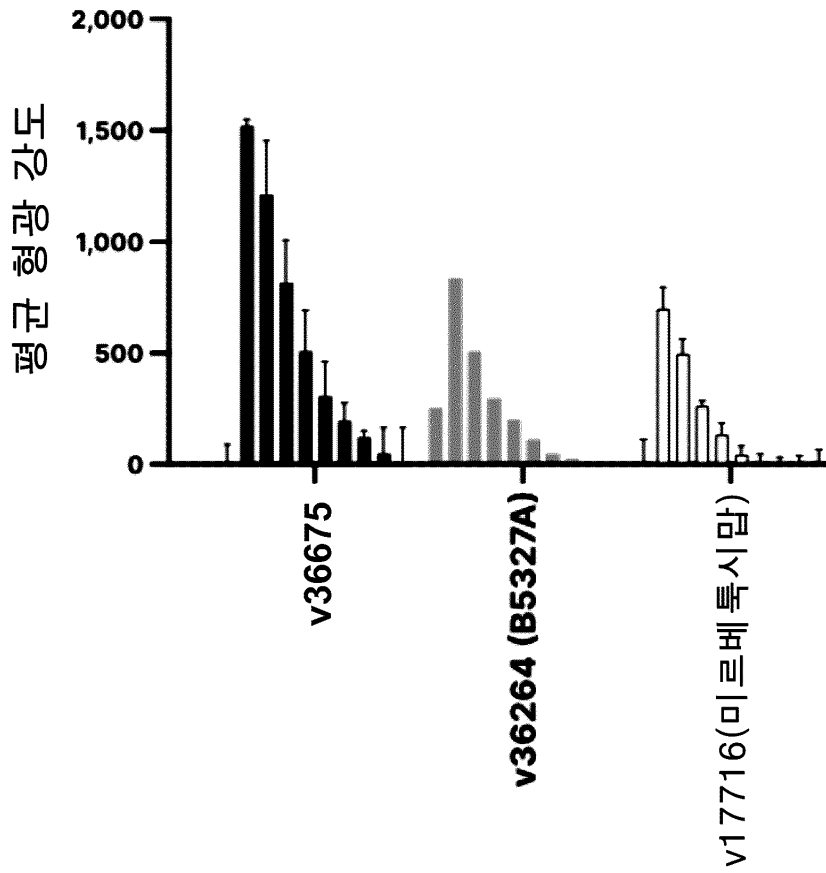
IGROV-1

25 nM, 37C에서 5 h



도면24

JEG-3 구형체 25 nM FRa mAb:Fab488 (1:1), 96h



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.