



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0004067
(43) 공개일자 2022년01월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/24 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 16/2818 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2021-7035631
(22) 출원일자(국제) 2020년03월31일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2021년11월01일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/025979
(87) 국제공개번호 WO 2020/205875
국제공개일자 2020년10월08일

(30) 우선권주장
62/827,381 2019년04월01일 미국(US)

(71) 출원인
임메타스 테라퓨틱스, 인코포레이티드
미국, 뉴저지 07936, 이스트 하노버, 스위트 141,
120 이글 락 애비뉴

(72) 발명자
왕 진
미국, 뉴저지 07936, 이스트 하노버, 스위트 141,
120 이글 락 애비뉴, 씨/오 임메타스 테라퓨틱스,
인코포레이티드

레이니 갓프레이 조나
미국, 뉴저지 07936, 이스트 하노버, 스위트 141,
120 이글 락 애비뉴, 씨/오 임메타스 테라퓨틱스,
인코포레이티드

(74) 대리인
특허법인한얼

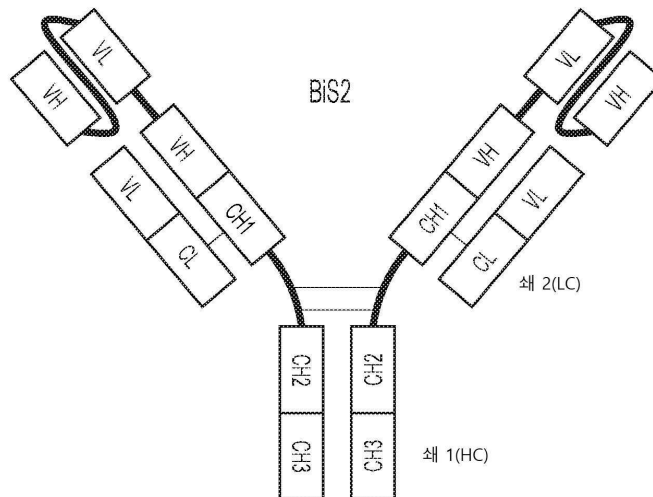
전체 청구항 수 : 총 76 항

(54) 발명의 명칭 **종양 미세환경을 표적화하는 이중특이적 결합 분자 및 면역 체크포인트 단백질**

(57) 요약

IP-1β 또는 IL-1R에 결합하는 이중특이적 결합 단백질 및 체크포인트 단백질이 단백질을 제조하는 방법과 함께 제공된다. 체크포인트 단백질은 PD-1 또는 PD-L1일 수 있다. 결합 단백질은 인간 Fab 또는 scFv 도메인을 함유하는 면역글로불린-유사 구조를 가질 수 있다. 새로운 이중특이적 항체 포맷이 제공된다. 결합 단백질을 제조하는 방법이 단백질을 함유하는 약제학적 조성물과 함께 제공된다. 결합 단백질 및 약제학적 조성물은 암과 같은 질환을 치료 또는 예방하는 데 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C07K 16/244 (2013.01)

C07K 16/2827 (2013.01)

C07K 16/2866 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/30 (2013.01)

C07K 2317/622 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C07K 2319/32 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

제1 결합 도메인(binding domain) 및 제2 결합 도메인을 포함하는 결합 단백질로서, 상기 제1 결합 도메인이 PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로 결합하여 이의 활성화를 억제하고, 상기 제2 결합 도메인이 IL- β 또는 IL-1R에 특이적으로 결합하여 이의 활성을 억제하는, 결합 단백질.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제1 및 제2 결합 도메인이 면역글로불린 결합 도메인을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 면역글로불린 결합 도메인이 인간 면역글로불린 결합 도메인인, 결합 단백질.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 결합 단백질이 PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로 결합하여 이의 활성화를 억제하는 제3 결합 도메인 및, IL- β 또는 IL-1R에 특이적으로 결합하여 이의 활성을 억제하는 제4 결합 도메인을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 제1 및 상기 제3 결합 도메인이 동일한 CDR 영역을 포함하고, 상기 제2 및 상기 제4 결합 도메인이 동일한 CDR 영역을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 a) 서열번호 1의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 2의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 3의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 4의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 5의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 6의 경쇄 CDR3을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 a) 서열번호 7의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 8의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 9의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 10의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 11의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 12의 경쇄 CDR3을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 a) 서열번호 13의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 14의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 15의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 16의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 17의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 18의 경쇄 CDR3을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 9

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 (a) 서열번호 19의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 20의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 21의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 22의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 23의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 24의 경쇄 CDR3을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 10

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 (a) 서열번호 25의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 26의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 27의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 28의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 29의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 30의 경쇄 CDR3을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 11

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인은 (a) 서열번호 31의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 32의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 33의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 34의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 35의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 36의 경쇄 CDR3을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 12

제6항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 서열번호 37의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 38의 경쇄 가변 영역을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 13

제7항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 서열번호 39의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 40의 경쇄 가변 영역을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 14

제8항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 서열번호 41의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 42의 경쇄 가변 영역을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 15

제9항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 서열번호 43의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 44의 경쇄 가변 영역을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 16

제10항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 서열번호 45의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 46의 경쇄 가변 영역을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 17

제11항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 서열번호 47의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 48의 경쇄 가변 영역을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 결합 도메인이 (a) 서열번호 49의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 50의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 51의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 52의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 53의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 54의 경쇄 CDR3을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 서열번호 55의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 56의 경쇄 가변 영역을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 20

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 결합 도메인이 (a) 서열번호 62의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 63의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 64의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 65의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 66의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 67의 경쇄 CDR3을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 21

제21항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 서열번호 68의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 69의 경쇄 가변 영역을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 22

제1항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로 결합하여 이의 활성화를 억제하는 항체

결합 도메인이고, 상기 제2 결합 도메인이 인터류킨-1 수용체 유형 1(IL-1R1) 또는 인터류킨-1 수용체 유형 2(IL-1R2)의 인터류킨-1 β -결합 도메인을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 23

제22항에 있어서, (c) 면역글로불린 Fc 도메인에 연결된 (b) PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 면역글로불린의 VH 도메인에 연결된 (a) IL-1R1의 인터류킨-1 β -결합 도메인을 포함하는 제1 단백질 쇄; 및 PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 상기 면역글로불린의 VL 도메인을 포함하는 제2 단백질 쇄를 포함하는, 결합 단백질.

청구항 24

제22항에 있어서, (c) 면역글로불린 Fc 도메인에 연결된 (b) IL-1R1의 인터류킨-1 β -결합 도메인에 연결된 (a) PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 면역글로불린의 VH 도메인을 포함하는 제1 단백질 쇄; 및 PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 상기 면역글로불린의 VL 도메인을 포함하는 제2 단백질 쇄를 포함하는, 결합 단백질.

청구항 25

제22항에 있어서, 2개의 동일한 단백질 쇄를 포함하고, 여기서 각 단백질 쇄가 (c) PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이의 활성화를 억제하는 scFv 도메인에 연결된 (b) 면역글로불린 Fc 도메인에 연결된 (a) IL-1R1의 인터류킨-1 β -결합 도메인을 포함하는, 결합 단백질.

청구항 26

제22항에 있어서, (c) 면역글로불린 Fc 도메인에 연결된 (b) PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 면역글로불린의 VL 및 CL 도메인에 연결된 (a) IL-1R1의 인터류킨-1 β -결합 도메인을 포함하는 제1 단백질 쇄; 및 PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 상기 면역글로불린의 VH 및 CH1 도메인을 포함하는 제2 단백질 쇄를 포함하는, 결합 단백질.

청구항 27

제22항에 있어서, (c) 면역글로불린 Fc 도메인에 연결된 (b) IL-1R1의 인터류킨-1 β -결합 도메인에 연결된 (a) PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 면역글로불린의 V1 및 CL 도메인을 포함하는 제1 단백질 쇄; 및 PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 상기 면역글로불린의 VH 및 CH1 도메인을 포함하는 제2 단백질 쇄를 포함하는, 결합 단백질.

청구항 28

제22항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-1R1의 인터류킨-1 β -결합 도메인이 IL-1R 보조 단백질을 추가로 포함하는, 결합 단백질.

청구항 29

a) 상기 제1 결합 도메인 및 상기 제2 결합 도메인을 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터로 숙주 세포를 형질전환하는 단계; b) 상기 결합 단백질의 합성을 허용하는 조건하에서 상기 숙주 세포를 배양하는 단계; 및 c) 상기 배양물로부터 상기 결합 단백질을 회수하는 단계를 포함하는, 제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따르는 결합 단백질의 제조 방법.

청구항 30

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따르는 제1 결합 도메인 및 제2 결합 도메인을 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 31

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따르는 결합 단백질 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 32

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따르는 결합 단백질 또는 제31항에 따르는 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 대상체에 항종양제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 34

제1 단백질 쇠, 제2 단백질 쇠 및 제3 단백질 쇠를 포함하는 이중특이적 결합 단백질로서,

상기 제1 단백질 쇠가 VH, CH1, CH2 및 CH3 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하고, 또한 CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 CH2 및 CH3 도메인의 계면의 용매 노출된 루프에 제1 Fab 도메인(Fab1)을 포함하고;

상기 제2 쇠가 제2 Fab 도메인을 포함하고,

상기 제3 쇠가 제3 Fab 도메인을 포함하고;

상기 제2 쇠 Fab 도메인이 상기 제1 단백질 쇠의 VH 및 CH1 도메인과 결합하여 제1 결합 도메인을 형성하고,

상기 제3 쇠 Fab 도메인이 상기 제1 단백질의 용매 노출된 루프에서 제1 Fab 도메인과 결합하여 제2 결합 도메인을 형성하는, 이중특이적 결합 단백질.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 용매 노출된 루프가 CH2 도메인으로부터의 아미노산 서열을 포함하는, 단백질.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 용매 노출된 루프가 아미노산 서열 ISRTP(서열번호 57)를 포함하는, 단백질.

청구항 37

제34항에 있어서, 상기 용매 노출된 루프가 CH3 도메인으로부터의 아미노산 서열을 포함하는, 단백질.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 용매 노출된 루프가 아미노산 서열 SNG를 포함하는, 단백질.

청구항 39

제34항에 있어서, 상기 용매 노출된 루프가 CH2 도메인 및 CH3 도메인의 계면으로부터의 아미노산 서열을 포함하는, 단백질.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 용매 노출된 루프가 아미노산 서열 AKGQP(서열번호 58)를 포함하는, 단백질.

청구항 41

제34항에 있어서, 상기 CH1 도메인이 항체 힌지 영역을 통해 CH2 도메인에 연결되는, 단백질.

청구항 42

제34항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 및 CH3 도메인이 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgM, IgE 및 IgD로부터의 Fc 영역으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 Fc 영역을 포함하는, 단백질.

청구항 43

제34항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 단백질 쇠가 상기 제1 Fab 도메인의 제1 말단과 상기 CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 CH2 및 CH3 도메인의 계면 사이에 제1 펩티드 링커를 추가로 포함하는, 단백질.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 제1 Fab 도메인의 제2 말단과 상기 CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 CH2 및 CH3 도메인의 계면 사이에 제2 펩티드 링커를 추가로 포함하는, 단백질.

청구항 45

제43항 또는 제44항에 있어서, 상기 제1 및 제2 펩티드 링커가 (G4S)₂(서열번호 59), (G4S)₃(서열번호 60) 및 (G4S)₄(서열번호 61)로 이루어진 그룹으로부터 독립적으로 선택되는, 단백질.

청구항 46

제34항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 단백질 쇄가 N-말단에서 C-말단까지 하기 폴리펩티드 도메인을 포함하는, 단백질:

VH1-CH1-힌지-CH2(N-term)-Fab1-CH2(C-term)-CH3.

청구항 47

제34항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 단백질 쇄가 N-말단에서 C-말단까지 하기 폴리펩티드 도메인을 포함하는, 단백질:

VH1-CH1-힌지-CH2-CH3(N-term)-Fab1-CH3(C-term).

청구항 48

제34항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 단백질 쇄가 N-말단에서 C-말단까지 하기 폴리펩티드 도메인을 포함하는, 단백질:

VH1-CH1-CH2-Fab1-CH3.

청구항 49

제34항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로 결합하고, 상기 제2 결합 도메인이 IL-1 β 또는 IL-1R에 특이적으로 결합하는, 이중특이적 결합 단백질.

청구항 50

제34항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인이 IL-1 β 또는 IL-1R에 특이적으로 결합하고, 상기 제2 결합 도메인이 PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로 결합하는, 이중특이적 결합 단백질.

청구항 51

제49항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인의 CDR 영역이 서열번호 1 내지 6의 CDR 도메인: 서열번호 7 내지 12의 CDR 도메인; 서열번호 13 내지 18의 CDR 도메인; 서열번호 19 내지 24의 CDR 도메인, 서열번호 25 내지 30의 CDR 도메인; 서열번호 31 내지 36의 CDR 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 상기 제2 결합 도메인의 CDR 영역이 서열번호 49-54의 CDR 도메인인, 이중특이적 결합 단백질.

청구항 52

제50항에 있어서, 상기 제1 결합 도메인의 CDR 영역이 서열번호 49 내지 54의 CDR 도메인이고, 상기 제2 결합 도메인의 CDR 영역이 서열번호 1 내지 6의 CDR 도메인: 서열번호 7 내지 12의 CDR 도메인; 서열번호 13 내지 18의 CDR 도메인; 서열번호 19 내지 24의 CDR 도메인, 서열번호 25 내지 30의 CDR 도메인; 및 서열번호 31 내지 36의 CDR 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 이중특이적 결합 단백질.

청구항 53

제34항 내지 제52항 중 어느 한 항의 결합 단백질 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 54

a) 상기 제1, 제2 및 제3 단백질 쇄를 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터로 숙주 세포를 형질전환하는 단계; b) 상기 결합 단백질의 합성을 허용하는 조건하에서 상기 숙주 세포를 배양하는 단계; 및 c) 상기 배양물로부터 상기 결합 단백질을 회수하는 단계를 포함하는, 제34항 내지 제52항 중 어느 한 항에 따르는 결합 단백질의 제조 방법.

청구항 55

제34항 내지 제52항 중 어느 한 항에 따르는 상기 제1, 제2 및 단백질 쇄를 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 56

제34항 내지 제52항 중 어느 한 항에 따르는 결합 단백질 또는 제53항에 따르는 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 57

제56항에 있어서, 상기 대상체에게 항종양제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 58

제32항 또는 제56항에 있어서, 상기 암이 폐암(lung cancer)인, 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 폐암이 소세포 폐암(small cell lung cancer)인, 방법.

청구항 60

제59항에 있어서, 상기 소세포 폐암이 조합형 소세포 폐 암종(combined small-cell lung carcinoma)인, 방법.

청구항 61

제59항에 있어서, 상기 폐암이 비소세포 폐암(non-small cell lung cancer)인, 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 상기 비소세포 폐암이 편평 세포 폐 암종(squamous cell lung carcinoma), 대세포 폐 암종(large cell lung carcinoma), 폐 선암(lung adenocarcinoma), 폐 다형성 암종(pulmonary pleomorphic carcinoma), 폐 카르시노이드 종양(lung carcinoid tumor), 타액선 암종(salivary gland carcinoma), 또는 NOS(달리 특정되지 않은) 암종으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 63

제32항 또는 제56항에 있어서, 상기 암이 조합형 소세포 폐 암종, 폐외 소세포 암종(extrapulmonary small-cell carcinoma), 림프절에 국한된 폐외 소세포 암종, 또는 전립선의 소세포 암종(small-cell carcinoma of the prostate)인, 방법.

청구항 64

제32항 또는 제56항에 있어서, 상기 암이 미세위성 불안정성을 수반하는 암인, 방법.

청구항 65

제32항 또는 제56항에 있어서, 상기 대상체가 이전에 암 면역 요법으로 치료되었거나 상기 요법에 내성이 있는 것으로 밝혀진, 방법.

청구항 66

제32항 또는 제56항에 있어서, 상기 대상체가 이전에 암 면역 요법으로 치료되었거나 암 면역 요법에 불응적인 것으로 밝혀진, 방법.

청구항 67

제65항 또는 제66항에 있어서, 상기 암 면역 요법이 적어도 하나의 면역 체크포인트 억제제를 사용하는 치료인, 방법.

청구항 68

제32항 또는 제56항에 있어서, 상기 대상체에게 추가의 항종양 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 항종양 요법이 화학요법, 면역 요법, 생물학 또는 소분자에 의한 치료, 예방접종, 또는 세포 요법인, 방법.

청구항 70

제1항 내지 제28항 또는 제34항 내지 제52항 중 어느 한 항에 따르는 결합 단백질 또는, 제31항 또는 제53항에 따르는 조성물의 유효량을 상기 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 암의 위험이 있는 대상체에서 암의 위험을 예방 또는 감소시키는 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 암이 폐암인, 방법.

청구항 72

제70항에 있어서, 상기 대상체가 이전에 암으로 진단되었고 완화 중인, 방법.

청구항 73

제72항에 있어서, 상기 대상체가 이전에 암 치료를 받은, 방법.

청구항 74

제70항에 있어서, 상기 대상체가 환경 노출, 담배 사용 또는 노출, 유전적 돌연변이 또는 암의 가족력으로 인해 암의 위험에 처한 것으로 간주되는, 방법.

청구항 75

제1항 내지 제28항 또는 제34항 내지 제52항 중 어느 한 항에 따르는 결합 단백질의 결합 도메인을 인코딩하는 핵산 분자.

청구항 76

제32항 또는 제56항에 있어서, 상기 암이 식도암(esophageal cancer), 췌장암(pancreatic cancer), 간암 (hepatic cancer), 결장직장암(colorectal cancer), 유방암(breast cancer) 및 난소암(ovarian cancer), 또는 다발성 골수종(multiple myeloma) 또는 전암 상태(precancerous conditions)로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 암 및 다른 질환을 치료하는 데 유용한 이중특이적 결합 분자가 제공된다.

배경 기술

[0002] 면역 체크포인트 단백질은 면역계 조절인자(immune system regulator)로서 작용하며, 자가내성 메커니즘의 중요한 부분이다. 억제성 면역 체크포인트 단백질은 다음을 포함한다: 프로그래밍된 세포 사멸 단백질 1(Programmed cell death protein 1; PD-1); 프로그래밍된 세포 사멸 리간드 1(PD-L1); 아데노신 A2A 수용체(A2AR); B7-H3 (CD276); B7-H4 (VTCN1), B 및 T-림프구 감쇠기(BTLA); 세포 독성 T-림프구 관련 단백질 4(CTLA-4, CD152); 인

돌아민 2,3-디옥시게나제(IDO); 살해 세포 면역글로불린-유사 수용체(KIR); 림프구 활성화 유전자-3(LAG3); 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 포스페이트 NADPH 옥시다제 이소폼 2(NOX2); T-세포 면역글로불린 도메인 및 뮤신 도메인 3(TIM-3); T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제제(VISTA); 시알산 결합 면역글로불린 유형 렉틴 7(SIGLEC7, CD328); 및 시알산 결합 면역글로불린 유형 렉틴 9(SIGLEC9, CD329).

[0003] 프로그램된 세포 사멸 단백질 1(PD-1)은 면역 체크포인트(immune checkpoint)로 작용하는 T-세포에서 발견되는 수용체 단백질이다. PD-1 발현은 면역 관용(tolerance)의 메커니즘의 일부로서 활성화된 T-세포에서 상향조절된다. PD-1의 리간드는 프로그램된 세포 사멸 리간드 1(PD-L1)이며, PD-L1의 PD-1에 대한 결합은 림프절에서 항원 특이적 T-세포의 활성화 및 증식을 감소시키고 조절 T 세포에서 아포토시스를 감소시키는 억제 신호를 전달한다. 종양 세포는 종종 면역 감시를 피하는 메커니즘으로 PD-L1을 과발현한다. PD-1과 PD-L1 사이의 결합을 억제하는 모노클로날 항체는- 리간드 또는 수용체에 결합함으로써 단일 요법으로서 또는 다른 제제와의 조합으로 많은 암 환자의 하위 집단에서 효과적인 것으로 나타났지만, 다른 많은 암에서는 효과가 없거나 난치성이다. 펌브롤리주맵은 2014년에 FDA에 의해 최초로 승인되었고 종양 세포가 상승된 PD-L1을 발현하는 다양한 암의 치료에 사용되는 인간화 항체이다(참조: Robert et al., N Engl. J Med. 372:2521-2532 (2015)). 니블루맵은 2014년에 FDA에 의해 최초로 승인되었고 다양한 암의 치료에 사용되는 완전 인간 항체이다.

[0004] 종양 관련 대식세포(TAM)는 종양 미세환경(TME)에 다수 존재하는 면역세포의 부류이며, 암 관련 염증과 연관되어 있다. TAM 세포에서 PD-1의 발현은 종양 세포의 대식세포 식작용을 감소시키고 종양 세포에 "면역"을 제공 하는 것으로 나타났다(참조: Gordon et al., Nature 545:495 (2017)).

[0005] 인터류킨-1β(IL-1β)는 만성 및 급성 염증과 관련된 전염증성 사이토카인이며, 여러 염증 관련 질환에서 중요한 역할을 한다. IL-1β의 상승된 수준은 또한 TAM 세포와 골수 유래 억제제 세포(MDSC)를 TME에 동원하여 유방암의 종양 성장과 전이를 촉진하는 것으로 나타났다(참조: Guo et al., Sci. Rep. 6, 36107; doi: 10.1038/srep36107 (2016)). 다른 연구에서, 폐 병변은 NLRP3 인플라마솜의 활성화와 IL-1β의 방출에 의해 전종양 활성이 상향조절되는 TAM으로 점유되는 것으로 나타났다(참조: Terlizzi et al., Oncotarget 7:58181 (2016)). 마지막으로, IL-1β는 TAM 세포의 전종양 표현형을 촉진하는 것으로 나타났으며, 사이토카인의 수준은 신장 세포 암종의 종양 크기 및 병기와 관련이 있다(참조: Chittechath et al., Immunity 41:815 (2014)).

[0006] IL-1β가 결핍된 마우스에서, 종양이 발병된 동물은 적고, 종양 발병은 더 느렸다(참조: Apte, et al., European Journal of Cancer, 42:751 (2006)). 또한, 폐암 위험 유전자형 IE-1β-31TT는 IL-1β의 발현을 증가시켜 미세환경에 상승된 염증성 자극을 제공하고 폐암 위험을 증가시키는 것으로 나타났다(참조: Bhat et al., Meta Gene 2:123 (2014)). IL-1 수용체 길항제는 VEGF 및 IL-8과 같은 혈관신생 인자를 억제함으로써 전이와 종양 증식을 억제하는 것으로 나타났다(참조: Konishi et al., Oncology 68:138 (2005); Lewis et al, J. Transl. Med. 4:48 (2006)). IL-1β 활성을 억제하는 모노클로날 항체인 카나키누맵은 우발적인 폐암과 폐암 사망률을 저하시키는 것으로 나타났다(참조: Ridker et al., Lancet, 390:P 1833-1842, (2017)).

[0007] 조작된 이중특이적 모노클로날 항체는 2가지 상이한 유형의 항원에 동시에 결합할 수 있는 면역글로불린 도메인을 함유하는 비천연 단백질이다. 이중특이적 항체는 다양한 형태로 제조될 수 있으며, 예를 들어, 암 면역 요법 및 약제 전달에 사용되어 왔다. 예를 들어, 문헌(Fan et al., J. Hemat. Oncol. 8:130 (2015); Brinkmann and Kontermann, mAbs 9:182 (2017); 및 Spiess et al., Molecular Immunology, 67:95-106 (2015))을 참조한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 제공되는 것은 제1 결합 도메인 및 제2 결합 도메인을 함유할 수 있는 결합 단백질이며, 여기서 제1 결합 도메인은 면역 체크포인트 단백질에 특이적으로 결합하여 이의 활성화를 억제하고, 제2 결합 도메인은 IL-β 또는 IL-1R에 특이적으로 결합하여 이의 활성을 억제한다. 면역 체크포인트 단백질은, 예를 들어, PD-1 또는 PD-L1일 수 있다. 제1 및 제2 결합 도메인은 면역글로불린 결합 도메인, 예를 들어, 인간 면역글로불린 결합 도메인을 함유할 수 있다. 이러한 결합 단백질은 PD-1 또는 PD-L1과 같은 면역 체크포인트 단백질에 특이적으로 결합하여 이의 활성화를 억제하는 제3 결합 도메인, 및 IL-β 또는 IL-1R에 특이적으로 결합하여 이의 활성을 억제하는 제4 결합 도메인을 추가로 함유할 수 있다. 제1 및 제3 결합 도메인은 동일한 CDR 영역을 함유할 수 있고, 제2 및 제4 결합 도메인은 동일한 CDR 영역을 함유할 수 있다.

과제의 해결 수단

- [0009] 하나의 구현예에서, 이들 단백질의 제1 결합 도메인은 a) 서열번호 1의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 2의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 3의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 4의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 5의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 6의 경쇄 CDR3을 함유할 수 있다. 이 결합 도메인에서, 제1 결합 도메인은 서열번호 37의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 38의 경쇄 가변 영역을 함유할 수 있다.
- [0010] 또 다른 구현예에서, 제1 결합 도메인은 a) 서열번호 7의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 8의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 9의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 10의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 11의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 12의 경쇄 CDR3을 함유할 수 있다. 이 결합 단백질에서, 제1 결합 도메인은 서열번호 39의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 40의 경쇄 가변 영역을 함유할 수 있다.
- [0011] 추가의 구현예에서, 제1 결합 도메인은 a) 서열번호 13의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 15의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 15의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 16의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 17의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 18의 경쇄 CDR3을 함유할 수 있다. 이 결합 단백질에서, 제1 결합 도메인은 서열번호 41의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 42의 경쇄 가변 영역을 함유할 수 있다.
- [0012] 더욱 추가의 구현예에서, 제1 결합 도메인은 (a) 서열번호 19의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 20의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 21의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 22의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 23의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 24의 경쇄 CDR3을 함유할 수 있다. 이 결합 단백질에서, 제1 결합 도메인은 서열번호 43의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 44의 경쇄 가변 영역을 함유할 수 있다.
- [0013] 더욱 추가의 구현예에서, 제1 결합 도메인은 (a) 서열번호 25의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 26의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 27의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 28의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 29의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 30의 경쇄 CDR3을 함유할 수 있다. 이 결합 단백질에서, 제1 결합 도메인은 서열번호 45의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 46의 경쇄 가변 영역을 함유할 수 있다.
- [0014] 추가의 구현예에서, 제1 결합 도메인은 (a) 서열번호 31의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 32의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 33의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 34의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 35의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 36의 경쇄 CDR3을 함유할 수 있다. 이 결합 단백질에서, 제1 결합 도메인은 서열번호 47의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 48의 경쇄 가변 영역을 함유할 수 있다.
- [0015] 임의의 이들 결합 단백질에서, 제2 결합 도메인은 (a) 서열번호 49의 중쇄 CDR1; (b) 서열번호 50의 중쇄 CDR2; (c) 서열번호 51의 중쇄 CDR3; (d) 서열번호 52의 경쇄 CDR1; (e) 서열번호 53의 경쇄 CDR2; 및 (f) 서열번호 54의 경쇄 CDR3을 함유할 수 있다. 이 결합 단백질에서, 제1 결합 도메인은 서열번호 55의 중쇄 가변 영역 및 서열번호 56의 경쇄 가변 영역을 함유할 수 있다.
- [0016] 또한, 제1 결합 도메인이 PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로 결합하여 이의 활성화를 억제하는 항체 결합 도메인이고, 제2 결합 도메인이 임의로 IL-1R 보조 단백질의 리간드 결합 도메인에 결합된 인터류킨-1 수용체 유형 1(IL-1R1) 또는 인터류킨-1 수용체 유형 2(IL-1R2)로부터의 인터류킨-1 β 결합 도메인을 함유하는 결합 단백질이 제공된다. 예를 들어, 이러한 결합 단백질은 (c) 면역글로불린 Fc 도메인에 연결된 (b) PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 면역글로불린의 VH 도메인에 연결된 (a) IL-1R1의 인터류킨-1 β -결합 도메인을 함유하는 제1 단백질 쇄; 및 PD-1 또는 PD-L1에 결합하는 면역글로불린의 VL 도메인을 함유하는 제2 단백질 쇄를 함유할 수 있다. 또 다른 예에서, 결합 단백질은 (c) 면역글로불린 Fc 도메인에 연결된 (b) IL-1R1의 인터류킨-1 β -결합 도메인에 연결된 (a) PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 면역글로불린의 VH 도메인을 함유하는 제1 단백질 쇄; 및 PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 면역글로불린의 VL 도메인을 함유하는 제2 단백질 쇄를 함유할 수 있다. 또 다른 예에서, 결합 단백질은 2개의 동일한 단백질 쇄를 함유할 수 있고, 여기서 각각의 단백질 쇄는 (c) PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이의 활성화를 억제하는 scFV 도메인에 연결된 (b) 면역글로불린 Fc 도메인에 연결된 (a) IL-1R1의 인터류킨-1 β -결합 도메인을 함유한다. 추가의 예에서, 결합 단백질은 (c) 면역글로불린 Fc 도메인에 연결된 (b) PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 면역글로불린의 VL 및 CL 도메인에 연결된 (a) IL-1R1의 인터류킨-1 β -결합 도메인을 함유하는 제1 단백질 쇄; 및 PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 면역글로불린의 VH 및 CH1 도메인을 함유하는 제2 단백질 쇄를 함유할 수 있다. 또 다른 예에서, 결합 단백질은 (c) 면역글로불린 Fc 도메인에 연결된 (b) IL-1R1의 인터류킨-1 β -결합 도메인에 연결된 (a) PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 면역글로불린의 VL 및 CL 도메인을 함유하는 제1 단백질 쇄; 및 PD-1 또는 PD-L1에 결합하여 이를 억제하는 면역글로불린의 VH 및 CH1 도메인을 함유하는 제2 단백질 쇄

를 함유할 수 있다.

- [0017] 상기 기재된 단백질 쇄를 인코딩하는 핵산 분자는 이러한 핵산 분자를 함유하는 발현 벡터를 포함하는 벡터와 함께 제공된다.
- [0018] 상기한 바와 같은 결합 단백질의 제조 방법도 제공되며, 여기서 상기 방법은 a) 제1 결합 도메인 및 제2 결합 도메인을 인코딩하는 핵산 분자를 함유하는 벡터로 숙주 세포를 형질전환하는 단계; b) 결합 단백질의 합성을 허용하는 조건하에서 숙주 세포를 배양하는 단계; 및 c) 배양물로부터 결합 단백질을 회수하는 단계를 포함한다. 숙주 세포는 제1 결합 도메인 및 제2 결합 도메인을 인코딩하는 핵산 분자를 함유하는 벡터를 함유할 수 있다.
- [0019] 약제학적으로 허용되는 부형제와 함께, 상기 기재된 바와 같은 결합 단백질을 함유하는 약제학적 조성물도 제공된다.
- [0020] 제1 단백질 쇄, 제2 단백질 쇄 및 제3 단백질 쇄를 함유하는 이중특이적 결합 단백질("FAT" 결합 단백질)도 제공되며, 여기서 제1 단백질 쇄는 VH, CH1, CH2 및 CH3 도메인을 갖는 중쇄, 및 CH2 도메인, CH3 도메인 또는 CH2 및 CH3 도메인의 계면의 용매 노출된 루프에 있는 제1 Fab 도메인(Fab1)을 함유하고; 제2 쇄는 제2 Fab 도메인을 함유하고, 제3 쇄는 제3 Fab 도메인을 함유한다. 이러한 결합 단백질에서, 제2 쇄 Fab 도메인은 제1 단백질 쇄의 VH 및 CH1 도메인과 결합하여 제1 결합 도메인을 형성하고, 제3 쇄 Fab 도메인은 제1 단백질 쇄의 용매 노출된 루프에서 제1 Fab 도메인과 결합하여 제2 결합 도메인을 형성한다. 이들 결합 단백질에서, 용매 노출된 루프는 ISRTP(서열번호 57)와 같은 CH2 도메인으로부터의 아미노산 서열을 함유할 수 있다. 용매 노출된 루프는 SNG와 같은 CH3 도메인으로부터의 아미노산 서열을 함유할 수 있다. 용매 노출된 루프는 AKGQP(서열번호 58)와 같은 CH2 도메인과 CH3 도메인의 계면으로부터의 아미노산 서열을 함유할 수 있다. CH1 도메인은 항체 힌지 영역을 통해 CH2 도메인에 연결될 수 있다. CH2 및 CH3 도메인은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgM, IgE, 및 IgD로부터의 Fc 영역과 같은 Fc 영역을 함유할 수 있다. 제1 단백질 쇄는 또한 제1 Fab 도메인의 제1 말단과 CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 CH2 및 CH3 도메인의 계면 사이에 제1 펩티드 링커, 및/또는 제1 Fab 도메인의 제2 말단과 CH2 도메인, CH3 도메인 또는 CH2 및 CH3 도메인의 계면 사이에 제2 펩티드 링커를 함유할 수 있다. 제1 및 제2 펩티드 링커는, 예를 들어, (G4S)₂(서열번호 59), (G4S)₃(서열번호 60) 및 (G4S)₄(서열번호 61)일 수 있다. 제1 구현예에서, 제1 단백질 쇄는 N-말단으로부터 C-말단까지 하기 폴리펩티드 도메인을 함유할 수 있고: VH1-CH1-힌지-CH2(N-term)-Fab1-CH2(C-term)-CH3, 또는 제2 구현예에서, N-말단으로부터 C-말단까지 하기 폴리펩티드 도메인을 함유할 수 있다: VH1-CH1-힌지-CH2-CH3(N-term)-Fab1-CH3(C-term). 제3 구현예에서, 제1 단백질 쇄는 N-말단으로부터 C-말단까지 하기 폴리펩티드 도메인을 함유할 수 있다: VH1-CH1-CH2-Fab1-CH3. 제1 결합 도메인은 PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로 결합할 수 있고, 제2 결합 도메인은 IL-1β 또는 IL-1R에 특이적으로 결합할 수 있거나, 제1 결합 도메인은 IL-1β 또는 IL-1R에 특이적으로 결합할 수 있고, 제2 결합 도메인은 PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로 결합할 수 있다.
- [0021] FAT 결합 단백질의 일부 구현예에서, 제1 결합 도메인의 CDR 영역은 서열번호 1 내지 6의 CDR 도메인; 서열번호 7 내지 12의 CDR 도메인; 서열번호 13 내지 18의 CDR 도메인; 서열번호 19 내지 24의 CDR 도메인, 서열번호 25 내지 30의 CDR 도메인; 및 서열번호 31 내지 36의 CDR 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있고; 제2 결합 도메인의 CDR 영역은 서열번호 49 내지 54의 CDR 도메인일 수 있다.
- [0022] FAT 결합 단백질의 추가 구현예에서, 제1 결합 도메인의 CDR 영역은 서열번호 49 내지 54의 CDR 도메인일 수 있고, 제2 결합 도메인의 CDR 영역은 서열번호 1 내지 6의 CDR 도메인; 서열번호 7 내지 12의 CDR 도메인; 서열번호 13 내지 18의 CDR 도메인; 서열번호 19 내지 24의 CDR 도메인; 서열번호 25 내지 30의 CDR 도메인; 및 서열번호 31 내지 36의 CDR 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.
- [0023] 상기 기재된 FAT 결합 단백질 쇄를 인코딩하는 핵산 분자는 이러한 핵산 분자를 함유하는 발현 벡터를 포함하는 벡터와 함께 제공된다.
- [0024] 하나 이상의 FAT 결합 단백질 및 약제학적으로 허용되는 담체를 함유하는 약제학적 조성물도 제공된다.
- [0025] a) 제1, 제2 및 제3 단백질 쇄를 인코딩하는 핵산 분자를 함유할 수 있는 벡터로 숙주 세포를 형질전환하는 단계; b) 결합 단백질의 합성을 허용하는 조건하에서 숙주 세포를 배양하는 단계; 및 c) 배양물로부터 FAT 결합 단백질을 회수하는 단계를 포함하는 FAT 결합 단백질의 제조 방법이 제공된다. 벡터는 FAT 단백질의 제1, 제2 및 단백질 쇄를 인코딩하는 핵산 분자를 함유할 수 있다.

- [0026] 이를 필요로 하는 대상체에게 상기 기재된 바와 같은 결합 단백질 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 이러한 방법은 임의로 결합 단백질 이외에 항종양제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0027] 암을 치료하는 이들 방법에서, 대상체는 이전에 암 면역 요법으로 치료되었거나 그 치료에 내성이 있는 것으로 밝혀졌다. 대상체는 이전에 암 면역 요법으로 치료되었거나 암 면역 요법에 불응성인 것으로 밝혀졌다. 암 면역 요법은, 예를 들어, 적어도 하나의 면역 체크포인트 억제제에 의한 치료일 수 있다.
- [0028] 암을 치료하는 방법은 또한 화학요법, 면역 요법, 생물학 또는 소분자에 의한 치료, 예방접종, 및/또는 세포 요법과 같은 추가의 항종양 요법을 대상체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0029] 상기 기재된 바와 같은 결합 단백질 또는 약제학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암의 위험이 있는 대상체에서 암의 위험을 예방 또는 감소시키는 방법이 또한 제공된다. 대상체는 이전에 암으로 진단되어 완화되었거나 이전에 암 치료를 받았을 수 있다. 대상체는 환경 노출, 담배 사용 또는 노출, 유전적 돌연변이 또는 암의 가족력으로 인해 암 위험이 있는 것으로 간주될 수 있다.
- [0030] 이러한 암 치료 방법에서, 암은 폐암(lung cancer), 예를 들어, 소세포 폐암(small cell lung cancer), 조합형 소세포 폐암중(combined small-cell lung carcinoma) 및/또는 비소세포 폐암(non-small cell lung cancer)일 수 있다. 비소세포 폐암은, 예를 들어, 편평 세포 폐암중(squamous cell lung carcinoma), 대세포 폐암중(large cell lung carcinoma), 폐 선암(lung adenocarcinoma), 폐 다형성 암중(pulmonary pleomorphic carcinoma), 폐 카르시노이드 종양(lung carcinoid tumor), 타액선 암중(salivary gland carcinoma), 또는 NOS(달리 특정되지 않은) 암중일 수 있다. 암은 조합형 소세포 폐암중, 폐외 소세포 암중, 림프절에 국한된 폐외 소세포 암중 또는 전립선의 소세포 암중일 수 있거나 미세위성 불안정성을 수반하는 암일 수 있다.
- [0031] 본 개시내용의 다른 목적, 특징 및 이점은 이하의 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 그러나, 본 개시내용의 취지 및 범위 내에서 다양한 변화 및 변형이 본 상세한 설명으로부터 당업자에게 명백해질 것이므로, 상세한 설명 및 특정 예는 단지 예시로서 제공되는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0032] 도 1은 BiS2 이중특이적 항체(bispecific antibody)의쇄 구조를 도시한다.
- 도 2a는 BiS3 이중특이적 항체의쇄 구조를 도시한다.
- 도 2b는 (a) IL-1R1 및 IL-1R 보조 단백질로부터 유래된 IL-1 β 결합 도메인 및 (b) 항체 결합 도메인을 함유하는 결합 분자의쇄 구조를 도시한다.
- 도 3a는 FIT-Ig 이중특이적 항체의쇄 구조를 도시한다.
- 도 3b-3e는 (a) IL-1R1 및 IL-1R 보조 단백질로부터 유래된 IL-1 β 결합 도메인 및 (b) 항체 결합 도메인을 함유하는 4개의 결합 분자의쇄 구조를 도시한다.
- 도 4는 FAT-Ig 이중특이적 항체의쇄 구조를 도시한다.
- 도 5는 IL-1 β 와 PD-1에 결합하는 이중특이적 항체의 아미노산 서열을 도시한다.
- 도 6a 및 6b는 IL-1 β , IL-1R, PD-1 또는 PD-L1에 결합하는 공지된 항체 및 결합 분자의 표를 도시한다.
- 도 7은 유세포 계측법에 의해 검출된 바와 같이, 다중 투여 샌드위치 검정에서 동시에 세포막 결합 PD-1 및 가용성 IL-1 β 에 대한 이중특이적 항체의 결합을 도시한다. ITA 시리즈의 이중특이적 항체의 가변 결합 친화도가 입증되었으며, 모든 결합 친화도는 대조군 인간 IgG보다 실질적으로 더 높다.
- 도 8은 유세포 계측법에 의해 검출된 바와 같이, 다중 투여 샌드위치 검정에서 동시에 세포막 결합 PD-1 및 가용성 IL-1 β 에 대한 이중특이적 항체의 결합을 도시한다. ITC, ITD 및 ITE 시리즈의 이중특이적 항체의 가변 결합 친화도가 입증되었으며, 모든 결합 친화도는 대조군 인간 IgG보다 실질적으로 더 높다.
- 도 9a-c는 유세포 계측법에 의해 검출된 바와 같이, 다중 투여 샌드위치 검정에서 세포막 결합 PD-1에 대한 이중특이적 항체의 결합을 도시한다. ITB 및 ITF 시리즈의 이중특이적 항체의 가변 결합 친화도가 입증되었으며, 모든 결합 친화도는 대조군 인간 IgG보다 실질적으로 더 높다.
- 도 10은 유세포 계측법에 의해 검출된 바와 같이, 다중 투여 샌드위치 검정에서 동시에 세포막 결합 PD-1 및 가

용성 IL-1 β 에 대한 이중특이적 항체의 결합을 도시한다. ITB 및 ITF 시리즈의 이중특이적 항체의 가변 결합 친화도가 입증되어 있다. 모든 결합 친화도는 대조군 인간 IgG보다 실질적으로 더 높다.

도 11은 이중특이적 항체가 PD-1/PD-L1 리포터 검정에서 PD-1 활성을 차단한다는 것을 도시한다. 가변 차단 활성은 ITA 시리즈의 이중특이적 항체에 대해 입증되었다. 모든 차단 활성은 대조군 인간 IgG보다 실질적으로 더 높다.

도 12a 및 12b는 이중특이적 항체가 IL-1 β 기능 검정에서 IL-1 β 활성을 차단한다는 것을 도시한다. ITA 시리즈의 이중특이적 항체의 가변 차단 활성이 입증되어 있다. 모든 차단 활성은 대조군 인간 IgG보다 실질적으로 더 높다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033]

상세한 설명

[0034]

면역 체크포인트 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 제1 결합 도메인 및 IL-1 β 에 결합하는 적어도 하나의 제2 결합 단백질을 함유하는 이중특이적 결합 단백질이 제공된다. 면역 체크포인트 단백질은, 예를 들어 PD-1, PD-L1, A2AR, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), BTLA, CTLA-4(CD152), IDO, KIR, LAG3, NOX2, TIM-3, VISTA, SIGLEC7, (CD328) 또는 SIGLEC9 (CD329)일 수 있다. 유리하게도, 체크포인트 단백질은 PD-1 또는 PD-L1이다.

[0035]

결합 단백질은 체크포인트 단백질 PD-1 또는 PD-L1 및 IL-1 β 또는 IL-1R에 동시에 결합하여 CD8T-세포 상의 PD-1 및 종양 세포와 같은 표적 세포 상의 PD-L1 사이의 결합 및 IL-1 β 활성을 억제한다. 이 방식으로 IL-1 β 활성 및 PD-1/PD-L1 결합의 동시 억제는 암 치료의 개선된 방법을 제공한다. 제1 및 제2 결합 도메인은 유리하게는 인간 항체 가변 도메인이다. 체크포인트 단백질 및 IL-1 β 와 같은 사이토카인을 포함하지만 이에 제한되지 않는 2개의 항원의 특이적 결합을 가능하게 하는 신규한 이중특이적 결합 단백질 포맷이 또한 제공된다. 암과 같은 질환을 치료하기 위해 이중특이적 결합 단백질을 사용하는 방법이 또한 제공된다.

[0036]

결합 도메인

[0037]

본원에 기재된 결합 단백질에 사용될 수 있는 결합 도메인은 표적 단백질에 특이적으로 결합하는 임의의 포맷일 수 있다. 예를 들어, IL-1 β 에 결합하기 위해, 락토나선프에서와 같이, 임의로 IL-1 수용체 보조 단백질로부터의 서열에 융합된 인터튜킨 유형 I 또는 유형 II 수용체의 리간드 결합 도메인이 사용될 수 있다. 그러나, 유리하게는, 결합 도메인은 인간 면역글로불린 분자의 가변 도메인으로부터 유래된다. 구체적으로, 결합 도메인은 체크포인트 단백질에 결합하는 항체 및 IL-1 β 또는 IL-1R에 결합하는 항체로부터 유래될 수 있다. 미리 선택된 항원에 결합하는 완전 인간 항체를 제조하는 방법은 당업계에 익히 공지되어 있다. 예를 들어, 인간 항체는 섬유상 파지 상에 표시된 항체의 큰 라이브러리로부터 선택될 수 있고, 선택된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역은 익히 공지된 방법에 의해 식별된다. 예를 들어, 문헌(Winter et al., Annual Review of Immunology 12:433-455 (1994))을 참조한다. 이어서, 이러한 가변 영역을 인코딩하는 핵산은 본원에 기재된 이중특이적 결합 단백질을 인코딩하는 유전자를 작제하는데 사용된다. 대안적으로, 공지된 항체로부터의 항체 가변 도메인이 사용될 수 있다. 특히, 인간 항체 IL-1 β , PD-1 및 PD-L1은 인간의 다양한 질환 상태를 치료하는 데 사용이 승인되었으며, 이들 항체의 가변 영역을 사용하여 본원에 기재된 이중특이적 결합 단백질을 작제할 수 있다. 적합한 항체의 예는 하기 표 1 및 6에 제시되어 있다.

[0038]

대안적으로, IL-1 β , IL-1R, PD-1 또는 PD-L1에 대한 공지된 특이성을 갖는 항체로부터의 CDR 영역은 당업계에 익히 공지된 CDR 이식 방법을 사용하여 공지된 인간 프레임워크(framework) 영역에 삽입될 수 있다. 예를 들어, 문헌(Williams and Matthews, "Humanising Antibodies by CDR Grafting" in Antibody Engineering (Kontermann and Dubel, Eds.) pp 319-339 (Springer, 2010))을 참조한다. 이들 CDR 영역은 도 1에 도시된 CDR 영역 또는 표 6에 기재된 항체의 CDR 영역으로부터 유래될 수 있다. 당업자는 IL-1 β , IL-1R, PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로 결합하는 다른 항체가 본원에 기재된 것들 이외에 존재하며, 이들 항체의 CDR 영역이 본원에 기재된 바와 같은 결합 단백질을 작제하는 데 사용될 수 있음을 인식할 것이다.

[0039]

IL-1 β 와 관련하여, 카나키누맵은 IL-1 β 에 결합하는 FDA 승인된 인간 항체이며, 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은 익히 공지되어 있다. 문헌(Rondeau et al., MAbs 7:1151 (2015))을 참조한다. 카나키누맵의 전체 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 사용하여 본원에 기재된 이중특이적 단백질 단백질을 작제할 수 있고; 대안적으로, 카나키누맵의 CDR 영역은 당업계에 익히 공지된 CDR 이식 방법을 사용하여 대안적 인간 가변 프레임워크 서

열에 삽입될 수 있다. 예를 들어, 문헌(Winter and Harris, Trends in Pharmacological Sciences 14:139-143 (1993))을 참조한다. 대안적인 IL-1 β 결합 항체는 W01995/01997에 기재된 인간화 SK48-E26 항체이다.

[0040] IL-1R과 관련하여, 아나킨라(anakinra)는 FDA 승인된 제조합 비글리코실화된 형태의 인간 인터류킨-1 수용체 길 항체(IL-1Ra)이다. 네이티브 인간 IL-1Ra와 비교하여, 아나킨라는 여분의 N-말단 메티오닌 잔기를 함유한다. 아나킨라는 IL-1 α 및 IL-1 β 의 IL-1 수용체 유형 1에 대한 결합을 경쟁적으로 억제한다. 이 IL-1R1 결합 도메인은 IL-1 β 의 IL-1 수용체에 대한 결합을 차단하는 이종특이적 단백질의 작체에 사용될 수 있다. 적절한 결합 도메인으로 사용될 수 있는 아나킨라의 IL-1R1 결합 부분의 서열은 다음과 같다:

[0041] MRPSGRKSSKMQAFRIWVDVNQKTFYLRNNQLVAGYLQGPNVNLEEKIDVVPIEPHALFLGIH
GGKMCLSCVKSGDETRLQLEAVNITDLSENRKQDKRFASFIRSDSGPTTSFESAACPGWFLCTAMEADQP
VSLTNMPDEGVMVTKFYFQEDE (서열번호 72)

[0042] PD-1과 관련하여, 펌브롤리주맵은 2014년에 FDA에 의해 최초로 승인되었고, 종양 세포가 상승된 PD-1을 발현하는 다양한 암의 치료에 사용되는 인간화 항체이다. 니블루맵은 2014년에 FDA에 의해 최초로 승인되었고, 또한 다양한 암 치료에 사용되는 완전 인간 항체이다. 세미플리맵은 전이성 피부 편평 세포 암종(metastatic cutaneous squamous cell carcinoma) 치료용으로 2018년에 최초로 승인된 인간 항체이다. 펌브롤리주맵, 니블루맵 및 세미플리맵의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 아미노산 서열은 CDR 영역의 서열과 유사하게 공지되어 있다.

[0043] PD-L1과 관련하여, 두르발루맵은 전이성 요로 상피암(metastatic urothelial cancer) 치료용으로 2017년에 최초로 승인된 인간 항체이다. 아테졸리주맵은 2016년에 최초로 승인되었으며 폐암 치료용으로 사용된다. 두르발루맵 및 아테졸리주맵의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 아미노산 서열은 CDR 영역의 서열과 유사하게 공지되어 있다.

[0044] 펌브롤리주맵, 니블루맵, 세미플리맵, 아테졸리주맵, 아벨루맵, 두르발루맵 및 카나키누맵의 가변 도메인 및 CDR 영역의 서열은 하기 표 1에 제시되어 있다. IL-1 β , PD-1, PD-L1에 대한 다른 공지된 항체의 목록은 도 6에 도시되어 있다.

[0045] [표 1]

항체	도메인	서열	서열번호
펌브롤리주맵	VH CDR1	NYMY	1
	VH CDR2	GINPSNGGTNFNEKFKN	2
	VH CDR3	RDYRFDMGFDY	3
	VL CDR1	RASKGVSTSGYSYLH	4
	VL CDR2	LASYL	5

[0046]

항체	도메인	서열	서열번호
	VL CDR3	QHSRDLPLT	6
	VH	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVCKASGYFTFTNYYM YWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKN RVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDY RFDMGFDYWGQGTVTVSS	37
	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYL HWYQQKPGQAPRLLIYLAAYLESQVDFRFGSGSGS TDFLTITSSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGKVE IK	38
니볼루맙	VH CDR1	NSGMH	7
	VH CDR2	VIWYDGSKRYADSVKG	8
	VH CDR3	NDDY	9
	VL CDR1	RASQSVSSYLA	10
	VL CDR2	DASNRAT	11
	VL CDR3	QQSSNWPRT	12
	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGM HWVRQAPGKGLEWVAVIWIYDGSKRYADSVKGR FTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDY WGQGTLLTVSS	39
	VL	s	40
세미플리맙	VH CDR1	GFTFSNFG	13
	VH CDR2	ISGGGRDT	14
	VH CDR3	VKWGNIYFDY	15
	VL CDR1	LSINTF	16
	VL CDR2	AAS	17
	VL CDR3	QQSSNTPFT	18
	VH	EVQLLESGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGMT WVRQAPGKGLEWVSGISGGGRDTYFADSVKGRF TISRDNKNTLYLQMNSLKGEDTAVYYCVKWGNIY FDYWGQGTLLTVSS	41
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDSTITCRASLSINTFLNWF QQKPGKAPNLLIYAASSLHGGVPSRFSGSGSTDF TLTIRTLQPEDFATYYCQQSSNTPFTFGPGTVVDFR	42
SK48-E26	VH CDR1	SYDMS	62
	VH CDR2	YISSGGGGTYYPDTVKG	63
	VH CDR3	GGVRRGYFDV	64
	VL CDR1	RASGNIHNYLT	65
	VL CDR2	NAKTLAD	66
	VL CDR3	QHFWSIPYT	67
	VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSGFISSYDMS WVRQAPGKGLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFT ISRDNKNTLFLQMDSLPEDTGVYFCARGGVRRG YFDVWGQGTPTVSS	68

[0047]

항체	도메인	서열	서열번호
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHNYLTW YQQTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTD YFTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYTFGQGTKLQIT	69
아테졸리주맙	VH CDR1	GFTFSDSWIH	19
	VH CDR2	AWISPYGGST	20
	VH CDR3	RHWPGGFDY	21
	VL CDR1	RASQDVSTAVA	22
	VL CDR2	SASFLYS	23
	VL CDR3	QQYLYHPAT	24
	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIH WVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWP GGFDYWGQGLTVTVSS	43
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVA WYQQKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVE IK	44
아벨루맙	VH CDR1	SYIM	25
	VH CDR2	SIYPSGGITFYADTVKG	26
	VH CDR3	IKLGTVTTVDY	27
	VL CDR1	TGTSSDVGGYNYVS	28
	VL CDR2	DVSNRPS	29
	VL CDR3	SSYSSSTRV	30
	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMM WVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVT TVDYWGQGLTVTVSS	45
	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIDVSNRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDAADYYCQSSYSSSTRVFGTGK VTVL	46
두르발루맙	VH CDR1	RYWMS	31
	VH CDR2	NIKQDGSEKYYVDSVKG	32
	VH CDR3	EGGWFGELAFDY	33
	VL CDR1	RASQRVSSSYLA	34
	VL CDR2	DASSRAT	35
	VL CDR3	QQYGSLPWT	36
	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWM SWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKG FTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGG WFGELAFDYWGQGLTVTVSS	47
	VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGTKVEIK	48

[0048]

항체	도메인	서열	서열번호
카나키누맙	VH CDR1	VYGMN	49
	VH CDR2	IIWYDGDNQYADSVKG	50
	VH CDR3	DLRTGP	51
	VL CDR1	RASQSIGSSLH	52
	VL CDR2	ASQSFS	53
	VL CDR3	HQSSSLP	54
	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGM NWVRQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLR TGFDFYWGQGLTVTVSS	55
	VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWY QQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDF LTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVDIK	56

[0049]

[0050] IL-1 수용체 유형은 다음 서열을 갖는 결합 도메인을 갖는다:

KCKEREKIIILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKGITWYKDDSKTPVSTEQASRIHQHKEKLVFVPAK
VEDSGHYCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPNLCYNAQAIFKQKLPVAGDGGLVCPYMEFFKNENNELPKL
QWYKDCKPLLLDNIHFSGVKDRILIVMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVIVS
PANETMEVDLGSQIQLICNVGTGQLSDIAYWKWNGSVIDEDDPVLGEDYYSVENPANKRRSTLITVLNISEI
ESRFYKHPFTCFANKTHGIDAAYIQLIYPVTN (서열번호 70)

[0051]

[0052] 띠로나셉트는 면역글로불린 융합 단백질이며, 여기서 결합 도메인은 유형 I IL-1 수용체에 융합된 IL-1 수용체 보조 단백질(IL-1RAP)을 함유한다. 적절한 결합 도메인으로 사용될 수 있는 띠로나셉트의 IL-1 결합 부분의 서열은 다음과 같다:

SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLEHFLKFNYSTAHSAGLTLIYWYTRQDRDLLEPIN
FRLPENRISKEKDVLFWRPTLLNDTGNVTCMLRNTTYCSKVAFFLEVVQKDSFCNSPMKLPVHKLYIEYGI
QRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMGYKIQNFNNVIPEGMNLSFLIALISNNGNYTCVVYTPENGRTFHLT
RTLTVKVVGSPKNAVPPVHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVT
INESISHSRTEDETRTQILSIKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVQKVPAPRYTVEKCKEREKIIILV
SSANEIDVRPCPLNPNEHKGITWYKDDSKTPVSTEQASRIHQHKEKLVFVPAKVEDSGHYCVVRNSSY
CLRIKISAKFVENEPNLCYNAQAIFKQKLPVAGDGGLVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKDCKPLLLDNIHF
SGVKDRILIVMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVIVSPANETMEVDLGSQIQL
ICNVGTGQLSDIAYWKWNGSVIDEDDPVLGEDYYSVENPANKRRSTLITVLNISEIESRFYKHPFTCFANKTH
GIDAAYIQLIYPVTN (서열번호 71)

[0053]

[0054] 이종특이적 결합 단백질 구조

[0055] 적절한 결합 도메인이 선택되면, 그들은 IL-1 β 또는 IL-1R에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 결합 도메인 및 체크포인트 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 도메인을 함유하는 포맷으로 통합된다. 유리하게는, 결합 단백질의 포맷은 2가이지만 단일특이적 인간 항체의 천연 동종이량체 구조와는 대조적으로, 2개의 상이한 결합 도메인을 함유하도록 배치된 면역글로불린 가변 및 불변 쇠 도메인을 함유하는 2가 또는 다가 이종특이적 항체의 포맷이다.

[0056] 이종특이적 항체를 제조하는 방법은 당업계에 익히 공지되어 있으며, 예를 들어, 문헌(참조: Brinkmann and Kontermann, mAbs 9:182 (2017) 및 Spiess et al., Molecular Immunology, 67:95-106 (2015))에 기재되어 있다. 본원에 기재된 이종특이적 결합 단백질은 안정하고 대상체에게 투여하기에 적합하며, IL-1 β 또는 IL-1R에 결합하는 적어도 하나의 결합 도메인 및 체크포인트 단백질에 결합하는 적어도 하나의 결합 도메인을 함유하는 당업계에 공지된 임의의 포맷일 수 있다.

[0057] 당업계에 공지된 적합한 이종특이적 결합 단백질 포맷의 예는 다음을 포함한다:

[0058] 다음을 포함하는 Fc가 없는 이종특이적 항체 포맷: 링커에 의해 결합된 2개의 scFv 분자(Kontermann, Acta Pharmacol Sin 26:1-9 (2005)); 이종특이적 단일 도메인 항체 융합 단백질(Weidle et al., Cancer Genomics Proteomics 10:155-68 (2013);) 및 디아바디(Atwell et al., Mol Immunol 33:1301-12 (1996)); Fab 융합 단백질(Schoonjans et al., J Immunol; 165:7050-7 (2000); 및 미니 항체(Pluckthun and Pack, Immunotechnology 3:83-105 (1997) 및 Muller et al., FEBS Lett 432:45 49 (1998));

[0059] 2개의 상이한 항체로부터의 중쇄 및 경쇄를 갖는 비대칭 IgG(Suresh et al, Methods Enzymol; 121:210-28 (1986));

[0060] 비대칭 Fc 영역을 갖는 이종특이적 IgG, 예를 들어, "노브 인투 홀" 방법을 사용하는 비대칭 Fc 영역(Ridgway et al., Protein Eng; 9:617-21 (1996); Shatz et al., MAb; 5:872-81 (2013)); Sampei et al., PLoS One; 8:e57479 (2013); Spiess et al., Biotechnol; 31:753-8 (2013); Juntilla et al., Cancer Res. 74:5561-71 (2014); 및 Sun et al., J Clin Invest.125):4077-4090 (2015)).

[0061] 당업자는 상기 기재된 특정 포맷 이외에, 다수의 이종특이적 항체 포맷을 사용하여 IL-1 β 또는 IL-1R 및 체크포인트 단백질에 결합하는 이종특이적 항체를 작제할 수 있음을 인식할 것이다. 유리하게는, 이종특이적 항체는 이하 더욱 상세히 기재되는 바와 같은 2+2 scFv 기반 구조 또는 2+2 Fab 기반 구조 중 하나이다.

[0062] 2+2 scFv 기반 구조

- [0063] 처음 2+2 scFv 기반 구조는 도 1에 도시된 구조이며, 본원에서 BiS2로서 지칭된다. 도 1에 도시된 바와 같이, BiS2 포맷은 두 개의 단백질 쇄를 함유한다:
- [0064] (1) (N-말단에서 C-말단까지) 다음을 함유하는 중쇄: 제1 VH 도메인 및 제1 VL 도메인(배열된 VH-VL 또는 VL-VH, 즉 도메인은 임의의 순서일 수 있다)을 함유하는 단일 쇄 Fv, 여기서 scFv는 제1 표적(각각 IL-1 β , IL-1R, 또는 체크포인트 단백질); 제2 VH 도메인; 및 CH1, CH2 및 CH3 도메인에 결합하고,
- [0065] (2) (N-말단에서 C-말단까지) 다음을 함유하는 경쇄: 제2 VL 도메인 및 CL 도메인.
- [0066] BiS2 단백질은 CH3 및 CH2 도메인의 비공유 동종이량체 결합, 및 중쇄 상의 CH1 및 CL 도메인과 경쇄 상의 제2 VH 및 VL 도메인 사이의 이종이량체 결합을 통해 조립된다. CH1 및 CL 도메인과 VH 및 VL 도메인 사이의 결합은 제2 표적(각각 체크포인트 단백질 또는 IL-1 β /IL-1R)에 결합하는 Fab 도메인을 형성한다. 유리하게는, 디설파이드 결합은 또한 천연 IgG 분자에서 발견되는 것과 동일한 방식으로 힌지 영역 사이 및 CH1 도메인과 CL 도메인 사이에서 형성된다.
- [0067] 제2의 2+2 sc Fv 기반 구조는 도 2a에 도시된 구조이며, 본원에서 BiS3으로 지칭된다. 도 2a에 도시된 바와 같이, BiS3 포맷도 두 개의 단백질 쇄를 함유한다:
- [0068] (1) (N-말단에서 C-말단까지) 다음을 함유하는 중쇄: 제1 VH 도메인; CH1, CH2 및 CH3 도메인; 및 제2 VH 도메인과 제2 VL 도메인(여기서, VH 및 VL 도메인은 임의의 순서일 수 있다)을 함유하는 단일 쇄 Fv, 여기서 scFv는 제1 표적(각각, IL-1 β 또는 체크포인트 단백질)에 결합하고;
- [0069] (2) (N-말단에서 C-말단까지) 다음을 함유하는 경쇄: 제2 VL 도메인 및 CL 도메인.
- [0070] BiS3 단백질은 또한 CH3 및 CH2 도메인의 동종이량체 결합, 및 중쇄 상의 CH1 및 CL 도메인과 경쇄 상의 제2 VH 및 VL 도메인 사이의 이종이량체 결합을 통해 조립된다. CH1 및 CL 도메인과 VH 및 VL 도메인 사이의 결합은 제2 표적(각각 체크포인트 단백질 또는 IL-1 β /IL-1R)에 결합하는 Fab 도메인을 형성한다. 유리하게는, 디설파이드 결합은 또한 천연 IgG 분자에서 발견되는 것과 동일한 방식으로 CH2 도메인 사이 및 CH1 및 CL 도메인 사이에서 형성된다.
- [0071] 대안적인 결합 단백질 구조는 도 2b에 도시된 동종이량체 구조이며, 여기서 중쇄 VH 및 CH1 도메인은 인터류킨-1 수용체의 세포의 리간드 결합 도메인으로부터 유래된 결합 도메인으로 대체된다. 이 결합 도메인은 임의로 인터류킨-1 보조 단백질(IL-1RAcP)의 세포의 단백질 결합 도메인에 접합된 유형 1 또는 유형 2 IL-1R의 세포외 결합 도메인의 전부 또는 일부를 함유한다. IL-1RAcP는 기능적 IL-1 수용체의 수용체 서브유닛이며, IL-1RI와 수용체 이종이량체를 형성한다. 도 2b에 도시된 구조에서, 결합 단백질은 CH3 및 CH2 도메인의 비공유 동종이량체 결합을 통해 조립된다. 유리하게는, 디설파이드 결합은 또한 천연 IgG 분자에서 발견되는 것과 동일한 방식으로 CH2 도메인 사이 및 힌지 도메인 사이에서 형성된다.
- [0072] 2+2 Fab 기반 구조
- [0073] 처음 2+2 Fab 기반 구조는 도 3a에 도시된 구조이며, 본원에서 FIT-Ig로서 지칭된다(참조: Gong et al., MABS, 2017, 9:1118-1128(2017)). 도 3a에 도시된 바와 같이, FIT-Ig 포맷은 세 가지 단백질 쇄를 포함한다:
- [0074] (1) (N-말단에서 C-말단까지) 다음을 함유하는 중쇄: 제1 VL 도메인; 제1 CL 도메인, 제1 VH 도메인, 제1 CH1 도메인, 및 CH2 및 CH3 도메인;
- [0075] (2) (N-말단에서 C-말단까지) 다음을 함유하는 경쇄: 제2 VL 도메인 및 제2 CL 도메인; 및
- [0076] (3) (N-말단에서 C-말단까지) 다음을 함유하는 Fd 쇄: 제2 VH 도메인 및 제2 CH1 도메인.
- [0077] 중쇄에서, 제1 CL 도메인은, 예를 들어, 서열(GGGGS) $_x$ (여기서, x 는 1 내지 5이다)를 갖는 가요성 친수성 링커와 같은 펩티드 링커를 통해 제1 VH 도메인에 연결될 수 있다. 그러나, 유리하게는, 링커는 존재하지 않는다.
- [0078] FIT-Ig 단백질은 다음을 통해 조립된다: CH3 및 CH2 도메인의 비공유 동종이량체 결합; 중쇄 상의 제1 VH 및 CH1 도메인과 경쇄 상의 제2 VL 및 CL 도메인 사이의 이종이량체 결합; 및 Fd 쇄 상의 제1 VL 및 CL 도메인과 제2 VH 및 CH1 도메인 사이의 이종이량체 결합. 2개의 동일한 Fab 결합 도메인은 중쇄의 경쇄에 대한 결합에 의해 형성되며, 2개의 별개이지만 동일한 Fab 도메인은 도 3에 도시된 바와 같이, 중쇄의 Fd 쇄에 대한 결합에 의해 형성된다. 유리하게는, 디설파이드 결합은 또한 천연 IgG 분자에서 발견되는 것과 동일한 방식으로 CH2 도메인 사이 및 힌지 도메인 사이에서 형성된다.

- [0079] 대안적인 2+2 결합 단백질은 도 3b-3e에 도시되어 있고, 여기서, 항체 Fab 결합 도메인 중 하나는 인터류킨-1 수용체의 세포의 리간드 결합 도메인으로부터 유래된 결합 도메인으로 대체된다. 이 결합 도메인은 임의로, 인터류킨-1 보조 단백질(IL-1RAcP)의 세포의 단백질 결합 도메인에 접합된 유형 1 또는 유형 2 IL-1R의 세포의 결합 도메인의 전부 또는 일부를 함유한다. IL-1RAcP는 기능적 IL-1 수용체의 수용체 서브유닛이며, IL-1RI와 수용체 이중이량체를 형성한다. 도 3b-e에 도시된 구조에서, 결합 단백질은 CH3 및 CH2 도메인의 비공유 동종이량체 결합; 한 쇠 상의 VH 및 CH1 도메인과 제2 단백질 쇠 상의 VL 및 CL 도메인 사이의 이중이량체 결합을 통해 조립된다. 유리하게는, 디설파이드 결합은 또한 천연 IgG 분자에서 발견되는 것과 동일한 방식으로 CH1 및 CL 도메인 사이, CH2 도메인 사이, 및 힌지 도메인 사이에서 형성된다.
- [0080] 제2의 2+2 Fab 기반 구조는 도 4에 도시된 새로운 구조이며, 본원에서 FAT-Ig로서 지칭된다. 도 4에 도시된 바와 같이, FAT-Ig 포맷은 3개의 단백질 쇠를 함유한다:
- [0081] (1) (N-말단에서 C-말단까지) 다음을 함유하는 중쇄: 제1 VH 도메인; 제1 CH1 도메인, 및 CH2 및 CH3 도메인; 플러스 제1 VL 및 제1 CL 도메인; 여기서, 제1 VL 및 제1 CL 도메인은 CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 CH2 및 CH3 도메인의 계면의 용매 노출된 루프에 배치된다. 유리하게는, 제1 CL 및 제1 CL 도메인은 CH3 도메인의 용매 노출된 루프에 배치된다.
- [0082] (2) (N-말단에서 C-말단까지) 다음을 함유하는 경쇄: 제2 VL 도메인 및 제2 CL 도메인; 및
- [0083] (3) (N-말단에서 C-말단까지) 다음을 함유하는 Fd 쇠: 제2 VH 도메인 및 제2 CH1 도메인.
- [0084] 중쇄에서, 용매 노출된 루프에 배치된 제1 VL 및 CL은 가요성 펩티드 링커를 통해 CH2 도메인, CH3 도메인 또는 CH2 및 CH3 도메인의 계면에 연결된다. 링커는 4 내지 25개의 아미노산을 가질 수 있고, 유리하게는 (GGGG)_x 단위를 포함하며, 여기서 x= 1 내지 5이다. 이하에서 더 상세히 기재된 바와 같이, 다른 링커가 또한 사용될 수 있다.
- [0085] FAT-Ig 단백질은 다음을 통해 도 4에 도시된 바와 같이 조립된다: CH3 및 CH2 도메인의 비공유 동종이량체 결합; 중쇄 CH1 및 VH 도메인과 경쇄 CL 및 VL 도메인의 이중이량체 결합; 및 중쇄 CL 및 VL 도메인과 Fd 쇠 CH1 및 VH 도메인의 이중이량체 결합. 도 4에 도시된 바와 같이, 2개의 동일한 Fab 결합 도메인은 중쇄의 경쇄에의 결합으로 형성되고, 두 개의 별개이지만 동일한 Fab 도메인은 중쇄의 Fd 쇠에의 결합에 의해 형성된다. 유리하게는, 디설파이드 결합은 또한 천연 IgG 분자에서 발견되는 것과 동일한 방식으로 힌지 도메인 사이 및 CH1 및 CL 도메인 사이에서 형성된다. 당업자는 새로운 FAT-Ig 항체 포맷을 사용하여 임의의 2개의 목적하는 항원에 결합할 수 있고, IL-1β/IL-1R 및 체크포인트 단백질에 제한되지 않는다는 것을 인식할 것이다.
- [0086] 상기 기재된 4개의 특이적 결합 단백질 각각에서, IL-1β/IL-1R 및 체크포인트 단백질에 특이적으로 결합하는 결합 도메인은 결합 단백질 내에 비대칭적으로 배치된다, 즉 결합 단백질의 구조는, 제1 결합 도메인이 체크포인트 단백질에 결합하고 제2 결합 도메인이 IL-1β/IL-1R에 결합할 때와 비교하여, 제1 결합 도메인이 IL-1β/IL-1R에 결합하고 제2 결합 도메인이 체크포인트 단백질에 결합할 때 상이하다. 따라서, 4개의 특이적 결합 단백질 각각은 결합 도메인의 임의의 주어진 쌍에 대해 2개의 대안적인 형태로 존재할 수 있다.
- [0087] 폴리펩티드 링커
- [0088] 본원에 기재된 이중특이적 결합 단백질의 도메인은 링커를 사용하여 인접한 단백질 쇠에 결합될 수 있다. 링커는, 예를 들어, scFv의 가변 중쇄 및 경쇄를 연결하거나, CL/VL 도메인을 FAT-Ig 포맷으로 중쇄 불변 도메인에 연결하는 데 사용될 수 있다.
- [0089] 적합한 링커는 당업계에 익히 공지되어 있으며, 존재하는 경우, 유리하게는 적어도 4개의 아미노산을 함유하지만, 더 길거나 더 짧은 링커가 또한 사용될 수 있다. 링커는 유리하게는 가요성이고 친수성이며, 그 자체의 2차 구조를 거의 또는 전혀 갖지 않는다. 링커는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 약 50개 잔기의 길이일 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이 이중특이적 단백질의 부분을 상호연결하기 위해 다수의 링커가 사용되는 경우, 링커는 동일할 수 있거나 상이한 길이 및/또는 아미노산 서열을 갖는다..
- [0090] 링커(들)는 목적하는 이중특이적 결합 단백질 구조의 형성을 촉진한다. 링커는 (Gly-Ser)_x 단위를 함유할 수 있고, 여기서 x = 1-5이다. 필요한 경우, 글루탐산 또는 리신 잔기를 또한 링커 서열에 배치하여 용해도를 증가시킬 수 있다. 링커의 길이는 단백질 폴딩, 표적 결합 및/또는 발현을 용이하게 하기 위해 변경될 수 있다.

예를 들어, (Gly-Ser)_x 단위의 상이한 배수를 사용하여 당업계에 익히 공지된 방법을 사용하여 단백질 폴딩, 표적 결합 및/또는 발현을 개선 또는 최적화할 수 있다.

[0091] 이종특이적 결합 단백질의 제조

[0092] Fc가 없는 이종특이적 항체, 2개의 상이한 항체로부터의 중쇄 및 경쇄를 갖는 비대칭 IgG, 및 비대칭 Fc 영역을 갖는 이종특이적 IgG와 같은 이종특이적 결합 단백질을 제조하는 방법은 당업계에 익히 공지되어 있으며, 상기 제공된 참고문헌에 기재되어 있다.

[0093] 상기 기재된 특정 2+2 이종특이적 항체는 각각 재조합 숙주 세포에서 적절한 발현 작제물을 사용하여 생성될 수 있다. 중쇄, 경쇄 및 Fd 쇠를 인코딩하는 핵산은, 예를 들어, Thermo Fisher (Carlsbad, CA)와 같은 상업용 유전자 합성 벤더를 사용하여 합성적으로 제조될 수 있다. 유리하게는, 숙주 세포는 진핵 세포이고, 각 쇠의 유전자는 유리하게는 숙주 세포로부터 번역된 단백질의 분비를 야기하는 N-말단 신호 서열을 인코딩하는 서열로 합성된다. 각 쇠의 유전자는 적절한 발현 벡터, 예를 들어 pTT5 벡터(Durocher et al., Nucleic Acids Res. 30:E9 (2002))에 삽입된 다음, 생성되는 발현 작제물은 일시적 발현을 위해 적절한 숙주 세포의 배양물로 형질 감염된다. 발현 벡터를 숙주 세포로 효율적으로 형질감염시키는 방법은, 예를 들어, 양이온성 지질을 사용하여 당업계에 익히 공지되어 있다. 문헌(Feigner et al., Proc. Nat'l Acad. Sci USA 84:7413 (1987))을 참조한다. 발현 벡터를 세포에 전달하는 다른 방법도 당업계에 익히 공지되어 있다. 발현 작제물을 적절한 숙주 세포의 게놈에 통합함으로써 목적하는 단백질의 안정한 발현을 제공하는 숙주 세포를 제조하는 방법은 또한 숙주 세포의 핵에서 염색체의 요소로서 작용하는 포유류의 복제 기원을 함유하는 에피솜 벡터를 사용하는 안정한 발현 방법과 마찬가지로 익히 공지되어 있다.

[0094] 숙주 세포는 유리하게는 진핵 세포, 예를 들어, 단일 세포화 진핵 생물(예: 효모 또는 다른 진균), 식물 세포(예: 담배 또는 토마토 식물 세포), 동물 세포(예: 인간 세포, 원숭이 세포, 햄스터 세포, 래트 세포, 마우스 세포, 또는 곤충 세포) 또는 하이브리도마이다. 숙주 세포의 예는 원숭이 신장 세포의 COS-7 계통(ATCC CRL 1651)(참조: Gluzman et al., 1981, Cell 23:175), L 세포, C127 세포, 3T3 세포(ATCC CCL 163), 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 그들의 유도체, 예를 들어, 무혈청 배지(참조: Rasmussen et al., 1998, Cytotechnology 28:31) 또는 DHFR이 결핍된 CHO 균주 DX-B11(참조: Urlaub et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-20)에서 성장하는 Veggie CHO 및 관련 세포주, HeLa 세포, BHK(ATCC CRL 10) 세포주, 아프리카 그린 원숭이 신장 세포주 CV1로부터 유래된 CV1/EBNA 세포주(ATCC CCL 70)(참조: McMahan et al., 1991, EMBO J. 10:2821), 인간 배아 신장 세포, 예를 들어, 293, 293 EBNA 또는 MSR293, 인간 포피 A431 세포, 인간 Colo205 세포, 기타 형질전환 영장류 세포주, 정상 이배체 세포, 1차 조직의 시험관내 배양으로부터 유래된 세포 균주, 1차 외식편, HL-60, U937, HaK 또는 Jurkat 세포를 포함한다. 유리하게는, 숙주 세포는 CHO 세포, 예를 들어, CHO-3E7이다.

[0095] 전형적으로, 숙주 세포는 폴리펩티드 인코딩 핵산으로 형질전환되거나 형질감염될 수 있는 배양 세포이며, 이는 이어서 숙주 세포에서 발현될 수 있다. "재조합 숙주 세포"란 문구는 발현되는 핵산으로 형질전환되거나 형질감염된 숙주 세포를 나타내기 위해 사용될 수 있다. 숙주 세포는 또한 핵산을 포함하지만, 핵산에 작동가능하게 연결되도록 조절 서열이 숙주 세포에 도입되지 않는 한, 목적하는 수준에서 그것을 발현하지 않는 세포일 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "숙주 세포"는 특정 대상체 세포뿐만 아니라 그러한 세포의 자손 또는 잠재적인 자손을 지칭한다. 예를 들어, 돌연변이 및 환경적 영향으로 인해 특정 변형이 다음 세대에서 발생할 수 있기 때문에, 이러한 자손은 실제로 부모 세포와 동일하지 않을 수 있지만 본원에서 사용되는 용어의 범위 내에 포함된다. 진핵생물의 숙주 세포를 성장시키기에 적합한 세포 배양 배지는 당업계에 익히 공지되어 있으며, 예를 들어 Thermo Fisher(Grand Island, NY)로부터 시판되고 있다.

[0096] 숙주 세포는 적절한 조건하에서 배양되어 숙주 세포의 소포체에서 단백질 쇠의 조립을 허용하고, 이어서 세포 배양 상청액으로 이종특이적 결합 단백질의 분비를 허용한다. 결합 단백질의 정확한 구조의 조립(예를 들어, 불활성 단백질의 형성으로 이어지는 쇠의 비특이적 페어링과는 대조적으로)은 숙주 세포를 형질감염시키는 데 사용되는 발현 벡터의 상대적 비율을 변경함으로써 개선될 수 있다. 벡터 비율의 이러한 변동은 또한, 예를 들어, 상이한 쇠와 비교하여 쇠 중 하나의 덜 효율적인 생산을 극복하는 데 사용될 수 있다. 당업자는 벡터 비율(들)을 최적화하는 방법이 당업계에 익히 공지되어 있다는 것을 인식할 것이다.

[0097] 숙주 세포를 적절한 발현 배지에서 적절한 시간 동안 배양한 후, 이종특이적 결합 단백질을 함유하는 조건화 배지를 수집하고, 당업계에 익히 공지된 방법을 사용하여 이종특이적 결합 단백질을 정제한다. 예를 들어, 결합 단백질은 이온 교환 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피 및 친화성 크로마토그래피, 예를 들어, 단백질

A 친화성 크로마토그래피를 포함할 수 있는 방법을 사용하여 정제될 수 있다. 단백질 정제 방법은, 예를 들어, 문헌(참조: Burgess and Deutscher (Eds) "Guide to Protein Purification, Volume 436 (Methods in Enzymology) 2nd Edition (2009))에 기재되어 있다. 단백질의 순도는 당업계에 익히 공지된 방법, 예를 들어, RT-HPLC, SDS-PAGE 등을 사용하여 확인할 수 있다.

[0098] 다중쇄(multichain) 결합 단백질의 정확한 조립체(assembly)는, 예를 들어, 비변성 겔 전기영동에 의해 제시되어 결합 단백질이 예상된 분자량을 가짐을 나타낼 수 있다. SDS-PAGE를 사용하여 예상되는 단백질 쇠 각각이 존재하고 예상되는 분자량을 가짐을 나타낼 수 있다. 적절한 항-인간 IgG 항체를 사용한 웨스턴 블롯팅은 측정된 단백질이 면역글로불린 쇠임을 추가로 나타낼 수 있다.

[0099] **약제학적 조성물 및 투여 방법**

[0100] 이중특이적 결합 분자를 제조하고 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 방법은 당업자에게 익히 공지되어 있거나 당업자에 의해 쉽게 결정된다. 결합 분자의 투여 경로는, 예를 들어, 경구, 비경구, 흡입 또는 국소일 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 비경구는, 예를 들어, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 피하, 직장, 또는 질내 투여를 포함한다. 그러나, 본원의 교시와 호환 가능한 다른 방법에서, 결합 분자는 유해한 세포 집단의 부위에 직접 전달되어 치료제에 대한 병변 조직의 노출을 증가시킬 수 있다.

[0101] 결합 분자는 특정 유형의 암과 같은 질환의 치료를 위해 약제학적 유효량으로 투여될 수 있다. 약제학적 조성물은, 예를 들어, 물, 이온 교환제, 단백질, 완충제 물질 및 염을 포함하는 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 방부제 및 기타 첨가제도 존재할 수 있다. 담체는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 본원에 개시된 치료 방법에 사용하기 위한 적합한 제형은 문헌(참조: Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.) 16th ed. (1980))에 기재되어 있다.

[0102] 임의의 경우에, 멸균 주사 가능한 용액은 결합 분자(들)를 단독으로 또는 다른 활성제와 함께 유효량으로 적절한 용매에 혼합시킨 후 여과 멸균화로 제조될 수 있다. 제제는 또한 키트 형태로 포장되고 판매될 수도 있다. 이러한 제조 물품은 관련 조성물이 질환 또는 장애를 앓고 있거나 이의 소인이 있는 대상체를 치료하는 데 유용하다는 것을 나타내는 표지 또는 패키지 삽입물을 가질 수 있다.

[0103] 비경구 제형은 단회 볼루스 투여량(single bolus dose), 주입 또는 로딩 볼루스 투여량에 이은 유지 투여량일 수 있다. 이들 조성물은 특정한 고정 또는 가변 간격으로, 예를 들어, 주 1회 또는 월 1회, 또는 "필요에 따르는" 기준으로 투여될 수 있다.

[0104] 조성물은 단일 투여량, 다중 투여량 또는 주입에 확립된 기간에 걸쳐 투여될 수 있다. 투여 섭생(dosage regimen)은 또한 최적의 목적하는 반응(예: 치료적 또는 예방적 반응)을 제공하도록 조정될 수 있다.

[0105] 조성물은, 예를 들어, 골암(bone cancer), 췌장암(pancreatic cancer), 두경부암(cancer of the head and neck), 피부 또는 안내 흑색종(cutaneous or intraocular melanoma), 자궁암(uterine cancer), 중추 신경계(the central nervous system; CNS)의 암, 난소암(ovarian cancer), 직장암(rectal cancer), 항문부암(cancer of the anal region), 위암(stomach cancer), 결장암(colon cancer), 유방암(breast cancer), 흑색종(melanoma), 결장직장암(colorectal cancer), 고환암(testicular cancer), 호지킨병(Hodgkin's disease), 식도암(cancer of the esophagus), 소장암(cancer of the small intestine), 내분비계 암(cancer of the endocrine system), 연조직 육종(sarcomas of soft tissues), 요도암(cancer of the urethra), 음경암(cancer of the penis), 전립선암(prostate cancer), 만성 또는 급성 백혈병(chronic or acute leukemia), 소아 고형종양(solid tumors of childhood), 림프구성 림프종(lymphocytic lymphomas), 방광암(cancer of the bladder), 신장 또는 요관 암(cancer of the kidney or ureter), 부신피질 암종(adrenocortical carcinoma), AIDS 관련 암(AIDS-related cancers), 소아 소뇌 성장세포종(Childhood Cerebellar Astrocytoma), 소아 대뇌 성장세포종(Childhood Cerebral Astrocytoma), 기저 세포 암종(Basal Cell Carcinoma), 간의 담관암(extrahepatic bile duct cancer), 골육종(osteosarcoma)/악성 섬유성 조직구종 골암(malignant fibrous histiocytoma bone cancer), 뇌 종양(brain tumors), 기관지 선종(bronchial adenomas)/카르시노이드(carcinoids), 카르시노이드 종양(carcinoid tumor), 위장 카르시노이드 종양(gastrointestinal carcinoid tumor), 소뇌 성장세포종(cerebellar astrocytoma), 대뇌 성장세포종(cerebral astrocytoma)/악성 신경교종(malignant glioma), 자궁경부암(cervical cancer), 소아암(childhood cancers), CMLL, 만성 림프구성 백혈병(Chronic Lymphocytic Leukemia), 만성 골수성 백혈병(Chronic Myelogenous Leukemia), 만성 골수증식성 장애(Chronic Myeloproliferative Disorders), 상의종(ependymoma), 유잉 계열 종양(Ewing's Family of Tumors), 두개의 생

식 세포 종양(extracranial germ cell tumor), 성선의 생식 세포 종양(extragonadal germ cell tumor), 간의 담관암(extrahepatic bile duct cancer), 담낭암(gallbladder cancer), 위장 카르시노이드 종양(gastrointestinal carcinoid tumor), 생식 세포 종양(germ cell tumors), 임신성 용모 종양(gestational trophoblastic tumor), 신경교종(glioma), 모세포 백혈병(hairy cell leukemia), 간세포암(hepatocellular cancer), 하인두암(hypopharyngeal cancer), 시상하부 및 시각 경로 신경교종(hypothalamic and visual pathway glioma), 췌도 세포 암종(islet cell carcinoma), 카포시 육종(Kaposi's Sarcoma), 후두암(laryngeal cancer), 백혈병(leukemia), 입술 및 구강암(lip and oral cavity cancer), 비소세포 폐암(non-small cell lung cancer)(편평 상피 세포 폐 암종(squamous cell lung carcinoma), 대세포 폐 암종(large cell lung carcinoma), 폐 선암(lung adenocarcinoma), 폐 다형성 암종(pulmonary pleomorphic carcinoma), 폐 카르시노이드 종양(lung carcinoid tumor), 타액선 암종(salivary gland carcinoma) 포함), 소세포 폐암(small cell lung cancer)(조합형 소세포 암종(combined small-cell carcinoma) 포함), "달리 특정되지 않은"(NOS) 폐암, 폐외 소세포 암종(extrapulmonary small-cell carcinoma)(림프절에 국한된 폐외 소세포 암종 및 전립선의 소세포 암종 포함), 림프종(lymphoma), 발텐스트롬 거대글로불린혈증(Waldenstrom's Macroglobulinemia), 수모세포종(medulloblastoma), 중피종(mesothelioma), 잠재성 원발성을 수반하는 전이성 편평 상피암(metastatic squamous neck cancer with occult primary), 다발성 내분비 종양 증후군(multiple endocrine neoplasia syndrome), 다발성 골수종(multiple myeloma)/형질 세포 신생물(plasma cell neoplasm), 균상 식육종(mycosis fungoides), 골수이형성 증후군(myelodysplastic syndromes), 골수이형성/골수증식성 질환(myelodysplastic/myeloproliferative diseases), 비강 및 부비동암(nasal cavity and paranasal sinus cancer), 비인두암(nasopharyngeal cancer), 신경모세포종(neuroblastoma), 구강암(oral cancer), 구인두암(oropharyngeal cancer), 난소 상피암(ovarian epithelial cancer), 난소 생식 세포 종양(ovarian germ cell tumor), 난소 저악성 잠재 종양(ovarian low malignant potential tumor), 췌도 세포 췌장암(islet cell pancreatic cancer), 부갑상선암(parathyroid cancer), 갈색 세포종(pheochromocytoma), 송과체 모세포종(pineoblastoma), 뇌하수체 종양(pituitary tumor), 흉막폐 모세포종(pleuropulmonary blastoma), 요관 전이 세포암(ureter transitional cell cancer), 망막모세포종(retinoblastoma), 횡문근육종(rhabdomyosarcoma), 타액선암(salivary gland cancer), 세자리 증후군(Sezary Syndrome), 피부암(skin cancer), 비흑색종 피부암(non-melanoma skin cancer), 메르켈 세포 피부 암종(Merkel Cell Skin Carcinoma), 편평 세포 암종(squamous cell carcinoma), 고환암, 흉선종(thymoma), 임신성 용모 종양, 윌름즈 종양(Wilms' Tumor) 및 미세위성 불안정성을 동반하는 암을 포함하는 특정 유형의 암과 같은 세포 매개 질환의 치료에 사용될 수 있다.

[0106]

식도암과 관련하여, 암은, 예를 들어, 식도 편평 세포 암종(ESCC) 또는 식도선암(EAC)일 수 있다. 췌장암과 관련하여, 암은, 예를 들어, 외분비암(exocrine cancer), 췌장 선암(pancreatic adenocarcinoma), 췌장관 암종(pancreatic ductal carcinoma), 췌장의 선세포암(acinar cell carcinoma of the pancreas), 낭포선암(cystadenocarcinoma), 췌도모세포종(pancreatoblastoma), 선편평상피 암종(adenosquamous carcinomas), 미분화 암종(undifferentiated carcinomas), 췌장 점액성 낭포성 신생물(pancreatic mucinous cystic neoplasms), 신경내분비 또는 췌장 신경내분비 종양(PanNET)일 수 있다. 간암과 관련하여, 암은, 예를 들어, 간세포 암종(hepatocellular carcinoma; HCC), 간아종(hepatoblastoma), 담관암종(cholangiocarcinoma), 담관세포성 낭포 선암(cholangiocellular cystadenocarcinoma), 혈관육종(angiosarcoma), 또는 평활근육종(leiomyosarcoma)일 수 있다. 결장직장암과 관련하여, 암은 선암(adenocarcinoma), 카르시노이드 종양, 위장관 간질 종양(gastrointestinal stromal tumors; GIST), 림프종, 육종, 선편평상피 암종(adenosquamous carcinoma; Ad-SCC) 또는 편평상피 암종(SCC)일 수 있다. 유방암과 관련하여, 암은 제자리에서 유관 상피내암(ductal carcinoma in situ; DCIS), 침윤성, 침윤성 유관암(invasive ductal carcinoma; IDC), 침윤성 소엽암(invasive lobular carcinoma; ILC), 삼중 음성 유방암(triple-negative breast cancer), 염증성 유방암(inflammatory breast cancer), 혈관육종(angiosarcoma) 또는 유방의 파제트병(Paget disease of the breast)일 수 있다. 난소암의 경우, 암은 상피 종양, 양성 상피성 난소 종양, 경계 상피성 난소 종양, 악성 상피성 난소 종양, 생식 세포 종양, 기형종(teratoma), 미분화세포종(dysgerminoma), 내배엽동 종양 및 용모암(endodermal sinus tumor and choriocarcinoma), 원발성 복막 암종(primary peritoneal carcinoma), 난관암(fallopian tube cancer) 또는 난소 간질성 종양(ovarian stromal tumors)일 수 있다. 다발성 골수종 및 전암 상태와 관련하여, 암은 경쇄 골수종(light chain myeloma), 비분비성 골수종(non-secretory myeloma), 고립성 형질세포종(solitary plasmacytoma), 수외형질세포종(extramedullary plasmacytoma), 중요성이 알려지지 않은 단클론성 감마병증(monoclonal gammopathy of undetermined significance; MGUS), 무증상 다발성 골수종(smoldering multiple myeloma; SMM), 면역글로불린 D(IgD) 골수종 또는 면역글로불린 E(IgE) 골수종일 수 있다.

- [0107] 이러한 질환을 치료하기 위한 조성물의 치료적 유효 용량은 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리학적 상태, 환자가 인간인지 또는 동물인지 여부, 투여되는 다른 약제, 및 치료가 예방적인지 치료적인지 여부를 포함하는 다수의 상이한 인자에 따라 달라진다. 일반적으로, 환자는 인간이지만, 유전자도입 포유동물을 포함한 비인간 포유동물도 치료될 수 있다. 치료 용량은 안전성 및 효능을 최적화하기 위해 당업자에게 공지된 일상적인 방법을 사용하여 적정될 수 있다.
- [0108] 투여되는 적어도 하나의 결합 분자의 양은 과도한 실험 없이 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 투여 방식 및 적어도 하나의 결합 분자의 각각의 양에 영향을 미치는 인자는 질환의 중증도, 질환의 병력, 및 치료를 받는 개체의 연령, 신장, 체중, 건강 및 신체 상태를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 유사하게, 투여되는 결합 분자의 양은 투여 방식 및 대상체가 이 제제의 단일 투여량 또는 다중 투여량을 받는지 여부에 따라 달라질 것이다.
- [0109] 결합 분자는 또한, 예를 들어, 상기 나열된 암을 포함하는 암의 유형을 치료하기 위한 약제의 제조에 사용될 수 있다.
- [0110] 본원에 기재된 조성물로 치료되는 대상체는 치료 나이브(treatment naive)일 수 있거나 결합 분자를 포함하는 약제를 투여 받기 전에 하나 이상의 다른 요법(예: 적어도 하나의 다른 항암 요법)으로 전처리될 수 있다. 대상체가 이전 요법 또는 요법들에 의한 전처리에 대한 반응자일 필요는 없다. 따라서, 결합 분자를 포함하는 약제를 투여받은 대상체는 이전 요법에 의한 전치료 또는 전치료가 다수의 요법으로 구성되는 하나 이상의 이전 요법에 반응하였거나, 불량하게 반응하였거나 처음에는 반응하였지만 이후 반응하지 않았거나 반응하지 않았을 수 있다. 따라서, 본 개시내용은 본원에 기재된 결합 분자를 투여하는 단계를 포함하는, 다른 요법에 대한 불량한 반응자 또는 비반응자인 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 본원에 개시된 바와 같은 결합 분자 또는 본원에 기재된 바와 같은 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 암 요법에 대한 내성을 극복 또는 예방하는 방법, 또는 재발을 예방 또는 지연시키는 방법이 또한 제공된다.
- [0111] 환자가 이전에 항암제로 치료되었더라도, 당업자는 사람이 그 약제에 대한 반응을 나타내지 않았거나 불응성이었는지 여부를 결정할 수 있다. 예를 들어, 항암제에 대한 무반응은 암/종양 성장의 증가 및/또는 종양 크기, 전이의 형성 (또는 증가)의 증가 또는 전이의 수 또는 크기의 증가와 같은 암의 고통의 증가에 반영될 수 있다. 무반응은 또한, 예를 들어, 종양 절제 후, 질환 진행까지의 시간 단축, 또는, 예를 들어, 신생보조 요법에서 (a) 종양(들)의 크기 및/또는 (a) 전이의 증가에서 종양 또는 전이의 발생일 수 있다. 이들 파라미터 또는 당업계에 공지된 다른 파라미터에 기초하여, 항암제에 의한 치료에 반응하지 않는 환자 그룹이 식별될 수 있고, 이어서 이 그룹의 환자는 본원에 기재된 결합 분자로 치료될 수 있다.
- [0112] 결합 분자 및 결합 분자를 함유하는 조성물은 또한, 예를 들어, 다른 요법에 대한 불량한 반응자 또는 비반응자인 환자를 치료하는 데 사용될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "비반응자"는 항암제를 사용하는 치료에 반응할 가능성이 낮은 개체/환자/대상체를 지칭할 수 있다. 본원에서 사용되는 "반응 가능성이 낮은"은 병리학적 완전 반응이 항암제로 치료된 환자에서 일어날 가능성의 감소를 지칭한다. 일부 측면에서, 환자는 초기에 양호한 반응자일 수 있고, 치료에 대한 내성은 이러한 항암제에 의한 치료 동안에 발생하여 치료에 대한 불량한 반응 또는 무반응으로 이어질 수 있다.
- [0113] 본원에서 사용된 용어 "양호한 반응자"는 항암제를 사용하는 치료 중 또는 치료 후에 종양이 성장, 전이, 전이의 수 또는 크기의 증가 등을 나타내지 않는 개체, 예를 들어, 일련의 이미징 연구에 기초하여, 일정 기간(예: 초기 진단 후 약 1년)에 걸쳐 종양 성장, 전이, 전이 수 또는 크기 증가 등을 경험하지 않는 개체 및/또는 특정 수명(예: 초기 진단 후 약 2년 이상)을 경험하는 개체를 지칭한다.
- [0114] 본원에서 사용된 용어 "불량한 반응자"는, 예를 들어, 항암제를 사용하는 표준 치료 동안 또는 직후에 종양이 성장하거나 전이되거나 종양으로 인한 유해한 임상 효과를 경험하는 개체를 지칭한다. 용어 "불량한 반응자"는 항암제를 사용하는 치료 동안 "양호한 반응자"에서 '불량한 반응자'로 이행된 개체도 포함한다.
- [0115] 대상체가 "비반응자", "불량한 반응자" 또는 "반응할 가능성이 낮다"(예를 들어, 암 세포에서 특정 바이오마커의 존재에 기초함)로 평가되는 경우, 대상체는 본원에 개시된 결합 분자로 처리될 수 있다.
- [0116] 본원에 기재된 바와 같은 결합 분자 및 적어도 하나의 다른 요법을 동시 투여하기 위한 방법도 제공된다. 결합 분자 및 적어도 하나의 다른 요법은 단일 조성물로 함께 공동-투여될 수 있거나, 또는 별도의 조성물로 동시에 또는 중복되는 시간에 함께 공동-투여될 수 있다. 일부 측면에서, 결합 분자는 보조 요법으로서 사용될 수 있다.

[0117] 결합 분자는 또한 암을 앓고 있는 대상체를 치료하기 위한 약제의 제조에 사용될 수 있으며, 여기서 결합 분자는 대상체가 적어도 하나의 다른 요법으로 치료되기 전에 투여된다.

[0118] 결합 분자는 또한 유효량의 결합 단백질 또는 결합 단백질을 함유하는 조성물을 대상체에게 투여함으로써 대상체에서 암의 위험을 예방 또는 감소시키는 방법에 사용될 수 있다. 암은 폐암일 수 있고, 환자는 이전에 진단된 및/또는 이전에 치료된 암으로부터 완화될 수 있다. 환자는 환경 노출, 담배 사용 또는 노출, 유전적 돌연변이 또는 암의 가족력으로 인해 암 위험에 처한 것으로 간주될 수 있다.

[0119] **실시예:**

[0120] 아래의 예에서, 결합 도메인은 인간에서의 사용에 대해 규제 당국의 승인을 받은 인간 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역에 기초한다. "O", "E" 및 "K"는 IL-1β에 결합하는 도메인을 나타내고, "M" 및 "B"는 PD-1에 결합하는 결합 도메인을 나타낸다. 결합 단백질 쇠의 아미노산 서열은 도 5에 제시되어 있다.

[0121] **실시예 1: 이중특이적 항체의 발현**

[0122] **1. 플라스미드 제조**

[0123] 결합 단백질을 인코딩하는 표적 DNA 서열을 합성하고 CHO-3E7 세포에서 발현시키기 위해 pTT5 벡터(Durocher et al., Nucleic Acids Res. 30:E9 (2002))에 서브클로닝하였다. 코딩 서열의 아미노산 서열은 도 5에 제시되어 있다.

[0124] **2. 세포 배양 및 일시적 형질감염**

[0125] CHO-3E7 세포는 무혈청 FreeStyle™ CHO 발현 배지(Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)에서 성장시켰다. 세포는 오비탈 진탕기(VWR Scientific, Chensiter, Pennsylvania)에서 5% CO₂를 사용하여 37°C에서 삼각 플라스크(Coming Inc., Acton, MA)에서 유지시켰다. 형질감염 1일 전에, 세포를 Coming 삼각 플라스크에 시딩하였다. 형질감염 당일에, DNA와 형질감염 시약을 혼합한 다음, 세포 배양물에 첨가하고, 그 동안 표적 항체를 인코딩하는 재조합 플라스미드를 CHO-3E7 세포에 일시적으로 형질감염시켰다. 6일째에 수집된 세포 배양 상청액을 정제에 사용하였다. 표 2는 각 항체의 중쇄, 경쇄 및 Fd 쇠의 조합과 스크리닝된 각각의 플라스미드 비율을 나열한다.

[0126] [표 2]

각 항체의 중쇄(HC), 경쇄(LC) 및 Fd 쇠(Fd) 조합 및 플라스미드 비율의 요약.

항체 명칭	항체 포맷	HC 명칭	LC 명칭	Fd	비율 1	비율 2	비율 3	비율 4
					HC:LC:Fd	HC:LC:Fd	HC:LC:Fd	HC:LC:Fd
ITA101	BiS2-OB	BscFv-OHC	OLC	/	1:1:0	3:1:0	1:3:0	/
ITA102	BiS2-OM	MscFv-OHC	OLC	/	1:1:0	3:1:0	1:3:0	/
ITA103	BiS2-PC	OscFv-BHC	BLC	/	1:1:0	3:1:0	1:3:0	/
ITA104	BiS2-MO	OscFv-MHC	MLC	/	1:1:0	3:1:0	1:3:0	/
ITA201	BiS3-OB	OHC-BscFv	OLC	/	1:1:0	3:1:0	1:3:0	/
ITA202	BiS3-OM	OHC-MscFv	OLC	/	1:1:0	3:1:0	1:3:0	/
ITA203	BiS3-BO	BHC-OscFv	BLC	/	1:1:0	3:1:0	1:3:0	/
ITA204	BiS3-MO	MHC-OscFv	MLC	/	1:1:0	3:1:0	1:3:0	/
ITA301	FiT-OB	BLC-OHC	OLC	BFd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITA302	FiT-OM	MLC-OHC	OLC	MFd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITA303	FiT-BO	OLC-BHC	BLC	OFd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITA304	FiT-MO	OLC-MHC	MLC	OFd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITA401	FAT-OB	OHC-BLC	OLC	BFd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITA402	FAT-OM	OHC-MLC	OLC	MFd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1

[0127]

ITA403	FAT-BO	BHC-OLC	BLC	OFd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITA404	FAT-MO	MHC-OLC	MLC	OFd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITB101	FP2-BK	K BHC	B LC	/	1:1			
ITB102	FP2-MK	K MHC	M LC	/	1:1			
ITB103	FFP1(FIT)-KM	MFd-K-G4P	M LC	/	1:1			
ITB104	FFP1(FIT)-KB	BFd-K-G4P	B LC	/	1:1			
ITB105	FFP3-KM	K-G4P-MscFv	/	/	N/A			
ITB106	FP1- (크로스맵)BK	K-BLC-Fc	/	B Fd	1:1			
ITB107	FP1- (크로스맵) MK	K-MLC-Fc	/	M Fd	1:1			
ITB108	FFP2-KM	MLC-KG4P	/	M Fd	1:1			
ITB109	FFP2-KB	BLC-K-G4P	/	B Fd	1:1			
ITC401	FAT-O/B 1+5	O HC-B LC 1+5	O LC	B Fd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITC402	FAT-O/B 3+3	O HC-B LC 3+3	O LC	B Fd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITC403	FAT-O/B 4+2	O HC-B LC 4+2	O LC	B Fd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITC404	FAT-O/B 5+1	O HC-B LC 5+1	O LC	B Fd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITC405	FAT-O/B 4+4	O HC-B LC 4+4	O LC	B Fd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1

[0128]

ITC406	FAT-O/B 2+2	O HC-B LC 2+2	O LC	B Fd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITD401	FAT-O/B 5+5	FAT-O/B 5+5	O LC	B Fd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITD402	FAT-O/B 4+5	FAT-O/B 4+5	O LC	B Fd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITD403	FAT-O/B 5+4	FAT-O/B 5+4	O LC	B Fd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITE101	BiS2-O/M VH/VL DSB	M scFv-O HC VH/VL DSB	O LC	/	1:1:0	3:1:0	1:3:0	/
ITE102	BiS2-O/M VL/VH DSB	M scFv-O HC VL/VH DSB	O LC	/	1:1:0	3:1:0	1:3:0	/
ITE201	BiS3-M/O VH/VL DSB	M HC-O scFv_ VH/VL DSB	M LC	/	1:1:0	3:1:0	1:3:0	
ITE202	BiS3-M/O VL/VH DSB	M HC-O scFv_ VL/VH DSB	M LC	/	1:1:0	3:1:0	1:3:0	
ITE301	FIT-B/O-L3	O LC-B HC-L3	B LC	O Fd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITE302	FIT-B/O-L7	O LC-B HC-L7	B LC	O Fd	1:1:1	1:3:3	1:1:3	1:3:1
ITF101	BiS2-E/M VL/VH DSB	BiS2-E /M VL/VH DSB	E13 LC	/	1:1:0,	1:3:0	3:1:0	
ITF102	BiS2-M/E VL/VH DSB	BiS2-M/E VL/VH DSB	M LC	/	1:1:0,	1:3:0	3:1:0	
ITF103	BiS2-M/E VH/VL DSB	BiS2-M/E VH/VL DSB	M LC	/	1:1:0,	1:3:0	3:1:0	

[0129]

ITF201	BiS3-M/E VL/VH DSB	BiS3-M/E VL/VH DSB	M LC	/	1:1:0,	1:3:0	3:1:0	
ITF202	BiS3-M/E VH/VL DSB	BiS3-M/E VH/VL DSB	M LC	/	1:1:0,	1:3:0	3:1:0	
ITF301	FIT-B/E L3	FIT-B/E-L3	B LC	E Fd	1:1:1	1:1:1,	1:1:1,	1:1:1,
ITF302	FIT-B/E L7	FIT-B/ E-L7	B LC	E Fd	1:1:1	1:1:1,	1:1:1,	1:1:1,
ITF401	FAT-E/B	FAT-E/B	E13LC	B Fd	1:1:1	1:1:1,	1:1:1,	1:1:1,
ITF402	FAT-B/E	FAT-B/E	B LC	E Fd	1:1:1	1:1:1,	1:1:1,	1:1:1,
ITF403	FAT-M/E	FAT-M/E	M LC	E Fd	1:1:1	1:1:1,	1:1:1,	1:1:1,

[0130]

[0131]

3. 정제 및 결과

[0132]

세포 배양 상청액을 원심분리한 후 여과하였다. 여과된 상청액을 Monofinity A 수지 예비팩킹된 컬럼(Prepacked

Column) 1ml(GenScript, Cat.No. L00433-11)에 1.0ml/분으로 로딩(loading)하였다. 세척 단계 후, 항체를 용출시킨 다음, 원충액을 PBS, pH 7.2로 교체하였다. 항체는 표준 기술에 의해 추가로 정제하였다. 예를 들어, 일부 샘플은 Superdex 200 Increase 10/300 GL 컬럼을 사용한 크기 배제 크로마토그래피(SEC)에 의해 또는 CHT™ 세라믹 하이드록시아파타이트 컬럼(Bio-Rad)을 사용한 세라믹 하이드록시아파타이트 크로마토그래피에 의해 추가로 정제하였다. 다른 단백질의 경우, 단백질 A 친화성 크로마토그래피가 최초 정제에 사용되었고, 필요에 따라 SEC가 사용되었다.

[0133] 발현된 단백질 각각은 환원성 및 비환원성 조건하에서 SDS-PAGE 및 웨스턴 블롯 분석(염소 항-인간 IgG-HRP(GenScript, Cat. NO. A00166)를 사용함)에 의해 분석하였고, 이는 단백질 및 구성 쇠가 목적하는 분자량을 가졌음을 나타냈다. 단백질의 순도는 크기 배제 HPLC를 사용하여 평가하였다.

[0134] **실시예 2**

[0135] 실시예 1에 기재된 16개의 상이한 이중특이적 항체 중 9개를 유세포 계측법을 사용하여 세포 표면 상의 PD-1에 대한 결합에 대해 분석하였다. 사용된 세포주는 CHO-K1 세포(음성 대조군) 및 CHO-K1/PD-1 발현이었다. 사용된 항체는 무관한 인간 IgG(음성 대조군) 및 시판되는 항-PD-1(양성 대조군)이었다. 사용된 2차 항체는 염소 항-인간 IgG(H+L) iFluor 647(1 μ g/ml)이었다(데이터는 제시되지 않음). 이중특이적 분자의 PD1 및 IL-1 β 에 대한 동시 결합을 입증하기 위해, 샌드위치 FACS 검정을 수행하였다. 결합 곡선은 도 7에 도시되어 있다. PD1을 발현하는 CHO 세포는 표시된 농도의 이중특이적 항체에 의해 결합되었다. 결합되지 않은 항체를 세척하고, 비오틴화된 IL-1 β (2 μ g/ml), 이어서 SA-iFluor 647(1 μ g/ml)을 사용하여 검출을 수행하였다. 형광 강도는 PD1+ 세포 상의 BiSAb의 고정화 및 IL-1 β 에 동시에 결합하는 능력을 모두 나타낸다. 항-IL-1 β VH/VL 결합 도메인과 2개의 상이한 쌍의 항-PD-1 VH/VL 결합 도메인의 다양한 조합은 BiS2, BiS3, FIT-IG 또는 FAT-IG 분자로 포맷되었다. 테스트된 작제물 중, 서열번호 1 내지 6의 서열에 의해 정의된 CDR 영역을 함유하는 항-PD-1 VH/VL 결합 영역을 갖는 4개의 결합 분자는 모두 서열번호 6-12의 서열에 의해 정의된 CDR 영역을 함유하는 항-PD-1 VH/VL 결합 영역을 갖는 5개의 결합 분자와 비교하여 더 높은 평균 형광 강도를 달성하였다.

[0136] 도 8 내지 12는 추가의 결합 단백질에 대한 추가 결합 데이터를 도시한다. 도 8은 유세포 계측법에 의해 검출된 바와 같이, 다중-투여 샌드위치 검정에서 세포막 결합 PD-1 및 가용성 IL-1 β 에 대한 이중특이적 항체의 결합의 결합 곡선을 도시한다. 이중특이적 항체의 ITC, ITD 및 ITE 시리즈의 가변 결합 친화도가 제시되어 있다. 모든 결합 친화도는 실질적으로 대조군 인간 IgG보다 더 높다.

[0137] 도 9는 유세포 계측법에 의해 검출된 바와 같이, 다중 투여 샌드위치 검정에서 세포막 결합 PD-1에 대한 결합의 결합 곡선을 도시한다. 이중특이적 항체의 ITB 및 ITF 시리즈의 가변 결합 친화도가 제시되어 있다. 모든 결합 친화도는 실질적으로 대조군 인간 IgG보다 더 높다.

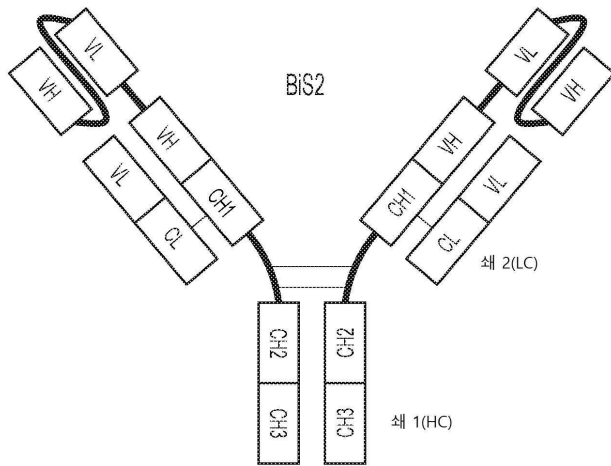
[0138] 도 10은 유세포 계측법에 의해 검출된 바와 같이, 다중 투여 샌드위치 검정에서 세포막 결합 PD-1과 가용성 IL-1 β 에 동시에 결합하기 위한 결합 곡선을 도시한다. 이중특이적 항체의 ITB 및 ITF 시리즈의 가변 결합 친화도가 제시되어 있다. 모든 결합 친화도는 실질적으로 대조군 인간 IgG보다 더 높다.

[0139] 도 11은 이중특이적 항체가 PD-1/PD-L1 리포터 검정에서 PD-1 활성을 차단한다는 것을 도시한다. 이중특이적 항체의 ITA 시리즈의 가변 차단 활성이 제시되어 있다. 모든 차단 활성은 실질적으로 대조군 인간 IgG보다 더 높다.

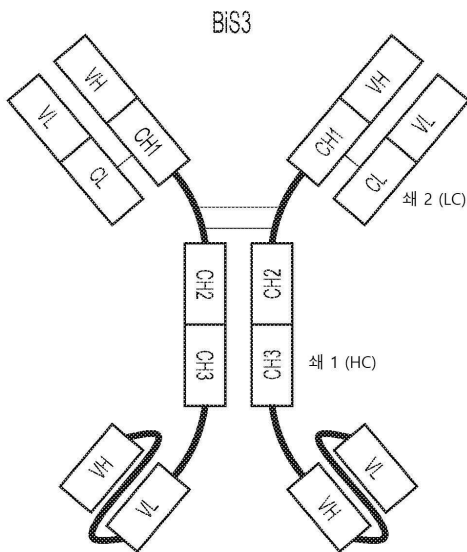
[0140] 도 12는 이중특이적 항체가 IL-1 β 기능 검정에서 IL-1 β 활성을 차단한다는 것을 도시한다. 가변 차단 활성은 이중특이적 항체의 ITA 시리즈로 입증되었다. 모든 차단 활성은 실질적으로 대조군 인간 IgG보다 더 높다.

도면

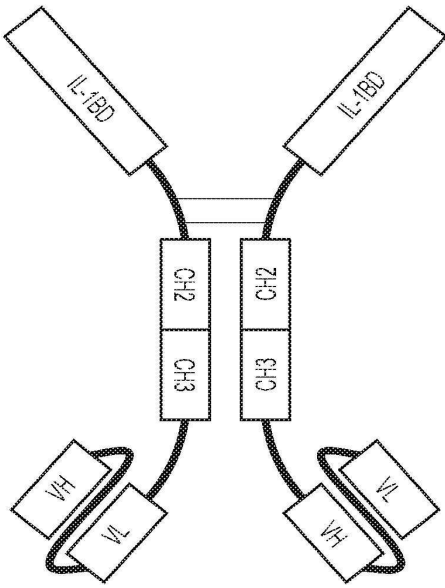
도면1



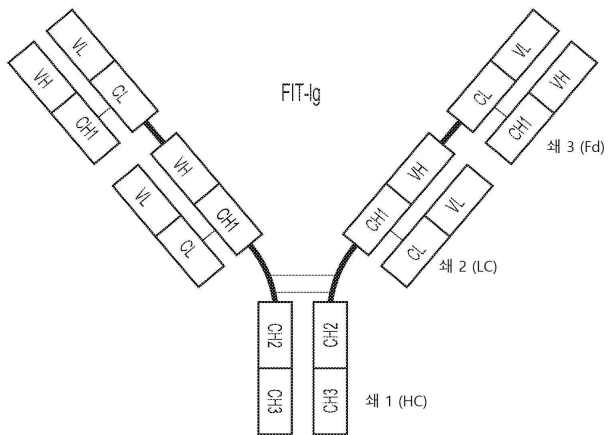
도면2a



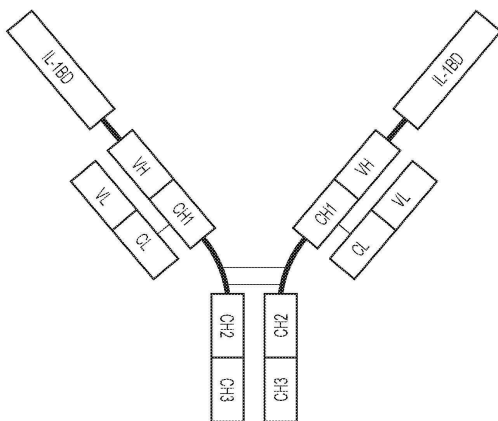
도면2b



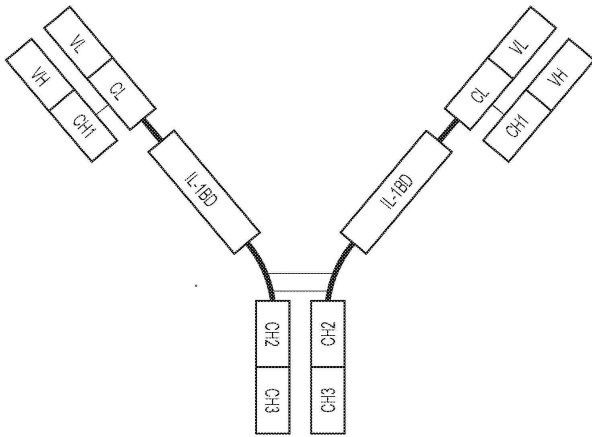
도면3a



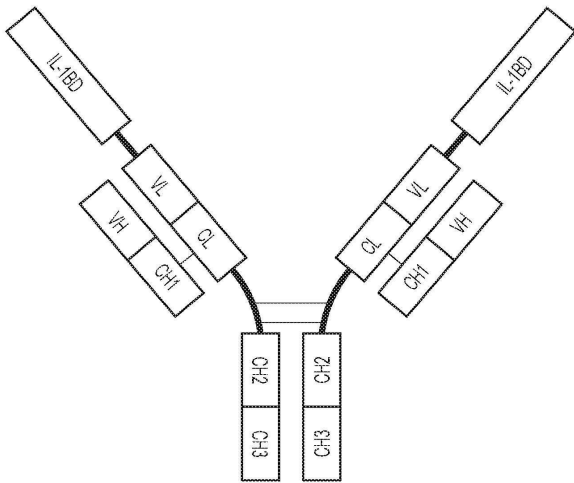
도면3b



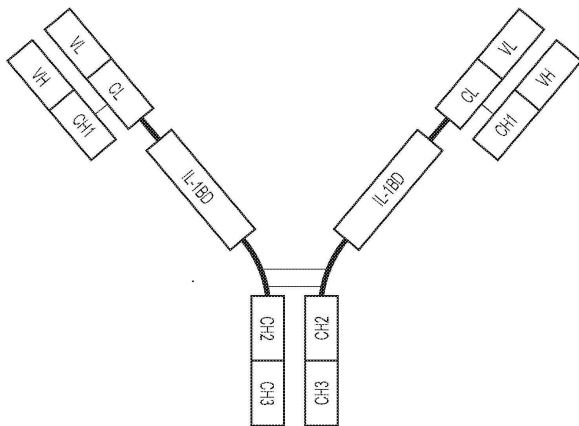
도면3c



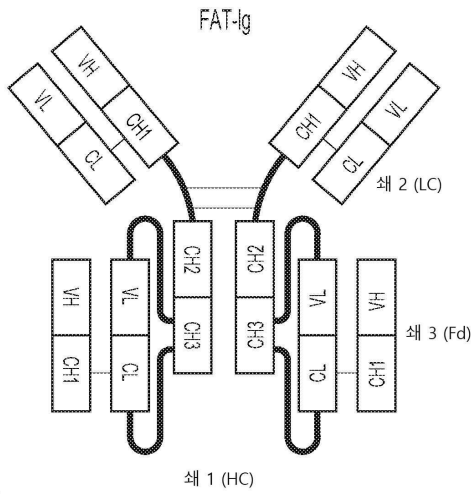
도면3d



도면3e



도면4



도면5a

결합 단백질의 아미노산 서열:

ITA101

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYFTFNYYMYW
VRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTA
VYYCARRDYRFDMGFYWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQS
PATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQAPRLLIYLASYLESQVPA
RFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGKVEIKGGGGSGGGGSG
VQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVRQAPGKGLEWVAIIWYDGD
NQYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPFYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP
PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

쇄 2

MGWSCILFLVATATGVHSEIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQK
PDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTF
GPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

ITA102

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQGRSLRLDCKASGITFSNSGMHW
RQAPGKGLEWVAIIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAV
VYYCATNDYWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQVSSYLAWYQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGTDFTL
TISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKEIKGGGGSGGGGSGVQLVESGGGVV
QGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVRQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGR
FTISRDNKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPFYWGQGTITVTVSSASTK
GPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPETVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT
VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

도면5b

쇄 2는 ITA101의 쇄 2와 동일하다

ITA103

쇄 1

MGWSCHLFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWV
RQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNGLRAEDTA
VYYCARDLRTGPFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPDF
QSVTPKEKVITICRASQSIGSSLHWYQKQPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVDIKGGGGSGGGGSQVQLVQSGV
EVKKPGASVKVSKASGYTFITNYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKF
KNRVTLTDDSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFQDYWGQGTITVTVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVL
QSSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFL
GGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQV
YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF
LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

쇄 2

MGWSCHLFLVATATGVHSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHW
YQQKPGQAPRLLIYLASYLESQVPAFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQHSRD
LPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV
DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
SFNRGEC

ITA104

쇄 1

MGWSCHLFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWV
RQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNGLRAEDTA
VYYCARDLRTGPFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPDF
QSVTPKEKVITICRASQSIGSSLHWYQKQPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVDIKGGGGSGGGGSQVQLVESGG
GVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAIIWYDGSKRYYADSV
KGRFTISRDNKNTLFLQMNGLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPS
VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYS
SSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLF
PPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTV
DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

도면5c

쇄 2

MGWSCIIIFLVATATGVHSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK
PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTF
GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

ITA201

쇄 1

MGWSCIIIFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWV
RQAPGKGLEWVAIHWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNGLRAEDTA
VYYCARDLRTGPFDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHK
PSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNNH
YTQKSLSLGKGGGGSGGGGSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYY
MYWVRQAPGQGLEWMGGINPNSGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQF
DDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYY
VLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLES
GVPARFSGSGGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGKVEIK

쇄 2는 ITA101의 쇄 2와 동일하다

ITA202

쇄 1

MGWSCIIIFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWV
RQAPGKGLEWVAIHWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNGLRAEDTA
VYYCARDLRTGPFDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHK
PSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNNH
YTQKSLSLGKGGGGSGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGM
HWVRQAPGKGLEWVAIHWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAE
DTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYY
VLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGGT
DFTLTISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK

도면5d

쇄 2는 ITA101의 쇠 2와 동일하다

ITA203

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYMYW
VRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVLTITDSSTTTAYMELKSLQFDDTA
VYYCARRDYRFDMGFYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV
DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKLSLSLGLKGGGSGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSV
YGMNWVRQAPGKLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNG
LRAEDTAVYYCARDLRTGPFDYWGQGTLLTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEI
VLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSR
FSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVDIK

쇄 2는 ITA103의 쇠 2와 동일하다

ITA204

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWV
RQAPGKLEWVAIIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTA
VYYCATNDDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTK
VDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSEQEDP
EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSLGLKGGGSGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVR
QAPGKLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV
YYCARDLRTGPFDYWGQGTLLTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPDFQ
SVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTD
FTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPGTKVDIK

도면5e

쇄 2는 ITA104의 쇠 2와 동일하다

ITA301

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHW
YQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARFSGSGSGTDFLTISSLEPEDFAVYYCQHSRD
LPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV
DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
SFNRGECQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVRQAPGKGLEWV
AIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGP
FDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVES
KYGPPCPPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

쇄 2는 ITA101의 쇠 2와 동일하다

쇄 3 :

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYFTFNYYMYW
VRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTA
VYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTYICNVN
HKPSNTKVDKRVKPKSC

ITA302

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQOK
PGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGSGTDFLTISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTF
GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
ECQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVRQAPGKGLEWVAIIWY
DGDNQYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARDLRTGPFDYW
GQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPP
CPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

도면5f

쇄 2는 ITA101의 쇠 2와 동일하다

쇄 3:

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWV
RQAPGKGLEWVAWIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTA
VYYCATNDDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK
VDKRVEPKSC

ITA303

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSEIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQK
PDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTF
GPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
ECQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYMYWVRQAPGQGLEWMGGIN
PSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFD
YWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVEPKY
GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVSFCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

쇄 2는 ITA103의 쇠 2와 동일하다

쇄 3:

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWV
RQAPGKGLEWVAIHWYDGDNYQYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA
VYYCARDLRTGPFQDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVDKRVEPKSC

ITA304

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSEIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQK
PDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTF
GPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
ECQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAWIWY

도면5g

DGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPA
PEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
SFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

쇄 2는 ITA104의 쇠 2와 동일하다

쇄 3은 ITA303의 쇠 3과 동일하다

ITA401: X=2, Y=4; ITC401: X=1, Y=5; ITC402: X=3, Y=3; ITC403: X=4, Y=2;

ITC404: X=5, Y=1; ITC405: X=4, Y=4; ITC406: X=2, Y=2; ITD401: X=5, Y=5;

ITD402: X=4, Y=5; ITD403: X=5, Y=4

쇄 1:

MGWSCIIIFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWV
RQAPGKGLEWVAIIWYDGDNRQYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNGLRAEDTA
VYYCARDLRTGPFDFYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHK
PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV
SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
KVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESN(GGGGS)_xEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPG
QAPRLLIYLA SYLESQV PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGG
GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(
GGGGS)_yQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLGLGK

쇄 2는 ITA101의 쇠 2와 동일하다

쇄 3:

MGWSCIIIFLVATATGVHSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYFTNYYMYW
VRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTA
VYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVKPKSC

도면5h

ITA402

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWV
RQAPGKGLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNGLRAEDTA
VYYCARDLRTGPFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV
DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNNGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ
APRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQG
TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECG
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSRLTVDKSRWQEGN
VFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

쇄 2는 ITA101의 쇄 2와 동일하다

쇄 3은 ITA302의 쇄 3과 동일하다

TA403

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYYMYW
VRQAPGQGLEWMGGINPSNNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTA
VYYCARRDYRFDMGFYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV
DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNNGGGGSGGGGSEIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQKP
DQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSLPFTFG
PGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
CGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSRLTVDKSRWQE
GNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

쇄 2는 ITA103의 쇄 2와 동일하다

쇄 3은 ITA303의 쇄 3과 동일하다

도면5i

ITA404

쇄 1

MGWSCHLFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWV
RQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTA
VYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNTK
VDRKVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDP
EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGGGGSGGGGSEIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQKPKDQSPKLL
IKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGPTKVDI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSG
GGGSGGGGSGGGGSGQPENNYKTTTPVLDSDGSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS
VMHEALHNYHTQKSLSLSLGK

쇄 2는 ITA104의 쇠 2와 동일하다

쇄 3은 ITA303의 쇠 3과 동일하다

ITB101

쇄 1

MGWSCHLFLVATATGVHSSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNY
STAHSAGLTLIYWYWRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCM
LRNTTYCSKVAFPLEVVQKDSFCFNPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKP
TITWYMGYKIQNFNNVIPEGMNLFLIALISNNGNYTCVVYTPENGRTFHLTRTLTV
KVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVYEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKK
PDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKV
KQKVPAPRYTVEKCKEREKILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKGTITWYKDDSKTPVS
TEQASRIHQHKEKLFVFPKVEDSGHYCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPNLCYNA
QAIFKQKLPVAGDGLVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKDCPLLLDNIHFSGVKDR
LIVMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVIVSPANETMEV
DLGSQIQLICNVTGQLSDIAYWKWNGSVIDEDVPLGEDYYSVENPANKRRSTLITV
LNISEIESRFYKHPFTCAFNTHGIDAAYIQLIYPVTNGGGGSGGGGSGVQLVQSGVE
VKKPGASVKVSCKASGYTFTNYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKF
KNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFYWGQGTTVTVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV

도면5j

YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFF
LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

쇄 2는 ITA103의 쇄 2와 동일하다

ITB102

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNY
STAHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCM
LRNNTYCSKVAFPLEVVQKDSFCFNPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKP
TITWYMGCKYIQNFNNVIPEGMNL SFLIALISNNGNYTCVVYPENGRTFHLTRTLTV
KVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKK
PDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKV
KQKVPAPRYTVEKCKEREKJILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKGTITWYKDDSKTPVS
TEQASRIHQHKEKLVFVPAKVEDSGHYCVVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPNLCYNA
QAIFKQKLPVAGDGLVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKDCPLLLDNIHFSGVKDR
LIVMNVAEKHRGNYTCHASYTLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVIVSPANETMEV
DLGSQIQLICNVTGQSDIAYWKWNGSVIDEDDPVLGEDYYSVENPANKRRSTLITV
LNISEIESRFYKHPFTCF AKNTHGIDAAYIQLIYPVTNGGGGSGGGGSQVQLVESGGG
VVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIYDGSKRYYADSVK
GRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV
FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDK
SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

쇄 2는 ITA104의 쇄 2와 동일하다

ITB103

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWV
RQAPGKGLEWVAVIWIYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTA
VYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVVVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTK
VDKRVESKYGGGSGGGGSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNY
STAHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCM
LRNNTYCSKVAFPLEVVQKDSFCFNPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKP
TITWYMGCKYIQNFNNVIPEGMNL SFLIALISNNGNYTCVVYPENGRTFHLTRTLTV
KVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKK

도면5k

PDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKV
KQKVPAPRYTVEKCKEREKILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKGTITWYKDDSKTPVS
TEQASRIHQHKEKLVFVPAKVEDSGHYCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPNLCYNA
QAIFKQKLPVAGDGLVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKDCKPLLLDNIHFGVKDR
LIVMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVIVSPANETMEV
DLGSIQLICNVTGQLSDIAYWKWNGSVIDEDDPVLGEDYYSVENPANKRRSTLITV
LNISEIESRFYKHPFTCFKANTHGIDAAYIQLIYPVTNSGDKTHTCPPCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

쇄 2는 ITA104의 쇠 2와 동일하다

ITB104

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYMYW
VRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFNKRVTLTDDSSTTAYMELKSLQFDDTA
VYYCARRDYRFDMGFYWGQTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV
DHKPSNTKVDKRVESKYGGGGSGGGSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLF
EHFLKFNYSTAHSAGLTIWYWRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLND
TGNYTCMLRNNTYCSKVAFFLEVYQKDFNSPMKLPVHKLIEYGIQRITCPNVDG
YFPSSVKPTITWYMGYKIQNFNNVIPEGMNLISFLIALISNNGNYTCVVYPENGRTF
HLTRTLTVKVVGPSKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSLMDSRNEV
WWTIDGKKPDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAK
EVAKAAKVKQKVPAPRYTVEKCKEREKILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKGTITWY
KDDSKTPVSTEQASRIHQHKEKLVFVPAKVEDSGHYCVVRNSSYCLRIKISAKFVE
NEPNLCYNAQAIFKQKLPVAGDGLVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKDCKPLLLD
NIHFGVKDRLIVMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVI
VSPANETMEVDLGSQIQLICNVTGQLSDIAYWKWNGSVIDEDDPVLGEDYYSVENP
ANKRRSTLITV LNISEIESRFYKHPFTCFKANTHGIDAAYIQLIYPVTNSGDKTHTCPPC
PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

쇄 2는 ITA103의 쇠 2와 동일하다

도면51

ITB105

MGWSCILFLVATATGVHSSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNY
 STAHSAGLTLIYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCM
 LRNTTYCSKVAFPLEVVQKDFNSPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKP
 TITWYMGYKIQNFNNVIPEGMNL SFLIALISNNGNYTCVVYPENGRTFHLTRTLTV
 KVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKK
 PDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKV
 KQKVPAPRYTVEKCKEREKILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKGTITWYKDDSKTPVS
 TEQASRIHQHKEKLVFVPAKVEDSGHYCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPNLCYNA
 QAIFKQKLPVAGDGGGLVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKDCKPLLLDNIHFSGVKDR
 LIVMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVIVSPANETMEV
 DLGSIQLICNVTGQLSDIAYWKWNGSVIDEDPPVLGEDYYSVENPANKRRSTLITV
 LNISEIESRFYKHPFTCFAKNTHGIDAAYIQLIYPVTNSGDKTHTCPPEPAPEFLGGPSV
 FLFPPKPKDTLMISRTEPVTVCVVVDVSOEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
 NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
 SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSSFFLYSRL
 TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLKGGGGGGGGGSSQVQLVESG
 GGVVQPRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYADS
 VKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLVTVVSSGGGGG
 GGGGGGGGGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ
 APRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQG
 TKVEIK

ITB106

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNY
 STAHSAGLTLIYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCM
 LRNTTYCSKVAFPLEVVQKDFNSPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKP
 TITWYMGYKIQNFNNVIPEGMNL SFLIALISNNGNYTCVVYPENGRTFHLTRTLTV
 KVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKK
 PDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKV
 KQKVPAPRYTVEKCKEREKILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKGTITWYKDDSKTPVS
 TEQASRIHQHKEKLVFVPAKVEDSGHYCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPNLCYNA
 QAIFKQKLPVAGDGGGLVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKDCKPLLLDNIHFSGVKDR
 LIVMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVIVSPANETMEV
 DLGSIQLICNVTGQLSDIAYWKWNGSVIDEDPPVLGEDYYSVENPANKRRSTLITV
 LNISEIESRFYKHPFTCFAKNTHGIDAAYIQLIYPVTNGGGGGGGGSEIVLTQSPATLS
 LSPGERATLSCRASKGVSTSGSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARFSGS
 GSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
 LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLT

도면5m

LSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT
KNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR
WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

쇄 2는 ITA301의 쇠 2와 동일하다

ITB107

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNY
STAHSAGLTLIYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCM
LRNTTYCSKVAFPLEVQKDFNSPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKP
TITWYMGYKIQFNFNPIEGMNLFLIALISNNGNYTCVVYTPENGRITFHLTRTLTV
KVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSLMDSRNEVWWTIDGKK
PDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKV
KQKVPAPRYTVEKCKEREKJILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKGITITWYKDDSKTPVS
TEQASRIHQHKEKLWFVPAKVEDSGHYCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPNLCYNA
QAIFKQKLPVAGDGGLVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKDKCPLLLDNIHFGVSKDR
LIVMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVIVSPANETMEV
DLGSQLICNVGTQLSDIAYWKWNGSVIDEDDPVLGEDYYSVENPANKRRSTLITV
LNISEIESRFYKHPFTCFAKNTHGIDAAYIQLIYPVTNGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLS
LSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD
FTLTISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS
LTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

쇄 2는 ITA302의 쇠 2와 동일하다

ITB108

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK
PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTF
GGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
ECGGGSGGGGSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAGL
TLIYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCMLRNTTYCS

도면5n

KVAFPLEVVQKDSFCNFSMPKLPVHKLIEYGIQRITCPNVDDGYFPSSVKPTITWYMG
CYKIQNFNNVIPEGMNLISFLIALISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPK
NAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDV
TINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVQKVPAP
RYTVEKCKEREKIEILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKGTITWYKDDSKTPVSTEQASRIH
QHKEKLVFVPAKVEDSGHYCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPLCYNAQAIFKQKL
PVAGDGGVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKDCPKLLLDNIHFGVKDRLIVMNVAE
KHRGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVIVSPANETMEVDLGSQIQLI
CNVTGQLSDIAYWKWNGSVIDEDPPVLGEDYYSVENPANKRRSTLITVNLISEIESRF
YKHPFTCFAKNTHGIDAAYIQLIYPVTNSGDKTHTCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK

쇄 2는 ITA302의 쇠 2와 동일하다

ITB109

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHW
YQQKPGQAPRLLIYLASYLESQVPAFSGSGSGTDFLTISLEPEDFAVYYCQHSRD
LPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV
DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
SFNRGECGGGGSGGGGSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTA
HSAGLTLIYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLFWRPTLLNDTGNITCMLRN
TTYCSKVAFPLEVVQKDSFCNFSMPKLPVHKLIEYGIQRITCPNVDDGYFPSSVKPTIT
WYMGYKIQNFNNVIPEGMNLISFLIALISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRTLTVK
VGPKNNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPD
DITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVQ
KVPAPRYTVEKCKEREKIEILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKGTITWYKDDSKTPVSTE
QASRIHQHKEKLVFVPAKVEDSGHYCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPLCYNAQ
AIFKQKLPVAGDGGVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKDCPKLLLDNIHFGVKDRLI
VMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVIVSPANETMEVD
LGSQIQLICNVGTGQLSDIAYWKWNGSVIDEDPPVLGEDYYSVENPANKRRSTLITV
NLISEIESRFYKHPFTCFAKNTHGIDAAYIQLIYPVTNSGDKTHTCPPCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT
VDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK

쇄 2는 ITA301의 쇠 2와 동일하다

도면5p

VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYLSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNTK
VDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTEVTCVVVDVVSQEDP
EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQK
SLSLSLKGKGGGSGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSVYGMNWVR
QAPGKCLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNGLAEDTAV
YYCARDLRTGPFDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPDFQ
SVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTD
FTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFGCGTKVDIK

쇄 2는 ITA104의 쇠 2와 동일하다

ITE202

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWV
RQAPGKGLEWVAIIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTA
VYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYLSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNTK
VDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTEVTCVVVDVVSQEDP
EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQK
SLSLSLKGKGGGSGGGGSEIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQK
DQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTFG
CGTKVDIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFT
FSVYGMNWVRQAPGKCLEWVAIIWYDGDNQYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQM
NGLRAEDTAVYYCARDLRTGPFDYWGQGLTVTVSS

쇄 2는 ITA104의 쇠 2와 동일하다

ITE301

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSEIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQK
PDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTF
GPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
ECGSGQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYFTFTNYMYWVRQAPGQGLEWMG
GINPSNGGTNFKNEKFKNRVLTLDSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDM
GFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYLSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRVE

도면5q

SKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
K

쇄 2 및 쇠 3은 ITA301의 쇠 2 및 쇠 3과 동일하다

ITE302

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSEIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQK
PDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPFTF
GPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
ECGGGSGSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGL
EWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDY
RFDMGFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSKVHTFP AVLQSSGLYSLSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDPHKPSNTKVD
KRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV
QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKG
LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGLK

쇄 2 및 쇠 3은 ITA301의 쇠 2 및 쇠 3과 동일하다

ITF101

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK
PGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTF
GCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGI
TFSNSGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQ
MNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQ
PGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMSWVRQAPGKLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTIS
RDNSKNTLFLQMDSL RPEDTGVYFCARGGVTKGYFDVWGQGTPTVTVSSASTKGPSV
FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFP AVLQSSGLYSLS
SVVTVTPSSSLGKTKYTCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLF
PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSEFFLYSRLTVDK
SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

도면5r

쇄 2

MGWSCILFLVATATGVHSDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASGNIHNYLTWYQQ
TPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSDYFTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYT
FGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL
QSGNSQESVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC

ITF102

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASGNIHNYLTWYQQ
TPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSDYFTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYT
FGCGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGF
IFSSYDMSWVRQAPGKCLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGFRFTISRDNKNTLFLQM
DSLRPEDTG VYFCARGGVTKGYFDVWGQGTPTVSSGGGGSGGGGSQVQLVESGG
GVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKLEWVAVIWDGSKRYYADSV
KGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPS
VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

쇄 2는 ITA104의 쇄 2와 동일하다

ITF103

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMSWVR
QAPGKCLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGFRFTISRDNKNTLFLQMDSL RPEDTG VYF
CARGGVTKGYFDVWGQGTPTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSL
SASVGDVRTITCRASGNIHNYLTWYQQTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGS
TDYFTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYTFGCGTKLEIKGGGGSGGGGSQVQLVESGG
GVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKLEWVAVIWDGSKRYYADSV
KGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPS
VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

도면5s

쇄 2는 ITA104의 쇄 2와 동일하다

ITF201

쇄 1

MGWSCIIIFLVATATGVHVSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWV
RQAPGKGLEWVAVIWIYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTA
VYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNTK
VDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSDQEDP
EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSLGKGGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLTWYQQT
PGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSDYFTFTISLQPEDATYYCQHFWSIPYTF
GCGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFI
FSSYDMSWVRQAPGKCLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTISRDNKNTLFLQMD
SLRPEDTGVYFCARGGVTKGYFDVWGQGPVTVSS

쇄 2는 ITA104와 동일하다

ITF202

쇄 1

MGWSCIIIFLVATATGVHVSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWV
RQAPGKGLEWVAVIWIYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTA
VYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNTK
VDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSDQEDP
EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSLGKGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMSWVRQ
APGKCLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTISRDNKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFC
ARGGVTKGYFDVWGQGPVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLS
ASVGDRVTITCRASGNIHNYLTWYQQTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSDY
FTFTISLQPEDATYYCQHFWSIPYTFGCGTKLEIK

쇄 2는 ITA104와 동일하다

도면5t

ITF301

쇄 1

MGWSCIIHLFLVATATGVHSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTICRASGNIHNYLTWYQQ
TPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSDYDFTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYT
FGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL
QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GECGSGQVQLVQSGVEVKKPGASVKVCSKASGYFTNYYMYWVRQAPGQGLEWM
GGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFD
MGFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV
ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSS
IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSL
GK

쇄 2는 ITA103의 쇄 2와 동일하다

쇄 3

MGWSCIIHLFLVATATGVHSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMSVVR
QAPGKGLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTISRDNKNTLFLQMDSLRPEDTGVYF
CARGGVTKGYFDVWQGTPTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKRVPEPKSC

ITF302

쇄 1

MGWSCIIHLFLVATATGVHSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTICRASGNIHNYLTWYQQ
TPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSDYDFTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSIPYT
FGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL
QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GECGGGSGSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVCSKASGYFTNYYMYWVRQAPGQ
LEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRD
YRFDMGFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKV
DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPE
VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSLGK

도면5u

쇄 2 및 쇠 3은 ITF301의 쇠 2 및 쇠 3과 동일하다

ITF401

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSSSGFIFSSYDMSWVR
QAPGKGLEWVAYISSGGGGTYYPDTVKGRFTISRDNKNTLFLQMDSLRPEDTGVYF
CARGGVTKGYFDVWGQGTPTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPS
NTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKG
VSTSGYSYHLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESQVPRFSGSGSGTDFLTISSELEPDF
AVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYF
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLKADYEEKHKVYACEVT
HQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQPENNYKTPPVV
DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

쇄 2는 ITF101의 쇠 2와 동일하다

쇄 3은 ITA301의 쇠 3과 동일하다

ITF402

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVCSKASGYTFTNYMYW
VRQAPGQGLEWVGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTAYMELKSLQFDDTA
VYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTPTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV
DHPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITTCR
ASGNIHNYLTWYQQTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTDYFTISLQPED
IATYYCQHFWSIPYTFGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYF
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLKADYEEKHKVYACEVT
HQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQPENNYKTPPVV
DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

쇄 2 및 쇠 3은 ITF302의 쇠 2 및 쇠 3과 동일하다

도면5v

ITF403

쇄 1

MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWV
RQAPGKLEWVAVIWIYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTA
VYYCATNDYWGQGTPTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTK
VDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDP
EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITTCRASGNIHN
YLTWYQQTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTDYFTISLQPEDIATYYCQ
HFWSIPYTFGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGECGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQPENNYKTPPVVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

쇄 2는 ITA104의 쇠 2와 동일하다

쇄 3은 ITF402의 쇠 3과 동일하다

도면6a

결합 단백질	요약
ABT-981(Abbvie)	ABT-981은 골관절염(OA) 치료용으로 개발 중인 항 IL-1 알파/β 이중 가변 도메인 면역글로불린(DVD-Ig)이다
아나킨라(Biovitrum)	아나킨라는 제조함 비글리코실화된 인간 인터류킨-1 수용체 길항제이다
아벨루맙(Merck KGaA)	아벨루맙(MSB-0010718C)은 고형 종양 치료용으로 개발된 PD-L1(프로그램된 세포 사멸 리간드)에 대한 MAb이다
BCD-100, (Biocad)	BCD-100은 흑색종, 비소세포 폐암 및 신장 세포 암종 치료용 항-PD1 모노클로날 항체이다
베르메키맙(XBiotech)	베르메키맙(MABp1)은 말초 혈관 질환, 유형 2 당뇨병, 괴저성 농포증, 화농성 한선염, 결장직장암, NSCLC, 췌장암, 건선, 여드름, 아토피성 피부염 및 악액질 치료용 인간 인터류킨-1 알파에 특이적인 인간 IgG1 모노클로날 항체이다
BGB-A333(BeiGene)	BGB-A333은 암 치료용으로 개발 중인 프로그램된 세포 사멸 1-리간드 1((PD-L1)에 대한 인간화 IgG1-변이체 모노클로날 항체이다
캄렐리주맙(Jiangsu Hengrui Medicine)	캄렐리주맙(SHR-1210)은 암 치료용으로 개발 중인 인간화 항-PD1 IgG4 모노클로날 항체이다
카나키누맙(Novartis)	카나키누맙(ACZ-885)은 크리오피린 관련 주기적 증후군(CAPS)(가족성 한랭 두드러기 증후군(FCAS), 머클-웰스 증후군(MWS) 및 신생아 시작 다발계 염증성 질환(NOMID)(만성 영아 신경학적 피부 관절 증후군(CINCA)) 치료용으로 개발된 항-인터류킨-1β 인간 MAb이다

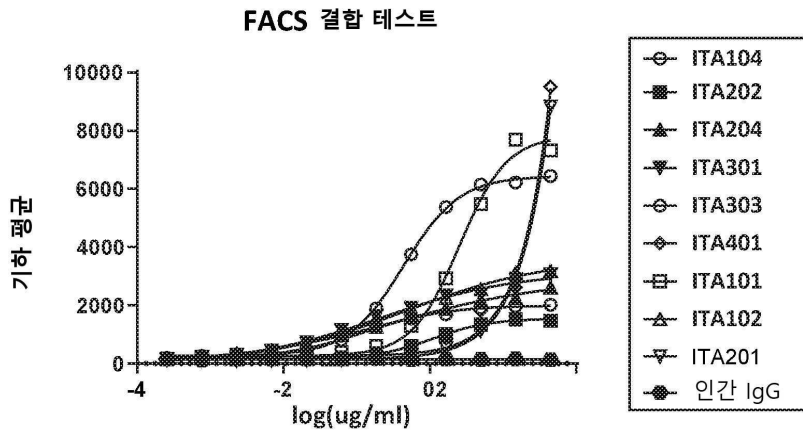
도면6b

세미플리맵(Regeneron)	세미플리맵(REGN-2810)은 암 치료용으로 개발된 PD-1을 표적화하는 완전 인간화 모노클로날 항체이다
CS-1001(CStone Pharmaceuticals)	CS-1001(WBP3155)은 암 치료용으로 개발 중인 완전 인간화된 재조합 항 PD-L1 IgG 모노클로날 항체이다
두르발루맵(MedImmune)	두르발루맵(MEDI-4736)은 암 치료용으로 개발된 항-PDL1 MAb이다
엔마폴리맵(Alphamab)	엔마폴리맵(KN-035)은 암 치료용으로 개발 중인 PDL1을 표적화하는 나노바디이다
게보키주맵(Xoma)	게보키주맵(XOMA-052)은 괴저성 농포증 치료용 인터류킨-1 β (IL-1 β)에 결합하는 항염증성 인간화 IgG2 MAb이다
JNJ-63723283(Johnson & Johnson)	JNJ-3283(JNJ-63723283)은 암 치료용으로 개발 중인 항-PD-1 모노클로날 항체이다
M-7824(Merck KGaA)	M-7824(MSB0011359C)는 암 치료용 PD-L1 모노클로날 항체 및 TGF β 를 표적화하는 이작용성 융합 단백질이다
MEDI-0680(MedImmune)	MEDI-0680(AMP-514)은 암 및 감염성 질환 치료용으로 개발 중인 항-PD-1 모노클로날 항체이다
MGA-012(MacroGenics)	MGA-012는 고형 종양 치료용으로 개발 중인 인간화 항-PD-1 모노클로날 항체이다
니볼루맵(BMS)	니볼루맵(MDX-1106; ONO-4538)은 암 및 만성 바이러스 감염 치료용 PD-1에 대한 완전-인간 IgG4 MAb이다.
렐로나셉트(Regeneron)	렐로나셉트(RGN-303; Arcalyst)는 크리오피린 관련 주기적 증후군(CAPS), 머클-웰스 증후군(MWS), 가족성 한랭 염증성 증후군(FCAS) 및 특정 기타 상태를 포함하는 희귀 염증성 장애의 스펙트럼 치료용인 인터류킨-1a 및 인터류킨-1b의 활성을 차단하는 인간 사이토카인 트랩 단백질이다

도면6c

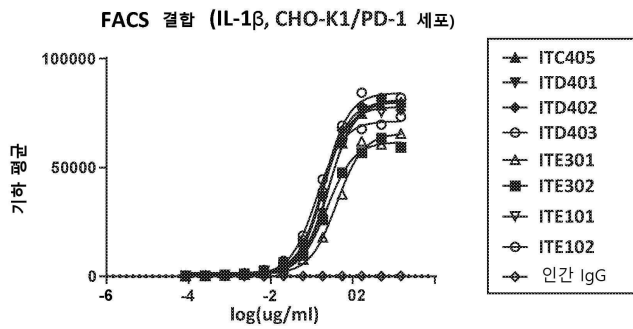
신틸리맵(Innovent Biologics)	신틸리맵은 암 치료용으로 개발된 완전 인간 항-PD-1 모노클로날 항체이다
SOBI-006(Affibody)	SOBI-006은 염증성 및 자가면역 질환 치료용으로 개발 중인 인터류킨-1(IL-1) 억제제이다
스파르탈리주맵(Novartis)	스파르탈리주맵(PDR-001)은 암 치료용으로 개발 중인 PD-1 인간화 IgG4 항체이다

도면7



	ITA104	ITA202	ITA204	ITA301	ITA303	ITA401	ITA101	ITA102
EC50	0.1268	1.090	0.3688	0.2153	0.4375	~ 124541	2.541	0.4724

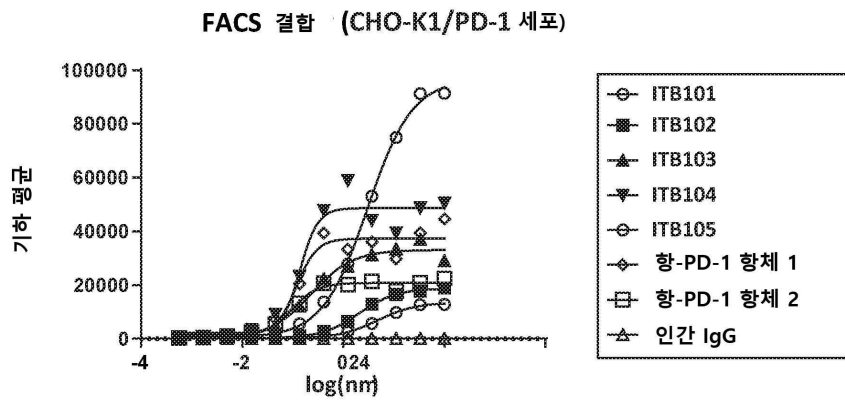
도면8



	ITC405	ITD401	ITD402	ITD403
EC50	0.2576	0.2680	0.1984	0.1977

	ITE301	ITE302	ITE101	ITE102
EC50	0.4063	0.2365	0.1893	0.1314

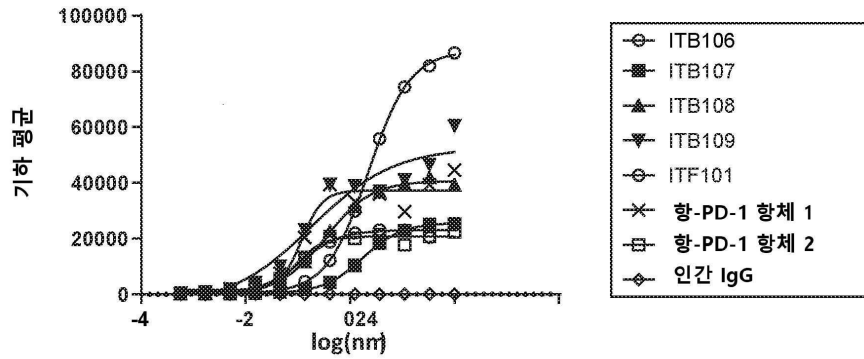
도면9a



	ITB101	ITB102	ITB103	ITB104	ITB105	항-PD-1 항체 1	항-PD-1 항체 2	인간 IgG
EC50	3.024	2.068	0.2304	0.1394	4.739	0.1188	0.09180	26.15

도면9b

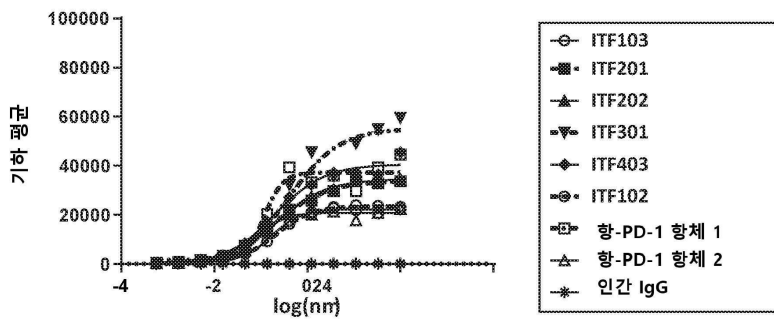
FACS 결합 (CHO-K1/PD-1 세포)



	ITB106	ITB107	ITB108	ITB109	ITF101	항-PD-1 항체 1	항-PD-1 항체 2	인간 IgG
EC50	2.244	1.752	0.3413	0.1852	0.1149	0.1188	0.09180	26.15

도면9c

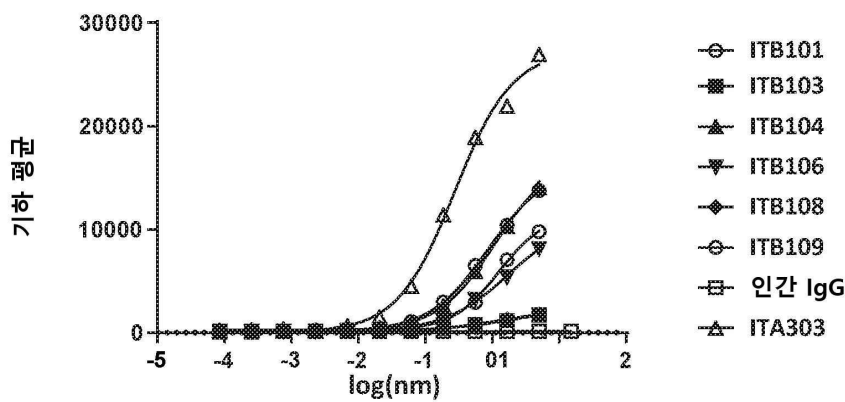
FACS 결합 (CHO-K1/PD-1 세포)



	ITF103	ITF201	ITF202	ITF301	ITF403	ITF102	항-PD-1 항체 1	항-PD-1 항체 2	인간 IgG
EC50	0.1716	0.2061	0.2088	0.3939	0.2014	0.2090	0.1188	0.09180	26.15

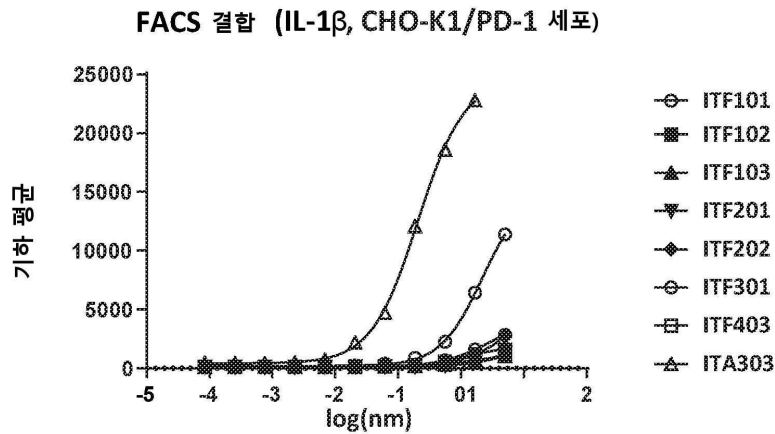
도면10a

FACS 결합 (IL-1 β , CHO-K1/PD-1 세포)



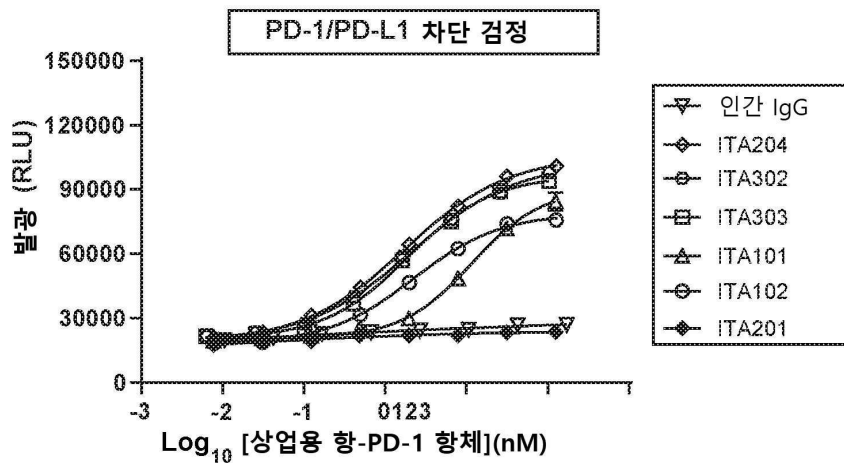
	ITB101	ITB103	ITB104	ITB106	ITB108	ITB109	인간 IgG	ITA303
EC50	1.260	2.893	1.092	1.715	1.472	0.8741	~ 3.022e+019	0.2762

도면10b



	ITF101	ITF102	ITF103	ITF201	ITF202	ITF301	ITF403	ITA303
EC50	2.620	1.122	2.344	~ 11565	6.566	2.174	~ 55712	0.2049

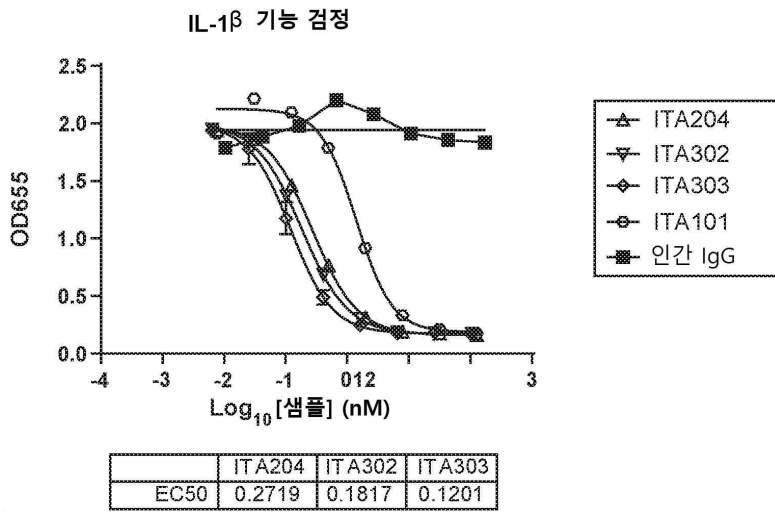
도면11



	인간 IgG
EC50	~ 1.065e-019

ITA204	ITA302	ITA303	ITA101	ITA102	ITA201
1.751	2.118	1.927	11.81	2.239	0.01105

도면12a



도면12b

