



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0135830
(43) 공개일자 2020년12월03일

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

(52) CPC특허분류
C07K 16/2833 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2020-7030133

(22) 출원일자(국제) 2019년03월22일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2020년10월20일

(86) 국제출원번호 PCT/US2019/023693

(87) 국제공개번호 WO 2019/183551
국제공개일자 2019년09월26일

(30) 우선권주장
62/647,556 2018년03월23일 미국(US)
62/667,170 2018년05월04일 미국(US)

(71) 출원인
브리스톨-마이어스 스퀵 컴퍼니
미국 뉴저지 (우편번호 08540-4000) 프린스턴 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 피.오. 박스 4000

(72) 발명자
쿠네, 미셸 레네
미국 94116 캘리포니아주 샌프란시스코 21번 에비뉴 2368
코먼, 알란 제이.
미국 94611 캘리포니아주 피드몬트 오클랜드 에비뉴 1207
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
양영준, 심미성

전체 청구항 수 : 총 109 항

(54) 발명의 명칭 MICA 및/또는 MICB에 대한 항체 및 그의 용도

(57) 요약

개시내용은 인간 MICA/B에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 사용 방법을 제공한다. 일부 측면에서, 개시내용은 대상체에게 항-MICA/B 항체를 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

C07K 16/2818 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/52 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/72 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
C07K 2317/94 (2013.01)

(72) 발명자

후양, 하이춘

미국 94539 캘리포니아주 프레몬트 수에노 웨이
2425

인, 이밍

미국 01810 매사추세츠주 앤도버 애쉬포드 레인 11

그라지아노, 로버트 에프.

미국 08825 뉴저지주 프렌치타운 킹스리지 로드 26

베즈만, 나탈리 에이.

미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드
700

스트롭, 파벨

미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드
700

후양, 리처드 와이.

미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로
빈스 라인 로드

첸, 귀둥

미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로
빈스 라인 로드

스리니바산, 모한

미국 95014 캘리포니아주 쿠파티노 글렌뷰 애비뉴
10358

이, 피터 성 근

미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드
700

캄데레, 강제 오즐렘

미국 93012 캘리포니아주 카마릴로 락햄튼 드라이브
3411

명세서

청구범위

청구항 1

중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 인간 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 A (MICA) 및/또는 인간 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 B (MICB)에 특이적으로 결합하는 항체이며; 여기서 VH는 VH 상보성 결정 영역 (CDR) 1, VH-CDR2, 및 VH-CDR3을 포함하고, VL은 VL-CDR1, VL-CDR2, 및 VL-CDR3을 포함하고; 여기서 VH-CDR3은 서열식별번호: 7, 17, 27, 37, 및 47로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, VH-CDR2가 서열식별번호: 6, 16, 26, 36, 및 46으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, VH-CDR1이 서열식별번호: 5, 15, 25, 35, 및 45로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, VL-CDR1이 서열식별번호: 8, 18, 28, 38, 및 48로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, VL-CDR2가 서열식별번호: 9, 19, 29, 39, 및 49로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, VL-CDR3이 서열식별번호: 10, 20, 30, 40, 및 50으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) VH-CDR1이 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2가 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR3이 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1이 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR2가 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3이 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;

(b) VH-CDR1이 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2가 서열식별번호: 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR3이 서열식별번호: 17에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1이 서열식별번호: 18에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR2가 서열식별번호: 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3이 서열식별번호: 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;

(c) VH-CDR1이 서열식별번호: 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2가 서열식별번호: 26에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR3이 서열식별번호: 27에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1이 서열식별번호: 28에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR2가 서열식별번호: 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3이 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;

(d) VH-CDR1이 서열식별번호: 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2가 서열식별번호: 36에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR3이 서열식별번호: 37에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1이 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR2가 서열식별번호: 39에 제시된 아미노산 서열을

포함하고, VL-CDR3이 서열식별번호: 40에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(e) VH-CDR1이 서열식별번호: 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2가 서열식별번호: 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR3이 서열식별번호: 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1이 서열식별번호: 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR2가 서열식별번호: 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3이 서열식별번호: 50에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인

항체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

- (a) 항체가 종양 세포에 의한 MICA의 유출을 억제함;
- (b) 항체가 종양 세포 상의 막 결합된 MICA를 증가시킴;
- (c) 항체가 환자에서 혈청 내의 가용성 MICA 수준을 감소시킴;
- (d) 항체가 증진된 ADCC 및/또는 ADCP를 매개함;
- (e) 항체가 세포에 의한 증진된 항원 프로세싱 및/또는 교차-제시를 매개함;
- (f) 항체가 종양 성장 및/또는 전이를 억제함;
- (g) 항체가 종양 부피를 감소시킴;
- (h) 항체가 무진행 생존을 증가시킴;
- (i) 항체가 전체 생존을 증가시킴; 및
- (j) 그의 임의의 조합

으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 특성을 갖는 항체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, VH가 서열식별번호: 2, 12, 22, 32, 및 42로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, VH가 서열식별번호: 2, 12, 22, 32, 및 42로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, VL이 서열식별번호: 4, 14, 24, 34, 및 44로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, VL이 서열식별번호: 4, 14, 24, 34, 및 44로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

- (a) VH가 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;
- (b) VH가 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열식별번호: 14에 제시된 아미노산 서

열을 포함하거나;

(c) VH가 서열식별번호: 22에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열식별번호: 24에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;

(d) VH가 서열식별번호: 32에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열식별번호: 34에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(e) VH가 서열식별번호: 42에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열식별번호: 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인

항체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) 항체가 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하거나;

(b) 항체가 서열식별번호: 130에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하거나;

(c) 항체가 서열식별번호: 62에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하거나;

(d) 항체가 서열식별번호: 66에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하거나; 또는

(e) 항체가 서열식별번호: 70에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 72에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 것인

항체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 G254, D255, L257, Y264, W267로 이루어진 군으로부터 선택된 인간 MICA의 1개 이상의 아미노산 잔기 및 그의 임의의 조합을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 G254, D255, L257, Y264 및 W267을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 아미노산 잔기 W150-M163을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 아미노산 잔기 Y231-T238을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 아미노산 잔기 D255-Q265를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 20

제19항에 있어서, 에피토프가 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 아미노산 잔기 W253-W267을 포함하는 것인 항체.

청구항 21

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 L201-N220을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 22

제1항 내지 제14항 및 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 T238-Q252를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 23

제1항 내지 제14항, 제21항 및 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 L201-N220 및 T238-Q252를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 24

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 R240, Q241, D242, V244, 및 R279를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 25

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 P258, G260, G262, 및 Y264를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 26

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269로부터 선택된 적어도 1개의 잔기를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 27

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269로부터 선택된 적어도 2개의 잔기를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 28

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269로부터 선택된 적어도 3개의 잔기를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 29

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합하는 항체.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 약 1×10^{-4} M M 이하의 K_D 로 인간 MICA에 특이적으로 결합하며, 여

기서 K_D 는 표면 플라즈몬 공명 (비아코어) 분석에 의해 측정된 것인 항체.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 약 1×10^{-4} M 1/Ms 이상의 온 레이트 (k_{on})로 인간 MICA에 특이적으로 결합하며, 여기서 k_{on} 레이트는 표면 플라즈몬 공명 (비아코어) 분석에 의해 측정된 것인 항체.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 약 1×10^{-4} M 1/s 이하의 오프 레이트 (k_{off})로 인간 MICA에 특이적으로 결합하며, 여기서 k_{off} 는 표면 플라즈몬 공명 (비아코어) 분석에 의해 측정된 것인 항체.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 또는 그의 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된 항체.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1 항체인 항체.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 비푸코실화된 항체.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 중쇄 내에 불변 영역을 포함하고, 여기서 불변 영역은 서열식별번호: 58의 잔기 234에 상응하는 위치에서 G에서 A로의 돌연변이를 포함하는 것인 항체.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체인 항체.

청구항 38

중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 인간 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 A (MICA) 및/또는 인간 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 B (MICB)에 특이적으로 결합하는 항체이며; 여기서 VH는 VH 상보성 결정 영역 (CDR) 1, VH-CDR2, 및 VH-CDR3을 포함하고, VL은 VL-CDR1, VL-CDR2, 및 VL-CDR3을 포함하고; 여기서

- VH-CDR1은 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하고,
- VH-CDR2는 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하고,
- VH-CDR3은 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하고,
- VL-CDR1은 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하고,
- VL-CDR2는 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하고,
- VL-CDR3은 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하고;

여기서 항체는 비푸코실화된 것인 항체.

청구항 39

제38항에 있어서, VH가 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 40

제39항에 있어서, 서열식별번호: 58의 잔기 234에 상응하는 위치에서 G에서 A로의 돌연변이를 포함하는 중쇄 내의 불변 영역을 포함하는 항체.

청구항 41

제38항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체.

청구항 42

제38항 또는 제39항에 있어서, 서열식별번호: 130에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체.

청구항 43

제41항 또는 제42항에 있어서, 비푸코실화된 항체.

청구항 44

제41항 또는 제42항에 있어서, 저푸코실화된 항체.

청구항 45

서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 인간 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 A (MICA) 및/또는 인간 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 B (MICB)에 특이적으로 결합하는 항체이며; 비푸코실화된 항체.

청구항 46

제43항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 푸코실트랜스퍼라제의 발현이 감소 또는 제거된 세포주에 의해 생산된 항체.

청구항 47

제43항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, FUT8 유전자가 결여되거나 또는 기능적으로 파괴된 FUT8 유전자 (α -(1,6) 푸코실트랜스퍼라제를 코딩함)를 갖는 세포주에 의해 생산된 항체.

청구항 48

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항의 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트.

청구항 49

제48항의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트를 포함하는 벡터 또는 벡터의 세트.

청구항 50

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항의 항체, 제48항의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트, 또는 제49항의 벡터 또는 벡터의 세트를 포함하는 숙주 세포.

청구항 51

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항의 항체 및 치료제를 포함하는 면역접합체.

청구항 52

제51항에 있어서, 치료제가 세포독소, 비-세포독성 약물, 방사성 작용제, 제2 항체, 효소, 항신생물제, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 면역접합체.

청구항 53

제52항에 있어서, 세포독소가 돌라스타틴, 모노메틸 아우리스타틴 E (MMAE), 메이탄신, 두오카르마이신, 칼리케아미신, 피롤로벤조디아제핀, 두오카르마이신, 센타나마이신, SN38, 독소루비신, 그의 유도체, 그의 합성 유사체, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 면역접합체.

청구항 54

제53항에 있어서, 세포독소가 세포독소 A를 포함하는 것인 면역접합체.

청구항 55

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항의 항체, 제48항의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트, 제49항의 벡터 또는 벡터의 세트, 또는 제51항 내지 제54항 중 어느 한 항의 면역접합체, 및 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 56

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항의 항체 및 제2 항체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 57

제56항에 있어서, 제2 항체가 PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG3, TIGIT, TIM3, NKG2a, OX40, ICOS, CD137, KIR, TGF β, IL-10, IL-8, B7-H4, Fas 리간드, CXCR4, 메소텔린, CD27, GITR, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질에 특이적으로 결합하는 것인 제약 조성물.

청구항 58

제56항 또는 제57항에 있어서, 제2 항체가 항-PD-1 항체를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 59

제56항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 항체가 니볼루맵 또는 펌브롤리주맵을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 60

제56항 또는 제57항에 있어서, 제2 항체가 항-PD-L1 항체를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 61

제56항 또는 제57항에 있어서, 제2 항체가 항-CTLA-4 항체를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 62

제61항에 있어서, 항-CTLA-4 항체가 트레멜리루맵 또는 이필리루맵을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 63

제56항 또는 제57항에 있어서, 제2 항체가 항-LAG-3 항체를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 64

제63항에 있어서, 항-LAG-3 항체가 25F7을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 65

제56항 또는 제57항에 있어서, 제2 항체가 항-CD137 항체를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 66

제65항에 있어서, 항-CD137 항체가 우렐루맵을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 67

제56항 또는 제57항에 있어서, 제2 항체가 항-KIR 항체를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 68

제57항에 있어서, 항-KIR 항체가 리틸루맵을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 69

제56항 또는 제57항에 있어서, 제2 항체가 항-GITR 항체를 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 70

제69항에 있어서, 항-GITR 항체가 MK4166 또는 TRX518을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 71

제55항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 림프내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외, 흉골내, 국소, 표피, 또는 점막 투여를 위해 제제화된 제약 조성물.

청구항 72

암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 제1항 내지 제47항 중 어느 한 항의 항체, 제48항의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트, 제49항의 벡터 또는 벡터의 세트, 제50항의 숙주 세포, 제51항 내지 제54항 중 어느 한 항의 면역접합체, 또는 제55항 내지 제71항 중 어느 한 항의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 73

제72항에 있어서, 암이 종양을 포함하는 것인 방법.

청구항 74

제72항 또는 제73항에 있어서, 암이 소세포 폐암 (SCLC), 비소세포 폐암 (NSCLC), 편평 NSCLC, 비편평 NSCLC, 신경교종, 위장암, 신암, 투명 세포 암종, 난소암, 간암, 결장직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포 암종 (RCC), 전립선암, 호르몬 불응성 전립선 선암종, 갑상선암, 신경모세포종, 췌장암, 교모세포종 (다형성 교모세포종), 자궁경부암, 위암, 방광암, 간세포암 (간세포성 암종), 유방암, 결장 암종, 두경부암 (또는 암종), 두경부 편평 세포 암종 (HNSCC), 위암, 배세포 종양, 소아 육종, 부비동비강 자연 킬러, 흑색종, 전이성 악성 흑색종, 피부 또는 안내 악성 흑색종, 증피종, 골암, 피부암, 자궁암, 항문부암, 고환암, 난관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 식도암, 소장암, 내분비계암, 부갑상선암, 부신암, 연부 조직 육종, 요도암, 음경암, 소아기 고형 종양, 요관암, 신우 암종, 중추 신경계 (CNS) 신생물, 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관신생, 척수축 종양, 뇌암, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 표피양암, 편평 세포암, 석면에 의해 유발된 것을 포함한 환경적으로 유발된 암, 바이러스-관련 암 또는 바이러스 기원의 암, 인간 유두종 바이러스 (HPV)-관련 또는 -기원 종양, 및 상기 암의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 75

제72항 또는 제73항에 있어서, 암이 급성 백혈병 (ALL), 급성 골수 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 및 만성 골수 백혈병 (CML), 미분화 AML, 골수모구성 백혈병, 골수모구성 백혈병, 전골수구성 백혈병, 골수단핵구성 백혈병, 단핵구성 백혈병, 적백혈병, 거핵모구성 백혈병, 고립성 과립구성 육종, 녹색종, 호지킨 림프종 (HL), 비-호지킨 림프종 (NHL), B-세포 림프종, T-세포 림프종, 림프형질세포양 림프종, 단핵구성 B-세포 림프종, 점막-연관 림프성 조직 (MALT) 림프종, 역형성 대세포 림프종, 성인 T-세포 림프종/백혈병, 외투 세포 림프종, 혈관면역모세포성 T-세포 림프종, 혈관중심성 림프종, 장 T-세포 림프종, 원발성 증격 B-세포 림프종, 전구 체 T-림프모구성 림프종, T-림프모구성; 말초 T- 세포 림프종, 림프모구성 림프종, 이식후 림프증식성 장애, 진성 조직구성 림프종, 원발성 중추 신경계 림프종, 원발성 삼출 림프종, 림프모구성 림프종 (LBL), 림프계의 조혈 종양, 급성 림프모구성 백혈병, 미만성 대 B-세포 림프종, 버킷 림프종, 여포성 림프종, 미만성 조직구성 림

프종 (DHL), 면역모세포성 대세포 림프종, 전구체 B-림프모구성 림프종, 피부 T-세포 림프종 (CTLC), 발덴스트롬 마크로볼린혈증 동반 림프형질세포양 림프종 (LPL); 골수종, IgG 골수종, 경쇄 골수종, 비분비성 골수종, 무증상 골수종 (무통성 골수종), 고립형질세포종, 다발성 골수종, 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 모발상 세포 림프종; 및 상기 암의 임의의 조합으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 76

제72항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 비소세포 폐암 (NSCLC), 두경부 편평 세포 암종 (HNSCC), 흑색종, 방광암, 췌장암, 위암, 결장암, 신세포 암종 (RCC), 소세포 폐암 (SCLC), 중피종, 간세포성 암종, 전립선암, 다발성 골수종, 및 상기 암의 조합으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 77

제72항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 비소세포 폐암 (NSCLC), 두경부 편평 세포 암종 (HNSCC), 흑색종, 방광암, 췌장암, 위암, 결장암, 및 상기 암의 조합으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 78

종양 세포에 의한 MICA의 유출의 억제를 필요로 하는 대상체에게 제1항 내지 제47항 중 어느 한 항의 항체, 제48항의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트, 제49항의 벡터 또는 벡터의 세트, 제50항의 숙주 세포, 제51항 내지 제54항 중 어느 한 항의 면역접합체, 또는 제55항 내지 제71항 중 어느 한 항의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 종양 세포에 의한 MICA의 유출의 억제를 필요로 하는 대상체에서 종양 세포에 의한 MICA의 유출을 억제하는 방법.

청구항 79

혈청 내의 유출된 MICA의 감소 및/또는 종양 세포 표면 상의 MICA의 유지를 필요로 하는 대상체에게 제1항 내지 제47항 중 어느 한 항의 항체, 제48항의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트, 제49항의 벡터 또는 벡터의 세트, 제50항의 숙주 세포, 제51항 내지 제54항 중 어느 한 항의 면역접합체, 또는 제55항 내지 제71항 중 어느 한 항의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 혈청 내의 유출된 MICA의 감소 및/또는 종양 세포 표면 상의 MICA의 유지를 필요로 하는 대상체에서 혈청 내의 유출된 MICA를 감소시키고/거나 종양 세포 표면 상에 MICA를 유지시키는 방법.

청구항 80

종양 세포의 사멸을 필요로 하는 대상체에게 제1항 내지 제47항 중 어느 한 항의 항체, 제48항의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트, 제49항의 벡터 또는 벡터의 세트, 제50항의 숙주 세포, 제51항 내지 제54항 중 어느 한 항의 면역접합체, 또는 제55항 내지 제71항 중 어느 한 항의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 종양 세포의 사멸을 필요로 하는 대상체에서 종양 세포를 사멸시키는 방법.

청구항 81

제78항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 비소세포 폐암 (NSCLC), 두경부 편평 세포 암종 (HNSCC), 흑색종, 방광암, 췌장암, 위암, 결장암, 신세포 암종 (RCC), 소세포 폐암 (SCLC), 중피종, 간세포성 암종, 전립선암, 다발성 골수종, 및 상기 암의 조합으로부터 선택된 암을 갖는 것인 방법.

청구항 82

제67항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 항체, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트, 벡터 또는 벡터의 세트, 숙주 세포, 면역접합체, 또는 제약 조성물이 정맥내로, 복강내로, 근육내로, 동맥내로, 척수강내로, 림프관내로, 병변내로, 피막내로, 안와내로, 심장내로, 피내로, 경기관으로, 피하로, 각피하로, 관절내로, 피막하로, 지주막하로, 척수내로, 경막외로, 흉골내로, 국소로, 표피로, 또는 점막으로 투여되는 것인 방법.

청구항 83

제72항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 인간인 방법.

청구항 84

제72항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 제2 요법을 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 85

제84항에 있어서, 제2 요법이 유도성 T 세포 공동-자극제 (ICOS), CD137 (4-1BB), CD134 (OX40), NKG2A, CD27, CD96, 글루코코르티코이드-유도된 TNFR-관련 단백질 (GITR), 및 포진 바이러스 진입 매개체 (HVEM), 프로그램화된 사멸-1 (PD-1), 프로그램화된 사멸 리간드-1 (PD-L1), CTLA-4, B 및 T 림프구 감쇠자 (BTLA), T 세포 이뮤노글로불린 및 뮤신 도메인-3 (TIM-3), 림프구 활성화 유전자-3 (LAG-3), 아테노신 A2a 수용체 (A2aR), 킬러 세포 렉틴-유사 수용체 G1 (KLRG-1), 자연 킬러 세포 수용체 2B4 (CD244), CD160, Ig 및 ITIM 도메인을 갖는 T 세포 면역수용체 (TIGIT), 및 T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제제 (VISTA)에 대한 수용체, KIR, TGFβ, IL-10, IL-8, B7-H4, Fas 리간드, CXCR4, 메소텔린, CEACAM-1, CD52, HER2, 및 그의 임의의 조합으로부터 선택된 단백질에 특이적으로 결합하는 항체의 유효량을 포함하는 것인 방법.

청구항 86

제84항 또는 제85항에 있어서, 제2 치료제가 항-PD-1 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 87

제84항 또는 제85항에 있어서, 제2 치료제가 니볼루맵 또는 펌브롤리주맵을 포함하는 것인 방법.

청구항 88

제84항 또는 제85항에 있어서, 제2 치료제가 항-PD-L1 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 89

제84항 또는 제85항에 있어서, 제2 치료제가 아테졸리주맵, 두르발루맵, 및 아벨루맵으로부터 선택된 항-PD-L1 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 90

제84항 또는 제85항에 있어서, 제2 치료제가 항-CTLA-4 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 91

제84항 또는 제85항에 있어서, 제2 치료제가 트레멜리주맵 또는 이필리주맵을 포함하는 것인 방법.

청구항 92

제84항 또는 제85항에 있어서, 제2 치료제가 항-LAG-3 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 93

제92항에 있어서, 항-LAG-3 항체가 25F7을 포함하는 것인 방법.

청구항 94

제84항 또는 제85항에 있어서, 제2 치료제가 항-CD137 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 95

제84항 또는 제85항에 있어서, 항-CD137 항체가 우렐루맵을 포함하는 것인 방법.

청구항 96

제84항 또는 제85항에 있어서, 제2 치료제가 항-KIR 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 97

제84항 또는 제85항에 있어서, 항-KIR 항체가 리릴루맵을 포함하는 것인 방법.

청구항 98

제84항 또는 제85항에 있어서, 제2 치료제가 항-GITR 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 99

제98항에 있어서, 항-GITR 항체가 MK4166 또는 TRX518을 포함하는 것인 방법.

청구항 100

제84항에 있어서, 제2 요법이 암에 대한 화학요법제, 방사선, 선천성 면역 세포를 활성화시키는 작용제, 및/또는 NK 및/또는 CD8+ T-세포의 생존을 증진시키는 작용제를 포함하는 것인 방법.

청구항 101

제100항에 있어서, 제2 요법이 종양 세포 상에서 MICA/B 발현을 유도하는 화학요법제를 포함하는 것인 방법.

청구항 102

제100항 또는 제101항에 있어서, 제2 요법이 프로테아솜 억제제, IMiD, 및 Bet 억제제로부터 선택된 화학요법제를 포함하는 것인 방법.

청구항 103

제102항에 있어서, 프로테아솜 억제제가 보르테조미딘 방법.

청구항 104

제100항에 있어서, 제2 요법이 PEG화 IL-10 및 IL-10-Fc 융합체를 포함하는 것인 방법.

청구항 105

제100항에 있어서, 제2 요법이 PEG화 IL-2로부터 선택된 NK 및/또는 CD8+ T-세포의 생존을 증진시키는 작용제를 포함하는 것인 방법.

청구항 106

제84항에 있어서, 제2 요법이 독소루비신 (아드리아마이신®), 시스플라틴, 카르보플라틴, 블레오마이신 술페이트, 카르무스틴, 클로람부실 (류케란®), 시클로포스파미드 (시톡산®; 네오사르®), 레날리도미드 (레블리미드®), 보르테조미 (벨케이드®), 텍사메타손, 미톡산트론, 에토포시드, 시타라빈, 벤다무스틴 (트레안다®), 리톡시맙 (리톡산®), 이포스파미드, 빈크리스틴 (온코빈®), 플루다라빈 (플루다라®), 탈리도미드 (탈로미드®), 알렘투주맙 (캄파트®), 오파투무맙 (아르제라®), 에베물리무스 (아피니토르®, 조르트레스®), 및 카르필조미 (키프롤리스™)으로부터 선택된 작용제를 포함하는 것인 방법.

청구항 107

제84항에 있어서, 제2 요법이 IDO 길항제를 포함하는 것인 방법.

청구항 108

숙주 세포에서 제48항의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트 또는 제49항의 벡터 또는 벡터의 세트를 적합한 조건 하에 발현시키는 것을 포함하는, 항체를 제조하는 방법.

청구항 109

제108항에 있어서, 항체를 수집하는 것을 추가로 포함하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] EFS-웹을 통해 전자적으로 제출된 서열 목록에 대한 참조

[0002] 본 출원과 함께 출원된 ASCII 텍스트 파일의 전자적으로 제출된 서열 목록 (명칭: 3338_10IPC02_Seqlisting_ST25.txt; 크기: 154,660 바이트; 및 생성일: 2019년 3월 18일)의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

배경 기술

[0003] 주요 조직적합성 복합체 부류 I쇄-관련 A 및 B (MICA/B)는 MHC 부류 I 당단백질과 관련된 고도로 다형성인 세포 표면 단백질이다. 이들은 3개의 세포외 도메인 ($\alpha 1$, $\alpha 2$, 및 $\alpha 3$), 막횡단 영역 및 세포질 꼬리를 함유하고, NK, $\gamma \delta$ T, CD8+ $\alpha \beta$ T, 및 NKT 세포 상에서 발견되는 활성화 수용체, NKG2D를 자극하는 리간드로서 작용한다. 통상적으로, MICA/B는 상피, 내피, 섬유모세포 및 골수 세포 상에서 낮은 수준으로 구성적으로 발현된다. 그러나, 이들은 스트레스 조건에서, 예컨대 발암, 감염, DNA 손상 반응 동안 및 자가면역 조건에서 상향조절되거나 신생 발현된다. 따라서, MICA/B 발현은 세포 스트레스의 신호로서의 역할을 하고, MICA/B에 의한 NKG2D의 결합은 NK 세포를 촉발시키고 T 세포를 공동-자극하여, 면역 이펙터 기능, 예컨대 세포독성 및 시토키인 생산을 발생시킨다. 문헌 [Bauer, Science 1999; 285: 727-9. Diefenbach et al., Nat Immunol. 2000; 1:119-26. Groh et al., Nat Immunol. 2001; 2:255-60]. 그러나, 종양 세포는 세포 표면으로부터 MICA/B를 절단하여 MICA/B 표면 밀도의 감소 및 가용성 MICA/B (sMICA/B)의 생성 둘 다를 발생시키고, 이는 세포독성 이펙터 세포 상의 NKG2D를 하향조절함으로써, NKG2D에 의해 매개되는 반응을 막는 메카니즘을 갖는다. 문헌 [Groh et al., Nature 2002; 419:734-8. Salih, J. Immunol. 2002; 169:4098-4102]. 종양 세포 상에서, MICA/B의 $\alpha 3$ 도메인은 디스퍼드 이소머라제/샤페론, 내형질 세망 단백질 5 (ERp5)와 상호작용하여, 디스인테그린 및 메탈로프로테이나제, ADAM10 및 ADAM17을 비롯한 프로테아제에 의한 MICA/B의 절단을 가능하게 하는 입체 형태적 변화를 유도한다. 문헌 [Kaiser, Nature 2007; 447:482-6].

[0004] 현재, 79개의 단백질 변이체를 코딩하는 MICA의 약 100개의 대립유전자 및 26개의 단백질 변이체를 코딩하는 MICB의 40개의 대립유전자가 확인되었다 (European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI) Immuno Polymorphism Database: <https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/stats.html> (accessed on 08 Dec. 2017)). MICA/B의 발현은 광범위한 종양 유형에서 보고되었으며, 높은 발현은 불량한 예후와 연관된다. 문헌 [Spear, Cancer Immunity 2013; 13. Ghadially et al., Br. J. Cancer 2017; 116:1208-17]. 높은 농도의 sMICA에의 지속적인 노출은 CD8 T 및 NK 세포에 대한 NKG2D 활성을 감소시키는 것으로 나타났기 때문에, sMICA/B의 생성은 종양 면역 회피의 메카니즘으로 생각되었다. 문헌 [Groh et al., Nat. Immunol. 2001; 2:255-60. Salih, J. Immunol. 2002; 169:4098-4102]. sMICA/B 단백질은 흑색종, 폐, 결장, 난소, 유방, 전립선 및 골수종을 비롯한 많은 인간 종양 유형에서 확인되었다. 문헌 [Zhang et al., Sci. Adv. 2017; 3:e1602133]. sMICA의 수준은 항-CTLA-4 항체, 이필리무맙으로 치료받은 전이성 흑색종을 갖는 환자에서 불량한 생존과 상관관계가 있었다. 문헌 [Koguchi, Cancer Res. 2015; 75:5084-92]. 또한, 이필리무맙에 반응한 흑색종 환자는 요법-유도된 항-MICA/B 항체를 생성하는 것으로 나타났고; 이들 환자 중 일부는 sMICA 수준의 감소를 경험하였고, 항종양 활성의 임상 증거를 입증하였다. 문헌 [Zhang et al., Sci. Adv. 2017; 3:e1602133. Jinushi, PNAS. 2006; 103:9190-9195].

[0005] 바이러스 및 종양이 NKG2D에 의한 검출을 피하는 메카니즘을 고안했다는 점은 NK 및 T 세포의 NKG2D-의존성 활성화를 복구시키거나 증진시키기 위한 치료 전략이 유익할 수 있다는 것을 나타낸다. 따라서, MICA/B가 NKG2D에 생산적으로 결합되어 환자에서 증진된 항종양 활성을 발생시킬 수 있도록, MICA/B 상의 ERp5 결합 부위에 근접한 영역에 결합하는 항-MICA/B 항체를 생성 및 선택하고/거나 MICA/B를 세포 표면에 유지시키는 것이 필요하다.

발명의 내용

[0006] 본 개시내용의 한 측면은 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 인간 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 A (MICA) 및/또는 인간 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 B (MICB)에 특이적으로 결합하는 항체에 관한 것이며; 여기서 VH는 VH 상보성 결정 영역 (CDR) 1, VH-CDR2, 및 VH-CDR3을 포함하고, VL은 VL-CDR1, VL-CDR2, 및 VL-CDR3을 포함하고; 여기서 VH-CDR3은 서열식별번호(SEQ ID NO): 7, 17, 27, 37, 및 47로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, VH-CDR2는 서열식별번호: 6, 16, 26, 36, 및 46으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, VH-CDR1은 서열식별번호: 5, 15, 25, 35, 및 45로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, VL-CDR1은 서열식별번호: 8, 18, 28, 38, 및 48로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부

실시양태에서, VL-CDR2는 서열식별번호: 9, 19, 29, 39, 및 49로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, VL-CDR3은 서열식별번호: 10, 20, 30, 40, 및 50으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0007] 일부 실시양태에서, (a) VH-CDR1은 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR3은 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR2는 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; (b) VH-CDR1은 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열식별번호: 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR3은 서열식별번호: 17에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열식별번호: 18에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR2는 서열식별번호: 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열식별번호: 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; (c) VH-CDR1은 서열식별번호: 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열식별번호: 26에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR3은 서열식별번호: 27에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열식별번호: 28에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR2는 서열식별번호: 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열식별번호: 30에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; (d) VH-CDR1은 서열식별번호: 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열식별번호: 36에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR3은 서열식별번호: 37에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR2는 서열식별번호: 39에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열식별번호: 40에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (e) VH-CDR1은 서열식별번호: 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열식별번호: 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR3은 서열식별번호: 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열식별번호: 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR2는 서열식별번호: 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열식별번호: 50에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0008] 일부 실시양태에서, 항체는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 특성을 갖는다: (a) 항체는 종양 세포에 의한 MICA의 유출을 억제함; (b) 항체는 종양 세포 상의 막 결합된 MICA를 증가시킴; (c) 항체는 환자에서 혈청 내의 가용성 MICA 수준을 감소시킴; (d) 항체는 증진된 ADCC 및/또는 ADCP를 매개함; (e) 항체는 세포에 의한 증진된 항원 프로세싱 및/또는 교차-제시를 매개함; (f) 항체는 종양 성장 및/또는 전이를 억제함; (g) 항체는 종양 부피를 감소시킴; (h) 항체는 무진행 생존을 증가시킴; (i) 항체는 전체 생존을 증가시킴; 및 (j) 그 외 임의의 조합.

[0009] 일부 실시양태에서, VH는 서열식별번호: 2, 12, 22, 32, 및 42로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, VH는 서열식별번호: 2, 12, 22, 32, 및 42로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0010] 일부 실시양태에서, VL은 서열식별번호: 4, 14, 24, 34, 및 44로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, VL은 서열식별번호: 4, 14, 24, 34, 및 44로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0011] 일부 실시양태에서, (a) VH는 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; (b) VH는 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열식별번호: 14에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; (c) VH는 서열식별번호: 22에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열식별번호: 24에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; (d) VH는 서열식별번호: 32에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열식별번호: 34에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (e) VH는 서열식별번호: 42에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열식별번호: 44에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0012] 일부 실시양태에서, (a) 항체는 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하거나; (b) 항체는 서열식별번호: 130에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하거나; (c) 항체는 서열식별번호: 62에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하거나; (d) 항체는 서열식별번호: 66에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하거나; 또는 (e) 항체는 서열식별번호: 70에 제

시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 72에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0013] 일부 실시양태에서, 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 G254, D255, L257, Y264, W267로 이루어진 군으로부터 선택된 인간 MICA의 1개 이상의 아미노산 잔기 및 그의 임의의 조합을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 G254, D255, L257, Y264 및 W267을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 아미노산 잔기 W150-M163을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 아미노산 잔기 Y231-T238을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 아미노산 잔기 D255-Q265를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이 서열식별번호: 51에 상응하는 아미노산 잔기 W253-W267을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 L201-N220을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 T238-Q252를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 L201-N220 및 T238-Q252를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 R240, Q241, D242, V244, 및 R279를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 P258, G260, G262, 및 Y264를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개 또는 적어도 10개의 잔기를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269로부터 선택된 적어도 2개의 잔기를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269로부터 선택된 적어도 4개의 잔기를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269로부터 선택된 적어도 6개의 잔기를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다.

[0014] 일부 실시양태에서, 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 또는 그의 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 항체는 비푸코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 중쇄 내에 불변 영역을 포함하고, 여기서 불변 영역은 서열식별번호: 58의 잔기 234에 상응하는 위치에서 G에서 A로의 돌연변이를 포함한다.

[0015] 본 개시내용의 또 다른 측면은 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 인간 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 A (MICA) 및/또는 인간 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 B (MICB)에 특이적으로 결합하는 항체에 관한 것이며; 여기서 VH는 VH 상보성 결정 영역 (CDR) 1, VH-CDR2, 및 VH-CDR3을 포함하고, VL은 VL-CDR1, VL-CDR2, 및 VL-CDR3을 포함하고; 여기서 VH-CDR1은 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR3은 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR2는 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하고; 여기서 항체는 비푸코실화된다. 일부 실시양태에서, VH는 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 58의 잔기 234에 상응하는 위치에서 G에서 A로의 돌연변이를 포함하는 중쇄 내의 불변 영역을 포함한다. 일부

실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 130에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 비푸코실화된다. 일부 실시양태에서, 항체는 저푸코실화된다.

[0016] 본 개시내용의 일부 측면은 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 인간 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 A (MICA) 및/또는 인간 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 B (MICB)에 특이적으로 결합하는 항체에 관한 것이며, 여기서 항체는 비푸코실화된다.

[0017] 일부 실시양태에서, 항체는 푸코실트랜스퍼라제의 발현이 감소 또는 제거된 세포주에 의해 생산된다.

[0018] 본 개시내용의 일부 측면은 본원에 기재된 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 측면은 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트를 포함하는 벡터 또는 벡터의 세트에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 측면은 항체, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트, 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다.

[0019] 본 개시내용의 일부 측면은 항체 및 치료제를 포함하는 면역접합체에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 치료제는 세포독소, 비-세포독성 약물, 방사성 작용제, 제2 항체, 효소, 항신생물제, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포독소는 돌라스타틴, 모노메틸 아우리스타틴 E (MMAE), 메이탄신, 두오카르마이신, 칼리케아미신, 피롤로벤조디아제핀, 두오카르마이신, 센타나마이신, SN38, 독소루비신, 그의 유도체, 그의 합성 유사체, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포독소는 세포독소 A를 포함한다.

[0020] 본 개시내용의 일부 측면은 항체, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트, 벡터 또는 벡터의 세트, 또는 면역접합체 및 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 제약 조성물은 제2 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG3, TIGIT, TIM3, NKG2a, OX40, ICOS, CD137, KIR, TGF β , IL-10, IL-8, IL-2, CD96, VISTA, B7-H4, Fas 리간드, CXCR4, 메소텔린, CD27, GITR, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질에 특이적으로 결합한다.

[0021] 본 개시내용의 일부 측면은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 항체, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트, 벡터 또는 벡터의 세트, 숙주 세포, 면역접합체, 또는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 암은 종양을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체에게 제2 요법을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 요법은 유도성 T 세포 공동-자극제 (ICOS), CD137 (4-1BB), CD134 (OX40), NKG2A, CD27, CD96, 글루코코르티코이드-유도된 TNFR-관련 단백질 (GITR), 및 포진 바이러스 진입 매개체 (HVEM), 프로그램화된 사멸-1 (PD-1), 프로그램화된 사멸 리간드-1 (PD-L1), CTLA-4, B 및 T 림프구 감쇠자 (BTLA), T 세포 이뮤노글로불린 및 뮤신 도메인-3 (TIM-3), 림프구 활성화 유전자-3 (LAG-3), 아테노신 A2a 수용체 (A2aR), 킬러 세포 렉틴-유사 수용체 G1 (KLRG-1), 자연 킬러 세포 수용체 2B4 (CD244), CD160, Ig 및 ITIM 도메인을 갖는 T 세포 면역수용체 (TIGIT), 및 T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제제 (VISTA)에 대한 수용체, KIR, TGF β , IL-10, IL-8, IL-2, B7-H4, Fas 리간드, CXCR4, 메소텔린, CEACAM-1, CD52, HER2, 및 그의 임의의 조합으로부터 선택된 단백질에 특이적으로 결합하는 항체의 유효량을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 요법은 유효량의 PEG화 IL-10, IL-10-Fc, 또는 PEG화 IL-2를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 요법은 암에 대한 화학요법제, 방사선, 선천성 면역 세포를 활성화시키는 작용제, 및/또는 NK 및/또는 CD8+ T-세포의 생존을 증진시키는 작용제를 포함한다.

[0022] 본 개시내용의 다른 특색 및 이점은 하기 상세한 설명 및 실시예로부터 명백할 것이며, 이는 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 본 출원 전반에 걸쳐 인용된 과학 논문, 신문 보고서, 진뱅크(GenBank) 등록물, 특허 및 특허 출원을 비롯한 모든 인용된 참고문헌의 내용은 명백하게 본원에 참조로 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1a-1d는 항-MICA/B 항체 MICA.36 (19G6), 중쇄 가변 영역 (도 1a-1b; 뉴클레오티드: 서열식별번호: 1; 아미노산: 서열식별번호: 2) 및 경쇄 가변 영역 (도 1c-1d; 뉴클레오티드: 서열식별번호: 3; 아미노산: 서열식별번호: 4)의 서열 정렬이다. 도 1a 및 1c는 MICA.36 (19G6), 중쇄 가변 영역 (도 1a) 및 경쇄 가변 영역 (도 1c)에 대한 뉴클레오티드 서열 및 상응하는 아미노산 서열을 보여준다. 도 1b 및 1d는 중쇄 가변 영역 (도 1b) 및 경쇄 가변 영역 (도 1d)에 대한 MICA.36 (19G6) ("투입") 서열 대비 배선 서열을 보여준다. 카바트 넘버링

에 의해 결정된 상보성 결정 영역 (CDR)은 수평선으로 표시되고, 이에 따라 라벨링된다 (도 1a-1d).

도 2a-2f는 항-MICA/B 항체 MICA.52 (16A5), 중쇄 가변 영역 (도 2a-2b; 뉴클레오티드: 서열식별번호: 11; 아미노산: 서열식별번호: 12), 경쇄 가변 영역 1 (도 2c-2d; 뉴클레오티드: 서열식별번호: 13; 아미노산: 서열식별번호: 14), 및 경쇄 가변 영역 2 (도 2e-2f; 뉴클레오티드: 서열식별번호: 127; 아미노산: 서열식별번호: 128)의 서열 정렬이다. 도 2a, 2c, 및 2e는 항-MICA/B 항체 16A5, 중쇄 가변 영역 (도 2a) 및 경쇄 가변 영역 1 (MICA.52) 및 2 (MICA.53) (각각 도 2c 및 2e)에 대한 뉴클레오티드 서열 및 상응하는 아미노산 서열을 보여준다. 도 2b, 2d 및 2f는 중쇄 가변 영역 (도 2b) 및 경쇄 가변 영역 1 및 2 (도 2d 및 2f)에 대한 MICA.52 또는 MICA.53 (16A5) ("투입") 서열 대비 배선 서열을 보여준다. 카바트 넘버링에 의해 결정된 상보성 결정 영역 (CDR)은 수평선으로 표시되고, 이에 따라 라벨링된다 (도 2a-2f).

도 3a-3d는 항-MICA/B 항체 MICA.54 (24G11), 중쇄 가변 영역 (도 3a-3b; 뉴클레오티드: 서열식별번호: 21; 아미노산: 서열식별번호: 22) 및 경쇄 가변 영역 (도 3c-3d; 뉴클레오티드: 서열식별번호: 23; 아미노산: 서열식별번호: 24)의 서열 정렬이다. 도 3a 및 3c는 항-MICA/B 항체 MICA.54 (24G11), 중쇄 가변 영역 (도 3a) 및 경쇄 가변 영역 (도 3c)에 대한 뉴클레오티드 서열 및 상응하는 아미노산 서열을 보여준다. 도 3b 및 3d는 중쇄 가변 영역 (도 3b) 및 경쇄 가변 영역 (도 3d)에 대한 MICA.54 (24G11) ("투입") 서열 대비 배선 서열을 보여준다. 카바트 넘버링에 의해 결정된 상보성 결정 영역 (CDR)은 수평선으로 표시되고, 이에 따라 라벨링된다 (도 3a-3d).

도 4a-4d는 항-MICA/B 항체 MICA.2 (3F5), 중쇄 가변 영역 (도 4a-4b; 뉴클레오티드: 서열식별번호: 31; 아미노산: 서열식별번호: 32) 및 경쇄 가변 영역 (도 4c-4d; 뉴클레오티드: 서열식별번호: 33; 아미노산: 서열식별번호: 34)의 서열 정렬이다. 도 4a 및 4c는 항-MICA/B 항체 MICA.2 (3F5), 중쇄 가변 영역 (도 4a) 및 경쇄 가변 영역 (도 4b)에 대한 뉴클레오티드 서열 및 상응하는 아미노산 서열을 보여준다. 도 4b 및 4d는 중쇄 가변 영역 (도 4b) 및 경쇄 가변 영역 (도 4d)에 대한 MICA.2 (3F5) ("투입") 서열 대비 배선 서열을 보여준다. 카바트 넘버링에 의해 결정된 상보성 결정 영역 (CDR)은 수평선으로 표시되고, 이에 따라 라벨링된다 (도 4a-4d).

도 5a-5d는 항-MICA/B 항체 71C2, 중쇄 가변 영역 (도 5a-5b; 뉴클레오티드: 서열식별번호: 41; 아미노산: 서열식별번호: 42) 및 경쇄 가변 영역 (도 5c-5d; 뉴클레오티드: 서열식별번호: 43; 아미노산: 서열식별번호: 44)의 서열 정렬이다. 도 5a 및 5c는 항-MICA/B 항체 71C2, 중쇄 가변 영역 (도 5a) 및 경쇄 가변 영역 (도 5b)에 대한 뉴클레오티드 서열 및 상응하는 아미노산 서열을 보여준다. 도 5b 및 5d는 중쇄 가변 영역 (도 5b) 및 경쇄 가변 영역 (도 5d)에 대한 71C2 ("투입") 서열 대비 배선 서열을 보여준다. 카바트 넘버링에 의해 결정된 상보성 결정 영역 (CDR)은 수평선으로 표시되고, 이에 따라 라벨링된다 (도 5a-5d).

도 6a-6h는 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 측정된 바와 같은, MICA 대립유전자 MICA*002 (도 6a 및 6e), MICA*004 (도 6b 및 6f), MICA*008 (도 6c 및 6g), 및 MICA*009 (도 6d 및 6h)에 대한 항-MICA/B 항체: MICA.36 (도 6a-6d) 및 MICA.38 (도 6e-6h)의 결합 친화도 동역학의 그래프 표현이다.

도 6i-6l은 비아코어(Biacore) 3000 기기를 사용하여 SPR에 의해 측정된 바와 같은, MICA 대립유전자 MICA*002, MICA*004, MICA*008, 및 MICA*009에 대한 항-MICA/B 항체: MICA.2 (도 6i), 16A5 (도 6j), 19G6 (도 6k), 및 71C2 (도 6l)의 결합 친화도 동역학의 그래프 표현이다.

도 7a-7g는 스캐차드 플롯에 의해 분석된 시험관내 세포에 의해 발현된 MICA/B 항원에 대한 MICA.36의 특이적 결합 활성의 그래프 표현이다. 도 7a는 연관 분당 카운트 (y-축; CPM)에 대해 플롯팅된 적정된 항체 농도 (x-축; nM 항체)의 표준 곡선이다. 도 7b-7f는 차이나이즈 햄스터 난소 (CHO) 세포에서 과다발현된 인간 MICA*008 (도 7b), 인간 MICB*005 (도 7c), 및 시노물구스 원숭이 MICA/B (클론 #4 및 #6) (도 7d-7e); 및 786-0 세포 (도 7f) 및 SW480 세포 (도 7g) 상에서 내인성으로 발현된 인간 MICA/B에 대한 MICA.36의 특이적 결합, 총 결합, 및 비-특이적 결합 (NSB)을 보여준다.

도 8a-8n은 형광 활성화 세포 분류 (FACS)를 사용하여 다양한 세포주 상에서 발현된 MICA 또는 MICB 공통 대립유전자에 대한 MICA/B 항체의 결합 친화도를 보여준다. 도 8a, 8d, 8f, 8h, 8j, 및 8l은 증가하는 항체 농도에 서의, CHO 세포의 표면 상에서 발현된 MICA/B 항원 MICA*002 (삼각형), MICA*004 (역삼각형), MICA*008 (백색 다이아몬드형), MICA*009 (흑색 사각형), MICA*010 (흑색 원형), 및 MICB (백색 사각형)에 대한 19G6 (8a), 24G11 (도 8d), 71C2 (도 8f), 16A5 (도 8h 및 8j, 2개의 서브클론), 및 MICA.2 (도 8l)의 결합을 보여준다. 도 8b, 8e, 8g, 8i, 8k 및 8m은 MICA-발현 786-0 (사각형), A2058 (삼각형), HeLa (역삼각형), 및 RPMI-8226

(원형) 세포주에 대한 19G6 (8b), 24G11 (도 8e), 71C2 (도 8g), 16A5 (도 8i 및 8k), 및 MICA.2 (도 8m)의 결합을 보여준다. 도 8c 및 8n은 음성 대조군 (CHO)과 비교하여, CHO 세포 클론 #4 및 #6의 표면 상에서 발현된 시노볼구스 원숭이 MICA/B에 대한 19G6 (도 8c) 및 MICA.2 (도 8n)의 교차-반응성을 보여준다.

도 9a-9f는 다양한 항-MICA/B 항체에 대한 수소/중수소 교환 (HDX) 질량 분광측정법 (MS)을 사용한 에피토프 맵핑의 결과를 보여준다. 도 9a-9e는 질량 분광측정법을 사용하여 측정된 바와 같은, mAb MICA.2 (도 9a), MICA.39 (도 9b), MICA.40 (도 9c), G236A를 함유하는 Fc를 갖는 비푸코실화된 MICA.36 (도 9d), 및 MICA.36 (도 9e)의 상호작용에 대한 MICA의 차등 HDX의 그래프 표현이다. 도 9f는 자연 킬러 세포 수용체 (NKG2D)에 결합된 인간 MICA의 결정 구조의 리본 다이어그램이고, 여기서 맵핑된 MICA.36 에피토프는 강조표시된다.

도 10a-10f는 다양한 항-MICA/B 항체에 대한 효모 디스플레이를 사용한 에피토프 맵핑의 결과를 보여준다. 도 10a-10c는 MICA.36 (도 10a), MICA.2 (도 10b), 및 24G11 (도 10c)에 대한 개별 에피토프를 보여준다. 도 10d-10f는 MICA.2 (도 10d), MICA.36 (도 10e), 및 24G11 (도 10f)에 대한 NKG2D에 결합된 MICA의 결정 구조의 리본 다이어그램에 중첩된 동일한 에피토프를 보여준다.

도 11a-11d는 FACS에 의해 측정된 바와 같은, 이소형 대조군 (원형)에 대한 노출과 비교하여 증가하는 농도의 항-MICA/B 항체 MICA.36 (비푸코실화된, G236A 변이체; 역삼각형)에 대한 노출 후, MICA (도 11a-11c) 또는 MICB (도 11d)를 이소성으로 발현하는 LLC 세포 (도 11a), E.G7-Ova 세포 (도 11b), 및 B16 세포 (도 11c 및 11d) 상에서 최대 형광 강도에 의해 측정된 바와 같은 표면 MICA 또는 MICB 수준의 그래프 표현이다.

도 12a-12d는 이소형 대조군 (원형)에 대한 노출과 비교하여 증가하는 농도의 항-MICA/B 항체 MICA.36 (비푸코실화된, G236A 변이체; 역삼각형)에 대한 노출 후, MICA/B (도 12a-12c) 또는 제조항 MICA*008 항원 (도 12d)을 이소성으로 발현하는 LLC 세포 (도 12a), E.G7-Ova 세포 (도 12b), 및 B16 세포 (도 12c), 및 CHO 세포 (도 12d)에 대해 ELISA에 의해 측정된 바와 같은, 세포 배양물의 상청액에 존재하는 가용성 MICA/B의 농도의 그래프 표현이다.

도 13a-13e는 MICA/B를 내인성으로 발현하는 인간 세포주의 표면 상에서의 표면 MICA/B 수준의 그래프 표현이다. MICA/B의 표면 국제화는 이소형 대조군 (원형)에 대한 노출과 비교하여 증가하는 농도의 항-MICA/B 항체 MICA.36 (비푸코실화된, G236A 변이체; 역삼각형)에 대한 노출 후 SW480 세포 (도 13a), HeLa 세포 (도 13b), HCT-116 세포 (도 13c), 786-0 세포 (도 13d), 및 A2058 세포 (도 13e)의 표면 상에서 FACS를 사용하여 최대 형광 강도에 의해 측정하였다.

도 14a-14c는 이소형 대조군 (원형)에 대한 노출과 비교하여 증가하는 농도의 항-MICA/B 항체 MICA.36 (비푸코실화된, G236A 변이체; 역삼각형)에 대한 노출 후, 배양된 HeLa 세포 (도 14a; MICA*008을 발현함), HCT-116 세포 (도 14b), 및 786-0 세포 (도 14c)의 배지 내에서 ELISA에 의해 측정된 바와 같은, MICA/B를 내인성으로 발현하는 인간 세포주의 배양 배지에서의 가용성 MICA/B 농도의 그래프 표현이다.

도 15a는 증가하는 농도의 MICA.36 IgG1 (원형), MICA.36 IgG1 G236A (흑색 사각형), MICA.36 IgG1 비푸코실화 (NF; 역삼각형), 및 MICA.36-IgG1-NF-G236A (삼각형) 또는 이소형 대조군 (hIgG1, 백색 사각형)과 함께 배양한 후의 항체-의존성 세포성 식세포작용 (ADCP)의 수준의 그래프 표현이다. 도 15b는 증가하는 농도의 MICA.36 IgG1 (역삼각형), MICA.36 IgG1 NF (원형), MICA.36 IgG1 G236A (흑색 사각형), MICA.36-IgG1-NF-G236A (삼각형) 또는 이소형 대조군 (백색 사각형)과 함께 배양한 후의 증식 CD8 T 세포의 퍼센트에 의해 측정된 바와 같은 항원 교차-제시의 그래프 표현이다.

도 16a 및 16b는 증가하는 농도의 MICA.36 NF G236A (삼각형), MICA.36 IgG1 (역삼각형), MICA.36 IgG1 NF (원형), MICA.36 IgG1 G236A (흑색 사각형) 또는 이소형 대조군 (백색 사각형)에 대한 노출 후의 MICA/B-발현 Raji 세포 (도 16a) 및 A375 세포 (도 16b)의 특이적 용해 퍼센트의 그래프 예시이다.

도 17a 및 17b는 폐에서 종양이 발생하도록 유도한 마우스에서의 총 종양 면적 (도 17a) 및 가용성 MICA/B의 혈청 수준 (도 17b)에 대한 투여된 항-MICA/B 항체 MICA.36 NF G236A의 생체내 효과를 예시한다.

도 18a 및 18b는 다양한 용량 (10 mg/kg (mpk), 3 mpk, 1 mpk, 또는 0.3 mpk)의 항-MICA/B 항체 MICA.36 NF G236A 또는 이소형 대조군의 투여 후에 종양의 총 크기를 측정한, 폐에서 종양이 발생하도록 유도한 마우스에서의 2회 용량 증량 연구의 결과를 보여준다.

도 19a-19e는 항-MICA/B 항체를 단독으로 또는 항-PD-1 항체와 조합하여, EG7-MICA 종양을 제시하는 MICA 트랜스제닉 마우스에 투여한 결과를 보여준다. 도 19a 및 19b는 이소형 대조군 (흑색 원형), MICA.36 mIgG2a 및 이

소형 대조군 mIgG1 (사각형), MICA.36 mIgG1 D265A 및 이소형 mIgG2a (삼각형), 항-PD-1 mIgG1 D265A 및 이소형 mIgG2a (역삼각형), MICA.36 mIgG2a 및 항-PD-1 mIgG1 D265A (다이아몬드형), 또는 MICA.36 mIgG1 D265A 및 항-PD-1 mIgG1 D265A (백색 원형)를 투여한 마우스에서의 평균 (도 19a) 및 중앙값 (도 19b) 종양 부피의 그래프 표현이다. 도 19c는 각각의 처리군: 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 이소형 mIgG1 (원형), 10 mg/kg MICA.36 mIgG1 D265A 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a (사각형), 10 mg/kg 항-PD-1 mIgG1 D265A 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a (삼각형), 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 항-PD-1 mIgG1 D265A (역삼각형), 및 10 mg/kg MICA.36 mIgG1 D265A 및 10 mg/kg 항-PD-1 mIgG1 D265A (다이아몬드형)에 대한 계산된 퍼센트 종양 성장 억제 (TGI%)의 그래프 표현이다. 도 19d는 이소형 10 mg/kg mIgG1 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a 이종 대조군 (원형), 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 이소형 mIgG1 (사각형), 10 mg/kg 항-PD-1 mIgG1 D265A 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a (역삼각형), 또는 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 항-PD-1 mIgG1 D265A (다이아몬드형)로의 처리 후의 EG7-MICA 종양을 제시하는 트랜스제닉 마우스에 대한 무진행 생존 (PFS %)을 보여준다. 도 19e는 이소형 대조군, MICA.36 mIgG2a, MICA.36 mIgG1 D265A, 항-PD-1 mIgG1 D265A, MICA.36 mIgG2a 및 항-PD-1 mIgG1 D265A, 또는 MICA.36 mIgG1 D265A 및 항-PD-1 mIgG1 D265A로 처리한 후의 EG7-MICA 종양을 갖는 트랜스제닉 마우스의 혈청 내의 가용성 MICA의 농도를 보여준다.

도 20a-20d는 EG7-MICA/B 종양을 갖는 B6-MICA 트랜스제닉 마우스에서의 항-MICA/B 항체의 생체내 효과의 결과를 보여준다. 도 20a 및 20b는 20 mg/kg 이소형 mIgG2a (원형), 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 이소형 대조군 mIgG2a (사각형), 10 mg/kg 항-CTLA-4 mIgG2a 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a (삼각형), 또는 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 항-CTLA-4 mIgG2a (역삼각형)로 처리된 마우스에서의 평균 (도 20a) 및 중앙값 (도 20b) 종양 부피의 그래프 표현이다. 도 20c는 각각의 처리군: 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a (원형), 10 mg/kg 항-CTLA-4 mIgG2a 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a (사각형), 및 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 항-CTLA-4 mIgG2a (삼각형)에 대한 계산된 퍼센트 종양 성장 억제 (TGI%)를 보여준다. 도 20d는 20 mg/kg 이소형 mIgG2a (원형), 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 이소형 대조군 mIgG2a (사각형), 10 mg/kg 항-CTLA-4 mIgG2a 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a (삼각형), 또는 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 항-CTLA-4 mIgG2a (역삼각형)로의 처리 후의 EG7-MICA/B 종양을 갖는 트랜스제닉 마우스에 대한 무진행 생존 (PFS %)을 보여준다.

도 21a-21d는 EG7-MICA/B 종양 세포를 피하로 주사한 B6-MICA 트랜스제닉 마우스에서의 항-MICA/B 항체의 생체내 효과의 결과를 보여준다. 도 21a 및 21b는 10 mg/kg 이소형 mIgG1 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a (원형), 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 이소형 mIgG1 (사각형), 10 mg/kg 항-PD-1 mIgG1 D265A 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a (삼각형), 또는 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a 항-PD-1 mIgG1 (역삼각형)로 처리된 마우스에서의 평균 (도 21a) 및 중앙값 (도 21b) 종양 부피의 그래프 표현이다. 도 21c는 각각의 처리군: 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 이소형 mIgG1 (원형), 10 mg/kg 항-PD-1 mIgG1 D265A 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a (사각형), 및 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 항-PD-1 mIgG1 D265A (삼각형)에 대한 계산된 퍼센트 종양 성장 억제 (TGI%)의 그래프 표현이다. 도 21d는 10 mg/kg 이소형 mIgG1 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a (원형), 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 이소형 mIgG1 (사각형), 10 mg/kg 항-PD-1 mIgG1 D265A 및 10 mg/kg 이소형 mIgG2a (삼각형), 또는 10 mg/kg MICA.36 mIgG2a 및 10 mg/kg 항-PD-1 mIgG1 D265A (역삼각형)로의 처리 후의 EG7-MICA 종양 세포를 피하로 주사한 트랜스제닉 마우스에 대한 무진행 생존 (PFS %)을 보여준다.

도 22a-22c는 X선 공-결정학을 사용한 에피토프 맵핑의 결과를 보여준다. 도 22a는 MICA의 $\alpha 3$ 도메인의 표면 표현이며, 에피토프 잔기는 흑색으로 제시되고, 나머지 표면 잔기는 회색으로 제시된다. 도 22b 및 22c는 MICA의 $\alpha 3$ 도메인 (표면 표현, 도 22a에 제시된 바와 같음)과 복합체화된 MICA.36 Fab (리본 표현)의 2개의 배향을 보여준다. MICA의 $\alpha 3$ 도메인 상의 MICA.36 에피토프는 흑색으로 제시되고, MICA의 $\alpha 3$ 도메인의 나머지 잔기는 회색으로 제시된다.

도 23a-23b는 FACS를 사용하여 CHO 세포 상에 발현된 MICA 공통 대립유전자에 대한 항-MICA/B 항체의 결합 친화도를 보여준다. 도 23b는 도 23a에서와 동일한 데이터를 보여주지만, 재조합 항체 MICA.5, MICA.6 및 MICA.7 및 이소형 대조군에 대해 상이한 Y-축을 사용하였다.

도 24a-24b는 FACS를 사용하여 RPMI-8226 세포 상에서 내인성으로 발현된 MICA에 대한 항-MICA/B 항체의 결합 친화도를 보여준다. 도 24b는 도 24a에서와 동일한 데이터를 보여주지만, Ab2, Ab28, Ab29, 이소형 대조군, 및 재조합 항체 MICA.5, MICA.6 및 MICA.7을 발현하는 CHO 세포주로부터의 상청액 ("supe")에 대해 상이한 Y-축을

사용하였다.

도 25는 항체 MICA.36-mIgG2a를 1mg/kg 또는 10mg/kg으로 또는 이소형 대조군을 투여하고 72시간 및 168시간 후의, B6-MICA 트랜스제닉 마우스에서의 가용성 MICA/B의 혈청 수준을 보여준다.

도 26은 sMICA 및 항체 MICA.36-mIgG2a 또는 이소형 대조군을 투여한 후의, B6-MICA 트랜스제닉 마우스에서의 sMICA의 PK 분석의 결과를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 본 개시내용은 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 A (MICA) 및/또는 MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 B (MICB)에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원 결합 단편 ("항-MICA/B 항체")에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, MICA는 인간 MICA이다. 일부 실시양태에서, MICB는 인간 MICB이다. 본 개시내용의 다른 측면은 치료를 필요로 하는 대상체에게 MICA 및/또는 MICB에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 암을 갖고, 항-MICA/B 항체는 대상체에서 암을 치료한다.
- [0025] I. 용어
- [0026] 본 기재내용이 보다 용이하게 이해될 수 있도록, 특정 용어가 먼저 정의된다. 추가의 정의는 상세한 설명 전반에 걸쳐 제시된다.
- [0027] 단수 개체의 용어가 그러한 개체 중 1개 이상을 지칭한다는 것이 주목되어야 하며; 예를 들어, "뉴클레오티드 서열"은 1개 이상의 뉴클레오티드 서열을 나타내는 것으로 이해된다. 이에 따라, 단수 용어 "1개 이상" 및 "적어도 1개"는 본원에서 상호교환가능하게 사용될 수 있다.
- [0028] 추가로, 본원에 사용된 "및/또는"은 2개의 명시된 특색 또는 성분 각각을 함께 또는 따로 구체적으로 개시하는 것으로서 받아들여진다. 따라서, 본원에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에 사용된 용어 "및/또는"은 "A 및 B", "A 또는 B", "A" (단독), 및 "B" (단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B, 및/또는 C"와 같은 어구에 사용된 용어 "및/또는"은 각각의 하기 측면: A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A (단독); B (단독); 및 C (단독)를 포괄하는 것으로 의도된다.
- [0029] 측면이 언어 "포함하는"을 사용하여 본원에 기재된 경우에, "로 이루어진" 및/또는 "로 본질적으로 이루어진"과 관련하여 기재된 다른 유사한 측면이 또한 제공되는 것으로 이해된다.
- [0030] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 개시내용이 관련된 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 예를 들어, 문헌 [the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 및 the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press]은 통상의 기술자에게 본 개시내용에 사용된 많은 용어에 대한 일반 사전을 제공한다.
- [0031] 단위, 접두어 및 기호는 시스템 인터내셔널 드 유니테스 (SI) 허용 형태로 나타내어진다. 수치 범위는 범위를 정의하는 수를 포함한다. 달리 나타내지 않는 한, 뉴클레오티드 서열은 5'에서 3' 배향으로 좌측에서 우측으로 표기된다. 아미노산 서열은 아미노에서 카복시 배향으로 좌측에서 우측으로 표기된다. 본원에 제공된 표제는 본 개시내용의 다양한 측면을 제한하는 것이 아니며, 이는 본 명세서를 전체로서 참조할 수 있다. 따라서, 바로 하기에 정의되는 용어는 본 명세서 그 전문을 참조하여 보다 충분히 정의된다.
- [0032] 용어 "약"은 대략적으로, 대략, 부근 또는 영역 내의 것을 의미하는 것으로 본원에 사용된다. 용어 "약"이 수치 범위와 함께 사용되는 경우에, 이는 경계를 기재된 수치 값 초과 및 미만으로 확장함으로써 범위를 변경한다. 일반적으로, 용어 "약"은 수치 값을 기재된 값 초과 및 미만으로, 예를 들어 10 퍼센트 위 또는 아래 (더 높거나 또는 더 낮은)의 변동치만큼 변경할 수 있다.
- [0033] 본원에 사용된 용어 "MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 A" 또는 "MICA"는 비-전형적 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 부류 I 분자를 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 B" 또는 "MICB"는 비-전형적 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 부류 I 분자를 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "MICA/B"는 MICA 및/또는 MICB를 지칭한다.
- [0034] MICA는 일반적으로 세포 막에 고정된 자연 발현된 글리코실화 및 다형성 단백질이다. 매트릭스 메탈로프로테이

나제 및 ADAM 프로테이나제에 의한 막 결합 MICA의 절단은 가용성 형태의 MICA를 세포의 매트릭스 내로 방출한다. MICA는 자연 킬러 (NK) 세포, CD8 T 세포 및 γ δ T 세포의 표면 상에서 발현되는 수용체인 NKG2D에 대한 리간드이다. MICA 발현은 건강한 세포에서 스트레스 동안 유도되고, MICA는 MICA를 발현하는 세포의 NK 및 T 세포 매개된 세포용해를 유도하는 신호로서 작용한다. 효과적으로, MICA는 스트레스 동안 세포에 대해 "나를 사멸시키라"는 신호로서 작용한다. MICA는 다양한 종양 세포에 의해 발현된다.

[0035] 용어 "MICA"는 종양 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는 세포에 의해 자연 발현되는 MICA의 임의의 변이체 또는 이소형을 포함한다. 따라서, 본원에 기재된 항체는 인간 이외의 종으로부터의 MICA (예를 들어, 시노물구스 MICA)와 교차-반응할 수 있다. 대안적으로, 항체는 인간 MICA에 특이적일 수 있고, 다른 종과 어떠한 교차-반응성도 나타내지 않을 수 있다. MICA 또는 그의 임의의 변이체 및 이소형은 이를 자연 발현하는 세포 또는 조직으로부터 단리될 수 있거나, 또는 관련 기술분야에 널리 공지된 기술 및/또는 본원에 기재된 기술을 사용하여 재조합적으로 생산될 수 있다.

[0036] 인간 MICA (서열식별번호: 51)는 332개의 아미노산으로 이루어진다. 인간 MICA의 적어도 2종의 추가의 이소형이 확인되었다. MICA1 (유니프룻 ID 번호 Q29983-1; 서열식별번호: 109)로 공지된 이소형 1은 383개의 아미노산으로 이루어진다. MICA2 (유니프룻 ID 번호 Q29983-2; 서열식별번호: 88)로 공지된 이소형 2는 287개 아미노산으로 이루어진다. MICA2는 MICA1의 아미노산 서열에 비해 아미노산 잔기 109-204가 결여되어 있다.

[0037] 하기는 3개의 공지된 인간 MICA 이소형의 아미노산 서열이다.

[0038] (A) 인간 MICA (서열식별번호: 51):

MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQGG
WAEDVLGNKTWDRTRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFL
SQNLETEEWTPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESGVVLRRTPPMVNV
VTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIIITWRQDGVLSHDTQWGDVLPDNGTYQTWVATRICRGEQRFT
CYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHVSAAVAGCCYFCYYYFLCPLL

[0039]

[0040] (B) 인간 MICA 이소형 1 (유니프룻 ID 번호 Q29983-1; 서열식별번호: 109):

MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLTEVHLDGQPFLRCRDRQKCRAKPQGGWAEDVLG
NKTWDRTRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETKWTPQSS
RAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLKSGVVLRRTPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWN
ITLSWRQDGVLSHDTQWGDVLPDNGTYQTWVATRICQGEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFH
SAVAAAAIFVIIIFVYRCKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSDLGSGSTEGA

[0041]

[0042] (C) 인간 MICA 이소형 2 (유니프룻 ID 번호 Q29983-2; 서열식별번호: 88):

MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLTEVHLDGQPFLRCRDRQKCRAKPQGGWAEDVLG
NKTWDRTRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVLSHDTQQ
WGDVLPDNGTYQTWVATRICQGEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHVSAAAAIFVIIIFVYR
CKKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSDLGSGSTEGA

[0043]

[0044] MICA의 신호 서열은 아미노산 1-23에 상응한다 (밑줄표시됨). 따라서, MICA의 성숙 이소형, MICA1 및 MICA2는 각각 아미노산 24 내지 332, 383 또는 287로 이루어진다. 성숙 인간 MICA의 세포의 도메인은 서열식별번호: 51의 아미노산 24-307로 이루어지고, 하기 아미노산 서열을 갖는다:

EPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLTEVHLDGQPFLRCRDRQKCRAKPQGGWAEDVLGNKTWDRTRDLTGNGKDLRMTLA
HIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETKWTPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTH
YHAMHADCLQELRRYLKSGVVLRRTPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVLSHDTQWGDVLP
PDNGTYQTWVATRICQGEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHW (SEQ ID NO: 89).

[0045]

[0046] 다수의 공지된 MICA (MICA) 대립유전자가 존재한다. 일부 실시양태에서, MICA는 하기 아미노산 서열을 갖는 MICA*002이다 (또한 본원에서 MICA*002 대립유전자로도 지칭됨):

MGLGPFVLLLAGI FPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSGDGVSQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLG
 NKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYDYGELFLSQNLETEEWTVPQSS
 RAQTLAMNVRNFKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLKSGVLLRRTVPPMVNVTREASEGNITVTCRASGFYFVFN
 ITLSWRQDGVSLSHDTPQWGDVLPDNGTYQTVVATRICQGEERFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHV
 SAVAAAAIFVIIIFVYRCCCKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSDLGSGSTEGT (SEQ ID
 NO: 110).

[0047]

[0048] 일부 실시양태에서, MICA는 하기 아미노산 서열을 갖는 MICA*004이다 (또한 본원에서 MICA*004 항원으로도 지칭
 됨):

MGLGPFVLLLAGI FPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLG
 NKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYDYGELFLSQNVETEETVPQSS
 RAQTLAMNVRNFKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVLLRRTVPPMVNVTREASEGNITVTCRASSFYFPRN
 ITLSTRQDGVSLSHDTPQWGDVLPDNGTYQTVVATRICQGEERFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHV
 SAVAAAAAIFVIIIFVYRCCCKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSALGSGSTEGA (SEQ
 ID NO: 111).

[0049]

[0050] 일부 실시양태에서, MICA는 하기 아미노산 서열을 갖는 MICA*008이다 (또한 본원에서 MICA*008 항원으로도 지칭
 됨):

MGLGPFVLLLAGI FPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLG
 NKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYDYGELFLSQNLETEEWTVPQSS
 RAQTLAMNVRNFKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVLLRRTVPPMVNVTREASEGNITVTCRASSFYFPRN
 IILTWRQDGVSLSHDTPQWGDVLPDNGTYQTVVATRICRGEERFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHV
 SAVAAAAIFVIIIFVYRCC (SEQ ID NO: 112).

[0051]

[0052] 일부 실시양태에서, MICA는 하기 아미노산 서열을 갖는 MICA*009이다 (또한 본원에서 MICA*009 항원으로도 지칭
 됨):

MGLGPFVLLLAGI FPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLG
 NKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYDYGELFLSQNLETEEWTVPQSS
 RAQTLAMNVRNFKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVLLRRTVPPMVNVTREASEGNITVTCRASSFYFPRN
 ITLSTRQDGVSLSHDTPQWGDVLPDNGTYQTVVATRICQGEERFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHV
 SAVAAAAIFVIIIFVYRCCCKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSALGSGSTEGT (SEQ ID
 NO: 113).

[0053]

[0054] 일부 실시양태에서, MICA는 하기 아미노산 서열을 갖는 MICA*009이다 (또한 본원에서 MICA*009 항원으로도 지칭
 됨):

MGLGPFVLLLAGI FPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQGQWAEDVLG
 NKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYDYGELFLSQNLETEEWTVPQSS
 RAQTLAMNVRNFKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVLLRRTVPPMVNVTREASEGNITVTCRASSFYFPRN
 IILTWRQDGVSLSHDTPQWGDVLPDNGTYQTVVATRICRGEERFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHV
 SAVAAAAIFVIIIFVYRCCCKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSALGSGSTEGA (SEQ
 ID NO: 114).

[0055]

[0056] 73개 이상의 MICA 대립유전자를 비롯하여, 관련 기술분야에 공지된 인간 MICA의 많은 상이한 대립유전자가 존재
 한다. 문헌 [Frigoul and Lefranc, Recent Res. Devel. Human Genet. 3:95-145 (2005)]을 참조한다. 본 설명
 에 개시된 항체는 MICA의 1개 이상의 대립유전자에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 단
 일 MICA 대립유전자에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 1개 이상의 MICA 대립유전
 자에 높은 친화도로 결합하고, 다른 MICA 대립유전자에는 낮은 친화도로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-
 MICA/B 항체는 MICA*002, MICA*004, MICA*008, 및 MICA*009로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 MICA 대
 립유전자에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 MICA*004, MICA*008, 및 MICA*009에 높은 친화도
 로 결합하고, 임의로 MICA*002에 낮은 친화도로 결합한다.

[0057] 시노물구스 MICA 단백질은 하기 아미노산 서열 (신호 서열 포함)을 포함한다:

ELHSLRYNVTVLSRDGSVQSGFLAEGHLDGQLFLLYDRQKCRARPQGEWSEDLGAKTWDTETGDLTEN
GKDLRMTLAHIKGGKGLHSLQEIKVCEIHEDNSTGGLRHFYDDELFLSQNLETQEWTELQSSRAQTLAL
NIRNFWKEDTMKTKTHYRAVQADCKKLQQYLESGVAVRRTPPMVNVTHSEASEGNITVTCRASGFYPR
NIALTWRQDGVSLNHNAQQWGGILPDQNGTYQTWVATRIRQGEERFACVMEHSGNHSTHPVPS (SEQ ID
NO: 90; UniProt ID No. Q2MGE0).

[0058]

[0059] MICB는 일반적으로 세포 막에 고정된 자연 발현된 글리코실화 및 다형성 단백질이다. 막 결합된 MICB의 절단은 가용성 형태의 MICB를 세포외 매트릭스 내로 방출한다. MICB는 NKG2D에 대한 리간드이고, MICB를 발현하는 세포의 NK 및 T 세포 매개된 세포용해를 유도하는 신호로서 작용한다. MICB는 스트레스 동안 세포에 대해 "나를 사멸시키라"는 신호로서 작용하고, 다양한 종양 세포에 의해 발현된다. 용어 "MICB"는 종양 세포를 포함하나 이에 제한되지 않는 세포에 의해 자연 발현되는 MICB의 임의의 변이체 또는 이소형을 포함한다.

[0060] 본원에 기재된 항체는 인간 이외의 종으로부터의 MICB (예를 들어, 시노물구스 MICB)와 교차-반응할 수 있다. 대안적으로, 항체는 인간 MICB에 특이적일 수 있고, 다른 종과 어떠한 교차-반응성도 나타내지 않을 수 있다. MICB 또는 그의 임의의 변이체 및 이소형은 이를 자연 발현하는 세포 또는 조직으로부터 단리될 수 있거나, 또는 관련 기술분야에 널리 공지된 기술 및/또는 본원에 기재된 기술을 사용하여 재조합적으로 생산될 수 있다.

[0061] 인간 MICB (서열식별번호: 132)는 하기 아미노산 서열을 갖는 383개의 아미노산 (유니프룻 ID 번호 Q29980)으로 이루어진다:

MGLGRVLLFLAVAFPPAPPAAAAEPHSLRYNLMVLSQDESQSGFLAEGHLDGQPFLRYD
RQKRRAKPQGQWAEDVLGAKTWDTETEDLTENGQDLRRTLTHIKDQKGGHSLQEIRVCE
IHEDSSSTRGSRHFYDDELFLSQNLETQESTVPOSSRAQTLAMNVTNFWKEDAMKTKTHY
RAMQADCLQKLQRYLKSQVAIRRTVPPMVNVTCSEVSEGNITVTCRASSFYPRNITLWTR
QDGVSLSHNTQQWGDVLPDNGTYQTWVATRIRQGEERFACVMEHSGNHGTHPVPSGKV
LVLQSQRTDFPYVSAAMPCFVIIIILCVPCCKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTGDHR
DAAQLGFQPLMSATGSTGSTEGA

[0062]

[0063] 인간 MICB의 추가의 이소형이 확인되었다. MICB의 이소형 2 (유니프룻 ID 번호 Q29980-2)는 하기 아미노산 서열을 갖는다:

MGLGRVLLFLAVAFPPAPPAAAAEPHSLRYNLMVLSQDESQSGFLAEGHLDGQPFLRYD
RQKRRAKPQGQWAEDVLGAKTWDTETEDLTENGQDLRRTLTHIKDQKGVPOSSRAQTLAM
NVTNFWKEDAMKTKTHYRAMQADCLQKLQRYLKSQVAIRRTVPPMVNVTCSEVSEGNITV
TCRASSFYPRNITLWTRQDGVSLSHNTQQWGDVLPDNGTYQTWVATRIRQGEERFACV
MEHSGNHGTHPVPSGKVLVLQSQRTDFPYVSAAMPCFVIIIILCVPCCKKTSAAEGPEL
VSLQVLDQHPVGTGDHRDAAQLGFQPLMSATGSTGSTEGA (SEQ ID NO:133).

[0064]

[0065] 용어 "항체"는, 일부 실시양태에서, 디설피드 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 단백질을 지칭한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서 VH로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역 (본원에서 CH로 약칭됨)으로 구성된다. 일부 항체, 예를 들어 자연 발생 IgG 항체에서, 중쇄 불변 영역은 힌지 및 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 일부 항체, 예를 들어 자연 발생 IgG 항체에서, 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서 VL로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인 (본원에서 CL로 약칭됨)로 구성된다. VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 불리는 보다 보존된 영역이 산재되어 있는 상보성 결정 영역 (CDR)으로 불리는 추가변 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 아미노-말단으로부터 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, 및 FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 및 전형적 보체계의 제1 성분 (C1q)을 포함한 숙주 조직 또는 인자에 대한 이뮤노글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 중쇄는 C-말단 리신을 갖거나 갖지 않을 수 있다. 본원에 달리 명시되지 않는 한, 가변 영역 내의 아미노산은 카바트(Kabat) 넘버링 시스템을 사용하여 넘버링되고, 불변 영역 내의 아미노산은 EU 시스템을 사용하여 넘버링된다.

[0066] 본원에 사용된 "IgG 항체", 예를 들어 인간 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 항체는, 일부 실시양태에서, 자연 발생 IgG 항체의 구조를 가지며, 즉 동일한 하위부류의 자연 발생 IgG 항체와 동일한 수의 중쇄 및 경쇄 및 디설피드 결합을 갖는다. 예를 들어, 항-MICA/B IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체는 2개의 중쇄 (HC) 및 2개의 경쇄

(LC)로 이루어지며, 여기서 2개의 HC 및 LC는 각각 자연 발생 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 항체에서 발생하는 디설피드 가교의 동일한 수 및 위치에 의해 연결된다 (항체가 돌연변이되어 디설피드 가교가 변형되지 않는 한).

[0067] 항체는 전형적으로, 10^{-5} 내지 10^{-11} M 또는 그 미만의 해리 상수 (K_D)에 의해 반영되는 높은 친화도로 그의 동족 항원에 특이적으로 결합한다. 약 10^{-4} M 초과 임의의 K_D 는 일반적으로 비특이적 결합을 나타내는 것으로 간주된다. 본원에 사용된 항원에 "특이적으로 결합하는" 항체는 항원 및 실질적으로 동일한 항원에 높은 친화도로 결합하지만 (이는 10^{-7} M 이하, 10^{-8} M 이하, 5×10^{-9} M 이하, 또는 10^{-8} M 내지 10^{-10} M 또는 그 미만의 K_D 를 갖는 것을 의미함), 비관련 항원에는 높은 친화도로 결합하지 않는 항체를 지칭한다. 항원이 주어진 항원에 대해 높은 서열 동일성을 나타내는 경우에, 예를 들어 주어진 항원의 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 나타내는 경우에, 이러한 항원은 주어진 항원과 "실질적으로 동일"하다. 예로서, 인간 MICA/B에 특이적으로 결합하는 항체는, 일부 실시양태에서, 또한 특정 영양류 종으로부터의 MICA/B 항원 (예를 들어, 시노몰구스 MICA/B)과 교차-반응성을 가질 수 있지만, 다른 종으로부터의 MICA/B 항원, 또는 MICA/B 이외의 항원과는 교차-반응하지 않을 수 있다.

[0068] 이뮤노글로불린은 IgA, 분비형 IgA, IgG 및 IgM을 포함하나 이에 제한되지 않는 통상적으로 공지된 이소형 중 임의의 것으로부터의 것일 수 있다. IgG 이소형은 특정 종에서 하위부류로 분류된다: 인간에서 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4, 및 마우스에서 IgG1, IgG2a, IgG2b 및 IgG3. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 IgG1 하위유형의 것이다. 이뮤노글로불린, 예를 들어 IgG1은 최대 수개의 아미노산에서 서로 상이한 여러 동종이형으로 존재한다. "항체"는 예로서, 자연 발생 및 비-자연 발생 항체 둘 다; 모노클로날 및 폴리클로날 항체; 키메라 및 인간화 항체; 인간 및 비인간 항체 및 완전 합성 항체를 포함한다.

[0069] 본원에 사용된 용어 항체의 "항원-결합 부분"은 항원 (예를 들어, 인간 MICA/B)에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 1개 이상의 단편을 지칭한다. 항체의 항원-결합 기능은 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다는 것이 제시되었다. 항체, 예를 들어 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 용어 "항원-결합 부분" 내에 포괄되는 결합 단편의 예는 (i) V_L , V_H , LC 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fab 단편 (과파인 절단으로부터의 단편) 또는 유사한 1가 단편; (ii) 힌지 영역에서 디설피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 F(ab')₂ 단편 (웍신 절단으로부터의 단편) 또는 유사한 2가 단편; (iii) V_H 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 아암의 V_L 및 V_H 도메인으로 이루어진 Fv 단편; (v) V_H 도메인으로 이루어진 dAb 단편 (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546); (vi) 단리된 상보성 결정 영역 (CDR) 및 (vii) 합성 링커에 의해 임의로 연결될 수 있는 2개 이상의 단리된 CDR의 조합을 포함한다. 추가로, Fv 단편의 2개의 도메인, V_L 및 V_H 는 별개의 유전자에 의해 코딩되지만, 이들은 V_L 및 V_H 영역이 쌍을 이루어 1가 분자를 형성한 단일 단백질 쇠 (단일 쇠 Fv (scFv)로 공지됨; 예를 들어, 문헌 [Bird et al. (1988) Science 242:423-426; 및 Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883] 참조)로 제조될 수 있게 하는 합성 링커에 의해, 제조방법을 사용하여 연결될 수도 있다. 이러한 단일 쇠 항체도 또한 용어 항체의 "항원-결합 부분" 내에 포괄되는 것으로 의도된다. 이들 항체 단편은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상적인 기술을 사용하여 획득되고, 단편은 무손상 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 스크리닝된다. 항원-결합 부분은 제조방법 DNA 기술에 의해, 또는 무손상 이뮤노글로불린의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생산될 수 있다.

[0070] "이중특이적" 또는 "이중기능적 항체"는 2개의 상이한 중쇄/경쇄 쌍 및 2개의 상이한 결합 부위를 갖는 인공 하이브리드 항체이다. 이중특이적 항체는 하이브리도마의 융합 또는 Fab' 단편의 연결을 포함한 다양한 방법에 의해 생산될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990); Kostelny et al., J. Immunol. 148, 1547-1553 (1992)]을 참조한다.

[0071] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종인 항체의 집단으로부터의 항체를 지칭하며, 즉 집단을 구성하는 개별 항체는 모노클로날 항체의 생산 동안 발생할 수 있는 가능한 변이체 (이러한 변이체는 일반적으로 소량으로 존재함)를 제외하고는 실질적으로 유사하고 동일한 에피토프(들)에 결합한다 (예를 들어, 항체는 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타냄). 수식어 "모노클로날"은 실질적으로 동종인 항체의 집단으로부터 획득됨에 따른 항체의 특징을 나타내고, 임의의 특정한 방법에 의한 항체의 생산이 요구되는 것으로 해석되어서는 안 된다. 용어 "인간 모노클로날 항체"는 단일 결합 특이성을 나타내고 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 임의적인 불변 영역을 갖는 실질적으로 동종인 항체의 집단으로부터의 항체를 지칭한다. 일부

실시양태에서, 인간 모노클로날 항체는, 불멸화 세포에 융합된 인간 중쇄 트랜스진 및 경쇄 트랜스진을 포함하는 계놈을 갖는 트랜스제닉 비-인간 동물, 예를 들어 트랜스제닉 마우스로부터 획득된 B 세포를 포함하는 하이브리도마에 의해 생산된다.

[0072] 본원에 사용된 용어 "제조합 인간 항체"는 제조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 모든 인간 항체, 예컨대 (a) 인간 이뮤노글로불린 유전자에 대해 트랜스제닉 또는 트랜스크로모소말인 동물 (예를 들어, 마우스) 또는 그로부터 제조된 하이브리도마로부터 단리된 항체, (b) 항체를 발현하도록 형질전환된 숙주 세포, 예를 들어 트랜스펙토마로부터 단리된 항체, (c) 제조합, 조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체, 및 (d) 인간 이뮤노글로불린 유전자 서열을 다른 DNA 서열로 스플라이싱하는 것을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체를 포함한다. 이러한 제조합 인간 항체는, 배선 유전자에 의해 코딩되지만, 예를 들어 항체 성숙 동안 발생하는 후속 재배열 및 돌연변이를 포함하는 특정한 인간 배선 이뮤노글로불린 서열을 이용하는 가변 및 불변 영역을 포함한다. 관련 기술분야에 공지된 바와 같이 (예를 들어, 문헌 [Lonberg (2005) Nature Biotech. 23(9): 1117- 1125] 참조), 가변 영역은 재배열되어 외래 항원에 특이적인 항체를 형성하는 다양한 유전자에 의해 코딩된 항원 결합 도메인을 함유한다. 재배열에 더하여, 가변 영역은 외래 항원에 대한 항체의 친화도를 증가시키기 위해 다중 단일 아미노산 변화 (체세포 돌연변이 또는 과다돌연변이로 지칭됨)에 의해 추가로 변형될 수 있다. 불변 영역은 항원에 대해 추가로 반응하여 변화할 것이다 (즉, 이소형 스위치). 따라서, 항원에 반응하여 경쇄 및 중쇄 이뮤노글로불린 폴리펩티드를 코딩하는 재배열되고 체세포 돌연변이된 핵산 분자는, 원래의 핵산 분자와 서열 동일성을 갖지 않을 수 있지만, 그 대신 실질적으로 동일하거나 유사할 것이다 (즉, 적어도 80% 동일성을 가짐).

[0073] "인간" 항체 (HuMAb)는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 다가 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 또한, 항체가 불변 영역을 함유하는 경우에, 불변 영역은 또한 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된다. 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이 유발에 의해 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유동물 중, 예컨대 마우스의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그래프팅된 항체를 포함하는 것으로 의도되지 않는다. 용어 "인간" 항체 및 "완전 인간" 항체는 동의어로 사용된다.

[0074] "인간화" 항체는 비-인간 항체의 CDR 도메인 외부의 아미노산 중 일부, 대부분 또는 모두가 인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 상응하는 아미노산으로 대체된 항체를 지칭한다. 인간화 형태의 항체의 일부 실시양태에서, CDR 도메인 외부의 아미노산 중 일부, 대부분 또는 모두는 인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 아미노산으로 대체된 반면에, 1개 이상의 CDR 영역 내의 일부, 대부분 또는 모든 아미노산은 변화되지 않는다. 특정한 항원에 결합하는 항체의 능력을 제거하지 않는 한, 아미노산의 작은 부가, 결실, 삽입, 치환 또는 변형은 허용가능하다. "인간화" 항체는 원래 항체의 것과 유사한 항원 특이성을 보유한다.

[0075] "키메라 항체"는, 가변 영역은 한 종으로부터 유래되고, 불변 영역은 또 다른 종으로부터 유래된 항체, 예컨대 가변 영역은 마우스 항체로부터 유래되고, 불변 영역은 인간 항체로부터 유래된 항체를 지칭한다.

[0076] 본원에 사용된 "이소형"은 중쇄 불변 영역 유전자에 의해 코딩되는 항체 부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, 및 IgE 항체)를 지칭한다.

[0077] "동종이형"은 특정 이소형 그룹 내의 자연 발생 변이체를 지칭하며, 변이체는 소수의 아미노산에서 상이하다 (예를 들어, 문헌 [Jefferis et al. (2009) mAbs 1:1] 참조). 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 임의의 동종이형을 가질 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은, "IgG1f," "IgG1.1f," 또는 "IgG1.3f" 이소형으로 지칭되는 항체는 각각 동종이형 "f"의, 즉 카바트에서와 같이 EU 인덱스에 따라 214R, 356E 및 358M을 갖는, IgG1, 무이펙터 IgG1.1, 무이펙터 IgG1.3 항체이다.

[0078] 어구 "항원을 인식하는 항체" 및 "항원에 특이적인 항체"는 본원에서 용어 "항원에 특이적으로 결합하는 항체"와 상호교환가능하게 사용된다.

[0079] 본원에 사용된 "단리된 항체"는 실질적으로 다른 단백질 및 세포 물질이 없는 항체를 지칭하는 것으로 의도된다.

[0080] 본원에 사용된 "MICA/B에 결합하는" 항체는 관련 기술분야-인식 방법, 예를 들어 본원에 기재된 FACS-기반 결합 검정에서, 예를 들어, 인간 MICA/B 또는 MICA/B 발현 종양 세포로 형질감염된 CHO 세포를 사용한 결합 검정에서 약 25 µg/mL 이하, 약 23 µg/mL 이하, 약 20 µg/mL 이하, 약 15 µg/mL 이하, 약 10 µg/mL 이하, 약 5 µ

g/mL 이하, 약 3 μ g/mL 이하, 약 2 μ g/mL 이하, 약 1 μ g/mL 이하, 약 0.5 μ g/mL 이하, 약 0.45 μ g/mL 이하, 약 0.4 μ g/mL 이하, 약 0.35 μ g/mL 이하, 또는 약 0.3 μ g/mL 이하의 EC₅₀으로 MICA/B와 상호작용하는 항체를 지칭하는 것으로 의도된다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는, 예를 들어, CHO 세포 상에서 발현된 인간-MICA/B에 약 200 nM 이하, 약 175 nM 이하, 약 160 nM 이하, 약 150 nM 이하, 약 125 nM 이하, 약 110 nM 이하, 약 100 nM 이하, 약 80 nM 이하, 약 75 nM 이하, 약 60 nM 이하, 약 50 nM 이하, 약 40 nM 이하, 약 35 nM 이하, 약 30 nM 이하, 약 25 nM 이하, 약 20 nM 이하, 약 15 nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 9 nM 이하, 약 8 nM 이하, 약 7 nM 이하, 약 6 nM 이하, 약 5 nM 이하, 약 4 nM 이하, 약 3 nM 이하, 약 2 nM 이하, 약 1.9 nM 이하, 약 1.8 nM 이하, 약 1.7 nM 이하, 약 1.6 nM 이하, 약 1.5 nM 이하, 약 1.4 nM 이하, 약 1.3 nM 이하, 약 1.2 nM 이하, 약 1.1 nM 이하, 약 1.0 nM 이하, 약 0.9 nM 이하, 약 0.8 nM 이하, 약 0.7 nM 이하, 약 0.6 nM 이하, 약 0.5 nM 이하, 약 0.4 nM 이하, 약 0.3 nM 이하, 약 0.2 nM 이하, 또는 약 0.1 nM 이하의 EC₅₀으로 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는, 예를 들어, CHO 세포 상에서 발현된 인간-MICA/B에 약 10 nM 미만의 EC₅₀으로 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는, 예를 들어, CHO 세포 상에서 발현된 인간-MICA/B에 약 5 nM 미만의 EC₅₀으로 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는, 예를 들어, CHO 세포 상에서 발현된 인간-MICA/B에 약 1.5 nM 미만의 EC₅₀으로 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는, 예를 들어, CHO 세포 상에서 발현된 인간-MICA/B에 약 1 nM 이하의 EC₅₀으로 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는, 예를 들어, CHO 세포 상에서 발현된 인간-MICA/B에 약 0.5 nM 이하의 EC₅₀으로 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는, 예를 들어, CHO 세포 상에서 발현된 인간-MICA/B에 약 0.3 nM 이하의 EC₅₀으로 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는, 예를 들어, CHO 세포 상에서 발현된 인간-MICA/B에 약 0.2 nM 이하의 EC₅₀으로 결합한다.

[0081] 본원에 사용된 바와 같이, 세포, 예를 들어 종양 세포에 의한 "MICA/B의 유출을 억제, 방지, 또는 감소시키는" 항체는 세포의 표면으로부터 가용성 MICA/B의 방출을 억제, 방지, 또는 감소시키는 항체를 지칭하는 것으로 의도된다. 메카니즘에 얽매는 것은 아니지만, 본원에 개시된 항-MICA/B 항체는 예를 들어 절단에 의해 가용성 MICA/B로서 혈장 내로 방출되는 MICA/B의 양을 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 항체는 세포의 표면 상에서 막 결합된 MICA/B를 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA/B로 형질감염된 세포 상에서의 표면 MICA/B의 체류를 약 10 nM 이하, 약 5 nM 이하, 약 1 nM 이하, 약 0.85 nM 이하, 약 0.8 nM 이하, 약 0.75 nM 이하, 약 0.7 nM 이하, 약 0.65 nM 이하, 약 0.6 nM 이하, 약 0.55 nM 이하, 약 0.5 nM 이하, 약 0.45 nM 이하, 약 0.4 nM 이하, 약 0.35 nM 이하, 약 0.3 nM 이하, 약 0.25 nM 이하, 약 0.2 nM 이하, 약 0.15 nM 이하, 또는 약 0.1 nM 이하의 MICA/B 체류 EC₅₀으로 증가시킨다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA/B로 형질감염된 세포 상에서의 표면 MICA/B의 체류를 적어도 약 1.2배, 적어도 약 1.3배, 적어도 약 1.4배, 적어도 약 1.5배, 적어도 약 1.6배, 적어도 약 1.7배, 적어도 약 1.8배, 적어도 약 1.9배, 적어도 약 2배, 적어도 약 2.1배, 적어도 약 2.2배, 적어도 약 2.3배, 적어도 약 2.4배, 적어도 약 2.5배, 적어도 약 2.75배, 적어도 약 3배, 적어도 약 3.5배, 적어도 약 4배, 적어도 약 4.5배, 적어도 약 5배, 적어도 약 7.5배, 적어도 약 10배, 또는 적어도 약 20배만큼 증가시킨다.

[0082] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 환자의 혈청 중 가용성 MICA/B (sMICA/B) 수준을 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA/B로 형질감염된 세포로부터 유출되는 가용성 MICA/B를 약 10 nM 이하, 약 5 nM 이하, 약 1 nM 이하, 약 0.7 nM 이하, 약 0.6 nM 이하, 약 0.5 nM 이하, 약 0.45 nM 이하, 약 0.4 nM 이하, 약 0.35 nM 이하, 약 0.3 nM 이하, 약 0.25 nM 이하, 약 0.2 nM 이하, 약 0.19 nM 이하, 약 0.18 nM 이하, 약 0.17 nM 이하, 약 0.16 nM 이하, 약 0.15 nM 이하, 약 0.14 nM 이하, 약 0.13 nM 이하, 약 0.12 nM 이하, 약 0.11 nM 이하, 약 0.1 nM 이하, 약 0.09 nM 이하, 약 0.08 nM 이하, 약 0.07 nM 이하, 약 0.06 nM 이하, 약 0.05 nM 이하, 약 0.04 nM 이하, 약 0.03 nM 이하, 약 0.02 nM 이하, 또는 약 0.01 nM 이하의 IC₅₀으로 감소시킨다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA로 형질감염된 세포로부터의 MICA/B의 유출을 약 0.9배 이하, 약 0.85배 이하, 약 0.8배 이하, 약 0.75배 이하, 약 0.7배 이하, 약 0.65배 이하, 약 0.6배 이하, 약 0.55배 이하, 약 0.5배 이하, 약 0.45배 이하, 약 0.4배 이하, 약 0.35배 이하, 약 0.3배 이하, 약 0.25배 이하, 약 0.2배 이하, 약 0.15배 이하, 약 0.1배 이하, 또는 약 0.05 이하만큼 감소시킨다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 대상체의 혈청 중 가용성 MICA/B를, 예를 들어, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 90%만큼 감소시킬 수 있다.

- [0083] 본원에 사용된 용어 "유출된" 또는 "유출"은 MICA/B 발현 세포의 표면으로부터의 가용성 MICA/B의 방출을 지칭한다. MICA/B는 막횡단 단백질로서 발현되고, 이는 세포 표면에 국제화된다. 세포의 도메인 내의 절단은 MICA/B의 부분을 혈장 내로 방출하고, 이는 본원에서 "가용성 MICA/B" 또는 "sMICA/B"로 지칭된다.
- [0084] "이펙터 기능"은 항체 Fc 영역과 Fc 수용체 또는 리간드의 상호작용, 또는 그로부터 유발되는 생화학적 사건을 지칭한다. 예시적인 "이펙터 기능"은 C1q 결합, 보체 의존성 세포독성 (CDC), Fc 수용체 결합, Fc γ R-매개된 이펙터 기능, 예컨대 ADCC 및 항체 의존성 세포-매개 식세포작용 (ADCP), 및 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향조절을 포함한다. 이러한 이펙터 기능은 일반적으로 Fc 영역이 결합 도메인 (예를 들어, 항체 가변 도메인)과 조합될 것을 요구한다.
- [0085] "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 이뮤노글로불린의 Fc 영역에 결합하는 수용체이다. IgG 항체에 결합하는 FcR은 이들 수용체의 대립유전자 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태를 포함한, Fc γ R 패밀리의 수용체를 포함한다. Fc γ R 패밀리는 3종의 활성화 (마우스에서 Fc γ RI, Fc γ RIII 및 Fc γ RIV; 인간에서 Fc γ RIA, Fc γ RIIA 및 Fc γ RIIIA) 및 1종의 억제 (Fc γ RIIB) 수용체로 이루어진다. 인간 Fc γ R의 다양한 특성은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 대다수의 선천성 이펙터 세포 유형은 1종 이상의 활성화 Fc γ R 및 억제 Fc γ RIIB를 공동발현하고, 반면에 자연 킬러 (NK) 세포는 1종의 활성화 Fc 수용체 (마우스에서 Fc γ RIII 및 인간에서 Fc γ RIIIA)를 선택적으로 발현하지만 마우스 및 인간에서 억제 Fc γ RIIB는 발현하지 않는다. 인간 IgG1은 대부분의 인간 Fc 수용체에 결합하고, 그것이 결합하는 활성화 Fc 수용체의 유형과 관련하여 무린 IgG2a와 동등한 것으로 간주된다.
- [0086] "Fc 영역" (결정화가능 단편 영역) 또는 "Fc 도메인" 또는 "Fc"는, 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 상에 위치하는 Fc 수용체 또는 전형적 보체계의 제1 성분 (C1q)에 대한 결합을 포함한, 이뮤노글로불린의 숙주 조직 또는 인자에 대한 결합을 매개하는 항체의 중쇄의 C-말단 영역을 지칭한다. 따라서, Fc 영역은 제1 불변 영역 이뮤노글로불린 도메인 (예를 들어, CH1 또는 CL)을 제외한 항체의 불변 영역을 포함한다. IgG, IgA 및 IgD 항체 이소형에서, Fc 영역은 항체의 2개의 중쇄의 제2 (CH2) 및 제3 (CH3) 불변 도메인으로부터 유래된, 2개의 동일한 단백질 단편을 포함하고; IgM 및 IgE Fc 영역은 각각의 폴리펩티드 쇄에서 3개의 중쇄 불변 도메인 (CH 도메인 2-4)을 포함한다. IgG의 경우에, Fc 영역은 이뮤노글로불린 도메인 CH2 및 CH3, 및 CH1과 CH2 도메인 사이의 힌지를 포함한다. 이뮤노글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계의 정의는 달라질 수 있지만, 본원에 정의된 바와 같이, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 IgG1의 경우 아미노산 잔기 D221, IgG2의 경우 V222, IgG3의 경우 L221 및 IgG4의 경우 P224로부터 중쇄의 카르복시-말단까지의 스트레치로 정의되고, 여기서 넘버링은 카바트에 서와 같은 EU 인덱스에 따른다. 인간 IgG Fc 영역의 CH2 도메인은 아미노산 237로부터 아미노산 340까지 연장되고, CH3 도메인은 Fc 영역의 CH2 도메인의 C-말단 측에 위치하며, 즉, IgG의 아미노산 341로부터 아미노산 447 또는 446 (C-말단 리신 잔기가 부재하는 경우) 또는 445 (C-말단 글리신 및 리신 잔기가 부재하는 경우)까지 연장된다. 본원에 사용된 Fc 영역은 임의의 동종이형 변이체를 포함한 천연 서열 Fc, 또는 변이체 Fc (예를 들어, 비-자연 발생 Fc)일 수 있다.
- [0087] "천연 서열 Fc 영역" 또는 "천연 서열 Fc"는 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 천연 서열 인간 Fc 영역은 천연 서열 인간 IgG1 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 천연 서열 인간 IgG4 Fc 영역 뿐만 아니라 그의 자연 발생 변이체를 포함한다. 천연 서열 Fc는 Fc의 다양한 동종이형을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Jefferis et al. (2009) mAbs 1:1] 참조).
- [0088] 용어 "에피토프" 또는 "항원 결정기"는, 예를 들어 이를 확인하기 위해 사용된 특정 방법에 의해 정의되는 바와 같은, 이뮤노글로불린 또는 항체가 특이적으로 결합하는 항원 상의 부위 (예를 들어, MICA)를 지칭한다. 에피토프는 인접 아미노산 (통상적으로 선형 에피토프) 또는 단백질의 3차 폴딩에 의해 병치되는 비인접 아미노산 (통상적으로 입체형태적 에피토프) 둘 다로부터 형성될 수 있다. 인접 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 항상 그러한 것은 아니지만 전형적으로 변성 용매에의 노출 시 유지되는 반면에, 3차 폴딩에 의해 형성된 에피토프는 전형적으로 변성 용매에 의한 처리 시 상실된다. 에피토프는 전형적으로 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15개의 아미노산을 공유한 공간 입체형태로 포함한다. 어떠한 에피토프가 주어진 항체에 의해 결합되는지 결정하는 방법 (즉, 에피토프 맵핑)은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 이뮤노블롯팅 및 면역침전 검정을 포함하고, 여기서 중첩 또는 인접 펩티드 (예를 들어, MICA로부터)는 주어진 항체 (예를 들어, 항-MICA/B 항체)와의 반응성에 대해 시험된다. 에피토프의 공간 입체형태를 결정하는 방법은 관련 기술분야의 기술 및 본원에 기재된 기술, 예를 들어 X선 결정학, X선 공결정학, 항원 돌연변이 분석, 2-차원 핵 자기 공명 및 HDX-MS를 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)] 참조).

- [0089] 용어 "에피토프 맵핑"은 항체-항원 인식을 위한 분자 결정기의 확인 과정을 지칭한다.
- [0090] 2종 이상의 항체와 관련하여 용어 "동일한 에피토프에 결합하다"는 항체가 주어진 방법에 의해 결정 시, 아미노산 잔기의 동일한 절편에 결합한다는 것을 의미한다. 항체가 본원에 기재된 항체와 "MICA 상의 동일한 에피토프"에 결합하는지 여부를 결정하는 기술은, 예를 들어 에피토프 맵핑 방법, 예컨대 에피토프의 원자 해상도를 제공하는 항원:항체 복합체의 결정의 X선 분석, 및 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)을 포함한다. 다른 방법은 항체의 항원 단편 또는 항원의 돌연변이된 변형에 대한 결합을 모니터링하는 것이고, 여기서 항원 서열 내 아미노산 잔기의 변형으로 인한 결합의 상실은 종종 에피토프 성분의 지표로 간주된다. 또한, 에피토프 맵핑에 대한 컴퓨터 조합 방법을 사용할 수도 있다. 이들 방법은 관심 항체가 조합 파지 디스플레이 펩티드 라이브러리로부터 특이적인 짧은 펩티드를 친화도 단리하는 능력에 의존한다. 동일한 VH 및 VL 또는 동일한 CDR1, 2 및 3 서열을 갖는 항체는 동일한 에피토프에 결합할 것으로 예상된다.
- [0091] "표적에 대한 결합에 대해 또 다른 항체와 경쟁하는" 항체는 다른 항체가 표적에 결합하는 것을 (부분적으로 또는 완전히) 억제하는 항체를 지칭한다. 2종의 항체가 표적에 대한 결합에 대해 서로 경쟁하는지 여부, 즉 하나의 항체가 다른 항체가 표적에 결합하는 것을 억제하는지 여부 및 그 정도는 공지된 경쟁 실험, 예를 들어 비아코어® 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 분석을 사용하여 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 또 다른 항체가 표적에 결합하는 것과 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100% 경쟁하고, 그의 결합을 억제한다. 억제 또는 경쟁 수준은 항체가 "차단 항체" (즉, 표적과 먼저 인큐베이션되는 콜드 항체)인지에 따라 상이할 수 있다. 경쟁 검정은 예를 들어, 문헌 [Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harb Protoc; 2006; doi: 10.1101/pdb.prot4277 또는 Chapter 11 of "Using Antibodies" by Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA 1999]에 기재된 바와 같이 수행될 수 있다. 경쟁 실험에서 항체가 서로 양방향으로 적어도 50%만큼, 즉 하나의 항체 또는 다른 항체가 먼저 항원과 접촉하는 것과 관계 없이 차단하는 경우에, 2종의 항체는 "교차-경쟁한다".
- [0092] 2종의 항체가 결합에 대해 경쟁하는지 또는 교차 경쟁하는지 여부를 결정하기 위한 경쟁적 결합 검정은, 예를 들어 실시예에 기재된 바와 같은 유동 세포측정법에 의한, MICA/B를 발현하는 세포에의 결합에 대한 경쟁을 포함한다. 다른 방법은 SPR (예를 들어, 비아코어®), 고체 상 직접 또는 간접 방사선면역검정 (RIA), 고체 상 직접 또는 간접 효소 면역검정 (EIA), 샌드위치 경쟁 검정 (문헌 [Stahli et al., Methods in Enzymology 9:242 (1983)] 참조); 고체 상 직접 비오틴-아비딘 EIA (문헌 [Kirkland et al., J. Immunol. 137:3614 (1986)] 참조); 고체 상 직접 표지 검정, 고체 상 직접 표지 샌드위치 검정 (문헌 [Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press (1988)] 참조); 1-125 표지를 사용한 고체 상 직접 표지 RIA (문헌 [Morel et al., Mol. Immunol. 25(1):7 (1988)] 참조); 고체 상 직접 비오틴-아비딘 EIA (Cheung et al., Virology 176:546 (1990)); 및 직접 표지 RIA (Moldenhauer et al., Scand. J. Immunol. 32:77 (1990))를 포함한다.
- [0093] 본원에 사용된 용어 "특이적 결합", "선택적 결합", "선택적으로 결합하다" 및 "특이적으로 결합하다"는 미리 결정된 항원 상의 에피토프에 대한 항체 결합을 지칭한다. 전형적으로, 항체는 (i) 예를 들어 미리 결정된 항원, 예를 들어 재조합 인간 MICA 또는 MICB를 분석물로서 사용하고 항체를 리간드로서 사용하는 비아코어® 2000 기기에서의 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 기술, 또는 항원 양성 세포에 대한 항체의 결합의 스퀘어드 분석에 의해 결정하였을 때, 대략 10^{-7} M 미만, 예컨대 대략 10^{-8} M, 10^{-9} M 또는 10^{-10} M 미만 또는 심지어 그 미만의 평형 해리 상수 (K_D)로 결합하고, (ii) 미리 결정된 항원 또는 밀접하게-관련된 항원 이외의 비-특이적 항원 (예를 들어, BSA, 카세인)에 대한 결합에 대한 그의 친화도보다 적어도 2-배 더 큰 친화도로 미리 결정된 항원에 결합한다. 따라서, "인간 MICA/B에 특이적으로 결합하는" 항체는 가용성 또는 세포 결합 인간 MICA/B에 10^{-7} M 이하, 예컨대 대략 10^{-8} M, 10^{-9} M 또는 10^{-10} M 미만 또는 심지어 그 미만의 K_D 로 결합하는 항체를 지칭한다. "시노몰구스 MICA/B와 교차-반응하는" 항체는 10^{-7} M 이하, 예컨대 대략 10^{-8} M, 10^{-9} M 또는 10^{-10} M 미만 또는 심지어 그 미만의 K_D 로 시노몰구스 MICA/B에 결합하는 항체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 비-인간 종으로부터의 MICA/B와 교차-반응하지 않는 이러한 항체는 표준 결합 검정에서 이들 단백질에 대해 본질적으로 검출가능하지 않은 결합을 나타낸다.
- [0094] 본원에 사용된 용어 " k_{assoc} " 또는 " k_a "는 특정한 항체-항원 상호작용의 회합률을 지칭하는 것으로 의도되고, 반면에 본원에 사용된 용어 " k_{dis} " 또는 " k_d "는 특정한 항체-항원 상호작용의 해리율을 지칭하는 것으로 의도된다.

본원에 사용된 용어 " K_D "는 k_d 대 k_a 의 비 (즉, k_d/k_a)로부터 수득되는 해리 상수를 지칭하는 것으로 의도되고, 몰 농도 (M)로 표현된다. 항체에 대한 K_D 값은 관련 기술분야에 널리 확립된 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 항체의 K_D 를 결정하기 위해 이용가능한 방법은 표면 플라즈몬 공명, 바이오센서 시스템, 예컨대 비아코어® 시스템 또는 유동 세포측정법 및 스캐차드 분석을 포함한다.

[0095] 본원에 사용된, IgG 항체에 대한 용어 "높은 친화도"는 표적 항원에 대한 10^{-8} M 이하, 10^{-9} M 이하, 또는 10^{-10} M 이하의 K_D 를 갖는 항체를 지칭한다. 그러나, "높은 친화도" 결합은 다른 항체 이소형에 대해 달라질 수 있다. 예를 들어, IgM 이소형에 대한 "높은 친화도" 결합은 10^{-10} M 이하, 또는 10^{-8} M 이하의 K_D 를 갖는 항체를 지칭한다.

[0096] 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 사용하는 시험관내 또는 생체내 검정의 문맥에서 용어 "EC₅₀"은 최대 반응의 50%, 즉 최대 반응과 기준선 사이의 중간인 반응을 유도하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분의 농도를 지칭한다.

[0097] 대상에 적용되는 바와 같은 본원에 사용된 용어 "자연 발생"은 대상이 자연에서 발견될 수 있다는 사실을 지칭한다. 예를 들어, 자연에서 공급원으로부터 단리될 수 있고 실험실에서 사람에게 의해 의도적으로 변형되지 않은 유기체 (바이러스 포함)에 존재하는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열은 자연 발생이다.

[0098] "폴리펩티드"는쇄의 길이에 대한 상한치 없이, 적어도 2개의 연속적으로 연결된 아미노산 잔기를 포함하는쇄를 지칭한다. 단백질 내의 1개 이상의 아미노산 잔기는 변형 예컨대, 비제한적으로, 글리코실화, 인산화 또는 디설피드 결합 형성을 함유할 수 있다. "단백질"은 1개 이상의 폴리펩티드를 포함할 수 있다.

[0099] 본원에 사용된 용어 "핵산 분자"는 DNA 분자 및 RNA 분자를 포함하는 것으로 의도된다. 핵산 분자는 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있고, cDNA일 수 있다.

[0100] "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 치환된 것을 지칭한다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 관련 기술분야에서 정의되어 있다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄 (예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄 (예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄 (예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타-분지형 측쇄 (예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체에서 예측되는 비필수 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 패밀리로부터의 또 다른 아미노산 잔기로 대체된다. 항원 결합을 제거하지 않는 뉴클레오티드 및 아미노산 보존적 치환을 확인하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Brummell et al., Biochem. 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi et al. Protein Eng. 12(10):879-884 (1999); 및 Burks et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:412-417 (1997)] 참조).

[0101] 핵산의 경우에, 용어 "실질적 상동성"은 2개의 핵산 또는 그의 지정된 서열이 최적으로 정렬되고 비교된 경우에, 적절한 뉴클레오티드 삽입 또는 결실에 의해 적어도 약 80%의 뉴클레오티드, 적어도 약 90% 내지 95%, 또는 적어도 약 98% 내지 99.5%의 뉴클레오티드에서 동일한 것을 나타낸다. 대안적으로, 실질적 상동성은 절편이 선택적 혼성화 조건 하에 가닥의 상보체와 혼성화될 경우에 존재한다.

[0102] 폴리펩티드의 경우에, 용어 "실질적 상동성"은 2개의 폴리펩티드 또는 그의 지정된 서열이 최적으로 정렬되고 비교된 경우에, 적절한 아미노산 삽입 또는 결실에 의해 적어도 약 80%의 아미노산, 적어도 약 90% 내지 95%, 또는 적어도 약 98% 내지 99.5%의 아미노산에서 동일한 것을 나타낸다.

[0103] 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성은 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 갭의 수 및 각각의 갭의 길이를 고려한, 서열에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이다 (즉, % 상동성 = 동일한 위치의 #/위치의 총 # x 100). 2개의 서열 사이의 서열 비교 및 퍼센트 동일성의 결정은 하기 비제한적 예에 기재된 바와 같이 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다.

[0104] 2개의 뉴클레오티드 서열 사이의 퍼센트 동일성은 NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 40, 50, 60, 70 또는 80의 갭 가중치 및 1, 2, 3, 4, 5 또는 6의 길이 가중치를 사용하는 GCG 소프트웨어 패키지 내의 GAP 프로그램 (worldwideweb.gcg.com에서 이용가능)을 사용하여 결정될 수 있다. PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티

12 및 갭 페널티 4를 사용하는 ALIGN 프로그램 (버전 2.0) 내로 혼입된 문헌 [E. Meyers and W. Miller (CABIOS, 4:11-17 (1989))]의 알고리즘을 사용하여 2개의 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성이 또한 결정될 수 있다. 또한, 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 블로섬(Blossum) 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4, 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6을 사용하는 GCG 소프트웨어 패키지 (<http://www.gcg.com>에서 이용가능) 내의 GAP 프로그램 내로 혼입된 문헌 [Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. (48):444-453 (1970))] 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다.

[0105] 추가로 본원에 기재된 핵산 및 단백질 서열은, 예를 들어 관련 서열을 확인하기 위해 공중 데이터베이스에 대한 검색을 수행하기 위한 "질의 서열"로서 사용될 수 있다. 이러한 검색은 문헌 [Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램 (버전 2.0)을 사용하여 수행될 수 있다. NBLAST 프로그램, 점수 = 100, 워드 길이 = 12로 BLAST 뉴클레오티드 검색을 수행하여 본원에 기재된 핵산 분자와 상동성인 뉴클레오티드 서열을 수득할 수 있다. XBLAST 프로그램, 점수 = 50, 워드 길이 = 3으로 BLAST 단백질 검색을 수행하여 본원에 기재된 단백질 분자와 상동성인 아미노산 서열을 수득할 수 있다. 비교 목적으로 갭이 있는 정렬을 수득하기 위해, 갭드 BLAST를 문헌 [Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402]에 기재된 바와 같이 사용할 수 있다. BLAST 및 갭드 BLAST 프로그램을 사용하는 경우에, 각각의 프로그램 (예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 파라미터가 사용될 수 있다. worldwideweb.ncbi.nlm.nih.gov를 참조한다.

[0106] 핵산은 전세포 내에, 세포 용해물 내에, 또는 부분적으로 정제되거나 실질적으로 순수한 형태로 존재할 수 있다. 핵산은 다른 세포 성분 또는 다른 오염물, 예를 들어 다른 세포 핵산 (예를 들어, 염색체의 다른 부분) 또는 단백질로부터, 알칼리/SDS 처리, CsCl 밴딩, 칼럼 크로마토그래피, 아가로스 겔 전기영동 및 관련 기술분야에 널리 공지된 다른 것을 포함한 표준 기술에 의해 정제되었을 때 "단리되거나" 또는 "실질적으로 순수해진다". 문헌 [F. Ausubel, et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)]을 참조한다.

[0107] 핵산, 예를 들어 cDNA는 유전자 서열을 제공하는 표준 기술에 따라 돌연변이될 수 있다. 코딩 서열의 경우, 이들 돌연변이는 목적하는 바와 같이 아미노산 서열에 영향을 미칠 수 있다. 특히, 천연 V, D, J, 불변, 스위치 및 본원에 기재된 다른 이러한 서열에 실질적으로 상동이거나 또는 그로부터 유래된 DNA 서열이 고려된다 (여기서 "유래된"은 서열이 또 다른 서열과 동일하거나 또는 이로부터 변형된 것임을 나타냄).

[0108] 본원에 사용된 용어 "벡터"는 그것이 연결된 또 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭하는 것으로 의도된다. 벡터의 한 유형은 "플라스미드"이며, 이는 추가의 DNA 절편이 라이게이션될 수 있는 환형의 이중 가닥 DNA 루프를 지칭한다. 또 다른 유형의 벡터는 바이러스 벡터이며, 여기서 추가의 DNA 절편은 바이러스 계놈 내로 라이게이션될 수 있다. 특정 벡터는 그것이 도입되는 숙주 세포에서 자율 복제될 수 있다 (예를 들어, 박테리아 복제 기점을 갖는 박테리아 벡터 및 에피솜 포유동물 벡터). 다른 벡터 (예를 들어, 비-에피솜 포유동물 벡터)는 숙주 세포 내로의 도입 시 숙주 세포의 계놈 내로 통합될 수 있고, 이에 의해 숙주 계놈과 함께 복제된다. 또한, 특정 벡터는 작동가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터는 본원에서 "재조합 발현 벡터" (또는 간단히 "발현 벡터")로 지칭된다. 일반적으로, 재조합 DNA 기술에서 유용한 발현 벡터는 종종 플라스미드 형태이다. 본 명세서에서, 플라스미드가 가장 통상적으로 사용되는 형태의 벡터이므로, "플라스미드" 및 "벡터"는 상호교환가능하게 사용될 수 있다. 그러나, 등가의 기능을 수행하는 다른 형태의 발현 벡터, 예컨대 바이러스 벡터 (예를 들어, 복제 결함 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스)가 또한 포함된다.

[0109] 본원에 사용된 용어 "재조합 숙주 세포" (또는 간단히 "숙주 세포")는 세포에 자연적으로 존재하지 않는 핵산을 포함하는 세포를 지칭하는 것으로 의도되고, 이는 재조합 발현 벡터가 도입된 세포일 수 있다. 이러한 용어는 특정한 대상 세포 뿐만 아니라 이러한 세포의 자손까지 지칭하는 것으로 의도된다는 것을 이해하여야 한다. 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 후속 세대에서 특정 변형이 발생할 수 있기 때문에, 이러한 자손은 실제로는 모 세포와 동일하지 않을 수 있지만, 여전히 본원에 사용된 용어 "숙주 세포"의 범주 내에 포함된다.

[0110] "면역 반응"은 관련 기술분야에서 이해되는 바와 같고, 일반적으로 외래 작용제 또는 비정상, 예를 들어 암성 세포에 대한 척추동물 내에서의 생물학적 반응을 지칭하며, 반응은 이들 작용제 및 그에 의해 유발되는 질환에 대해 유기체를 보호한다. 면역 반응은 침입 병원체, 병원체로 감염된 세포 또는 조직, 암성 또는 다른 비정상 세포, 또는 자가면역 또는 병리학적 염증의 경우에는 정상 인간 세포 또는 조직의 선택적 표적화, 그에 대한 결함, 그에 대한 손상, 그의 파괴, 및/또는 그의 척추동물 신체로부터의 제거를 발생시키는, 면역계의 1종 이상의 세포 (예를 들어, T 림프구, B 림프구, 자연 킬러 (NK) 세포, 대식세포, 호산구, 비만 세포, 수지상 세포 또는

호중구) 및 이들 세포 중 임의의 것 또는 간에 의해 생산된 가용성 거대분자 (항체, 시토카인 및 보체 포함)의 작용에 의해 매개된다. 면역 반응은 예를 들어 T 세포, 예를 들어 이펙터 T 세포, Th 세포, CD4+ 세포, CD8+ T 세포, 또는 Treg 세포의 활성화 또는 억제, 또는 면역계의 임의의 다른 세포, 예를 들어 NK 세포의 활성화 또는 억제를 포함한다.

- [0111] "면역조정제" 또는 "면역조절제"는 면역 반응의 조정, 조절 또는 변형에 수반될 수 있는 작용제, 예를 들어 신호전달 경로의 성분을 표적화하는 작용제를 지칭한다. 면역 반응의 "조정", "조절" 또는 "변형"은 면역계 세포에서의 또는 이러한 세포 (예를 들어, 이펙터 T 세포, 예컨대 Th1 세포)의 활성화에서의 임의의 변경을 지칭한다. 이러한 조정은 다양한 세포 유형의 개수에서의 증가 또는 감소, 이들 세포의 활성화에서의 증가 또는 감소, 또는 면역계 내에서 발생할 수 있는 임의의 다른 변화에 의해 나타날 수 있는 면역계의 자극 또는 억제를 포함한다. 억제 및 자극 면역조정제 둘 다가 확인된 바 있고, 이들 중 일부는 종양 미세환경에서 증진된 기능을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역조정제는 T 세포의 표면 상의 분자를 표적화한다. "면역조정 표적" 또는 "면역조절 표적"은 물질, 작용제, 모이어티, 화합물 또는 분자에 의한 결합에 대해 표적화되고, 그의 활성이 결합에 의해 변경되는 분자, 예를 들어 세포 표면 분자이다. 면역조정 표적은 예를 들어, 세포 표면 상의 수용체 ("면역조정 수용체") 및 수용체 리간드 ("면역조정 리간드")를 포함한다.
- [0112] "면역요법"은 면역계 또는 면역 반응을 유도, 증진, 억제, 또는 달리 변형시키는 것을 포함하는 방법에 의해 질환을 앓거나, 질환에 걸릴 위험이 있거나, 질환의 재발을 겪는 대상체를 치료하는 것을 지칭한다.
- [0113] "면역자극 요법" 또는 "면역자극성 요법"은, 예를 들어 암을 치료하기 위해, 대상체에서 면역 반응의 증가 (유도 또는 증진)를 발생시키는 요법을 지칭한다.
- [0114] "내인성 면역 반응을 강화시키는" 것은 대상체에서 기존의 면역 반응의 유효성 또는 효력을 증가시키는 것을 의미한다. 유효성 및 효능에서의 이러한 증가는 예를 들어, 내인성 숙주 면역 반응을 억제하는 메카니즘을 극복함으로써 또는 내인성 숙주 면역 반응을 증진시키는 메카니즘을 자극함으로써 달성될 수 있다.
- [0115] "T 이펙터" (T_{eff}) 세포는 세포용해 활성을 갖는 T 세포 (예를 들어, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포), 뿐만 아니라 시토카인을 분비하여 다른 면역 세포를 활성화시키고 지시하는 T 헬퍼 (Th) 세포, 예를 들어 Th1 세포를 지칭하지만, 조절 T 세포 (Treg 세포)는 포함하지 않는다. 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 T_{eff} 세포, 예를 들어, $CD4^+$ 및 $CD8^+ T_{eff}$ 세포 및 Th1 세포를 활성화시킨다.
- [0116] 면역 반응 또는 면역계를 자극하는 증가된 능력은 T 세포 공동자극 수용체의 증진된 효능제 활성화 및/또는 억제 수용체의 증진된 길항제 활성화로부터 발생할 수 있다. 면역 반응 또는 면역계를 자극하는 증가된 능력은 면역 반응을 측정하는 검정, 예를 들어 시토카인 또는 케모카인 방출, 세포용해 활성화 (표적 세포 상에서 직접적으로 또는 CD107a 또는 그랜자임을 검출하는 것을 통해 간접적으로 결정됨) 및 증식에서의 변화를 측정하는 검정에서 EC_{50} 의 배수 증가 또는 활성의 최대 수준에 의해 반영될 수 있다. 면역 반응 또는 면역계 활성을 자극하는 능력은 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 증진될 수 있다.
- [0117] 본원에 사용된 용어 "연결된"은 2개 이상의 분자의 회합을 지칭한다. 연결은 공유 또는 비-공유일 수 있다. 연결은 또한 유전자적일 수 있다 (즉, 재조합적으로 융합됨). 이러한 연결은 관련 기술분야에 인지도된 광범위한 기술, 예컨대 화학적 접합 및 제조합 단백질 생산을 사용하여 달성될 수 있다.
- [0118] 본원에 사용된 "투여"는 치료제를 포함하는 조성물을, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다양한 방법 및 전달 시스템 중 임의의 것을 사용하여 대상체에게 물리적으로 도입하는 것을 지칭한다. 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 상이한 투여 경로는 정맥내, 복강내, 근육내, 피하, 척추 또는 다른 비경구 투여 경로, 예를 들어 주사 또는 주입에 의한 것을 포함한다. 본원에 사용된 어구 "비경구 투여"는 통상적으로 주사에 의하는, 경장 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 의미하며, 비제한적으로, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 림프관내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입, 뿐만 아니라 생체내 전기천공을 포함한다. 대안적으로, 본원에 기재된 항체는 비-비경구 경로, 예컨대 국소, 표피 또는 점막 투여 경로를 통해, 예를 들어, 비강내로, 경구로, 질로, 직장으로, 설하로 또는 국소로 투여될 수 있다. 또한, 투여는 예를 들어 1회, 복수회, 및/또는 1 이상의 연장된 기간에 걸쳐 수행될 수 있다.
- [0119] 본원에 사용된 용어 "T 세포-매개된 반응"은 이펙터 T 세포 (예를 들어, $CD8^+$ 세포) 및 헬퍼 T 세포 (예를

들어, CD4⁺ 세포)를 포함하는 T 세포에 의해 매개되는 반응을 지칭한다. T 세포 매개 반응은, 예를 들어, T 세포 세포독성 및 증식을 포함한다.

[0120] 본원에 사용된 용어 "세포독성 T 림프구 (CTL) 반응"은 세포독성 T 세포에 의해 유도되는 면역 반응을 지칭한다. CTL 반응은 주로 CD8⁺ T 세포에 의해 매개된다.

[0121] 본원에 사용된 어구 "종양의 성장을 억제하다"는 종양의 성장에서의 임의의 측정가능한 감소, 예를 들어 종양의 성장의 적어도 약 10%, 예를 들어 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 99%, 또는 100% 억제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 종양 성장의 억제는 퍼센트 종양 성장 억제 (TGI%)로서 측정된다. TGI%는 식: $[1 - ((T_t/T_0) / (C_t/C_0))] / [(C_t - C_0)/C_t] * 100$ [식 1]에 따라 모든 치료 동물로부터 계산된 dat "t"에서의 TGI를 계산함으로써 결정될 수 있고, 여기서 T_t = 처리된 동물의 시간 't'에서의 개별 종양 크기, T_0 = 처리된 동물의 제1 측정 시 개별 종양 크기, C_t = 대조군 동물의 시간 't'에서의 중앙값 종양 크기, C_0 = 대조군 동물의 제1 측정 시 중앙값 종양 크기이다.

[0122] 본원에 사용된 "암"은 신체 내 비정상 세포의 비제어된 성장을 특징으로 하는 질환의 광범위한 그룹을 지칭한다. 비조절된 세포 분열은 이웃 조직을 침습하는 악성 종양 또는 세포의 형성을 발생시킬 수 있고 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 원위 부분으로 전이될 수 있다.

[0123] 본원에 사용된 용어 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 질환과 연관된 증상, 합병증, 상태 또는 생화학적 징후의 진행, 발달, 중증도 또는 재발을 역전, 완화, 호전, 억제 또는 지연 또는 예방하거나 또는 전체 생존을 증진시킬 목적으로 대상체에 대하여 수행되는 임의의 유형의 개입 또는 과정, 또는 대상체에게 활성제를 투여하는 것을 지칭한다. 치료는 질환을 갖는 대상체 또는 질환을 갖지 않는 대상체 (예를 들어, 예방용)에 대한 것일 수 있다.

[0124] 용어 "유효 용량" 또는 "유효 투여량"은 목적하는 효과를 달성하거나 적어도 부분적으로 달성하기에 충분한 양으로 정의된다. 약물 또는 치료제의 "치료 유효량" 또는 "치료 유효 투여량"은 단독으로 또는 또 다른 치료제와 조합되어 사용되는 경우에, 질환 증상의 중증도 감소, 질환 무증상 기간의 빈도 및 지속기간 증가, 전체 생존 증가 (질환, 예컨대 암을 갖는 것으로 진단된 환자가 질환의 진단일 또는 치료 시작일로부터 여전히 살아있는 시간의 길이), 또는 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애의 방지에 의해 입증되는 질환 퇴행을 촉진하는 약물의 임의의 양이다. 약물의 치료 유효량 또는 투여량은 "예방 유효량" 또는 "예방 유효 투여량"을 포함하며, 이는 질환이 발생할 위험 또는 질환이 재발할 위험이 있는 대상체에게 단독으로 또는 또 다른 치료제와 조합되어 투여되는 경우에, 질환의 발생 또는 재발을 억제하는 약물의 임의의 양이다. 질환 퇴행을 촉진하거나 질환의 발생 또는 재발을 억제하는 치료제의 능력은 숙련된 진료의에게 공지된 다양한 방법을 사용하여, 예컨대 임상 시험 동안 인간 대상체에서, 인간에서의 효능을 예측케하는 동물 모델 시스템에서, 또는 시험관내 검정에서 치료제의 활성을 검정함으로써 평가될 수 있다.

[0125] 예로서, 항암제는 대상체에서 암 퇴행을 촉진하는 약물이다. 일부 실시양태에서, 약물의 치료 유효량은 암을 제거하는 지점까지 암 퇴행을 촉진한다. "암 퇴행을 촉진하는" 것은 유효량의 약물을 단독으로 또는 항신생물제와 조합하여 투여하여 환자에서 종양 성장 또는 크기의 감소, 종양의 괴사, 적어도 1종의 질환 증상의 중증도 감소, 질환 무증상 기간의 빈도 및 지속기간 증가, 전체 생존 증가, 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애의 방지, 또는 달리 질환 증상의 호전을 발생시키는 것을 의미한다. 또한, 치료와 관련한 용어 "유효한" 및 "유효성"은 약리학적 유효성 및 생리학적 안전성 둘 다를 포함한다. 약리학적 유효성은 환자에게서 암 퇴행을 촉진하는 약물의 능력을 지칭한다. 생리학적 안전성은 약물의 투여로부터 발생하는 세포, 기관 및/또는 유기체 수준에서의 독성의 수준, 또는 다른 유해 생리학적 효과 (유해 효과)를 지칭한다.

[0126] 종양의 치료에 대한 예로서, 치료 유효량 또는 투여량의 약물은 세포 성장 또는 종양 성장을 미치료 대상체에 비해 적어도 약 20%, 적어도 약 40%, 적어도 약 60%, 또는 적어도 약 80% 억제한다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량 또는 투여량의 약물은 세포 성장 또는 종양 성장을 완전히 억제하고 즉, 세포 성장 또는 종양 성장을 100% 억제한다. 종양 성장을 억제하는 화합물의 능력은 하기 기재된 검정을 사용하여 평가될 수 있다. 대안적으로, 조성물의 이러한 특성은 세포 성장을 억제하는 화합물의 능력을 검사함으로써 평가될 수 있고, 이러한 억제는 숙련된 진료의에게 공지된 검정에 의해 시험관내에서 측정될 수 있다. 본원에 기재된 일부 실시양태에서, 종양 퇴행은 적어도 약 20일, 적어도 약 40일, 또는 적어도 약 60일의 기간 동안 관찰되고 계속될 수 있다.

- [0127] 용어 "환자"는 예방적 또는 치유적 치료를 받는 인간 및 다른 포유동물 대상체를 포함한다.
- [0128] 본원에 사용된 용어 "대상체"는 임의의 인간 또는 비-인간 동물을 포함한다. 예를 들어, 본원에 기재된 방법 및 조성물은 암을 갖는 대상체를 치료하는데 사용될 수 있다. 용어 "비-인간 동물"은 모든 척추동물, 예를 들어 포유동물 및 비-포유동물, 예컨대 비-인간 영장류, 양, 개, 소, 닭, 양서류, 파충류 등을 포함한다.
- [0129] 본원에 사용된 용어 "체중 기준" 용량 또는 투여는 환자에게 투여되는 용량이 환자의 체중을 기준으로 하여 계산된다는 것을 의미한다. 예를 들어, 60 kg 체중을 갖는 환자가 3 mg/kg의 항-MICA/B 항체를 필요로 하는 경우에, 투여를 위해 항-MICA/B 항체의 적절한 양 (즉, 180 mg)을 계산하여 사용할 수 있다.
- [0130] 본원에 기재된 조합과 관련하여 용어 "고정 용량"의 사용은 조성물 중에 2종 이상의 상이한 항체 (예를 들어, 항-MICA/B 항체 및 제2 항체, 예를 들어 PD-1 또는 PD-L1 항체)가 존재한다는 것, 또는 이것이 서로 특정한 (고정된) 양 또는 비로 개별적으로 투여된다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 고정 용량은 항체의 중량 (예를 들어, mg)을 기준으로 한다. 일부 실시양태에서, 고정 용량은 항체의 농도 (예를 들어, mg/ml)를 기준으로 한다. 일부 실시양태에서, 2종의 항체 (예를 들어, 항-MICA/B 및 항-PD1 또는 항-PD-L1)의 비는 적어도 약 1:1, 약 1:2, 약 1:3, 약 1:4, 약 1:5, 약 1:6, 약 1:7, 약 1:8, 약 1:9, 약 1:10, 약 1:15, 약 1:20, 약 1:30, 약 1:40, 약 1:50, 약 1:60, 약 1:70, 약 1:80, 약 1:90, 약 1:100, 약 1:120, 약 1:140, 약 1:160, 약 1:180, 약 1:200, 약 200:1, 약 180:1, 약 160:1, 약 140:1, 약 120:1, 약 100:1, 약 90:1, 약 80:1, 약 70:1, 약 60:1, 약 50:1, 약 40:1, 약 30:1, 약 20:1, 약 15:1, 약 10:1, 약 9:1, 약 8:1, 약 7:1, 약 6:1, 약 5:1, 약 4:1, 약 3:1, 또는 약 2:1 mg 제1 항체 (예를 들어, 항-MICA/B 항체) 대 mg 제2 항체이다. 예를 들어, 2:1 비의 항-MICA/B 항체 및 항-PD-1 항체, 예컨대 니볼루맙은 바이알 또는 주사가 약 480 mg의 항-MICA/B 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체, 또는 약 2 mg/ml의 항-MICA/B 항체 및 1 mg/ml의 항-PD-1 항체를 함유할 수 있다는 것을 의미할 수 있다.
- [0131] 본원에 기재된 방법 및 투여량과 관련하여 용어 "균일 용량"의 사용은 환자의 체중 또는 체표면적 (BSA)과 무관하게 환자에게 투여되는 용량을 의미한다. 따라서 균일 용량은 mg/kg 용량으로 제공되는 것이 아니라, 오히려 작용제 (예를 들어, 항-MICA/B 항체)의 절대량으로 제공된다. 예를 들어, 60 kg 인간 및 100 kg 인간은 동일한 용량의 항체 (예를 들어, 480 mg의 항-MICA/B 항체)를 제공받을 것이다.
- [0132] 본원에 사용된 용어 "ug" 및 "uM"은 각각 "μg" 및 "μM"과 상호교환가능하게 사용된다.
- [0133] 본원에 기재된 다양한 측면이 하기 서브섹션에서 추가로 상세하게 기재된다.
- [0134] II. 항-인간 MICA/B 항체
- [0135] MHC 부류 I 폴리펩티드-관련 서열 A/B (MICA/B)에 특이적으로 결합할 수 있고, 종양 세포에 의한 MICA/B의 유출을 억제, 방지 또는 감소시킴으로써 종양 세포 표면에서 MICA/B의 체류를 증가시킬 수 있는 항체, 예를 들어, 완전 인간 항체가 본원에 기재된다. 예를 들어, 항체는 인간 MICA/B, 및 보다 구체적으로는 인간 MICA의 세포 외 도메인 내의 특정한 도메인 (예를 들어, α3 도메인)에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 MICA/B에 특이적으로 결합하여 혈청 내의 MICA/B 수준을 감소시키는 반면 항체는 막 결합된 MICA/B의 수준을 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 1종 이상의 비-인간 영장류로부터의 MICA/B, 예컨대 시노몰구스 MICA/B와 교차-반응한다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간 MICA/B의 α3 도메인 및 시노몰구스 MICA/B의 α3 도메인에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간 MICA/B에 높은 친화도로 결합한다.
- [0136] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 하기 기능적 특성 중 1종 이상을 나타낸다:
- [0137] (a) 막 결합된 인간 MICA/B에 결합함;
- [0138] (b) 막 결합된 시노 MICA/B에 결합함;
- [0139] (c) 대상체에서 혈청 내의 가용성 MICA/B 수준을 감소시킴;
- [0140] (d) 종양 세포 상에서 막 결합된 MICA/B를 증가시킴;
- [0141] (e) 종양 세포에 의한 MICA/B의 유출을 억제, 방지 또는 감소시킴;
- [0142] (f) 세포에 의한 증진된 항원 프로세싱 및/또는 교차-제시를 매개함;
- [0143] (g) 증진된 ADCC 및/또는 ADCP를 매개함;

[0144] (h) 종양 성장 및/또는 전이를 억제함;

[0145] (i) 종양 부피를 감소시킴;

[0146] (j) 무진행 생존을 증가시킴;

[0147] (k) 전체 생존을 증가시킴; 및

[0148] (l) 그의 임의의 조합.

[0149] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 높은 친화도로, 예를 들어 10^{-6} M 이하, 10^{-7} M 이하, 10^{-8} M 이하, 10^{-9} M 이하, 10^{-10} M 이하, 10^{-11} M 이하, 10^{-12} M 이하, 10^{-12} M 내지 10^{-7} M, 10^{-11} M 내지 10^{-7} M, 10^{-10} M 내지 10^{-7} M, 또는 10^{-9} M 내지 10^{-7} M의 K_D 로 인간 MICA/B에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는, 예를 들어 비아코어™를 사용한, 예를 들어 표면 플라즈몬 공명에 의해 결정된 바와 같이 (예를 들어, 실시예에 기재된 바와 같이), 10^{-6} M 이하, 10^{-7} M 이하, 10^{-8} M 이하, 10^{-9} M (1 nM) 이하, 10^{-10} M 이하, 10^{-12} M 내지 10^{-7} M, 10^{-11} M 내지 10^{-7} M, 10^{-10} M 내지 10^{-7} M, 10^{-9} M 내지 10^{-7} M, 또는 10^{-8} M 내지 10^{-7} M의 K_D 로 인간 MICA/B에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는, 예를 들어 ELISA, 예를 들어, MICA/B ELISA 키트, 예를 들어, ABCAM ab100592에 의해 결정된 바와 같이, 100 nM 이하, 10 nM 이하, 1 nM 이하, 100 nM 내지 0.01 nM, 100 nM 내지 0.1 nM, 100 nM 내지 1 nM, 또는 10 nM 내지 1 nM, 또는 10 ug/mL 이하, 5 ug/mL 이하, 1 ug/mL 이하, 0.9 ug/mL 이하, 0.8 ug/mL 이하, 0.7 ug/mL 이하, 0.6 ug/mL 이하, 0.5 ug/mL 이하, 0.4 ug/mL 이하, 0.3 ug/mL 이하, 0.2 ug/mL 이하, 0.1 ug/mL 이하, 0.05 ug/mL 이하, 또는 0.01 ug/mL 이하의 EC_{50} 으로 인간 sMICA/B에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는, 예를 들어 10^{-6} M 이하, 10^{-7} M 이하, 10^{-8} M 이하, 10^{-9} M 이하, 10^{-10} M 이하, 10^{-11} M 이하, 10^{-12} M 이하, 10^{-12} M 내지 10^{-7} M, 10^{-11} M 내지 10^{-7} M, 10^{-10} M 내지 10^{-7} M, 또는 10^{-9} M 내지 10^{-7} M의 K_D 로 시노 MICA/B에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는, 예를 들어 비아코어™에 의해 결정된 바와 같이 (예를 들어, 실시예에 기재된 바와 같이), 10^{-6} M 이하, 10^{-7} M 이하, 10^{-8} M 이하, 10^{-9} M (1 nM) 이하, 10^{-10} M 이하, 10^{-12} M 내지 10^{-7} M, 10^{-11} M 내지 10^{-7} M, 10^{-10} M 내지 10^{-7} M, 10^{-9} M 내지 10^{-7} M, 또는 10^{-8} M 내지 10^{-7} M의 K_D 로 가용성 시노 MICA/B에 결합한다. 항-MICA/B 항체는, 예를 들어 ELISA에 의해 측정된 바와 같이 (예를 들어, 실시예에 기재된 바와 같이), 예를 들어 100 nM 이하, 10 nM 이하, 100 nM 내지 0.01 nM, 100 nM 내지 0.1 nM, 100 nM 내지 1 nM, 또는 10 nM 내지 1 nM의 EC_{50} 으로 시노물구스 sMICA/B에 결합할 수 있다.

[0150] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 약 5×10^{-4} M 이하, 약 1×10^{-4} M 이하, 5×10^{-5} M 이하, 약 1×10^{-5} M 이하, 약 1×10^{-6} M 이하, 약 1×10^{-7} M 이하, 또는 약 1×10^{-8} M 이하의 K_D 로 인간 MICA/B에 특이적으로 결합하며, 여기서 K_D 는 표면 플라즈몬 공명 (비아코어) 분석에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 약 1×10^{-4} M 이하, 약 1×10^{-5} M 이하, 1×10^{-6} M 이하, 약 1×10^{-7} M 이하, 또는 약 1×10^{-8} M 이하의 K_D 로 인간 MICA 대립유전자 MICA*002에 특이적으로 결합하며, 여기서 K_D 는 표면 플라즈몬 공명 (비아코어) 분석에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 약 1×10^{-4} M 이하, 약 1×10^{-5} M 이하, 1×10^{-6} M 이하, 약 1×10^{-7} M 이하, 또는 약 1×10^{-8} M 이하의 K_D 로 인간 MICA 대립유전자 MICA*004에 특이적으로 결합하며, 여기서 K_D 는 표면 플라즈몬 공명 (비아코어) 분석에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 약 1×10^{-4} M 이하, 약 1×10^{-5} M 이하, 1×10^{-6} M 이하, 약 1×10^{-7} M 이하, 또는 약 1×10^{-8} M 이하의 K_D 로 인간 MICA 대립유전자 MICA*008에 특이적으로 결합하며, 여기서 K_D 는 표면 플라즈몬 공명 (비아코어) 분석에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 약 1×10^{-4} M 이하, 약 1×10^{-5} M 이하, 1×10^{-6} M 이하, 약 1×10^{-7} M 이하, 또는 약 1×10^{-8} M 이하의 K_D 로 인간 MICA 대립유전자 MICA*009에 특이적으로 결합

하며, 여기서 K_0 는 표면 플라즈몬 공명 (비아코어) 분석에 의해 측정된다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 약 1×10^{-4} M 이하, 약 1×10^{-5} M 이하, 1×10^{-6} M 이하, 약 1×10^{-7} M 이하, 또는 약 1×10^{-8} M 이하의 K_0 로 인간 MICB 대립유전자 MICB*005에 특이적으로 결합하며, 여기서 K_0 는 표면 플라즈몬 공명 (비아코어) 분석에 의해 측정된다.

[0151] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 적어도 약 $1 \times 10^3 \text{ ms}^{-1}$, 적어도 약 $5 \times 10^3 \text{ ms}^{-1}$, 적어도 약 $1 \times 10^4 \text{ ms}^{-1}$, 적어도 약 $5 \times 10^4 \text{ ms}^{-1}$, 적어도 약 $1 \times 10^5 \text{ ms}^{-1}$, 적어도 약 $5 \times 10^5 \text{ ms}^{-1}$, 또는 적어도 약 $1 \times 10^6 \text{ ms}^{-1}$ 의 회합 상수 (k_a) 레이트로 인간 MICA/B에 특이적으로 결합하며, 여기서 k_a 는 표면 플라즈몬 공명 (비아코어) 분석에 의해 측정된다.

[0152] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 약 0.1 s^{-1} 이하, 0.05 s^{-1} 이하, 0.01 s^{-1} 이하, $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 이하, $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 이하, $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 이하, $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 이하, $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 이하, 또는 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 이하의 해리 상수 (k_d) 레이트로 인간 MICA/B에 특이적으로 결합하며, 여기서 K_0 는 표면 플라즈몬 공명 (비아코어) 분석에 의해 측정된다.

[0153] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 MICA/B에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 MICA 및 MICB에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 MICA*002 대립유전자에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 MICA*004 대립유전자에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 MICA*008 대립유전자에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 MICA*009 대립유전자에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 MICA*002 대립유전자, MICA*004 대립유전자, MICA*008 대립유전자, 및 MICA*009 대립유전자에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 MICA*004 대립유전자, MICA*008 대립유전자, 또는 MICA*009 대립유전자보다 더 높은 친화도로 MICA*002 대립유전자에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 MICA*002 대립유전자, MICA*008 대립유전자, 또는 MICA*008 대립유전자보다 더 높은 친화도로 MICA*004 대립유전자에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 MICA*002 대립유전자, MICA*004 대립유전자, 또는 MICA*009 대립유전자보다 더 높은 친화도로 MICA*008 대립유전자에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 MICA*002 대립유전자, MICA*004 대립유전자, 또는 MICA*008 대립유전자보다 더 높은 친화도로 MICA*009 대립유전자에 결합한다.

[0154] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고; 여기서 VH는 VH 상보성 결정 영역 (CDR) 1 (VH-CDR1), VH-CDR2, 및 VH-CDR3을 포함하고, VL은 VL-CDR1, VL-CDR2, 및 VL-CDR3을 포함하고; 여기서 VH-CDR3은 서열식별번호: 7, 17, 27, 37, 및 47로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 7, 17, 27, 37, 및 47로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3을 포함한다.

[0155] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 6, 16, 26, 36, 및 46으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 6, 16, 26, 36, 및 46으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2를 포함한다. 한 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 6에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2를 포함한다.

[0156] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 5, 15, 25, 35, 및 45로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 5, 15, 25, 35, 및 45로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 5에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1을 포함한다.

[0157] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 8, 18, 28, 38, 및 48로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도

포함하는 VL-CDR3을 포함하는 참조 항체와 교차 경쟁한다.

[0163] 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1, 서열식별번호: 36에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2, 서열식별번호: 37에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3, 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1, 서열식별번호: 39에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2, 및 서열식별번호: 40에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 비푸코실화된다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 저푸코실화된다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA에의 결합에 대해 서열식별번호: 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1, 서열식별번호: 36에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2, 서열식별번호: 37에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3, 서열식별번호: 38에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1, 서열식별번호: 39에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2, 및 서열식별번호: 40에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 참조 항체와 교차 경쟁한다.

[0164] 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1, 서열식별번호: 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2, 서열식별번호: 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3, 서열식별번호: 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1, 서열식별번호: 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2, 및 서열식별번호: 50에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 비푸코실화된다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 저푸코실화된다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA에의 결합에 대해 서열식별번호: 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1, 서열식별번호: 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2, 서열식별번호: 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3, 서열식별번호: 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1, 서열식별번호: 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2, 및 서열식별번호: 50에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 참조 항체와 교차 경쟁한다.

[0165] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 2, 12, 22, 32, 및 42로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 서열식별번호: 2, 12, 22, 32, 및 42로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0166] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 4, 14, 24, 34, 및 44로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 서열식별번호: 4, 14, 24, 34, 및 44로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0167] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 2에 대해 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 4에 대해 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, VH는 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA/B에의 결합에 대해 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항체와 교차 경쟁한다. 또 다른 실시양태에서, VH는 서열식별번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열식별번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 항체는 비푸코실화된다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 58의 잔기 234에 상응하는 위치에서 G에서 A로의 돌연변이 (EU 넘버링에 따라 "G236A"로도 지칭됨)를 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다.

[0168] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 12에 대해 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약

을 포함하고, VL은 서열식별번호: 44에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0172] 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA/B에의 결합에 대해 서열식별번호: 42에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열식별번호: 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항체와 교차 경쟁한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 58의 잔기 234에 상응하는 위치에서 G에서 A로의 돌연변이를 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 58, 62, 66, 70, 및 74로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 58, 130, 62, 66, 70, 및 74로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 특정 실시양태에서, 중쇄 아미노산 서열은 이뮤노글로불린 불변 영역 내에, 예를 들어 CH1 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 힌지 영역 내에 1개 이상의 결실, 치환, 또는 돌연변이를 포함한다.

[0173] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 60, 64, 68, 72, 및 76로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 60, 64, 68, 72, 및 76로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0174] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 130에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 한 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 한 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 130에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하며, 여기서 항체는 비푸코실화된다. 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 130에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하며, 여기서 항체는 비푸코실화된다. 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA/B에의 결합에 대해 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체와 교차 경쟁한다.

[0175] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 62에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 62에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 58의 잔기 234에 상응하는 위치에서 G에서 A로의 돌연변이를 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 62에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA/B에의 결합에 대해 서열식별번호: 62에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 64에

제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체와 교차 경쟁한다.

[0176] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 66에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 66에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 68에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 58의 잔기 234에 상응하는 위치에서 G에서 A로의 돌연변이를 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 66에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA/B에의 결합에 대해 서열식별번호: 66에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 68에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체와 교차 경쟁한다.

[0177] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 70에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 58의 잔기 234에 상응하는 위치에서 G에서 A로의 돌연변이를 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 70에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 72에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 72에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 70에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 72에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA/B에의 결합에 대해 서열식별번호: 70에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 72에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체와 교차 경쟁한다.

[0178] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 74에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 74에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 76에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 76에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 74에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 76에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA/B에의 결합에 대해 서열식별번호: 74에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 76에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체와 교차 경쟁한다.

[0179] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 또는 그의 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B는 IgG1 항체이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 비푸코실화된다. 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 저푸코실화된다.

[0180] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 인간 항체이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 키메라 항체이다.

- [0181] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 58의 잔기 234에 상응하는 위치에서 G에서 A로의 돌연변이를 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0182] A. 인간 MICA/B 에피토프
- [0183] 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA/B 상의 특이적 에피토프에 결합한다. 본원에 사용된 용어 "에피토프"는 항원 결합 단백질, 예컨대 항체에 의해 결합될 수 있는 임의의 결정기를 포함한다. 에피토프는 항원을 표적화하는 항원 결합 단백질에 의해 결합되는 항원의 영역이고, 항원이 단백질인 경우에, 항원 결합 단백질과 직접 접촉하는 특이적 아미노산을 포함한다. 에피토프 결정기는 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴 또는 술폰닐기와 같은 분자의 화학적으로 활성인 표면 기를 포함할 수 있고, 특이적인 3차원 구조적 특징 및/또는 특이적인 전하 특징을 가질 수 있다. 일반적으로, 특정한 표적 항원에 특이적인 항체는 단백질 및/또는 거대분자의 복합 혼합물 내의 표적 항원 상의 에피토프를 우선적으로 인식할 것이다.
- [0184] 일부 실시양태에서, 에피토프는 적어도 1개의 아미노산, 적어도 2개의 아미노산, 적어도 3개의 아미노산, 적어도 4개의 아미노산, 적어도 5개의 아미노산, 적어도 6개의 아미노산, 적어도 7개의 아미노산, 적어도 8개의 아미노산, 적어도 9개의 아미노산, 또는 적어도 10개의 아미노산을 포함한다. 에피토프가 1개 초과 아미노산을 포함하는 경우에, 1개 초과 아미노산은 순차적, 예를 들어, G254 및 D255일 수 있거나, 또는 항-MICA/B 항체와 직접 상호작용하지 않거나 또는 항-MICA/B 결합에 필요하지 않은 1개 초과 아미노산, 예를 들어 D255 및 L257에 의해 분리될 수 있다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 2개의 순차적 아미노산, 3개의 순차적 아미노산, 4개의 순차적 아미노산, 5개의 순차적 아미노산, 6개의 순차적 아미노산, 7개의 순차적 아미노산, 8개의 순차적 아미노산, 9개의 순차적 아미노산, 10개의 순차적 아미노산, 또는 10개 초과 순차적 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 순차적으로 위치하지는 않지만 인간 MICA/B가 그의 3차원 확인으로 존재하는 경우에 근접하게 위치하는 적어도 2개의 아미노산을 포함한다.
- [0185] 항원 상의 에피토프, 예를 들어 항-MICA/B 항체가 결합하는 인간 MICA/B 상의 에피토프는 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 확인될 수 있다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 효모 표면 디스플레이를 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된다.
- [0186] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA의 표면 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 인간 MICA의 $\alpha 3$ 도메인 내의 에피토프에 결합한다.
- [0187] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 51의 아미노산 190 및 230 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 51의 아미노산 195 및 225 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 200 및 221 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 L201-N220을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 56을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다.
- [0188] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 51의 아미노산 230 및 260 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 51의 아미노산 235 및 255 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 237 및 253 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 T238-Q252를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 57을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다.
- [0189] 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 L201-N220 및 T238-Q252를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 56 및 57을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다.
- [0190] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 51의 아미노산 140 및 170 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 51의 아미노산 145 및 165 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정

된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 149 및 164 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 52를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다.

[0191] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 51의 아미노산 220 및 250 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 51의 아미노산 225 및 245 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 230 및 239 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 53을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 N234 및/또는 L237을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다.

[0192] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 51의 아미노산 245 및 275 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 서열식별번호: 51의 아미노산 250 및 270 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 252 및 268 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 55를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 254 및 266 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 54를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 아미노산 D255-Q265 및 W267을 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다.

[0193] 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 52-54를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 HDX-MS에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 52, 53, 및 55를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다.

[0194] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 230 및 290 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 235 및 285 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 239 및 280 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 230 및 250 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 235 및 250 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 239 및 245 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다.

[0195] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 245 및 275 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 250 및 270 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 253 및 268 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51의 아미노산 257 및 265 사이에 위치하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다.

[0196] 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는, R240, Q241, D242, V244, G254, D255, L257, P258, G260, G262, Y264, W267, 및 R279로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 아미노산을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 G254, D255, L257, Y264, and W267로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 아미노산을 포함하는 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 아미노산 G254, D255, L257, Y264 및 W267을 포함하는 에피토프에 결합한다.

- [0197] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 R240, Q241, D242, V244, 및 R279로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 아미노산을 포함하는 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 아미노산 R240, Q241, D242, V244, 및 R279를 포함하는 에피토프에 결합한다.
- [0198] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 P258, G260, G262 및 Y264로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 아미노산을 포함하는 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 효모 표면 디스플레이에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 아미노산 P258, G260, G262 및 Y264를 포함하는 에피토프에 결합한다.
- [0199] 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체가 인간 MICA에 결합된 경우에, 항체는, 예를 들어 본원에 기재된 조건을 사용하여 결정학에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 인간 MICA의 하기 잔기: R240, Q241, D242, V244, G254, D255, L257, P258, G260, G262, Y264, W267, 및 R279 중 적어도 1개로부터 약 30 용스트롬 이하, 25 용스트롬 이하, 30 용스트롬 이하, 약 15 용스트롬 이하, 약 10 용스트롬 이하, 약 9 용스트롬 이하, 약 8 용스트롬 이하, 약 7 용스트롬 이하, 약 6 용스트롬 이하, 약 5 용스트롬 이하, 약 4 용스트롬 이하, 약 3 용스트롬 이하, 또는 약 2 용스트롬 이하에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체가 인간 MICA에 결합된 경우에, 항체는, 예를 들어 본원에 기재된 조건을 사용하여 결정학에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 인간 MICA의 하기 잔기: R240, Q241, D242, V244, G254, D255, L257, P258, G260, G262, Y264, W267, 및 R279 중 적어도 1개로부터 약 10 용스트롬 이하에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체가 인간 MICA에 결합된 경우에, 항체는, 예를 들어 본원에 기재된 조건을 사용하여 결정학에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 인간 MICA의 하기 잔기: G254, D255, L257, Y264, 및 W267 중 적어도 1개로부터 약 10 용스트롬 이하에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체가 인간 MICA에 결합된 경우에, 항체는, 예를 들어 본원에 기재된 조건을 사용하여 결정학에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 인간 MICA의 하기 잔기: R240, Q241, D242, V244, 및 R279 중 적어도 1개로부터 약 10 용스트롬 이하에 위치한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체가 인간 MICA에 결합된 경우에, 항체는, 예를 들어 본원에 기재된 조건을 사용하여 결정학에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 인간 MICA의 하기 잔기: P258, G260, G262, 및 Y264 중 적어도 1개로부터 약 10 용스트롬 이하에 위치한다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체가 인간 MICA에 결합된 경우에, 항체는, 예를 들어 본원에 기재된 조건을 사용하여 X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, 서열식별번호: 51에 상응하는 인간 MICA의 하기 잔기: R240, Q241, D242, V244, G254, D255, L257, P258, G260, G262, Y264, W267, 및 R279 중 적어도 1개로부터 약 30 용스트롬 이하, 25 용스트롬 이하, 20 용스트롬 이하, 약 15 용스트롬 이하, 약 10 용스트롬 이하, 약 9 용스트롬 이하, 약 8 용스트롬 이하, 약 7 용스트롬 이하, 약 6 용스트롬 이하, 약 5 용스트롬 이하, 약 4 용스트롬 이하, 약 3 용스트롬 이하, 또는 약 2 용스트롬 이하에 위치한다.
- [0200] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개 또는 적어도 10개의 잔기를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269로부터 선택된 적어도 2개의 잔기를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269로부터 선택된 적어도 4개의 잔기를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269로부터 선택된 적어도 6개의 잔기를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 X선 공-결정학에 의해 결정된 바와 같이, T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269를 포함하는 인간 MICA 상의 에피토프에 결합한다.
- [0201] 본원에 기재된 VH 도메인, 또는 그의 1개 이상의 CDR은 중쇄, 예를 들어 전장 중쇄를 형성하기 위해 불변 도메인에 연결될 수 있다. 유사하게, 본원에 기재된 VL 도메인, 또는 그의 1개 이상의 CDR은 경쇄, 예를 들어 전장 경쇄를 형성하기 위해 불변 도메인에 연결될 수 있다. 전장 중쇄 (임의로 부재할 수 있는 C-말단 리신 (K) 제

외, 또는 C-말단 글리신 및 리신 (GK) 제외) 및 전장 경쇄는 조합되어 전장 항체를 형성할 수 있다.

[0202] 본원에 기재된 VH 도메인은, 예를 들어 본원에 추가로 기재된 바와 같이 자연 발생된 또는 변형된 인간 IgG, 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4의 불변 도메인에 융합될 수 있다. 예를 들어, VH 도메인은 인간 IgG, 예를 들어 IgG1 불변 영역, 예컨대 하기 야생형 인간 IgG1 불변 도메인 아미노산 서열:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMH
EALHNNHTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 91)
```

[0204] 또는 서열식별번호: 91의 동종이형 변이체로 하기 아미노산 서열을 갖는 것:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTL
PPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMH
EALHNNHTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 92; 동종이형 특이적 아미노산 잔기는 볼드체 및 밑줄표시됨).
```

[0205] 에 융합된 본원에 기재된 임의의 VH 도메인의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0207] 항-MICA/B 항체의 VH 도메인은 무이펙터 불변 영역, 예를 들어 하기 무이펙터 인간 IgG1 불변 도메인 아미노산 서열에 융합된 본원에 기재된 임의의 VH 도메인의 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTL
PPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMH
EALHNNHTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:93; "IgG1.1f," 밑줄표시된 치환 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S를 포함함)
```

[0208] 또는

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTL
PPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMH
EALHNNHTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 94; "IgG1.3f", 밑줄표시된 치환 L234A, L235E 및 G237A를 포함함).
```

[0210] 예를 들어, IgG1의 동종이형 변이체는 서열식별번호: 91에서 넘버링된 바와 같은 K97R, D239E, 및/또는 L241M (상기 밑줄 및 볼드체 표시됨)을 포함한다. 전장 중쇄 불변 영역, 예를 들어 MICA.36 (서열식별번호: 58) 내에서 EU 넘버링에 따라, 이들 아미노산 치환은 K214R, D356E, 및 L358M으로 넘버링된다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체의 불변 영역은 서열식별번호: 92, 93, 및 94에서 넘버링된 바와 같은 아미노산 L117, A118, G120, A213, 및 P214 (상기 밑줄표시됨), 또는 EU 넘버링에 따른 L234, A235, G237, A330 및 P331에서 1개 이상의 돌연변이 또는 치환을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체의 불변 영역은 서열식별번호: 91의 아미노산 L117A, A118E, G120A, A213S, 및 P214S, 또는 EU 넘버링에 따른 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S에서 1개 이상의 돌연변이 또는 치환을 포함한다. 항-MICA/B 항체의 불변 영역은 또한 서열식별번호: 91의 L117A, A118E 및 G120A, 또는 EU 넘버링에 따른 L234A, L235E 및 G237A에서 1개 이상의 돌연변이 또는 치환을 포함할 수 있다.

[0212] 대안적으로, 항-MICA/B 항체의 VH 도메인은 인간 IgG4 불변 영역, 예를 들어 하기 인간 IgG4 아미노산 서열 또는 그의 변이체에 융합된 본원에 기재된 임의의 VH 도메인의 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT
 KTYTCNVDHKPSNTKVKDRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFN
 WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPS
 QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL
 HNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 95, S228P를 포함함).

[0213]

[0214] 본원에 기재된 VL 도메인은 인간 카파 또는 람다 경쇄의 불변 도메인에 융합될 수 있다. 예를 들어, 항-MICA/B 항체의 VL 도메인은 하기 인간 IgG1 카파 경쇄 아미노산 서열에 융합된 본원에 기재된 임의의 VL 도메인의 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVLCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD
 YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 96)

[0215]

[0216] 일부 실시양태에서, 중쇄 불변 영역은 C-말단에 리신 또는 또 다른 아미노산을 포함하고, 예를 들어, 이는 중쇄에 다음의 마지막 아미노산: LSPGK (서열식별번호: 97)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 중쇄 불변 영역은 C-말단에 적어도 1개의 아미노산이 결합되어 있고, 예를 들어, C-말단 서열 LSPG (서열식별번호: 98) 또는 LSP (서열식별번호: 99)를 갖는다.

[0217]

예시적인 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열이 본원에 기재된다.

[0218]

(a1) 각각 서열식별번호: 58 및 60를 포함하는 중쇄 및 경쇄 서열;

[0219]

(a2) 각각 서열식별번호: 130 및 60를 포함하는 중쇄 및 경쇄 서열;

[0220]

(a3) 각각 서열식별번호: 62 및 64를 포함하는 중쇄 및 경쇄 서열;

[0221]

(a4) 각각 서열식별번호: 66 및 68를 포함하는 중쇄 및 경쇄 서열;

[0222]

(a5) 각각 서열식별번호: 70 및 72를 포함하는 중쇄 및 경쇄 서열;

[0223]

(a6) 각각 서열식별번호: 74 및 76를 포함하는 중쇄 및 경쇄 서열

[0224] 을 포함하는 단리된 항-인간 MICA/B 항체, 또는 그의 항원-결합 부분이 본원에 제공되며;

[0225]

여기서 항체는 인간 MICA/B에 특이적으로 결합한다.

[0226]

일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 본원, 예를 들어 상기 단락에 제시된 중쇄 및 경쇄 서열의 조합을 포함하며, 여기서 항체는 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 포함하고, 2개의 중쇄를 함께 연결하는 적어도 1개의 디설피드 결합을 추가로 포함할 수 있다. 항체는 또한 각각의 중쇄에 각각의 경쇄를 연결하는 디설피드 결합을 포함할 수 있다.

[0227]

본원에 제시된 중쇄 또는 경쇄 (또는 그의 가변 영역), 예를 들어 서열식별번호: 58 및 60 중 임의의 것과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75% 또는 70% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄는 목적하는 특징, 예를 들어 본원에 추가로 기재된 것을 갖는 항-인간 MICA/B 항체를 형성하기 위해 사용될 수 있다. 예시적인 변이체는, 예를 들어 불변 도메인에서 동종이형 변이, 및/또는 가변 또는 불변 영역에서 돌연변이, 예컨대 본원에 개시된 돌연변이를 포함하는 것이다. 본원에 제시된 중쇄 또는 경쇄 (또는 그의 가변 영역) 중 임의의 것과 많아야 1-30, 1-25, 1-20, 1-15, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2 또는 1개의 아미노산이 상이한 (치환, 부가 또는 결실에 의함) 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄는 목적하는 특징, 예를 들어 본원에 추가로 기재된 것을 갖는 항-인간 MICA 항체를 형성하기 위해 사용될 수 있다.

[0228]

일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 특정한 배선 중쇄 이뮤노글로불린 유전자로부터의 중쇄 가변 영역 및/또는 특정한 배선 경쇄 이뮤노글로불린 유전자로부터의 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0229]

본원에서 입증된 바와 같이, 인간 배선의 생성물이거나 그로부터 유래된 중쇄 가변 영역을 포함하는, MICA/B에 특이적인 인간 항체가 제조되었다. 따라서, 3-09, 3-10, 3-33, 3-48, 5-51, 6-13, JH3b, JH4b, JH6b, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 인간 VH 배선 유전자의 생성물이거나 그로부터 유래된 중쇄 가변 영역, 및 그의 임의의 조합을 포함하는, 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원-결합 부분이 본원에 제공된다.

[0230]

인간 배선의 생성물이거나 그로부터 유래된 경쇄 가변 영역을 포함하는 MICA/B에 특이적인 인간 항체가 제조되었다. 따라서, A27, L6, L18, JK1, JK2, JK3, JK5, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 인간 VK 배선 유전자의 생성물이거나 그로부터 유래된 경쇄 가변 영역, 및 그의 임의의 조합을 포함하는, 단리된

모노클로날 항체 또는 그의 항원-결합 부분이 본원에 제공된다.

- [0231] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는, 도면에 제시된 바와 같은, 상기-열거된 인간 배선 VH 유전자 중 1종의 생성물 이거나 그로부터 유래된 중쇄 가변 영역을 포함하고, 또한 상기-열거된 인간 배선 VK 유전자 중 1종의 생성물 이거나 그로부터 유래된 경쇄 가변 영역을 포함하는 것을 포함한다.
- [0232] 본원에 사용된 바와 같은 인간 항체는, 항체의 가변 영역이 인간 배선 이뮤노글로불린 유전자를 사용한 시스템 으로부터 취득되는 경우에, 특정한 배선 서열"의 생성물"이거나 "그로부터 유래된" 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 이러한 시스템은 인간 이뮤노글로불린 유전자를 보유하는 트랜스제닉 마우스를 관심 항원으로 면역 화하거나, 또는 파지 상에 디스플레이된 인간 이뮤노글로불린 유전자 라이브러리를 관심 항원으로 스크리닝하는 것을 포함한다. 인간 배선 이뮤노글로불린 서열"의 생성물"이거나 "그로부터 유래된" 인간 항체는 인간 항체의 아미노산 서열을 인간 배선 이뮤노글로불린의 아미노산 서열과 비교하고, 인간 항체의 서열과 서열 면에서 가장 근접한 (즉, 최대 % 동일성) 인간 배선 이뮤노글로불린 서열을 선택함으로써 확인될 수 있다. 특정한 인간 배선 이뮤노글로불린 서열"의 생성물"이거나 "그로부터 유래된" 인간 항체는, 예를 들어 자연 발생 체세포 돌연변 이 또는 부위-지정 돌연변이의 의도적 도입으로 인해, 배선 서열과 비교 시 아미노산 차이를 함유할 수 있다. 그러나, 선택된 인간 항체는 전형적으로, 인간 배선 이뮤노글로불린 유전자에 의해 코딩된 아미노산 서열과 아 미노산 서열 면에서 적어도 90% 동일하고, 다른 종의 배선 이뮤노글로불린 아미노산 서열 (예를 들어, 무린 배 선 서열)과 비교하였을 때 인간 항체를 인간의 것으로 확인시켜 주는 아미노산 잔기를 함유한다. 일부 경우에, 인간 항체는 배선 이뮤노글로불린 유전자에 의해 코딩된 아미노산 서열과 아미노산 서열 면에서 적어도 95%, 또 는 심지어 적어도 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일할 수 있다. 전형적으로, 특정한 인간 배선 서열로부터 유래된 인간 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 유전자에 의해 코딩된 아미노산 서열과 10개 이하의 아미노산 차이를 디 스플레이할 것이다. 특정 경우에, 인간 항체는 배선 이뮤노글로불린 유전자에 의해 코딩된 아미노산 서열과 5 개 이하 또는 심지어 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 차이를 디스플레이할 수 있다.
- [0233] 항-MICA/B 항체는 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하 는 경쇄 가변 영역을 포함할 수 있고, 여기서 이들 CDR 서열 중 하나 이상은 본원에 기재된 항-MICA/B 항체에 기초한 명시된 아미노산 서열 또는 그의 보존적 변형을 포함하고, 여기서 항체는 본원에 기재된 항-MICA/B 항체 의 목적하는 기능적 특성을 보유한다.
- [0234] 보존적 아미노산 치환은 또한, CDR 이외의, 또는 CDR에 더하여, 항체의 부분들에서 이루어질 수 있다. 예를 들 어, 보존적 아미노산 변형은 프레임워크 영역에서 또는 Fc 영역에서 이루어질 수 있다. 가변 영역 또는 중쇄 또는 경쇄는 본원에 제공된 항-MICA/B 항체 서열에 비해, 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-10, 1-15, 1- 20, 1-25, 또는 1-50개의 보존적 아미노산 치환을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 보존 적 및 비-보존적 아미노산 변형의 조합을 포함한다.
- [0235] 또한, 변형된 항체를 조작하기 위해 출발 물질로서 본원에 개시된 VH 및/또는 VL 서열 중 1개 이상을 갖는 항체 를 사용하여 제조될 수 있는 조작 및 변형된 항체가 제공되며, 변형된 항체는 출발 항체로부터 변경된 특성을 가질 수 있다. 항체는 하나 또는 둘 다의 가변 영역 (즉, VH 및/또는 VL) 내, 예를 들어 1개 이상의 CDR 영역 내 및/또는 1개 이상의 프레임워크 영역 내의 1개 이상의 잔기를 변형함으로써 조작될 수 있다. 추가적으로 또 는 대안적으로, 항체는 예를 들어 항체의 이펙터 기능(들)을 변경시키기 위해 불변 영역(들) 내의 잔기를 변형 함으로써 조작될 수 있다.
- [0236] 수행될 수 있는 가변 영역 조작의 한 유형은 CDR 그래프팅이다. 항체는 6개의 중쇄 및 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR)에 위치하는 아미노산 잔기를 통해 표적 항원과 우세하게 상호작용한다. 이러한 이유로, CDR 내의 아미노 산 서열은 CDR 외부의 서열보다 개별 항체 사이에서 더 다양하다. CDR 서열은 대부분의 항체-항원 상호작용을 담당하기 때문에, 상이한 특성을 갖는 상이한 항체로부터의 프레임워크 서열 상에 그래프팅된, 특정 자연-발생 항체로부터 유래된 CDR 서열을 포함하는 발현 벡터를 구축함으로써, 특정 자연-발생 항체의 특성을 모방하는 재 조합 항체를 발현하는 것이 가능하다 (예를 들어, 문헌 [Riechmann, L. et al. (1998) Nature 332:323-327; Jones, P. et al. (1986) Nature 321: 522-525; Queen, C. et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86: 10029-10033]; 미국 특허 번호 5,225,539 (Winter), 및 미국 특허 번호 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762 및 6,180,370 (Queen et al.) 참조).
- [0237] 따라서, 본원에 기재된 일부 실시양태는 본원에 기재된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 본원에 기재된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 모노클로날 항체 또 는 그의 항원 결합 부분에 관한 것이다. 이에 따라, 이러한 항체는 본원에 기재된 모노클로날 항체의 VH 및 VL

CDR 서열을 함유하지만, 이들 항체로부터의 상이한 프레임워크 서열을 함유할 수 있다.

- [0238] 이러한 프레임워크 서열은 배선 항체 유전자 서열을 포함하는 공중 DNA 데이터베이스 또는 공개된 참고문헌으로부터 취득될 수 있다. 예를 들어, 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자에 대한 배선 DNA 서열은 "VBase" 인간 배선 서열 데이터베이스 (인터넷 상 www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase에서 이용가능), 뿐만 아니라 문헌 [Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson, I. M., et al. (1992) "The Repertoire of Human Germline V_H Sequences Reveals about Fifty Groups of V_H Segments with Different Hypervariable Loops" /. Mol. Biol. 227:776-798; 및 Cox, J. P. L. et al. (1994) "A Directory of Human Germ-line V_H Segments Reveals a Strong Bias in their Usage" Eur. J. Immunol. 24:827-836]에서 찾아볼 수 있고; 그의 각각의 내용은 명확하게 본원에 참조로 포함된다.
- [0239] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체에 사용하기에 바람직한 프레임워크 서열은 본원에 기재된 항-MICA/B 항체에 의해 사용되는 프레임워크 서열과 구조적으로 유사한 것이다. V_H CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 및 V_L CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 프레임워크 서열이 유래되는 배선 이뮤노글로불린 유전자에서 발견되는 것과 동일한 서열을 갖는 프레임워크 영역 상에 그래프팅될 수 있거나, 또는 CDR 서열은 배선 서열과 비교 시 1개 이상의 돌연변이를 함유하는 프레임워크 영역 상에 그래프팅될 수 있다. 예를 들어, 특정 경우에 프레임워크 영역 내의 잔기를 돌연변이시켜 항체의 항원 결합 능력을 유지 또는 증진시키는 것이 유익한 것으로 밝혀졌다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762 및 6,180,370 (Queen et al.) 참조).
- [0240] 본원에 기재된 조각된 항-MICA/B 항체는, 예를 들어 항체의 특성을 개선시키기 위해 V_H 및/또는 V_L 내의 프레임워크 잔기에 대한 변형이 이루어진 것을 포함한다. 전형적으로 이러한 프레임워크 변형은 항체의 면역원성을 감소시키기 위해 이루어진다. 예를 들어, 하나의 접근법은 1개 이상의 프레임워크 잔기를 상응하는 배선 서열로 "복귀돌연변이"시키는 것이다. 보다 구체적으로, 체세포 돌연변이가 일어난 항체는 항체가 유래된 배선 서열과 상이한 프레임워크 잔기를 함유할 수 있다. 이러한 잔기는 항체 프레임워크 서열을 항체가 유래된 배선 서열과 비교함으로써 확인될 수 있다. 프레임워크 영역 서열을 그의 배선 배위로 되돌리기 위해, 예를 들어 부위-지정 돌연변이유발 또는 PCR-매개 돌연변이유발을 의해 체세포 돌연변이를 배선 서열로 "복귀돌연변이"시킬 수 있다. 이러한 "복귀돌연변이"된 항체가 또한 포괄되는 것으로 의도된다. 또 다른 유형의 프레임워크 변형은 프레임워크 영역 내의, 또는 심지어 1개 이상의 CDR 영역 내의 1개 이상의 잔기를 돌연변이시켜 T 세포 에피토프를 제거함으로써 항체의 잠재적 면역원성을 감소시키는 것을 수반한다. 이러한 접근법은 또한 "탈면역화"로도 지칭되고, 미국 특허 공개 번호 20030153043 (Carr et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.
- [0241] 또 다른 유형의 가변 영역 변형은 V_H 및/또는 V_L CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 영역 내의 아미노산 잔기를 돌연변이시켜 그에 의해 관심 항체의 1종 이상의 결합 특성 (예를 들어, 친화도)을 개선시키기 위한 것이다. 부위-지정 돌연변이유발 또는 PCR-매개 돌연변이유발을 수행하여 돌연변이(들)을 도입할 수 있고, 항체 결합에 대한 효과 또는 다른 기능적 관심 특성이 본원에 기재되고 실시예에 제공된 바와 같이 시험관내 또는 생체내 검정에서 평가될 수 있다. 일부 실시양태에서, 보존적 변형 (상기 논의된 바와 같음)이 도입된다. 돌연변이는 아미노산 치환, 부가 또는 결실일 수 있다. 또한, 전형적으로 CDR 영역 내의 1, 2, 3, 4 또는 5개 이하의 잔기가 변경된다.
- [0242] 항체의 CDR에서 메티오닌 잔기는 산화되어, 항체의 효력에서 잠재적인 화학적 분해 및 결과적인 환원을 발생시킬 수 있다. 따라서, 중쇄 및/또는 경쇄 CDR에서 산화성 분해를 겪지 않은 아미노산 잔기로 대체된 1개 이상의 메티오닌 잔기를 갖는 항-MICA/B 항체가 또한 제공된다. 일부 실시양태에서, 항체 MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2, 및 71C2의 CDR 내의 메티오닌 잔기는 산화성 분해를 겪지 않은 아미노산 잔기로 대체된다.
- [0243] 유사하게, 탈아미드화 부위가 항-MICA/B 항체로부터, 특히 CDR에서 제거될 수 있다.
- [0244] 본원에 기재된 항-MICA/B 가변 영역은 Fc, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc에 연결 (예를 들어, 공유 연결 또는 융합)될 수 있고, 이는 임의의 동종이형 또는 이소동종이형, 예를 들어, IgG1의 경우에: G1m, G1m1(a), G1m2(x), G1m3(f), G1m17(z); IgG2의 경우에: G2m, G2m23(n); IgG3의 경우에: G3m, G3m21(g1), G3m28(g5), G3m1 l(b0), G3m5(b1), G3m13(b3), G3m14(b4), G3m10(b5), G3m15(s), G3m16(t), G3m6(c3), G3m24(c5), G3m26(u), G3m27(v); 및 K의 경우에: Km, Km1, Km2, Km3일 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Jefferies et al. (2009) mAbs 1:1] 참조).
- [0245] 일반적으로, 본원에 기재된 가변 영역은, 전형적으로 항체의 1종 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보

체 고정, Fc 수용체 결합, 항원-의존성 세포성 세포독성, 및/또는 항체-의존성 세포성 식세포작용을 변경시키기 위해 1종 이상의 변형을 포함하는 Fc에 연결될 수 있다. 추가로, 본원에 기재된 항체는 항체의 1종 이상의 기능적 특성을 변경시키기 위해 화학적으로 변형될 수 있거나 (예를 들어, 1개 이상의 화학적 모이어티가 항체에 부착될 수 있음) 또는 그의 글리코실화가 변경되도록 변형될 수 있다. 각각의 이들 실시양태가 하기에 추가로 상세하게 기재되어 있다. Fc 영역에서 잔기의 넘버링은 카바트의 EU 인덱스의 것이다.

[0246] Fc 영역은 불변 영역의 단편, 유사체, 변이체, 돌연변이체 또는 유도체를 비롯한, 이뮤노글로불린의 불변 영역으로부터 유래된 도메인을 포괄한다. 적합한 이뮤노글로불린은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 및 다른 부류, 예컨대 IgA, IgD, IgE 및 IgM을 포함한다. 이뮤노글로불린의 불변 영역은 이뮤노글로불린 C-말단 영역과 상동성인 자연-발생 또는 합성-생산 폴리펩티드로서 정의되고, 이는 CH1 도메인, 힌지, CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 CH4 도메인을 개별적으로 또는 조합하여 포함할 수 있다.

[0247] Ig 분자는 세포 수용체의 다중 부류와 상호작용한다. 예를 들어 IgG 분자는 항체의 IgG 부류에 특이적인 Fc γ 수용체 (Fc γ R)의 3종의 부류, 즉 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII와 상호작용한다. Fc γ R 수용체에 대한 IgG의 결합을 위해 중요한 서열은 CH2 및 CH3 도메인에 위치하는 것으로 보고되어 있다. 항체의 혈청 반감기는 Fc 수용체 (FcR)에 결합하는 항체의 능력에 의해 영향을 받는다.

[0248] 일부 실시양태에서, Fc 영역은 변이체 Fc 영역, 예를 들어 바람직한 구조적 특색 및/또는 생물학적 활성을 제공하기 위해 모 Fc 서열 (예를 들어, 변이체를 생성하기 위해 후속 변형되는 비변형된 Fc 폴리펩티드)에 비해 변형된 (예를 들어, 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입에 의함) Fc 서열이다.

[0249] 일반적으로, 불변 영역 또는 그의 부분, 예를 들어 CH1, CL, 힌지, CH2 또는 CH3 도메인의 변이체는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과인 돌연변이, 및/또는 많아야 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개의 돌연변이, 또는 1-10 또는 1-5개의 돌연변이를 포함할 수 있거나, 또는 상응하는 야생형 영역 또는 도메인 (각각 CH1, CL, 힌지, CH2 또는 CH3 도메인)의 것과 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하며, 단 특이적 변이체를 포함하는 중쇄 불변 영역은 필수 생물학적 활성을 보유한다.

[0250] 예를 들어, (a) 증가 또는 감소된 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC) 및/또는 항체-의존성 세포성 식세포 작용 (ADCP)을 매개하고/거나 (b) 증가 또는 감소된 보체 매개 세포독성 (CDC)을 매개하고/거나, (c) 증가 또는 감소된 C1q에 대한 친화도를 갖고/거나 (d) 모 Fc에 비해 Fc 수용체에 대한 증가 또는 감소된 친화도를 갖는 Fc 변이체를 생성하기 위해 Fc 영역에서 변형이 이루어질 수 있다. 이러한 Fc 영역 변이체는 일반적으로 Fc 영역에서 적어도 1개의 아미노산 변형을 포함할 것이다. 아미노산 변형의 조합이 특히 바람직한 것으로 생각된다. 예를 들어, 변이체 Fc 영역은 그 안에, 예를 들어 본원에서 확인된 특정 Fc 영역 위치의 2, 3, 4, 5개 등의 치환을 포함할 수 있다.

[0251] 변이체 Fc 영역은 또한 디설피드 결합 형성에 수반되는 아미노산이 제거되거나 또는 다른 아미노산으로 대체되는 서열 변형을 포함할 수 있다. 이러한 제거는 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 생산하기 위해 사용되는 숙주 세포에 존재하는 다른 시스테인-함유 단백질과의 반응을 피할 수 있다. 시스테인 잔기가 제거된 경우에도, 단 일쇄 Fc 도메인은 여전히 비-공유적으로 함께 유지되는 이량체 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 선택된 숙주 세포와 보다 상용성이도록 변형될 수 있다. 예를 들어, 이. 콜라이(E. coli) 내의 소화 효소, 예컨대 프롤린 이미노펩티다제에 의해 인식될 수 있는, 전형적 천연 Fc 영역의 N-말단 근처의 PA 서열을 제거할 수 있다. 일부 실시양태에서, Fc 도메인 내의 1개 이상의 글리코실화 부위가 제거될 수 있다. 전형적으로 글리코실화되는 잔기 (예를 들어, 아스파라긴)는 세포용해 반응을 부여할 수 있다. 이러한 잔기는 결실되거나 비글리코실화된 잔기 (예를 들어, 알라닌)로 치환될 수 있다. 일부 실시양태에서, 보체와의 상호작용에 수반되는 부위, 예컨대 C1q 결합 부위가 Fc 영역으로부터 제거될 수 있다. 예를 들어, 인간 IgG1의 EKK 서열을 결실시키거나 치환시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, Fc 수용체에 대한 결합에 영향을 미치는 부위, 바람직하게는 샬비지 수용체 결합 부위 이외의 부위는 제거될 수 있다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 ADCC 부위가 제거되도록 변형될 수 있다. ADCC 부위는 관련 기술분야에 공지되어 있고; 예를 들어, 문헌 [Molec. Immunol. 29 (5): 633-9 (1992) with regard to ADCC sites in IgG1]을 참조한다. 변이체 Fc 도메인의 구체적 예는, 예를 들어, WO 97/34631, WO 96/32478 및 WO07/041635에 개시되어 있다.

[0252] 일부 실시양태에서, Fc의 힌지 영역은 힌지 영역에서의 시스테인 잔기의 수가 변경, 예를 들어 증가 또는 감소되도록 변형된다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,677,425 (Bodmer et al.)에 추가로 기재되어 있다. Fc의 힌지 영역에서의 시스테인 잔기의 수는, 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 어셈블리를 용이하게 하거나 또는 항체의 안

정성을 증가 또는 감소시키도록 변경된다. 일부 실시양태에서, 항체의 Fc 힌지 영역은 항체의 생물학적 반감기를 감소시키도록 돌연변이된다. 보다 구체적으로, 1개 이상의 아미노산 돌연변이는 항체가 천연 Fc-힌지 도메인 스타필로코실 단백질 A (SpA) 결합에 비해 손상된 SpA 결합을 갖도록 Fc-힌지 단편의 CH2-CH3 도메인 계면 영역 내로 도입된다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 6,165,745 (Ward et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.

- [0253] 일부 실시양태에서, 항체의 이펙터 기능(들)을 변경시키기 위해 Fc 영역은 적어도 1개의 아미노산 잔기를 상이한 아미노산 잔기로 대체함으로써 변경된다. 예를 들어, 항체가 이펙터 리간드에 대해 변경된 친화도를 갖지만 항체의 항원-결합 능력은 보유하도록, 아미노산 잔기 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320, 322, 330, 및/또는 331로부터 선택된 1개 이상의 아미노산이 상이한 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 친화도가 변경된 이펙터 리간드는, 예를 들어 Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260 (둘 다 Winter et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.
- [0254] 또 다른 예에서, 항체가 변경된 C1q 결합 및/또는 감소 또는 제거된 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 갖도록 아미노산 잔기 329, 331, 및 322로부터 선택된 1개 이상의 아미노산이 상이한 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 6,194,551 (Idusogie et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.
- [0255] 또 다른 예에서, 아미노산 위치 231 및 239 내의 1개 이상의 아미노산 잔기가 변경되어 보체를 고정시키는 항체의 능력이 변경된다. 이러한 접근법은 PCT 공개 WO 94/29351 (Bodmer et al.)에 추가로 기재되어 있다.
- [0256] 또 다른 예에서, Fc 영역은 Fc γ 에 대한 친화도를 증진시키고 대식세포-매개된 식세포작용을 증가시키도록 변형될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Richard et al., *Mo. Cancer. Ther.* 7(8):2517-27 (2008)]을 참조하고, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 특정 실시양태에서, Fc 영역은 억제 Fc γ RIIb에 비해 Fc γ RIIa에 대한 친화도를 증가시키도록 변형될 수 있다. 하나의 특정한 점 돌연변이인 G236A (그의 넘버링은 EU 인덱스에 따름)는 억제 Fc γ RIIb에 비해 Fc γ RIIa에 대해 증가된 친화도를 갖는 것으로 확인되었다. FcRIIa에 대한 이러한 증가된 친화도는 천연 IgG1에 비해 증가된 대식세포-매개된 식세포작용과 상관되었다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체의 Fc 영역은 G236A, I332E, S239/I332E, I332E/G236A, 및 S239D/I332E/G236A로부터 선택된 1개 이상의 돌연변이 또는 돌연변이의 조합을 포함한다. Fc 영역에 대한 다른 변형은, 예를 들어 활성화 수용체, 예컨대 Fc γ RI 및/또는 Fc γ RIIIa에 대한 친화도를 증가시킴으로써 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 증가시킬 수 있다. 예를 들어, G236A 치환, 및, 예를 들어 332 및 239에서의 치환을 포함하나 이에 제한되지는 않는 활성화 수용체 (예를 들어, Fc γ RI 및/또는 Fc γ RIIIa)에 대한 친화도를 개선시키는 변형과 G236A 치환의 조합은, 모 WT 항체에 비해 실질적으로 개선된 ADCC를 제공한다. 미국 특허 번호 9,040,041을 참조하고, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0257] 또 다른 예에서, Fc 영역은 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 감소시키고/거나 Fc γ 수용체에 대한 친화도를 감소시키기 위해 하기 위치: 234, 235, 236, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 262, 263, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 313, 315, 320, 322, 324, 325, 326, 327, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438 또는 439에서 1개 이상의 아미노산을 변형시킴으로써 변형될 수 있다. 예시적인 치환은 236A, 239D, 239E, 268D, 267E, 268E, 268F, 324T, 332D, 및 332E를 포함한다. 예시적인 변이체는 239D/332E, 236A/332E, 236A/239D/332E, 268F/324T, 267E/268F, 267E/324T, 및 267E/268F/324T를 포함한다. Fc γ R 및 보체 상호작용을 증진시키기 위한 다른 변형은 치환 298A, 333A, 334A, 326A, 2471, 339D, 339Q, 280H, 290S, 298D, 298V, 243L, 292P, 300L, 396L, 3051, 및 396L을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이들 및 다른 변형은 문헌 [Strohl, 2009, *Current Opinion in Biotechnology* 20:685-691]에서 검토되어 있다.
- [0258] Fc γ 수용체에 대한 결합을 증가시키는 Fc 변형은 Fc 영역의 아미노산 위치 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 279, 280, 283, 285, 298, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 312, 315, 324, 327, 329, 330, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 379, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 또는 439 중 어느 1개 이상에서의 아미노산 변형을 포함하며, 여기서 Fc 영역 내의 잔기의 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스의 것이다 (W000/42072).
- [0259] 임의로, Fc 영역은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 추가의 및/또는 대안적 위치에서 비-자연 발생 아미노산 잔기를 포함할 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,624,821; 6,277,375; 6,737,056; 6,194,551;

7,317,091; 8,101,720; 9,040,041; PCX 특허 공개 WO 00/42072; WO 01/58957; WO 02/06919; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752; WO 04/074455; WO 04/099249; WO 04/063351; WO 05/070963; WO 05/040217; WO 05/092925; 및 WO 06/0201 14 참조).

[0260] Fc 영역의 그의 리간드에 대한 친화도 및 결합 특성은 평형 방법 (예를 들어, 효소-연결된 면역흡착 검정 (ELISA) 또는 방사선면역검정 (RIA)) 또는 동역학적 (예를 들어, 비아코어 분석), 및 다른 방법 예컨대 간접 결합 검정, 경쟁적 억제 검정, 형광 공명 에너지 전달 (FRET), 겔 전기영동 및 크로마토그래피 (예를 들어, 겔 여과)를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 관련 기술분야에 공지된 다양한 시험관내 검정 방법 (생화학적 또는 면역학적 기반 검정)에 의해 결정될 수 있다. 이들 및 다른 방법은 검사되는 성분 중 1종 이상에 대한 표지를 이용하고/거나, 발색, 형광, 발광, 또는 동위원소 표지를 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 검출 방법을 사용할 수 있다. 결합 친화도 및 동역학의 상세한 설명은 문헌 [Paul, W. E., ed., *Fundamental immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)]에서 찾아볼 수 있으며, 이는 항체-면역원 상호작용에 초점을 맞춘다.

[0261] 일부 실시양태에서, 항체는 그의 생물학적 반감기를 증가시키기 위해 변형된다. 다양한 접근법이 가능하다. 예를 들어, 이는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합 친화도를 증가시킴으로써 수행될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,277,375에 기재된 바와 같이, 하기 잔기 중 1개 이상이 돌연변이될 수 있다: 252, 254, 256, 433, 435, 436. 구체적인 예시적인 치환은 하기: T252L, T254S, 및/또는 T256F 중 1개 이상을 포함한다. 대안적으로, 생물학적 반감기를 증가시키기 위해, 항체는 미국 특허 번호 5,869,046 및 6,121,022 (Presta et al.)에 기재된 바와 같이 IgG의 Fc 영역의 CH2 도메인의 2개의 루프로부터 취한 샐비지 수용체 결합 에피토프를 함유하도록 CH1 또는 CL 영역 내에서 변경될 수 있다. FcRn에 대한 결합을 증가시키고/거나 약동학적 특성을 개선시키는 다른 예시적인 변이체는 위치 259, 308, 428, 및 434에서의 치환을 포함하고, 이는 예를 들어 259I, 308F, 428L, 428M, 434S, 434I, 434F, 434Y, 및 434X1을 포함한다. FcRn에 대한 Fc 결합을 증가시키는 다른 변이체는 250E, 250Q, 428 L, 428F, 250Q/428L (Hinton et al. 2004, *J. Biol. Chem.* 279(8): 6213-6216, Hinton et al. 2006 *Journal of Immunology* 176:346-356), 256A, 272A, 286A, 305A, 307A, 307Q, 31 1A, 312A, 376A, 378Q, 380A, 382A, 434A (Shields et al., *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(9):6591-6604), 252F, 252T, 252Y, 252W, 254T, 256S, 256R, 256Q, 256E, 256D, 256T, 309P, 31 1 S, 433R, 433S, 433I, 433P, 433Q, 434H, 434F, 434Y, 252Y/254T/256E, 433K/434F/436H, 308T/309P/311S (Dall'Acqua et al. *Journal of Immunology*, 2002, 169:5171-5180, Dall'Acqua et al., 2006, *Journal of Biological Chemistry* 281:23514-23524)를 포함한다. FcRn 결합을 조정하기 위한 다른 변형은 문헌 [Yeung et al., 2010, *J Immunol*, 182:7663-7671]에 기재되어 있다.

[0262] 일부 실시양태에서, 특정한 생물학적 특징을 갖는 하이브리드 IgG 이소형이 사용될 수 있다. 예를 들어, CH2 및/또는 CH3 영역 내의 IgG1 위치를 IgG3으로부터의 아미노산으로 2종의 이소형이 상이한 위치에서 치환시킴으로써 IgG1/IgG3 하이브리드 변이체가 구축될 수 있다. 따라서, 1개 이상의 치환, 예를 들어 274Q, 276K, 300F, 339T, 356E, 358M, 384S, 392N, 397M, 422I, 435R, 및 436F를 포함하는 하이브리드 변이체 IgG 항체가 구축될 수 있다. 본원에 기재된 일부 실시양태에서, CH2 및/또는 CH3 영역 내의 IgG2 위치를 IgG1로부터의 아미노산으로 2종의 이소형이 상이한 위치에서 치환시킴으로써 IgG1/IgG2 하이브리드 변이체가 구축될 수 있다. 따라서, 1개 이상의 치환, 예를 들어 하기 아미노산 치환: 233E, 234L, 235L, -236G (위치 236에서의 글리신의 삽입을 지칭함), 및 327A 중 1개 이상을 포함하는 하이브리드 변이체 IgG 항체가 구축될 수 있다.

[0263] 또한, FcγRI, FcγRII, FcγRIII 및 FcRn에 대한 인간 IgG1 상의 결합 부위가 맵핑되었고, 개선된 결합을 갖는 변이체가 기재되었다 (문헌 [Shields, R.L. et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276:6591-6604] 참조). 위치 256, 290, 298, 333, 334 및 339에서의 특정 돌연변이는 FcγRIII에 대한 결합을 개선시키는 것으로 밝혀졌다. 추가적으로, 하기 조합 돌연변이체: T256A/S298A, S298A/E333A, S298A/K224A 및 S298A/E333A/K334A는 FcγRIII 결합을 개선시키는 것으로 밝혀졌고, 이는 증진된 FcγRIIIa 결합 및 ADCC 활성을 나타내는 것으로 밝혀졌다 (Shields et al., 2001). 시노몰구스 원숭이에서 FcγRIIIa에 대한 친화도의 최대 증가, FcγRIIb 결합의 감소, 및 강력한 세포독성 활성을 나타낸, S239D/I332E 및 S239D/I332E/A330L 돌연변이를 갖는 변이체를 포함한, FcγRIIIa에 대해 강력하게 증진된 결합을 갖는 다른 IgG1 변이체가 확인되었다 (Lazar et al., 2006). 알렘투주맙 (CD52-특이적), 트라스투주맙 (HER2/neu-특이적), 리톡시맙 (CD20-특이적), 및 세톡시맙 (EGFR-특이적)과 같은 항체 내로의 삼중 돌연변이의 도입은 시험관내에서 매우 증진된 ADCC 활성으로 번역되었고, S239D/I332E 변이체는 원숭이에서 B 세포를 고갈시키는 증진된 능력을 나타냈다 (Lazar et al., 2006). 또한, B 세포 악성 종양 및 유방암 모델에서 인간 FcγRIIIa를 발현하는 트랜스제닉 마우스에서 FcγRIIIa에 대한 증진된 결합 및

병행하여 증진된 ADCC 활성을 나타낸 L235V, F243L, R292P, Y300L 및 P396L 돌연변이를 함유하는 IgG1 돌연변이체가 확인되었다 (Stavenhagen et al., 2007; Nordstrom et al., 2011). 사용될 수 있는 다른 Fc 돌연변이체는 S298A/E333A/L334A, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, L235V/F243L/R292P/Y300L/ P396L, 및 M428L/N434S를 포함한다.

[0264] 위치 234, 235, 236, 239, 267, 268, 293, 295, 324, 327, 328, 330, 및 332에서의 특이적 돌연변이는 Fc γ RIIa에 대한 결합을 개선시키고/거나 Fc γ RIIb에 대한 결합을 감소시켜 증진된 ADCC 및/또는 ADCP 활성을 발생시키는 것으로 밝혀졌다 (Richards et al., Mol. Cancer Ther. 7(8):2517-2527; 미국 특허 번호 9,040,041). 특히, Fc γ RIIb에 비해 1종 이상의 인간 활성화 수용체에 대한 결합을 선택적으로 개선시키거나, 또는 1종 이상의 활성화 수용체에 비해 Fc γ RIIb에 대한 결합을 선택적으로 개선시키는 Fc 변이체는 234G, 234I, 235D, 235E, 235I, 235Y, 236A, 236S, 239D, 267D, 267E, 267Q, 268D, 268E, 293R, 295E, 324G, 324I, 327H, 328A, 328F, 328I, 330I, 330L, 330Y, 332D, 및 332E로 이루어진 군으로부터 선택된 치환을 포함할 수 있다. 또한 조합될 수 있는 추가의 치환은 Fc γ R 친화도 및 보체 활성을 조정하는 다른 치환, 예컨대 비제한적으로 298A, 298T, 326A, 326D, 326E, 326W, 326Y, 333A, 333S, 334L, 및 334A를 포함한다 (미국 특허 번호 6,737,056; Shields et al., Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(9):6591-6604; 미국 특허 번호 6,528,624; Idusogie et al., 2001, J. Immunology 166:2571-2572). 다른 Fc 변이체와 조합하는데 특히 유용할 수 있는 바람직한 변이체는 치환 298A, 326A, 333A 및 334A를 포함하는 것을 포함한다. Fc γ R 선택적 변이체와 조합될 수 있는 추가의 치환은 247L, 255L, 270E, 392T, 396L, 및 421K (미국 일련 번호 10/754,922; 미국 일련 번호 10/902,588); 및 280H, 280Q, 및 280Y (미국 일련 번호 10/370,749)를 포함한다.

[0265] IgG4 불변 도메인을 사용하는 경우에, 그것은 IgG1의 힌지 서열을 모방함으로써 IgG4 분자를 안정화시키는 치환 S228P를 포함할 수 있다.

[0266] III. 비푸코실화, 저푸코실화 및 감소된 푸코실화

[0267] 일부 실시양태에서, 항체의 글리코실화는 변형될 수 있다. 예를 들어, 비글리코실화된 항체가 제조될 수 있다 (즉, 항체는 글리코실화가 결여됨). 글리코실화를 변경하여, 예를 들어 항원에 대한 항체의 친화도를 증가시킬 수 있다. 이러한 탄수화물 변형은, 예를 들어 항체 서열 내의 1개 이상의 글리코실화 부위를 변경시킴으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 1개 이상의 가변 영역 프레임워크 글리코실화 부위의 제거를 발생시키는 1개 이상의 아미노산 치환이 이루어짐으로써 그 부위에서 글리코실화가 제거될 수 있다. 이러한 비-글리코실화는 항원에 대한 항체의 친화도를 증가시킬 수 있다. 이러한 접근은 미국 특허 번호 5,714,350 및 6,350,861 (Co et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.

[0268] 불변 영역의 N297 상에서의 글리코실화는 N297 잔기를 또 다른 잔기로, 예를 들어 N297A로 돌연변이시킴으로써 및/또는 인접한 아미노산, 예를 들어 298을 돌연변이시켜 N297 상의 글리코실화를 감소시킴으로써 방지될 수 있다.

[0269] 항체와 Fc γ R의 상호작용은 또한 N297 잔기에서 각각의 Fc 단편에 부착된 글리칸 모이어티를 변형시킴으로써 증진될 수 있다. 특히, 코어 푸코스 잔기의 부재는 항원 결합 또는 CDC를 변경시키지 않으면서 활성화 Fc γ RIIIA에 대한 IgG의 개선된 결합을 통해 ADCC를 증진시킨다. 문헌 [Natsume et al. (2009) Drug Des. Devel. Ther. 3:7]. 비푸코실화된 중앙-특이적 항체가 생체내 마우스 모델에서 증진된 치료 활성으로 번역된다는 확실한 증거가 존재한다. 문헌 [Nimmerjahn & Ravetch (2005) Science 310:1510; Mossner et al. (2010) Blood 115:4393]. 항체 글리코실화의 변형은, 예를 들어 변경된 글리코실화 기구를 갖는 숙주 세포에서 항체를 발현시킴으로써 달성될 수 있다. 변경된 글리코실화 기구를 갖는 세포는 관련 기술분야에 기재되어 있고, 본 개시 내용의 재조합 항체를 발현시켜 변경된 글리코실화를 갖는 항체를 생산하기 위한 숙주 세포로 사용될 수 있다. 예를 들어, 세포주 Ms704, Ms705, 및 Ms709는 푸코실트랜스퍼라제 유전자, FUT8 (α -(1,6) 푸코실트랜스퍼라제 (미국 특허 출원 공개 번호 20040110704; Yamane-Ohnuki et al. (2004) Biotechnol. Bioeng. 87: 614 참조)이 결여되어 있어서, 이들 세포주에서 발현된 항체는 그의 탄수화물 상에 푸코스가 결여되어 있다. 또 다른 예로서, EP 1176195는 또한 기능적으로 파괴된 FUT8 유전자를 갖는 세포주 뿐만 아니라, 항체의 Fc 영역에 결합하는 N-아세틸글루코사민에 푸코스를 부가하는 활성이 거의 또는 전혀 없는 세포주, 예를 들어 래트 골수종 세포주 YB2/0 (ATCC CRL 1662)을 기재한다. PCT 공개 WO 03/035835는 변이체 CHO 세포주, Lec13을 기재하며, 이는 푸코스를 Asn(297)-연결된 탄수화물에 부착시키는 감소된 능력을 가져서, 그러한 숙주 세포에서 발현되는 항체의 저푸코실화가 또한 발생한다. 또한, 문헌 [Shields et al. (2002) J. Biol. Chem. 277:26733]을 참조한다. 또한, 변경된 글리코실화 프로파일을 갖는 항체가 PCT 공개 번호 WO 2006/089231에 기재된 바와 같이 계란에서

생산될 수 있다. 대안적으로, 변형된 글리코실화 프로파일을 갖는 항체가 식물 세포, 예컨대 렘나(Lemna)에서 생산될 수 있다. 예를 들어 미국 공개 번호 2012/0276086을 참조한다. PCT 공개 번호 WO 99/54342는 당단백질-변형 글리코실 트랜스퍼라제 (예를 들어, 베타(1,4)-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III (GnTIII))를 발현하도록 조작된 세포주를 기재하며, 조작된 세포주에서 발현된 항체는 증가된 양분성 GlcNac 구조를 나타내고, 이는 항체의 증가된 ADCC 활성을 발생시킨다. 또한 문헌 [Umana et al. (1999) Nat. Biotech. 17:176]을 참조한다. 대안적으로, 항체의 푸코스 잔기는 푸코시다제 효소를 사용하여 절단될 수 있다. 예를 들어, 효소 알파-L-푸코시다제는 항체로부터 푸코실 잔기를 제거한다. 문헌 [Tarentino et al. (1975) Biochem. 14:5516]. 푸코실화가 감소된 항체는 또한, 미국 특허 번호 8,642,292에 기재된 바와 같이, 기질로서 GDP-6-테옥시-D-리코스-4-헥시로스를 사용하는 효소, 예컨대 GDP-6-테옥시-D-리코스-4-헥시로스 리덕타제 (RMD)를 코딩하는 재조합 유전자를 보유하는 세포에서 생산될 수 있다. 대안적으로, 배지에서 성장된 세포에 의해 생산되는, N-연결된 글리칸 또는 당단백질에의 푸코스 잔기의 부가를 차단하는 푸코스 유사체, 예컨대 항체를 함유하는 배지에서 세포를 성장시킬 수 있다. 미국 특허 번호 8,163,551; WO 09/135181.

[0270] 비푸코실화된 항체는 푸코실화된 항체와 비교하여 매우 증진된 ADCC 및/또는 ADCP를 나타내기 때문에, 항체 제제는 본 발명에 유용한 푸코실화된 중쇄가 완전히 없을 필요는 없다. 푸코실화된 중쇄의 잔류 수준은 실질적으로 비푸코실화된 중쇄 제제의 ADCC 및/또는 ADCP 활성을 유의하게 방해하지 않을 것이다. 그럼에도 불구하고, 코어 푸코스를 N-글리칸에 부가하기에 충분히 적절한 통상적인 CHO 세포에서 생산된 항체는 수 퍼센트 내지 최대 15%의 비푸코실화된 항체를 포함할 수 있다. 비푸코실화된 항체는 CD16에 대해 10-배 더 높은 친화도 및 ADCC 및/또는 ADCP 활성의 최대 30-배 내지 100-배 증진을 나타낼 수 있고, 따라서 비푸코실화된 항체의 비율의 심지어 작은 증가도 제제의 ADCC 및/또는 ADCP 활성을 극적으로 증가시킬 수 있다. 배양물 중 정상 CHO 세포에서 생산될 것보다 더 많은 비푸코실화된 항체를 포함하는 임의의 제제는 약간의 수준의 증진된 ADCC 및/또는 ADCP를 나타낼 수 있다. 이러한 항체 제제는 본원에서 감소된 푸코실화를 갖는 제제로 지칭된다. 정상 CHO 세포로부터 수득된 비푸코실화의 원래 수준에 따라, 감소된 푸코실화 제제는 80%, 70%, 60% 50%, 30%, 20%, 10% 및 심지어 5%의 비푸코실화된 항체를 포함할 수 있다. 감소된 푸코실화는 정상 CHO 세포에서 제조된 항체와 비교하여 ADCC 및/또는 ADCP의 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 2-배, 3-배 또는 그 초과 증진을 나타내는 제제로서 기능적으로 정의될 수 있고, 이는 비푸코실화된 중의 임의의 고정된 백분율과는 관련되지 않는다.

[0271] 비푸코실화의 수준은 구조적으로 정의될 수 있다. 본원에 사용된 "비푸코실화" 또는 "비-푸코실화" (용어는 동의어로 사용됨)는 중쇄의 95% 초과, 예컨대 96% 초과, 97% 초과, 98% 초과, 99% 초과, 또는 100%가 푸코스가 결합된 항체 제제를 지칭한다. 용어 "저푸코실화"는 80% 초과 및 95% 이하의 중쇄가 푸코스가 결합된 항체 제제, 예를 들어 중쇄의 85 내지 95%, 80 내지 85%, 80 내지 90%, 85 내지 90%, 또는 90 내지 95%가 푸코스가 결합된 항체 제제를 지칭한다. 용어 "저푸코실화 또는 비푸코실화"는 중쇄의 80% 이상이 푸코스가 결합된 항체 제제를 지칭한다. 용어 "감소된 푸코실화"는 중쇄의 10 내지 80%, 예컨대 20-80%, 30-80%, 40-80%, 50-80%, 60-80%, 70-80%, 20-70%, 30-70%, 40-70%, 50-70%, 60-70%, 20-60%, 30-60%, 40-60%, 50-60%, 20-50%, 30-50%, 40-50%, 20-40%, 30-40%, 10-20%, 10-30%, 또는 20-30%가 푸코스가 결합된 항체 제제를 지칭한다.

[0272] 일부 실시양태에서, 저푸코실화 또는 비푸코실화된 항-MICA/B 항체는 푸코실화에 필수적인 효소, 예컨대 FUT8이 결합된 세포에서 (예를 들어, 미국 특허 번호 7,214,775), 또는 외인성 효소가 푸코실화를 위한 대사 전구체의 풀을 부분적으로 고갈시키는 세포에서 (예를 들어, 미국 특허 번호 8,642,292), 또는 푸코실화에 수반되는 효소의 소분자 억제제의 존재 하에 배양된 세포에서 (예를 들어, WO 09/135181) 생산될 수 있다.

[0273] 항체 제제에서 푸코실화의 수준은 겔 전기영동, 모세관 전기영동, 액체 크로마토그래피 및 질량 분광측정법을 포함하나 이에 제한되지는 않는 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 제제에서 푸코실화의 수준은 친수성 상호작용 크로마토그래피 (또는 친수성 상호작용 액체 크로마토그래피, HILIC)에 의해 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 제제의 푸코실화 수준을 결정하기 위해, 샘플을 변성시키고, PNGase F로 처리하여 N-연결된 글리칸을 절단한 다음, 이를 푸코스 함량에 대해 분석한다. 전장 항체 쇄의 LC/MS는 항체 제제의 푸코실화 수준을 검출하기 위한 대안적 방법이지만, 질량 분광분석법은 본래 덜 정량적이다.

[0274] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 감소된 푸코실화를 가질 수 있거나, 또는 저푸코실화 또는 비푸코실화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 감소된 푸코실화를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 저푸코실화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재

된 항-MICA/B 항체는 비푸코실화될 수 있다.

- [0275] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 i) Fc γ R 결합을 변경하기 위해 Fc 영역에 대한 1개 이상의 아미노산 돌연변이, 및 임의로 ii) 감소되거나 제거된 푸코실화를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 Fc γ R 결합을 변경하기 위해 Fc 영역에 대한 1개 이상의 아미노산 돌연변이를 포함할 수 있고, 저푸코실화 또는 비푸코실화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 Fc γ R 결합을 변경하기 위해 Fc 영역에 대한 1개 이상의 아미노산 돌연변이를 포함할 수 있고, 비푸코실화될 수 있다.
- [0276] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 또 다른 변형은 PEG화이다. 항체는 예를 들어 항체의 생물학적 (예를 들어, 혈청) 반감기를 증가시키기 위해 PEG화될 수 있다. 항체를 PEG화하기 위해, 항체 또는 그의 단편은 전형적으로 1개 이상의 PEG 기가 항체 또는 항체 단편에 부착되는 조건 하에 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 예컨대 PEG의 반응성 에스테르 또는 알데히드 유도체와 반응된다. 일부 실시양태에서, PEG화는 반응성 PEG 분자 (또는 유사한 반응성 수용성 중합체)와의 아실화 반응 또는 알킬화 반응을 통해 수행된다. 본원에 사용된 용어 "폴리에틸렌 글리콜"은 다른 단백질을 유도체화하는데 사용되는 임의의 형태의 PEG, 예컨대 모노 (CI-CIO) 알콕시- 또는 아릴 옥시-폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜-말레이미드를 포괄하는 것으로 의도된다. 일부 실시양태에서, PEG화될 항체는 비글리코실화된 항체이다. 단백질을 PEG화하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체에 적용될 수 있다. 예를 들어, EP 0 154 316 (Nishimura et al.) 및 EP 0 401 384 (Ishikawa et al.)를 참조한다.
- [0277] IV. 항체 물리적 특성
- [0278] 항-MICA/B 항체, 예를 들어 본원에 기재된 것은 본원에 기재된 특정 항-MICA/B 항체의 물리적 특징, 예컨대 실시예에 기재된 특징의 일부 또는 모두를 갖는다.
- [0279] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 경쇄 또는 중쇄 가변 영역에 1개 이상의 글리코실화 부위를 함유할 수 있다. 이러한 글리코실화 부위는 변경되는 항원 결합으로 인해 항체의 증가한 면역원성 또는 항체의 pK 변경을 발생시킬 수 있다 (Marshall et al., (1972) *Annu Rev Biochem* 41:673-702; Gala and Morrison (2004) *J. Immunol* 172:5489-94; Wallick et al., (1988) *J Exp Med* 168: 1099-109; Spiro (2002) *Glycobiology* 12:43R-56R; Parekh et al., (1985) *Nature* 316:452-7; Mimura et al., (2000) *Mol Immunol* 37:697-706). 글리코실화는 N-X-S/T 서열을 함유하는 모티프에서 일어나는 것으로 공지되어 있다. 일부 경우에, 항-MICA/B 항체는 가변 영역 글리코실화를 함유하지 않는다. 이것은 가변 영역 내에 글리코실화 모티프를 함유하지 않는 항체를 선택하거나, 또는 글리코실화 영역 내의 잔기를 돌연변이시킴으로써 달성될 수 있다.
- [0280] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 아스파라긴 이성질현상 부위를 함유하지 않는다. 아스파라긴의 탈아미드화는 N-G 또는 D-G 서열 상에서 일어날 수 있고, 이는 폴리펩티드 쇄 내에 킹크를 도입하고 그의 안정성을 감소시키는 이소아스파르트산 잔기의 생성을 발생시킬 수 있다 (이소아스파르트산 효과).
- [0281] 각각의 항체는 고유한 등전점 (pi)을 가질 것이고, 이는 일반적으로 6 내지 9.5의 pH 범위에 해당한다. IgG1 항체에 대한 pi는 전형적으로 7-9.5의 pH 범위에 해당하고, IgG4 항체에 대한 pi는 전형적으로 6-8의 pH 범위에 해당한다. 정상 범위를 벗어난 pi를 갖는 항체는 생체내 조건 하에 약간의 언폴딩 및 불안정성을 가질 수 있다는 의견이 존재한다. 따라서, 항-MICA/B 항체는 정상 범위에 해당하는 pi 값을 함유할 수 있다. 이것은 정상 범위 내의 pi를 갖는 항체를 선택하거나 또는 하전된 표면 잔기를 돌연변이시킴으로써 달성될 수 있다.
- [0282] 각각의 항체는 특징적인 용융 온도를 가질 것이고, 용융 온도가 높을수록 생체내에서 보다 큰 전체적인 안정성을 나타낸다 (Krishnamurthy R and Manning M C (2002) *Curr Pharm Biotechnol* 3:361-71). 일반적으로, T_{mi} (초기 언폴딩 온도)는 60°C 초과, 65°C 초과, 또는 70°C 초과일 수 있다. 항체의 융점은 시차 주사 열량측정 (Chen et al., (2003) *Pharm Res* 20: 1952-60; Ghirlando et al.,(1999) *Immunol Lett* 68:47-52) 또는 원형 이색성 (Murray et al., (2002) *J. Chromatogr Sci* 40:343-9)을 사용하여 측정될 수 있다.
- [0283] 일부 실시양태에서, 신속하게 분해되지 않는 항체가 선택된다. 항체의 분해는 모세관 전기영동 (CE) 및 MALDI-MS (Alexander A J and Hughes D E (1995) *Anal Chem* 67:3626-32)를 사용하여 측정될 수 있다.
- [0284] 일부 실시양태에서, 원치않는 면역 반응 및/또는 변경된 또는 바람직하지 않은 약동학적 특성의 촉발로 이어질 수 있는 응집 효과를 최소로 갖는 항체가 선택된다. 일반적으로, 응집이 25% 이하, 20% 이하, 15% 이하, 10% 이하, 또는 5% 이하인 항체가 허용된다. 응집은 크기-배제 칼럼 (SEC), 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 및

광 산란을 포함한 여러 기술에 의해 측정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 바람직한 용해도, 예를 들어 상업적 제조를 허용하는 용해도를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체의 용해도는 중성 또는 약 산성 pH에서 적어도 10 mg/ml, 적어도 15 mg/ml, 적어도 20 mg/ml, 적어도 25 mg/ml, 적어도 30 mg/ml, 적어도 40 mg/ml, 적어도 50 mg/ml, 적어도 60 mg/ml, 또는 적어도 70 mg/ml였다.

[0285] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 참조 항체보다 더 높은 안정성을 갖는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 참조 항체보다 더 높은 용융 온도를 갖는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 참조 항체보다 더 낮은 응집 경향을 갖는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 참조 항체보다 더 높은 용해도를 갖는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 참조 항체보다 더 높은 흡수 속도, 더 낮은 독성, 더 높은 생물학적 활성 및/또는 표적 선택성, 더 우수한 제조성 및/또는 더 낮은 면역원성을 갖는다. 참조 항체는 MICA/B에 결합하는 또 다른 항체 또는 그의 단편, 또는 그의 접합체일 수 있다.

[0286] V. 항체를 조작하는 방법

[0287] 상기 논의된 바와 같이, 본원에 개시된 VH 및 VL 서열을 갖는 항-MICA/B 항체는 VH 및/또는 VL 서열, 또는 그에 부착된 불변 영역(들)을 변형시킴으로써 새로운 항-MICA/B 항체를 생성하는데 사용될 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 또 다른 측면에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 구조적 특색은 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 적어도 1종의 기능적 특성, 예컨대 인간 MICA/B 및 시노몰구스 MICA/B에 대한 결합을 보유하는 구조적으로 관련된 항-MICA/B 항체를 생성하는데 사용된다. 예를 들어, MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2, 및 71C2의 1개 이상의 CDR 영역은, 상기 논의된 바와 같이 추가의, 재조합적으로-조작된 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 생성하기 위해 공지된 프레임워크 영역 및/또는 다른 CDR과 재조합적으로 조합될 수 있다. 다른 유형의 변형은 이전 섹션에 기재된 것을 포함한다. 조작 방법을 위한 출발 물질은 본원에 제공되는 V_H 및/또는 V_L 서열 중 1개 이상, 또는 그의 1개 이상의 CDR 영역이다. 조작된 항체를 생성하기 위해, 본원에 제공되는 V_H 및/또는 V_L 서열 중 1개 이상 또는 그의 1개 이상의 CDR 영역을 갖는 항체를 실제로 제조할 (즉, 단백질로서 발현시킬) 필요는 없다. 오히려, 서열(들) 내에 함유된 정보를 출발 물질로서 사용하여 원래 서열(들)로부터 유래된 "제2 세대" 서열(들)을 생성한 다음, "제2 세대" 서열(들)을 단백질로서 제조 및 발현시킨다.

[0288] 따라서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 제조하는 방법이 본원에 제공된다.

[0289] 변경된 항체는 본원에 기재된 기능적 특성 중 적어도 1종을 나타낼 수 있다. 변경된 항체의 기능적 특성은 관련 기술분야에서 이용가능하고/거나 본원에 기재된 표준 검정, 예컨대 실시예에 제시된 것 (예를 들어, ELISA, FACS)을 사용하여 평가될 수 있다.

[0290] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 조작하는 방법의 일부 실시양태에서, 돌연변이가 항-MICA/B 항체 코딩 서열의 모두 또는 일부를 따라서 무작위로 또는 선택적으로 도입될 수 있고, 생성된 변형된 항-MICA/B 항체는 본원에 기재된 바와 같이 결합 활성 및/또는 다른 기능적 특성에 대해 스크리닝될 수 있다. 돌연변이 방법은 관련 기술분야에 기재되어 있다. 예를 들어, PCT 공개 WO 02/092780 (Short)은 포화 돌연변이유발, 합성 라이게이션 어셈블리, 또는 그의 조합을 사용하여 항체 돌연변이를 생성하고 스크리닝하는 방법을 기재한다. 대안적으로, PCT 공개 WO 03/074679 (Lazar et al.)는 항체의 생리화학적 특성을 최적화하기 위해 컴퓨터 스크리닝 방법을 사용한 방법을 기재한다.

[0291] VI. 핵산 분자

[0292] 본원에 기재된 또 다른 측면은 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 코딩하는 핵산 분자에 관한 것이다. 핵산은 전 세포 중에, 세포 용해물 중에, 또는 부분적으로 정제되거나 실질적으로 순수한 형태로 존재할 수 있다. 핵산은 다른 세포 성분 또는 다른 오염물, 예를 들어 다른 세포 핵산 (예를 들어, 다른 염색체 DNA, 예를 들어 자연에서 단리된 DNA에 연결된 염색체 DNA) 또는 단백질로부터, 알칼리/SDS 처리, CsCl 밴딩, 칼럼 크로마토그래피, 제한 효소, 아가로스 겔 전기영동 및 관련 기술분야에 널리 공지된 다른 것을 포함하는 표준 기술에 의해 정제 되었을 때 "단리되거나" 또는 "실질적으로 순수하게 된다". 문헌 [F. Ausubel, et al., ed. (1987) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York]을 참조한다. 본원에 기재된 핵산은 예를 들어 DNA 또는 RNA일 수 있고, 인트론 서열을 함유할 수 있거나 또는 함유하지 않을 수 있다. 일부 실시양태에서, 핵산은 cDNA 분자이다.

[0293] 본원에 기재된 핵산은 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 획득될 수 있다. 하이브리도마 (예를 들어, 하기에 추가로 기재된 바와 같은 인간 이뮤노글로불린 유전자를 보유하는 트랜스제닉 마우스로부터 제조된 하이브리도

마)에 의해 발현되는 항체의 경우에, 하이브리도마에 의해 제조되는 항체의 경쇄 및 중쇄를 코딩하는 cDNA는 표준 PCR 증폭 또는 cDNA 클로닝 기술에 의해 수득될 수 있다. 이뮤노글로불린 유전자 라이브러리로부터 수득되는 항체의 경우에 (예를 들어, 파지 디스플레이 기술 사용), 항체를 코딩하는 핵산은 라이브러리로부터 회수될 수 있다.

- [0294] 본원에 기재된 일부 핵산 분자는 MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2 및 71C2 항체의 VH 및 VL 서열을 코딩하는 것이다. MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2 및 71C2의 VH 서열을 코딩하는 예시적인 DNA 서열은 각각 서열식별번호: 1, 11, 21, 31 및 41에 제시된다. MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2 및 71C2의 VL 서열을 코딩하는 예시적인 DNA 서열은 각각 서열식별번호: 3, 13, 23, 33 및 43에 제시된다. MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2 및 71C2의 중쇄 서열을 코딩하는 예시적인 DNA 서열은 각각 서열식별번호: 59, 63, 67, 71, 및 75에 제시된다. MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2 및 71C2의 경쇄 서열을 코딩하는 예시적인 DNA 서열은 서열식별번호: 61, 65, 69, 73 및 77에 제시된다.
- [0295] MICA.36 항체의 성숙 VH 및 VL 도메인을 코딩하는 예시적인 핵산은 각각 서열식별번호: 1 및 3으로 제시된다. MICA.36 항체의 성숙 중쇄를 코딩하는 예시적인 핵산은 서열식별번호: 59 및 131로 제시되고, MICA.36 항체의 성숙 경쇄를 코딩하는 예시적인 핵산은 서열식별번호: 61로 제시된다.
- [0296] MICA.52 항체의 성숙 VH 및 VL 도메인을 코딩하는 예시적인 핵산은 각각 서열식별번호: 11 및 13으로 제시된다. MICA.52 항체의 성숙 중쇄를 코딩하는 예시적인 핵산은 서열식별번호: 63으로 제시되고, MICA.52 항체의 성숙 경쇄를 코딩하는 예시적인 핵산은 서열식별번호: 65로 제시된다.
- [0297] MICA.54 항체의 성숙 VH 및 VL 도메인을 코딩하는 예시적인 핵산은 각각 서열식별번호: 21 및 23으로 제시된다. MICA.54 항체의 성숙 중쇄를 코딩하는 예시적인 핵산은 서열식별번호: 67로 제시되고, MICA.54 항체의 성숙 경쇄를 코딩하는 예시적인 핵산은 서열식별번호: 69로 제시된다.
- [0298] MICA.2 항체의 성숙 VH 및 VL 도메인을 코딩하는 예시적인 핵산은 각각 서열식별번호: 31 및 33으로 제시된다. MICA.2 항체의 성숙 중쇄를 코딩하는 예시적인 핵산은 서열식별번호: 71로 제시되고, MICA.2 항체의 성숙 경쇄를 코딩하는 예시적인 핵산은 서열식별번호: 73으로 제시된다.
- [0299] 71C2 항체의 성숙 VH 및 VL 도메인을 코딩하는 예시적인 핵산은 각각 서열식별번호: 41 및 43으로 제시된다. 71C2 항체의 성숙 중쇄를 코딩하는 예시적인 핵산은 서열식별번호: 75로 제시되고, 71C2 항체의 성숙 경쇄를 코딩하는 예시적인 핵산은 서열식별번호: 77로 제시된다.
- [0300] 상기 예시적인 핵산은 서열식별번호: 100-105에 제시된 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있다. 신호 펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 106-107로 제시된다. 일부 실시양태에서, 신호 펩티드는 MRAWIFFLLCLAGRALA (서열식별번호: 105)를 포함한다.
- [0301] 본원에 기재된 핵산 분자는 특정 서열, 예를 들어 제한 효소 인식 서열을 결실시키거나 또는 코돈을 최적화하기 위해 변형될 수 있다.
- [0302] MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2 및 71C2를 제조하는 방법은 신호 펩티드를 갖는 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 세포주에서 중쇄 및 경쇄, 예를 들어 MICA.36의 경우, 각각 서열식별번호: 59 및 61, 또는 각각 서열식별번호: 131 및 61을 발현시키는 것을 포함할 수 있다. MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2 및 71C2를 제조하는 방법은 신호 펩티드를 갖는 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 세포주에서 중쇄 및 경쇄를 발현시키는 것을 포함할 수 있다. 이들 뉴클레오티드 서열을 포함하는 숙주 세포는 본원에 포괄된다.
- [0303] VH 및 VL 절편을 코딩하는 DNA 단편이 수득되면, 예를 들어 가변 영역 유전자를 전장 항체쇄 유전자, Fab 단편 유전자 또는 scFv 유전자로 전환시키기 위해 이들 DNA 단편을 표준 재조합 DNA 기술에 의해 추가로 조작할 수 있다. 이들 조작에서, VL- 또는 VH-코딩 DNA 단편은 또 다른 단백질, 예컨대 항체 불변 영역 또는 가요성 링커를 코딩하는 또 다른 DNA 단편에 작동가능하게 연결된다. 이러한 문맥에 사용된 용어 "작동가능하게 연결된"은 2개의 DNA 단편에 의해 코딩된 아미노산 서열이 인-프레임으로 유지되도록 2개의 DNA 단편이 연결된 것을 의미하는 것으로 의도된다.
- [0304] VH 영역을 코딩하는 단리된 DNA는 VH-코딩 DNA를 중쇄 불변 영역 (힌지, CH1, CH2 및/또는 CH3)을 코딩하는 또 다른 DNA 분자에 작동가능하게 연결함으로써 전장 중쇄 유전자로 전환될 수 있다. 인간 중쇄 불변 영역 유전자의 서열은 관련 기술분야에 공지되어 있고 (예를 들어, 문헌 [Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of

Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조), 이들 영역을 포괄하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 수득될 수 있다. 중쇄 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM 또는 IgD 불변 영역, 예를 들어 IgG1 영역일 수 있다. Fab 단편 중쇄 유전자의 경우에, VH-코딩 DNA는 중쇄 CH1 불변 영역만을 코딩하는 또 다른 DNA 분자에 작동가능하게 연결될 수 있다.

[0305] VL 영역을 코딩하는 단리된 DNA는 VL-코딩 DNA를 경쇄 불변 영역, CL을 코딩하는 또 다른 DNA 분자에 작동가능하게 연결함으로써 전장 경쇄 유전자 (뿐만 아니라 Fab 경쇄 유전자)로 전환될 수 있다. 인간 경쇄 불변 영역 유전자의 서열은 관련 기술분야에 공지되어 있고 (예를 들어, 문헌 [Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조), 이들 영역을 포괄하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 수득될 수 있다. 경쇄 불변 영역은 카파 또는 람다 불변 영역일 수 있다.

[0306] scFv 유전자를 생성하기 위해, VH- 및 VL-코딩 DNA 단편을 가요성 링커를 코딩하는, 예를 들어 아미노산 서열 (Gly₄-Ser)₃을 코딩하는 또 다른 단편에 작동가능하게 연결하여, VL 및 VH 영역이 가요성 링커에 의해 연결되어 VH 및 VL 서열이 연속 단일-쇄 단백질로서 발현될 수 있도록 한다 (예를 들어, 문헌 [Bird et al., (1988) Science 242:423-426; Huston et al., (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty et al., (1990) Nature 348:552-554] 참조).

[0307] 또한, MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2, 및 71C2 항체의 것과 상동인 VH 및 VL 서열을 코딩하는 핵산 분자가 본원에 제공된다. 예시적인 핵산 분자는 MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2, 및 71C2 항체의 VH 및 VL 서열을 코딩하는 핵산 분자와 적어도 70% 동일한, 예를 들어 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및 VL 서열을 코딩한다. 또한, 예를 들어 코돈 최적화를 위해, 보존적 치환 (즉, 핵산 분자의 번역시 생성되는 아미노산 서열을 변경시키지 않는 치환)을 갖는 핵산 분자가 본원에 제공된다.

[0308] 또한, 항-MICA/B 항체, 예컨대 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 VH 및/또는 VL 영역을 코딩하는 핵산이 제공되며, 핵산은 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 VH 및/또는 VL 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 중 임의의 것과 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0309] 또한, 항-MICA/B 항체, 예컨대 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 중쇄 및/또는 경쇄를 코딩하는 핵산이 제공되며, 핵산은 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 중쇄 및/또는 경쇄를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 중 임의의 것과 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0310] VII. 항체 생산

[0311] 본원에 기재된 모노클로날 항-MICA/B 항체는 공지된 다양한 기술, 예컨대 문헌 [Kohler and Milstein, Nature 256: 495 (1975)]에 기재된 표준 체세포 혼성화 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 체세포 혼성화 절차가 바람직하지만, 원칙적으로는, 모노클로날 항체를 생산하는 다른 기술, 예를 들어 B 림프구의 바이러스성 또는 종양 원성 형질전환, 인간 항체 유전자의 라이브러리를 사용하는 파지 디스플레이 기술이 또한 이용될 수 있다.

[0312] 하이브리도마를 제조하는데 바람직한 동물 시스템은 무린 시스템이다. 마우스에서의 하이브리도마 생산은 매우 널리 확립된 절차이다. 면역화 프로토콜, 및 융합을 위한 면역화된 비장세포의 단리를 위한 기술은 관련 기술 분야에 공지되어 있다. 융합 파트너 (예를 들어, 무린 골수종 세포) 및 융합 절차가 또한 공지되어 있다.

[0313] 본원에 기재된 키메라 또는 인간화 항-MICA/B 항체는 상기 기재된 바와 같이 제조된 무린 모노클로날 항체의 서열에 기초하여 제조될 수 있다. 표준 분자 생물학 기술을 사용하여, 중쇄 및 경쇄 이뮤노글로불린을 코딩하는 DNA는 관심 무린 하이브리도마로부터 수득되고 비-무린 (예를 들어, 인간) 이뮤노글로불린 서열을 함유하도록 조작될 수 있다. 예를 들어, 키메라 항체를 생성하기 위해, 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 무린 가변 영역을 인간 불변 영역에 연결할 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567 (Cabilly et al.) 참조). 인간화 항체를 생성하기 위해, 무린 CDR 영역은 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 인간 프레임워크 내로 삽입될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,225,539 (Winter), 및 미국 특허 번호 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762 및 6,180,370 (Queen et al.) 참조).

[0314] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 인간 모노클로날 항체이다. MICA/B에 대해 지시된 이러한 인간 모노클로날 항체는 마우스 시스템보다는 인간 면역계의 일부를 보유하는 트랜스제닉 또는 트랜스크로모소

믹 마우스를 사용하여 생성할 수 있다. 이들 트랜스제닉 및 트랜스크로모소믹 마우스는 본원에서 각각 HuMAb 마우스 및 KM 마우스로 지칭되는 마우스를 포함하며, 이는 본원에서 집합적으로 "인간 Ig 마우스"로 지칭된다.

- [0315] HUMAB-마우스® (메다렉스, 인크.(Medarex, Inc.))는 내인성 μ 및 κ 쇄 유전자좌를 불활성화시키는 표적화 돌연변이와 함께, 재배열되지 않은 인간 중쇄 (μ 및 γ) 및 κ 경쇄 이뮤노글로불린 서열을 코딩하는 인간 이뮤노글로불린 유전자 미니유전자좌를 함유한다 (예를 들어, 문헌 [Lonberg, et al., (1994) Nature 368(6474): 856-859] 참조). 따라서, 마우스는 마우스 IgM 또는 κ 의 감소된 발현을 나타내고, 면역화에 대한 반응으로, 도입된 인간 중쇄 및 경쇄 트랜스진은 부류 스위칭 및 체세포 돌연변이를 거쳐 높은 친화도의 인간 IgGK 모노클로날을 생성한다 (Lonberg, N. et al. (1994), 상기 문헌; 문헌 [Lonberg, N. (1994) Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101; Lonberg, N. and Huszar, D. (1995) Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93, and Harding, F. and Lonberg, N. (1995) Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:536-546]에서 검토됨). HuMAb 마우스의 제조 및 용도, 및 이러한 마우스가 보유하는 게놈 변형은 문헌 [Taylor, L. et al. (1992) Nucleic Acids Research 20:6287-6295; Chen, J. et al., (1993) International Immunology 5: 647-656; Tuailon et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:3720-3724; Choi et al. (1993) Nature Genetics 4:117-123; Chen, J. et al. (1993) EMBO J. 12: 821-830; Tuailon et al. (1994) Immunol. 152:2912-2920; Taylor, L. et al. (1994) International Immunology 6: 579-591; 및 Fishwild, D. et al. (1996) Nature Biotechnology 14: 845-851]에 추가로 기재되어 있다. 추가로 미국 특허 번호 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,789,650; 5,877,397; 5,661,016; 5,814,318; 5,874,299; 및 5,770,429 (모두 Lonberg 및 Kay); 미국 특허 번호 5,545,807 (Surani et al.); PCT 공개 번호 WO 92/03918, WO 93/12227, WO 94/25585, WO 97/13852, WO 98/24884 및 WO 99/45962 (모두 Lonberg 및 Kay); 및 PCT 공개 번호 WO 01/14424 (Korman et al.)를 참조한다.
- [0316] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 트랜스진 및 트랜스크로모솜 상에 인간 이뮤노글로불린 서열을 보유하는 마우스, 예컨대 인간 중쇄 트랜스진 및 인간 경쇄 트랜스크로모솜을 보유하는 마우스를 사용하여 생성된다. 이러한 마우스는 본원에서 "KM 마우스"로 지칭되며, PCT 공개 WO 02/43478 (Ishida et al.)에 상세하게 기재되어 있다.
- [0317] 추가로, 인간 이뮤노글로불린 유전자를 발현하는 대안의 트랜스제닉 동물 시스템이 관련 기술분야에서 이용가능하고 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 생성하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 제노마우스 (아브게닉스, 인크.(Abgenix, Inc.))로 지칭되는 대안적 트랜스제닉 시스템이 사용될 수 있으며; 이러한 마우스는 예를 들어 미국 특허 번호 5,939,598; 6,075,181; 6,114,598; 6,150,584 및 6,162,963 (Kucherlapati et al.)에 기재되어 있다.
- [0318] 또한, 인간 이뮤노글로불린 유전자를 발현하는 대안적 트랜스크로모소믹 동물 시스템이 관련 기술분야에서 이용가능하고 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 생성하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, "TC 마우스"로 지칭되는 인간 중쇄 트랜스크로모솜 및 인간 경쇄 트랜스크로모솜 둘 다를 보유하는 마우스가 사용될 수 있으며; 이러한 마우스는 문헌 [Tomizuka et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722-727]에 기재되어 있다. 추가로, 인간 중쇄 및 경쇄 트랜스크로모솜을 보유하는 소가 관련 기술분야에 기재되어 있고 (Kuroiwa et al. (2002) Nature Biotechnology 20:889-894), 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 생성하는데 사용될 수 있다.
- [0319] 인간 항체, 예를 들어 인간 항-MICA/B 항체를 생성하기 위한, 관련 기술분야에 기재된 추가의 마우스 시스템은 (i) 내인성 마우스 중쇄 및 경쇄 가변 영역이, 상동 재조합을 통해, 내인성 마우스 불변 영역에 작동가능하게 연결된 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역으로 대체되어, 키메라 항체 (인간 V/마우스 C)가 마우스에서 생성되고, 이어서 표준 재조합 DNA 기술을 사용하여 완전 인간 항체로 후속 전환되는, 벨로크이문(VELOCLMUNE)® 마우스 (레게네론 파마슈티칼스, 인크.(Regeneron Pharmaceuticals, Inc.)); 및 (ii) 재배열되지 않은 인간 중쇄 가변 영역 및 단일 재배열된 인간 공통 경쇄 가변 영역을 함유하는 마우스인 메모(MEMO)® 마우스 (메루스 바이오파마슈티칼스, 인크.(Merus Biopharmaceuticals, Inc.))를 포함한다. 이러한 마우스, 및 항체를 생성하기 위한 그의 용도가, 예를 들어, WO 2009/15777, US 2010/0069614, WO 2011/072204, WO 2011/097603, WO 2011/163311, WO 2011/163314, WO 2012/148873, US 2012/0070861 및 US 2012/0073004에 기재되어 있다.
- [0320] 본원에 기재된 인간 모노클로날 항-MICA/B 항체는 또한 인간 이뮤노글로불린 유전자의 라이브러리를 스크리닝하는 파지 디스플레이 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 인간 항체를 단리하기 위한 이러한 파지 디스플레이 방법은 관련 기술분야에 확립되어 있다. 예를 들어 미국 특허 번호 5,223,409; 5,403,484; 및 5,571,698 (Ladner et al.); 미국 특허 번호 5,427,908 및 5,580,717 (Dower et al.); 미국 특허 번호 5,969,108 및 6,172,197 (McCafferty et al.); 및 미국 특허 번호 5,885,793; 6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915

및 6,593,081 (Griffiths et al.)을 참조한다.

[0321] 본원에 기재된 인간 모노클로날 항-MICA/B 항체는 또한 면역화 시 인간 항체 반응이 생성될 수 있도록 인간 면역 세포가 재구성된 SCID 마우스를 사용하여 제조될 수 있다. 이러한 마우스는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,476,996 및 5,698,767 (Wilson et al.)에 기재되어 있다.

[0322] VII.A. 면역화

[0323] MICA/B에 대한 완전 인간 항체를 생성하기 위해, 인간 이뮤노글로불린 유전자를 함유하는 트랜스제닉 또는 트랜스크로모소믹 마우스 (예를 들어, HCo12, HCo7 또는 KM 마우스)는, 다른 항원에 대해 예를 들어 문헌 [Lonberg et al., (1994) Nature 368(6474): 856-859; Fishwild et al., (1996) Nature Biotechnology 14: 845-851] 및 WO 98/24884에 기재된 바와 같이, 인간 MICA/B 항원, 예를 들어, MICA*002, MICA*004, MICA*008, MICA*009, MICB*005, 또는 그의 임의의 조합, 및/또는 MICA 또는 그의 단편을 발현하는 세포의 정제된 또는 풍부화된 제제로 면역화될 수 있다. 대안적으로, 마우스는 인간 MICA/B를 코딩하는 DNA 또는 그의 단편으로 면역화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 마우스는 제1 주입 시 6-16주령일 수 있다. 예를 들어, 제조된 MICA/B 항원의 정제된 또는 풍부화된 제제 (5-50 μg)가 HuMAb 마우스를 복강내로 면역화시키는데 사용될 수 있다. MICA/B 항원의 정제된 또는 풍부화된 제제를 사용한 면역화가 항체를 발생시키지 않는 사건에서, 마우스는 또한 면역 반응을 촉진하기 위해 MICA/B를 발현하는 세포, 예를 들어 세포주로 면역화될 수 있다. 예시적인 세포주는 MICA/B-과다 발현 안정한 CHO 및 Raji 세포주를 포함한다.

[0324] 다양한 항원을 사용한 누적 경험은 HuMAb 트랜스제닉 마우스가 리비(Ribi) 아주반트 중의 항원에 의해 복강내로 (IP) 또는 피하로 (SC) 초기 면역화된 다음, 격주로 리비 아주반트 중의 항원에 의해 IP/SC 면역화 (최대 총 10 회)되는 경우에 최상으로 반응한다는 것을 제시한 바 있다. 면역 반응은 안와후 채혈에 의해 획득되는 혈장 샘플을 사용하여 면역화 프로토콜 과정에 걸쳐 모니터링될 수 있다. 혈장은 ELISA 및 FACS (하기 기재된 바와 같음)에 의해 스크리닝될 수 있고, 충분한 역가의 항-MICA/B 인간 이뮤노글로불린을 갖는 마우스가 융합을 위해 사용될 수 있다. 마우스는 희생 및 비장 및 림프절 제거 3일 전에 항원으로 정맥내로 부스팅될 수 있다. 각각의 면역화를 위해 2-3회 융합이 수행될 필요가 있을 수 있는 것으로 예상된다. 각각의 항원에 대해 전형적으로 6 내지 24마리의 마우스를 면역화한다. 통상적으로, HCo7, HCo12, 및 KM 계통이 사용된다. 또한, HCo7 및 HCo12 둘 다의 트랜스진이 2종의 상이한 인간 중쇄 트랜스진을 갖는 단일 마우스로 함께 교배될 수 있다 (HCo7/HCo12).

[0325] VII.B. MICA/B에 대한 모노클로날 항체를 생산하는 하이브리도마의 생성

[0326] 본원에 기재된 인간 모노클로날 항-MICA/B 항체를 생산하는 하이브리도마를 생성하기 위해, 면역화된 마우스로부터 비장세포 및/또는 림프절 세포를 단리하고 적절한 불멸화 세포주, 예컨대 마우스 골수종 세포주에 융합시킬 수 있다. 생성되는 하이브리도마는 항원-특이적 항체의 생산에 대해 스크리닝될 수 있다. 예를 들어, 면역화된 마우스로부터의 비장 림프구의 단세포 현탁액을 PEG를 갖는 Sp2/0 비분비 마우스 골수종 세포 (ATCC, CRL 1581)에 융합시킬 수 있다. 세포를 편평 바닥 마이크로타이타 플레이트에 플레이팅하고, 이어서 선택 배지에서 인큐베이션할 수 있다. 수주 후에, 배지에서 세포를 배양할 수 있다. 이어서, 개별 웰을 인간 모노클로날 IgM 및 IgG 항체에 대해 ELISA에 의해 스크리닝할 수 있다. 광범위한 하이브리도마 성장이 일어나면, 통상적으로 10-14일 후에 배지를 관찰할 수 있다. 항체 분비 하이브리도마를 재위치시키고, 다시 스크리닝하고, 인간 IgG에 대해 여전히 양성인 경우에는, 모노클로날 항체를 한계 희석함으로써 적어도 2회 서브클로닝할 수 있다. 이어서, 안정한 서브클론을 시험관내 배양하여 조직 배양 배지 중에 특징화를 위한 소량의 항체를 생성할 수 있다.

[0327] 인간 모노클로날 항체를 정제하기 위해, 선택된 하이브리도마를 모노클로날 항체 정제를 위한 2-리터 스피너-플라스크에서 성장시킬 수 있다. 상청액을 여과하고 농축시킨 후, 단백질 A-세파로스 (파마시아(Pharmacia), 뉴저지주 피스카타웨이)로 친화성 크로마토그래피할 수 있다. 순도를 보장하기 위해 용리된 IgG를 겔 전기영동 및 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 체크할 수 있다. 완충 용액을 PBS로 교환하고, 흡광 계수 1.43을 사용하여 OD280에 의해 농도를 결정할 수 있다. 모노클로날 항체를 분취하고, 저장할 수 있다.

[0328] VII.C. MICA/B에 대한 모노클로날 항체를 생산하는 트랜스펙토마의 생성

[0329] 항체는 예를 들어 관련 기술분야에 널리 공지된 바와 같은 제조된 DNA 기술 및 유전자 형질감염 방법의 조합을 사용하여 숙주 세포 트랜스펙토마에서 생산될 수 있다 (Morrison, S. (1985) Science 229: 1202).

[0330] 예를 들어, 항체 또는 그의 항체 단편을 발현시키기 위해, 부분 또는 전장 경쇄 및 중쇄를 코딩하는 DNA를 표준

분자 생물학 기술 (예를 들어, 관심 항체를 발현하는 하이브리도마를 사용하는 PCR 증폭 또는 cDNA 클로닝)에 의해 수득할 수 있고, 유전자가 전사 및 번역 제어 서열에 작동가능하게 연결되도록 DNA를 발현 벡터 내로 삽입할 수 있다. 이러한 문맥에서, 용어 "작동가능하게 연결된"은 벡터 내의 전사 및 번역 제어 서열이 항체 유전자의 전사 및 번역을 조절하는 그의 의도된 기능을 제공하도록, 항체 유전자가 벡터 내로 라이게이션된 것을 의미하는 것으로 의도된다. 발현 벡터 및 발현 제어 서열은 사용되는 발현 숙주 세포와 상용성하도록 선택된다. 항체 경쇄 유전자 및 항체 중쇄 유전자는 별개의 벡터 내로 삽입될 수 있거나 또는 둘 다의 유전자는 동일한 발현 벡터 내로 삽입된다. 항체 유전자는 표준 방법 (예를 들어, 항체 유전자 단편 및 벡터 상의 상보적 제한 부위의 라이게이션, 또는 제한 부위가 존재하지 않는 경우 평활 말단 라이게이션)에 의해 발현 벡터(들) 내로 삽입된다. 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 사용하여, 이들을 목적하는 이소형의 중쇄 불변 및 경쇄 불변 영역을 이미 코딩하는 발현 벡터 내로 삽입하여 V_H 절편이 벡터 내 C_H 절편(들)에 작동가능하게 연결되고 V_L 절편이 벡터 내 C_L 절편에 작동가능하게 연결되도록 함으로써 임의의 항체 이소형의 전장 항체 유전자를 생성할 수 있다.

[0331] 추가적으로 또는 대안적으로, 재조합 발현 벡터는 숙주 세포로부터 항체 쇠의 분비를 용이하게 하는 신호 펩티드를 코딩할 수 있다. 항체 쇠 유전자는 신호 펩티드가 항체 쇠 유전자의 아미노 말단에 인-프레임으로 연결되도록 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 신호 펩티드는 이류노글로불린 신호 펩티드 또는 이중 신호 펩티드 (즉, 비-이류노글로불린 단백질로부터의 신호 펩티드)일 수 있다.

[0332] 일부 실시양태에서, 인간 항체 중쇄 및 경쇄로부터의 하기 신호 펩티드가 사용될 수 있다: MDWTWRVFCLLAVAPGAHS (서열식별번호: 100); METPAQLLFLLLWLPDTTG (서열식별번호: 101); MKHLWFFLLVAAPRWLS (서열식별번호: 102); MEFGLSWVFLVAI IKGVC (서열식별번호: 103); MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC (서열식별번호: 104) 또는 MRWIFFLLCLAGRALA (서열식별번호: 105). 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체 중 어느 하나의 발현에 사용된 신호 서열은 서열식별번호: 105이다. 항-MICA/B 항체의 중쇄 및 경쇄는 이들이 클로닝된 하이브리도마에서 각각의 쇠에 연결된 각각의 신호 서열과 함께 발현될 수 있다. 이들이 클로닝된 하이브리도마에 존재하는 다양한 항-MICA/B 항체의 신호 서열이 하기 제시되고, 이러한 신호 서열은 동일한 항체 또는 또 다른 항체를 발현시키는데 사용될 수 있다:

[0333] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체 (예를 들어, MICA.36)의 중쇄 및 경쇄는 이들이 클로닝된 하이브리도마에 존재하는 것과 상이한 신호 서열을 갖도록 조작될 수 있다. 이러한 서열의 예는 하기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:

[0334] (i) 중쇄에 대한 신호 서열의 핵산 서열: ATGAGGGCTTGATCTTCTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGAGAGCGCTCGCA (서열식별번호: 106)

[0335] (ii) 경쇄에 대한 신호 서열의 핵산 서열: ATGAGGGCTTGATCTTCTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGCGCGCCTTGCC (서열식별번호: 107)

[0336] (iii) 중쇄 및 경쇄에 대한 신호 서열의 아미노산 서열: MRWIFFLLCLAGRALA (서열식별번호: 105).

[0337] 항체 쇠 유전자에 더하여, 재조합 발현 벡터는 숙주 세포에서의 항체 쇠 유전자의 발현을 제어하는 조절 서열을 보유할 수 있다. 용어 "조절 서열"은 항체 쇠 유전자의 전사 또는 번역을 제어하는 프로모터, 인핸서 및 다른 발현 제어 요소 (예를 들어, 폴리아데닐화 신호)를 포함하는 것으로 의도된다. 이러한 조절 서열은 예를 들어 문헌 [Goeddel (Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990))]에 기재되어 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 조절 서열의 선택을 포함한 발현 벡터의 설계가 형질전환시킬 숙주 세포의 선택, 목적하는 단백질의 발현 수준 등과 같은 인자에 의존할 수 있다는 것을 인지할 것이다. 포유동물 숙주 세포 발현을 위해 바람직한 조절 서열은 포유동물 세포에서 높은 수준의 단백질 발현을 지시하는 바이러스 요소, 예컨대 시토메갈로바이러스 (CMV), 원숭이 바이러스 40 (SV40), 아데노바이러스 (예를 들어, 아데노바이러스 주요 후기 프로모터 (AdMLP)) 및 폴리오마로부터 유래된 프로모터 및/또는 인핸서를 포함한다. 대안적으로, 비바이러스 조절 서열, 예컨대 유비퀴틴 프로모터 또는 β -글로빈 프로모터가 사용될 수 있다. 추가로, 조절 요소는 상이한 공급원으로부터의 서열, 예컨대 SV40초기 프로모터 및 인간 T 세포 백혈병 바이러스 유형 1의 긴 말단 반복부로부터의 서열을 함유하는 SRa 프로모터 시스템으로 구성된다 (Takebe, Y. et al. (1988) Mol. Cell. Biol. 8:466-472).

[0338] 항체 쇠 유전자 및 조절 서열에 더하여, 재조합 발현 벡터는 추가의 서열, 예컨대 숙주 세포에서 벡터의 복제를 조절하는 서열 (예를 들어, 복제 기점) 및 선택 마커 유전자를 보유할 수 있다. 선택 마커 유전자는 벡터가 도

입된 숙주 세포의 선택을 용이하게 한다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,399,216, 4,634,665 및 5,179,017 (모두 Axel et al.) 참조). 예를 들어, 전형적으로 선택 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포에 약물, 예컨대 G418, 히그로마이신 또는 메토티렉세이트에 대한 저항성을 부여한다. 바람직한 선택 마커 유전자는 디히드로폴레이트 리덕타제 (DHFR) 유전자 (메토티렉세이트 선택/증폭과 함께 dhfr- 숙주 세포에서의 사용을 위함) 및 neo 유전자 (G418 선택을 위함)를 포함한다.

[0339] 경쇄 및 중쇄의 발현을 위해, 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 발현 벡터(들)를 표준 기술에 의해 숙주 세포 내로 형질 감염시킨다. 다양한 형태의 용어 "형질감염"은 원핵 또는 진핵 숙주 세포 내로의 외인성 DNA의 도입을 위해 통상적으로 사용되는 매우 다양한 기술, 예를 들어 전기천공, 인산칼슘 침전, DEAE-텍스트란 형질감염 등을 포괄하는 것으로 의도된다.

[0340] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 원핵 또는 진핵 숙주 세포, 예컨대 포유동물 세포에서 발현시키는 것이 가능하다.

[0341] 본원에 기재된 재조합 항-MICA/B 항체의 발현을 위한 특정 포유동물 숙주 세포는 차이나이즈 햄스터 난소 (CHO 세포) (예를 들어 문헌 [R. J. Kaufman and P. A. Sharp (1982) Mol. Biol. 759:601-621]에 기재된 바와 같이 DHFR 선택 마커와 함께 사용되는, 문헌 [Urlaub and Chasin, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220]에 기재된 dhfr- CHO 세포 포함), NSO 골수종 세포, COS 세포 및 SP2 세포를 포함한다. 특히, NSO 골수종 세포와 함께 사용하기 위한, 또 다른 발현 시스템은 WO 87/04462, WO 89/01036 및 EP 338,841에 개시된 GS 유전자 발현 시스템이다. 항체 유전자를 코딩하는 재조합 발현 벡터를 포유동물 숙주 세포 내로 도입한 경우에, 항체는, 숙주 세포에서 항체의 발현을 허용하는데, 또는 보다 바람직하게는 숙주 세포가 성장되는 배양 배지 내로 항체의 분비를 허용하는데 충분한 기간 동안 숙주 세포를 배양함으로써 생성된다. 항체는 표준 단백질 정제 방법을 사용하여 배양 배지로부터 회수될 수 있다.

[0342] VIII. 면역접합체, 항체 유도체 및 진단

[0343] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 샘플 시험 및 생체내 영상화를 포함한 진단 목적에 사용될 수 있고, 이러한 목적을 위해 항체 (또는 그의 결합 단편)를 적절한 검출가능한 작용제에 접합시켜 면역접합체를 형성할 수 있다. 진단 목적을 위한 적절한 작용제는 전신 영상화를 위한 방사성동위원소, 및 샘플 시험을 위한 방사성동위원소, 효소, 형광 표지 및 다른 적합한 항체 태그를 포함하는 검출가능한 표지이다.

[0344] 본원에 기재된 임의의 항-MICA/B 항체에 연결될 수 있는 검출가능한 표지는, 금속 줄, 예컨대 콜로이드성 금, 동위원소 예컨대 예를 들어 N₂S₂, N₃S 또는 N₄ 유형의 펩티드성 킬레이트화제와 함께 제공되는 I¹²⁵ 또는 Tc⁹⁹, 형광 마커, 발광 마커, 인광 마커 등을 포함한 발색단을 포함한 미립자 표지, 뿐만 아니라 주어진 기질을 검출가능한 마커로 전환시키는 효소 표지, 및 예컨대 폴리머라제 연쇄 반응에 의한 증폭 후에 나타나는 폴리뉴클레오티드 태그를 포함하는, 시험관내 진단학 분야에서 현재 사용되는 임의의 다양한 유형일 수 있다. 적합한 효소 표지는 양호추냉이 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제 등을 포함한다. 예를 들어, 표지는 1,2 디옥세탄 기질 예컨대 아다만틸 메톡시 포스포릴옥시 페닐 디옥세탄 (AMPPD), 디소듐 3-(4-(메톡시시피로{1,2-디옥세탄-3,2'-(5'-클로로)트리시클로{3.3.1.1 3,7}데칸)-4-일) 페닐 포스페이트 (CSPD), 뿐만 아니라 CDP 및 CDP-스타(CDP-STAR)® 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 다른 발광 기질, 예를 들어 적합한 란타나이드 예컨대 테르븀(III) 및 유퀴륨(III)의 킬레이트의 전환 후에 화학발광의 존재 또는 형성을 측정함으로써 검출되는, 효소 알칼리성 포스파타제일 수 있다. 검출 수단은 선택된 표지에 의해 결정된다. 표지 또는 그의 반응 생성물의 출현은 표지가 미립자이고 적절한 수준으로 축적된 경우에는 육안을 사용하여, 또는 분광광도계, 발광 측정기, 형광계 등과 같은 기기를 모두 표준 관례에 따라 사용하여 달성할 수 있다.

[0345] 일부 실시양태에서, 접합 방법은 실질적으로 (또는 거의) 비-면역원성인 연결, 예를 들어 펩티드- (즉 아미드-), 술폰드-, (입체 장애), 디술폰드-, 히드라존-, 및 에테르 연결을 발생시킨다. 이들 연결은 거의 비-면역원성이고, 혈청 내에서 합리적인 안정성을 나타낸다 (예를 들어, 문헌 [Senter, P. D., Curr. Opin. Chem. Biol. 13 (2009) 235-244]; WO 2009/059278; WO 95/17886 참조).

[0346] 모이어티 및 항체의 생화학적 성질에 따라, 상이한 접합 전략이 사용될 수 있다. 모이어티가 50 내지 500개 아미노산의 자연 발생 또는 재조합인 경우에, 단백질 접합체의 합성을 위한 화학을 기재한 텍스트 북에 표준 절차가 존재하고, 이는 통상의 기술자가 용이하게 따를 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Hackenberger, C. P. R., and Schwarzer, D., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 47 (2008) 10030-10074] 참조). 일부 실시양태에서, 말레인이미도 모이어티와 항체 또는 모이어티 내의 시스템인 잔기의 반응이 사용된다. 이는, 예를 들어 항체의 Fab 또는

Fab'-단편이 사용되는 경우에, 특히 적합한 커플링 화학이다. 대안적으로 일부 실시양태에서, 항체 또는 모이어티의 C-말단 단부에의 커플링이 수행된다. 예를 들어 Fab-단편의 단백질의 C-말단 변형이 기재된 바와 같이 수행될 수 있다 (Sunbul, M. and Yin, J., *Org. Biomol. Chem.* 7 (2009) 3361-3371).

- [0347] 일반적으로, 부위 특이적 반응 및 공유 커플링은 천연 아미노산을, 존재하는 다른 관능기의 반응성과 직교하는 반응성을 갖는 아미노산으로 변환하는 것에 기초한다. 예를 들어, 드문 서열 맥락 내의 특정 시스테인은 알데히드에서 효소적으로 전환될 수 있다 (문헌 [Frese, M. A., and Dierks, T., *ChemBioChem.* 10 (2009) 425-427] 참조). 또한, 주어진 서열 맥락에서 천연 아미노산과 함께 특정 효소의 특이적 효소 반응성을 사용함으로써 목적하는 아미노산 변형을 수득하는 것이 가능하다 (예를 들어, 문헌 [Taki, M. et al., *Prot. Eng. Des. Sel.* 17 (2004) 119-126; Gautier, A. et al. *Chem. Biol.* 15 (2008) 128-136; 및 Protease-catalyzed formation of C- N bonds is used by Bordusa, F., *Highlights in Bioorganic Chemistry* (2004) 389-403] 참조). 부위 특이적 반응 및 공유 커플링은 또한 말단 아미노산과 적절한 변형 시약과의 선택적 반응에 의해 달성될 수 있다.
- [0348] N-말단 시스테인과 벤조니트릴의 반응성 (문헌 [Ren, H. et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 48 (2009) 9658-9662] 참조)을 사용하여 부위-특이적 공유 커플링을 달성할 수 있다.
- [0349] 천연 화학적 라이게이션은 또한 C-말단 시스테인 잔기에 의존할 수 있다 (Taylor, E. Vogel; Imperiali, B, *Nucleic Acids and Molecular Biology* (2009), 22 (Protein Engineering), 65-96).
- [0350] US6437095 B1은 양으로 하전된 아미노산의 스트레치에 위치하는 시스테인과 음으로 하전된 아미노산의 스트레치 내의 시스테인의 보다 신속한 반응에 기초한 접합 방법을 기재한다.
- [0351] 모이어티는 또한 합성 펩티드 또는 펩티드 모방체일 수 있다. 폴리펩티드가 화학적으로 합성되는 경우에, 직교 화학적 반응성을 갖는 아미노산이 이러한 합성 동안 혼입될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [de Graaf, A. J. et al., *Bioconjug. Chem.* 20 (2009) 1281-1295] 참조). 매우 다양한 직교 관능기가 존재하고 합성 펩티드 내로 도입될 수 있기 때문에, 이러한 펩티드의 링커에의 접합은 표준 화학이다.
- [0352] 단일-표지된 폴리펩티드를 수득하기 위해, 1:1 화학량론을 갖는 접합체를 크로마토그래피에 의해 다른 접합 부산물로부터 분리할 수 있다. 이러한 절차는 염료 표지된 결합 쌍 구성원 및 하전된 링커를 사용함으로써 용이해질 수 있다. 전하 및 분자량의 차이가 분리를 위해 사용될 수 있기 때문에, 이러한 종류의 표지되고 고도로 음으로 하전된 결합 쌍 구성원을 사용함으로써, 단일 접합된 폴리펩티드는 비-표지된 폴리펩티드 및 1개 초과 링커를 보유하는 폴리펩티드로부터 용이하게 분리된다. 형광 염료는 표지된 1가 결합체와 같이, 비-결합 성분으로부터 복합체를 정제하는데 유용할 수 있다.
- [0353] 일부 실시양태에서 항-MICA/B 항체에 부착되는 모이어티는 결합 모이어티, 표지 모이어티, 및 생물학적 활성 모이어티로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0354] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 또한 치료제에 접합되어 면역접합체, 예컨대 항체-약물 접합체 (ADC)를 형성할 수 있다. 적합한 치료제는 항대사물, 알킬화제, DNA 작은 홈 결합체, DNA 삽입제, DNA 가교제, 히스톤 데아세틸라제 억제제, 핵 유출 억제제, 프로테아솜 억제제, 토포이소머라제 I 또는 II 억제제, 열 쇼크 단백질 억제제, 티로신 키나제 억제제, 항생제 및 항유사분열제를 포함한다. ADC에서, 항체 및 치료제는 바람직하게는 절단가능한 링커, 예컨대 펩티딜, 디설피드, 또는 히드라존 링커를 통해 접합된다. 일부 실시양태에서, 링커는 펩티딜 링커, 예컨대 Val-Cit, Ala-Val, Val-Ala-Val, Lys-Lys, Pro-Val-Gly-Val-Val (서열식별번호: 108), Ala-Asn-Val, Val-Leu-Lys, Ala-Ala-Asn, Cit-Cit, Val-Lys, Lys, Cit, Ser, 또는 Glu이다. ADC는 미국 특허 번호 7,087,600; 6,989,452; 및 7,129,261; PCT 공개 WO 02/096910; WO 07/038658; WO 07/051081; WO 07/059404; WO 08/083312; 및 WO 08/103693; 미국 특허 공개 20060024317; 20060004081; 및 20060247295에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다.
- [0355] 일부 실시양태에서, 치료제는 세포독소, 비-세포독성 약물, 방사성 작용제, 제2 항체, 효소, 항신생물제, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0356] 일부 실시양태에서, 면역접합체는 항-MICA/B 항체 및 세포독소를 포함한다. 세포독소는 관련 기술분야에 공지된 임의의 세포독소로부터 선택될 수 있다. 일부 실시양태에서, 세포독소는 돌라스타틴, 모노메틸 아우리스타틴 E (MMAE), 메이탄신, 두오카르마이신, 칼리케아미신, 피롤로벤조디아제핀, 두오카르마이신, 쉐타나마이신, SN38, 독소루비신, 그의 유도체, 그의 합성 유사체, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 면역접합체는 항-MICA/B 항체 및 세포독소 A를 포함한다. 다른 실시양태에서, 면역접합체

는 항-MICA/B 항체 및 비-세포독성 약물을 포함한다.

- [0357] 일부 실시양태에서, 면역접합체는 항-MICA/B 항체 및 방사성 작용제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방사성 작용제는 방사성뉴클레오티드이다. 특정 실시양태에서, 방사성 작용제는 방사성 아이오딘을 포함한다. 특정 실시양태에서, 방사성 작용제는 131-아이오딘을 포함한다. 다른 실시양태에서, 방사성 작용제는 방사성 동위원소 이트륨-90을 포함한다.
- [0358] 일부 실시양태에서, 면역접합체는 항-MICA/B 항체 및 제2 항체를 포함한다. 제2 항체는 PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG3, TIGIT, TIM3, NKG2a, OX40, ICOS, CD137, KIR, TGF β , IL-10, IL-2, IL-8, B7-H4, Fas 리간드, CXCR4, 메소텔린, VISTA, CD96, CD27, GITR, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 본 개시내용에 기재된 임의의 항체일 수 있다. 한 실시양태에서, 면역접합체는 항-MICA/B 항체 및 항-PD-1 항체를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 면역접합체는 항-MICA/B 항체 및 니볼루맵을 포함한다.
- [0359] 한 실시양태에서, 면역접합체는 항-MICA/B 항체 및 PEG화 IL-2 또는 PEG화 IL-10을 포함한다.
- [0360] 특정 실시양태에서, 면역접합체는 항-MICA/B 항체 및 효소를 포함한다. 일부 실시양태에서, 효소는 글루코스 옥시다제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 효소는 퍼옥시다제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 효소는 미엘로 퍼옥시다제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 효소는 글루코스 옥시다제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 효소는 양고추냉이 퍼옥시다제를 포함한다.
- [0361] 특정 실시양태에서, 면역접합체는 항-MICA/B 항체 및 항신생물제를 포함한다. 항신생물제는 관련 기술분야에 공지된 임의의 이러한 작용제일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항신생물제는 에피루비신이다. 일부 실시양태에서, 항신생물제는 슈퍼 항원이다. 특정 실시양태에서, 슈퍼 항원은 스타필로코쿠스 장독소 A (SEA/E-120; 에스 타페나톡스)이다.
- [0362] 항-MICA/B 항체, 예를 들어 본원에 기재된 것은 또한 MICA/B, 예컨대 인간 MICA/B, 예를 들어 세포의 표면 상의 인간 MICA/B 또는 혈청 내의 가용성 MICA/B를 검출하는데 사용될 수 있다. 항체는 예를 들어 ELISA 검정 또는 유동 세포측정법에서 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 특이적 결합이 일어나기에 적절한 시간 동안 세포 또는 혈청과 접촉된 다음, 시약, 예를 들어 항-MICA/B 항체를 검출하는 항체가 첨가된다. 예시적인 검정이 실시예에 제공된다. 샘플 (혈청)에서 MICA/B, 예를 들어, 표면 발현된 MICA/B 또는 가용성 MICA/B (sMICA/B)를 검출하는 예시적인 방법은 (i) 샘플을 항-MICA/B 항체와, 샘플에서 항-MICA/B 항체가 MICA/B에 특이적으로 결합하게 하는데 충분한 시간 동안 접촉시키고, (2) 샘플을 검출 시약, 예를 들어 항-MICA/B 항체, 예컨대 항-MICA/B 항체의 Fc 영역에 특이적으로 결합하는 항체와 접촉시켜, 항-MICA/B 항체에 의해 결합된 MICA/B를 검출하는 것을 포함한다. 항체 및/또는 검출 시약과의 인큐베이션 후에 세척 단계가 포함될 수 있다. 별개의 검출 작용제가 사용될 수 있기 때문에, 이들 방법에 사용하기 위한 항-MICA/B 항체는 표지 또는 검출 작용제에 연결되어야 하는 것은 아니다.
- [0363] 예를 들어 단독요법으로서 또는 조합 요법으로서 항-MICA/B 항체의 다른 용도가 본원의 다른 곳에, 예를 들어 조합 치료에 관한 섹션에 제공된다.
- [0364] IX. 이중특이적 분자
- [0365] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 이중특이적 분자를 형성하는데 사용될 수 있다. 항-MICA/B 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 또 다른 기능적 분자, 예를 들어 또 다른 펩티드 또는 단백질 (예를 들어, 또 다른 항체 또는 수용체에 대한 리간드)로 유도체화되거나 또는 이에 연결되어, 적어도 2개의 상이한 결합 부위 또는 표적 분자에 결합하는 이중특이적 분자를 생성할 수 있다. 예를 들어, 항-MICA/B 항체는 조합 치료를 위한 잠재적 표적으로서 사용될 수 있는 임의의 단백질, 예컨대 본원에 기재된 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 또는 scFv (예를 들어, PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG3, TIGIT, TIM3, NKG2a, OX40, ICOS, CD137, KIR, TGF β , IL-10, IL-2, IL-8, B7-H4, Fas 리간드, CXCR4, 메소텔린, CD27, CD96, VISTA 또는 GITR, 또는 PEG화 IL-2 또는 PEG화 IL-10에 대한 항체)에 연결될 수 있다. 본원에 기재된 항체는 실제로, 1종 초과와 다른 기능적 분자로 유도체화되거나 또는 이에 연결되어, 2개 초과와 상이한 결합 부위 및/또는 표적 분자에 결합하는 다중특이적 분자를 생성할 수 있고, 이러한 다중특이적 분자도 또한 본원에 사용된 용어 "이중특이적 분자"에 포괄되는 것으로 의도된다. 본원에 기재된 이중특이적 분자를 생성하기 위해, 본원에 기재된 항체는 1종 이상의 다른 결합 분자, 예컨대 또 다른 항체, 항체 단편, 펩티드 또는 결합 모방체에 기능적으로 연결되어 (예를 들어, 화학적 커플링, 유전적 융합, 비공유 회합 또는 그 이외의 것에 의함) 이중특이적 분자를 발생시킬 수 있다.

- [0366] 따라서, MICA/B에 대한 적어도 1종의 제1 결합 특이성 및 제2 표적 에피토프에 대한 제2 결합 특이성을 포함하는 이중특이적 분자가 본원에 제공된다. 이중특이적 분자가 다중특이적인 본원에 기재된 일부 실시양태에서, 분자는 제3 결합 특이성을 추가로 포함할 수 있다.
- [0367] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 이중특이적 분자는 결합 특이성으로서 적어도 1종의 항체, 또는 예를 들어 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, 또는 단일 쇠 Fv (scFv)를 포함한 그의 항체 단편을 포함한다. 항체는 또한 미국 특허 번호 4,946,778 (Ladner et al.)에 기재된 바와 같은 경쇄 또는 중쇄 이량체, 또는 그의 임의의 최소 단편 예컨대 Fv 또는 단일 쇠 구축물일 수 있다.
- [0368] 인간 모노클로날 항체가 바람직하지만, 본원에 기재된 이중특이적 분자에 사용될 수 있는 다른 항체는 무린, 키메라 및 인간화 모노클로날 항체이다.
- [0369] 본원에 기재된 이중특이적 분자는 구성성분 결합 특이체를 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 접합시킴으로써 제조될 수 있다. 예를 들어, 이중특이적 분자의 각각의 결합 특이체를 개별적으로 생성한 다음 서로 접합시킬 수 있다. 결합 특이체가 단백질 또는 펩티드인 경우에, 공유 접합을 위해 다양한 커플링제 또는 가교제 사용될 수 있다. 가교제의 예는 단백질 A, 카르보다이미드, N-숙신이미딜-S-아세틸-티오아세테이트 (SATA), 5,5'-디티오비스(2-니트로벤조산) (DTNB), o-페닐렌디말레이미드 (oPDM), N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트 (SPDP), 및 술포숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1-카르복실레이트 (술포-SMCC)를 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Karpovsky et al. (1984) J. Exp. Med. 160: 1686; Liu, MA et al. (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648] 참조). 다른 방법은 문헌 [Paulus (1985) Behring Ins. Mitt. No. 78, 118-132; Brennan et al. (1985) Science 229:81-83], 및 Glennie et al. (1987) J. Immunol. 139: 2367-2375]]에 기재된 것을 포함한다. 일부 접합제는 SATA 및 술포-SMCC이며, 둘 다 피어스 케미칼 캠퍼니(Pierce Chemical Co.) (일리노이주 록포드)로부터 입수가 가능하다.
- [0370] 결합 특이체가 항체인 경우에, 이들을 2개의 중쇄의 C-말단 힌지 영역의 술포히드릴 결합을 통해 접합시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 힌지 영역은 접합 전에 홀수, 바람직하게는 1개의 술포히드릴 잔기를 함유하도록 변형된다.
- [0371] 대안적으로, 둘 다의 결합 특이체가 동일한 벡터 내에 코딩되어 동일한 숙주 세포에서 발현 및 어셈블리될 수 있다. 이러한 방법은 이중특이적 분자가 mAb x mAb, mAb x Fab, mAb x (scFv)₂, Fab x F(ab')₂ 또는 리간드 x Fab 융합 단백질인 경우에 특히 유용하다. 이중특이적 항체는 각각의 중쇄의 C-말단에 scFv를 포함하는 항체를 포함할 수 있다. 본원에 기재된 이중특이적 분자는 1개의 단일 쇠 항체 및 결합 결정기를 포함하는 단일 쇠 분자, 또는 2개의 결합 결정기를 포함하는 단일 쇠 이중특이적 분자일 수 있다. 이중특이적 분자는 적어도 2개의 단일 쇠 분자를 포함할 수 있다. 이중특이적 분자를 제조하는 방법은 예를 들어 미국 특허 번호 5,260,203; 미국 특허 번호 5,455,030; 미국 특허 번호 4,881,175; 미국 특허 번호 5,132,405; 미국 특허 번호 5,091,513; 미국 특허 번호 5,476,786; 미국 특허 번호 5,013,653; 미국 특허 번호 5,258,498; 및 미국 특허 번호 5,482,858에 기재되어 있다.
- [0372] 이중특이적 분자가 그의 특이적 표적에 결합하는 것은 관련 기술분야-인식 방법, 예컨대 효소-연결된 면역흡착 검정 (ELISA), 방사선면역검정 (RIA), FACS 분석, 생물검정 (예를 들어, 성장 억제), 또는 웨스턴 블롯 검정을 사용하여 확인될 수 있다. 각각의 이들 검정은 일반적으로 관심 복합체에 특이적인 표지된 시약 (예를 들어, 항체)을 사용하여 특정한 관심 단백질-항체 복합체의 존재를 검출한다.
- [0373] X. 조성물
- [0374] 제약상 허용되는 담체와 함께 제제화된, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체 또는 다른 표적에 대한 항체와의 조합물, 또는 그의 항원-결합 부분(들) 중 1종 또는 그의 조합을 함유하는 조성물, 예를 들어 제약 조성물이 추가로 제공된다. 이러한 조성물은 (예를 들어, 2종 이상의 상이한) 항체 중 1종 또는 그의 조합, 또는 본원에 기재된 면역접합체 또는 이중특이적 분자를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 제약 조성물은 표적 항원 상의 상이한 에피토프에 결합하거나 또는 상보적 활성을 갖는 항체 (또는 면역접합체 또는 이중특이체)의 조합을 포함할 수 있다.
- [0375] 일부 실시양태에서, 조성물은 항-MICA/B 항체를 적어도 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 1-300 mg/ml, 또는 100-300 mg/ml의 농도로 포함한다.
- [0376] 본원에 기재된 제약 조성물은 또한 조합 요법으로, 즉 다른 작용제와 조합되어 투여될 수 있다. 예를 들어, 조

합 요법은 적어도 1종의 다른 항암제 및/또는 면역조절제, 예를 들어 T-세포 자극제 (예를 들어, 활성화제)와 조합된 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 포함할 수 있다. 조합 요법으로 사용될 수 있는 치료제의 예는 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 용도에 관한 하기 섹션에서 보다 상세하게 기재된다.

- [0377] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 화학요법 약물, 소분자 약물 및 주어진 암에 대한 면역 반응을 자극하는 항체로부터 선택된 적어도 1종의 다른 작용제와 조합될 수 있다. 일부 예에서, 항-MICA/B 항체는, 예를 들어 항-CTLA-4 항체, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-OX40 (또한 CD134, TNFRSF4, ACT35 및/또는 TXGPIL로도 공지됨) 항체 (예를 들어, BMS986178, 또는 MDX-1803), 항-CD137 항체, 항-LAG-3 항체, 항-GITR 항체, 항-KIR 항체, 항-TGFβ 항체, 항-IL-10 항체, 장기-작용 IL-10 분자 (예를 들어 IL-10-Fc 용합 또는 PEG화 IL-10, 예컨대 아르모 바이오사이언시스(ARMO BioSciences)의 AM0010), 장기-작용 IL-2 (예를 들어, PEG화 IL-2 분자, 예컨대 넥타(Nektar)의 NKTR-214; US 8,252,275, WO12/065086 및 WO15/125159 참조), 항-VISTA 항체, 항-CD96 항체, 항-IL-8 항체, 항-B7-H4, 항-Fas 리간드 항체, 항-CXCR4 항체, 항-메소텔린 항체, 항-CD27 항체, 또는 그의 임의의 조합 중 1종 이상과 조합될 수 있다.
- [0378] 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 제2 항체와 함께 제제화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG3, TIGIT, TIM3, NKG2a, OX40, ICOS, CD137, KIR, TGFβ, IL-10, IL-2, VISTA, CD96, IL-8, B7-H4, Fas 리간드, CXCR4, 메소텔린, CD27, GITR, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질에 특이적으로 결합한다.
- [0379] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-PD-1 항체일 수 있다. 항-PD-1 항체는 PD-1에 결합하고 PD-1과 PD-L1의 상호작용을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 본원에 개시된 임의의 항-PD-1 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 니볼루맙일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 펌브롤리주맙일 수 있다.
- [0380] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-PD-L1 항체일 수 있다. 항-PD-L1 항체는 PD-L1에 결합하고 PD-1과 PD-L1의 상호작용을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 본원에 개시된 임의의 항-PD-L1 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 아테졸리주맙일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 두르발루맙일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 아벨루맙일 수 있다.
- [0381] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-CTLA-4 항체일 수 있다. 항-CTLA-4 항체는 CTLA-4에 결합하고, 그의 활성을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-CTLA-4 항체는 본원에 개시된 임의의 항-CTLA-4 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 트레멜리주맙일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 이필리주맙일 수 있다.
- [0382] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-LAG3 항체일 수 있다. 항-LAG3 항체는 LAG-3에 결합하고, 그의 활성을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-LAG3 항체는 본원에 개시된 임의의 항-LAG3 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 25F7일 수 있다.
- [0383] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-CD137 항체일 수 있다. 항-CD137 항체는 CD137에 결합하고, 그의 활성을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-CD137 항체는 본원에 개시된 임의의 항-CD137 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 우렐루맙일 수 있다.
- [0384] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-KIR 항체일 수 있다. 항-KIR 항체는 KIR에 결합하고, 그의 활성을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-KIR 항체는 본원에 개시된 임의의 항-KIR 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 리렐루맙일 수 있다.
- [0385] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-GITR 항체일 수 있다. 항-GITR 항체는 GITR에 결합하고, 그의 활성을 억제하는 임의의 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-GITR 항체는 본원에 개시된 임의의 항-GITR 항체이다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 MK4166일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 항체는 TRX518일 수 있다.
- [0386] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-CD96 항체일 수 있다.
- [0387] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-TIM3 항체일 수 있다.
- [0388] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-VISTA 항체일 수 있다.
- [0389] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-NKG2a 항체일 수 있다.
- [0390] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-ICOS 항체일 수 있다.

- [0391] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-OX40 항체일 수 있다.
- [0392] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-IL8 항체, 예컨대 휴맥스(HuMax)®-IL8 (BMS-986253)일 수 있다.
- [0393] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 장기-작용 IL-10 분자와 함께 제제화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 IL-10-Fc 융합 분자와 함께 제제화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 PEG화 IL-10, 예컨대 아르모 바이오사이언시스의 AM0010과 함께 제제화될 수 있다.
- [0394] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 장기-작용 IL-2와 함께 제제화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 PEG화 IL-2 분자, 예컨대 넥타의 NKTR-214와 함께 제제화될 수 있고; US 8,252,275, WO12/065086 및 WO15/125159를 참조한다.
- [0395] 일부 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 벌킹제를 추가로 포함한다. 벌킹제는 NaCl, 만니톨, 글리신, 알라닌, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 안정화제를 포함한다. 안정화제는 수크로스, 트레할로스, 라피노스, 아르기닌; 또는 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 계면활성제를 포함한다. 계면활성제는 폴리소르베이트 80 (PS80), 폴리소르베이트 20 (PS20), 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 특정 실시양태에서, 조성물은 킬레이트화제를 추가로 포함한다. 킬레이트화제는 디에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA), 에틸렌디아민테트라아세트산, 니트릴로트리아세트산, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0396] 다른 실시양태에서, 조성물은 제3 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제3 항체는 본원에 개시된 임의의 항체이다.
- [0397] 한 실시양태에서, 조성물은 NaCl, 만니톨, 펜테트산 (DTPA), 수크로스, PS80, 및 그의 임의의 조합을 포함한다.
- [0398] 본원에 사용된 "제약상 허용되는 담체"는 생리학상 상용성인 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항박테리아제 및 항진균제, 등장화제 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 일부 실시양태에서, 담체는 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 척수 또는 표피 투여 (예를 들어, 주사 또는 주입에 의함)에 적합하다. 피하 주사에 대한 옵션은 Ab와, 세포외 매트릭스로 인해 피하로 전달될 수 있는 생물학적 및 약물의 부피에 대한 전통적인 한계를 제거한 재조합 인간 히알루로니다제 효소 (rHuPH20)의 공동-제제를 수반하는, 할로자임 테라퓨틱스(Halozyme Therapeutics)의 ENHANZE® 약물-전달 기술에 기초한다 (미국 특허 번호 7,767,429). 투여 경로에 의존하여, 활성 화합물, 즉 항체, 면역접합체, 또는 이중특이적 분자는 화합물을 불활성화시킬 수 있는 산 및 다른 천연 조건의 작용으로부터 화합물을 보호하는 물질로 코팅될 수 있다.
- [0399] 본원에 기재된 제약 화합물은 1종 이상의 제약상 허용되는 염을 포함할 수 있다. "제약상 허용되는 염"은 모 화합물의 목적하는 생물학적 활성을 보유하고 바람직하지 않은 어떠한 독성학적 효과도 제공하지 않는 염을 지칭한다 (예를 들어, 문헌 [Berge, S.M., et al. (1977) J. Pharm. Sci. 66:1-19] 참조). 이러한 염의 예는 산 부가염 및 염기 부가염을 포함한다. 산 부가염은 비독성 무기 산, 예컨대 염산, 질산, 인산, 황산, 브로민화수소산, 아이오딘화수소산, 아인산 등으로부터 유래된 것, 뿐만 아니라 비독성 유기 산, 예컨대 지방족 모노- 및 디카르복실산, 페닐-치환된 알칸산, 히드록시 알칸산, 방향족 산, 지방족 및 방향족 술폰산 등으로부터 유래된 것을 포함한다. 염기 부가염은 알칼리 토금속, 예컨대 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등으로부터 유래된 것, 뿐만 아니라 비독성 유기 아민, 예컨대 N,N'-디벤질에틸렌디아민, N-메틸글루카민, 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 프로카인 등으로부터 유래된 것을 포함한다.
- [0400] 본원에 기재된 제약 조성물은 또한 제약상 허용되는 항산화제를 포함할 수 있다. 제약상 허용되는 항산화제의 예는 (1) 수용성 항산화제, 예컨대 아스코르브산, 시스테인 히드로클로라이드, 중황산나트륨, 메타중아황산나트륨, 아황산나트륨 등; (2) 유용성 항산화제, 예컨대 아스코르빌 팔미테이트, 부틸화 히드록시아니솔 (BHA), 부틸화 히드록시톨루엔 (BHT), 레시틴, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤 등; 및 (3) 금속 킬레이트화제, 예컨대 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산 (EDTA), 소르비톨, 타르타르산, 인산 등을 포함한다.
- [0401] 본원에 기재된 제약 조성물에 사용될 수 있는 적합한 수성 및 비수성 담체의 예는 물, 에탄올, 폴리올 (예컨대, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 그의 적합한 혼합물, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일, 및 주사가 가능한 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올리에이트를 포함한다. 적절한 유통성은, 예를 들어 코팅 물질, 예컨대 레시틴의 사용에 의해, 분산액의 경우에는 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다.

- [0402] 이들 조성물은 또한, 아주반트, 예컨대 보존제, 습윤제, 유화제 및 분산제를 함유할 수 있다. 미생물의 존재를 방지하는 것은 상기의 멸균 절차, 및 다양한 항박테리아제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 소르브산 등을 포함시키는 것 둘 다에 의해 보장될 수 있다. 등장화제, 예컨대 당, 염화나트륨 등을 조성물 내로 포함시키는 것이 또한 바람직할 수 있다. 또한, 흡수를 지연시키는 작용제, 예컨대 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함시킴으로써, 주사가 가능한 제약 형태의 지속 흡수를 달성할 수 있다.
- [0403] 제약상 허용되는 담체는 멸균 수용액 또는 분산액, 및 멸균 주사가 가능한 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 제약 활성 물질을 위한 이러한 매질 및 작용제의 용도가 관련 기술분야에 공지되어 있다. 임의의 통상적인 매질 또는 작용제가 활성 화합물과 비상용성인 경우를 제외하고는, 본원에 기재된 제약 조성물에서의 그의 용도가 고려된다. 제약 조성물은 보존제를 포함할 수 있거나, 또는 보존제가 없을 수 있다. 보충 활성 화합물이 조성물 내로 혼입될 수 있다.
- [0404] 치료 조성물은 전형적으로, 제작 및 저장 조건 하에 멸균이고 안정적이어야 한다. 이러한 조성물은 용액, 마이크로에멀전, 리포솜, 또는 높은 약물 농도에 적합한 다른 정렬된 구조로서 제제화될 수 있다. 담체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리에올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 그의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 예를 들어, 코팅, 예컨대 레시틴을 사용하고, 분산액의 경우에 요구되는 입자 크기를 유지하고, 계면활성제를 사용함으로써, 적절한 유동성을 유지할 수 있다. 다수의 경우에, 조성물은 등장화제, 예를 들어 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨, 또는 염화나트륨을 포함할 수 있다. 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 조성물에 포함시킴으로써, 주사가 가능한 조성물의 지속 흡수를 달성할 수 있다.
- [0405] 적절한 용매 중의 필요한 양의 활성 화합물을, 필요에 따라 상기 열거된 성분 중 1종 또는 그의 조합과 함께 혼입시킨 다음, 멸균 마이크로여과함으로써, 멸균 주사가 가능한 용액을 제조할 수 있다. 일반적으로, 활성 화합물을, 기본 분산 매질 및 본원에 열거된 것으로부터의 필요한 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 내로 혼입시킴으로써 분산액을 제조한다. 멸균 주사가 가능한 용액을 제조하기 위한 멸균 분말의 경우에, 일부 제조 방법은 활성 성분의 분말 플러스 이전의 그의 멸균-여과된 용액으로부터의 임의의 추가의 목적하는 성분을 생성하는 진공 건조 및 냉동-건조 (동결건조)이다.
- [0406] 단일 투여 형태를 생성하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 치료하고자 하는 대상체, 및 특정한 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 단일 투여 형태를 생성하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 일반적으로, 치료 효과를 생성하는 조성물의 양일 것이다. 일반적으로, 이러한 양은 100 퍼센트 중에서, 제약상 허용되는 담체와 조합되는 활성 성분의 약 0.01 퍼센트 내지 약 99 퍼센트의 범위, 활성 성분의 약 0.1 퍼센트 내지 약 70 퍼센트, 또는 약 1 퍼센트 내지 약 30 퍼센트의 범위일 것이다.
- [0407] 투여 요법은 목적하는 최적의 반응 (예를 들어, 치료 반응)을 제공하도록 조정된다. 예를 들어, 단일 볼루스를 투여할 수 있거나, 여러 분할 용량을 시간의 경과에 따라 투여할 수 있거나 또는 용량은 치료 상황의 위급성에 의해 제시되는 바와 같이 비례하여 감소 또는 증가될 수 있다. 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 비경구 조성물을 투여 단위 형태로 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본원에 사용된 바와 같은 투여 단위 형태는 치료될 대상체에 대한 단일 투여량으로서 적합한 물리적 이산 단위를 지칭하며; 각 단위는 목적하는 제약 담체와 연합하여 목적하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 활성 화합물의 미리 결정된 양을 함유한다. 본원에 기재된 투여 단위 형태에 대한 세부사항은 (a) 활성 화합물의 고유한 특징 및 달성하고자 하는 특정한 치료 효과, 및 (b) 개체에서의 감수성을 처리하기 위해 이러한 활성 화합물의 배합 기술분야에 내재된 제한사항에 의해 좌우되고 직접적으로 그에 의존한다.
- [0408] 예를 들어 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 투여하는 경우에, 투여량은 약 0.0001 내지 100 mg/kg의 범위이다. 항-MICA/B 항체는 균일 용량으로 투여될 수 있다 (균일 용량 요법). 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 또 다른 항체와 함께 고정 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 체중에 기초한 용량으로 투여된다.
- [0409] 일부 방법에서, 상이한 결합 특이성을 갖는 2종 이상의 모노클로날 항체를 동시에 투여하며, 이 경우에 투여되는 각 항체의 투여량은 표시된 범위 내에 속한다. 항체는 통상적으로 다중 투여된다. 단일 투여 사이의 간격은, 예를 들어 매주, 매월, 3개월마다 또는 매년일 수 있다. 간격은 또한, 환자에서 표적 항원에 대한 항체의 혈액 수준을 측정함으로써 제시되는 바와 같이 불규칙적일 수 있다. 일부 방법에서, 약 1-1000 µg/ml의 혈장 항체 농도 및 일부 방법에서 약 25-300 µg/ml를 달성하도록 투여량이 조정된다.

- [0410] 항-MICA/B 항체는 또 다른 항체와 함께 다른 항체의 투여 요법으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 항-MICA/B 항체는 항-PD-1 항체, 예컨대 니볼루맵 (옵디보(OPDIVO)®)과 함께 2주마다 i.v. 주입으로서 60분에 걸쳐, 질환 진행 또는 허용되지 않는 독성이 발생할 때까지 투여될 수 있다. 항-MICA/B 항체는 켈브롤리주맵 (키트루다(KEYTRUDA)®)과 함께 3주마다 i.v. 주입으로서 30분에 걸쳐, 질환 진행 또는 허용되지 않는 독성이 발생할 때까지 투여될 수 있다. 항-MICA/B 항체는 아테졸리주맵 (테센트릭(TECENTRIQ)™)과 함께 3주마다 i.v. 주입으로서 60 또는 30분에 걸쳐, 질환 진행 또는 허용되지 않는 독성이 발생할 때까지 투여될 수 있다.
- [0411] 항체는 지속 방출 제제로서 투여될 수 있고, 이러한 경우에 덜 빈번한 투여가 요구된다. 투여량 및 빈도는 환자에서의 항체의 반감기에 따라 달라진다. 일반적으로, 인간 항체가 가장 긴 반감기를 제시하고, 이어서 인간화 항체, 키메라 항체, 및 비인간 항체이다. 투여량 및 투여 빈도는 치료가 예방적인지 또는 치료적인지에 따라 달라질 수 있다. 예방적 적용에서는, 비교적 적은 투여량이 장기간에 걸쳐 비교적 드문 간격으로 투여된다. 일부 환자는 그의 나머지 여생 동안 계속 치료받는다. 치료적 적용에서는, 질환의 진행이 감소되거나 종결될 때까지, 환자가 질환 증상의 부분적 또는 완전한 호전을 제시할 때까지 비교적 짧은 간격으로의 비교적 높은 투여량이 때때로 요구된다. 그 후, 환자에게 예방적 요법이 투여될 수 있다.
- [0412] 본원에 기재된 제약 조성물 중의 활성 성분의 실제 투여량 수준은 환자에게 독성이 아니면서, 특정한 환자, 조성물 및 투여 방식에 대해 목적하는 치료 반응을 달성하는데 유효한 활성 성분의 양을 수득하도록 달라질 수 있다. 선택되는 투여량 수준은 사용된 본원에 기재된 특정한 조성물, 또는 그의 에스테르, 염 또는 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정한 화합물의 배출 속도, 치료 지속기간, 사용된 특정한 조성물과 조합되어 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료될 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 전반적 건강 및 과거 병력, 및 의학 기술분야에 널리 공지된 다른 인자를 포함한 다양한 약동학적 인자에 의존할 것이다.
- [0413] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 "치료 유효 투여량"은 질환 증상의 중증도에서의 감소, 질환 증상 부재 기간의 빈도 및 지속기간에서의 증가, 또는 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애의 방지를 발생시킬 수 있다. 암과 관련하여, 치료 유효 용량은 증가된 생존, 예를 들어, 전체 생존, 및/또는 암과 연관된 신체 증상의 추가의 악화의 예방을 발생시킬 수 있다. 암의 증상은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 비통상적 모반 특색, 비대칭, 경계, 색소 및/또는 직경을 포함한 모반의 외관에서의 변화, 새롭게 착색된 피부 영역, 비정상적 모반, 손발톱 아래의 거무스름한 영역, 유방 종괴, 유두 변화, 유방 낭, 유방 통증, 사망, 체중 감소, 쇠약, 지나친 피로, 섭식 곤란, 식욕 상실, 만성 기침, 호흡곤란 악화, 객혈, 혈뇨, 혈변, 오심, 구토, 간 전이, 폐 전이, 골 전이, 복부 포만감, 복부팽창, 복막액, 질 출혈, 변비, 복부 팽만, 결장 천공, 급성 복막염 (감염, 열, 통증), 통증, 토혈, 다한, 열, 고혈압, 빈혈, 설사, 황달, 어지럼증, 오한, 근육 연축, 결장 전이, 폐 전이, 방광 전이, 간 전이, 골 전이, 신장 전이, 및 췌장 전이, 삼킴 곤란 등을 포함한다.
- [0414] 치료 유효 용량은 암의 발병을 방지 또는 지연시킬 수 있고, 예컨대 질환의 초기 또는 예비 징후가 존재하는 경우에 바람직할 수 있다. 암을 진단하는데 사용되는 실험실 시험은 화학 (MICA/B 수준의 측정 포함), 혈액학, 혈청학 및 방사선학을 포함한다. 따라서, 상기 중 임의의 것을 모니터링하는 임의의 임상적 또는 생화학적 검정을 사용하여, 특정한 치료가 암을 치료하기 위한 치료 유효 용량인지 여부를 결정할 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 대상체의 크기, 대상체의 증상의 중증도, 및 선택된 특정한 조성물 또는 투여 경로와 같은 인자에 기초하여 이러한 양을 결정할 수 있을 것이다.
- [0415] 본원에 기재된 조성물은 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법 중 1종 이상을 사용하여 1종 이상의 투여 경로를 통해 투여될 수 있다. 통상의 기술자에 의해 인지될 바와 같이, 투여 경로 및/또는 방식은 목적하는 결과에 따라 달라질 것이다. 본원에 기재된 항-MICA/B 항체에 대한 투여 경로는 정맥내, 근육내, 피내, 복강내, 피하, 척수 또는 다른 비경구 투여 경로, 예를 들어 주사 또는 주입에 의한 것을 포함할 수 있다. 본원에 사용된 어구 "비경구 투여"는 경장 및 국소 투여 이외의, 통상적으로 주사에 의한 투여 방식을 의미하고, 비제한적으로 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다.
- [0416] 대안적으로, 본원에 기재된 항체는 잠재적으로 비-비경구 경로를 통해, 예컨대 국소, 표피 또는 점막 투여 경로, 예를 들어 비강내로, 경구로, 질내로, 직장으로, 설하로 또는 국소로 투여될 수 있었다.
- [0417] 활성 화합물은 화합물의 급속 방출을 방지할 담체와 함께, 예컨대 이식물, 경피 패치 및 마이크로캡슐화 전달 시스템을 포함한 제어 방출 제제로 제조될 수 있다. 생분해성, 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 이러한 제제를 제조하기 위한 많은 방법이 특허되었거나 또는 일반적으로 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있

다. 예를 들어, 문헌 [Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978]을 참조한다.

[0418] 치료 조성물은 관련 기술분야에 공지된 의료 장치를 사용하여 투여될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 치료 조성물은 무바늘 피하 주사 장치, 예컨대 미국 특허 번호 5,399,163; 5,383,851; 5,312,335; 5,064,413; 4,941,880; 4,790,824; 또는 4,596,556에 개시된 장치를 사용하여 투여될 수 있다. 본원에 기재된 항-MICA/B 항체와 함께 사용하기 위한 널리 공지된 이식물 및 모듈의 예는 의약을 제어된 속도로 분배하기 위한 이식가능한 마이크로-주입 펌프를 개시한 미국 특허 번호 4,487,603; 피부를 통해 의약을 투여하기 위한 치료 장치를 개시한 미국 특허 번호 4,486,194; 정확한 주입 속도로 의약을 전달하기 위한 의약 주입 펌프를 개시한 미국 특허 번호 4,447,233; 연속 약물 전달을 위한 가변 유동 이식가능 주입 장치를 개시한 미국 특허 번호 4,447,224; 다중-챔버 구획을 갖는 삼투 약물 전달 시스템을 개시한 미국 특허 번호 4,439,196; 및 삼투 약물 전달 시스템을 개시한 미국 특허 번호 4,475,196을 포함한다. 이들 특허는 본원에 참조로 포함된다. 많은 다른 이러한 이식물, 전달 시스템 및 모듈이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다.

[0419] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 생체내에서 적절한 분포를 보장하도록 체제화될 수 있다. 예를 들어, 혈액-뇌 장벽 (BBB)은 고도로 친수성인 많은 화합물을 배제시킨다. 본원에 기재된 치료 화합물이 (원하는 경우에, 예를 들어 뇌암의 경우) BBB를 가로지르기 위해서는, 이들을, 예를 들어 리포솜에 체제화시킬 수 있다. 리포솜을 제조하는 방법에 대해, 예를 들어 미국 특허 번호 4,522,811; 5,374,548; 및 5,399,331을 참조한다. 리포솜은 특이적 세포 또는 기관 내로 선택적으로 수송되는 1종 이상의 모이어티를 포함할 수 있으므로, 표적화된 약물 전달을 증진시킬 수 있다 (예를 들어, 문헌 [V.V. Ranade (1989) J. Clin. Pharmacol. 29:685] 참조). 예시적인 표적화 모이어티는 플레이트 또는 비오틴 [예를 들어, 미국 특허 5,416,016 (Low et al.) 참조]; 만노시드 (Umezawa et al., (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038); 항체 (P.G. Bloeman et al. (1995) FEBS Lett. 357:140; M. Owais et al. (1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39:180); 계면활성제 단백질 A 수용체 (Briscoe et al. (1995) Am. J. Physiol. 1233:134); p120 (Schreier et al. (1994) J. Biol. Chem. 269:9090)을 포함하며; 또한 문헌 [K. Keinanen; M.L. Laukkanen (1994) FEBS Lett. 346:123; J.J. Killion; I.J. Fidler (1994) Immunomethods 4:273]을 참조한다.

[0420] XI. 용도 및 방법

[0421] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 항-MICA/B 항체, 항-MICA/B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터, 폴리뉴클레오티드를 포함하는 숙주 세포, 항-MICA/B 항체를 포함하는 면역접합체, 또는 그의 임의의 조합을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0422] 본 개시내용의 특정 측면은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효 용량의 본원에 개시된 조성물 (예를 들어, 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 숙주 세포, 면역접합체, 또는 제약 조성물)을 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 다른 측면에서, 본 개시내용은 종양 세포에 의한 MICA/B의 유출의 억제를 필요로 하는 대상체에게 유효 용량의 본원에 개시된 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 종양 세포에 의한 MICA/B의 유출의 억제를 필요로 하는 대상체에서 종양 세포에 의한 MICA/B의 유출을 억제하는 방법에 관한 것이다. 다른 측면에서, 본 개시내용은 혈청 내의 유출된 MICA의 감소 및/또는 세포 표면 상의 MICA의 유지를 필요로 하는 대상체에게 유효 용량의 본원에 개시된 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 혈청 내의 유출된 MICA의 감소 및/또는 세포 표면 상의 MICA의 유지를 필요로 하는 대상체에서 혈청 내의 유출된 MICA/B를 감소시키고/거나 세포 표면 상에 MICA/B를 유지시키는 방법에 관한 것이다. 다른 측면에서, 본 개시내용은 종양 세포의 사멸을 필요로 하는 대상체에게 유효 용량의 본원에 개시된 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 종양 세포의 사멸을 필요로 하는 대상체에서 종양 세포를 사멸시키는 방법에 관한 것이다. 다른 측면에서, 본 개시내용은 종양의 크기의 감소를 필요로 하는 대상체에게 유효 용량의 본원에 개시된 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 종양의 크기의 감소를 필요로 하는 대상체에서 종양의 크기를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 종양의 전이의 억제를 필요로 하는 대상체에게 유효 용량의 본원에 개시된 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 종양의 전이의 억제를 필요로 하는 대상체에서 종양의 전이를 억제하는 것에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0423] 본 개시내용의 조성물은 임의의 제약상 허용되는 경로를 사용하여 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물 (예를 들어, 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 숙주 세포, 면역접합체 또는 제약 조성물)은 정맥내로, 복강내로, 근육내로, 동맥내로, 척수관내로, 림프관내로, 병변내로, 피막내로, 안와내로, 심장내로, 피내로, 경기관으로, 피하로, 각피하로, 관절내로, 피막하로, 지주막하로, 척수내로, 경막외로, 흉골내로, 국소로, 표피로, 점막으로,

또는 그의 임의의 조합으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물은 정맥내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물은 피하로 투여된다.

- [0424] 특정 실시양태에서, 방법은 대상체에서 암의 크기, 예를 들어, 종양의 크기를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 암의 크기는 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 90%만큼 감소된다.
- [0425] 일부 실시양태에서, 방법은 대상체의 전체 생존을 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 전체 생존은 동일한 암을 갖지만 상이한 요법으로 치료받은 대상체의 평균 전체 생존에 비해 증가된다. 특정 실시양태에서, 전체 생존은 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 50%, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 5배만큼 증가된다. 일부 실시양태에서, 전체 생존은 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 1개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 15개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 21개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년, 적어도 약 5년, 또는 적어도 약 10년만큼 증가된다.
- [0426] 일부 실시양태에서, 방법은 대상체의 무진행 생존을 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 전체 생존은 동일한 암을 갖지만 상이한 요법으로 치료받은 대상체의 평균 무진행 생존에 비해 증가된다. 특정 실시양태에서, 무진행 생존은 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 50%, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 5배만큼 증가된다. 일부 실시양태에서, 전체 생존은 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 1개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 15개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 21개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년, 적어도 약 5년, 또는 적어도 약 10년만큼 증가된다.
- [0427] 일부 실시양태에서, 방법은 대상체의 객관적 반응률을 증가시킨다. 특정 실시양태에서, 방법은 대상체에서 완전 반응을 유도한다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체에서 부분 반응을 유도한다.
- [0428] 일부 실시양태에서, 방법은 본원에 개시된 항-MICA/B 항체 (또는 폴리뉴클레오티드, 벡터, 숙주 세포, 또는 면역접합체) 및 제2 요법을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 요법은 항-MICA/B 항체 전에 투여된다. 일부 실시양태에서, 제2 요법은 항-MICA/B 항체 후에 투여된다. 일부 실시양태에서, 제2 요법은 항-MICA/B 항체와 공동으로 투여된다. 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체 및 제2 요법은 개별적으로 투여된다. 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체 및 제2 요법은 단일 제제로 투여된다.
- [0429] 제2 요법은 관련 기술분야에 공지된 임의의 다른 요법일 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 요법은 면역요법을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 요법은 화학요법을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 요법은 방사선요법을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 요법은 수술을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 요법은 제2 치료제를 투여하는 것을 포함한다.
- [0430] 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 제2 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 유도성 T 세포 공동-자극제 (ICOS), CD137 (4-1BB), CD134 (OX40), NKG2A, CD27, 글루코코르티코이드-유도된 TNFR-관련 단백질 (GITR), 및 포진 바이러스 진입 매개체 (HVEM), 프로그램화된 사멸-1 (PD-1), 프로그램화된 사멸 리간드-1 (PD-L1), CTLA-4, B 및 T 림프구 감쇠자 (BTLA), T 세포 이뮤노글로불린 및 뮤신 도메인-3 (TIM-3), 림프구 활성화 유전자-3 (LAG-3), 아데노신 A2a 수용체 (A2aR), 킬러 세포 렉틴-유사 수용체 G1 (KLRG-1), 자연 킬러 세포 수용체 2B4 (CD244), CD160, Ig 및 ITIM 도메인을 갖는 T 세포 면역수용체 (TIGIT), 및 T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제제 (VISTA)에 대한 수용체, NKG2a, KIR, TGFβ, IL-10, IL-8, B7-H4, Fas 리간드, CXCR4, 메소텔린, CEACAM-1, CD96, CD52, HER2, 및 그의 임의의 조합으로부터 선택된 단백질에 특이적으로 결합하는 항체의 유효량을 포함한다.
- [0431] XI.A. 항-PD-1 항체
- [0432] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-PD-1 항체일 수 있다. 관련 기술분야에 공지된 항-PD-1 항체는 본원에 기재된 조성물 및 방법에 사용될 수 있다. 높은 친화도로 PD-1에 특이적으로 결합하는 다양한 인간 모노클로날 항체가 미국 특허 번호 8,008,449에 개시되어 있다. 미국 특허 번호 8,008,449에 개시된 항-PD-1 인간 항체는 하기 특징 중 1종 이상을 나타내는 것으로 입증되었다: (a) 비아코어 바이오센서 시스템을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 결정된 바와 같이, 1×10^{-7} M 이하의 K_D 로 인간 PD-1에 결합함; (b) 인간 CD28, CTLA-4 또는

ICOS에 실질적으로 결합하지 않음; (c) 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에서 T-세포 증식을 증가시킴; (d) MLR 검정에서 인터페론- γ 생산을 증가시킴; (e) MLR 검정에서 IL-2 분비를 증가시킴; (f) 인간 PD-1 및 시노물구스 원숭이 PD-1에 결합함; (g) PD-1에 대한 PD-L1 및/또는 PD-L2의 결합을 억제함; (h) 항원-특이적 기억 반응을 자극함; (i) 항체 반응을 자극함; 및 (j) 생체내 종양 세포 성장을 억제함. 본 발명에서 사용가능한 항-PD-1 항체는 인간 PD-1에 특이적으로 결합하고, 상기 특징 중 적어도 1종, 일부 실시양태에서, 적어도 5종을 나타내는 모노클로날 항체를 포함한다.

[0433] 다른 항-PD-1 모노클로날 항체가, 예를 들어 미국 특허 번호 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 및 8,354,509, US 공개 번호 2016/0272708, 및 PCT 공개 번호 WO 2012/145493, WO 2008/156712, WO 2015/112900, WO 2012/145493, WO 2015/112800, WO 2014/206107, WO 2015/35606, WO 2015/085847, WO 2014/179664, WO 2017/020291, WO 2017/020858, WO 2016/197367, WO 2017/024515, WO 2017/025051, WO 2017/123557, WO 2016/106159, WO 2014/194302, WO 2017/040790, WO 2017/133540, WO 2017/132827, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/106061, WO 2017/19846, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825, 및 WO 2017/133540에 기재되어 있고, 이들 각각은 그 전문이 참조로 포함된다.

[0434] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙 (또한 옵디보®, 5C4, BMS-936558, MDX-1106 및 ONO-4538로도 공지됨), 펌브롤리주맙 (머크(Merck); 또한 키트루다®, 람브롤리주맙, 및 MK-3475로도 공지됨; WO2008/156712 참조), PDR001 (노파르티스(Novartis); WO 2015/112900 참조), MEDI-0680 (아스트라제네카(AstraZeneca); 또한 AMP-514로도 공지됨; WO 2012/145493 참조), 세미플리맙 (레게네론(Regeneron); 또한 REGN-2810으로도 공지됨; WO 2015/112800 참조), JS001 (타이저우 준시 파마(TAIZHOU JUNSHI PHARMA); 문헌 [Si-Yang Liu et al., J. Hematol. Oncol. 10:136 (2017)] 참조), BGB-A317 (베이진(Beigene); WO 2015/35606 및 US 2015/0079109 참조), INCSR1210 (지양수 행루이 메디신(Jiangsu Hengrui Medicine); 또한 SHR-1210으로도 공지됨; WO 2015/085847; 문헌 [Si-Yang Liu et al., J. Hematol. Oncol. 10:136 (2017)] 참조), TSR-042 (테사로 바이오 파마슈티칼(Tesaro Biopharmaceutical); 또한 ANB011로도 공지됨; WO2014/179664 참조), GLS-010 (옥시(Wuxi)/하얼빈 글로리아 파마슈티칼스(Harbin Gloria Pharmaceuticals); 또한 WBP3055로도 공지됨; 문헌 [Si-Yang Liu et al., J. Hematol. Oncol. 10:136 (2017)] 참조), AM-0001 (아르모), STI-1110 (소렌토 테라퓨틱스(Sorrento Therapeutics); WO 2014/194302 참조), AGEN2034 (아제누스(Agenus); WO 2017/040790 참조), MGA012 (마크로제닉스(Macrogenics), WO 2017/19846 참조), 및 IBI308 (이노벤트(Innovent); WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825, 및 WO 2017/133540 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0435] 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 니볼루맙은 PD-1 리간드 (PD-L1 및 PD-L2)와의 상호작용을 선택적으로 방지함으로써 항종양 T-세포 기능의 하향-조절을 차단하는 완전 인간 IgG4 (S228P) PD-1 면역 체크포인트 억제제 항체이다 (미국 특허 번호 8,008,449; 문헌 [Wang et al., 2014 Cancer Immunol Res. 2(9):846-56]).

[0436] 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 펌브롤리주맙이다. 펌브롤리주맙은 인간 세포 표면 수용체 PD-1 (프로그램화된 사멸-1 또는 프로그램화된 세포 사멸-1)에 대해 지시된 인간화 모노클로날 IgG4 (S228P) 항체이다. 펌브롤리주맙은, 예를 들어 미국 특허 번호 8,354,509 및 8,900,587에 기재되어 있다.

[0437] 개시된 조성물 및 방법에 사용가능한 항-PD-1 항체는 또한 인간 PD-1에 특이적으로 결합하고 인간 PD-1에의 결합에 대해 본원에 개시된 임의의 항-PD-1 항체, 예를 들어 니볼루맙과 교차-경쟁하는 단리된 항체를 포함한다 (예를 들어, 미국 특허 번호 8,008,449 및 8,779,105; WO 2013/173223 참조). 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 본원에 기재된 항-PD-1 항체 중 임의의 것, 예를 들어 니볼루맙과 동일한 에피토프에 결합한다. 항원에의 결합에 대해 교차-경쟁하는 항체의 능력은 이들 모노클로날 항체가 항원의 동일한 에피토프 영역에 결합하고, 그러한 특정한 에피토프 영역에 대한 다른 교차-경쟁 항체의 결합을 입체적으로 방해한다는 것을 나타낸다. 이들 교차-경쟁 항체는 PD-1의 동일한 에피토프 영역에 대한 그의 결합에 의해 참조 항체, 예를 들어, 니볼루맙과 매우 유사한 기능적 특성을 가질 것으로 예상된다. 교차-경쟁 항체는 표준 PD-1 결합 검정, 예컨대 비아코어 분석, ELISA 검정 또는 유동 세포측정법에서 니볼루맙과 교차-경쟁하는 그의 능력에 기초하여 용이하게 확인될 수 있다 (예를 들어, WO 2013/173223 참조).

[0438] 특정 실시양태에서, 인간 PD-1에의 결합에 대해 인간 PD-1 항체인 니볼루맙과 교차-경쟁하거나, 또는 그와 동일한 에피토프 영역에 결합하는 항체는 모노클로날 항체이다. 인간 대상체에 대한 투여의 경우, 이들 교차-경쟁 항체는 키메라 항체, 조각된 항체, 또는 인간화 또는 인간 항체이다. 이러한 키메라, 조각된, 인간화 또는 인간 모노클로날 항체는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 제조 및 단리될 수 있다.

- [0439] 개시된 발명의 조성물 및 방법에 사용가능한 항-PD-1 항체는 또한 상기 항체의 항원-결합 부분을 포함한다. 항체의 항원-결합 기능이 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다는 것은 충분히 입증되었다.
- [0440] 개시된 조성물 및 방법에 사용하기에 적합한 항-PD-1 항체는 높은 특이성 및 친화도로 PD-1에 결합하고, PD-L1 및 또는 PD-L2의 결합을 차단하고, PD-1 신호전달 경로의 면역억제 효과를 억제하는 항체이다. 본원에 개시된 조성물 또는 방법 중 임의의 것에서, 항-PD-1 "항체"는 PD-1 수용체에 결합하고, 리간드 결합을 억제하고 면역계를 상향조절하는데 있어서 전체 항체와 유사한 기능적 특성을 나타내는 항원-결합 부분 또는 단편을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 인간 PD-1에의 결합에 대해 니볼루맵과 교차 경쟁한다.
- [0441] XI.B. 항-PD-L1 항체
- [0442] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-PD-L1 항체일 수 있다. 관련 기술분야에 공지된 항-PD-L1 항체는 본 개시내용의 조성물 및 방법에 사용될 수 있다. 본 개시내용의 조성물 및 방법에 유용한 항-PD-L1 항체의 예는 미국 특허 번호 9,580,507에 개시된 항체를 포함한다. 미국 특허 번호 9,580,507에 개시된 항-PD-L1 인간 모노클로날 항체는 하기 특징 중 1종 이상을 나타내는 것으로 입증되었다: (a) 비아코어 바이오센서 시스템을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 결정된 바와 같이, 1×10^{-7} M 이하의 K_D 로 인간 PD-L1에 결합함; (b) 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에서 T-세포 증식을 증가시킴; (c) MLR 검정에서 인터페론- γ 생산을 증가시킴; (d) MLR 검정에서 IL-2분비를 증가시킴; (e) 항체 반응을 자극함; 및 (f) T 세포 이펙터 세포 및/또는 수지상 세포에 대한 T 조절 세포의 효과를 역전시킴. 본 발명에서 사용가능한 항-PD-L1 항체는 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하고, 상기 특징 중 적어도 1종, 일부 실시양태에서, 적어도 5종을 나타내는 모노클로날 항체를 포함한다.
- [0443] 특정 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559 (또한 12A4, MDX-1105로도 공지됨; 예를 들어, 미국 특허 번호 7,943,743 및 WO 2013/173223 참조), 아테졸리주맵 (로슈; 또한 테센트릭®; MPDL3280A, RG7446으로도 공지됨; US 8,217,149 참조; 또한, 문헌 [Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl):3000] 참조), 두르발루맵 (아스트라제네카; 또한 임핀지(IMFINZI)TM, MEDI-4736으로도 공지됨; WO 2011/066389 참조), 아벨루맵 (화이자 (Pfizer); 또한 바벤시오(BAVENCIO)[®], MSB-0010718C로도 공지됨; WO 2013/079174 참조), STI-1014 (소렌토 (Sorrento); WO2013/181634 참조), CX-072 (시툼엑스(Cytomx); WO2016/149201 참조), KN035 (3D 메드/알파맵 (3D Med/Alphamab); 문헌 [Zhang et al., Cell Discov. 7:3 (March 2017)] 참조), LY3300054 (일라이 릴리 캠파니(Eli Lilly Co.); 예를 들어, WO 2017/034916 참조), 및 CK-301 (체크포인트 테라퓨틱스(Checkpoint Therapeutics); 문헌 [Gorelik et al., AACR:Abstract 4606 (Apr 2016)] 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0444] 특정 실시양태에서, PD-L1 항체는 아테졸리주맵 (테센트릭®)이다. 아테졸리주맵은 완전 인간화 IgG1 모노클로날 항-PD-L1 항체이다.
- [0445] 특정 실시양태에서, PD-L1 항체는 두르발루맵 (임핀지TM)이다. 두르발루맵은 인간 IgG1 카파 모노클로날 항-PD-L1 항체이다.
- [0446] 특정 실시양태에서, PD-L1 항체는 아벨루맵 (바벤시오®)이다. 아벨루맵은 인간 IgG1 람다 모노클로날 항-PD-L1 항체이다.
- [0447] 다른 실시양태에서, 항-PD-L1 모노클로날 항체는 28-8, 28-1, 28-12, 29-8, 5H1, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0448] 개시된 조성물 및 방법에 사용가능한 항-PD-L1 항체는 또한 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하고, 인간 PD-L1에의 결합에 대해 본원에 개시된 임의의 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵, 두르발루맵 및/또는 아벨루맵과 교차-경쟁하는 단리된 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체 중 임의의 것, 예를 들어 아테졸리주맵, 두르발루맵, 및/또는 아벨루맵과 동일한 에피토프에 결합한다. 항원에의 결합에 대해 교차-경쟁하는 항체의 능력은 이들 항체가 항원의 동일한 에피토프 영역에 결합하고, 그러한 특정한 에피토프 영역에 대한 다른 교차-경쟁 항체의 결합을 입체적으로 방해한다는 것을 나타낸다. 이들 교차-경쟁 항체는 PD-L1의 동일한 에피토프 영역에 대한 그의 결합에 의해 참조 항체, 예를 들어 아테졸리주맵 및/또는 아벨루맵과 매우 유사한 기능적 특성을 갖는 것으로 예상된다. 교차-경쟁 항체는 표준 PD-L1 결합 검정, 예컨대 비아코어 분석, ELISA 검정 또는 유동 세포측정법에서 아테졸리주맵 및/또는 아벨루맵과 교차-경쟁하는 그의 능력에 기초하여 용이하게 확인될 수 있다 (예를 들어, WO 2013/173223 참조).

- [0449] 특정 실시양태에서, 인간 PD-L1에의 결합에 대해 인간 PD-L1 항체, 아테졸리주맙, 두르발루맙, 및/또는 아벨루맙과 교차-경쟁하거나, 또는 그와 동일한 에피토프 영역에 결합하는 항체는 모노클로날 항체이다. 인간 대상체에 대한 투여의 경우, 이들 교차-경쟁 항체는 키메라 항체, 조작된 항체, 또는 인간화 또는 인간 항체이다. 이러한 키메라, 조작된, 인간화 또는 인간 모노클로날 항체는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 제조 및 단리될 수 있다.
- [0450] 개시된 발명의 조성물 및 방법에 사용가능한 항-PD-L1 항체는 또한 상기 항체의 항원-결합 부분을 포함한다. 항체의 항원-결합 기능이 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다는 것은 충분히 입증되었다.
- [0451] 개시된 조성물 및 방법에 사용하기에 적합한 항-PD-L1 항체는 높은 특이성 및 친화도로 PD-L1에 결합하고, PD-1의 결합을 차단하고, PD-1 신호전달 경로의 면역억제 효과를 억제하는 항체이다. 본원에 개시된 조성물 또는 방법 중 임의의 것에서, 항-PD-L1 "항체"는 PD-L1에 결합하고, 수용체 결합을 억제하고 면역계를 상향조절하는데 있어서 전체 항체와 유사한 기능적 특성을 나타내는 항원-결합 부분 또는 단편을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 인간 PD-L1에의 결합에 대해 아테졸리주맙, 두르발루맙 및/또는 아벨루맙과 교차 경쟁한다.
- [0452] XI.C. 항-CTLA-4 항체
- [0453] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-CTLA-4 항체일 수 있다. 관련 기술분야에 공지된 항-CTLA-4 항체는 본 개시 내용의 조성물 및 방법에 사용될 수 있다. 본 발명의 항-CTLA-4 항체는 CTLA-4와 인간 B7 수용체의 상호작용을 방해하기 위해 인간 CTLA-4에 결합한다. CTLA-4와 B7의 상호작용은 CTLA-4 수용체를 보유하는 T-세포의 불활성화로 이어지는 신호를 전달하기 때문에, 상호작용의 방해는 이러한 T 세포의 활성화를 효과적으로 유도, 증진 또는 연장함으로써 면역 반응을 유도, 증진 또는 연장시킨다.
- [0454] 높은 친화도로 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 인간 모노클로날 항체가 미국 특허 번호 6,984,720에 개시되어 있다. 다른 항-CTLA-4 모노클로날 항체는, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,977,318, 6,051,227, 6,682,736, 및 7,034,121 및 국제 공개 번호 WO 2012/122444, WO 2007/113648, WO 2016/196237, 및 WO 2000/037504에 기재되어 있고, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 미국 특허 번호 6,984,720에 개시된 항-CTLA-4 인간 모노클로날 항체는 하기 특징 중 1종 이상을 나타내는 것으로 입증되었다: (a) 비아코어 분석에 의해 결정된 바와 같이, 적어도 약 10^7 M^{-1} , 또는 약 10^9 M^{-1} , 또는 약 10^{10} M^{-1} 내지 10^{11} M^{-1} 또는 그 초과와 평형 회합 상수 (K_a)에 의해 반영되는 결합 친화도로 인간 CTLA-4에 특이적으로 결합함; (b) 적어도 약 10^3 , 약 10^4 , 또는 약 $10^5 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 의 동역학적 회합 상수 (k_a); (c) 적어도 약 10^3 , 약 10^4 , 또는 약 $10^5 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 의 동역학적 해리 상수 (k_d); 및 (d) B7-1 (CD80) 및 B7-2 (CD86)에 대한 CTLA-4의 결합을 억제함. 본 발명에 유용한 항-CTLA-4 항체는 인간 CTLA-4에 특이적으로 결합하고, 상기 특징 중 적어도 1종, 적어도 2종, 또는 적어도 3종을 나타내는 모노클로날 항체를 포함한다.
- [0455] 특정 실시양태에서, CTLA-4 항체는 이필리무맙 (또한 예르보이(YERVOY)®, MDX-010, 10D1로도 공지됨; 미국 특허 번호 6,984,720 참조), MK-1308 (머크), AGEN-1884 (아제누스 인크.; WO 2016/196237 참조), 및 트레멜리무맙 (아스트라제네카; 또한 티실리무맙, CP-675,206으로도 공지됨; WO 2000/037504 및 문헌 [Ribas, Update Cancer Ther. 2(3): 133-39 (2007)] 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정한 실시양태에서, 항-CTLA-4 항체는 이필리무맙이다.
- [0456] 특정한 실시양태에서, CTLA-4 항체는 본원에 개시된 조성물 및 방법에 사용하기 위한 이필리무맙이다. 이필리무맙은 그의 B7 리간드에 대한 CTLA-4의 결합을 차단함으로써, 진행성 흑색종을 갖는 환자에서 T 세포 활성화를 자극하고 전체 생존 (OS)을 개선시키는 완전 인간 IgG1 모노클로날 항체이다.
- [0457] 특정한 실시양태에서, CTLA-4 항체는 트레멜리무맙이다.
- [0458] 특정한 실시양태에서, CTLA-4 항체는 MK-1308이다.
- [0459] 특정한 실시양태에서, CTLA-4 항체는 AGEN-1884이다.
- [0460] 일부 실시양태에서, CTLA-4 항체는 비푸코실화 또는 저푸코실화된다. 일부 실시양태에서, CTLA-4 항체는 증진된 ADCC 및/또는 ADCP 활성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, CTLA-4 항체는 PCT/US18/19868에 기재된 바와 같은 BMS-986218이다.

- [0461] 개시된 조성물 및 방법에 사용가능한 항-CTLA-4 항체는 또한 인간 CTLA-4에 특이적으로 결합하고, 인간 CTLA-4에의 결합에 대해 본원에 개시된 임의의 항-CTLA-4 항체, 예를 들어, 이필리무맙 및/또는 트레멜리무맙과 교차 경쟁하는 단리된 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-CTLA-4 항체는 본원에 기재된 항-CTLA-4 항체 중 임의의 것, 예를 들어 이필리무맙 및/또는 트레멜리무맙과 동일한 에피토프에 결합한다. 항원에의 결합에 대해 교차-경쟁하는 항체의 능력은 이들 항체가 항원의 동일한 에피토프 영역에 결합하고, 그러한 특정 한 에피토프 영역에 대한 다른 교차-경쟁 항체의 결합을 입체적으로 방해한다는 것을 나타낸다. 이들 교차-경쟁 항체는 CTLA-4의 동일한 에피토프 영역에 대한 그의 결합에 의해 참조 항체, 예를 들어 이필리무맙 및/또는 트레멜리무맙과 매우 유사한 기능적 특성을 갖는 것으로 예상된다. 교차-경쟁 항체는 표준 CTLA-4 결합 검정, 예컨대 비아코어 분석, ELISA 검정 또는 유동 세포측정법에서 이필리무맙 및/또는 트레멜리무맙과 교차-경쟁하는 그의 능력에 기초하여 용이하게 확인될 수 있다 (예를 들어, WO 2013/173223 참조).
- [0462] 특정 실시양태에서, 인간 CTLA-4에의 결합에 대해 인간 CTLA-4 항체인 이필리무맙 및/또는 트레멜리무맙과 교차 경쟁하거나, 또는 그와 동일한 에피토프 영역에 결합하는 항체는 모노클로날 항체이다. 인간 대상체에 대한 투여의 경우, 이들 교차-경쟁 항체는 키메라 항체, 조각된 항체, 또는 인간화 또는 인간 항체이다. 이러한 키메라, 조각된, 인간화 또는 인간 모노클로날 항체는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 제조 및 단리될 수 있다.
- [0463] 개시된 발명의 조성물 및 방법에 사용가능한 항-CTLA-4 항체는 또한 상기 항체의 항원-결합 부분을 포함한다. 항체의 항원-결합 기능이 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다는 것은 충분히 입증되었다.
- [0464] 개시된 방법 또는 조성물에 사용하기에 적합한 항-CTLA-4 항체는 높은 특이성 및 친화도로 CTLA-4에 결합하고, CTLA-4의 활성을 차단하고, CTLA-4와 인간 B7 수용체의 상호작용을 방해하는 항체이다. 본원에 개시된 조성물 또는 방법 중 임의의 것에서, 항-CTLA-4 "항체"는 CTLA-4에 결합하고, CTLA-4와 인간 B7 수용체의 상호작용을 억제하고 면역계를 상향조절하는데 있어서 전체 항체와 유사한 기능적 특성을 나타내는 항원-결합 부분 또는 단편을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-CTLA-4 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 인간 CTLA-4에의 결합에 대해 이필리무맙 및/또는 트레멜리무맙과 교차 경쟁한다.
- [0465] XI.D. 항-LAG-3 항체
- [0466] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-LAG-3 항체일 수 있다. 본 개시내용의 항-LAG-3 항체는 인간 LAG-3에 결합한다. LAG-3에 결합하는 항체는 국제 공개 번호 WO/2015/042246 및 미국 공개 번호 2014/0093511 및 2011/0150892에 개시되어 있다.
- [0467] 본 개시내용에 유용한 예시적인 LAG-3 항체는 25F7이다 (미국 공개 번호 2011/0150892에 기재되어 있음). 본 개시내용에 유용한 추가의 예시적인 LAG-3 항체는 BMS-986016이다. 한 실시양태에서, 조성물에 유용한 항-LAG-3 항체는 25F7 또는 BMS-986016과 교차-경쟁한다. 또 다른 실시양태에서, 조성물에 유용한 항-LAG-3 항체는 25F7 또는 BMS-986016과 동일한 에피토프에 결합한다. 다른 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 25F7 또는 BMS-986016의 6개의 CDR을 포함한다.
- [0468] XI.E. 항-CD137 항체
- [0469] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-CD137 항체일 수 있다. 항-CD137 항체는 종양 세포에 대한 면역 반응, 특히 세포독성 T 세포 반응을 자극하는 CD137-발현 면역 세포에 특이적으로 결합하여 이를 활성화한다. CD137에 결합하는 항체는 미국 공개 번호 2005/0095244 및 미국 특허 번호 7,288,638, 6,887,673, 7,214,493, 6,303,121, 6,569,997, 6,905,685, 6,355,476, 6,362,325, 6,974,863, 및 6,210,669에 개시되어 있다.
- [0470] 일부 실시양태에서, 항-CD137 항체는 미국 특허 번호 7,288,638에 기재된 우렐루맙 (BMS-663513)이다 (20H4.9-IgG4 [10C7 또는 BMS-663513]). 일부 실시양태에서, 항-CD137 항체는 미국 특허 번호 7,288,638에 기재된 BMS-663031 (20H4.9-IgG1)이다. 일부 실시양태에서, 항-CD137 항체는 미국 특허 번호 6,887,673에 기재된 4E9 또는 BMS-554271이다. 일부 실시양태에서, 항-CD137 항체는 미국 특허 번호 7,214,493; 6,303,121; 6,569,997; 6,905,685; 또는 6,355,476에 개시된 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-CD137 항체는 1D8 또는 BMS-469492; 3H3 또는 BMS-469497; 또는 미국 특허 번호 6,362,325에 기재된 3E1이다. 일부 실시양태에서, 항-CD137 항체는 허여된 미국 특허 번호 6,974,863에 개시된 항체이다 (예컨대 53A2). 일부 실시양태에서, 항-CD137 항체는 허여된 미국 특허 번호 6,210,669에 개시된 항체이다 (예컨대 1D8, 3B8 또는 3E1). 일부 실시양태에서, 항체는 화이자 PF-05082566 (PF-2566)이다. 다른 실시양태에서, 본 발명에 유용한 항-CD137 항체는 본원에 개시된 항-CD137 항체와 교차-경쟁한다. 일부 실시양태에서, 항-CD137 항체는 본원에 개시된 항-CD137

항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 다른 실시양태에서, 개시내용에 유용한 항-CD137 항체는 본원에 개시된 항-CD137 항체의 6개의 CDR을 포함한다.

[0471] XI.F. 항-KIR 항체

[0472] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-KIR3 항체일 수 있다. KIR에 특이적으로 결합하는 항체는 NK 세포 상의 킬러-세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)와 그의 리간드 사이의 상호작용을 차단한다. 이들 수용체를 차단하는 것은 NK 세포의 활성화 및 잠재적으로 후자에 의한 종양 세포의 파괴를 용이하게 한다. 항-KIR 항체의 예는 국제 공개 번호 WO/2014/055648, WO 2005/003168, WO 2005/009465, WO 2006/072625, WO 2006/072626, WO 2007/042573, WO 2008/084106, WO 2010/065939, WO 2012/071411 및 WO/2012/160448에 개시되어 있다.

[0473] 본 개시내용에 유용한 1종의 항-KIR 항체는 국제 공개 번호 WO 2008/084106에 처음 기재된 리틸루맵 (또한 BMS-986015, IPH2102, 또는 1-7F9의 S241P 변이체로도 지칭됨)이다. 본 개시내용에 유용한 추가의 항-KIR 항체는 국제 공개 번호 WO 2006/003179에 기재된 1-7F9 (또한 IPH2101로도 지칭됨)이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물을 위한 항-KIR 항체는 KIR에의 결합에 대해 리틸루맵 또는 1-7F9와 교차 경쟁한다. 또 다른 실시양태에서, 항-KIR 항체는 리틸루맵 또는 1-7F9와 동일한 에피토프에 결합한다. 다른 실시양태에서, 항-KIR 항체는 리틸루맵 또는 1-7F9의 6개의 CDR을 포함한다.

[0474] XI.G. 항-GITR 항체

[0475] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-GITR 항체일 수 있다. 항-GITR 항체는 인간 글루코코르티코이드-유도된 종양 괴사 인자 수용체 (GITR) 표적에 특이적으로 결합하여 GITR을 활성화시키는 임의의 항-GITR 항체일 수 있다. GITR은 조절 T 세포, 이펙터 T 세포, B 세포, 자연 킬러 (NK) 세포, 및 활성화된 수지상 세포를 비롯한 다수의 유형의 면역 세포의 표면 상에서 발현되는 TNF 수용체 슈퍼패밀리의 구성원이다 ("항-GITR 효능제 항체"). 구체적으로, GITR 활성화는 이펙터 T 세포의 증식 및 기능을 증가시키고, 뿐만 아니라 활성화된 T 조절 세포에 의해 유도된 억제를 제거한다. 또한, GITR 자극은 다른 면역 세포, 예컨대 NK 세포, 항원 제시 세포 및 B 세포의 활성을 증가시킴으로써 항종양 면역을 촉진한다. 항-GITR 항체의 예는 국제 공개 번호 WO/2015/031667, WO2015/184,099, WO2015/026,684, WO11/028683 및 WO/2006/105021, 미국 특허 번호 7,812,135 및 8,388,967 및 미국 공개 번호 2009/0136494, 2014/0220002, 2013/0183321 및 2014/0348841에 개시되어 있다.

[0476] 한 실시양태에서, 본 개시내용에 유용한 항-GITR 항체는 TRX518 (예를 들어, 문헌 [Schaer et al. Curr Opin Immunol. (2012) Apr; 24(2): 217-224] 및 WO/2006/105021에 기재됨)이다. 또 다른 실시양태에서, 항-GITR 항체는 MK4166, MK1248, 및 WO11/028683 및 미국 8,709,424에 기재되어 있고, 예를 들어 서열식별번호: 104를 포함하는 VH 쇄 및 서열식별번호: 105를 포함하는 VL 쇄 (여기서 서열식별번호는 WO11/028683 또는 U.S. 8,709,424로부터의 것임)를 포함하는 항체로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 항-GITR 항체는 WO2015/031667에 개시된 항-GITR 항체, 예를 들어 각각 WO2015/031667의 서열식별번호: 31, 71 및 63을 포함하는 VH CDR 1-3, 및 WO2015/031667의 서열식별번호: 5, 14 및 30을 포함하는 VL CDR 1-3을 포함하는 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-GITR 항체는 WO2015/184099에 개시된 항-GITR 항체, 예를 들어 항체 Hum231#1 또는 Hum231#2, 또는 그의 CDR, 또는 그의 유도체 (예를 들어, pab1967, pab1975 또는 pab1979)이다. 특정 실시양태에서, 항-GITR 항체는 JP2008278814, WO09/009116, WO2013/039954, US20140072566, US20140072565, US20140065152, 또는 WO2015/026684에 개시된 항-GITR 항체이거나, 또는 INBRX-110 (INHIBR_x), LKZ-145 (노파르티스) 또는 MEDI-1873 (메드이문(MedImmune))이다. 특정 실시양태에서, 항-GITR 항체는 PCT/US2015/033991에 기재된 항-GITR 항체 (예를 들어, 28F3, 18E10 또는 19D3의 가변 영역을 포함하는 항체)이다. 예를 들어, 항-GITR 항체는 하기 VH 및 VL 쇄 또는 그의 CDR을 포함하는 항체일 수 있다:

VH:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFT
ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTITVTVS (SEQ ID NO: 78), 및

VL:

AIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISSALAWYQKPKGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFLT
ISSLQPEDFATYYCQFNYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 79); 또는

VH:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEWVAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTI
SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGQLDYYYYYYVMDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 80), 및

VL:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISSWLAWYQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLT
TISSLQPEDFATYYCQYNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 81); 또는

VH:

VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYAGSNKYYADSVKGRFTI
SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGRIAVAFYYSMVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 82), 및

VL:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISSWLAWYQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLT
TISSLQPEDFATYYCQYNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 83).

[0477]

[0478]

특정 실시양태에서, 한 쌍의 상기 VH 및 VL 경쇄, 또는 그의 CDR을 포함하는 항체는 야생형이거나 또는 예를 들어 무이펙터로 돌연변이된 IgG1 이소형의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-GITR 항체는 하기 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함한다:

중쇄:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFT
ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPC
SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 84), 및

경쇄:

AIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISSALAWYQKPKGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFLT
ISSLQPEDFATYYCQFNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ
ID NO: 85), 또는

중쇄:

qvqlvesgggvvqpgrslrlscaasgftfssygmhwvrqapgkglewvaviwyegsnkyyadsvkgrftisrdnskntlylqmnsraedtavyycarggsmvr
gdyyyygmdvwgqgtitvssastkgpsvfplapsktskgtaalgclvkdypfpvvtvswngalstgvtfpavllqssglyslssvvtvpsnfgtqtyicvnhk
psntkvdkrvepkscdkthtppcpapeagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqnstryrvsvltvl
hqdwlngkeyckvsnkalpsiektiskagqprepvvtlppsreemtknqvsltclvkgfydsdiawesngqpennyktpvldsgsfflyskltdkks
rwqqgnvfscvmhealhnhytqkslslspg (SEQ ID NO: 86), 및

경쇄:

AIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISSALAWYQKPKGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFLT
ISSLQPEDFATYYCQFNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ
ID NO: 87).

[0479]

[0480]

특정 실시양태에서, 항-GITR 항체는 본원에 기재된 항-GITR 항체, 예를 들어 TRX518, MK4166 또는 본원에 기재된 VH 도메인 및 VL 도메인 아미노산 서열을 포함하는 항체와 교차 경쟁한다. 일부 실시양태에서, 항-GITR 항체는 본원에 기재된 항-GITR 항체, 예를 들어 TRX518, MK4166 또는 본원에 기재된 VH 도메인 및 VL 도메인 아미노산 서열을 포함하는 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-GITR 항체는 TRX518, MK4166의 6개의 CDR, 또는 본원에 기재된 VH 도메인 및 VL 도메인 아미노산 서열을 포함하는 항체의 CDR을 포함한다.

- [0481] XI.H. 항-TIM3 항체
- [0482] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-TIM3 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-TIM3 항체는 국제 공개 번호 WO2018013818, WO/2015/117002 (예를 들어, MGB453, 노파르티스), WO/2016/161270 (예를 들어, TSR-022, 테사로(Tesaro)/아나프티스바이오(AnaptysBio)), WO2011155607, WO2016/144803 (예를 들어, STI-600, 소렌토 테라퓨틱스), WO2016/071448, WO17055399; WO17055404, WO17178493, WO18036561, WO18039020 (예를 들어, Ly-3221367, 일라이 릴리), WO2017205721, WO17079112; WO17079115; WO17079116, WO11159877, WO13006490, WO2016068802 WO2016068803, WO2016/111947, WO/2017/031242에 개시된 항-TIM3 항체로부터 선택될 수 있다.
- [0483] XI.I. 항-OX40 항체
- [0484] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-OX40 (또한 CD134, TNFRSF4, ACT35 및/또는 TXGP1L로도 공지됨) 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-OX40 항체는 국제 공개 번호 WO20160196228에 기재된 BMS-986178 (브리스톨-마이어스 스킵 캄파니(Bristol-Myers Squibb Company))일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-OX40 항체는 국제 공개 번호 WO95012673, WO199942585, WO14148895, WO15153513, WO15153514, WO13038191, WO16057667, WO03106498, WO12027328, WO13028231, WO16200836, WO 17063162, WO17134292, WO 17096179, WO 17096281, 및 WO 17096182에 기재된 항-OX40 항체로부터 선택될 수 있다.
- [0485] XI.J. 항-NKG2A 항체
- [0486] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-NKG2A 항체일 수 있다. NKG2A는 자연 킬러 (NK) 세포 및 T 림프구의 하위 세트 상에서 발현되는 C-유형 렉틴 수용체 패밀리의 구성원이다. 구체적으로, NKG2A는 주로 중앙 침윤 선천성 면역 이펙터 NK 세포, 뿐만 아니라 일부 CD8+ T 세포 상에서 발현된다. 그의 천연 리간드 인간 백혈구 항원 E (HLA-E)는 고형 및 혈액 중앙 상에서 발현된다. NKG2A는 HLA-E를 가리는 억제 수용체이다.
- [0487] 일부 실시양태에서, 항-NKG2A 항체는 NKG2A가 그의 리간드 HLA-E와 상호작용하는 것을 차단하여 항중앙 면역 반응의 활성화를 가능하게 하는 인간 모노클로날 항체, BMS-986315일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-NKG2A 항체는 T 세포, NK 세포, 및/또는 중앙-침윤 면역 세포를 활성화시키는 체크포인트 억제제일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-NKG2A 항체는 예를 들어 WO 2006/070286 (인나테 파마 S.A.(Innate Pharma S.A.); 제노바 대학); 미국 특허 번호 8,993,319 (인나테 파마 S.A.; 제노바 대학); WO 2007/042573 (인나테 파마 S/A; 노보 노르디스크 A/S(Novo Nordisk A/S); 제노바 대학); 미국 특허 번호 9,447,185 (인나테 파마 S/A; 노보 노르디스크 A/S; 제노바 대학); WO 2008/009545 (노보 노르디스크 A/S); 미국 특허 번호 8,206,709; 8,901,283; 9,683,041 (노보 노르디스크 A/S); WO 2009/092805 (노보 노르디스크 A/S); 미국 특허 번호 8,796,427 및 9,422,368 (노보 노르디스크 A/S); WO 2016/134371 (오하이오 스테이트 이노베이션 파운데이션(Ohio State Innovation Foundation)); WO 2016/032334 (얀센(Janssen)); WO 2016/041947 (인나테); WO 2016/041945 (아카데미슈 지켄 후이스 라이덴(Academisch Ziekenhuis Leiden) H.O.D.N. LUMC); WO 2016/041947 (인나테 파마); 및 WO 2016/041945 (인나테 파마)에 기재된 항-NKG2A 항체로부터 선택될 수 있다.
- [0488] XI.K. 항-ICOS 항체
- [0489] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-ICOS 항체일 수 있다. ICOS는 CD28-슈퍼패밀리의 구성원인 면역 체크포인트 단백질이다. ICOS는 T 세포 활성화 후에 T 세포 상에서 발현되고, 그의 리간드인 ICOS-L (B7H2)에 결합한 후 T-세포 활성화를 공동-자극하는 55-60 kDa 유형 I 막형단 단백질이다. ICOS는 또한 유도성 T-세포 공동-자극자, CVID1, AILIM, 유도성 공동자극자, CD278, 활성화-유도성 림프구 면역매개 분자, 및 CD278 항원으로도 공지되어 있다.
- [0490] 일부 실시양태에서, 항-ICOS 항체는 인간 ICOS에 결합하여 그를 자극하는 인간화 IgG 모노클로날 항체, BMS-986226일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-ICOS 항체는, 예를 들어 WO 2016/154177 (조운스 테라퓨틱스, 인크.(Jounce Therapeutics, Inc.)), WO 2008/137915 (메드이툼), WO 2012/131004 (INSERM, 프랑스 국립 보건 의학 연구원), EP3147297 (INSERM, 프랑스 국립 보건 의학 연구원), WO 2011/041613 (메모리얼 슬론 케터링 캔서 센터(Memorial Sloan Kettering Cancer Center)), EP 2482849 (메모리얼 슬론 케터링 캔서 센터), WO 1999/15553 (로버트 코슈 인스티튜트(Robert Koch Institute)), 미국 특허 번호 7,259,247 및 7,722,872 (로버트 코슈 인스티튜트); WO 1998/038216 (재팬 토바코 인크.(Japan Tobacco Inc.)), 미국 특허 번호 7,045,615; 7,112,655, 및 8,389,690 (재팬 토바코 인크.), 미국 특허 번호 9,738,718 및 9,771,424 (글락소스미스클라인), 및 WO 2017/220988 (키맵 리미티드(Kymab Limited))에 기재된 항-ICOS 항체로부터 선택될 수 있다.

- [0491] XI.L. 항-TIGIT 항체
- [0492] 일부 실시양태에서, 제2 항체는 항-TIGIT 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-TIGIT 항체는 BMS-986207일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-TIGIT 항체는 WO 2016/106302에 기재된 바와 같은 클론 22G2일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-TIGIT 항체는 MTIG7192A/RG6058/R07092284, 또는 WO 2017/053748에 기재된 바와 같은 클론 4.1D3일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-TIGIT 항체는 예를 들어 WO 2016/106302 (브리스톨-마이어스 스킵 캄파니) 및 WO 2017/053748 (제넨테크(Genentech))에 기재된 항-TIGIT 항체로부터 선택될 수 있다.
- [0493] XI.M. 추가의 항암제
- [0494] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-IL-10 항체와 조합되어 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 장기-작용 IL-10 분자와 조합되어 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 장기-작용 IL-10 분자는 IL-10-Fc 융합 분자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 장기-작용 IL-10 분자는 PEG화 IL-10, 예컨대 AM0010 (아르모 바이오사이언시스)일 수 있다.
- [0495] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-IL-2 항체와 조합되어 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 장기-작용 IL-2 분자와 조합되어 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 장기-작용 IL-2는 PEG화 IL-2, 예컨대 NKTR-214 (넥타; US 8,252,275, WO12/065086 및 WO15/125159 참조)일 수 있다.
- [0496] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-VISTA 항체와 조합되어 사용될 수 있다.
- [0497] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-CD96 항체와 조합되어 사용될 수 있다.
- [0498] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-IL-8 항체, 예를 들어 휴맥스®-IL8과 조합되어 사용될 수 있다.
- [0499] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-TGF β 항체와 조합되어 사용될 수 있다.
- [0500] 일부 다른 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-B7-H4 항체와 조합되어 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 국제 공개 번호 WO/2009/073533에 개시된 항-B7-H4이다.
- [0501] 특정 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-Fas 리간드 항체와 조합되어 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항-Fas 리간드 항체는 국제 공개 번호 WO/2009/073533에 개시된 항-Fas 리간드이다.
- [0502] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-CXCR4 항체와 조합되어 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항-CXCR4 항체는 미국 공개 번호 2014/0322208에 개시된 항-CXCR4 (예를 들어, 울로쿠플루맙 (BMS-936564))이다.
- [0503] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-메소텔린 항체와 조합되어 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항-메소텔린 항체는 미국 특허 번호 8,399,623에 개시된 항-메소텔린이다.
- [0504] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-HER2 항체와 조합되어 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항-HER2 항체는 헤르셉틴 (미국 특허 번호 5,821,337), 트라스투주맙, 또는 아도-트라스투주맙 엠탄신 (카드실라 (Kadcyla), 예를 들어, WO/2001/000244)이다.
- [0505] 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-CD27 항체와 조합되어 사용될 수 있다. 실시양태에서, 항-CD-27 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 9,169,325에 개시된 바와 같은 인간 CD27에 대한 효능제인 인간 IgG1 항체인 바를리루맙 (또한 "CDX-1127" 및 "1F5"로도 공지됨)이다.
- [0506] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 항-CD73 항체와 조합되어 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항-CD73 항체는 CD73.4.IgG2C219S.IgG1.1f이다.
- [0507] 특정 실시양태에서, 제2 요법은 화학요법제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 화학요법제는 중앙 세포 상에서 MICA/B 발현을 유도한다. 일부 실시양태에서, 화학요법제는 프로테아솜 억제제, 면역조정 약물 (IMI), Bet 억제제, 및 그의 임의의 조합으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 프로테아솜 억제제는 보르테조밍, 익사조밍, 카르필조밍, 오프로조밍 및 마리조밍으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 프로테아솜 억제제는 보르테조밍을 포함한다.
- [0508] 일부 실시양태에서, 제2 요법은 방사선요법을 포함한다. 관련 기술분야에 공지된 임의의 방사선요법이 제2 요법으로서 사용될 수 있다.
- [0509] 일부 실시양태에서, 제2 요법은 선천성 면역 세포를 활성화하는 작용제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 선천성 면역 세포를 활성화하는 작용제는 NLRP3 효능제를 포함한다. 일부 실시양태에서, NLRP3 효능

제는 일나트륨 우레이트 1수화물 (MSU) 및/또는 백신 아주반트 명반을 포함한다. 일부 실시양태에서, 선천성 면역 세포를 활성화하는 작용제는 톨 유사 수용체 7 (TLR7) 효능제이다. 일부 실시양태에서, TLR7 효능제는 이미퀴모드 (R837), GS-9620 (문헌 [Tsai et al., J. Virology doi:10.1128/JVI.02166-16 (Feb. 8, 2017)] 참조), ORN R-2336 (밀테닐 바이오텍(Miltenyl Biotec)), 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0510] 일부 실시양태에서, 제2 요법은 자연 킬러 (NK) 세포, CD8⁺ T 세포, 또는 둘 다의 생존을 증진시키는 작용제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 IL-2를 포함한다. 특정 실시양태에서, 작용제는 PEG화 IL-2를 포함한다.

[0511] 특정 실시양태에서, 제2 요법은 독소루비신 (아드리아마이신(ADRIAMYCIN)®), 시스플라틴, 카르보플라틴, 블레오마이신 술페이트, 카르무스틴, 클로람부실 (류케란(LEUKERAN)®), 시클로포스파미드 (시톡산(CYTOXAN)®; 네오사르(NEOSAR)®), 레날리도미드 (레블리미드(REVLIMID)®), 보르테조미 (벨케이드(VELCADE)®), 텍사메타손, 미톡산트론, 에토포시드, 시타라빈, 벤다무스틴 (트레안다(TREANDA)®), 리툽시맙 (리툽산(RITUXAN)®), 이포스파미드, 빈크리스틴 (온코빈(ONCOVIN)®), 플루다라빈 (플루다라(FLUDARA)®), 탈리도미드 (탈로미드(THALOMID)®), 알렘투주맙 (캄파트(CAMPATH)®), 오파투무맙 (아르제라(AZERRA)®), 에베롤리무스 (아피니토르(AFINITOR)®), 조르트레스(ZORTRESS)®), 카르필로지맙 (키프롤리스(KYPROLIS)™), 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 작용제를 투여하는 것을 포함한다.

[0512] XI.N. 암

[0513] 항-MICA/B 항체는 암을 갖는 환자에서 암성 세포에 대한 면역 반응을 증진시킬 수 있다. 암을 갖는 대상체에게 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 투여하여 대상체가 치료되도록 하는, 예를 들어 암성 종양의 성장이 억제 또는 감소되고/거나 종양이 퇴행하고/거나 연장된 생존이 달성되도록 하는 것을 포함하는, 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 항-MICA/B 항체는 암성 종양의 성장을 억제하기 위해 단독으로 사용될 수 있다. 대안적으로, 항-MICA/B 항체는 하기 기재된 바와 같은 또 다른 작용제, 예를 들어, 또 다른 면역원성 작용제, 표준 암 치료, 또는 또 다른 항체와 함께 사용될 수 있다.

[0514] 따라서, 대상체에게 본원에 기재된 항-MICA/B 항체, 예를 들어, 야생형 IgG 불변 영역을 갖는 MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2, 및 71C2 또는 변경된 이펙터 기능을 갖는 불변 영역 변이체, 또는 그의 항원-결합 부분의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 예를 들어 종양 세포의 성장을 억제함으로써 암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 항체는 인간 항-MICA/B 항체 (예컨대 본원에 기재된 인간 항-인간 MICA/B 항체 중 임의의 것)일 수 있다. 개시내용의 항체를 사용하여 성장이 억제될 수 있는 암은 전형적으로 면역요법에 대해 반응성인 암, 및 전형적으로 면역요법에 대해 반응성이지 않은 것을 포함한다. 치료될 수 있는 암은 또한 MICA/B 양성 암을 포함한다. 암은 고형 종양 또는 혈액 악성종양 (액상 종양)을 갖는 암일 수 있다. 치료하기 위한 암의 비제한적 예는 편평 세포 암종, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 편평 비소세포 폐암 (NSCLC), 비편평 NSCLC, 신경교종, 위장암, 신암 (예를 들어 투명 세포 암종), 난소암, 간암, 결장직장암, 자궁내막암, 신장암 (예를 들어, 신세포 암종 (RCC)), 전립선암 (예를 들어 호르몬 불응성 전립선 선암종), 갑상선암, 신경모세포종, 췌장암, 교모세포종 (다형성 교모세포종), 자궁경부암, 위암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장 암종, 및 두경부암 (또는 암종), 위암, 배세포 종양, 소아 육종, 부비동비강 자연 킬러, 흑색종 (예를 들어, 전이성 악성 흑색종, 예컨대 피부 또는 안내 악성 흑색종), 골암, 피부암, 자궁암, 항문부암, 고환암, 난관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 식도암, 소장암, 내분비계암, 부갑상선암, 부신암, 연부 조직 육종, 요도암, 음경암, 직장암, 소아기 고형 종양, 요관암, 신우 암종, 중추 신경계 (CNS) 신생물, 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관신생, 척수축 종양, 뇌암, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 표피양암, 편평 세포암, 석면에 의해 유발된 것을 포함한 환경적으로 유발된 암, 바이러스-관련 암 또는 바이러스 기원의 암 (예를 들어, 인간 유두종 바이러스 (HPV-관련 또는 -기원 종양)); 및 상기 암의 임의의 조합을 포함한다.

[0515] 치료를 위한 암의 비제한적 예는 2종의 주요 혈액 세포 계통 중 어느 하나, 즉 골수성 세포주 (과립구, 적혈구, 혈소판, 대식세포 및 비만 세포를 생산함) 또는 림프성 세포주 (B, T, NK 및 형질 세포를 생산함)로부터 유래된 혈액 악성종양, 예컨대 모든 유형의 백혈병, 림프종 및 골수종, 예를 들어, 급성, 만성, 림프구성 및/또는 골수 백혈병, 예컨대 급성 백혈병 (ALL), 급성 골수 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 및 만성 골수 백혈병 (CML), 미분화된 AML (M0), 골수모구성 백혈병 (M1), 골수모구성 백혈병 (M2; 세포 성숙 수반), 전골수구성 백혈병 (M3 또는 M3 변이체 [M3V]), 골수단핵구성 백혈병 (M4 또는 호산구증가증을 동반한 M4 변이체 [M4E]), 단핵구성 백혈병 (M5), 적백혈병 (M6), 거핵모구성 백혈병 (M7), 고립성 과립구성 육종, 및 녹색종; 림프종, 예컨대 호지킨 림프종 (HL), 비-호지킨 림프종 (NHL), B 세포 혈액 악성종양, 예를 들어 B-세포 림프종, T-세포

림프종, 림프형질세포양 림프종, 단핵구성 B-세포 림프종, 점막-연관 림프성 조직 (MALT) 림프종, 역형성 (예를 들어, Ki 1+) 대세포 림프종, 성인 T-세포 림프종/백혈병, 외투 세포 림프종, 혈관 면역모세포성 T-세포 림프종, 혈관중심성 림프종, 장 T-세포 림프종, 원발성 종격 B-세포 림프종, 전구체 T-림프모구성 림프종, T-림프모구성; 및 림프종/백혈병 (T-Lbly/T-ALL), 말초 T-세포 림프종, 림프모구성 림프종, 이식후 림프증식성 장애, 진성 조직구성 림프종, 원발성 중추신경계 림프종, 원발성 삼출 림프종, B 세포 림프종, 림프모구성 림프종 (LBL), 림프계 조혈 종양, 급성 림프모구성 백혈병, 미만성 대 B-세포 림프종, 버킷 림프종, 여포성 림프종, 미만성 조직구성 림프종 (DHL), 면역모세포성 대 세포 림프종, 전구체 B-림프모구성 림프종, 피부 T-세포 림프종 (CTLC) (또한 균상 식육종 또는 세자리 증후군으로도 불림), 및 발덴스트롬 마크로글로불린혈증을 동반한 림프형질세포양 림프종 (LPL); 골수종, 예컨대 IgG 골수종, 경쇄 골수종, 비분비성 골수종, 무증상 골수종 (또한 무통성 골수종으로도 불림), 고립 형질세포종, 및 다발성 골수종, 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 모발상 세포 림프종; 골수계 조혈 종양, 중간엽 기원 종양 (섬유육종 및 횡문근육종 포함); 정상피종, 기형암종, 중추 및 말초 신경 종양 (정상세포종, 슈반세포종 포함); 중간엽 기원 종양 (섬유육종, 횡문근육종, 및 골육종 포함); 및 다른 종양, 예를 들어 흑색종, 색소성 건피증, 각화극세포종, 정상피종, 갑상선 여포암 및 기형암종, 림프계 조혈 종양, 예를 들어 T-세포 및 B-세포 종양 (T-세포 장애, 예컨대 T-전림프구성 백혈병 (T-PLL) (소세포 및 대뇌양 세포 유형 포함)을 포함하나 이에 제한되지는 않음); T-세포 유형의 거대 과립 림프구 백혈병 (LGL); a/d T-NHL 간비장 림프종; 말초/홍선후 T 세포 림프종 (다형성 및 면역모세포성 하위유형); 혈관중심성 (비강) T-세포 림프종; 상기 암의 임의의 조합을 포함한다.

- [0516] 본원에 기재된 방법은 또한 전이성 암, 절제불가능한, 불응성 암 (예를 들어, 이전 면역요법, 예를 들어 차단 CTLA-4 또는 PD-1 항체에 의한 것에 불응성인 암), 및/또는 재발성 암의 치료를 위해 사용될 수 있다.
- [0517] 일부 실시양태에서, 대상체는 비소세포 폐암 (NSCLC), 두경부 편평 세포 암종 (HNSCC), 흑색종, 방광암, 췌장암, 위암, 결장암, 신세포 암종 (RCC), 소세포 폐암 (SCLC), 중피종, 간세포성 암종, 전립선암, 다발성 골수종, 및 상기 암의 조합으로부터 선택된 암을 갖는다.
- [0518] 일부 실시양태에서, 대상체는 비소세포 폐암 (NSCLC), 두경부 편평 세포 암종 (HNSCC), 흑색종, 방광암, 췌장암, 위암, 결장암, 및 상기 암의 조합으로부터 선택된 암을 갖는다.
- [0519] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 선행 치료, 예를 들어 면역-종양학 또는 면역요법 약물에 의한 선행 치료에 대해 불충분한 반응을 나타내거나, 또는 치료 중에 진행되는 암을 갖는 환자, 또는 내인성 불응성 또는 저항성 (예를 들어, PD-1 경로 길항제에 대해 불응성)이거나 또는 저항성 또는 불응성 상태가 후천적인, 불응성 또는 저항성인 암을 갖는 환자에게 투여된다. 예를 들어, 제1 요법에 대해 반응성이지 않거나 충분히 반응성이지 않은 대상체 또는 치료, 예를 들어 항-PD-1 치료 후에 질환 진행이 관찰되는 대상체는 항-MICA/B 항체 단독 또는 또 다른 요법과의 (예를 들어, 항-PD-1 요법과의) 조합의 투여에 의해 치료될 수 있다.
- [0520] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 면역-종양학 작용제, 예를 들어 PD-1 경로 길항제를 이전에 제공받지 (즉, 그에 의해 치료받지) 않은 환자에게 투여된다.
- [0521] 일부 실시양태에서, 대상체에서 암을 치료하는 방법은 먼저 대상체가 MICA/B 양성인지, 예를 들어 MICA/B를 발현하는 종양 세포를 갖는지 결정하고, 대상체가 MICA/B 양성 암을 갖는다면, 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 투여하는 것을 포함한다. 암을 갖는 대상체를 항-MICA/B 항체로 치료하는 방법은 MICA/B를 발현하는 암 세포를 갖는 대상체에게 치료 유효량의 MICA/B 항체를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또한, 환자의 암 세포에서 MICA/B의 수준을 결정하는 것을 포함하는, 대상체가 항-MICA/B 항체에 의한 치료에 반응할 것인지 예측하는 방법이 본원에 제공되며, 대상체의 암 세포가 MICA/B 양성이라면, 대상체는 MICA/B 항체에 의한 치료에 반응할 가능성이 있다.
- [0522] 일부 실시양태에서, 대상체에서 암을 치료하는 방법은 먼저 대상체가 PD-L1 또는 PD-1 양성인지, 예를 들어 PD-L1 또는 PD-1을 발현하는 종양 세포 또는 TIL을 갖는지 결정하고, 대상체가 PD-L1 또는 PD-1 양성 암 또는 TIL 세포를 갖는다면, 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 항-MICA/B 항체 (및 임의로 PD-1 또는 PD-L1 길항제)를 투여하는 것을 포함한다. 암을 갖는 대상체를 항-MICA/B 항체 (및 임의로 PD-1 또는 PD-L1 길항제)로 치료하는 방법은 PD-L1 또는 PD-1을 발현하는 암 세포 또는 TIL 세포를 갖는 대상체에게 치료 유효량의 항-MICA/B 항체 (및 임의로 PD-1 또는 PD-L1 길항제)를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 또한, 환자의 암 또는 TIL 세포에서 PD-L1 또는 PD-1의 수준을 결정하는 것을 포함하는, 대상체가 항-MICA/B 항체 (및 임의로 PD-1 또는 PD-L1 길항제)에 의한 치료에 반응할 것인지 예측하는 방법이 본원에 제공되며, 대상체의 암 또는 TIL 세포가 PD-L1 또는 PD-1 양성이라면, 대상체는 MICA 항체 (및 임의로 PD-1 또는 PD-L1 길항제)에 의한 치료에 반응할 가능성이 있다.

다.

- [0523] 항-MICA/B 항체는 표준 관리 치료와 함께 투여될 수 있다. 항-MICA/B 항체는 유지 요법으로서, 예를 들어, 종양의 발생 또는 재발을 방지하도록 의도되는 요법으로서 투여될 수 있다.
- [0524] 항-MICA/B 항체는 또 다른 치료, 예를 들어, 방사선, 수술 또는 화학요법과 함께 투여될 수 있다. 예를 들어, 항-MICA/B 항체 보조 요법은 미세전이가 존재할 수 있는 위험이 존재하는 경우에 및/또는 재발의 위험을 감소시키기 위해 투여될 수 있다.
- [0525] 항-MICA/B 항체는 단독요법으로서, 또는 유일한 면역 자극 요법으로서 투여될 수 있다. MICA/B에 대한 항체, 예를 들어, 항-MICA/B는 또한 면역원성 작용제, 예컨대 암성 세포, 정제된 종양 항원 (재조합 단백질, 펩티드, 및 탄수화물 분자 포함), 세포, 및 면역 자극 시토카인을 코딩하는 유전자로 형질감염된 세포와 조합될 수 있다 (He et al., (2004) J. Immunol. 173:4919-28). 사용될 수 있는 종양 백신의 비-제한적 예는 흑색종 항원의 펩티드, 예컨대 gp100, MAGE 항원, Trp-2, MART1 및/또는 티로시나제의 펩티드, 또는 시토카인 GM-CSF를 발현하도록 형질감염된 종양 세포를 포함한다 (하기 추가로 논의됨).
- [0526] 인간에서, 일부 종양 예컨대 흑색종은 면역원성인 것으로 제시된 바 있다. 혈장에서 가용성 MICA/B의 수준을 감소시킴으로써 T 세포 활성화의 역치를 낮추는 것에 의해, 숙주에서의 종양 반응이 활성화되어 비-면역원성 종양 또는 제한된 면역원성을 갖는 종양의 치료가 가능하게 될 수 있다.
- [0527] 항-MICA/B 항체, 예를 들어 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 백신접종 프로토콜과 조합될 수 있다. 종양에 대한 백신접종을 위한 많은 실험적 전략이 고안되었다 (문헌 [Rosenberg, S., 2000, Development of Cancer Vaccines, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C, 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738] 참조; 또한 문헌 [Restifo, N. and Sznol, M., Cancer Vaccines, Ch. 61, pp. 3023-3043 in DeVita et al. (eds.), 1997, Cancer: Principles and Practice of Oncology, Fifth Edition] 참조). 이들 전략들 중 1종에서, 자가 또는 동종이체 종양 세포를 사용하여 백신을 제조한다. 이들 세포성 백신이, 종양 세포가 GM-CSF를 발현하도록 형질도입되는 경우에 가장 유효한 것으로 밝혀졌다. GM-CSF는 종양 백신접종을 위한 항원 제시의 강력한 활성화제인 것으로 밝혀졌다 (Dranoff et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. 90: 3539-43).
- [0528] 다양한 종양에서 유전자 발현 및 대규모 유전자 발현 패턴에 관한 연구 결과, 소위 종양 특이적 항원에 관하여 정의하게 되었다 (Rosenberg, S A (1999) Immunity 10: 281-7). 많은 경우에 있어서, 이들 종양 특이적 항원은 종양에서 발현된 분화 항원 및 그로부터 종양이 발생하는 세포에서 발현된 분화 항원, 예를 들어 멜라닌 세포 항원 gp100, MAGE 항원, 및 Trp-2이다. 보다 중요하게, 이들 항원 중 많은 수가 숙주에서 발견된 종양 특이적 T 세포의 표적인 것으로 밝혀질 수 있다. 항-MICA/B 항체 치료를 종양에서 발현된 재조합 단백질 및/또는 펩티드의 집합과 함께 사용하여, 이들 단백질에 대한 면역 반응을 생성할 수 있다. 이들 단백질은 정상적으로, 면역 체계에 의해 자기 항원으로서 보여지므로, 그들에 대해 내성이 있다. 종양 항원은 염색체의 텔로미어의 합성에 필요하고 인간 암의 85% 초과에서 발현되며 제한된 수의 체세포 조직에서만 발현되는 단백질 텔로머라제를 포함할 수 있다 (Kim et al. (1994) Science 266: 2011-2013). 종양 항원은 또한, 단백질 서열을 변경시키거나 또는 2개의 무관한 서열 (즉, 필라텔피아 염색체 내의 bcr-abl) 또는 B 세포 종양의 이디오타입 간에 융합 단백질을 생성하는 체세포 돌연변이 때문에 암 세포에서 발현된 "신생 항원"일 수 있다.
- [0529] 다른 종양 백신은 인간 암과 관련된 바이러스, 예컨대 인간 유두종 바이러스 (HPV), 간염 바이러스 (HBV) 및 HCV 및 카포시 헤르페스 육종 바이러스 (KHSV)로부터의 단백질을 포함할 수 있다. 항-MICA/B 항체의 투여와 함께 사용될 수 있는 또 다른 형태의 종양 특이적 항원은 종양 조직 자체로부터 단리된 정제된 열 쇼크 단백질 (HSP)이다. 이들 열 쇼크 단백질은 종양 세포로부터의 단백질의 단편을 함유하고, 이들 HSP는 종양 면역을 유도시키기 위해 항원 제시 세포에 전달하는데 고도로 효율적이다 (Suot & Srivastava (1995) Science 269:1585-1588; Tamura et al. (1997) Science 278:117-120).
- [0530] 수지상 세포 (DC)는 항원-특이적 반응을 프라이밍하기 위해 사용될 수 있는 강력한 항원 제시 세포이다. DC는 생체외에서 생성될 수 있고, 다양한 단백질 및 펩티드 항원뿐만 아니라 종양 세포 추출물이 부하될 수 있다 (Nestle et al. (1998) Nature Medicine 4: 328-332). DC는 또한, 이들 종양 항원을 또한 발현하는 유전적 수단에 의해 형질도입될 수 있다. DC는 또한, 면역을 위해 종양 세포에 직접적으로 융합되어 왔다 (Kugler et al. (2000) Nature Medicine 6:332-336). 백신접종의 방법으로서, DC 면역화를 항-MICA/B 항체의 투여와 효과

적으로 조합하여 더 강력한 항종양 반응을 활성화시킬 수 있다.

- [0531] 항-MICA/B 항체의 투여는 또한 표준 암 치료 (예를 들어, 수술, 방사선 및 화학요법)와 조합될 수 있다. 항-MICA/B 항체의 투여는 화학요법적 요법과 효과적으로 조합될 수 있다. 이들 경우에, 투여되는 화학요법 시약의 용량을 감소시키는 것이 가능할 수 있다 (Mokyr et al. (1998) *Cancer Research* 58: 5301-5304). 이러한 조합의 예는 항-MICA/B 항체와 흑색종 치료를 위한 데카르바진의 조합이다. 이러한 조합의 또 다른 예는 항-MICA/B 항체와 흑색종 치료를 위한 인터류킨-2 (IL-2), 예를 들어 PEG화 IL-2의 조합이다. 항-MICA/B 항체와 화학요법의 조합 사용 배후의 과학적 근거는 대부분의 화학요법 화합물의 세포독성 작용의 결과인 세포 사멸이 항원 제시 경로에서 증가된 수준의 종양 항원을 발생시킬 것이라는 것이다. 세포 사멸을 통해 항-MICA/B 항체의 투여와 상승작용을 발생시킬 수 있는 다른 조합 요법은 방사선, 수술 및 호르몬 고갈이다. 이들 프로토콜 각각은 숙주에서 종양 항원의 공급원을 생성한다. 혈관신생 억제제가 또한 항-MICA/B 항체의 투여와 조합될 수 있다. 혈관신생의 억제는 종양 세포 사멸로 이어지고, 이는 숙주 항원 제시 경로 내로 종양 항원을 공급할 수 있다.
- [0532] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 또한, Fc α 또는 Fc γ 수용체-발현 이펙터 세포를 종양 세포로 표적화하는 이중특이적 항체와 조합되어 사용될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,922,845 및 5,837,243 참조). 이중특이적 항체를 사용하여 2개의 별도의 항원을 표적화할 수 있다. 예를 들어 항-Fc 수용체/항종양 항원 (예를 들어, Her-2/neu) 이중특이적 항체는 대식세포를 종양 부위로 표적화하는데 사용된다. 이러한 표적화는 종양 특이적 반응을 보다 효과적으로 활성화시킬 수 있다. 이들 반응의 T 세포 부문은 항-MICA/B 항체의 작용에 의해 증대될 것이다. 대안적으로, 종양 항원 및 수지상 세포 특이적 세포 표면 마커에 결합하는 이중특이적 항체를 사용함으로써, 항원을 DC에 직접적으로 전달할 수 있다.
- [0533] 종양은 광범위한 메카니즘에 의해 숙주의 면역 감시를 피한다. 많은 이들 메카니즘은 종양에 의해 발현되고 면역억제성 단백질의 불활성화에 의해 극복될 수 있다. 이들은 특히, TGF- β (Kehrl et al. (1986) *J. Exp. Med.* 163: 1037-1050), IL-10 (Howard & O'Garra (1992) *Immunology Today* 13: 198-200), 및 Fas 리간드 (Hahne et al. (1996) *Science* 274: 1363-1365)를 포함한다. 이들 엔티티 각각에 대한 항체를 항-MICA/B 항체와 조합하여 사용하여, 면역억제제의 효과를 상쇄시키고 숙주에 의한 종양 면역 반응을 선호할 수 있다.
- [0534] 숙주 면역 반응성을 활성화시키는 다른 항체를 항-MICA/B 항체와 조합하여 사용할 수 있다. 이들은 DC 기능 및 항원 제시를 활성화시키는 수지상 세포의 표면 상의 분자를 포함한다. 항-CD40 항체는 T 세포 헬퍼 활성을 효과적으로 대체할 수 있고 (Ridge et al. (1998) *Nature* 393: 474-478), 항-MICA/B 항체와 함께 사용될 수 있다. T 세포 공동자극 분자, 예컨대 CTLA-4 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,811,097), OX-40 (Weinberg et al. (2000) *Immunol* 164: 2160-2169), 4-1BB (Melero et al. (1997) *Nature Medicine* 3: 682-685 (1997), 및 ICOS (Hutloff et al. (1999) *Nature* 397: 262-266)에 대한 활성화 항체가 또한, 증가된 수준의 T 세포 활성화를 제공할 수 있다. PD1 또는 PD-L1의 억제제를 또한, 항-MICA/B 항체와 함께 사용할 수 있다. 다른 조합이 본원의 다른 곳에 제공된다.
- [0535] 골수 이식은 조혈계 기원의 다양한 종양을 치료하는데 현재 사용되고 있다. 이식편 대 숙주 질환은 이러한 치료의 결과이지만, 이식편 대 종양 반응으로부터 치료 이익이 수득될 수 있다. MICA/B 억제는 공여자 생착된 종양 특이적 T 세포의 유효성을 증가시키기 위해 사용될 수 있다.
- [0536] 또한 항원 특이적 T 세포의 생체의 활성화 및 확장, 및 종양에 대한 항원-특이적 T 세포를 자극하기 위한 이들 세포의 수용자 내로의 입양 전달을 수반하는 여러 실험적 치료 프로토콜이 존재한다 (Greenberg & Riddell (1999) *Science* 285: 546-51). 이들 방법은 또한 감염원 예컨대 CMV에 대한 T 세포 반응을 활성화시키는데 사용될 수 있다. 항-MICA/B 항체의 존재 하에서의 생체의 활성화는 입양 전달된 T 세포의 빈도 및 활성을 증가시킬 수 있다.
- [0537] XI.0. 감염성 질환
- [0538] 본원에 기재된 방법은 또한 특정한 독소 또는 병원체에 노출된 환자를 치료하는데 사용될 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 또 다른 측면은 대상체의 감염성 질환이 치료되도록 항-MICA/B 항체를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 감염성 질환을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0539] 상기 논의된 바와 같은 종양에 대한 그의 적용과 유사하게, 항-MICA/B 항체는 병원체, 독소, 및 자기-항원에 대한 면역 반응을 자극하기 위해 단독으로 또는 아주반트로서 백신과 조합되어 투여될 수 있다. 이러한 치료 접근법이 특히 유용할 수 있는 병원체의 예는 현재 어떠한 효과적인 백신도 존재하지 않는 병원체, 또는 통상적인 백신이 덜 완전하게 효과적인 병원체를 포함한다. 이들은 HIV, 간염 (A형, B형, & C형), 인플루엔자, 포진, 지

아르디아, 말라리아, 리슈마니아, 스타필로코쿠스 아우레우스, 슈도모나스 아에루기노사를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 항-MICA/B 항체는 감염 과정에 걸쳐 변경된 항원을 제시하는 작용제, 예컨대 HIV에 의해 확립된 감염에 대해 유용할 수 있다. 이들 신규 에피토프는 항-MICA/B 항체 투여 시 외래물질로서 인식되어, 강력한 T 세포 반응이 유발된다.

- [0540] XI.P 조합 요법
- [0541] 상기 제공된 조합 요법에 더하여, 항-MICA/B 항체, 예를 들어 본원에 기재된 것은 또한 하기 기재된 바와 같이, 예를 들어 암을 치료하기 위한 조합 요법에 사용될 수 있다.
- [0542] 항-MICA/B 항체를 면역 반응을 자극하는데 효과적인 1종 이상의 추가의 작용제, 예를 들어 소분자 약물, 항체 또는 그의 항원 결합 부분과 공유여함으로써, 대상체에서 면역 반응을 추가로 증진시키거나, 자극하거나, 또는 상향조절하는 조합 요법의 방법이 본원에 제공된다.
- [0543] 일반적으로, 예를 들어 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 면역 세포, 예컨대 T 세포 상의 (i) 자극 (예를 들어, 공동-자극) 분자 (예를 들어, 수용체 또는 리간드)의 효능제 및/또는 (ii) 억제 신호 또는 분자 (예를 들어, 수용체 또는 리간드)의 길항제와 조합될 수 있고, 이는 둘 다 면역 반응, 예컨대 항원-특이적 T 세포 반응의 증폭을 발생시킨다. 일부 측면에서, 면역-종양학 작용제는 세포, 예를 들어 T 세포 활성화를 억제하는 것 또는 선천성 면역에 수반되는 것, 예를 들어 NK 세포 상의 (i) 자극 (공동-자극 포함) 분자 (예를 들어, 수용체 또는 리간드)의 효능제 또는 (ii) 억제 (공동-억제 포함) 분자 (예를 들어, 수용체 또는 리간드)의 길항제이고, 여기서 면역-종양학 작용제는 선천성 면역을 증진시킨다. 이러한 면역-종양학 작용제는 종종 면역 체크포인트 조절제, 예를 들어 면역 체크포인트 억제제 또는 면역 체크포인트 자극제로 지칭된다.
- [0544] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 이뮤노글로불린 슈퍼 패밀리 (IgSF)의 구성원인 자극 또는 억제 분자를 표적화하는 작용제와 함께 투여된다. 예를 들어, 예를 들어 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 면역 반응을 증가시키기 위해 IgSF 패밀리의 구성원을 표적화하는 작용제와 함께 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 항-MICA/B 항체는 B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA), 및 B7-H6을 포함하는 막-결합된 리간드의 B7 패밀리의 구성원을 표적화하는 (또는 이에 특이적으로 결합하는) 작용제 또는 B7 패밀리 구성원에 특이적으로 결합하는 공동-자극 또는 공동-억제 수용체 또는 리간드와 함께 투여될 수 있다.
- [0545] 항-MICA/B 항체는 또한 분자 (리간드 또는 수용체)의 TNF 및 TNFR 패밀리의 구성원, 예컨대 CD40 및 CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137, TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn 14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LTpR, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDA1, EDA2, TNFR1, 림프독소 a/TNFP, TNFR2, TNFa, LTpR, 림프독소 a 1β2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY, 및 NGFR을 표적화하는 작용제와 함께 투여될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Tansey (2009) Drug Discovery Today 00: 1] 참조).
- [0546] T 세포 반응은, 예를 들어 MICA.36, MICA.52, MICA.54, MICA.2, 및 71C2의 가변 영역을 갖는 항-MICA/B 항체, 및 하기 작용제 중 1종 이상의 조합에 의해 자극될 수 있다:
- [0547] (1) T 세포 활성화를 억제하는 단백질 (예를 들어, 면역 체크포인트 억제제), 예컨대 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, GITR, 및 LAG-3, 갈락틴 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, 갈락틴-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1, TIM-3, 및 TIM-4의 길항제 (억제제 또는 차단제); 및/또는
- [0548] (2) T 세포 활성화를 자극하는 단백질, 예컨대 B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, GITR, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, CD70, CD27, CD40, DR3 및 CD28H의 효능제.
- [0549] 상기 단백질 중 1종을 조정하고, 암을 치료하기 위해 항-MICA/B 항체, 예를 들어 본원에 기재된 것과 조합될 수 있는 예시적인 작용제는 예르보이® (이필리무맵) 또는 트레멜리무맵 (CTLA-4에 대한 것), 갈릭시맵 (B7.1에 대한 것), BMS-936558 (PD-1에 대한 것), MK-3475 (PD-1에 대한 것), 아테졸리주맵 (테센트릭®), AMP224 (B7DC에 대한 것), BMS-936559 (B7-H1에 대한 것), MPDL3280A (B7-H1에 대한 것), MEDI-570 (ICOS에 대한 것), AMG557 (B7H2에 대한 것), MGA271 (B7H3에 대한 것), IMP321 (LAG-3에 대한 것), BMS-663513 (CD137에 대한 것), PF-05082566 (CD137에 대한 것), CDX-1127 (CD27에 대한 것), 항-OX40 (프로비덴스 헬스 서비스즈 (Providence Health Services)), huMAbOX40L (OX40L에 대한 것), 아타시셉트 (TACI에 대한 것), CP-870893 (CD40에 대한 것), 루카투무맵 (CD40에 대한 것), 다세투주맵 (CD40에 대한 것), 무로모납-CD3 (CD3에 대한 것); 항-GITR 항체 MK4166, TRX518, Medi1873, INBRX-110, LK2-145, GWN-323, GITRL-Fc, 또는 그의 임의의 조

합을 포함한다.

- [0550] 암의 치료를 위해 항-MICA/B 항체와 조합될 수 있는 다른 분자는 NK 세포 상의 억제 수용체의 길항제 또는 NK 세포 상의 활성화 수용체의 효능제를 포함한다. 예를 들어, 항-MICA/B 항체는 KIR의 길항제 (예를 들어, 리틸 루맵)와 조합될 수 있다.
- [0551] T 세포 활성화는 또한 가용성 시토카인에 의해 조절되고, 항-MICA/B 항체는 T 세포 활성화를 억제하는 시토카인의 길항제 또는 T 세포 활성화를 자극하는 시토카인의 효능제와 함께, 예를 들어 암을 갖는 대상체에게 투여될 수 있다.
- [0552] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 면역 반응을 자극하기 위해, 예를 들어 증식성 질환, 예컨대 암을 치료하기 위해, (i) T 세포 활성화를 억제하는 IgSF 패밀리를 또는 B7 패밀리를 또는 TNF 패밀리의 단백질의 길항제 (또는 억제제 또는 차단제) 또는 T 세포 활성화를 억제하는 시토카인 (예를 들어, IL-6, IL-10, TGF- β , VEGF; "면역 억제 시토카인")의 길항제 및/또는 (ii) T 세포 활성화를 자극하는 IgSF 패밀리를, B7 패밀리를 또는 TNF 패밀리의 자극 수용체의, 또는 시토카인의 효능제와 조합되어 사용될 수 있다.
- [0553] 조합 요법을 위한 다른 작용제는 RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, WO13/87699, WO13/119716, WO13/132044) 또는 FPA-008 (WO11/140249; WO13169264; WO14/036357)을 포함한 CSF-1R 길항제 항체와 같은 CSF-1R 길항제를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 대식세포 또는 단핵구를 억제 또는 고갈시키는 작용제를 포함한다.
- [0554] 항-MICA/B 항체는 또한 TGF- β 신호전달을 억제하는 작용제와 함께 투여될 수 있다.
- [0555] 항-MICA/B 항체와 조합될 수 있는 추가의 작용제는 종양 항원 제시를 증진시키는 작용제, 예를 들어 수지상 세포 백신, GM-CSF 분비 세포 백신, CpG 올리고뉴클레오티드 및 이미퀴모드, 또는 종양 세포의 면역원성을 증진시키는 요법 (예를 들어, 안트라시클린)을 포함한다.
- [0556] 항-MICA/B 항체와 조합될 수 있는 또 다른 요법은 Treg 세포를 고갈 또는 차단시키는 요법, 예를 들어 CD25에 특이적으로 결합하는 작용제를 포함한다.
- [0557] 항-MICA/B 항체와 조합될 수 있는 또 다른 요법은 대사 효소, 예컨대 인돌아민 디옥시게나제 (IDO), 디옥시게나제, 아르기나제, 또는 산화질소 신데타제를 억제하는 요법이다. 적합한 IDO 길항제는, 예를 들어 INCB-024360 (WO2006/122150, WO07/75598, WO08/36653, WO08/36642), 인독시모드, NLG-919 (WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237) 또는 F001287을 포함한다.
- [0558] 항-MICA/B 항체와 함께 사용될 수 있는 작용제의 또 다른 부류는 아데노신의 형성을 억제하는 작용제, 예를 들어 CD73 억제제, 또는 아데노신 A2A 수용체를 억제하는 작용제를 포함한다.
- [0559] 암을 치료하기 위해 항-MICA/B 항체와 조합될 수 있는 다른 요법은 T 세포 무반응 또는 소진을 역전/방지하는 요법 및 선천성 면역 활성화 및/또는 종양 부위에서의 염증을 촉발하는 요법을 포함한다.
- [0560] 항-MICA/B 항체는 1종 초과 면역-종양학 작용제와 조합될 수 있고, 예를 들어 면역 경로의 다중 요소를 표적화하는 조합 접근법, 예컨대 하기 중 1종 이상과 조합될 수 있다: 종양 항원 제시를 증진시키는 요법 (예를 들어, 수지상 세포 백신, GM-CSF 분비 세포 백신, CpG 올리고뉴클레오티드, 이미퀴모드); 예를 들어 CTLA-4 및/또는 PD1/PD-L1/PD-L2 경로의 억제 및/또는 Treg 또는 다른 면역 억제 세포의 고갈 또는 차단에 의해 음성 면역 조절을 억제하는 요법; 예를 들어 CD-137, OX-40, 및/또는 CD40 또는 GITR 경로를 자극하고/거나 T 세포 이펙터 기능을 자극하는 효능제로 양성 면역 조절을 자극하는 요법; 항종양 T 세포의 빈도를 전신에서 증가시키는 요법; 예를 들어 CD25의 길항제 (예를 들어, 다클리주맵)를 사용하거나 생체의 항-CD25 비드 고갈에 의해 Treg, 예컨대 종양에서의 Treg을 고갈 또는 억제하는 요법; 종양에서의 억제 골수 세포의 기능에 영향을 미치는 요법; 종양 세포의 면역원성을 증진시키는 요법 (예를 들어, 안트라시클린); 유전자 변형된 세포, 예를 들어 키메라 항원 수용체에 의해 변형된 세포 (CAR-T 요법)를 포함하는 입양 T 세포 또는 NK 세포 전달; 대사 효소, 예컨대 인돌아민 디옥시게나제 (IDO), 디옥시게나제, 아르기나제 또는 산화질소 신데타제를 억제하는 요법; T 세포 무반응 또는 소진을 역전/방지하는 요법; 선천성 면역 활성화 및/또는 종양 부위에서의 염증을 촉발하는 요법; 면역 자극 시토카인의 투여; 또는 면역 억제 시토카인의 차단.
- [0561] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 양성 공동자극 수용체를 라이게이션하는 효능작용제, 억제 수용체, 길항제 및 항종양 T 세포의 빈도를 전신에서 증가시키는 1종 이상의 작용제를 통해 신호전달을 감소시키는 차단제, 종양 미세환경 내에서의 별개의 면역 억제 경로를 극복하는 (예를 들어, 억제 수용체 맞물림 (예를 들어, PD-L1/PD-1

상호작용)을 차단, Treg를 고갈 또는 억제 (예를 들어, 항-CD25 모노클로날 항체 (예를 들어, 다클리주맙)의 사용 또는 생체의 항-CD25 비드 고갈에 의함), 대사 효소, 예컨대 IDO를 억제, 또는 T 세포 무반응 또는 소진을 역전/방지하는) 작용제 및 선천성 면역 활성화 및/또는 중앙 부위에서의 염증을 촉발시키는 작용제 중 1종 이상과 함께 사용될 수 있다.

- [0562] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는, 대상체가 BRAF V600 돌연변이 양성인 경우에, BRAF 억제제와 함께 대상체에게 투여된다.
- [0563] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG3, TIGIT, TIM3, NKG2a, OX40, ICOS, CD137, KIR, TGFβ, IL-10, IL-8, IL-2, B7-H4, Fas 리간드, CXCR4, 메소텔린, CD27, VISTA, CD96, GITR 또는 그의 임의의 조합에 특이적으로 결합하는 항체와 함께 대상체에게 투여된다.
- [0564] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체 및 조합 요법은 또한, 치료하고자 하는 적응증 (예를 들어, 암)에 대한 그의 특정한 유용성에 대해 선택되는, 다른 널리 공지된 요법과 함께 사용될 수 있다. 본원에 기재된 항-MICA/B 항체의 조합은 공지된 제약상 허용되는 작용제(들)와 순차적으로 사용될 수 있다.
- [0565] 예를 들어, 본원에 기재된 항-MICA/B 항체 및 조합 요법은 추가의 치료, 예컨대 방사선 조사 및/또는, 예를 들어 캄프토테신 (CPT-11), 5-플루오로우라실 (5-FU), 시스플라틴, 독소루비신, 이리노테칸, 파클리탁셀, 겐시타빈, 시스플라틴, 파클리탁셀, 카르보플라틴-파클리탁셀 (탁솔), 독소루비신, 또는 캄프토테신 + apo21/TRAIL (6X 콤보)을 사용하는 화학요법, 1종 이상의 프로테아솜 억제제 (예를 들어, 보르테조미 또는 MG132), 1종 이상의 Bcl-2 억제제 (예를 들어, BH3I-2' (bcl-x1 억제제), 인돌아민 디옥시게나제-1 억제제 (예를 들어, INCB24360, 인독시모드, NLG-919 또는 F001287), AT-101 (R(-)-고시폴 유도체), ABT-263 (소분자), GX-15-070 (오바토클락스), 또는 MCL-1 (골수성 백혈병 세포 분화 단백질-1) 길항제), iAP (아포토시스 단백질의 억제제) 길항제 (예를 들어, smac7, smac4, 소분자 smac 모방체, 합성 smac 펩티드 (문헌 [Fulda et al., Nat Med 2002;8:808-15] 참조), ISIS23722 (LY2181308), 또는 AEG-35156 (GEM-640)), HDAC (히스톤 데아세틸라제) 억제제, 항-CD20 항체 (예를 들어, 리툽시맙), 혈관형성 억제제 (예를 들어, 베마시주맙), VEGF 및 VEGFR을 표적화하는 항혈관형성제 (예를 들어, 아바스틴), 합성 트리테르페노이드 (문헌 [Hyer et al., Cancer Research 2005;65:4799-808] 참조), c-FLIP (세포성 FLICE-억제성 단백질) 조절제 (예를 들어, PPARγ (피옥시솜 증식자-활성화 수용체 γ)의 자연 및 합성 리간드, 5809354 또는 5569100), 키나제 억제제 (예를 들어, 소라페닙), 트라스투주맙, 세특시맙, 템시롤리무스, mTOR 억제제, 예컨대 라파마이신 및 템시롤리무스, 보르테조미, JAK2 억제제, HSP90 억제제, PI3K-AKT 억제제, 래날릴도미드, GSK3P 억제제, IAP 억제제 및/또는 유전자독성 약물과 조합되어 (예를 들어, 동시에 또는 별도로) 사용될 수 있다.
- [0566] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체 및 조합 요법은 1종 이상의 항증식 세포독성제와 조합하여 추가로 사용될 수 있다. 항증식 세포독성제로서 사용될 수 있는 화합물 부류는 하기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:
- [0567] 알킬화제 (질소 머스타드, 에틸렌이민 유도체, 알킬 술포네이트, 니트로소우레아 및 트리아젠을 포함하나 이에 제한되지는 않음): 우라실 머스타드, 클로르메틴, 시클로포스파미드 (시톡산(CYTOXAN)®) 포스파미드, 멜팔란, 클로람부실, 피포프로만, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌티오포스포라민, 부술편, 카르무스틴, 로무스틴, 스트렙토조신, 데카르바진, 및 테모졸로미드.
- [0568] 항대사제 (비제한적으로, 폴산 길항제, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 아데노신 데아미나제 억제제 포함): 메토트렉세이트, 5-플루오로우라실, 플록수리딘, 시타라빈, 6-메르캅토피리딘, 6-티오구아닌, 플루다라빈 포스페이트, 펜토스타틴, 및 겐시타빈.
- [0569] 항-MICA/B 항체와 조합하는데 적합한 항증식제: 관련 기술분야에 공지된 다른 마이크로튜블린 안정화제에 더하여, 비제한적으로, 탁산, 파클리탁셀 (파클리탁셀은 탁솔(TAXOL)™로서 상업적으로 입수가능함), 도세탁셀, 디스코데르몰리드 (DDM), 디티오스타틴 (DCT), 펠로루시드 A, 에포틸론, 에포틸론 A, 에포틸론 B, 에포틸론 C, 에포틸론 D, 에포틸론 E, 에포틸론 F, 푸라노에포틸론 D, 데스옥시에포틸론 B1, [17]-데히드로데스옥시에포틸론 B, [18]데히드로데스옥시에포틸론 B, C12,13-시클로프로필-에포틸론 A, C6-C8 가교된 에포틸론 A, 트랜스-9,10-데히드로에포틸론 D, 시스-9,10-데히드로에포틸론 D, 16-데스메틸에포틸론 B, 에포틸론 B10, 디스코데르몰리드, 파투필론 (EPO-906), KOS-862, KOS-1584, ZK-EPO, ABJ-789, XAA296A (디스코데르몰리드), TZT-1027 (소블리도틴), ILX-651 (타시도틴 히드로클로라이드), 할리론드린 B, 에리블린 메실레이트 (E-7389), 헤미아스테를린 (HTI-286), E-7974, 크립토펜신, LY-355703, 메이탄시노이드 면역접합체 (DM-1), MKC-1, ABT-751, T1-38067, T-900607, SB-715992 (이스피네시브), SB-743921, MK-0731, STA-5312, 엘레우테로빈, 17베타-아세톡시-2-에톡

시-6-옥소-B-호모-에스트라-1,3,5(10)-트리엔-3-올, 시클로스트렙틴, 이소라울리말리드, 라울리말리드, 4-에피-7-데히드록시-14,16-디데메틸-(+)-디스코테르몰리드, 및 크립토틸론 1.

[0570] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체를 사용한 치료와 함께 또는 그 전에, 비정상적으로 증식하는 세포를 정지기로 만드는 것이 바람직한 경우에, 호르몬 및 스테로이드 (합성 유사체 포함), 예컨대 17a-에티닐에스트라디올, 디에틸stil베스트롤, 테스토스테론, 프레드니손, 플루옥시메스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 테스토락톤, 메게스트롤아세테이트, 메틸프레드니솔론, 메틸-테스토스테론, 프레드니솔론, 트리암시놀론, 클로로트리아니센, 히드록시프로게스테론, 아미노글루테티미드, 에스트라무스틴, 메드록시프로게스테론아세테이트, 류프롤리드, 플루타미드, 토레미펜, 졸라렉스(ZOLADEX)®를 환자에게 투여할 수 있다. 본원에 기재된 방법 또는 조성물을 사용하는 경우에, 임상 세팅에서 종양 성장 또는 전이를 조정하는데 사용되는 다른 작용제, 예컨대 항모방제가 또한 원하는 만큼 투여될 수 있다.

[0571] 일부 실시양태에서, 본원에 논의된 항-MICA/B 항체 및 제2 작용제의 조합물은 제약상 허용되는 담체 중의 단일 조성물로서 공동으로, 또는 제약상 허용되는 담체 중 항-MICA/B 항체 및 제2 작용제와의 개별 조성물로서 공동으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체 및 제2 작용제의 조합물은 순차적으로 투여될 수 있다. 2종의 작용제의 투여는, 예를 들어, 30분, 60분, 90분, 120분, 3시간, 6시간, 12시간, 24시간, 36시간, 48시간, 3일, 5일, 7일, 또는 1주 이상 떨어진 시점에 시작될 수 있거나, 또는 제2 작용제의 투여는 제1 작용제가 투여되고, 예를 들어, 30분, 60분, 90분, 120분, 3시간, 6시간, 12시간, 24시간, 36시간, 48시간, 3일, 5일, 7일, 또는 1주 이상 후에 시작될 수 있다.

[0572] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체 및/또는 제2 작용제와 조합될 수 있는 항신생물성 항체는 리툭산® (리툭시맵), 헤르셉틴(HERCEPTIN)® (트라스투주맵), 벡사르(BEXXAR)® (토시투모맵), 제발린(ZEVALIN)® (이브리투모맵), 캄파트® (알렘투주맵), 림포사이드(LYMPHOCIDE)® (에프라투주맵), 아바스틴(AVASTIN)® (베바시주맵), 및 타르세바(TARCEVA)® (에를로티닙) 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체와의 조합 요법에 유용한 제2 항체는 항체 약물 접합체일 수 있다.

[0573] 일부 실시양태에서, 항-MICA/B 항체는 단독으로 또는 또 다른 작용제와 조합되어 조절계 기원의 다양한 종양을 치료하기 위해 골수 이식과 공동으로 또는 순차적으로 사용된다.

[0574] 대상체에게 항-MICA/B 항체를 제2 작용제의 존재 또는 부재 하에 투여하는 것을 포함하는, 면역자극제를 사용한 과다증식성 질환 (예를 들어, 암)의 치료와 연관된 유해 사건을 변경하는 방법이 본원에 제공된다. 예를 들어, 본원에 기재된 방법은 비-흡수성 스테로이드를 환자에게 투여함으로써 면역자극성 치료 항체-유도된 결장염 또는 설사의 발생률을 감소시키는 방법을 제공한다. 본원에 사용된 "비-흡수성 스테로이드"는 광범위한 1차 통과 대사를 나타내어, 간에서의 대사 후에 스테로이드의 생체이용률이 낮도록, 즉 약 20% 미만이도록 하는 글루코코르티코이드이다. 본원에 기재된 일부 실시양태에서, 비-흡수성 스테로이드는 부테소니드이다. 부테소니드는 국부-작용 글루코코르티코스테로이드이며, 이는 경구 투여 후에 주로 간에 의해 광범위하게 대사된다. 엔토코르트 이씨(ENTOCORT EC)® (아스트라-제네카)는 회장으로의 및 결장 전체로의 약물 전달을 최적화하기 위해 개발된 부테소니드의 pH- 및 시간-의존성 경구 제제이다. 엔토코르트 이씨®는 회장 및/또는 상행 결장을 수반하는 정도 내지 중등도 크론병의 치료에 대해 미국에서 승인되었다. 일부 실시양태에서, 비-흡수성 스테로이드와 함께 항-MICA/B 항체는 살리실레이트와 추가로 조합될 수 있다. 살리실레이트는 5-ASA 작용제, 예컨대, 예를 들어: 숄파살라진 (아줄피딘(AZULFIDINE)®, 파마시아 & 업 존(Pharmacia & Up John)); 울살라진 (DJPENTUM®, 파마시아 & 업 존); 발살라지드 (콜라잘(COLAZAL)®, 살릭스 파마슈티칼스, 인크.(Salix Pharmaceuticals, Inc.)); 및 메살라민 (아사콜(ASACOL)®, 프록터 & 갬블 파마슈티칼스(Procter & Gamble Pharmaceuticals); 펜타사(PENTASA)®, 샤이어 US; 카나사(CANASA)®, 약산 스칸디팜, 인크.(Axcan Scandipharm, Inc.); 로와사 (ROWASA)®, 솔베이(Solvay))을 포함한다.

[0575] 표 1. 서열.

SEQ ID	설명	서열
1	19G6- MICA.36 VH1	CAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAACTATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAG GCGAGGGCTGGAATGGGTGGCACTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATCTATGGAGACTCC GTGAAGGGCCGCTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAG CCTGAGCCCGAGGACACGGCTGTATTACTGTGCGAGAGAGGGGAAGTGGGCACACTACTGGGGCC AGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCA
2	19G6- MICA.36 VH1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCLASGFTFSNYAMHWVRQAPGEGLEWVALIWYDGSNKF YGDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLSAEDTAVYYCAREGSGHYWGQGLVTVSS
3	19G6- MICA.36 VK1	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC CATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATCAGCAGTGCCTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGA AAGTTCCTAAGTCCCTGATCTATGATGCCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGTCCCATCAAGGTTTCAGC GGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGAACA TTATTACTGTCAACAGTTTAAATAGTTACCCGATCACCTTCGGCCA AGGGACACGACTGGAGATTAAA
4	19G6- MICA.36 VK1	AIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISSALAWYQQKPKVPKSLIYDASSLESQVP SRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQFNSYPITFGQGRLEIK
5	19G6- MICA.36 VH1_CDR1	NYAMH
6	19G6- MICA.36 VH1_CDR2	LIWYDGSNKFYDGSVKG
7	19G6- MICA.36 VH1_CDR3	EGSGHY
8	19G6- MICA.36 VK1_CDR1	RASQGISSALA
9	19G6- MICA.36 VK1_CDR2	DASSLES
10	19G6- MICA.36 VK1_CDR3	QQFNSYPIT
11	16A5- MICA.52 VH1	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCCTCGTTGCTCTTTAAGAGGTGTCAGTGTCA GGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTC CTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAACTATAACATACACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCA AGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATAAGGTATGATGGAATTAATAAATACTATGCAGACTCCGTG AAGGGCCGATTCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCT GAGAGCCGAGGACACGGCTGTATTACTGTGCGAGCGGGCCCTGATGCTTTTAAATATCTGGG GCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTCA
12	16A5-	MEFGLSWVFLVALLRQVQVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCLASGFTFSNYNIHWVRQA

[0576]

SEQ ID	설명	서열
	MICA.52 VH1	PGKGLEWVAVIRYDGINYYADSVKGRFIIISRDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCASGP PDAFNIWGQGMVTVSS
13	16A5- MICA.52 VK1	ATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCAGATG TGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATCAGCAGTGCCTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAGTT CCTAAGTCCCTGATCTATGATGCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACGGCGCAG TGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGAACCTATT ACTGTCAACAGTTTAAATAGTTACCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATAAA
14	16A5- MICA.52 VK1	MRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQGISSALAWYQQK PGKVPKSLIYDASSLESVPSRFRSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQFNSYPITFGQGTRL EIK
127	16A5- MICA.52 VK2	ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGC CAGATGTGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAG AGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCCTTAGCCTGGTATCAGCA GAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGT CCCATCAGGTTTACGGGCAAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT CGAGCCTGAAGATTTTGAACCTTATTACTGTCAACAGTTTAAATAGTTACCCATTCACCTT CGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAA
128	16A5- MICA.52 VK2	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQGISSALAWYQ QKPGKPKLLIYDASSLESVPSRFRSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQFNSYPITFGPPT KVDIK
15	16A5- MICA.52 VH1_CDR1	NYNIH
16	16A5- MICA.52 VH1_CDR2	VIRYDGINYYADSVKG
17	16A5- MICA.52 VH1_CDR3	GPPDAFNI
18	16A5- MICA.52 VK1_CDR1	RASQGISSALA
19	16A5- MICA.52 VK1_CDR2	DASSLES
20	16A5- MICA.52 VK1_CDR3	QQFNSYPIT
21	24G11- MICA.54 VH1	ATGGGGTCAACCCCATCCTCGCCCTCCTCCTGGCTGTTCTCCAAGGAGTCTGTGCCGA GGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAGCCCGGGGAGTCTCTGAGATCTC CTGTAAAGGGTCTGGATACAGTTTACCAACTACTGGATCGGCTGGGTGCCAGATGCC CGGGAAAGCCCTGGAGTGGTTGGGGATCATCCATCCTGGTGAATCTTATACCAGATACAG CCCGTCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCCATCAGCACCCTACCT GCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCTCGGACACCGCCATATATTACTGTGCGAGAGAGGGTAT AGCAGCAACTCCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAAACCTGGTCAACCGTCTCCTCA
22	24G11- MICA.54 VH1	MGSTAILALLLAVLQGVCAEVQLVQSGAEVKKPGESEKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQM PGKLEWLGLIHPGDSYTRYSPSFQGVVITISADKSI STAYLQWSSLKASDTAIYYCAREG IAATPFYDYGQGLTVTVSS

[0577]

SEQ ID	설명	서열
23	24G11- MICA.54 VK1	ATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGG AGAAATGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCAC CCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCTACTTAGCCTGGTTCACAGAAACC TGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGC CAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCC TGAAGATTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCCGACGTTCCGGCCA AGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
24	24G11- MICA.54 VK1	MEAPAQLLFLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQQK PQQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFG QGTKVEIK
25	24G11- MICA.54 VH1_CDR1	NYWIG
26	24G11- MICA.54 VH1_CDR2	IIHPGDSYTRYSPSPFQG
27	24G11- MICA.54 VH1_CDR3	EGIAATPFDY
28	24G11- MICA.54 VK1_CDR1	RASQSVSSYLA
29	24G11- MICA.54 VK1_CDR2	DASNRAT
30	24G11- MICA.54 VK1_CDR3	QQRSNWPPT
31	3F5-MICA.2 VH1	ATGGAGTTGGGGCTGTGCTGGATTTCCCTTGTGCTATTTAGAAAGTGTCCAGTGTGAGGTGCA ACTGGTGGAAATCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTACCTTCAGTACCTATAGCATGAAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGGTTTCATACATTAGTTATCGTAGTCTGACCATATACTACGCAGACTCTGTGAGGGCCGATT CACCATCTCCAGAGACAATGCCAGGAAGTCACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGACGAGG ACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGATGGGGCTATGGTTCGGGGGGCTTTGACTACTGGGGCCAG GGAACCTGGTCACCGTCTCCPCA
32	3F5-MICA.2 VH1	MELGLCWIFLVAILEGVQCEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYSMNWVRQAPGKGLE WVSYISYRSRTIYYADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARWGYGSGGFYWGQ GTLVTVSS
33	3F5-MICA.2 VK1	ATGGAACCCAGCGCAGCTTCTCTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAAT TGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCA GGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGG GTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTGCAGTGTATTACT GTGAGCAGTATGGTAGCTCATTCACTTCCGCCCTGGACCAAAGTGGATATCAAA
34	3F5-MICA.2 VK1	METPAQLLFLLLWLPDTTGEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSFTFGPGTKVDIK
35	3F5-MICA.2	TYSMN

[0578]

SEQ ID	설명	서열
	VH1_CDR1	
36	3F5-MICA.2 VH1_CDR2	YISYRSRTIYYADSVKG
37	3F5-MICA.2 VH1_CDR3	WGYGSGGFDY
38	3F5-MICA.2 VK1_CDR1	RASQSVSSSYLA
39	3F5-MICA.2 VK1_CDR2	GASSRAT
40	3F5-MICA.2 VK1_CDR3	QQYSSSFT
41	71C2 VH1	ATGGAGTTGGGACTGAGCTGGATTTTCCTTTTGGCTATTTTAAAGGTGTCCAGTGTGA AGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGTCCCTGAGACTCTC CTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAATAATTATGCCATGCAGTGGGTCCGGCAAGCTCC AGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTACTTGGAAATAGTGATAGCATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCT GCAAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGATTCCCT ATTACTATGGTTCGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTC A
42	71C2 VH1	MELGLEWIFLLAILKGVQCEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNMYAMHWVRQA PGKGLWVSGITWNSDSIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCAKDS VLLWFGGMDVWVGGTTVTVSS
43	71C2 VK1	ATGGAACCCAGCGCAGCTTCTTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATACCACCGG AGAAATGTGTGACGCAGTCTCCAGGCACCTGTCTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCAC CCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTAGCTGGTACCAGCAGAA ACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCC AGACAGGTTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGA GCCTGAAGATTTGCAAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCTCCGTACACTTT TGGCCAGGGACCAAGCTGGAGATCAA
44	71C2 VK1	METPAQLLFLLLWLPDPTTGEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSDFTFLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSFPYPT FGQGTKLEIK
45	71C2 VH1_CDR1	NYAMH
46	71C2 VH1_CDR2	GITWNSDSIGYADSVKG
47	71C2 VH1_CDR3	DSVLLWFGGMDV
48	71C2 VK1_CDR1	RASQSVSSSYLA
49	71C2 VK1_CDR2	GASSRAT
50	71C2 VK1_CDR3	QQYGSPPYPT
58	19G6- MICA.36	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFNMYAMHWVRQAPGEGLEWVALIWDGSKNFYGD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSAEDTAVYYCAREGSGHYWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQT YICNVNHPKSNKTKVDRKVEPKSCDKHTCCPCPAPELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV

[0579]

SEQ ID	설명	서열
	G236A 중쇄 AA	VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPG
59	19G6- MICA.36 G236A 중쇄 NT	cagggtgcaactgggtggagtctgggggagcgtgggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgagcgtctggattcaccttcagtaactatgccatgcaactgggtccgccaggtccagggcagggggtggaatgggtggcacttatatggatgatggaagtaataaaattctatggagactccgtgaaaggccgcttaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagcgccagggacacggctgtgtattactgtgagagaggggaagtgggcaactactggggccagggaaacccgtgtaaccgtctcctcagctagcaccagggcccacgtgcttccccctggcaccctcctcaagagacactctggggcacagcggccctgggtgcctggtcaaggactactccccgaaccggtgacgggtgctggaaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttccccgctgtcctcagctcctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgcccotccagcagcttgggcaaccagaccacatctgcaactggaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttagcccaaatcttgtagcaaaactcacacatgccaccgtgcccagcaactgaaactcctggcgggaccgtcagctctcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctccggaccctgaggtcacatgctgtgtgtggcgtgagccacgaagaccctgaggtcaagtccaactggtacgtggacggcgtggaggtgcaataatgccaagacaagcccggggagggcagctacaacagcagcgtaccgtgtggtcagcgtctccaccgtcctgcaaccagactggctgaaatggcaaggagtaacaagtgaaggctccaacaaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaagccaaggccagccccgagaaacacaggtgtaaccctgcccccatccccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaagcttcatccccagcacatgcctggagtgaggagcaatgggcagcgggaacaactacaagaccacgcctccccgtgctggactccgacggctccttctcctctatagcaagctcaccgtggacaaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcagctcctgctgagctgaggtctgcacaaccactacacgagaagagcctctcctctgccccgggt
60	19G6- MICA.36 경쇄 AA	aigltqspsslsasvgrvritcrasqgissalawyqkpkpkvksliydasslesgvprsfsgsgsdtftltisslqpedefatyccqfnspitfgqtrleikrtvaapsvfi fppsdeqlkshta svvcllnnfyreakvqkwvdnalqsgnsgesvteqskdstyslsstltlskadyekhkyvacevthqglsspvtksfnrgec
61	19G6- MICA.36 경쇄 NT	gccatccagttgaccagctcctcctcctcctgctgcatctgtaggagacagagtaccatcacctgcccggcaagtacagggcatcagcagtgctttagcctggatcagcagaaaaccagggaaagtctcaagtccctgatctatgatgctccagtttgaaagtgggtcccacaggtcagcggcaggtggatctgggacagattcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaactatta ctgtcaacagtttaatagttaccggatcaccttccggcaagggacacagcctggagattaaacgtacgctgctgcaccatctgtctcctctcccgcaatctgatgagcagttgaaacttgaaactgctctgttgtgtgctgctgataaactctctatcccagagagggcaaaagtacagtggaaggtggataacgccccccaatcgggtaactcccaggagagtgctcacagagcaggacagcaaggacagcaccatacagcagcagcaccctgacgctgagcaaaagcagactacagaaaaacaaaagtctacgctgagcaaggtcaccatcagggcctgagctcggccctcacaagagcttcaacaggggagagtggt
62	16A5- MICA.52 중쇄 AA	QVQLVESGGDVVQPGRLSLRSLCAASGFTFSNYNIHWVRQAPGKGLEWVAVIRYDGINKEYYADSVKGRFIISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCASGPPDAFNIWGGTMTVYSSASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSLSSLTQTYICNVNHNKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPCCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPG
63	16A5- MICA.52 중쇄 NT	cagggtgagcctgggtggagtctgggggagcgtgggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgagcgtctggattcaccttcagtaactataacatacactgggtccgccaggtccagggcaagggctgggtggagtgccagtataaaggatgatggaatataaataactatgcaactcctggaaggccgattcatcatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccagggacacggctgtgtattactgtgagagcgggcccctgatgcttttaatactctggggccaaagggaacaatggtaaccgtctctcagctagcaccagggcccacgtcttccccctggcaacctccaagagcaccctctgggggcaagcggccctgggtgctggtcaaggactactccccgaaccgggtgacggtgctggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctccccgctgtctacagctcctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgcccotccagcagcttgggcaaccagacctacatctgcaactggaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagccaaaacttgtgcaaaaactcacatgccaccgtgccagcaactgaaactctggggggaccgtcagctctcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctccggaccctgaggtcaatgagctgggtggagctgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagcccgggaggagcagtaacaacagcagctaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaaccagactggctgaaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagcctcccagccccatcgagaaaaccatctccaagccaaggccagccccgagaaccga

[0580]

SEQ ID	설명	서열
		gggttacaccctgccccatccccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgg tcaaaggcttctatccccagcagacatgocggtggagtgaggagagcaatggggcagccggagacaac taaaagaccacgctcccgtgctggactccgacggctccttctcctctatagcaagctcacggt ggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctccgctgatgatgaggctctgcaca accactacacgcagaaagcctctcctgtccccgggt
64	16A5- MICA.52 경쇄 AA	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQGISSALAWYQKPKGKPKSLIYDASSLESVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLPEDFAVYQCQFNSYPIITFGQGTREIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
65	16A5- MICA.52 경쇄 NT	gccatccagttgaccagctcctcatcctcctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcac ttgccccgcaagtcagggcatcagcagtgctttagcctgggtatcagcagaaaccagggaaagtcc ctaagtcctctgatctatgatgctccagtttgaaagtgggggtccatcaaggttcagcggcaggt ggatctgggacagatttcaactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaactatta ctgtcaacagtttaatagttaaccgatcaccctcggccaagggacacgactggagattaaacgta cgggtgctcaccatctgtcttcatcttccggcatctgatgagcagttgaaactctggaactgcc tctgttctgtgctcctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataa cgccctccaatcgggttaactcccagagagtgctcacagagcaggaacagcagcagcactaca gcctcagcagcaccctgacgctgagcaaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgctgcgaa gtcaccatcagggcctgagctcggccctcacaagagcttcaacaggggagagtg
66	24G11- MICA.54 중쇄 AA	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKLEWLGIIHPGDSYTRYSPSFQ QVTVISADKSI STAYLQWSSLKASDTAIYICAREGIAATFPDYWGQGLTVVTSASTKGPSVFPFL APSSKSTSGGTAALGCLVRDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSSGLYLSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKTHTCPPAPELLEGGPSVFLFPPPKKDTLMISRTEP VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
67	24G11- MICA.54 중쇄 NT	gaggtgacgctggtgacgtctggagcagagtgaaaaagccccgggaggtctctgaagatcctctg taagggttctggatacagcttttaccactactggatcggtgggtgcccagatgccccggaaaag gcctggagtggttggggatcaccatcctggtgactcttataccagatagccccctccttccaa ggccaggtcaccatctcagccgacaagtcacatcagcaccgctacctgacgtggagcagcctgaa ggcctcggacaccgcatatatactgtgagagaggggtatagcagcaactcctttgactact ggggcagggaaaccctggtcaccctctcctcagctagcacaagggcccacggctctccccctg gcaccctcctccaagagacacctctgggggacacgcccctgggtcgcctgggtcaaggactact ccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctccccg ctgtctacagtcctcaggactctactcctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagctg ggcaccagacctaactctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacccaaggtggacaagagaggt tgagcccaaatctgtgacaaaactcacaacatgcccaacgctgcccagcactgaaactcctggggg gaccctcagcttctcctctcccccaaaaacccaaggacaacctcatgatctcccgaccctgag gtcacatgctggtggtggagctgagccagaaagacctgaggtcaagttcaactggtactgga cggcgtggaggtgcaataatgcaagacaagccccgggagggagcagtaacaacagcagctaccgtg tggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccagactggctgaatggcaaggagtaacaagtgcaaggtc tccaacaaaaccctcccagccccatcgagaaaacctctccaagccaaagggcagccccgaga accacaggtgtacaccctgccccatccccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacct gctgggtcaaaagcttctatcccagcagacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggag aacaactacaagaccagcctcccgtgctggactccagcggctcctctcctctatagcaagct caccgtggacaagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgctgatgatgaggctc tgacaaccaactacacgcagaaagcctctcctgtccccgggt
68	24G11- MICA.54 경쇄 AA	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGS GSGTDFTLTISSLEPEDFAVYQCQRSNWPPTFGQGTKEIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
69	24G11- MICA.54 경쇄 NT	gaaattgtgtgacacagctctccagccaccctgtcctttgtctccaggggaaagagccaac cctctcctgcagggccagtcagagtgtagcagctacttagcctgggttccacagaaac ctggccaggtcctccaggtcctcctatctatgatgcatccaacagggccactggcatccca ggcaggttcagtgagcagtggtctgggacagacttactctcaccatcagcagcctaga cctggaagattttgcaagttattactgtcagcagcgtagcaactggcctccgacgtctc gccaagggaccaaggtggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtctctcatctc ccgcatctgatgagcagttgaaatctggaactgctctgttgtgtgctgctgataa ctctatcccagagggccaaagtacagtggaaggtggataaacgcccctccaatcgggt actcccagggaggtgctcacagagcaggacagcaaggacagcactacagcctcagcagc

[0581]

SEQ ID	설명	서열
		accctgacgctgagcaaacgagactacgagaaacacaagtctacgcctgccaagtcac ccatcaggccctgagctcgcccgtcacaagagcttcaacaggggagagtggt
70	3F5-MICA.2 중쇄 AA	evqlvesggglvqpggslrlscaasgftfstymnwvrqapgkglewvysisyrstiy yadsvkgrftisrdnarnsllylqmnslrldedtavyyicarwyygsggfdywgqtlvtvs sastkqpsvflplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlq ssglyslsvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkrvepkscdkthtccppcappel lggpsvflfppkpkdtlmsirtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpre eqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskagqprepqvylp psreemtknqvsltclvkgyfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysklt vdksrwqqgnvfscsvmhealhhnytqkslslspg
71	3F5-MICA.2 중쇄 NT	gaggtgcaactggtggaatctgggggagcttggtacagcctggggggtccctgagact ctcctgtgcagcctctggattcaccttcagtaacctatagcatgaactgggtccgccagg ctccaggggaaggggctggagtggtttcatacattagttatcgtagtgcgtaccataatac taagcagactctgtgaaggccgattcaccatctccagagacaatgccaggaactcact gtatctgcaaatgaacagcctgagagacgaggacacggctgtgtattactgtgcgagat ggggctatggttcgggggctttgactactggggccagggaaacctggtcaccgtctcc tcagctagcacaaggcccatcggtcttccccctggcaccctctcaagagcacctc tgggggacacagcggccctgggtcctgggtcaaggactactccccgaacctgtgacgg tgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgacctgcccctccagcagcttgggcac ccagacctacatctgcaactggaatcaagcccagcaaccaccaaggtggacaagagag ttgagcccaaatcttgtagcaaaaactcacacatgccaccctgcccagcactgaactc ctggggggaccgtcagctcttctcttcccccaaaaacccaaggacacctcatgatctc ccgacccttgaggtcacatgctggtggtggagctgagccacgaagaccctgaggtca agtccaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagcaaaaagccggggag gagcagtaacaacagcagctaccctgtggtcagcgtcctcaccgtcctgaccaggactg gctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcg agaaaaacatctccaagccaaaagggcagccccgagaaaccacaggtgtacacctgccc ccatcccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaaagctt ctatcccagcagatcgccgtggagtgaggagagcaatgggagcgggagaaactaca agaccaagcctcccgtgctggactccgacggctcctctcttctctatagcaagctcacc gtggacaagagcaggtggcagcaggggaaactcttctcatgctccgtgatgcatgaggc cttgcaacaacctacacgcagaagagcctctccctgtccccgggt
72	3F5-MICA.2 경쇄 AA	eivltqspgtlslspgeratlscrasqsvssylawyqkpgqaprlliygassratgi pdrfsgsgtdftltisrlepedfavyyccqygssftfpgptkvidikrtvaapsvfif ppsdeqlksgtasvcllnnfypreakvqkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslss tltlskadyekhkhvacevthqglsspvtksfnrgec
73	3F5-MICA.2 경쇄 NT	gaaattgtgtgacgcagctccaggcaccctgtctttgtctccaggggaaagagccac cctctctgcagggccagtcagagtgtagcagcagctacttagcctggtaccagcaga aacctggccaggtccocaggtcctcatctatggtgcatccagcagggccactggcatc ccagacaggttcagtgagcagtggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagact ggagcctgaagatthtgcagtgattactgtcagcagtatggtagctcattcactttcg gcctgggaccaaaagtgatatacaacgtacggtggtgcaacctctgtcttcatctc ccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataa cttctatcccagagagggccaaaagtagcagtggaaggtggataacgcctccaatcgggta actcccagagaggtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagc acccctgagcgtgagcaagcagactacgagaaacacaagctctacgcctgccaagtcac ccatcaggccctgagctcgcccgtcacaagagcttcaacaggggagagtggt
51	인간 MICA	MGLGPVFLLAGIFPFAPPAAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLAEVHLDGQPFRLRY DRQKCRAPQGQWAEVDVGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEI RVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFSLQNLETEEWTVPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTK THYHAMHADCLQELRRLYLSGVVLRRTVPPMVNVRSEASEGNITVTCRASSFYPRNII LTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDNGTYQTWVATRICRGEQRFTCYMEHSGNHSTHPV PSGKVLVLSHWQTFHVSVAAGCCYFCYYYFLCPLL
109	MICA1 (MICA 변이체)	MGLGPVFLLAGIFPFAPPAAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLTEVHLDGQPFRLR C DRQKCRAPQGQWAEVDVGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEI RVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFSLQNLETKEWTPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTK

[0582]

SEQ ID	설명	서열
		THYHAMHADCLQELRRYLKSGVVLRRTPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDNGTYQTWVATRICQGEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHVSAAAAAIFV I I IFYVRCCCKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSDLGSTGSTEGA
110	MICA*002	MGLGPVFLLLAGIFPFAPPAAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLAEVHLDGQPFLRCDRQKCRAKPQQQWAEVDLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGEFLFSLQNLETEEWTMPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLKSGVVLRRTPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDNGTYQTWVATRICQGEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHVSAAAAAIFV I I IFYVRCCCKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSDLGSTGSTEGT
111	MICA*004	MGLGPVFLLLAGIFPFAPPAAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQQQWAEVDLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGEFLFSLQNLETEEWTVPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVVLRRVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNITLSTRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDNGTYQTWVATRICQGEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHVSAAAAAIFV I I IFYVRCCCKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSALGSTGSTEGA
112	MICA*008	MGLGPVFLLLAGIFPFAPPAAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQQQWAEVDLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGEFLFSLQNLETEEWTVPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESGVVLRRTPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIIITWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDNGTYQTWVATRICRGEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHVSAAAAAIFV I I IFYVRCC
113	MICA*009	MGLGPVFLLLAGIFPFAPPAAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQQQWAEVDLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGEFLFSLQNLETEEWTVPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVVLRRTPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNITLSTRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDNGTYQTWVATRICQGEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHVSAAAAAIFV I I IFYVRCCCKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSALGSTGSTEGT
114	MICA*010	MGLGPVFLLLAGIFPFAPPAAAAEPHSLRYNLTVLSWDGVSQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQKCRAKPQQQWAEVDLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGEFLFSLQNLETEEWTVPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLESSVVLRRTPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIIITWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDNGTYQTWVATRICRGEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHWQTFHVSAAAAAIFV I I IFYVRCCCKKTSAAEGPELVSLQVLDQHPVGTSDHRDATQLGFQPLMSALGSTGSTEGA
115	MICA.20 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISYRSRTIY YADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNLSRDEDTAVYYCARWGYGSGGFYWGQGLVTVVSS
116	MICA.20 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGQGTKVEIK
117	MICA.21 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISYRSRTIY YADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNLSRDEDTAVYYCARWGYGSGGFYWGQGLVTVVSS
118	MICA.21 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGQGTKLEIK
119	MICA.22 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISYRSRTIY YADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNLSRDEDTAVYYCARWGYGSGGFYWGQGLVTVVSS
120	MICA.22 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
121	MICA.38 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISYRSRTIY YADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNLSRDEDTAVYYCARWGYGSGGFYWGQGLVTVVSS

[0583]

SEQ ID	설명	서열
122	MICA.38 VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYIGSSSFTFGPGTKVDIK
127	16A5- MICA.52 VK2 NT	atggacatgagggtccccgctcagctcctgggcttctgctgctcctggcctcccaggtgc cagatgtgccatccagttgaccocagctcctcctcctcctgctcgtcctgtaggagacag agtccaccatcacttgcggggcaagtccagggcattagcagtgctttagcctggtatcagca gaaaccagggaaagctcctaagctcctgactctatgagcctccagtttgaaagtggggt cccatcaaggttcagcggcagtgatctgggacagatttactctcaccatcagcagcct gcagcctgaagatttgcacttattactgtcaacagtttaatagttaccattcacttt cggcctgggaccaaagtggatatacaaa
128	16A5- MICA.52 VK2 AA	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLASVGDRTITCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNISYPTF FGPGTKVDIK
130	19G6- MICA.36 중쇄 AA (236G)	QVQLVESGGGVVQPGSRSLRLSCAASGFTFSNYAMHWVRQAPGEGLEWVALIHWYDGSNKFYGD SFKVGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLSAEDTAVYYCAREGSGHYWQGTLTVVSSASTKGPSVFLP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQT YICNVNHPKSTKVKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
131	19G6- MICA.36 중쇄 NT (236G)	caggtgcaactggtgagctctgggggagggcgtggtccagcctgggaggtccctgagact ctcctgtgcagcgtctggattcaccttcagtaactatgccatgcactcgggtccgccaag ctccagcggaggggctggaatgggtggcacttatatggatgatggaagtaataaattc tatggagactccgtgaagggcctctcaccatctccagagacaattccaagaacacgct gtatctgcataatgaaacgctgagcgcgaggaacacggctgtgattactgtgagagag agggaggtgggcaactactggggccagggaaacctggtcaccgtctcctcagctagcacc aagggcccatcgtctctcccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggacagc ggcctgggctgctggtcaaggactacttcccgaaccggtgacggtgtcgtggaact cagggcctgaccagcggcgtgacacacctcccggctgtcctacagctcctcaggaactc tactcctcagcagcgtggtgaccgtgcctccagcagcttgggcaccagacctacat ctgcaactggaatcacaagcccagcaaaccaaggtggacaagagagttgagcccaaat ctgtgcacaaaactcacacatgccaccgtgcccagcactgaaactcctggggggacccg tcagtctctctctcccccaaaaaccaaggacacctcatgatctccgggacccctga ggtcacatgctggtggtgagcgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggt acgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagcaaaagccgggaggagcagtaaac agcagtaaccgtggtgagcgtcctcaccgtcctgaccaggaactggctgaatggcaa ggagtacaagtcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatct ccaagggcaaaagggcagccccagaaaccaggtgtacacctgccccatcccgggag gagatgacccaagaaccaggtcagcctgacctgctgctgctcaaggtcttatcccagcga catgcctggtgagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccagcctc ccgtgctggactccgacggctccttctcctctatagcaagctcaccgtggacaagagc aggtggcagcaggggaacgtctctcctgctcctgatgcatgaggtctctgcacacca ctacacgcagaagagcctctcccctgccccgggt

[0584]

[0585]

본 개시내용의 실시는, 달리 나타내지 않는 한, 관련 기술분야의 통상의 기술 내인 세포 생물학, 세포 배양, 분자 생물학, 트랜스제닉 생물학, 미생물학, 재조합 DNA 및 면역학의 통상적인 기술을 사용할 것이다. 이러한 기술은 문헌에 상세하게 설명되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook et al., ed. (1989) Molecular Cloning A Laboratory Manual (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press); Sambrook et al., ed. (1992) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY); D. N. Glover ed., (1985) DNA Cloning, Volumes I and II; Gait, ed. (1984) Oligonucleotide Synthesis; Mullis et al. U.S. Pat. No. 4,683,195; Hames and Higgins, eds. (1984) Nucleic Acid Hybridization; Hames and Higgins, eds. (1984) Transcription And Translation; Freshney (1987) Culture Of Animal Cells (Alan R. Liss, Inc.); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press) (1986); Perbal (1984) A Practical Guide To Molecular Cloning; the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Miller and Calos eds. (1987) Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells, (Cold Spring Harbor Laboratory); Wu et al., eds., Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155; Mayer and Walker, eds. (1987) Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Academic Press, London); Weir and Blackwell, eds., (1986) Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV; Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986);); Crooks, Antisense drug Technology: Principles, strategies and applications, 2nd Ed. CRC Press (2007) 및 Ausubel et al. (1989) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.)을 참조한다.

[0586]

하기 실시예는 예시로서 제한 없이 제공된다.

[0587]

실시예

[0588]

실시예 1. 항체 생성 및 스크리닝

[0589]

인간 IgG 트랜스제닉 (Hco7:01 [J/K] (BALB/c)) 마우스를 전장 인간 MICA/B로 형질감염된 CHO 세포로 면역화하였다. 면역화된 마우스로부터의 비장 세포를 SP2/0 융합 파트너에 융합시켰다. 하이브리도마 상청액을 먼저

HTRF 검정을 사용하여 인간 IgG 항체의 존재에 대해 스크리닝하였다. 이어서, ELISA에서 hMICA에 대한 결합, 이어서 인간 MICA/B의 다양한 대립유전자를 발현하는 CHO 세포를 사용한 FACS 검정에 의해 항원 특이성을 결정하였다. 이들 FACS-양성 mAb를 기능적 검정에서 친화도 및 성능에 대해 추가로 특징화하였다. 하이브리도마 3F5, 16A5, 71C2, 19G6, 및 24G11이 대표적인 항체 클론이었다.

[0590] 실시예 2. MICA/B 항체의 재조합 발현

[0591] 본원에 기재된 항-MICA/B 항체는 관련 기술분야에서 통상적으로 이용가능한 클로닝 및 재조합 발현 기술을 사용하여 발현시킬 수 있다. 예를 들어, 총 RNA를 하이브리도마 클론 3F5로부터 제조하고, VH 및 VK cDNA를 제조하였다. 항체의 중쇄 (VH) 및 경쇄 (VL)의 가변 영역을 클로닝하고 서열분석하였다 (각각 도 4a 및 4c). 3F5 VH 서열 (서열식별번호: 31)을 오스테오넥틴 신호 서열 및 인간 IgG.1f 불변 영역을 함유하는 벡터 pICOFSCpurG 내로 클로닝하여, 플라스미드 pICOFSCpurG(MICA.2)를 생성하였다. 3F5 VL 서열 (서열식별번호: 33)을 오스테오넥틴 신호 서열 및 인간 카파 불변 영역을 함유하는 벡터 pICOFSCneoK 내로 클로닝하여, 플라스미드 pICOFSCneoK(MICA.2)를 생성하였다. 플라스미드 pICOFSCpurG(MICA.2) 및 pICOFSCneoK(MICA.2)를 CHO-S 세포 내로 공동-형질감염시키고, 안정한 클론을 선택하고, 재조합 발현에 대해 스크리닝하였다. 3F5의 재조합 항체를 "MICA.2"로 지칭한다. 항체의 용해도를 개선시키기 위해 MICA.2의 VL, 예를 들어 CDR3에서 돌연변이를 만들었다. 이러한 MICA.2의 돌연변이체는 MICA.20 (VH: 서열식별번호:115; VL: 서열식별번호:116), MICA.21 (VH: 서열식별번호:117; VL: 서열식별번호:118), MICA.22 (VH: 서열식별번호:119; VL: 서열식별번호:120), MICA.38 (VH: 서열식별번호:121; VL: 서열식별번호:122), MICA.39 (VH: 서열식별번호:123; VL: 서열식별번호:124) 및 MICA 40 (VH: 서열식별번호:125; VL: 서열식별번호:126)을 포함한다. 이들 돌연변이체는 MICA.2의 VL 내의 위치 96 또는 대략적인 위치에서 돌연변이 또는 삽입을 함유한다.

[0592] 하이브리도마 항체 19G6 (MICA.36; 각각 VH 및 VL에 대해 도 1a 및 1c 참조), 16A5 (MICA.52 (각각 VH 및 VL에 대해 도 2a 및 2c 참조) 및 MICA.53) 및 24G11 (MICA.54; 각각 VH 및 VL에 대해 도 3a 및 3c 참조)의 CDR 및/또는 가변 도메인을 포함하는 항체를 또한 숙주 세포에서 재조합적으로 발현시켰다. 재조합 항체는 MICA.36 (19G6), MICA.52 및 MICA.53 (16A5), 및 MICA.54 (24G11)와 같은 명칭으로 본원에서 지칭된다. 이들 재조합 항체 중 임의의 것을 그의 명칭, 즉 항체 MICA.2, MICA.20, MICA.21, MICA.22, MICA.36, MICA.38, MICA.39 및 MICA.40에 의해 언급하는 경우에, 어떠한 특정 불변 영역을 언급하는 것은 아니며, MICA.52, MICA.53, 및 MICA.54는 임의의 목적하는 불변 영역을 가질 수 있다. MICA.36의 중쇄 불변 영역에 G236A 돌연변이 (EU 넘버링에 의함)를 만들어 항체 MICA.36-G236A를 생성하였다. 바이오와, 인크.(BioWa, Inc.) (뉴저지주 프린스턴)로부터 입수가 가능한 FUT8-녹아웃 CHO 세포 (포텔리젠트(POTELLIGENT)® 세포) 내로 MICA.36-G236A 서열을 클로닝함으로써 비푸코실화된 항-MICA/B 항체 MICA.36-IgG1-NF-G236A를 발현시켰다.

[0593] 실시예 3. 표면 플라즈몬 공명에 의해 결정된 인간 MICA 대립유전자에 대한 항-MICA/B 항체의 결합 친화도

[0594] 인간 MICA 대립유전자에 대한 항-MICA/B 항체의 동역학 및 친화도를 비아코어 T200 기기 상에서 37°C에서 pH 7.4 구동 완충제 (0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 0.05% v/v 계면활성제 P20, 1 mg/mL BSA)를 사용하여 결정하였다. 항-MICA/B 항체를 α-인간 Fc 표면에 포획하였다. MICA 대립유전자 항원을 높은 나노몰 농도 및 낮은 나노몰 농도 (달리 나타낸 것을 제외하고는 500 nM 및 50 nM)로 주사하였다. 항체 MICA.36 및 MICA.38 (경쇄 내의 잔기 95 및 96 사이에 Ser이 삽입된 MICA.2)에 대한 결과를 하기 표 2에 제시한다. MICA.36 및 MICA.38 항체의 MICA 대립유전자의 동역학적 피트를 도 6a-6h에 제시한다.

[0595] 표 2. SPR에 의한 MICA 대립유전자에 대한 항체 친화도.

항체	MICA 대립유전자 (항원)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
MICA.36hIgG1	MICA*002	2.86E+04	1.61E-02	> 250 (>½ 최고 분석물 농도)
	MICA*004	4.62E+04*	6.37E-04*	6.2-13.8
		9.52E+04	5.91E-04	
	MICA*008	1.20E+05*	6.06E-04*	4.0-5.1
		1.40E+05	5.65E-04	
MICA*009	5.41E+04*	6.42E-04*	8.6-11.9	
MICA.38_3F5_S95k	MICA*002	1.03E+06	1.27E-01	123
	MICA*004	4.10E+05	4.26E-02	104
	MICA*008	6.00E+05	7.80E-02	130
	MICA*009	3.97E+05	5.02E-02	126

[0596]

[0597] * 이들 결과는 100 nM 및 10 nM 항원 농도를 사용하여 수득하였다.

[0598] 인간 MICA 대립유전자 (huMICA-his 대립유전자 *002, *004, *008, 및 *009)에 대한 항-MICA/B 항체 MICA.2, 19G6, 16A5, 및 71C2의 동역학 및 친화도를 또한 비아코어 3000 기기 상에서 하기 조건을 사용하여 결정하였다:

[0599] - 구동 완충제: HES-EP 구동 완충제

[0600] - 칩: CM5 단백질 G 칩 Fc1: 블랭크. Fc2- 4: ~ 200Rus

[0601] - Ab: 5ug/mL, 10uL @ 10uL/분

[0602] - Ag 결합: 5분 회합, 7분 해리 @ 25uL/분,

[0603] - 재생: 글리신 1.7, 10uL @ 100uL/분, 이어서 HES-EP에 의한 60초 세척

[0604] 비아코어 분석의 결과를 하기 표 3에 나타낸다. MICA.2, 19G6, 16A5, 및 71C2의 MICA 대립유전자의 동역학적 피트를 도 6i-6l에 제시한다.

[0605] 표 3: SPR에 의한 MICA 대립유전자에 대한 항체 친화도

항체	MICA 대립유전자 (항원)	KD (nM)	ka (1/Ms)	kd (1/s)
MICA.2	MICA*002	27.5	3.80	10.4
	MICA*004	54.6	5.21	28.4
	MICA*008	40.5	6.09	24.6
	MICA*009	61.5	3.77	23.2
19G6	MICA*002	219	0.37	8.14
	MICA*004	9.78	2.34	2.28
	MICA*008	5.23	3.58	1.87
	MICA*009	13.7	1.57	2.15
16A5	MICA*002	147	0.71	10.4
	MICA*004	6.89	2.50	1.72
	MICA*008	4.55	3.79	1.72
	MICA*009	12.9	1.66	2.15
71C2	MICA*002	3010	0.03	11.6
	MICA*004	262	1.15	30.3
	MICA*008	39.9	2.72	10.9
	MICA*009	1400	0.23	32.5

[0606]

[0607] 실시예 4. 스캐차드 분석에 의해 결정된 인간 및 시노 MICA/B에 대한 항-MICA/B 항체의 결합 친화도

[0608] MICA.36 항체를 IODO-GEN® 고체-상 아이오딘화 시약 (1,3,4,6-테트라클로로-3a-6a-디페닐클리코우릴; 피어스 카탈로그 28601)을 사용하여 ¹²⁵I-Na (1 mCi; 퍼킨엘머(PerkinElmer) 카탈로그 NEZ033H001 MC)로 방사성아이오딘화하였다. 과량의 아이오다이드는 탈염 칼럼 (피어스 카탈로그 43243)을 사용하여 제거하였다. 표지된 항체의 분획을 수집하고, 위자드(Wizard) 1470 감마 카운터 상에서 방사능을 분석하였다. 각각의 분획에서 ¹²⁵I-MICA.36 항체 농도를 인비트로젠의 큐비트(Qubit)® 형광계를 사용하여 계산하였다. 방사성순도는 피크 단백질 및 방사성 분획의 박층 크로마토그래피 (과인스타 테크놀로지(Pinestar Technology) 카탈로그 151-005)에 의해 확립하였다.

[0609] 세포를 ¹²⁵I-MICA.36의 적정과 함께 인큐베이션함으로써 786-0 및 SW480 세포, 뿐만 아니라 인간 MICA-, 인간 MICB- 또는 시노 MICA/B-형질도입된 CHO 세포 상에서 내인성으로 발현된 인간 MICA/B에 대한 방사성아이오딘화된 MICA.36 항체 결합을 입증하였다. 비특이적 결합은 100배 물 과량의 비표지된 항체의 적정의 존재 하에서의 결합에 의해 결정하였고, 이를 이어서 총 분당 카운트 (CPM)로부터 차감하여 특이적 결합을 계산하였다. ¹²⁵I-MICA.36 농도 대 CPM의 선형 표준 곡선을 사용하여 특이적 활성, 결합된 ¹²⁵I-MICA.36의 최대 nM을 외삽하고, 그

에 의해 세포당 수용체 수를 계산하였다.

[0610] 표준 곡선에서 연관 CPM에 대해 항체 적정을 플롯팅함으로써 아이오딘화 MICA.36의 특이적 활성을 결정하였다 (도 7a). 특이적 활성이 ¹²⁵I-MICA.36 1 nM에서 164,214 CPM인 것으로 계산되었다. 세포당 수용체의 수를 하기 식에 의해 계산하였다: (Bmax) x (아보가드로 수) x (검정 부피) / 웰당 세포의 #.

[0611] 결과는 MICA.36 항체가 CHO 세포 상에서 과다발현된 인간 MICA*008 (도 7b) 및 MICB*005 (도 7c)에 대해 약 1-2 nM의 친화도, 과다발현된 시노 MICA/B에 대해 약 5-11 nM의 친화도 (도 7d 및 7e), 및 786-0 (도 7f) 및 SW480 (도 7g) 세포 상에서 내인성으로 발현된 인간 MICA/B에 대해 약 0.4 nM의 친화도를 갖는다는 것을 보여준다.

[0612] 실시예 5. 세포 표면 인간 MICA/B에 대한 항-MICA/B 항체의 결합 및 유동 세포측정법에서의 시노물구스 MICA/B 분자에 대한 교차-반응성

[0613] MICA.36-IgG1-NF-G236A mAb의 연속 희석물을 인간 MICA/B 공통 대립유전자로 형질도입된 CHO 세포 또는 MICA/B를 내인성으로 발현하는 인간 종양 세포주와 함께 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 2회 세척하고, 세포 결합된 항체를 형광단과 접합된 2차 항-인간 항체를 사용하여 검출하였다. FACS칸토II 또는 FACS 포르테사 X-20 유동 세포측정기를 사용하여 유동 세포측정 분석을 수행하였다. 세포에 결합된 MICA.36-IgG1-NF-G236A mAb의 기하 평균 형광 강도를 플로우조 분석 소프트웨어를 사용하여 결정하였다. 용량-반응 곡선을 생성하고, 프리즘 소프트웨어를 사용하여 EC50을 계산하였다.

[0614] 시노물구스 ("시노") MICA/B 분자에 대한 교차-반응성을 측정하기 위해, MICA.36-IgG1-NF-G236A mAb의 연속 희석물을 2종의 시노 MICA/B 클론으로 형질감염된 CHO 세포와 함께 인큐베이션하였다. 세포-결합된 항체를 형광단과 접합된 2차 항-인간 항체를 사용하여 검출하였다. 포르테사 X-20을 사용하여 유동 세포측정 분석을 수행하였다. 과편 및 사멸 세포를 배제하기 위해 FSC-SSC-7AAD 파라미터에 대해 게이팅한 후, MICA.36-IgG1-NF-G236A mAb의 평균 형광 강도를 플로우조 분석 소프트웨어를 사용하여 결정하였다.

[0615] 유동 세포측정 실험에서, 인간 MICA/B 공통 대립유전자를 이소성으로 발현하는 CHO 세포에 대한 19G6 mAb의 적정은 천연 인간 MICA/B 분자에 잘 결합된 19G6을 보여주었다. 데이터를 도 8a 및 8b에 나타낸다.

[0616] CHO 세포 내로 형질감염된 2종의 시노 MICA/B 클론에 대한 19G6의 결합에 의해 시노물구스 원숭이 MICA/B에 대한 19G6의 교차-반응성이 입증되었다. 유동 세포측정 실험에서, 19G6은 CHO-시노 MICA 클론 #4 및 CHO-시노 MICA 클론 #6에 잘 결합하였다. 하나의 대표적인 실험으로부터의 데이터를 도 8c에 제시한다. EC50은 시노 클론 #4의 경우 1.08 nM이었고, 시노 클론 #6의 경우 22.02 nM이었으며, 이는 19G6이 시노 MICA/B에 인간 MICA/B와 유사한 효력으로 결합한다는 것을 나타낸다.

[0617] MICA.36-IgG1-NF-G236A는 다양한 인간 종양 세포주 상에서 내인성으로 발현된 MICA/B에 결합하였다 (도 8b). MICA 대립유전자 (괄호 안) 786-0 (*008), HeLa (*008), A2058 (*008/*018), 및 RPMI-8226을 발현하는 인간 종양 세포주에 대한 결합에 대한 EC50 값은 각각 1.37 nM, 1.76 nM, 5.4 nM 및 3.90 nM이었다.

[0618] 다른 항-MICA/B 항체, 예를 들어 24G11, 71C2, 16A5 (#1 및 #2는 동일한 클론으로부터의 2개의 하이브리도마 세포주로부터 유래됨)를 유사한 방법을 사용하여 시험하였다 (하기 표 4 및 5) (도 8d-8h).

[0619] 표 4: 공통 인간 MICA/B 대립유전자 및 시노 MICA/B에 대한 항-MICA/B 항체의 EC50 (nM)

Ab	*002	*004	*008	*009	*010	MICB	시노#4	시노#6
MICA.2	5.367	2.938	2.138	1.56	6.912	5.996	1.967	4.011
24G11	1065	517.5	247.7	496.9	722.5	262.2	394.5	330.6
71C2	264.3	26.21	10.03	10.15	80.01	9.813	23.43	231.7
19G6	151.7	11.39	9.229	8.21	18.48	1.826	1.076	22.02
16A5 (#1)	25.32	1.043	2.219	0.9019	15.15	8.159	0.856	9.256
16A5 (#2)*	613.6	65.25	394.6	122.1	246.5	21.62	2.384	13.77

[0620]

[0621] 표 5: 인간 종양 세포주 상에서 내인성으로 발현된 MICA/B에 대한 항-MICA/B 항체의 EC50 (nM)

Ab	FACS EC50 (nM)			
	786-O	A2058	HeLa	RPMI-8226
MICA.2	4.951	2.609	1.738	41.89
24G11	146.7	260.7	192.3	103.9
71C2	13.75	33.54	10.15	36.92
19G6	1.369	5.394	1.756	3.891
16A5 (#1)	2.484	7.685	3.761	7.998
16A5 (#2)	11.63	10.95	16.2	2.442

[0622]

[0623] 실시예 6. 항-MICA/B 항체의 비닝

[0624] 비닝 실험을 옥텟 HTX 기기 상에서 25°C에서 HEPES 완충 염수 (10mM HEPES pH 7.4, 150mM NaCl, 0.05% v/v 계면활성제 P20, 및 1 mg/mL BSA) 중에서 수행하였다. 항-MICA/B 항체 및 NKG2D-mFc를 항-Fc 팁 상에 포획하고, 나머지 포획 부위를 과량의 음성 대조군 IgG로 차단하였다. 재조합 가용성 MICA (대립유전자 8)를 결합시키고, 항-MICA/B 항체의 후속 결합 ("샌드위칭")을 시험하였다.

[0625] 시험된 항체는 2종의 비-중첩 에피토프 빈에 속하였다. 각각의 빈의 구성원은 MICA에 동시에 결합할 수 없지만 (중첩 에피토프를 나타냄), 상이한 빈의 구성원은 동시에 결합할 수 있다.

[0626] 비닝 실험의 결과를 표 6에 제시한다. 항체 MICA.2, MICA.38, MICA.39, 및 MICA.40은 동일한 에피토프 빈에 존재하였다. 항체 24G11 (MICA.54) 및 MICA.36은 제2의 비-중첩 빈을 형성하였다. 이들 항체는 MICA에 대한 NKD2D 결합을 차단하지 않는다.

[0627] 표 6. 항-MICA/B 항체의 비닝.

리간드 (Ab)	MICA.2	MICA.38	MICA.39	MICA.40	24G11	MICA.36
MICA.2	0	0	0	0	1	1
MICA.38	0	0	0	0		1
MICA.39	0	0	0	0		1
MICA.40	0	0	0	0		1
24G11	1	1	1	1	0	0
MICA.36	1	1	1	1	0	0

[0628]

[0629] ("0" = 동시 결합 없음; "1" = 동시 결합)

[0630] 실시예 7. HDX에 의한 에피토프 맵핑

[0631] 수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)을 정상 및 고해상도 모드 둘 다 하에서 사용하여 mAb MICA.2, MICA.39, MICA.40, MICA.36 NF G236A 및 MICA.36에 의해 MICA의 결합 에피토프를 프로빙하였다.

[0632] HDX-MS는 백본 아마이드 수소 원자의 중수소 교환의 속도 및 정도를 모니터링함으로써 용액 중의 단백질 입체형태 및 입체형태적 역학을 프로빙한다. HDX의 수준은 백본 아마이드 수소 원자의 용매 접근성 및 단백질 수소 결합에 좌우된다. HDX 시 단백질의 질량 증가는 MS에 의해 정확하게 측정될 수 있다. 이러한 기술이 효소적 소화와 쌍을 이룰 경우, 펩티드 수준에서의 구조 특색이 해상될 수 있고, 이는 내부 폴딩된 것으로부터 표면 노출된 펩티드의 구별을 가능하게 할 수 있다. MS에 의한 선택된 펩티드 영역에 대한 기체-상 단편화의 부가는 아미노산 수준에서 고해상도 HDX 정보를 제공한다. 전형적으로, 중수소 표지화 및 후속 켄칭 실험을 수행한 다음, 효소적 소화, 펩티드 분리 및 MS 분석을 수행한다.

[0633] 에피토프 맵핑 실험 전에, 비-중수소화 실험을 수행하여, 사내 생성된 인간 MICA-His 태그 (대립유전자 08, 15 μM)의 재조합 전장 세포의 도메인 (ECD), 및 MICA 및 mAb의 단백질 복합체 (1:1 몰비)에 대한 공통 펩티드의 목록을 생성하였다. HDX-MS 실험에서, 5 μL의 각각의 샘플 (MICA 또는 mAb를 갖는 MICA)을 55 μL의 D₂O 완충제 (10 mM 포스페이트 완충제, D₂O, pH 7.0) 중에 희석하여 표지화 반응을 개시하였다. 반응을 상이한 시간 동안 수행하였다: 20초, 1분, 10분 및 240분. 각각의 표지화 반응 기간의 말미에, 켄칭 완충제 (8M 우레아 중 1M

TECP, pH 2.5, 1:1, v/v)를 첨가하여 반응을 켜고, 켜진 샘플 50 μL를 분석을 위해 워터스(Waters) HDX-MS 시스템에 주입하였다. 공통 펩신 펩티드의 중수소 흡수 수준을 MICA/B mAb의 부재/존재 하에 모니터링 하였다. 고해상도 HDX 실험의 경우, MICA 및 MICA.36 항체의 Fab를 갖는 MICA 사이의 차등 HDX를 모니터링하였고, MICA.36 항체 결합의 Fab 상에서 유의한 HDX 감소를 나타내는 MICA 내의 펩티드 영역을 MS/MS에 의해 추가로 단편화하였다. 아미노산 잔기의 중수소 흡수 수준을 MICA.36의 Fab의 부재/존재 하에 모니터링하였다.

[0634] MICA 내의 MICA.2 (도 9a), MICA.39 (도 9b), 및 MICA.40 (도 9c)에 대한 HDX-MS 데이터 분석은 모든 3개의 mAb가 하기 MICA의 2개의 영역으로 구성된 동일한 결합 에피토프를 갖는다는 것을 나타낸다:

[0635] 영역 1: ²⁰¹LRRTVPPMVNTRSEASEGN²²⁰ (서열식별번호: 56)

[0636] 영역 2: ²³⁸TWRQDGVSLSHDTQQ²⁵² (서열식별번호: 57)

[0637] 상대 중수소 흡수 차이에 기초하면, 영역 2는 중수소 흡수에서 가장 유의한 변화를 갖는다.

[0638] MICA 내의 MICA.36 NF G236A 및 MICA.36에 대한 HDX-MS 데이터 분석은 둘 다의 분자가 MICA의 3개의 영역으로 구성된 동일한 에피토프를 갖는다는 것을 나타낸다 (도 9d 및 9e). 푸코스의 제거 및 G236A 돌연변이는 결합 에피토프에 어떠한 영향도 미치지 않는다.

[0639] 영역 1: ¹⁵⁰WTVPQSSRAQTLAM¹⁶³ (서열식별번호: 52)

[0640] 영역 2: ²³¹YPRNIIILT²³⁸ (서열식별번호: 53)

[0641] 영역 3: ²⁵³WGDVLPDNGTYQTW²⁶⁷ (서열식별번호: 55)

[0642] 상대 중수소 흡수 차이에 기초하면, 3개의 펩티드 영역은 영역 3 > 2 > 1로 등급화될 수 있고, 영역 3은 중수소 흡수에서 가장 유의한 변화를 갖는다.

[0643] 이러한 HDX 연구는 MICA.2의 안정화 변이체 (MICA.39 및 MICA.40)가 MICA.2와 동일한 에피토프 맵을 유지하였음을 나타낸다. MICA 상의 MICA.36의 결합 에피토프는 ¹⁵⁰WTVPQSSRAQTLAM¹⁶³ (서열식별번호: 52), ²³¹YPRNIIILT²³⁸ (서열식별번호: 53) 및 ²⁵³WGDVLPDNGTYQTW²⁶⁷ (서열식별번호: 55)과 같은 불연속 결합 영역을 함유하는 것을 특징으로 하였고, 푸코스 및 G236A 돌연변이의 제거는 결합 에피토프에 어떠한 영향도 미치지 않는다.

[0644] MICA.36 Fab를 사용한 고해상도 HDX 실험에서, HDX 감소 수준에 기초하여 기체-상 단편화를 위해 MICA.36 에피토프 영역 2 및 3을 선택하였다. 고해상도 HDX 결과는 에피토프의 정밀화를 가능하게 한다:

[0645] 영역 1: ¹⁵⁰WTVPQSSRAQTLAM¹⁶³ (서열식별번호: 52)

[0646] 영역 2: ²³⁴N, ²³⁷L

[0647] 영역 3: ²⁵⁵DVLPDNGTYQ²⁶⁵ (서열식별번호: 54), ²⁶⁷W

[0648] 도 9f는 NKG2D에 결합된 MICA의 결정 구조 상에 중첩시킨 이들 잔기를 보여준다.

[0649] 실시예 8. 효모 디스플레이에 의한 에피토프 맵핑

[0650] 진모르프 II(Genomorph II) 돌연변이유발 키트를 사용하여 MICA-ECD 클론의 라이브러리를 생성하였다. 돌연변이체 MICA-ECD 분자의 이러한 라이브러리를 C-말단 myc-Aga1 융합을 사용하여 갈락토스-유도성 프로모터 하에 에스.세레비시아에(S.cerevisiae)의 표면 상에 디스플레이시켰다. 갈락토스-유도된 효모 세포를 먼저 100 nM 인간-항-MICA/B 항체 및 100 nM 마우스-항-myc 항체 9E10으로 표지하였다. 이어서, 세포를 PE-접합된 염소-항-인간 및 알렉사-633 접합된 염소-항-마우스 항체로 표지하였다. 항체-항원 상호작용을 차단하는 라이브러리의 집단을 단리하기 위해, 항-myc 항체에 대해서는 우수한 결합을 나타내지만 항-MICA/B 항체에 대해서는 감소된 결합을 나타내는 표지된 세포를 형광-활성화 세포 분류를 사용하여 분류하였다. 이어서, 상기 기재된 바와 같이 분류된 세포 집단을 성장시키고, 또 다른 라운드의 표지화 및 분류에 의해 풍부화시켰다. 제2 라운드의 분류된 세포 및 출발 라이브러리로부터 DNA를 단리하였다. 넥스테라 XT 라이브러리 제조 키트를 사용하여 NGS 서열분석을 위해 DNA 샘플을 제조하고, 멀티플렉스화하고, Miseq NGS 서열분석을 사용하여 서열분석하였다. 생성된 DNA 서열 판독물을 분석하여 출발 라이브러리에 비해 특히 풍부화된 분류된 집단에서 발견되는 서열을 확인

하였다. 이들 풍부화된 돌연변이를 MICA-NKG2D 복합체 (PDB ID: 1HYR)의 구조 상에 맵핑하였고, 단백질 표면 상에 잘-규정된 패치를 나타내었다 (도 10d-10f). MICA.36, MICA.2 및 24G11 (MICA.54) 항체는 MICA의 $\alpha 3$ 도메인에 결합하였다. 에피토프는 하기와 같았다:

[0651] MICA.36: G254, D255, L257, Y264, W267 (도 10a)

[0652] MICA.2: R240, Q241, D242, V244, R279 (도 10b)

[0653] 24G11: P258, G260, G262, Y264 (도 10c)

[0654] 실시예 9: 항-MICA/B 항체에 의한 시험관내 표면 MICA의 체류 및 가용성 MICA (sMICA)의 감소

[0655] MICA/B를 이소성으로 발현하는 비-인간 세포주를 MICA.36-IgG1-NF-G236A 또는 이소형 대조군과 함께 48시간 동안 배양하였다. 배양 후, 세포를 수집하고, 항-MICA/B 항체 클론 6D4로 염색하여 표면 MICA/B 수준을 측정하였다. 상청액을 수집하고, MICA ELISA 키트 (압캠(Abcam) ab100592)를 사용하여 가용성 MICA (sMICA) 수준을 측정하였다. MICA.36-IgG1-NF-G236A는 이소형 대조군 (IgG1 NF)과 비교하여, 유동 세포측정법에 의해 측정 시 세포 상의 표면 MICA 수준을 증가시켰고 (도 11a-11d), ELISA에 의해 정량화 시 배양물 상청액 중의 sMICA의 양을 감소시켰다 (도 12a-12d).

[0656] 또한, MICA를 내인성으로 발현하는 인간 세포주를 MICA.36-IgG1-NF-G236A 또는 이소형 대조군과 함께 48시간 동안 배양하였다. 배양 후, 세포를 수집하고, 항-MICA/B 항체 클론 6D4로 염색하여 표면 MICA/B 수준을 측정하였다. MICA.36-IgG1-NF-G236A는 유동 세포측정법에 의해 측정 시 세포 상의 표면 MICA 수준을 증가시켰고 (도 13a-13e), ELISA에 의해 정량화 시 배양물 상청액 중의 sMICA의 양을 감소시켰다 (도 14a-14c). 따라서, MICA.36-IgG1-NF-G236A는 종양 세포 표면 상에 MICA/B를 유지시키고, sMICA/B의 감소를 발생시킨다. MICA 체류 EC50 (nM) 및 sMICA IC50의 감소 (nM)를 표 7에 제시한다:

[0657] 표 7: 표면 MICA의 체류 및 sMICA의 감소

세포주	MICA 대립유전자	결합 EC50 (nM)	MICA 체류 EC50 (nM)	표면 MICA에서의 배수 증가	sMICA EC50의 감소 (nM)	sMICA의 감소%
786-O	008	1.37	0.057	1.47	0.14	66
HELA	008	1.76	0.032	1.43	0.10	32
A2058	008/018	5.4	0.093	2.41		15
HCT116	001/009	0.37	0.043	1.98	0.075	62

[0658]

[0659] 실시예 10: MICA.36-IgG1-NF-G236A는 CD16a 및 CD32a에 대해 증진된 친화도를 나타내었다

[0660] 중쇄 내에 조작된 돌연변이, G236A를 함유하는 비푸코실화 (NF) 인간 IgG1 항체인 MICA.36-IgG1-NF-G236A는 친연 IgG1보다 CD16a (Fc γ RIIIa) 및 CD32a (Fc γ RIIa)에 대해 더 높은 친화도를 나타내었다. MICA.36-IgG1-NF-G236A에 대한 인간 Fc γ R의 결합을 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 연구하고, 야생형 인간 IgG1, IgG1f-G236A 및 IgG1f-NF 이소형을 갖는 MICA.36 항체, 뿐만 아니라 비-MICA 결합 대조군 인간 IgG1 및 NF 항체와 비교하였다. 이들 연구를 위해, 단백질 A를 10 mM HEPES pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% 계면활성제 p20의 구동 완충제 중에서, 에탄올아민 차단 하에, 표준 에틸 (디메틸아미노프로필) 카르보디이미드 (EDC)/N-히드록시숙신이미드 (NHS) 화학을 사용하여 CM5 센서 칩의 유동 셀 1-4 상에 ~3000 RU의 밀도로 고정화시켰다. 3 μ g/mL의 항체를 단백질 A 표면 상에 ~200 - 400 RU의 밀도로 포획시키고, 10 mM NaPO₄, 130 mM NaCl, 0.05% p20, 완충제 (PBS-T) pH 7.1로 이루어진 구동 완충제 중에서 25°C에서 120 s 회합 시간 및 180 s 해리 시간을 사용하여 30 μ L/분의 유량으로 Fc γ R 분석물의 결합을 시험하였다. 결합의 동역학 및 친화도를 결정하기 위해, 1 μ M에서 0.15 nM (CD64 단백질) 또는 10 μ M에서 1.5 nM (모든 다른 Fc γ R)로의 Fc γ R 농도 시리즈 (3:1 희석)를 시험하였다. 동역학적 데이터를 비아코어 T200 평가 소프트웨어를 사용하여 1:1 랭뮤어 모델 또는 정상-상태 모델에 피팅하였다.

[0661] 표 8은 SPR에 의해 측정된 바와 같은, 인간 CD16a 및 CD32a 대립유전자에 대한 MICA.36-IgG1-NF-G236A의 증진된 결합 친화도를 보여준다.

[0662] 표 8: 인간 Fc γ R에 대한 표면 플라즈몬 공명 친화도 값

항체	hCD16a-V158	hCD16a-F158	hCD32a-H131	hCD32a-R131
MICA.36-IgG1-NF-G236A	31	420	140	220
MICA.36 IgG1	360	>5000	780	1300
MICA.36 IgG1 NF	8	140	730	770
MICA.36 IgG1 G236A	850	>5000	130	260
대조군 IgG1	480	>5000	1000	1700
대조군 IgG1 NF	9.1	170	860	860

[0663]

[0664]

실시에 11: MICA.36-IgG1-NF-G236A는 증진된 항체 의존성 세포성 식세포작용 (ADCP) 및 항원 교차 제시를 매개하였다

[0665]

수지상 세포 (DC)는 종양 세포를 포식하고, 종양 항원을 프로세싱 및 제시하고, 종양-특이적 T 세포 반응을 프라이밍하는 능력을 갖는다. 항-MICA/B 항체를 사용한 MICA/B 발현 종양 세포주의 흡소닌화는 수지상 세포에 의한 종양 항원의 교차-제시 및 항원 특이적 CD8+ T 세포의 후속 프라이밍을 증진시킬 수 있는 것으로 밝혀졌다 (Groh, V., PNAS 2005;102:6461-6). 항체 MICA.36-IgG1-NF-G236A를 ADCP 및 항원 교차 제시에 대해 평가하였다. 인간 Fc 트랜스제닉 마우스 (모든 마우스 Fc γ R이 결실되고 트랜스젠으로서 코딩된 인간 Fc γ R이 삽입된 마우스 계통, 인간 Fc γ R 발현을 재현함) (Smith, P., et al., 2013, Proc Natl Acad Sci U S A.;109:6181-6)로부터의 골수 유래 수지상 세포 (BMDC)를 이펙터로서 사용하였다. BMDC를 제조하기 위해, 인간 Fc 트랜스제닉 마우스로부터 골수를 단리하고, mGM-CSF (10 ng/ml) 및 mL-4 (5 ng/ml)와 함께 시험관내 배양하고, 배지의 절반을 제2일 및 제4일에 바꾸었다. BMDC를 제5일에 수거하였다. 전형적으로, 유동 세포측정 염색에 의하면 전체 세포의 80% 초과가 CD11c 양성이었다고, 이는 우수한 BMDC 유도를 나타낸다. B16.F10-MICB-GFP-ova 세포로 지칭되는, MICB, GFP 및 Ova로 형질도입된 B16.F10 흑색종 세포를 표적 세포로서 사용하였다.

[0666]

ADCP 검정을 위해, B16.F10-MICB-GFP-ova 세포를 MICA.36 Ab로 30분 동안 4°C에서 흡소닌화하였다. 이어서, 세포를 방사선조사하여 성장을 중지시키고, BMDC와 함께 24시간 동안 인큐베이션한 후, 배양물을 항-마우스 CD11c 항체로 염색하고, 식세포작용을 유동 세포측정법에 의해 평가하였다. 식세포작용을 총 CD11c+ 수지상 세포 중 CD11c+ GFP+ 세포의 백분율로서 계산하였다. MICA.36의 IgG1 또는 IgG1 NF 변이체와 비교하여 항체의 G236A 변이체 (MICA.36-IgG1-NF-G236A 및 MICA.36 IgG1 G236A)에 의해 증진된 ADCP가 관찰되었다 (도 15a). 인간 Fc γ R 트랜스제닉 마우스로부터의 BMDC를 이펙터로서 사용하고, B16-MICB-GFP-Ova 세포를 표적 세포로서 사용한 경우, MICA.36-IgG1-NF-G236A에 대해 10.7 nM의 EC50이 측정되었다.

[0667]

항원 교차-제시 검정의 경우, ova 항원에 특이적인 OT-I CD8+ T 세포의 증식은 얼마나 효율적으로 BMDC가 B16.F10-MICB-GFP-ova 세포로부터 ova 항원을 프로세싱하고 CD8+ T 세포에 교차-제시하는지에 대한 지표이다.

[0668]

항원 교차-제시를 측정하기 위해, B16.F10-MICB-GFP-ova 세포를 MICA.36 항체로 30분 동안 4°C에서 흡소닌화하였다. 이어서, 세포를 방사선조사하여 성장을 중지시키고, BMDC와 함께 24시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, OT-I 마우스 (C57BL/6-Tg(TcraTcrb)1100Mjb/J, 더 잭슨 래보러토리(The Jackson Laboratory))의 비장으로부터 정제된 CD8+ T 세포를 셀 트레이스 바이올렛(Cell Trace Violet)으로 표지하고, 4일 동안 배양물에 첨가하였다. 이어서, 유동 세포측정법에 의해 증식을 평가하였다. 증식을 총 CD8+ T 세포 중 셀 트레이스 바이올렛 희석된 CD8+ T 세포의 백분율로서 계산하였다. OT-I CD8+ T 세포의 증식은 얼마나 효율적으로 BMDC가 Ova 펩티드를 프로세싱하고 CD8+ T 세포에 교차-제시하는지에 대한 지표로서 작용한다. 증진된 OT-I CD8+ T 세포 증식이 MICA.36-IgG1-NF-G236A에 의해 1.6 nM의 EC50으로 관찰되었다 (도 15a).

[0669]

실시에 12: MICA.36-IgG1-NF-G236A는 증진된 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 매개하였다.

[0670]

이펙터로서 인간 NK 세포, 및 표적 세포로서 MICA*009를 이소성으로 발현하는 Raji 세포 또는 MICA를 내인성으로 발현하는 A375 흑색종 세포를 사용하여 ADCC 활성을 매개하는 항-MICA/B 항체의 능력을 시험하였다.

[0671]

표적 세포를 96-웰 백색 편평-바닥 (A375) 또는 V-바닥 (Raji-MICA) 플레이트에 5,000개 세포/웰 (A375) 또는 10,000개 세포/웰 (Raji-MICA)로 플레이팅하였다. 동등 부피의 적정된 시험 또는 대조군 항체를 표적 세포에 첨가하고, 37°C에서 2일 동안 인큐베이션하였다.

[0672]

다음날, 헤파린처리된 전혈 샘플로부터 PBMC를 밀도 구배 원심분리에 의해 정제하고, 2% FBS로 보충된 PBS (하이클론(HyClone))로 세척하였다. NK 세포를 자기 비드-기반 분리 키트 (밀테니 바이오텍(Miltenyi Biotec))를

사용하여 음성 선택에 의해 PBMC로부터 분리하였다. 정제된 NK 세포를 500 IU/mL IL-2로 보충된 미엘로컬트 (MYELOCULT)TM (스템셀 테크놀로지스(Stemcell Technologies)) 배지 중에 1×10^6 개 세포/mL로 재현탁시키고, 37 °C에서 밤새 인큐베이션하였다.

[0673] 밤새 인큐베이션한 후, 활성화된 NK 이펙터 세포를 ADCC 검정 배지 (10% 초-저 IgG FBS로 보충된 페놀 레드-무 함유 L-글루타민 함유 RPMI-1640) 중에서 2회 세척하고, 농도를 5×10^5 개 세포/mL로 조정하였다. 시험 항체와 함께 인큐베이션된 표적 세포를 세척하고, 배지 100uL 중에 재현탁시켰다. 이어서, 활성화된 NK 이펙터 세포를 첨가하여 (100 μ L/웰), 10:1의 최종 이펙터 세포-대-표적 세포 비 (E:T)를 생성하였다. 이어서, 플레이트를 가습 37°C 인큐베이터에 4시간 동안 두었다.

[0674] 부작 A375 세포의 경우에, NK 세포 함유 상청액을 제거하고, 표적 세포를 배지로 세척한 후, 배지 100uL를 첨가 하였다. 셀타이터-글로(CellTiter-Glo) 시약 (프로메가(Promega))을 제조하고, 실온에서 평형화한 후, 100uL/ 웰로 표적 세포에 첨가하였다. 엔비전(Envision) 플레이트 판독기 상에서 생존 세포 수에 비례하는 신호로 발광을 검출하였다. 특이적 세포 용해의 백분율을 식 [100 - ((샘플의 발광 - 최대 사멸의 발광)/(자발적 용해의 발광 - 최대 사멸의 발광)*100)]을 사용하여 계산하였다.

[0675] 현탁액 Raji-MICA 세포의 경우, 표적 및 이펙터 세포를 이바이오사이언스(eBioscience) 고정가능 생존율 염료 (인비트로젠)로 CD3 및 CD56 (바이오레전드)에 대해 염색하고, LSR포르테사 유동 세포측정기 (BD 바이오사이언 시스)에 의해 형광을 판독하였다. NK 세포 (CD3-, CD56+)를 제외하고, 나머지 세포를 세포 사멸 (FVD+)에 대해 평가하였다. 특이적 세포 용해의 백분율을 식 [퍼센트 샘플 세포 사멸 - 퍼센트 자발적 세포 사멸]을 사용하여 계산하였다.

[0676] 표적 세포는 단독으로 자발적 용해의 제어를 제공한 반면, 100 μ L/웰의 5% 트윈-20 용해 완충제에 의해 용해된 표적 세포는 검정에서 최대 사멸을 나타내었다. 표적 세포 용해의 백분율을 그래프패드 인크.(GraphPad Inc.) 의 프리즘 v7 소프트웨어를 사용하여 각각의 항체에 대해 플롯팅하였다.

[0677] MICA.36의 IgG1 또는 IgG1 G236A 변이체와 비교하여 항체의 NF 변이체 (MICA.36-IgG1-NF-G236A 및 MICA.36 IgG1 NF)에 의해 증진된 ADCC가 관찰되었다 (도 16a 및 16b).

[0678] 실시예 13: B16.F10-MICA 폐 전이 모델에서의 효능 연구

[0679] 인간 MICA/B는 뮤린 NKG2D 수용체에 의해 인식되며, 이는 완전 면역적격 마우스 모델에서 항-MICA/B 항체의 시험을 가능하게 한다. 전장 MICA 단백질을 뮤린 B16F10 흑색종, MC38 결장 선암종, 및 EG7-ova 흉선종 세포주에서 이소성으로 발현시키고, 인간 Fc (IgG1 NF G236A, IgG1 NF 또는 IgG1) 또는 마우스 Fc (IgG2a 또는 IgG1-D265A)를 갖는 MICA.36 항체의 활성을 각각 인간 Fc γ R-Tg 마우스 및 야생형 마우스 계통 (뮤린 Fc γ R을 발현함)을 사용하여 평가하였다.

[0680] 제0일에, 마우스 (C57BL/6 huFc γ R 트랜스제닉 마우스)에게 B16.F10-MICA 세포 (MICA로 형질도입된 B16.F10 흑색종 세포) 200 μ L를 외측 꼬리 정맥 내로 2×10^6 개 세포/mL의 농도로 정맥내 (IV) 주사하였다. 제3일 및 제8 일에, 동물에게 5 mg/kg의 MICA.36-IgG1-NF-G236A의 복강내 (IP) 주사를 제공하였다. 제14일에, B16.F10-MICA 세포 종양 전이의 측정을 위해 폐를 수거하였다. 인간 IgG1 비푸코실화된 mAb (사내)는 이소형 대조군으로서 기능하였다.

[0681] 간략하게, 폐를, 폐와 동일한 수평면에 위치시킨 계측 눈금 자의 존재 하에 사진촬영하였다. 이미지J 소프트웨어를 사용하여, 영상을 스케일링하고, 색 균형에 대해 조정하고, 역치를 설정하고, 관심 영역을 선택하였다. 전이 입자 크기 및 계수의 결정을 수행하였다. 분석은 주어진 표면적에서의 전이의 누적 면적 (mm^2) 또는 주어진 표면적에서의 전이의 총 계수에 의해 이루어졌다.

[0682] 제14일에, 혈청을 수집하고, -20°C에서 저장한 후, ELISA 키트 (압캠 ab100592)를 사용하여 sMICA를 측정하였다.

[0683] IgG1 NF 이소형을 갖는 MICA.36 항체 (MICA.36-IgG1-NF-G236A 및 MICA.36 IgG1 NF)는 이소형 대조군과 비교하여 B16F10-MICA 종양 세포에 의해 형성된 총 종양 면적 뿐만 아니라 마우스의 혈청 내의 sMICA 수준을 감소시키는데 효과적이었다 (도 17a 및 17b 참조).

[0684] 실시예 14: B16.F10-MICA 폐 전이 모델에서의 용량 증량 연구

- [0685] 제0일에, 마우스 (C57BL/6 huFc γ R 트랜스제닉 마우스)에게 B16.F10-MICA 세포 100 μ L를 외측 꼬리 정맥 내로 1×10^7 개 세포/mL의 농도로 정맥내 (IV) 주사하였다. 제1일에, 동물에게 명시된 농도의 항체의 복강내 (IP) 주사를 제공하였다. 제14일에, 전이의 측정을 위해 폐를 수거하였다. 인간 IgG1 비푸코실화된 mAb (BMS)는 이소형 대조군으로서 기능하였다.
- [0686] 간략하게, 폐를, 폐와 동일한 수평면에 위치시킨 계측 눈금 자의 존재 하에 사진촬영하였다. 이미지J 소프트웨어를 사용하여, 영상을 스케일링하고, 색 균형에 대해 조정하고, 역치를 설정하고, 관심 영역을 선택하였다. 전이 입자 크기 및 계수의 결정을 수행하였다. 분석은 주어진 표면적에서의 전이의 누적 면적 (mm^2) 또는 주어진 표면적에서의 전이의 총 계수에 의해 이루어졌다.
- [0687] 2개의 별개의 연구로부터의 결과는 이소형 대조군 (3mg/kg)과 비교하여 MICA.36-IgG1-NF-G236A (MICA.36 NF G236A)가 투여된 마우스에서 총 종양 면적의 감소를 보여주었다 (도 18a 및 18b).
- [0688] 실시예 15: EG7-MICA 종양을 갖는 MICA 트랜스제닉 마우스에서의 MICA.36-IgG1-NF-G236A (MICA.36 NF G236A)의 효능
- [0689] MICA 내성 마우스에서 항-MICA/B 항체의 처리 효능을 평가하기 위해, 프로바신 프로모터의 제어 하에 C57BL/6 마우스의 전립선에서 인간 MICA*009를 발현하는 트랜스제닉 마우스 (MICA 트랜스제닉 (Tg) 마우스)를 생성하였다 (Liu, G. et al., 2013; J. Clin. Invest. 123, 4410-22). MICA-Tg 수컷 마우스는 MICA를 이소성으로 발현하는 MC38 세포 (MC38-MICA)의 성장을 견딜 수 있었던 반면에, C57BL6 또는 인간 Fc γ R-Tg 마우스, 또는 MICA-Tg 암컷 마우스에 이식된 동일한 종양은 대부분 거부되었다. 따라서, MC38-MICA 이식 후에, 수컷 MICA-Tg 마우스는 야생형 C57BL6 또는 인간 Fc γ R-Tg 마우스와 비교하여 인간 MICA에 대해 보다 낮은 자가항체의 생산을 나타내었다. 종합하면, 이들 결과는 MICA-Tg 마우스가 MICA 단백질 및 MICA 발현 종양에 내성임을 시사한다.
- [0690] 높은 수준의 MICA 및 펩티드 오브알부민을 발현하는 EL4 흉선종 세포주인 EG7의 피하 (SubQ) 이식을 사용하여 항-MICA/B 항체의 효능을 평가하였다. Fc 기능성 (IgG1 NF와 가장 유사한 마우스 Fc를 갖는 MICA.36-mg2a) 또는 Fc 불활성 (마우스 CD16에 대한 결합을 제거하는 mIgG1 내의 돌연변이를 갖는 MICA.36-mg1-D265A) MICA.36 항체를 단독으로 또는 항-PD-1 항체와 조합하여 시험하였다.
- [0691] 종양 이식일을 연구에서 제0일로 지정하였다. B6.F10-MICA 트랜스제닉 마우스에게 EG7-MICA 종양 세포 100 μ l를 5×10^7 개 세포/mL (5×10^6 개 세포/마우스)의 농도로 SubQ 주사하였다. 이식 5일 후에, 마우스를 무작위화하고, 투여를 개시하였다. 마우스에게 명시된 항체 (항체들)를 각각의 항체의 10 mL/kg의 용량 부피로 총 3회 용량에 대해 3일마다 1회 복강내 (IP) 주사하였다. 하기 항체를 다양한 조합으로 시험하였다: D265A Fc 돌연변이를 갖는 항-마우스 PD-1 mIgG1, 항-인간 MICA.36 mIgG2a, D265A Fc 돌연변이를 갖는 항-인간 MICA.36 mIgG1, 및 이소형 대조군 mIgG1 (MOPC-21, 바이오엑셀(BioXCell)) 및 mIgG2a mAb (C1.18.4, 바이오엑셀).
- [0692] 종양이 미리 결정된 "목표" 크기인 1 cm^3 에 도달할 때까지 종양을 캘리퍼로 1주 2회 측정함으로써 종양 반응을 결정하였다 (도 19a 및 19b). 종양 부피 [mm^3]는 하기 식으로 추정하였다: 종양 부피 [mm^3] = (길이 [mm] x 폭 [mm^2]) / 2.
- [0693] 각각의 처리군에 대한 퍼센트 종양 성장 억제 (TGI%)는 그러한 군의 종양값 개별 TGI를 계산하여 결정하였다 (도 19c). 모든 처리 동물로부터 계산된 제't'일에서의 개별 TGI는 하기 식에 의해 결정하였다:
- [0694] $[1 - ((T_t/T_0) / (C_t/C_0))] / [(C_t - C_0)/C_t] * 100$ [식 1]
- [0695] 여기서 T_t = 처리된 동물의 시간 't'에서의 개별 종양 크기, T_0 = 처리된 동물의 제1 측정 시 개별 종양 크기, C_t = 대조군 동물의 시간 't'에서의 종양값 종양 크기, C_0 = 대조군 동물의 제1 측정 시 종양값 종양 크기.
- [0696] 시간 't'에서 '무진행'으로 간주되는 동물은 그의 초기 측정의 4배 미만인 종양 크기 (mm^3)를 갖는다 (도 19d).
- [0697] 혈청을 제11일에 수집하였다. 메소 스케일 디스커버리 (Meso Scale Discovery) (MSD) 플랫폼을 사용하여 sMICA의 혈청 수준을 측정하였다 (도 19e). MICA.38을 포획 항체로서 사용하고, MICA.2를 검출 항체로서 사용하였다. MICA.36 항체는 이소형 대조군과 비교하여 혈청 내의 sMICA를 감소시켰다 (도 19e).
- [0698] 이 연구에서, MICA.36-mg2a는 많은 단일 작용제 활성을 나타내지는 않았지만, 또 다른 연구에서 항체는 종양 성

장 억제에 대한 효과를 나타내었다 (실시예 16). 그러나, 조합된 MICA.36-mg2a/항-PD-1 처리는 단일 항체 처리와 비교하여 종양 퇴행을 증진시키고 생존을 연장시켰다 (도 19c 및 19d). 마우스의 70%는 조합 처리 후에 종양을 함유하지 않은 (TF) 반면에, 10% 및 50%는 MICA.36-mg2a 및 항-PD-1 항체 각각의 개별 투여 후에 TF였다. 폐 전이 모델에서의 관찰과 일치하게, MICA.36 항체는 단독으로 또는 항-PD-1 항체와 조합되어 혈청 sMICA의 유의한 감소를 발생시켰다 (도 19e). MICA.36-mg2a/항-PD-1 조합 처리에 의한 증진된 항종양 활성은 종양 내로의 T 및 NK 세포의 증가된 침윤, 뿐만 아니라 종양 배액 림프절에서의 T 및 NK 세포 상의 Ki67 및 활성화 마커 발현의 증가된 수준과 연관되었다. MICA.36 Fc 불활성 (MICA.36-mg1-D265A)은 (혈청 sMICA의 감소를 발생시킴에도 불구하고) 단일 작용제로서도, 또는 항-PD-1 항체와의 조합으로서도 활성이 없었다.

- [0699] 실시예 16: B6-MICA 트랜스제닉 마우스에서의 생체내 연구
- [0700] 본 실험에서, B6-MICA 트랜스제닉 마우스에게 EG7-MICA 종양 세포 100 μ l를 피하 (SubQ) 주사하였다. 이식 6일 후에, 마우스를 무작위화하고, 투여를 개시하였다. 마우스에게, 실시예 15에 기재된 바와 같이, 항체 항-마우스 CTLA4 mIgG2a, 항-인간 MICA.36 mIgG2a, 및 이소형 대조군 mIgG2a mAb (C1.18.4, 바이오엑셀)의 조합물을 각각의 항체의 10 mL/kg의 용량 부피로 총 3회 용량에 대해 3일마다 1회 제공하였다.
- [0701] MICA.36 항체는 단독으로 및 항-CTLA4 항체와 조합되어 종양 부피를 감소시키고 TGI를 증가시켰다 (도 20a-20c). MICA.36 및 항-CTLA4 항체 조합물은 단일 항체 처리와 비교하여 연장된 무진행 생존을 나타내었다 (도 20d).
- [0702] 실시예 17: B6-MICA 트랜스제닉 마우스에서의 생체내 연구
- [0703] B6-MICA 트랜스제닉 마우스에게 EG7-MICA 종양 세포 100 μ l의 피하 (SubQ) 주사를 제공하고, 실시예 16에 기재된 바와 같이 (각각의 항체의 10 mL/kg의 용량 부피로, 총 3회 용량에 대해 3일마다 1회) 하기 항체로 처리하였다: D265A Fc 돌연변이를 갖는 항-마우스 PD-1 mIgG1, 항-인간 MICA.36 mIgG2a, 및 이소형 대조군 mIgG1 (MOPC-21, 바이오엑셀), mIgG2a mAb (C1.18.4, 바이오엑셀).
- [0704] MICA.36 항체는 단독으로 및 항-PD-1 항체와 조합되어 종양 부피를 감소시키고 TGI를 증가시켰다 (도 21a-21c). MICA.36 및 항-PD-1 항체 조합물은 무진행 생존을 연장시켰다 (도 21d).
- [0705] 실시예 18. 항-MICA/B 항체의 용해도
- [0706] MICA.2 및 MICA.36 항체를 재조합 방법에 의해 CHO 세포에서 발현시켰다. MICA.36 CHO 클론 또는 MICA.2 CHO 클론의 1mL 동결 바이알을 스케일-업 생산을 위해 해동시켰다. 세포 배양물을 8mM 글루타민, 1x HT, 및 500ug/mL G418이 보충된 CD CHO 배지에서 37°C 및 8% CO₂의 설정점의 인큐베이터 내에서 인큐베이션하였다. 세포를 초기에 250mL 진탕 플라스크에서 100mL 작업 부피로 성장시키고, 배지 생산을 위해 2개의 3L 코닝 페르바흐 플라스크에서 2L로 스케일-업하였다. 배양물을 생산 단계 동안 10일 동안 인큐베이션하고, 생존율이 40% 미만으로 떨어졌을 때 수거하였다. 배양물을 정화하고, 0.8/0.2um 멸균 필터로 여과하고, 하류 가공에 제공하였다.
- [0707] 세포 배양물 상청액을 pH 7.5로 PBS로 사전-평형화된 단백질 A 친화성 크로마토그래피 칼럼에 적용하였다. 칼럼을 PBS (5 칼럼 부피)로 세척하였다. 항체를 pH 3의 0.1M 시트레이트 완충제를 사용하여 용리시켰다. 항체 함유 분획을 pH 8.5의 2 M 트리스 완충제로 즉시 중화시켜 최종 pH가 7.2가 되게 하였다. 이어서, 항체를 PBS 또는 히스티딘 수크로스 완충제에 대해 투석하였다. 항체를 4-8°C에서 저장하였다.
- [0708] MICA.2 항체는 불량한 용해도를 나타내었다. 이는 용리 및 중화 단계 동안 혼탁, 및 4-8°C에서 심지어 낮은 농도 (< 2 mg/ml)에서도 투석 및 저장 동안 상당한 침전을 나타내었다. 침전으로 인해, 상당한 물질 손실이 존재하였다. MICA.2 항체의 최대 용해도는 중성 또는 약산성 pH에서 2 mg/ml였다. 제제화 노력은 MICA.2 항체의 용해도를 15 mg/ml 초과로 증가시킬 수 없었고, 이는 제조 목적상 허용되지 않을 것이다.
- [0709] MICA.36 항체는 4°C에서 7.88 mg/ml의 농도에서의 모든 정제 및 저장 단계 동안 혼탁을 나타내지 않았다. 심지어 7 mg/ml 초과의 농도에서도 중성 또는 약산성 pH의 수성 완충제 중에서 저장 동안 침전되지 않았다. MICA.36 항체의 변이체인 MICA.36-NF-G236A 항체는 50 mg/ml 농도에서 40°C에서 3개월 동안 안정하였다.
- [0710] 따라서, MICA.36 및 MICA.36-NF-G236A 항체는 MICA.2 항체와 비교하여 뛰어난 용해도 특성을 갖는다.
- [0711] 실시예 19. X선 공-결정학에 의한 에피토프 맵핑

- [0712] 단백질 발현 및 정제:
- [0713] MICA*02의 ECD를 N-말단 풀벌 벨리틴 신호 펩티드 및 C-말단 His₆ 태그를 갖는 pVL1393 벡터 내로 클로닝하고, T.ni 세포 (발현 시스템)에서 발현시켰다. MICA.36 중쇄 및 경쇄를 N-말단 오스테오넥틴 신호 펩티드를 갖는 pTT5 벡터 내로 개별적으로 클로닝하였다. 중쇄를 또한 C-말단 His₆ 태그에 융합시켰다. MICA.36 Fab를 Expi293 현탁 세포에서 발현시켰다. MICA ECD 및 MICA.36 Fab를 Ni 세파로스 수지를 사용하여 정제하였다.
- [0714] 결정화 및 구조 결정:
- [0715] MICA.36:MICA ECD 복합체를 1.2:1의 몰비로 형성하고, 복합체를 50 mM NaCl, 10 mM 트리스 pH 8 중에서 겔 여과에 의해 비결합된 Fab로부터 정제하였다. 0.2 μL 농축 단백질 샘플 (22 mg/mL)을 0.2 μL 모액 (0.2 M 소듐 타르트레이트 이염기성 탈수화물, 30% PEG MME 550)과 혼합하여 20°C에서 시탕-드롭 증기 확산에 의해 결정을 성장시켰다. 결정을 액체 질소 중에서 급속-냉각시키고, 어드밴스드 포톤 소스(Advanced Photon Source)에서 IMCA-CAT 17-ID 빔라인 상의 3.6 Å에 회절 데이터를 수집하였다. 데이터세트를 XDS를 사용하여 P6₅ 공간 군으로 프로세싱하고, PDB ID 4NM4로부터의 Fab 불변 도메인, PDB ID 1HEZ로부터의 CDR-트리밍된 Fab 가변 도메인, 및 PDB ID 1HYR로부터의 MICA α3 도메인을 사용하여 페이지(Phaser)에 의해 분자 대체에 의해 구조를 결정하였다. MICA α1-α2 도메인은 분자 대체에 의해 발견할 수 없었다. MICA α3:MICA.36 Fab 복합체의 1개의 카피가 비대칭 유닛에서 발견되었고, 페닉스(Phenix)를 사용하여 정밀화하고, COOT를 사용하여 구축하였다.
- [0716] 구조적 분석:
- [0717] Fab 결합 시 매립되는 MICA 상의 용매 접근가능한 표면적을 아레이몰(AREAIMOL)을 사용하여 1.4Å의 프로브 반경으로 계산하였다. MICA.36 결합 시 매립되는 MICA 잔기는 T222, T224, R226, W233, N234, H248, D249, Q251, Q252, W253, G254, D255, V256, L257, P258, D259, G260, N261, Y264, Q265, W267, 및 A269였다 (도 22a-22c).
- [0718] 실시예 20. MICA에의 결합에 대한 비교 연구
- [0719] MICA를 발현하는 세포에 대한 결합에 대해, MICA.2를 국제 특허 출원 공개 WO2013/049517에 개시된 항-MICA 항체 Ab2 (CM24002 Ab2) 및 Ab29 (CM33322 Ab29), 뿐만 아니라 국제 특허 출원 공개 WO2015085210에 개시된 Ab28 (CM33322 Ab28)과 비교하였다.
- [0720] 항체 Ab2, Ab28 및 Ab29를 또한 재조합 방법에 의해 CHO 세포에서 발현시켰다 (각각 MICA.5, MICA.7 및 MICA.6). MICA 대립유전자 002, 004, 008, 009, 010으로 형질도입된 CHO 세포를 100,000개 세포/웰로 플레이팅하였다. 세포를 정제된 항-MICA/B 항체와 함께 30분 동안 인큐베이션하였다. 세포에 대한 항체의 결합은 형광단에 접합된 2차 항-인간 F(ab')₂ 항체를 사용하여 검출하였다. 유동 세포측정 분석은 FACS칸토II 세포측정기를 사용하여 수행하였다. 세포에 결합된 항체의 기하 평균 형광 강도를 플로우조 분석 소프트웨어를 사용하여 결정하였다. MICA.2는 MICA.5, MICA.7, 및 MICA.6보다 다양한 MICA 대립유전자를 발현하는 모든 CHO 세포주에 대해 유의하게 더 강한 결합을 나타내었다 (도 23a 및 23b).
- [0721] 항체를 또한 인간 RPMI-8226 세포에의 결합에 대해 시험하였다. 세포를 100,000개 세포/웰로 플레이팅하고, 항-MICA/B 항체와 함께 30분 동안 인큐베이션하였다. 형광단에 접합된 2차 항 인간 F(ab')₂ 항체를 사용하여 항체의 결합을 검출하였다. 유동 세포측정 분석은 FACS칸토II 세포측정기를 사용하여 수행하였다. 세포에 결합된 항체의 기하 평균 형광 강도를 플로우조 분석 소프트웨어를 사용하여 결정하였다. MICA.1 및 MICA.2는 그의 재조합 대응물 MICA.5, MICA.7 및 MICA.6을 발현하는 CHO 세포주로부터의 Ab2, Ab28, 및 Ab29 및 상형액 ("supe")보다 RPMI-8226 세포에 대해 유의하게 더 강한 결합을 나타내었다 (도 24a 및 24b).
- [0722] 실시예 21. 혈청 sMICA 측정
- [0723] B6-MICA 트랜스제닉 마우스에게 EG7-MICA 세포 100u1를 5e7개 세포/mL의 농도 (5e6개 세포/마우스)로 피하 (SubQ) 주사하였다. 종양 이식일을 제0일로 지정하였다. 동물에게 제5일에 명시된 항체를 10 mL/kg의 용량 부피로 복강내 (IP) 주사하였다. sMICA 측정을 위해 혈청 샘플을 제8일 및 제12일 (항체 투여 후 72 및 168시간)에 수집하였다.
- [0724] 메소 스케일 디스커버리 (MSD) 플랫폼 상에서 검증된 리간드 결합 검정을 사용하여 EG7-MICA 마우스 혈청 내의 총 가용성 MICA (sMICA)를 측정하였다. 간략하게, MSD 골드 96-웰 스트랩타비딘 플레이트를 먼저 비오틴닐화된 포획 MICA 항체 (MICA.1-비오틴)로 코팅하였다. 이어서, 플레이트를 샘플과 함께 인큐베이션하고, 플레이트 상

에 sMICA가 포획되도록 하였다. 루테닐화된 검출 MICA 항체 (MICA.2-Ru)를 첨가하여 샌드위치 면역검정을 완료하였다. 총 sMICA 검정은 MICA.36-mIgG2a의 존재 하에 재조합 및 내인성 MICA 형태 둘 다를 검출하였다. 관독된 검정은 전기화학발광 (ECL)이었다. 관독 완충제를 첨가하고 플레이트를 MSD 섹터 기기 상에서 관독한 후 ECL을 수득하였다. 생성된 ECL은 샘플에 존재하는 sMICA의 양의 정량적 척도이다. 항체 투여 72시간 후에, 1 mg/kg 및 10 mg/kg의 MICA.36-mIgG2a로 처리된 마우스는 그의 혈청 내에 증가된 양의 sMICA를 가졌고; 이러한 증가는 항체 투여 168시간 후에는 관찰되지 않았다 (도 25).

[0725] 실시예 22. sMICA 약동학 (PK) 연구

[0726] IV PK를 측정하기 위해, sMICA*009를 MICA.36-mIgG2a 항체의 존재 및 부재 하에 B6-MICA 트랜스제닉 마우스 (비 종양 보유)에서 0.1 및 10 ug/kg 용량에서 평가하였다. 먼저, 10 mpk (10 mg/kg) 용량의 MICA.36-mIgG2a 항체 또는 KLH 이소형 대조군을 복강내 경로 (IP)를 통해 투여하였다. 다음으로, sMICA*009를 MICA.36-mIgG2a 항체의 투여 72시간 후에 IV 볼루스 주사로서 투여하였다. PK 분석을 위한 혈청 샘플을 마우스에게 sMICA를 투여하고 2분, 15분, 30분, 1시간, 6시간, 24시간, 72시간, 168시간 및 336시간 후에 수집하였다. 비-구획화 PK 분석을 사용하여 sMICA 및 MICA.36-mIgG2a 항체의 PK 파라미터를 추정하였다. 0.1 µg/kg이 투여된 동물에서 sMICA의 수준은 정량화 수준 미만 (BLQ)이었다. 10 ug/kg sMICA가 단독으로 주어진 경우의 T_{1/2}는 0.07시간이지만, sMICA 반감기는 MICA.36-mIgG2a의 존재 하에 유의하게 더 길었고 (3.5시간) (도 26), 이는 아마도 sMICA의 T_{1/2} 대비 sMICA-mAb 복합체의 보다 긴 T_{1/2}로 인한 것일 것이다. MICA.36-mIgG2a의 PK는 이전의 연구와 일치하였고, sMICA 투여에 의해 영향을 받지 않았다.

[0727] 구체적 실시양태의 상기 기재는 본 발명의 일반적 속성을 충분히 밝혀낼 것이며, 다른 이들은 관련 기술분야의 기술 내의 지식을 적용함으로써, 본 발명의 일반적 개념으로부터 벗어나지 않으면서 과도한 실험 없이 이러한 구체적 실시양태를 다양한 적용을 위해 용이하게 변형 및/또는 변경시킬 수 있을 것이다. 따라서, 이러한 적합화 및 변형은 본원에 제시된 교시 및 지침을 기초로, 개시된 실시양태의 등가물의 의미 및 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다. 본 명세서의 용어 및 어구가 본 발명의 교시 및 지침을 고려하여 관련 기술분야의 통상의 기술자들에게 해석되도록, 본원의 어구 또는 용어는 설명을 위한 것이며 제한하려는 것이 아님을 이해해야 한다.

[0728] 본 발명의 다른 실시양태는 명세서의 고려사항 및 본원에 개시된 본 발명의 실시로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 명세서 및 실시예는 단지 예시적인 것으로 여겨지며, 본 발명의 진정한 범주 및 취지는 하기 청구범위에 의해 제시되는 것으로 의도된다.

[0729] 본원에 개시된 모든 공개, 특허 및 특허 출원은, 각각의 개별 공개, 특허 또는 특허 출원이 참조로 포함되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 지시된 것과 동일한 정도로 참조로 포함된다.

[0730] 본 출원은 2018년 3월 23일에 출원된 미국 가출원 번호 62/647,556 및 2018년 5월 4일에 출원된 62/667,170의 이익을 주장하며, 이들은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

도면

도면1a

```

      Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S
1  CAGGTGCAAC TGGTGGAGTC TGGGGGAGGC GTGGTCCAGC CTGGGAGGTC
      CDR1
      L R L S C A A S G F T F S N Y A
51 CCTGAGACTC TCCTGTGCAG CGTCTGGATT CACCTTCAGT AACTATGCCA
      M H W V R Q A P G E G L E W V A L
101 TGCAC TGGGT CCGCCAGGCT CCAGGCGAGG GGCTGGAATG GGTGGCACTT
      CDR2
      I W Y D G S N K F Y G D S V K G R
151 ATATGGTATG ATGGAAGTAA TAAATTCTAT GGAGACTCCG TGAAGGGCCG
      F T I S R D N S K N T L Y L Q M
201 CTTACCATC TCCAGAGACA ATTCCAAGAA CAGCTGTAT CTGCAAATGA
      N S L S A E D T A V Y Y C A R E G
251 ACAGCCTGAG CGCCGAGGAC ACGGCTGTGT ATTACTGTGC GAGAGAGGGA
      CDR3
      S G H Y W G Q G T L V T V S S
301 AGTGGGCACT ACTGGGGCCA GGAACCCTG GTCACCGTCT CCTCA
    
```

19G6-MICA.36 VH1

도면1b

	패밀리	유전자좌	RF	TGL	VBASEENTRY
V-절편	VH3	3-33	pH3v4D		DP-50/hv3019b9...+
D-절편	UNDETERMINED				.
J-절편	JH4	4			JH4b
투입	19G6.D5.E4-VH1				

```

3-33  Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A
투입  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

      CDR1
3-33  A S G F T F S S Y G M H W V R Q A P G K G L E
투입  - - - - - - - N - A - - - - - - - - - E - - -

      CDR2
3-33  W V A V I W Y D G S N K Y Y A D S V K G R F T
투입  - - - L - - - - - - - - - F - G - - - - - - -

3-33  I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A
투입  - - - - - - - - - - - - - - - - S - - - - -

      CDR3
3-33  V Y Y C A R
JH4   - - - - - - - E G S G H - - - - - - - - - - -
투입  - - - - - - - E G S G H - - - - - - - - - - -
    
```

19G6-MICA.36 VH1

도면1c

```

    A I Q L T Q S P S S L S A S V G D
1  GCCATCCAGT TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA
                                CDR1
    R V T I T C R A S Q G I S S A L
51  CAGAGTCACC ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GGGCATCAGC AGTGCTTTAG
    A W Y Q Q K P G K V P K S L I Y D
101 CCTGGTATCA GCAGAAACCA GGGAAAGTTC CTAAGTCCCT GATCTATGAT
                                CDR2
    A S S L E S G V P S R F S G S G S
151 GCCTCCAGTT TGGAAAGTGG GGTCCTATCA AGGTTTCAGCG GCAGTGGATC
    G T D F T L T I S S L Q P E D F
201 TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG CCTGCAGCCT GAAGATTTTG
                                CDR3
    A T Y Y C Q Q F N S Y P I T F G Q
251 CAACTTATTA CTGTCAACAG TTTAATAGTT ACCCGATCAC CTTCGGCCAA
    G T R L E I K
301 GGGACACGAC TGGAGATTAA A
    
```

19G6-MICA.36 VK1

도면1d

	패밀리	유전자좌	TGL	VBASEENTRY
V-절편	VK1	L18		Va'''+
J-절편	JK5	5		JK5
투입	19G6.D5.E4-VK1			

```

L18      A I Q L T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C
투입     - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
                                CDR1
L18      R A S Q G I S S A L A W Y Q Q K P G K A P K L
투입     - - - - - - - - - - - - - - - - - V - - S
                                CDR2
L18      L I Y D A S S L E S G V P S R F S G S G S G T
투입     - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
                                CDR3
L18      D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q F N
투입     - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
                                CDR3
L18      N Y
JK5      I T F G Q G T R L E I K
투입     S - P - - - - - - - - - - - - - - -
    
```

19G6-MICA.36 VK1

도면2a

```

M E F G L S W V F L V A L L R G V
1  ATGGAGTTTG GGCTGAGCTG GGTTTTCTC GTTGCTCTTT TAAGAGGTGT

Q C Q V Q L V E S G G D V V Q P
51  CCAGTGTCAG GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGACGTG GTCCAGCCTG

G R S L R L S C A A S G F T F S N
101 GGAGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCGT CTGGATTAC CTTCAGTAAC
    CDR1
Y N I H W V R Q A P G K G L E W V
151 TATAACATAC ACTGGGTCCG CCAGGCTCCA GGCAAGGGGC TGGAGTGGGT
    CDR2
A V I R Y D G I N K Y Y A D S V
201 GGCAGTTATA AGGTATGATG GAATTAATAA ATACTATGCA GACTCCGTGA

K G R F I I S R D N S K N T L Y L
251 AGGGCCGATT CATCATCTCC AGAGACAATT CCAAGAACAC GCTGTATCTG

Q M N S L R A E D T A V Y Y C A S
301 CAAATGAACA GCCTGAGAGC CGAGGACACG GCTGTGTATT ACTGTGCGAG
    CDR3
G P P D A F N I W G Q G T M V T
351 CGGGCCCCCT GATGCTTTTA ATATCTGGGG CCAAGGGACA ATGGTCACCG

V S S
401 TCTCTTCA

```

16A5-MICA.52 VH1

도면2b

	패밀리	유전자좌	RF	TGL	VBASEENTRY
V-절편	VH3	3-33		pH3v4D	DP-50/hv3019b9...+
D-절편	UNDETERMINED				.
J-절편	JH3	3			JH3b
투입	16A5.C1.G2-VH1				

```

3-33      Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A
투입      - - - - - - - - - D - - - - - - - - -

          CDR1
3-33      A S G F T F S S Y G M H W V R Q A P G K G L E
투입      - - - - - - - N - N I - - - - - - - - -

          CDR2
3-33      W V A V I W Y D G S N K Y Y A D S V K G R F T
투입      - - - - - R - - - I - - - - - - - - - - I

3-33      I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A
투입      - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

          CDR3
3-33      V Y Y C A R - - - - - D D I W G Q G T M V T V
JH3      - - - - - S G P P - A F N - - - - - - - - -
투입
JH3      S S
투입      - -
    
```

16A5-MICA.52 VH1

도면2c

```

      M R V P A Q L L G L L L L W L P G
1  ATGAGGGTCC CCGCTCAGCT CCTGGGGCTT CTGCTGCTCT GGCTCCCAGG

      A R C A I Q L T Q S P S S L S A
51  TGCCAGATGT GCCATCCAGT TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT
          CDR1
      S V G D R V T I T C R A S Q G I S
101 CTGTAGGAGA CAGAGTCACC ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GGGCATCAGC

      S A L A W Y Q Q K P G K V P K S L
151 AGTGCTTTAG CCTGGTATCA GCAGAAACCA GGGAAAGTTC CTAAGTCCCT
          CDR2
      I Y D A S S L E S G V P S R F S
201 GATCTATGAT GCCTCCAGTT TGGAAAGTGG GGTCCCATCA AGGTTTCAGCG

      G S G S G T D F T L T I S S L Q P
251 GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG CCTGCAGCCT
          CDR3
      E D F A T Y Y C Q Q F N S Y P I T
301 GAAGATTTTG CAACTTATTA CTGTCAACAG TTTAATAGTT ACCCGATCAC

      F G Q G T R L E I K
351 CTTCGGCCAA GGGACACGAC TGGAGATTAA A
    
```

16A5-MICA.52 VH1

도면2d

	패밀리	유전자좌	TGL	VBASEENTRY
V-절편	VK1	L18		Va''+
J-절편	JK5	5		JK5
투입	16A5.C1.G2-VK1			

L18	A	I	Q	L	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	
투입	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		CDR1																						
L18	R	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	
투입	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	S
		CDR2																						
L18	L	I	Y	D	A	S	S	L	E	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	
투입	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		CDR3																						
L18	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	F	N	
투입	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		CDR3																						
L18	N	Y																						
JK5			I	T	F	G	Q	G	T	R	L	E	I	K										
투입	S	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-										

16A5-MICA.52 VH1

도면2e

1	A	I	Q	L	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D
	GCC	ATC	CAG	TTG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TCC	CTG	TCT	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC
		CDR1															
52	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A
	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGC	CGG	GCA	AGT	CAG	GGC	ATT	AGC	AGT	GCT	TTA	GCC
		CDR2															
103	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	D	A
	TGG	TAT	CAG	CAG	AAA	CCA	GGG	AAA	GCT	CCT	AAG	CTC	CTG	ATC	TAT	GAT	GCC
		CDR2															
154	S	S	L	E	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G
	TCC	AGT	TTG	GAA	AGT	GGG	GTC	CCA	TCA	AGG	TTC	AGC	GGC	AGT	GGA	TCT	GGG
		CDR3															
205	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T
	ACA	GAT	TTC	ACT	CTC	ACC	ATC	AGC	AGC	CTG	CAG	CCT	GAA	GAT	TTT	GCA	ACT
		CDR3															
256	Y	Y	C	Q	Q	F	N	S	Y	P	F	T	F	G	P	G	T
	TAT	TAC	TGT	CAA	CAG	TTT	AAT	AGT	TAC	CCA	TTC	ACT	TTC	GGC	CCT	GGG	ACC
		CDR3															
307	K	V	D	I	K												
	AAA	GTC	GAT	ATC	AAA												

16A5-MICA.53 VK2

도면2f

	패밀리	유전자좌	TGL	VBASEENTRY
V-절편	VK1	L18		Va'''+
J-절편	JK3	3	JK3	
투입	16A5.C1.G2-VK2			

L18	A	I	Q	L	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	
투입	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CDR1																							
L18	R	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	
투입	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CDR2																							
L18	L	I	Y	D	A	S	S	L	E	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	
투입	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CDR3																							
L18	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	F	N	
투입	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	N Y																							
L18	N	Y																						
JK3			F	T	F	G	P	G	T	K	V	D	I	K										
투입	S	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

16A5-MICA.53 VK2

도면3a

M G S T A I L A L L L A V L Q G V
 1 ATGGGGTCAA CCGCCATCCT CGCCCTCCTC CTGGCTGTTC TCCAAGGAGT

 C A E V Q L V Q S G A E V K K P
 51 CTGTGCCGAG GTGCAGCTGG TGCAGTCTGG AGCAGAGGTG AAAAAGCCCG

 G E S L K I S C K G S G Y S F T N
 101 GGGAGTCTCT GAAGATCTCC TGTAAGGGTT CTGCATACAG TTTTACCAAC
 CDR1
 Y W I G W V R Q M P G K G L E W L
 151 TACTGGATCG GCTGGGTGCG CCAGATGCC GGGAAAGGCC TGGAGTGGTT
 CDR2
 G I I H P G D S Y T R Y S P S F
 201 GGGGATCATC CATCCTGGTG ACTCTTATAC CAGATACAGC CCGTCCTTCC

 Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L
 251 AAGGCCAGGT CACCATCTCA GCCGACAAGT CCATCAGCAC CGCCTACCTG

 Q W S S L K A S D T A I Y Y C A R
 301 CAGTGGAGCA GCCTGAAGC CTCGGACACC GCCATATATT ACTGTGCGAG
 CDR3
 E G I A A T P F D Y W G Q G T L
 351 AGAGGGTATA GCAGCAACTC CCTTTGACTA CTGGGGCCAG GGAACCCTGG

 V T V S S
 401 TCACCGTCTC CTCA

24G11-MICA.54 VH1

도면3b

	패밀리	유전자좌	RF	TGL	VBASEENTRY
V-절편	VH5	5-51		HC2, pVx6	DP-73/V5-51...+
D-절편	D6	6-13	2		D6-13/DN1
J-절편	JH4	4			JH4b
투입	24G11.A10.E1-VH1				

5-51	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	E	S	L	K	I	S	C	K			
투입	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
5-51	G	S	G	Y	S	F	T	<u>CDR1</u>			S	Y	W	I	G	W	V	R	Q	M	P	G	K	G	L	E
투입	-	-	-	-	-	-	-				N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5-51	W	M	G	I	I	Y	P	G	D	S	D	T	R	Y	S	P	S	F	Q	G	Q	V	T			
투입	-	L	-	-	-	H	-	-	-	-	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
5-51	I	S	A	D	K	S	I	S	T	A	Y	L	Q	W	S	S	L	K	A	S	D	T	A			
투입	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
5-51	M	Y	Y	C	A	R	<u>CDR3</u>			G	I	A	A													
6-13																										
JH4																										
투입	I	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	T	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
JH4	T	V	S	S																						
투입	-	-	-	-																						

24G11-MICA.54 VH1

도면3c

```

M E A P A Q L L F L L L L W L P D
1 ATGGAAGCCC CAGCTCAGCT TCTCTTCCTC CTGCTACTCT GGCTCCAGA

T T G E I V L T Q S P A T L S L
51 TACCACCGGA GAAATTGTGT TGACACAGTC TCCAGCCACC CTGTCTTTGT
CDR1
S P G E R A T L S C R A S Q S V S
101 CTCCAGGGGA AAGAGCCACC CTCTCCTGCA GGGCCAGTCA GAGTGTTAGC

S Y L A W F Q Q K P G Q A P R L L
151 AGCTACTTAG CCTGGTTCCA ACAGAAACCT GGCCAGGCTC CCAGGCTCCT
CDR2
I Y D A S N R A T G I P A R F S
201 CATCTATGAT GCATCCAACA GGGCCACTGG CATCCAGCC AGGTTCAAGT

G S G S G G T D F T L T I S S L E P
251 GCAGTGGGTC TGGGACAGAC TTCACTCTCA CCATCAGCAG CCTAGAGCCT
CDR3
E D F A V Y Y C Q Q R S N W P P T
301 GAAGATTTTG CAGTTTATTA CTGTCAGCAG CGTAGCAACT GGCTCCGAC

F G Q G T K V E I K
351 GTTCGGCCAA GGGACCAAGG TGGAAATCAA A

```

24G11-MICA.54 VK1

도면3d

	패밀리	유전자좌	TGL	VBASEENTRY
V-절편	VK3	L6		Vg/38K...+
J-절편	JK1	1		JK1
투입	24G11.A10.E1-VK1			

L6	E I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T L S C
투입	- -
L6	<u>CDR1</u> R A S Q S V S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L
투입	- -
L6	<u>CDR2</u> L I Y D A S N R A T G I P A R F S G S G S G T
투입	- -
L6	D F T L T I S S L E P E D F A V Y Y C <u>CDR3</u> Q Q R S
투입	- -
L6	<u>N W</u>
JK1	T F G Q G T K V E I K
투입	- - P P - - - - - - - - - - - - - - - -

24G11-MICA.54 VK1

도면4a

M E L G L C W I F L V A I L E G V
 1 ATGGAGTTGG GGCTGTGCTG GATTTTCCTT GTTGCTATTT TAGAAGGTGT

Q C E V Q L V E S G G G L V Q P
 51 CCAGTGTGAG GTGCAACTGG TGAATCTGG GGGAGGCTTG GTACAGCCTG

G G S L R L S C A A S G F T F S T
 101 GGGGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCCT CTGGATTACAC CTTCAGTACC

CDR1
 Y S M N W V R Q A P G K G L E W V
 151 TATAGCATGA ACTGGGTCCG CCAGGCTCCA GGAAGGGGC TGGAGTGGGT

CDR2
 S Y I S Y R S R T I Y Y A D S V
 201 TTCATACATT AGTTATCGTA GTCGTACCAT ATACTACGCA GACTCTGTGA

K G R F T I S R D N A R N S L Y L
 251 AGGGCCGATT CACCATCTCC AGAGACAATG CCAGGAACTC ACTGTATCTG

Q M N S L R D E D T A V Y Y C A R
 301 CAAATGAACA GCCTGAGAGA CGAGGACACG GCTGTGTATT ACTGTGCGAG

CDR3
 W G Y G S G G F D Y W G Q G T L
 351 ATGGGGCTAT GGTTCGGGGG GCTTTGACTA CTGGGGCCAG GGAACCCTGG

V T V S S
 401 TCACCGTCTC CTCA

3F5-MICA.2 VH1

도면4b

3-48 버전
 3F5 VH E Y Q L V E S S G G G L V Y Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y S M N W
CDR1

3-48 버전
 3F5 VH T R Q A P G K G L E W V S Y I S S S S S T I Y Y A D S Y K G R F T I S R
CDR2

3-48 버전
 3H4b 버전 D N A K N S L Y L Q M N S L R D E D T A V Y Y C A R CDR3
 3F5 VH - - - R - - - - - - - - - - - - - - - W G Y G S G G - - - F D Y

3H4b 버전
 3F5 VH W G Q G T L V T V S S

3F5-MICA.2 VH1

도면4c

```

      M E T P A Q L L F L L L L W L P D
1  ATGGAAACCC CAGCGCAGCT TCTCTTCCTC CTGCTACTCT GGCTCCCAGA

      T T G E I V L T Q S P G T L S L
51 TACCACCGGA GAAATTGTGT TGACGCAGTC TCCAGGCACC CTGTCTTTGT
      CDR1
      S P G E R A T L S C R A S Q S V S
101 CTCCAGGGGA AAGAGCCACC CTCTCCTGCA GGGCCAGTCA GAGTGTTAGC

      S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L
151 AGCAGCTACT TAGCCTGGTA CCAGCAGAAA CCTGGCCAGG CTCCCAGGCT
      CDR2
      L I Y G A S S R A T G I P D R F
201 CCTCATCTAT GGTGCATCCA GCAGGGCCAC TGGCATCCCA GACAGGTTCA

      S G S G S G T D F T L T I S R L E
251 GTGGCAGTGG GTCTGGGACA GACTTCACTC TCACCATCAG CAGACTGGAG
      CDR3
      P E D F A V Y Y C Q Q Y G S S F T
301 CCTGAAGATT TTGCAGTGTA TTA CTGTCAG CAGTATGGTA GTCATTAC

      F G P G T K V D I K
351 TTTCGGCCCT GGGACCAAAG TGGATATCAA A
    
```

3F5-MICA.2 VK1

도면4d

A27 배선
 3F5 VK
 E I V L T P Q S P G T L S T S P G E R A P T L S C R A S Q S Y S S
 CDR1

A27 배선
 3F5 VK
 S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L T I Y G A S S R A T G I P D R
 CDR1 CDR2

A27 배선
 3F5 VK
 F S G S G S G T D F T L T I S R L E P E D F A V Y Y C Q Q Y G
 CDR3

A27 배선
 JK3 배선
 3F5 VK
 S S F T F G P G T K V D I K
 CDR3

3F5-MICA.2 VK1

도면5a

```

M E L G L S W I F L L A I L K G V
1  ATGGAGTTGG GACTGAGCTG GATTTTCCTT TTGGCTATTT TAAAAGGTGT

Q C E V Q L V E S G G G L V Q P
51  CCAGTGTGAA GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCTTG GTACAGCCTG

G R S L R L S C A A S G F T F N N
101 GCAGGTCCTT GAGACTCTCC TGTGCAGCCT CTGGATTCAC CTTTAATAAT
    CDR1
Y A M H W V R Q A P G K G L E W V
151 TATGCCATGC ACTGGGTCCG GCAAGCTCCA GGAAGGGCC TGGAGTGGGT
    CDR2
S G I T W N S D S I G Y A D S V
201 CTCAGGTATT ACTTGAATA GTGATAGCAT AGGCTATGCG GACTCTGTGA

K G R F T I S R D N A K N S L Y L
251 AGGGCCGATT CACCATCTCC AGAGACAACG CCAAGAACTC CCTGTATCTG

Q M N S L R A E D T A L Y Y C A K
301 CAAATGAACA GTCTGAGAGC TGAGGACACG GCCTTGTATT ACTGTGCAAA
    CDR3
D S V L L W F G G M D V W G Q G
351 AGATTCCGTA TTACTATGGT TCGGGGTAT GGACGTCTGG GGCCAAGGGA

T T V T V S S
401 CCACGGTCAC CGTCTCCTCA

```

71C2 VH1

도면5b

	패밀리	유전자좌	RF	TGL	VBASEENTRY
V-절편	VH3	3-09			DP-31/V3-9P...+
D-절편	D3	3-10	1		D3-10/DXP'1
J-절편	JH6	6			JH6b
투입	71C2.D4.C4-VH1				

```

3-09      E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C A
투입      - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3-09      A S G F T F D CDR1 D Y A M H W V R Q A P G K G L E
투입      - - - - - - N N - - - - - - - - - - - - - -
3-09      W V S CDR2 G I S W N S G S I G Y A D S V K G R F T
투입      - - - - - T - - - D - - - - - - - - - - - -
3-09      I S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A
투입      - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3-09      L Y Y C A K CDR3 _____
3-10      V L L W F G
JH6      L L L Y Y G M D V W G Q G
투입      - - - - - - - S - - - W F G - - - - - - - -
JH6      T T V T V S S
투입      - - - - - - -
    
```

71C2 VH1

도면5c

```

1      M E T P A Q L L F L L L L W L P D
      ATGGAAACCC CAGCGCAGCT TCTCTTCCTC CTGCTACTCT GGCTCCCAGA
51      T T G E I V L T Q S P G T L S L
      TACCACCGGA GAAATTGTGT TGACGCAGTC TCCAGGCACC CTGTCTTTGT
      CDR1
101     S P G E R A T L S C R A S Q S V S
      CTCCAGGGGA AAGAGCCACC CTCTCCTGCA GGGCCAGTCA GAGTGTTAGC
151     SSYLAWYQQKPGQAPRL
      AGCAGCTACT TAGCCTGGTA CCAGCAGAAA CCTGGCCAGG CTCCCAGGCT
      CDR2
201     L I Y G A S S R A T G I P D R F
      CCTCATCTAT GGTGCATCCA GCAGGGCCAC TGGCATCCCA GACAGGTTCA
251     S G S G S G T D F T L T I S R L E
      GTGGCAGTGG GTCTGGGACA GACTTCACTC TCACCATCAG CAGACTGGAG
      CDR3
301     P E D F A V Y Y C Q Q Y G S S P P
      CCTGAAGATT TTGCAGTGTA TTA CTGTGTCAG CAGTATGGTA GCTCACCTCC
351     Y T F G Q G T K L E I K
      GTACACTTTT GGCCAGGGGA CCAAGCTGGA GATCAAA
    
```

71C2 VK1

도면5d

	패밀리	유전자좌	TGL	VBASEENTRY
V-절편	VK3	A27		DPK22/A27...+
J-절편	JK2	2	JK2	
투입	71C2.D4.C4-VK1			

```

A27      E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C
투입     - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

      CDR1
A27      R A S Q S V S S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R
투입     - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

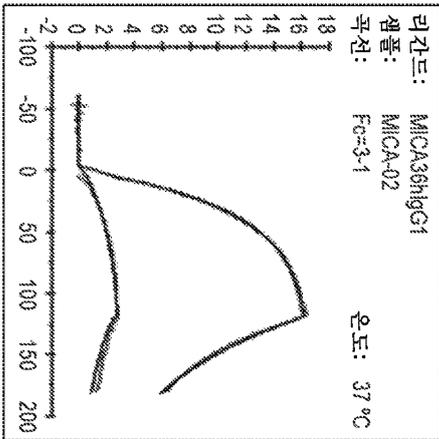
      CDR2
A27      L L I Y G A S S R A T G I P D R F S G S G S G
투입     - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

      CDR3
A27      T D F T L T I S R L E P E D F A V Y Y C Q Q Y
투입     - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

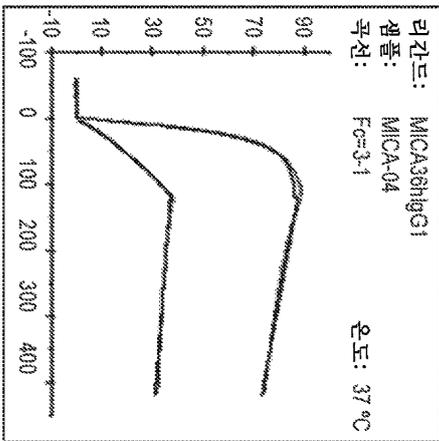
      G S S
A27      - - - P P - - - - - - - - - - - - - - -
JK2      Y T F G Q G T K L E I K
투입     - - - P P - - - - - - - - - - - - - - -
    
```

71C2 VK1

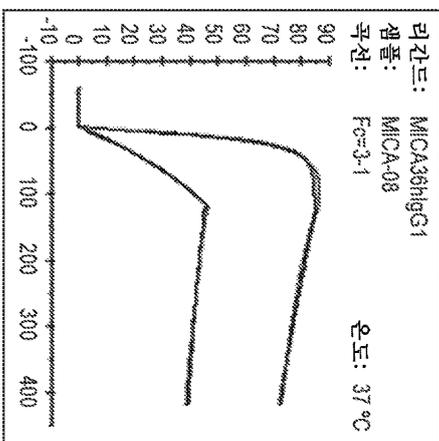
도면6i



6a



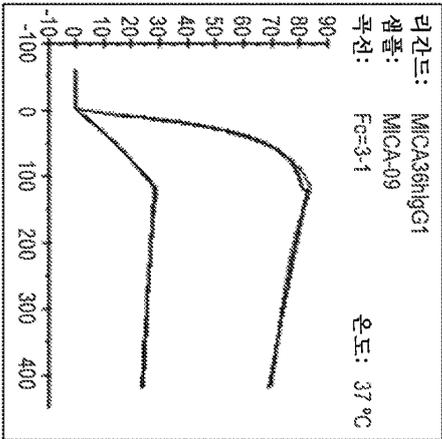
6b



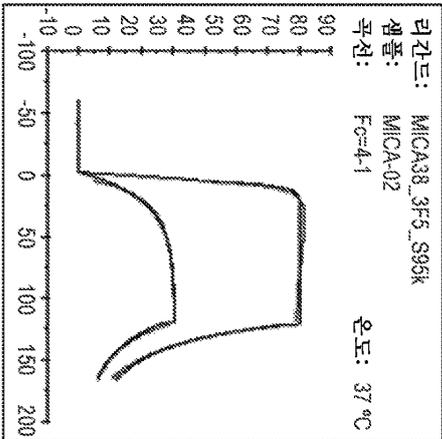
6c

도면6ii

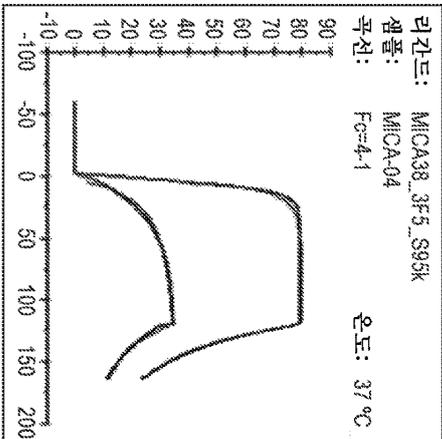
6d



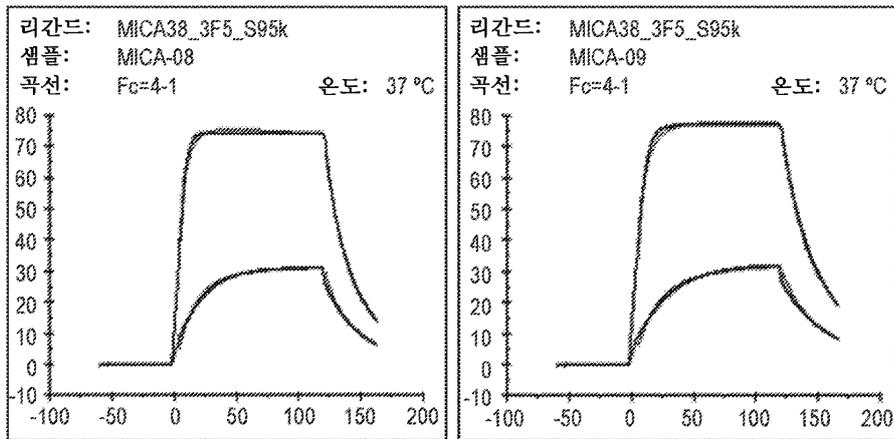
6e



6f



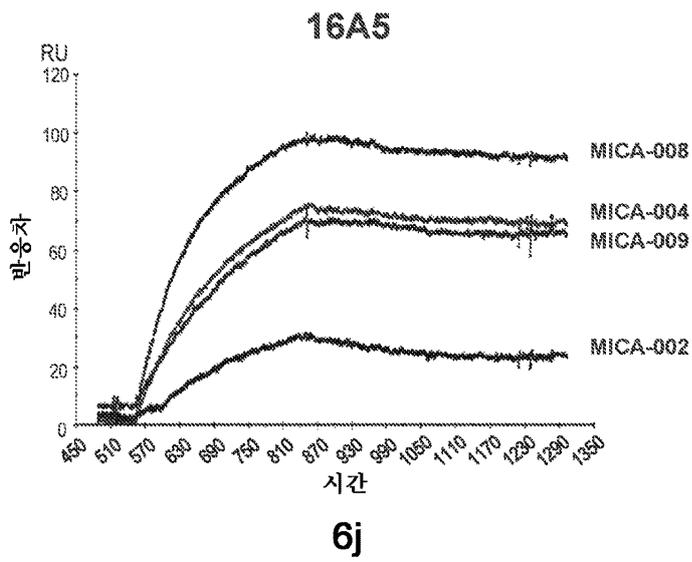
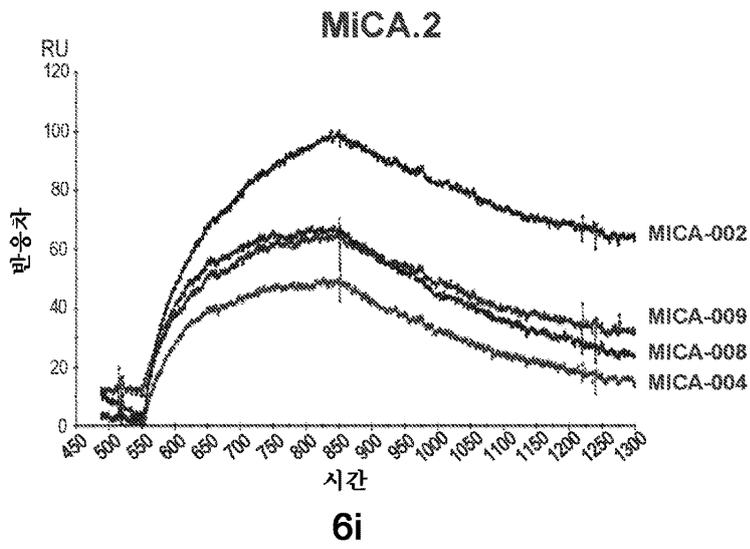
도면6iii



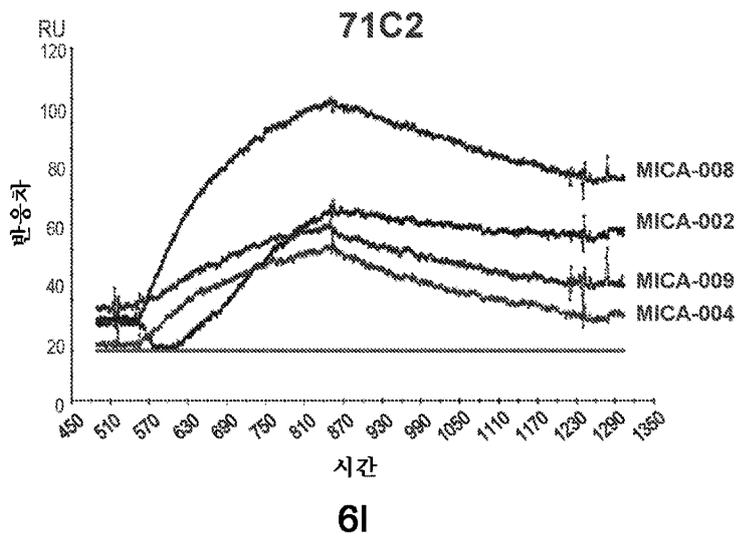
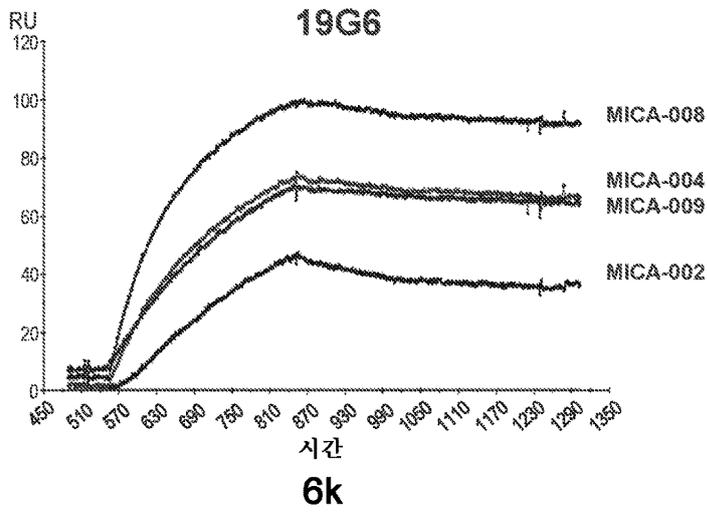
6g

6h

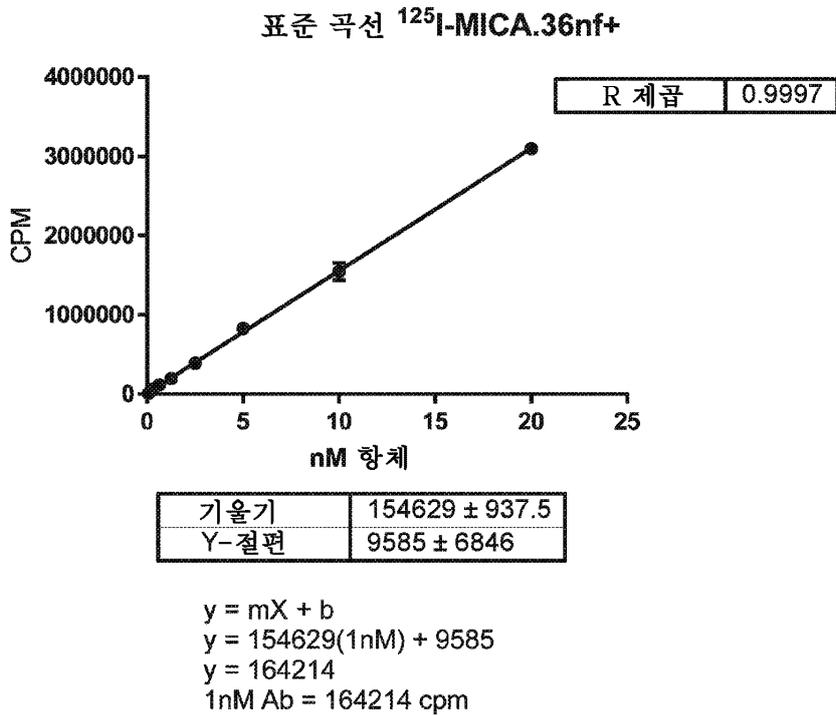
도면6iv



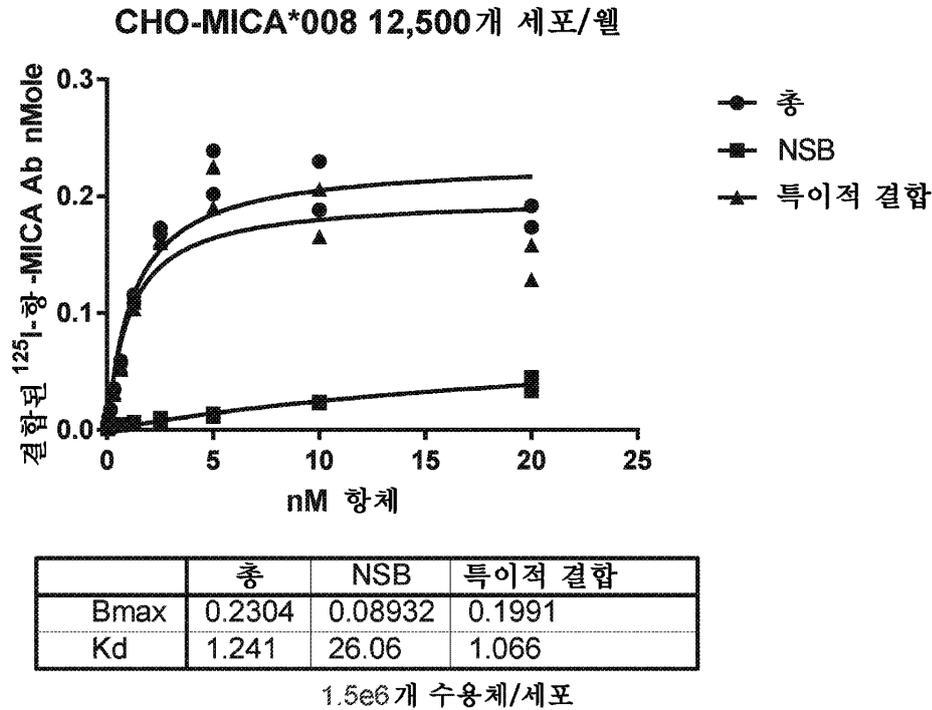
도면6v



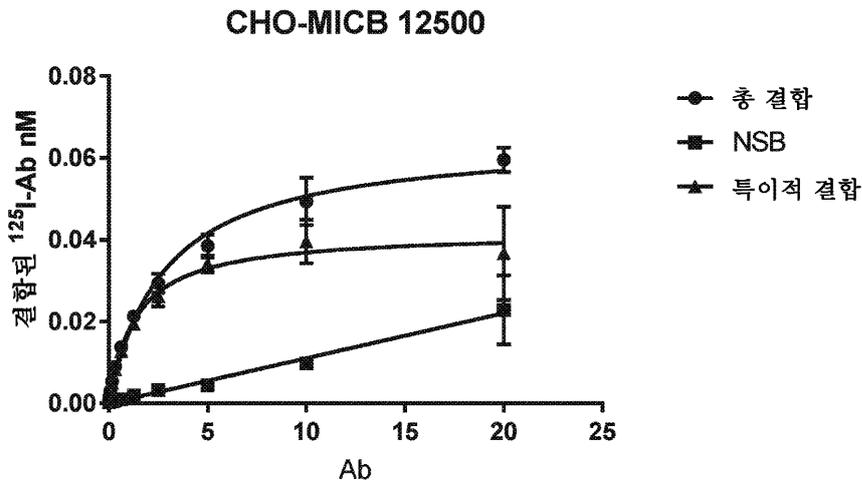
도면7a



도면7b



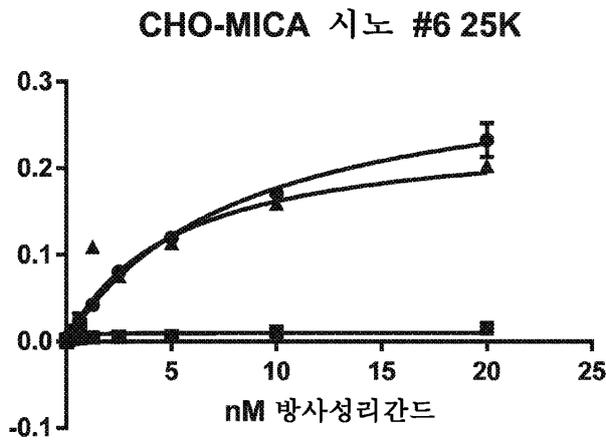
도면7c



	총 결합	NSB	특이적 결합
Bmax	0.06481	~ 2454441154507	0.04191
Kd	2.799	~ 2.226e+015	1.361

0.2e6 개 수용체/세포

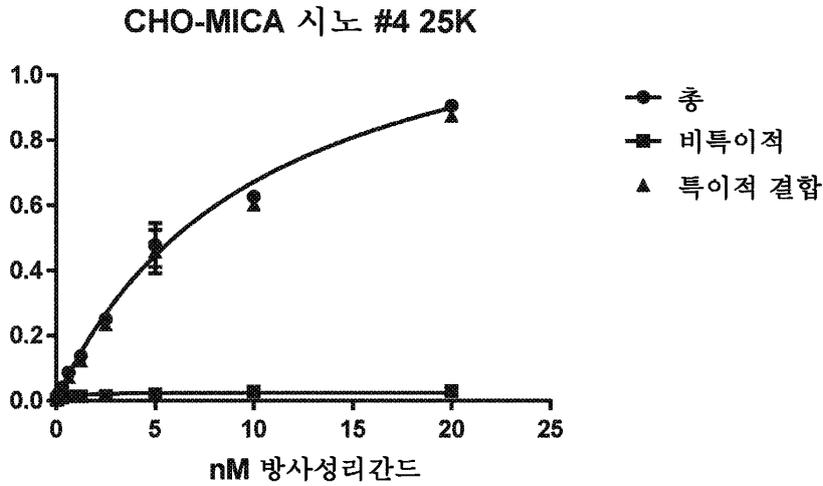
도면7d



	총	비특이적	특이적 결합
Bmax	0.3233	0.009976	0.2448
Kd	8.272	0.2264	5.123

587,520 개 수용체/세포

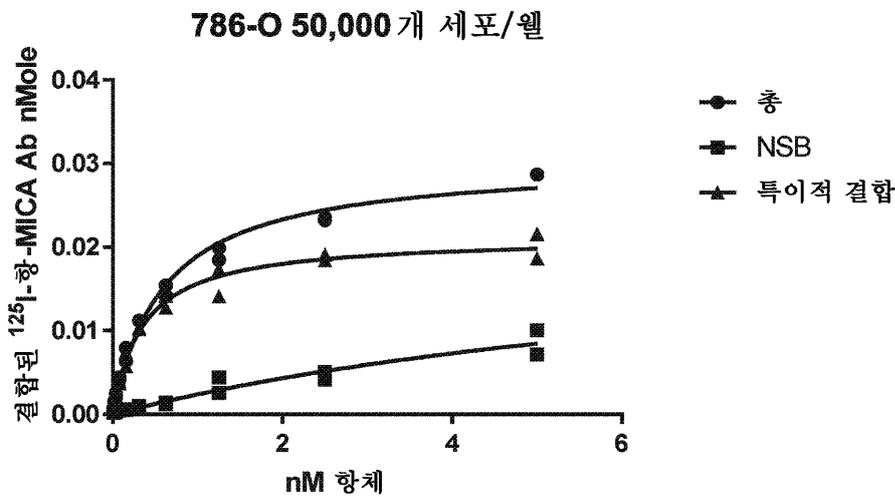
도면7e



	총	비특이적	특이적 결합
Bmax	1.361	0.02652	1.353
Kd	10.25	0.5731	11.04

3.25e6개 수용체/세포

도면7f

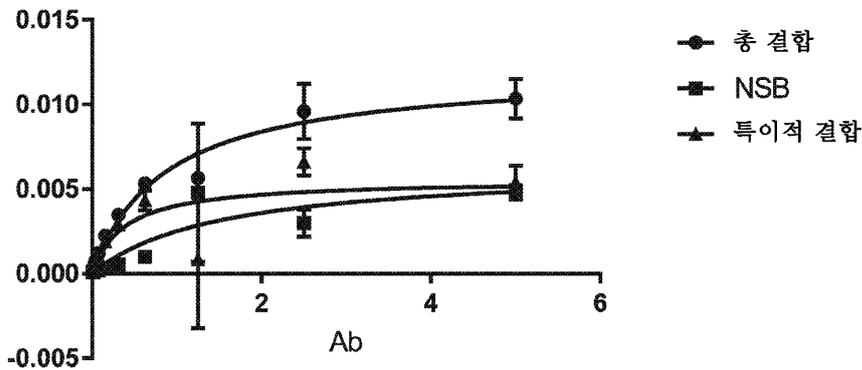


	총	NSB	특이적 결합
Bmax	0.03029	0.02339	0.0212
Kd	0.5996	8.829	0.3564

25,440개 수용체/세포

도면7g

SW480 25,000개 세포/웰

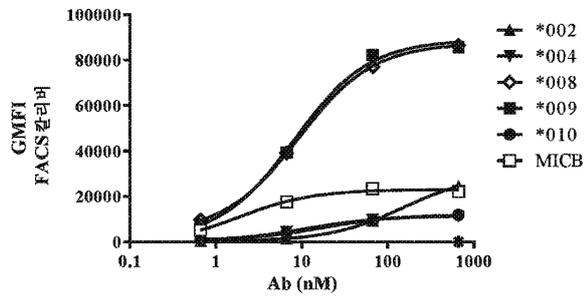


	총 결합	NSB	특이적 결합
Bmax	0.01205	0.006298	0.005568
Kd	0.8713	1.506	0.3852

13,200개 수용체/세포

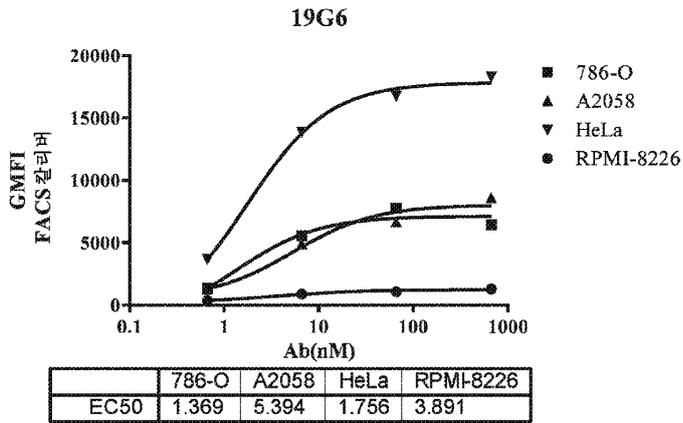
도면8a

CHO-MICA
19G6

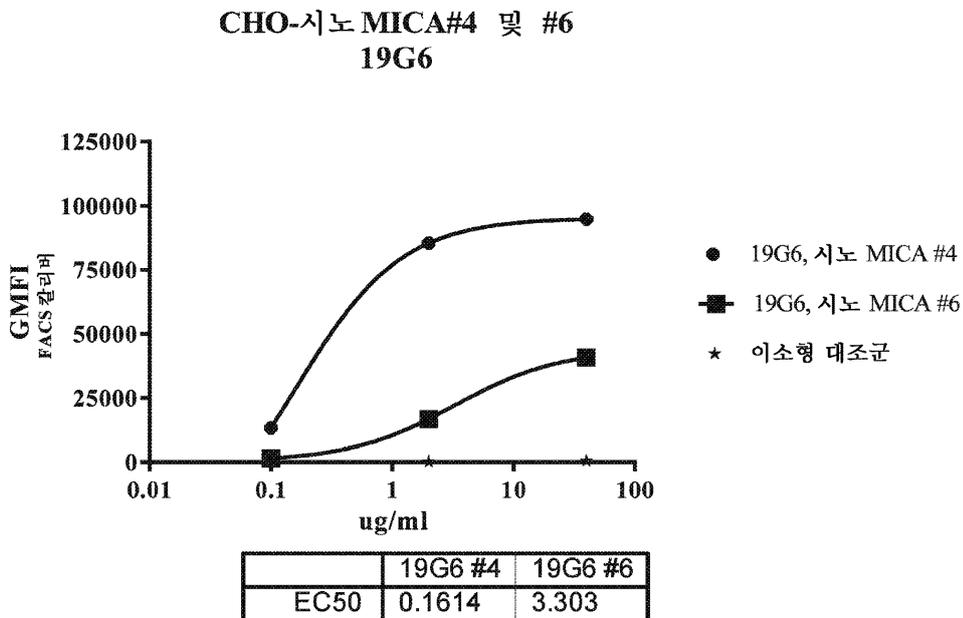


	*002	*004	*008	*009	*010	MICB
EC50	151.7	11.39	9.229	8.21	18.48	1.826

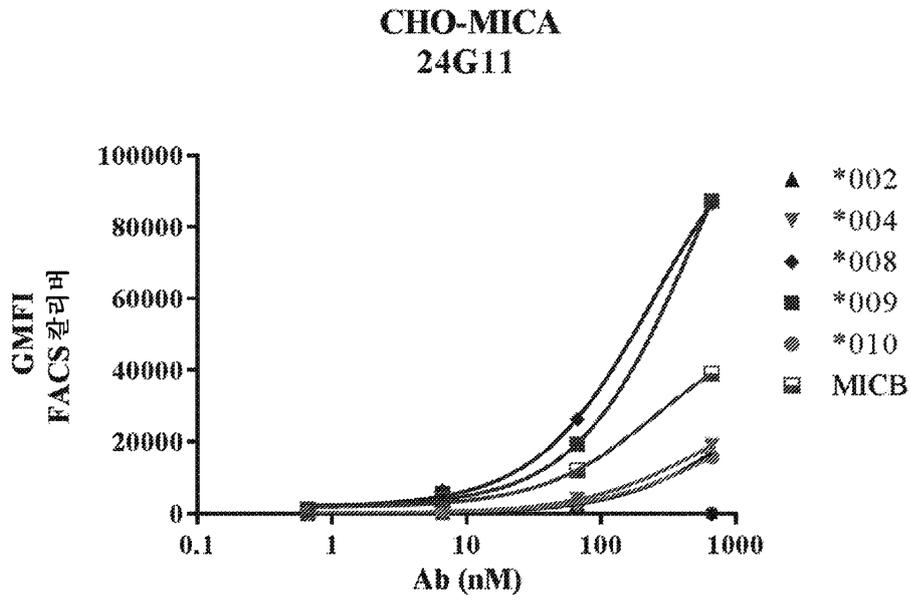
도면8b



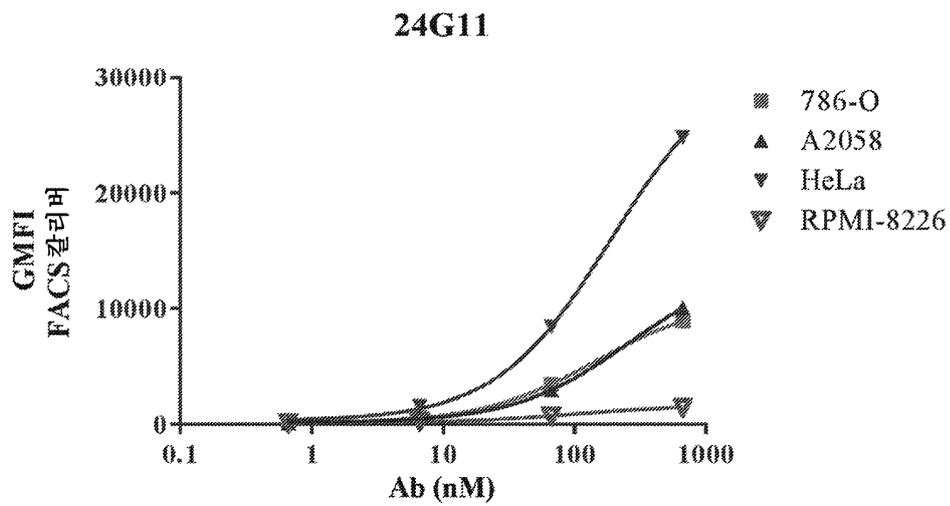
도면8c



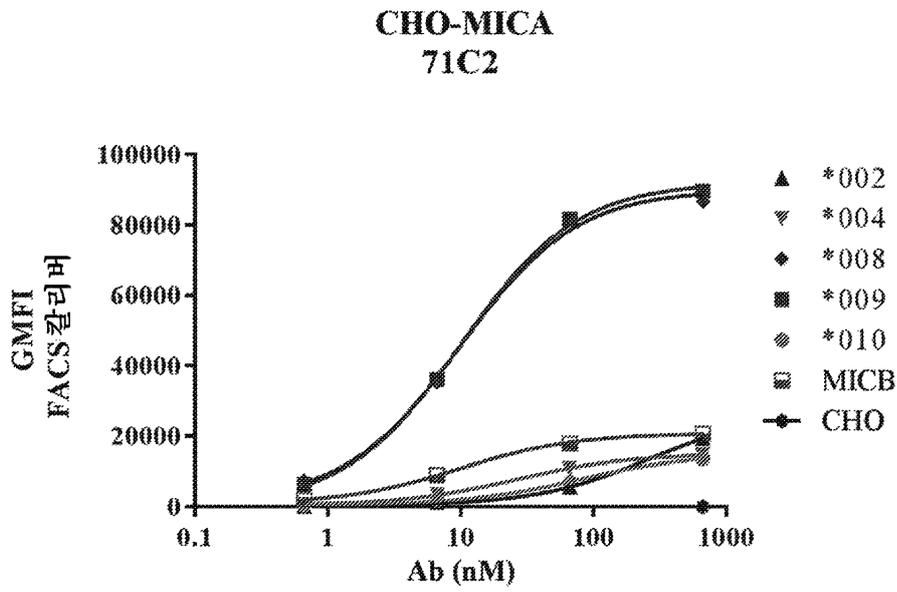
도면8d



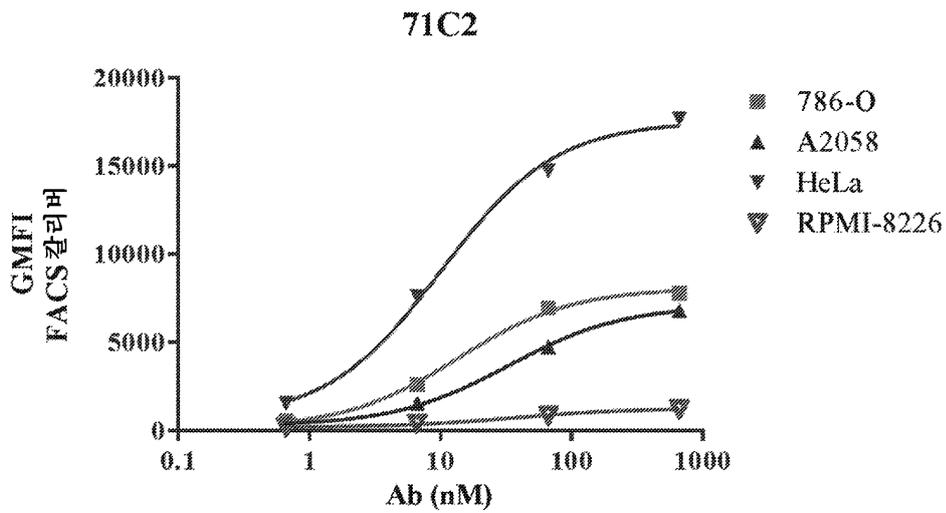
도면8e



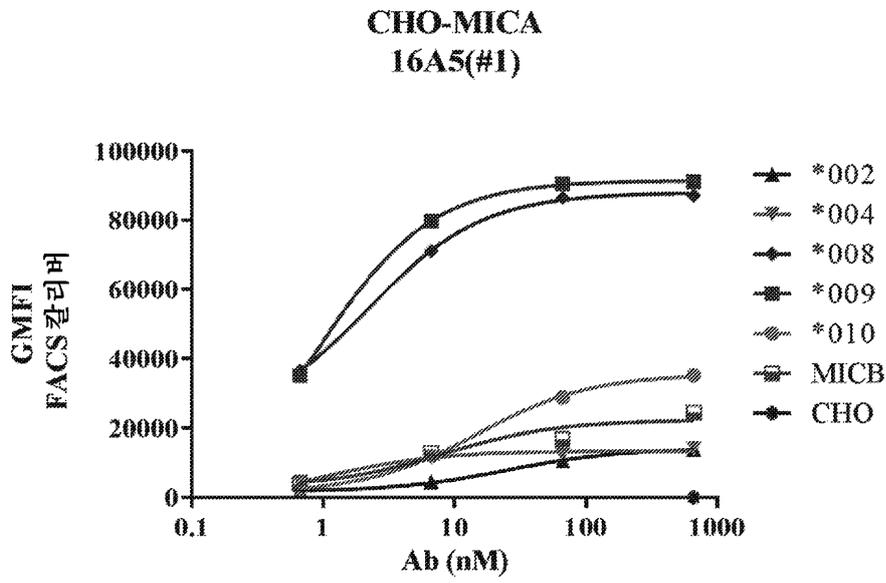
도면8f



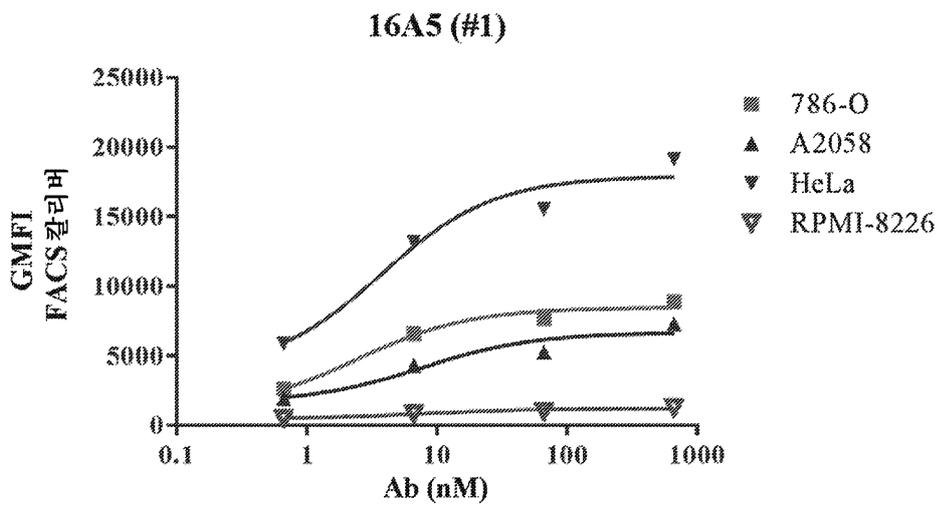
도면8g



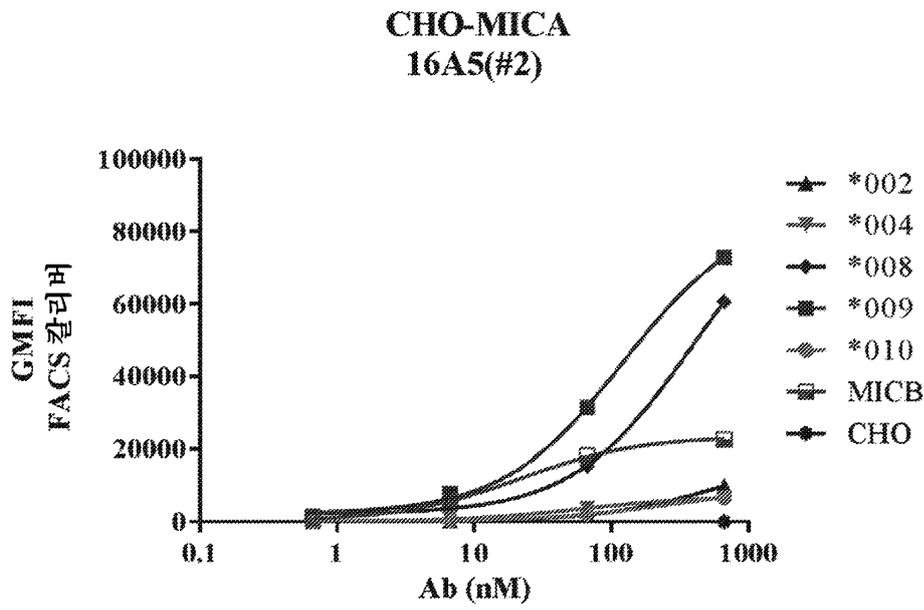
도면8h



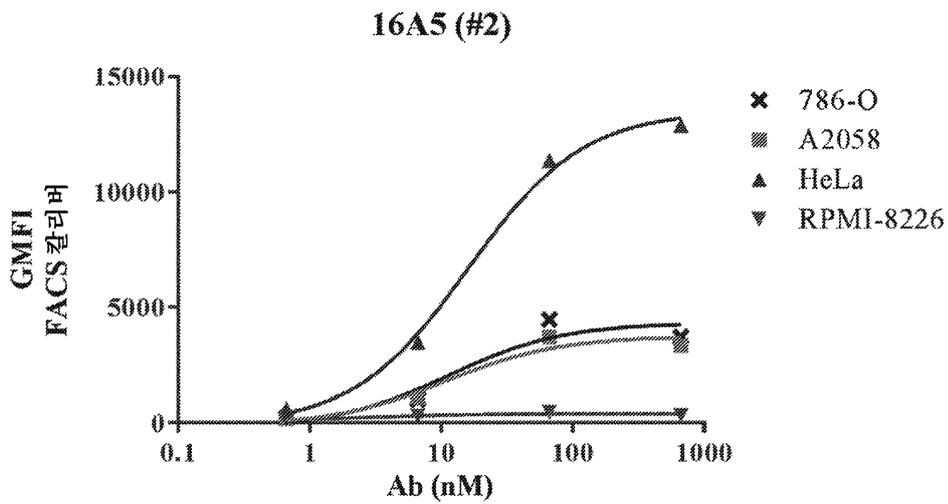
도면8i



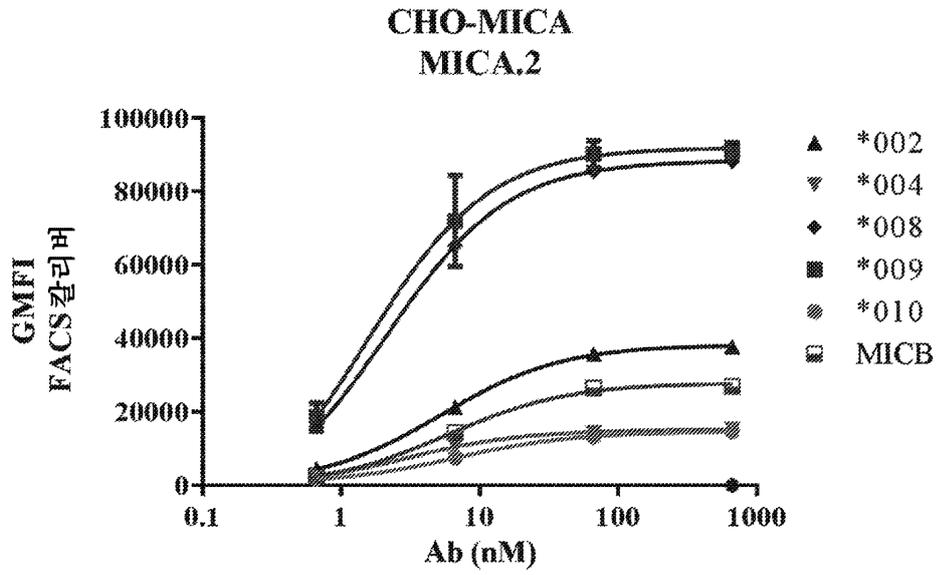
도면8j



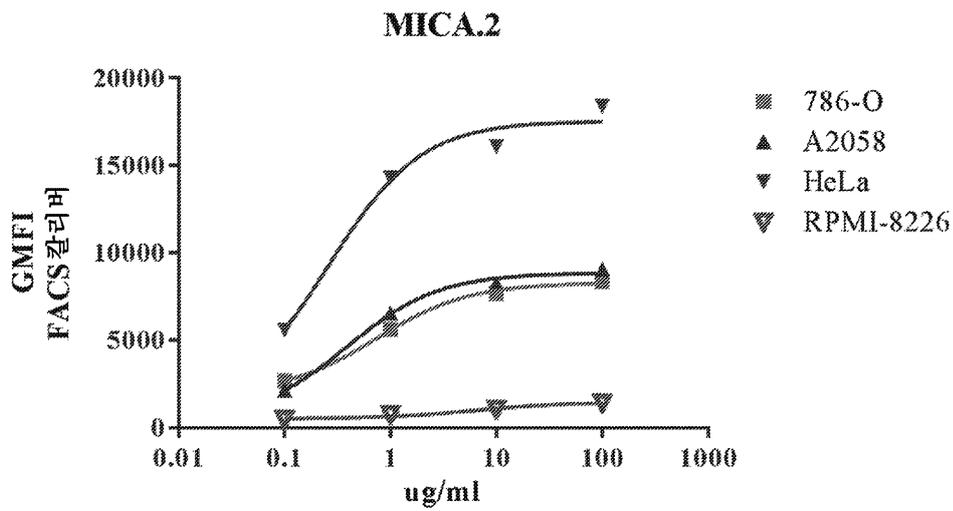
도면8k



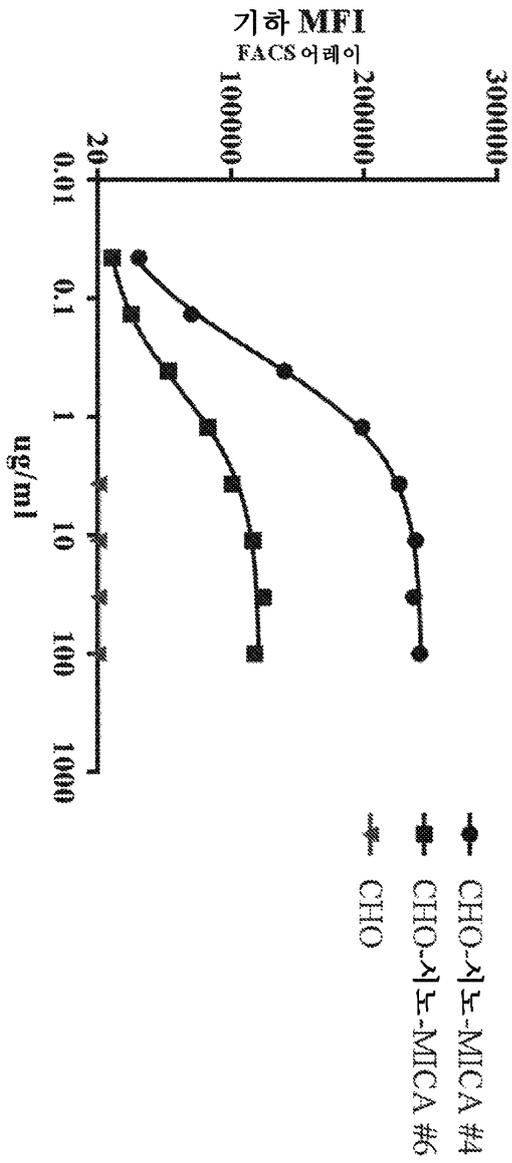
도면81



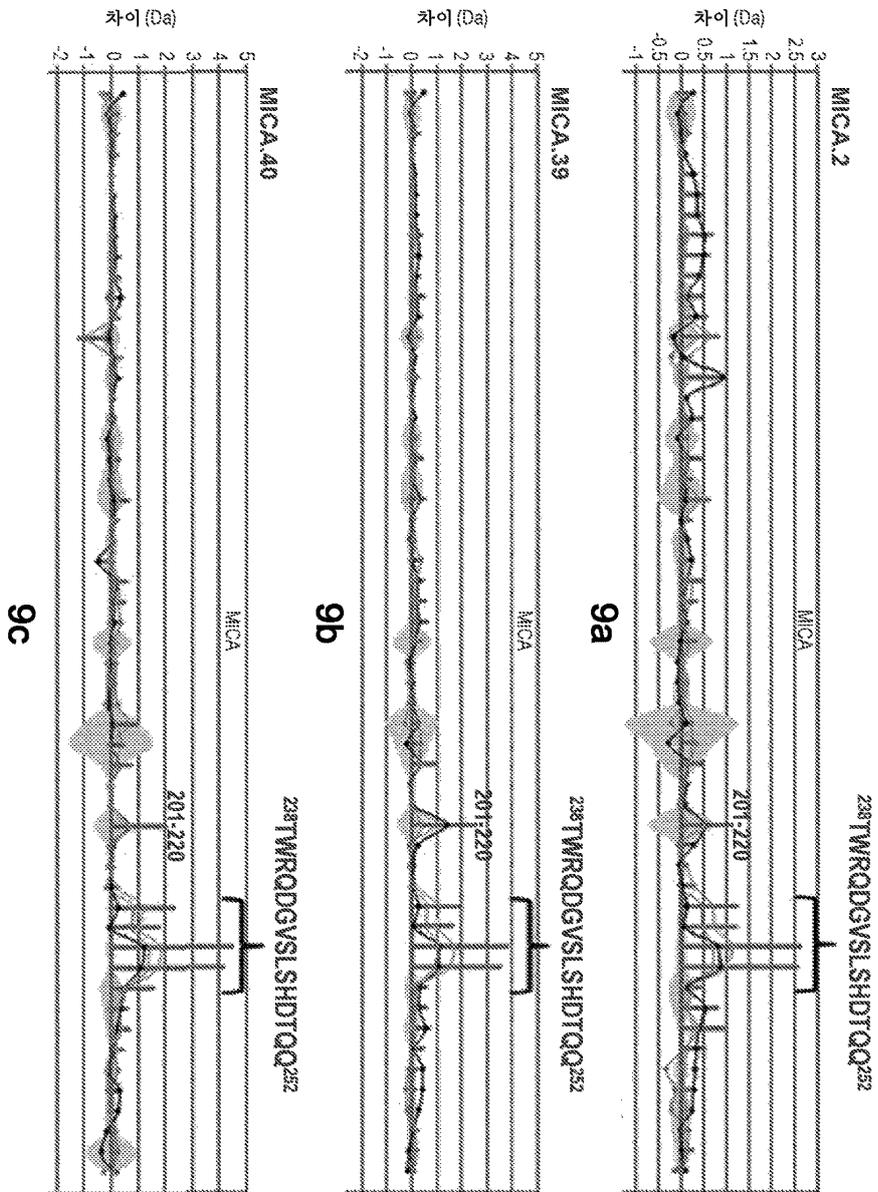
도면8m



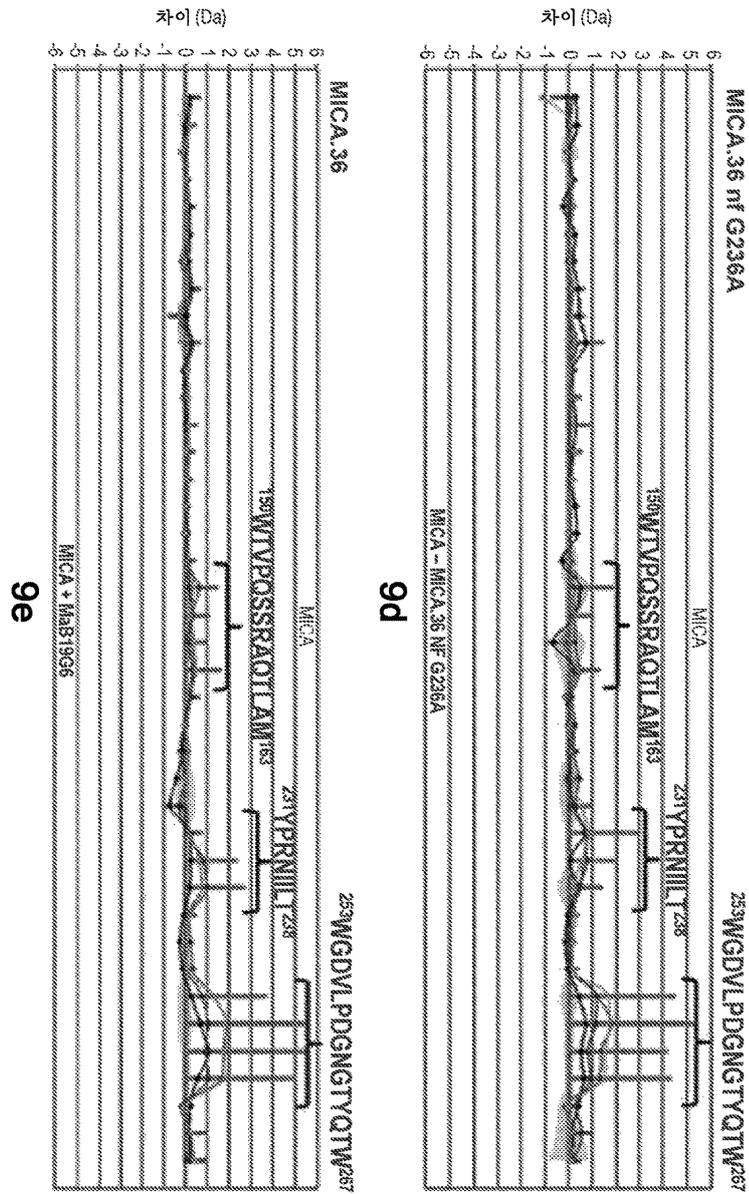
도면 8n



도면9i

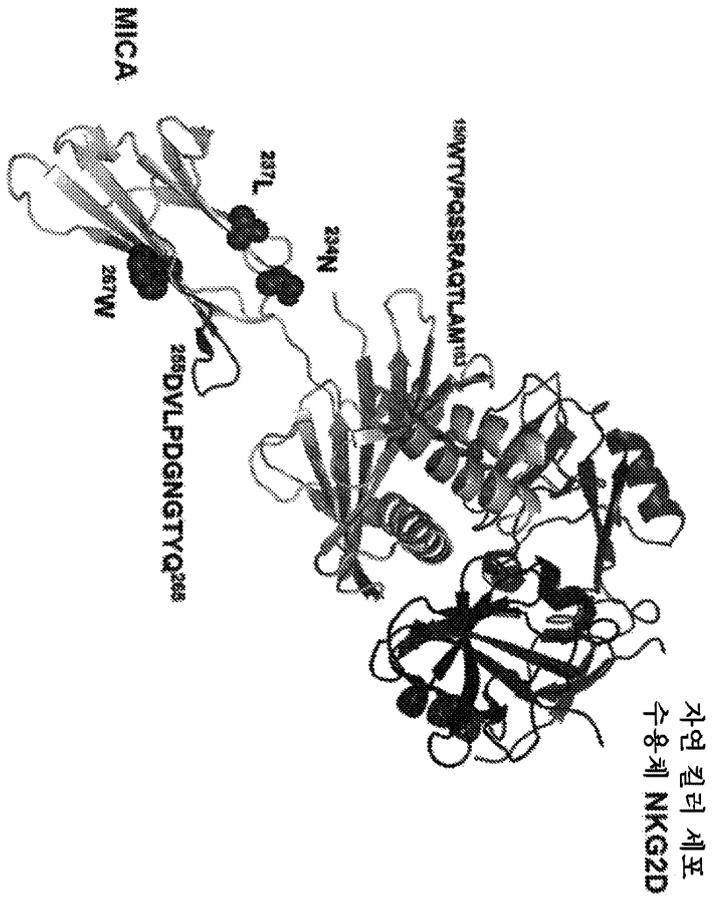


도면9i



도면9iii

보통
순서



9f

도면10a

1 NGIGFVFIILL AGIFPFAPPG AAAPHSIRY NLTVLSDGGS VÖSGEIAEVH LDGÖPILRYD
 61 RÖKCRAPPÖG ÖWAEDVLGNK TWDRETRDIT GNGKDIRMTL AHIKDÖKEGL HSIÖEIRVCE
 121 IHEDNSTRSS ÖHEFYDGEILF LSÖNLETEEM TVFÖSSRAÖF LAMNVRFNK EDAMKTKTHY
 181 HAMHADCLÖE IRRYIEGAV LRRTVPEMVN VTRSEASEGN ITVTGRASSF YPRNIIITWR
 241 ÖDGVSLSHDT ÖÖWÖDVLFDG NGTYÖTIVVAL RIRGGEÖRF TCYMEHSGNH STHPVPSGKV
 301 LVLÖSHWÖTF HVSVAVAAGCC YFCYFFFELCP LL

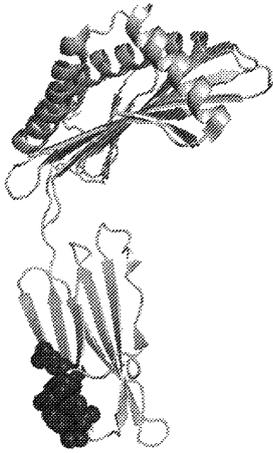
도면10b

1 MGI~~G~~PV~~L~~L~~L~~ AGI~~F~~FP~~A~~PPG AA~~A~~EPH~~S~~L~~R~~Y N~~L~~TV~~L~~SW~~D~~G~~S~~ V~~O~~SG~~F~~L~~A~~EVH I~~D~~O~~P~~FL~~R~~Y~~D~~
61 R~~O~~K~~R~~A~~R~~A~~P~~P~~O~~G ~~O~~MA~~E~~D~~V~~L~~S~~GNK T~~W~~D~~R~~E~~T~~R~~D~~L~~J~~ G~~N~~G~~K~~D~~I~~R~~M~~T~~L~~ A~~H~~I~~K~~D~~O~~K~~E~~G~~L~~ H~~S~~L~~O~~E~~I~~R~~V~~C~~E~~
121 I~~H~~E~~D~~N~~S~~T~~R~~S~~S~~ ~~Q~~H~~F~~Y~~D~~G~~E~~L~~F~~ I~~S~~~~O~~N~~L~~E~~T~~E~~E~~W T~~V~~P~~O~~S~~S~~R~~A~~Q~~T~~ I~~A~~M~~N~~V~~R~~N~~F~~L~~K~~ E~~D~~A~~M~~K~~T~~K~~T~~H~~Y~~
181 H~~A~~M~~H~~A~~D~~D~~L~~Q~~E~~ L~~R~~R~~Y~~L~~E~~S~~G~~V~~V~~ L~~R~~R~~T~~V~~P~~P~~M~~V~~N~~ V~~T~~R~~S~~E~~A~~S~~E~~G~~N~~ I~~T~~V~~T~~C~~R~~A~~S~~S~~F~~ Y~~P~~R~~N~~I~~L~~L~~T~~W~~R~~
241 QD~~G~~YS~~I~~S~~H~~D~~T~~ ~~Q~~W~~G~~D~~V~~L~~P~~D~~G~~ N~~G~~T~~Y~~Q~~T~~W~~V~~A~~T~~ R~~I~~C~~R~~G~~E~~E~~Q~~R~~F~~ T~~C~~Y~~M~~E~~H~~S~~G~~N~~H~~ S~~T~~H~~P~~V~~P~~S~~G~~R~~V~~
301 I~~V~~L~~Q~~S~~H~~W~~Q~~T~~F~~ H~~V~~S~~A~~V~~A~~A~~G~~O~~C~~ Y~~F~~C~~Y~~Y~~F~~L~~O~~P~~L~~ L~~L~~

도면10c

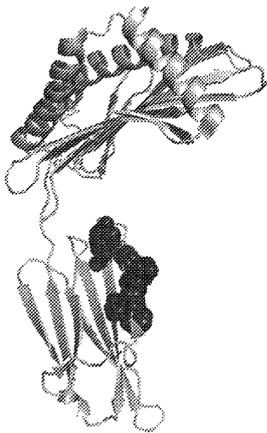
1 MGLSPVFLLL AGIFPEAPPG AAAPHSLRY NLTVLSDGGS VQSGFLAEVH LDGQPFIRYD
61 RÖKCRAKPÖG ÖWÄEDVLGNK TWDRFTRDLT GNGKDIRMTL AHIKDÖKEGL HSIÖEIRVCE
121 IHEDNSTRSS ÖHFYYDGEILF ISÖNLETEEM TVPÖSSRAÖT IANVVRNFK EDANKTKTHY
181 HAMHADCLÖE LRRIEESGVY LRRTVPEMVN VTRSEASEGN ITVTGRASSF YPRNITLWR
241 ÖDGVSLSHDT ÖQMGDVL PDG NGTYÖTWVAT RICRGEÖQRF TCYMEHSGNH STHFVPSGKV
301 LVLÖSHWÖTF HVSVAVAGCC YFCYYFFLCP LL

도면10d



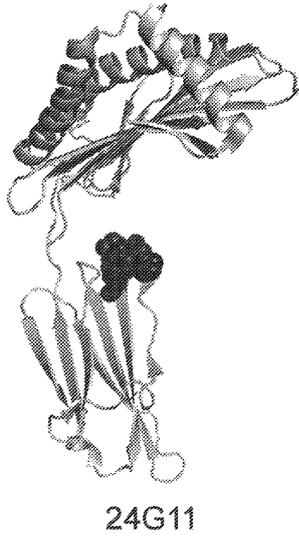
MICA.2

도면10e

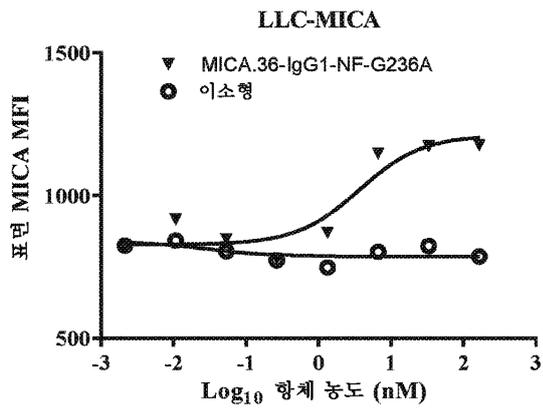


MICA.36

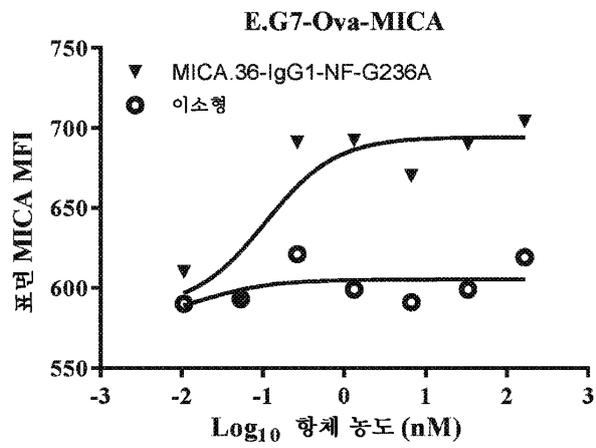
도면10f



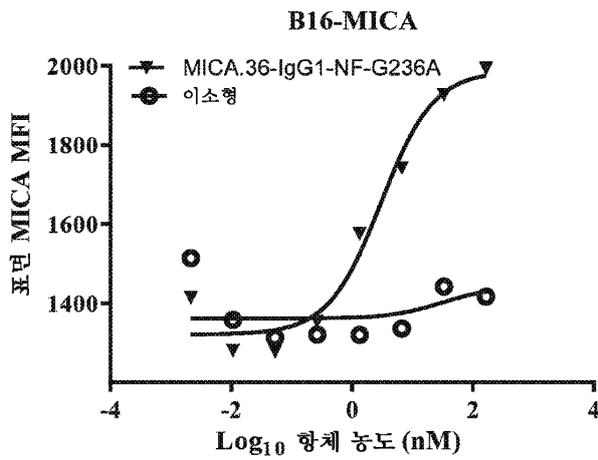
도면11a



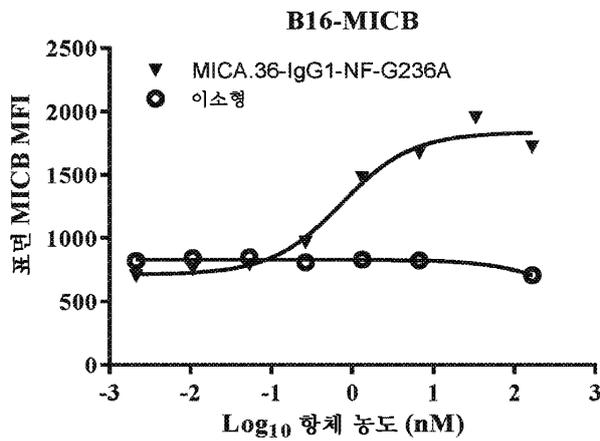
도면11b



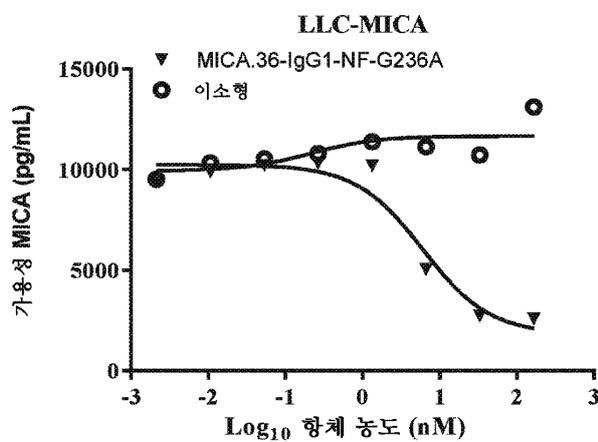
도면11c



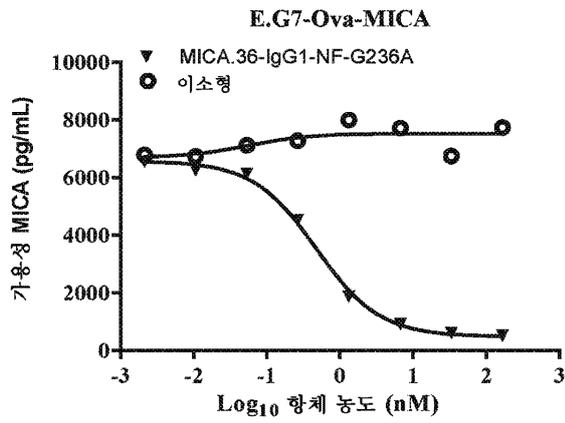
도면11d



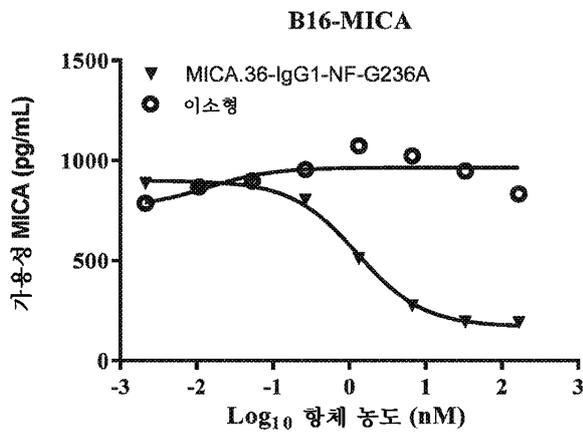
도면12a



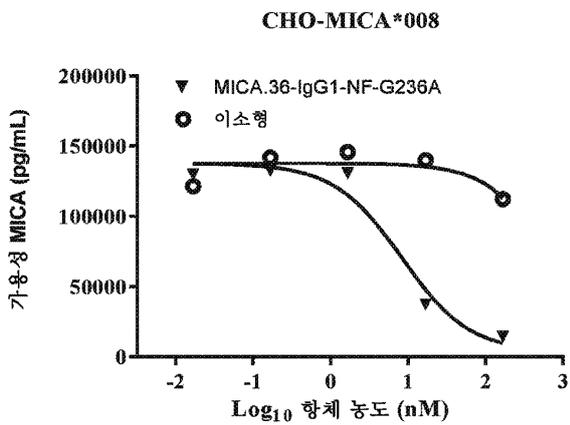
도면12b



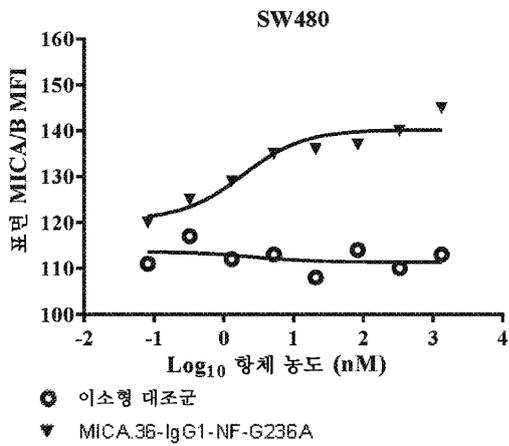
도면12c



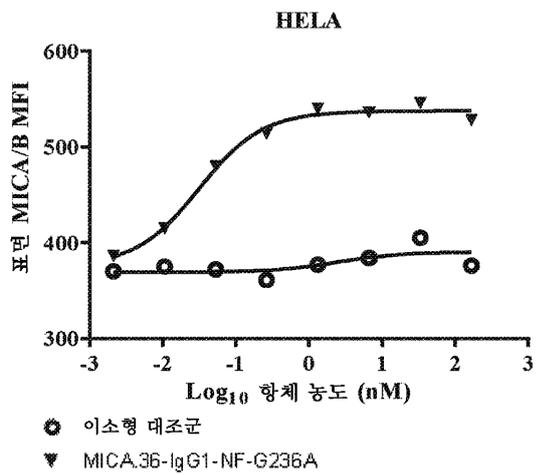
도면12d



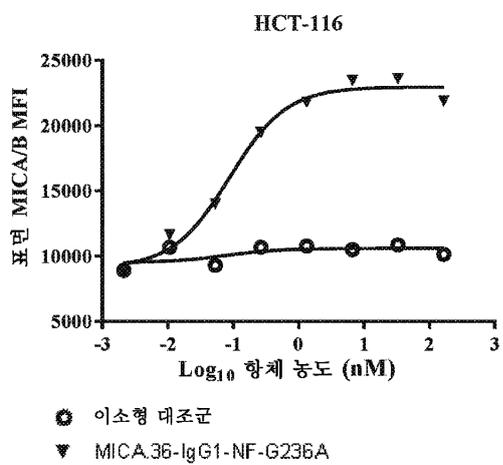
도면13a



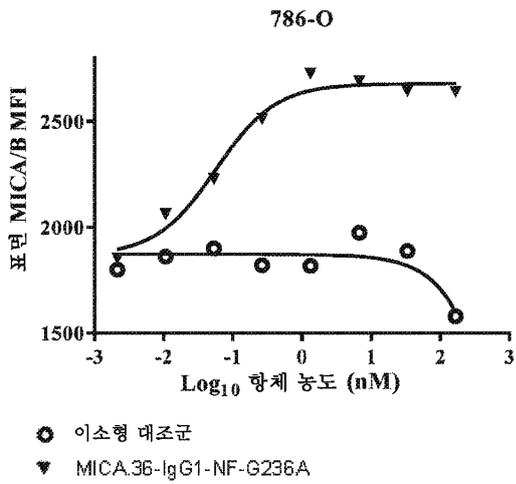
도면13b



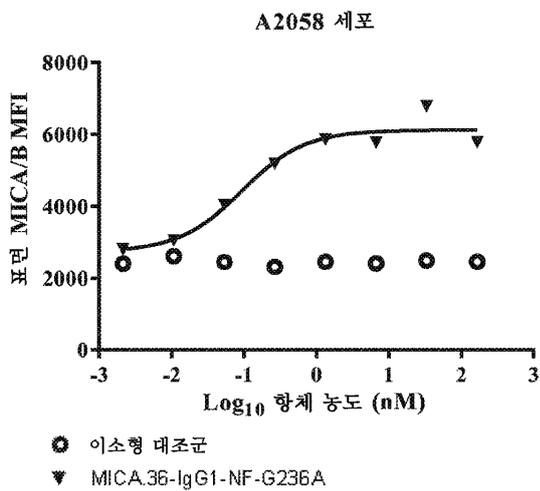
도면13c



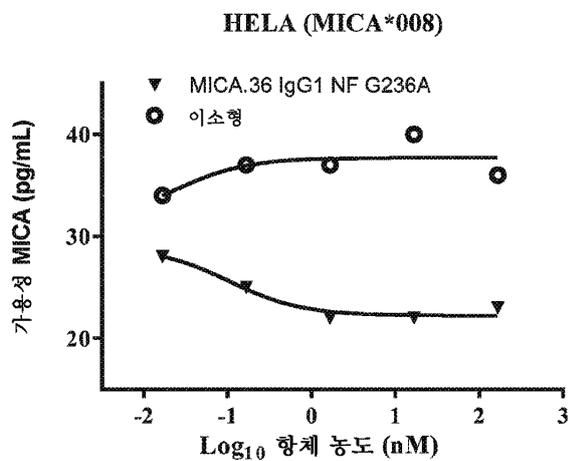
도면13d



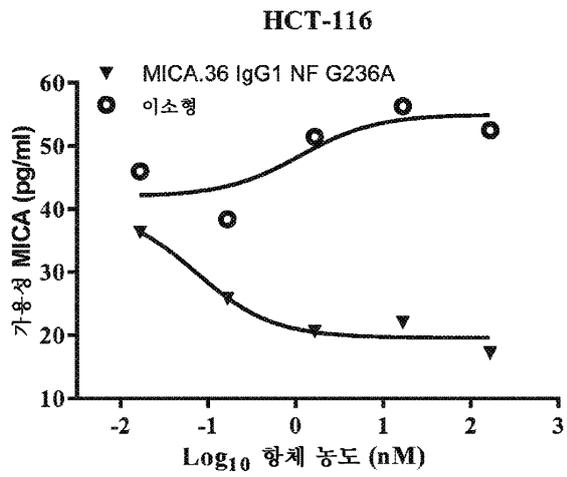
도면13e



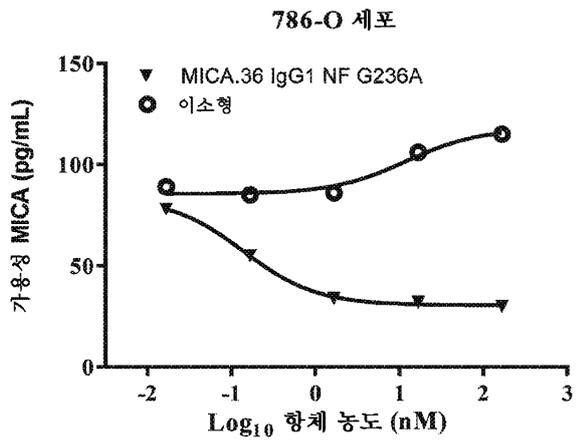
도면14a



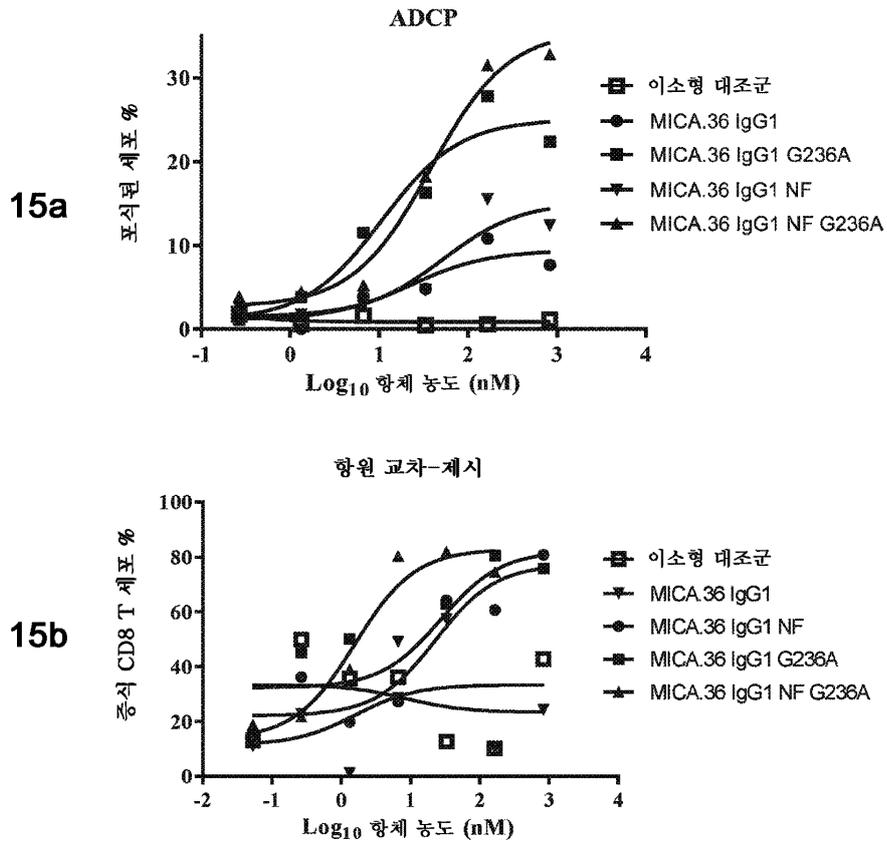
도면14b



도면14c

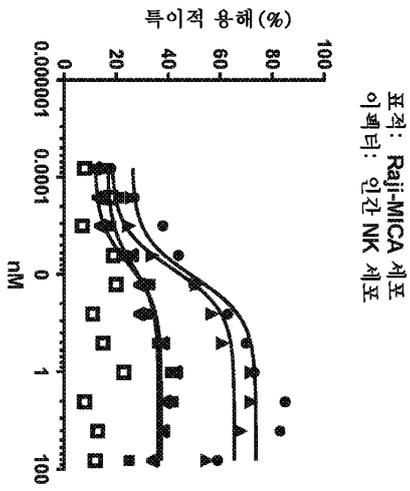


도면15

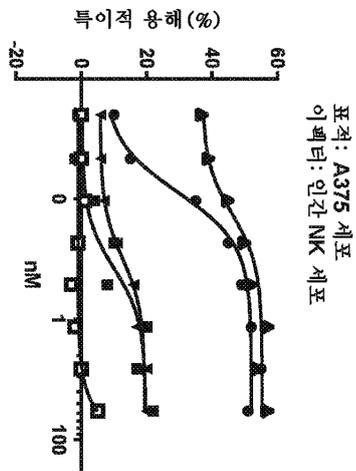


도면16

16a

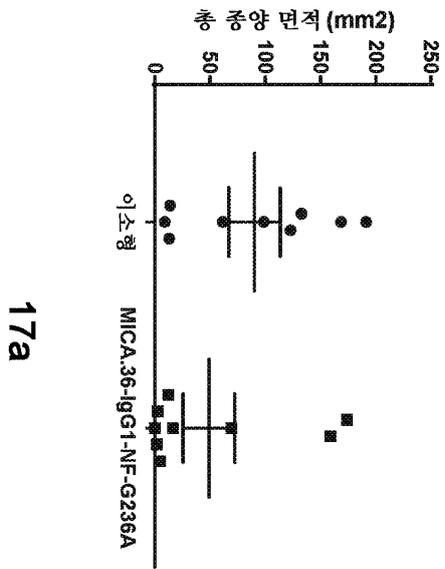


16b

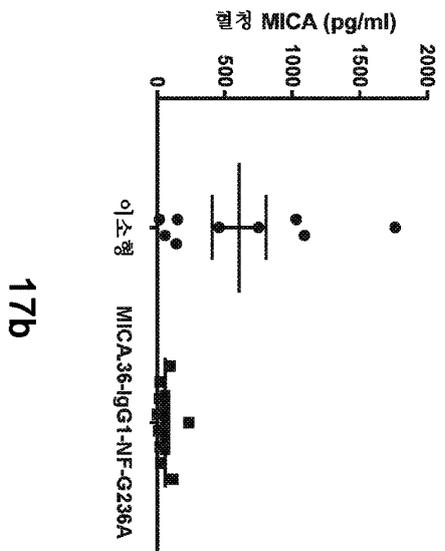


- ▲ MICA36 IgG1 NF
- MICA36 IgG1 G236A
- △ MICA36 IgG1 NF G236A
- MICA36 IgG1 G236A
- 이소형 제조군

도면17

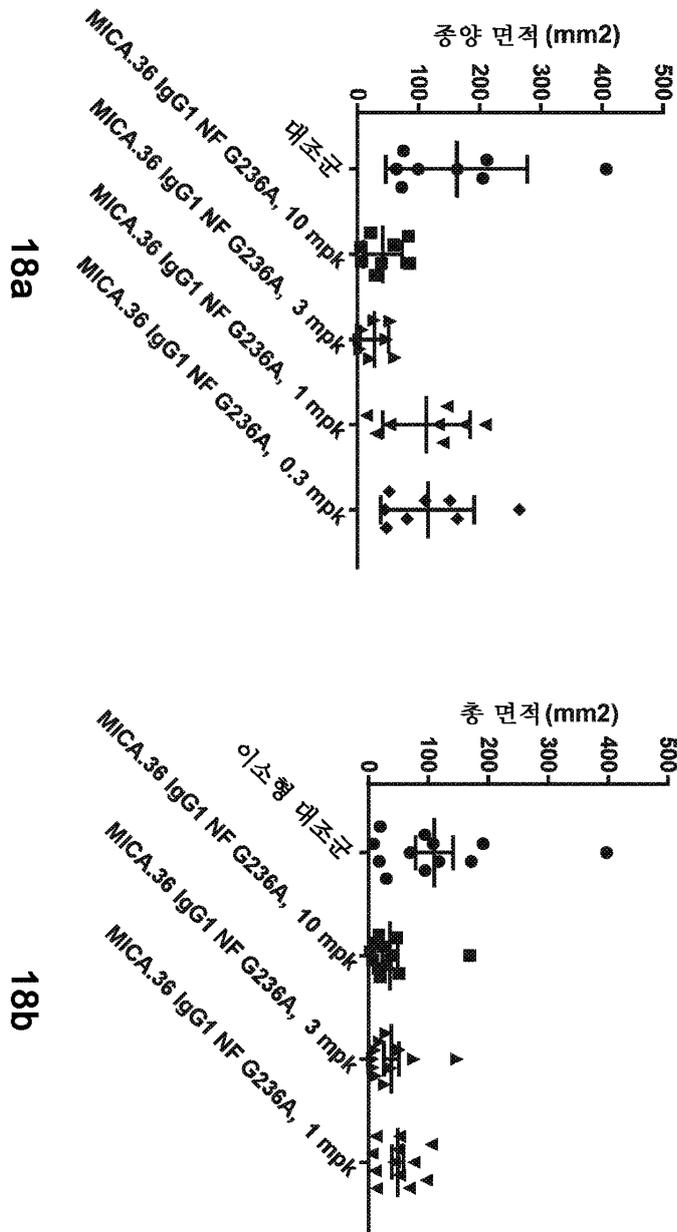


17a

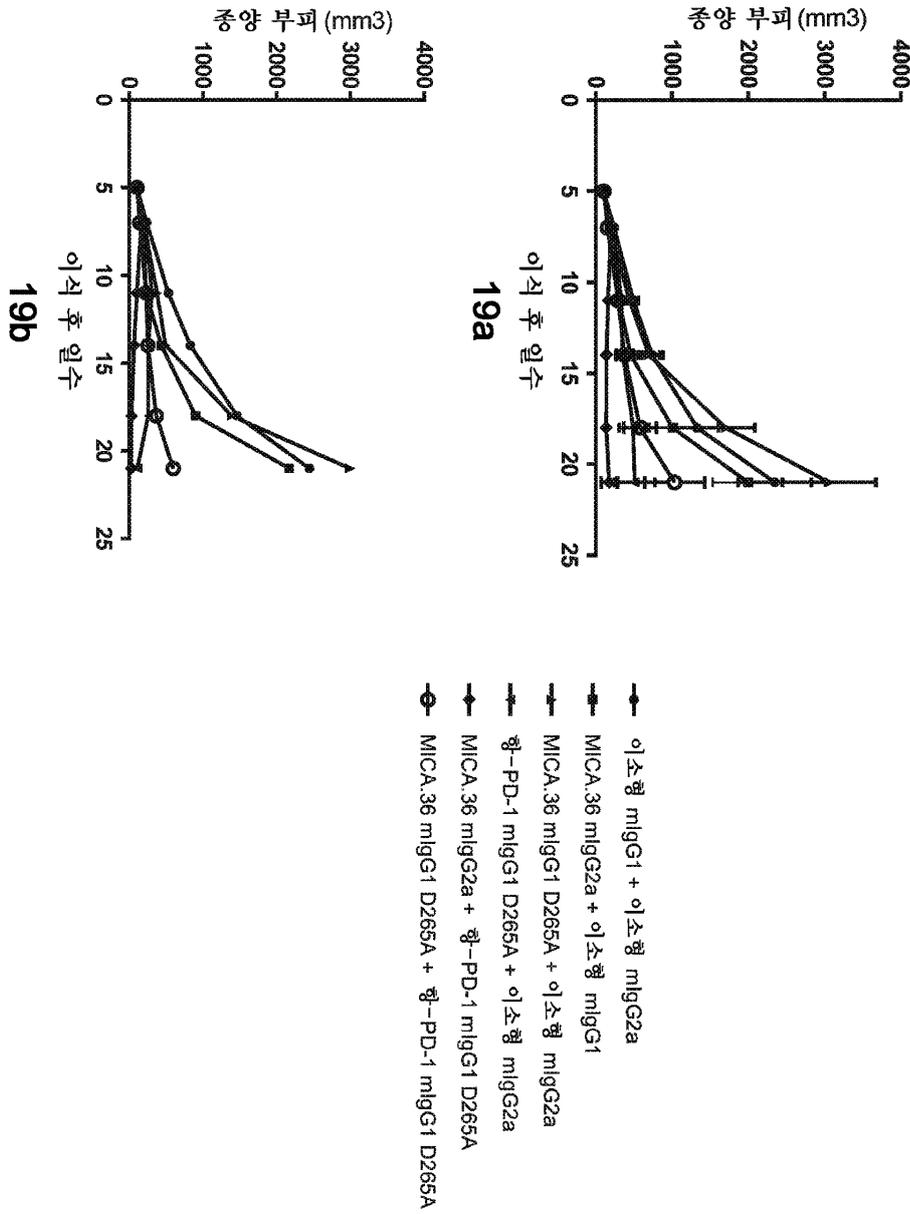


17b

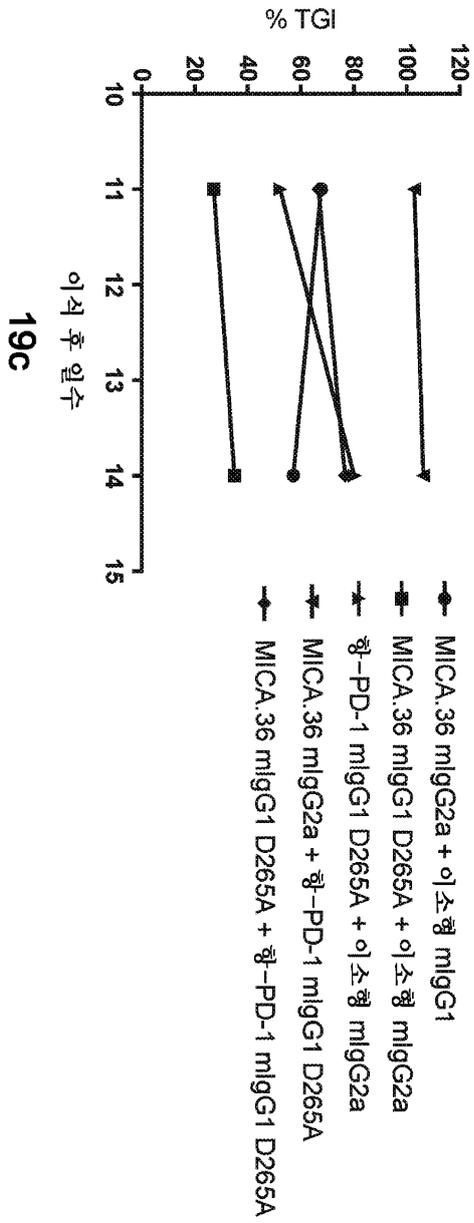
도면18



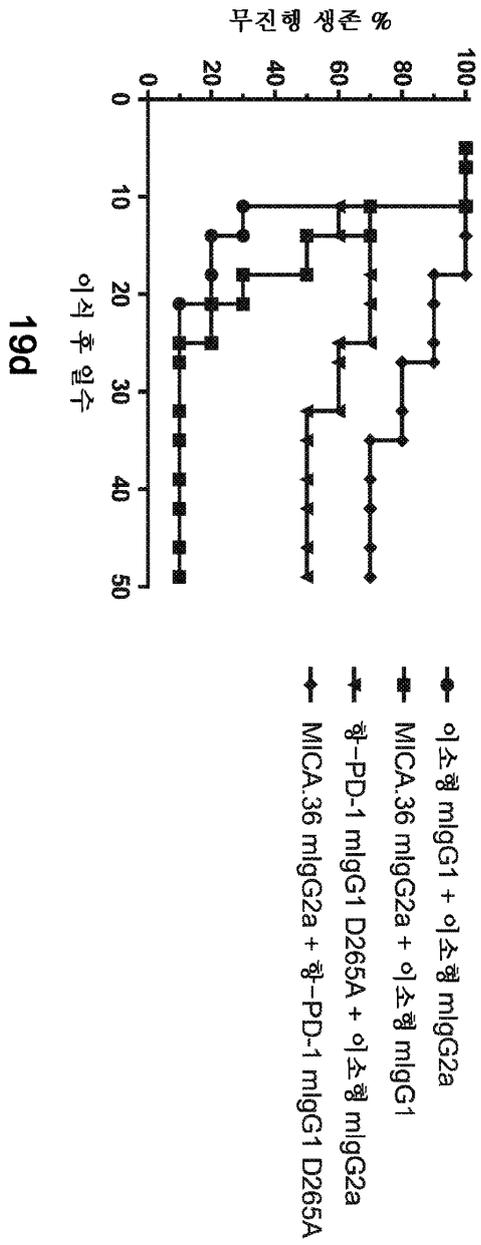
도면19i



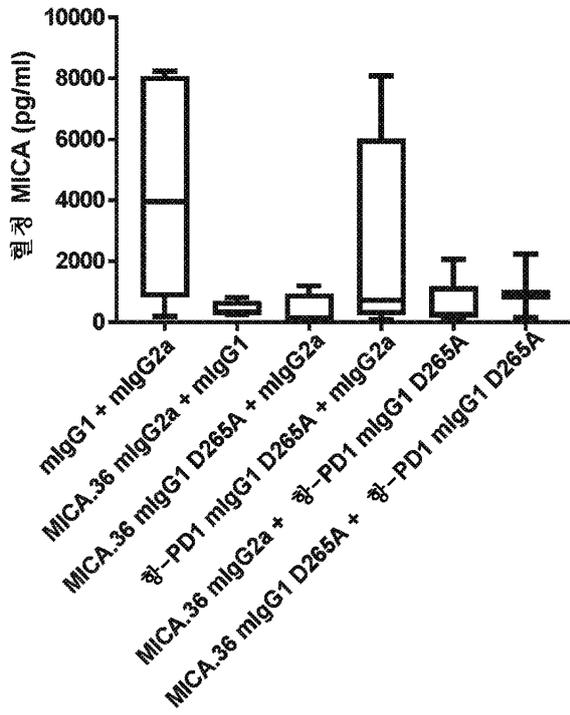
도면19i



도면19iii

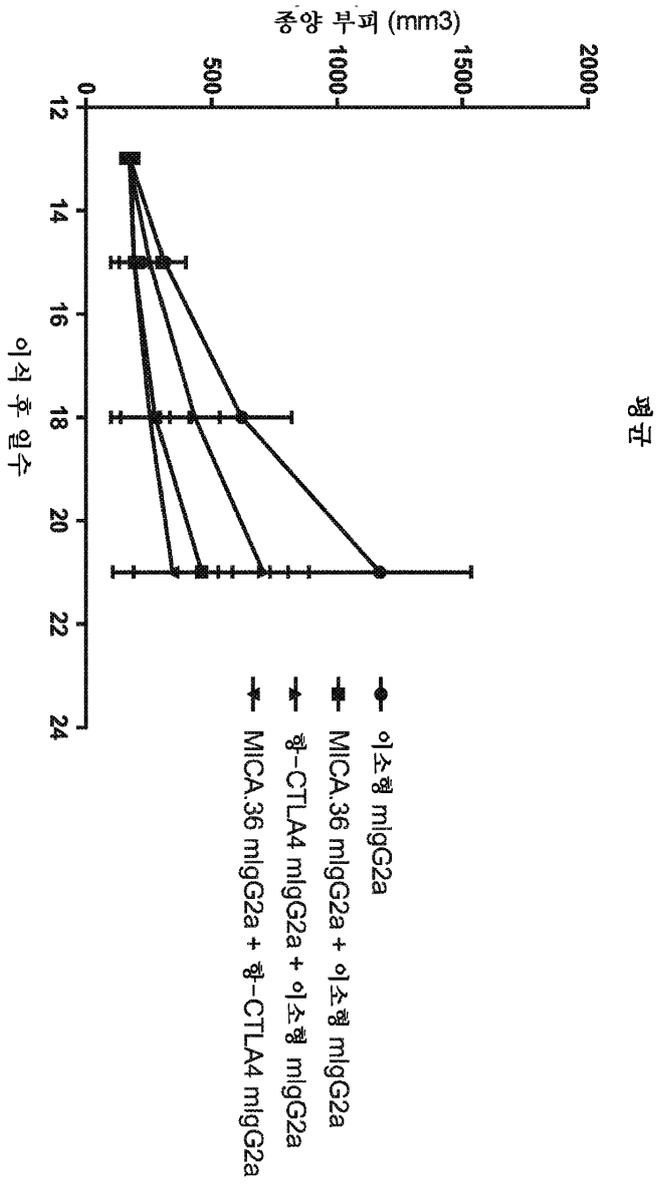


도면19iv

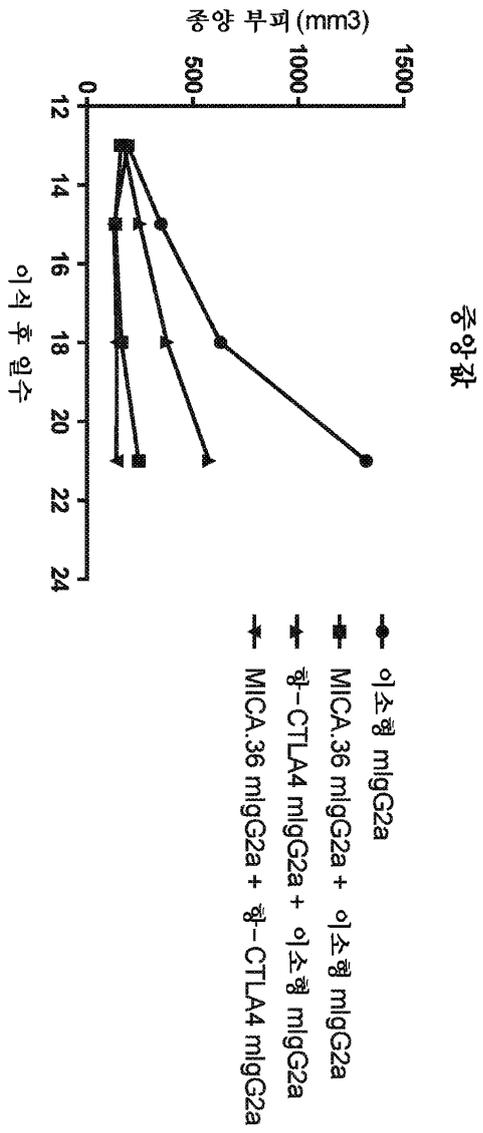


19e

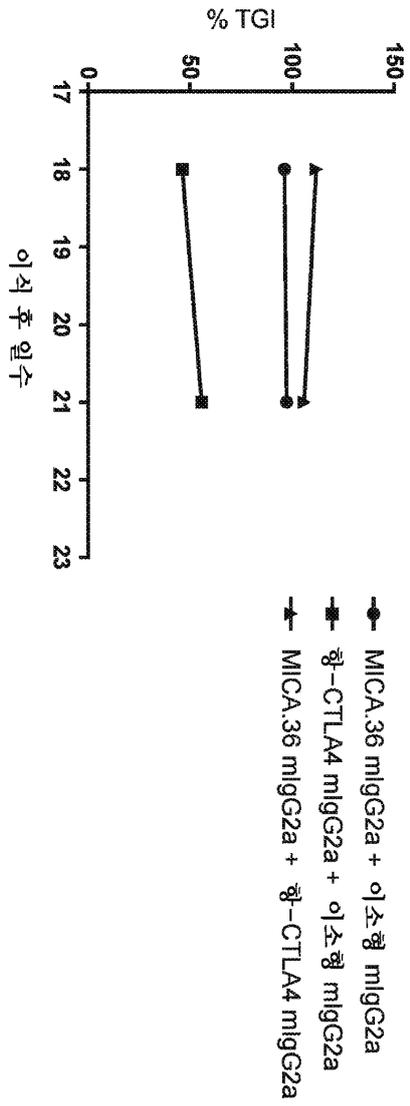
도면20a



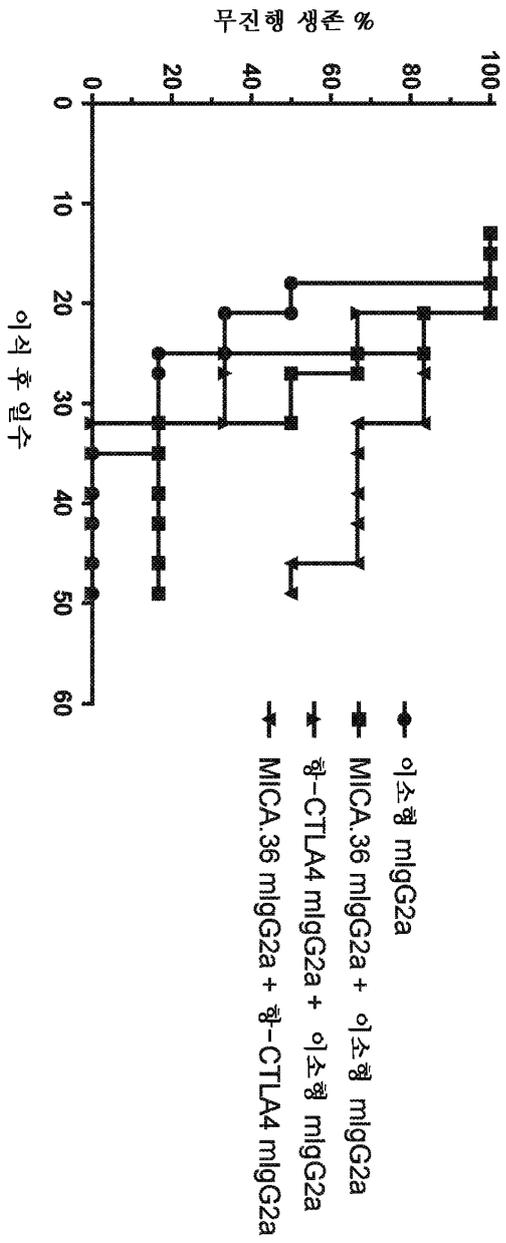
도면20b



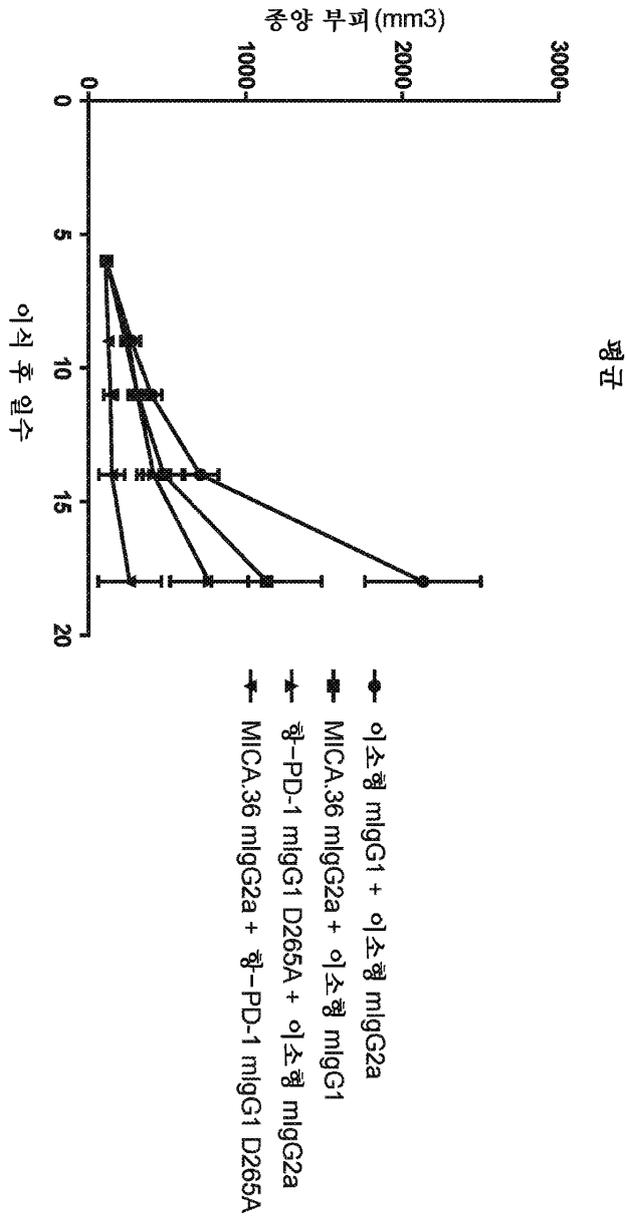
도면20c



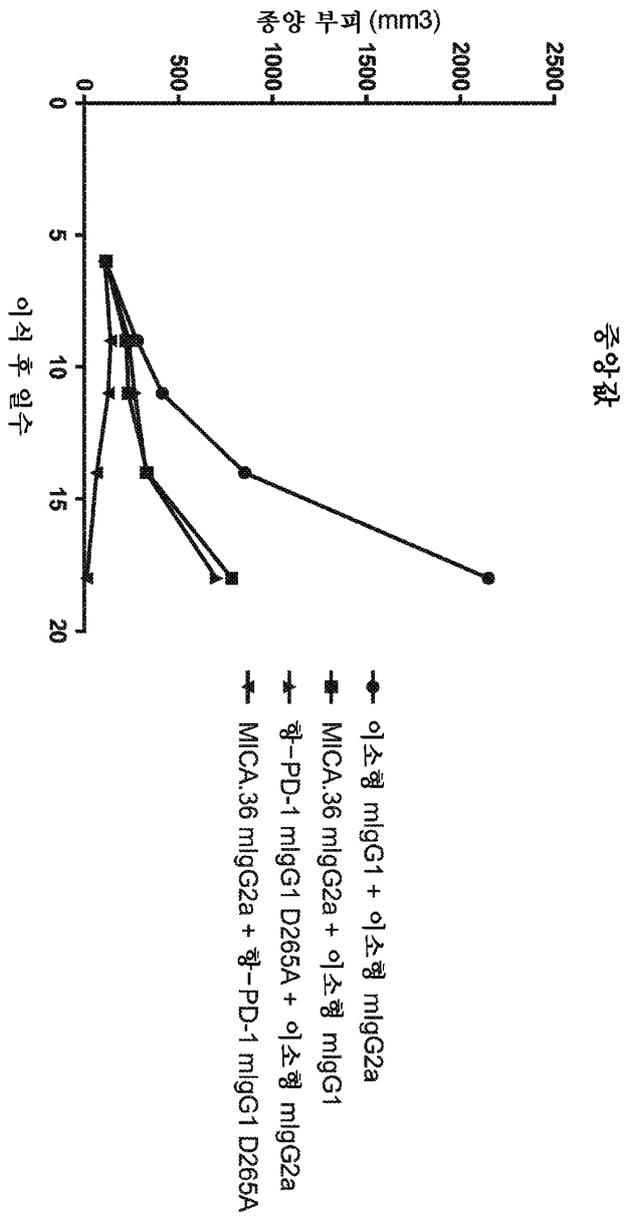
도면20d



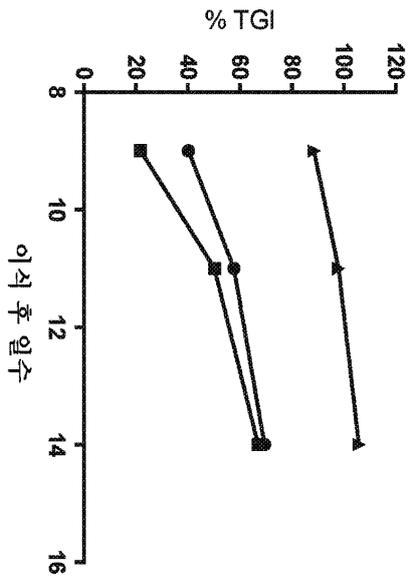
도면21a



도면21b

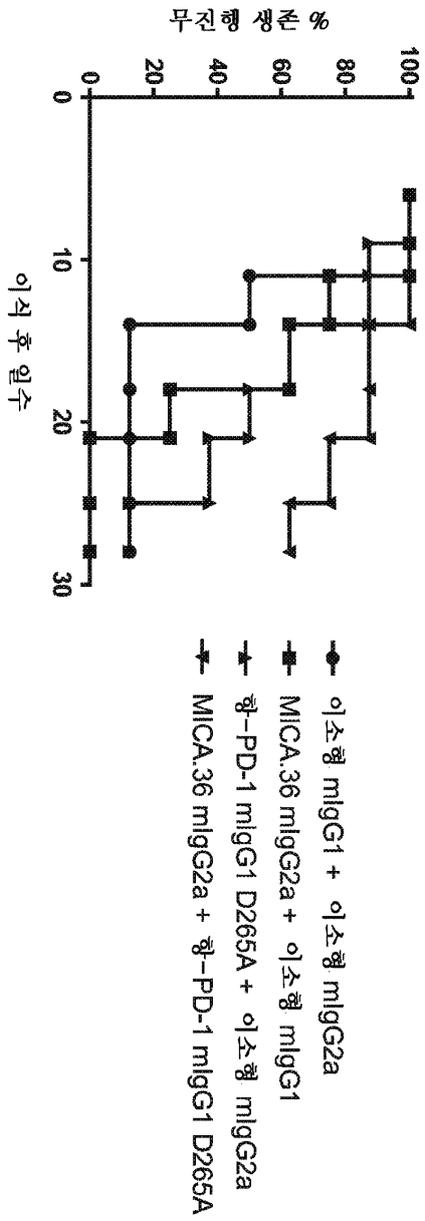


도면21c



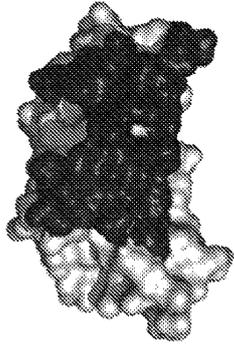
- MICA.36 mlgG2a + 이소형 mlgG1
- 항-PD-1 mlgG1 D265A + 이소형 mlgG2a
- ▲ MICA.36 mlgG2a + 항-PD-1 mlgG1 D265A

도면21d

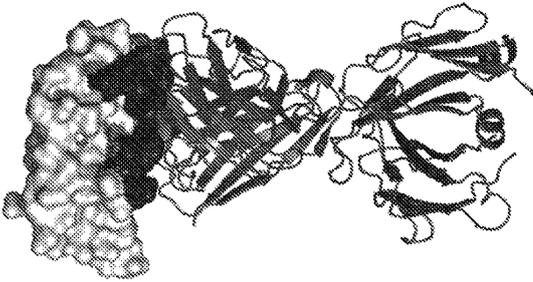


도면22

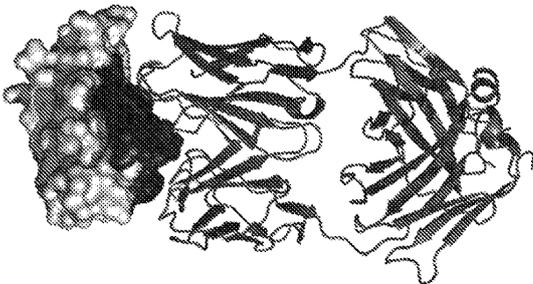
22a



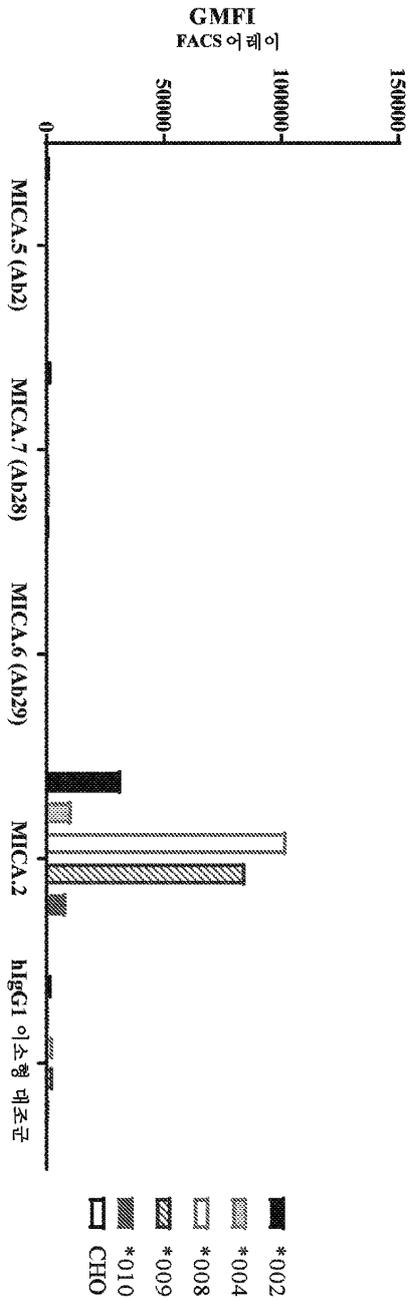
22b



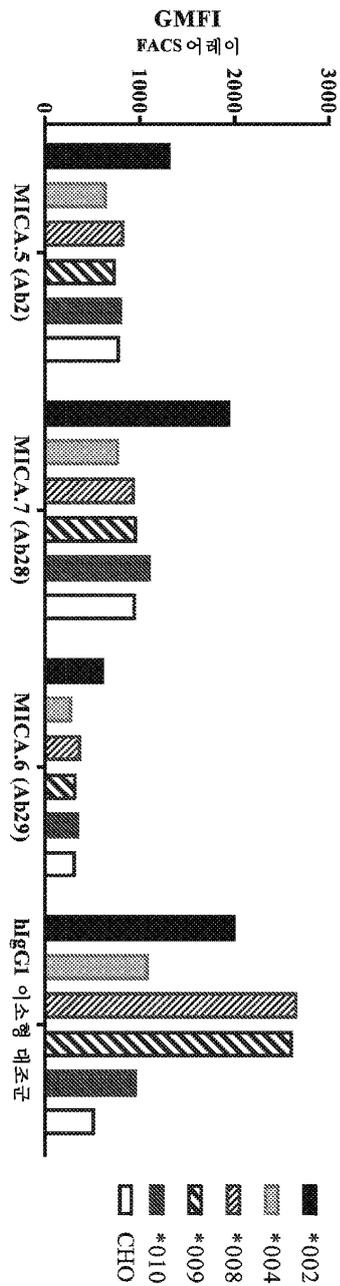
22c



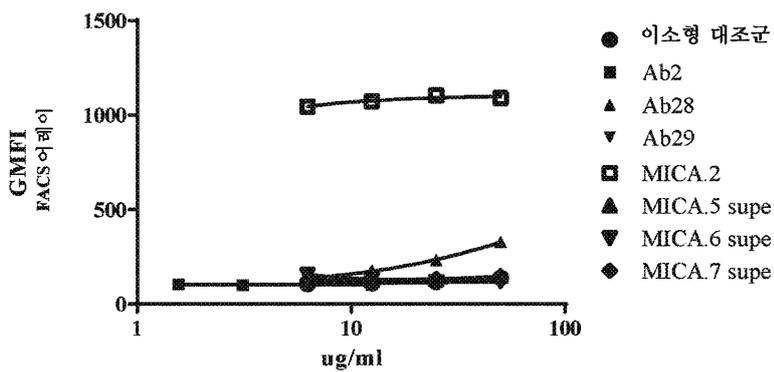
도면23a



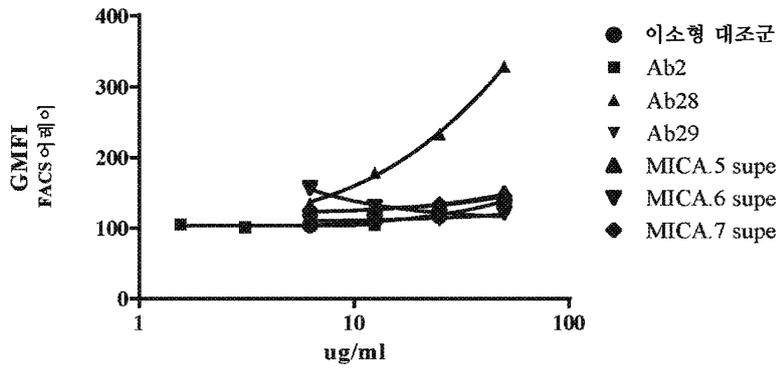
도면23b



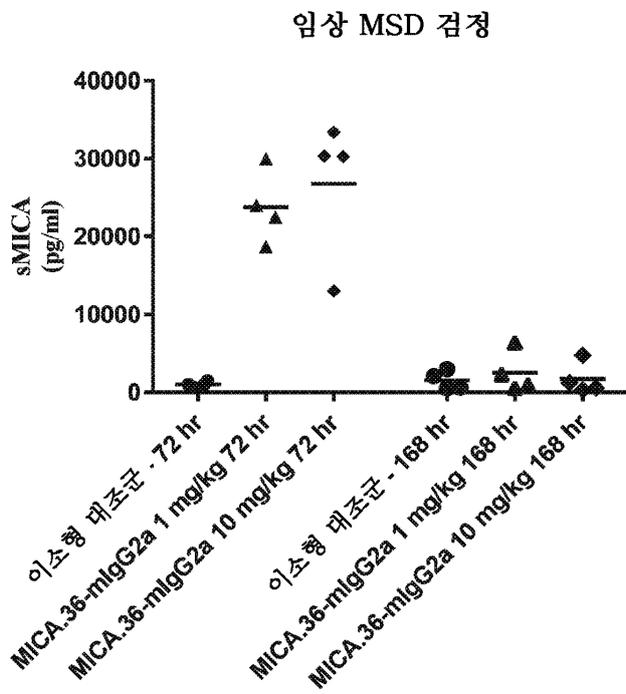
도면24a



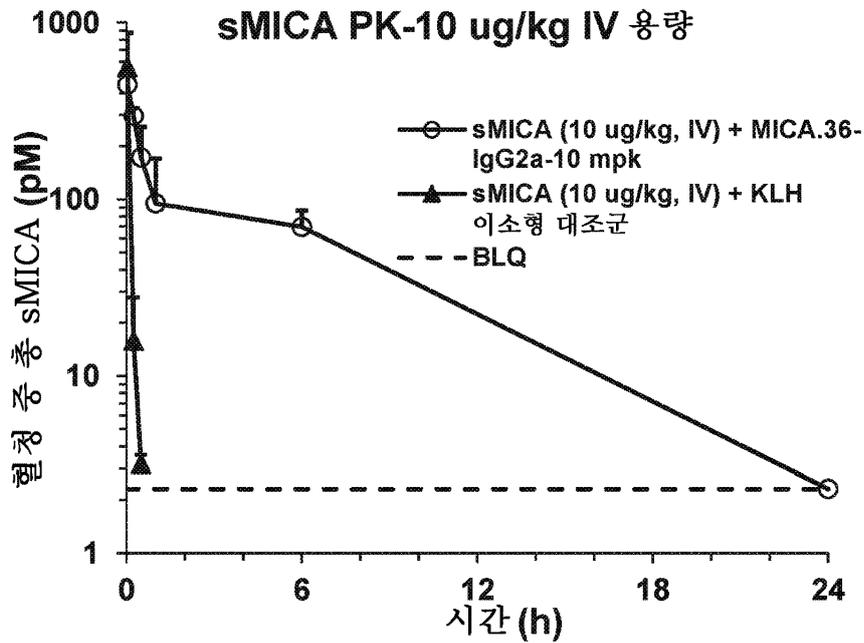
도면24b



도면25



도면26



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY

<120> ANTIBODIES AGAINST MICA AND/OR MICB AND USES THEREOF

<130> 3338.101PC02/ELE/C-K/BMD

<150> US 62/667,170

<151> 2018-05-04

<150> US 62/647,556

<151> 2018-03-23

<160> 133

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 345

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 19G6-MICA.36 VH1

<400> 1

caggtgcaac tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgictggatt caccttcagt aactatgcca tgcactgggt cgccagget 120

ccaggcgagg ggctggaatg ggtggcactt atatggtatg atggaagtaa taaattctat 180
 ggagactccg tgaagggccg cttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag cgccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagga 300
 agtgggcact actggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 2

<211> 115

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 19G6-MICA.36 VH1

<400> 2

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30

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

Ala Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Ser Gly His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 3

<211> 321

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 19G6-MICA.36 VK1

<400> 3

gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcatcagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagttc ctaagtcctt gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgatcac cttcggccaa 300
 gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 4

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 19G6-MICA.36 VK1

<400> 4

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Ile
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 19G6-MICA.36 VH1_CDR1

<400> 5

Asn Tyr Ala Met His

1 5
<210> 6
<211> 17
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> 19G6-MICA.36 VH1_CDR2
<400> 6
Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1 5 10 15
Gly

<210> 7
<211> 6
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> 19G6-MICA.36 VH1_CDR3
<400> 7
Glu Gly Ser Gly His Tyr

1 5
<210> 8
<211> 11
<212> PRT
<213> artificial sequence
<220><223> 19G6-MICA.36 VK1_CDR1
<400> 8
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10
<210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> artificial sequence

<220><223> 19G6-MICA.36 VK1_CDR2
<400> 9

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 19G6-MICA.36 VK1_CDR3

<400> 10

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Ile Thr

1 5

<210> 11

<211> 408

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 VH1

<400> 11

atggagtttg ggctgagctg ggttttctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggagacgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120

tgtgcagcgt ctggattcac cttcagtaac tataacatac actgggtccg ccaggtcca 180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata aggtatgatg gaattaataa atactatgca 240

gactccgtga agggccgatt catcatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300

caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgagag cgggcccct 360

gatgctttta atatctgggg ccaagggaca atggtcaccg tctcttca 408

<210> 12

<211> 136

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 VH1

<400> 12

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln

20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Asn Tyr Asn Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Val Ala Val Ile Arg Tyr Asp Gly Ile Asn Lys Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Pro Pro Asp Ala Phe Asn Ile Trp Gly Gln
 115 120 125
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 130 135

<210> 13

<211> 381

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 VK1

<400> 13

atgagggtcc ccgctcagct cctggggctt ctgctgctct ggctcccagg tgccagatgt 60
 gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120
 atcacttgcc gggcaagtc gggcatcagc agtgcttttag cctggtatca gcagaaacca 180
 gggaaagttc ctaagtcctt gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 240
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 300
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgatcac cttcggccaa 360

gggacacgac tggagattaa a 381

<210> 14

<211> 127

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 VK1

<400> 14

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15
 Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 20 25 30
 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
 35 40 45
 Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro
 50 55 60
 Lys Ser Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 65 70 75 80
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 85 90 95
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn

 100 105 110
 Ser Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 115 120 125

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 VH1_CDR1

<400> 15

Asn Tyr Asn Ile His

1 5

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 VH1_CDR2

<400> 16

Val Ile Arg Tyr Asp Gly Ile Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15
 Gly

<210> 17

<211> 8

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 VH1_CDR3

<400> 17

Gly Pro Pro Asp Ala Phe Asn Ile

1 5

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 VK1_CDR1

<400> 18

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 VK1_CDR2

<400> 19

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 VK1_CDR3

<400> 20

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Ile Thr

1 5
 <210> 21
 <211> 414
 <212> DNA
 <213> artificial sequence
 <220><223> 24G11-MICA.54 VH1
 <400> 21
 atgggggtcaa ccgcatcct cgccctctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgag 60
 gtgcagctgg tgcagctcgg agcagagggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc 120

 tgtaagggtt ctggatacag ttttaccaac tactggatcg gctgggtgcg ccagatgccc 180
 gggaaaggcc tggagtgggt ggggatcctc catcctgggtg actcttatac cagatacagc 240
 ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gccgacaagt ccatcagcac cgcctacctg 300
 cagtggagca gcctgaaggc ctcgacacc gccatatatt actgtgagag agagggtata 360
 gcagcaactc cctttgacta ctggggccag ggaacctctg tcaccgtctc ctca 414

<210> 22
 <211> 138
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> 24G11-MICA.54 VH1
 <400> 22
 Met Gly Ser Thr Ala Ile Leu Ala Leu Leu Leu Ala Val Leu Gln Gly

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

 65 70 75 80
 Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Ile
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Ile Ala Ala Thr Pro Phe Asp Tyr Trp
 115 120 125
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 130 135

<210> 23

<211> 381

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 24G11-MICA.54 VK1

<400> 23

atggaagccc cagctcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60
 gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
 ctctctgca gggccagtc gagtgtagc agctacttag cctggttcca acagaaacct 180
 ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 240
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 300
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctccgac gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa a 381

<210> 24

<211> 127

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 24G11-MICA.54 VK1

<400> 24

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

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

 100 105 110
 Asn Trp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 115 120 125

<210> 25
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> 24G11-MICA.54 VH1_CDR1
 <400> 25

Asn Tyr Trp Ile Gly
 1 5
 <210> 26
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> 24G11-MICA.54 VH1_CDR2
 <400> 26

Ile Ile His Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15
 Gly
 <210> 27
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> 24G11-MICA.54 VH1_CDR3
 <400> 27

Glu Gly Ile Ala Ala Thr Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 24G11-MICA.54 VK1_CDR1

<400> 28

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 29

<211> 7

<212>

> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 24G11-MICA.54 VK1_CDR2

<400> 29

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 24G11-MICA.54 VK1_CDR3

<400> 30

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr

1 5

<210> 31

<211> 414

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 VH1

<400> 31

atggagttgg ggctgtgctg gatttcctt gttgctattt tagaaggtgt ccagtgtag 60

gtgcaactgg tggaaatctgg gggaggcttg gtacagcctg gggggtcct gagactctcc 120
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtacc tatagcatga actgggtccg ccaggctcca 180
 gggaaggggc tggagtgggt ttcatacatt agttatcgta gtcgtacat atactacga 240
 gactctgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaggaactc actgtatctg 300
 caaatgaaca gcctgagaga cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag atgggctat 360
 ggttcggggg gctttgacta ctggggccag ggaacctgg tcaccgtctc ctca 414

<210> 32

<211> 138

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 VH1

<400> 32

Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Ile Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe

35 40 45

Ser Thr Tyr Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Tyr Arg Ser Arg Thr Ile Tyr Tyr Ala

65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Phe Asp Tyr Trp

115 120 125

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

130 135

<210> 33

<211> 381

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 VK1

<400> 33

```

atggaaaccc cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga      60
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc      120
ctctctctgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa      180
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatcca      240
gacaggttca gtggcagtg gtctgggaca gacttcactc tcacatcag cagactggag      300

cctgaagatt ttgcaagtga ttactgtcag cagtatggta gctcattcac tttcgccct      360
gggaccaaag tggatatcaa a                                          381
    
```

<210> 34

<211> 127

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 VK1

<400> 34

```

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

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

Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
           100          105          110
Gly Ser Ser Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
    
```

115 120 125

<210> 35

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 VH1_CDR1

<400> 35

Thr Tyr Ser Met Asn

1 5

<210> 36

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 VH1_CDR2

<400> 36

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

1 5 10 15

Gly

<210> 37

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 VH1_CDR3

<400> 37

Trp Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 38

<211> 12

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 VK1_CDR1

<400> 38

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 VK1_CDR2

<400> 39

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 40

<211> 8

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 VK1_CDR3

<400> 40

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Phe Thr

1 5

<210> 41

<211> 420

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 71C2 VH1

<400> 41

atggagttgg gactgagctg gattttcctt ttggctattt taaaagggtg ccagtgtgaa 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg gcaggtccct gagactctcc 120

tgtgcagcct ctggattcac ctttaataat tatgccatgc actgggtccg gcaagctcca 180

gggaagggcc tggagtgggt ctcaggtatt acttgggaata gtgatagcat aggctatgcg 240

gactctgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaactc cctgtatctg 300

caaatgaaca gtctgagagc tgaggacacg gccttgtatt actgtgcaaa agattccgta 360

ttactatggt tcgggggat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 420

<210> 42

<211> 140

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 71C2 VH1

<400> 42

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Ile Phe Leu Leu Ala Ile Leu Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln

20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe

35 40 45

Asn Asn Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Val Ser Gly Ile Thr Trp Asn Ser Asp Ser Ile Gly Tyr Ala

65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Ser Val Leu Leu Trp Phe Gly Gly Met Asp

115 120 125

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

130 135 140

<210> 43

<211> 387

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 71C2 VK1

<400> 43

atggaaaccc cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120

ctctctgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 180

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcaggccac tggcatccca 240

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 300

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcacctcc gtacactttt 360

ggccagggga ccaagctgga gatcaaa 387

<210> 44

<211> 129

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 71C2 VK1

<400> 44

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro

1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser

 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser

 35 40 45

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

 50 55 60

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro

65 70 75 80

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile

 85 90 95

Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr

 100 105 110

Gly Ser Ser Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

 115 120 125

Lys

<210> 45

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 71C2 VH1_CDR1

<400> 45

Asn Tyr Ala Met His

1 5

<210> 46

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 71C2 VH1_CDR2

<400> 46

Gly Ile Thr Trp Asn Ser Asp Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 47

<211> 12

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 71C2 VH1_CDR3

<400> 47

Asp Ser Val Leu Leu Trp Phe Gly Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 48

<211> 12

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 71C2 VK1_CDR1

<400> 48

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 71C2 VK1_CDR2

<400> 49

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 50

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 71C2 VK1_CDR3

<400> 50

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Tyr Thr

1 5 10

<210> 51

<211> 332

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> human MICA aa sequence

<

400> 51

Met Gly Leu Gly Pro Val Phe Leu Leu Leu Ala Gly Ile Phe Pro Phe

1 5 10 15

Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu

20 25 30

Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu

35 40 45

Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Cys

50 55 60

Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys

65 70 75 80

Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu

85 90 95

Arg Met Thr Leu Ala His Ile Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser

100 105 110

Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg

<220><223> MICA.36 NF G236A Epitope Region 1

<400> 52

Trp Thr Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met

1 5 10

<210> 53

<211> 8

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA.36 NF G236A Epitope Region 2

<400> 53

Tyr Pro Arg Asn Ile Ile Leu Thr

1 5

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA.36 NF G236A Epitope Region 3.1

<400> 54

Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln

1 5 10

<210> 55

<211> 15

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA.36 NF G236A Epitope Region 3.2

<400> 55

Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp

1 5 10 15

<210> 56

<211> 20

<212> PRT

<213>

> artificial sequence

<220><223> MICA.2 Epitope Region 1

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
 115 120 125
 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
 130 135 140
 Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
 145 150 155 160
 Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
 165 170 175
 Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
 180 185 190
 Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 195 200 205
 Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
 210 215 220
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430

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

435 440

<210> 59

<211> 1332

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 19G6-MICA.36 Heavy Chain NT

<400> 59

caggtgcaac tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatgcca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcgagg ggctggaatg ggtggcactt atatggtatg atggaagtaa taaattctat 180
 ggagactccg tgaagggccg cttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag cgccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagggga 300

 agtgggcact actggggcca gggaaccttg gtcaccgtct cctcagctag caccaagggc 360
 ccatcggtct tccccctggc accctcctcc aagagcaact ctgggggcac agcggccctg 420
 ggctgcctgg tcaaggacta ctteccccgaa cgggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgec 480
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcttacagt cctcaggact ctactcctc 540
 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600
 aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agcccaaadc ttgtgacaaa 660
 actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaactcctgg cgggaccgtc agtcttcctc 720

 ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccga cccctgaggt cacatgcgtg 780
 gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840

gaggtgcata atgccaagac aaagccgagg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 900
 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960
 gtctccaaca aagccctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020
 ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1080
 gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200
 tccttcttcc tctatagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260
 ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gacgctctcc 1320
 ctgtccccgg gt 1332

<210> 60

<211> 214

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 19G6-MICA.36 Light Chain AA

<400> 60

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130

135

140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 61

<211> 642

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 19G6-MICA.36 Light Chain NT

<400> 61

gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gggcatcagc agtgctttag cctggatca gcagaaacca 120
 gggaaagttc ctaagtcctt gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgatcac ctteggccaa 300

 gggacacgac tggagattaa acgtacggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgctt gcgaagtac ccatcagggc 600
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 62

<211> 446

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 Heavy Chain AA

<400> 62

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Asn Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Arg Tyr Asp Gly Ile Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Gly Pro Pro Asp Ala Phe Asn Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

 435 440 445

<210> 63
 <211> 1338
 <212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 Heavy Chain NT

<400> 63

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggagac gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactataaca tacactgggt cgccaggct 120
 ccaggcaagg ggcaggagt ggtggcagtt ataaggatg atggaattaa taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcatcatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagcggggccc 300

cctgatgctt ttaatatctg gggccaagg acaatggtca ccgtctcttc agctagcacc 360
 aagggcccat cggtcttccc cctggcacc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420
 gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 480
 ggccgacctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540
 tcctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc 600
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gaggtagacc caaatcttgt 660
 gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 720

ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840
 ggctggagg tgcataatgc caagacaaag ccgaggagg agcagtaaa cagcacgtac 900
 cgtgtggtca gcgtctcac cgtctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaacctctc caaagccaaa 1020
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggagga gatgaccaag 1080
 aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggtttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200
 gacggctcct tcttctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320
 ctctcctgt ccccggt 1338

<210> 64

<211> 214

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 Light Chain AA

<400> 64

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Ile
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 65

<211> 642

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 Light Chain NT

<400> 65

gcatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtc gggcatcagc agtgcttttag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagttc ctaagtcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag ttaaatagtt acccgatcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa acgtacgggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360
 tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgct gcgaagtcac ccatcagggc 600
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 66

<211> 448

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 24G11-MICA.54 Heavy Chain AA

<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Ile Ile His Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Ala Ala Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435 440 445
 <210> 67
 <211> 1344
 <212> DNA
 <213> artificial sequence
 <220><223> 24G11-MICA.54 Heavy Chain NT
 <400> 67
 gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
 tcctgtaagg gttctggata cagttttacc aactactgga tcggctgggt gcgccagatg 120
 cccgggaaag gcctggagtg gttggggatc atccatcctg gtgactctta taccagatac 180
 agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc tcagccgaca agtccatcag caccgcctac 240
 ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac accgcatat attactgtgc gagagagggt 300

 atagcagcaa ctcccttga ctactggggc cagggaaacce tggtcaccgt ctctcagct 360
 agcaccaagg gcccatcggg cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 420
 acagcggccc tgggctgctt ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480
 aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtctcagga 540
 ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 600
 atctgcaacg tgaatcacia gccccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 660
 tcttggaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg 720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaaccaag gacacctca tgatctcccg gacctctgag 780
 gtcacatgcg tgggtgggga cgtgagccac gaagacctg aggtcaagtt caactggtac 840
 gtggacggcg tggagggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900
 acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960
 tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020
 gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacacctgc ccccatcccg ggaggagatg 1080
 accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200
 gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260
 caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggtc tgcacaacca ctacacgacg 1320
 aagagcctct cctgtcccc gggt 1344

<210> 68

<211> 214

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 24G11-MICA.54 Light Chain AA

<400> 68

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 Heavy Chain AA

<400> 70

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

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

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 Heavy Chain NT

<400> 71

gaggtgcaac tgggtggaatc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctatagca tgaactgggt cggccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagttatc gtagtcgtac catatactac 180
 gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaggaa ctcaactgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatggggc 300

tatggttcgg ggggctttga ctactggggc cagggaaacc tggtcaccgt ctctcagct 360
 agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 420
 acagcggccc tgggctgect ggtcaaggac tacttccccg aaccgggtgac ggtgtcgtgg 480
 aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtctcagga 540
 ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 600
 atctgcaacg tgaatcaca gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 660
 tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg 720

tcagtcttcc ttttcccc aaacccaag gacacctca tgatctcccg gacctctgag 780
 gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagacctg aggtcaagtt caactggtac 840
 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900
 acgtaccgtg tggctcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960
 tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020
 gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacacctgc ccccatcccg ggaggagatg 1080
 accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200
 gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260
 caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgacg 1320
 aagagcctct cctgtcccc ggggt 1344

<210> 72

<211> 214

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 Light Chain AA

<400> 72

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Phe
 85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 73

<211> 642

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> 3F5-MICA.2 Light Chain NT

<400> 73

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcattcac tttcggcct 300

gggaccaaag tggatatcaa acgtacgggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgtttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtac ccacagggc 600
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 74

<400> 74

000

<210> 75

<400> 75

000

<210> 76

<400> 76

000

<210> 77

<400> 77

000

<210> 78

<211> 123

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> G1TR VH

<400> 78

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

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120

<210> 79

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> GITR VL

<400> 79

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 80

<211> 123

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> GITR VH

<400> 80

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Gln Leu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 81

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> GITR VL

<400> 81

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 82

<211> 122

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> G1TR VH

<400> 82

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser
 1 5 10 15
 Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
 20 25 30
 Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
 35 40 45
 Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 65 70 75 80
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Gly Gly Arg Ile Ala Val Ala Phe Tyr Tyr Ser Met Asp Val Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 83

<211> 107

<212>

> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> GITR VL

<400> 83

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 84

<211> 449

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> GITR Heavy Chain

<400> 84

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

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

 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 115 120 125

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

 Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
 195 200 205
 Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
 210 215 220
 Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

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

260 265 270
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly

<210> 85

<211> 214

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> GITR Light Chain

<400> 85

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

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

 Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 86
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> GITR Heavy Chain

<400> 86

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 130 135 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 195 200 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
 210 215 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 225 230 235 240

Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 245 250 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 260 265 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 275 280 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 290 295 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 325 330 335

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 340 345 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 385 390 395 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly
 450

<210> 87
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> artificial sequence

<220

>>223> G1TR Light Chain

<400> 87

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr

 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

 210

<210> 88

<211> 287

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Human MICA Isoform 2 (MICA2)

<400> 88

Met Gly Leu Gly Pro Val Phe Leu Leu Leu Ala Gly Ile Phe Pro Phe
 1 5 10 15

Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
 20 25 30

Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu
 35 40 45

Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys
 50 55 60

Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys
 65 70 75 80

Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu
 85 90 95

Arg Met Thr Leu Ala His Ile Lys Asp Gln Lys Glu Val Pro Pro Met
 100 105 110

Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr
 115 120 125

Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg
 130 135 140

Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val
 145 150 155 160

Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile
 165 170 175

Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly
 180 185 190

Asn His Ser Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln
 195 200 205

Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ile

210 215 220

Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys Lys Lys Lys Thr Ser
 225 230 235 240

Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln His
 245 250 255

Pro Val Gly Thr Ser Asp His Arg Asp Ala Thr Gln Leu Gly Phe Gln
 260 265 270

Pro Leu Met Ser Asp Leu Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Ala
 275 280 285

<210> 89
 <211> 284
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> MICA EC Domain
 <400> 89

Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly
 1 5 10 15

Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro
 20 25 30

Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln
 35 40 45

Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg
 50 55 60

Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile
 65 70 75 80

Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys
 85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr
 100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr
 115 120 125

Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn
 130 135 140

Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met
 145 150 155 160

His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val
 165 170 175

Val Leu Arg Arg Thr Val Pro Pro Met Val Asn Val Thr Arg Ser Glu
 180 185 190

Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr
 195 200 205

Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser
 210 215 220

His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr
 225 230 235 240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg
 245 250 255

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val
 260 265 270

Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln Ser His Trp
 275 280

<210> 90
 <211> 274
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> Cynomolgus monkey MICA (partial) UniProt-Q2MGEO
 <400> 90

Glu Leu His Ser Leu Arg Tyr Asn Val Thr Val Leu Ser Arg Asp Gly
 1 5 10 15

Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu Gly His Leu Asp Gly Gln Leu
 20 25 30

Phe Leu Leu Tyr Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Arg Pro Gln Gly Glu
 35 40 45

Trp Ser Glu Asp Val Leu Gly Ala Lys Thr Trp Asp Thr Glu Thr Gly

50 55 60

Asp Leu Thr Glu Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile

65 70 75 80

Lys Gly Gln Lys Gly Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Lys Val Cys

85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Gly Gly Leu Arg His Phe Tyr Tyr

100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Gln Glu Trp Thr

115 120 125

Glu Leu Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Leu Asn Ile Arg Asn

130 135 140

Phe Trp Lys Glu Asp Thr Met Lys Thr Lys Thr His Tyr Arg Ala Val

145 150 155 160

Gln Ala Asp Cys Leu Lys Lys Leu Gln Gln Tyr Leu Glu Ser Gly Val

165 170 175

Ala Val Arg Arg Thr Ala Pro Pro Met Val Asn Val Thr His Ser Glu

180 185 190

Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr

195 200 205

Pro Arg Asn Ile Ala Leu Thr Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Asn

210 215 220

His Asn Ala Gln Gln Trp Gly Gly Ile Leu Pro Asp Gln Asn Gly Thr

225 230 235 240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Arg Gln Gly Glu Glu Gln Arg

245 250 255

Phe Ala Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val

260 265 270

Pro Ser

<210> 91

<211> 330

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Wild-type human IgG

<400> 91

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

 50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

 85 90 95

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

 100 105 110

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

 115 120 125

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

 130 135 140

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

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

 180 185 190

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

 195 200 205

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

210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 92

<211> 330

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Allotypic variant of human IgG

<400> 92

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

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

 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

330

<210> 93

<211> 330

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> IgG1.1f - effectorless human IgG1 constant domain

<400> 93

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

 50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

 85 90 95

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

 100 105 110

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

 115 120 125

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

 130 135 140

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

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 94

<211> 330

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> IgG1.3f - effectorless human IgG1 constant domain

<400> 94

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330
 <210> 95
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> human IgG4
 <400> 95
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15

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

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

 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 96

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Human IgG1 kappa light chain

<400> 96

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 97

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> heavy chain constant region C-terminus

<400> 97

Leu Ser Pro Gly Lys

1 5

<210> 98

<211> 4

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> heavy chain constant region C-terminus

<400> 98

Leu Ser Pro Gly

1

<210> 99

<211> 3

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> heavy chain constant region C-terminus

<400> 99

Leu Ser Pro

1

<210> 100

<211> 19

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> signal peptide

<400> 100

Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly

1 5 10 15

Ala His Ser

<210> 101

<211> 20

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> signal peptide

<400> 101

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro

1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly

20

<210> 102

<211> 19

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> signal peptide

<400> 102

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 103

<211> 19

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> signal peptide

<400> 103

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 104

<211> 21

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> signal peptide

<400> 104

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu

1 5 10 15

Pro Gly Ala Arg Cys

20

<210> 105

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> signal peptide

<400> 105

Met Arg Ala Trp Ile Phe Phe Leu Leu Cys Leu Ala Gly Arg Ala Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 106

<211> 51

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> signal peptide

<400> 106

Ala Thr Gly Ala Gly Gly Gly Cys Thr Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr

1 5 10 15
 Thr Cys Thr Thr Thr Cys Thr Gly Cys Thr Cys Thr Gly Cys Cys Thr
 20 25 30
 Gly Gly Cys Cys Gly Gly Gly Ala Gly Ala Gly Cys Gly Cys Thr Cys
 35 40 45
 Gly Cys Ala

50
 <210> 107
 <211> 51
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> signal peptide
 <400> 107

Ala Thr Gly Ala Gly Gly Gly Cys Thr Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr

1 5 10 15
 Thr Cys Thr Thr Thr Cys Thr Gly Cys Thr Cys Thr Gly Cys Cys Thr
 20 25 30
 Gly Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly Cys Gly Cys Cys Thr Thr Gly
 35 40 45
 Gly Cys Cys

50
 <210> 108
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> Linker
 <400> 108

Pro Val Gly Val Val

1 5
 <210> 109

<211> 383
 <212> PRT
 <213> artificial sequence

<220><223> MICA1 (MICA Variant)

<400> 109

Met Gly Leu Gly Pro Val Phe Leu Leu Leu Ala Gly Ile Phe Pro Phe
 1 5 10 15
 Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
 20 25 30
 Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu
 35 40 45
 Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys
 50 55 60
 Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys
 65 70 75 80
 Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu
 85 90 95
 Arg Met Thr Leu Ala His Ile Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser
 100 105 110
 Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg
 115 120 125
 Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn
 130 135 140
 Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr
 145 150 155 160
 Leu Ala Met Asn Val Arg Asn Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr
 165 170 175
 Lys Thr His Tyr His Ala Met His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg
 180 185 190
 Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val Val Leu Arg Arg Thr Val Pro Pro Met
 195 200 205
 Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr
 210 215 220
 Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg
 225 230 235 240

Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val

245 250 255

Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile

260 265 270

Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly

275 280 285

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

290 295 300

Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ile

305 310 315 320

Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys Lys Lys Lys Thr Ser

325 330 335

Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln His

340 345 350

Pro Val Gly Thr Ser Asp His Arg Asp Ala Thr Gln Leu Gly Phe Gln

355 360 365

Pro Leu Met Ser Asp Leu Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Ala

370 375 380

<210> 110

<211> 383

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA*002

<400> 110

Met Gly Leu Gly Pro Val Phe Leu Leu Leu Ala Gly Ile Phe Pro Phe

1 5 10 15

Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu

20 25 30

Thr Val Leu Ser Gly Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu

35 40 45

Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys

Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ile
 305 310 315 320
 Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys Lys Lys Lys Thr Ser
 325 330 335
 Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln His
 340 345 350
 Pro Val Gly Thr Ser Asp His Arg Asp Ala Thr Gln Leu Gly Phe Gln
 355 360 365

Pro Leu Met Ser Asp Leu Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Thr
 370 375 380

<210> 111

<211> 385

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA*004

<400> 111

Met Gly Leu Gly Pro Val Phe Leu Leu Leu Ala Gly Ile Phe Pro Phe
 1 5 10 15
 Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
 20 25 30
 Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu
 35 40 45
 Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Cys
 50 55 60
 Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys
 65 70 75 80
 Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu
 85 90 95
 Arg Met Thr Leu Ala His Ile Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser
 100 105 110
 Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg
 115 120 125

Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn
 130 135 140
 Val Glu Thr Glu Glu Trp Thr Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr
 145 150 155 160
 Leu Ala Met Asn Val Arg Asn Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr
 165 170 175
 Lys Thr His Tyr His Ala Met His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg
 180 185 190
 Arg Tyr Leu Glu Ser Ser Val Val Leu Arg Arg Arg Val Pro Pro Met
 195 200 205
 Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr
 210 215 220
 Cys Arg Ala Ser Ser Phe Tyr Pro Arg Asn Ile Thr Leu Ser Thr Arg
 225 230 235 240
 Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val
 245 250 255
 Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile
 260 265 270
 Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly
 275 280 285
 Asn His Ser Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln
 290 295 300
 Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ala
 305 310 315 320
 Ala Ile Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys Lys Lys Lys
 325 330 335
 Thr Ser Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp
 340 345 350
 Gln His Pro Val Gly Thr Ser Asp His Arg Asp Ala Thr Gln Leu Gly
 355 360 365
 Phe Gln Pro Leu Met Ser Ala Leu Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly

180 185 190
 Arg Tyr Leu Glu Ser Gly Val Val Leu Arg Arg Thr Val Pro Pro Met
 195 200 205

Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr

210 215 220
 Cys Arg Ala Ser Ser Phe Tyr Pro Arg Asn Ile Ile Leu Thr Trp Arg
 225 230 235 240

Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val
 245 250 255

Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile
 260 265 270

Cys Arg Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly

275 280 285
 Asn His Ser Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln
 290 295 300

Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ile
 305 310 315 320

Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys
 325 330

<210> 113

<211> 383

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA*009

<400> 113

Met Gly Leu Gly Pro Val Phe Leu Leu Leu Ala Gly Ile Phe Pro Phe
 1 5 10 15

Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
 20 25 30

Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu
 35 40 45

Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Cys

Ser His Trp Gln Thr Phe His Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ile
 305 310 315 320

Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr Val Arg Cys Cys Lys Lys Lys Thr Ser
 325 330 335

Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln His
 340 345 350

Pro Val Gly Thr Ser Asp His Arg Asp Ala Thr Gln Leu Gly Phe Gln
 355 360 365

Pro Leu Met Ser Ala Leu Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Thr
 370 375 380

<210> 114

<211> 384

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA*010

<400> 114

Met Gly Leu Gly Pro Val Phe Leu Leu Leu Ala Gly Ile Phe Pro Phe
 1 5 10 15

Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Pro Tyr Asn Leu
 20 25 30

Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu
 35 40 45

Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Cys

50 55 60

Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys
 65 70 75 80

Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu
 85 90 95

Arg Met Thr Leu Ala His Ile Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser
 100 105 110

Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg

Gln Pro Leu Met Ser Ala Leu Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Ala

370 375 380

<210> 115

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA.20 VH

<400> 115

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 116

<211> 108

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA.20 VL

<400> 116

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
 85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 117

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA.21 VH

<400> 117

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Tyr Arg Ser Arg Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 118

<211> 108

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA.21 VL

<400> 118

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

 85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

 100 105

<210> 119

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA.22 VH

<400> 119

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

 20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Tyr Arg Ser Arg Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 120

<211> 108

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA.22 VL

<400> 120

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
 85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105

<210> 121

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA.38 VH

<400> 121

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

1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr			
	20	25	30
Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35	40	45
Ser Tyr Ile Ser Tyr Arg Ser Arg Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
	50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Trp Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
	100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			

115

<210> 122

<211> 108

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> MICA.38 VL

<400> 122

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1	5	10	15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser			
	20	25	30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Ser
 85 90 95
 Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105
 <210> 123
 <400> 123
 000
 <210> 124
 <400> 124
 000
 <210> 125
 <400> 125
 000
 <210> 126
 <400> 126
 000
 <210> 127
 <211> 387
 <212> PRT
 <213> artificial sequence
 <220><223> 16A5-MICA.52 VK2

 <400> 127
 Ala Thr Gly Gly Ala Cys Ala Thr Gly Ala Gly Gly Gly Thr Cys Cys
 1 5 10 15
 Cys Cys Gly Cys Thr Cys Ala Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly Gly
 20 25 30
 Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Cys Thr Gly Gly

Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Cys Ala Gly Cys
 290 295 300

Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Cys
 305 310 315 320

Thr Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Ala Cys Ala Gly
 325 330 335

Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ala Gly Thr Thr Ala Cys Cys Cys Ala Thr
 340 345 350

Thr Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Gly Gly Cys Cys Cys Thr Gly Gly
 355 360 365

Gly Ala Cys Cys Ala Ala Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ala Thr Cys
 370 375 380

Ala Ala Ala

385

<210> 128

<211> 129

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> 16A5-MICA.52 VK2

<400> 128

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45

Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
 65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 100 105 110

Phe Asn Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
 115 120 125

Lys

<210> 129

<400> 129

000

<210> 130

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 19G6-MICA.36 Heavy Chain AA (236G)

<400> 130

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30

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

Ala Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Ser Gly His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
 115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440

<210> 131

<211> 1332

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 19G6-MICA.36 Heavy Chain NT (236G)

<400> 131

caggtgcaac tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatgcca tgcactgggt ccgccaggct 120

 ccaggcgagg ggctggaatg ggtggcactt atatggtatg atggaagtaa taaattctat 180
 ggagactccg tgaagggccg cttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag cgccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagggga 300
 agtgggcact actggggcca gggaaccttg gtcaccgtct cctcagctag caccaagggc 360
 ccatcggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctggggggcac agcggccctg 420
 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa cgggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcttacagt cctcaggact ctactcctc 540

 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600
 aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agcccaaate ttgtgacaaa 660
 actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc 720
 ttcccccaaa aaccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg 780
 gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagtcca actggtacgt ggacggcgtg 840
 gaggtgcata atccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 900
 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgaag 960

 gtctccaaca aagccctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaagc caaagggcag 1020

ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1080
 gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
 agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200
 tcctttcttc tciatagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260
 ttctcatgct ccgtgatgca tgaggtcttg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320
 ctgtccccgg gt 1332

<210> 132

<211> 383

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Met Gly Leu Gly Arg Val Leu Leu Phe Leu Ala Val Ala Phe Pro Phe
 1 5 10 15
 Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
 20 25 30
 Met Val Leu Ser Gln Asp Glu Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu
 35 40 45
 Gly His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Arg
 50 55 60
 Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Ala Lys
 65 70 75 80
 Thr Trp Asp Thr Glu Thr Glu Asp Leu Thr Glu Asn Gly Gln Asp Leu
 85 90 95
 Arg Arg Thr Leu Thr His Ile Lys Asp Gln Lys Gly Gly Leu His Ser
 100 105 110
 Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Ser Ser Thr Arg
 115 120 125
 Gly Ser Arg His Phe Tyr Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn
 130 135 140
 Leu Glu Thr Gln Glu Ser Thr Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr
 145 150 155 160
 Leu Ala Met Asn Val Thr Asn Phe Trp Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr

165 170 175
 Lys Thr His Tyr Arg Ala Met Gln Ala Asp Cys Leu Gln Lys Leu Gln

180 185 190
 Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val Ala Ile Arg Arg Thr Val Pro Pro Met

195 200 205
 Val Asn Val Thr Cys Ser Glu Val Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr

210 215 220
 Cys Arg Ala Ser Ser Phe Tyr Pro Arg Asn Ile Thr Leu Thr Trp Arg

225 230 235 240
 Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asn Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val

245 250 255
 Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile

260 265 270
 Arg Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly

275 280 285
 Asn His Gly Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln

290 295 300
 Ser Gln Arg Thr Asp Phe Pro Tyr Val Ser Ala Ala Met Pro Cys Phe

305 310 315 320
 Val Ile Ile Ile Ile Leu Cys Val Pro Cys Cys Lys Lys Lys Thr Ser

325 330 335
 Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln His

340 345 350
 Pro Val Gly Thr Gly Asp His Arg Asp Ala Ala Gln Leu Gly Phe Gln

355 360 365
 Pro Leu Met Ser Ala Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Ala

370 375 380
 <210> 133

<211> 340

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Met Gly Leu Gly Arg Val Leu Leu Phe Leu Ala Val Ala Phe Pro Phe
 1 5 10 15
 Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu
 20 25 30
 Met Val Leu Ser Gln Asp Glu Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu
 35 40 45

 Gly His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Arg
 50 55 60
 Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Ala Lys
 65 70 75 80
 Thr Trp Asp Thr Glu Thr Glu Asp Leu Thr Glu Asn Gly Gln Asp Leu
 85 90 95
 Arg Arg Thr Leu Thr His Ile Lys Asp Gln Lys Gly Val Pro Gln Ser
 100 105 110

 Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Thr Asn Phe Trp Lys Glu
 115 120 125
 Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr Arg Ala Met Gln Ala Asp Cys
 130 135 140
 Leu Gln Lys Leu Gln Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val Ala Ile Arg Arg
 145 150 155 160
 Thr Val Pro Pro Met Val Asn Val Thr Cys Ser Glu Val Ser Glu Gly
 165 170 175

 Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Ser Phe Tyr Pro Arg Asn Ile
 180 185 190
 Thr Leu Thr Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asn Thr Gln
 195 200 205
 Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp
 210 215 220
 Val Ala Thr Arg Ile Arg Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr
 225 230 235 240

Met Glu His Ser Gly Asn His Gly Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys
 245 250 255

Val Leu Val Leu Gln Ser Gln Arg Thr Asp Phe Pro Tyr Val Ser Ala
 260 265 270

Ala Met Pro Cys Phe Val Ile Ile Ile Ile Leu Cys Val Pro Cys Cys
 275 280 285

Lys Lys Lys Thr Ser Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln
 290 295 300

Val Leu Asp Gln His Pro Val Gly Thr Gly Asp His Arg Asp Ala Ala
 305 310 315 320

Gln Leu Gly Phe Gln Pro Leu Met Ser Ala Thr Gly Ser Thr Gly Ser
 325 330 335

Thr Glu Gly Ala
 340