



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년02월26일
(11) 등록번호 10-2220275
(24) 등록일자 2021년02월19일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2818 (2013.01)
C07K 16/2803 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7028947(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2016년11월17일
심사청구일자 2019년10월01일
- (85) 번역문제출일자 2019년10월01일
- (65) 공개번호 10-2019-0116546
- (43) 공개일자 2019년10월14일
- (62) 원출원 특허 10-2018-7016800
원출원일자(국제) 2016년11월17일
심사청구일자 2018년06월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2016/062394
- (87) 국제공개번호 WO 2017/087589
국제공개일자 2017년05월26일
- (30) 우선권주장
62/257,009 2015년11월18일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
WO2010019570 A2*
WO2015112900 A1*
WO2013024059 A2
WO2008071447 A2*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
머크 샤프 앤드 돔 코퍼레이션
미국 뉴저지 (우편번호 07065-0907) 라웨이 이스
트 링컨 애비뉴 126
- (72) 발명자
보우만, 에드워드
미국 94304 캘리포니아주 팔로 알토 에스. 캘리포
니아 애비뉴 901
보몬트, 마리벨
미국 94304 캘리포니아주 팔로 알토 에스. 캘리포
니아 애비뉴 901
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준

전체 청구항 수 : 총 28 항

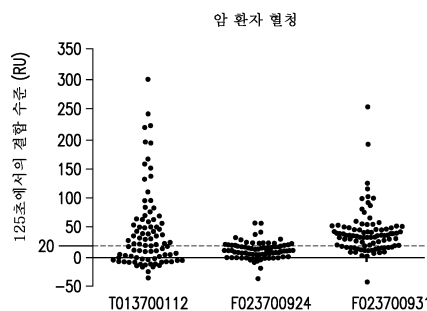
심사관 : 노은주

(54) 발명의 명칭 PD1 및/또는 LAG3 결합제

(57) 요약

본 발명은 PD1 및 LAG3에 결합하고, 임의적으로 인간 혈청 알부민에 결합하는 분자, 예컨대 ISVD 및 나노바디를 제공한다. 이들 분자는 이러한 분자가 투여된 대상체의 신체 내에서 선재하는 항체에 의한 결합의 발생을 저하시키도록 조작되었다. 상기 분자를 이용하여 면역 반응을 증가시키는 방법, 암을 치료하는 방법 및/또는 감염성 질환을 치료하는 방법이 제공된다.

대표도 - 도19c



(52) CPC특허분류

C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/569 (2013.01)
C07K 2317/62 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

부이제, 마리-양계

벨기에 9052 츠비아나르데 테히놀로지파르크 21

보우톤, 카를로

벨기에 9052 츠비아나르데 테히놀로지파르크 21

덤브레히트, 브루노

벨기에 9052 츠비아나르데 테히놀로지파르크 21

플레리크, 다피트

벨기에 9052 츠비아나르데 테히놀로지파르크 21

카스텔라인, 로버트 에이.

미국 94028 캘리포니아주 포틀라 벨리 브룩사이드
드라이브 16

명세서

청구범위

청구항 1

(a) 서열식별번호: 3 또는 서열식별번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 4 (여기서 X는 W 또는 V임) 또는 서열식별번호: 7 (여기서 X는 W 또는 V임)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열식별번호: 5 (여기서 X는 W 또는 F임)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3를 포함하고, 카바트 넘버링에 따른 11번 및 89번 위치에 각각 아미노산 V 및 L로의 아미노산 치환을 추가로 포함하는, 프로그램된 세포 사멸 단백질 1 (PD1)에 결합하는 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인(ISVD); 및

(b) 서열식별번호: 65에 제시된 아미노산 서열 또는 DYVMG (서열식별번호: 65의 아미노산 6 내지 10)을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 66에 제시된 아미노산 서열 또는 AISESGGRTH (서열식별번호: 66의 아미노산 1 내지 10)을 포함하는 CDR2, 및 서열식별번호: 67에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3를 포함하고, 카바트 넘버링에 따른 11번 및 89번 위치에 각각 아미노산 V 및 L 로의 아미노산 치환을 추가로 포함하는, 림프구 활성화 유전자 3 (LAG3)에 결합하는 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인(ISVD)

를 포함하는 다중특이적 결합제.

청구항 2

제1항에 있어서, PD1에 결합하는 ISVD가 아미노산 서열

DVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAASGSIAS IHAMGWFRQA PGKEREFVAV ITWSSGGITYY

ADSVKGRFTI SRDNSKNTVY LQMNSLRPED TALYYCAGDK HQSSWYDYWG QGTLVTVSS

(서열식별번호: 57 또는 D1E 돌연변이를 포함하는 상기 서열);

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITWSSGGITYYADSVKGRFTI SRDNSKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTTLVTVSS

(서열식별번호: 99 또는 E1D 돌연변이를 포함하는 상기 서열);

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSSGGITYYADSVKGRFTI SRDNSKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGTTLVTVSS

(서열식별번호: 103 또는 D1E 및/또는 N73S 돌연변이를 포함하는 상기 서열);

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSSGGITYYADSVKGRFTI SRDQSKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGTTLVTVSS

(서열식별번호: 104 또는 D1E 돌연변이를 포함하는 상기 서열); 또는

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSSGGITYYADSVKGRFTI SRDPSKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGTTLVTVSS

(서열식별번호: 105 또는 D1E 돌연변이를 포함하는 상기 서열), 또는

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSSGGITYYADSVKGRFTI SRDPSKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGTTLVTVSS (서열식별번호: 113의 아미노산 1-119 또는 D1E 돌연변이를 포함하는 상기 서열); 또는

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSSGGITYYADSVKGRFTI SRDQSKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGTTLVTVSS (서열식별번호: 117의 아미노산 1-119 또는 D1E 돌연변이를 포함하는 상기 서열); 또는

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSSGGITYYADSVKGRFTI SRDSSKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGTTLVTVSS (서열식별번호: 121의 아미노산 1-119 또는 D1E 돌연변이를 포함하는 상기 서열)

를 포함하는 것인, 다중특이적 결합제.

청구항 3

제1항에 있어서, LAG3에 결합하는 ISVD가 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열 또는 1번 위치에서 Glu의 Asp로의 치환을 포함하는 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 다중특이적 결합제.

청구항 4

제1항에 있어서, 서열식별번호: 60에 제시된 아미노산 서열 또는 GFTFS (서열식별번호: 60의 아미노산 1-5)를 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 61에 제시된 아미노산 서열 또는 SISGSGSDL (서열식별번호: 61의 아미노산 1-10)을 포함하는 CDR2, 및 서열식별번호: 62에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3를 포함하는 인간 혈청 알부민(HSA)에 결합하는 ISVD를 추가로 포함하는, 다중특이성 결합제.

청구항 5

(a) 아미노산 서열 IHAMG (서열식별번호: 3) 또는 GSIASIHAMG (서열식별번호: 6)를 포함하는 CDR1; 아미노산 서열 VITXSGGITYYADSVKG (서열식별번호: 4; 여기서 X는 W 또는 V임) 또는 VITXSGGITY (서열식별번호: 7; 여기서 X는 W 또는 V임)를 포함하는 CDR2; 및 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임)를 포함하는 CDR3을 포함하는, 프로그램된 세포 사멸 단백질 1 (PD1)에 결합하는 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD);

(b) 아미노산 서열 GRTFSDYVMG (서열식별번호: 65) 또는 DYVMG (서열식별번호: 65의 아미노산 6-10)를 포함하는 CDR1; 아미노산 서열 AISESGGRTHYADSVKG (서열식별번호: 66) 또는 AISESGGRTH (서열식별번호: 66의 아미노산 1-10)를 포함하는 CDR2; 및 아미노산 서열 TLLWWTSEYAPIKANDYDY (서열식별번호: 67)를 포함하는 CDR3을 포함하는, 림프구 활성화 유전자 3 (LAG3)에 결합하는 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD); 및

(c) 반감기 연장제 및 C-말단 연장제를 포함하는 다중특이적 결합제.

청구항 6

제5항에 있어서,

(a) PD1에 결합하는 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인이 아미노산 서열
 DVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAASGSIAS IHAMGWFRQA PGKEREFAV ITWSSGITYY
 ADSVKGRFTI SRDNSKNTVY LQMNSLRPED TALYYCAGDK HQSSWYDYWG QGTILVTVSS
 (서열식별번호: 57);

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFAVITWSSGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQ
 SSWYDYWGQGTILVTVSS
 (서열식별번호: 99);

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFAVITWSSGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQ
 SSWYDYWGQGTILVTVSS
 (서열식별번호: 101의 아미노산 1-119);

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFAVITWSSGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQ
 SSFYDYWGQGTILVTVSS
 (서열식별번호: 103);

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFAVITWSSGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQ
 SSFYDYWGQGTILVTVSS
 (서열식별번호: 104); 또는

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFAVITWSSGITYYADSVKGRFTISRDPKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQ
 SSFYDYWGQGTILVTVSS

(서열식별번호: 105)를 포함하는 것이고;

(b) LAG3에 결합하는 이류노글로불린 단일 가변 도메인이 아미노산 서열

EVQLVE SGGGVVQPGG SLRLSCAASG RTFSYVMGW FRQAPGKERE FVAAISESGG RTHYADSVKG RFTISRDNK NTLYLQMNSL
RPEDTALYYC ATLLWWTSE YAPIKANDYD YWGQGLVTVV SS

(서열식별번호: 64); 또는

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRFTFSYVMGWFRQAPGKEREFVAAIISSESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLW
WTSEYAPIKANDYDYWGQGLVTVVSS

(서열식별번호: 96의 아미노산 1-128)를 포함하는 것인,

다중특이적 결합제.

청구항 7

제5항에 있어서, C-말단 연장제가 알라닌이고, 반감기 연장제가 인간 혈청 알부민에 결합하는 ISVD인, 다중특이적 결합제.

청구항 8

제5항에 있어서, 하기를 포함하는 다중특이적 결합제:

- 서열식별번호: 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35 GS 링커;
- 서열식별번호: 99에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35 GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35 GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35 GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 100에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 20 GS 링커;
- 서열식별번호: 99에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 100에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 20 GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 100에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 20 GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 100에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 20 GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9 GS 링커;
- 서열식별번호: 99에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9 GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9 GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9 GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 100에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 20GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 100에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 20GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 105에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 105 (여기서 1번 위치의 Asp는 Glu로 치환됨)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;

- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 105에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 105 (여기서 1번 위치의 Asp는 Glu로 치환됨)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 105에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 105에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 104에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 104 (여기서 1번 위치의 Asp는 Glu로 치환됨)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 104에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 104 (여기서 1번 위치의 Asp는 Glu로 치환됨)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 104에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 104에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 103 (여기서 73번 위치의 Asn은 Ser로 치환됨)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 103 (여기서 1번 위치의 Asp는 Glu로 치환되고, 73번 위치의 Asn은 Ser로 치환됨)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 103 (여기서 73번 위치의 Asn은 Ser로 치환됨)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;

- 서열식별번호: 103 (여기서 1번 위치의 Asp는 Glu로 치환되고, 73번 위치의 Asn은 Ser로 치환됨)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 103 (여기서 73번 위치의 Asn은 Ser로 치환됨)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌

또는

- 서열식별번호: 103 (여기서 73번 위치의 Asn은 Ser로 치환됨)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 PD1 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 ISVD;
- 서열식별번호: 125에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 9GS 링커;
- 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HSA ISVD; 및
- C-말단 알라닌.

(여기서, 상기 잔기 번호는 카바트 잔기 번호임)

청구항 9

제5항에 있어서, 서열식별번호: 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 또는 124에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 다중특이적 결합제.

청구항 10

제5항에 있어서, PD1 및 LAG3에 결합하는 다중특이적 결합제.

청구항 11

제5항에 있어서, 반감기 연장제가

아미노산 서열 GTFSSFGMS (서열식별번호: 60) 또는 GTFFS (서열식별번호: 60의 아미노산 1-5)를 포함하는 CDR1;

아미노산 서열 SISGSGSDTLYADSVKG (서열식별번호: 61) 또는 SISGSGSDL (서열식별번호: 61의 아미노산 1-10)을 포함하는 CDR2; 및

아미노산 서열 GGSLSR (서열식별번호: 62)을 포함하는 CDR3

를 포함하는 인간 혈청 알부민에 결합하는 인간 혈청 알부민 ISVD인, 다중특이적 결합제.

청구항 12

제11항에 있어서, 인간 혈청 알부민에 결합하는 ISVD가 하기 아미노산 서열을 포함하는 다중특이적 결합제:

EVQLVESGGG VVQPGNSLR L SCAASGFTFS SFGMSWVRQA PGKLEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNAKTLY LQMNSLRPED
TALYYCTIGG SLSRSSQGT L VIVSSA

(서열식별번호: 59).

청구항 13

삭제

청구항 14

제5항의 다중특이적 결합제를 포함하는 주사 장치.

청구항 15

제5항의 다중특이적 결합제 및 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 희석제, 또는 부형제를 포함하는, 암 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방 방법에 사용하기 위한 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 다중특이적 결합제가 서열식별번호: 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 또는 124에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 다중특이적 결합제가 서열식별번호: 110에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 18

서열식별번호: 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 또는 124에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 다중특이적 결합제.

청구항 19

제18항의 다중특이적 결합제 및 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 희석제, 또는 부형제를 포함하는, 암 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방 방법에 사용하기 위한 조성물.

청구항 20

서열식별번호: 110에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 다중특이적 결합제.

청구항 21

제20항의 다중특이적 결합제 및 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 희석제, 또는 부형제를 포함하는, 암 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방 방법에 사용하기 위한 조성물.

청구항 22

서열식별번호: 57에 제시된 아미노산 서열을 갖는 프로그램된 세포 사멸 단백질 1 (PD1) 결합제 및 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 갖는 림프구 활성화 유전자 3 (LAG3) 결합제를 포함하는 다중특이적 결합제.

청구항 23

제22항에 있어서, 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 갖는 인간 혈청 알부민 (HSA) 결합제를 추가로 포함하는 다중특이적 결합제.

청구항 24

서열식별번호: 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 프로그램된 세포 사멸 단백질 1 (PD1)에 결합하는 N-말단 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD);

서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 림프구 활성화 유전자 3 (LAG3)에 결합하는 ISVD;
 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 인간 혈청 알부민 (HSA)에 결합하는 ISVD; 및
 C-말단 알라닌
 을 포함하는 다중특이적 결합제.

청구항 25

서열식별번호: 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 프로그램된 세포 사멸 단백질 1 (PD1)에 결합하는 N-말단 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD);
 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
 서열식별번호: 64에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 림프구 활성화 유전자 3 (LAG3)에 결합하는 ISVD;
 서열식별번호: 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 35GS 링커;
 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 인간 혈청 알부민 (HSA)에 결합하는 ISVD; 및
 C-말단 알라닌
 을 포함하는 다중특이적 결합제.

청구항 26

제22항의 다중특이적 결합제 및 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 희석제, 또는 부형제를 포함하는, 암 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방 방법에 사용하기 위한 조성물.

청구항 27

서열식별번호: 110에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 다중특이적 결합제.

청구항 28

서열식별번호: 110에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 다중특이적 결합제 및 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 희석제, 또는 부형제를 포함하는, 암 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방 방법에 사용하기 위한 조성물.

청구항 29

제5항의 다중특이적 결합제를 포함하는 용기.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 2015년 11월 18일에 출원된 미국 특허 가출원 번호 62/257,009의 이익을 주장하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0002] 컴퓨터로 판독가능한 포맷의 뉴클레오티드/아미노산 서열 목록은 그 전문이 참조로 포함된다. 이러한 서열 목록을 함유하는 파일은 파일명이 "24238WOPCTSEQ"인 2016년 11월 15일에 생성된 199 kb ASCII 텍스트 파일이다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 발명은, 부분적으로, 프로그램된 세포 사멸 단백질 1 ("PD1"), 예를 들어, 인간 PD1 및 림프구 활성화 유전자 3 (LAG3)에 결합하는 아미노산 서열에 관한 것이다. 특히, 본 발명은, 부분적으로, PD1 및 LAG3에 결합하는 개선된 중쇄 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 ("ISV" 또는 "ISVD"로서 본원에 지칭되기도 함) 뿐만 아니라 이러한 ISVD를 포함하는 폴리펩티드 및 다른 화합물에 관한 것이다. 본 발명의 다른 측면, 실시양태, 특징, 용도 및 이점은 본원에서의 개시내용에 근거하여 통상의 기술자에게 명백할 것이다.

배경 기술

[0005] 프로그램된 사멸 수용체 1 (PD-1)은 활성화된 T 및 B 세포 상에서 주로 발현되는 면역억제성 수용체이다. 그의

리간드와의 상호 작용이 시험관내와 생체내 둘 다에서 T-세포 반응을 약화시키는 것으로 밝혀졌다. PD-1과 그의 리간드 중 하나인 PD-L1 간의 상호 작용을 차단하는 것이 중앙-특이적 CD8⁺ T-세포 면역을 증강시키는 것으로 밝혀졌으므로, 면역 체계에 의한 중앙 세포의 클리어런스에 도움을 줄 수 있다.

[0006] PD-1 (유전자 Pcdcl1에 의해 코딩됨)은 CD28, 및 CTLA-4와 관련된 이뮤노글로불린 슈퍼패밀리 구성원이다. PD-1은 그의 리간드 (PD-L1 및/또는 PD-L2)의 개입시 항원 수용체 신호전달을 음성적으로 조절하는 것으로 밝혀졌다. 무린 PD-1의 구조 뿐만 아니라 마우스 PD-1과 인간 PD-L1의 공동-결정 구조가 해결되었다 (Zhang, X. et al., *Immunity* 20: 337-347 (2004); Lin et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 3011-6 (2008)). PD-1 및 유사 계열 구성원은 신호전달 분자의 결합에 대해 책임이 있는 세포질 꼬리부분 및 리간드 결합에 대해 책임이 있는 Ig 가변-유형 (V-유형) 도메인을 함유하는 유형 I 막횡단 당단백질이다. PD-1의 세포질 꼬리부분은 2개의 티로신-기반 신호전달 모티프인 ITIM (면역수용체 티로신-기반 억제 모티프) 및 ITSM (면역수용체 티로신-기반 스위치 모티프)을 함유한다.

[0007] T 세포 자극 후, PD-1은 티로신 포스파타제 SHP-2를 그의 세포질 꼬리부분 내에 있는 ITSM 모티프로 동원시켜, CD3 T 세포 신호전달 캐스케이드에 관여하는 이펙터 분자, 예컨대 CD3 제타, PKC 세타 및 ZAP70의 탈인산화를 유발시킨다. PD-1이 T 세포 반응을 하향 조정하는 기전은 CTLA-4의 것과 유사하긴 하지만, 완전히 다른데, 이는 양쪽 분자가 중복 세트의 신호전달 단백질을 조절하기 때문이다 (Parry et al., *Mol. Cell. Biol.* 25: 9543-9553 (2005)). 베넷(Bennett)과 그 동료들은 T-세포 신호전달의 PD-1-매개된 억제가, 활성화 신호와 억제성 신호 둘 다가 동일한 표면 상에 있는 경우에만 효과적이라는 것을 밝혀냈으며, 이는 PD-1 신호전달 기전이 시공간적으로 결정된다는 것을 표시한다 (Bennett F. et al., *J Immunol.* 170:711-8 (2003)). PD-1은 활성화된 림프구 (말초 CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포, B 세포 및 단핵구) 상에서 발견되는 것으로 밝혀졌고, 또한 CD4⁻CD8⁻ (이중 음성) T 세포 뿐만 아니라 NK-T 세포 상에서의 흥선 발생 동안 발견되는 것으로 밝혀졌다.

[0008] PD-1에 대한 리간드 (PD-L1 및 PD-L2)는 구성적으로 발현되거나 또는 비-조혈 조직을 포함한 각종 세포 유형 뿐만 아니라 다양한 중앙 유형에서 유도될 수 있다. PD-L1은 B, T, 골수성 및 수지상 세포 (DC) 상에서 발현될 뿐만 아니라 말초 세포, 예컨대 미세혈관 내피 세포 및 비-림프성 기관, 예컨대 심장, 폐 등 상에서 발현된다. 이와는 대조적으로, PD-L2는 대식세포 및 DC 상에서만 발견된다. PD-1 리간드의 발현 패턴은 말초 관용을 유지하는데 있어서의 PD-1의 역할을 암시하고, 말초에서 자기-반응성 T- 및 B-세포 반응을 조절하는 작용을 할 수 있다. 양쪽 리간드는 세포외 영역에 IgV-유사 도메인과 IgC-유사 도메인 둘 다를 함유하는 유형 I 막횡단 수용체이다. 양쪽 리간드는 공지된 신호전달 모티프를 수반하지 않는 짧은 세포질성 영역을 함유한다.

[0009] PD-1과 그의 리간드의 상호 작용으로 인해, 시험관내 및 생체내에서 림프구 증식이 억제된다. PD-1/PD-L1 상호 작용을 붕괴시키면 T 세포 증식과 시토키인 생성이 증가되고, 세포 주기의 진행이 차단되는 것으로 밝혀졌다. Pcdcl1^{-/-} 마우스의 초기 분석은 어떠한 급격한 면역학적 표현형도 확인하지 못하였다. 그러나, 늙은 마우스에게는 자발적 자가면역 질환이 발생하였으며, 이는 Pcdcl1 결핍증을 역교배시킨 계통에 따라서 상이하다. 이는 루푸스-유사 증식성 관절염 (C57BL/6) (문헌 [Nishimura H. et al., *Int. Immunol.* 10: 1563-1572 (1998)]), 치명적인 심근병증 (BALB/c) (문헌 [Nishimura H. et al., *Science* 291: 319-322 (2001)]) 및 유형 I 당뇨병 (NOD) (문헌 [Wang J. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11823-11828 (2005)])을 포함한다. 전반적으로, 상기 녹아웃 동물을 분석한 결과, PD-1이 주로 말초 관용을 유도하고 조절하는데 기능한다는 사실을 이해하게 되었다. 따라서, PD-1 경로를 치료적으로 차단하는 것이 면역 관용을 극복하는데 도움이 될 수 있다. 이러한 선택적 차단은 암 또는 감염을 치료하는데 사용될 수 있을 뿐만 아니라 백신 접종 (예방적 또는 치료적) 동안 면역을 부스팅하는데 사용될 수 있다.

[0010] 암에 있어서의 PD-1의 역할이 문헌에 정립된다. 중앙 미세 환경은 효율적인 면역 파괴로부터 중앙 세포를 보호할 수 있는 것으로 공지되어 있다. PD-L1은 최근에, 수많은 마우스 및 인간 중앙 상에서 발현되는 것으로 밝혀졌고 (이는 대다수의 PD-L1 음성 중앙 세포주 상의 IFN 감마에 의해 유도 가능하며), 면역 회피를 매개하는 것으로 주장된다 (Iwai Y. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99: 12293-12297 (2002); Strome S. E. et al., *Cancer Res.*, 63: 6501-6505 (2003)).

[0011] 인간에서는, (중앙 침윤성 림프구 상에서의) PD-1의 발현 및/또는 (중앙 세포 상에서의) PD-L1의 발현이 면역조직화학에 의해 평가된 수많은 1차 중앙 생검에서 발견되었다. 이러한 조직은 폐암, 간암, 난소암, 자궁경부암, 피부암, 결장암, 신경교종, 방광암, 유방암, 신장암, 식도암, 위암, 구강 편평세포 암, 요로 상피세포 암, 및 췌장암 뿐만 아니라 두경부의 중앙을 포함한다 (Brown J. A. et al., *J. Immunol.* 170: 1257-1266 (2003));

Dong H. et al., Nat. Med. 8: 793-800 (2002); Wintterle et al., Cancer Res. 63: 7462-7467 (2003); Strome S. E. et al., Cancer Res., 63: 6501-6505 (2003); Thompson R. H. et al., Cancer Res. 66: 3381-5 (2006); Thompson et al., Clin. Cancer Res. 13: 1757-61 (2007); Nomi T. et al., Clin. Cancer Res. 13: 2151-7. (2007)). 더 놀랍게도, 종양 세포 상에서의 PD-리간드 발현은 다발성 종양 유형 전반에 걸쳐 암 환자의 불량한 예후와 상관이 있어 왔다 (문헌 [Okazaki and Honjo, Int. Immunol. 19: 813-824 (2007)]에서 관찰 됨).

[0012] PD-1/PD-L1 상호 작용을 차단하면 종양-특이적 T-세포 면역이 증강될 수 있었으므로, 이는 면역 체계에 의한 종양 세포의 클리어런스에 도움을 줄 수 있다. 이 문제를 해결하기 위해, 수많은 연구가 수행되었다. 침습성이 강한 췌장암의 무린 모델에서, 티. 노미(T. Nomi) 등 (문헌 [Clin. Cancer Res. 13: 2151-2157 (2007)])은 PD-1/PD-L1 차단 치료의 효능을 입증하였다. PD-1 또는 PD-L1 유도된 항체를 투여하면 종양 성장이 상당히 억제되었다. 항체 차단은 종양 내의 종양 반응성 CD8⁺ T 세포 침윤을 효과적으로 증진시켜, IFN 감마, 그랜자임 B 및 페르포린(perforin)을 포함한 항종양 이펙터의 상향 조절을 초래하였다. 부가적으로, 상기 저자는 PD-1 차단을 화학요법과 효과적으로 조합하여 상승적 효과를 산출할 수 있었다는 것을 보여주었다. 또 다른 연구에서는, 마우스 내의 편평 세포 암종 모델을 사용하여, PD-1 또는 PD-L1의 항체 차단이 종양 성장을 상당히 억제시켰다 (Tsushima F. et al., Oral Oncol. 42: 268-274 (2006)).

[0013] 다른 연구에서는, 무린 비만세포종 계통을 PD-L1로 형질감염시키면, 종양-특이적 CTL 클론과 공동 배양하는 경우에 종양 세포의 용해가 감소되었다. 항-PD-L1 mAb를 부가한 경우에 용해가 복원되었다 (Iwai Y. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99: 12293-12297 (2002)). 생체내에서, PD1/PD-L1 상호 작용을 차단하는 것이 마우스 종양 모델에서 입양 T 세포 전달 요법의 효능을 증가시키는 것으로 나타났다 (Strome S. E. et al., Cancer Res. 63: 6501-6505 (2003)). 암 치료에 있어서의 PD-1의 역할에 대한 추가의 증거는 PD-1 녹아웃 마우스를 이용하여 수행된 실험으로부터 비롯된다. PD-L1 발현 골수종 세포는 야생형 동물에서만 성장하였지만 (이로써 종양이 성장하고 이와 관련하여 동물이 사망함), PD-1 결핍성 마우스에서는 그렇지 않았다 (Iwai Y. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99: 12293-12297 (2002)).

[0014] 인간 연구에서는, 완전한 인간 항-PD-1 항체를 이용한 PD-1 차단이 백신 항원 및 백신 접종한 개체로부터의 세포를 이용하는 생체의 자극 검정에서 종양-특이적 CD8⁺ T 세포 (CTL)의 절대적 수를 증대시켰다는 것이 문헌 ([R. M. Wong et al., Int. Immunol. 19: 1223-1234 (2007)])에 제시되었다. 유사한 연구에서는, PD-L1의 항체 차단이 종양 관련 항원 특이적 세포독성 T 세포의 세포용해 활성을 증강시켰고 종양 특이적 T_H 세포에 의한 시토카인 생성을 증가시켰다 (Blank C. et al., Int. J. Cancer 119: 317-327 (2006)). 상기와 동일한 저자는 PD-L1 차단이 항-CTLA-4 차단과 조합하여 사용되는 경우에 시험관내에서 종양-특이적 T 세포 반응을 증대시킨다는 것으로 보여주었다.

[0015] 전반적으로, PD-1/PD-L1 경로는 암 치료를 위한 항체 치료제 개발을 위한 타당성이 입증된 표적이다. 항-PD-1 항체는 또한, 만성 바이러스 감염에 유용할 수 있다. 급성 바이러스 감염 후 생성된 기억 CD8⁺ T 세포는 고도로 기능적이고 보호 면역의 중요한 구성 요소를 구성한다. 이와는 반대로, 만성 감염은 종종, 바이러스-특이적 T-세포 반응의 다양한 정도의 기능적 손상 (소모)을 특징으로 하며, 이러한 결함은 숙주가 지속적 병원체를 제거할 수 없게 만드는 주요 원인이다. 기능적 이펙터 T 세포는 처음에, 감염 초기 단계 동안 생성되긴 하지만, 만성 감염의 과정 동안 점차적으로 그 기능을 상실하게 된다. 바버(Barber) 등은 문헌 [Barber et al., Nature 439: 682-687 (2006)]에서, 실험실 계통의 LCMV로 감염된 마우스에게서 혈액 및 다른 조직에서 고 수준의 바이러스를 초래하는 만성 감염이 발생하였다는 것을 보여주었다. 이들 마우스는 처음에는 강력한 T 세포 반응을 발생하였지만, 결국에는 T 세포 소모시 감염에 굴복하였다. 상기 저자는 만성적으로 감염된 마우스 내의 이펙터 T 세포의 수와 기능 상의 감소는 PD-1과 PD-L1 간의 상호 작용을 차단한 항체를 주사함으로써 역전될 수 있다는 사실을 발견하였다.

[0016] 최근에는, PD-1이 HIV 감염된 개체로부터의 T 세포 상에서 고도로 발현되고 수용체 발현이 손상된 T 세포 기능 및 질환 진행과 상관이 있다는 것이 밝혀졌다 (Day et al., Nature 443:350-4 (2006).; Trautmann L. et al., Nat. Med. 12: 1198-202 (2006)). 둘 다의 연구에서는, 리간드 PD-L1의 차단이 시험관내에서 HIV-특이적, IFN-감마 생성 세포의 확장을 상당히 증가시켰다.

[0017] 다른 연구는 또한, 바이러스 감염을 제어하는데 있어서의 PD-1 경로의 중요성을 시사한다. PD-1 녹아웃 마우스는 야생형 마우스보다 더 우수한 아데노바이러스 감염의 제어를 나타낸다 (Iwai et al., J. Exp. Med. 198:39-

50 (2003)). 또한, HBV-특이적 T 세포를 HBV 트랜스제닉 동물 내로 입양 전달하면 감염이 개시되었다 (Isogawa M. et al., Immunity 23:53-63 (2005)). 이들 동물의 질환 상태는 간에서의 항원 인식 및 간 세포에 의한 PD-1 상향 조절의 결과에 따라 왔다 갔다 한다.

[0018] 또한, LAG3 (CD223)은 이들 림프구 서브세트의 기능에 있어서 중요한 역할을 하는, 활성화된 T 세포 (문헌 [Huard et al. Immunogenetics 39:213-217, 1994]), NK 세포 (문헌 [Triebel et al. J Exp Med 171: 1393-1405, 1990]), B 세포 (문헌 [Kisielow et al. Eur J Immunol 35:2081-2088, 2005]), 및 형질세포성 수지상 세포 (문헌 [Workman et al. J Immunol 182: 1885-1891, 2009]) 상에서 발현된 세포 표면 분자이다. 또한, LAG3 과 그의 주요 리간드인 비류 II MHC 간의 상호 작용은 수지상 세포 기능을 조정하는데 있어서 일정 역할을 하는 것으로 여겨진다 (Andreae et al. J Immunol 168:3874-3880, 2002). 최근의 전임상 연구는 CD8 T-세포 소모에 있어서의 LAG-3의 역할을 확인시켜 주었다 (Blackburn et al. Nat Immunol 10:29-37, 2009).

[0019] 만성 바이러스 감염과 같이, 중앙 항원 특이적 CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포는 항원 재자극에 대한 저반응성 및 염증 유발성 시토카인의 저하된 생성으로써 특징지을 수 있는 소모된 표현형 및 손상된 이펙터 기능을 표시한다. 이는 세포 외인성 기전, 예컨대 조절성 T-세포 (Treg), 및 세포 내인성 기전, 예컨대 소모된 중앙 침윤성 림프구 (TIL) 상에서 상향 조절되는 억제성 분자에 의해 매개된다. 이들 억제성 기전은 효과적인 항종양 면역에 대한 막대한 장벽을 나타낸다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0020] LAG3은 관용화된 TIL 상에 발현되며, 이는 이것이 중앙 매개된 면역 억제에 기여한다는 것을 암시한다. LAG3을 억제하면 항원 특이적 T 세포의 활성화가 증강될 수 있어, 그로부터 치료적 혜택을 획득할 수 있다.

과제의 해결 수단

[0021] 본 발명은 아미노산 서열: IHAMG (서열식별번호(SEQ ID NO): 3) 또는 GSIASIHAMG (서열식별번호: 6)을 포함하는 CDR1; 아미노산 서열: VITXSGGITYYADSVKG (서열식별번호: 4; 여기서 X는 W 또는 V임) 또는 VITXSGGITY (서열식별번호: 7; 여기서 X는 W 또는 V임)을 포함하는 CDR2; 및 아미노산 서열: DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임) 또는 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 8; 여기서 X는 W 또는 F임)을 포함하는 CDR3을 포함하는, 서열식별번호: 1 또는 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하지만; 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및 112 중 하나 이상에서의 돌연변이 (상기 위치는 카바트에 따라서 넘버링됨) (예를 들어, L11V, A14P, A74S, K83R, I89L 및, 임의적으로, E1D; 또는 L11V, A14P, W52aV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100a 및, 임의적으로, E1D)를 포함하는, PD1 (예를 들어, 인간 PD1)에 결합하는 PD1 결합제 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD) 또는 나노바디(Nanobody))를 포괄한다. 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 L 또는 V로부터 선택된 위치 11에서의 아미노산 잔기; T, V 또는 L로부터 선택된 위치 89에서의 아미노산 잔기; T, K 또는 Q로부터 선택된 위치 110에서의 아미노산 잔기; 및/또는 S, K 또는 Q로부터 선택된 위치 112에서의 아미노산 잔기를 포함한다. 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 89T; 11V와 조합한 89L; 110K 또는 110Q와 조합한 89L; 112K 또는 112Q와 조합한 89L; 11V 및 110K 또는 110Q와 조합한 89L; 11V 및 112K 또는 112Q와 조합한 89L; 110K 또는 110Q와 조합한 11V; 112K 또는 112Q와 조합한 11V로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원인 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 위치 11, 89, 110 및 112에서의 아미노산은 본원의 표 B에 제시된 것 중 임의의 것과 같다. 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 1, 14, 41, 74, 83, 87 및 108로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에서의 하나 이상의 돌연변이 및/또는 그 자체가 공지된 하나 이상의 인간화 치환 (이에 관해서는 본원에 인용된 선행 기술분야, 예컨대 WO 08/020079 또는 WO 09/138519를 참조할 수 있음)을 포함한다. 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산의 C-말단 연장을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 식 -X(n)에 따르는 C-말단 연장을 포함하며, 여기서 X 및 n은 하기와 같다: (a) n = 1 및 X = Ala; (b) n = 2 및 각각의 X = Ala; (c) n = 3 및 각각의 X = Ala; (d) n = 2 및 적어도 1개의 X = Ala (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택됨); (e) n = 3 및 적어도 1개의 X = Ala (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택됨); (f) n = 3 및 적어도 2개의 X = Ala (나머지 아미

노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택됨); (g) n = 1 및 X = Gly; (h) n = 2 및 각각의 X = Gly; (i) n = 3 및 각각의 X = Gly; (j) n = 2 및 적어도 1개의 X = Gly (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택됨); (k) n = 3 및 적어도 1개의 X = Gly (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택됨); (l) n = 3 및 적어도 2개의 X = Gly (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택됨); (m) n = 2 및 각각의 X = Ala 또는 Gly; (n) n = 3 및 각각의 X = Ala 또는 Gly; (o) n = 3 및 적어도 1개의 X = Ala 또는 Gly (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택됨); 또는 (p) n = 3 및 적어도 2개의 X = Ala 또는 Gly (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산, 예를 들어, A, AA, AAA, G, GG, GGG, AG, GA, AAG, AGG, AGA, GGA, GAA 또는 GAG로부터 독립적으로 선택된다. 본 발명은 또한, 위치 11, 89, 110 및 112에서의 하나 이상의 돌연변이를 포함하고; 서열식별번호: 9-40으로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원에 제시된 아미노산 서열과 적어도 85% (예를 들어, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, 99.9 또는 100%) 서열 동일성 (여기서 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 임의의 CDR은 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음)을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)를 제공한다. 본 발명은 또한, PD1 결합제에 결합하는 에피토프가 아닌 에피토프 (예를 들어, PD1, CTLA4, LAG3, BTLA 및/또는 CD27)에 결합하는 하나 이상의 분자와 연결된 PD1에 결합하는 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)를 포함하는, 하나 이상의 링커, 예를 들어, 펩티드 링커를 통하여 임의적으로 연결된, 예를 들어, PD1 결합 모이어티와 CTLA4 결합 모이어티; PD1 결합 모이어티와 BTLA 결합 모이어티; PD1 결합 모이어티와 LAG3 결합 모이어티; 또는 PD1 결합 모이어티, LAG3 결합 모이어티 및 BTLA 결합 모이어티를 포함하는 다중특이적 이뮤노글로불린을 제공한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 이러한 다중특이적 이뮤노글로불린은 제1 PD1 나노바디의 것과 동일하거나 또는 상이한 에피토프에 결합하는, CTLA4 나노바디, LAG3 나노바디, BTLA 나노바디, CD27 나노바디 및 PD1 나노바디로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 분자와 연결된 제1 PD1 나노바디를 포함하며; 예를 들어, PD1 결합 모이어티와 CTLA4 결합 모이어티; PD1 결합 모이어티와 BTLA 결합 모이어티; PD1 결합 모이어티와 LAG3 결합 모이어티; 또는 PD1 결합 모이어티, LAG3 결합 모이어티 및 BTLA 결합 모이어티를 포함한다.

- [0022] 본 발명은 본원에 기재되는, 예를 들어, 서열식별번호: 9-40으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드, ISVD 또는 나노바디를 포함한다.
- [0023] 본 발명은 또한, 추가 치료제와 연합되는 본 발명의 PD1 결합제 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD) 또는 다중특이적 ISVD, 예컨대 나노바디)를 제공한다.
- [0024] 임의적으로 추가 치료제와 연합되는 PD1 결합제 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD) 또는 다중특이적 ISVD, 예컨대 나노바디)를 포함하는 주사 장치 및 용기가 본 발명에 의해 제공된다.
- [0025] 본 발명은 PD1 결합제 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD) 또는 다중특이적 ISVD, 예컨대 나노바디)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드; 또는 이러한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 또는 상기 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0026] 본 발명은 이뮤노글로불린을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 특정 숙주 세포 내로 도입하는 것 및 숙주 세포를 상기 폴리뉴클레오티드로부터의 상기 이뮤노글로불린의 발현에 유리한 조건 하에 배지에서 배양하는 것, 및 임의적으로, 상기 숙주 세포 및/또는 상기 배지로부터 이뮤노글로불린을 정제하는 것을 포함하는, PD1 결합제 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD) 또는 다중특이적 ISVD, 예컨대 나노바디)를 제조하는 방법을 제공한다. 이러한 방법에 의해 생성된 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 본 발명의 일부이다.
- [0027] 본 발명은 또한, PD1을 임의적으로 추가 치료제와 연합된 PD1 결합제 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD) 또는 다중특이적 ISVD, 예컨대 나노바디)와 접촉시키는 것을 포함하는, PD1이 PD-L1 및/또는 PD-L2 에 결합하는 것을 방지하는 방법을 제공한다.
- [0028] 본 발명은 또한, 본 발명의 PD1 결합제 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD) 또는 다중특이적 ISVD, 예컨대 나노바디)의 유효량을 임의적으로 추가 치료제와 연합하여 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체의 신체 내에서 면역 반응을 증강시키는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 PD1 결합제 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD) 또는 다중특이적 ISVD, 예컨대 나노바디)의 유효량을 임의적으로 추가 치료제와 연합하여 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체의 신체 내에서 암 (예를 들어, 전이성 암, 고형 종양, 혈액암, 백혈병, 림프종, 골육종, 횡문근육종, 신경모세포종, 신장암, 백혈병, 신장 이형

세포암, 방광암, 윌름스 암, 난소암, 췌장암, 유방암, 전립선암, 골암, 폐암, 비소세포 폐암, 위암, 결장직장암, 자궁경부암, 활막 육종, 두경부암, 편평 세포 암종, 다발성 골수종, 신세포암, 망막모세포종, 간모세포종, 간세포성 암종, 흑색종, 신장의 횡문근양 종양, 유잉 육종, 연골육종, 뇌암, 교모세포종, 수막종, 뇌하수체 선종, 전정 슈반세포종, 원시 신경외배엽 종양, 수모세포종, 성상세포종, 역형성 성상세포종, 췌지교종, 상의세포종, 맥락층 유두종, 진성 다혈구혈증, 혈소판혈증, 특발성 골수섬유증, 연부 조직 육종, 갑상선암, 자궁내막암, 카르시노이드 암 또는 간암, 유방암 또는 위암) 또는 감염성 질환 (박테리아 감염, 바이러스 감염 또는 진균 감염)을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 이러한 대상체는 추가 치료제 또는 치료 절차를 PD1 결합제와 연합하여 또한 투여받는다.

[0029] 본 발명은 서열식별번호: 1 또는 2에 대하여 위치 11 (예를 들어, L11V) 및 89 (예를 들어, I89L)에서의 하나 이상의 돌연변이 또는 E1D, L11V, A14P, W52aV, N73(Q, P 또는 S), A74S, K83R, I89L, W100aF로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함하고, 아미노산 서열 IHAMG (서열식별번호: 3) 또는 GSIASIHAMG (서열식별번호: 6)을 포함하는 CDR1; 아미노산 서열 VITXSGGITYYADSVKG (서열식별번호: 4; 여기서 X는 W 또는 V임) 또는 VITXSGGITY (서열식별번호: 7; 여기서 X는 W 또는 V임)을 포함하는 CDR2; 및 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임)을 포함하는 CDR3을 포함하는, PD1에 결합하는 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)를 제공한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 상기 돌연변이는 E1D, L11V, A14P, K83R 및 I89L; 또는 L11V, A14P, K83R 및 I89L이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 돌연변이는 E1D, L11V, A14P, W52aV, N73(Q, P 또는 S), A74S, K83R, I89L, W100aF 또는 L11V, A14P, W52aV, N73(Q, P 또는 S), A74S, K83R, I89L, W100aF이다. 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 결합제는 하기 아미노산 서열을 포함한다: DVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAASGSIAS IHAMGWFRQA PGKEREVAV ITWSSGITYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVY LQMNSLRPED TALYYCAGDK HQSSWYDYWG QGTLVTVSS (서열식별번호: 57).

[0030] 본 발명은 또한, 아미노산 서열 GRTFSDYVMG (서열식별번호: 65)을 포함하는 CDR1; 아미노산 서열 AISESGGRTH (서열식별번호: 66)을 포함하는 CDR2; 및 아미노산 서열 TLLWWTSEYAPIKANDYDY (서열식별번호: 67)을 포함하는 CDR3을 포함하는, 예를 들어, 아미노산 서열: EVQLVE SGGGVVQPGG SLRLSCAASG RTFSDYVMGW FRQAPGKERE FVA AISESGG RTHYADSVKG RFTISRDN SK NTLYLQMN SL RPEDTALYYC ATTLLWWTSE YAPIKANDYD YWGQGT LVTV SS (서열식별번호: 64)을 포함하는, LAG3에 결합하는 LAG3 결합제를 제공한다.

[0031] PD1 및 LAG3 결합제는 아미노산 서열 IHAMG (서열식별번호: 3) 또는 GSIASIHAMG (서열식별번호: 6)을 포함하는 CDR1; 아미노산 서열 VITXSGGITYYADSVKG (서열식별번호: 4; 여기서 X는 W 또는 V임) 또는 VITXSGGITY (서열식별번호: 7; 여기서 X는 W 또는 V임)을 포함하는 CDR2; 및 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임)을 포함하는 CDR3을 포함하는 PD1 결합제; 및 아미노산 서열 GRTFSDYVMG (서열식별번호: 65)을 포함하는 CDR1; 아미노산 서열 AISESGGRTH (서열식별번호: 66)을 포함하는 CDR2; 및 아미노산 서열 TLLWWTSEYAPIKANDYDY (서열식별번호: 67)을 포함하는 CDR3을 포함하는 LAG3 결합제; 및 임의적으로, 반감기 연장제를 포함하는, PD1 및 LAG3에 결합하는 본 발명의 일부인 단일 분자, 예컨대 PD1/LAG3 결합제 내에 있을 수 있으며, 예를 들어, 여기서 PD1 결합제는 아미노산 서열:

[0032] DVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAASGSIAS IHAMGWFRQA PGKEREVAV ITWSSGITYY

[0033] ADSVKGRFTI SRDNSKNTVY LQMNSLRPED TALYYCAGDK HQSSWYDYWG QGTLVTVSS (서열식별번호: 57)을 포함하고; LAG3 결합제는 아미노산 서열:

[0034] EVQLVE SGGGVVQPGG SLRLSCAASG RTFSDYVMGW FRQAPGKERE FVA AISESGG RTHYADSVKG RFTISRDN SK NTLYLQMN SL RPEDTALYYC ATTLLWWTSE YAPIKANDYD YWGQGT LVTV SS (서열식별번호: 64)을 포함하며; 임의적으로, 반감기 연장제를 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 한 실시양태에서, PD1/LAG3 결합제는 모이어티를, 예를 들어, 제시된 순서로 포함한다:

[0035] · PD1 결합제 102C12 (E1D, L11V, A14P, A74S, K83R, I89L) 또는 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73X (예를 들어, N73P 또는 N73Q 또는 N73S), A74S, K83R, I89L, W100aF);

[0036] · 펩티드 링커, 예컨대 9GS, 20GS 또는 35 GS (예를 들어, GGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG (서열식별번호: 70));

[0037] · LAG3 결합제 11B09 또는 11B09 (L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L);

[0038] · 펩티드 링커, 예컨대 9GS, 20GS 또는 35 GS (예를 들어, GGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG (서열식별번호: 70));

호: 70));

- [0039] · 반감기 연장제, 예컨대 ALB11002; 및, 임의적으로,
- [0040] · C-말단 연장, 예컨대 알라닌;
- [0041] 또는
- [0042] · PD1 결합제 102C12 (E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L) 또는 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73X (예를 들어, N73P 또는 N73Q 또는 N73S), A74S, K83R, I89L, W100aF);
- [0043] · 펩티드 링커, 예컨대 9GS, 20GS 또는 35 GS (예를 들어, GGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG (서열식별번호: 70));
- [0044] · PD1 결합제 102C12 (L11V,A14P,A74S,K83R,I89L) 또는 1PD102C12 (L11V, A14P, W52aV, N73X (예를 들어, N73P 또는 N73Q 또는 N73S), A74S, K83R, I89L, W100aF);
- [0045] · 펩티드 링커, 예컨대 9GS, 20GS 또는 35 GS (예를 들어, GGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG (서열식별번호: 70));
- [0046] · LAG3 결합제 11B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L);
- [0047] · 펩티드 링커, 예컨대 9GS, 20GS 또는 35 GS (예를 들어, GGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG (서열식별번호: 70));
- [0048] · LAG3 결합제 11B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L);
- [0049] · 펩티드 링커, 예컨대 9GS, 20GS 또는 35 GS (예를 들어, GGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG (서열식별번호: 70));
- [0050] · 반감기 연장제, 예컨대 ALB11002; 및, 임의적으로,
- [0051] · C-말단 연장, 예컨대 알라닌.
- [0052] 반감기 연장제는 본 발명의 한 실시양태에서, 인간 혈청 알부민 (HSA) 결합제, 예컨대 ALB11002이다. 본 발명의 한 실시양태에서, HSA 결합제는 아미노산 서열 GFTFSSFGMS (서열식별번호: 60)을 포함하는 CDR1; 아미노산 서열 SISGSGSDDL (서열식별번호: 61)을 포함하는 CDR2; 및 아미노산 서열 GGSLSR (서열식별번호: 62)을 포함하는 CDR3을 포함하며, 예를 들어, 아미노산 서열: EVQLVESGGG VVQPGNSLR L SCAASGFTFS SFGMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGSDDL ADSVKGRFTI SRDNAKTTLY LQMNSLRPED TALYCTIGG SLSRSSQGLT VTVSSA (서열식별번호: 59)을 포함한다. 이러한 반감기 연장제는 그 자체가 본 발명의 일부이다.
- [0053] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 결합제, LAG3 결합제, HSA 결합제 및/또는 PD1/LAG3 결합제는 임의적으로 추가 치료제와 연합하여 주사 장치 또는 용기 내에 있다. 이러한 장치 또는 용기는 본 발명의 일부이다.
- [0054] 본 발명은 또한, 본원에 제시된 결합제 중 임의의 것을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 뿐만 아니라 이러한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 임의의 벡터 (예를 들어, 플라스미드) 뿐만 아니라 예를 들어, 이소성이거나 또는 하나 이상의 숙주 세포 염색체 내로 통합된 상기 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 포함하는 임의의 숙주 세포 [예를 들어, CHO 또는 진균 세포, 예컨대 피키아 (*Pichia*), 예를 들어, 피. 파스토리스 (*P. pastoris*)]를 제공한다.
- [0055] 본 발명은 또한, 본원에 제시된 결합제를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 (예를 들어, CHO 또는 진균 세포, 예컨대 피키아, 예를 들어, 피. 파스토리스) 내로 도입하는 것 및 숙주 세포를 상기 폴리뉴클레오티드로부터의 상기 결합제의 발현에 유리한 조건 하에 배지에서 배양하는 것, 및 임의적으로, 상기 숙주 세포 및/또는 상기 배지로부터 상기 결합제를 정제하는 것을 포함하는, 본원에 제시된 결합제 중 임의의 것을 제조하는 방법을 제공한다. 임의적으로, 상기 벡터 또는 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 숙주 세포 염색체 내로 통합된다. 이러한 방법에 의해 생성된 임의의 결합제가 또한 본 발명의 일부이다.
- [0056] 본 발명은 또한, PD1을 임의적으로 추가 치료제와 연합된 본 발명의 PD1 결합제 (예를 들어, PD1/LAG3 결합제)와 접촉시키는 것을 포함하는, PD1이 PD-L1 및/또는 PD-L2에 결합하지 못하게 하거나 또는, 예를 들어, 본원에 논의된 바와 같은, 임의의 PD1 활성을 억제하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한, LAG3을 임의적으로 추가 치료제와 연합된 본 발명의 LAG3 결합제 (예를 들어, PD1/LAG3 결합제)와 접촉시키는 것을 포함하는, LAG3이 MHC 부류 II에 결합하지 못하게 하거나 또는, 예를 들어, 본원에 논의된 바와 같은, 임의의 PD1 활성을 억제하는 방

법을 제공한다. 본 발명은 또한, 본 발명의 결합제 (예를 들어, PD1/LAG3 결합제)의 유효량을 임의적으로 추가 치료제와 연합하여 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체 (예를 들어, 인간)의 체내에서 면역 반응을 증강시키는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한, 본 발명의 결합제 (예를 들어, PD1/LAG3 결합제)의 유효량을 임의적으로 추가 치료제와 연합하여 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체 (예를 들어, 인간)의 체내에서 암 (예를 들어, 전이성 암, 고형 종양 또는 혈액암) 또는 감염성 질환 (예를 들어, 박테리아 감염, 바이러스 감염 또는 진균 감염)을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 대상체에게 투여되는 경우, 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, PD1/LAG3 결합제)는 추가 치료제 또는 치료 절차, 예를 들어, 외과적 종양절제술과 연합하여 임의적으로 투여된다.

발명의 효과

[0057]

**

도면의 간단한 설명

[0058]

도 1. 본원에 구체적으로 지칭될 일부 아미노산 위치 및 일부 대체 넘버링 시스템 (예컨대 Aho 및 IMGT)에 따르는 그들의 넘버링을 열거한 표.

도 2 (1-5). PD1 결합제 서열.

도 3 (a-b). 102C12 서열과 서열식별번호: 9-40의 서열과의 정렬 (WO 2008/071447, 서열식별번호: 348 참조).

도 4. 차이나이즈 햄스터 난소 세포 (CHO N-연결된 글리칸) 및 조작된 효모 세포 (조작된 효모 N-연결된 글리칸)에서 생산된 모노클로날 항체에 대한 우세 N-연결된 글리칸: 사각형: N-아세틸글루코사민 (GlcNac); 원형: 만노스 (Man); 다이아몬드: 갈락토스 (Gal); 삼각형: 푸코스 (Fuc).

도 5. F023700275 (1PD102C12(A14P,A74S,K83R)-FLAG3-HIS6) 또는 F023700706 (1PD102C12(L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-FLAG3-HIS6)에 의한 인간 PD1을 발현하는 CHO-K1의 1가 결합. GAM=FLAG 에피토프에 결합하는 마우스 항체를 검출하기 위해 사용된 염소 항-마우스 2차 항체; α-FLAG + GAM=구조물의 C-말단에 있는 FLAG 에피토프에 결합하는 마우스 항체가 부가되어 사용된 염소 항-마우스 2차 항체.

도 6. F0237611B09-FLAG-His6 또는 F023700842 (F0237611B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-FLAG3-HIS6)에 의한 인간 LAG3을 발현하는 3A9 세포의 1가 결합.

도 7 (a-b). (a) F023700931, F023700924, F023700933 또는 F023700962에 의한 인간 PD-1을 발현하는 CHO의 결합 또는 (b) F023700931 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700924 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700933, F023700962, F023700678 (1PD102C12 (A14P,A74S,K83R)-35GS-ALB11002) 또는 F023701127에 의한 레서스 (rhesus) PD-1을 발현하는 3A9의 결합. ABH0074 + GAM=나노바디 프레임워크에 결합하는 마우스 항체 ABH0074가 부가되어 사용된 염소 항-마우스 2차 항체.

도 8 (a-b). (a) F023700931, F023700924 또는 F023700962에 의한 인간 LAG3을 발현하는 CHO의 결합 또는 (b) F023700931 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700924 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700933 또는 F023700962에 의한 레서스 LAG3을 발현하는 3A9의 결합.

도 9 (a-h). (a) F023700275 또는 F023700706에 의한 인간 PD-L1-Fc와 인간 PD1을 발현하는 CHO-K1 간의 결합의 차단; (b) F023700275 또는 F023700706에 의한 인간 PD-L2-Fc와 인간 PD1을 발현하는 CHO-K1 간의 결합의 차단; (c) F023700931 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700924 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700933 또는 F023700962에 의한 인간 PD-L1-Fc와 인간 PD1을 발현하는 CHO-K1 간의 결합의 차단; (d) F023700931 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700924 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700933 또는 F023700962에 의한 인간 PD-L2-Fc와 인간 PD1을 발현하는 CHO-K1 간의 결합의 차단; (e) F023700931, F023700924, F023700933 또는 F023700962에 의한 인간 PD-L1-Fc와 인간 PD1을 발현하는 CHO-K1 간의 결합의 차단; (f) F023700931, F023700924, F023700933 또는 F023700962에 의한 인간 PD-L2-Fc와 인간 PD1을 발현하는 CHO-K1 간의 결합의 차단; (g) F023700929 (1PD102C12 (L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-HIS6), F023701190 (1PD102C12 (E1D,L11V,A14P,W52aV,A74S,K83R,I89L,W100aF)-HIS6), F023701192 (1PD102C12 (E1D,L11V,A14P,W52aV,N73Q,A74S,K83R,I89L,W100aF)-HIS6, 또는 F023701193 (1PD102C12 (E1D,L11V,A14P,W52aV,N73P,A74S,K83R,I89L,W100aF)-HIS6)에 의한 인간 PD-L1-Fc와 인간 PD1을 발현하는 CHO-K1 간의 결합의 차단; (h) F023700929 (1PD102C12 (L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-HIS6), F023701190 (1PD102C12

(E1D,L11V,A14P,W52aV,A74S,K83R,I89L,W100aF)-HIS6), F023701192 (1PD102C12
 (E1D,L11V,A14P,W52aV,N73Q,A74S,K83R,I89L,W100aF)-HIS6, 또는 F023701193 (1PD102C12
 (E1D,L11V,A14P,W52aV,N73P,A74S,K83R,I89L,W100aF)-HIS6)에 의한 인간 PD-L2-Fc와 인간 PD1을 발현하는 CHO-
 K1 간의 결합의 차단. US=염색됨; hPD-L1 EC30=수득될 수 있었던 최대 염색 세기의 30%를 제공하도록 적정된
 hPD-L1-Fc의 염색 세기; GAH=hPD-L1-Fc의 인간 Fc 부분을 검출하기 위해 사용된 염소 항-인간 2차 항체.

도 10 (a-c). (a) F0237611B09-FLAG3-HIS6, F023700842-FLAG3-HIS6 또는 인간 LAG3-Fc; (b) F023700931 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700924 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700933 또는 F023700962, 인간 LAG3-Fc; 또는 (c) F023700924, F023700931 또는 F023700962 또는 인간 LAG3-Fc에 의한 다우디(Daudi) 세포에 대한 인간 LAG3-Fc 결합의 차단. 2차 단독=2차 항체 단독 (GAH/GAM).

도 11 (a-b). (a) F023700931; F023701016, F023701017, 대조군 나노바디 (IRR00085; 호흡기 합포체 바이러스 (RSV) 결합제), F023700933 또는 F023700962; 또는 (b) F023700924; F023700969, F023700970, 대조군 나노바디 (IRR00085), F023700933 또는 F023700962를 이용한 근접 검정 (베타-갈락토시다제 효소 단편 보완 검정 시스템).

도 12 (a-e). (a) F023700706 또는 대조군 나노바디 (IRR00043; C-말단 FLAG3-His6을 갖는 35GS 링커와 연결된 2개의 항-리소자임 나노바디), (b) F023700931 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700924 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700933, F023700962 또는 대조군 나노바디 (IRR00085 또는 IRR00087; RSV 결합제), (c) F023700924, F023700969, F023700970 또는 대조군 나노바디 (IRR00043), (d) F023700931, F023701016, F023701017 또는 대조군 나노바디 (IRR00043), 또는 (e) F023700706, F023701192 (1PD102C12 (E1D,L11V,A14P,W52aV,N73Q,A74S,K83R,I89L,W100aF)-HIS6, F023701193 (1PD102C12 (E1D,L11V,A14P,W52aV,N73P,A74S,K83R,I89L,W100aF)-HIS6 또는 대조군 나노바디 (IRR00088; RSV 결합제)에 의한 HSA의 존재 하에 Jurkat T-세포의 활성화 (IL2 프로모터와 작동가능하게 연결된 루시페라제의 발현).

도 13 (a-r). F023700931 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700924 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700933, F023700962 또는 대조군 나노바디를 이용한 경우, 공여자 (a) 91, (b) 985, (c) 907, (d) 91, (e) 985, (f) 907, (g) 91 (10 nM SEB 수반함), (h) 985 (10 nM SEB 수반함), (i) 907 (10 nM SEB 수반함), (j) 91 (25 nM SEB 수반함), (k) 985 (25 nM SEB 수반함), (l) 907 (25 nM SEB 수반함)로부터의 인간 말초혈 단핵구의 활성화 (IL2 생성); 또는 F023700931, F023700924 또는 대조군 나노바디를 이용한 경우, 공여자 (m) 91, (n) 985, (o) 907로부터의 인간 말초혈 단핵구의 활성화 (IL2 생성); 또는 F023700924, F023700969, F023700970을 이용한 경우, 공여자 (p) 91, (q) 985 또는 (r) 907로부터의 인간 말초혈 단핵구의 활성화 (IL2 생성).

도 14 (a-f). (a-c) 다양한 농도의 나노바디 F023700931 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700924 (피키아 또는 CHO 발현됨) 또는 F023700933 또는 대조군 항체에서의 인터페론-감마 생성; (d-f) 다양한 농도의 나노바디 F023700924, F023700969, F023700970, F023700931, F023701016 또는 F023701017 또는 대조군 나노바디에서의 인터페론-감마 생성을 결정하는 상이한 공여자로부터의 CD4 T-세포 및 수지상 세포의 혼합 림프구 검정.

도 15 (a-d). HSA의 존재 하에 및 (a) F023700656 (11B09 (E1D)), F023700842 또는 대조군 IgG4; (b) F023700931 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700924 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700933 또는 F023700962 또는 대조군 나노바디 (IRR00085 또는 IRR00087; RSV 결합제); (c) F023700924, F023700969, F023700970 또는 대조군 나노바디; (d) F023700931, F023701016, 또는 F023701017 또는 대조군 나노바디의 존재 하에 인간 LAG3을 발현하는 3A9 T-세포의 활성화 검정.

도 16 (a-b). (a) F023700931 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700924 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700933 또는 F023700862 [F023700892여야 하는가] 또는 대조군 나노바디 또는 (b) F023700924, F023700969, F023700970, F023700931, F023701016, F023701017, F023700933 또는 F023700962 또는 대조군 나노바디의 존재 하에 인간 LAG3 및 인간 PD1을 발현하는 Jurkat T-세포 및 Raji 항원 제시 세포의 활성화.

도 17 (a-c). 다양한 농도의 (a) F023700931 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700924 (피키아 또는 CHO 발현됨), F023700933 또는 F023700962 또는 대조군 나노바디; (b) F023700924, F023700969, F023700970, F023700933 또는 F023700962 또는 대조군 나노바디; 또는 (c) F023700931, F023701016, F023701017, F023700933 또는 F023700962 또는 대조군 나노바디의 존재 하에 인간 PDL1을 발현하는 JY 세포의 존재 하에 인간 T-세포 클론 활성화 (인터페론-감마 생성).

도 18 (a-p). 본 발명의 서열.

도 19 (a-i). (a) 125초 및 (b) 360초에서의 건강한 인간 대상체 혈청에 의한; (c) 125초 또는 (d) 360초에서의 암 환자 혈청에 의한; 또는 (e) 흑색종, (f) 비소세포 폐암 (NSCLC), (g) 두경부암, (h) 위암 또는 (i) 결장직장암을 앓고 있는 환자의 혈청에 의한 F023700924 및 F023700931 및 3가 대조군 나노바디 T013700112 (선제하는 항체 결합을 저하시키는 돌연변이가 결합됨)에 대한 혈청 프리Ab 반응성.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0059] 본 발명은 ISVD 내의 네오-에피토프에 대한 선제하는 항체 (프리-항체)의 반응성을 차단하는 돌연변이를 포함하는 ISVD를 제공한다. 네오에피토프는 특정 단백질이 돌연변이되거나 (예를 들어, 말단절단되거나) 또는 그의 폴딩이 변경될 때 밝혀지는 상기 단백질 내의 에피토프이다. 선제하는 항체는 ISVD를 받기 전에 환자의 체내에 존재하는 항체이다. 본 발명의 ISVD는, 부분적으로, 그의 C-말단 불변 도메인이 제거되었으므로; 이로써 생성되는 VHH의 C-말단 내의 네오에피토프가 프리-항체 결합에 노출되는 라마 항체에 근거한다. 잔기 11의 돌연변이와 89의 돌연변이의 조합 (예를 들어, L11V와 I89L 또는 V89L)이 프리-항체 결합의 놀라운 결여를 초래하였다는 사실이 밝혀졌다. 잔기 112 내의 돌연변이가 또한, 프리-항체 결합을 현저하게 저하시킨 것으로 밝혀졌다. 부이세(Buyse) & 부통(Boutton) (WO2015/173325)은 L11V와 V89L 돌연변이의 조합이 L11V 돌연변이 단독 또는 V89L 돌연변이 단독과 비교해서 프리-항체 결합을 저하시키는데 있어서 현저한 개선을 제공하였다는 것을 보여주는 데이터를 포함하였다. 예를 들어, 97면의 부이세 & 부통의 표 H는 V89L 돌연변이 단독을 수반한 ISVD (C-말단 연장을 수반하거나 또는 수반하지 않음); 및 V89L 돌연변이를 L11V 돌연변이와 조합하여 수반한 동일한 ISVD (또한, C-말단 연장을 수반하거나 또는 수반하지 않음)에 대한 비교되는 데이터를 나타내었다. 또한, 2개의 별도의 실험에서 생성되긴 하였지만, (동일한 ISVD에서) L11V 돌연변이 단독에 대하여 표 B에 제공된 데이터와 비교해서 L11V/V89L 조합에 대하여 표 H에 나타난 데이터는, L11V/V89L 조합에 의해 획득되는 프리-항체 결합 저하가 L11V 돌연변이 단독에 대한 것보다 더 컸다는 것을 보여주었다. 라마 항체 스캐폴드 구조가 매우 고도로 보존되는 것으로 공지되기 때문에, 위치 11 및 89에서의 돌연변이의 효과는 어떠한 ISVD에 대해서도 존재할 가능성이 매우 높다. 실제로, 그러한 효과는 건강한 대상체 및 암을 앓고 있는 대상체에서 매우 낮은 수준의 프리-항체 결합을 나타내는 것으로 밝혀진 본 발명의 결합체인 F023700924 및 F023700931을 사용한 경우에도 19에서 입증되었다.

[0060] 본 출원에서, 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인 내의 아미노산 잔기/위치는 카바트에 따르는 넘버링으로 표시될 것이다. 편의상, 도 1은 본원에 구체적으로 지칭될 일부 아미노산 위치 및 일부 대체 넘버링 시스템 (예컨대 Aho 및 IMGT)에 따르는 그들의 넘버링을 열거한 표를 제공한다. 이러한 점이 또한 본원에 추가로 논의된다.

[0061] 관련 기술분야에 널리 공지되어 있는 바와 같이, CDR과 관련해서는, VH 또는 VHH 단편의 CDR을 정의하고 설명하기 위한 여러 규칙, 예컨대 카바트 정의 (이는 서열 가변성에 근거하고 가장 흔하게 사용되고 있음) 및 코티아 (Chothia) 정의 (이는 구조적 루프 영역의 위치에 근거함)가 있다. 예를 들어, 웹사이트 www.bioinf.org.uk/abs/를 참조할 수 있다. 본 명세서 및 청구범위의 목적상, 카바트에 따르는 CDR이 또한 언급될 수 있다 하더라도, CDR은 Abm 정의 [이는 옥스포드 몰레큘라(Oxford Molecular)의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에 근거한다]을 기준으로 하여 가장 바람직하게 정의되며, 이는 카바트 정의와 코티아 정의 간의 최적의 절충안인 것으로 간주되기 때문이다. 또한 웹사이트 www.bioinf.org.uk/abs/를 참조할 수 있다. 문헌 [Sequences of Proteins of Immunological Interest, Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32:1-75; Kabat, et al., (1977) J. Biol. Chem. 252:6609-6616; Chothia, et al., (1987) J Mol. Biol. 196:901-917 or Chothia, et al., (1989) Nature 342:878-883; Chothia & Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917; Elvin A. Kabat, Tai Te Wu, Carl Foeller, Harold M. Perry, Kay S. Gottesman (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest; Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. In: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg)]을 참조한다. 본 발명의 한 실시양태에서, CDR 결정은 카바트에 따르며, 예를 들어, 여기서 VHH의 FR1은 위치 1-30에서의 아미노산 잔기를 포함하고, VHH의 CDR1은 위치 31-35에서의 아미노산 잔기를 포함하며, VHH의 FR2는 위치 36-49에서의 아미노산을 포함하고, VHH의 CDR2는 위치 50-65에서의 아미노산 잔기를 포함하며, VHH의 FR3은 위치 66-94에서의 아미노산 잔기를 포함하고, VHH의 CDR3은 위치 95-102에서의 아미노산 잔기를 포함하며, VHH의 FR4는 위치 103-113에서의 아미노산 잔기를 포함한다.

[0062] 본 발명의 한 실시양태에서, CDR은 콘테르만(Kontermann) 및 두에벨(Duebel)에 따라서 결정된다 (Eds., Antibody Engineering, vol 2, Springer Verlag Heidelberg Berlin, Martin, Chapter 3, pp. 33-51, 2010).

- [0063] 용어 "이뮤노글로불린 단일 가변 도메인" ("ISV" 또는 "ISVD"로서 지칭되기도 함)은 일반적으로, 또 다른 가변 도메인과의 상호 작용 없이 (예를 들어, 통상적인 4-쇄 모노클로날 항체의 VH 도메인과 VL 도메인 간에 요구되는 바와 같은 VH/VL 상호 작용을 수반하지 않음) 기능적 항원 결합 부위를 형성할 수 있는 이뮤노글로불린 가변 도메인 (이는 VH, VHH 또는 VL 도메인을 포함한 중쇄 또는 경쇄 도메인일 수 있음)을 지칭하기 위해 사용된다. ISVD의 예는 통상의 기술자에게 명백할 것이고, 예를 들어 나노바디 (VHH, 인간화 VHH 및/또는 카멜화 VH, 예컨대 카멜화 인간 VH 포함), IgNAR 도메인, VH 도메인이거나 또는 VH 도메인으로부터 유래되는 (단일 도메인) 항체 (예컨대 dAbs™) 및 VL 도메인이거나 또는 VL 도메인으로부터 유래되는 (단일 도메인) 항체 (예컨대 dAbs™)를 포함한다. 중쇄 가변 도메인 (예컨대 VH 또는 VHH 도메인)에 근거하고/거나 이로부터 유래되는 ISVD가 일반적으로 바람직하다. 가장 바람직하게, ISVD는 나노바디일 것이다.
- [0064] 용어 "나노바디"는 일반적으로, WO 08/020079 또는 WO 09/138519에서 정의된 바와 같으므로, 구체적 측면에서 일반적으로, VHH, 인간화 VHH 또는 카멜화 VH (예컨대 카멜화 인간 VH)를 의미하거나 또는 일반적으로 서열 최적화된 VHH (예컨대 예를 들어, 화학적 안정성 및/또는 용해도, 공지된 인간 프레임워크 영역과의 최대 중복 및 최대 발현을 위해 최적화됨)를 의미한다. 용어 나노바디(들)는 아블링스 엔.브이.(Ablynx N.V.)의 등록된 상표 명이므로 나노바디(들)®로서 지칭될 수도 있다는 것에 주목해야 한다. ISVD의 한 예는 102C12 (E1D, L11V, A14P, A74S, K83R, I89L)이다. 다른 ISVD가 또한, 본원의 표 A 및 C에 나타난다.
- [0065] 다중특이적 결합제 (예를 들어, 다중특이적 ISVD)는 예를 들어, 제1 PD1 또는 LAG3 결합 모이어티 (예를 들어, ISVD 또는 나노바디), 및 제1 PD1 또는 LAG3 결합 모이어티의 것 이외의 에피토프 (예를 들어, CTLA4, CD27 및/또는 BTLA)에 결합하는 1개 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5개)의 부가 결합 모이어티 (예를 들어, ISVD 또는 나노바디)를 포함하는; 예를 들어, PD1 또는 LAG3 결합 모이어티와 CTLA4 결합 모이어티; PD1 또는 LAG3 결합 모이어티와 BTLA 결합 모이어티; 1개 또는 2개의 PD1 결합 모이어티와 1개 또는 2개의 LAG3 결합 모이어티 및 인간 혈청 알부민 결합 모이어티; 또는 PD1 결합 모이어티, LAG3 결합 모이어티 및 BTLA 결합 모이어티를 포함하는 분자이다. 다중특이적 결합제는, 예를 들어, F023700931 또는 F023700899이다.
- [0066] 결합 모이어티 또는 결합 도메인 또는 결합 단위는 항원에 결합하는 분자, 예컨대 ISVD 또는 나노바디이다. 결합 모이어티 또는 결합 도메인 또는 결합 단위는 2개 이상의 모이어티, 도메인 또는 단위를 포함하고/거나 또 다른 기능적 요소, 예컨대, 예를 들어, 반감기 연장제 (HLE), 표적화 단위 및/또는 작은 분자, 예컨대 폴리에틸렌글리콜 (PEG)을 포함하는 보다 큰 분자, 예컨대 다가 또는 다중특이적 이뮤노글로불린의 일부일 수 있다.
- [0067] 1가 PD1 또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 단일 항원-결합 도메인을 포함하는 분자이다. 2가 PD1 또는 LAG3 결합제는 2개의 항원-결합 도메인 (예를 들어, 이중특이적 항체를 포함한 통상적인 항체)을 포함한다. 다가 PD1 또는 LAG3 결합제는 2개 이상의 항원-결합 도메인을 포함한다.
- [0068] 단일특이적 PD1 또는 LAG3 결합제는 단일 항원에 결합하고; 이중특이적 PD1 또는 LAG3 결합제는 2개의 상이한 항원에 결합하며 다중특이적 PD1 또는 LAG3 결합제는 2개 이상의 항원에 결합한다.
- [0069] 이중과라토프 PD1 또는 LAG3 결합제는 단일특이적이지만, 동일한 항원의 2개의 상이한 에피토프에 결합한다. 다중과라토프 PD1 또는 LAG3 결합제는 동일한 항원에 결합하지만, 이러한 항원 내의 2개 이상의 에피토프에 결합한다.
- [0070] PD1 및/또는 LAG3 결합제 또는 ISVD, 나노바디, ISVD-기반 생물학적 체제, 나노바디-기반 생물학적 체제 또는 본원에 지칭된 임의의 다른 폴리펩티드와 관련하여 본원에 사용된 바와 같은 용어 "반감기"는 일반적으로, WO 08/020079의 57면 상의 단락 o)에 기재된 바와 같이 정의될 수 있으며, 거기에 언급된 바와 같이 이는, 예를 들어 폴리펩티드의 분해 및/또는 자연 기전에 의한 상기 폴리펩티드의 클리어런스 또는 격리로 인해, 생체내에서 폴리펩티드의 혈청 농도가 50%만큼 감소되는데 소요되는 시간을 지칭한다. 본 발명의 폴리펩티드의 생체내 반감기는 자체 공지된 임의의 방식, 예컨대 약동학적 분석에 의해 결정될 수 있다. 적합한 기술은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이고, 예를 들어 일반적으로, WO 08/020079의 57면 상의 단락 o)에 기재된 바와 같을 수 있다. 또한 WO 08/020079의 57면 상의 단락 o)에 언급된 바와 같이, 반감기는 파라미터, 예컨대 $t_{1/2}$ -알파, $t_{1/2}$ -베타 및 곡선 아래 면적 (AUC)을 사용하여 표현될 수 있다. 이와 관련하여, 본원에 사용된 바와 같은 용어 "반감기"는 특히, $t_{1/2}$ -베타 또는 말단 반감기 (여기서는 $t_{1/2}$ -알파 및/또는 AUC 또는 둘 다가 고려되지 않을 수도 있음)를 지칭한다는 것에 주목해야 한다. 예를 들어 아래 실험 파트 뿐만 아니라 표준 핸드북, 예컨대 문헌 [Kenneth, A et al: Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists and Peters et al., Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach (1996)]을 참조할 수 있다. 또한 문헌 ["Pharmacokinetics", M Gibaldi & D Perron, published by Marcel Dekker, 2nd Rev. edition (1982)]을 참조

할 수 있다. 유사하게, WO 08/020079의 57면 상의 단락 o)에 또한 정의된 바와 같은 용어 "반감기 상의 증가" 또는 "증가된 반감기"는 특히, $t_{1/2}$ -알파 및/또는 AUC 또는 둘 다 상의 증가를 수반하거나 또는 수반하지 않으면서 $t_{1/2}$ -베타 상의 증가를 지칭한다.

- [0071] 특정 용어가 본원에 구체적으로 정의되지 않은 경우, 이는 통상의 기술자에게 명백할, 관련 기술분야에서의 통상적인 의미를 갖는다. 예를 들어, 표준 핸드북, 예컨대 문헌 [Sambrook et al., "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" (2nd.Ed.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); F. Ausubel et al., eds., "Current protocols in molecular biology", Green Publishing and Wiley Interscience, New York (1987); Lewin, "Genes II", John Wiley & Sons, New York, N.Y., (1985); Old et al., "Principles of Gene Manipulation: An Introduction to Genetic Engineering", 2nd edition, University of California Press, Berkeley, CA (1981); Roitt et al., "Immunology" (6th. Ed.), Mosby/Elsevier, Edinburgh (2001); Roitt et al., Roitt's Essential Immunology, 10th Ed. Blackwell Publishing, UK (2001); and Janeway et al., "Immunobiology" (6th Ed.), Garland Science Publishing/Churchill Livingstone, New York (2005)] 및 이에 인용된 일반적 배경 분야를 참조할 수 있다.
- [0072] 하나 이상의 나노바디를 함유하는 다가 및 다중특이적 폴리펩티드 및 그의 제조의 일반적 설명에 관해서는, 문헌 [Conrath et al., J. Biol. Chem., Vol. 276, 10. 7346-7350, 2001; Muyldermans, Reviews in Molecular Biotechnology 74 (2001), 277-302]; 뿐만 아니라, 예를 들어 WO 96/34103, WO 99/23221, WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 또는 WO 2009/068627을 참조할 수 있다.
- [0073] "단리된" PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디), 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드 및 벡터는 그들이 생산되는 세포 또는 세포 배양물로부터의 다른 생물학적 분자가 적어도 부분적으로 없다. 이러한 생물학적 분자는 핵산, 단백질, 지질, 탄수화물, 또는 다른 물질, 예컨대 세포성 부스러기 및 성장 배지를 포함한다. "단리된" PD1 및/또는 LAG3 결합제는 추가로, 숙주 세포로부터의 발현 시스템 성분, 예컨대 생물학적 분자 또는 그의 성장 배지가 적어도 부분적으로 없을 수 있다. 일반적으로, 용어 "단리된"은 이러한 생물학적 분자의 완전한 부재 또는 물, 완충제 또는 염의 부재 또는 항체 또는 단편을 포함하는 제약 제형의 성분을 지칭하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0074] "제어 서열"이란 특정한 숙주 유기체 내에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 원핵 생물에 적합한 제어 서열은, 예를 들어, 프로모터, 임의적으로 작동인자 서열, 및 리보솜 결합 부위를 포함한다. 진핵 세포는 프로모터, 폴리아데닐화 신호, 및 증강인자를 사용하는 것으로 공지되어 있다.
- [0075] 핵산 또는 폴리뉴클레오티드는 그것이 또 다른 폴리뉴클레오티드와 기능적 관계로 놓여질 때 "작동가능하게 연결된다". 예를 들어, 프리서열 또는 분비 리더에 대한 DNA는 그것이 특정 폴리펩티드의 분비에 참여하는 프리 단백질로서 발현되는 경우에 상기 폴리펩티드에 대한 DNA와 작동가능하게 연결되거나; 프로모터 또는 증강인자는 그것이 코딩 서열의 전사에 영향을 미치는 경우에 이러한 서열과 작동가능하게 연결되거나; 또는 리보솜 결합 부위는 그것이 번역을 촉진시키도록 위치 설정되는 경우에 코딩 서열과 작동가능하게 연결된다. 항상은 아니지만 일반적으로, "작동가능하게 연결된"이란 연결되는 DNA 서열이 연속되고, 분비 리더의 경우에는, 연속되고 판독 상 내에 있다는 것을 의미한다. 그러나, 증강인자는 연속되지 않아도 된다. 연결은 편리한 제한 부위에서의 라이게이션에 의해 달성된다. 이러한 부위가 존재하지 않는 경우, 합성 올리고뉴클레오티드 적응인자 또는 링커가 통상적인 실시예 따라서 사용된다. 본 발명은, 임의적으로, 하나 이상의 제어 서열, 예컨대 프로모터와 작동가능하게 연결되는 PD1 및/또는 LAG3 결합제를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0076] "PD1 및/또는 LAG3" 결합제는
- [0077] - PD1 결합제; 또는
- [0078] - LAG3 결합제; 또는
- [0079] - PD1 결합제와 LAG3 결합제 둘 다 (즉, "PD1/LAG3 결합제")
- [0080] 를 포함하는 결합제, 및 임의적으로, 예를 들어, 인간 혈청 알부민에 결합하는 또 다른 결합제를 지칭한다. 본 발명의 한 실시양태에서, PD1/LAG 결합제는 본원에 제시된 바와 같은 하기이다:
- [0081] · 102C12 (E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-35GS-11B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-35GS-ALB11002-A; 또는

- [0082] · 102C12 (E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-35GS-102C12 (L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-35GS-11B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-35GS-11B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-35GS-ALB11002-A
- [0083] 본원에서의 F023700924 또는 F023700931을 참조한다. PD1/LAG3 결합체는 PD1 결합체 및 LAG3 결합체를 포함한다.
- [0084] 본 발명의 범위는 도 18 (a-p)에 제시된 임의의 PD1 결합체 (또는 이러한 PD1 결합체의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 임의의 PD1 결합체), 도 18 (a-p)에 제시된 임의의 LAG3 결합체 (또는 이러한 LAG3 결합체의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 임의의 LAG3 결합체) 또는 도 18 (a-p)에 제시된 임의의 PD1/LAG3 결합체 또는 그의 PD1 결합 모이어티 및/또는 LAG3 결합 모이어티의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 임의의 PD1/LAG3 결합체를 포함한다. 도 18 (a-p)에 제시된 결합체는 본 발명의 한 실시양태에서, C-말단 연장체 (예를 들어, A), 그 안에서 FLAG 및/또는 HIS 태그 (예를 들어, HHHHHH (서열식별번호: 68의 아미노산 29-34); AAAHHHHHH (서열식별번호: 69); 또는 AAADYKDHGDYKDHDIYKDDDDKGAHHHHHHH (서열식별번호: 68))를 포함하지 않는다. 임의의 이러한 결합체 또는 CDR은 실시양태에서, 도 18 (a-p)에 제시되는 것의 변이체일 수 있으며, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 점 돌연변이 (예를 들어, 보존적 치환 또는 결실)를 포함한다.
- [0085] 일반적으로, 기본 항체 구조 단위는 사량체를 포함한다. 각각의 사량체는 폴리펩티드 쇠의 2개의 동일한 쌍을 포함하며, 각각의 쌍은 하나의 "경쇄" (약 25 kDa) 및 하나의 "중쇄" (약 50-70 kDa)를 갖는다. 각각의 쇠의 아미노-말단 부분은 주로 항원 인식에 대해 책임이 있는 약 100개 내지 110개 또는 그 초과 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 중쇄의 카르복시-말단 부분은 주로 이펙터 기능에 대해 책임이 있는 불변 영역을 규정할 수 있다. 전형적으로, 인간 경쇄는 카파 및 람다 경쇄로서 분류된다. 더욱이, 인간 중쇄는 전형적으로, 뮤, 델타, 감마, 알파, 또는 엡실론으로서 분류되고, 항체의 이소형을 IgM, IgD, IgG, IgA, 및 IgE로서 각각 규정한다. 경쇄 및 중쇄 내에서, 가변 영역과 불변 영역은 약 12개 이상의 아미노산의 "J" 영역에 의해 연결되며, 중쇄는 또한 약 10개 이상의 아미노산의 "D" 영역을 포함한다. 일반적으로, 문헌 [Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))]을 참조한다.
- [0086] 항원 결합 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂, 및 Fv 단편, 및 단일 쇠 Fv 분자를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0087] "PD1 결합체" 또는 "PD1 ISVD" 또는 "PD1 나노바디"는 PD1에 결합하는 결합체 또는 ISVD 또는 나노바디를 각각 지칭한다. LAG3 또는 CTLA4 또는 또 다른 항원에 결합하는 분자에 대하여 유사한 규칙이 적용될 수 있다.
- [0088] 하기 특성이 PD1 결합체 102C12에서의 표시된 돌연변이:
- [0089] E1D: 구조물 E1의 첫 번째 아미노산 내에서의 피로글루타민산 형성의 방지
- [0090] L11V: 프리-항체 결합의 감소
- [0091] A14P: 인간화
- [0092] W52aV: W52a의 산화의 방지
- [0093] N73P: N73 탈아미드화의 방지
- [0094] N73Q: N73 탈아미드화의 방지
- [0095] N73S: N73 탈아미드화의 방지
- [0096] A74S: 인간화
- [0097] K83R: 인간화
- [0098] I89L: 프리-항체 결합의 감소
- [0099] W100aF: W100a의 산화의 방지;
- [0100] 또는 LAG3 결합체 11B09에서의 표시된 돌연변이:
- [0101] L11V: 프리-항체 결합의 감소
- [0102] A14P: 인간화

- [0103] R41P: 인간화
- [0104] N43K: 인간화
- [0105] A62S: 인간화
- [0106] A74S: 인간화
- [0107] K83R: 인간화
- [0108] V89L: 프리-항체 결합의 감소
- [0109] 와 연관된다.
- [0110] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1은 인간 PD1이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 인간 PD1는 하기 아미노산 서열을 포함한다:
- [0111] MQIPQAPWPV VWAFLQLGWR PGWFLDSPDR PWNPTFSPA LLVVTEGDNA
- [0112] TFTCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCRFRTQL
- [0113] PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAI SLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE
- [0114] VPTAHPSPPS RPAGQFQLTV VGVVGGLLGS LVLVWVLA V ICSRAARGTI
- [0115] GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT
- [0116] IVFPSMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL
- [0117] (서열식별번호: 137).
- [0118] 본 발명의 한 실시양태에서, LAG3은 인간 LAG3이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 인간 LAG3은 하기 아미노산 서열을 포함한다:
- [0119] MWEAQFLGLL FLQPLWVAPV KPLQPGAQEVV VWAQEGAPA QLPCSPTIPL QDLSLLRRAG
- [0120] VTWQHQPDSG PPAAPGHPL APGPHPAAPS SWGPRPRRYT VLSVPGGLR SGRPLQPRV
- [0121] QLDERGRQRG DFSLWLRPAR RADAGEYRAA VHLRDRALSC RLRLRLGQAS MTASPPGSLR
- [0122] ASDWVILNCS FSRPDRPASV HWFRNRGQGR VVRESPPHHH LAESFLFLPQ VSPMDSGPWG
- [0123] CILTYRDGFN VSIMYNLTVL GLEPPTPLTV YAGAGSRVGL PCRLPAGVGT RSFLTAKWTP
- [0124] PGGGPDLLVT GDNGDFTLRL EDVSAQAGT YTCHIHLEQEQ QLNATVTLAI ITVTPKSFSGS
- [0125] PGSGLKLLCE VTPVSGQERF VWSSLDTPSQ RSFSGPWLEA QEAQLLSQPW QCQLYQGERL
- [0126] LGAAYFTEL SSPGAQRSGR APGALPAGHL LLFLILGVLS LLLLVTGAFG FHLWRRQWRP
- [0127] RRFSALEQGI HPPQAQSKIE ELEQEPEPEP EPEPEPEPEP EPEQL
- [0128] (서열식별번호: 138).
- [0129] **PD1 결합제**
- [0130] 본 발명은 개선된 PD1 결합제, 예를 들어, 개선된 PD1 ISVD 및 보다 특히 개선된 PD1 나노바디를 제공한다. 본 발명에 의해 제공된 개선된 PD1 결합제가 "본 발명의 PD1 결합제" 또는 "PD1 결합제"로서 본원에 지칭되기도 한다.
- [0131] 본원에서 논의된 바와 같이, 본 발명의 1가 PD1 결합제는 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열을 포함할 것이지만, 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 또는 112 (또는 본 발명의 PD1 결합제에 관해서 본원에 제시된 돌연변이 위치 중 임의의 것)에서의 하나 이상의 돌연변이를 포함할 것이다.
- [0132] 본원에서 논의된 바와 같이, 예를 들어, LAG3을 포함하는 다중특이적 PD1 결합제는 아래 표 A-1 및 A-2에 제시된 PD1 결합제 (예를 들어, 102C12 또는 참조 A) 내에 있는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한 PD1 결합 모이어티를 포함할 것이다. 임의적으로, 다중특이적 결합제의 PD1 결합 모이어티는 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산을

포함하지만, 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 또는 112에서의 하나 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0133] 본 발명은 개선된 PD1 결합제, 예를 들어, 개선된 PD1 ISVD 및 보다 특히 개선된 PD1 나노바디를 제공한다. 본 발명의 PD1 결합제는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서 돌연변이된 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드의 변이체인 폴리펩티드를 포함한다. 본 발명에 의해 제공된 개선된 PD1 결합제가 "본 발명의 PD1 결합제" 또는 "PD1 결합제"로서 본원에 지칭되기도 한다. 이들 용어는 PD1에 결합하는 임의의 분자를 포괄하고 본원에 제시되는 PD1에 결합하는 분자 중 임의의 것을 포함한다. 예를 들어, 상기 용어는 서열식별번호: 9-40 및 57로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 ISVD 뿐만 아니라 서열식별번호: 9-40 및 57로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 임의의 통상적인 항체 또는 그의 항원 결합 단편; 서열식별번호: 9-40 및 57로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, PD1에 결합하며 또한 또 다른 항원, 예컨대 PD1의 상이한 에피토프, CD27, LAG3, CTLA4, BTLA, TIM3, ICOS, B7-H3, B7-H4, CD137, GITR, PD-L1, PD-L2, ILT1, ILT2, CEACAM1, CEACAM5, TIM3, TIGIT, VISTA, ILT3, ILT4, ILT5, ILT6, ILT7, ILT8, CD40, OX40, CD137, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, NKG2A, NKG2C, NKG2E, IL-10, IL-17, TSLP에 결합하는, 예를 들어, PD1 결합 모이어티와 CTLA4 결합 모이어티; PD1 결합 모이어티와 BTLA 결합 모이어티; PD1 결합 모이어티와 LAG3 결합 모이어티; 또는 PD1 결합 모이어티, LAG3 결합 모이어티 및 BTLA 결합 모이어티를 포함하는 다중특이적 이뮤노글로불린, 예컨대 이중특이적 이뮤노글로불린 (예를 들어, ISVD)을 포함한다. 다가 PD1 결합제는 2개 이상의 항원 결합 도메인, 예를 들어 2개 이상의 ISVD (그 중 1개 이상이 PD1에 결합함)를 포함한다. 단일특이적 PD1 결합제는 단일 항원 (PD1)에 결합하고; 이중특이적 PD1 결합제는 2개의 상이한 항원 (그 중 1개가 PD1임)에 결합하며; 다중특이적 PD1 결합제는 2개 이상의 항원 (그 중 1개 이상이 PD1이고 1개 이상이 상이한 항원임)에 결합한다. 예를 들어, 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 결합제는 서열식별번호: 106-124로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0134] 보다 특히, 본 발명은 102C12 및 참조 A의 변이체이고 일부 건강한 인간 대상체 뿐만 아니라 환자로부터의 혈청에 존재할 수도 있는 간섭 요인 (일반적으로 "선재하는 항체"로서 지칭됨)에 의한 결합을 저하시킨 개선된 PD1 결합제를 제공하는 것으로 목적으로 한다. WO 12/175741, WO 2013/024059 및 또한 예를 들어, 문헌 [Holland et al. (J. Clin. Immunol. 2013, 33(7):1192-203)] 뿐만 아니라 PCT 출원 PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)을 참조한다.

[0135] 본원에 추가로 기재되는 바와 같이, 본 발명의 PD1 결합제는 바람직하게, 102C12 또는 참조 A에 존재하는 바와 동일한 CDR (즉, CDR1, CDR2 및 CDR3)의 조합을 갖는다. WO 2008/071447에는 PD1에 결합할 수 있는 나노바디 및 그의 용도가 기재되어 있다. WO 2008/071447의 서열식별번호: 348은 102C12로 지칭되는 PD-1 특이적 나노바디를 개시하였으며, 그의 서열이 서열식별번호: 1로서 본원에 제공된다. 또한, 인간화 Q108L 치환을 수반한 102C12의 변이체 ("참조 A"로서 본원에 지칭되기도 함)가 참조 화합물로서 본원에 사용되고, 그의 서열이 서열식별번호: 2로서 본원에 제공된다. 본 발명은 위치 108에서의 돌연변이, 예를 들어, Q108L을 포함하는 PD1 결합제를 포함한다.

[0136] 본 발명은 102C12의 변이체인 PD1 결합제; 및 아래 표 A-2에 제시되는 102C12의 상기 변이체를 포함하는 PD1/LAG3 결합제를 포함한다. 본 발명의 범위는 아래 표 A-2에 제시된 상기 변이체의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 PD1 결합제 뿐만 아니라 아래 표 A-2에 제시된 상기 변이체의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 PD1 결합 모이어티를 포함하는 PD1/LAG3 결합제를 포함한다.

[0137] 표 A-1. PD1 결합제 102C12.

SEQ ID NO	설명	서열
1	WO 2008/071447, SEQ ID NO: 348 (102C12) (“1PD102C12”로서 본원에 지칭될 수 있음)	<p>EVQLVESGGGLVQAGGSLRSLSCAAS<u>SGSIASIHAMG</u>WFRQAPGKEREFVA<u>VITW</u> <u>SGGITYYADSVKGRFTISRDN</u>AKNTVYLQMNSLKPEDTAIYYCAGD<u>DKHQSSWY</u> <u>DYWGQGTQ</u>VTVSS</p>
2	참조 A	<p>EVQLVESGGGLVQAGGSLRSLSCAAS<u>SGSIASIHAMG</u>WFRQAPGKEREFVA<u>VITW</u> <u>SGGITYYADSVKGRFTISRDN</u>AKNTVYLQMNSLKPEDTAIYYCAGD<u>DKHQSSWY</u> <u>DYWGQGT</u>LTVSS</p>

[0138]

[0139]

표 A-2. 서열 최적화된 변이체 102C12 PD1 결합체 (HSA 결합체와 임의적으로 융합됨)

SO 1PD102C12 단량체 102C12 (E1D, L11V, A14P, A74S, K83R, I89L) 표적: hPD-1 SEQ ID NO: 57	DVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAASGSIAS <u>IHAMG</u> WFRQA PGKERE F VAY <u>ITWSSGGITYY</u> ADSVKGRFTI SRD N SKNTVY LQMNSLRPED TALYYCAG <u>DK</u> <u>HQSSWYDY</u> WG QGTLVTVSS	
SEQ ID NO: 3	PD1 결합체 CDR1 (카바트)	<u>IHAMG</u>
SEQ ID NO: 4	PD1 결합체 CDR2 (카바트)	<u>VITXSSGGITYYADSVKG</u> 여기서 X는 W 또는 V임 (예를 들어, VITWSSGGITYYADSVKG 또는 VITVSSGGITYYADSVKG)
SEQ ID NO: 5	PD1 결합체 CDR3 (카바트/Abm)	<u>DKHQSSXYDY</u> 여기서 X는 W 또는 F임 (예를 들어, DKHQSSWYDY 또는 DKHQSSFYDY)
SEQ ID NO: 6	PD1 결합체 CDR1 (Abm)	<u>GSIASIHAMG</u>
SEQ ID NO: 7	PD1 결합체 CDR2 (Abm)	<u>VITXSSGGITYY</u> 여기서 X는 W 또는 V임 (예를 들어, VITWSSGGITYY 또는 VITVSSGGITYY)
SEQ ID NO: 8	PD1 결합체 CDR3 (카바트/Abm)	<u>DKHQSSXYDY</u> 여기서 X는 W 또는 F임 (예를 들어, DKHQSSWYDY 또는 DKHQSSFYDY)

[0140]

	DKHQSSfYDY)
<p>명칭: F023700275</p> <p>설명: 1PD102C12 (A14P,A74S,K83R)</p> <p>표적: hPD-1</p> <p>SEQ ID NO: 98</p>	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITW SGGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWY DYWGQGTLLVTVSS</p>
<p>SO 1PD102C12 단량체</p> <p>명칭: F023700706 또는 F023700929</p> <p>설명: 1PD102C12 (L11V,A14P,A74S,K83R, I89L)</p> <p>표적: hPD-1</p> <p>SEQ ID NO: 99</p>	<p>EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITW SGGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWY DYWGQGTLLVTVSS</p>
<p>1가 SO 1PD102C12 + ALB11002</p> <p>명칭: F023701127</p> <p>설명: 1PD102C12 (E1D,L11V,A14P,A74S, K83R,I89L)-35GS- ALB11002-A</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITW SGGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWY DYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLV ESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLLV TVSSA</p>

[0141]

표적: hPD-1 SEQ ID NO: 101	
2가 SO 1PD102C12 + ALB11002 명칭: F023700933 설명: 1PD102C12 (E1D,L11V,A14P,A74S, K83R,I89L)-35GS- 1PD102C12(L11V,A14P ,A74S,K83R,I89L)- 35GS-ALB11002-A 표적: hPD-1 SEQ ID NO: 102	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS GSIASIHAMG WFRQAPGKEREFVA VITW SGGITYYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMN SLR PEDTALYYCAG DKHQSSWY DY WQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLV ESGGGVVQPGGSLRLSCAAS GSIASIHAMG WFRQAPGKEREFVA VITWSGGIT YYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMN SLR PEDTALYYCAG DKHQSSWYD YWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGG VVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN AKT TLYLQMN SLR PEDTALYYCTIGGSLRS SQ GLTVTVSSA
증강된 SO 1PD102C12 단량체 명칭: F023701190 설명: 1PD102C12(E1D,L11V, A14P,W52aV,A74S,K83 R,I89L,W100aF) 표적: hPD-1 SEQ ID NO: 103	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS GSIASIHAMG WFRQAPGKEREFVA VITV SGGITYYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMN SLR PEDTALYYCAG DKHQSSFY DY WQGTLVTVSS

[0142]

<p>* 임의로, F023701190은 N73X 돌연변이, 예컨대 N73S를 포함함</p>	
<p>증강된 SO 1PD102C12 단량체</p> <p>명칭: F023701192</p> <p>설명: 1PD102C12(E1D,L11V, A14P,W52aV,N73Q,A74 S,K83R,I89L,W100aF)</p> <p>표적: hPD-1</p> <p>SEQ ID NO: 104</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITV SGGITYYADSVKGRFTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTAIYYCAGDKHQSSFY DYWGQGTLVTVSS</p>
<p>증강된 SO 1PD102C12 단량체</p> <p>명칭: F023701193</p> <p>설명: 1PD102C12 (E1D,L11V,A14P,W52a V,N73P,A74S,K83R,I89 L,W100aF)</p> <p>표적: hPD-1</p> <p>SEQ ID NO: 105</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITV SGGITYYADSVKGRFTISRDPSKNTVYLQMNSLRPEDTAIYYCAGDKHQSSFY DYWGQGTLVTVSS</p>
<p>F023700641</p> <p>설명:</p>	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITW SGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAIYYCAGDKHQSSWY DYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGIT YYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAIYYCAGDKHQSSWYDYWGQ</p>

[0143]

<p>1PD102C12(A14P,A74S, K83R)-35GS- 1PD102C12(A14P,A74S, K83R)-35GS-ALB11002</p> <p>표적: hPD-1</p> <p>SEQ ID NO: 126</p>	<p>GTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGG LVQPGNSLRSLCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS</p>
<p>1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100aF)</p> <p>SEQ ID NO: 113의 아미노산 1-19</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRSLCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITV SGGITYYADSVKGRFTISRDPKNTVYLQMNLSRPEDTALYYCAGDKHQSSFY DYWGQGTLVTVSS</p>
<p>1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)</p> <p>SEQ ID NO: 117의 아미노산 1-19</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRSLCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITV SGGITYYADSVKGRFTISRDPKNTVYLQMNLSRPEDTALYYCAGDKHQSSFY DYWGQGTLVTVSS</p>
<p>1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)</p> <p>SEQ ID NO: 121의 아미노산 1-19</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRSLCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITV SGGITYYADSVKGRFTISRDPKNTVYLQMNLSRPEDTALYYCAGDKHQSSFY DYWGQGTLVTVSS</p>

[0144]

[0145]

*PD1 결합제 CDR: 강조되고/거나 볼드체.

[0146]

본 발명은 PD1 결합제가 상기 표 A-1 또는 A-2에 제시되는 PD1 결합제 (예를 들어, 서열식별번호: 57, 98, 99, 103, 104 또는 105) 내에 있는 CDR 중 1개, 2개 또는 3개를 포함하지만, 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5개 아미노산 치환, 예를 들어, 보존적 치환을 포함하고/거나 표 A-1 또는 A-2에 제시된 CDR 서열과 비교하여 100, 99, 98, 97, 96 또는 95% 서열 동일성을 포함하는 (여기서 이러한 CDR을 갖는 PD1 결합제는 PD1에 결합할 수 있는 능력을 보유하고 있음) 실시양태를 포함한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명의 PD1 결합제의 첫 번째 아미노산은 E이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명의 PD1 결합제의 첫 번째 아미노산은 D이다. 이러한 PD1/LAG3 결합제를 포함하는 PD1/LAG3 결합제가 본 발명의 일부이다.

[0147]

본 발명은 서열식별번호: 57, 98, 99, 103, 104 또는 105의 아미노산 서열; 또는 80% 이상 (예를 들어, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%)의 아미노산 서열 동일성 (즉, 완전한 아미노산 서열과 비교함)을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 임의의 PD1 결합제를 포함하며, 여기서 PD1 결합제는 PD1에 결합할 수 있는 능력을 보유하고, 임의적으로, HSA 결합제를 포함한다. 이러한 PD1/LAG3 결합제를 포함하는 PD1/LAG3 결합제가 본 발명의 일부이다.

[0148]

"102C12 (E1D, L11V, A14P, A74S, K83R, I89L)"로서 기재된 PD1 결합제는 102C12 (서열식별번호: 1) 또는 참조

A (서열식별번호: 2)의 서열을 갖지만, 이러한 서열이 돌연변이 E1D, L11V, A14P, A74S, K83R 및 I89L을 포함하는 결합체를 지칭한다. 이러한 표기법은 수종의 상이한 결합체에 관해서 본 명세서 전반에 걸쳐 사용된다. 예를 들어, "11B09 (L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L)"는 11B09 (서열식별번호: 64)의 아미노산 서열을 포함하지만, 이러한 서열이 돌연변이 L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R 및 V89L를 포함하는 LAG3 결합체를 지칭한다.

[0149] 표 A에 제시된 PD1 결합체의 특성의 잔기에 대한 카바트 잔기 번호가 하기 서열에 나타난다:

[0150] E₁VQLVESGGGL₁₁V₁₂Q₁₃A₁₄GGSLRLSCAASG₂₆S₂₇I₂₈A₂₉S₃₀IHAMGW₃₆F₃₇R₃₈Q₃₉AP₄₁GKERE₄₆F₄₇V₄₈A₄₉VITW_{52a}SGGITYYADSVKGR₆₆F₆₇T₆₈I₆₉S₇₀RDN₇₃A₇₄KNTVYLQM₈₂N_{82a}S_{82b}L_{82c}K₈₃P₈₄EDT₈₇A₈₈I₈₉Y₉₀Y₉₁CAGDKHQSSW_{100a}YDYW₁₀₃G₁₀₄Q₁₀₅G₁₀₆T₁₀₇L₁₀₈V₁₀₉T₁₁₀V₁₁₁S₁₁₂S₁₁₃ (서열식별번호: 2).

[0151] 102C12 (E1D, L11V, A14P, A74S, K83R, I89L)의 특성의 잔기에 대한 카바트 잔기 번호가 하기 서열에 나타난다:

[0152] D₁VQLVESGGG V₁₁VQP₁₄GGSLRL SCAASGSIAS IHAMGWFRQA PGKEREFVAV ITWSSGGITYY ADSVKGRFTI SRDNS₇₄KNTVYLQMN₈₃LR₈₃PED TAL₈₉YYCAGDK HQSSWYDYWG QGTLVTVSS

[0153] (서열식별번호: 57). 임의적으로, 잔기 1은 E이다.

[0154] 돌연변이는 본원에 지칭될 수 있고 상기 제시된 바와 같은 그의 카바트 번호에 의해 지명된다.

[0155] 본 발명의 일부 바람직하지만 비-제한적 PD1 결합체는 102C12 (E1D (임의적으로), L11V, A14P, A74S, K83R, I89L)이고, 서열식별번호: 9-40, 57, 98, 99 또는 101-105에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 도 2, 도 3 또는 도 18 (a-p)에 열거된다. 서열식별번호: 24 내지 40, 101 또는 102의 PD1 결합체는 C-말단 알라닌 연장, 즉 통상의 C-말단 서열 VTVSS (서열식별번호: 52; 참조 A에 존재하는 바와 같음)과 비교해서 ISVD-서열의 C-말단 단부 (종종 "위치 114"로서 지칭되기도 함)에 알라닌 잔기를 갖는 본 발명의 PD1 결합체의 예이다. 이러한 C-말단 알라닌 연장은 ISV의 C-말단 영역에 있는 추정상의 에피토프에 대한 소위 "선제하는 항체" (IgG인 것으로 추정됨)의 결합을 방지시킬 수 있다. 이러한 에피토프는 다른 잔기 중에서, C-말단 서열 VTVSS (서열식별번호: 52)의 표면-노출된 아미노산 잔기 뿐만 아니라 위치 14에서의 아미노산 잔기 (및 아미노산 서열 내의 상기 위치에서의 잔기에 후속한/인접한 아미노산 잔기, 예컨대 위치 11, 13 및 15)를 포함하는 것으로 추정되며, 또한 위치 83에서의 아미노산 잔기 (및 아미노산 서열 내의 상기 위치에서의 잔기에 후속한/인접한 아미노산 잔기, 예컨대 위치 82, 82a, 82b 및 84) 및/또는 위치 108에서의 아미노산 잔기 (및 아미노산 서열 내의 상기 위치에서의 잔기에 후속한/인접한 아미노산 잔기, 예컨대 위치 107)를 포함할 수 있다.

[0156] 그러나, 이러한 C-말단 알라닌 (또는 일반적으로 C-말단 연장)의 존재가 일정 범위의 대상체 (건강한 대상체와 의학적 병태 또는 질환이 있는 대상체 둘 다)로부터의 혈청에서 발견될 수 있는 "선제하는 항체"의 결합을 크게 저하시킬 수 있지만 (또는 일부 경우에, 본질적으로 완전히 방지시킬 수 있지만), 일부 대상체로부터의 혈청 (예컨대 일부 면역 질환, 예컨대 SLE 환자로부터의 혈청)은 ISV가 상기 C-말단 알라닌 (또는 보다 일반적으로, 상기 C-말단 연장)을 함유하는 경우일지라도 ISV의 C-말단 영역에 결합할 수 있는 (이러한 영역이 노출되는 경우) 선제하는 항체를 함유할 수 있는 것으로 밝혀졌다.

[0157] 따라서, 본 발명의 하나의 구체적인 목적은 "참조 A"로서 본원에 지칭된 PD1 나노바디의 개선된 변이체이고; 소위 "선제하는 항체" 및 특허 PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)에 기재된 종류 (즉, 심지어 C-말단 연장의 존재 하에서도 ISV의 노출된 C-말단 영역에 결합할 수 있는 선제하는 항체)에 의한 결합을 저하시킨 PD1 결합체를 제공하는 것이다.

[0158] 본 발명은 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 비교해서 하기 돌연변이 중 하나 이상을 포함하는, 서열식별번호: 1 또는 2의 서열의 변이체인 아미노산 서열을 포함하는 PD1 결합체를 제공한다:

- [0159] - 1D 또는 1E;
- [0160] - 11V;
- [0161] - 14P;
- [0162] - 52aV;

- [0163] - 73Q, 73P 또는 73S;
- [0164] - 74S;
- [0165] - 83R;
- [0166] - 89T 또는 89L;
- [0167] - 100aF;
- [0168] - 11V, 14P, 74S, 83R 및 89L과 조합한 1D 또는 1E;
- [0169] - 11V, 14P, 52aV, 73Q 또는 73S 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및 100aF와 조합한 1D;
- [0170] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및 100aF와 조합한 1E;
- [0171] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R 및 100aF, 및 임의적으로, 1D와 조합한 89L;
- [0172] - 11V와 조합한 89L;
- [0173] - 110K 또는 110Q와 조합한 89L;
- [0174] - 112K 또는 112Q와 조합한 89L;
- [0175] - 11V, 14P, 74S, 83R, 및, 임의적으로, 1D와 조합한 89L;
- [0176] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및 100aF 및 임의적으로, 1D와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0177] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및 100aF 및 임의적으로, 1D와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0178] - 11V 및 110K 또는 110Q와 조합한 89L;
- [0179] - 11V 및 112K 또는 112Q와 조합한 89L;
- [0180] - 110K 또는 110Q와 조합한 11V; 또는
- [0181] - 112K 또는 112Q와 조합한 11V.
- [0182] 특히, 본 발명에 의해 제공된 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 서열식별번호: 1 또는 2의 변이체를 포함하며, 여기서 본 발명의 한 실시양태에서:
- [0183] - 위치 1에서의 아미노산 잔기는 E 및 D로부터 선택되고/거나;
- [0184] - 위치 11에서의 아미노산 잔기는 L 및 V로부터 선택되고/거나;
- [0185] - 위치 14에서의 아미노산 잔기는 A 및 P로부터 선택되고/거나;
- [0186] - 위치 52a에서의 아미노산 잔기는 W 및 V로부터 선택되고/거나;
- [0187] - 위치 73에서의 아미노산 잔기는 N, S, P 및 Q로부터 선택되고/거나;
- [0188] - 위치 74에서의 아미노산 잔기는 A 또는 S로부터 선택되고/거나;
- [0189] - 위치 83에서의 아미노산 잔기는 K 또는 R로부터 선택되고/거나;
- [0190] - 위치 89에서의 아미노산 잔기는 T, V, I 또는 L로부터 선택되고/거나;
- [0191] - 위치 100a에서의 아미노산 잔기는 W 및 F로부터 선택되고/거나;
- [0192] - 위치 110에서의 아미노산 잔기는 T, K 또는 Q로부터 선택되고/거나;
- [0193] - 위치 112에서의 아미노산 잔기는 S, K 또는 Q로부터 선택되며;
- [0194] 예를 들어, 여기서 PD1 결합체는 하기 돌연변이 중 하나 이상을 포함하며,
- [0195] (i) 위치 1이 D 또는 E임;

- [0196] (ii) 위치 11이 V임;
- [0197] (iii) 위치 14가 P임;
- [0198] (iv) 위치 52a가 V임;
- [0199] (v) 위치 73이 P, S 또는 Q임;
- [0200] (vi) 위치 74가 S임;
- [0201] (vii) 위치 83이 R임;
- [0202] (viii) 위치 89가 T 또는 L임;
- [0203] (ix) 위치 100a가 F이며;
- [0204] 예를 들어, 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 비교하여 하기 돌연변이 세트를 포함한다:
- [0205] a. 위치 1이 D 또는 E이고, 위치 11이 V이고, 위치 14가 P이고, 위치 74가 S이고, 위치 83이 R이고; 위치 89가 L임;
- [0206] b. 위치 1이 D 또는 E이고, 위치 11이 V이고, 위치 14가 P이고, 위치 52a가 V이고; 위치 73이 S, P 또는 Q이고; 위치 74가 S이고, 위치 83이 R이고; 위치 89가 L이고; 위치 100a가 F임;
- [0207] c. 위치 89가 L이고 위치 11이 V임;
- [0208] d. 위치 89가 L이고 위치 110이 K 또는 Q임;
- [0209] e. 위치 89가 L이고 위치 112가 K 또는 Q임;
- [0210] f. 위치 1이 D 또는 E이고, 위치 11이 V이고, 위치 14가 P이고, 위치 52a가 V이고; 위치 73이 S, P 또는 Q이고; 위치 74가 S이고, 위치 83이 R이고; 위치 89가 L이고; 위치 100a가 F이고 위치 110이 K 또는 Q임;
- [0211] g. 위치 1이 D 또는 E이고, 위치 11이 V이고, 위치 14가 P이고, 위치 52a가 V이고; 위치 73이 S, P 또는 Q이고; 위치 74가 S이고, 위치 83이 R이고; 위치 89가 L이고; 위치 100a가 F이고 위치 112가 K 또는 Q임;
- [0212] h. 위치 89가 L이고 위치 11이 V이며 위치 110이 K 또는 Q임;
- [0213] i. 위치 89가 L이고 위치 11이 V이며 위치 112가 K 또는 Q임;
- [0214] j. 위치 11이 V이고 위치 110이 K 또는 Q임; 및/또는
- [0215] k. 위치 11이 V이고 위치 112가 K 또는 Q임.
- [0216] 특정한 실시양태에서, 위치 89가 T 또는 L임; 또는 1이 D 또는 E이고, 11이 V이고, 14가 P이고, 74가 S이고, 83이 R이고 89가 L이고; 또는 위치 11이 V이고 위치 89가 L인 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2의 변이체인 아미노산 서열 (임의적으로 110K 또는 110Q 돌연변이 및/또는 112K 또는 112Q 돌연변이와 적합히 조합하고, 특히 110K 또는 110Q 돌연변이와 조합함)을 포함하는 본 발명의 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)가 또한, 본 발명의 일부이다. 본 발명은 임의적으로 110K 또는 110Q 돌연변이와 조합한, 위치 11이 V이고 위치 89가 L인 아미노산 서열을 포함한다.
- [0217] 언급된 바와 같이, 본원에 기재된 본 발명에 의해 제공된 PD1 결합제는 PD-1에 결합할 수 있다 (특히, 이와 특이적으로 결합할 수 있음). 본 발명의 한 실시양태에서, 이는 PD1에 결합할 수 있고, PD1과 PD-L1 및/또는 PD-L2 간의 결합을 억제할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명의 PD1 결합제는 PD-1에 결합하고, T-세포 매개된 면역 반응의 PD-1 경로-매개된 억제로부터 T-세포를 방출시킨다 (예를 들어, 증식 및 시토퀴인 생성의 PD1 매개된 억제로부터 T-세포를 방출시킴으로써 이루어짐).
- [0218] 표 B에는 본 발명의 PD1 결합제 내의 위치 11, 89, 110 및 112에 존재할 수 있는 아미노산 잔기의 일부 비-제한적 가능한 조합이 열거된다.
- [0219] **표 B. 서열식별번호: 1 또는 2의 PD1 결합제 변이체 내의 아미노산 위치 11, 89, 110 및 112에서의 돌연변이의 가능한 조합.**

		위치						위치			
		11	89	110	112			11	89	110	112
조		L	T	T	S	조		V	T	T	S
		L	T	T	K			V	T	T	K
		L	T	T	Q			V	T	T	Q
		L	T	K	S			V	T	K	S
		L	T	Q	S			V	T	Q	S
합		L	V	T	K	합		V	V	T	K
		L	V	T	Q			V	V	T	Q
		L	V	K	S			V	V	K	S
		L	V	Q	S			V	V	Q	S
		L	I	T	K			V	I	T	K
		L	I	T	Q			V	I	T	Q
		L	I	K	S			V	I	K	S
		L	I	Q	S			V	I	Q	S
								V	L	T	S
		L	L	T	K			V	L	T	K
		L	L	T	Q			V	L	T	Q
		L	L	K	S			V	L	K	S
		L	L	Q	S			V	L	Q	S

[0220]

[0221]

이들 위치는 돌연변이, 예컨대 E1D, A14P, A74S 및/또는 K83R (및/또는 기타)과 조합될 수 있다.

[0222]

본 발명에 의해 제공된 PD1 결합체는 추가로, 본원의 설명, 실시예 및 도면에 기재된 바와 같은데, 즉 이들 결합체는 본원에 기재된 바와 같은 CDR을 갖고 본원에 개시된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성 (본원에 정의된 바와 같음)을 가지며/거나 이들 참조 서열 (중 하나)와 제한된 수의 "아미노산 차이" (본원에 기재된 바와 같음)를 가질 수 있다.

[0223]

서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열 및 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 바람직하게, 하기 CDR (카바트 규칙에 따름)을 포함하며,

[0224]

- 아미노산 서열 IHAMG (서열식별번호: 3)인 CDR1 (카바트에 따름); 및

[0225]

- 아미노산 서열 VITXSGGITYYADSVKG (서열식별번호: 4; 여기서 X는 W 또는 V임)인 CDR2 (카바트에 따름); 및

[0226]

- 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임)인 CDR3 (카바트에 따름);

[0227]

임의적으로, 여기서 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 예를 들어, 보존적 치환을 갖는다.

[0228]

또 다른 한편으로, CDR이 Abm 규칙에 따라서 제공되는 경우, 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 바람직하게 하기 CDR을 포함하며,

[0229]

- 아미노산 서열 GSIASIHAMG (서열식별번호: 6)인 CDR1 (Abm에 따름); 및

[0230]

- 아미노산 서열 VITXSGGITY (서열식별번호: 7; 여기서 X는 W 또는 V임)인 CDR2 (Abm에 따름); 및

[0231]

- 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 8; 이는 서열식별번호: 5와 동일하다; 여기서 X는 W 또는 F임)인 CDR3 (Abm에 따름); 임의적으로, 여기서 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의

치환, 예를 들어, 보존적 치환을 갖는다.

- [0232] 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 상기 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 외에도, 바람직하게 또한:
- [0233] - 각각의 참조 서열의 전체 길이 전반에 걸친 각각의 서열 간의 가장 큰 매치를 제공하도록 BLAST 알고리즘의 파라미터 (예를 들어, 예상 한계치: 10; 워드 크기: 3; 조회 범위 내의 최대 매치: 0; BLOSUM 62 매트릭스; 갭 비용: 존재 11, 연장 1; 조건부 구성 스코어 매트릭스 조정)를 선택하는 상기 BLAST 알고리즘에 의해 비교를 수행하는 경우, 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게 적어도 90%, 보다 바람직하게 적어도 95% (예를 들어, 100%)의 서열 동일성의 정도 (여기서 CDR, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이는 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음); 및/또는
- [0234] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 7개 이하, 예컨대 5개 이하, 바람직하게 3개 이하, 예컨대 단지 3개, 2개 또는 1개의 "아미노산 차이" (여기서 상기 아미노산 차이가 존재하는 경우, 이는 프레임워크 및/또는 CDR 내에 존재할 수 있지만, 바람직하게 프레임워크에서만 존재하고 CDR에는 존재하지 않으며; 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않고 관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이는 고려되지 않음)
- [0235] 를 갖는다.
- [0236] 하기 참고문헌은 서열 분석을 위해 종종 사용되는 BLAST 알고리즘에 관한 것이다: [BLAST ALGORITHMS: Altschul et al. (2005) FEBS J. 272(20): 5101-5109; Altschul, S.F., et al., (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W., et al., (1993) Nature Genet. 3:266-272; Madden, T.L., et al., (1996) Meth. Enzymol. 266:131-141; Altschul, S.F., et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; Zhang, J., et al., (1997) Genome Res. 7:649-656; Wootton, J.C., et al., (1993) Comput. Chem. 17:149-163; Hancock, J.M. et al., (1994) Comput. Appl. Biosci. 10:67-70; ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M.O., et al., "A model of evolutionary change in proteins." in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3. M.O. Dayhoff (ed.), pp. 345-352, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Schwartz, R.M., et al., "Matrices for detecting distant relationships." in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3." M.O. Dayhoff (ed.), pp. 353-358, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Altschul, S.F., (1991) J. Mol. Biol. 219:555-565; States, D.J., et al., (1991) Methods 3:66-70; Henikoff, S., et al., (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-10919; Altschul, S.F., et al., (1993) J. Mol. Evol. 36:290-300; ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268; Karlin, S., et al., (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877; Dembo, A., et al., (1994) Ann. Prob. 22:2022-2039; and Altschul, S.F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments." in Theoretical and Computational Methods in Genome Research (S. Suhai, ed.), (1997) pp. 1-14, Plenum, New York].
- [0237] 본 발명에 의해 제공된 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)의 다양한 측면 및 바람직한 측면에 관해서, 서열식별번호: 1 또는 2에 대하여 전반적인 서열 동일성의 정도 및/또는 이러한 본 발명의 결합체에 존재할 수도 있는 "아미노산 차이" (즉, 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 비교함)의 수 및 종류에 관해서라면, 그것이 언급될 때, 달리 언급되지 않는 한, 하기를 인지해야 하며,
- [0238] (i) 본 발명의 아미노산 서열은 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 적어도 85%, 바람직하게 적어도 90%, 보다 바람직하게 적어도 95%의 서열 동일성의 정도 (여기서 CDR, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이는 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음)를 갖고/거나 그것이 언급될 때, 하기를 인지해야 한다:
- [0239] (ii) 본 발명의 아미노산 서열은 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 7개 이하, 바람직하게 5개 이하, 예컨대 단지 3개, 2개 또는 1개의 "아미노산 차이" (또한, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않고 관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이는 고려되지 않음)를 가지므로, 이때
- [0240] 이는 또한, (관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 바와 같은) 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a,

110 및/또는 112에서의 돌연변이 및 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 이외의, 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과의 아미노산 차이를 갖지 않는 서열을 포함한다.

[0241] 따라서, 본 발명의 하나의 구체적 측면에서, 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열을 포함하지만, 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 적어도 1개의 아미노산 돌연변이를 수반하는 본 발명의 PD1 결합체는 서열식별번호: 1 또는 2와 100% 서열 동일성 (임의적으로 W52aV 및/또는 W100aF 돌연변이를 포함하는 그의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하지만, 본원에 개시된 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이(들) 또는 돌연변이의 조합 및/또는 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않음)을 가질 수 있고/거나 서열식별번호: 1 또는 2와의 아미노산 차이를 갖지 않을 수 있다 (즉, 본원에 개시된 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이(들) 또는 돌연변이의 조합 및 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 이외).

[0242] 임의의 아미노산 차이 (즉, 임의의 C-말단 연장 및 관련된 본 발명의 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이 외에)가 존재하는 경우, 이들 아미노산 차이는 CDR 및/또는 프레임워크 영역에 존재할 수 있지만, 이들은 바람직하게 프레임워크 영역에서만 존재하는데 (Abm 규칙에 의해 정의된 바와 같은데, 즉 Abm 규칙에 따라서 정의된 바와 같이 CDR 내에 존재하지 않음), 즉 이로써 본 발명의 PD1 결합체는 서열식별번호: 1, 2, 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105에 존재하는 바와 동일한 CDR (Abm 규칙에 따라서 정의됨)을 갖는다.

[0243] 또한, 본 발명의 임의의 측면에 따르는 본 발명의 PD1 결합체가 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 1개 이상의 아미노산 차이 (관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이 외에)를 갖는 경우, 존재할 수도 있는 이러한 돌연변이/아미노산 차이 (즉, 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 비교함)의 일부 구체적이지만, 비-제한적 예는, 예를 들어 "인간화" 치환이고; 예를 들어, WO 09/138519 (또는 WO 09/138519에 인용된 선행 기술분야) 및 WO 08/020079 (또는 WO 08/020079에 인용된 선행 기술분야) 뿐만 아니라 WO 08/020079로부터의 표 A-3 내지 A-8 (이는 가능한 인간화 치환을 보여주는 목록임)을 참조할 수 있다.

[0244] 또한, 본 발명의 PD-1 결합체가, 이들이 존재하는 폴리펩티드의 N-말단 부분에 존재하고/거나 이를 형성하는 경우, 이들은 바람직하게, 위치 1에 D를 함유한다 (즉, 참조 A와 비교해서 E1D 돌연변이). 이러한 N-말단 PD-1 결합체의 바람직하지만 비-제한적 예가 서열식별번호: 24 또는 57로서 제공된다. 따라서, 추가 측면에서, 본 발명은 그의 N-말단 단부에 PD-1 결합체를 갖는 폴리펩티드 (이는 본원에 추가로 기재되는 바와 같음)에 관한 것인데, 여기서 상기 PD-1 결합체는 위치 1에 D를 가지며, 예를 들어 서열식별번호: 24, 25, 57 또는 101-105이다.

[0245] 유사하게, 본 발명의 PD-1 결합체가 1가 포맷으로 사용되는 경우, 이는 바람직하게, 본원에 기재된 바와 같은 C-말단 연장 X(n)과 위치 1에서의 D 둘 다를 갖는다. 이러한 1가 PD-1 결합체의 바람직하지만 비-제한적 예가 서열식별번호: 40로서 제공된다. 따라서, 추가 측면에서, 본 발명은 위치 1에서의 D 및 C-말단 연장 X(n) (이는 바람직하게 단일 Ala 잔기임)을 갖는 본 발명의 1가 PD-1 결합체 (이는 본원에 추가로 기재되는 바와 같음)에 관한 것이다. 하나의 구체적 측면에서, 상기 1가 PD-1 결합체는 서열식별번호: 40, 101 또는 102이다.

[0246] 바람직하지만 비-제한적 예를 통하여, 서열식별번호: 23, 24, 39, 40 및 57은 서열식별번호: 1 또는 2와 아미노산 차이, 예컨대 A14P, A74S 및/또는 K83R (또한, 앞서의 단락에 표시된 바와 같이, 서열식별번호: 24 및 40 및 57은 또한 E1D 돌연변이를 가짐)을 갖는 본 발명의 PD-1 결합체의 예이다. 따라서, 구체적 측면에서, 본 발명은 임의적 E1D 돌연변이, A14P 돌연변이, A74S 돌연변이, K83R 돌연변이 및/또는 I89L 돌연변이의 적합한 조합 및, 바람직하게, 이들 돌연변이 중 임의의 2개, 예컨대 이들 돌연변이 모두의 적합한 조합을 적어도 갖는 본 발명의 PD-1 결합체 (즉, 본원에 기재된 바와 같고 또한 본원에 추가로 기재되는 바와 같은 위치 11, 89, 110 및/또는 112에서의 돌연변이를 가짐)에 관한 것이다.

[0247] 본 발명의 PD1 결합체는 이들이 1가 포맷으로 사용되는 경우 및/또는 이들이 존재하는 폴리펩티드의 C-말단 단부에 존재하고/거나 이를 형성하는 경우 (또는 이들이 달리, 상기 폴리펩티드 내에 "노출된" C-말단 단부를 가짐으로써, 일반적으로 ISVD의 C-말단 단부가 불변 도메인 (예컨대 CH1 도메인)과 연합되지 않거나 또는 연결되지 않는다는 것을 의미하는 경우) (WO 12/175741 및 PCT/EP2015/060643 (WO 2015/173325) 참조), 이들은 바람직하게 또한, 식 (X)_n의 C-말단 연장을 가지며, 여기서 n은 1 내지 10, 바람직하게 1 내지 5, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5 (바람직하게 1 또는 2, 예컨대 1)이고; 각각의 X는 자연적으로 발생하는 아미노산 잔기로부터 독립적으로 선택되는 (바람직하게 자연적으로 발생하는) 아미노산 잔기이고 (바람직한 한 측면에 따르긴 하지만, 이는

어떠한 시스테인 잔기도 포함하지 않음), 바람직하게는 알라닌 (A), 글리신 (G), 발린 (V), 류신 (L) 또는 이소 류신 (I)으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

- [0248] 이러한 C-말단 연장 X(n)의 일부 바람직하지만 비-제한적 예에 따르면, X 및 n은 하기와 같을 수 있다:
- [0249] (a) n = 1 및 X = Ala;
- [0250] (b) n = 2 및 각각의 X = Ala;
- [0251] (c) n = 3 및 각각의 X = Ala;
- [0252] (d) n = 2 및 적어도 1개의 X = Ala (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택되지만, 바람직하게는 Val, Leu 및/또는 Ile로부터 독립적으로 선택됨);
- [0253] (e) n = 3 및 적어도 1개의 X = Ala (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택되지만, 바람직하게는 Val, Leu 및/또는 Ile로부터 독립적으로 선택됨);
- [0254] (f) n = 3 및 적어도 2개의 X = Ala (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택되지만, 바람직하게는 Val, Leu 및/또는 Ile로부터 독립적으로 선택됨);
- [0255] (g) n = 1 및 X = Gly;
- [0256] (h) n = 2 및 각각의 X = Gly;
- [0257] (i) n = 3 및 각각의 X = Gly;
- [0258] (j) n = 2 및 적어도 1개의 X = Gly (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택되지만, 바람직하게는 Val, Leu 및/또는 Ile로부터 독립적으로 선택됨);
- [0259] (k) n = 3 및 적어도 1개의 X = Gly (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택되지만, 바람직하게는 Val, Leu 및/또는 Ile로부터 독립적으로 선택됨);
- [0260] (l) n = 3 및 적어도 2개의 X = Gly (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택되지만, 바람직하게는 Val, Leu 및/또는 Ile로부터 독립적으로 선택됨);
- [0261] (m) n = 2 및 각각의 X = Ala 또는 Gly;
- [0262] (n) n = 3 및 각각의 X = Ala 또는 Gly;
- [0263] (o) n = 3 및 적어도 1개의 X = Ala 또는 Gly (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택되지만, 바람직하게는 Val, Leu 및/또는 Ile로부터 독립적으로 선택됨); 또는
- [0264] (p) n = 3 및 적어도 2개의 X = Ala 또는 Gly (나머지 아미노산 잔기(들) X는 임의의 자연적으로 발생하는 아미노산으로부터 독립적으로 선택되지만, 바람직하게는 Val, Leu 및/또는 Ile로부터 독립적으로 선택됨);
- [0265] 측면 (a), (b), (c), (g), (h), (i), (m) 및 (n)이 특히 바람직하고, n = 1 또는 2인 측면이 바람직하며, n = 1인 측면이 특히 바람직하다.
- [0266] 바람직하게, 본 발명의 PD1 결합체에 존재하는 임의의 C-말단 연장은 (유리) 시스테인 잔기를 함유하지 않는다는 것 (상기 시스테인 잔기가 사용되지 않거나 또는 추가의 기능성화, 예를 들어 PEG화를 위해 의도되지 않는 한)을 또한 인지해야 한다.
- [0267] 유용한 C-말단 연장의 일부 구체적이지만 비-제한적 예는 하기 아미노산 서열이다: A, AA, AAA, G, GG, GGG, AG, GA, AAG, AGG, AGA, GGA, GAA 또는 GAG.
- [0268] 본 발명의 PD1 결합체가 위치 110 또는 112에서의 돌연변이 (본원에 기재된 바와 같은 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89 및/또는 100a에서의 돌연변이와 임의적으로 조합함)를 함유하는 경우, 프레임워크 4의 C-말단 아미노산 잔기 (위치 109로부터 출발)는 본 발명의 한 실시양태에서, 서열식별번호: 1, 2, 9-40, 57, 100, 101, 103, 104, 105, 106 또는 107에 제시된 바와 같을 수 있지만, 여기서 5개의 C-말단 잔기는 하기와 같이 치환될 수 있다:
- [0269] (i) C-말단 연장이 존재하지 않는 경우: VTVKS (서열식별번호: 42), VTVQS (서열식별번호: 43), VKVSS (서열식별번호: 44) 또는 VQVSS (서열식별번호: 45); 또는

- [0270] (ii) C-말단 연장이 존재하는 경우: VTKSX(n) (서열식별번호: 46), VTVQSX(n) (서열식별번호: 47), VKVSSX(n) (서열식별번호: 48) 또는 VQVSSX(n) (서열식별번호: 49), 예컨대 VTKSA (서열식별번호: 50), VTVQSA (서열식별번호: 51), VKVSSA (서열식별번호: 52) 또는 VQVSSA (서열식별번호: 53).
- [0271] 본 발명의 PD1 결합체가 위치 110 또는 112에서의 돌연변이를 함유하거나, 또는 또 다른 한편으로, 이러한 돌연변이를 함유하지 않는 경우 (단지 본원에 기재된 바와 같은 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89 및/또는 100a에서의 돌연변이를 함유하는 경우), 프레임워크 4의 C-말단 아미노산 잔기 (위치 109로부터 출발)는 본 발명의 한 실시양태에서, 서열식별번호: 1, 2, 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105에 제시된 바와 같을 수 있지만, 여기서 5개의 C-말단 잔기는 하기와 같이 치환될 수 있다:
- [0272] (i) C-말단 연장이 존재하지 않는 경우: VTVSS (서열식별번호: 54) (서열식별번호: 1 또는 2의 서열에서와 같음); 또는
- [0273] (ii) C-말단 연장이 존재하는 경우: VTVSSX(n) (서열식별번호: 55), 예컨대 VTVSSA (서열식별번호: 56). 이들 C-말단 서열에서, X 및 n은 C-말단 연장에 대하여 본원에 정의된 바와 같다.
- [0274] 본 발명의 PD1 결합체의 일부 바람직하지만 비-제한적 예는 서열식별번호: 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105에 제공되고, 이들 서열 각각이 본 발명의 추가 측면을 형성한다. 이들 중에서, 서열식별번호: 9-24, 57, 98, 99, 103, 104 및 105의 PD1 결합체는 C-말단 연장을 갖지 않고, 서열식별번호: 25-40, 101 및 102의 PD1 결합체는 C-말단 알라닌 (이는 본원에 기재된 바와 같은 C-말단 연장의 바람직하지만 비-제한적 예임)을 함유한다.
- [0275] 본 발명의 PD1 결합체의 예는 서열식별번호: 23, 24, 39, 40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0276] 따라서, 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는
- [0277] - 아미노산 서열 IHAMG (서열식별번호: 3)인 CDR1 (카바트에 따름); 및
- [0278] - 아미노산 서열 VITXSGGITYYADSVKG (서열식별번호: 4; 여기서 X는 W 또는 V임)인 CDR2 (카바트에 따름); 및
- [0279] - 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임)인 CDR3 (카바트에 따름)
- [0280] 을 포함하고; 또한:
- [0281] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게 적어도 90%, 보다 바람직하게 적어도 95% (예를 들어, 100%)의 서열 동일성의 정도 (여기서 임의적으로 W52aV 및/또는 W100aF 돌연변이를 포함하는 그의 CDR, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이는 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음); 및/또는
- [0282] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 7개 이하, 예컨대 5개 이하, 바람직하게 3개 이하, 예컨대 단지 3개, 2개 또는 1개의 "아미노산 차이" (본원에 정의된 바와 같고, 존재할 수도 있는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 본원에 제시된 돌연변이 중 어떠한 것도 고려되지 않고, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않음) (여기서 상기 아미노산 차이가 존재하는 경우, 이는 프레임워크 및/또는 CDR 내에 존재할 수 있지만, 바람직하게 프레임워크에서만 존재하고 CDR에는 존재하지 않음)
- [0283] 를 갖고; 임의적으로:
- [0284] - C-말단 연장 (X)_n (여기서 n은 1 내지 10, 바람직하게 1 내지 5, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5 (및 바람직하게 1 또는 2, 예컨대 1)이고; 각각의 X는 독립적으로 선택되는 (바람직하게 자연적으로 발생하는) 아미노산 잔기이고, 바람직하게는 알라닌 (A), 글리신 (G), 발린 (V), 류신 (L) 또는 이소류신 (I)으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택됨)
- [0285] 을 가지며; 여기서 본 발명의 한 실시양태에서:
- [0286] - 위치 1에서의 아미노산 잔기는 E 또는 D임;
- [0287] - 위치 11에서의 아미노산 잔기는 L 또는 V임;
- [0288] - 위치 14에서의 아미노산 잔기는 A 또는 P임;

- [0289] - 위치 52a에서의 아미노산 잔기는 W 또는 V임;
- [0290] - 위치 73에서의 아미노산 잔기는 N, S, P 또는 Q임;
- [0291] - 위치 74에서의 아미노산 잔기는 A 또는 S임;
- [0292] - 위치 83에서의 아미노산 잔기는 K 또는 R임;
- [0293] - 위치 89에서의 아미노산 잔기는 T, V, I 또는 L임;
- [0294] - 위치 100a에서의 아미노산 잔기는 W 또는 F임;
- [0295] - 위치 110에서의 아미노산 잔기는 T, K 또는 Q임;
- [0296] - 위치 112에서의 아미노산 잔기는 S, K 또는 Q임;
- [0297] 예를 들어, 여기서 PD1 결합제는 하기 돌연변이 중 하나 이상을 포함하며,
- [0298] (i) 위치 1이 E 또는 D임;
- [0299] (ii) 위치 11이 V임;
- [0300] (iii) 위치 14가 P임;
- [0301] (iv) 위치 52a가 V임;
- [0302] (v) 위치 73이 S, P 또는 Q임;
- [0303] (vi) 위치 74가 S임;
- [0304] (vii) 위치 83이 R임;
- [0305] (viii) 위치 89가 L임;
- [0306] (ix) 위치 100a가 F임;
- [0307] 예를 들어, 하기 돌연변이 세트를 포함한다:
- [0308] a. 위치 1이 D 또는 E이고, 위치 11이 V이고, 위치 14가 P이고, 위치 74가 S이고, 위치 83이 R이고; 위치 89가 L임;
- [0309] b. 위치 1이 D 또는 E이고, 위치 11이 V이고, 위치 14가 P이고, 위치 52a가 V이고; 위치 73이 S, P 또는 Q이고; 위치 74가 S이고, 위치 83이 R이고; 위치 89가 L이고; 위치 100a가 F임;
- [0310] c. 위치 1이 D 또는 E이고, 위치 11이 V이고, 위치 14가 P이고, 위치 74가 S이고, 위치 83이 R이고; 위치 89가 L임;
- [0311] d. 위치 89가 L이고 위치 11이 V임;
- [0312] e. 위치 89가 L이고 위치 110이 K 또는 Q임;
- [0313] f. 위치 89가 L이고 위치 112가 K 또는 Q임;
- [0314] g. 위치 89가 L이고 위치 11이 V이며 위치 110이 K 또는 Q임;
- [0315] h. 위치 89가 L이고 위치 11이 V이며 위치 112가 K 또는 Q임;
- [0316] i. 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및 100aF, 및 임의적으로, 1D 또는 1E와 조합하거나; 또는 11V, 14P, 74S, 83R, 89L 및 임의적으로, 1D 또는 1E와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0317] j. 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및 100aF 및, 임의적으로, 1D 또는 1E와 조합하거나; 또는 11V, 14P, 74S, 83R, 89L 및 임의적으로, 1D 또는 1E와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0318] k. 위치 11이 V이고 위치 110이 K 또는 Q임;
- [0319] l. 위치 11이 V이고 위치 112가 K 또는 Q이다.
- [0320] 추가 측면에서, 본 발명은:

- [0321] - 아미노산 서열 IHAMG (서열식별번호: 3)인 CDR1 (카바트에 따름); 및
- [0322] - 아미노산 서열 VITXSGGITYYADSVKG (서열식별번호: 4; 여기서 X는 W 또는 V임)인 CDR2 (카바트에 따름); 및
- [0323] - 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임)인 CDR3 (카바트에 따름)
- [0324] 을 갖고; 또한:
- [0325] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게 적어도 90%, 보다 바람직하게 적어도 95% (예를 들어, 100%)의 서열 동일성의 정도 (여기서 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 임의적으로 W52aV 및/또는 W100aF 돌연변이를 포함하는 그의 CDR은 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음) (여기서 상기 CDR, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이는 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음); 및/또는
- [0326] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 7개 이하, 예컨대 5개 이하, 바람직하게 3개 이하, 예컨대 단지 3개, 2개 또는 1개의 "아미노산 차이" (본원에 정의된 바와 같고, 존재할 수도 있는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 본원에 제시된 돌연변이 중 어떠한 것도 고려되지 않고, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않음) (여기서 상기 아미노산 차이가 존재하는 경우, 이는 프레임워크 및/또는 CDR 내에 존재할 수 있지만, 바람직하게 프레임워크에서만 존재하고 CDR에는 존재하지 않음)
- [0327] 를 갖고; 임의적으로:
- [0328] - C-말단 연장 (X)_n (여기서 n은 1 내지 10, 바람직하게 1 내지 5, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5 (및 바람직하게 1 또는 2, 예컨대 1)이고; 각각의 X는 독립적으로 선택되는 (바람직하게 자연적으로 발생하는) 아미노산 잔기이고, 바람직하게는 알라닌 (A), 글리신 (G), 발린 (V), 류신 (L) 또는 이소류신 (I)으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택됨)
- [0329] 을 갖는 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)에 관한 것이며;
- [0330] PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 본 발명의 한 실시양태에서, 언급된 위치 (카바트에 따르는 넘버링)에서 하기 아미노산 잔기 (즉, 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 비교한 돌연변이) 중 하나 이상을 포함하며,
- [0331] - 1D 또는 1E;
- [0332] - 11V;
- [0333] - 14P;
- [0334] - 52aV;
- [0335] - 73Q, 73P 또는 73S;
- [0336] - 74S;
- [0337] - 83R;
- [0338] - 89T 또는 89L; 또는
- [0339] - 100aF;
- [0340] 예를 들어, 하기 돌연변이 세트를 포함한다:
- [0341] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및/또는 100aF와 조합한 1D 또는 1E;
- [0342] - 11V, 14P, 74S, 83R 및/또는 89L과 조합한 1D 또는 1E;
- [0343] - 11V와 조합한 89L;
- [0344] - 110K 또는 110Q와 조합한 89L;
- [0345] - 112K 또는 112Q와 조합한 89L;
- [0346] - 11V, 14P, 74S, 83R 및 1D 및 1E와 조합한 89L;

- [0347] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및/또는 100aF 및 1D 또는 1E와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0348] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및/또는 100aF 및 1D 또는 1E와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0349] - 11V, 14P, 74S, 83R, 89L 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0350] - 11V, 14P, 74S, 83R, 89L 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0351] - 11V 및 110K 또는 110Q와 조합한 89L;
- [0352] - 11V 및 112K 또는 112Q와 조합한 89L;
- [0353] - 110K 또는 110Q와 조합한 11V; 또는
- [0354] - 112K 또는 112Q와 조합한 11V.
- [0355] 언급된 바와 같이, 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)가 1가 포맷으로 사용되는 경우 및/또는 폴리펩티드 (본원에 정의된 바와 같음)의 C-말단 단부에 존재하는 경우, PD1 결합체는 바람직하게 C-말단 연장 X(n)을 가지며, 이러한 C-말단 연장은 본 발명의 PD1 결합체에 대해 본원에 기재된 바와 같을 수 있고/거나 WO 12/175741 또는 PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)에 기재된 바와 같을 수 있다.
- [0356] 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)의 일부 바람직하지만 비-제한적 예가 서열식별번호: 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 및 105에 제공되고, 이들 아미노산 서열 각각이 개별적으로, 본 발명의 추가 측면을 형성한다.
- [0357] 언급된 바와 같이, 본 발명은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열을 포함하지만, 여기서 위치 89가 T이고; 또는 위치 1이 E 또는 D이고, 위치 11이 V이고, 위치 14가 P이고, 위치 52a가 V이고, 위치 73이 P, S 또는 Q이고, 위치 74가 S이고, 위치 83이 R이고, 위치 89가 L이고/거나 위치 100a가 F이고; 또는 위치 11이 V이고 위치 89가 L인 아미노산 서열 (임의적으로 110K 또는 110Q 돌연변이 및/또는 112K 또는 112Q 돌연변이와 적합히 조합하고, 특히 110K 또는 110Q 돌연변이와 조합함)을 포함하는 PD1 결합체를 포함한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명은 110K 또는 110Q 돌연변이와 임의적으로 조합된, 위치 11이 V이고 위치 89가 L인 아미노산 서열을 포함하는 PD1 결합체를 포함한다.
- [0358] 따라서, 하나의 바람직한 측면에서, 본 발명은
- [0359] - 아미노산 서열 IHAMG (서열식별번호: 3)인 CDR1 (카바트에 따름); 및
- [0360] - 아미노산 서열 VITXSGGITYYADSVKG (서열식별번호: 4; 여기서 X는 W 또는 V임)인 CDR2 (카바트에 따름); 및
- [0361] - 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임)인 CDR3 (카바트에 따름)
- [0362] 을 갖고; 또한:
- [0363] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게 적어도 90%, 보다 바람직하게 적어도 95% (예를 들어, 100%)의 서열 동일성의 정도 (여기서 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 임의적으로 W52aV 및/또는 W100aF 돌연변이를 포함하는 그의 CDR은 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음) (여기서 상기 CDR, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이는 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음); 및/또는
- [0364] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 7개 이하, 예컨대 5개 이하, 바람직하게 3개 이하, 예컨대 단지 3개, 2개 또는 1개의 "아미노산 차이" (본원에 정의된 바와 같고, 존재할 수도 있는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 본원에 제시된 돌연변이 중 어떠한 것도 고려되지 않고, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않음) (여기서 상기 아미노산 차이가 존재하는 경우, 이는 프레임워크 및/또는 CDR 내에 존재할 수 있지만, 바람직하게 프레임워크에서만 존재하고 CDR에는 존재하지 않음)
- [0365] 를 갖고; 임의적으로:
- [0366] - C-말단 연장 (X)_n (여기서 n은 1 내지 10, 바람직하게 1 내지 5, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5 (및 바람직하게 1 또는 2, 예컨대 1)이고; 각각의 X는 독립적으로 선택되는 (바람직하게 자연적으로 발생하는) 아미노산 잔기이

고, 바람직하게는 알라닌 (A), 글리신 (G), 발린 (V), 류신 (L) 또는 이소류신 (I)으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택됨)

- [0367] 을 갖는 PD1 결합제 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD), 예컨대 나노바디)에 관한 것이며;
- [0368] 여기서 본 발명의 한 실시양태에서:
- [0369] - 위치 1에서의 아미노산은 E 또는 D임;
- [0370] - 위치 11에서의 아미노산은 L 또는 V임;
- [0371] - 위치 14에서의 아미노산은 A 또는 P임;
- [0372] - 위치 52a에서의 아미노산은 W 또는 V임;
- [0373] - 위치 73에서의 아미노산은 N, S, P 또는 Q임;
- [0374] - 위치 74에서의 아미노산은 A 또는 S임;
- [0375] - 위치 83에서의 아미노산은 K 또는 R임;
- [0376] - 위치 89에서의 아미노산은 I, T 또는 L임;
- [0377] - 위치 100a에서의 아미노산은 W 또는 F임;
- [0378] - 위치 110에서의 아미노산 잔기는 T, K 또는 Q (및 바람직하게 T)이고;
- [0379] - 위치 112에서의 아미노산 잔기는 S, K 또는 Q (및 바람직하게 S)이다.
- [0380] 또 다른 바람직한 측면에서, 본 발명은
- [0381] - 아미노산 서열 IHAMG (서열식별번호: 3)인 CDR1 (카바트에 따름); 및
- [0382] - 아미노산 서열 VITXSGGITYYADSVKG (서열식별번호: 4; 여기서 X는 W 또는 V임)인 CDR2 (카바트에 따름); 및
- [0383] - 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임)인 CDR3 (카바트에 따름)
- [0384] 을 갖고;
- [0385] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게 적어도 90%, 보다 바람직하게 적어도 95% (예를 들어, 100%)의 서열 동일성의 정도 (여기서 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 임의적으로 W52aV 및/또는 W100aF 돌연변이를 포함하는 그의 CDR은 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음) (여기서 상기 CDR, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이는 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음); 및/또는
- [0386] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 7개 이하, 예컨대 5개 이하, 바람직하게 3개 이하, 예컨대 단지 3개, 2개 또는 1개의 "아미노산 차이" (본원에 정의된 바와 같고, 존재할 수도 있는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 본원에 제시된 돌연변이 중 어떠한 것도 고려되지 않고, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않음) (여기서 상기 아미노산 차이가 존재하는 경우, 이는 프레임워크 및/또는 CDR 내에 존재할 수 있지만, 바람직하게 프레임워크에서만 존재하고 CDR에는 존재하지 않음)
- [0387] 를 갖고; 임의적으로:
- [0388] - C-말단 연장 (X)_n (여기서 n은 1 내지 10, 바람직하게 1 내지 5, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5 (및 바람직하게 1 또는 2, 예컨대 1)이고; 각각의 X는 독립적으로 선택되는 (바람직하게 자연적으로 발생하는) 아미노산 잔기이고, 바람직하게는 알라닌 (A), 글리신 (G), 발린 (V), 류신 (L) 또는 이소류신 (I)으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택됨)
- [0389] 을 갖는 PD1 결합제 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD), 예컨대 나노바디)에 관한 것이며;
- [0390] 여기서 하기 중 하나 이상이 사실이다:
- [0391] - 위치 1에서의 아미노산은 E 또는 D임;
- [0392] - 위치 11에서의 아미노산은 L 또는 V임;

- [0393] - 위치 14에서의 아미노산은 A 또는 P임;
- [0394] - 위치 52a에서의 아미노산은 W 또는 V임;
- [0395] - 위치 73에서의 아미노산은 S, P, N 또는 Q임;
- [0396] - 위치 74에서의 아미노산은 A 또는 S임;
- [0397] - 위치 83에서의 아미노산은 K 또는 R임;
- [0398] - 위치 89에서의 아미노산은 I, T 또는 L임;
- [0399] - 위치 100a에서의 아미노산은 W 또는 F임;
- [0400] - 위치 110에서의 아미노산 잔기는 T, K 또는 Q (및 바람직하게 T)이고;
- [0401] - 위치 112에서의 아미노산 잔기는 S, K 또는 Q (및 바람직하게 S)이다.
- [0402] 하나의 구체적이지만 비-제한적 측면에서, 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 언급된 위치 (카바트에 따르는 넘버링)에서 하기 아미노산 잔기 (즉, 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 비교한 돌연변이) 중 하나 이상을 포함하며,
- [0403] - 89L과 조합한 11V;
- [0404] - 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및/또는 100aF 및, 임의적으로, 1D와 조합한 11V;
- [0405] - 14P, 74S, 83R, 89L 및 1D 또는 1E와 조합한 11V;
- [0406] - 110K 또는 110Q와 조합한 11V;
- [0407] - 112K 또는 112Q와 조합한 11V;
- [0408] - 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L, 100aF, 110K 또는 110Q 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 11V;
- [0409] - 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L, 100aF, 112K 또는 112Q 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 11V;
- [0410] - 89L 및 110K 또는 110Q와 조합한 11V;
- [0411] - 89L 및 112K 또는 112Q와 조합한 11V; 또는
- [0412] - 1D 또는 1E, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및/또는 100aF와 조합한 11V;
- [0413] 서열식별번호: 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105의 서열 (예를 들어, 카바트에 따름)에 존재하는 CDR과 동일한 CDR을 가지며, 본원에 기재된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성을 갖는다.
- [0414] 또 다른 구체적이지만 비-제한적 측면에서, 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 언급된 위치 (카바트에 따르는 넘버링)에서 하기 아미노산 잔기 (즉, 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 비교한 돌연변이) 중 하나 이상을 포함하며,
- [0415] - 11V와 조합한 89L;
- [0416] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 100aF 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 89L;
- [0417] - 11V, 14P, 74S, 83R, 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 89L;
- [0418] - 110K 또는 110Q와 조합한 89L;
- [0419] - 112K 또는 112Q와 조합한 89L;
- [0420] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 100aF, 110K 또는 110Q 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 89L;
- [0421] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 100aF, 112K 또는 112Q 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 89L;

- [0422] - 11V, 14P, 74S, 83R, 110K 또는 110Q 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 89L;
- [0423] - 11V, 14P, 74S, 83R, 112K 또는 112Q 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 89L;
- [0424] - 11V 및 110K 또는 110Q와 조합한 89L; 또는
- [0425] - 11V 및 112K 또는 112Q와 조합한 89L;
- [0426] 서열식별번호: 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105의 서열 (예를 들어, 카바트에 따름)에 존재하는 CDR과 동일한 CDR을 가지며, 본원에 기재된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성을 갖는다.
- [0427] 또 다른 구체적이지만 비-제한적 측면에서, 본 발명의 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 언급된 위치 (카바트에 따르는 넘버링)에서 하기 아미노산 잔기 (즉, 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 비교한 돌연변이) 중 하나 이상을 포함하며,
- [0428] - 1D와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0429] - 1E와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0430] - 11V와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0431] - 14P와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0432] - 52aV와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0433] - 73S 또는 73Q 또는 73P와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0434] - 74S와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0435] - 83R과 조합한 110K 또는 110Q;
- [0436] - 89L과 조합한 110K 또는 110Q;
- [0437] - 100aF와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0438] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L, 100aF 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0439] - 11V, 14P, 74S, 83R, 89L 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0440] - 89L과 조합한 110K 또는 110Q; 또는
- [0441] - 11V 및 89L와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0442] 서열식별번호: 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105의 서열 (예를 들어, 카바트에 따름)에 존재하는 CDR과 동일한 CDR을 가지며, 본원에 기재된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성을 갖는다.
- [0443] 또 다른 구체적이지만 비-제한적 측면에서, 본 발명의 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 언급된 위치 (카바트에 따르는 넘버링)에서 하기 아미노산 잔기 (즉, 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 비교한 돌연변이) 중 하나 이상을 포함하며,
- [0444] - 1D 또는 1E와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0445] - 11V와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0446] - 14P와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0447] - 52aV와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0448] - 73S 또는 73Q 또는 73P와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0449] - 74S와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0450] - 83R과 조합한 112K 또는 112Q;

- [0451] - 89L과 조합한 112K 또는 112Q;
- [0452] - 100aF와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0453] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L, 100aF 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0454] - 11V, 14P, 74S, 83R, 89L 및/또는 1D 또는 1E와 조합한 112K 또는 112Q; 또는
- [0455] - 11V 및 89L과 조합한 112K 또는 112Q;
- [0456] 서열식별번호: 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105의 서열 (예를 들어, 카바트에 따름)에 존재하는 CDR과 동일한 CDR을 가지며, 본원에 기재된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성을 갖는다.
- [0457] 또 다른 측면에서, 본 발명의 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 위치 89에서의 T를 포함하고, 서열식별번호: 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105의 서열 (예를 들어, 카바트에 따름)에 존재하는 CDR과 동일한 CDR을 가지며, 본원에 기재된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성을 갖는다.
- [0458] 또 다른 측면에서, 본 발명의 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 위치 11에서의 V 및 위치 89에서의 L을 포함하고, 서열식별번호: 9-40, 57, 100, 101, 102, 103, 104 또는 105의 서열 (예를 들어, 카바트에 따름)에 존재하는 CDR과 동일한 CDR을 가지며, 본원에 기재된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성을 갖는다.
- [0459] 언급된 바와 같이, 상기 측면에 따르는 본 발명의 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 바람직하게 추가로, A14P 돌연변이, A74S 돌연변이 및/또는 K83R 돌연변이의 적합한 조합, 및 바람직하게 이들 돌연변이 중 임의의 2개의 적합한 조합, 예컨대 이들 돌연변이 중 3개 모두의 적합한 조합 (예를 들어, E1D (임의적으로), L11V, A14P, W52aV, N73S 또는 N73Q 또는 N73P, A74S, K83R, I89L 및 W100aF)을 함유한다. LAG3 또는 HSA 결합제가 본 발명의 PD1 결합제의 N-말단 단부에 존재하는 경우, N-말단 결합 모이어티는 바람직하게 E1D 돌연변이를 갖는다.
- [0460] 또 다른 측면에서, 본 발명은
- [0461] - 아미노산 서열 GSIASIHAMG (서열식별번호: 6)인 CDR1 (Abm에 따름); 및
- [0462] - 아미노산 서열 VITXSGGITY (서열식별번호: 7; 여기서 X는 W 또는 V임)인 CDR2 (Abm에 따름); 및
- [0463] - 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임)인 CDR3 (Abm에 따름)
- [0464] 을 갖고; 또한:
- [0465] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게 적어도 90%, 보다 바람직하게 적어도 95% (예를 들어, 100%)의 서열 동일성의 정도 (여기서 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 임의적으로 W52aV 및/또는 W100aF 돌연변이를 포함하는 CDR은 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음) (여기서 상기 CDR, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이는 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음); 및/또는
- [0466] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 7개 이하, 예컨대 5개 이하, 바람직하게 3개 이하, 예컨대 단지 3개, 2개 또는 1개의 "아미노산 차이" (본원에 정의된 바와 같고, 존재할 수도 있는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 본원에 제시된 돌연변이 중 어떠한 것도 고려되지 않고, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않음) (여기서 상기 아미노산 차이가 존재하는 경우, 이는 프레임워크 및/또는 CDR 내에 존재할 수 있지만, 바람직하게 프레임워크에서만 존재하고 CDR에는 존재하지 않음)
- [0467] 를 갖고; 임의적으로:
- [0468] - C-말단 연장 (X)_n (여기서 n은 1 내지 10, 바람직하게 1 내지 5, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5 (및 바람직하게 1 또는 2, 예컨대 1)이고; 각각의 X는 독립적으로 선택되는 (바람직하게 자연적으로 발생하는) 아미노산 잔기이고, 바람직하게는 알라닌 (A), 글리신 (G), 발린 (V), 류신 (L) 또는 이소류신 (I)으로 이루어진 군으로부터 독

립적으로 선택됨)

- [0469] 을 갖는 PD1 결합체 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD), 예컨대 나노바디)에 관한 것이며;
- [0470] 여기서 본 발명의 한 실시양태에서:
- [0471] - 위치 1에서의 아미노산은 E 또는 D임;
- [0472] - 위치 11에서의 아미노산은 L 또는 V임;
- [0473] - 위치 14에서의 아미노산은 A 또는 P임;
- [0474] - 위치 52a에서의 아미노산은 W 또는 V임;
- [0475] - 위치 73에서의 아미노산은 N, S, P 또는 Q임;
- [0476] - 위치 74에서의 아미노산은 A 또는 S임;
- [0477] - 위치 83에서의 아미노산은 K 또는 R임;
- [0478] - 위치 89에서의 아미노산은 V, I, T 또는 L임;
- [0479] - 위치 89에서의 아미노산 잔기는 T이고;
- [0480] - 위치 100a에서의 아미노산은 W 및 F임;
- [0481] - 위치 110에서의 아미노산 잔기는 T, K 또는 Q (및 바람직하게 T)이고;
- [0482] - 위치 112에서의 아미노산 잔기는 S, K 또는 Q (및 바람직하게 S)이고;
- [0483] 예를 들어, 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 결합체는 하기 돌연변이 중 하나 이상을 포함하며,
- [0484] (i) 위치 1이 D 또는 E임;
- [0485] (ii) 위치 11이 V임;
- [0486] (iii) 위치 14가 P임;
- [0487] (iv) 위치 52a가 V임;
- [0488] (v) 위치 73이 Q, P 또는 S임;
- [0489] (vi) 위치 74가 S임;
- [0490] (vii) 위치 83이 R임;
- [0491] (viii) 위치 89가 L 또는 T이고;
- [0492] (ix) 위치 100a가 F임;
- [0493] 예를 들어, 하기 돌연변이 세트를 포함한다:
- [0494] a. 위치 11이 V이고; 위치 14가 P이고; 위치 52a가 V이고; 위치 73이 P, S 또는 Q이고; 위치 74가 S이고; 위치 83이 R이고; 위치 89가 L이고; 위치 100a가 F임; 임의적으로, 위치 1이 E 또는 D이거나;
- [0495] b. 위치 11이 V이고; 위치 14가 P이고; 위치 74가 S이고; 위치 83이 R이고; 위치 89가 L이고; 임의적으로, 위치 1이 E 또는 D이거나;
- [0496] c. 위치 89가 L이고 위치 11이 V임;
- [0497] d. 위치 89가 L이고 위치 110이 K 또는 Q임;
- [0498] e. 위치 89가 L이고 위치 112가 K 또는 Q임;
- [0499] f. 위치 11이 V이고; 위치 14가 P이고; 위치 52a가 V이고; 위치 73이 P, S 또는 Q이고; 위치 74가 S이고; 위치 83이 R이고; 위치 89가 L이고; 위치 100a가 F임; 위치 110이 K 또는 Q이고; 임의적으로, 위치 1이 E 또는 D이거나;
- [0500] g. 위치 11이 V이고; 위치 14가 P이고; 위치 52a가 V이고; 위치 73이 S, P 또는 Q이고; 위치 74가 S이고; 위치

83이 R이고; 위치 89가 L이고; 위치 100a가 F임; 위치 112가 K 또는 Q이고, 임의적으로, 위치 1이 E 또는 D이거나;

- [0501] h. 위치 11이 V이고; 위치 14가 P이고; 위치 74가 S이고; 위치 83이 R이고; 위치 89가 L이고; 위치 110이 K 또는 Q이고, 임의적으로, 위치 1이 E 또는 D이거나;
- [0502] i. 위치 11이 V이고; 위치 14가 P이고; 위치 74가 S이고; 위치 83이 R이고; 위치 89가 L이고; 위치 112가 K 또는 Q이고, 임의적으로, 위치 1이 E 또는 D이거나;
- [0503] j. 위치 89가 L이고 위치 11이 V이며 위치 110이 K 또는 Q임;
- [0504] k. 위치 89가 L이고 위치 11이 V이며 위치 112가 K 또는 Q임;
- [0505] l. 위치 11이 V이고 위치 110이 K 또는 Q임; 또는
- [0506] m. 위치 11이 V이고 위치 112가 K 또는 Q이다.
- [0507] 추가 측면에서, 본 발명은
- [0508] - 아미노산 서열 GSIASIHAMG (서열식별번호: 6)인 CDR1 (Abm에 따름); 및
- [0509] - 아미노산 서열 VITXSGGITY (서열식별번호: 7; 여기서 X는 W 또는 V임)인 CDR2 (Abm에 따름); 및
- [0510] - 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임)인 CDR3 (Abm에 따름)
- [0511] 을 갖고; 또한:
- [0512] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게 적어도 90%, 보다 바람직하게 적어도 95% (예를 들어, 100%)의 서열 동일성의 정도 (여기서 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 임의적으로 W52aV 및/또는 W100aF 돌연변이를 포함하는 CDR은 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음) (여기서 상기 CDR, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이는 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음); 및/또는
- [0513] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 7개 이하, 예컨대 5개 이하, 바람직하게 3개 이하, 예컨대 단지 3개, 2개 또는 1개의 "아미노산 차이" (본원에 정의된 바와 같고, 존재할 수도 있는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 본원에 제시된 돌연변이 중 어떠한 것도 고려되지 않고, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않음) (여기서 상기 아미노산 차이가 존재하는 경우, 이는 프레임워크 및/또는 CDR 내에 존재할 수 있지만, 바람직하게 프레임워크에서만 존재하고 CDR에는 존재하지 않음)
- [0514] 를 갖고; 임의적으로:
- [0515] - C-말단 연장 (X)_n (여기서 n은 1 내지 10, 바람직하게 1 내지 5, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5 (및 바람직하게 1 또는 2, 예컨대 1)이고; 각각의 X는 독립적으로 선택되는 (바람직하게 자연적으로 발생하는) 아미노산 잔기이고, 바람직하게는 알라닌 (A), 글리신 (G), 발린 (V), 류신 (L) 또는 이소류신 (I)으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택됨)
- [0516] 을 갖는 PD1 결합제 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD), 예컨대 나노바디)에 관한 것이며;
- [0517] 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인은 언급된 위치 (카바트에 따르는 넘버링)에서 하기 아미노산 잔기 (즉, 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 비교한 돌연변이) 중 하나 이상을 포함하며,
- [0518] - 1D 또는 1E;
- [0519] - 11V;
- [0520] - 14P;
- [0521] - 52aV;
- [0522] - 73Q, 73S 또는 73P;
- [0523] - 74S;

- [0524] - 83R;
- [0525] - 89L 또는 89T; 또는
- [0526] - 100aF;
- [0527] 예를 들어, 하기 돌연변이 세트를 포함한다:
- [0528] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 100aF 또는 1E 또는 1D와 조합한 89T 또는 89L;
- [0529] - 11V, 14P, 74S, 83R, 또는 1E 또는 1D와 조합한 89T 또는 89L;
- [0530] - 11V와 조합한 89L;
- [0531] - 110K 또는 110Q와 조합한 89L;
- [0532] - 112K 또는 112Q와 조합한 89L;
- [0533] - 11V, 14P, 74S, 83R, 110K 또는 110Q 또는 1E 또는 1D와 조합한 89L;
- [0534] - 11V, 14P, 74S, 83R, 112K 또는 112Q 또는 1E 또는 1D와 조합한 89L;
- [0535] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 100aF, 110K 또는 110Q 또는 1E 또는 1D와 조합한 89L;
- [0536] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 100aF, 112K 또는 112Q 또는 1E 또는 1D와 조합한 89L;
- [0537] - 11V 및 110K 또는 110Q와 조합한 89L;
- [0538] - 11V 및 112K 또는 112Q와 조합한 89L;
- [0539] - 110K 또는 110Q와 조합한 11V; 또는
- [0540] - 112K 또는 112Q와 조합한 11V.
- [0541] 언급된 바와 같이, 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)가 1가 포맷으로 사용되는 경우 및/또는 PD1에 결합하는 모이어티가 폴리펩티드 (본원에 정의된 바와 같음)의 C-말단 단부에 존재하는 경우, PD1 결합 모이어티는 바람직하게 C-말단 연장 X(n)을 가지며, 이러한 C-말단 연장은 본 발명의 PD1 결합체에 대해 본원에 기재된 바와 같을 수 있고/거나 WO 12/175741 또는 PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)에 기재된 바와 같을 수 있다.
- [0542] 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)의 일부 바람직하지만 비-제한적 예가 서열식별번호: 9 내지 40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 및 105에 제공되고, 이들 아미노산 서열 각각이 개별적으로, 본 발명의 추가 측면을 형성한다.
- [0543] 언급된 바와 같이, 본 발명에서, 위치 89가 T이고; 또는 위치 1이 E 또는 D이고, 위치 11이 V이고, 위치 14가 P 이고, 위치 52a가 V이고, 위치 73이 P, S 또는 Q이고, 위치 74가 S이고, 위치 83이 R이고, 위치 89가 L이고/거나 위치 100a가 F이고; 또는 위치 11이 V이고 위치 89가 L인 아미노산 서열 (임의적으로 110K 또는 110Q 돌연변이 및/또는 112K 또는 112Q 돌연변이와 적합히 조합하고, 특히 110K 또는 110Q 돌연변이와 조합함)이 본 발명의 일부이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 110K 또는 110Q 돌연변이와 임의적으로 조합된, 위치 11이 V이고 위치 89가 L인 아미노산 서열이 본 발명의 일부이다.
- [0544] 따라서, 하나의 바람직한 측면에서, 본 발명은
- [0545] - 아미노산 서열 GSIASIHAMG (서열식별번호: 6)인 CDR1 (Abm에 따름); 및
- [0546] - 아미노산 서열 VITXSGGITY (서열식별번호: 7; 여기서 X는 W 또는 V임)인 CDR2 (Abm에 따름); 및
- [0547] - 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임)인 CDR3 (Abm에 따름)
- [0548] 을 갖고; 또한:
- [0549] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게 적어도 90%, 보다 바람직하게 적어도 95% (예를 들어, 100%)의 서열 동일성의 정도 (여기서 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 임의적으로 W52aV 및/또는 W100aF 돌연변이를 포함하는 CDR은 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음) (여기서 상기 CDR, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11,

14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이는 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음); 및/또는

[0550] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 7개 이하, 예컨대 5개 이하, 바람직하게 3개 이하, 예컨대 단지 3개, 2개 또는 1개의 "아미노산 차이" (본원에 정의된 바와 같고, 존재할 수도 있는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 본원에 제시된 돌연변이 중 어떠한 것도 고려되지 않고, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않음) (여기서 상기 아미노산 차이가 존재하는 경우, 이는 프레임워크 및/또는 CDR 내에 존재할 수 있지만, 바람직하게 프레임워크에서만 존재하고 CDR에는 존재하지 않음)

[0551] 를 갖고; 임의적으로:

[0552] - C-말단 연장 (X)_n (여기서 n은 1 내지 10, 바람직하게 1 내지 5, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5 (및 바람직하게 1 또는 2, 예컨대 1)이고; 각각의 X는 독립적으로 선택되는 (바람직하게 자연적으로 발생하는) 아미노산 잔기이고, 바람직하게는 알라닌 (A), 글리신 (G), 발린 (V), 류신 (L) 또는 이소류신 (I)으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택됨)

[0553] 을 갖는 PD1 결합체 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD), 예컨대 나노바디)에 관한 것이며;

[0554] 여기서 본 발명의 한 실시양태에서:

[0555] - 위치 1에서의 아미노산 잔기는 E 또는 D임;

[0556] - 위치 11에서의 아미노산 잔기는 L 또는 V임;

[0557] - 위치 14에서의 아미노산 잔기는 A 또는 P임;

[0558] - 위치 52a에서의 아미노산 잔기는 W 또는 V임;

[0559] - 위치 73에서의 아미노산 잔기는 S, P, N 또는 Q임;

[0560] - 위치 74에서의 아미노산 잔기는 A 또는 S임;

[0561] - 위치 83에서의 아미노산 잔기는 K 또는 R임;

[0562] - 위치 89에서의 아미노산 잔기는 T, L 또는 I이고;

[0563] - 위치 100a에서의 아미노산 잔기는 W 또는 F임;

[0564] - 위치 110에서의 아미노산 잔기는 T, K 또는 Q (및 바람직하게 T)이고;

[0565] - 위치 112에서의 아미노산 잔기는 S, K 또는 Q (및 바람직하게 S)이다.

[0566] 또 다른 바람직한 측면에서, 본 발명은

[0567] - 아미노산 서열 GSIASIHAMG (서열식별번호: 6)인 CDR1 (Abm에 따름); 및

[0568] - 아미노산 서열 VITXSGGITY (서열식별번호: 7; 여기서 X는 W 또는 V임)인 CDR2 (Abm에 따름); 및

[0569] - 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F임)인 CDR3 (Abm에 따름)

[0570] 을 갖고; 또한:

[0571] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게 적어도 90%, 보다 바람직하게 적어도 95% (예를 들어, 100%)의 서열 동일성의 정도 (여기서 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 임의적으로 W52aV 및/또는 W100aF 돌연변이를 포함하는 CDR은 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음) (여기서 상기 CDR, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 관련된 구체적 측면에 의해 요구되는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 돌연변이는 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음); 및/또는

[0572] - 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 7개 이하, 예컨대 5개 이하, 바람직하게 3개 이하, 예컨대 단지 3개, 2개 또는 1개의 "아미노산 차이" (본원에 정의된 바와 같고, 존재할 수도 있는 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 본원에 제시된 돌연변이 중 어떠한 것도 고려되지 않고, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않음) (여기서 상기 아미노산 차이가 존재하는 경우, 이는 프레임워크 및/또는 CDR 내에 존재할 수 있지만, 바람직하게 프레임워크에서만 존재하고 CDR에는 존재하지 않음)

- [0573] 를 갖고; 임의적으로:
- [0574] - C-말단 연장 (X)_n (여기서 n은 1 내지 10, 바람직하게 1 내지 5, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5 (및 바람직하게 1 또는 2, 예컨대 1)이고; 각각의 X는 독립적으로 선택되는 (바람직하게 자연적으로 발생하는) 아미노산 잔기이고, 바람직하게는 알라닌 (A), 글리신 (G), 발린 (V), 류신 (L) 또는 이소류신 (I)으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택됨)
- [0575] 을 갖는 PD1 결합제 (예를 들어, 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 (ISVD), 예컨대 나노바디)에 관한 것이며;
- [0576] 여기서 예를 들어, 하기 중 하나 이상이 사실이다:
- [0577] - 위치 1에서의 아미노산 잔기는 E 또는 D임;
- [0578] - 위치 11에서의 아미노산 잔기는 V임;
- [0579] - 위치 14에서의 아미노산 잔기는 P임;
- [0580] - 위치 52a에서의 아미노산 잔기는 V임;
- [0581] - 위치 73에서의 아미노산 잔기는 S, P 또는 Q임;
- [0582] - 위치 74에서의 아미노산 잔기는 S임;
- [0583] - 위치 83에서의 아미노산 잔기는 R임;
- [0584] - 위치 89에서의 아미노산 잔기는 L임;
- [0585] - 위치 100a에서의 아미노산 잔기는 F임;
- [0586] - 위치 110에서의 아미노산 잔기는 T, K 또는 Q임;
- [0587] - 위치 112에서의 아미노산 잔기는 S, K 또는 Q이다.
- [0588] 하나의 구체적이지만 비-제한적 측면에서, 본 발명의 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 언급된 위치 (카바트에 따르는 넘버링)에서 하기 돌연변이 세트 (즉, 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 비교한 돌연변이) 중 하나 이상을 포함하며,
- [0589] - 89L과 조합한 11V;
- [0590] - 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L, 100aF 및 1E 또는 1D와 조합한 11V;
- [0591] - 14P, 74S, 83R, 89L 및 1E 또는 1D와 조합한 11V;
- [0592] - 110K 또는 110Q와 조합한 11V;
- [0593] - 112K 또는 112Q와 조합한 11V;
- [0594] - 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L, 100aF, 110K 또는 110Q 및 1E 또는 1D와 조합한 11V;
- [0595] - 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L, 100aF, 112K 또는 112Q 및 1E 또는 1D와 조합한 11V;
- [0596] - 14P, 74S, 83R, 89L, 110K 또는 110Q 및 1E 또는 1D와 조합한 11V;
- [0597] - 14P, 74S, 83R, 89L, 112K 또는 112Q 및 1E 또는 1D와 조합한 11V;
- [0598] - 89L 및 110K 또는 110Q와 조합한 11V; 또는
- [0599] - 89L 및 112K 또는 112Q와 조합한 11V;
- [0600] 서열식별번호: 1, 2, 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105의 서열 (예를 들어, Abm에 따름)에 존재하는 CDR과 동일한 CDR을 가지며, 본원에 기재된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성을 갖는다.
- [0601] 또 다른 구체적이지만 비-제한적 측면에서, 본 발명의 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 언급된 위치 (카바트에 따르는 넘버링)에서 하기 돌연변이 세트 (즉, 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 비교한 돌연변이) 중 하나 이상을 포함하며,

- [0602] - 11V와 조합한 89L;
- [0603] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 100aF 및 1E 또는 1D와 조합한 89L;
- [0604] - 11V, 14P, 74S, 83R 및 1E 또는 1D와 조합한 89L;
- [0605] - 110K 또는 110Q와 조합한 89L;
- [0606] - 112K 또는 112Q와 조합한 89L;
- [0607] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 100aF, 110K 또는 110Q 및 1E 또는 1D와 조합한 89L;
- [0608] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 100aF, 112K 또는 112Q 및 1E 또는 1D와 조합한 89L;
- [0609] - 11V, 14P, 74S, 83R, 110K 또는 110Q 및 1E 또는 1D와 조합한 89L;
- [0610] - 11V, 14P, 74S, 83R, 112K 또는 112Q 및 1E 또는 1D와 조합한 89L;
- [0611] - 11V 및 110K 또는 110Q와 조합한 89L; 또는
- [0612] - 11V 및 112K 또는 112Q와 조합한 89L;
- [0613] 서열식별번호: 1, 2, 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105의 서열 (예를 들어, Abm에 따름)에 존재하는 CDR과 동일한 CDR을 가지며, 본원에 기재된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성을 갖는다.
- [0614] 또 다른 구체적이지만 비-제한적 측면에서, 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 언급된 위치 (카바트에 따르는 넘버링)에서 하기 돌연변이 세트 (즉, 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 비교한 돌연변이) 중 하나 이상을 포함하며,
- [0615] - 11V와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0616] - 89L과 조합한 110K 또는 110Q;
- [0617] - 11V 및 89L과 조합한 110K 또는 110Q;
- [0618] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및 100aF, 및 1E 또는 1D와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0619] - 11V, 14P, 74S, 83R, 89L 및 1D와 조합한 110K 또는 110Q; 또는
- [0620] - 11V, 14P, 74S, 83R, 89L, 및 1E와 조합한 110K 또는 110Q;
- [0621] 서열식별번호: 1, 2, 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105의 서열 (예를 들어, Abm에 따름)에 존재하는 CDR과 동일한 CDR을 가지며, 본원에 기재된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성을 갖는다.
- [0622] 또 다른 구체적이지만 비-제한적 측면에서, 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 언급된 위치 (카바트에 따르는 넘버링)에서 하기 돌연변이 세트 (즉, 서열식별번호: 1 또는 2의 서열과 비교한 돌연변이) 중 하나 이상을 포함하며,
- [0623] - 11V와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0624] - 89L과 조합한 112K 또는 112Q;
- [0625] - 11V 및 89L과 조합한 112K 또는 112Q;
- [0626] - 11V, 14P, 52aV, 73S 또는 73Q 또는 73P, 74S, 83R, 89L 및 100aF, 및 1E 또는 1D와 조합한 112K 또는 112Q; 또는
- [0627] - 11V, 14P, 74S, 83R, 89L, 및 1E 또는 1D와 조합한 112K 또는 112Q;
- [0628] 서열식별번호: 1, 2, 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105의 서열 (예를 들어, Abm에 따름)에 존재하는 CDR과 동일한 CDR을 가지며, 본원에 기재된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성을 갖는다.
- [0629] 또 다른 측면에서, 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 위치 89에서의 T 또는 L을 포

함하고, 서열식별번호: 1, 2, 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105의 서열 (예를 들어, Abm에 따름)에 존재하는 CDR과 동일한 CDR을 가지며, 본원에 기재된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성을 갖는다.

[0630] 또 다른 측면에서, 본 발명의 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 위치 11에서의 V 및 위치 89에서의 L을 포함하고, 서열식별번호: 1, 2, 9-40, 57, 98, 99, 101, 102, 103, 104 또는 105의 서열 (예를 들어, Abm에 따름)에 존재하는 CDR과 동일한 CDR을 가지며, 본원에 기재된 바와 같은 서열식별번호: 1 또는 2의 아미노산 서열과 전반적인 정도의 서열 동일성을 갖는다.

[0631] 언급된 바와 같이, 상기 측면에 따르는 본 발명의 PD-1 결합제는 바람직하게 추가로, E1D 돌연변이, L11V 돌연변이, A14P 돌연변이, W52aV 돌연변이, N73S 또는 N73Q 또는 N73P 돌연변이, A74S 돌연변이, K83R 돌연변이, I89L 돌연변이 및/또는 W100aF 돌연변이의 적합한 조합, 및 바람직하게 이들 돌연변이 중 임의의 2개의 적합한 조합, 예컨대 이들 돌연변이 모두의 적합한 조합을 함유한다. PD-1 결합제가 1가이거나 또는 그의 PD1 결합 모이어티가 폴리펩티드의 N-말단 단부에 존재하는 경우, 이는 바람직하게 또한, E1D 돌연변이를 갖는다.

[0632] 또 다른 구체적이지만 비-제한적 측면에서, 본 발명은 하기 아미노산 서열 중 하나로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 본질적으로 이루어지는 이류노글로불린 단일 가변 도메인에 관한 것이다: 서열식별번호: 9, 서열식별번호: 10, 서열식별번호: 11, 서열식별번호: 12, 서열식별번호: 13, 서열식별번호: 14, 서열식별번호: 15, 서열식별번호: 16, 서열식별번호: 17, 서열식별번호: 18, 서열식별번호: 19, 서열식별번호: 20, 서열식별번호: 21, 서열식별번호: 22, 서열식별번호: 23, 서열식별번호: 24, 서열식별번호: 25, 서열식별번호: 26, 서열식별번호: 27, 서열식별번호: 28, 서열식별번호: 29, 서열식별번호: 30, 서열식별번호: 31, 서열식별번호: 32, 서열식별번호: 33, 서열식별번호: 34, 서열식별번호: 35, 서열식별번호: 36, 서열식별번호: 37, 또는 서열식별번호: 38, 서열식별번호: 39, 서열식별번호: 40, 서열식별번호: 57, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 99, 서열식별번호: 101, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 103, 서열식별번호: 104 또는 서열식별번호: 105.

[0633] 또 다른 구체적이지만 비-제한적 측면에서, 본 발명은 하기 아미노산 서열 중 하나로부터 선택된 아미노산 서열이거나 또는 이로 본질적으로 이루어지는 이류노글로불린 단일 가변 도메인에 관한 것이다: 서열식별번호: 23, 서열식별번호: 24, 서열식별번호: 39, 서열식별번호: 40, 서열식별번호: 57, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 99, 서열식별번호: 101, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 103, 서열식별번호: 104 및 서열식별번호: 105.

[0634] 또한, 본원에 이미 표시된 바와 같이, PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)의 아미노산 잔기는 문헌 [Riechmann and Muyldermans, J. Immunol. Methods 2000 Jun 23; 240 (1-2): 185-195]; 또는 여기에 언급된 문헌에서 카멜리드로부터의 VHH 도메인에 적용된 바와 같은, 카바트 등 (문헌 ["Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91])에 의해 제공된 VH에 대한 일반적 넘버링에 따라서 넘버링된다. VH 도메인 및 VHH 도메인에 대하여 관련 기술분야에서 널리 공지되는 바와 같이, CDR 각각에서의 아미노산 잔기의 총 수는 다양할 수 있고, 카바트 넘버링에 의해 표시된 아미노산 잔기의 총수에 상응하지 않을 수 있다는 것 (즉, 카바트 넘버링에 따르는 하나 이상의 위치가 실제 서열에 점유되지 않을 수 있거나, 또는 실제 서열이 카바트 넘버링에 의해 허용된 수보다 더 많은 아미노산 잔기를 함유할 수 있음)는 것을 인지해야 한다. 이는 일반적으로, 카바트에 따르는 넘버링이 실제 서열 내의 아미노산 잔기의 실제 넘버링에 상응할 수 있거나 또는 상응하지 않을 수 있다는 것을 의미한다. 그러나, 일반적으로, 카바트의 넘버링에 따르면 CDR 내의 아미노산 잔기의 번호와 무관하게, 카바트 넘버링에 따르는 위치 1은 FR1의 출발에 상응하고 그 반대의 경우도 마찬가지이고, 카바트 넘버링에 따르는 위치 36은 FR2의 출발에 상응하고 그 반대의 경우도 마찬가지이고, 카바트 넘버링에 따르는 위치 66은 FR3의 출발에 상응하고 그 반대의 경우도 마찬가지이고, 카바트 넘버링에 따르는 위치 103은 FR4의 출발에 상응하고 그 반대의 경우도 마찬가지이다.

[0635] VH 도메인의 아미노산 잔기를 넘버링하기 위한 대체 방법 (이러한 방법은 또한, 카멜리드로부터의 VHH 도메인 및 나노바디에 유사한 방식으로 적용될 수 있음)은 문헌 [Chothia et al., Nature 342, 877-883 (1989)]에 의해 기재된 방법, 소위 "AbM 정의" 및 소위 "접촉 정의"이다. 그러나, 본 발명의 설명, 측면 및 도면에서는, 달리 표시되지 않는 한, 리히만(Riechmann) 및 뮈이더만스(Muyldermans)에 의해 VHH 도메인에 적용된 바와 같은 카바트에 따르는 넘버링이 뒤따를 것이다.

[0636] 본 발명의 이들 및 다른 측면, 실시양태, 이점, 적용 및 용도는 본원의 추가의 설명으로부터 명백해질 것이다.

[0637] 따라서, 추가 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 적어도 1개 (예컨대 1개, 2개 또는 3개)의 PD1 결합 모이어티

를 포함하거나 또는 이로 본질적으로 이루어지는 폴리펩티드 또는 다른 화학적 실체에 관한 것이다.

- [0638] 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 1개 이상의 다른 아미노산 서열, 화학적 실체 또는 모이어티와 융합될 수 있다. 이들 다른 아미노산 서열, 화학적 실체 또는 모이어티는 이로써 생성되는 본 발명의 PD1 결합체에 하나 이상의 목적하는 특성을 부여할 수 있고/거나 이로써 생성되는 본 발명의 PD1 결합체의 특성을 목적하는 방식으로 변경시켜, 예를 들어 이로써 생성되는 본 발명의 PD1 결합체에 친화성 및 바람직하게 또 다른 치료상 관련된 표적에 대한 효력을 제공하여, 이로써 생성되는 폴리펩티드가 PD1 및 다른 치료상 관련된 표적, 예컨대 CTLA4, LAG3, BTLA 또는 CD27에 대하여 "이중특이적"이 되도록 함), 목적하는 반감기를 제공할 수 있고/거나 약동학적 및/또는 약력학적 특성을 달리 변형 또는 개선시킬 수 있고/거나, PD1 결합체가 특이적 세포, 조직 또는 기관 (암 세포 및 암 조직 포함)을 표적으로 할 수 있게 하고/거나, 세포독성 효과를 제공할 수 있고/거나 검출 가능한 태그 또는 표지로서 제공될 수 있다. 이러한 다른 아미노산 서열, 화학적 실체 또는 모이어티의 일부 비-제한적 예는 하기와 같다:
- [0639] - 하나 이상의 적합한 링커 (예컨대 9GS, 15GS 또는 35GS 링커 (9, 15, 20 또는 35 G 및 S 아미노산의 임의의 조합, 예컨대, 예를 들어, GGGSGGGGS (9GS 링커; 서열식별번호: 125), GGGSGGGSGGGSGGGGS (20GS 링커; 서열식별번호: 100) 또는 GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (35GS 링커; 서열식별번호: 58)) 또는 (GGGS)_n (여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10임); 및/또는
- [0640] - PD1 이외의 치료상 관련된 표적에 대하여 유도되는 하나 이상의 결합 모이어티, 결합 도메인 또는 결합 단위 (즉, PD1과 다른 치료상 관련된 표적, 예를 들어 PD1의 상이한 에피토프, CD27, LAG3, CTLA4, BTLA, TIM3, ICOS, B7-H3, B7-H4, CD137, GITR, PD-L1, PD-L2, ILT1, ILT2, CEACAM1, CEACAM5, TIM3, TIGIT, VISTA, ILT3, ILT4, ILT5, ILT6, ILT7, ILT8, CD40, OX40, CD137, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, NKG2A, NKG2C, NKG2E, IL-10, IL-17, TSLP에 대한 표적 둘 다에 대해 이중특이적인 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)를 제공하기 위함); 및/또는
- [0641] - 반감기 상의 증가를 제공해 주는 하나 이상의 결합 도메인 또는 결합 단위 (예를 들어, 혈청 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 예를 들어 인간 혈청 알부민)에 대하여 결합할 수 있는 결합 도메인 또는 결합 단위), 예를 들어, ALB11002; 및/또는
- [0642] - PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)가 목적하는 세포, 조직 또는 기관 (예컨대 암세포)을 표적으로 하게 하는 하나 이상의 결합 도메인 또는 결합 단위; 및/또는
- [0643] - PD1에 대하여 증가된 특이성을 제공해 주는 하나 이상의 결합 도메인 또는 결합 단위 (통상적으로, 이들은 PD1에 결합할 수 있을 것이지만, 일반적으로 이들 자체는 본질적으로, PD1에 대하여 기능적이지 않을 것임); 및/또는
- [0644] - PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)가 목적하는 세포 내로 내재화되도록 허용해주는 결합 도메인, 결합 단위 또는 다른 화학적 실체 (예를 들어, WO 05/044858에 기재된 바와 같은 내재화 항-EGFR 나노바디); 및/또는
- [0645] - 반감기를 개선시켜 주는 모이어티, 예컨대 적합한 폴리에틸렌글리콜 기 (즉, PEG화) 또는 증가된 반감기를 제공해 주는 아미노산 서열, 예컨대 인간 혈청 알부민 또는 그의 적합한 단편 (즉, 알부민 융합) 또는 예를 들어 WO 2008/068280에 기재된 바와 같은 혈청 알부민 결합 펩티드; 및/또는
- [0646] - 페이로드, 예컨대 세포독성 페이로드; 및/또는
- [0647] - 검출 가능한 표지 또는 태그, 예컨대 방사성 표지 또는 형광성 표지; 및/또는
- [0648] - PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)의 고정화, 검출 및/또는 정제에 도움을 줄 수 있는 태그, 예컨대 HIS (예를 들어, HHHHHH; 서열식별번호: 93 또는 HHHHHHHHHHHHHHHHHHH; 서열식별번호: 94) 또는 FLAG 태그 (DYKDDDK (서열식별번호: 95)) (예를 들어, FLAG₆); 및/또는
- [0649] - 기능성화될 수 있는 태그, 예컨대 C-말단 GGC 또는 GGC 태그; 및/또는
- [0650] - 본 발명의 PD1 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)에 대하여 본원에 추가로 기재된 바와 같을 수 있고/거나 WO 12/175741 또는 PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)에 기재된 바와 같을 수 있는 C-말단 연장 X(n) (예를 들어, -Ala).

[0651] 본 발명의 범위는 (바람직하게 인간) 항체의 하나 이상의 부분 또는 단편 (예컨대 Fc 부분 또는 그의 기능적 단편 또는 하나 이상의 불변 도메인)을 포함하고/거나 카멜리드 중쇄 단독 항체 (예컨대 하나 이상의 불변 도메인)로부터의 PD1 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)를 포함한다.

[0652] **LAG3 결합제**

[0653] 본 발명은 개선된 LAG3 결합제, 예를 들어, 개선된 항-LAG3 ISVD 및 보다 특히 개선된 LAG3 나노바디, 예를 들어, 11B09 (L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L); F0237611B09 (L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L); F0237611B09 (E1D, L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L)-35GS-ALB11002-A; 또는 F0237611B09(E1D, L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L)-35GS-F0237611B09 (L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L)-35GS-ALB11002-A를 제공한다.

[0654] 논의된 바와 같이 본 발명의 "LAG3 결합제"는 LAG3에 결합하는 본원에 기재된 분자 중 임의의 것 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) 뿐만 아니라 또 다른 결합제와 융합되는 상기 분자를 포함하는 임의의 다가 또는 다중 특이적 결합제 (예를 들어, PD1/LAG3 결합제)이다. 예를 들어, LAG3 결합제는 PD1, CD27, CTLA4, HSA, BTLA, TIM3, ICOS, B7-H3, B7-H4, CD137, GITR, PD-L1, PD-L2, ILT1, ILT2, CEACAM1, CEACAM5, TIM3, TIGIT, VISTA, ILT3, ILT4, ILT5, ILT6, ILT7, ILT8, CD40, OX40, CD137, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, NKG2A, NKG2C, NKG2E, IL-10, IL-17, TSLP에 결합하는 모이어티와 융합된 LAG3 결합 모이어티를 포함할 수 있다. 개별 LAG3 결합제는 그것이 더 큰 분자, 예를 들어, 다가 분자의 일부인 경우에 LAG3 결합 모이어티로서 지칭될 수 있으며, 여기서 이러한 LAG3 결합 모이어티는 또 다른 결합 모이어티, 예컨대 F023700924 또는 F023700931과 융합된다.

[0655] 본 발명의 LAG3 결합제는 서열식별번호: 63의 아미노산 서열을 포함하지만, 위치 1, 11, 14, 41, 43, 62, 74, 83 및/또는 89에서 돌연변이된 폴리펩티드의 변이체인 폴리펩티드를 포함한다.

[0656] 본원에 추가로 기재되는 바와 같이, 본 발명의 LAG3 결합제는 바람직하게, 11B09에 존재하거나 또는 11B09의 서열 (서열식별번호: 63)을 포함하는 결합제에 존재하는 바와 동일한 CDR (즉, CDR1, CDR2 및 CDR3)의 조합을 갖는다. 표 B-1을 참조한다.

[0657] 본 발명은 또한, 아래 표 B-2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 11B09의 변이체인 LAG3 결합제를 포함한다. 본 발명의 범위는 아래 표 B-2에 제시된 상기 변이체의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 LAG3 결합제를 포함한다.

[0658] 또한, 본 발명은 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하거나 또는 11B09의 아미노산 서열 또는 아래 표 B-2에 제시된 그의 변이체 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 LAG3 결합 모이어티를 포함하는 PD1/LAG3 결합제를 포함한다.

[0659] **표 B-1. LAG3 결합제 11B09.**

설명	서열
11B09 (“F0237611B09” 또는 “611B09”로서 본원에 지칭될 수 있음) SEQ ID NO: 63	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAAS GRTFSDYVMGW FRQARGNEREFV AAISESGGRTH YADAVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAT TLLWWTSEYAPIKANDYD YW GQGTLVTVSS

[0660]

[0661] 표 B-2. 서열 최적화된 11B09 LAG3 결합제.

설명	서열
11B09 (L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L) 명칭: F023700842 SEQ ID NO: 64	EVQLVE SGGGVVQPGG SRLSCAASG RTFS <u>SDYVMG</u> W FRQAPGKERE FVA AISESGG RTHYADSVKG RFTISRDNK NTLYLQMNSL RPEDTALYYC AT <u>TLWWTSE YAPIKANDYD</u> <u>YWGQ</u> GLVTV SS
CDR1 (SEQ ID NO: 65)	GRTFS <u>SDYVMG</u> 또는 <u>DYVMG</u>
CDR2 (SEQ ID NO: 66)	AISESGGRTH 또는 AISESGGRTHYADSVKG ; 여기서 X는 A 또는 s임 (예를 들어, AISESGGRTHYADSVKG 또는 AISESGGRTHYADSVKG)
CDR3 (SEQ ID NO: 67)	<u>TLWWTSEYAPIKANDYD</u>
1가 SO (서열 최적화된) 611B09 + ALB11002 명칭: F023701128 설명: F0237611B09(E1D,L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-35GS-ALB11002-A 표적: hLAG-3 SEQ ID NO: 96	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS GRTFS <u>SDYVMG</u> WFRQAPGKEREFV A <u>AISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN</u> SLRPEDTALYYC AT <u>TLWWTSEYAPIKANDYD</u> <u>YWGQ</u> GLVTVSSGGGGSGGGSGGGSG GGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRPEDTALYYCTIGGSLRSSQGLVTVSSA
2가 SO (서열 최적화된) 611B09 + ALB11002	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS GRTFS <u>SDYVMG</u> WFRQAPGKEREFV A <u>AISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN</u> SLRPEDTALYYC AT <u>TLWWTSEYAPIKANDYD</u> <u>YWGQ</u> GLVTVSSGGGGSGGGSGGGSG GGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS GRTF

[0662]

<p>명칭: F023700962</p> <p>설명: F0237611B09 (E1D,L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-35GS-F0237611B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-35GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 97</p>	<p>SDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQTLVT VSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGG VVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVSSA</p>
<p>명칭: F023700594</p> <p>설명: F0237611B09-35GS-F0237611B09-35GS-ALB11002</p> <p>표적: hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 127</p>	<p>EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQARGNEREFV AAISESGGRTHYADAVKGRFTISRDN AKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYC ATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGG GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTF SDYVMGWFRQARGNEREFVAAISESGGRTHYADAVKGRFTISRDN AKN TLYLQMNSLKPEDTAVYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQTLVT VSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGG LVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVSS</p>

[0663]

[0664]

*LAG3 결합체의 CDR: 강조되고/거나 볼드체.

[0665]

본 발명은 본 발명의 LAG3 결합체 (예를 들어, PD1/LAG3 결합체 중)가 상기 표 B-1 또는 B-2에 제시된 LAG3 결합체 (예를 들어, 서열식별번호: 63, 64, 95, 96 또는 97)의 CDR 중 1개, 2개 또는 3개 (여기서 각각은 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5개 아미노산 치환, 예를 들어, 보존적 치환을 포함하고/거나 표 B-1 또는 B-2에 제시된 CDR 서열과 비교하여 100, 99, 98, 97, 96 또는 95% 서열 동일성을 포함함)를 포함하는 실시양태를 포함하며, 여기서 이러한 CDR을 갖는 본 발명의 LAG3 결합체는 LAG3에 결합할 수 있는 능력을 보유하고 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명의 LAG3 결합체의 첫 번째 아미노산은 E이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명의 LAG3 결합체의 첫 번째 아미노산은 E 또는 D이다.

[0666]

본 발명은 LAG3 결합체 F023700656 (11B09 (E1D); 서열식별번호: 63 (E1D))을 포함한다.

[0667]

표 B-1 또는 B-2에 제시된 LAG3 결합체의 특징의 잔기에 대한 카바트 잔기 번호는 아래 서열에 나타난다:

[0668]

EVQLVE SGGGV₁₁VQP₁₄GG SLRLSCAASG RTFSDYVMGW FRQAP₄₁**GK**₄₃ERE

[0669]

FVA**AISESG** RTHYAD**S**₆₂VKG RFTISRDN**S**₇₄K NTLYLQMN**SL**

[0670]

R₃₃PEDTAL₈₉YYC AT**TLLWWTSE** YAPIKANDYD YWGQTLVTV SS

[0671]

(서열식별번호: 64). 임의적으로, 잔기 1은 D이다.

[0672]

본 발명은 서열식별번호: 63, 64 또는 127의 아미노산 서열을 포함하는 (또는 서열식별번호: 96 또는 97의 LAG3 결합체 모이어티를 갖는) 임의의 LAG3 결합체 (뿐만 아니라 E1D 또는 D1E 돌연변이를 갖는 LAG3 결합체); 또는 80% 이상 (예를 들어, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 아미노산 서열 동일성 (즉, 완전한 아미노산 서열과 비교함)을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 임의의 LAG3 결합체를 포함하며, 여기서 LAG3 결합체는 LAG3에 결합할 수 있는 능력을 보유하고, 임의적으로, HSA 결합체를 포함한다.

- [0673] 본 발명은 서열식별번호: 63, 64, 96, 97 또는 127에 제시된 아미노산 서열 (또는 본원에 기재된 바와 같은 그의 변이체)를 포함하는 결합체의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 갖고, 예를 들어, 하기 CDR:
- [0674] - 아미노산 서열 GRTFSYVMG (서열식별번호: 65)을 포함하는 CDR1; 및
- [0675] - 아미노산 서열 AISESGGRTH (서열식별번호: 66)을 포함하는 CDR2; 및
- [0676] - 아미노산 서열 TLLWWTSEYAPIKANDYDY (서열식별번호: 67)을 포함하는 CDR3
- [0677] 을 포함하고; 임의적으로,
- [0678] - 서열식별번호: 63, 64, 96, 97 또는 127의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게 적어도 90%, 보다 바람직하게 적어도 95%의 서열 동일성의 정도 (여기서 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 CDR은 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음) (여기서 CDR, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 위치 1, 11, 14, 41, 43, 62, 74, 76, 83, 89, 100 및/또는 105에서의 돌연변이는 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음); 및/또는
- [0679] - 서열식별번호: 63, 64, 96, 97 또는 127의 아미노산 서열과 7개 이하, 예컨대 5개 이하, 바람직하게 3개 이하, 예컨대 단지 3개, 2개 또는 1개의 "아미노산 차이" (본원에 정의된 바와 같고, 존재할 수도 있는 위치 1, 11, 14, 41, 43, 62, 74, 76, 83, 89, 100 및/또는 105에서의 본원에 제시된 돌연변이 중 어떠한 것도 고려되지 않고, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않음) (여기서 상기 아미노산 차이가 존재하는 경우, 이는 프레임워크 및/또는 CDR 내에 존재할 수 있지만, 바람직하게 프레임워크에서만 존재하고 CDR에는 존재하지 않음)
- [0680] 를 갖고; 임의적으로:
- [0681] - 본원에 논의된 바와 같은 C-말단 연장, 예를 들어 (X)_n (여기서 n은 1 내지 10, 바람직하게 1 내지 5, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5 (및 바람직하게 1 또는 2, 예컨대 1)이고; 각각의 X는 독립적으로 선택되는 (바람직하게 자연적으로 발생하는) 아미노산 잔기이고, 바람직하게는 알라닌 (A), 글리신 (G), 발린 (V), 류신 (L) 또는 이소류신 (I)으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택됨)
- [0682] 을 갖는 LAG3 결합체, 예컨대 LAG3 ISVD (예를 들어, 나노바디)를 포함한다.
- [0683] 본 발명은 또한, 하나 이상의 반감기 연장제, 예컨대 인간 혈청 알부민에 결합하는 ISVD, 예를 들어, ALB11002와 융합된 LAG3 결합체를 포함한다.
- [0684] **다중특이적 결합체**
- [0685] 본 발명은 PD1 및 LAG3에 결합하는 단일 다가, 다중특이적 분자에서 융합될 수 있는 PD1 결합체 및 LAG3 결합체 (PD1/LAG3 결합체)를 포함하고, 본 발명의 한 실시양태에서, 이러한 결합체는 대상체의 신체 내에서 결합체의 반감기를 증가시켜 주는 하나 이상의 반감기 연장제와 연결된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 반감기 연장제는 인간 혈청 알부민 (HSA)과 특이적으로 결합하는 ISVD (예를 들어, 나노바디), 예를 들어, ALB11002이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 다중특이적 결합체는 본원에 기재된 바와 같은 F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177이다.
- [0686] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1/LAG3 결합체는
- [0687] (1) 표 A-1 또는 A-2에 제시된 PD1 결합체 중 임의의 것의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하고, 임의적으로, 각각 독립적으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 돌연변이)을 포함하거나; 또는
- [0688] 아미노산 서열 IHAMG (서열식별번호: 3) 또는 GSIASIHAMG (서열식별번호: 6)을 포함하는 CDR1;
- [0689] 아미노산 서열 VITXSGGITYYADSVKG (서열식별번호: 4; 여기서 X는 W 또는 V, 예를 들어, W임) 또는 VITXSGGITY (서열식별번호: 7; 여기서 X는 W 또는 V, 예를 들어, W임)을 포함하는 CDR2; 및
- [0690] 아미노산 서열 DKHQSSXYDY (서열식별번호: 5; 여기서 X는 W 또는 F, 예를 들어, W임)을 포함하는 CDR3
- [0691] 을 포함하는 PD1 결합체; 및

- [0692] (2) 표 B-1 또는 B-2에 제시된 LAG3 결합제 중 임의의 것의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하고, 임의적으로, 각각 독립적으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 돌연변이)을 포함하거나; 또는
- [0693] 아미노산 서열 GRTFSDYVMG (서열식별번호: 65)을 포함하는 CDR1;
- [0694] 아미노산 서열 AISESGGRTH (서열식별번호: 66)을 포함하는 CDR2; 및
- [0695] 아미노산 서열 TLLWWTSEYAPIKANDYDY (서열식별번호: 67)을 포함하는 CDR3
- [0696] 을 포함하는 LAG3 결합제
- [0697] 를 포함하고, 임의적으로, 반감기 연장제 및/또는 C-말단 연장제, 예를 들어, 본원에 제시된 바와 같은 HSA 결합제 및/또는, 임의적으로 C-말단 연장제, 예컨대 알라닌을 포함한다.
- [0698] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 결합제는, 예를 들어, 서열식별번호: 57, 98, 99, 103, 104 또는 105의 아미노산 서열 (임의적으로 여기서 잔기 1은 E 또는 D임)을 포함하는, "PD1 결합제" 하에 상기 제시된 바와 같다. 본 발명의 한 실시양태에서, LAG3 결합제는, 예를 들어, 서열식별번호: 63, 64 또는 95의 아미노산 서열 (임의적으로 여기서 잔기 1은 E 또는 D임)을 포함하는, "LAG3 결합제" 하에 상기 제시된 바와 같다.
- [0699] 다중특이적 결합제는 PD1 및 LAG3 및, 임의적으로, HSA 결합제 뿐만 아니라 부가 항원, 예컨대 CD27, CTLA4, BTLA, TIM3, ICOS, B7-H3, B7-H4, CD137, GITR, PD-L1, PD-L2, ILT1, ILT2, CEACAM1, CEACAM5, TIM3, TIGIT, VISTA, ILT3, ILT4, ILT5, ILT6, ILT7, ILT8, CD40, OX40, CD137, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, NKG2A, NKG2C, NKG2E, IL-10, IL-17 또는 TSLP에 결합하는 하나 이상의 결합제를 포함할 수 있다.
- [0700] PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)가 하나 이상의 추가 결합 도메인 또는 결합 단위 (예를 들어, PD1 및/또는 LAG3에 대하여 증가된 특이성을 제공해 주는 PD1 및/또는 LAG3에 대한 추가의 본질적으로 비-기능적 결합 도메인 또는 결합 단위; PD1 및/또는 LAG3 이외의 치료 표적 (예를 들어, CTLA4, BTLA 또는 CD27)에 대한 결합 도메인 또는 결합 단위; 증가된 반감기를 제공해 주는 표적, 예컨대 인간 혈청 알부민에 대한 결합 도메인 또는 결합 단위; 및/또는 PD1 및/또는 LAG3 결합제가 특이적 세포, 조직 또는 기관을 표적으로 하게 하고/거나 PD1 및/또는 LAG3 결합제가 세포 내로 내재화되도록 허용해 주는 결합 도메인 또는 결합 단위)를 함유하는 경우, 이들 다른 결합 도메인 또는 결합 단위는 바람직하게 하나 이상의 ISVD (예를 들어, 나노바디)를 포함하고, 보다 바람직하게 모든 ISVD이다. 예를 들어 및 제한 없이, 이들 하나 이상의 추가 결합 도메인 또는 결합 단위는 하나 이상의 나노바디 (VHH, 인간화 VHH 및/또는 카멜화 VH, 예컨대 카멜화 인간 VH 포함); VH 도메인이거나 또는 VH 도메인으로부터 유래되는 (단일 도메인) 항체; VH 도메인이거나 또는 이로 본질적으로 이루어지거나 또는 VH 도메인으로부터 유래되는 dAb; 또는 심지어 VL 도메인이거나 또는 이로 본질적으로 이루어지는 (단일) 도메인 항체 또는 dAb일 수 있다. 특히, 이들 하나 이상의 결합 도메인 또는 결합 단위는 존재하는 경우, 하나 이상의 나노바디를 포함할 수 있고, 보다 특히 모든 나노바디이다. 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 이외의 표적에 결합하는 ISVD (예를 들어, 나노바디)는 또 다른 표적, 예컨대 HSA, CTLA-4, BTLA 또는 CD27에 결합한다.
- [0701] 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)가 그의 C-말단 단부에 ISVD (예를 들어, 나노바디)를 갖는 경우 (예를 들어, C-말단 ISVD는 PD1 및/또는 LAG3에 결합하거나 또는 예를 들어, 폴리펩티드에 존재하는 경우, PD1 및/또는 LAG3에 대하여 증가된 특이성을 제공해 주는 PD1 및/또는 LAG3에 대한 추가의 본질적으로 비-기능적 ISVD; PD1 및/또는 LAG3 이외의 치료 표적에 대한 ISVD; 증가된 반감기를 제공해 주는 표적, 예컨대 인간 혈청 알부민에 대한 ISVD; 또는 PD1 및/또는 LAG3 결합제가 특이적 세포, 조직 또는 기관을 표적으로 하게 하고/거나 PD1 및/또는 LAG3 결합제가 세포 내로 내재화되도록 허용해 주는 ISVD일 수 있음), PD1 및/또는 LAG3 결합제 (즉, 상기 C-말단 ISVD를 포함함)는 바람직하게 C-말단 연장 X(n) (예를 들어, -Ala)을 가지며, C-말단 연장은 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제에 대하여 본원에 기재된 바와 같을 수 있고/거나 WO 12/175741 또는 PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)에 기재된 바와 같을 수 있다.
- [0702] PD1 및/또는 LAG3 결합제가 PD1 및/또는 LAG3에 결합하는 하나 이상의 모이어티 외에도, 임의의 추가 ISVD (예를 들어, 나노바디) (하나 이상의 추가 ISVD는 언급된 바와 같이, PD1 및/또는 LAG3에 대하여 증가된 특이성을 제공해 주는 PD1 및/또는 LAG3에 대한 추가의 본질적으로 비-기능적 ISVD; PD1 및/또는 LAG3 이외의 치료 표적에 대한 ISVD; 증가된 반감기를 제공해 주는 표적, 예컨대 인간 혈청 알부민에 대한 ISVD; 및/또는 본

발명의 폴리펩티드가 특이적 세포, 조직 또는 기관을 표적으로 하게 하고/거나 본 발명의 폴리펩티드가 세포 내로 내재화되도록 허용해 주는 ISVD일 수 있음)를 함유하는 경우, 및 이러한 추가 ISVD가 나노바디이거나; 또는 VH 서열이거나 또는 VH 서열로 본질적으로 이루어지고/거나 VH 서열로부터 유래되는 ISVD인 경우, 본 발명의 바람직한 측면에 따라서 PD1 및/또는 LAG3 결합체에 존재하는 상기 하나 이상 (및 바람직하게 모든)의 ISVD는 선제하는 항체에 의한 결합을 저하시키는 하나 이상의 프레임워크 돌연변이를 그들의 서열 내에 함유할 것이다. 특히, 본 발명의 상기 측면에 따르면, 이러한 추가 ISVD는 PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)에 기재되는 바와 같고/거나 본질적으로 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합체에 대하여 본원에 기재되는 바와 같은 위치 1, 11, 14, 74, 83, 89, 110 및/또는 112에서의 아미노산 잔기/돌연변이의 적합한 조합을 함유할 수 있다. 하나의 구체적 측면에서, PD1 및/또는 LAG3 결합체가 그의 C-말단 단부에 이러한 ISVD를 갖는 경우, C-말단에 존재하고/거나 C-말단을 형성하는 상기 ISVD는 선제하는 항체에 의한 결합을 저하시켜 주는 상기 프레임워크 돌연변이를 가지며; 상기 C-말단 ISVD는 바람직하게 또한, 본원에 기재된 바와 같은 C-말단 연장 X(n) (예를 들어, -Ala)을 가질 것이다.

[0703] PD1 및/또는 LAG3 결합체가 증가된 반감기 (즉, 반감기 연장제, 예컨대 ALB11002가 결합된 본 발명의 1가 결합체와 비교함)를 가져야 하는 경우, PD1 및/또는 LAG3 결합체는 바람직하게, 이러한 증가된 반감기를 제공해 주는 적어도 하나 (예를 들어, 하나)의 ISVD (예를 들어, 나노바디) (예를 들어, ALB11002)를 함유한다. 이러한 ISVD는 본 발명의 한 실시양태에서, 적합한 혈청 단백질, 예컨대 트랜스페린 또는 (인간) 혈청 알부민에 대항하여 유도된다. 특히, 이러한 ISVD 또는 나노바디는, 예를 들어 EP 2 139 918, WO 2011/006915, WO 2012/175400, WO 2014/111550에 기재된 바와 같이 인간 혈청 알부민에 대항한 (단일) 도메인 항체 또는 dAb일 수 있고, 특히 WO 2004/041865, WO 2006/122787, WO 2012/175400 또는 PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)에 기재된 바와 같은 혈청 알부민 결합 나노바디일 수 있다. 특히 바람직한 혈청 알부민 결합 ISVD는 나노바디 A1b-1 (WO 2006/122787 참조) 또는 그의 인간화 변이체, 예컨대 A1b-8 (WO 2006/122787, 서열식별번호: 62), A1b-23 (WO 2012/175400, 서열식별번호: 1); 및 A1b-1의 다른 인간화 (및 바람직하게 또한 서열-최적화된) 변이체 및/또는 A1b-8 또는 A1b-23의 변이체 (또는 보다 일반적으로, A1b-1, A1b-8 및 A1b-23과 본질적으로 동일한 CDR을 갖는 ISVD)이다.

[0704] 논의된 바와 같이 본 발명의 "HSA 결합체"는 HSA에 결합하는 분자, 예컨대 본원에 기재된 분자 중 임의의 것 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) 뿐만 아니라 또 다른 결합체와 융합되는 상기 분자를 포함하는 임의의 다가 또는 다중특이적 결합체이다. 개별 HSA 결합체는 그것이 더 큰 분자, 예를 들어, 다가 분자의 일부인 경우에 HSA 결합 모이어티로서 지칭될 수 있으며, 여기서 이러한 HSA 결합 모이어티는 또 다른 결합 모이어티와 융합된다.

[0705] 본 발명의 한 실시양태에서, 반감기 연장제는 인간 혈청 알부민에 결합하는 ISVD (예를 들어, 나노바디), 예를 들어, 아래 표 C에 요약된 바와 같은 ALB11002이다.

[0706] 본원에 추가로 기재되는 바와 같이, 본 발명의 HSA 결합체는 바람직하게, ALB11002에 존재하는 바와 동일한 CDR (즉, CDR1, CDR2 및 CDR3)의 조합을 갖거나 또는 ALB11002의 서열 (서열식별번호: 59)을 포함한다. 표 C를 참조한다.

[0707] 본 발명은 또한, 아래 표 C에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 ALB11002의 변이체인 HSA 결합체를 포함한다. 본 발명의 범위는 아래 표 C에 제시된 상기 변이체의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 HSA 결합체를 포함한다.

[0708] 또한, 본 발명은 ALB11002의 CDR1, CDR2 및 CDR3 또는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 아래 표 C에 제시된 그의 변이체 중 하나의 아미노산 서열을 포함하는 HSA 결합 모이어티를 포함하는 PD1/LAG3 결합체를 포함한다.

[0709] 표 C. 인간 혈청 알부민 (HSA) 나노바디 ALB11002

SEQ ID NO	설명	서열
59	ALB11002 (“ALB201”로서 본원에 지칭될 수 있음)	EVQLVESGGG XVQPGNSLRL SCAAS GFTFS SFGMSWVRQA PGKGLEWV SS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRD NAKTTLY LQMNSLRPED TAXYYCTI GG SLSR SSQGT L VTVSSA; 여기서 잔기 11 및 93에서의 X는 L 또는 V임
60	CDR1	GFTFSSFGMS 또는 SFGMS (SEQ ID NO: 60의 아미노산 1-5)
61	CDR2	SISGSGSDTLYADSVKG 또는 SISGSGSDTL (SEQ ID NO: 61의 아미노산 1-10)
62	CDR3	GGSLSR

[0710]

[0711]

* 임의적으로, ALB11002에는 C-말단 알라닌이 결여된다. 임의적으로, HSA 결합체는 서열식별번호: 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하지만, E1D, V11L 및/또는 L93V 돌연변이를 포함하고, 예를 들어, 아미노산 서열:

[0712]

EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDALYYCTIGGSLRSSQGLTVSS (서열식별번호: 59)을 포함한다.

[0713]

본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명의 HSA 결합체의 첫 번째 아미노산은 E이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명의 HSA 결합체의 첫 번째 아미노산은 D이다.

[0714]

본 발명은 HSA 결합체의 CDR 중 1개, 2개 또는 3개가 각각 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5개 아미노산 치환, 예를 들어, 보존적 치환을 포함하고/거나 표 C에 제시된 CDR 서열과 비교하여 99, 98, 97, 96 또는 95% 서열 동일성을 포함하는 실시양태를 포함하며, 여기서 이러한 CDR을 갖는 HSA 결합체는 HSA에 결합할 수 있는 능력을 보유하고 있다.

[0715]

본 발명의 한 실시양태에서, 반감기 연장제는

[0716]

- 아미노산 서열 GFTFSSFGMS (서열식별번호: 60)을 포함하는 CDR1; 및

[0717]

- 아미노산 서열 SISGSGSDTL (서열식별번호: 61)을 포함하는 CDR2; 및

[0718]

- 아미노산 서열 GGSLSR (서열식별번호: 62)을 포함하는 CDR3

[0719]

을 포함하고; 임의적으로:

[0720]

- 서열식별번호: 59의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게 적어도 90%, 보다 바람직하게 적어도 95%의 서열 동일성의 정도 (여기서 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장 뿐만 아니라 CDR은 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음) (여기서 CDR, 존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 서열 동일성의 정도를 결정하는데 고려되지 않음); 및/또는

[0721]

- 서열식별번호: 59의 아미노산 서열과 7개 이하, 예컨대 5개 이하, 바람직하게 3개 이하, 예컨대 단지 3개, 2개 또는 1개의 "아미노산 차이" (존재할 수도 있는 임의의 C-말단 연장은 고려되지 않음) (여기서 상기 아미노산 차이가 존재하는 경우, 이는 프레임워크 및/또는 CDR 내에 존재할 수 있지만, 바람직하게 프레임워크에서만 존재하고 CDR에는 존재하지 않음)

[0722]

를 갖고; 임의적으로:

[0723]

- C-말단 연장 (X)_n (여기서 n은 1 내지 10, 바람직하게 1 내지 5, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5 (및 바람직하게 1 또는 2, 예컨대 1)이고; 각각의 X는 독립적으로 선택되는 (바람직하게 자연적으로 발생하는) 아미노산 잔기이고, 바람직하게는 알라닌 (A), 글리신 (G), 발린 (V), 류신 (L) 또는 이소류신 (I)으로 이루어진 군으로부터 독

립적으로 선택됨)

- [0724] 을 갖는 HSA ISVD (예를 들어, 나노바디)이다.
- [0725] 이러한 인간 혈청 알부민 결합 ISVD (예를 들어, 나노바디)가 존재하는 경우, 이는 선제하는 항체에 의한 결합을 저하시키는 하나 이상의 프레임워크 돌연변이를 그의 서열 내에 함유할 수 있다. 특히, 이러한 혈청 알부민 결합 ISVD가 VH 도메인이거나, 이로 본질적으로 이루어지고/거나 VH 도메인으로부터 유래되는 (단일) 도메인 항체 또는 나노바디인 경우, 혈청 알부민 결합 ISVD는 PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)에 기재된 바와 같고/거나 본질적으로 본 발명의 PD1 결합체에 대하여 본원에 기재된 바와 같은 위치 11, 89, 110 및/또는 112에서의 아미노산 잔기/돌연변이 (그의 적합한 조합)를 함유할 수 있다. 예를 들어, PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)에는 본 발명의 폴리펩티드에 사용될 수 있는 선제하는 항체에 의한 결합을 저하시키는 위치 11, 89, 110 및/또는 112에서의 아미노산 잔기/돌연변이를 함유하는 Alb-1, Alb-8 및 Alb-23의 수많은 변이체가 기재되어 있다.
- [0726] 이러한 혈청 알부민 결합 ISVD (예를 들어, 나노바디)가 PD1 및/또는 LAG3 결합체의 C-말단 단부에 존재하는 경우, 혈청 알부민 결합 ISVD (및 그 결과로서, 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합체)는 바람직하게 C-말단 연장 X(n)을 가지며, 이러한 C-말단 연장은 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합체에 대하여 본원에 기재된 바와 같을 수 있고/거나 WO 12/175741 또는 PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)에 기재된 바와 같을 수 있다. 예를 들어, C-말단 연장은 단일 알라닌 잔기일 수 있다. 이는 또한 바람직하게, PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)에 기재된 위치 11, 89, 110 및/또는 112에서의 아미노산 잔기/돌연변이 (그의 적합한 조합)와 같이, 선제하는 항체의 결합을 저하시키는 돌연변이를 갖는다.
- [0727] 그러나, 언급된 바와 같이, 본 발명의 폴리펩티드의 반감기를 증가시키는 다른 수단 (예컨대 PEG화, 인간 알부민 또는 그의 적합한 단편과의 융합, 또는 적합한 혈청 알부민-결합 펩티드의 사용)이 또한, 본 발명의 범위 내에 포함된다.
- [0728] 일반적으로, 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합체가 증가된 반감기를 갖는 경우 (예를 들어, 반감기 증가성 ISVD (예를 들어, 나노바디)의 존재 또는 반감기를 증가시키는 임의의 다른 적합한 방식을 통한), 이로써 생성되는 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합체는 바람직하게, 반감기 연장체가 결합된 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합체의 반감기보다 적어도 2배, 바람직하게 적어도 5배, 예를 들어 적어도 10배 또는 20배 초과하여 더 큰 반감기 (본원에 정의된 바와 같음)를 갖는다 (인간 및/또는 적합한 동물 모델, 예컨대 마우스 또는 시노몰구스 원숭이에서 측정된 바와 같음). 특히, 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합체는 바람직하게, 인간 대상체에서 적어도 1일, 바람직하게 적어도 3일, 보다 바람직하게 적어도 7일, 예컨대 적어도 10일의 반감기 (본원에 정의된 바와 같음)를 갖는다.
- [0729] 하나 이상의 ISVD (예를 들어, 나노바디)에 근거하는 PD1 결합체 및 LAG3 결합체가 상이한 "포맷"을 가질 수 있으며, 즉 본질적으로 1가, 2가 또는 3가일 수 있고, 단일특이적, 이중특이적, 삼중특이적 등일 수 있으며, 이중파라토프 (본원 및 예를 들어 WO2009/68625에 정의된 바와 같음)일 수 있다는 것이 본원의 개시내용으로부터 명백할 것이다. 예를 들어, 본 발명의 PD1 결합체 또는 LAG3 결합체는 하기와 같을 수 있다:
- [0730] - 1가, 즉 단일 PD1 또는 LAG3 결합 모이어티 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)를 포함한다. 언급된 바와 같이, 1가 포맷으로 사용되는 경우, 본 발명의 PD1 결합체 또는 LAG3 결합체는 바람직하게, 본원에 추가로 기재되는 바와 같은 C-말단 연장 X(n)을 갖는다. 이러한 본 발명의 PD1 결합체 또는 LAG3 결합체는 또한 반감기 연장될 수 있고;
- [0731] - 2가 또는 3가 및 단일특이적일 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 한 실시양태에서, 이러한 본 발명의 PD1 결합체 또는 LAG3 결합체는 PD1 또는 LAG3 각각에 대한 2개 이상의 ISVD (예를 들어, 나노바디)를 포함하며, 이는 동일하거나 상이할 수 있고, 상이한 경우 PD1 또는 LAG3의 동일한 에피토프에 대하여 유도될 수 있거나 또는 PD1 또는 LAG3 상의 상이한 에피토프에 대하여 유도될 수 있다 (후자의 경우는, 본 발명의 이중파라토프 또는 다중파라토프 PD1 결합체 또는 LAG3 결합체를 제공하도록 하기 위함). 이러한 본 발명의 PD1 결합체 또는 LAG3 결합체는 반감기 연장될 수도 있으며;
- [0732] - 2가, 3가 (또는 다가) 및 이중특이적 또는 삼중특이적 (또는 다중특이적)일 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 한 실시양태에서, 이러한 본 발명의 PD1 결합체는 PD1 및 적어도 하나의 다른 표적, 예컨대, 예를 들어, CTLA-4, LAG-3, BTLA 및/또는 CD27에 대하여 유도될 것이고; 예를 들어, PD1 결합 모이어티와 CTLA4 결합 모이어티; PD1 결합 모이어티와 BTLA 결합 모이어티; PD1 결합 모이어티와 LAG3 결합 모이어티 (즉, PD1/LAG3

결합제); 또는 PD1 결합 모이어티, LAG3 결합 모이어티 및 BTLA 결합 모이어티를 포함한다. 본원에 기재된 바와 같이, 상기 다른 표적은, 예를 들어 또 다른 치료상 관련된 표적 (즉, PD1 이외)이어서, PD1 및 상기 다른 치료 표적에 관해서 이중특이적인 본 발명의 PD1 결합제를 제공하도록 할 수 있다. 상기 다른 표적은 또한, 증가된 반감기를 제공해 주는 표적 (예컨대 인간 혈청 알부민)이어서, 증가된 반감기를 갖는 본 발명의 PD1 결합제를 제공하도록 할 수 있다. 또한 본원에 언급된 바와 같이, 상기 다른 표적은 또한, 본 발명의 PD1 결합제가 특이적 세포, 조직 또는 기관을 표적으로 하도록 허용해주고/거나 본 발명의 PD1 결합제가 세포 내로 내재화되도록 허용해줄 수 있다. 이들 접근 방식/ISVD를 조합하여, 예를 들어 PD1 및 적어도 하나의 다른 치료상 관련된 표적에 대해 이중특이적이고 반감기 연장되는 본 발명의 PD1 결합제를 제공하는 것이 또한 가능하다.

[0733] 또한, 바람직하게, 이들 PD1 결합제 및 LAG3 결합제가 PD1 결합 모이어티 또는 LAG3 결합 모이어티 이외의 하나 이상의 ISVD (예를 들어, 나노바디)를 포함하는 경우, 이들 다른 ISVD 중 적어도 하나 및 바람직하게 모두가, 선제하는 항체에 의한 결합을 저하시키는 하나 이상의 프레임워크 돌연변이를 그의 서열 내에 함유할 것이다 (예컨대, 특히, 본 발명의 PD1 결합제 및 LAG3 결합제에 대하여 본원에 기재된 바와 같고/거나 PCT/EP2015/060643 (W02015/173325)에 일반적으로 기재된 바와 같은, 위치 1, 11, 14, 52a, 73, 74, 83, 89, 100a, 110 및/또는 112에서의 아미노산 잔기/돌연변이의 조합). 또한, 이러한 본 발명의 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제가 그의 C-말단 단부에 PD1 결합 모이어티 또는 LAG3 결합 모이어티를 각각 갖는 경우, 상기 C-말단 PD1 결합 모이어티 또는 LAG3 결합 모이어티 (및 그 결과로서, 본 발명의 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제)는 바람직하게, 본원에 기재된 바와 같은 C-말단 연장 X(n)을 가질 것이다. 유사하게, 이러한 본 발명의 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제가 그의 C-말단 단부에 또 다른 ISVD를 갖는 경우 (즉, PD1 결합 모이어티 또는 LAG3 결합 모이어티는 아니지만, 예를 들어 반감기 연장 ISVD임), 상기 C-말단 ISVD (및 그 결과로서, 본 발명의 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제)는 바람직하게, 본원에 기재된 바와 같은 C-말단 연장 X(n)을 가질 것이고/거나 선제하는 항체에 의한 결합을 저하시키는 하나 이상의 프레임워크 돌연변이를 그의 서열 내에 함유할 것이다 (또한, 본원 및 PCT/EP2015/060643 (W02015/173325)에 추가로 기재된 바와 같음).

[0734] 통상의 기술자에게 명백한 바와 같이, 본 발명의 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)가 국소 사용 (즉, 피부 상에서 또는 눈 안에)을 목적으로 하거나 또는 예를 들어, GI 관 내의 어딘가에 (즉, 경구 투여 후 또는 좌제에 의한 투여 후) 또는 폐 내에 (즉, 흡입에 의한 투여 후) (국재화된) 치료적 작용을 가지는 것을 의미하거나, 또는 그의 의도된 작용 장소에 직접적으로 적용되는 것으로 (예를 들어, 직접적인 주사에 의한) 달리 의미하는 경우, 본 발명의 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제는 통상적으로, 반감기 연장을 필요로 하지 않을 것이다. 또한, 특정의 급성 병태 또는 적응증을 치료하는 경우에는, 연장된 반감기를 갖지 않는 것이 바람직할 수 있다. 이들 경우에, 반감기 연장되지 않은 본 발명의 1가 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제 또는 본 발명의 또 다른 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제 (PD1 결합제 또는 LAG3 결합제를 포함함), 예를 들어, PD1 또는 LAG3에 대하여 2가 또는 이중파라토프인 본 발명의 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제의 사용이 바람직하다.

[0735] 이러한 본 발명의 PD1 결합제 및/또는 LAG3 결합제의 일부 바람직하지만 비-제한적 예가 아래 표 D-1a 및 D-1b에 도식적으로 나타나며, 이들 각각이 본 발명의 추가 측면을 형성한다. 반감기 연장되지 않은 본 발명의 적합한 폴리펩티드의 다른 예는 본원의 개시내용에 근거하여 통상의 기술자에게 명백할 것이다.

[0736]

표 D-1a. 반감기 연장 ISVD를 수반하지 않은 본 발명의 일부 PD1 및/또는 LAG3 결합제의 도식적 표현.

[본 발명의 PD-1 결합제]
[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-[다른]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-[다른]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-[다른]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-[다른]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-X(n)
[다른]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[다른]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]
[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]-X(n)
[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]-X(n)
[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]
[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-X(n)

[0737]

[다른]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[다른]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]
[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]-X(n)
[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
<p>범례:</p> <ul style="list-style-type: none"> - “[본 발명의 PD1 결합제]”는 PD1 결합 도메인 또는 모이어티 또는 단위, 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 ISVD 102C12 (E1D, L11V, A14P, A74S, K83R, I89L)를 나타냄 - “-”는 직접 공유 연결 또는 적합한 링커, 예컨대 9GS, 15GS 또는 35GS 링커를 나타냄 - “X(n)”는 본원에 정의된 바와 같은 C-말단 연장, 예컨대 단일 알라닌 잔기를 나타냄. - “[다른]”은 PD1 결합제와 상이한 에피토프에 대향한 결합 도메인 또는 결합 단위 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디), 예를 들어, 하나 이상의 CTLA4, BTLA, LAG3 및/또는 CD27 ISVD, 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 LAG3 ISVD 11B09 (L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L)를 나타냄. - “[표적화 단위]”는 본 발명의 폴리펩티드가 특이적 세포, 조직 또는 기관을 표적화하는 결합 도메인 또는 결합 단위 (및 특히 ISVD, 예컨대 나노바디)를 나타냄

[0738]

[0739]

표 D-1b. 반감기 연장 ISVD를 수반하지 않은 본 발명의 일부 PD1 및/또는 LAG3 결합제의 도식적 표현.

[본 발명의 LAG3 결합제]
[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-[다른]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-[다른]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-[다른]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-[다른]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-X(n)
[다른]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[다른]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]
[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]-X(n)
[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]-X(n)
[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]
[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]

[0740]

[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-X(n)
[다른]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[다른]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]
[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]-X(n)
[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
<p>범례:</p> <ul style="list-style-type: none"> - “[본 발명의 LAG3 결합제]”는 LAG3 결합 도메인 또는 모이어티 또는 단위, 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 ISVD 11B09 (L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L)를 나타냄 - “-”는 직접 공유 연결 또는 적합한 링커, 예컨대 9GS, 15GS 또는 35GS 링커를 나타냄 - “X(n)”는 본원에 정의된 바와 같은 C-말단 연장, 예컨대 단일 알라닌 잔기를 나타냄. - “[다른]”은 PD1 결합제와 상이한 에피토프에 대항한 결합 도메인 또는 결합 단위 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디), 예를 들어, 하나 이상의 CTLA4, BTLA, LAG3 및/또는 CD27 ISVD, 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 PD1 ISVD 102C12 (E1D, L11V, A14P, A74S, K83R, I89L)를 나타냄. - “[표적화 단위]”는 본 발명의 폴리펩티드가 특이적 세포, 조직 또는 기관을 표적화하는 결합 도메인 또는 결합 단위 (및 특히 ISVD, 예컨대 나노바디)를 나타냄.

[0741]

[0742]

통상의 기술자에게 명백한 바와 같이, 본 발명의 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디를 포함함)가 전신 투여 및/또는 만성 질환 또는 장애의 예방 및/또는 치료를 목적으로 하는 경우, 상기 본 발명의 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제는 증가된 반감기 (본원에 정의된 바와 같음)를 갖는 것이 통상적으로 바람직할 것이다. 보다 바람직하게, 이러한 본 발명의 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제는 반감기 연장 ISVD (예를 들어, 나노바디), 예컨대, 바람직하게, 인간 혈청 알부민에 결합하는 ISVD 및 특히 나노바디 (본원에 기재된 바와 같음)를 함유할 것이다.

[0743]

이러한 본 발명의 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제의 일부 바람직하지만 비-제한적 예가 아래 표 D-2a 및 D-2b에 도식적으로 나타나며, 이들 각각이 본 발명의 추가 측면을 형성한다. 반감기 연장된 본 발명의 적합한 PD1 결합제 또는 LAG3 결합제의 다른 예는 본원의 개시내용에 근거하여 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 일반적으로, 반감기 연장된 본 발명의 폴리펩티드에 대해서, C-말단 연장의 존재가 훨씬 바람직하다.

[0744] 표 D-2a. 반감기 연장 ISVD를 수반한 본 발명의 일부 PD1 및/또는 LAG3 결합체의 도식적 표현.

[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-[HLE]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-[다른]-[HLE]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-[다른]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[다른]
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]
[HLE]-[다른]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[다른]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]
[다른]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[다른]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-X(n)
[HLE]-[다른]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[다른]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-X(n)
[다른]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)

[0745]

[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]-[HLE]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[표적화 단위]
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]
[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]
[표적화 단위]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[HLE]-[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[표적화 단위]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]-X(n)
[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-X(n)
[표적화 단위]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[HLE]-[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]-[HLE]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[표적화 단위]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[표적화 단위]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]-X(n)
[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]
[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[표적화 단위]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[HLE]-[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-X(n)
[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[표적화 단위]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)

[0746]

[HLE]-[표적화 단위]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]
[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-X(n)
[본 발명의 PD-1 결합제]-[다른]-[HLE]
<p>범례:</p> <ul style="list-style-type: none"> - “[본 발명의 PD1 결합제]”는 PD1 결합 도메인 또는 결합 단위, 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 PD1 ISVD 102C12 (E1D, L11V, A14P, A74S, K83R, I89L)를 나타냄 - “-는 직접 공유 연결 또는 적합한 링커, 예컨대 9GS, 15GS 또는 35GS 링커를 나타냄 - “X(n)”는 본원에 정의된 바와 같은 C-말단 연장, 예컨대 단일 알라닌 잔기를 나타냄. - “[HLE]”는 반감기 연장 결합 도메인 또는 결합 단위 (및 특히 반감기 연장 ISVD, 예컨대 나노바디), 예컨대 (인간) 혈청 알부민에 대항한 ISVD (및 특히 나노바디), 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 항-HSA ISVD ALB11002를 나타냄; - “[다른]”은 PD1 결합제와 상이한 에피토프에 대항한 결합 도메인 또는 결합 단위 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디), 예를 들어, 하나 이상의 CTLA4, BTLA, LAG3 및/또는 CD27 ISVD, 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 LAG3

[0747]

<p>ISVD 11B09 (L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L)를 나타냄.</p> <ul style="list-style-type: none"> - “[표적화 단위]”는 본 발명의 폴리펩티드가 특이적 세포, 조직 또는 기관을 표적화하는 결합 도메인 또는 결합 단위 (및 특히 ISVD, 예컨대 나노바디)를 나타냄
--

[0748]

[0749] 표 D-2b. 반감기 연장 ISVD를 수반한 본 발명의 일부 PD1 및/또는 LAG3 결합체의 도식적 표현.

[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-[HLE]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-[다른]-[HLE]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-[다른]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[다른]
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]
[HLE]-[다른]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[다른]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]
[다른]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[다른]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-X(n)
[HLE]-[다른]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[다른]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-X(n)
[다른]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)

[0750]

[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]-[HLE]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[표적화 단위]
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]
[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]
[표적화 단위]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[HLE]-[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[표적화 단위]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]-X(n)
[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-X(n)
[표적화 단위]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[HLE]-[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]-[HLE]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[표적화 단위]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 PD-1 결합제]-[표적화 단위]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[표적화 단위]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[표적화 단위]-X(n)
[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]
[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[표적화 단위]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[HLE]-[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-X(n)
[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)

[0751]

[표적화 단위]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[HLE]-[표적화 단위]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]
[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[HLE]-[본 발명의 LAG3 결합제]-[본 발명의 LAG3 결합제]-X(n)
[본 발명의 LAG3 결합제]-[다른]-[HLE]
<p>범례:</p> <ul style="list-style-type: none"> - “[본 발명의 LAG3 결합제]”는 LAG3 결합 도메인 또는 모이어티 또는 단위, 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 LAG3 ISVD인 ISVD 11B09 (L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L)를 나타냄 - “-”는 직접 공유 연결 또는 적합한 링커, 예컨대 9GS, 15GS 또는 35GS 링커를 나타냄 - “X(n)”는 본원에 정의된 바와 같은 C-말단 연장, 예컨대 단일 알라닌 잔기를 나타냄. - “[HLE]”는 반감기 연장 결합 도메인 또는 결합 단위 (및 특히 반감기 연장 ISVD, 예컨대 나노바디), 예컨대 (인간) 혈청 알부민에 대한 ISVD (및 특히 나노바디), 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 항-HSA ISVD ALB11002를 나타냄 - “[다른]”은 PD1 결합제와 상이한 에피토프에 대한 결합 도메인 또는 결합 단위 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디), 예를 들어, 하나 이상의 CTLA4,

[0752]

<p>BTLA, LAG3 및/또는 CD27 ISVD, 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 PD1 ISVD 102C12 (E1D, L11V, A14P, A74S, K83R, I89L)를 나타냄.</p> <p>“[표적화 단위]”는 본 발명의 폴리펩티드가 특이적 세포, 조직 또는 기관을 표적화하는 결합 도메인 또는 결합 단위 (및 특히 ISVD, 예컨대 나노바디)를 나타냄.</p>

[0753]

[0754]

본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명의 PD1/LAG3 결합제는 아래 표 D-3에 요약된 바와 같다.

[0755]

표 D-3. 본 발명의 PD1/LAG3 결합제

설명	서열
<p>명칭: F023700899</p> <p>설명: 1PD102C12(A14P,A74S,K83R)-35GS-1PD102C12(A14P,A74S,K83R)-35GS-F0237611B09-35GS-F0237611B09-35GS-ALB11002</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 106</p>	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS<u>GSIASIHAMG</u>WFRQAPGKERE<u>FVA</u><u>VI</u><u>TW</u><u>SGGITY</u><u>Y</u>ADSVKGRFTISRDN<u>SKNTVY</u>LQMNSLRPEDTAL<u>Y</u>YCAG<u>DKHQSSWYD</u>YWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS<u>GSIASIHAMG</u>WFRQAPGKERE<u>FVA</u><u>VI</u><u>TW</u><u>SGGITY</u><u>Y</u>ADSVKGRFTISRDN<u>SKNTVY</u>LQMNSLRPEDTAL<u>Y</u>YCAG<u>DKHQSSWYD</u>YWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRSCAAS<u>GRTFSDYVMG</u>WFRQARGNER<u>FVA</u><u>AI</u><u>SESGGR</u>THYA<u>DA</u>VKGRFTISRDN<u>AKNTLY</u>LQMNSLKPEDTAV<u>Y</u>YCAT<u>TL</u>L<u>W</u><u>TSEY</u>APIK<u>ANDYD</u>YWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRSCAAS<u>GRTFSDYVMG</u>WFRQARGNER<u>FVA</u><u>AI</u><u>SESGGR</u>THY<u>AD</u>AVKGRFTISRDN<u>AKNTLY</u>LQMNSLKPEDTAV<u>Y</u>YCAT<u>TL</u>L<u>W</u><u>TSEY</u>APIK<u>ANDYD</u>YWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAAS<u>GT</u>FSSFGMSWVRQAP<u>GKLEW</u>WSSISGS<u>SD</u>TLY<u>AD</u>SVKGRFTISRDN<u>AKNTLY</u>LQMNSLRPEDTAV<u>Y</u>YCTIGGSLRSSQGT<u>L</u>TVTVSS</p>
<p>명칭: F023700931</p> <p>설명: 1PD102C12(E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-35GS-1PD102C12(L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-35GS-F0237611B09(L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-35GS-F0237611B09(L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-35GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 107</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS<u>GSIASIHAMG</u>WFRQAPGKERE<u>FVA</u><u>VI</u><u>TW</u><u>SGGITY</u><u>Y</u>ADSVKGRFTISRDN<u>SKNTVY</u>LQMNSLRPEDTAL<u>Y</u>YCAG<u>DKHQSSWYD</u>YWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRSCAAS<u>GSIASIHAMG</u>WFRQAPGKERE<u>FVA</u><u>VI</u><u>TW</u><u>SGGITY</u><u>Y</u>ADSVKGRFTISRDN<u>SKNTVY</u>LQMNSLRPEDTAL<u>Y</u>YCAG<u>DKHQSSWYD</u>YWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRSCAAS<u>GRTFSDYVMG</u>WFRQAPGKERE<u>FVA</u><u>AI</u><u>SESGGR</u>THYA<u>D</u>SVKGRFTISRDN<u>SKNTLY</u>LQMNSLRPEDTAL<u>Y</u>YCAT<u>TL</u>L<u>W</u><u>WTSEY</u>APIK<u>ANDYD</u>YWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRSCAAS<u>GRTFSDYVMG</u>WFRQAPGKERE<u>FVA</u><u>AI</u><u>SESGGR</u>THY<u>AD</u>SVKGRFTISRDN<u>SKNTLY</u>LQMNSLRPEDTAL<u>Y</u>YCAT<u>TL</u>L<u>W</u><u>TSEY</u>APIK<u>ANDYD</u>YWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRSCAAS<u>GT</u>FSSFGMSWVRQAP<u>GKLEW</u>WSSISGS<u>SD</u>TLY<u>AD</u>SVKGRFTISRDN<u>AKNTLY</u>LQMNSLRPEDTAL<u>Y</u>YCTIGGSLRSSQGT<u>L</u>TVTVSSA</p>

[0756]

<p>명칭: F023701016</p> <p>설명: 102C12(E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-20GS- 102C12(L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-20GS- F0237611B09(L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-20GS- F0237611B09(L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-20GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 108</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVA<u>VITWSSGGITY</u>YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVA<u>VITWSSGGITY</u>YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVA<u>ISESGGRTH</u>YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVA<u>ISESGGRTH</u>YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVA<u>ISESGGRTH</u>YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLRSSSQGTLVTVSSA</p>
<p>명칭: F023701017</p> <p>설명: 102C12(E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-9GS- 102C12(L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-9GS- F0237611B09(L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-9GS- F0237611B09(L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-9GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 109</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVA<u>VITWSSGGITY</u>YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVA<u>VITWSSGGITY</u>YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVA<u>ISESGGRTH</u>YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVA<u>ISESGGRTH</u>YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLRSSSQGTLVTVSSA</p>
<p>명칭: F023700924</p> <p>설명: 1PD102C12(E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-35GS- F0237611B09</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVA<u>VITWSSGGITY</u>YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVA<u>ISESGGRTH</u>YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLRSSSQGTLVTVSSA</p>

[0757]

<p>(L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-35GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 110</p>	<p>GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLLYQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTIVTVSSA</p>
<p>명칭: F023700969</p> <p>설명: 102C12(E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-20GS-F0237611B09(L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-20GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 111</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRSLCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDYWGQGLTIVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRSLCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGLTIVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRSLCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLLYQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTIVTVSSA</p>
<p>명칭: F023700970</p> <p>설명: 102C12(E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-9GS-F0237611B09(L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-9GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 112</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRSLCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDYWGQGLTIVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRSLCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGLTIVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRSLCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLLYQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTIVTVSSA</p>
<p>명칭: F023701163</p> <p>설명: 1PD102C12(E1D,L11V,A14P,</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRSLCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDPKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGLTIVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRSLCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVA</p>

[0758]

<p>명칭: F023701178</p> <p>설명: 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100aF)-9GS-F023700842-9GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 116</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAIVITVSGGITTYADSVKGRFTISRDPKNTVYLQMNLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAIAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTALYYCATTLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTALYYCTIGGSLRSSQGLVTVSSA</p>
<p>명칭: F023701161</p> <p>설명: 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)-35GS-1PD102C12 (L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)-35GS-F023700842-35GS-F023700842-35GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 117</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAIVITVSGGITTYADSVKGRFTISRDPKNTVYLQMNLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAIAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTALYYCATTLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAIAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTALYYCATTLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTALYYCTIGGSLRSSQGLVTVSSA</p>
<p>명칭: F023701166</p> <p>설명: 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)-9GS-1PD102C12 (L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)-9GS-F023700842-9GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAIVITVSGGITTYADSVKGRFTISRDPKNTVYLQMNLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGLVTVSSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAIVITVSGGITTYADSVKGRFTISRDPKNTVYLQMNLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAIAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTALYYCATTLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAIAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTALYYCATTLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTALYYCTIGGSLRSSQGLVTVSSA</p>

[0760]

<p>SEQ ID NO: 118</p>	
<p>명칭: F023701171</p> <p>설명: 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)-35GS-F023700842-35GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 119</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRSLSCAASGSIASIHAMGWFRQAP GKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQ MNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGLVTVSSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGG VVQPGGSLRSLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAI SEGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTA LYCATTLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGLVTVSSGGGS GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGV VQPGNSLRSLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSIS GSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTAL YYCTIGGSLRSQQGLVTVSSA</p>
<p>명칭: F023701176</p> <p>설명: 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)-9GS-F023700842-9GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 120</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRSLSCAASGSIASIHAMGWFRQAP GKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQ MNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGLVTVSSGGGG SGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRSLSCAASGRTFSDYVMGW FRQAPGKEREFVAAISEGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTALYYCATTLWWTSEYAPIKANDYDYW GQGLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRSLSC AASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTALYYCTIGGSLRSR SQQGLVTVSSA</p>
<p>명칭: F023701162</p> <p>설명: 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)-35GS-1PD102C12 (L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)-35GS-F023700842-35GS-F023700842-35GS-ALB11002-A</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRSLSCAASGSIASIHAMGWFRQAP GKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQ MNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGLVTVSSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGG VVQPGGSLRSLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVI TVSGGITYYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQMNLRPEDTA LYCAGDKHQSSFYDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRL SCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISEGGRTHYA DSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTALYYCATTLWW TSEYAPIKANDYDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS GGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRSL SCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISEGGRTHYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTALYYCATTLWW TSEYAPIKANDYDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS</p>

[0761]

<p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 121</p>	<p>GGGSGGGGGGGGGGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSC AASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSR SSQGLTIVTVSSA</p>
<p>명칭: F023701167</p> <p>설명: 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)-9GS-1PD102C12 (L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)-9GS-F023700842-9GS-F023700842-9GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 122</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAP GKEREFVAIVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQ MNSLRPDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGLTIVTVSSGGGG SGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGW FRQAPGKEREFVAIVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDSKNT VYLYQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGLTIVTVS SGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSD YVMGWFRQAPGKEREFVAISESGGRTHYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATLLWWTSEYAPIKAN DYDYWGQGLTIVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS LRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAISESGGR HYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATT LLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGLTIVTVSSGGGGSGGGSEVQ LVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKG LEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMN SLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTIVTVSSA</p>
<p>명칭: F023701172</p> <p>설명: 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)-35GS-F023700842-35GS-ALB11002-A</p> <p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 123</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAP GKEREFVAIVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQ MNSLRPDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGLTIVTVSSGGGG SGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLVESGGG VVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAI SESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDA LYCATLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGLTIVTVSSGGGGG GGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLVESGGGV VQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAL YYCTIGGSLSRSSQGLTIVTVSSA</p>
<p>명칭: F023701177</p> <p>설명: 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)-9GS-F023700842-9GS-ALB11002-A</p>	<p>DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAP GKEREFVAIVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQ MNSLRPDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGLTIVTVSSGGGG SGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGW FRQAPGKEREFVAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRPEDTALYYCATLLWWTSEYAPIKANDYDYW GQGLTIVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSC AASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSR</p>

<p>표적: hPD-1/hLAG-3</p> <p>SEQ ID NO: 124</p>	<p>SSQGLTIVTVSSA</p>
---	----------------------

[0762]

[0763]

[0764]

[0765]

[0766]

[0767]

[0768]

[0769]

*PD1 결합제 및 LAG3 결합제 CDR: 강조되고/거나 볼드체.

임의적으로, 분자 내의 임의의 결합제 모이어티의 첫 번째 잔기는 적절히 D 또는 E로 치환된다.

본 발명은 서열식별번호: 106-124의 아미노산 서열 또는 80% 이상 (예를 들어, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%)의 아미노산 서열 동일성 (즉, 완전한 아미노산 서열과 비교함)을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 임의의 PD1/LAG3 결합제를 포함하며, 여기서 이러한 PD1/LAG3 결합제는 PD1 및 LAG3 및, 임의적으로, HSA에 결합할 수 있는 능력을 보유하고 있다.

본 발명은 하기 배열의 모이어티를 갖는 임의의 PD1/LAG3 결합제를 포함한다:

- PD1 결합제 1PD102C12 (A14P,A74S,K83R)-

- 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-

- [0770] · PD1 결합제 1PD102C12 (A14P,A74S,K83R)-
- [0771] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0772] · LAG3 결합제 F0237611B09-
- [0773] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0774] · LAG3 결합제 F0237611B09-
- [0775] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0776] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002
- [0777] 또는
- [0778] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-
- [0779] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0780] · PD1 결합제 1PD102C12 (L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-
- [0781] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0782] · LAG3 결합제 F0237611B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-
- [0783] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0784] · LAG3 결합제 F0237611B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-
- [0785] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0786] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0787] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0788] 또는
- [0789] · PD1 결합제 102C12 (E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-
- [0790] · 펩티드 링커, 예를 들어, 20GS-
- [0791] · PD1 결합제 102C12 (L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-
- [0792] · 펩티드 링커, 예를 들어, 20GS-
- [0793] · LAG3 결합제 F0237611B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-
- [0794] · 펩티드 링커, 예를 들어, 20GS-
- [0795] · LAG3 결합제 F0237611B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-
- [0796] · 펩티드 링커, 예를 들어, 20GS-
- [0797] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0798] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0799] 또는
- [0800] · PD1 결합제 102C12 (E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-
- [0801] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0802] · PD1 결합제 102C12 (L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-
- [0803] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0804] · LAG3 결합제 F0237611B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-
- [0805] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-

- [0806] · LAG3 결합제 F0237611B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-
- [0807] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0808] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0809] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0810] 또는
- [0811] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-
- [0812] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0813] · LAG3 결합제 F0237611B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-
- [0814] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0815] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0816] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0817] 또는
- [0818] · PD1 결합제 102C12 (E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-
- [0819] · 펩티드 링커, 예를 들어, 20GS-
- [0820] · LAG3 결합제 F0237611B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-
- [0821] · 펩티드 링커, 예를 들어, 20GS-
- [0822] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0823] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0824] 또는
- [0825] · PD1 결합제 102C12 (E1D,L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-
- [0826] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0827] · LAG3 결합제 F0237611B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-
- [0828] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0829] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0830] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0831] 또는
- [0832] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0833] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0834] · PD1 결합제 1PD102C12 (L11V, A14P, W52aV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0835] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0836] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0837] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0838] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0839] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0840] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0841] · 임의적 C-말단 연장 알라닌

- [0842] 또는
- [0843] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0844] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0845] · PD1 결합제 1PD102C12 (L11V, A14P, W52aV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0846] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0847] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0848] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0849] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0850] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0851] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0852] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0853] 또는
- [0854] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0855] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0856] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0857] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0858] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0859] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0860] 또는
- [0861] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0862] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0863] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0864] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0865] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0866] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0867] 또는
- [0868] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0869] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0870] · PD1 결합제 1PD102C12 (L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0871] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0872] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0873] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0874] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0875] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0876] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0877] · 임의적 C-말단 연장 알라닌

- [0878] 또는
- [0879] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0880] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0881] · PD1 결합제 1PD102C12 (L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0882] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0883] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0884] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0885] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0886] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0887] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0888] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0889] 또는
- [0890] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0891] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0892] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0893] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0894] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0895] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0896] 또는
- [0897] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0898] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0899] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0900] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0901] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0902] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0903] 또는
- [0904] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0905] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0906] · PD1 결합제 1PD102C12 (L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0907] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0908] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0909] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0910] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0911] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0912] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0913] · 임의적 C-말단 연장 알라닌

- [0914] 또는
- [0915] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0916] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0917] · PD1 결합제 1PD102C12 (L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0918] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0919] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0920] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0921] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0922] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0923] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0924] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0925] 또는
- [0926] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0927] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0928] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0929] · 펩티드 링커, 예를 들어, 35GS-
- [0930] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0931] · 임의적 C-말단 연장 알라닌
- [0932] 또는
- [0933] · PD1 결합제 1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52aV, N73S, A74S, K83R, I89L, W100aF)-
- [0934] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0935] · LAG3 결합제 F023700842-
- [0936] · 펩티드 링커, 예를 들어, 9GS-
- [0937] · 인간 혈청 알부민 결합제, 예를 들어, ALB11002-
- [0938] · 임의적 C-말단 연장 알라닌.
- [0939] 본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명의 PD1/LAG3 결합제는 하기 배열의 모이어티를 포함한다:
- [0940] · PD1 결합제 서열식별번호: 98;
- [0941] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [0942] · PD1 결합제 서열식별번호: 98;
- [0943] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [0944] · LAG3 결합제 서열식별번호: 63;
- [0945] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [0946] · LAG3 결합제 서열식별번호: 63;
- [0947] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [0948] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [0949] · 알라닌

- [0950] 또는
- [0951] · PD1 결합제 서열식별번호: 57;
- [0952] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [0953] · PD1 결합제 서열식별번호: 99;
- [0954] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [0955] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [0956] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [0957] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [0958] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [0959] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [0960] · 알라닌
- [0961] 또는
- [0962] · PD1 결합제 서열식별번호: 57;
- [0963] · 20GS 링커 서열식별번호: 100;
- [0964] · PD1 결합제 서열식별번호: 99;
- [0965] · 20GS 링커 서열식별번호: 100;
- [0966] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [0967] · 20GS 링커 서열식별번호: 100;
- [0968] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [0969] · 20GS 링커 서열식별번호: 100;
- [0970] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [0971] · 알라닌
- [0972] 또는
- [0973] · PD1 결합제 서열식별번호: 57;
- [0974] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [0975] · PD1 결합제 서열식별번호: 99;
- [0976] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [0977] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [0978] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [0979] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [0980] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [0981] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [0982] · 알라닌
- [0983] 또는
- [0984] · PD1 결합제 서열식별번호: 57;
- [0985] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;

- [0986] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [0987] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [0988] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [0989] · 알라닌
- [0990] 또는
- [0991] · PD1 결합제 서열식별번호: 57;
- [0992] · 20GS 링커 서열식별번호: 100;
- [0993] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [0994] · 20GS 링커 서열식별번호: 100;
- [0995] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [0996] · 알라닌
- [0997] 또는
- [0998] · PD1 결합제 서열식별번호: 57;
- [0999] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1000] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [1001] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1002] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [1003] · 알라닌
- [1004] 또는
- [1005] · PD1 결합제 서열식별번호: 105;
- [1006] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1007] · PD1 결합제 서열식별번호: 105 (D1E);
- [1008] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1009] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [1010] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1011] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [1012] · 알라닌
- [1013] 또는
- [1014] · PD1 결합제 서열식별번호: 105;
- [1015] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1016] · PD1 결합제 서열식별번호: 105 (D1E);
- [1017] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1018] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [1019] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1020] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [1021] · 알라닌

- [1022] 또는
- [1023] · PD1 결합제 서열식별번호: 105;
- [1024] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1025] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [1026] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1027] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [1028] · 알라닌
- [1029] 또는
- [1030] · PD1 결합제 서열식별번호: 105;
- [1031] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1032] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [1033] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1034] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [1035] · 알라닌
- [1036] 또는
- [1037] · PD1 결합제 서열식별번호: 104;
- [1038] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1039] · PD1 결합제 서열식별번호: 104 (D1E);
- [1040] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1041] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [1042] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1043] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [1044] · 알라닌
- [1045] 또는
- [1046] · PD1 결합제 서열식별번호: 104;
- [1047] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1048] · PD1 결합제 서열식별번호: 104 (D1E);
- [1049] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1050] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [1051] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1052] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [1053] · 알라닌
- [1054] 또는
- [1055] · PD1 결합제 서열식별번호: 104;
- [1056] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1057] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;

- [1058] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1059] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [1060] · 알라닌
- [1061] 또는
- [1062] · PD1 결합제 서열식별번호: 104;
- [1063] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1064] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [1065] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1066] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [1067] · 알라닌
- [1068] 또는
- [1069] · PD1 결합제 서열식별번호: 103 (N73S);
- [1070] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1071] · PD1 결합제 서열식별번호: 103 (D1E, N73S);
- [1072] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1073] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [1074] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1075] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [1076] · 알라닌
- [1077] 또는
- [1078] · PD1 결합제 서열식별번호: 103 (N73S);
- [1079] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1080] · PD1 결합제 서열식별번호: 103 (D1E, N73S);
- [1081] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1082] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [1083] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;
- [1084] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [1085] · 알라닌
- [1086] 또는
- [1087] · PD1 결합제 서열식별번호: 103 (N73S);
- [1088] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1089] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;
- [1090] · 35GS 링커 서열식별번호: 58;
- [1091] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;
- [1092] · 알라닌
- [1093] 또는

[1094] · PD1 결합제 서열식별번호: 103 (N73S);

[1095] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;

[1096] · LAG3 결합제 서열식별번호: 64;

[1097] · 9GS 링커 서열식별번호: 125;

[1098] · HSA 결합제 서열식별번호: 59;

[1099] · 알라닌.

[1100] **교차-차단 항체**

[1101] 본 발명은 또한, 본원에 개시된 결합제 중 임의의 것 (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)의 결합을 교차-차단할 수 있는 교차-차단 결합제를 제공한다. 이러한 교차-차단 결합제는 이러한 교차-차단을 나타내는 임의의 분자, 예를 들어, ISVD, 나노바디, 항체 또는 그의 항원-결합 단편일 수 있다.

[1102] 일반적으로, 참조 결합제를 "교차-차단"시키거나 또는 참조 결합제와 "교차 경쟁"하는 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) 또는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 경쟁 검정에서 참조 결합제가 그의 항원에 결합하는 것을 50% 이상 정도 차단하는 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) 또는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 지칭하고, 역으로, 참조 결합제는 경쟁 검정에서 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) 또는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 그의 항원에 결합하는 것을 50% 이상 정도 차단한다. 교차-차단 또는 교차 경쟁은 표면 플라즈몬 공명 (SPR), ELISA 및 유동 세포계수법을 포함한, 관련 기술분야에 공지된 임의의 검정으로 결정될 수 있다.

[1103] 본 발명의 한 실시양태에서, 교차-차단은 비아코어(Biacore) 검정을 사용함으로써 결정된다. 편의상, 2개의 결합제를 참조하지만, 본 발명의 범위는 본 발명의 결합제를 교차-차단하는 항체 및 그의 항원 결합 단편, 예를 들어, Fab 단편을 포함한다. 비아코어 기계 (예를 들어 비아코어 3000)는 제조업자의 권고 사항에 따라서 작동한다.

[1104] 따라서, 하나의 교차-차단 검정에서는, 표준 아민 커플링 화학을 이용하여 PD1 또는 LAG3을 CM5 비아코어 칩과 커플링시켜 PD1 또는 LAG3-코팅된 표면을 생성시킨다. 예를 들어, 200-800 공명 단위의 PD1 또는 LAG3이 상기 칩과 커플링될 것이다 (또는 용이하게 측정 가능한 수준의 결합을 제공하지만, 사용되는 시험 시약의 농도에 의해 용이하게 포화 가능한 임의의 양).

[1105] 서로 교차-차단할 수 있는 능력을 알아보기 위하여 평가될 2개의 결합제 (A* 및 B*로 지칭됨)는 적합한 완충제에서 1 대 1 몰 비의 결합 부위에서 혼합하여 시험 혼합물을 창출시킨다.

[1106] 이러한 시험 혼합물 중의 각각의 결합제의 농도는 비아코어 칩 상에 포획된 PD1 또는 LAG3 분자 상의 그 결합제에 대한 결합 부위를 용이하게 포화시키기에 충분히 높아야 한다. 혼합물 중의 결합제는 동일한 몰 농도 하에 있다.

[1107] 결합제 A* 단독 및 결합제 B* 단독을 함유하는 별도의 용액을 또한 준비한다. 이들 용액 중의 결합제 A* 및 결합제 B*는 동일한 완충제 내에 있어야 하고 시험 혼합물에서와 동일한 농도 하에 있어야 한다.

[1108] 시험 화합물을 PD1 또는 LAG3-코팅된 비아코어 칩 상으로 통과시키고, 결합 총량을 기록한다. 이어서, 상기 칩을 칩-결합된 PD1 또는 LAG3에 손상을 가하지 않으면서 결합된 결합제를 제거하도록 하는 방식으로 처리한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 이는 상기 칩을 30 mM HCl로 60초 동안 처리함으로써 수행된다.

[1109] 이어서, 결합제 A* 단독의 용액을 PD1 또는 LAG3-코팅된 표면 상으로 통과시키고, 결합 양을 기록한다. 상기 칩을 다시 처리하여 칩-결합된 PD1 또는 LAG3에 손상을 가하지 않으면서 결합된 결합제를 모두 제거한다.

[1110] 이어서, 결합제 B* 단독의 용액을 PD1 또는 LAG3-코팅된 표면 상으로 통과시키고, 결합 양을 기록한다.

[1111] 그 다음, 결합제 A*에 결합제 B*의 혼합물의 최대 이론적 결합을 계산하며, 이는 PD1 또는 LAG3 표면 단독 상으로 통과될 때 각각의 결합제의 결합의 합이다. 혼합물의 실제 기록된 결합이 이러한 이론적 최대치 미만인 경우, 상기 2개의 결합제는 서로 교차-차단된다.

- [1112] 따라서, 일반적으로, 본 발명에 따르는 교차-차단 결합체는 상기 비아코어 교차-차단 검정에서 PD1 또는 LAG3에 결합될 것이므로, 이러한 검정 동안 및 제2 결합체의 존재 하에, 상기 기록된 결합은, 예를 들어, 조합된 두 결합체의 최대 이론적 결합 (상기 정의된 바와 같음)의 80% 내지 0.1% (예를 들어, 80% 내지 4%), 예를 들어 최대 이론적 결합의 75% 내지 0.1% (예를 들어, 75% 내지 4%), 예를 들어, 최대 이론적 결합의 70% 내지 0.1% (예를 들어, 70% 내지 4%)이다.
- [1113] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합체가 교차-차단하는지의 여부 또는 PD1 및/또는 LAG3 결합체가 본 발명에 따라서 교차-차단할 수 있는지의 여부를 결정하기 위해 ELISA 검정이 사용된다.
- [1114] 상기 검정의 일반적인 원리는 ELISA 플레이트의 웰 상으로 코팅된 PD1 또는 LAG3 결합체를 가져야 한다는 것이다. 과량의 제2의 잠재적으로 교차-차단하는 항-PD1 또는 LAG3 결합체를 용액에 부가한다 (즉, ELISA 플레이트에 결합되지 않음). 이어서, 제한된 양의 PD1 또는 LAG3을 상기 웰에 부가한다. 코팅된 결합체와 용액 중의 결합체는 제한된 수의 PD1 또는 LAG3 분자의 결합을 놓고 경쟁한다. 상기 플레이트를 세척하여, 상기 코팅된 결합체에 의해 결합되지 않은 PD1 또는 LAG3을 제거하고, 또한 제2의 용액 상 결합체 뿐만 아니라 제2의 용액 상 결합체와 PD1 또는 LAG3 간에 형성된 어떠한 복합체도 제거한다. 이어서, 적절한 PD1 또는 LAG3 검출 시약을 사용하여, 결합된 PD1 또는 LAG3의 양을 측정한다. 코팅된 결합체를 교차-차단할 수 있는 용액 중의 결합체는 PD1 또는 LAG3 분자의 수에 있어서의 감소를 유발시킬 수 있을 것이므로, 코팅된 결합체는 PD1 또는 LAG3 분자의 수에 비례하여 결합할 수 있어서, 코팅된 결합체는 제2의 용액 상 결합체의 부재 하에 결합할 수 있다.
- [1115] **발현 방법**
- [1116] 본 발명은 (i) 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합체의 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 도입하며, 예를 들어, 여기서 폴리뉴클레오티드는 벡터 내에 있고/거나 프로모터에 작동가능하게 연결된 것인 단계; (ii) 숙주 세포 (예를 들어, CHO 또는 피키아 또는 피키아 파스토리스 (*Pichia pastoris*))를 상기 폴리뉴클레오티드의 발현에 유리한 조건 하에 배양하는 단계; 및 (iii) 임의적으로, 숙주 세포 및/또는 상기 숙주 세포가 성장하는 배지로부터 PD1 및/또는 LAG3 결합체를 분리하는 단계를 포함하는, 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)를 제조하는 제조방법을 포함한다. 예를 들어, WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 또는 WO 2009/068627을 참조한다.
- [1117] 본 발명은 또한, 본원에 기재된 바와 같은 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다. 이러한 폴리뉴클레오티드는 본 발명의 한 실시양태에서, 하나 이상의 제어 서열과 작동가능하게 연결될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 플라스미드 또는 벡터의 형태 내에 있을 수 있다. 또한, 이러한 폴리뉴클레오티드는 일반적으로, 아블링스 엔.브이.의 공개된 특허 출원, 예컨대 예를 들어 WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 또는 WO 2009/068627에 기재된 바와 같을 수 있다.
- [1118] 본 발명은 또한, PD1 및/또는 LAG3 결합체를 코딩하는 상기 폴리뉴클레오티드, 벡터, 및/또는 본원에 기재된 PD1 및/또는 LAG3 결합체 폴리펩티드 (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)를 함유하는 숙주 또는 숙주 세포에 관한 것이다. 또한, 이러한 숙주 세포는 일반적으로, 아블링스 엔.브이.의 공개된 특허 출원, 예컨대 예를 들어 WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 또는 WO 2009/068627에 기재된 바와 같을 수 있다. 특이적 숙주 세포의 예가 아래에 논의된다.
- [1119] PD1 및/또는 LAG3 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)의 발현을 위한 숙주로서 포유류 세포를 포함한 진핵 및 원핵 숙주 세포는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 아메리칸 타입 컬처 컬렉션 (American Type Culture Collection; ATCC)으로부터 입수 가능한 많은 불멸화 세포주를 포함한다. 이들은 특히, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포, NSO, SP2 세포, HeLa 세포, 새끼 햄스터 신장 (BHK) 세포, 원숭이 신장 세포 (COS), 인간 간세포성 암종 세포 (예를 들어, Hep G2), A549 세포, 3T3 세포, HEK-293 세포 및 수많은 다른 세포주를 포함한다. 포유류 숙주 세포는 인간, 마우스, 래트, 개, 원숭이, 돼지, 염소, 소, 말 및 햄스터 세포를 포함한다.

특별히 선호되는 세포주는 높은 발현 수준을 갖는 세포주를 결정함으로써 선택된다. 사용될 수 있는 다른 세포주는 곤충 세포주 [예를 들어, 스포도페타 프루기페르다 (*Spodoptera frugiperda*) 또는 트리코플루시아 니 (*Trichoplusia ni*)], 양서류 세포, 박테리아 세포, 식물 세포 및 진균 세포이다. 진균 세포는 효모 및 섬유상 진균 세포, 예를 들어, 피키아 파스토리스, 피키아 핀란드카 (*Pichia finlandica*), 피키아 트레할로필라 (*Pichia trehalophila*), 피키아 코클라마에 (*Pichia koclamae*), 피키아 멤브라나에파시엔스 (*Pichia membranaefaciens*), 피키아 미누타 (*Pichia minuta*) (오가타에아 미누타 (*Ogataea minuta*), 피키아 린드네리 (*Pichia lindneri*)), 피키아 오펜티아에 (*Pichia opuntiae*), 피키아 써모톨레란스 (*Pichia thermotolerans*), 피키아 살릭타리아 (*Pichia salictaria*), 피키아 구에르쿰 (*Pichia guercuum*), 피키아 피지페리 (*Pichia pijperi*), 피키아 스틱티스 (*Pichia stiptis*), 피키아 메타놀리카 (*Pichia methanolica*), 피키아 종 (*Pichia sp.*), 사카로마이세스 세레비시아에 (*Saccharomyces cerevisiae*), 사카로마이세스 종 (*Saccharomyces sp.*), 한세놀라 폴리모르파 (*Hansenula polymorpha*), 클루이베로마이세스 종 (*Kluyveromyces sp.*), 클루이베로마이세스 락티스 (*Kluyveromyces lactis*), 칸디다 알비칸스 (*Candida albicans*), 아스페르길루스 니들란스 (*Aspergillus nidulans*), 아스페르길루스 니거 (*Aspergillus niger*), 아스페르길루스 오리자에 (*Aspergillus oryzae*), 트리코데르마 레에세이 (*Trichoderma reesei*), 크리소스포리움 루크노웬세 (*Chrysosporium lucknowense*), 푸사륨 종 (*Fusarium sp.*), 푸사륨 그라미네움 (*Fusarium gramineum*), 푸사륨 베네나툼 (*Fusarium venenatum*), 피스코미트렐라 파텐스 (*Physcomitrella patens*) 및 뉴로스포라 크라사 (*Neurospora crassa*), 피키아 종, 임의의 사카로마이세스 종, 한세놀라 폴리모르파, 임의의 클루이베로마이세스 종, 칸디다 알비칸스, 임의의 아스페르길루스 종 (*Aspergillus sp.*), 트리코데르마 레에세이, 크리소스포리움 루크노웬세, 임의의 푸사륨 종, 야로위아 리폴리티카 (*Yarrowia lipolytica*), 및 뉴로스포라 크라사를 포함한다. 본 발명은 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)를 함유하거나 또는 이러한 결합제를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유하거나 또는 상기 폴리뉴클레오티드를 함유하는 벡터를 함유하는 임의의 숙주 세포 (예를 들어, CHO 세포 또는 피키아 세포, 예를 들어, 피키아 파스토리스)를 포함한다.

[1120] 추가로, 생산 세포주로부터의 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)의 발현은 수많은 공지된 기술을 이용하여 증강될 수 있다. 예를 들어, 글루타민 신테타제 유전자 발현 시스템 (GS 시스템)이 특정 조건 하에 발현을 증강시키기 위한 흔한 접근 방식이다. GS 시스템은 유럽 특허 번호 0 216 846, 0 256 055, 및 0 323 997 및 유럽 특허 출원 번호 89303964.4와 연계해서 전부 또는 부분적으로 논의된다. 따라서, 본 발명의 한 실시양태에서, 포유류 숙주 세포 (예를 들어, CHO)에는 글루타민 신테타제 유전자가 결여되고, 이 세포는 배지에서 글루타민의 부재 하에 성장되지만, 이뮤노글로불린쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 숙주 세포에서의 상기 유전자의 결여를 보완해 주는 글루타민 신테타제 유전자를 포함한다. 본원에 논의된 바와 같은 결합제 또는 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 함유하는 상기 숙주 세포 뿐만 아니라 이러한 숙주 세포를 사용하여 결합제를 제조하기 위한, 본원에 논의된 바와 같은 발현 방법이 본 발명의 일부이다.

[1121] 본 발명은 PD1 및/또는 LAG3 결합제를 포함하는 특정 샘플 (예를 들어, 배양 배지, 세포 용해물 또는 세포 용해물 분획, 예를 들어 용해물의 가용성 분획)을 정제 배지 (예를 들어, 양이온-교환 배지, 음이온-교환 배지 및/또는 소수성 교환 배지)에 도입하고; 정제된 PD1 및/또는 LAG3 결합제를, 상기 배지에 결합되지 않은 상기 샘플의 관류 분획으로부터 수집하거나; 또는 그러한 관류 분획을 폐기하고 결합된 PD1 및/또는 LAG3 결합제를 상기 배지로부터 용출시키며 이러한 용출액을 수집하는 것을 포함하는, PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)의 정제 방법을 포함한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 상기 배지는 샘플이 적용되는 칼럼 내에 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, 상기 정제 방법은 숙주 세포에서 항체 또는 단편의 재조합 발현 후에 시행되며, 예를 들어 여기서는 숙주 세포를 먼저 용해시키고, 임의적으로 그 용해물을 배지 상에서 정제하기 전에 불용성 물질로부터 정제하거나; 또는 PD1 및/또는 LAG3 결합제를 숙주 세포에 의해 배양 배지 내로 분비시키고, 그러한 배지 또는 그의 특정 분획을 정제 배지에 적용한다.

[1122] 일반적으로, 특정한 세포주 또는 트랜스제닉 동물에게서 생산된 당단백질은 이러한 세포주 또는 트랜스제닉 동물에서 생산된 당단백질에 대해 특징적인 글리코실화 패턴을 가질 것이다. 따라서, PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161;

F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)의 특정한 글리코실화 패턴은 PD1 및/또는 LAG3 결합제를 생산하기 위해 사용되는 특정한 세포주 또는 트랜스제닉 동물에 좌우될 것이다. 단지 비-푸코실화 N-글리칸을 포함하는 PD1 및/또는 LAG3 결합제가 본 발명의 일부이고 유리할 수 있으며, 이는 비-푸코실화 항체가 시험관내와 생체내 둘 다에서 그의 푸코실화 대응물보다 더 강력한 효능을 전형적으로 나타내는 것으로 밝혀졌기 때문이다 (예를 들어, 문헌 [Shinkawa et al., J. Biol. Chem. 278: 3466-3473 (2003)]; 미국 특허 번호 6,946,292 및 7,214,775 참조). 비-푸코실화 N-글리칸을 수반한 이들 PD1 및/또는 LAG3 결합제는 면역원성일 가능성이 없으며, 이는 그들의 탄수화물 구조가 인간 혈청 IgG에 존재하는 집단의 정상적인 구성 요소이기 때문이다.

[1123] 본 발명은 차이니스 햄스터 난소 세포 (CHO N-연결된 글리칸) 또는 조작된 효모 세포 (조작된 효모 N-연결된 글리칸), 예컨대, 예를 들어, 피키아 파스토리스에서 생산된 이뮤노글로불린에 전형적으로 부가되는 N-연결된 글리칸을 포함하는 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)를 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제는 도 4에 제시되는 "조작된 효모 N-연결된 글리칸" 또는 "CHO N-연결된 글리칸" 중 하나 이상을 포함한다 (예를 들어, G0 및/또는 G0-F 및/또는 G1 및/또는 G1-F 및/또는 G2-F 및/또는 Man5). 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제는 조작된 효모 N-연결된 글리칸, 즉 G0 및/또는 G1 및/또는 G2를 포함하고, 임의적으로, Man5를 추가로 포함한다. 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제는 CHO N-연결된 글리칸, 즉 G0-F, G1-F 및 G2-F를 포함하고, 임의적으로, G0 및/또는 G1 및/또는 G2 및/또는 Man5를 추가로 포함한다. 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제 상의 모든 N-연결된 글리칸의 약 80% 내지 약 95% (예를 들어, 약 80-90%, 약 85%, 약 90% 또는 약 95%)가 조작된 효모 N-연결된 글리칸 또는 CHO N-연결된 글리칸이다. 문헌 [Nett et al. Yeast. 28(3): 237-252 (2011); Hamilton et al. Science. 313(5792): 1441-1443 (2006); Hamilton et al. Curr Opin Biotechnol. 18(5): 387-392 (2007)]을 참조한다. 예를 들어, 본 발명의 한 실시양태에서, 조작된 효모 세포는 GF15.0 또는 YGLY8316 또는 미국 특허 번호 7,795,002 또는 문헌 [Zha et al. Methods Mol Biol. 988:31-43 (2013)]에 제시된 균주이다. 또한 국제 특허 출원 공개 번호 W02013/066765를 참조한다.

[1124] **조합물**

[1125] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)는 임의의 질환, 예컨대 암의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게서, 상기 질환, 예컨대 예를 들어, 본원에 논의된 바와 같은 암을 치료 또는 예방하기 위하여, 단독으로 사용되거나 또는 다른 추가 치료제 및/또는 치료 절차와 연합하여 사용될 수 있다. 이러한 PD1 및/또는 LAG3 결합제를 추가 치료제와 연합하여 포함하는 조성물 또는 키트, 예를 들어 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이 또한 본 발명의 일부이다.

[1126] 용어 "와 연합하여"는 본 발명의 구성 요소인 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)를 또 다른 작용제, 예컨대 펩트올리주맙 또는 니볼루맙과 함께, 예를 들어 동시 전달을 위하여 단일 조성물로 제형화할 수 있거나, 또는 2개 이상의 조성물로 별도로 제형화할 수 있다 (예를 들어, 키트). 각각의 성분은 다른 성분이 투여되는 시간과 상이한 시간에 대상체에게 투여될 수 있으며; 예를 들어, 각각의 투여는 소정의 기간에 걸쳐 일정 간격으로 비-동시적으로 (예를 들어, 별도로 또는 순차적으로) 제공될 수 있다. 더욱이, 별도의 성분은 동일하거나 또는 상이한 경로에 의해 대상체에게 투여될 수 있다 (예를 들어, 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제는 비경구적으로 투여되고 파클리탁셀은 경구적으로 투여됨).

[1127] 특정한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)는 항암 치료제 또는 면역조정 약물, 예컨대 면역조정 수용체 억제제, 예를 들어, 이러한 수용체와 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 연합하여 사용될 수 있다.

[1128] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어,

F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)는 억제제 (예를 들어, 작은 유기 분자 또는 항체 또는 그의 항원-결합 단편), 예컨대: MTOR (라파마이신의 포유류 표적) 억제제, 세포독성제, 백금 작용제, BRAF 억제제, CDK4/6 억제제, EGFR 억제제, VEGF 억제제, 미세소관 안정화제, 탁산, CD20 억제제, CD52 억제제, CD30 억제제, RANK (핵 인자 카파-B의 수용체 활성화제) 억제제, RANKL (핵 인자 카파-B 리간드의 수용체 활성화제) 억제제, ERK 억제제, MAP 키나제 억제제, AKT 억제제, MEK 억제제, PI3K 억제제, HER1 억제제, HER2 억제제, HER3 억제제, HER4 억제제, Bcl2 억제제, CD22 억제제, CD79b 억제제, ErbB2 억제제, 또는 파르네실 단백질 트랜스퍼라제 억제제 중 하나 이상과 결합된다.

[1129] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)는 하기 중 하나 이상과 결합된다: 항-PD1 항체 또는 그의 항원-결합 단편 (예를 들어, 캄브롤리주맙, 니볼루맙, CT-011), 항-PDL1, 항-CTLA4, 항-TIM3, 항-CS1 [예를 들어, 엘로투주맙(елotuzumab)], 항-KIR2DL1/2/3 [예를 들어, 리릴루맙(lirilumab)], 항-CD27, 항-CD137 [예를 들어, 우렐루맙(urelumab)], 항-GITR (예를 들어, TRX518), 항-PD-L1 (예를 들어, BMS-936559, MSB0010718C 또는 MPDL3280A), 항-PD-L2, 항-ILT1, 항-ILT2, 항-ILT3, 항-ILT4, 항-ILT5, 항-ILT6, 항-ILT7, 항-ILT8, 항-CD40, 항-OX40, 항-CD137, 항-KIR2DL1, 항-KIR2DL2/3, 항-KIR2DL4, 항-KIR2DL5A, 항-KIR2DL5B, 항-KIR3DL1, 항-KIR3DL2, 항-KIR3DL3, 항-NKG2A, 항-NKG2C, 항-NKG2E, 또는 상기 표적의 임의의 작은 유기 분자 억제제; IL-10, 항-IL10, 항-TSLP (흉선 간질 림포포이에틴) 또는 PEG화 IL-10.

[1130] 본 발명의 한 실시양태에서, PEG화 IL-10 분자 상의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 모이어티의 분자량은 약 12,000 달톤 또는 약 20,000 달톤이다. 본 발명의 한 실시양태에서, PEG화 IL-10 (예를 들어, PEG화 인간 IL-10)은 링커 (예를 들어, C₂₋₁₂ 알킬, 예컨대 --CH₂CH₂CH₂--)를 통하여 IL-10의 단일 서브유닛의 단일 아미노산 잔기에 공유적으로 부착된 1개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자를 포함하며, 여기서 상기 아미노산 잔기는 N-말단 아미노산 잔기의 알파 아미노 기 또는 리신 잔기의 엡실론 아미노 기이다. 본 발명의 한 실시양태에서, PEG화 IL-10은 (PEG)_b-L-NH-IL-10 (여기서 b는 1-9이고 L은 IL-10의 단일 아미노산 잔기의 질소 (N)에 공유적으로 부착된 C₂₋₁₂ 알킬 링커 모이어티임)이다. 본 발명의 한 실시양태에서, PEG화 IL-10의 IL-10은 하기 식을 갖는다: [X--O(CH₂CH₂O)_n]_b-L-NH-IL-10 (여기서 X는 H 또는 C₁₋₄ 알킬이고; n은 20 내지 2300이고; b는 1 내지 9이고; L은 1개의 IL-10 서브유닛의 아미노 말단에서 알파 아미노 기의 질소 (N)에 공유적으로 부착되는 C₁₋₁₁ 알킬 링커 모이어티인데; 단 b가 1 초과이면, n의 총수는 2300을 초과하지 않음). US7,052,686을 참조한다.

[1131] 본 발명의 한 실시양태에서, 항-IL-10 항체 또는 그의 항원-결합 단편 (예를 들어, 인간화 항체)은 아래 제시된 CDR을 포함한다:

[1132] CDR-L1: KTSQNIFENLA (서열식별번호: 71);

[1133] CDR-L2: NASPLQA (서열식별번호: 72);

[1134] CDR-L3: HQYYSGYT (서열식별번호: 73);

[1135] CDR-H1: GFTFSDYHMA (서열식별번호: 74);

[1136] CDR-H2: SITLDATYTYRDSVRG (서열식별번호: 75);

[1137] CDR-H3: HRGFSVWLDY (서열식별번호: 76);

[1138] (US 7,662,379 참조).

[1139] 본 발명의 한 실시양태에서, 항-TSLP 항체 또는 그의 항원-결합 단편 (예를 들어, 인간화 항체)은 아래 제시된 CDR을 포함한다:

[1140] CDR-H1: GYIFTDYAMH (서열식별번호: 77);

[1141] CDR-H2: TFIPLLDTSYDYNQNFK (서열식별번호: 78);

- [1142] CDR-H3: MGVTHSYVMDA (서열식별번호: 79);
- [1143] CDR-L1: RASQPISISVH (서열식별번호: 80);
- [1144] CDR-L2: FASQSYS (서열식별번호: 81);
- [1145] CDR-L3: QQTFLPYT (서열식별번호: 82);
- [1146] (W02008/76321 참조).
- [1147] 본 발명의 한 실시양태에서, 항-CD27 항체 또는 그의 항원-결합 단편 (예를 들어, 인간화 항체)은 아래 제시된 CDR을 포함한다:
- [1148] CDR-H1: GFIIKATYMH (서열식별번호: 83);
- [1149] CDR-H2: RIDPANGETKYDPKFQV (서열식별번호: 84);
- [1150] CDR-H3: YAWYFDV (서열식별번호: 85);
- [1151] CDR-L1: RASENIYSFLA (서열식별번호: 86);
- [1152] CDR-L2: HAKTLAE (서열식별번호: 87);
- [1153] CDR-L3: QHYYSPLT (서열식별번호: 88);
- [1154] (W02012/04367 참조).
- [1155] 따라서, 본 발명은 PD1 및/또는 LAG3 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)를 펙브롤리주맵과 연합하여 포함하는 조성물; 뿐만 아니라 유효량의 PD1 및/또는 LAG3 결합체를 펙브롤리주맵과 연합하여 (예를 들어, 펙브롤리주맵은 3주마다 1회 200 mg 투여됨) 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 암을 치료 또는 예방하는 방법을 포함한다. 임의적으로, 상기 대상체에 또 다른 추가 치료제와 연합하여 투여되기도 한다.
- [1156] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)는 하기 아미노산 서열:
- [1157] QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYFTFTNYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSSNGGTFNFKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYR FDMGFDYWGQGTITVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK (서열식별번호: 89)을 포함하는 이뮤노글로불린 중쇄 (또는 그의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3) 및 하기 아미노산 서열:
- [1158] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열식별번호: 90)을 포함하는 이뮤노글로불린 경쇄 (또는 그의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3)를 포함하는 펙브롤리주맵 항체와 연합된다.
- [1159] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합체 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)는 하기 아미노산 서열:
- [1160] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKLEWVAVIWYDGSKRKYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR

RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTKSLSLSLGK (서열식별번호: 91)을 포함하는 이뮤노글로블린 중쇄 (또는 그의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3); 및 하기 아미노산 서열:

[1161] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC (서열식별번호: 92)을 포함하는 이뮤노글로블린 경쇄 (또는 그의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3)를 포함하는 항체와 연합된다.

[1162] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)는 하기 중 임의의 하나 이상과 연합된다: 13-시스-레티노산, 3-[5-(메틸술폰닐피페라딘메틸)-인돌릴]-퀴놀론, 4-히드록시타목시펜, 5-데옥시우리딘, 5'-데옥시-5-플루오로우리딘, 5-플루오로우라실, 6-메캅토프린, 7-히드록시스타우로스포린, A-443654, 아비라테론아세테이트, 압락산, ABT-578, 아콜비펜, ADS-100380, 아플리베르셉트, ALT-110, 알트레타민, 아미포스틴, 아미노글루테티מיד, 암루비신, 암사크린, 아나그렐리드, 아나스트로졸, 안지오스타틴, AP-23573, ARQ-197, 아르족시펜, AS-252424, AS-605240, 아스파라기나제, ATI3387, AT-9263, 아트라센탄, 악시티닙, AZD1152, 바실루스 칼메트 게랑 (*Bacillus Calmette-Guerin*; BCG) 백신, 바타블린, BC-210, 베소두톡스, 베바시주맵, BGJ398, 비칼루타מיד, 바이오111, BIO140, BKM120, 블레오마이신, BMS-214662, BMS-247550, BMS-275291, BMS-310705, 보르테지밍, 부세렐린, 부술판, 칼시트리올, 캄프토테신, 카네르티닙, 카페시타빈, 카르보플라틴, 카르무스틴, CC8490, CEA (재조합 백시니아-암배아 항원 백신), 세디라닙, CG-1521, CG-781, 클라미도신, 클로람부실, 클로로톡신, 실렌기티드, 시미티딘, 시스플라틴, 클라드리빈, 클로드로네이트, 코비메트닙, COL-3, CP-724714, 시클로포스파미드, 시프로테론, 시프로테론아세테이트, 시타라빈, 시토신아라비노시드, 다브라페닙, 다카르바진, 다시노스타트, 닥티노마이신, 달로투주맵, 다누세르티프, 다사타닙, 다우노루비신, 데카타닙, 데구엘린, 데니류킨, 데옥시코포르마이신, 뎀시펩티드, 디아릴프로피오니트릴, 디에틸스틸베스트롤, 디프티톡스, DNE03, 도세탁셀, 도비티닙, 독소루비신, 드롤록시펜, 에도테카린, 이트룸-90 표지된 에도트레오티드, 에도트레오티드, EKB-569, EMD121974, 엔코라페닙, 엔도스타틴, 엔잘루타מיד, 엔자스타우린, 에피루비신, 에피틸론 B, ERA-923, 에르비톡스, 에를로티닙, 에스트라디올, 에스트라무스틴, 에토포시드, 에베롤리무스, 엑세메스탄, 피클라투주맵, 피나스테리드, 플라보피리돌, 플록수리딘, 플루다라빈, 플루드코코르티손, 플루옥시메스테론, 플루타미드, FOLFOX 요법, 폴베스트란트, 갈레테론, 가네테스윙, 게피티닙, 쟈시타빈, 지마테칸, 글루코피라노실 지질 A, 고세렐린, 고세렐린 아세테이트, 고시폴, GSK461364, GSK690693, HMR-3339, 히드록시프로게스테론카프로에이트, 히드록시우레아, IC87114, 이다루비신, 이독시펜, 이포스파미드, IM862, 이마티닙, IMC-1C11, 이미퀴모드, INC280, INCB24360, INO1001, 인터페론, 인터류킨-2, 인터류킨-12, 이필리무맵, 이리노테칸, JNJ-16241199, 케토코나졸, KRX-0402, 라파티닙, 라소폭시펜, LEE011, 레트로졸, 류코보린, 류프롤리드, 류프롤리드 아세테이트, 레바미솔, 리포숨 포착된 파클리탁셀, 로무스틴, 로나파르닙, 루칸톤, LY292223, LY292696, LY293646, LY293684, LY294002, LY317615, LY3009120, 마리마스타트, 메클로로에타민, 메드록시프로게스테론아세테이트, 메게스트롤아세테이트, MEK162, 멜팔란, 메르캅토프린, 메스나, 메토티렉세이트, 미트라마이신, 미토마이신, 미토탄, 미톡산트론, 열 사멸된 미코박테리움 오부엔세 (*Mycobacterium obuense*)의 현탁제, 토자세르티프, MLN8054, 나티토클락스, 네오바스타트, 네라티닙, 뉴라디암, 닐로티닙, 닐루티מיד, 놀라트렉세드, NVP-BEZ235, 옴리메르센, 옥트레오티드, 오파투무맵, 오레고보맵, 오르나투주맵, 오르테로넬, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 팔보시클립, 파미드로네이트, 파니투무맵, 파조파닙, PD0325901, PD184352, PEG-인터페론, 페메트렉세드, 펜토스타틴, 페리포신, 페닐알라닌무스타드, PI-103, 픽틸리십, PIK-75, 피펜독시펜, PKI-166, 폴리카마이신, 폴리-ICLC, 포르피머, 프레드니손, 프로카르바진, 프로게스틴, PSK 단백질 결합된 폴리사카라이드 [바시디오마이세테 코리올루스 베르시콜로르 (*Basidiomycete coriolus versicolor*)로부터 유래됨], PLX8394, PX-866, R-763, 탈록시펜, 탈티트렉세드, 라족신, 리다포롤리무스, 리톡시맵, 로미렙신, RTA744, 루비테칸, 스크립타이드, Sdx102, 셀리시클립, 셀루메티닙, 세막사닙, SF1126, 시룰리무스, SN36093, 소라페닙, 스피로놀락톤, 스쿠알라민, SR13668, 스트렙토조신, SU6668, 수베로일아날리드 히드록삼산, 수니티닙, 합성 에스트로겐, 탈람파넬, 탈리모젠 라혜르프랩백, 타목시펜, 테모졸로미드, 템시롤리무스, 테니포시드, 테스밀리펜, 테스토스테론, 테트란드린, TGX-221, 탈리도미드, 6-티오구아닌, 티오테과, 티실리무맵, 티피파르닙, 티보자닙, TKI-258, TLK286, TNF α (중양 괴사 인자 알파), 토포테칸, 토레미펜 시트레이트, 트라벵테딘, 트라메티닙, 트라스투주맵, 트레티노인, 트리코스타틴 A, 트리스리빈포스페이트 1수화물, 트립토텔린 파모에이트, TSE-424, 우라실 무스타드, 발프로산, 발루비신, 반데타닙, 바탈라닙, VEGF 트랩, 베무라페닙, 빈블라스틴, 빈크리스틴,

빈데신, 비노렐빈, 비탁신, 비테스판, 보리노스타트, VX-745, 워트만닌, Xr311, 바실루스 투베르쿨로시스 (*Bacillus tuberculosis*)의 Z-100 온수 추출물, 자놀리무맘, ZK186619, ZK-304709, ZM336372 또는 ZSTK474.

[1163] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)는 하기를 포함하지만, 그에 제한되지 않는 하나 이상의 항구토제와 연합된다: 카소피탄트 (글락소스미스클라인(GlaxoSmithKline)), 네투피탄트 (MGI-헬신(MGI-Helsinn)) 및 다른 NK-1 수용체 길항제, 팔로노세트론 (MGI 파마(MGI Pharma)가 알록시(Aloxi)로서 판매함), 아프레피탄트 (머크 앤 캄파니(Merck and Co.) (뉴저지주 로웨이)가 에멘드(Emend)로서 판매함), 디펜히드라민 (화이자(Pfizer) (뉴욕주 뉴욕)가 베나드릴(Bendryl)®로서 판매함), 히드록시진 (화이자 (뉴욕주 뉴욕)가 아타락스(Atarax)®로서 판매함), 메토클로프라미드 (AH 로빈스 캄파니(AH Robins Co.) (버지니아주 리치몬드)가 레글란(Reglan)®으로서 판매함), 로라제팜 (와이어스(Wyeth) (뉴저지주 매디슨)가 아티반(Ativan)®으로서 판매함), 알프라졸람 (화이자 (뉴욕주 뉴욕)가 재낙스(Xanax)®로서 판매함), 할로페리돌 (오르토-맥네일(Ortho-McNeil) (뉴저지주 래리턴)이 할돌(Haldol)®로서 판매함), 드로페리돌 (이납신(Inapsine)®), 드로나비롤 (솔베이 파마슈티칼스, 인크.(Solvay Pharmaceuticals, Inc.) (조지아주 매리에타)가 마리놀(Marinol)®로서 판매함), 텍사메타손 (머크 앤 캄파니(뉴저지주 로웨이)가 데카드론(Decadron)®으로서 판매함), 메틸프레드니솔론 (화이자 (뉴욕주 뉴욕)가 메드롤(Medrol)®로서 판매함), 프로클로르페라진 (글락소스미스클라인 (노스캐롤라이나주 리서치 트라이앵글 파크)이 콤파진(Compazine)®으로서 판매함), 그라니세트론 (호프만-라 로슈 인크.(Hoffmann-La Roche Inc.) (미국 뉴저지주 너틀리)가 키트릴(Kytril)®로서 판매함), 온단세트론 (글락소스미스클라인 (노스캐롤라이나주 리서치 트라이앵글 파크)이 조프란(Zofran)®으로서 판매함), 돌라세트론 (사노피-아벤티스(Sanofi-Aventis) (뉴욕주 뉴욕)가 안제메트(Anzemet)®로서 판매함), 트로피세트론 (노바티스(Novartis) (뉴저지주 이스트 하노버)가 나보반(Navoban)®으로서 판매함).

[1164] 암 치료의 다른 부작용은 적혈구 및 백혈구 결핍증을 포함한다. 따라서, 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)는 이러한 결핍증을 치료 또는 예방시켜 주는 작용제, 예컨대, 예를 들어, 필그라스티م, PEG-필그라스티م, 에리트로포이에틴, 에포에틴 알파 또는 다르베포에틴 알파와 연합된다.

[1165] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)는 백신과 연합된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 백신은 항암 백신, 펩티드 백신 또는 DNA 백신이다. 예를 들어, 본 발명의 한 실시양태에서, 백신은 종양 세포 (예를 들어, 방사선 조사된 종양 세포) 또는 수지상 세포 (예를 들어, 종양 펩티드로 펄스된 수지상 세포)이다.

[1166] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)는 치료 절차와 연합하여 투여된다. 치료 절차는 하나 이상의 증상 (예를 들어, 암 및/또는 감염성 질환의 하나 이상의 증상)의 퇴행 또는 제거를 유도시키는 것에 의해서든지, 아니면 이러한 증상(들), 예를 들어, 암 증상, 예컨대 종양 성장 또는 전이의 진행을 임의의 임상적으로 측정 가능한 정도로 억제하는 것에 의해서든지 간에, 치료받는 대상체에서 상기 하나 이상의 증상을 경감시키는 것을 목적으로 하는, 대상체를 치료하는데 있어서 의사 또는 임상의로에 의해 수행된 하나 이상의 단계이다.

[1167] 본 발명의 한 실시양태에서, 치료 절차는 항암 방사선 요법이다. 예를 들어, 본 발명의 한 실시양태에서, 방사선 요법은 외부 빔 요법 (EBT)인데, 이는 고 에너지 X선의 빔을 종양 위치에 전달하는 방법이다. 이러한 빔은 환자의 외부에 생성되고 (예를 들어, 선형 가속기에 의함), 종양 부위를 표적으로 한다. 이들 X선은 암세포를 파괴시킬 수 있고, 조심스럽게 치료 계획을 세우면 주변의 정상 조직은 보존할 수 있다. 방사선 공급원이 환자의 신체 내부에 놓이지 않는다. 본 발명의 한 실시양태에서, 방사선 요법은 양성자 빔 요법인데, 이는 X선 대신 양성자를 사용하여 병든 조직을 공격하는 입체조형 요법의 한 유형이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 방사선 요법은 입체조형 외부 빔 방사선 요법인데, 이는 방사선 요법이 개개인의 신체 구조에 맞도록 진보된 기술을

사용하는 기술이다.

- [1168] 본 발명의 한 실시양태에서, 방사선 요법은 근접조사 요법인데, 이는 방사성 물질을 신체 내에 일시적으로 배치하는 것으로, 통상적으로 특정 부위에 추가 선량 또는 부스트의 방사선을 제공하며 이용된다.
- [1169] 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)와 연합하여 투여된 외과적 기술은 외과적 종양절제술이다.
- [1170] **치료적 용도**
- [1171] 본 발명은 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)를, 임의적으로 추가 치료제 또는 치료 절차와 연합하여 사용함으로써 예방 또는 치료될 수 있는 적어도 하나의 질환 또는 장애를 예방 및/또는 치료하는 방법을 포함하며, 이러한 방법은 상기 질환 또는 장애의 예방 및/또는 치료를 필요로 하는 대상체에게, 제약상 활성 양의 PD1 및/또는 LAG3 결합제, 및/또는 이를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [1172] "치료" 또는 "치료하는" 것은 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)를, 예를 들어, 암 또는 감염성 질환이 있거나, 또는 암 또는 감염성 질환이 있는 것으로 의심되는 (그에 대한 작용제가 치료 활성을 가짐) 대상체를 치료하는데 있어서 PD1 및/또는 LAG3 결합제가 유효한 질환의 하나 이상의 증상을 갖는 대상체에게 투여하는 것을 의미한다. 전형적으로, PD1 및/또는 LAG3 결합제는 하나 이상의 증상 (예를 들어, 암 또는 감염성 질환의 하나 이상의 증상)의 퇴행 또는 제거를 유도하는 것에 의해서든지, 아니면 이러한 증상(들), 예를 들어, 암 증상, 예컨대 종양 성장 또는 전이의 진행을 임의의 임상적으로 측정 가능한 정도로 억제하는 것에 의해서든지 간에, 치료받는 대상체 또는 집단에게서 상기 하나 이상의 증상을 경감시켜 줄 "유효량" 또는 "유효한 용량"으로 투여된다. PD1 및/또는 LAG3 결합제의 유효량은 질환 병기, 환자의 연령 및 체중, 및 대상체에서 목적하는 반응을 유발시킬 수 있는 약물의 능력과 같은 요인에 따라서 다양할 수 있다.
- [1173] 치료하고자 하는 대상체는 임의의 온혈 동물일 수 있지만, 특히 포유류, 보다 특히 인간이다. 통상의 기술자에게 명백한 바와 같이, 치료하고자 하는 대상체는 특히, 본원에 언급된 질환 및 장애를 앓고 있거나, 또는 이러한 질환 또는 장애에 걸릴 위험이 있는 사람일 것이다. 일반적으로, 치료 요법은 목적하는 치료 효과가 달성될 때까지 및/또는 목적하는 치료 효과가 유지되어야 하는 한은 수행될 것이다. 또한, 이는 임상외에 의해 결정될 수 있다.
- [1174] 본 발명은 또한, 본원에 기재된 바와 같은 적어도 하나의 아미노산 서열, PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디), 폴리펩티드 또는 화합물, 예컨대 F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177; 및 임의적으로 적어도 하나의 제약상 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다. 이러한 제제, 담체, 부형제 및 희석제는 일반적으로, 아블링스 엔.브이.의 공개된 특허 출원, 예컨대 예를 들어 WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 또는 WO 2009/068627에 기재된 바와 같을 수 있다.
- [1175] 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)의 제약 또는 멸균성 조성물을 제조하기 위하여, PD1 및/또는 LAG3 결합제를 제약상 허용되는 담체 또는 부형제와 혼합한다. 예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences and U.S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984)]을 참조한다. 이러한 조성물은 본 발명의 일부이다.

- [1176] 본 발명의 범위는 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)를 포함하는 건조된, 예를 들어, 동결 건조된 조성물; 또는 제약상 허용되는 담체를 포함하지만 물이 실질적으로 결여된 그의 제약 조성물을 포함한다.
- [1177] 치료제 및 진단제의 제형은 허용되는 담체, 부형제, 또는 안정화제와 혼합함으로써, 예를 들어, 동결건조된 산제, 슬러리, 수성 용제 또는 현탁제의 형태로 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Hardman, et al. (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Avis, et al. (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, NY] 참조).
- [1178] 일반적으로, 본원에 언급된 질환 및 장애의 예방 및/또는 치료를 위하여 및 치료하고자 하는 특이적 질환 또는 장애, 사용될 특이적 용합 단백질 또는 구조물의 효력 및/또는 반감기, 구체적 투여 경로 및 사용된 특이적 제약 제형 또는 조성물에 따라서, 본 발명의 나노바디 및 폴리펩티드는 일반적으로, 1일 체중 kg당 1 그램 내지 0.01 마이크로그램, 바람직하게 1일 체중 kg당 0.1 그램 내지 0.1 마이크로그램, 예컨대 1일 체중 kg당 약 1, 10, 100 또는 1000 마이크로그램의 양으로 투여될 것인데, 이는 단일 1일 용량으로서 연속적으로 (예를 들어, 주입에 의함) 투여되거나 또는 그날 동안 수회 용량 분으로 나누어서 투여될 것이다. 임상적은 일반적으로, 본원에 언급된 요인에 따라서 적합한 1일 용량을 결정할 수 있을 것이다. 구체적인 경우에, 임상적은, 예를 들어 상기 인용된 요인을 기준으로 하고 자신의 전문적 판단에 근거하여, 이들 양을 벗어나서 선택할 수 있다는 것이 또한 명백할 것이다. 일반적으로, 투여될 양에 관한 일부 가이드라인은 본질적으로 동일한 경로를 통하여 투여된 동일한 표적에 대한 거의 동등한 수준의 통상적인 항체 또는 항체 단편에 대하여 통상적으로 투여되는 양으로부터 수득될 수 있지만, 친화도/결합 활성도, 효능, 생체내 분포, 반감기 및 통상의 기술자에게 널리 공지된 유사한 요인 상의 차이를 고려할 수 있다.
- [1179] PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)를 대상체에게 투여하는 방식은 다양할 수 있다. 투여 경로는 경구, 직장, 경점막, 장내, 비경구; 근육내, 피하, 피내, 수질내, 척추강내, 직접 뇌실내, 정맥내, 복강내, 비내, 안내, 흡입, 취입, 국소, 피부, 경피 또는 동맥내를 포함한다.
- [1180] 적절한 용량의 결정은, 예를 들어, 치료에 영향을 미치는 것으로 관련 기술분야에 공지되어 있거나 또는 추정되는 파라미터 또는 인자를 이용하여, 임상적에 의해 이루어진다. 일반적으로, 용량을 결정하는데 있어서, 그 용량은 최적의 용량보다 다소 적은 양으로 시작하고, 임의의 부정적 부작용과 비교하여 목적하거나 또는 최적의 효과가 달성될 때까지 그 후 소량씩 증가시킨다. 중요한 진단 측정치는, 예를 들어, 염증의 증상 또는 생산된 염증성 시토카인의 수준을 포함한다. 일반적으로, 사용될 생물학적 제제는 치료를 위해 표적화된 동물과 동일한 종으로부터 유래됨으로써, 시약에 대한 어떠한 면역 반응도 최소화시키는 것이 바람직하다. 인간 대상체의 경우, 예를 들어, 키메라, 인간화 및 완전한 인간 항체가 바람직할 수 있다. PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, F023700924 또는 F023700931)의 적절한 용량을 선택하는데 있어서의 가이드라인은 입수 가능하다 (예를 들어, 문헌 [Wawrzynczak (1996) Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.) (1991) Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, NY; Bach (ed.) (1993) Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, NY; Baert et al. (2003) New Engl. J. Med. 348:601-608; Milgrom et al. (1999) New Engl. J. Med. 341:1966-1973; Slamon et al. (2001) New Engl. J. Med. 344:783-792; Beniaminovitz et al. (2000) New Engl. J. Med. 342:613-619; Ghosh et al. (2003) New Engl. J. Med. 348:24-32; Lipsky et al. (2000) New Engl. J. Med. 343:1594-1602] 참조).
- [1181] 특정 질환 증상이 경감되었는지의 여부는 그러한 증상의 중증도 또는 진행 상태를 평가하기 위하여 의사 또는 다른 전문 헬스케어 제공자에 의해 전형적으로 사용되는 임의의 임상 측정에 의해 평가될 수 있다. 본 발명의 한 실시양태 (예를 들어, 치료 방법 또는 제조 물질)가 모든 대상체에서 표적 질환 증상(들)을 완화하는데 효과

적이지 않을 수 있지만, 이는 관련 분야에 공지된 임의의 통계적 테스트 예컨대 스튜던트(Student) t 테스트, χ^2 -테스트, 만 & 휘트니(Mann & Whitney)에 따른 U-테스트, 크루스칼-왈리스(Kruskal-Wallis) 테스트 (H-테스트), 존키어-테르스트라(Jonckheere-Terpstra)-테스트 및 윌콕슨(Wilcoxon)-테스트에 의해 결정된 바와 같이 통계적으로 유의한 수의 대상체에서 표적 질환 증상(들)을 완화하여야 한다.

[1182] 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)는 PD1에 결합할 수 있기 때문에 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디), 이는 특히, 암, 전이성 암, 고형 종양, 혈액암, 백혈병, 림프종, 골육종, 횡문근육종, 신경모세포종, 신장암, 백혈병, 신장 이행 세포암, 방광암, 윌름스암, 난소암, 췌장암, 유방암, 전립선암, 골암, 폐암, 비소세포 폐암, 위암, 결장직장암, 자궁경부암, 활막 육종, 두경부암, 편평 세포 암종, 다발성 골수종, 신세포암, 망막모세포종, 간모세포종, 간세포성 암종, 흑색종, 신장의 횡문근양 종양, 유잉 육종, 연골육종, 뇌암, 교모세포종, 수막종, 뇌하수체 선종, 전정 수반세포종, 원시 신경외배엽 종양, 수모세포종, 성상세포종, 역형성 성상세포종, 핍지교종, 상의세포종, 맥락종 유두종, 진성 다혈구혈증, 혈소판혈증, 특발성 골수섬유증, 연부 조직 육종, 갑상선암, 자궁내막암, 카르시노이드 암 또는 간암, 유방암 및 위암의 치료 또는 예방을 위하여 사용될 수 있다.

[1183] 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디)는 감염성 질환, 예컨대, 예를 들어, 바이러스 감염, 박테리아 감염, 진균 감염 또는 기생충 감염의 치료 또는 예방을 위하여 사용될 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, 바이러스 감염은 인간 면역결핍증 바이러스 (HIV), 에볼라 바이러스, 간염 바이러스 (A, B, 또는 C), 포진 바이러스 (예를 들어, VZV, HSV-I, HAV-6, HSV-II, 및 CMV, 엡스타인 바(Epstein Barr) 바이러스), 아테노바이러스, 인플루엔자 바이러스, 플라비바이러스, 에코바이러스, 리노바이러스, 콕사키 바이러스, 코로나바이러스, 호흡기 합포체 바이러스, 유행성 이하선염 바이러스, 로타바이러스, 홍역 바이러스, 풍진 바이러스, 파르보바이러스, 백시니아 바이러스, HTLV 바이러스, 탱기 바이러스, 유두종 바이러스, 몰사마귀 바이러스, 폴리오바이러스, 광견병 바이러스, JC 바이러스 또는 아르보바이러스성 뇌염 바이러스로 이루어진 군으로부터 선택된 바이러스로의 감염이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 박테리아 감염은 클라미디아 (*Chlamydia*), 리케치아 박테리아, 미코박테리아, 스타필로코쿠스, 스트렙토코쿠스, 뉴모노코쿠스, 메닝고코쿠스 및 고노코쿠스, 클레브시엘라, 프로테우스, 세라티아, 슈도모나스, 레지오넬라(*Legionella*), 코리네박테리움 디프테리아에(*Corynebacterium diphtheriae*), 살모넬라(*Salmonella*), 바실루스, 비브리오 콜레라에(*Vibrio cholerae*), 클로스트리디움 테탄(*Clostridium tetan*), 클로스트리디움 보툴리눔(*Clostridium botulinum*), 바실루스 안트리시스(*Bacillus anthracis*), 예르시니아 페스티스(*Yersinia pestis*), 미코박테리움 레프라이에(*Mycobacterium leprae*), 미코박테리움 레프로마토시스(*Mycobacterium lepromatosis*), 및 보리엘라(*Borriella*)로 이루어진 군으로부터 선택된 박테리아로의 감염이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 진균 감염은 칸디다 (*Candida*) (알비칸스(*albicans*), 크루세이(*krusei*), 글라브라타(*glabrata*), 트로피칼리스(*tropicalis*) 등), 크립토코쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*), 아스페르길루스 (푸미가투스(*fumigatus*), 니거(*niger*) 등), 무코랄레스(*Mucorales*) 속 (무코르(*mucor*), 암시디아(*absidia*), 리조푸스(*rhizopus*)), 스포로트릭스 스킨키이(*Sporothrix schenkii*), 블라스토마이세스 데르마티티디스(*Blastomyces dermatitidis*), 파라코시디오이데스 브라실리엔시스(*Paracoccidioides brasiliensis*), 코시디오이데스 임미티스(*Coccidioides immitis*) 및 히스토플라스마 캡슐라툼(*Histoplasma capsulatum*)으로 이루어진 군으로부터 선택된 진균으로의 감염이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 기생충 감염은 엔타모에바 히스토리티카(*Entamoeba histolytica*), 발란티디움 콜리(*Balantidium coli*), 나에글레리아 포울레리(*Naegleria fowleri*), 아칸타모에바(*Acanthamoeba*), 기아르디아 람비아(*Giardia lamblia*), 크립토스포리디움(*Cryptosporidium*), 뉴모시스티스 카리니이(*Pneumocystis carinii*), 플라스모디움 비박스(*Plasmodium vivax*), 바베시아 미크로티(*Babesia microti*), 트리파노소마 브루세이(*Trypanosoma brucei*), 트리파노소마 크루지(*Trypanosoma cruzi*), 리슈마니아 도노바니(*Leishmania donovani*), 톡소플라스마 곤디이(*Toxoplasma gondii*), 닙포스트롱길루스 브라실리엔시스(*Nippostrongylus brasiliensis*)로 이루어진 군으로부터 선택된 기생충으로의 감염이다.

[1184] 본 발명은 또한

[1185] PD1/LAG3 결합제 (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)를 대상체에게 투여함으로써 이러한 대상

체의 신체 내에서; 또는 LAG3을 PD1/LAG3 결합제와 접촉시킴으로써 시험관내에서

- [1186] · LAG3이 MHC 부류 II 분자에 결합하는 것을 억제하는 방법;
- [1187] · LAG3 결합을 놓고 MHC 부류 II 분자와 경쟁하는 방법;
- [1188] · LAG3 결합제, 예를 들어, PD1/LAG3 결합제가 활성화된 CD4+ 및/또는 CD8+ T-세포의 표면 상의 천연 LAG3에 결합하는 방법;
- [1189] · LAG3 동종이량체화를 억제하는 방법; 및/또는
- [1190] · IL-2의 항원-특이적 T-세포 생성을 자극하는 방법
- [1191] 을 포함한다. 이러한 활성화는 LAG3 결합제를 통하여 매개될 수 있다. 따라서, 상기 방법은 또한, LAG3 결합제를 포함하는 임의의 결합제를 이용하여 수행될 수 있다.
- [1192] 본 발명은 또한, PD1/LAG3 결합제 (예를 들어, F023700924 또는 F023700931)를 대상체에게 투여함으로써 이러한 대상체의 신체 내에서; 또는 PD1을 PD1/LAG3 결합제와 접촉시킴으로써 시험관내에서
- [1193] · PD1과 PD-L1 및/또는 PD-L2 간의 결합을 차단하는 방법;
- [1194] · PD1 결합제, 예를 들어, PD1/LAG3 결합제를 B-세포 및/또는 T-세포에 결합하는 방법;
- [1195] · PD1 매개된 T-세포 억제, T-세포 아포토시스 및/또는 T-세포 소모를 차단하는 방법
- [1196] 을 포함한다. 이러한 활성화는 PD1 결합제를 통하여 매개될 수 있다. 따라서, 상기 방법은 또한, PD1 결합제를 포함하는 임의의 결합제를 이용하여 수행될 수 있다.
- [1197] 본 발명은 특정 결합제, 예컨대 PD1 및/또는 LAG3 결합제를 항-인간 혈청 알부민 결합제, 예컨대 ALB11002와 융합시킴으로써 상기 결합제의 반감기를 증가시키는 방법을 추가로 포함한다.
- [1198] 본 발명은 또한, 전술된 질환 및 장애의 치료를 필요로 하는 (즉, 전술된 질환 중 하나를 앓고 있는) 대상체에 게 치료상 유효량의 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177)를 투여하는 것을 일반적으로 포함하는, 전술된 질환 및 장애의 치료 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한, 전술된 질환 또는 장애 중 하나의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 본 발명의 PD1 및/또는 LAG3 결합제에 관한 것이다.
- [1199] 본원에 기재된 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177), 폴리펩티드, 화합물, 및 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 벡터)는 바람직하게, 순환계에 투여된다. 따라서, 이들은 PD1 및/또는 LAG3 결합제, 폴리펩티드, 화합물, 및 폴리뉴클레오티드를 순환계 내로 유입될 수 있게 해주는 임의의 적합한 방식으로, 예컨대 주사 또는 주입을 통하여 정맥내로 투여될 수 있거나, 또는 PD1 및/또는 LAG3 결합제, 폴리펩티드, 화합물, 및 폴리뉴클레오티드를 순환계 내로 유입될 수 있게 해주는 임의의 다른 적합한 방식 (경구 투여, 피하 투여, 근육내 투여, 피부를 통한 투여, 비내 투여, 폐를 통한 투여 등 포함)으로 투여될 수 있다. 적합한 투여 방법 및 투여 경로는 통상의 기술자에게 명백할 것인데, 이는 또한, 예를 들어 아블링스 엔.브이.의 공개된 특허 출원, 예컨대 예를 들어 WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 또는 WO 2009/068627의 교시로부터 명백할 것이다.
- [1200] 본 발명은 또한, 본원에 제시된 PD1 및/또는 LAG3 결합제 (예를 들어, ISVD, 예컨대 나노바디) (예를 들어, F023700899; F023700931; F023701016; F023701017; F023700924; F023700969; F023700970; F023701163; F023701168; F023701173; F023701178; F023701161; F023701166; F023701171; F023701176; F023701162; F023701167; F023701172; 또는 F023701177), 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 중 임의의 것 또는 그의 제약 조성물을 포함하는 주사 장치를 제공한다. 주사 장치는 특정 물질을 비경구 경로, 예를 들어, 근육내, 피하 또는 정맥내를 통하여 환자의 체내로 도입시켜 주는 장치이다. 예를 들어, 주사 장치는, 예를 들어, 주사하고자 하는 유체 (예를 들어, PD1 및/또는 LAG3 결합제 또는 그의 제약 조성물을 포함함)를 보유하기 위한 실린더 또는 배럴, 피부를 뚫기 위한 바늘 및/또는 유체를 주사하기 위한 혈관; 및 상기 실린더로부터 상기 바늘 구멍을

통해 유체를 밀어 내기 위한 플런저를 포함하는 주사기 (예를 들어, 제약 조성물이 미리 충전됨, 예컨대 자동-주사기)일 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, PD1 및/또는 LAG3 결합제 또는 그의 제약 조성물을 포함하는 주사 장치는 정맥내 (IV) 주사 장치이다. 이러한 장치는 캐놀라 또는 트로카/바늘을 통하여 대상체의 신체 내로 도입된 유체 (예를 들어, 식염수; 또는 NaCl, 소듐 락테이트, KCl, CaCl₂를 포함하고, 임의적으로 글루코스를 포함하는 락트산을 가한 링거 용액)를 보유하기 위한 봉지 또는 저장소에 부착될 수 있는 튜브에 부착될 수 있는 캐놀라 또는 트로카/바늘에 PD1 및/또는 LAG3 결합제 또는 그의 제약 조성물을 포함한다. PD1 및/또는 LAG3 결합제 또는 그의 제약 조성물은 본 발명의 한 실시양태에서, 일단 트로카 및 캐놀라를 대상체의 정맥 내로 삽입하고 이와 같이 삽입된 캐놀라로부터 트로카를 제거하면 상기 장치 내로 도입될 수 있다. IV 장치는, 예를 들어, 말초 정맥 (예를 들어, 손 또는 팔) 내로; 상대 정맥 또는 하대 정맥, 또는 심장의 우심방 내에 (예를 들어, 중추 IV); 또는 쇄골 하, 내부 경정 또는 대퇴 정맥 내로, 및 예를 들어, 그것이 상대 정맥 또는 우심방에 도달할 때까지 심장을 향하여 진행하여 (예를 들어, 중추 정맥 라인) 삽입될 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, 주사 장치는 자동 주사기; 제트 주사기 또는 외부 주입 펌프이다. 제트 주사기는 PD1 및/또는 LAG3 결합제 또는 그의 제약 조성물을 환자의 체내에 도입하기 위해 표피를 관통하는 액체의 고압 협소 제트를 이용한다. 외부 주입 펌프는 PD1 및/또는 LAG3 결합제 또는 그의 제약 조성물을 제어된 양으로 환자의 체내로 전달시켜 주는 의료 장치이다. 외부 주입 펌프는 전기적으로 또는 기계적으로 전력을 공급받을 수 있다. 상이한 펌프는 상이한 방식으로 작동되며, 예를 들어, 주사기 펌프가 주사기의 저장소에 유체를 보유하고, 움직일 수 있는 피스톤이 유체 전달을 제어하고, 탄성중합체성 펌프가 신축성 있는 풍선 저장소에 유체를 보유하고, 풍선의 탄성 벽으로부터의 압력이 유체 전달을 구동시킨다. 연동식 펌프에서는, 일련의 롤러가 일정 길이의 유연한 튜빙에 끼어 유체를 앞으로 밀어낸다. 다중 채널 펌프에서는, 유체가 여러 속도로 다중 저장소로부터 전달될 수 있다.

[1201] 또한, 도면, 임의의 서열 목록 및 실험 부분/실시예는 단지 본 발명을 추가로 예시하기 위해 제공되며, 본원에서 달리 명료하게 표시되지 않는 한, 본 발명의 범위 및/또는 첨부된 청구 범위를 어떠한 방식으로든 제한하는 것으로 해석되거나 또는 간주되서는 안된다는 것에 주목해야 한다.

[1202] 본 발명의 다른 측면, 실시양태, 이점 및 적용은 본원의 추가의 설명으로부터 명백해질 것이다.

[1203] **실시예**

[1204] 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것이고, 이를 제한하지 않는다. 본 실시예에 제시된 조성물 및 방법은 본 발명의 일부를 형성한다.

[1205] **실시예 1: CHO.hPD-1에 대한 1가 인간 PD-1 나노바디 결합**

[1206] 세포 발현된 인간 PD-1에 대한 결합을 인간 PD-1 과다발현 CHO 세포 상에서 평가하였다. 나노바디 희석 시리즈를 검정 완충제: PBS/10% FBS/0.05% 소듐 아지드에서 제조하였다. 1x10⁵개 세포/웰을 96-웰 V자 바닥 플레이트에 옮기고 100 μL 나노바디 희석액에 재현탁시켰다. 4°C 하에 30분 인큐베이션한 후, 상기 세포를 100 μL/웰 검정 완충제로 세척하고 1 μg/ml 항-FLAG [시그마(Sigma), F1804] 또는 항-HIS [AbD 세로텍(Serotec), MCA 1396]의 100 μL/웰에 재현탁시켰다. 샘플을 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하고, 100 μL/웰 검정 완충제로 세척하며, 5 μg/ml PE-표지된 염소 항-마우스 IgG [잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch), 115-116-071]의 100 μL/웰에 재현탁시켰다. 샘플을 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하고, 세척하며, 5 nM TOPRO3 [라이프테크놀로지(LifeTechnologies), T3606] 용액의 100 μL/웰에 재현탁시킨 후에 FACS CANTO II (BD) 상에서 분석하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 5에 제시된다.

[1207] 본 실시예는 항-인간 PD-1 1가 나노바디 F023700706이, 이것이 유래된 F023700275 1가 나노바디와 유사한 방식으로 인간 PD-1에 결합하였다는 것을 입증해 주었다.

[1208] **실시예 2: 3A9.hLAG-3에 대한 1가 인간 LAG-3 나노바디 결합**

[1209] 세포 발현된 인간 LAG-3에 대한 결합을 인간 LAG-3 과다발현 3A9 세포 상에서 평가하였다. 나노바디 희석 시리즈를 검정 완충제: PBS/10% FBS/0.05% 소듐 아지드에서 제조하였다. 1x10⁵개 세포/웰을 96-웰 V자 바닥 플레이트에 옮기고 100 μL 나노바디 희석액에 재현탁시켰다. 4°C 하에 30분 인큐베이션한 후, 상기 세포를 100 μL/웰 검정 완충제로 세척하고 1 μg/ml 항-FLAG (시그마, F1804)의 100 μL/웰에 재현탁시켰다. 샘플을 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하고, 100 μL/웰 검정 완충제로 세척하며, 5 μg/ml PE-표지된 염소 항-마우스 IgG (잭슨 이뮤노리서치, 115-116-071)의 100 μL/웰에 재현탁시켰다. 샘플을 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하고, 세척하

며, 5 nM TOPRO3 (라이프테크놀로지, T3606) 용액의 100 μ L/웰에 재현탁시킨 후에 FACS CANTO II (BD) 상에서 분석하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 6에 제시된다.

[1210] 본 실시예는 서열 최적화된 항-인간 LAG-3 1가 나노바디 F023700842가, 이것이 유래된 원래의 F02376611B09 1가 나노바디와 유사한 방식으로 인간 LAG-3에 결합하였다는 것을 입증해 주었다.

[1211] **실시예 3: CHO.hPD-1 및 3A9.레스스PD-1에 대한 인간 PD-1 나노바디-함유 다중특이적 나노바디 결합**

[1212] 세포 발현된 인간 PD-1 및 레서스 PD-1에 대한 결합을 인간 PD-1 과다발현 CHO 세포 및 레서스 PD-1 과다발현 3A9 세포 상에서 각각 평가하였다. 나노바디 희석 시리즈를 검정 완충제: PBS/10% FBS/0.05% 소듐 아지드에서 제조하였다. 1×10^5 개 세포/웰을 96-웰 V자 바닥 플레이트에 옮기고 100 μ L 나노바디 희석액에 재현탁시켰다. 4°C 하에 30분 인큐베이션한 후, 상기 세포를 100 μ L/웰 검정 완충제로 세척하고 3 μ g/ml ABH0074 (이는 알부민 결합 나노바디 반감기 연장 모이어터를 인식하는 모노클로날 항체임)의 100 μ L/웰에 재현탁시켰다. 샘플을 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하고, 100 μ L/웰 검정 완충제로 세척하며, 5 μ g/ml PE-표지된 염소 항-마우스 IgG (잭슨 이뮤노리서치, 115-116-071)의 100 μ L/웰에 재현탁시켰다. 샘플을 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하고, 세척하며, 5 nM TOPRO3 (라이프테크놀로지, T3606) 용액의 100 μ L/웰에 재현탁시킨 후에 FACS CANTO II (BD) 상에서 분석하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 7(a-b)에 제시된다.

[1213] 본 실시예는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931 및 F023700924가 인간 PD-1과 레서스 PD-1 둘 다에 결합되었다는 것을 입증해 주었다. 단일특이적, 2가 대조군 항-인간 PD-1 F023700933 및 항-인간 LAG-3 F023700962가 또한 제시되었다.

[1214] **실시예 4: CHO.hLAG3 및 CHO.레스스/시노LAG3에 대한 인간 LAG-3 나노바디-함유 다중특이적 나노바디 결합**

[1215] 세포 발현된 인간 및 비-인간 영장류 LAG-3 (세포외 도메인은 시노몰구스 원숭이와 레서스 원숭이 간에 동일하므로; 유전자는 레서스/시노LAG-3으로 지칭될 것임)에 대한 결합을 인간 및 레서스/시노LAG-3 과다발현 CHO 세포 상에서 평가하였다. 나노바디 희석 시리즈를 검정 완충제: PBS/10% FBS/0.05% 소듐 아지드에서 제조하였다. 1×10^5 개 세포/웰을 96-웰 V자 바닥 플레이트에 옮기고 100 μ L 나노바디 희석액에 재현탁시켰다. 4°C 하에 30분 인큐베이션한 후, 상기 세포를 100 μ L/웰 검정 완충제로 세척하고 1 내지 3 μ g/ml ABH0074 (이는 알부민 결합 나노바디 반감기 연장 모이어터를 인식하는 모노클로날 항체임)의 100 μ L/웰에 재현탁시켰다. 샘플을 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하고, 100 μ L/웰 검정 완충제로 세척하며, 5 μ g/ml PE-표지된 염소 항-마우스 IgG (잭슨 이뮤노리서치, 115-116-071)의 100 μ L/웰에 재현탁시켰다. 샘플을 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하고, 세척하며, 5 nM TOPRO3 (라이프테크놀로지, T3606) 용액의 100 μ L/웰에 재현탁시킨 후에 FACS어레이 (BD) 상에서 분석하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 8(a-b)에 제시된다.

[1216] 본 실시예는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931 및 F023700924가 인간 LAG-3과 레서스/시노몰구스 원숭이 LAG-3 둘 다에 결합되었다는 것을 입증해 주었다. 단일특이적, 2가 대조군 항-인간 PD-1 F023700933 및 항-인간 LAG-3 F023700962가 또한 제시되었다.

[1217] **실시예 5: 생물물리학적 PD-L1-Fc 및 PD-L2-Fc 차단 검정**

[1218] 리간드 경쟁 검정을 인간 PD-1 과다발현 CHO 세포 상에서 수행하였다. 나노바디 희석 시리즈를 검정 완충제: PBS/10% FBS/0.05% 소듐 아지드에서 제조하였다. 1 μ M (2x)으로부터 출발하여 나노바디의 5배 일련의 희석액을 만들었고, 이를 220 μ L의 총 용적 중에서 11 nM (2x) 인간 PD-L1-hFc 또는 29 nM (2x) 인간 PD-L2-hFc로 미리 희석시켰다. 2×10^4 개 세포/웰을 V자 바닥 96-웰 플레이트에 시딩하고, 나노바디/리간드 희석액의 200 μ L/웰에 재현탁시켰다. 4°C에서 90분 인큐베이션한 후, 세포를 100 μ L/웰 검정 완충제로 세척하고, 100 μ L/웰 PE-표지된 염소 항-인간 IgG [서던 바이오텍(Southern Biotech), 2043-09]에 재현탁시켰다. 샘플을 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하고, 세척하며, 5 nM TOPRO3 (라이프테크놀로지, T3606) 용액의 100 μ L/웰에 재현탁시킨 후에 FACS CANTO II (BD) 상에서 분석하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 9 (a-h)에 제시된다.

[1219] 본 실시예는 항-인간 PD-1 나노바디 1가 모듈 F023700706이, 그것이 유래된 원래의 F023700275 1가 모듈과 유사하게 인간 PD-1에 결합했고 그와 PD-L1 (도 9 (a)) 및 PD-L2 (도 9 (b))와의 상호 작용을 완전히 차단하였다는 것을 입증해 주었다. 또한, 본 실시예는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931 및 F023700924가 인간 PD-1에 결합하였고 그와 PD-L1 (도 9 (c)) 및 PD-L2 (도 9 (d))와의 상호 작용을 완전히 차단하였다는 것을 입증해 주었다. 서열 최적화된, 단일특이적, 2가 대조군 항-인간 PD-1 F023700933 및 항-인간 LAG-3 F023700962가 또한 제시되었다 (도 9 (e-f)). 마지막으로, 본 실시예는 항-인간 PD-1 나노바디 1가 모듈

F023700929의 부가 아미노산 변이체가 인간 PD-1에 결합하였고 그와 PD-L1 (도 9 (g)) 및 PD-L2 (도 9 (h))와의 상호 작용을 완전히 차단하였다는 것을 입증해 주었다. F023700706과 F023700929는 각각 FLAG3-HIS6 융합 단백질로서 또는 HIS6 융합 단백질로서 동일한 항-인간 PD-1 1가 나노바디 실체였다는 것에 주목해야 한다.

[1220] **실시예 6: 생물물리학적 LAG-3-Fc 차단 검정**

[1221] 리간드 경쟁 검정을, 표면 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 부류 II (부류II)의 높은 내인성 발현을 나타내었던 인간 다우디 세포 상에서 수행하였다. 나노바디 희석 시리즈를 검정 완충제: HBSS/2% FBS에서 제조하였다. 실험하기 이전에, 다우디 세포 상의 Fc 수용체를 4°C에서 30분 동안 인간 Fc 블록 [BD 파밍겐(Pharmingen), 564220] 및 5 µg/mL 염소 IgG (잭슨 이뮤노리서치, 005-000-003)로 차단하였다. 2 µM (2x)으로부터 출발하여 나노바디의 5배 일련의 희석액을 만들었고, 이를 120 µL의 총 용적 중에서 80 nM (2x) 인간 LAG-3-hFc로 미리 희석시켰다. 1X10⁵개 세포/웰을 V자 바닥 96-웰 플레이트에 시딩하고, 나노바디/리간드 희석액의 100 µL/웰에 재현탁시켰다. 4°C에서 30분 인큐베이션 후, 세포를 세척하고, 100 µL/웰 PE-표지된 염소 항-인간 IgG (서던 바이오텍, 2043-09)에 재현탁시켰다. 샘플을 4°C에서 15분 동안 인큐베이션하고, 세척하며, 5 nM TOPRO3 (라이프테크놀로지, T3606) 용액의 100 µL/웰에 재현탁시킨 후에 FACS CANTO II (BD) 상에서 분석하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 10 (a-c)에 제시된다.

[1222] 본 실시예는 항-인간 LAG-3 나노바디 1가 모듈 F023700842가, 그것이 유래된 원래의 F0237611B09 1가 나노바디 과 유사하게 인간 LAG-3에 결합하였고 그와 MHC 부류 II와의 상호 작용을 완전히 차단하였다는 것을 입증해 주었다 (도 10 (a)). 또한, 본 실시예는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931 및 F023700924가 인간 LAG-3에 결합하였고 그와 MHC 부류 II와의 상호 작용을 완전히 차단하였다는 것을 입증해 주었다 (도 10 (b-c)). 단일특이적, 2가 대조군 항-인간 PD-1 F023700933 및 항-인간 LAG-3 F023700962가 또한 제시되었다.

[1223] **실시예 7: 근접 이량체화 검정**

[1224] 베타-갈락토시다제 효소 단편 보완 검정 시스템에 근거한 근접 이량체화 검정을 사용하였다. 이러한 검정은 효소 수용체 단백질 (EA)을 제2 단백질과 융합시킨 보완 단백질 및 프로링크(ProLink; PK)로 지칭되는 태그를 이용하여 생성된 융합 단백질을 활용한다. U2OS 세포를, EA 서브유닛과 융합된 LAG-3의 세포외 도메인 (1-477) 및 PK 서브유닛과 융합된 PD-1의 세포외 도메인 (1-199)으로 안정적으로 형질감염시켰다. U2OS.LAG3(1-477)-EA.PD1(1-199)-PK 세포주 #9를 384-웰 플레이트 상의 디스커버X(DiscoverX) CP5 플레이팅 배지 내에 5,000개 세포/웰로 사중으로 플레이팅하였다. 세포를 5% 이산화탄소 인큐베이터에서 37°C 하에 4시간 동안 부착시킬 수 있었다. 이어서, 나노바디 샘플의 11개 포인트, 1:3 희석 시리즈를 상기 세포에 부가하고 5% 이산화탄소 인큐베이터에서 37°C 하에 밤새 (16시간) 인큐베이션하였다. 패스헌터(PathHunter) 검출 시약을 상기 웰에 부가하고, 암실에서 실온 하에 1시간 인큐베이션한 다음, 상기 플레이트를 엔비전(Envision) 광도계 상에서 판독하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 11 (a-b)에 제시된다.

[1225] 본 실시예는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931이, PK 서브유닛과 EA 서브유닛이 합쳐져서 형성 효소 복합체를 형성하여 광 신호를 제공하기 때문에 세포막에서 발현된 인간 PD-1 및 인간 LAG-3과 동시에 결합하였다는 것을 입증해 주었다 (도 11 (a)). 단일특이적, 2가 대조군 항-인간 PD-1 F023700933 개별적으로 및 항-인간 LAG-3 F023700962 개별적으로는 양쪽 표적과 동시에 결합할 수 없었으므로, 광 신호를 발생하지 못하였다. 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931 내의 개별 모듈을 35개 아미노산 길이 (35GS)인 글리신-세린 링커와 연결시켰다. 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023701016 및 F023701017은 F023700931과 동일한 PD-1 및 LAG-3 모듈을 함유하였지만, 구조물 내의 모든 모듈 간의 글리신-세린 링커는 각각 20개 아미노산 길이 (20GS) 또는 9개 아미노산 길이 (9GS)였다. 본 실시예는 글리신-세린 링커를 35GS에서 9GS로 단축시키는 것이, 세포막 상에서 양쪽 표적을 동시에 결합시킬 수 있고 광 신호를 제공할 수 있는 능력에 최소한의 영향을 미쳤다는 것을 보여주었다. 집합적으로, 이들 데이터는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931이, 양쪽 표적이 동일한 세포에 의해 발현된 경우에 양쪽 표적과 동시에 결합할 수 있다는 것을 보여주었다.

[1226] 본 실시예는 또한, 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700924가 세포막에서 발현된 인간 PD-1 및 인간 LAG-3과 동시에 결합하였다는 것을 입증해 주었다 (도 11 (b)). 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700924 내의 개별 모듈을 35개 아미노산 길이 (35GS)인 글리신-세린 링커와 연결시킨다. 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700969 및 F023700970은 F023700924와 동일한 PD-1 및 LAG-3 모듈을 함유하였지만, 구조물 내의 모든 모듈 간의 글리신-세린 링커는 각각 20개 아미노산 길이 (20GS) 또는 9개 아미노산 길이 (9GS)였다. 본 실시예는 글리신-세린 링커를 35GS에서 9GS로 단축시키는 것이, 양쪽 표적을 동시에

결합시킬 수 있고 광 신호를 제공할 수 있는 능력에 최소한의 영향을 미쳤다는 것을 보여주었다. 집합적으로, 이들 데이터는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700924가, 양쪽 표적이 동일한 세포에 의해 발현된 경우에 양쪽 표적과 동시에 결합할 수 있다는 것을 보여주었다.

[1227] **실시예 8: 조작된 Jurkat.hPD-1.IL2luc + THP-1.PD-L1 검정**

[1228] 클론 DT999A1은 IL-2 매개된 루시페라제 리포터를 수반한 PD-1 트랜스진(transgene) 발현 Jurkat 세포 클론 (Jurkat.hPD-1.IL2luc)이다. Jurkat.hPD-1.IL2luc를 RPMI 배지 [코닝 셀그로(Corning Cellgro) 10-040-CV] + 열 불활성화 10% FBS [하이클론(Hyclone) SH30910.03] + 2 mM L-글루타민 (셀그로 25-005-CI) + 2 ug/ml 푸로마이신 (시그마 P9620) + 0.5 mg/ml 제네티신 [깁코(Gibco) 10131-027]에서 성장시켰다. 세포를 2×10^5 개 세포/ml로 시딩한 후 1주에 2회 분할시키고, 밀도가 1×10^6 개 세포/ml를 초과할 때 분할시켰다. PD-L1 트랜스진 발현 THP-1 세포 (THP-1.PD-L1)를 RPMI 배지 + 열 불활성화 10% FBS + 2 mM L-글루타민 + 0.5 ug/ml 푸로마이신에서 성장시켰다. 세포를 3×10^5 개 세포/ml로 시딩한 후 1주에 2회 분할시키고, 이들이 1×10^6 개 세포/ml에 도달할 때 분할시켰다.

[1229] 검정 배지 (페놀 레드 무함유 RPMI 배지 (깁코 11835-030)) + 10% 투석된 FBS (하이클론, SH30079.03)를 사용하여 생물검정을 설정하였다. 인간 알부민 (시그마, A8763)을 600 uM 스톱으로서 제조하였다. 검정 배지를 이용하여 4X (120 uM) 용액을 제조하였고, 25 uL를 백색 벽으로 둘러싸인 조직 배양 처리된 플레이트 [코스타르 (Costar) 3903]에 부가하였다. 검정 배지를 사용하여 나노바디를 희석시켜 출발 4X 농도를 수득한다. 나노바디의 6개의 10배 일련의 희석물을 제조한다. 25 uL의 나노바디 적정물을, 알부민을 함유하는 백색 벽으로 둘러싸인 조직 배양 처리된 플레이트에 부가한다. 나노바디 + 알부민을 실온 하에 20 내지 30분 동안 인큐베이션한다. THP-1.PD-L1 세포의 T-75 플라스크를 수거하고, 세포를 회전시키며, 10 ml의 검정 배지에 재현탁시킨다. 세포 현탁액을 계수하고, 4×10^6 개 세포/ml의 세포 현탁액을 수득하도록 조정한다. Jurkat.hPD-1.IL2luc 세포의 T-75 플라스크를 수거하고, 세포를 원심분리시키며, 10 ml의 검정 배지에 재현탁시킨다. 세포 현탁액을 계수하고, 1×10^6 개 세포/ml의 Jurkat.hPD-1.IL2luc 세포 현탁액을 수득하도록 조정한다. 등 용적의 THP-1.PD-L1 세포 + Jurkat.hPD-1.IL2luc 세포를 혼합한다. 이러한 혼합된 현탁액에 2 ng/ml LPS (2X) 및 100 ng/ml IFN-g (2x)를 부가한다. 자극 조건을 함유하는 50 uL 세포 현탁액 [IFN-g (R&D 시스템즈(systems) 285-IF/CF) + LPS (시그마 L4391)]을 나노바디 적정물에 부가한다. 상기 세포를 나노바디 적정물과 함께 인큐베이터 내에서 대략 22시간 동안 인큐베이션한다. 22시간이 끝날 무렵, 10 uL의 55 ng/ml 항-CD3 항체 (BD 파밍겐 555336; 11X 작동 용액)를 조심스럽게 부가하고, 인큐베이터 내에 2시간 더 놓아둔다. 2시간 인큐베이션이 끝날 무렵, 백색 테이프 [펄킨 엘머(Perkin Elmer) 6005199]를 플레이트의 바닥에 붙이고 100 uL의 원-글로(One-Glo) 시약 [프로메가(Promega) E6120]을 부가한다. 실온 하에 3분 동안 진탕시키면서 인큐베이션한다. 0.1초의 통합 시간으로 발광을 관측할 수 있는 플레이트 관독기 상에서 플레이트를 관측한다. RLU (상대적 광 단위)의 미가공 데이터를 직접적으로 플로팅할 수 있거나 또는 처리 웰을 나노바디를 갖지 않은 웰로 나눔으로써 수득된 루시페라제 신호 상의 변화 배수로서 플로팅할 수 있다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 12 (a-e)에 제시된다.

[1230] 본 실시예는 항-인간 PD-1 나노바디 1가 모듈, F023700706이 T-세포주에 의해 발현된 인간 PD-1에 결합하였고, 공동 배양 세포주에 의해 발현된 PD-L1과 PD-1의 상호 작용을 차단하여 PD-L1을 T-세포에 제공하였던 저해를 구제함으로써; PD-L1-매개된 저해를 억제하는 것에 근거하여 T-세포가 T-세포 수용체 효능제에 더 큰 정도로 반응할 수 있었다는 것을 입증해 주었다 (도 12 (a)). 더욱이, 본 실시예는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931 및 F023700924가 T-세포주에 의해 발현된 인간 PD-1에 결합하였고, PD-1과 PD-L1의 상호 작용을 차단함으로써; PD-L1-매개된 저해를 억제하는 것에 근거하여 T-세포가 T-세포 수용체 효능제에 더 큰 정도로 반응할 수 있었다는 것을 입증해 주었다 (도 12 (b)). 단일특이적, 2가 대조군 항-인간 PD-1 F023700933 및 항-인간 LAG-3 F023700962가 또한 제시되었다. 부가적으로, 본 실시예는 20GS 또는 9GS 링커를 각각 함유하는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700969 및 F023700970이 35GS 링커를 함유하는 모 F023700924 분자와 유사한 효력을 갖고 있다는 것을 보여주었다 (도 12 (c)). 유사하게, 20GS 또는 9GS 링커를 각각 함유하는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023701016 및 F023701017이 35GS 링커를 함유하는 모 F023700931 분자와 유사한 효력을 갖고 있었다 (도 12 (d)). 또한, 본 실시예는 서열 최적화된 항-인간 PD-1 나노바디 1가 모듈 F023700706의 부가 아미노산 변이체가 T-세포주에 의해 발현된 인간 PD-1에 결합하여, PD-1과 PD-L1의 상호 작용을 차단함으로써; PD-L1-매개된 저해를 억제하는 것에 근거하여 T-세포가 T-세포 수용체 효능제에 더 큰 정도로 반응할 수 있었다는 것을 입증해 주었다 (도 12 (e)).

[1231] **실시예 9: SEB 활성화된 인간 PBMC 검정**

[1232] 인간 말초혈 단핵 세포 (PBMC)를 10% 인간 혈청을 수반한 완전 RPMI (RPMI 1640 글루타맥스 (써모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific), 카탈로그 11875085), 1X 페니실린-스트렙토마이신 (써모 피셔 사이언티픽, 카탈로그 15140148), 1X 베타-메르캅토에탄올 (써모 피셔 사이언티픽, 카탈로그 21985023), 1X HEPES (써모 피셔 사이언티픽, 카탈로그 15630080), 1X 소듐 피루베이트 (써모 피셔 사이언티픽, 카탈로그 11360070), 1X 비필수 아미노산 (써모 피셔 사이언티픽, 카탈로그 11140076), 인간 혈청 (시그마, 카탈로그 H4522-100ML lot#SLBP2783V) 내로 해동시켰다. 2.5E6개 세포/mL가 되도록 현탁시키고, 100 μ L를 96-웰 U자 바닥 플레이트에 2.5E5개 세포/웰로 등분하였다. 나노바디를 3배 희석 시리즈를 이용하여 일련으로 희석시켜 4X 작동 스톱을 제조하고 6-포인트 용량-반응 곡선을 창출시켰다. 50 μ L의 나노바디 용액을 웰에 부가하고, 실온 하에 15 내지 30분 동안 인큐베이션하였으며, 이 동안 스트렙토코쿠스 외독소 B (SEB) 용액을 제조하였다. SEB를 1 mg/mL 하에 증류수에서 재구성하고 -80 $^{\circ}$ C 하에 동결시킴으로써 스톱 SEB [독신 테크놀로지 인크(Toxin Technology Inc), 카탈로그 BT202]를 제조하였다. 배지 1 mL당 2 μ L 스톱을 부가함으로써 2 μ M 작동 용액을 만들고, 이러한 2 μ M 작동 용액을 10배 희석 시리즈를 이용하여 일련으로 희석시켜 적정 곡선을 만들었다. 50 μ L를 적절한 웰에 부가하여 내부 표준으로서 적정 곡선을 만들어서 검정이 예상된 바와 같이 수행되었는지를 검증하고 상이한 공여자로부터 유도될 수 있었던 최대 반응을 결정하였다. 상기 2 μ M SEB 작동 용액을 40 nM SEB가 되도록 희석시키고 50 μ L을 웰에 부가하여 PBMC를 자극하였다 (SEB의 최종 농도는 10 nM임). 38 $^{\circ}$ C 및 5% CO₂ 하에 72시간 동안 인큐베이션한다. 상부 100 μ L 상등액을 신선한 96-웰 플레이트 내로 옮기고 MSD V-플렉스 인간 IL-2 키트 [메소스케일 디스커버리(MesoScale Discovery), K151QQD-1]를 사용하여 IL-2 분석을 위하여 1:2로 희석시킨다. 나머지를 -80 $^{\circ}$ C 하에 저장하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 13 (a-r)에 제시된다.

[1233] 본 실시예는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931 및 F023700924가, 여러 공여자로부터 수득된 말초혈 단핵 세포 (PBMC)의 T-세포 수용체 효능제 자극 후에 IL-2 수준을 증가시켰다는 것을 입증해 주었다 (a-r).

[1234] **실시예 10: 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정**

[1235] 인간 말초혈 단핵 세포 (PBMC)를 백혈구로부터 정제하고 액체 질소 냉동고에서 냉동시켰다. 동결된 인간 PBMC를 해동시키고, 완전 RPMI (RPMI+10% 인간 혈청)에서 희석시키며, 450 x g로 5분 동안 원심분리시키고, 세포 펠릿을 완전 RPMI (길코 RPMI 1640 배지 (써모 피셔 사이언티픽; 11875-119); 인간 혈청 [시그마-알드리치 (Sigma-Aldrich); H4522-100 mL]로 재현탁시켰다. 인간 단핵구 강화 키트 (STEMCELL 테크놀로지; 19059)를 사용하여 단핵구를 강화시켰다. 세포를, 100 ng/ml GM-CSF (R&D 시스템즈; 215-GM-110) 및 50 ng/ml의 인간 IL-4 (R&D 시스템즈; 204-IL-010/CF)를 함유하는 완전 RPMI 중의 1x10⁶개 세포/ml (5 ml/웰)로 6-웰 플레이트로 옮겼다. 단핵구를 37 $^{\circ}$ C 하에 5일 동안 인큐베이션하여 수지상 세포 (DC) 분화를 허용하였다. 단핵구-유래 수지상 세포 (Mo-DC)를 제6일에 수거하고, 계수하며, 자극제로서 MLR 검정에 사용하였다.

[1236] 실험 개시 당일, 동결된 인간 PBMC를 해동시키고, 페니실린/스트렙토마이신을 함유하는 완전 RPMI에서 2회 희석시켰다. 각각의 공여자로부터의 CD4 T 세포를, 이지셉(EasySep) 인간 CD4 T 세포 분리 키트 (STEMCELL 테크놀로지; 17952)를 사용하여 강화시켰다. 분리된 CD4 T 세포를 완전 RPMI에서 1x10⁶개 세포/ml로 현탁시켰다. Mo-DC를 CD4⁺ T-세포 (1x10⁶개 세포/ml)와 1:10 비로 혼합하고 (1x10⁵개 세포/ml), 세포 혼합물을 U자 바닥 96-웰 플레이트에 200 μ L/웰로 플레이팅하였다. 4배 희석 시리즈를 사용하여 나노바디를 일련으로 희석시키고 5X 작동 스톱을 제조하였다. 50 μ L의 각각의 희석액을 200 μ L 배양물에 부가하여 나노바디/항체의 1X 최종 농도를 수득하였다. V-플렉스 인간 염증 유발성 패널 I (메소스케일 디스커버리; K15052D-1)을 사용하여 IFN γ 정량화를 알아보기 위하여 실험 개시 후 제5일에 배양 상등액을 수집하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 14 (a-f)에 제시된다.

[1237] 본 실시예는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931 및 F023700924가, 상이한 공여자로부터 수득된 동종이계 Mo-DC로의 1차 CD4 T-세포 자극 후에 IFN-감마 수준을 증가시켰다는 것을 입증해 주었다 (a-f).

[1238] **실시예 11: 조작된 3A9.hLAG-3 검정**

[1239] 3A9.hLAG3은 인간 LAG-3 트랜스진 발현 마우스 3A9 T-세포 하이브리도마이다. LK35.2 (ATCC; HB-98)는 부류 II 제한된 3A9 T-세포 하이브리도마에 특이적 항원 (즉, 암탉의 달걀 리소자임 (HEL) 펩티드 DGSTDYGLQINSRW)을 제시하는 표면 I-Ad^k 및 I-Ed^k 분자를 보유하고 있는 마우스 B-세포 하이브리도마이다. 3A9.hLAG3 세포를

계수하고 신선한 배지 [RPMI (인비트로젠(Invitrogen), 61870-036) + 10% FBS + Pen Strep]에 4×10^6 개 세포/ml로 재현탁시켰다. LK35.2 세포를 계수하고 신선한 배지에 1×10^6 개 세포/ml로 재현탁시켰다. 25 μ L 3A9.hLAG3 세포 (1E5 세포)를 96-웰 평저 조직 배양 플레이트 (코닝 3610) 내의 웰에 부가하였다. 인간 알부민 (시그마, A8763)의 4X (200 μ M) 용액을 제조하고 25 μ L를 상기 세포에 부가하였다. 나노바디를 완전 배지에서 5X 농도가 되도록 희석시키고 20 μ l의 5X 나노바디를 세포에 부가하였다. 3A9.hLAG3 세포를 37°C 하에 30분 동안 나노바디와 함께 인큐베이션하였다.

[1240] 500 μ M HEL 펩티드 (진스크립트(GenScript) 주문 제작한 펩티드) 스톡 용액을 제조하고 -20°C 하에 저장하였다. HEL 펩티드 스톡 1:20 (25 μ M)을 세포 배양 배지에 희석시킨 다음, HEL 펩티드 1:833을 LK35.2 세포 상으로 추가로 희석시켰다 (최종 HEL 농도 = 약 30 nM). LK35.2 세포를 37°C 하에 30분 동안 펩티드와 함께 인큐베이션하였다. 33 μ L 펩티드 처리된 LK35.2 세포를, 나노바디 처리된 3A9.hLAG-3 세포를 함유하는 96-웰 플레이트에 부가하였다. 배양물을 37°C 하에 24시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 300 X g로 5분 동안 회전시키고 IL-2 분석용 상등액 (IL-2 메소스케일 V-플렉스; 메소스케일 K152QQD-4)을 수집하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 15 (a-d)에 제시된다.

[1241] 본 실시예는 항-인간 LAG-3 나노바디 1가 모듈 F023700842가 T-세포주에 의해 발현된 인간 LAG-3에 결합하였고, 공동 배양 세포주에 의해 발현된 MHC 부류 II와 LAG-3과의 상호 작용을 차단하여 MHC 부류 II를 T-세포에 제공하였던 저해를 구제함으로써; MHC 부류 II-매개된 저해를 억제하는 것에 근거하여 T-세포가 T-세포 수용체 효능제에 더 큰 정도로 반응할 수 있었다는 것을 입증해 주었다. 항-인간 LAG-3 나노바디 1가 모듈 F023700842에 의하여 MHC 부류 II를 억제하는 효력은, 그것이 유래된 모 나노바디 F023700656의 것과 유사하였다 (도 15 (a)). 더욱이, 본 실시예는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931 및 F023700924가 T-세포주에 의해 발현된 인간 LAG-3에 결합하였고, LAG-3과 MHC 부류 II와의 상호 작용을 차단함으로써; MHC 부류 II-매개된 저해를 억제하는 것에 근거하여 T-세포가 T-세포 수용체 효능제에 더 큰 정도로 반응할 수 있었다는 것을 입증해 주었다 (도 15 (b)). 단일특이적, 2가 대조군 항-인간 PD-1 F023700933 및 항-인간 LAG-3 F023700962가 또한 제시되었다. 부가적으로, 본 실시예는 20GS 또는 9GS 링커를 각각 함유하는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700969 및 F023700970이 35GS 링커를 함유하는 모 F023700924 분자와 유사한 효력을 갖고 있다는 것을 보여주었다 (도 15 (c)). 유사하게, 20GS 또는 9GS 링커를 각각 함유하는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023701016 및 F023701017이 35GS 링커를 함유하는 모 F023700931 분자와 유사한 효력을 갖고 있었다 (도 15 (d)).

[1242] **실시예 12: 조작된 이중특이적 Jurkat.hPD-1.LAG-3 생물검정**

[1243] Jurkat.LAG-3.PD-1 세포 (DT1088- 클론 G10PD1)의 생성

[1244] 선별 마커로서 푸로마이신을 수반한 레트로바이러스 전달 시스템을 사용하여 인간 LAG-3 트랜스진을 Jurkat 세포 (Je6.2.11) 내로 도입하였다. 제한 희석을 시행하여 최적의 LAG-3 및 CD3 발현을 수반하는 클론 (DT1088G10)을 골라내었다. 선별 마커로서 젠티신을 수반한 렌티바이러스 전달 시스템을 사용하여 인간 PD-1 트랜스진을 DT1088G10 클론 내로 도입하였다. 높은 LAG-3 및 PD-1 발현을 알아보기 위하여 세포를 FACS 분류하였다. 분류된 세포 풀을 RPMI 완전 배지 [10% FBS (하이클론 SH30910.03) + 1 mM 소듐 피루베이트 (바이오휘태커(BioWhittaker), 13-115E) + 2 mM L-글루타민 (코닝 셀그로, 25-005-CI) + 10 mM HEPES (코닝, 26-060-CI) + 1X 비필수 아미노산 (시그마, M7145) + 0.2 μ g/ml 푸로마이신 (시그마 P9620), + 0.5 mg/ml G418 (깁코 10131-027)로 보충시킨 RPMI (코닝 10-040-CV)]에서 유지시키고 계대배양하였다.

[1245] Raji.PD-L1 발현 세포의 생성

[1246] 선별 마커로서 푸로마이신을 수반한 레트로바이러스 전달 시스템을 사용하여 인간 PD-L1 트랜스진을 Raji 세포 (ATCC CCL-86) 내로 도입하였다. PD-L1 및 부류-II (내인성) 발현에 관하여 강화시키기 위하여 세포를 분류하였다. 이와 같이 강화된 세포의 풀을 RPMI 완전 배지 (10% 하이클론 FBS + 2 mM L- 글루타민 + 10 mM HEPES + 0.25 μ g/ml 푸로마이신으로 보충시킨 RPMI 배지)에서 유지시키고 계대배양하였다.

[1247] 1 mg/ml 하의 SED (특신 테크놀로지 DT303)를 멸균성 증류수에서 재구성함으로써 스톡 SED 독소를 제조하고 -80°C 하에 저장하였다. 37°C 인큐베이터에서 30분 동안 10% 투석된 FBS (하이클론 SH30079.03)를 함유하는 RPMI 배지에서 0.87×10^6 개 Raji-PD-L1 세포/ml의 현탁액을 SED 독소 (1.3X = 130 ng/ml, 최종 100 ng/ml)와 함께 인큐베이션함으로써 Raji.PD-L1 세포에 독소를 미리 부하하였다. 10% 투석된 FBS를 함유하는 RPMI 배지에서

8X10⁶ 개 Jurkat.LAG-3.PD-1 세포/ml의 현탁액을 제조하였다. 10 ug/ml의 출발 검정 농도를 수반한 나노바디의 8 포인트, 4배 용량 적정물 (12X=120 ug/ml)로서 나노바디를 제조하였다.

[1248] 45 ul Jurkat.LAG-3.PD-1 세포 현탁액 (8X10⁶ 개 세포/ml)을 환저 플레이트 (코닝 3359)에서 30분 동안 실온 하에 45 ul의 나노바디 적정물과 함께 인큐베이션하였다. 30분이 끝날 무렵, 36 uL 인간 알부민 (시그마, A8763; 15X = 450 uM; 30 uM의 최종 검정 농도를 수득하기 위함)을 Jurkat.LAG-3.PD-1 + 나노바디 혼합물에 추가하였다. 115 ul SED-부하된 Raji.PD-L1 세포를 검정 플레이트 (써모사이언티픽 #167008)에 추가하였다. 이와 같이 SED-부하된 Raji.PD-L1 세포에 Jurkat.LAG-3.PD-1+나노바디+알부민의 35 uL 혼합물을 조심스럽게 층화하였다. 검정 플레이트를 5% CO₂ 인큐베이터에서 37°C 하에 24시간 동안 인큐베이션하였다. 24시간 인큐베이션 후, 75 uL 상등액을 특정 플레이트 (코닝# 3605)에 옮기고 -80°C 하에 냉동시켰다. MSD IL-2 V-플렉스 키트 (메소스케일 장치 Cat#K151QQD)를 사용하여 샘플을 분석하였다. 그래프패드 프리즘 소프트웨어를 사용하여 EC50 값을 계산하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 16 (a-b)에 제시된다.

[1249] 본 실시예는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931 및 F023700924가 T-세포주에 발현된 인간 PD-1과 인간 LAG-3 둘 다에 결합하였고, PD-1과 PD-L1의 상호 작용을 차단하였으며, LAG-3과 MHC 부류 II의 상호 작용을 차단함으로써; 이중 PD-L1-매개된 및 MHC 부류 II-매개된 저해를 억제하는 것에 근거하여 T-세포가 T-세포 수용체 효능제에 더 큰 정도로 반응할 수 있었다는 것을 입증해 주었다 (도 16 (a)). 단일특이적, 2가 대조군 항-인간 PD-1 F023700933 및 항-인간 LAG-3 F023700862는 단지, T-세포 수용체 효능제에 훨씬 더 보통의 방식으로 반응하는 T-세포를 개별적으로 초래하는 2가지 억제 기전 중 하나만을 차단할 수 있었다. 부가적으로, 본 실시예는 20GS 또는 9GS 링커를 각각 함유하는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700969 및 F023700970이 35GS 링커를 함유하는 모 F023700924 분자와 유사한 효력을 갖고 있었다는 것을 보여주었다. 유사하게, 20GS 또는 9GS 링커를 각각 함유하는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023701016 및 F023701017이 35GS 링커를 함유하는 모 F023700931 분자와 유사한 효력을 갖고 있었다 (도 16 (b)).

[1250] **실시예 13: 인간 T-세포 클론 + JY.hPD-L1 검정**

[1251] 인간 CD4+ T 세포 클론의 생성 및 배양

[1252] EBV-형질전환된 B-세포주 JY와의 혼합 백혈구 반응 2회전에 의해 MHC 부류 II 동종-항원 특이적 CD4+ T 세포 클론 BC4-49를 생성시키고 제한 희석에 의해 클로닝하였다. 이러한 클론을 2주 간격으로 동종 특이적 항원으로 재자극하고 아이셀(Yssel)의 배지 (IMDM, 겐코 12440-053; 인간 혈청 AB, 제미미(Gemimi) 100512; 페니실린/스트렙토마이신, 메디아텍(Mediatech) 30-002-CI; 인간 알부민, 시그마 A9080; ITS-X, 겐코 51500056; 트랜스페린, 로슈 10652202001; PA 바이옥스트라(Bioxtra) 시그마 p5585; LA-0A-알부민, 시그마 L9655)에서 배양하였다. 신선한 PBMC를 스탠포드(Stanford) 혈액 센터에 의해 제공된 2개의 인간 연막으로부터 단리하고, 1:1 세포 비 하에 풀링하였다. 사용하기 전에, PBMC에 감마 조사기를 선량 4000 rads로 조사하였다. 야생형 JY 세포를 준비하고, 선량 5000 rads로 조사하였다. T 세포 클론을, CD4+ T 세포 0.2X10⁶/mL, 조사된 PBMC 1X10⁶/mL, 조사된 JY 0.1X10⁶/mL, 및 100 ng/mL PHA (시그마 L9017)의 최종 농도를 수반하는 웰당 1 mL 하에 24-웰 플레이트에서 피더(feeder)와 함께 배양하였다. 재조합 인간 IL-2 (R&D 시스템즈; 202-IL/CF)를 재자극 후 제3일에 100 ng/mL의 최종 농도로 추가하였고, 확장 내내 3-4일마다 보충하였다. 세포를 0.5 내지 1.0X10⁶/mL의 최적 농도가 되도록 계대접종하였다. 재자극 후 제7일에, 풍부한 수준의 LAG-3과 중간 수준의 PD-1이 T 세포 표면 상에서 발현되었다.

[1253] 인간 CD4+ T 세포 기능적 검정

[1254] 항원 재자극 후 제7일에 24 웰 배양 플레이트로부터 동종-항원 특이적 CD4+ T 세포를 수거한 다음, 원심분리함으로써 2 mM EDTA (인비트로젠, 15575-38)를 함유하는 20 mL PBS (하이클론, SH3002802)로 2회 세척하였다. 펠릿을 아이셀의 배지 내의 단일 세포 현탁액 내로 재현탁시켰다. 시험된 나노바디를 133 nM의 가장 높은 농도로부터 출발하여 아이셀의 배지에서 5배 일련의 희석에 의해 96 웰 U자 바닥 배양 플레이트 [팔콘(Falcon), 353077]에서 100 uL의 용적 중의 총 7회 희석으로 적정하였다. 4 X 10⁵ 개 세포/mL의 밀도 하의 50 마이크로리터의 T 세포 현탁액을, 적정된 나노바디를 함유하는 웰 내로 추가하였다. 이러한 나노바디/T 세포 혼합물을, 5% CO₂를 수반한 37°C 하의 인큐베이터에서 1시간 동안 미리 인큐베이션하였다. 인간 PD-L1 트랜스진 발현 JY 세포 (JY.hPD-L1)를 공동 배양물에 사용하여 동종-특이적 항원을 제공하였다. 10% FCS를 수반한 RPMI 배지 (코

닝 셀그로, 10-040-CV) 중의 T-75 플라스크 (써모 사이언티픽, 156499)에서 배양된 JY.hPD-L1 세포를 수거하고 5000 rads의 선량 하에 감마 조사기로 조사한 다음, 원심분리함으로써 2 mM EDTA를 함유하는 PBS로 2회 세척하였다. 펠릿을 아이셀의 배지로 재현탁시키고, 플레이팅 전에 40 μm 세포 여과기로 여과시켰다. 2 X 10⁵개 세포/mL의 농도 하의 50 μL/웰의 JY.hPD-L1 현탁액을 미리 인큐베이션된 나노바디-T 세포 혼합물 내로 분배하였으며, 2:1 하의 T 세포 대 JY.hPD-L1 세포 비로 수행하였다. 모든 조건을 이중으로 실행하였다. 대략 3일 배양한 후, 인간 IFN γ 정량화를 알아보기 위하여 웰당 100 μL의 상등액을 수거하였다. 인간 IFN γ ELISA를 수행하여, hIFN γ 퀀티카인(Quantikine) 키트 (R&D 시스템즈, SIF50)를 사용함으로써 이중물로부터 풀링된 상등액 상에서의 IFN γ 수준을 평가하였다. 제조업자에 의해 제공된 표준 프로토콜에 따라서 검정을 실행하였다. 그 래프패드 프리즘 소프트웨어를 사용하여 EC50 값을 계산하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 17 (a-c)에 제시된다.

[1255] 본 실시예는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931 및 F023700924가 T-세포 클론에 의해 발현된 인간 PD-1과 인간 LAG-3 둘 다에 결합하였고, PD-1과 PD-L1의 상호 작용을 차단하며, LAG-3과 MHC 부류 II의 상호 작용을 차단함으로써; 이중 PD-L1-매개된 및 MHC 부류 II-매개된 저해를 억제하는 것에 근거하여 T-세포가 동종이계 자극에 더 큰 정도로 반응할 수 있었다는 것을 입증해 주었다 (도 17 (a)). 단일특이적, 2가 대조군 항-인간 PD-1 F023700933 및 항-인간 LAG-3 F023700862는 단지, 동종이계 자극에 훨씬 더 보통의 방식으로 반응하는 T-세포를 개별적으로 초래하는 2가지 억제 기전 중 하나만을 차단할 수 있었다. 부가적으로, 본 실시예는 20GS 또는 9GS 링커를 각각 함유하는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700969 및 F023700970이 35GS 링커를 함유하는 모 F023700924 분자와 유사한 효력을 갖고 있었다는 것을 보여주었다 (도 17 (c)). 유사하게, 20GS 또는 9GS 링커를 각각 함유하는 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023701016 및 F023701017이 35GS 링커를 함유하는 모 F023700931 분자와 유사한 효력을 갖고 있었다 (도 17 (b)).

[1256] **실시예 14: F023700924 및 F023700931에 대한 프리-항체 결합의 평가**

[1257] 인간 혈청 알부민 (HSA) 상에 포획된 나노바디에 대한 선제하는 항체의 결합을, 프로테온(ProteOn) XPR36 [바이오-라드 래보러토리즈, 인크.(Bio-Rad Laboratories, Inc.)]을 사용하여 평가하였다. PBS/트윈 (인산염 완충 식염수, pH 7.4, 0.005% 트윈 20)을 실행 완충제로서 사용하고 실험을 25°C 하에 수행하였다. 프로테온 GLC 센서 칩의 리간드 레인을 EDC/NHS로 활성화시키고 (유속 30 μl/min), 인간 혈청 알부민 (HSA)을 프로테온 아세테이트 완충제 pH 4.5 중의 10 μg/ml로 주사하여 (유속 100 μl/min) 대략 3600 RU의 고정화 수준이 되도록 하였다. 고정화 후, 표면을 에탄올아민 HCl로 탈활성화시켰다 (유속 30 μl/min). 나노바디를 HSA 표면 전반에 걸쳐 45 μL/min으로 2분 동안 주사하여, 3가 F023700924의 경우에는 대략 600 RU의 나노바디 포획 수준이 되도록 하였고 5가 F023700931의 경우에는 대략 1000 RU의 나노바디 포획 수준이 되도록 하였다. 선제하는 항체를 함유하는 샘플을 PBS-트윈20 (0.005%)에서 1:10으로 희석시킨 후에, 2분 동안 45 μl/min으로 주사한 다음 후속 400초 해리 단계를 수행하였다. 각각의 주기 후 (즉, 새로운 나노바디 포획 및 혈액 샘플 주사 단계 전), 45 μl/min으로 HCl (100 mM)을 2분 주사하여 HSA 표면을 재생시켰다. 프로테온 매니저 3.1.0 (바이오-라드 래보러토리즈, 인크.)을 이용하여, 센서그램 프로세싱과 데이터 분석을 수행하였다. 선제하는 항체 결합을 보여주는 센서그램은 1) 나노바디-HSA 해리 및 2) HSA만을 함유하는 참조 리간드 레인에 대한 비-특이적 결합을 공제함으로써 이중 참조 후 획득하였다. 선제하는 항체의 결합 수준은 보고 시점을 125초 (연합의 종료 후 5초)로 설정함으로써 결정하였다. 참조로서, 선제하는 항체를 함유하는 샘플을 대상으로 하여 또한, 이들 선제하는 항체 (T013700112)의 결합을 저하시키기 위해 변형되지 않은 3가 나노바디에 대한 결합을 알아보기 위하여 시험하였다. 이들 실험으로부터의 데이터가 도 19 (a-i)에 제시된다.

[1258] 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700924는 3개의 나노바디 모듈 (1개의 PD-1 모듈, 1개의 LAG-3 모듈, 및 1개의 항-알부민 모듈)을 갖고 있는 반면; F023700931은 5개의 나노바디 모듈 (2부의 PD-1 모듈, 2부의 LAG-3 모듈, 및 1개의 항-알부민 모듈)을 갖고 있다. 서열 최적화 접근 방식의 하나의 구성 요소는 나노바디 모듈에 대한 인간 혈청에 존재하는 반응성을 저하시킨 나노바디 프레임워크 내로 아미노산 치환을 혼입시키는 것이었다. 본 실시예는 3-모듈 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700924에 대한 건강한 인간 공여자로부터의 혈청의 패널에서 발견된 선제하는 반응성이, 2가지 시점에서 상기 프레임워크 아미노산 치환을 함유하지 않은 상이한 3-모듈 나노바디 T013700112 구조물에 대한 선제하는 반응성과 비교해서 저하되었다는 것을 입증해 주었다. 5-모듈 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931의 반응성은 3-모듈 F023700924의 반응성보다 더 높았다 (도 19 (a-b)). 또한, 본 실시예는 3-모듈 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700924에 대한 암 환자로부터의 혈청의 패널에서 발견된 선제하는 반응성이, 2가지 시점에서 상기 프레임워크 아미노산 치환을 함유하지 않은 상이한 3-모듈 나노바디 T013700112 구조물에 대한 선제하는 반응성과 비교

해서 저하된다는 것을 입증해 주었다. 5-모듈 이중특이적 항-인간 PD-1/LAG-3 나노바디 F023700931의 반응성은 3-모듈 F023700924의 반응성보다 더 높았다 (도 19 (c-d)). 마지막으로, F023700924 및 F023700931에 대한 암 환자로부터의 혈청의 패널의 반응성은 암 적응증에 근거하여 분리되었다 (도 19 (e-i)).

[1259] **실시예 15: 표면 플라즈몬 공명에 의한 서열 최적화된 인간 LAG-3 나노바디의 친화도 측정**

[1260] 비아코어(Biacore) T100 기기 [GE 헬스케어(Healthcare)]를 사용하여 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 기술에 의해 나노바디의 역학 분석을 수행하였다. HBS-EP+ (0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% v/v 계면활성제 P20)를 실행 완충제로서 사용하고 실험을 25°C 하에 수행하였다. 시리즈 S 센서 칩 CM5의 2개 유동 채널을 EDC (200 mM)/NHS (50 mM)로 활성화시키고, 항-인간 IgG(Fc) (GE 헬스케어, BR100839)를 공급된 고정화 완충제 (10 mM 소듐 아세테이트 pH 5.0) 중의 5 µg/ml로 주사하여 대략 2000 RU의 고정화 수준이 되도록 하였다. 고정화한 후, 표면을 1M 에탄올아민/HCl (pH 8.5)로 탈활성화시켰다. 센서 제조 동안의 유속은 5 µL/min으로 설정되었다.

[1261] 역학 연구에서는, 62.5 nM 인간 LAG3-hFc를 하나의 항-인간 IgG(Fc) 표면 전반에 걸쳐 10 µL/min으로 1분 동안 주사하여 대략 600 RU의 포획 수준이 되도록 하였다. 나노바디의 2.5배 일련의 희석물 (즉, F023700842의 경우 5 µM에서 3.3 nM으로)을 실행 완충제에서 만든 후, 45 µL/min으로 2분 동안 주사한 다음 후속 900초 해리를 수행하였다. 각각의 주기 후 (즉, 새로운 인간 LAG3-hFc 포획 및 나노바디 주사 단계 전), 10 µl/min으로 MgCl₂ (3M)을 2분 주사하여 항-hIgG(Fc) 표면을 재생시켰다.

[1262] 비아코어 T100 평가 소프트웨어 버전 2.0.4 (GE 헬스케어)를 사용하여 센서그램 프로세싱과 데이터 분석을 수행하였다. 나노바디 결합을 보여주는 센서그램은 1) 인간 LAG3-hFc/항-hIgG(Fc) 해리 및 2) 참조 유동 채널에 대한 비-특이적 결합을 통제함으로써 이중 참조 후 획득하였다. 프로세싱된 곡선은 모델 '대량 수송을 동반한 랑뮈르(Langmuir)'로 피팅하는 것을 통하여 평가하였다.

[1263] 본 실시예는 항-인간 LAG-3 1가 나노바디 F023700842가 인간 LAG-3과 고 친화도로 결합하였다는 것을 입증해 주었다.

[1264] **표 E. 표면 플라즈몬 공명에 의한 인간 LAG-3 나노바디의 친화도 측정.**

		ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
F023700929	인간 PD-1-Fc	2.0E+06	5.9E-04	2.9E-10
F023701192		2.5E+06	3.2E-03	1.3E-09
F023701193		3.2E+06	7.5E-03	2.4E-09
F023700842	인간 LAG-3-Fc	9.2E+05	1.9E-02	2.1E-08
F023700924	인간 혈청 알부민	6.4E+04	7.7E-03	1.2E-07
F023700931		3.2E+04	8.2E-03	2.5E-07
F023700924	레서스 혈청 알부민	6.9E+04	7.9E-03	1.2E-07
F023700931		3.2E+04	8.4E-03	2.7E-07

[1265] **실시예 16: 표면 플라즈몬 공명에 의한 서열 최적화된 인간 PD-1 나노바디의 친화도 측정**

[1266] 비아코어 T100 기기 (GE 헬스케어)를 사용하여 SPR 기술에 의해 나노바디의 역학 분석을 수행하였다. HBS-EP+ (0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% v/v 계면활성제 P20)를 실행 완충제로서 사용하고 실험을 25°C 하에 수행하였다. 시리즈 S 센서 칩 CM5의 2개 유동 채널을 EDC (200 mM)/NHS (50 mM)로 활성화시켰다. hPD-1-hFc를 적합한 고정화 완충제 (10 mM 소듐 아세테이트 pH 4.5) 중의 5 µg/ml로 1개의 표면 전반에 걸쳐 주사하여 (4회) 303 RU의 고정화 수준이 되도록 하였다. 고정화한 후, 표면을 1M 에탄올아민/HCl (pH 8.5)로 탈활성화시켰다. 센서 제조 동안의 유속은 5 µL/min으로 설정되었다.

[1268] 역학 연구에서는, 나노바디의 2.5배 일련의 희석물 (즉, F023700929, F023701192 및 F023701193의 경우 1 µM에서 0.46 nM으로)을 실행 완충제에서 만든 후, 45 µL/min으로 2분 동안 주사한 다음 후속 900초 해리를 수행하였다. 각각의 주기 후 (즉, 새로운 나노바디 주사 단계 전), 45 µl/min으로 10 mM 글리신 pH 1.5를 1분 주사하여 hPD1-hFc 표면을 재생시켰다. 비아코어 T100 평가 소프트웨어 버전 2.0.4 (GE 헬스케어)를 사용하여 센서그램 프로세싱과 데이터 분석을 수행하였다. 나노바디 결합을 보여주는 센서그램은 1) 참조 유동 채널에 대한 비-특이적 결합 및 2) HBS-EP+ 주사를 통제함으로써 이중 참조 후 획득하였다. 프로세싱된 곡선은 모델 '대량 수송을 동반한 랑뮈르'로 피팅하는 것을 통하여 평가하였다.

[1269] 본 실시예는 항-인간 PD-1 1가 나노바디 F023700929가 인간 PD-1과 고 친화도로 결합하였다는 것을 입증해 주었다. 또한, 본 실시예는 서열 최적화된 항-인간 PD-1 1가 F023700929의 부가 아미노산 변이체 (즉, F023701192 및 F023701193)가 인간 PD-1과 고 친화도로 결합하였다는 것을 입증해 주었다.

[1270] 표 F. 표면 플라즈몬 공명에 의한 서열 최적화된 인간 PD-1 나노바디의 친화도 측정.

	ka (1/Ms)	T(ka)	kd (1/s)	T(kd)	Rmax (RU)	T(Rmax)	KD (M)	kt (RU/Ms)	Chi ² (RU ²)	Chi ² /Rmax (%)
F023700929	2.0E+06	220	5.9E-04	150	32.0	500	2.9E-10	2.9E+15	1.8	5
F023701192	2.5E+06	63	3.2E-03	66	27.9	380	1.3E-09	8.7E+07	0.8	3
F023701193	3.2E+06	49	7.5E-03	49	29.5	450	2.4E-09	4.2E+07	1.2	4

[1271]

[1272] 실시예 17: 표면 플라즈몬 공명에 의한 상이한 종의 알부민에 대한 서열 최적화된 다중특이적 인간 PD-1/LAG-3의 친화도 측정

[1273] 비아코어 T100 기기 (GE 헬스케어)를 사용하여 SPR 기술에 의해 나노바디의 역학 분석을 수행하였다. HBS-EP+ (0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% v/v 계면활성제 P20)를 실행 완충제로서 사용하고 실험을 25°C 하에 수행하였다. 시리즈 S 센서 칩 CM5의 4개 유동 채널을 EDC (200 mM)/NHS (50 mM)로 활성화시키고, 인간 혈청 알부민 (시그마, cat. A3782, lot. SLBD7204V) 또는 레서스 혈청 알부민 [바이오월드 (BioWorld), cat. 22070099-1, lot. L15091001DA]을 10 mM 소듐 아세테이트 완충제 pH 4.5 중의 5 µg/ml로 주사하여 3개의 유동 채널 상에서 각각 179 내지 312 RU의 고정화 수준이 되도록 하였다. 고정화한 후, 표면을 1M 에탄올아민/HCl (pH 8.5)로 탈활성화시켰다. 센서 제조 동안의 유속은 5 µl/min으로 설정되었다.

[1274] 역학 연구에서는, 나노바디의 3배 일련의 희석물 (즉, 6 µM에서 2.7 nM으로)을 실행 완충제에서 제조한 후, 45 µl/min으로 2분 동안 주사한 다음 후속 900초 해리를 수행하였다. 각각의 주기 후 (즉, 새로운 나노바디 농도를 주사하기 전), 100 µl/min으로 10 mM 글리신 pH 1.5를 10초 주사하여 모든 표면을 재생시켰다. 비아코어 T100 평가 소프트웨어 버전 2.0.4 (GE 헬스케어)를 사용하여 센서그램 프로세싱과 데이터 분석을 수행하였다. 나노바디 결합을 보여주는 센서그램은 1) 참조 유동 채널에 대한 비-특이적 결합 및 2) 특이적 유동 채널 상에서 평균 2회의 HBS-EP+ 주사를 공제함으로써 이중 참조 후 획득하였다. 프로세싱된 곡선은 모델 '대량 수송을 동반한 랑뮤르'로 피팅하는 것을 통하여 평가하였다.

[1275] 본 실시예는 이중특이적 항-인간 PD 1/LAG-3 나노바디 F023700931 및 F023700924가 인간 알부민과 레서스 알부민 둘 다와 유사한 친화도로 결합하였다는 것을 입증해 주었다.

[1276] 표 G. 표면 플라즈몬 공명에 의한 상이한 종의 알부민에 대한 서열 최적화된 다중특이적 인간 PD-1/LAG-3의 친화도 측정

나노바디	원자가	HSA			RhSA			MhSA		
		ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
F023700924-CH3-EP1	삼량체	6.4E+04	7.7E-03	1.2E-07	6.3E+04	7.3E-03	1.2E-07	>6.0E+05	<6.0E-03	<1.0E-06
F023700931-CH3-EP1	오량체	3.2E+04	8.2E-03	2.5E-07	3.2E+04	8.6E-03	2.7E-07	>6.0E+05	<6.0E-03	<1.0E-06

[1277]

도면
도면1

카바트에 따른 넘버링 (VH)	코티아에 따른 넘버링 (VH)	아호 넘버링	IMGT
11	11	12	12
14	14	15	15
41	41	48	46
42	42	49	47
87	87	101	99
89	89	103	101
108	108	144	----
110	110	146	----
112	112	148	----

출처 : <http://www.bioc.uzh.ch/plueckhun/antibody/Numbering/NumFrame.html>

도면2a

SEQ ID NO	설명	서열
1	WO 2008/071447, SEQ ID NO:348 (102C12)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDTAIYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTQVTVSS
2	참조 A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDTAIYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTQVTVSS
3	CDR1 (카바트)	IHAMG
4	CDR2 (카바트)	VITWSGGITYYADSVKG
5	CDR3 (카바트/Abm)	DKHQSSWYDY
6	CDR1 (Abm)	GSIASIHAMG
7	CDR2 (Abm)	VITWSGGITYY
8	CDR3 (카바트/Abm)	DKHQSSWYDY
9	참조 A (89T)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDTATYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTQVTVSS
10	참조 A (11V + 110K)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDTATYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTQVTVSS
11	참조 A (11V + 110Q)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAEMSGISGWDYWGQGTQVQVSS
12	참조 A (11V + 112K)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAEMSGISGWDYWGQGTQVTVKS
13	참조 A (11V + 112Q)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAEMSGISGWDYWGQGTQVTVQS

도면2b

SEQ ID NO	설명	서열
14	참조 A (89L + 110K)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLVKVSS
15	참조 A (89L + 110Q)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLVQVSS
16	참조 A (89L + 112K)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVKKS
17	참조 A (11V + 112Q)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVQSS
18	참조 A (11V + 89L)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVSS
19	참조 A (11V + 89L + 110K)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLVKVSS
20	참조 A (11V + 89L + 110Q)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLVQVSS
21	참조 A (11V + 89L + 112K)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVKKS
22	참조 A (11V + 89L + 112Q)	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLRPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVQSS
23	PD1 결합제 / 결합 모이어티	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEREVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLRPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVSS

도면2c

SEQ ID NO	설명	서열
24	PD1 결합제 /결합 모이어티	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLRPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVSS
25	참조 A (89T)+ A	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRRQAP GKEREVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLRPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVSSA
26	참조 A (11V + 110K)+ A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTATYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLVKVSSA
27	참조 A (11V + 110Q)+ A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLVQVSSA
28	참조 A (11V + 112K)+ A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVKSA
29	참조 A (11V + 112Q)+ A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVQSA
30	참조 A (89L + 110K)+ A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLVKVSSA
31	참조 A (89L + 110Q)+ A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLVQVSSA
32	참조 A (89L + 112K)+ A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVKSA
33	참조 A (89L + 112Q)+A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWFRRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVQSA

도면2d

SEQ ID NO	설명	서열
34	참조 A (11V + 89L)+A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVSSA
35	참조 A (11V + 89L + 110K)+ A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLVKVSSA
36	참조 A (11V + 89L + 110Q)+ A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLVQVSSA
37	참조 A (11V + 89L + 112K)+ A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVKSA
38	참조 A (11V + 89L + 112Q)+A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVQSA
39	PD1 결합제 /결합 모이어티	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVSSA
40	PD1 결합제 /결합 모이어티	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTF SFYGMGWRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLRPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLLTVSSA

도면2e

SEQ ID NO	설명	서열
41	HIS6-FLAG3 태그	HHHHHHGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGA
42	C-말단 단부	VTVKS
43	C-말단 단부	VTVQS
44	C-말단 단부	VKVSS
45	C-말단 단부	VQVSS
46	C-말단 단부	VTVKSX(n)
47	C-말단 단부	VTVQSX(n)
48	C-말단 단부	VKVSSX(n)
49	C-말단 단부	VQVSSX(n)
50	C-말단 단부	VTVKSA
51	C-말단 단부	VTVQSA
52	C-말단 단부	VKVSSA
53	C-말단 단부	VQVSSA
54	C-말단 단부	VTVSS
55	C-말단 단부	VTVSSX(n)
56	C-말단 단부	VTVSSA

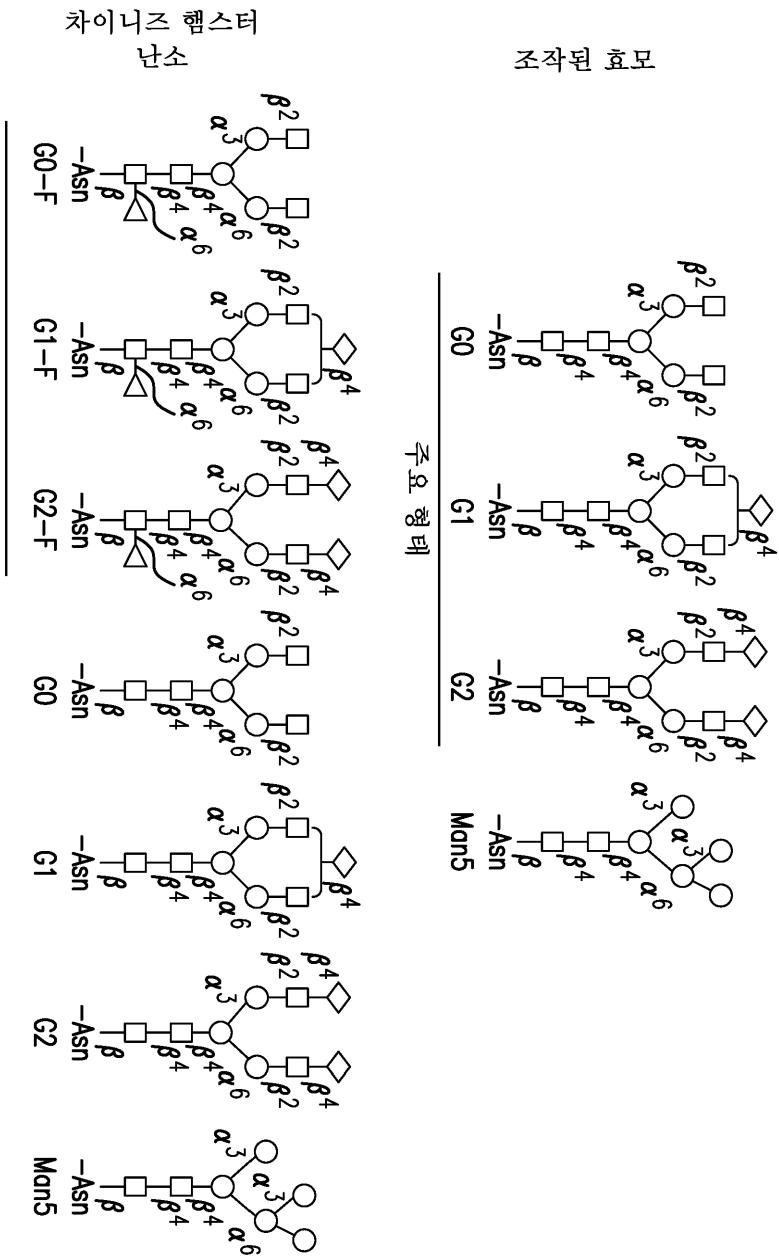
도면3a

	20	40	60
SEQIDNO:1	EVQLVESGGG	LVQAGGSLRL SCAASGSIAS	IHAMGWFRQA PGKEREFAV ITWSGGITYY 60
SEQIDNO:2 60
SEQIDNO:9 60
SEQIDNO:10 V. 60
SEQIDNO:11 V. 60
SEQIDNO:12 V. 60
SEQIDNO:13 V. 60
SEQIDNO:14 60
SEQIDNO:15 60
SEQIDNO:16 60
SEQIDNO:17 60
SEQIDNO:18 V. 60
SEQIDNO:19 V. 60
SEQIDNO:20 V. 60
SEQIDNO:21 V. 60
SEQIDNO:22 V. 60
SEQIDNO:23 V..P 60
SEQIDNO:24 60
SEQIDNO:25 V. 60
SEQIDNO:26 V. 60
SEQIDNO:27 V. 60
SEQIDNO:28 V. 60
SEQIDNO:29 60
SEQIDNO:30 60
SEQIDNO:31 60
SEQIDNO:32 60
SEQIDNO:33 V. 60
SEQIDNO:34 V. 60
SEQIDNO:35 V. 60
SEQIDNO:36 V. 60
SEQIDNO:37 V. 60
SEQIDNO:38 V..P 60

도면3b

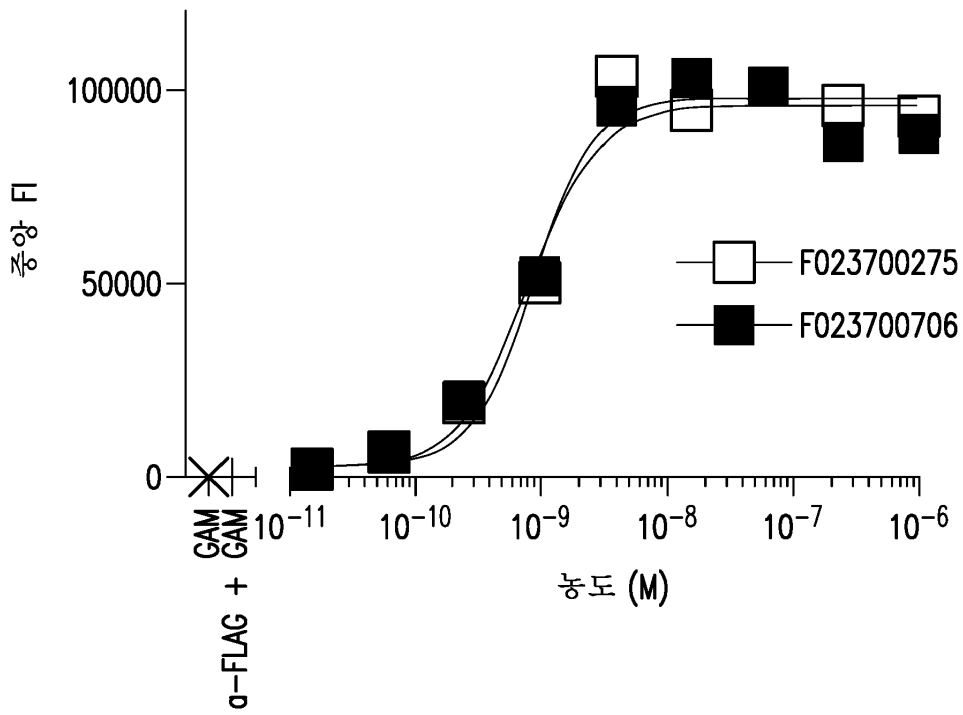
	80	100	120				
SEQIDNO:1	ADSVKGRFTI	SRDNAKNTVY	LQMNSLKPED	TAIYYCAGDK	HQSSWYDYWG	QGTQVTVSS-	119
SEQIDNO:2L....-	119
SEQIDNO:9T.....L....-	119
SEQIDNO:10L.K...-	119
SEQIDNO:11L.Q...-	119
SEQIDNO:12L...K.-	119
SEQIDNO:13L...Q.-	119
SEQIDNO:14V.....L.K...-	119
SEQIDNO:15V.....L.Q...-	119
SEQIDNO:16V.....L...K.-	119
SEQIDNO:17V.....L...Q.-	119
SEQIDNO:18V.....L....-	119
SEQIDNO:19V.....L.K...-	119
SEQIDNO:20V.....L.Q...-	119
SEQIDNO:21V.....L...K.-	119
SEQIDNO:22V.....L...Q.-	119
SEQIDNO:23S.....R..	..L.....L....-	119
SEQIDNO:24T.....L....A	120
SEQIDNO:25L.K...A	120
SEQIDNO:26L.Q...A	120
SEQIDNO:27L...K.A	120
SEQIDNO:28L...Q.A	120
SEQIDNO:29V.....L.K...A	120
SEQIDNO:30V.....L.Q...A	120
SEQIDNO:31V.....L...K.A	120
SEQIDNO:32V.....L...Q.A	120
SEQIDNO:33V.....L....A	120
SEQIDNO:34V.....L.K...A	120
SEQIDNO:35V.....L.Q...A	120
SEQIDNO:36V.....L...K.A	120
SEQIDNO:37V.....L...Q.A	120
SEQIDNO:38S.....R..	..L.....L....A	120

도면4



도면5

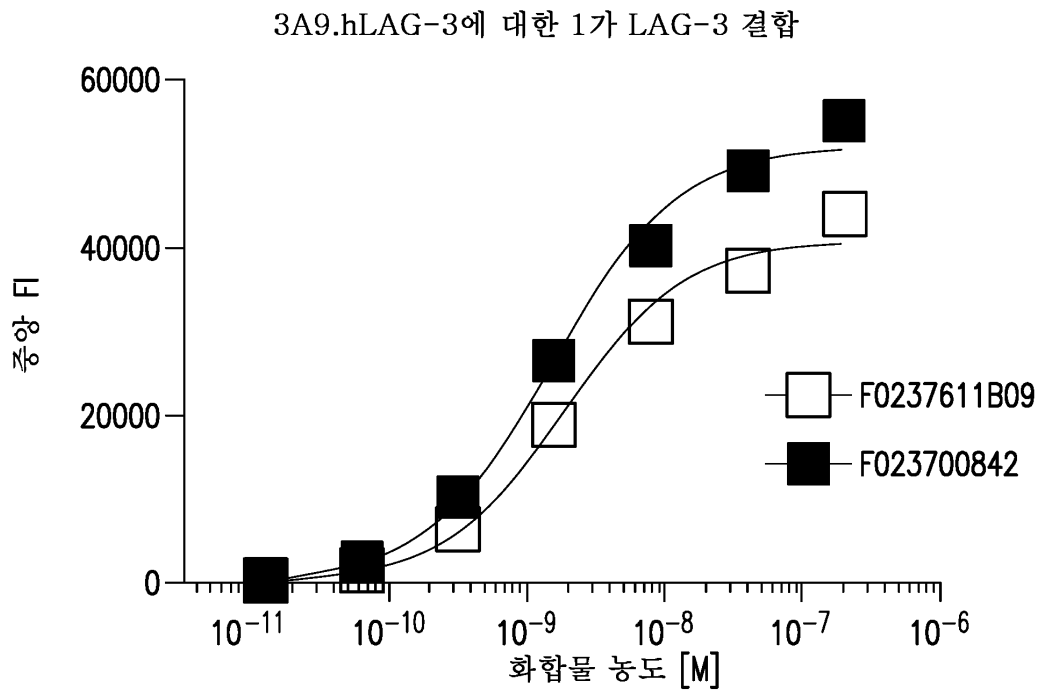
CHO-K1.hPD-1에 대한 1가 PD-1 결합



F023700275: 1PD102C12(A14P,A74S,K83R)-FLAG3-HIS6

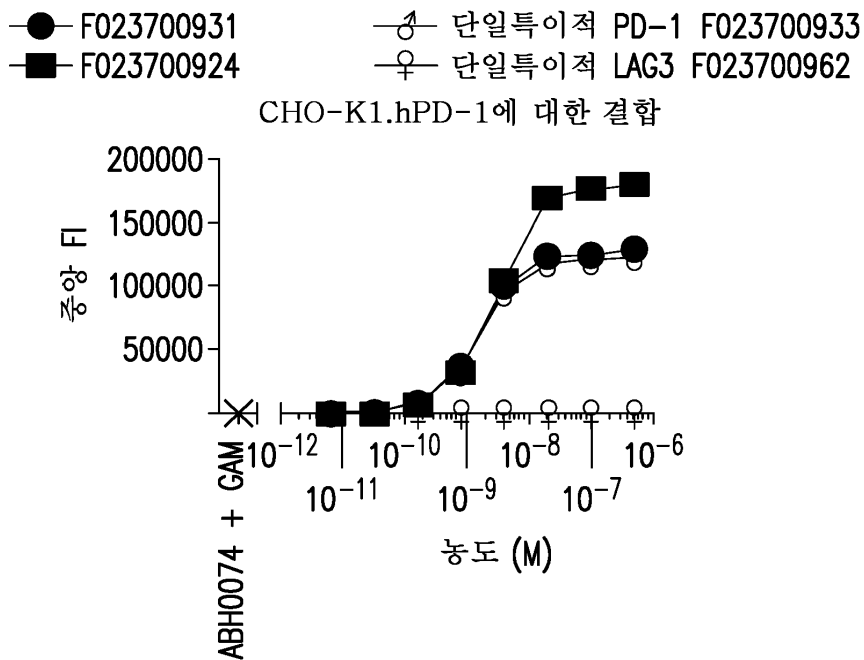
F023700706: 1PD102C12(L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-FLAG3-HIS6

도면6



F0237611B09-*FLAG3-HIS6*
 F023700842: F0237611B09(L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-*FLAG3-HIS6*

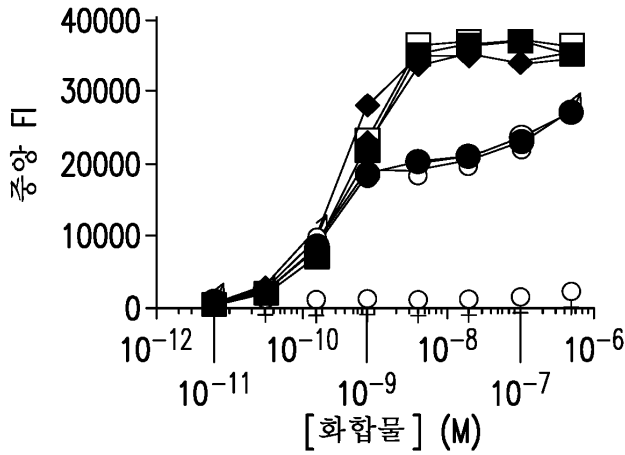
도면7a



도면7b

- F023700924 (피키아) ♂ 단일특이적 PD-1 F023700933
- F023700924 (CHO) ♀ 단일특이적 LAG-3 F023700962
- F023700931 (피키아) ◆ 단일특이적/1가 F023700678
- F023700931 (CHO) ◆ 단일특이적/1가 F023701127

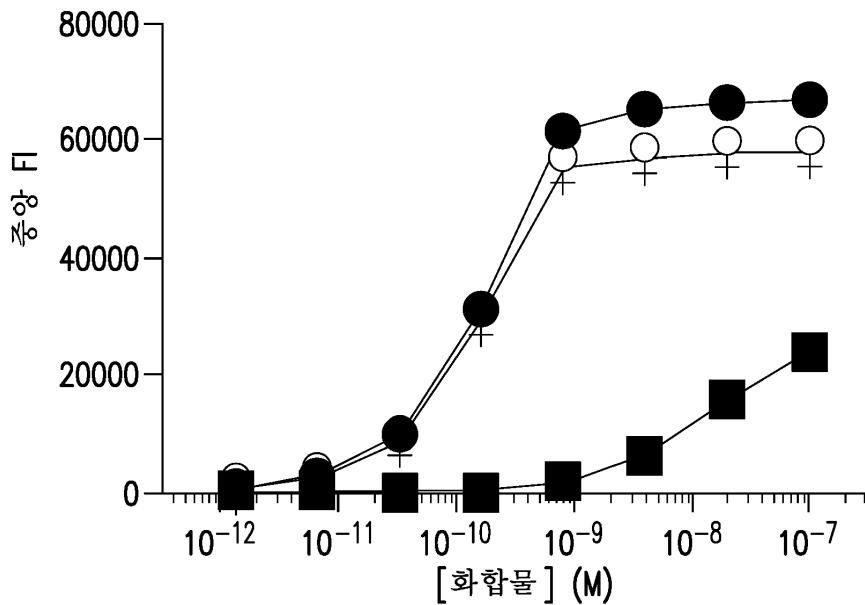
3A9. 레서스PD-1에 대한 결합



도면8a

- F023700931
- F023700924
- ♀ F023700962

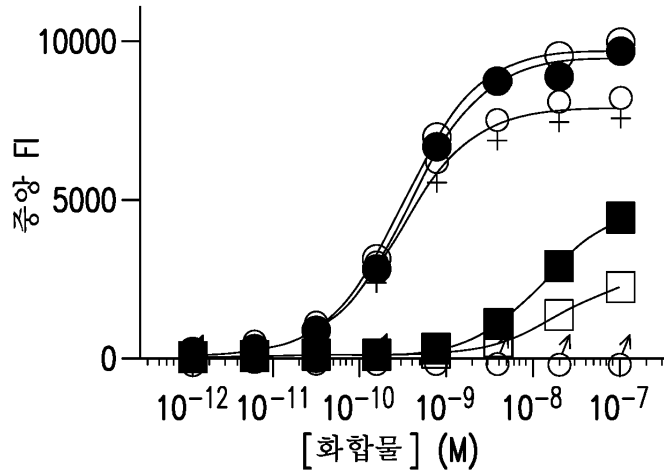
CHO-K1.hLAG-3에 대한 결합



도면8b

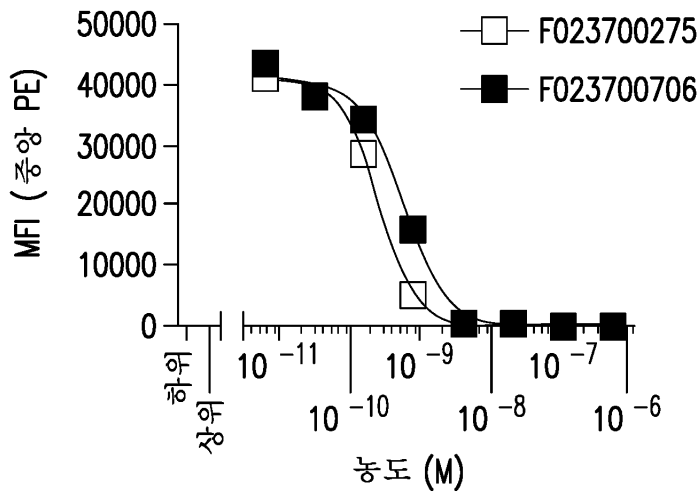
- F023700924 (피키아) ● F023700931 (CHO)
- F023700924 (CHO) ♂ 단일특이적 PD-1 F023700933
- F023700931 (피키아) ♀ 단일특이적 LAG-3 F023700962

CHO-K1.레스스/시노LAG-3에 대한 결합

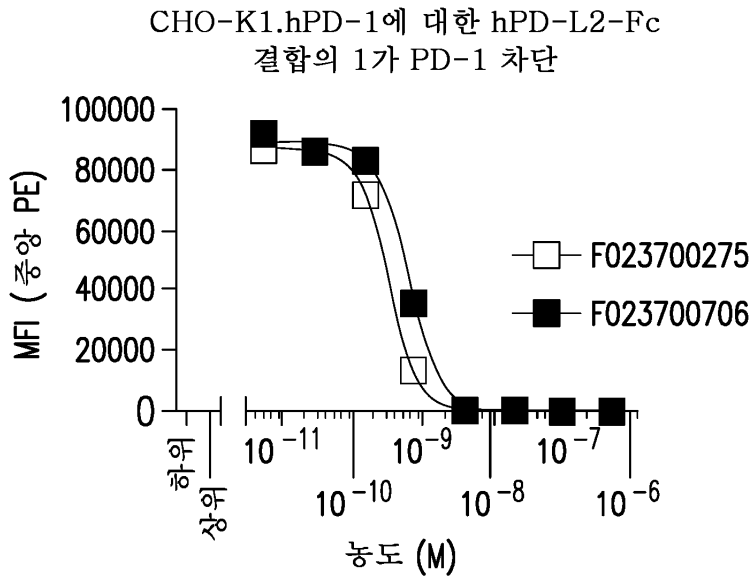


도면9a

CHO-K1.hPD-1에 대한 hPD-L1-Fc 결합의 1가 PD-1 차단



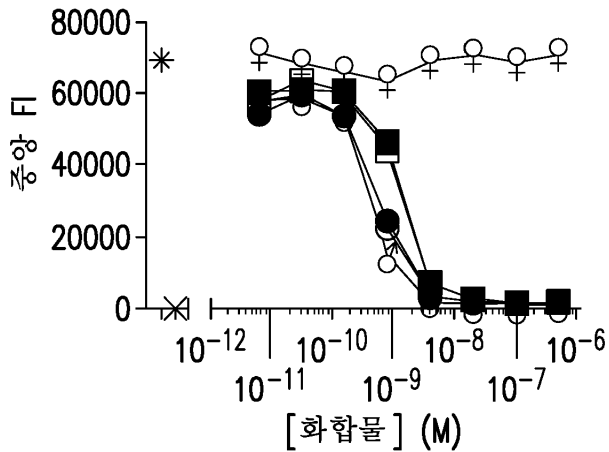
도면9b



도면9c

- F023700924 (피키아) ♂ 단일특이적 PD-1 F023700933
- F023700924 (CHO) ♀ 단일특이적 LAG-3 F023700962
- F023700931 (피키아) ✕ US
- F023700931 (CHO) * hPD-L1 @EC30

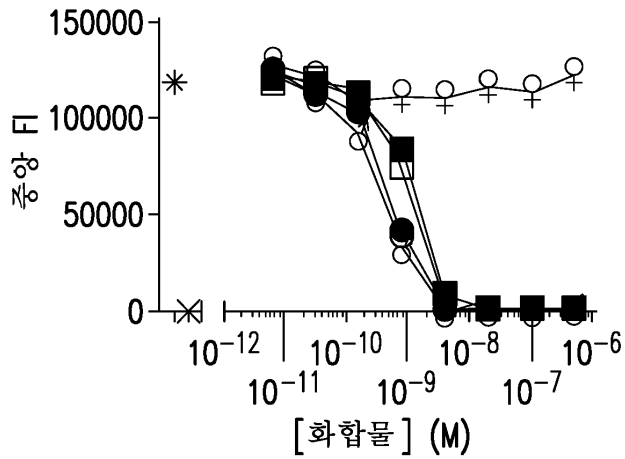
CHO-K1.hPD-1에 대한 hPD-L1-Fc 결합의 차단



도면9d

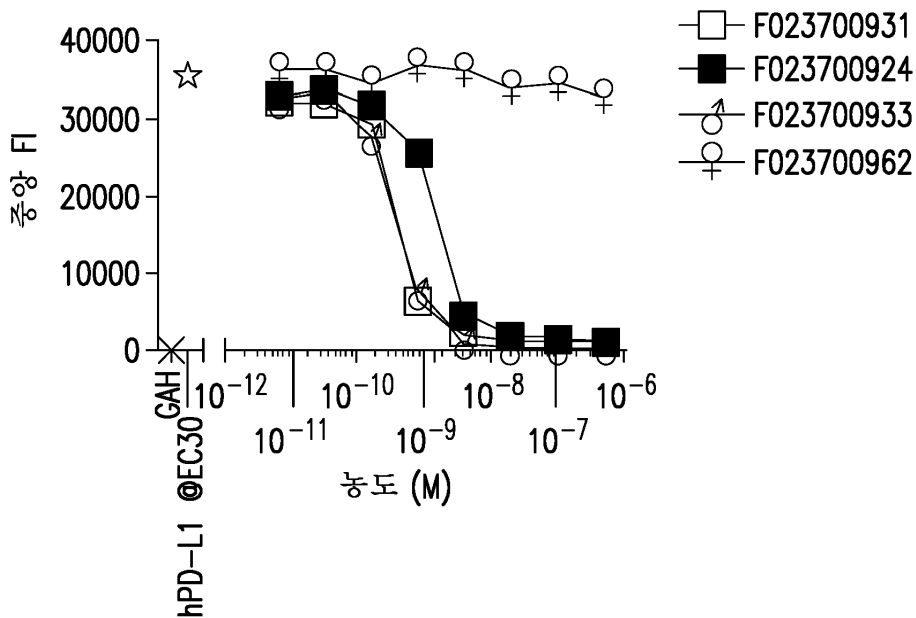
- F023700924 (피키아) ♂ 단일특이적 PD-1 F023700933
- F023700924 (CHO) ♀ 단일특이적 LAG-3 F023700962
- F023700931 (피키아) × US
- F023700931 (CHO) * hPD-L1 @EC30

CHO-K1.hPD-1에 대한 hPD-L2-Fc 결합의 차단



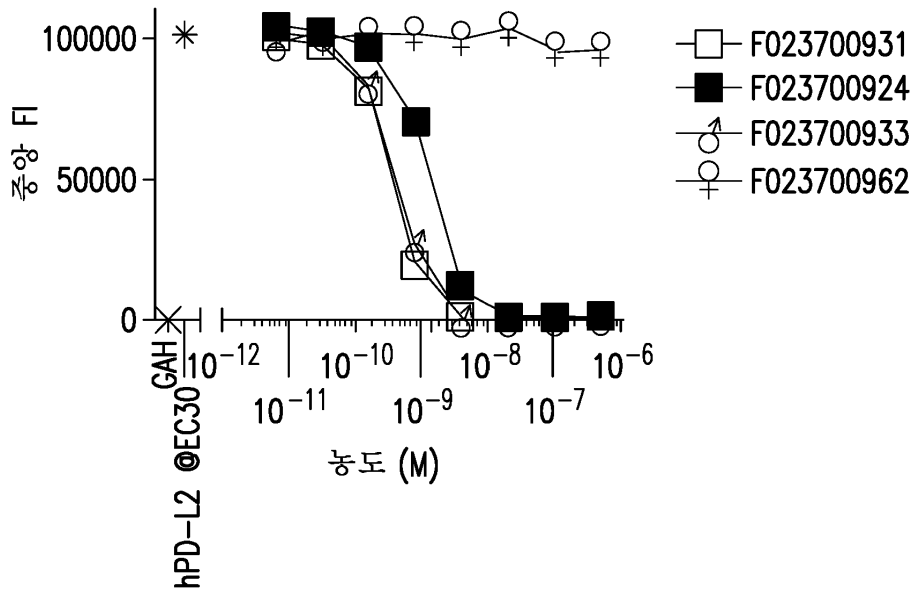
도면9e

CHO-K1.hPD-1에 대한 hPD-L1-Fc 결합의 차단



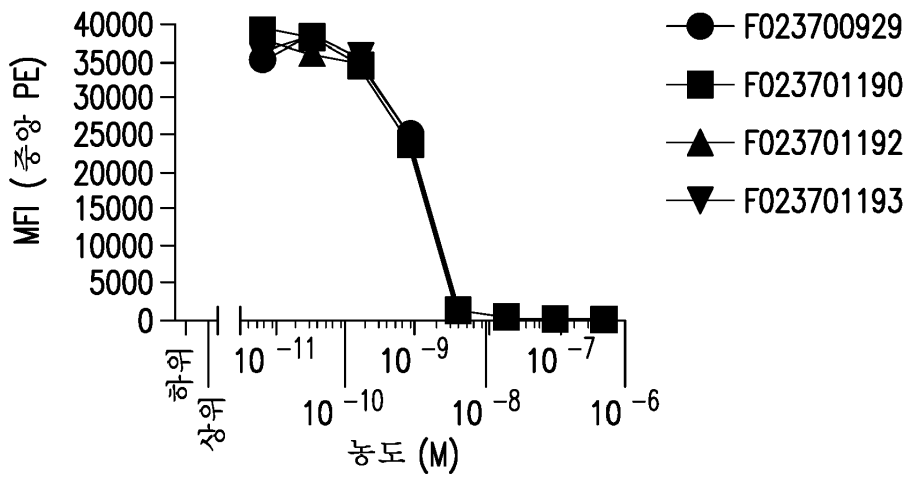
도면9f

CHO-K1.hPD-1에 대한 hPD-L2-Fc 결합의 차단



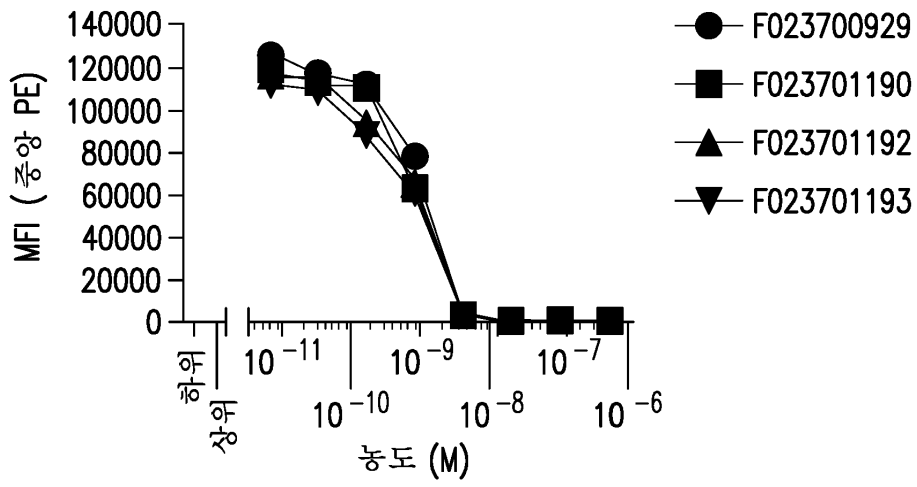
도면9g

CHO-K1.hPD-1에 대한 hPD-L1-Fc 결합의 1가 PD-1 차단

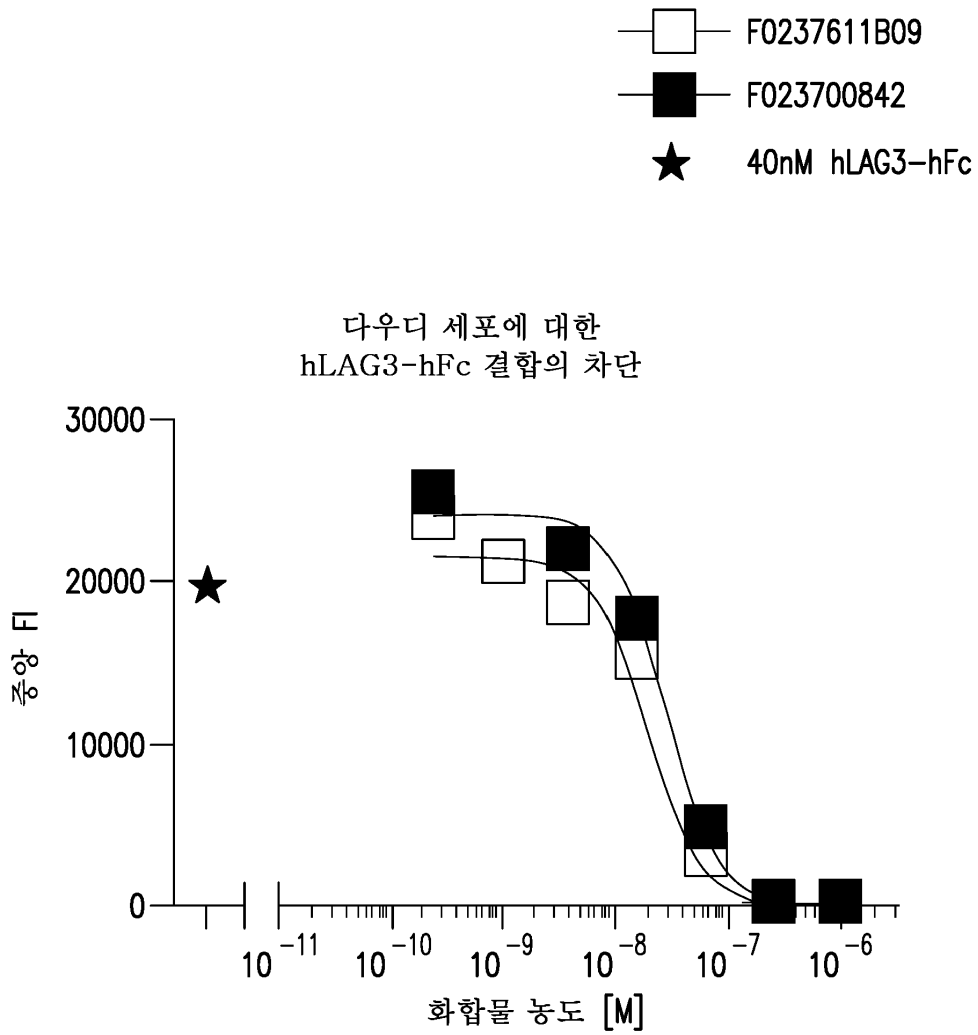


도면9h

CHO-K1.hPD-1에 대한 hPD-L2-Fc 결합의 1가 PD-1 차단



도면10a



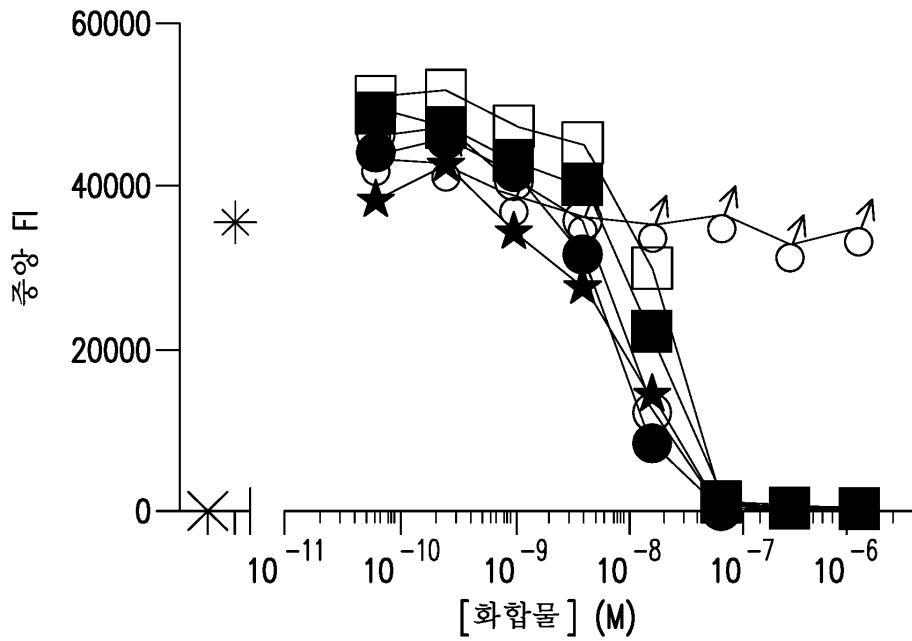
F0237611B09-FLAG3-HIS6

F023700842: F0237611B09(L11V,A14P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-
FLAG3-HIS6

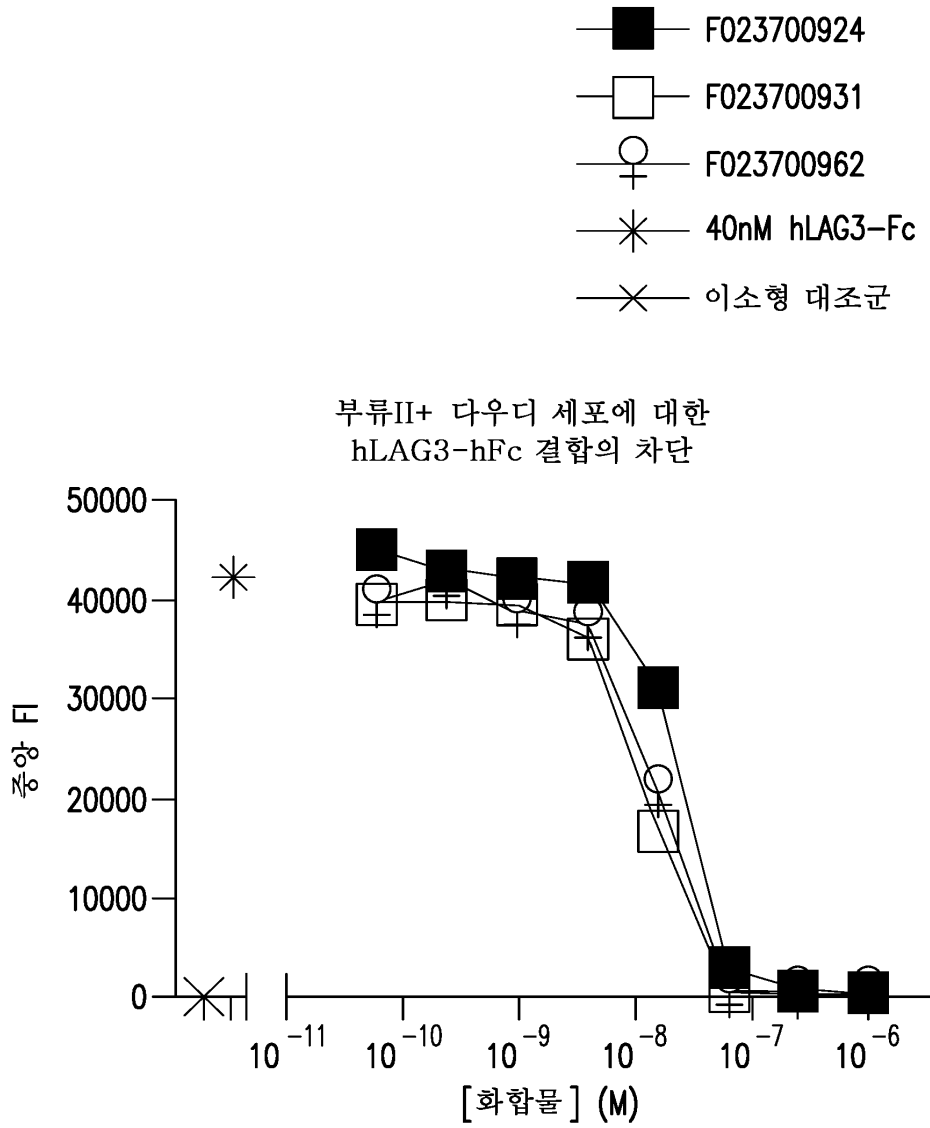
도면10b

- F023700924 (피키아) —♂— 단일특이적 PD-1 F023700933
- F023700924 (CHO) —★— 단일특이적 LAG-3 F023700962
- F023700931 (피키아) —*— 40nM hLAG3-Fc
- F023700931 (CHO) —×— 2차 단독

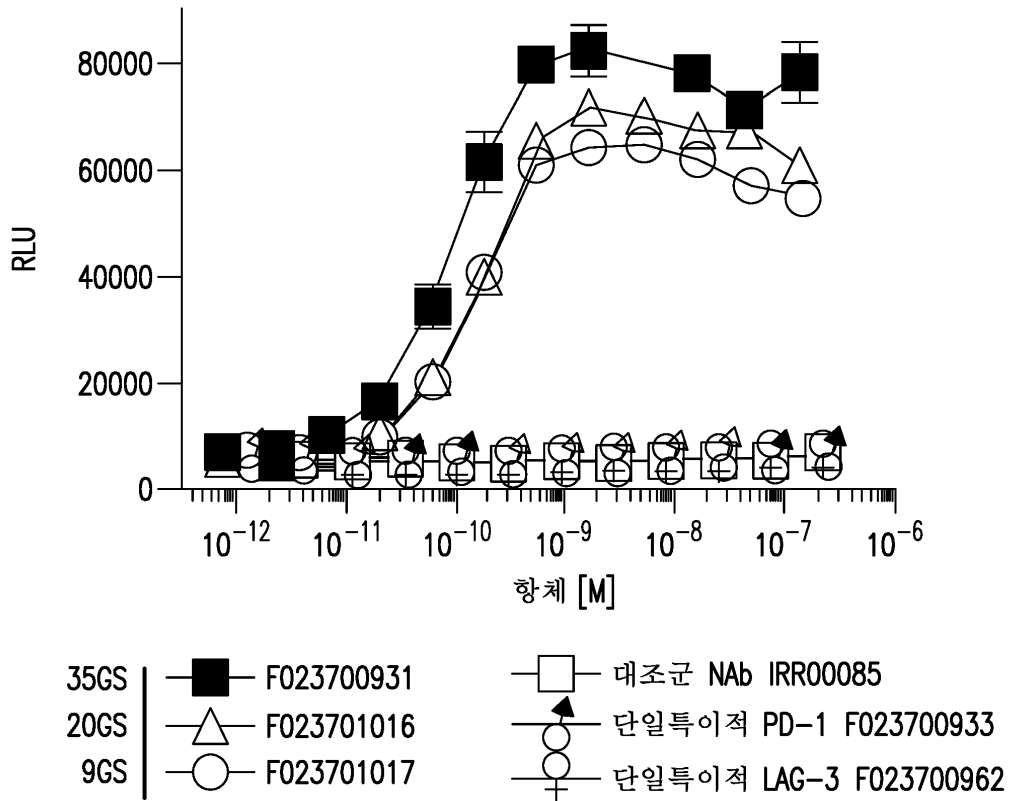
다우디 세포에 대한
hLAG3-hFc 결합의 차단



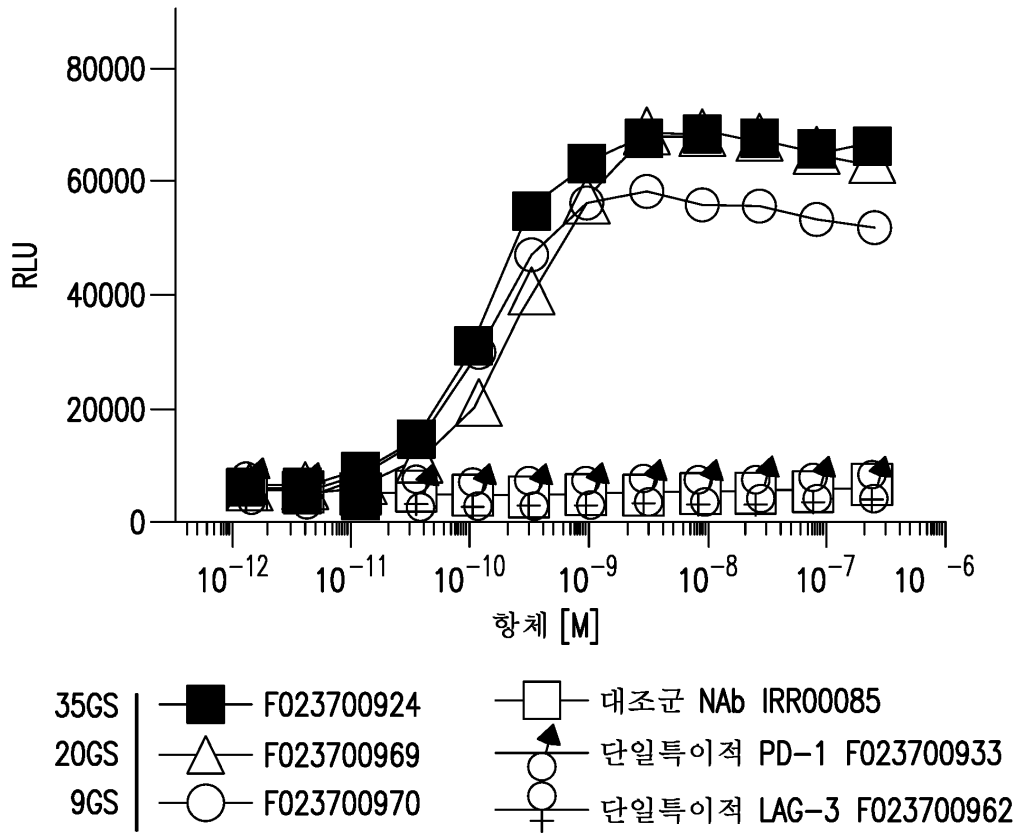
도면10c



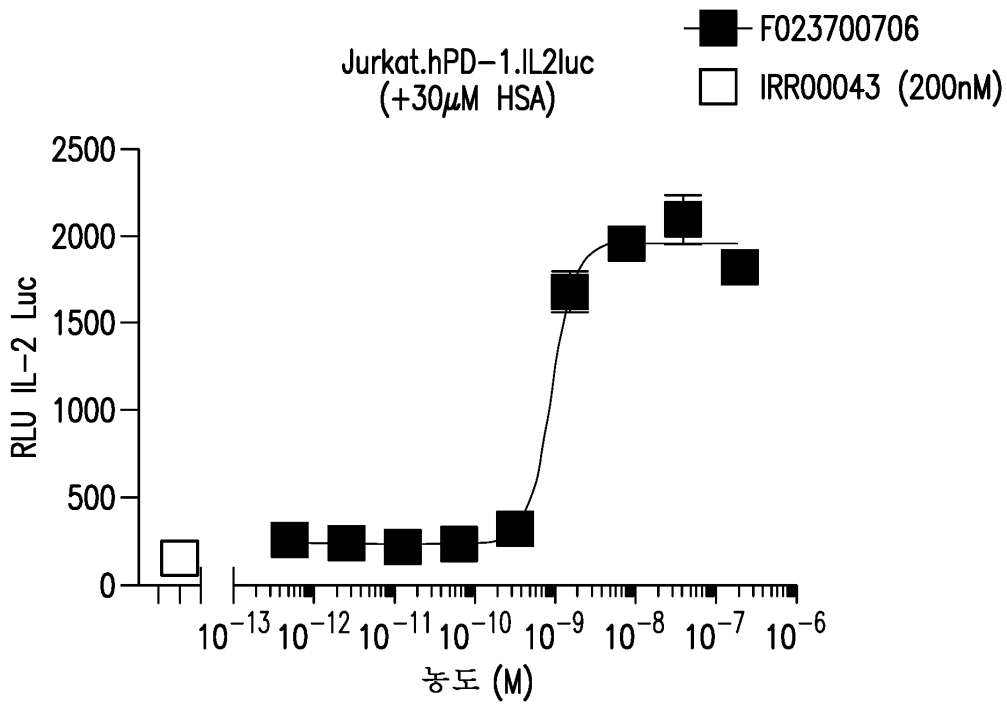
도면11a



도면11b



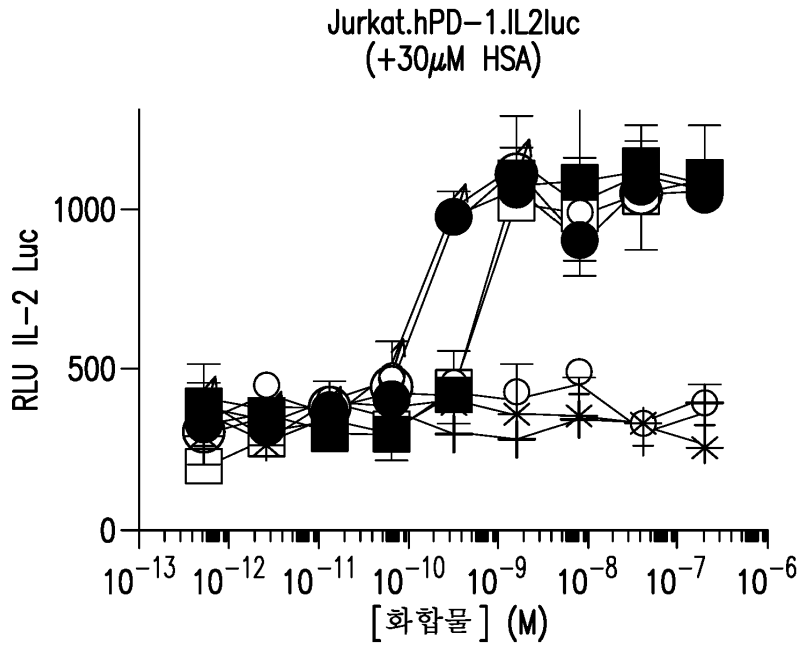
도면12a



F023700706: 1PD102C12(L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-FLAG3-HIS6

도면12b

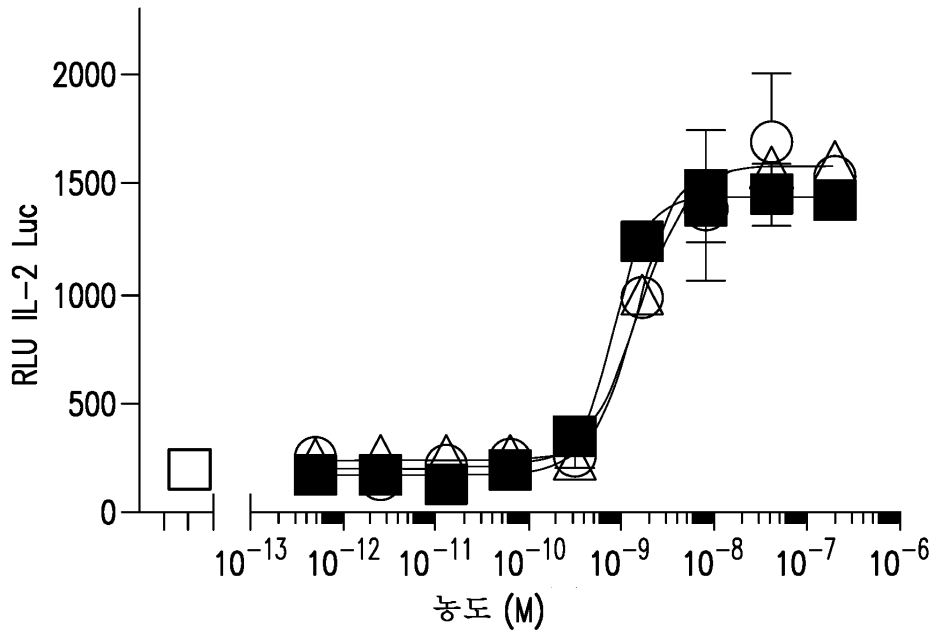
- | | |
|--------------------|--------------------------|
| □ F023700924 (피키아) | ♂ 단일특이적 PD-1 F023700933 |
| ■ F023700924 (CHO) | ♀ 단일특이적 LAG-3 F023700962 |
| ○ F023700931 (피키아) | * 대조군 나노바디 IRRO0085 |
| ● F023700931 (CHO) | + 대조군 나노바디 IRRO0087 |



도면12c

- F023700924 (35GS)
- △ F023700969 (20GS)
- F023700970 (9GS)
- IRR00043 (200nM)

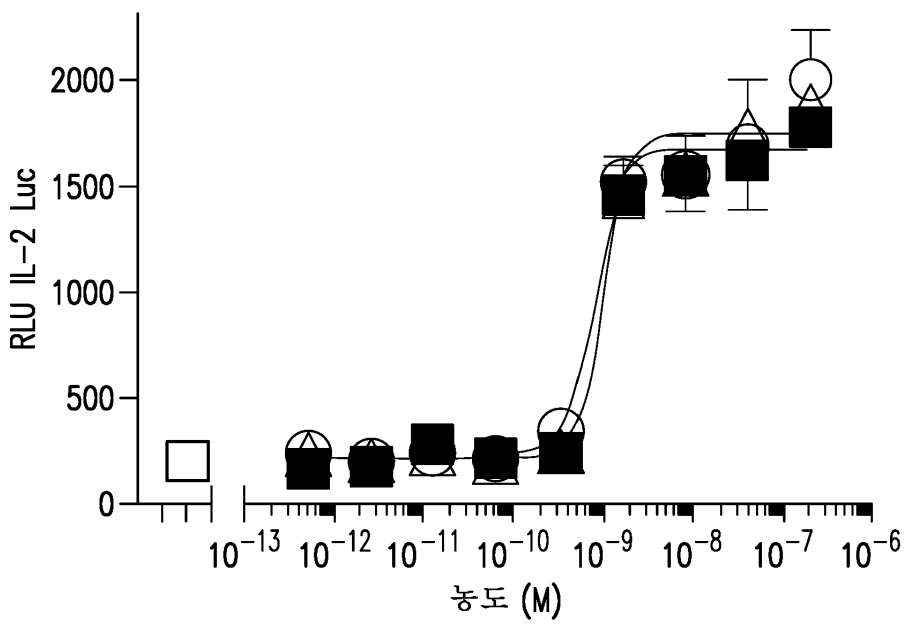
30 μ M HSA의 존재 하의
인간 PD-1 리포터 검정



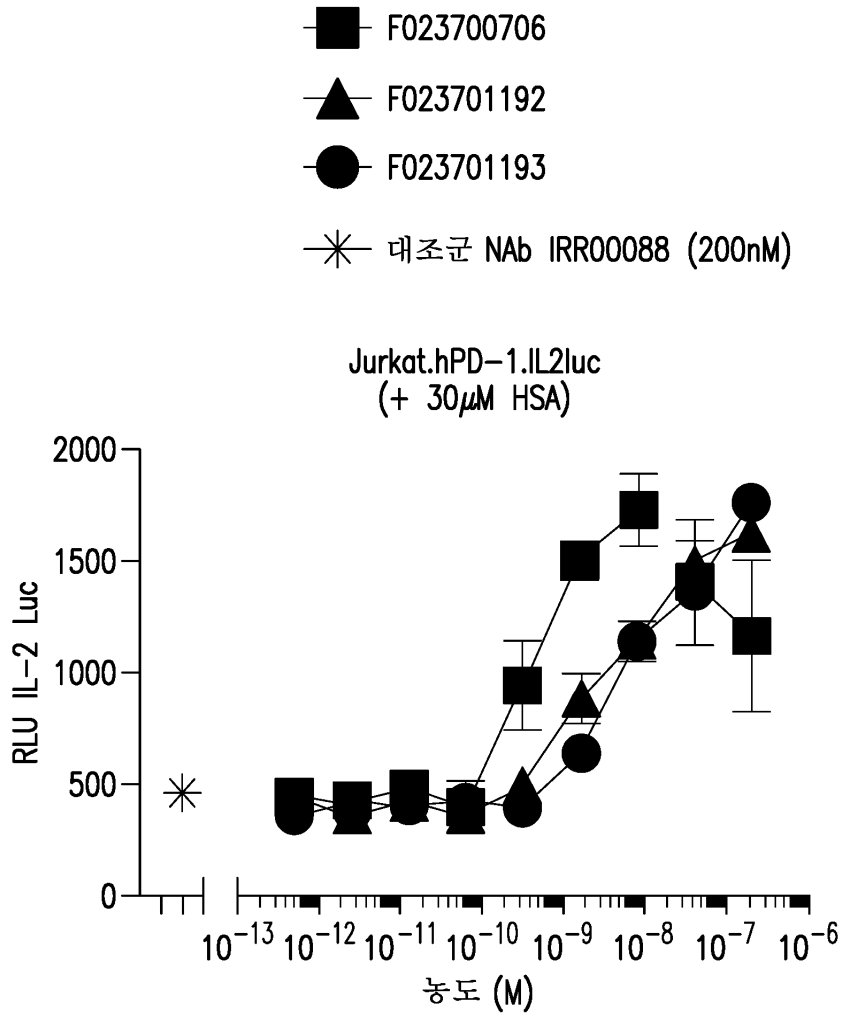
도면12d

- F023700931 (35GS)
- △ F023701016 (20GS)
- F023701017 (9GS)
- IRR00043 (200nM)

30 μ M HSA의 존재 하의
인간 PD-1 리포터 검정



도면12e

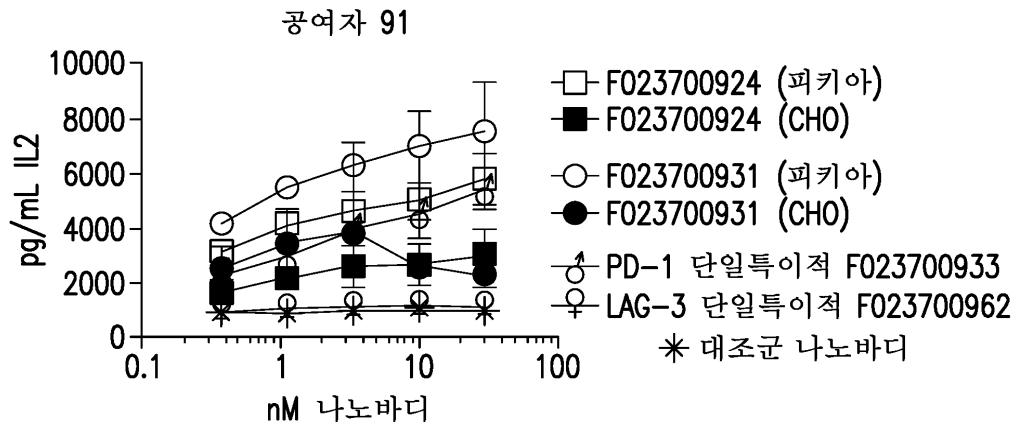


F023700706: 1PD102C12(L11V,A14P,A74S,K83R,I89L)-FLAG3-HIS6

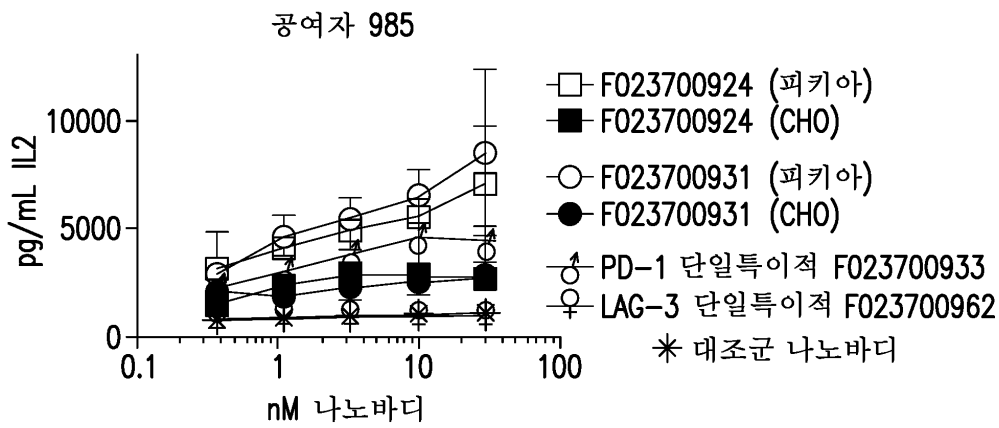
F023701192: 1PD102C12(E1D,L11V,A14P,W52aV,N73Q,A74S,K83R,I89L,W100aF)-HIS6

F023701193: 1PD102C12(E1D,L11V,A14P,W52aV,N73P,A74S,K83R,I89L,W100aF)-HIS6

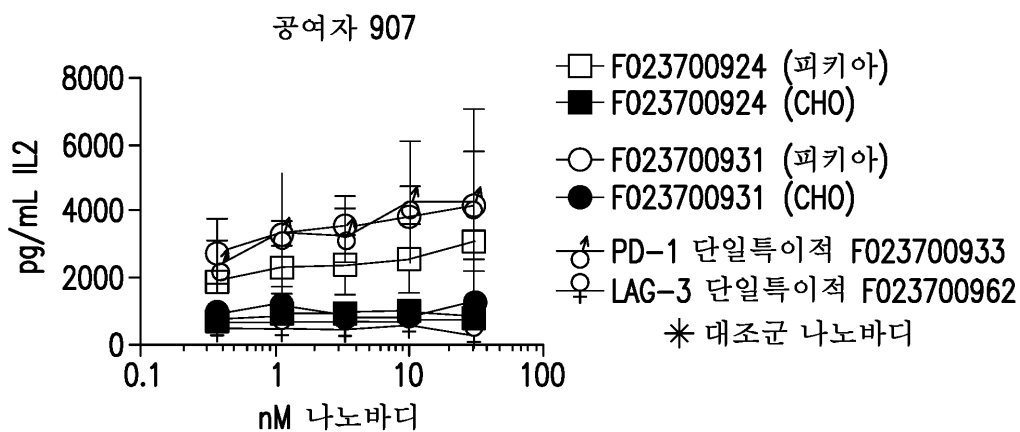
도면13a



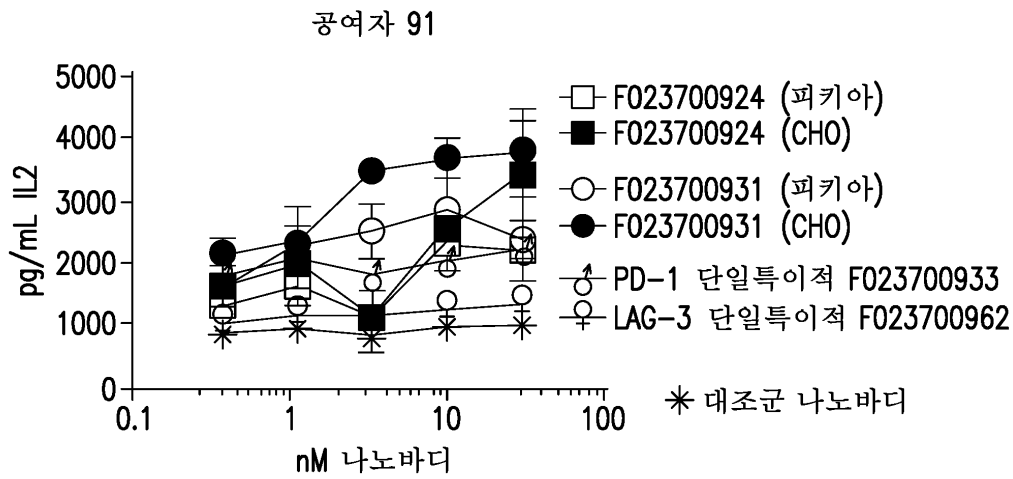
도면13b



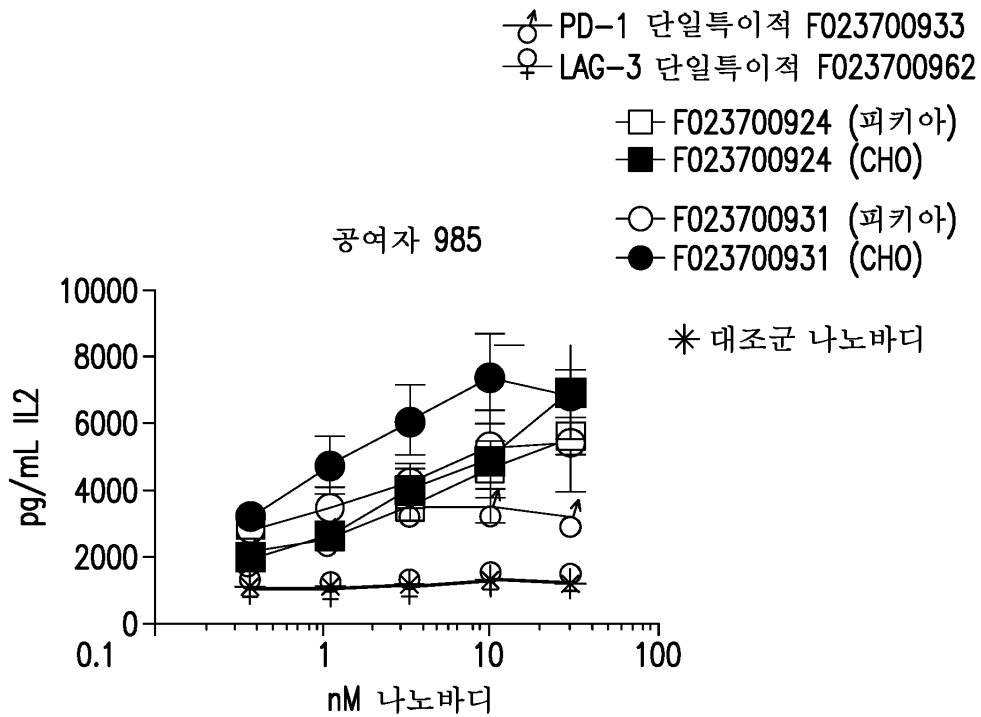
도면13c



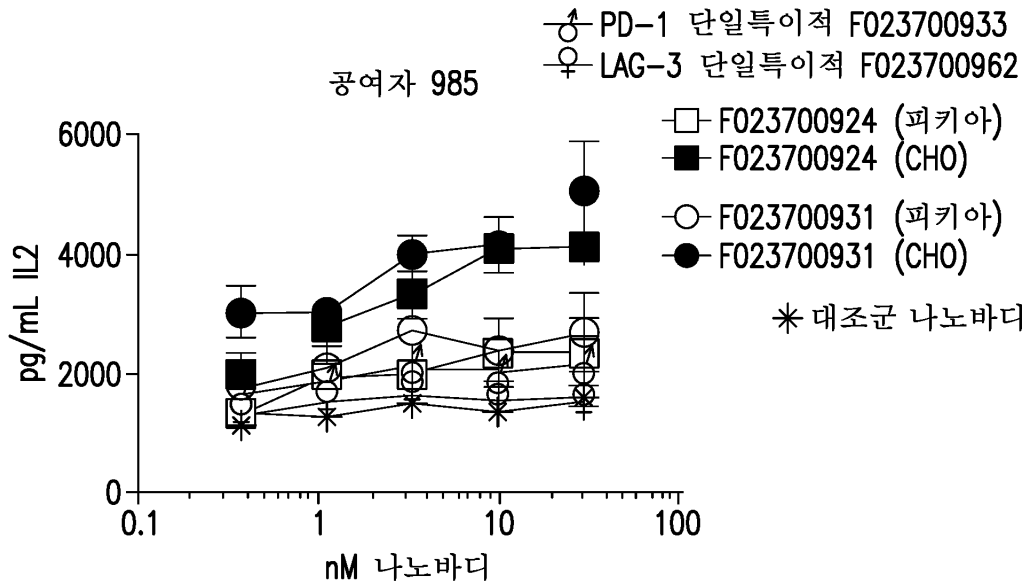
도면13d



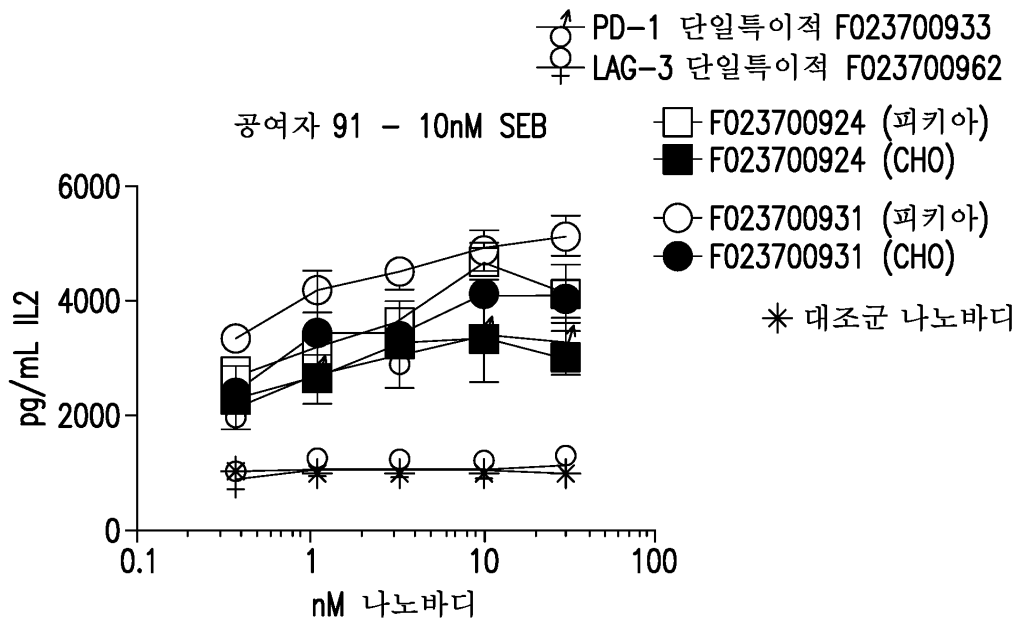
도면13e



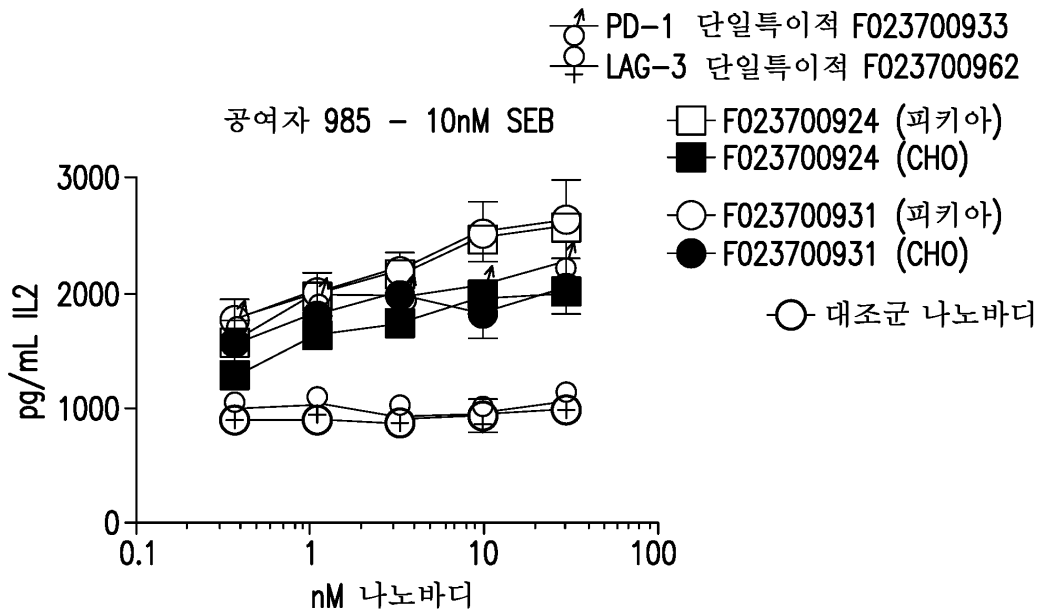
도면13f



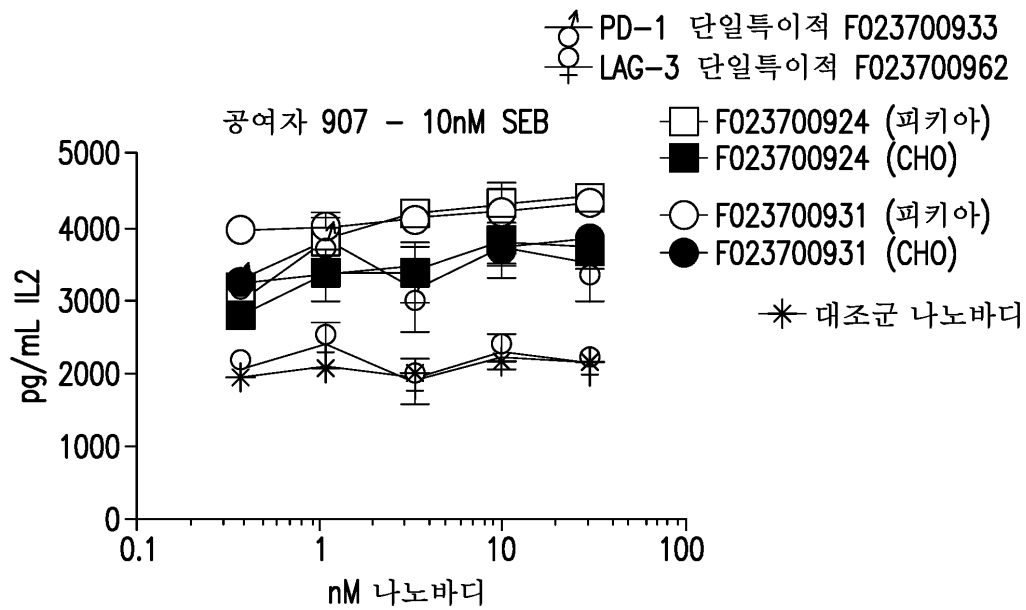
도면13g



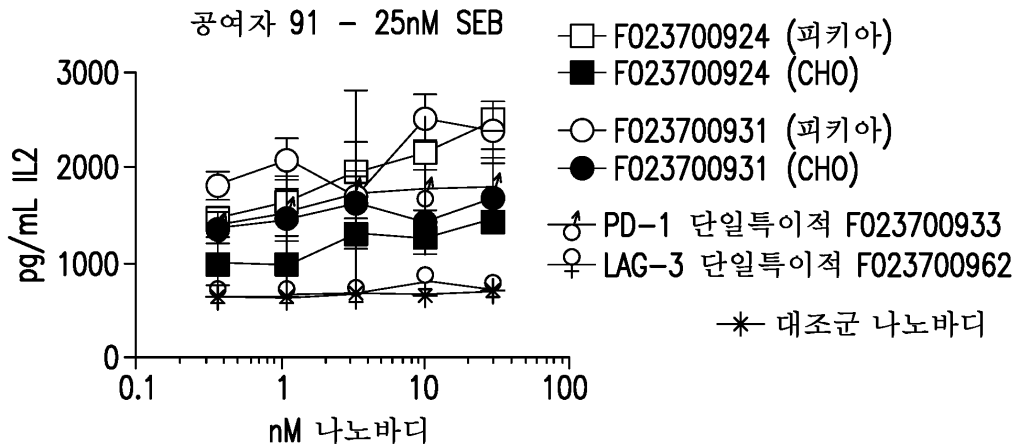
도면13h



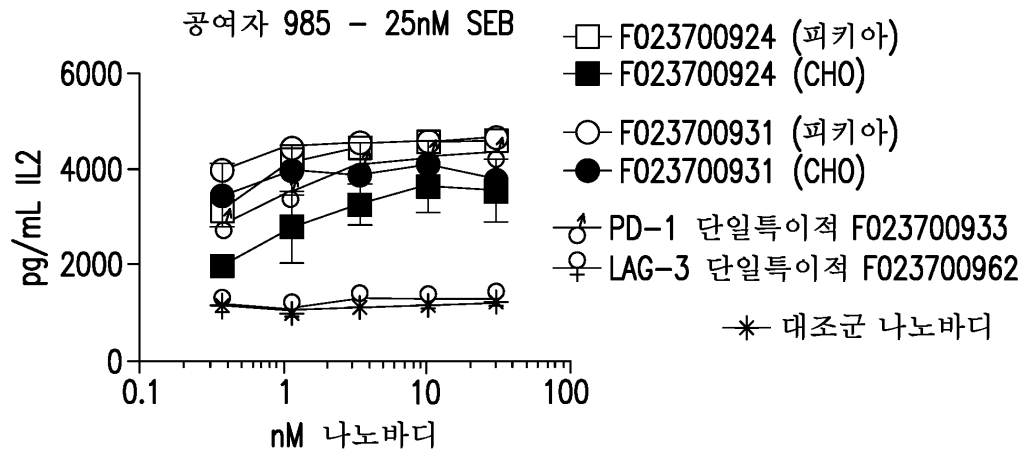
도면13i



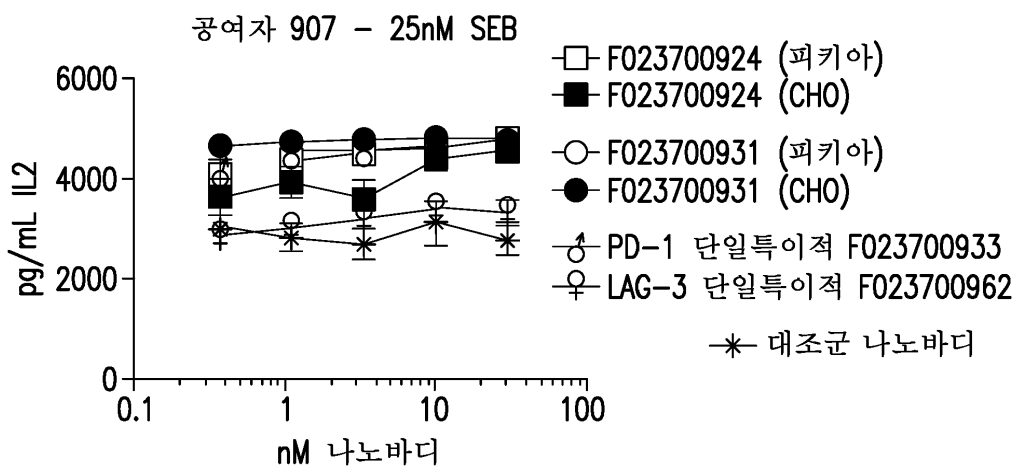
도면13j



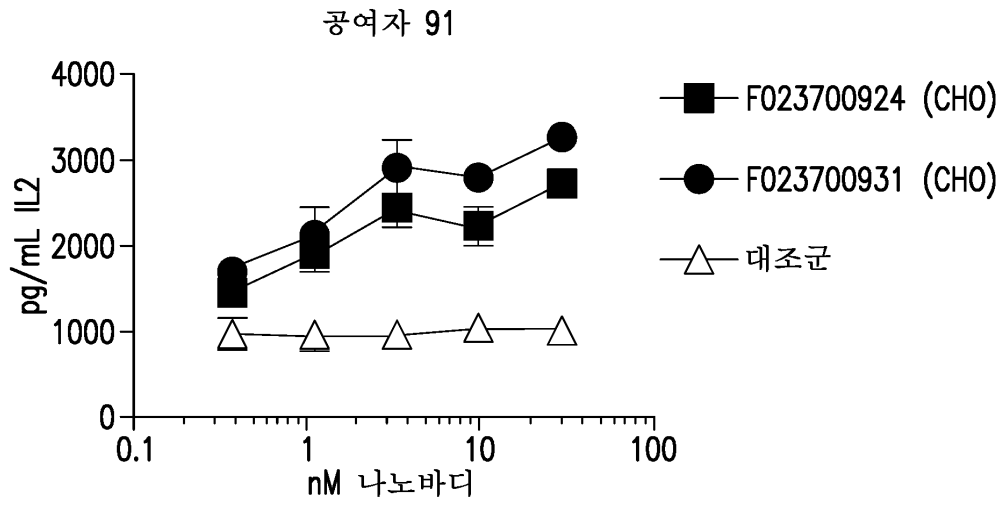
도면13k



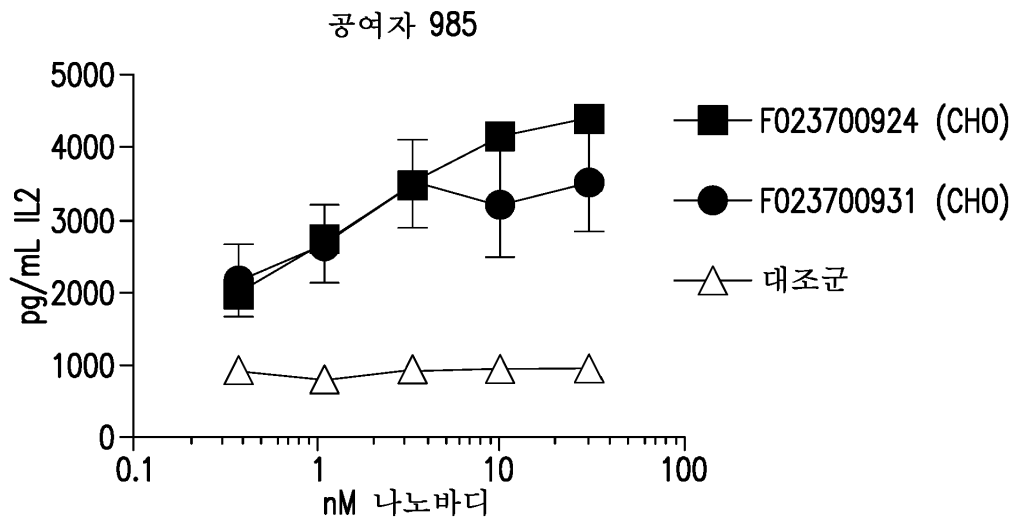
도면13l



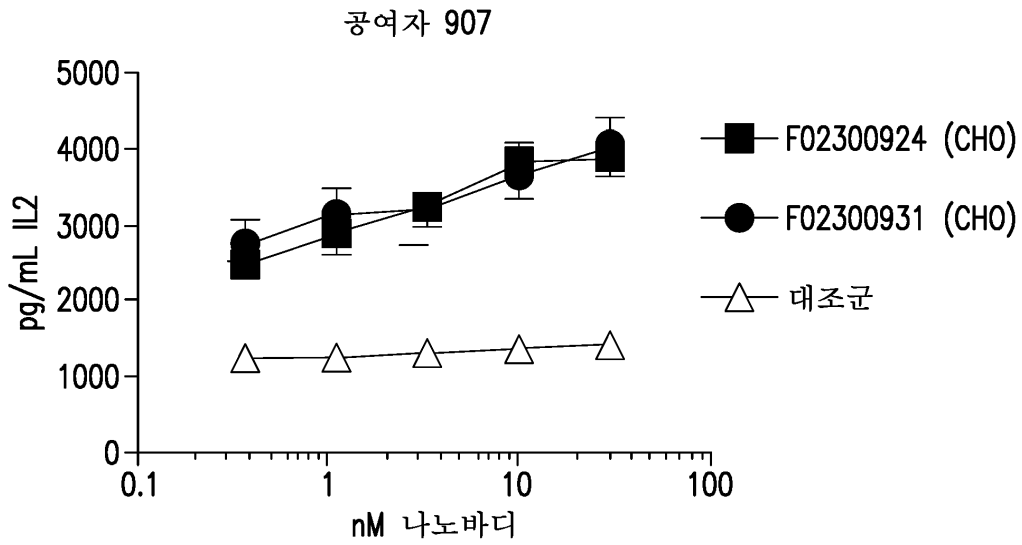
도면13m



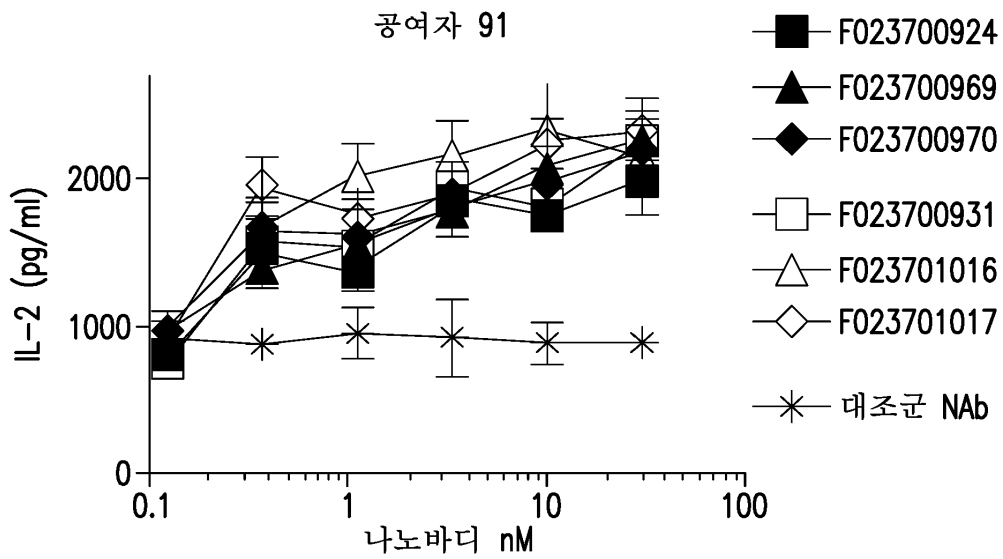
도면13n



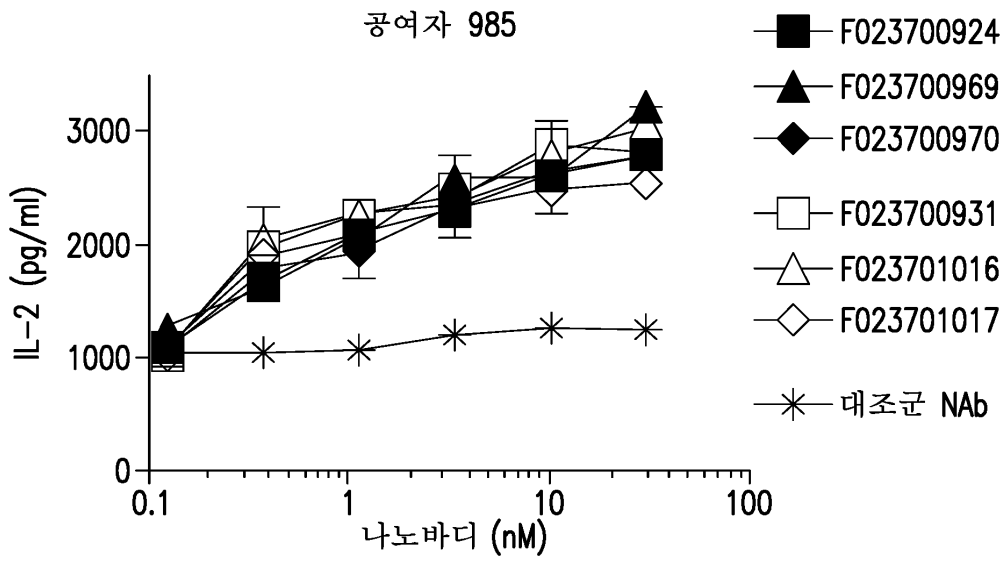
도면13o



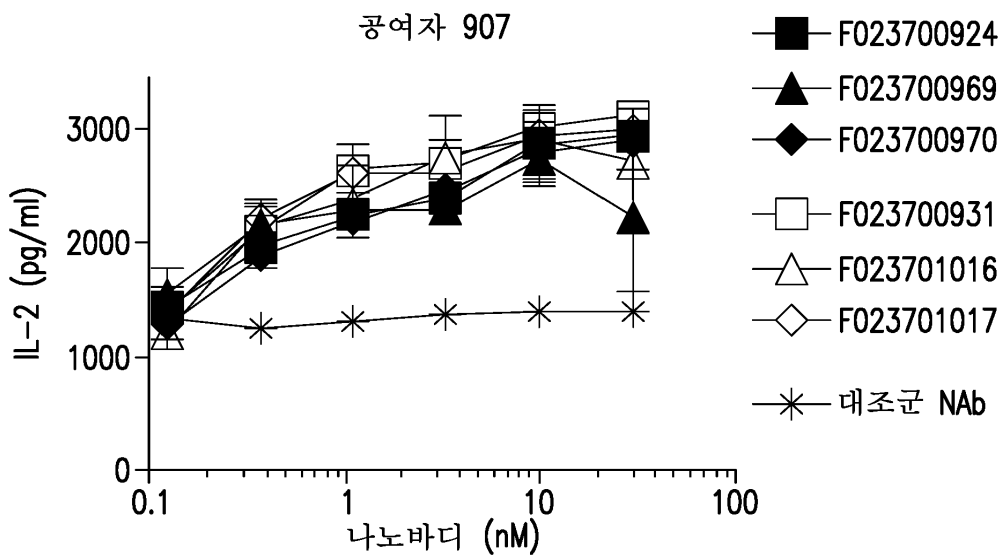
도면13p



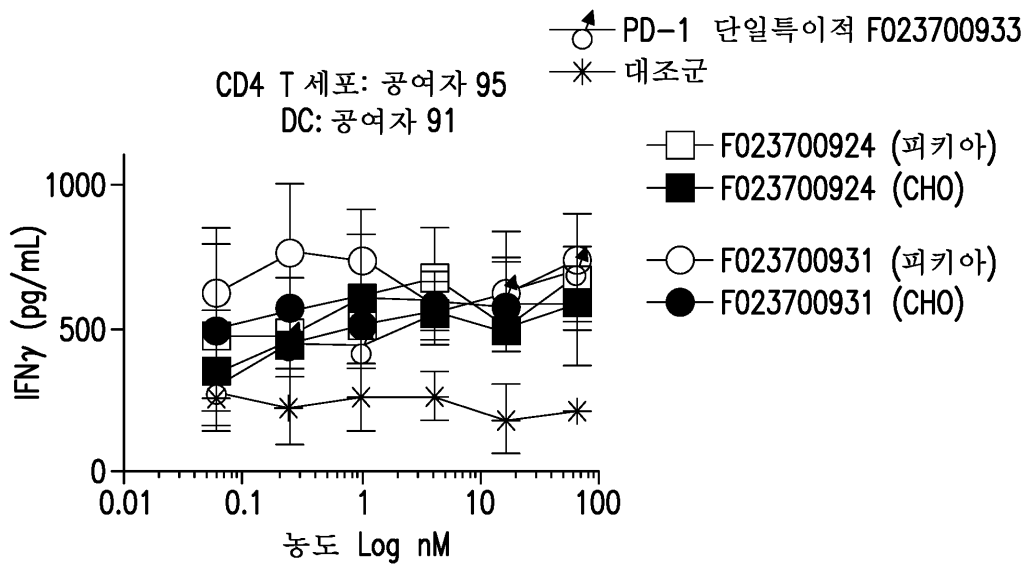
도면13q



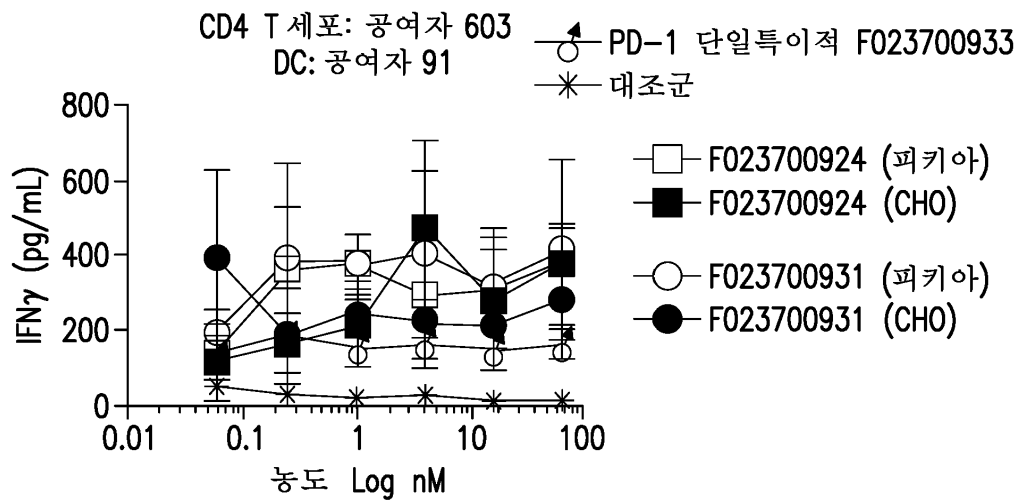
도면13r



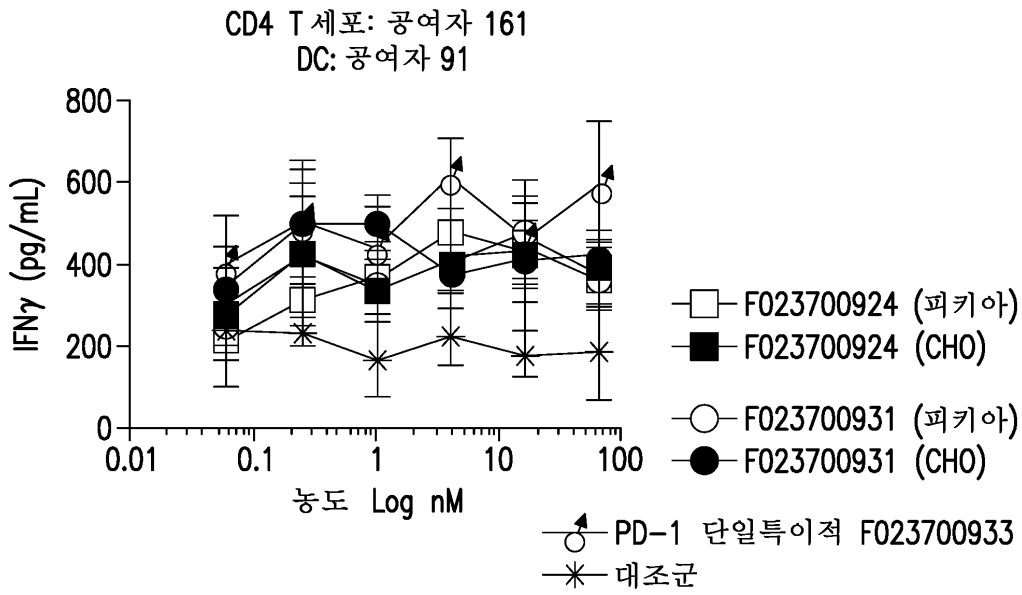
도면14a



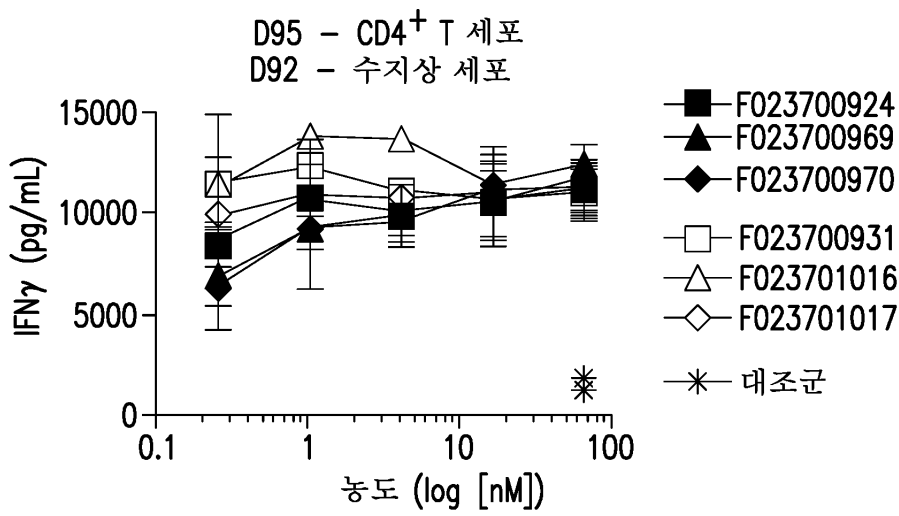
도면14b



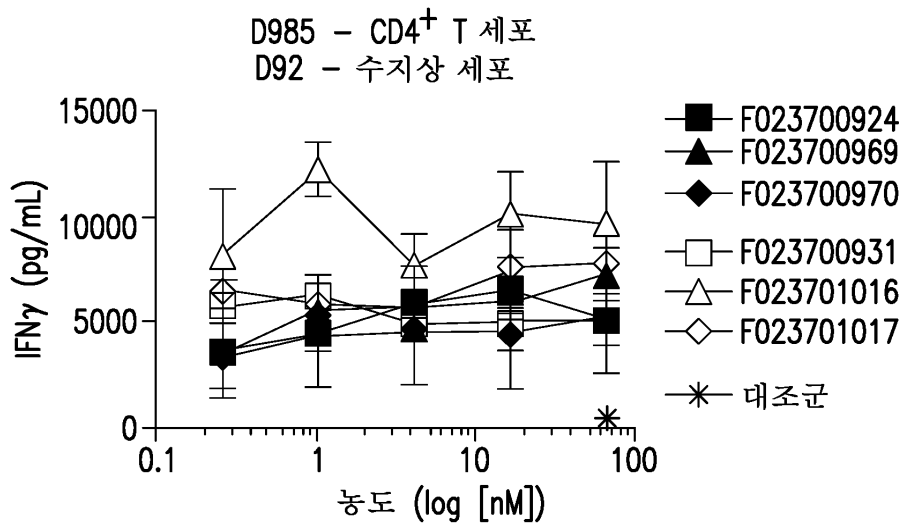
도면14c



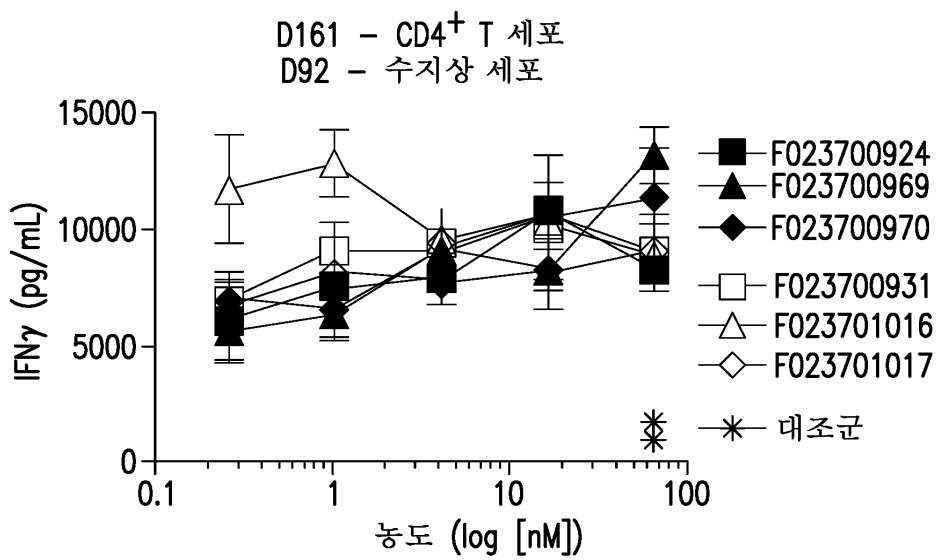
도면14d



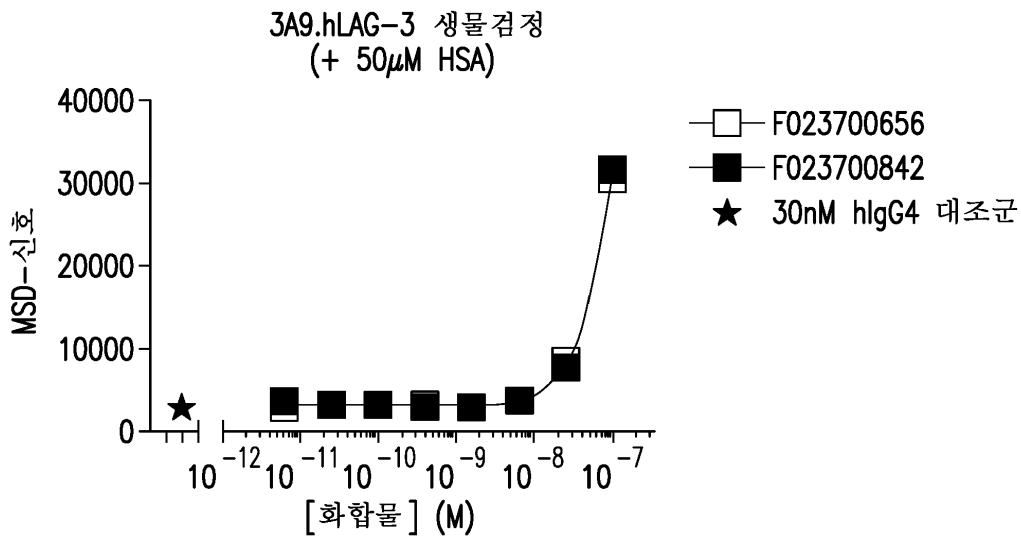
도면14e



도면14f

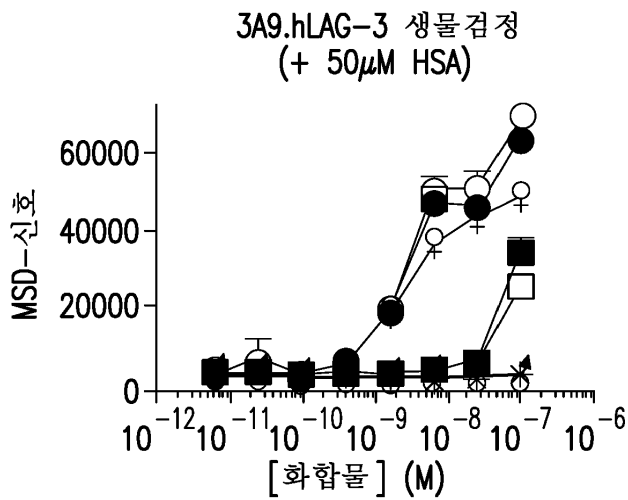


도면15a

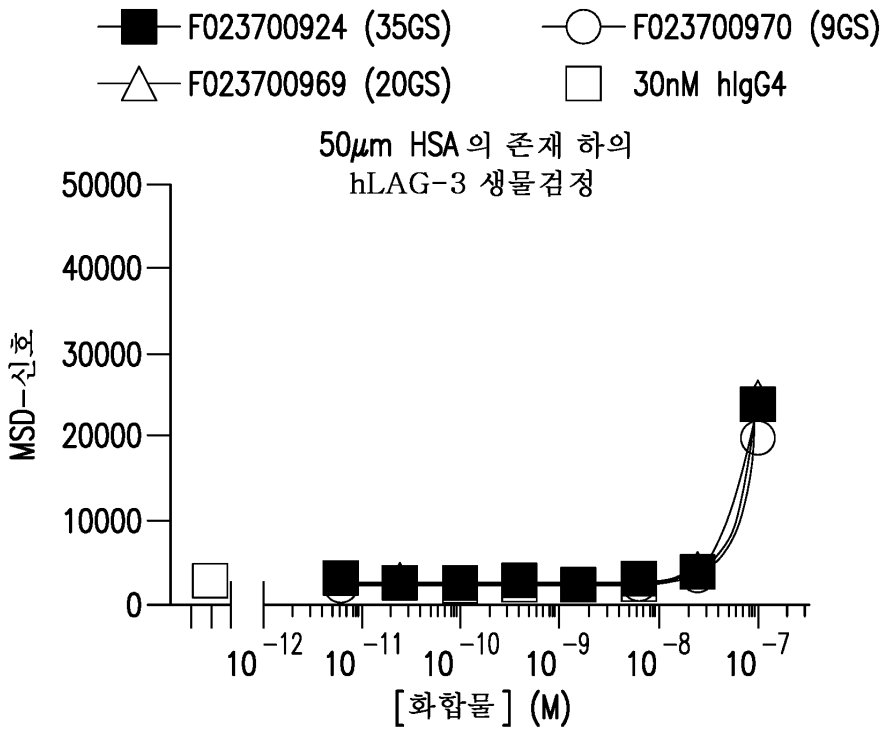


도면15b

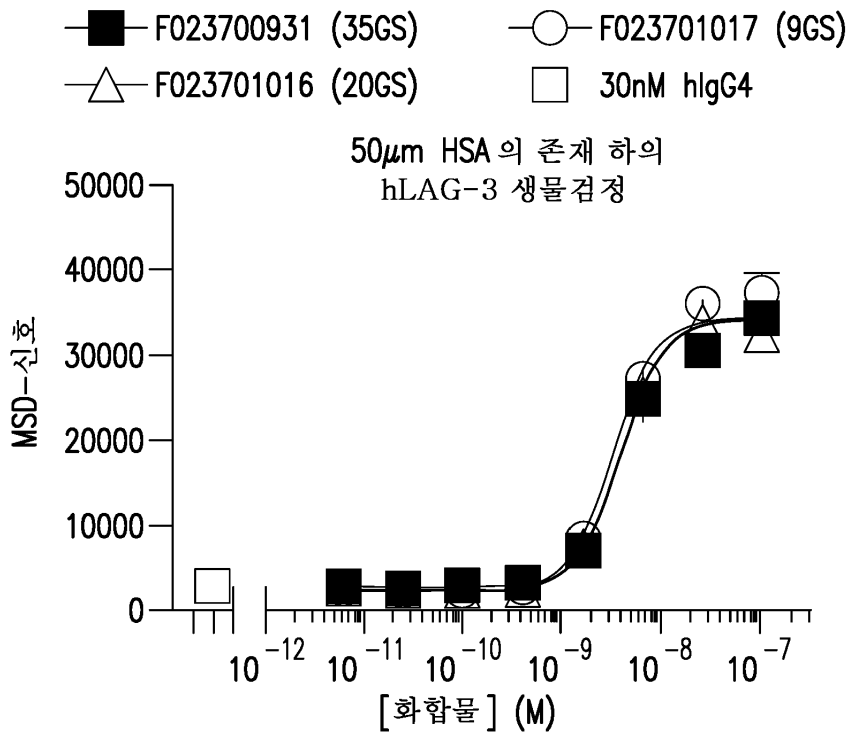
- F023700924 (피키아)
- F023700924 (CHO)
- F023700931 (피키아)
- F023700931 (CHO)
- ▲ 단일특이적 PD-1 F023700933
- ♀ 단일특이적 LAG-3 F023700962
- * 대조군 나노바디 IRRO0085
- + 대조군 나노바디 IRRO0087



도면15c



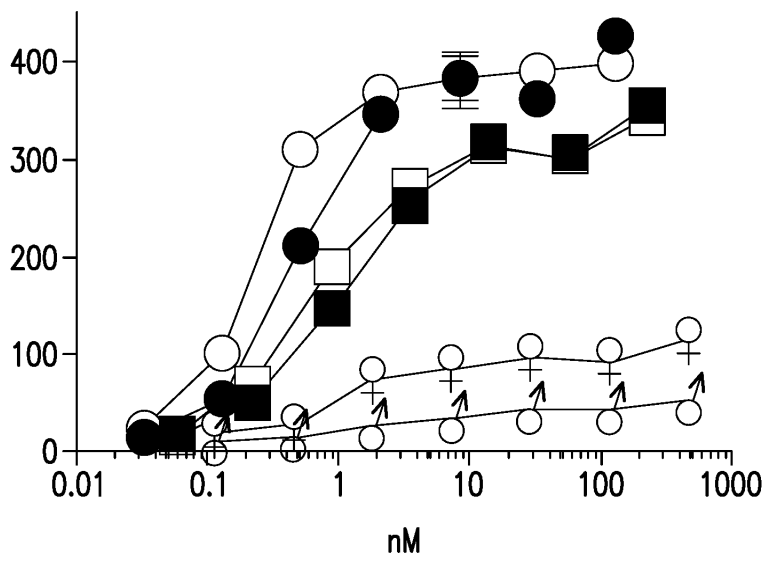
도면15d



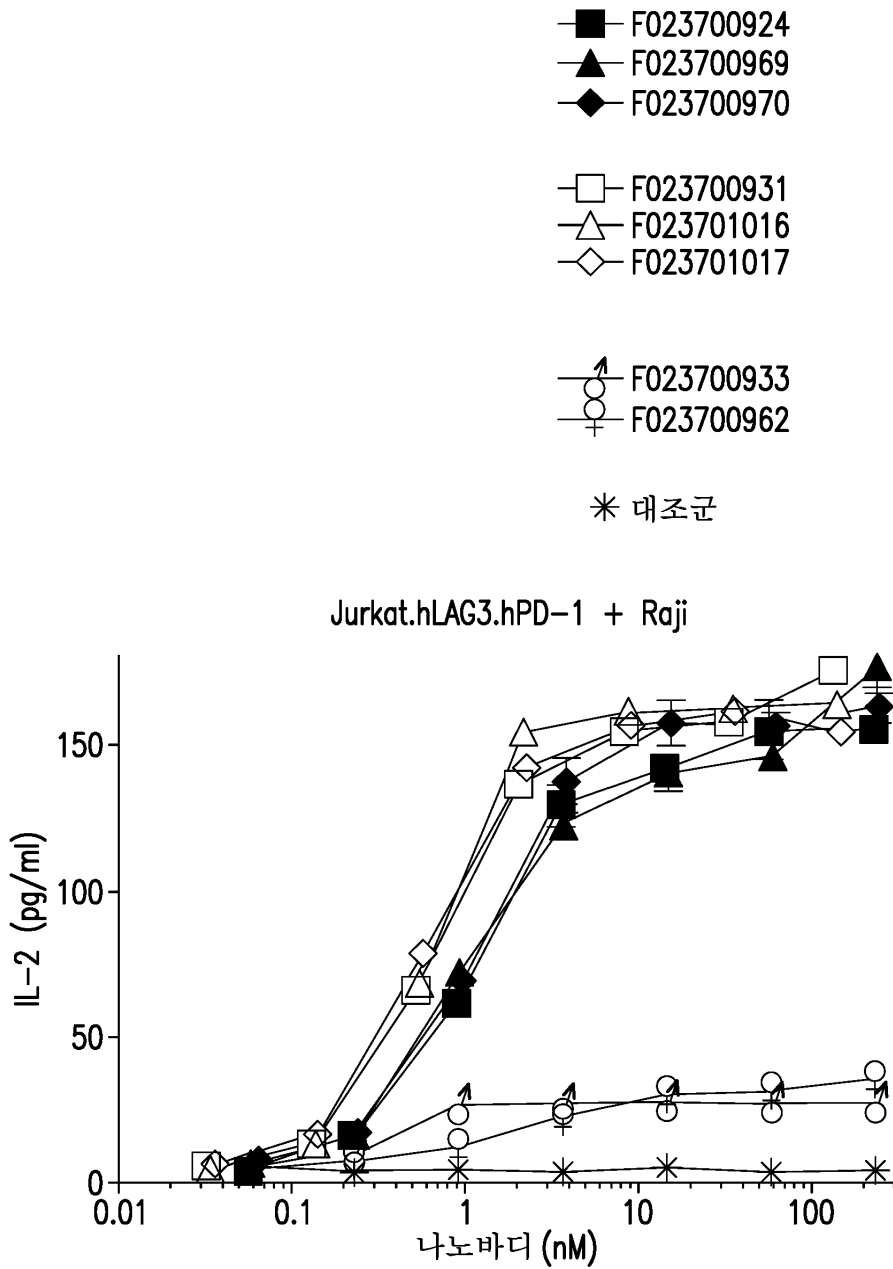
도면16a

- F023700924 (피키아)
- F023700924 (CHO)
- F023700931 (피키아)
- F023700931 (CHO)
- ↗ 단일특이적 PD-1 F023700933
- ♀ ↗ 단일특이적 LAG-3 F023700862

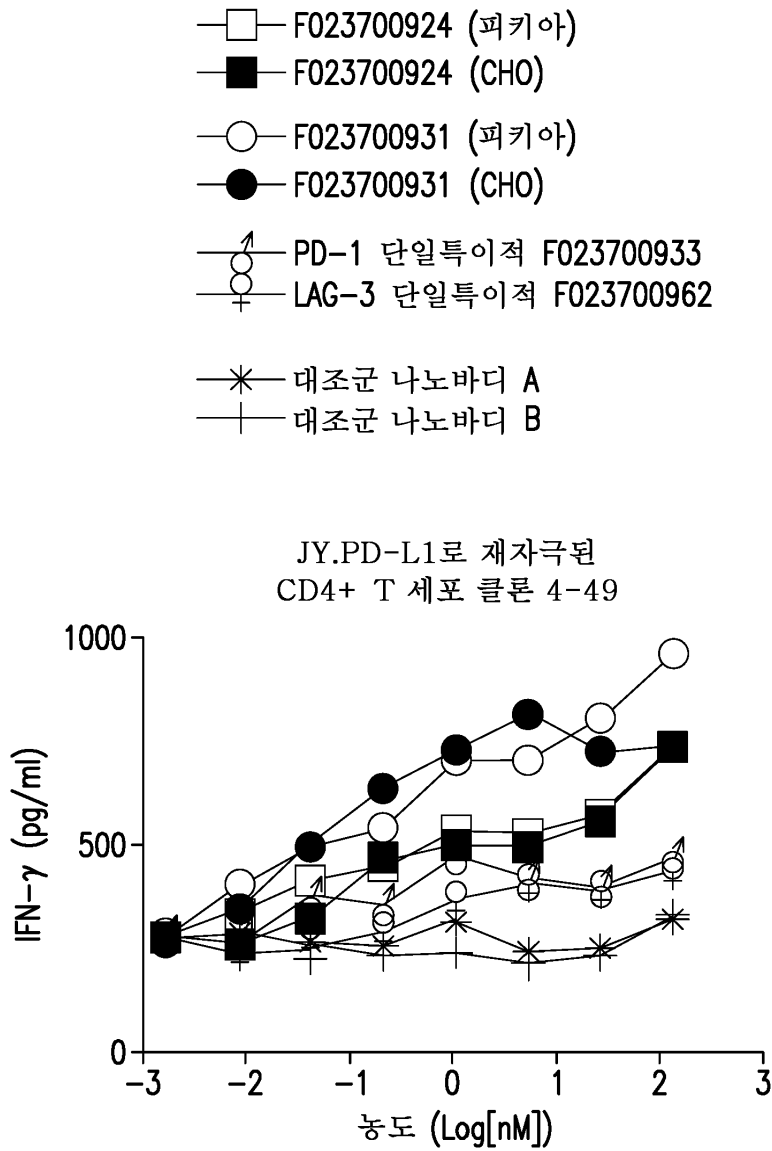
Jurkat.LAG3.PD-1 이중특이적 검정



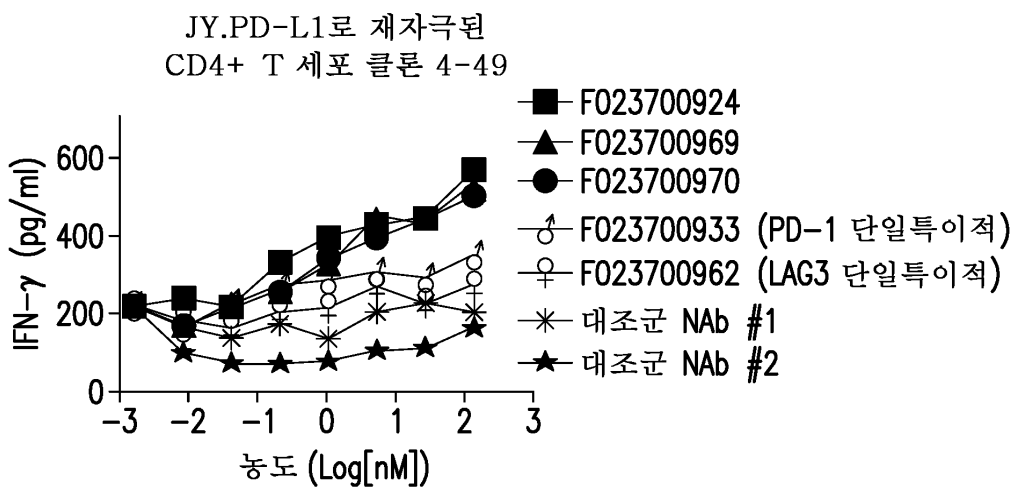
도면16b



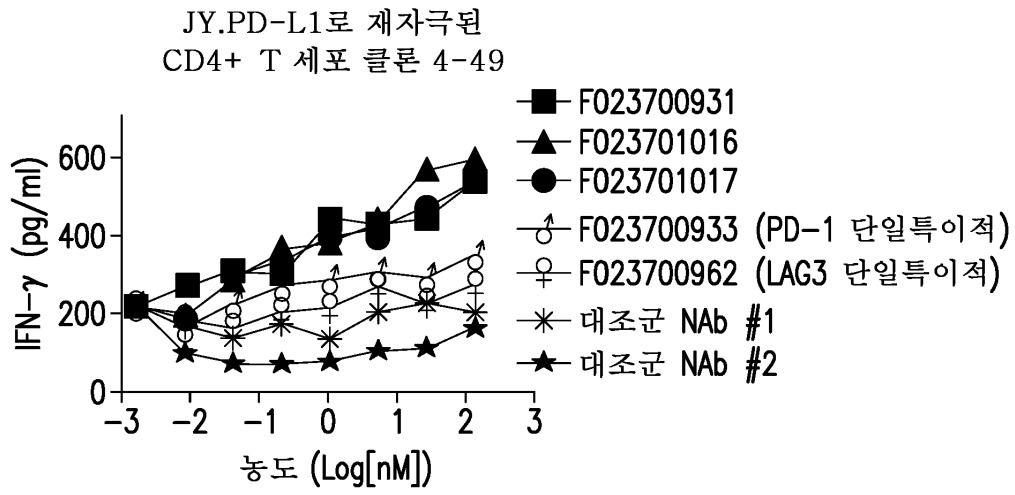
도면17a



도면17b



도면17c



도면18a

	지역	설명	표적	서열
포 611B09	F0237611B09	F0237611B09-FLAG3-HIS6 (SEQ ID NO: 128)	HLA-G-3	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWF ¹ RQAPGEREFVAALISESGGR THYADAVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDTALYYCATITLLWMTSEYAPIKAND YDVMGQGTLLVTVSSAAADYKDHDSIDYKDDDDKGA ² AAHHHHH
E1D를 수반한 611B09	F023700656	F0237611B09(E1D)-HIS6 (SEQ ID NO: 129)	HLA-G-3	DVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWF ¹ RQAPGEREFVAALISESGGR THYADAVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDI ² AVYYCATITLLWMTSEYAPIKAND YDVMGQGTLLVTVSSAA ³ HHHHH
S0 611B09 단량체	F023700842	F0237611B09(L11V,A14P,R4 1P,N43K,A62S,A74S,K83R, V89L)-FLAG3-HIS6 (SEQ ID NO: 130)	HLA-G-3	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWF ¹ RQAPGEREFVAALISESGGR THYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDTALYYCATITLLWMTSEYAPIKAND YDVMGQGTLLVTVSSAAADYKDHDSIDYKDDDDKGA ² AAHHHHH
1가 S0 611B09 + ALB201	F023701128	F0237611B09(E1D,L11V,A14 P,R41P,N43K,A62S,A74S,K8 3R,V89L)-35GS-ALB11002-A (SEQ ID NO: 96)	HLA-G-3	DVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWF ¹ RQAPGEREFVAALISESGGR THYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDTALYYCATITLLWMTSEYAPIKAND YDVMGQGTLLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG GGVQIPNSLRSCAASGRTFSFQMSW ² RQAPGKLEWSSISGSSDITLYADSVK GRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDTALYYCATITGGSLSRSSGQTLVTVSSA

도면18b

2가 S0 611B09 + ALB201	F023700962	F0237611B09(E1D,11Y,A14 P,R4P,N43K,A62S,A74S,K8 3R,V89L)-35GS- F0237611B09(11Y,A14P,R4 1P,N43K,A62S,A74S,K83R, V89L)-35GS-ALB11002-A (SEQ ID NO: 97)	HLA-G-3	DVQLVESGGGVLPQGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFQAPGKEREFVAAISEGGR THYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQAMNSLRPEPTALYYCATILLMTSEYAPIKAND YDVMGQGITLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG GGVLPQGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFQAPGKEREFVAAISEGGRTHYADSVK GRFTISRDNKNTLYLQAMNSLRPEPTALYYCATILLMTSEYAPIKANDYDVMGQGIT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVLPQGN SLRLSCAASGRTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWSSISGSGSDTLVADSVKGRFTISR NAKTTLYLQAMNSLRPEPTALYYCATIGGSLSRSSQGITLVTVSSA
부분 S0 1PD102C 12	F023700275	1PD102C12(A14P,A74S,K83 R)-FLAG3-HIS6 (SEQ ID NO: 131)	hPD-1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFQAPGKEREFVAVITMSGGI TYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQAMNSLRPEPTAAYCAGDKHQSSWYDVMGQGITL VTVSSAADYKDHGDYKDHIDYKDDDDKGAHHHHHH
S0 1PD102C 12	F023700706	1PD102C12(L11Y,A14P,A74 S,K83R,V89L)-FLAG3-HIS6 (SEQ ID NO: 132)	hPD-1	EVQLVESGGGVLPQGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFQAPGKEREFVAVITMSGGI TYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQAMNSLRPEPTALYYCAGDKHQSSWYDVMGQGITL VTVSSAADYKDHGDYKDHIDYKDDDDKGAHHHHHH
단량체				

도면18c

SO 1PD102C 12 단-양채	F023700929	1PD102C12(L11V,A14P,A74 S,K83R,189L)-HIS6 (SEQ ID NO: 133)	HPD-1	EVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGSIASITHAMGF ^{RDAPGKEREFVA} VI ^{ITW} SGGI ^{TY} YADSVKGR ^{FTISR} DNSKNT ^{VYLQ} MNSL ^{RPEDTAL} YCGAGDKHSSW ^{YD} WGQG ^T L V ^T SSHHHHH
1가 SO 1PD102C 12 + ALB201	F023701127	1PD102C12(E1D,L11V,A14P, A74S,K83R,189L)-35GS- ALB11002-A (SEQ ID NO: 101)	HPD-1	DVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGSIASITHAMGF ^{RDAPGKEREFVA} VI ^{ITW} SGGI ^{TY} YADSVKGR ^{FTISR} DNSKNT ^{VYLQ} MNSL ^{RPEDTAL} YCGAGDKHSSW ^{YD} WGQG ^T L V ^T SSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVWQPGNS LRLSCAASGFTTSSFGMSWRQAPPKGLEWVSSISGSGSDTL ^{YADSVKGRFTISRDN} AKTTL ^{YLMNSL} RPEDTAL ^{YYCTIGGSL} SRSSGGTL ^{VTVSSA}
2가 SO 1PD102C 12 + ALB201	F023700933	1PD102C12(E1D,L11V,A14P, A74S,K83R,189L)-35GS- 1PD102C12(L11V,A14P,A74 S,K83R,189L)-35GS- ALB11002-A (SEQ ID NO: 102)	HPD-1	DVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGSIASITHAMGF ^{RDAPGKEREFVA} VI ^{ITW} SGGI ^{TY} YADSVKGR ^{FTISR} DNSKNT ^{VYLQ} MNSL ^{RPEDTAL} YCGAGDKHSSW ^{YD} WGQG ^T L V ^T SSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVWQPGGS LRLSCAASGSIASITHAMGF ^{RDAPGKEREFVA} VI ^{ITW} SGGIT ^{TY} YADSVKGR ^{FTISRDN} SKNT ^{VYLQ} MNSL ^{RPEDTAL} YCGAGDKHSSW ^{YD} WGQG ^T L ^{VTVSSGGGGSGGGSGGG} GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVWQPGNSLRLSCAASGFTTSSFGM S ^{WRQAPPKGLEWVSSISGSGSDTL} YADSVKGR ^{FTISRDN} AKTTL ^{YLMNSL} RPEDT AL ^{YYCTIGGSL} SRSSGGTL ^{VTVSSA}

도면18d

증강된 S0 1PD102C 12 단량체	F023701190	1PD102C12(E1D,L11V,A14P, W52dv,A74S,K83R,189L,W10 0of)-HIS6 (SEQ ID NO: 134)	hPD-1	DVQLVESGGGVVQPPGSSLRISCAASGSIASIHAMGNFRQAPGKEREFYAVITVSGGI TTYADSVKGRFTISRDNKNTIYVLQAMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDWMG3G7L VTVSSAAAHHHHHH
증강된 S0 1PD102C 12 단량체	F023701192	1PD102C12(E1D,L11V,A14P, W52dv,N73Q,A74S,K83R,189 L,W100of)-HIS6 (SEQ ID NO: 135)	hPD-1	DVQLVESGGGVVQPPGSSLRISCAASGSIASIHAMGNFRQAPGKEREFYAVITVSGGI TTYADSVKGRFTISRDSKNTIYVLQAMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDWMG3G7L VTVSSAAAHHHHHH
증강된 S0 1PD102C 12 단량체	F023701193	1PD102C12(E1D,L11V,A14P, W52dv,N73P,A74S,K83R,189 L,W100of)-HIS6 (SEQ ID NO: 136)	hPD-1	DVQLVESGGGVVQPPGSSLRISCAASGSIASIHAMGNFRQAPGKEREFYAVITVSGGI TTYADSVKGRFTISRDPKNTIYVLQAMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDWMG3G7L VTVSSAAAHHHHHH

도면 18e

<p>오량체 #1</p>	<p>F023700899</p>	<p>1PD102C12(A1 4P A74S,K83 R)-35GS- 1PD102C12(A1 4P A74S,K83 R)-35GS-F023611B09- 35GS-F0237611B09-35GS- ALB11 (SEQ ID NO: 106)</p>	<p>hPD- 1/hLAG3</p>	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFQARPGEREFVAVITWISGSI TYYADSVKGRFTISRDNKNTIYLVQMNSLRPEDTAIYYCAAGDKHQSSWVDYWGCGTL VTYSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGS LRLSCAASGSIASIHAMGWFQARPGEREFVAVITWISGSIYYADSVKGRFTISRDN SKNTIYLVQMNSLRPEDTAIYYCAAGDKHQSSWVDYWGCGTLVTYSSGGGSGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRFTSDYVM GMFRQARGNEREFVAALISESGGRTHYADAVKGRFTISRDNKNTIYLVQMNSLKPEDT AVYYCATIILMMTSEYAPIKANDYDYMGGTILVTYSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSS GGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRFTSDYVMGMFRQARG NEREFVAALISESGGRTHYADAVKGRFTISRDNKNTIYLVQMNSLKPEDTAVYYCATI LLMMTSEYAPIKANDYDYMGGTILVTYSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTSSFGMSMWQARPCKGLEWVSS ISGSGSDTLVADSVKGRFTISRDNKNTIYLVQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQ GTLVTYSS</p>
-------------------	-------------------	---	-------------------------	--

도면18f

<p>오량체</p>	<p>F023700931</p>	<p>1PD102C12 (E1D,L11V,A14P,A74S,K83R, I89L)-35GS-1PD102C12 (L11V,A14P,A74S,K83R,I89L) -35GS-F0237600B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62 S,A74S,K83R,Y89L)-35GS- F0237611B09 (L11V,A14P,R41P,N43K,A62 S,A74S,K83R,Y89L)-35GS- ALB11002-A (SEQ ID NO: 107)</p>	<p>hPD- 1/hLAG-3</p>	<p>DVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGSIASITHAMGFQAPGKEREFVAVITWISGGIT TYADSVKGRFTISRDNKNTIYVQLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDYGQGL VTYSSGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVESGGGVWQPGGS LRLSCAASGSIASITHAMGFQAPGKEREFVAVITWISGGITTYADSVKGRFTISRDN SKNTIYVQLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDYGQGLVTYSSGGGGSGGGGGSGG GGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVM GMFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTIYVQLQMNSLRPEDT ALYYCATITLLWMTSEYAPIKANDYDYGQGLVTYSSGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGS GGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGMFRQAPG KEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTIYVQLQMNSLRPEDTALYYCATT LLWMTSEYAPIKANDYDYGQGLVTYSSGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGS GGGGGGSEVQLVESGGGVWQPGNSLRLSCAASGFTFSFGMSMWRQAPGKLEWSS ISGGSDTLTYADSVKGRFTISRDNKNTIYVQLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQ GTLVTYSSA</p>
------------	-------------------	--	--------------------------	---

도면18g

<p>20GS를 수반한 오염체</p>	<p>F023701016</p>	<p>102C12(E)ID.L11V,A14P,A74 S,K83R,89L)-20GS- 102C12(L11V,A14P,A74S,K8 3R,89L)-20GS- F0237611B09(L11V,A14P,R4 1P,N43K,A62S,A74S,K83R, 89L)-20GS- F0237611B09(L11V,A14P,R4 1P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L -20GS-ALB11002-A (SEQ ID NO: 108)</p>	<p>HPD- 1/hLAG-3</p>	<p>DVQLVESGGGWQPQGSRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGKEREFVAVITMSGGIT TYYADSVKGRFTISRDNKNTIYIQLQNSLRPEPTALYYCAGDKHQSSIMFDYWGQGTL VTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVESGGGWQPQGSRLSCAASGSIASIH AMGNFRQAPGKEREFVAVITMSGGITYYADSVKGRFTISRDNKNTIYIQLQNSLRPE PTALYYCAGDKHQSSIMFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVES GGGWQPQGSRLSCAASGRTFSDYVMGNFRQAPGKEREFVAIASESGRTHYADSV KGRFTISRDNKNTIYIQLQNSLRPEPTALYYCATITLLHWITSEYAPIKANDYDYGQGS TLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVESGGGWQPQGSRLSCAASGRTFS DYVMGNFRQAPGKEREFVAIASESGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTIYIQLQNSLR PEPTALYYCATITLLHWITSEYAPIKANDYDYGQGS TLVTVSSGGGGSGGGGGSG GGGGSEVQLVESGGGWQPQNSLRSCAASGFTSFQMSMWRQAPGKLEWSSISG SGSDTL YADSVKGRFTISRDNKNTIYIQLQNSLRPEPTALYYCITIGGSLSRSSGQTL VTVSSA</p>
------------------------------	-------------------	--	--------------------------	---

도면18h

9GS를 수반한 오량체	F023701017	102C12(E1D, L11V, A14P, A74 S, K83R, I89L) - 9GS - 102C12(L11V, A14P, A74S, K8 3R, I89L) - 9GS - F0237611B09(L11V, A14P, R4 1P, M43K, A62S, A74S, K83R, V89L) - 9GS - F0237611B09(L11V, A14P, R4 1P, M43K, A62S, A74S, K83R, 89L) - 9GS - ALB11002-A (SEQ ID NO: 109)	hPD- 1/hLAG-3	DVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGKEREFVAVITMSGGI TYADSVKGRFTISRDNKNTIYLVQMNLSRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDWMGQGITL VTYSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGK EREFVAVITMSGGITTYADSVKGRFTISRDNKNTIYLVQMNLSRPEDTALYYCAGDK HQSSWYDWMGQGITLVYSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGRTF SDYVMGNFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTIYLVQMNLS RPEDTALYYCATITLLMWTSEYAPIKANDYDWMGQGITLVYSSGGGGSGGGGSEVQLVE SGGGVWQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGNFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADS VKGRFTISRDNKNTIYLVQMNLSRPEDTALYYCATITLLMWTSEYAPIKANDYDWMGQ GITLVYSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGRTFSFQMSWVRA PKGLEWSSISGSGSDTLVADSVKGRFTISRDNKNTIYLVQMNLSRPEDTALYYCT IGGSLSRSSQGITLVYSSA
삼량체	F023700924	1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, A74S, K83R, I89L) - 35GS - F0237611B09 (L11V, A14P, R41P, M43K, A62 S, A74S, K83R, V89L) - 35GS - ALB11002-A (SEQ ID NO: 110)	hPD- 1/hLAG-3	DVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGKEREFVAVITMSGGI TYADSVKGRFTISRDNKNTIYLVQMNLSRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDWMGQGITL VTYSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGK EREFVAVITMSGGITTYADSVKGRFTISRDNKNTIYLVQMNLSRPEDTALYYCAGDK HQSSWYDWMGQGITLVYSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGRTF SDYVMGNFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTIYLVQMNLS RPEDTALYYCATITLLMWTSEYAPIKANDYDWMGQGITLVYSSGGGGSGGGGSEVQLVE SGGGVWQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGNFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADS VKGRFTISRDNKNTIYLVQMNLSRPEDTALYYCATITLLMWTSEYAPIKANDYDWMGQ GITLVYSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGRTFSFQMSWVRA PKGLEWSSISGSGSDTLVADSVKGRFTISRDNKNTIYLVQMNLSRPEDTALYYCT IGGSLSRSSQGITLVYSSA

도면18i

<p>20GS 를 수반한 삼량체</p>	<p>F023700969</p>	<p>102C12(E1D,111V,A14P,A74 S,K83R,89L)-20GS- F0237611B09(111V,A14P,R4 1P,M43K,A62S,A74S,K83R,V 89L)-20GS-ALB11002-A (SEQ ID NO: 111)</p>	<p>hPD- 1/hLAG-3</p>	<p>DVQLVESGGGWQPQGSRLSCAASGSIASHAMGWFQAPGKEREFVAVITWGGI TYYADSVKGRFTISRDNKNTIYLQMNSLRPEDTALYYCAGADKHQSSWVDMGQGT LVTYSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPQGSRLSCAASGRFTSDYVMGWFQAPGK VAMGWFQAPGKEREFVAAISESGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTIYLQMNSLRPE DTALYYCATITLLWMTSEYAPIKANDYDMGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGG GSEVQLVESGGGWQPQNSLRLSCAASGFTSFQGMWVQAPGKLEWVSSISGSG SDTLYADSVKGRFTISRDNKNTIYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLV YSSA</p>
<p>9GS 를 수반한 삼량체</p>	<p>F023700970</p>	<p>102C12(E1D,111V,A14P,A74 S,K83R,89L)-9GS- F0237611B09(111V,A14P,R4 1P,M43K,A62S,A74S,K83R,V 89L)-9GS-ALB11002-A (SEQ ID NO: 112)</p>	<p>hPD- 1/hLAG-3</p>	<p>DVQLVESGGGWQPQGSRLSCAASGSIASHAMGWFQAPGKEREFVAVITWGGI TYYADSVKGRFTISRDNKNTIYLQMNSLRPEDTALYYCAGADKHQSSWVDMGQGT LVTYSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPQGSRLSCAASGRFTSDYVMGWFQAPGK EREFVAAISESGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTIYLQMNSLRPEDTALYYCATITL LWMTSEYAPIKANDYDMGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPQNSLRL SCAASGFTSFQGMWVQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNT IYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVYSSA</p>

도면18j

오량체 /35GS	F023701163	1PD102C12 (E1D, L11Y, A14P, W52dV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100dF)-35GS- 1PD102C12 (L11Y, A14P, W52dV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100dF)-35GS- F023700842-35GS- F023700842-35GS- ALB11002-A (SEQ ID NO: 113)	hPD- 1/hLAG-3	DVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGSIASIHANGWFRAAPGKEREFVAVITVSGGI TTYADSVKGRFTISRDP SKNTVYLQMNSLRPEDTALYCGADKHQSFTDYWGQGTL VTYSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGGS LRLSCAASGSIASIHANGWFRAAPGKEREFVAVITVSGGITTYADSVKGRFTISRDP SKNTVYLQMNSLRPEDTALYCGADKHQSFTDYWGQGTLVTYSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGRITFDYVM GMFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRPEDT ALYYCATITLLWMTSEYAPIKANDYDYGQGITLVTYSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGGSLRLSCAASGRITFDYVMGMFRQAPG KEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRPEDTALYCGATT LLWMTSEYAPIKANDYDYGQGITLVTYSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG GSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGNSLRLSCAASGFTFSFGMSMWRQAPGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKKTLLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQ GILVTYSSA
--------------	------------	---	------------------	--

도면18k

<p>오량체 /9GS</p>	<p>F023701168</p>	<p>1P0102C12 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100dF)-9GS-1P0102C12 (L11V, A14P, W52dV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100dF)-9GS-F023700842-9GS-(SEQ ID NO: 114)</p>	<p>hPD-1/hLAG-3</p>	<p>DVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFQAPGKEREFVAVITVSGGI TTYADSVKGRFTISRDP SKNTVYLQANSLRPEDEALYYCAGDKHQSSFYDYMGGTL VTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFQAPGK EREFVAVITVSGGITTYADSVKGRFTISRDP SKNTVYLQANSLRPEDEALYYCAGDK HQSSFYDYMGGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGRTF SDYVMGWFQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLQANSL RPEDEALYYCATITLLMWTSEYAPIKANDYDYMGGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVE SGGGVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADS VKGRFTISRDN SKNTL YLQANSLRPEDEALYYCATITLLMWTSEYAPIKANDYDYMGG GTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGRTFSFQMSWRQA PGKGLEWSSISGSGSDTLVADSVKGRFTISRDN AKTTL YLQANSLRPEDEALYYCT IGGSLSRSSGGTLVTVSSA</p>
<p>삼량체 /35GS</p>	<p>F023701173</p>	<p>1P0102C12 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73P, A74S, K83R, I89L, W100dF)-35GS-F023700842-35GS-ALB11002-A (SEQ ID NO: 115)</p>	<p>hPD-1/hLAG-3</p>	<p>DVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFQAPGKEREFVAVITVSGGI TTYADSVKGRFTISRDP SKNTVYLQANSLRPEDEALYYCAGDKHQSSFYDYMGGTL VTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFQAPGK LRLSCAASGRTFSDYVMGWFQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLQANSLRPEDEALYYCATITLLMWTSEYAPIKANDYDYMGGTLVTVSSGGG GSGGGSGGGGGSGGGSEVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAAS GRTFSFQMSWRQAPGKGLEWSSISGSGSDTLVADSVKGRFTISRDN AKTTL YLQ ANSLRPEDEALYYCT IGGSLSRSSGGTLVTVSSA</p>

도면181

<p>삼량체 /9GS</p>	<p>F023701178</p>	<p>1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73Q, A74S, K83R, 189L, W100dF)-9GS- F023700842-9GS-ALB11002-A (SEQ ID NO: 116)</p>	<p>hPD- 1/hLAG-3</p>	<p>DVQLVESGGGWQPPGSSLRLSCAASGSLIASIHAMGHWQAPGKEREFVAVITVSSGI TYYADSVKGRFTISRDPKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDWMGQGITL VTYSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPPGSSLRLSCAASGRTFSDYMKGHWQAPGK EREFVAALISESGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTL LHWITSEYAPIKANDYDWMGQGITLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPPGNSLRL SCAASGRTFSFGMSWNRQAPGKLEWSSISGSSDTLYADSVKGRFTISRDNKAKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGITLVTVSSA</p>
<p>오량체 /35GS</p>	<p>F023701161</p>	<p>1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73Q, A74S, K83R, 189L, W100dF)-35GS- 1PD102C12 (L11V, A14P, W52dV, N73Q, A74S, K83R, 189L, W100dF)-35GS- F023700842-35GS- F023700842-35GS- ALB11002-A (SEQ ID NO: 117)</p>	<p>hPD- 1/hLAG-3</p>	<p>DVQLVESGGGWQPPGSSLRLSCAASGSLIASIHAMGHWQAPGKEREFVAVITVSSGI TYYADSVKGRFTISRDPKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDWMGQGITL VTYSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPPGSSLRLSCAASGRTFSDYMKGHWQAPGK EREFVAALISESGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTL LHWITSEYAPIKANDYDWMGQGITLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPPGNSLRL SCAASGRTFSFGMSWNRQAPGKLEWSSISGSSDTLYADSVKGRFTISRDNKAKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGITLVTVSSA</p>

도면18m

오량체 /9GS	F023701166	1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52dv, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100df)-9GS- 1PD102C12 (L11V, A14P, W52dv, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100df)-9GS- F023700842-9GS- F023700842-9GS- (SEQ ID NO: 118)	HPD- 1/HLAC-3	DVQLVESGGGWQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGKEREFVAVITVSGGI TYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDTALYYCAQDKHQSSFYDYGCGTL VTYSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGK EREFVAVITVSGGITTYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDTALYYCAQDK HQSSFYDYGCGTLVTYSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPGGSLRLSCAASGRTF SDYVMGNFRQAPGKEREFVAAISESGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSL RPEDTALYYCATITLLWMTSEYAPIKANDYDYGCGTLVTYSSGGGGSGGGSEVQLVE SGGWQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGNFRQAPGKEREFVAAISESGRTHYADS VKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDTALYYCATITLLWMTSEYAPIKANDYDYGCG GTLVTYSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPGGSLRLSCAASGRTFSSFGMSWRQA PGKLEWSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDTALYYCTI IGGSLSRSSQGITLVYSSA
삼량체 /35GS	F023701171	1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52dv, N73Q, A74S, K83R, I89L, W100df)-35GS- F023700842-35GS- ALB11002-A (SEQ ID NO: 119)	HPD- 1/HLAC-3	DVQLVESGGGWQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGKEREFVAVITVSGGI TYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDTALYYCAQDKHQSSFYDYGCGTL VTYSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGK EREFVAVITVSGGITTYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDTALYYCAQDK HQSSFYDYGCGTLVTYSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPGGSLRLSCAASGRTF SDYVMGNFRQAPGKEREFVAAISESGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSL RPEDTALYYCATITLLWMTSEYAPIKANDYDYGCGTLVTYSSGGGGSGGGSEVQLVE SGGWQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGNFRQAPGKEREFVAAISESGRTHYADS VKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDTALYYCATITLLWMTSEYAPIKANDYDYGCG GTLVTYSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGWQPGGSLRLSCAASGRTFSSFGMSWRQA PGKLEWSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRPEDTALYYCTI IGGSLSRSSQGITLVYSSA

도면 18n

<p>참람제 /9GS</p>	<p>F023701176</p>	<p>1P0102C12 (E1D, L11V, A14P, W524V, N735, A74S, K83R, 89L, W100dF)-9GS-F023700842-9GS-ALB11002-A (SEQ ID NO: 120)</p>	<p>HPD-1/HLA-G-3 DVQLVESGGGVWQP6GSLRLSCAASGSIASIHAMGHWRAAPKEREFEVAVITVSSGITYYADSVKGRFTISRDDSKNITYYLQMNISLRPEDELALYYCAADKHQSSFYDWMGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGSSLRISCAASGSIASIHAMGHWRAAPKEREFEVAVITVSSGITYYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQMNISLRPEDELALYYCAADKHQSSFYDWMGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGSSLRISCAASGRTFSDYVMGHFRQAPKEREFEVVAISETSGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLTLVTVSSA</p>
<p>오람제 /35GS</p>	<p>F023701162</p>	<p>1P0102C12 (E1D, L11V, A14P, W524V, N735, A74S, K83R, 89L, W100dF)-35GS-1P0102C12 (L11V, A14P, W524V, N735, A74S, K83R, 89L, W100dF)-35GS-F023700842-35GS-F023700842-35GS-ALB11002-A (SEQ ID NO: 121)</p>	<p>HPD-1/HLA-G-3 DVQLVESGGGVWQP6GSLRLSCAASGSIASIHAMGHWRAAPKEREFEVAVITVSSGITYYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQMNISLRPEDELALYYCAADKHQSSFYDWMGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGSSLRISCAASGSIASIHAMGHWRAAPKEREFEVAVITVSSGITYYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQMNISLRPEDELALYYCAADKHQSSFYDWMGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVWQPGSSLRISCAASGRTFSDYVMGHFRQAPKEREFEVVAISETSGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLTLVTVSSA</p>

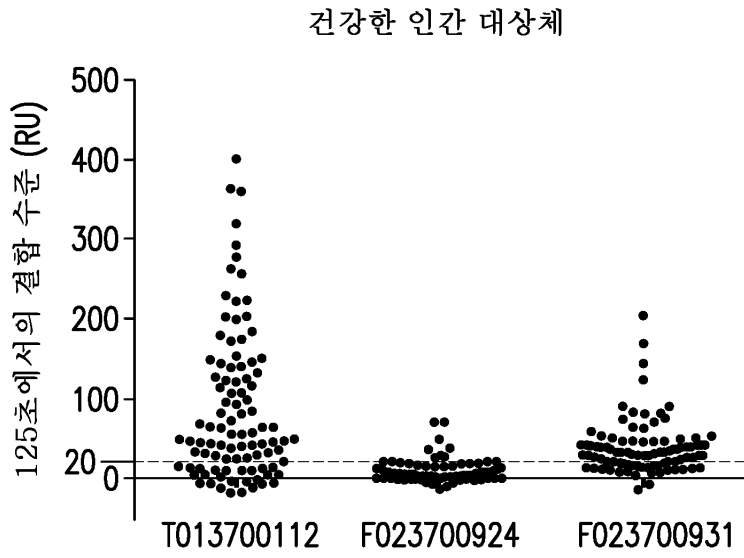
도면180

<p>오광채 /9GS</p>	<p>F023701167</p>	<p>1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73S, A74S, K83R, 189L, W100dF)-9GS- 1PD102C12 (L11V, A14P, W52dV, N73S, A74S, K83R, 189L, W100dF)-9GS- F023700842-9GS- F023700842-9GS- ALB11002-A (SEQ ID NO: 122)</p>	<p>HPD- 1/HLAC-3</p>	<p>DVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGKEREFVAVITVSGGI TYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQANSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFDYWGQGTL VTYSSGGGSGGGGSEVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGK EREFVAVITVSGGITTYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQANSLRPEDTALYYCAGDK HQSSFDYWGQGTLVTYSSGGGSGGGGSEVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGRTF SDYVMGNFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQANSL RPEDTALYYCATITLLWMTSEYAPIKANDYDYGQGITLVYSSGGGSGGGGSEVQLVE SGGGVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGNFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADS VKGRFTISRDNKNTLYLQANSLRPEDTALYYCATITLLWMTSEYAPIKANDYDYGQ GITLVYSSGGGSGGGGSEVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGRTFSSFGMSWRQA PGKLEWSSISGSGSDTLVADSVKGRFTISRDNKNTLYLQANSLRPEDTALYYCTI IGSLSRSSQGITLVYSSA</p>
<p>삼광채 /35GS</p>	<p>F023701172</p>	<p>1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73S, A74S, K83R, 189L, W100dF)-35GS- F023700842-35GS- ALB11002-A (SEQ ID NO: 123)</p>	<p>HPD- 1/HLAC-3</p>	<p>DVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGKEREFVAVITVSGGI TYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQANSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFDYWGQGTL VTYSSGGGSGGGGSEVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGNFRQAPGK EREFVAVITVSGGITTYADSVKGRFTISRDSKNTVYLQANSLRPEDTALYYCAGDK HQSSFDYWGQGTLVTYSSGGGSGGGGSEVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGRTF SDYVMGNFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQANSL RPEDTALYYCATITLLWMTSEYAPIKANDYDYGQGITLVYSSGGGSGGGGSEVQLVE SGGGVQPGGSLRLSCAASGRTFSSFGMSWRQA PGKLEWSSISGSGSDTLVADSVKGRFTISRDNKNTLYLQANSLRPEDTALYYCTI IGSLSRSSQGITLVYSSA</p>

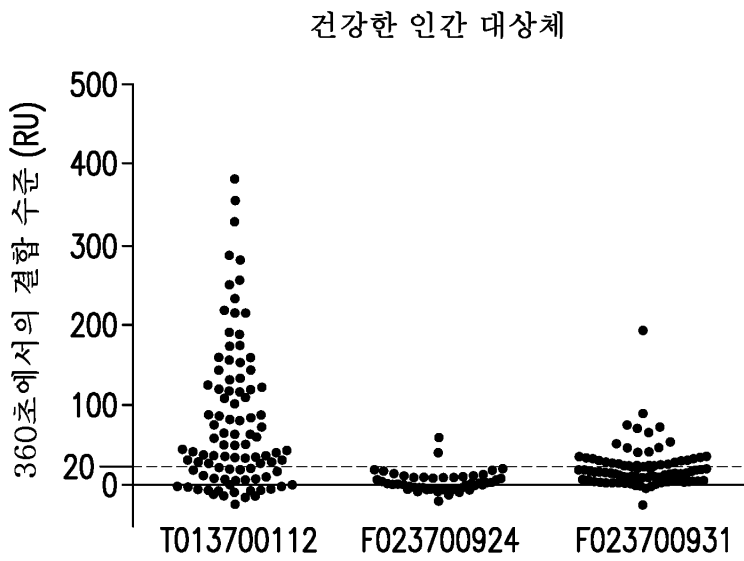
도면18p

<p>삼양체 /9CS</p>	<p>F023701177</p>	<p>1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52dv, N73S, A74S, K83R, 189L, W100df)-9CS- F023700842-9CS-ALB1102-A (SEQ ID NO: 123)</p>	<p>HPD- 1/HLA6-3</p>	<p>DVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFQAPGKEREFVAVITVSGGI TYVADSVKGRFTISRDSKNTVYLQMSLRPEDIALYYCAGDKHQSSFDYWGCGTIL VTYSSGGGGSGGSEVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFQAPGK ERFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLTLQMSLRPEDIALYYCATTL LWMTSEYAPIKANDYDYMGGGTLVTYSSGGGGSGGSEVQLVESGGGVQPGNSLR SCAASGFTFSFGMSMWRQAPGKGLIEWSSI SGSSDITLYADSVKGRFTISRDNAKT TLYLQMSLRPEDIALYYCTIGGSLSRSSGGTLVTYSSA</p>
---------------------	-------------------	--	--------------------------	--

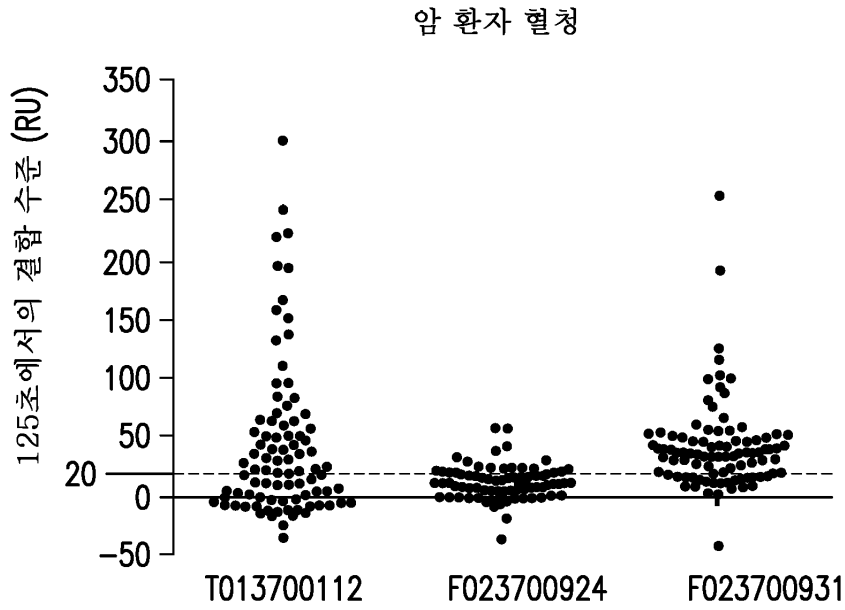
도면19a



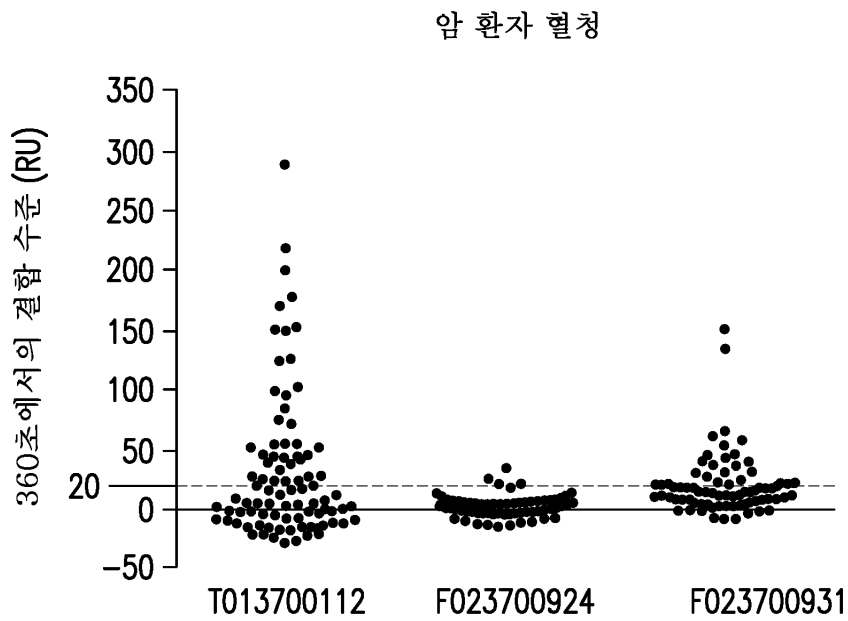
도면19b



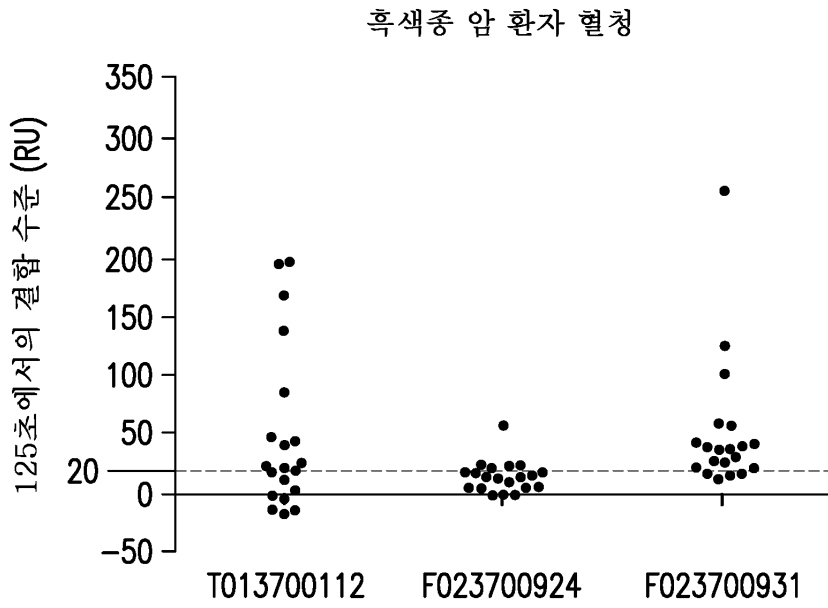
도면19c



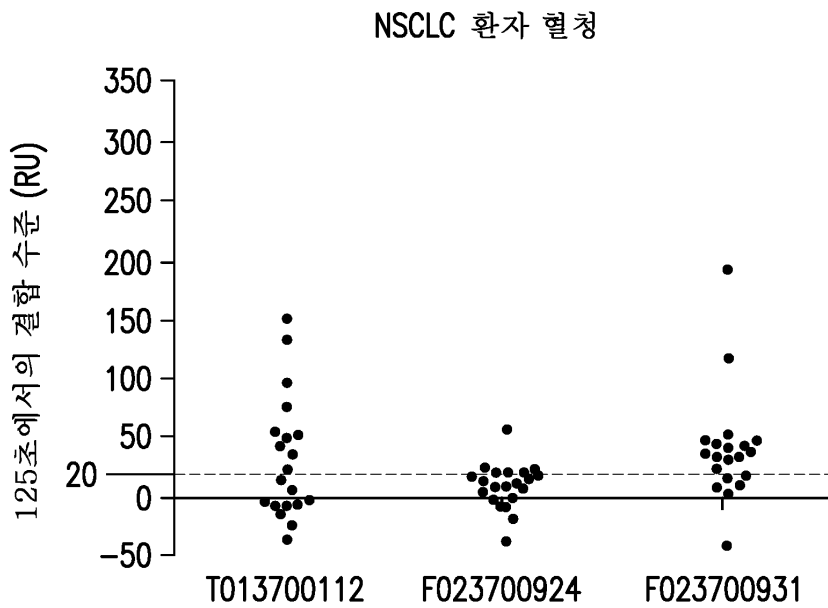
도면19d



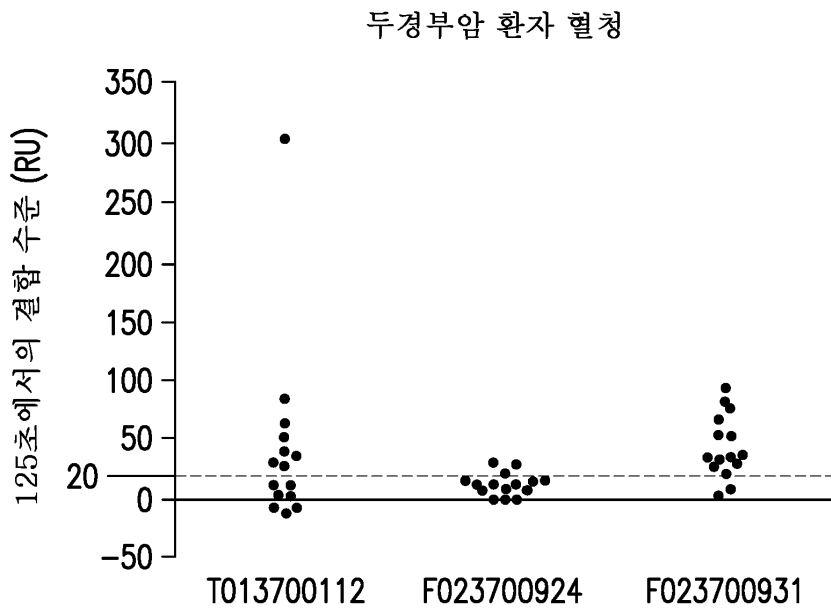
도면19e



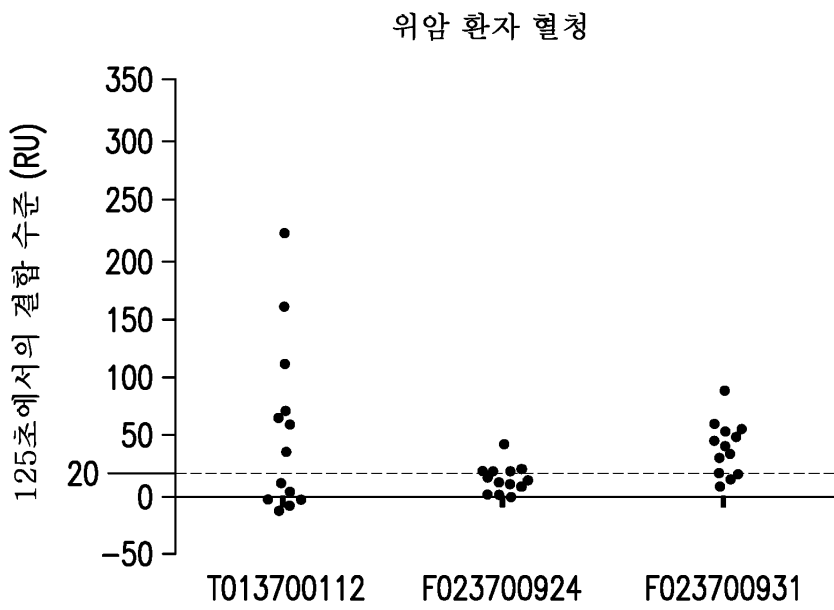
도면19f



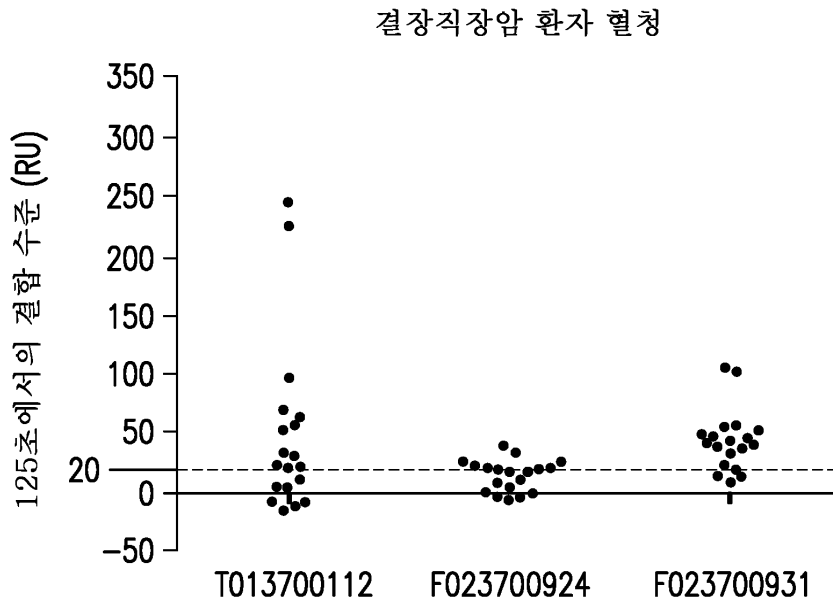
도면19g



도면19h



도면19i



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Merck, Sharp & Dohme Corp.

<120> PD1 and/or LAG3 Binders

<130> 24238

<150> 62/257,009

<151> 2015-11-18

<160> 138

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 2

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 2

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
 20 25 30

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 3

Ile His Ala Met Gly

1 5

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Lama sp.

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X is W or V

<400> 4

Val Ile Thr Xaa Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> Lama sp.

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> X is W or F

<400> 5

Asp Lys His Gln Ser Ser Xaa Tyr Asp Tyr

1 5 10

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 6

Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly

1 5 10

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> Lama sp.

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X is W or V

<400> 7

Val Ile Thr Xaa Ser Gly Gly Ile Thr Tyr

1 5 10

<210> 8

<211> 10

<212> PRT

<213> Lama sp.

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> X is W or F

<400> 8

Asp Lys His Gln Ser Ser Xaa Tyr Asp Tyr

1 5 10

<210> 9

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 9

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20

25

30

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

85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 10

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 10

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Lys Val Ser Ser

115

<210> 11

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 11

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20

25

30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Gln Val Ser Ser

115

<210> 12

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 12

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Ser

115

<210> 13

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 13

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Gln Ser
 115

<210> 14

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 14

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Lys Val Ser Ser
 115

<210> 15

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 15

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

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

 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Gln Val Ser Ser

115

<210> 16

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 16

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Ser

115

<210> 17

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 17

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Gln Ser

115

<210> 18

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 18

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 19

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 19

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 21

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Ser

115

<210> 22

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 22

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Gln Ser
 115

<210> 23

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 23

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 24

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 24

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 25

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 25

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

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

85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 115 120

<210> 26

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 26

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

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

85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Lys Val Ser Ser Ala

115 120

<210> 27

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 27

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Gln Val Ser Ser Ala

115 120

<210> 28

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 28

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Ser Ala

115 120

<210> 29

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 29

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Gln Ser Ala
 115 120

<210> 30

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 30

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45
 Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Lys Val Ser Ser Ala
 115 120

<210> 31

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 31

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

 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Gln Val Ser Ser Ala
 115 120

<210> 32
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> humanized Lama
 <400> 32

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Ser Ala

115 120

<210> 33

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 33

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Gln Ser Ala

115 120

<210> 34

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 34

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala

115 120

<210> 35

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 35

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 37

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Ser Ala

115 120

<210> 38

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 38

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Gln Ser Ala
 115 120

<210> 39

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 39

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 115 120

<210> 40

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 40

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala

115 120

<210> 41

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HIS6-FLAG3 tag

<400> 41

His His His His His His Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly

1 5 10 15

Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly

20 25 30

Ala Ala

<210> 42

<211> 5

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 42

Val Thr Val Lys Ser

1 5

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 43

Val Thr Val Gln Ser

1 5

<210> 44

<211> 5

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 44

Val Lys Val Ser Ser

1 5

<210> 45

<211> 5

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 45

Val Gln Val Ser Ser

1 5

<210> 46

<211> 6

<212> PRT

<213> Lama sp.

<220><221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid
 <400> 46
 Val Thr Val Lys Ser Xaa
 1 5
 <210> 47
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Lama sp.
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid
 <400> 47
 Val Thr Val Gln Ser Xaa
 1 5
 <210> 48
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Lama sp.
 <220><221> misc_feature

 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid
 <400> 48
 Val Lys Val Ser Ser Xaa
 1 5
 <210> 49
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Lama sp.
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid
 <400> 49

Val Gln Val Ser Ser Xaa

1 5

<210> 50

<211> 6

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 50

Val Thr Val Lys Ser Ala

1 5

<210> 51

<211> 6

<212> PRT

<

213> Lama sp.

<400> 51

Val Thr Val Gln Ser Ala

1 5

<210> 52

<211> 6

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 52

Val Lys Val Ser Ser Ala

1 5

<210> 53

<211> 6

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 53

Val Gln Val Ser Ser Ala

1 5

<210> 54

<211> 5

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 54

Val Thr Val Ser Ser

1 5

<210> 55

<211> 6

<212> PRT

<213> Lama sp.

<220><221> misc_feature

<

222> (6)..(6)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 55

Val Thr Val Ser Ser Xaa

1 5

<210> 56

<211> 6

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 56

Val Thr Val Ser Ser Ala

1 5

<210> 57

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 57

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20

25

30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35

40

45

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

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

 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115
 <210> 58
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 35GS linker
 <400> 58

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

 20 25 30
 Gly Gly Ser
 35

<210> 59
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> humanized Lama
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> X is L or V
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (93)..(93)
 <223> X is L or V
 <400> 59

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Xaa Val Gln Pro Gly Asn
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
 20 25 30
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Xaa Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser Ala
 115
 <210> 60
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Lama sp.
 <400> 60
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser
 1 5 10
 <210> 61
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Lama sp.
 <400> 61
 Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 62

<211> 6

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 62

Gly Gly Ser Leu Ser Arg

1 5

<210> 63

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 63

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr

 20 25 30

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Arg Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val

 35 40 45

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ala Val

 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala

 100 105 110

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

 115 120 125

<210> 64

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama
 <400> 64
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
 100 105 110
 Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 65
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Lama sp.
 <400> 65
 Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly
 1 5 10
 <210> 66
 <211> 17
 <212>
 > PRT
 <213> Lama sp.
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> X is A or S

<400> 66

Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Xaa Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 67

<211> 19

<212> PRT

<213> Lama sp.

<400> 67

Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp

1 5 10 15

Tyr Asp Tyr

<210> 68

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 68

Ala Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp

1 5 10 15

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His

 20 25 30

His His

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HisX6 tag sequence

<400> 69

Ala Ala Ala His His His His His His

1 5

<210> 70

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 35GS linker

<400> 70

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Ser

35

<210> 71

<211> 11

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 71

Lys Thr Ser Gln Asn Ile Phe Glu Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 72

<211> 7

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 72

Asn Ala Ser Pro Leu Gln Ala

1 5

<210> 73

<211> 8

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 73

His Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr

1 5
 <210> 74
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Rattus sp.
 <400> 74
 Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr His Met Ala

1 5 10
 <210> 75
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Rattus sp.

<400> 75
 Ser Ile Thr Leu Asp Ala Thr Tyr Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Arg

1 5 10 15
 Gly

<210> 76
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Rattus sp.
 <400> 76

His Arg Gly Phe Ser Val Trp Leu Asp Tyr

1 5 10
 <210> 77
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Rattus sp.
 <400> 77

Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr Ala Met His

1 5 10
 <210> 78
 <211> 16
 <212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 78

Thr Phe Ile Pro Leu Leu Asp Thr Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys

1 5 10 15

<210> 79

<211> 11

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 79

Met Gly Val Thr His Ser Tyr Val Met Asp Ala

1 5 10

<210> 80

<211> 11

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 80

Arg Ala Ser Gln Pro Ile Ser Ile Ser Val His

1 5 10

<210> 81

<211> 7

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 81

Phe Ala Ser Gln Ser Ile Ser

1 5

<210> 82

<211> 9

<212> PRT

<213> Rattus sp.

<400> 82

Gln Gln Thr Phe Ser Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 83

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 83

Gly Phe Ile Ile Lys Ala Thr Tyr Met His

1 5 10

<210> 84

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 84

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Glu Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15

Val

<210> 85

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 85

Tyr Ala Trp Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 86

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 86

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Phe Leu Ala

1 5 10

<210> 87

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 87

His Ala Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 88

Gln His Tyr Tyr Gly Ser Pro Leu Thr

1 5

<210> 89

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized mouse

<400> 89

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

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

130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175

 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe 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 Gln Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe 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 Gly Leu Pro Ser Ser 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 Gln 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 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu 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 Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 90

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized mouse

<400> 90

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 Lys Gly Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 35 40 45
 Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
 85 90 95
 Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 91

<211> 440

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser

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 Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

100 105 110

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser

115 120 125

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp

130 135 140

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

145 150 155 160

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys

180 185 190

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

195 200 205

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala

210 215 220

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

225 230 235 240

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

245 250 255

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

 385 390 395 400
 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
 405 410 415
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 420 425 430
 Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440
 <210> 92
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 92
 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 Tyr 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 Ser Ser Asn Trp Pro Arg
 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
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

<220><223> humanized Lama

<400> 95

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 96

<211> 279

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 96

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr
 225 230 235 240
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu
 245 250 255
 Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr
 260 265 270

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 275

<210> 97

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 97

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
 100 105 110

Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 145 150 155 160

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
 165 170 175

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe
 180 185 190

Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg
 195 200 205

Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala
 210 215 220

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 225 230 235 240

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu
 245 250 255

Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro
 260 265 270

Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 275 280 285

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 290 295 300

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 305 310 315 320

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 325 330 335

Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly

100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 99
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> humanized Lama
 <400> 99

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 100
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 20GS linker
 <400> 100

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

1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser
 20
 <210> 101
 <211> 270
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> humanized Lama
 <400> 101
 Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 130 135 140

 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 145 150 155 160
 Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 165 170 175
 Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg

180 185 190
 Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
 195 200 205

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 210 215 220
 Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 225 230 235 240
 Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
 245 250 255
 Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 260 265 270

<210> 102
 <211> 424
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> humanized Lama
 <400> 102

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

355 360 365
 Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys

370 375 380
 Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
 385 390 395 400
 Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly
 405 410 415
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala

420
 <210> 103
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> humanized Lama
 <400> 103

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

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

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

115
 <210> 104

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 104

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

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

 35 40 45
 Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gln Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115

<210> 105

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 105

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

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

Ala Asp Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 370 375 380

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

385 390 395 400

Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala
 405 410 415

Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 420 425 430

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 435 440 445

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

450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 465 470 475 480

Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 485 490 495

Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Arg
 500 505 510

Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg

515 520 525

Thr His Tyr Ala Asp Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
 530 535 540

Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
 545 550 555 560

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser
 565 570 575

Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

580 585 590

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 595 600 605

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

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
 325 330 335

Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
 340 345 350

Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr
 355 360 365

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
 370 375 380

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
 385 390 395 400

Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala
 405 410 415

Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 420 425 430

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 465 470 475 480

Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 485 490 495

Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro
 500 505 510

Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg
 515 520 525

Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
 530 535 540

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
 545 550 555 560

Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser

565 570 575
 Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 580 585 590

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 595 600 605

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 610 615 620

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 625 630 635 640

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 645 650 655

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
 660 665 670

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
 675 680 685

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 690 695 700

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 705 710 715 720

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
 725 730 735

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 740 745 750

<210> 108

<211> 690

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 108

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
 130 135 140
 Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
 145 150 155 160
 Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly Trp Phe
 165 170 175
 Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Ile Thr Trp
 180 185 190
 Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
 195 200 205
 Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser
 210 215 220
 Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Lys His
 225 230 235 240
 Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 245 250 255
 Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp
 515 520 525

Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp
 530 535 540

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 545 550 555 560

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
 565 570 575

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu
 580 585 590

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met
 595 600 605

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser
 610 615 620

Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 625 630 635 640

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln
 645 650 655

Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile
 660 665 670

Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 675 680 685

Ser Ala
 690

<210> 109
 <211> 646
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> humanized Lama
 <400> 109

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 130 135 140
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
 145 150 155 160
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 165 170 175
 Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 180 185 190
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 195 200 205
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 210 215 220
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 225 230 235 240
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 245 250 255
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 515 520 525
 Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro
 530 535 540
 Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
 545 550 555 560
 Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 565 570 575
 Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp
 580 585 590
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr
 595 600 605
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
 610 615 620
 Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu
 625 630 635 640
 Val Thr Val Ser Ser Ala
 645
 <210> 110
 <211> 433
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> humanized Lama
 <400> 110
 Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

305 310 315 320
 Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg

 325 330 335
 Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser

 340 345 350
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile

 355 360 365
 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg

 370 375 380
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met

385 390 395 400
 Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly

 405 410 415
 Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 420 425 430
 Ala

<210> 111

<211> 403

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 111

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

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

 35 40 45
 Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 130 135 140
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
 145 150 155 160
 Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 165 170 175
 Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 180 185 190
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 195 200 205
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 210 215 220
 Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
 225 230 235 240
 Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 245 250 255
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
 260 265 270
 Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
 275 280 285
 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln
 290 295 300
 Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly
 305 310 315 320
 Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
 325 330 335
 Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg

340 345 350
 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser

355 360 365
 Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala

370 375 380

<210> 113

<211> 750

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 113

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
 20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 145 150 155 160

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

 Ser Arg Asp Pro Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 225 230 235 240
 Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Lys His Gln
 245 250 255
 Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 260 265 270
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 275 280 285

 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 290 295 300
 Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
 305 310 315 320
 Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
 325 330 335
 Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
 340 345 350

 Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr
 355 360 365
 Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
 370 375 380
 Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
 385 390 395 400
 Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
 660 665 670

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
 675 680 685

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 690 695 700

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 705 710 715 720

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
 725 730 735

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 740 745 750

<210> 114

<211> 646

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 114

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
 20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
 355 360 365
 Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 370 375 380
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
 385 390 395 400
 Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
 405 410 415
 Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln
 420 425 430
 Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly
 435 440 445
 Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
 450 455 460
 Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
 465 470 475 480
 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp
 485 490 495
 Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly
 500 505 510
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 515 520 525
 Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro
 530 535 540
 Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
 545 550 555 560
 Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 565 570 575
 Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp
 580 585 590
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 145 150 155 160
 Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 165 170 175
 Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg
 180 185 190
 Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser
 195 200 205
 Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile

 210 215 220
 Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 225 230 235 240
 Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp
 245 250 255
 Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp
 260 265 270
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

 275 280 285
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 290 295 300
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
 305 310 315 320
 Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg
 325 330 335
 Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser

 340 345 350
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile
 355 360 365
 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
 370 375 380
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met

385 390 395 400
 Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly

 405 410 415
 Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 420 425 430

Ala

<210> 116

<211> 381

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 116

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Pro Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
 145 150 155 160
 Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 165 170 175
 Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 180 185 190
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 195 200 205
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

 210 215 220
 Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
 225 230 235 240
 Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 245 250 255
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
 260 265 270
 Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala

 275 280 285
 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln
 290 295 300
 Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly
 305 310 315 320
 Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
 325 330 335
 Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg

 340 345 350
 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser
 355 360 365
 Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 370 375 380

<210> 117

<211> 750

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 117

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
 20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 165 170 175

Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly Trp Phe Arg
 180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Ile Thr Val Ser
 195 200 205

Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 210 215 220
 Ser Arg Asp Gln Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 225 230 235 240
 Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Lys His Gln
 245 250 255
 Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 260 265 270

 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 275 280 285
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 290 295 300
 Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
 305 310 315 320
 Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
 325 330 335

 Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
 340 345 350
 Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr
 355 360 365
 Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
 370 375 380
 Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
 385 390 395 400

 Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala
 405 410 415
 Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 420 425 430
 Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 435 440 445
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala

405 410 415

Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln

420 425 430

Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly

435 440 445

Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser

450 455 460

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

465 470 475 480

Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp

485 490 495

Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu

565 570 575

Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu

625 630 635 640

Val Thr Val Ser Ser Ala

645

<210> 119

<211> 433

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 119

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

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

 35 40 45
 Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gln Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

 130 135 140
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu

145 150 155 160
 Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys

 165 170 175
 Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg

 180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser
 195 200 205
 Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 210 215 220
 Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 225 230 235 240
 Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp
 245 250 255
 Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp
 260 265 270
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 275 280 285
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 290 295 300
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
 305 310 315 320
 Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg
 325 330 335
 Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser
 340 345 350
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile
 355 360 365
 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
 370 375 380
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met
 385 390 395 400
 Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly
 405 410 415
 Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 420 425 430
 Ala

<210> 120

<211> 381

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 120

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

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

 35 40 45
 Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gln Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

 115 120 125
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

 130 135 140
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr

145 150 155 160
 Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

 165 170 175
 Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val

 180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 195 200 205
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 210 215 220
 Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
 225 230 235 240
 Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 245 250 255
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
 260 265 270
 Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
 275 280 285
 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln
 290 295 300
 Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly
 305 310 315 320
 Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
 325 330 335
 Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
 340 345 350
 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser
 355 360 365
 Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 370 375 380
 <210> 121
 <211> 750
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220
 ><223> humanized Lama
 <400> 121
 Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

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

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

 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 130 135 140
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 145 150 155 160
 Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 165 170 175
 Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly Trp Phe Arg
 180 185 190

 Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Ile Thr Val Ser
 195 200 205
 Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 210 215 220
 Ser Arg Asp Ser Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 225 230 235 240
 Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Lys His Gln
 245 250 255

Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 260 265 270
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 275 280 285
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 290 295 300
 Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
 305 310 315 320

 Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
 325 330 335
 Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
 340 345 350
 Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr
 355 360 365
 Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
 370 375 380

 Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
 385 390 395 400
 Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala
 405 410 415
 Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 420 425 430
 Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 435 440 445

 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 450 455 460
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 465 470 475 480
 Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 485 490 495
 Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro

<210> 122

<211> 646

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 122

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

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

 35 40 45
 Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

 115 120 125
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

 130 135 140
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

145 150 155 160
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

 165 170 175
 Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

 180 185 190
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys Asn Thr Val Tyr

Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser

450 455 460

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

465 470 475 480

Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp

485 490 495

Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu

565 570 575

Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu

625 630 635 640

Val Thr Val Ser Ser Ala

645

<210> 123

<211> 433

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 123

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

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

 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 130 135 140
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 145 150 155 160
 Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 165 170 175
 Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg

 180 185 190
 Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser
 195 200 205
 Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 210 215 220
 Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp

245 250 255

Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln

305 310 315 320

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg

325 330 335

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser

340 345 350

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile

355 360 365

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

370 375 380

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met

385 390 395 400

Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly

405 410 415

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

420 425 430

Ala

<210> 124

<211> 381

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized Lama

<400> 124

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

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

 115 120 125
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 130 135 140
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
 145 150 155 160
 Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 165 170 175
 Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val

 180 185 190
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 195 200 205
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 210 215 220
 Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
 225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala

275 280 285

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln

290 295 300

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser

355 360 365

Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala

370 375 380

<210> 125

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 9GS linker

<400> 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 126

<211> 423

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized lama

<400> 126

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 Ser Ile Ala Ser Ile His
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 130 135 140
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu

 145 150 155 160
 Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 165 170 175
 Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly Trp Phe Arg
 180 185 190
 Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Ile Thr Trp Ser
 195 200 205
 Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile

 210 215 220
 Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 225 230 235 240
 Arg Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Lys His Gln

245 250 255
 Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 260 265 270

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

275 280 285
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 290 295 300

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 305 310 315 320

Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
 325 330 335

Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

340 345 350
 Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr
 355 360 365

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 370 375 380

Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
 385 390 395 400

Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly

405 410 415
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 420

<210> 127

<211> 441

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized lama

<400> 127

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr

Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 275 280 285

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 290 295 300

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 305 310 315 320

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 325 330 335

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 340 345 350

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 355 360 365

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
 370 375 380

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 385 390 395 400

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
 405 410 415

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
 420 425 430

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 435 440

<210> 128

<211> 162

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized lama

<400> 128

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr

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

Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 Ala Ala Ala His His His His His His
 130 135

<210> 130

<211> 162

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized lama

<400> 130

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
 100 105 110

Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 Ala Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
 130 135 140
 Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His

 145 150 155 160
 His His

 <210> 131
 <211> 153
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Humanized lama
 <400> 131
 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 Ser Ile Ala Ser Ile His
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

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

 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp
 115 120 125
 Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 130 135 140

Gly Ala Ala His His His His His His

145 150

<210> 132

<211> 153

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized lama

<400> 132

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp

115 120 125

Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

130 135 140

Gly Ala Ala His His His His His His

145 150

<210> 133

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized Lama

<400> 133

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His His

115 120 125

<210> 134

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized Lama

<400> 134

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized Lama

<400> 136

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

 20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

 35 40 45

Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Pro Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala His His His His His His

 115 120 125

<210> 137

<211> 288

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

 20 25 30

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp

 35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
 50 55 60
 Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
 65 70 75 80
 Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
 85 90 95
 Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
 100 105 110
 Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
 115 120 125
 Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
 130 135 140
 Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
 145 150 155 160
 Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly
 165 170 175
 Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys
 180 185 190
 Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro
 195 200 205
 Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly
 210 215 220
 Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro
 225 230 235 240
 Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
 245 250 255
 Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
 260 265 270
 Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
 275 280 285
 <210> 138

<211> 525

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 138

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
 1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val
 20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile
 35 40 45

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln
 50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu
 65 70 75 80

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro
 85 90 95

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly
 100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln
 115 120 125

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala
 130 135 140

Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg Ala Leu Ser Cys
 145 150 155 160

Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro
 165 170 175

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser
 180 185 190

Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln
 195 200 205

Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser

Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe His Leu Trp Arg Arg Gln Trp Arg Pro
 465 470 475 480
 Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu Gln Gly Ile His Pro Pro Gln Ala Gln
 485 490 495
 Ser Lys Ile Glu Glu Leu Glu Gln Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro
 500 505 510
 Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gln Leu
 515 520 525