



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0091490
(43) 공개일자 2022년06월30일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
<i>C07K 16/28</i> (2006.01) <i>A61K 39/00</i> (2006.01)
<i>A61P 35/00</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
<i>C07K 16/2818</i> (2013.01)
<i>A61P 35/00</i> (2018.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2022-7014433</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2020년10월09일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2022년04월28일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/EP2020/078427</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2021/069670
국제공개일자 2021년04월15일</p> <p>(30) 우선권주장
1914747.9 2019년10월11일 영국(GB)
2013180.1 2020년08월24일 영국(GB)</p> | <p>(71) 출원인
울트라휴먼 에이트 리미티드
영국 켄트 시티13 9에프에프 샌드위치 램스케이프
로드 이노베이션 하우스 크레스톤 리브스 엘엘피
내</p> <p>(72) 발명자
핀레이 윌리엄 제임스 조나단
영국 켄트 시티13 9에프에프 샌드위치 램스케이프
로드 이노베이션 하우스 크레스톤 리브스 엘엘피
내</p> <p>(74) 대리인
특허법인(유한)케이비케이</p> |
|--|---|

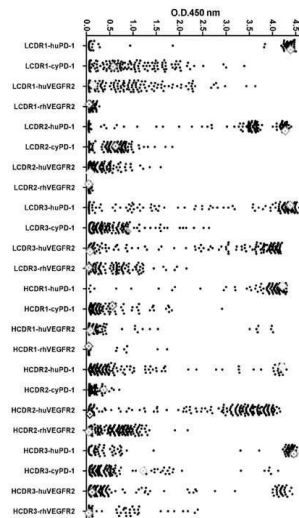
전체 청구항 수 : 총 37 항

(54) 발명의 명칭 PD1 및 VEGFR2 이중 결합제

(57) 요약

예정 세포 사멸 1(PD1) 및 혈관 내피 성장 인자 수용체 2(VEGFR2)에 특이적으로 결합하는 항체 분자, 관련 핵산 분자, 벡터 및 숙주 세포가 본원에 제공된다. 또한, 이러한 항체 분자의 의학적 용도가 본원에 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C07K 16/2863 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/33 (2013.01)

C07K 2317/71 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

PD1 및 VEGFR2 둘 모두에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하며, 여기에서:

(a) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;

(b) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;

(c) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLS(서열번호 8)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;

(d) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 LASQIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하거나;

(e) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하거나;

(f) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLS(서열번호 8)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하거나;

(g) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 LASQTIGTWLT(서열번호 9)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나;

(h) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 LASQTIGTWLT(서열번호 9)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;

(i) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 LASQIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나;

(j) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나;

(k) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLG(서열번호 12)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나;

(l) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 LASQIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;

- (m) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- (n) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- (o) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TASSLAD(서열번호 40)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- (p) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLAD(서열번호 41)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- (q) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- (r) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGNSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TASSLAD(서열번호 40)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- (s) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGNSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLAD(서열번호 41)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- (t) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGNSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QVYFDY(서열번호 64)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하는, 항체 또는 항체의 항원 결합 부분.

청구항 2

제1항에 있어서,

- (a) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44를 포함하거나;
- (b) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- (c) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 24를 포함하거나;
- (d) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 14를 포함하거나;
- (e) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 15를 포함하거나;
- (f) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 16을 포함하거나;
- (g) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 17을 포함하거나;
- (h) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 18을 포함하거나;
- (i) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 19를 포함하거나;
- (j) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 20을 포함하거나;
- (k) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 21을 포함하거나;
- (l) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 22를 포함하거나;
- (m) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 23을 포함하거나;

- (n) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44를 포함하거나;
- (o) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45를 포함하거나;
- (p) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46을 포함하거나;
- (q) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- (r) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45를 포함하거나;
- (s) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46을 포함하거나;
- (t) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 73을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하는, 항체 또는 항체의 항원 결합 부분.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 항체 또는 항원 결합 부분은 PD1-PDL1 및 VEGFR2-VEGF 신호전달 경로 둘 모두를 길항할 수 있는, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 4

PD1 및 VEGFR2 둘 모두에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원 결합 부분으로서, 상기 항체 또는 항원 결합 부분은 PD1 및 VEGFR2 둘 모두에 결합하기 위해 제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분과 교차 경쟁하고;

- (a) 완전한 생식선 인간 프레임워크 아미노산 서열을 포함하고;
- (b) 인간 PD1, 시노몰구스 PD1, 인간 VEGFR2 및 붉은털 VEGFR2에 특이적으로 결합하고;
- (c) 인간 PD-L1에 대한 인간 PD1의 결합을 길항하고 인간 VEGF에 반응하여 인간 VEGFR2의 신호전달을 길항하는, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 인간, 인간화 또는 키메라인, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, VH 영역, VL 영역, 또는 VH 및 VL 영역 둘 모두는 하나 이상의 인간 프레임워크 영역 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 하나에 있어서, VH 영역, VL 영역, 또는 VH 및 VL 영역 둘 모두는 CDR이 삽입된 인간 가변 영역 프레임워크 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 8

제1항 또는 제3항에 있어서, VH 영역은 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 아미노산 서열이 삽입된 IGHV3-7 인간 생식선 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 9

제1항, 제3항 및 제8항 중 어느 하나에 있어서, VL 영역은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열이 삽입된 IGKV1-39 인간 생식선 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 하나에 있어서, 항체는 면역글로불린 불변 영역을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 11

제10항에 있어서, 면역글로불린 불변 영역은 IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY인, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 12

제11항에 있어서, 면역글로불린 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 또는 IgA2인, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 13

제10항에 있어서, 면역글로불린 불변 영역은 면역학적으로 불활성인, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 14

제10항에 있어서, 면역글로불린 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG1 불변 영역, 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역, 또는 야생형 인간 IgG2 불변 영역인, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 15

제13항에 있어서, 면역글로불린 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하는, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 항원 결합 부분은 Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, scFv, 맥 시바디, 미니바디, 인트라바디, 다이아바디, 트리아바디, 테트라바디, 또는 비스-scFv인, 항원 결합 부분.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 하나에 있어서, 항체는 단클론인, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 하나에 있어서, 항체는 사랑체 항체, 사가 항체 또는 다중특이적 항체인, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 항원 결합 부분은 (a) 인간 PD1 또는 (b) 인간 PD1 및 시노몰구스 PD1 또는 (c) 인간 PD1 및 붉은털 PD1 또는 (d) 인간 PD1, 시노몰구스 PD1 및 붉은털 PD1에 특이적으로 결합하는, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 항원 결합 부분은 (a) 인간 VEGFR2 또는 (b) 인간 VEGFR2 및 시노몰구스 VEGFR2 또는 (c) 인간 VEGFR2 및 붉은털 VEGFR2 또는 (d) 인간 VEGFR2, 시노몰구스 VEGFR2 및 붉은털 VEGFR2에 특이적으로 결합하는, 항체 또는 항원 결합 부분.

청구항 21

치료제에 연결된 제1항 내지 제20항 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분을 포함하는, 면역접합체.

청구항 22

제21항에 있어서, 치료제는 세포독소, 방사성 동위원소, 화학요법제, 면역조절제, 항혈관형성제, 항증식제, 세포자멸촉진제, 세포증식 억제 효소, 세포용해 효소, 치료 핵산, 항혈관형성제, 항증식제, 또는 세포자멸촉진제인, 면역접합체.

청구항 23

제1항 내지 제20항 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분, 또는 제21항 또는 제22항의 면역 접합체, 및 약

학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 24

제1항 내지 제20항 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분의,

- (a) VH 영역 아미노산 서열;
- (b) VL 영역 아미노산 서열; 또는
- (c) 상기 VH 및 상기 VL 영역 아미노산 서열 둘 모두를 암호화하는, 핵산 분자.

청구항 25

제24항의 핵산 분자를 포함하는, 발현 벡터.

청구항 26

제24항의 핵산 분자 또는 제25항의 발현 벡터를 포함하는, 재조합 숙주 세포.

청구항 27

항-PD1 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 생산하는 방법으로서, 상기 방법은,

상기 핵산 분자가 발현됨으로써 상기 항체 또는 항원 결합 부분을 생산하는 조건 하에서 제25항의 발현 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포를 배양하는 단계; 및

상기 항체 또는 항원 결합 부분을 상기 숙주 세포 또는 배양물로부터 단리하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 28

대상체에서 면역 반응을 향상시키는 방법으로서, 제1항 내지 제20항 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분의 치료적 유효량, 제21항 또는 제22항의 면역접합체, 또는 제23항의 약학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 29

대상체에서 암, 감염성 질환, 또는 면역 질환을 치료하거나 예방하는 방법으로서, 제1항 내지 제20항 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분의 치료적 유효량, 제21항 또는 제22항의 면역접합체, 또는 제23항의 약학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 암은 췌장암, 흑색종, 유방암, 폐암, 기관지암, 대장암, 전립선암, 위암, 난소암, 방광암, 뇌 또는 중추신경계 암, 말초신경계 암, 식도암, 자궁경부암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 신장암, 고환암, 담도암, 소장 또는 맹장암, 침샘암, 갑상선암, 부신암, 골육종, 연골육종, 또는 혈액 조직의 암인, 방법.

청구항 31

제29항에 있어서, 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 진균 또는 기생충인, 방법.

청구항 32

제29항에 있어서, 감염성 질환은 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 감염인, 방법.

청구항 33

암, 감염성 질환, 또는 면역 질환의 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제20항 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분, 제21항 또는 제22항의 면역접합체, 또는 제23항의 약학적 조성물.

청구항 34

제33항에 있어서, 암은 췌장암, 흑색종, 유방암, 폐암, 기관지암, 대장암, 전립선암, 위암, 난소암, 방광암, 뇌 또는 중추신경계 암, 말초신경계 암, 식도암, 자궁경부암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 신장암, 고환암, 담도암, 소장 또는 맹장암, 침샘암, 갑상선암, 부신암, 골육종, 연골육종, 또는 혈액 조직의 암인, 항체 또는 항원 결합 부분, 면역접합체, 또는 약학적 조성물.

청구항 35

제33항에 있어서, 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 진균 또는 기생충인, 항체 또는 항원 결합 부분, 면역접합체 또는 약학적 조성물.

청구항 36

제33항에 있어서, 감염성 질환은 인간 면역 결핍 바이러스(HIV) 감염인, 항체 또는 항원 결합 부분, 면역접합체 또는 약학적 조성물.

청구항 37

의약으로서의 용도를 위한, 제1항 내지 제20항 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분, 제21항 또는 제22항의 면역접합체, 또는 제23항의 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2020년 8월 24일에 출원된 GB 특허 출원 제2013180.1호, 및 2019년 10월 11일에 출원된 GB 특허 출원 제1914747.9호의 이익을 주장하며, 이들 각각의 개시는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0003] **전자적으로 제출된 텍스트 파일의 설명**

[0004] 본원에 전자적으로 제출된 텍스트 파일의 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다: 서열 목록의 컴퓨터 관독 가능 포맷 사본(파일명: UCEL_002_02WO_SeqList_ST25.txt, 기록일: 2020년 10월 9일, 파일 크기: 대략 86,707바이트).

[0005] 본 발명은 PD1(예정 세포 사멸 1, PDCD1, CD279, PD-1, SLEB2, PD-1, SLE1로도 알려짐) 및 VEGFR2(KDR, CD309, FLK1, 키나아제 삽입 도메인 수용체로도 알려짐) 둘 모두에 특이적으로 결합하는 항체 분자 및 이의 의학적 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0006] PD1은 면역 "관문" 매개체인 것으로 나타난 세포 표면 수용체이다. PD1 관문 활성화는 자체 항원에 반응하는 림프절 상주 T 세포에서 세포사멸사(예정 세포 사멸)를 촉진하고 조절(항염증) T 세포의 생존을 촉진함으로써 자가면역 위험을 최소화한다. 인간 또는 인간화 단클론 항체에 의한 PD1 활성화의 길항작용은 종양에서 T 세포의 재활성화를 초래할 수 있기 때문에, 다수의 형태의 암의 치료에 대한 성공적인 치료 접근법인 것으로 입증되었다. 이러한 임상적 성공은 항-PD1 항체 분자의 증식을 임상시험에서 조사하게 하였지만, 대부분의 환자들은 항-PD1 제제만으로 치료했을 때 여전히 지속적인 항암 반응을 나타내지 않는다.

[0007] 항-PD1 항체 요법에 반응할 환자의 수를 증가시키는 것은 상당한 도전 과제이다. 항-PD1 항체에 대한 임상 반응을 개선하기 위한 가능한 전략은 이들을 항-혈관형성제와 같은 이전에 입증된 암 요법과 조합하는 것이다. 이러한 제제의 한 부류는 항-VEGFR2 또는 항-VEGF 항체와 같은 VEGF 신호 전달 경로를 차단하는 항체이다. 그러나, 이러한 병용 요법은 각각 자체의 독성 위험을 갖는 두 개의 개별적인 고가의 제제를 사용해야 한다. 두 개의 개별 제제를 조합하는 단점 없이 병용 요법의 이점을 제공하는 단일 제제에 대한 필요성이 여전히 존재한다.

발명의 내용

- [0008] 본 발명은 다수의 항-PD1 및 항-VEGFR2 이중 길항제 항체 및 이의 의학적 용도를 제공한다.
- [0009] 본 발명의 일 양태에 따르면, 인간 PD1 및 인간 VEGFR2, 그리고 선택적으로 시노몰구스(cynomolgus) PD1 및 시노몰구스 VEGFR2에 특이적으로 결합하는 항체 분자, 또는 이의 항원 결합 부분이 제공된다.
- [0010] 일부 양태에서, 본 발명은 PD1 및 VEGFR2 둘 모두에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원 결합 부분을 제공하되, 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하며, 여기에서:
- [0011] (a) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0012] (b) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0013] (c) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLS(서열번호 8)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0014] (d) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQGIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0015] (e) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0016] (f) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLS(서열번호 8)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0017] (g) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQTIGTWLT(서열번호 9)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0018] (h) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQTIGTWLT(서열번호 9)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0019] (i) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQGIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0020] (j) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0021] (k) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLG(서열번호 12)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0022] (l) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQGIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0023] (m) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;

- [0024] (n) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0025] (o) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TASSLAD(서열번호 40)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0026] (p) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLAD(서열번호 41)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0027] (q) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0028] (r) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TASSLAD(서열번호 40)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0029] (s) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLAD(서열번호 41)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0030] (t) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QVYFDY(서열번호 64)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함한다.
- [0031] 일부 양태에서, 항-PD1 항체 또는 이의 항원 결합 부분이 본원에 개시되며, 여기에서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되,
- [0032] VH 영역 아미노산 서열은,
- [0033] (a) 서열번호 1의 HCDR1;
- [0034] (b) 서열번호 2, 서열번호 38, 또는 서열번호 42의 HCDR2 및
- [0035] (c) 서열번호 3 또는 서열번호 64의 HCDR3을 포함하고;
- [0036] VL 영역 아미노산 서열은,
- [0037] (a') 서열번호 4, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 12, 또는 서열번호 39의 LCDR1;
- [0038] (b') 서열번호 5, 서열번호 40, 서열번호 41, 또는 서열번호 43의 LCDR2; 및
- [0039] (c') 서열번호 6, 서열번호 10 또는 서열번호 11의 LCDR3을 포함한다.
- [0040] 일부 양태에서, PD1 및 VEGFR2 둘 모두에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원 결합 부분이 본원에 개시되고, 여기에서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하며, 여기에서:
- [0041] (a) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44를 포함하거나;
- [0042] (b) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0043] (c) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 24를 포함하거나;
- [0044] (d) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 14를 포함하거나;
- [0045] (e) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 15를 포함하거나;
- [0046] (f) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 16을 포함하거나;
- [0047] (g) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 17을 포함하거나;

- [0048] (h) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 18을 포함하거나;
- [0049] (i) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 19를 포함하거나;
- [0050] (j) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 20을 포함하거나;
- [0051] (k) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 21을 포함하거나;
- [0052] (l) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 22를 포함하거나;
- [0053] (m) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 23을 포함하거나;
- [0054] (n) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44를 포함하거나;
- [0055] (o) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45를 포함하거나;
- [0056] (p) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46을 포함하거나;
- [0057] (q) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0058] (r) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45를 포함하거나;
- [0059] (s) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46을 포함하거나;
- [0060] (t) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 73을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함한다.
- [0061] 본 발명의 일부 양태에서, 항체 분자 또는 항원 결합 부분의 HCDR1은 서열 GFTFSSYMMS(서열번호 1; WO2015/085847A1에 개시된 MAb005 쥐과 동물/인간화 항체 HCDR1; US2016/376367A1)을 배제할 수 있고/있거나, 항체 분자 또는 항원 결합 부분의 HCDR2는 서열 TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2; WO2015/085847A1에 개시된 MAb005 쥐과 동물/인간화 항체 HCDR2; US2016/376367A1)를 배제할 수 있고/있거나, 항체 분자 또는 항원 결합 부분의 HCDR3은 서열 QLYYFDY(서열번호 3; WO2015/085847A1에 개시된 MAb005 쥐과 동물/인간화 항체 HCDR3; US2016/376367A1)를 배제할 수 있다.
- [0062] 본 발명의 일부 양태에서, 항체 분자 또는 항원 결합 부분의 LCDR1은 서열 LASQTIGTWLT(서열번호 9; WO2015/085847A1에 개시된 MAb005 쥐과 동물/인간화 항체 LCDR1; US2016/376367A1)을 배제할 수 있고/있거나, 항체 분자 또는 항원 결합 부분의 LCDR2는 서열 TATSLAD(서열번호 5; WO2015/085847A1에 개시된 MAb005 쥐과 동물/인간화 항체 LCDR2; US2016/376367A1)를 배제할 수 있고/있거나, 항체 분자 또는 항원 결합 부분의 LCDR3은 서열 QQVYSIPWT(서열번호 6; WO2015/085847A1에 개시된 MAb005 쥐과 동물/인간화 항체 LCDR3; US2016/376367A1)를 배제할 수 있다.
- [0063] 또한, 본 발명에 따라 치료제에 결합되거나, 융합되거나, 접합된, 본원에서 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분을 포함하는 면역접합체가 제공된다.
- [0064] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에서 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다.
- [0065] 본 발명의 핵산 분자를 포함하는 벡터가 추가로 제공된다.
- [0066] 또한, 본원에서 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다.
- [0067] 추가 양태에서, 항-PD1/VEGFR2 항체 및/또는 이의 항원 결합 부분을 생산하는 방법이 제공되며, 방법은 항체 및/또는 이의 항원 결합 부분의 발현 및/또는 생산을 초래하는 조건 하에서 본 발명의 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 숙주 세포 또는 배양물로부터 항체 및/또는 이의 항원 결합 부분을 단리하는 단계를 포함한다.
- [0068] 본 발명의 또 다른 양태에서, 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터를 포함하는 약학적 조성물이 제공된다.
- [0069] 대상체에서 면역 반응을 향상시키는 방법이 추가로 제공되며, 방법은 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

- [0070] 추가의 양태에서, 대상체에서 암을 치료하거나 예방하는 방법이 추가로 제공되며, 방법은 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0071] 의약으로서 사용하기 위한, 본원에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 약학적 조성물이 추가로 제공된다. 본 발명은 또한, 암을 치료하기 위한 용도로서의 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 약학적 조성물을 제공한다.
- [0072] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 본원에서 정의된 바와 같은 본 발명의 용도 또는 치료 방법을, 제2 치료제, 예를 들어 항암제와 조합된 조합에서 별개로, 순차적으로 또는 동시에 사용하기 위한, 항체 분자, 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 면역접합체, 또는 핵산 분자, 또는 벡터를 제공한다.
- [0073] 추가의 양태에서, 암을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서의, 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 약학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0074] 본 발명은 또한, 대상체에서 감염성 질환을 치료하거나 예방하는 방법을 제공하며, 방법은 본원에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0075] 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 진균류 또는 기생충으로 이루어진 군으로부터의 모든 양태에서 선택될 수 있다. 일 구현예에서, 감염성 질환은 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 감염이다.
- [0076] 또한, 감염성 질환의 치료를 위한 용도로서, 본원에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 약학적 조성물이 제공된다.
- [0077] 감염성 질환의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서, 본원에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 약학적 조성물의 용도가 추가로 제공된다.
- [0078] 본 발명은 또한, 대상체에서 감염성 질환을 치료하거나 예방하는 방법을 제공하며, 방법은 본원에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0079] 또한, 본 발명은 인간 PD1 및 인간 VEGFR2, 그리고 선택적으로 시노몰구스 원숭이 PD1 및 원숭이 VEGFR2에 특이적으로 결합하는 항체 분자, 또는 이의 항원 결합 부분을 생산하는 방법을 제공하며, 방법은 다음의 단계를 포함한다:
- [0080] (1) 비인간 공급원으로부터 인간 v-도메인 프레임워크 내로 항-PD1 CDR을 접목시켜 인간화 항-PD1 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분을 생산하는 단계;
- [0081] (2) CDR에서 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 인간화 항-PD1 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분의 클론 라이브러리를 생성하는 단계;
- [0082] (3) 인간 PD1 및 인간 VEGFR2에 대한 결합 및 선택적으로 시노몰구스 원숭이 PD1 및 붉은털 원숭이 VEGFR2에 대한 결합에 대한 라이브러리를 스크리닝하는 단계;
- [0083] (4) 인간 PD1 및 인간 VEGFR2에 대한 결합 특이성을 가지며, 선택적으로 시노몰구스 원숭이 PD1 및 붉은털 원숭이 VEGFR2에 대한 결합 특이성을 또한 갖는 클론을 스크리닝하는 단계 (3)으로부터 선택하는 단계; 및
- [0084] (5) 단계 (4)로부터 선택된 클론으로부터, 인간 PD1 및 인간 VEGFR2에 특이적으로 결합하고, 선택적으로 시노몰

구스 원숭이 PD1 및 붉은털 원숭이 VEGFR2에 또한 결합하는 항체 분자, 또는 이의 항원 결합 부분을 생산하는 단계를 포함한다.

[0085] 방법은 단계 (4)에서 선택된 클론에 기초하여, 예를 들어, 단계 (4)에서 선택된 클론의 CDR의 특정 위치에서의 추가적인 탐색적 돌연변이 유발에 기초하여, 추가적인 클론을 생산하여 인간화를 향상시키고/시키거나, 인간 T 세포 에피토프 함량을 최소화시키고/시키거나, 단계(5)에서 생산된 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분에서의 제조 특성을 개선하는 추가의 단계를 포함할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0086] **도 1. 인간 및 시노몰구스 PD1, 및 인간 및 붉은털 VEGFR2 단백질에 대한 라이브러리 유래 항-PD1 Fab의 직접 결합 ELISA.** 클론은 파지 집단이 각 라운드에서 비오틴화된 표적 단백질 상에서 선택된 다수의 파지 라이브러리 선택 분지로부터 유래하였다. 각각의 선별 라운드 후, 인간(hu)과 시노몰구스(cy) PD1, 및 인간(hu)과 붉은털(rh) VEGFR2 둘 모두에 대해, 라이브러리 유래 클론(흑색 원)을 세포질-발현된 Fab 단백질로서 스크리닝하였다. 인간 IgG1 Fab로서 발현된 hMAb005 v-도메인을 각 플레이트 상에서 양성 대조군으로서 사용하였다(회색 다이아몬드).

도 2a - 도 2b. 알파스크린에서 Fab 단백질의 에피토프 경쟁 분석. 항-PD1 클론을 대장균에서 Fab로서 발현시키고, 페리프랩(periprep)을 알파스크린 기술을 사용하는 에피토프 경쟁 분석에 적용하였다. 이 분석에서, 용액 중 인간 PD1 단백질에 대한 hMAb005 IgG1null 결합과 경쟁시킴으로써, 라이브러리 유래 Fab의 상대 친화도 및 부모 hMAb005 에피토프의 보유에 대해 분석하였다.

도 3a - 도 3b. 인간 및 cyno(시노몰구스) PD1-Fc, 인간 및 붉은털 VEGFR2 단백질에 대한 정제된 IgG1 null 결합에 대한 직접 적정 ELISA. hMAb005, 이소형 대조군 IgG1 및 인간 IgG1 null 포맷의 라이브러리 유래 클론을 인간 및 cyno PD1 단백질(도 3a), 및 인간 및 붉은털 VEGFR2 단백질(도 3b)에 대한 직접 결합 ELISA에서 적정하였다(nM 단위).

도 4. 세포-기반 VEGFR2 길항작용 분석. hMAb005, 이소형 대조군 IgG1 및 인간 IgG1 null 포맷의 라이브러리 유래 클론을 인간 VEGFR2 신호전달 분석에서 적정하였으며(nM 단위), 여기에 인간 VEGF-165 단백질을 첨가하여 VEGFR2 신호전달을 유도하였다. hMAb005 및 이소형 IgG1 대조군 단백질 둘 모두 농도 의존적 VEGFR2 길항작용을 나타내지 않았다. 11개의 모든 리드 클론과 양성 대조군 항-VEGFR2 IgG1 라무시루맵은 nM 범위에서 강력한 길항작용을 나타냈다.

도 5a - 도 5k. 세포 기반 VEGFR2 길항작용 분석 - 단일 클론 분석. 도 4에 도시된 리드 클론에 대한 VEGFR2 길항작용을 클론 별로 재분석하였다. 11개의 모든 리드 클론이 강력한 길항작용을 나타낸 반면, 클론 당 단 하나의 CDR에서 발견된 돌연변이를 갖는 발견된 라이브러리 유래 클론(도 5a 내지 도 5e)은 LCDR1 및 LCDR3 둘 모두에서 돌연변이가 조합된 클론(도 5f 내지 도 5k)보다 덜 강력한 것으로 밝혀졌다.

도 6. 세포 기반 PD1 길항작용 검증. hMAb005(SHR-1210 IgG1-3M), 이소형 대조군 IgG1, 니볼루맵 IgG4 및 클론 MAB06.1-MAB06.8(인간 IgG1 null 포맷)을 인간 PD1+ 및 인간 PD-L1+ 세포가 혼합된 인간 PD1 신호 전달 분석에서 적정하였으며, PD1/PD-L1 상호작용의 길항작용은 신호 증가를 초래하였다. 이소형 IgG1 대조군 단백질은 농도 의존적 PD1 길항작용을 나타내지 않았다. 클론 MAB06.1-MAB06.8, hMAb005 및 양성 대조군 항-PD1 IgG4 니볼루맵은 nM 범위에서 강력한 길항작용을 나타냈다.

도 7. 세포-기반 VEGFR2 길항작용 분석. hMAb005(SHR-1210 IgG1-3M), 이소형 대조군 IgG1, 니볼루맵 IgG4 및 클론 MAB06.1-MAB06.8(인간 IgG1 null 포맷)을 인간 VEGFR2 신호전달 분석에서 적정하였으며, 여기에 인간 VEGF-165 단백질을 첨가하여 VEGFR2 신호전달을 유도하였다. hMAb005 및 이소형 IgG1 대조군 단백질 둘 모두 농도 의존적 VEGFR2 길항작용을 나타내지 않았다. 클론 MAB06.1-MAB06.8과 양성 대조군 항-VEGFR2 IgG1 라무시루맵은 nM 범위에서 강력한 길항작용을 나타냈다.

도 8a - 도 8h. 세포 기반 PD1 및 VEGFR2 길항작용 분석 - 단일 클론 분석. 도 7에 도시된 리드 클론에 대한 PD1 및 VEGFR2 길항작용을 클론 별로 재분석하였다. 클론 MAB06.5(도 8a, 도 8b), MAB06.6(도 8c, 도 8d), MAB06.7(도 8e, 도 8f), 및 MAB06.8(도 8g, 도 8h)에 대한 PD1 및 VEGFR2 길항작용의 비교 분석은 클론 MAB06의 서열이 두 수용체의 신호전달을 길항하는 능력을 유지하면서 LCDR1, LCDR2 및 HCDR2에서 다중 잔기의 돌연변이를 수용할 수 있음을 입증하였다.

도 9. 이중 PD1-VEGFR2 길항작용. 종양 침윤 면역 세포는 PD1 및 VEGFR2 둘 모두를 발현할 수 있다. 종양 내 암

세포(또는 기질 세포, 다른 면역 세포 등)는 PD-L1 및/또는 VEGF를 발현할 수 있다. 이들 신호는 종양 미세환경에서 면역 기능을 억제하기 위해 협력한다. 따라서, (동일하거나 상이한 세포 상에서) PD1 및 VEGFR2 둘 모두의 신호 전달을 효과적으로 차단할 수 있는 이중 길항제 항체는 PD1 또는 VEGFR2 차단 항체 단독에 비해 개선된 항종양 효능을 가질 수 있다.

도 10. 세포-기반 VEGFR2 작용 분석. 라무시루맙, 이소형 대조군 인간 IgG1, MAB06.5, MAB06.8 및 VEGF-165 단백질을 인간 VEGFR2 신호전달 분석에서 적정하였다. 라무시루맙, 이소형 또는 클론 MAB06.5 및 MAB06.8 모두는 농도 의존적 VEGFR2 작용을 나타내지 않았다. 양성 대조군 VEGF-165는 nM 범위에서 강력한 길항작용을 유도하였다.

도 11a - 도 11f. 일방향 인간 DC:T 세포 혼합 림프구 반응(MLR) 검정. MAB06.5, MAB06.8 및 니블루맙(항-PD1)을 3개의 개별 인간 공여자 쌍으로 인간 MLR 검정에서 2회 반복 실행으로 적정하였다(nM 단위). MAB06.5 및 MAB06.8은 니블루맙과 동등한 PD1 차단 유도 IFN- γ 신호전달에서 농도 의존적 효능을 나타냈다. 이는 공여자 쌍 1(도 11a, 도 11b), 공여자 쌍 2(도 11c, 도 11d), 및 공여자 쌍 3(도 11e, 도 11f)에 대한 모든 실행에서도 나타났다.

도 12a - 도 12d. 인간 및 cyno PD1-Fc, 인간 및 시노몰구스 VEGFR2 단백질에 대한 정제된 IgG1 null 결합에 대한 직접 적정 ELISA. SHR-1210 IgG1-3M, 이소형 대조군 IgG1 및 인간 IgG1 null 포맷의 7개의 제3 세대 클론을 인간 및 cyno PD1 단백질(도 12a, 도 12b), 및 인간 및 시노몰구스 VEGFR2 단백질(도 12c, 도 12d)에 대한 직접 결합 ELISA에서 적정하였다(nM 단위).

도 13a - 도 13b. 세포 기반 PD1 및 VEGFR2 길항작용 분석. 클론 SHR-1210 IgG1-3M, 니블루맙, 이소형 대조군 IgG1 및 인간 IgG1 null 형식의 7개의 3세대 클론에 대한 PD1(도 13a) 및 VEGFR2(도 13b) 길항작용의 비교 분석.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0087] 본 발명은 PD1 및 VEGF 경로 둘 모두에 길항하는 항체의 예상하지 못한 발견에 기초한다. VEGF 신호전달 경로의 억제는 PD1 경로의 억제와 효과적인 조합을 제공할 수 있다. VEGF-VEGFR2 신호전달은 신생혈관화를 유도할 뿐만 아니라, 다수의 면역 세포 유형에서 발현되는 VEGFR2를 갖는 종양 미세환경에서 면역억제를 증가시키는 것으로 나타났다. 그러나, 이중 억제제 항체를 생성하는 것은, 아미노산 서열 및 구조에서 매우 상이한 2개의 표적 단백질, 예를 들어, PD1 및 VEGFR2의 강력한 조절을 갖는 단일 항체를 생성하는 것을 수반하기 때문에, 복잡하고 예측 불가능한 작업이다. 2개의 표적 간의 이러한 서열 및 구조적 상이성은 이러한 항체를 생성하는 데 있어서의 성공에 장애가 된다.

[0088] W02015/085847A1은 "Mab005"로 명명된 길항 컷과 항-PD1 IgG 분자, 및 Mab005의 인간화 형태의 제조 또한 기술한다. 인간화 Mab005(hMab005)는 임상시험에서 혈관종을 유도하는 매우 특이한 부작용을 갖는 것으로 나타났다. 시험관 내 연구는 VEGFR2의 결합을 포함하여, 이러한 문제를 오픈 타겟 항체 반응성으로 성공적으로 추적하였다(Finlay 등 (2019) *mAbs*, 11:1, 26-44). 중요한 것은, VEGFR2에 대한 hMab005(SHR-1210으로도 알려짐)의 결합이 수용체의 강력한 작용(활성화)을 유도하는 것으로 나타났으며, 이는 혈관종 부작용의 주요 동인일 가능성이 높다는 것이다. 전술한 이유로, W02015/085847A1에 기술된 Mab005의 이러한 인간화 형태는 이상적이지 않다. 또한, 분자 특성의 변화가 Mab005와 같은 길항제/작용제 항체를 PD1 및 VEGFR2 경로 둘 모두의 이중 길항제로 전환할 수 있는지 선형적으로 예측할 수 없다. 본 발명은 강력한 PD1 길항작용을 유지하면서도 VEGFR2에 강력하게 길항하는 항체를 제공한다. 이러한 항체는 상승적 임상 이점을 제공할 수 있다.

[0089] PD1에 특이적으로 결합하여 VEGF-VEGFR2 신호전달을 길항하는 hMab005로부터 유래된 항체를 생성하는 방법이 본원에 제공된다. 예를 들어, 이러한 항체는 항체 hMab005의 하나 이상의 CDR 서열에 돌연변이를 도입함으로써 생성될 수 있다. 일부 구현예에서, 돌연변이는 항체 hMab005의 LCDR1 및/또는 LCDR2 및/또는 HCDR2 서열 내에 도입된다.

[0090] 일부 양태에서, 인간 PD1 및 인간 VEGFR2 둘 모두에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 전술한 항체의 항원 결합 부분이 제공된다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 PD1-PDL1 신호전달 경로 및 VEGFR2-VEGF 신호전달 경로 둘 모두를 길항할 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 인간 PD-L1에 대한 인간 PD1의 결합을 길항하고 인간 VEGF에 반응하여 인간 VEGFR2의 신호전달을 길항한다.

[0091] 일부 양태에서, 본원에 제공된 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 항원 결합 부분은 서열번호 32 또는 서열번호 33

을 포함하거나 이로 이루어진 PD1 단백질에 특이적으로 결합한다. 일부 양태에서, 본원에 제공된 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 항원 결합 부분은 서열번호 32 또는 서열번호 33과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 PD1 단백질에 특이적으로 결합한다.

[0092] 일부 양태에서, 본원에 제공된 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 항원 결합 부분은 서열번호 34 또는 서열번호 35를 포함하거나 이로 이루어진 VEGFR2 단백질에 특이적으로 결합한다. 일부 양태에서, 본원에 제공된 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 항원 결합 부분은 서열번호 34 또는 서열번호 35와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 VEGFR2 단백질에 특이적으로 결합한다.

[0093] 본 발명의 일부 양태에서, 항체 분자 또는 항원 결합 부분의 HCDR1은 서열 GFTFSSYMS(서열번호 1; WO2015/085847A1에 개시된 MAb005 쥐과 동물/인간화 항체 HCDR1; US2016/376367A1)을 배제할 수 있고/있거나, 항체 분자 또는 항원 결합 부분의 HCDR2는 서열 TISGGGANTYYPSVKG(서열번호 2; WO2015/085847A1에 개시된 MAb005 쥐과 동물/인간화 항체 HCDR2; US2016/376367A1)를 배제할 수 있고/있거나, 항체 분자 또는 항원 결합 부분의 HCDR3은 서열 QLYYFDY(서열번호 3; WO2015/085847A1에 개시된 MAb005 쥐과 동물/인간화 항체 HCDR3; US2016/376367A1)를 배제할 수 있다.

[0094] 본 발명의 일부 양태에서, 항체 분자 또는 항원 결합 부분의 LCDR1은 서열 LASQTIGTWLT(서열번호 9; WO2015/085847A1에 개시된 MAb005 쥐과 동물/인간화 항체 LCDR1; US2016/376367A1)을 배제할 수 있고/있거나, 항체 분자 또는 항원 결합 부분의 LCDR2는 서열 TATSLAD(서열번호 5; WO2015/085847A1에 개시된 MAb005 쥐과 동물/인간화 항체 LCDR2; US2016/376367A1)를 배제할 수 있고/있거나, 항체 분자 또는 항원 결합 부분의 LCDR3은 서열 QQVYSIPWT(서열번호 6; WO2015/085847A1에 개시된 MAb005 쥐과 동물/인간화 항체 LCDR3; US2016/376367A1)를 배제할 수 있다.

[0095] 일부 구현예에서, 본 발명의 항-PD1 항체는 인간 PD1 및 시노몰구스 원숭이 PD1 둘 모두에 대한 결합 특이성 및 친화도가 동등하도록 선택되었다(최대로 정확한 영장류 독성학 및 약동학 연구를 용이하게 하기 위함). 본원에 기술된 바와 같은 최적화된 항체 분자의 추가 정제는 PD1의 시노몰구스 원숭이 상동종(orthologue)에 대한 개선된 결합 및/또는 PD1/PD-L1 신호전달의 중화에 있어서 유지되거나 개선된 효능을 제공하였다. 특히, 이들 항체는 또한 인간 수용체 VEGFR2의 강력한 길항제가 됨으로써 MAb005(WO2015/085847A1; US2016/376367A1)와 비교하여 이들의 잠재적 임상 활성을 극적으로 개선시켰고 혈관종을 유도할 위험을 감소시켰다.

[0096] 일부 양태에서, 본 발명의 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 분자는 상응하는 쥐과 동물 CDR 또는 다른(예컨대, 프레임워크) 아미노산 위치에서 인간 생식선 치환의 최대 수를 반드시 가질 필요는 없다. 일부 구현예에서, "최대 인간화" 항체 분자는 항-PD1 또는 항-VEGFR2 결합 특성 및/또는 다른 바람직한 특징의 측면에서 "최대하게 최적화"될 필요가 없다.

[0097] 본 발명은 본원에서 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분의 아미노산 서열에 대한 변형을 포함한다. 예를 들어, 본 발명은, 활성 및/또는 친화도를 향상시키거나 감소시킨 변이체뿐만 아니라 이들의 특성에 유의한 영향을 미치지 않는 기능적으로 균등한 가변 영역 및 CDR을 포함하는 항체 분자 및 이의 상응하는 항원 결합 부분을 포함한다. 예를 들어, 아미노산 서열은 PD1 및 VEGFR2에 대한 원하는 결합 친화도를 갖는 항체를 수득하기 위해 돌연변이될 수 있다. 하나의 잔기에서 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드까지의 길이에 이르는 아미노- 및/또는 카르복실 말단 융합뿐만 아니라 단일 또는 다수의 아미노산 잔기의 서열 내 삽입을 포함하는 삽입이 고려된다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체 분자 또는 에피토프 태그에 융합된 항체 분자를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 혈액 순환에서 항체의 반감기를 증가시키는 효소 또는 폴리펩티드의 항체의 N-말단 또는 C-말단에 대한 융합을 포함한다.

[0098] 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분은 당질화된 폴리펩티드 및 비-당질화된 폴리펩티드뿐만 아니라, 예를 들어 상이한 당으로의 당질화, 아세틸화 및 인산화와 같은, 다른 번역 후 변형을 갖는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분은, 예를 들어 하나 이상의 아미노산 잔기를 추가, 제거 또는 대체하여 당질화 부위를 형성하거나 제거함으로써, 이러한 번역 후 변형을 변경하도록 돌연변이될 수 있다.

[0099] 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분은 항체에서 잠재적 단백질 분해 부위를 제거하기 위해, 예를 들어 아미노산 치환에 의해 변형될 수 있다.

[0100] 본 발명의 일부 구현예에서, PD1 및 VEGFR2 둘 모두에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원 결합 부분이

제공되고, 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하며, 여기에서:

- [0101] (a) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQGIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB02A03]
- [0102] (b) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB02B03]
- [0103] (c) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLS(서열번호 8)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB02D08]
- [0104] (d) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQTIGTWLT(서열번호 9)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB05G03]
- [0105] (e) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQTIGTWLT(서열번호 9)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB05E08]
- [0106] (f) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQGIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB01]
- [0107] (g) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB02]
- [0108] (h) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLG(서열번호 12)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB03]
- [0109] (i) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQGIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB04]
- [0110] (j) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB05]
- [0111] (k) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLS(서열번호 8)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06]
- [0112] (l) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.1]
- [0113] (m) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TASSLAD(서열번호 40)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.2]
- [0114] (n) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLAD(서열번호 41)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.3]
- [0115] (o) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및

QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, ASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.4]

- [0116] (p) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.5]
- [0117] (q) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TASSLAD(서열번호 40)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.6]
- [0118] (r) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, ASSLAD(서열번호 41)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.7]
- [0119] (s) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, ASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.8]
- [0120] (t) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 61)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, ASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.8.1]
- [0121] (u) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 61)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QVYYFDY(서열번호 64)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, ASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.8.2]
- [0122] (v) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 61)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 65)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, ASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.8.3]
- [0123] (w) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 61)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYADY(서열번호 66)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, ASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.8.4]
- [0124] (x) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 61)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 62)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, ASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.8.5]
- [0125] (y) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 61)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYYDY(서열번호 63)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, ASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.8.6]
- [0126] (z) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QVYYFDY(서열번호 64)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, ASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.8.7]
- [0127] (aa) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYADY(서열번호 66)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, ASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나; [MAB06.8.8]
- [0128] (bb) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYYDY(서열번호 63)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, ASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함한다. [MAB06.8.9]
- [0129] 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분이 본원에 개시되고, 여기에서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되, VH 영역 아미노산 서열은 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGANTYYPDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYFDYWGQGTITVTVSS(서열번호 13)를 포함하거나 이로 이루어진다.

- [0130] 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분이 본원에 개시되고, 여기에서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되, VH 영역은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고, VL 영역은 표 5 또는 표 8의 VL 영역 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하거나 이로 이루어진다.
- [0131] 일부 양태에서, PD1 및 VEGFR2 둘 모두에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원 결합 부분이 본원에 개시되고, 여기에서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하며, 여기에서:
- [0132] (a) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 14를 포함하거나;
- [0133] (b) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 15를 포함하거나;
- [0134] (c) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 16을 포함하거나;
- [0135] (d) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 17을 포함하거나;
- [0136] (e) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 18을 포함하거나;
- [0137] (f) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 19를 포함하거나;
- [0138] (g) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 20을 포함하거나;
- [0139] (h) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 21을 포함하거나;
- [0140] (i) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 22를 포함하거나;
- [0141] (j) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 23을 포함하거나;
- [0142] (k) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 24를 포함하거나;
- [0143] (l) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44를 포함하거나;
- [0144] (m) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45를 포함하거나;
- [0145] (n) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46을 포함하거나;
- [0146] (o) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0147] (p) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44를 포함하거나;
- [0148] (q) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45를 포함하거나;
- [0149] (r) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46을 포함하거나;
- [0150] (s) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0151] (t) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 67을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0152] (u) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 68을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0153] (v) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 69를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0154] (w) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 70을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0155] (x) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 71을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0156] (y) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 72를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0157] (z) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 73을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0158] (aa) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 74를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0159] (bb) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 75를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함한다.
- [0160] 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분이 본원에 개시되며, 여기에서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되,
- [0161] (a) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 14와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도

어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하거나;

[0174] (n) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하거나;

[0175] (o) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하거나;

[0176] (p) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하거나;

[0177] (q) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하거나;

[0178] (r) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하거나;

[0179] (s) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하다. 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체의 CDR 아미노산 서열은 인용된 서열 내의 CDR 아미노산 서열과 100% 동일한 반면, FR 아미노산 서열은 인용된 서열 내의 FR 아미노산 서열과 100% 미만으로 동일하다.

[0180] 일부 양태에서, 본원에 정의된 바와 같은 항체 또는 항원 결합 부분은 단리될 수 있다.

[0181] 본원에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 항원 결합 부분은 PD1 및 VEGFR2에 결합하기 위해 본원에 개시된 CDR 세트를 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 부분과 교차 경쟁할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공하고, 여기에서 항체 또는 항원 결합 부분은 PD1 및 VEGFR2에 대한 결합하기 위해 본원에 개시된 CDR 세트를 포함하는 항체 또는 항원 결합 부분과 교차 경쟁하며; (a) 완전한 생식선 인간 프레임워크 아미노산 서열을 포함하고; (b) 인간 PD1, 시노몰구스 PD1, 인간 VEGFR2 및 붉은 털 VEGFR2에 특이적으로 결합하고; (c) 인간 PD-L1에 대한 인간 PD1의 결합을 길항하고 인간 VEGF에 반응하여 인간 VEGFR2의 신호전달을 길항한다.

[0182] 일부 구현예에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 항원 결합 부분은 최소의 면역원성을 갖는다. 특정 경우에, 항체 또는 항원 결합 부분은 서열번호 1의 HCDR1, 서열번호 2의 HCDR2, 서열번호 3의 HCDR3, 서열번호 9의 LCDR1, 서열번호 5의 LCDR2, 및 서열번호 6의 LCDR3을 포함하는 항-PD1 항체와 비교하여 감소된 면역원성을 나타낸다. 일부 예에서, 항체 또는 항원 결합 부분의 면역원성 위험은 항체 또는 부분(예를 들어, 항체 또는 부분의 가변 영역)에서 T 세포 에피토프의 위치를 식별함으로써 가상적으로(*in silico*) 결정될 수 있다.

[0183] 예를 들어, 항체 또는 항원 결합 부분의 T 세포 에피토프는 iTope™을 사용하여 식별할 수 있다. iTope™은 인간 MHC 클래스 II에 대해 예측 불가능한 고친화도 결합을 갖는 펩티드에 대한 VL 및 VH 영역 서열을 분석하는 데 사용될 수 있다. 예측 불가능한 고친화성 MHC 클래스 II 결합 펩티드는 약물 단백질의 임상 면역원성에 대한 고 위험 지표인 T 세포 에피토프의 존재와 상관되는 것으로 여겨진다. iTope™ 소프트웨어는 34개의 인간 MHC 클래

스 II 대립유전자의 말단이 개방된 결합 홈 내에서 펩티드의 아미노산 측쇄와 특이적 결합 포켓(특히 포켓 위치; p1, p4, p6, p7 및 p9) 간의 유리한 상호작용을 예측한다. 이들 대립유전자는 특정 민족 모집단에서 가장 널리 발견되는 것에 기인하는 가중치 없이 전 세계적으로 발견된 가장 흔한 HLA-DR 대립유전자를 나타낸다. 20 개의 대립유전자는 '개방' p1 구성을 함유하고 14개는 위치 83에서의 글리신이 발린으로 대체되는 '폐쇄' 구성을 함유한다. 주요 결합 잔기의 위치는 시험 단백질 서열에 걸쳐 있는 8개의 아미노산에 의해 중첩되는 9량체 펩티드의 가상적 생성에 의해 달성된다. 이러한 과정은 MHC 클래스 II 분자에 결합하거나 결합하지 않는 펩티드를 높은 정확도로 성공적으로 구별한다.

[0184] 항체 또는 항원 결합 부분의 T 세포 에피토프는, 다른 단백질 서열의 시험관 내 인간 T 세포 에피토프 맵핑 분석에 의해 이전에 식별된 T 세포 에피토프에 대한 일치를 검색하기 위해 TCED™(T 세포 에피토프 데이터베이스™)을 사용하여 VL 및 VH 영역 서열을 분석함으로써 식별될 수 있다. TCED™은 무관한 단백질 및 항체 서열로부터 유래된 펩티드의 광범위한 데이터베이스(> 10,000 펩티드)에 대해 임의의 시험 서열을 검색하는 데 사용된다.

[0185] 일부 구현예에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 항원 결합 부분은 항체 또는 부분이 그의 서열에서 다음의 펩티드 중 하나 이상의 낮은 수를 가지기 때문에, 낮은 면역원성을 나타낼 수 있다: 고친화도 외래성('HAF' - 고 면역원성 위험), 저친화도 외래성('LAF' - 저 면역원성 위험), 및/또는 TCED+(TCED™ 데이터베이스에서 이전에 식별된 에피토프).

[0186] 일부 구현예에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 항원 결합 부분은 그의 서열에서 높은 생식선 에피토프(GE) 함량을 가질 수 있다. 일부 예에서, 항-PD1 항체 또는 항원 결합 부분은 그의 서열(예를 들어, VL 및/또는 VH 영역 서열)에서 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 (또는 20개 초과) 생식선 에피토프를 갖는다. 생식선 에피토프는 높은 MHC 클래스 II 결합 친화도를 갖는 인간 생식선 펩티드 서열로서 정의될 수 있다. 광범위한 생식선 펩티드를 사용하는 이전 연구에 의해 검증한 바와 같이, 생식선 에피토프 9량체 펩티드는 T 세포 내성으로 인해 면역원성 가능성이 있을 가능성이 낮다. 중요하게는, 이러한 생식선 v-도메인 에피토프(인간 항체 불변 영역에서 유사한 서열에 의해 추가로 보조됨)는 또한 항원 제시 세포의 막에서 MHC 클래스 II 점유를 위해 경쟁하여, T 세포 자극에 필요한 '활성화 임계값'을 달성하기에 충분한 외래 펩티드 제시의 위험을 감소시킨다. 따라서, 높은 GE 함량은 항체 치료제의 임상 개발에 유익하며 낮은 면역원성을 제공할 수 있다.

[0187] 특정 구현예에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 항원 결합 부분은 항체 Mab005의 가변 도메인 서열을 포함하는 항-PD1 항체와 비교하여 중쇄 및 경쇄 가변 영역 둘 모두의 프레임워크에서 발견되는 HAF, LAF 및/또는 TCED+ 에피토프의 감소된 수를 가질 수 있다(표 1 및 2). 일부 구현예에서, HAF, LAF 및/또는 TCED+ 에피토프는 항-PD1 항체 또는 항원 결합 부분의 VL 및/또는 VH 영역 서열에 존재하지 않는다.

[0188] 용어 "교차 경쟁하다", "교차 경쟁", "교차 차단하다", "교차 차단된" 및 "교차 차단"은 본 발명의 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체의 표적 PD1 및 VEGFR2(예를 들어, 인간 PD1, 인간 VEGFR2)에 대한 알로스테릭(allosteric) 조절을 통해 항체 또는 이의 부분이 직접적으로 또는 간접적으로 결합하는 것을 방해하는 능력을 의미하도록 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 항체 또는 이의 부분이 표적에 대한 또 다른 항체의 결합을 방해할 수 있는 정도, 따라서 이것이 본 발명에 따른 교차 차단 또는 교차 경쟁이라고 말할 수 있는지의 여부는 경쟁 결합 분석을 사용하여 결정할 수 있다. 결합 경쟁 분석의 일례는 균질 시간 분해 형광(Homogeneous Time Resolved Fluorescence, HTRF)이다. 하나의 특히 적절한 양적 교차 경쟁 분석은, 표적에 대한 결합의 관점에서 표지된(예를 들어, His 태그, 비오틴화, 또는 방사성 표지된) 항체 또는 이의 부분과 다른 항체 또는 이의 부분 간의 경쟁을 측정하기 위한 FACS- 또는 알파스크린(AlphaScreen)-기반 접근법을 사용한다. 일반적으로, 교차-경쟁 항체 또는 이의 부분은, 예를 들어, 교차 경쟁 분석에서 표적에 결합하여, 분석 동안 및 제2 항체 또는 이의 부분의 존재 하에 기록된 변위가, 본 발명에 따른 면역글로불린 단일 가변 도메인 또는 폴리펩티드가 주어진 양으로 존재하는 잠재적 교차 차단 항체 또는 이의 단편에 의한 최대 이론적 변위(예를 들어, 교차 차단이 필요한 차가운(예를 들어, 표지되지 않은) 항체 또는 이의 단편에 의한 변위)의 (예를 들어, FACS 기반 경쟁 분석에서) 최대 100%이다. 바람직하게는, 교차 경쟁 항체 또는 이의 부분은 10% 내지 100%, 또는 50% 내지 100%의 기록된 변위를 갖는다.

[0189] 본원에서 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 항원 결합 부분은 번역 후 변형(PTM) 부위, 예를 들어, 당질화 부위(N-연결 또는 O-연결), 탈아미노화 부위, 인산화 부위 또는 이성질체화/단편화 부위를 제거하는 하나 이상의 치환, 결실 및/또는 삽입부를 포함할 수 있다.

- [0190] 350 유형 이상의 PTM이 공지되어 있다. PTM의 주요 형태는 (K 및 R 잔기의) 인산화, 당질화(*N*- 및 *O*-연결), 스모일화, 팔미토일화, 아세틸화, 황산화, 미리스토일화, 프리닐화 및 메틸화를 포함한다. 특이적 PTM을 담당하는 추정 아미노산 부위를 식별하기 위한 통계적 방법은 당업계에 공지되어 있다(Zhou 등, 2016, Nature Protocols 1: 1318-1321 참조). 예를 들어 치환, 결실 및/또는 삽입에 의한 이러한 부위의 제거 후, (a) 결함 형성 및/또는 (b) PTM의 상실에 대한 선택적인 (실험적 및/또는 이론적인) 시험이 고려된다.
- [0191] 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분은 인간, 인간화 또는 키메라일 수 있다.
- [0192] 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분은 CDR이 삽입된 하나 이상의 인간 가변 도메인 프레임워크 스캐폴드를 포함할 수 있다. 예를 들어, VH 영역, VL 영역, 또는 VH 및 VL 영역 둘 모두는 하나 이상의 인간 프레임워크 영역 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0193] 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분은 이에 상응하는 HCDR 서열이 삽입된 IGHV3-7 인간 생식선 스캐폴드를 포함할 수 있다. 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분은 이에 상응하는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 아미노산 서열의 세트가 삽입된 IGHV3-7 인간 생식선 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함할 수 있다.
- [0194] 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분은 이에 상응하는 LCDR 서열이 삽입된 IGKV1-39 인간 생식선 스캐폴드를 포함할 수 있다. 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분은 이에 상응하는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열의 세트가 삽입된 IGKV1-39 인간 생식선 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함할 수 있다.
- [0195] 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분은 이에 상응하는 HCDR 서열이 삽입된 IGHV3-7 인간 생식선 스캐폴드 및 이에 상응하는 LCDR 서열이 삽입된 IGKV1-39 인간 생식선 스캐폴드를 포함할 수 있다. 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분은 이에 상응하는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 아미노산 서열의 세트가 삽입된 IGHV3-7 인간 생식선 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역, 및 이에 상응하는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열의 세트가 삽입된 IGKV1-39 인간 생식선 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함할 수 있다. HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열은 다음의 클론 중 어느 하나의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열일 수 있다: MAB02A03, MAB02B03, MAB02D08, MAB05G03, MAB05E08, MAB01, MAB02, MAB03, MAB04, MAB05, MAB06, MAB06.1, MAB06.2, MAB06.3, MAB06.4, MAB06.5, MAB06.6, MAB06.7, MAB06.8, MAB06.8.1, MAB06.8.2, MAB06.8.3, MAB06.8.4, MAB06.8.5, MAB06.8.6, MAB06.8.7, MAB06.8.8, 또는 MAB06.8.9(6개의 모든 CDR 서열은 동일한 클론에서 유래함).
- [0196] 일부 양태에서, 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분은 면역글로불린 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 면역글로불린 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 또는 IgA2이다. 추가의 구현예에서, 면역글로불린 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 또는 IgA2이다. 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분은 면역학적 불활성 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 야생형 인간 IgG1 불변 영역을 포함하는 면역글로불린 불변 영역, 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역, 또는 아미노산 치환 L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 야생형 인간 IgG2 불변 영역 또는 야생형 인간 IgG4 불변 영역을 포함하는 면역글로불린 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체는 표 6의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 면역글로불린 불변 영역을 포함할 수 있다. 표 6의 Fc 영역 서열은 CH1 도메인에서 시작된다. 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체는 인간 IgG4, 인간 IgG4(S228P), 인간 IgG2, 인간 IgG1, 인간 IgG1-3M 또는 인간 IgG1-4M의 Fc 영역의 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 불변 영역을 포함할 수 있다. 예를 들어, 인간 IgG4(S228P) Fc 영역은 야생형 인간 IgG4 Fc 영역과 비교하여 다음의 치환을 포함한다: S228P. 예를 들어, 인간 IgG1-3M Fc 영역은 야생형 인간 IgG1 Fc 영역과 비교하여 다음의 치환, L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 반면, 인간 IgG1-4M Fc 영역은 야생형 인간 IgG1 Fc 영역과 비교하여 다음 치환, L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함한다. 일부 양태에서, 면역글로불린 분자의 불변 영역의 아미노산 잔기의 위치는 EU 명명법에 따라 번호가 매겨진다(Ward 등, 1995 *Therap. Immunol.* 2:77-94). 일부 양태에서, 면역글로불린 불변 영역은 RDELТ(서열번호 36) 모티프 또는 REEM(서열번호 37) 모티프(표 6에서의 밑줄)를 포함할 수 있다. REEM(서열번호 37) 동종이형은 RDELТ(서열번호 36) 동종이형보다 작은 인간 모집단에서 발견된다. 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체는 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하는 면역글로불린 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체는 다음의 클론 중 어느 하나 및 표 6의 Fc 영역 아미노산 서열 중 어느 하나의 6개의 CDR 아미노산 서열을 포함할 수 있다: MAB02A03, MAB02B03, MAB02D08, MAB05G03, MAB05E08, MAB01, MAB02, MAB03, MAB04, MAB05, MAB06, MAB06.1, MAB06.2, MAB06.3, MAB06.4, MAB06.5, MAB06.6, MAB06.7, MAB06.8, MAB06.8.1, MAB06.8.2,

MAB06.8.3, MAB06.8.4, MAB06.8.5, MAB06.8.6, MAB06.8.7, MAB06.8.8, 또는 MAB06.8.9(6개의 모든 CDR 서열은 동일한 클론에서 유래함). 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체는 표 6의 Fc 영역 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 및 카파 경쇄 불변 영역 또는 람다 경쇄 불변 영역인 면역글로불린 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있다.

- [0197] 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분이 본원에 개시되며, 여기에서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역, 경쇄 가변(VL) 영역, 및 중쇄 불변 영역을 포함하되,
- [0198] (a) VH 영역 아미노산 서열은 GTFSSYMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQGIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0199] (b) VH 영역 아미노산 서열은 GTFSSYMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0200] (c) VH 영역 아미노산 서열은 GTFSSYMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLS(서열번호 8)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0201] (d) VH 영역 아미노산 서열은 GTFSSYMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQTIGTWLT(서열번호 9)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0202] (e) VH 영역 아미노산 서열은 GTFSSYMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQTIGTWLT(서열번호 9)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0203] (f) VH 영역 아미노산 서열은 GTFSSYMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQGIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0204] (g) VH 영역 아미노산 서열은 GTFSSYMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0205] (h) VH 영역 아미노산 서열은 GTFSSYMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLG(서열번호 12)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0206] (i) VH 영역 아미노산 서열은 GTFSSYMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQGIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0207] (j) VH 영역 아미노산 서열은 GTFSSYMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;

- [0208] (k) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLS(서열번호 8)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0209] (l) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0210] (m) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TASSLAD(서열번호 40)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0211] (n) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLAD(서열번호 41)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0212] (o) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0213] (p) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0214] (q) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TASSLAD(서열번호 40)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0215] (r) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLAD(서열번호 41)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0216] (s) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는 카파 경쇄 불변 영역 또는 람다 경쇄 불변 영역인 면역글로불린 경쇄 불변 영역을 추가로 포함한다.
- [0217] 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분이 본원에 개시되며, 여기에서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역, 경쇄 가변(VL) 영역, 및 중쇄 불변 영역을 포함하되,
- [0218] (a) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 14를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역; 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역; 또는 아미노산 치환 L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;
- [0219] (b) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 15를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함

는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;

- [0229] (1) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역; 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역; 또는 아미노산 치환 L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;
- [0230] (m) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역; 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역; 또는 아미노산 치환 L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;
- [0231] (n) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역; 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역; 또는 아미노산 치환 L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;
- [0232] (o) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역; 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역; 또는 아미노산 치환 L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;
- [0233] (p) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역; 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역; 또는 아미노산 치환 L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;
- [0234] (q) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역; 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역; 또는 아미노산 치환 L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;
- [0235] (r) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역; 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역; 또는 아미노산 치환 L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;
- [0236] (s) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역; 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역; 또는 아미노산 치환 L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함한다.
- [0237] 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분이 본원에 개시되며, 여기에서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역, 경쇄 가변(VL) 영역, 및 중쇄 불변 영역을 포함하되,
- [0238] (a) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 14를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0239] (b) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호

15를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;

- [0240] (c) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 16을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0241] (d) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 17을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0242] (e) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 18을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0243] (f) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 19를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0244] (g) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 20을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0245] (h) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 21을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0246] (i) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 22를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0247] (j) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 23을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0248] (k) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 24를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0249] (l) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0250] (m) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0251] (n) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0252] (o) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0253] (p) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0254] (q) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45를 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0255] (r) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하거나;
- [0256] (s) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하거나 이로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나 이로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함한다.
- [0257] 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체는 면역 효과기 null일 수 있다. 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 면역 효과기 기능을 유도하지 않으며, 선택적으로 면역 효과기 기능을 억제한다. 일부 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체는 인간 Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIIa 및 Fc γ RIIIb 수용체에 대한 측정 가능한 결합이 결합될 수 있지만, 인간 Fc γ RIIIb 수용체에 대한 결합을 유지하고, 선택적으로 인간 FcRn 수용체에 대한 결합을 유지할 수 있다. Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIIa 및 Fc γ RIIIb는 활성화 수용체의 예이다. Fc γ RIIIb는 억제 수용체의 예이다. FcRn은 재순환 수용체의 예이다. 일부 양태에서, 인간 Fc 수용체에 대한 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 결합 친화도는 BIACORE[®] 분석에 의해 측정될 수 있다. 일부 양태에서, 인간 Fc 수용체에 대한 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체의 결합을 연구하기 위해 균질 시간 분

해 형광(HTRF)이 사용될 수 있다. HTRF의 한 예에서, 인간 IgG1(야생형)은 전체 세트의 Fc 감마 수용체와 마찬가지로 표지된 다음, 조작된 Fc 단편을 갖는 항체가 적정 경쟁에 사용된다. 일부 양태에서, PD1-양성 및/또는 VEGFR2-양성 세포는 인간 백혈구 및 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체와 혼합될 수 있고, CDC, ADCC 및/또는 ADCP에 의한 세포 사멸이 측정될 수 있다. 일부 양태에서, 인간 IgG1-3M의 Fc 영역의 아미노산 서열을 포함하는 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체(표 6 참조)는 효과기 null이다. 일부 양태에서, 인간 IgG1-3M의 Fc 영역의 아미노산 서열을 포함하는 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체(표 6 참조)는 효과기 null이 아니다.

[0258] 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분은 Fab 단편, F(ab)₂ 단편, Fv 단편, 사량체 항체, 4가 항체, 다중특이적 항체(예를 들어, 2가 항체), 도메인-특이적 항체, 단일 도메인 항체, 단클론 항체 또는 융합 단백질일 수 있다. 일 구현예에서, 항체는 2개 이상의 항원 결합 도메인을 포함하는 다중특이적 항체일 수 있다. 일부 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은 PD1 및 VEGFR2에 특이적으로 결합하고, 제2 항원 결합 도메인은 PD1 또는 VEGFR2가 아닌 항원에 특이적으로 결합한다. 이들의 구성 및 용도에 대한 항체 분자 및 방법은, 예를 들어 Holliger & Hudson의 문헌(2005, Nature Biotechnol. 23(9): 1126-1136)에 기술되어 있다.

[0259] 본 발명의 또 다른 양태에서, 치료제에 연결된 본원에서 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분을 포함하는 면역접합체가 제공된다.

[0260] 적절한 치료제의 예는 세포독소, 방사성 동위원소, 화학요법제, 면역조절제, 항혈관형성제, 항증식제, 세포자멸-유도제, 세포증식억제제 및 세포 용해 효소(예를 들어, RNase)를 포함한다. 추가적인 치료제는 면역조절제, 항혈관형성제, 항증식제, 또는 세포자멸-유도제를 암호화하는 유전자와 같은 치료 핵산을 포함한다. 이들 약물 기술어는 상호 배타적이지 않으며, 따라서 치료제는 전술한 용어 중 하나 이상을 사용하여 기술될 수 있다.

[0261] 면역접합체에 사용하기 위한 적절한 치료제의 예는 탁산, 메이탄신, CC-1065 및 듀오카르미신, 칼리키마이신 및 다른 엔디인, 및 아우리스타틴을 포함한다. 다른 예는 항-엽산, 빈카 알칼로이드, 및 안트라시클린을 포함한다. 식물 독소, 다른 생리활성 단백질, 효소(즉, ADEPT), 방사성 동위원소, 감광제 또한 면역접합체에 사용될 수 있다. 또한, 접합체는 리포솜 또는 중합체와 같은 세포독성제로서 2차 담체를 사용하여 제조될 수 있으며, 적합한 세포독소는 세포의 기능을 억제하거나 방지하고/하거나 세포의 파괴를 초래하는 제제를 포함한다. 대표적인 세포독소는 항생제, 튜블린 중합의 억제제, DNA에 결합하여 이를 파괴하는 알킬화제, 및 단백질 키나아제, 포스포타아제, 국소이성화효소, 효소 및 시클린과 같은 필수 세포 단백질의 기능 또는 단백질 합성을 파괴하는 제제를 포함한다.

[0262] 대표적인 세포독소는, 독소루비신, 다우노루비신, 이다루비신, 아클라루비신, 조루비신, 미톡산트론, 에피루비신, 카루비신, 노갈라마이신, 메노가릴, 피타루비신, 발루비신, 시타라빈, 켐시타빈, 트리플루리딘, 안시타빈, 에노시타빈, 아자시티딘, 독시플루딘, 퀘토스타틴, 브록수딘, 카페시타빈, 클래드빈, 데시타빈, 플록수딘, 플루다라빈, 구제로틴, 퓨로마이신, 테가피, 티아조폰, 아다마이신, 시스플라틴, 카보플라틴, 시클로포스파미드, 다카르바진, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 미톡산트론, 블레오마이신, 메클로레타민, 프레드니손, 프로카바진, 메토크세이트, 플루로라실, 에토포시드, 탁솔, 탁솔 유사체, 플라틴, 예컨대 시스-플라틴 및 카보-플라틴, 미토마이신, 티오테파, 탁산, 빈크리스틴, 다우노루비신, 에피루비신, 악티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 타목시펜, 이다루비신, 둘라스타틴/오리스타틴, 헤미아스테린, 에스페라마이신 및 메이탄시노이드를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0263] 적절한 면역조절제는 종양에 대한 호르몬 작용을 차단하는 항-호르몬 및 사이토카인 생성을 억제하거나, 자체 항원 발현을 하향 조절하거나, MHC 항원을 마스킹하는 면역억제제를 포함한다.

[0264] 또한, 본원에서 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분을 암호화하는 핵산 분자가 제공된다. 핵산 분자는, (a) VH 영역 아미노산 서열; (b) VL 영역 아미노산 서열; 또는 (c) 본원에 기술된 바와 같은 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 VH 및 VL 영역 아미노산 서열 둘 모두를 암호화할 수 있다. 일부 양태에서, 본원에서 정의된 바와 같은 핵산 분자는 단리될 수 있다.

[0265] 본원에서 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자를 포함하는 벡터가 추가로 제공된다. 벡터는 발현 벡터일 수 있다.

[0266] 또한, 본원에서 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 숙주 세포는 재조합 숙주 세포일 수 있다. 일부 양태에서, 숙주 세포는 본원에 기술된 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 VH 영역 아미노산 서열 및 VL 영역 아미노산 서열 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 벡터를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 숙주 세포는 VH 영역 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 분자를 포

합하는 제1 벡터 및 본원에 기술된 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 VL 영역 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 제2 벡터를 포함할 수 있다.

- [0267] 추가 양태에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 및/또는 이의 항원 결합 부분을 생산하는 방법이 제공되며, 방법은 항체 및/또는 이의 항원 결합 부분의 발현 및/또는 생산을 초래하는 조건 하에서 본 발명의 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 숙주 세포 또는 배양물로부터 항체 및/또는 이의 항원 결합 부분을 단리하는 단계를 포함한다.
- [0268] 본 발명의 또 다른 양태에서, 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터를 포함하는 약학적 조성물이 제공된다.
- [0269] 대상체에서 면역 반응을 향상시키는 방법이 추가로 제공되며, 방법은 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0270] 추가의 양태에서, 대상체에서 암을 치료하거나 예방하는 방법이 추가로 제공되며, 방법은 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 암은 PD1 및/또는 VEGFR2의 발현 또는 과발현과 연관된다.
- [0271] 예를 들어, 암은 췌장암, 흑색종, 유방암, 폐암, 기관지암, 대장암, 전립선암, 위암, 난소암, 방광암, 뇌 또는 중추신경계 암, 말초신경계 암, 식도암, 자궁경부암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 신장암, 고환암, 담도암, 소장 또는 맹장암, 침샘암, 갑상선암, 부신암, 골육종, 연골육종, 또는 혈액 조직의 암일 수 있다.
- [0272] 본 발명은 또한, 암을 치료하기 위한 용도로서의 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 약학적 조성물을 제공한다.
- [0273] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 본원에서 정의된 바와 같은 본 발명의 용도 또는 치료 방법을, 제2 치료제, 예를 들어 항암제와 조합된 조합에서 별개로, 순차적으로 또는 동시에 사용하기 위한, 항체 분자, 또는 이의 항원 결합 부분, 또는 면역접합체, 또는 핵산 분자, 또는 벡터를 제공한다.
- [0274] 추가의 양태에서, 암을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서의, 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 약학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0275] 본 발명은 또한, 대상체에서 감염성 또는 면역 질환을 치료하거나 예방하는 방법을 제공하며, 방법은 본원에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 항원 결합 부분, 또는 본원에 정의된 바와 같은 면역접합체, 또는 본원에 정의된 바와 같은 핵산 분자, 또는 본원에 정의된 바와 같은 벡터, 또는 본원에 정의된 바와 같은 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0276] 일 구현예에서, 본 발명은 치료에 사용하기 위해 본원에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 제공한다.
- [0277] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체 또는 희석제를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 부형제는, 이차 반응을 야기하지 않고, 예를 들어, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 분자의 투여의 촉진, 신체에서의 수명 및/또는 그 효능의 증가, 또는 용액에서의 용해도의 증가를 가능하게 하는 약학적 조성물 내로 투입되는 화합물 또는 화합물의 조합일 수 있다. 이들 약학적으로 허용 가능한 비히클은 공지되어 있고, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 분자의 투여 모드의 함수로서 당업자에 의해 조정될 것이다.
- [0278] 일부 구현예에서, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 분자는 투여 전의 재구성을 위해 동결건조된 형태로 제공될 수 있다. 예를 들어, 동결건조된 항체 분자는 개체에게 투여되기 전에 멸균수에서 재구성되고 식염수와 혼합될 수 있다.

다.

- [0279] 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 분자는 일반적으로 항체 분자에 더하여 적어도 하나의 성분을 포함할 수 있는 약학적 조성물의 형태로 투여될 것이다. 따라서, 약학적 조성물은 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 분자에 추가하여, 약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 완충제, 안정화제 또는 당업자에게 공지된 다른 물질을 포함할 수 있다. 이러한 물질은 비독성이어야 하며 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 분자의 효능을 방해하지 않아야 한다. 담체 또는 다른 물질의 정확한 성질은, 이하에서 논의되는 바와 같이, 볼루스, 주입, 주사 또는 임의의 다른 적절한 경로일 수 있는 투여 경로에 따라 달라질 것이다.
- [0280] 예를 들어 주사에 의한, 예를 들어 피하 투여 또는 정맥 내 투여와 같은 비경구 투여의 경우, 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 분자를 포함하는 약학적 조성물은 발열원이 없고 적절한 pH, 등장성 및 안정성을 갖는 비경구적으로 허용 가능한 수용액의 형태일 수 있다. 당업자는, 예를 들어, 염화나트륨 주사제, 링거 주사제, 젯산화 링거 주사제와 같은 등장성 비히클을 사용하여 적절한 용액을 양호하게 제조할 수 있다. 보존제, 안정제, 완충제, 항산화제 및/또는 다른 첨가제가 필요에 따라 사용될 수 있으며, 이는 다음을 포함한다: 인산염, 구연산염 및 다른 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌과 같은 항산화제; 옥타데실디메틸벤질 암모늄 염화물과 같은 보존제; 헥사메토늄 염화물; 벤잘코늄 염화물; 벤제토늄 염화물; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3'-벤탄올; m-크레졸; 저분자량 폴리펩티드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신과 같은 아미노산; 포도당, 만노스 또는 텍스트린을 포함하는 당당류, 이당류 및 다른 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨과 같은 당류; 나트륨과 같은 염 형성 카운터-이온; 금속 착물(예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 TWEEN™, PLURONICS™ 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 비이온성 계면활성제.
- [0281] 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 분자를 포함하는 약학적 조성물은 치료 대상 병태에 따라 동시에 또는 순차적으로, 단독으로 투여되거나 다른 치료제와 조합하여 투여될 수 있다.
- [0282] 본원에 기술된 바와 같은 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 분자는 선제적 또는 예방적 치료(예를 들어, 개체에서 발생하는 병태의 위험을 감소시키기 위한 개체의 병태 발병 전의 치료; 발병의 지연; 또는 발병 후 중증도 감소)를 포함하는 인간 또는 동물 신체의 치료 방법에 사용될 수 있다. 치료 방법은 항-PD1 및 항-VEGFR2 항체 분자를 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0283] 투여는 일반적으로 환자에게 이점을 보여주기 충분한 "치료적 유효량"으로 투여된다. 이러한 이점은 적어도 하나의 증상의 적어도 개선일 수 있다. 투여된 실제 양, 및 투여 속도 및 시간 일정은 치료 대상, 치료 중인 특정 포유동물, 개별 환자의 임상 상태, 장애의 원인, 성분의 전달 부위, 투여 방법, 투여 일정 및 의료인에게 알려진 다른 인자의 성질 및 중증도에 따라 달라질 것이다. 투여량의 결정 등과 같은 치료제의 처방은 의료인 및 다른 의사의 책임이며, 증상의 중증도 및/또는 치료 중인 질환의 진행에 따라 달라질 수 있다. 항체 분자의 적절한 투여량은 당업계에 공지되어 있다(Ledermann J.A. 등, 1991, *Int. J. Cancer* 47: 659-664; Bagshawe K.D. 등, 1991, *Antibody, Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals* 4: 915-922). 특정 투여량은 본원에 표시되거나, 투여되는 약제의 유형에 따라 *Physician's Desk Reference*(2003)가 사용될 수 있다. 항체 분자의 치료적 유효량 또는 적절한 투여량은 동물 모델에서 그의 시험관 내 활성 및 생체 내 활성을 비교함으로써 결정될 수 있다. 마우스 및 다른 시험 동물에서의 유효 투여량을 인간에게 외삽하는 방법이 알려져 있다. 정확한 투여량은, 항체가 예방용인지 또는 치료용인지의 여부, 치료 대상 영역의 크기 및 위치, 항체의 정확한 성질(예를 들어, 전체 항체, 단편) 및 항체에 부착된 임의의 검출 가능한 표지 또는 다른 분자의 성질을 포함하는, 다수의 인자에 따라 달라질 것이다.
- [0284] 일반적인 항체 투여량은 전신 적용의 경우 100 µg 내지 1 g 범위이고, 국소 적용의 경우 1 µg 내지 1 mg 범위일 것이다. 초기에 더 높은 부하 투여량에 이어서 하나 이상의 더 낮은 투여량이 투여될 수 있다. 일반적으로, 항체는 전체 항체, 예를 들어 IgG1 또는 IgG4 이소형일 것이다. 이는 성인 환자의 단일 치료에 대한 투여량이며, 어린이 및 유아에 대해 비례적으로 조정될 수 있고, 또한 다른 항체 포맷에 대해서도 분자량에 비례하여 조정될 수 있다. 치료는 의사의 재량에 따라 매일, 주 2회, 매주 또는 매월 간격으로 반복될 수 있다. 개체에 대한 치료 일정은 항체 조성물의 약동학 및 약력학적 특성, 투여 경로 및 치료되는 병태의 성질에 따라 달라질 수 있다.
- [0285] 치료는 주기적일 수 있고, 투여 사이의 기간은 약 2주 이상, 예를 들어 약 3주 이상, 약 4주 이상, 약 1개월 이상, 약 5주 이상, 또는 약 6주 이상일 수 있다. 예를 들어, 치료는 2 내지 4주마다 또는 4 내지 8주마다 이루어

질 수 있다. 치료는 수술 전 및/또는 후에 주어질 수 있고/있거나, 수술 치료 또는 침습적 시술의 해부학적 부위에 직접 투여되거나 적용될 수 있다. 적절한 제형 및 투여 경로는 위에 기술되어 있다.

- [0286] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-PD1 및 항-VEGF 항체 분자는 피하 주사로서 투여될 수 있다. 피하 주사는 예를 들어 장기간의 예방/치료를 위해 자동 주사기를 사용하여 투여될 수 있다.
- [0287] 일부 구현예에서, 항-PD1 및 항-VEGF 항체 분자의 치료 효과는 투여량에 따른 여러 반감기 동안 지속될 수 있다. 예를 들어, 항-PD1 및 항-VEGF 항체 분자의 단일 투여량의 치료 효과는 개체에서 1개월 이상, 2개월 이상, 3개월 이상, 4개월 이상, 5개월 이상, 또는 6개월 이상 동안 지속될 수 있다.
- [0288] 또한, 본 발명은 인간 PD1 및 인간 VEGFR2, 그리고 선택적으로 시노물구스 원숭이 PD1 및 원숭이 VEGFR2에 특이적으로 결합하는 항체 분자, 또는 이의 항원 결합 부분을 생산하는 방법을 제공하며, 방법은 다음의 단계를 포함한다:
 - [0289] (1) 비인간 공급원으로부터 인간 v-도메인 프레임워크 내로 항-PD1 CDR을 접목시켜 인간화 항-PD1 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분을 생산하는 단계;
 - [0290] (2) CDR에서 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 인간화 항-PD1 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분의 클론 라이브러리를 생성하는 단계;
 - [0291] (3) 인간 PD1에 대한 결합 및 선택적으로 시노물구스 원숭이 PD1, 인간 VEGFR2 및 붉은털 원숭이 VEGFR2에 대한 결합에 대한 라이브러리를 스크리닝하는 단계;
 - [0292] (4) 인간 PD1에 대한 결합 특이성을 가지며, 선택적으로 시노물구스 원숭이 PD1, 인간 VEGFR2 및 붉은털 원숭이 VEGFR2에 대한 결합 특이성을 또한 갖는 클론을 스크리닝하는 단계 (3)으로부터 선택하는 단계;
 - [0293] (5) 단계 (4)로부터 선택된 클론으로부터, 인간 PD1에 특이적으로 결합하고, 선택적으로 시노물구스 원숭이 PD1, 인간 VEGFR2 및 붉은털 원숭이 VEGFR2에 또한 결합하는 항체 분자, 또는 이의 항원 결합 부분을 생산하는 단계; 및
 - [0294] (6) 항체의 분자 품질을 더욱 개선할 수 있는 가능성을 확인하기 위해 CDR에서 생식세포 발생 시험을 수행하는 단계.
- [0295] 방법은 단계 (4)에서 선택된 클론에 기초하여, 예를 들어, 단계 (4)에서 선택된 클론의 CDR의 특정 위치에서의 추가적인 탐색적 돌연변이 유발에 기초하여, 추가적인 클론을 생산하여 인간화를 향상시키고/시키거나, 인간 T 세포 에피토프 함량을 최소화시키고/시키거나, 단계(5)에서 생산된 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분에서의 제조 특성을 개선하는 추가의 단계를 포함할 수 있다.
- [0296] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "PD1"은 PD1의 생물학적 활성의 적어도 일부를 보유하는 예정 세포 사멸 단백질 1 및 이의 변이체를 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, PD1은 인간, 랫트, 마우스 및 닭을 포함하는 천연 서열 PD1의 모든 종을 포함할 수 있다. 용어 "PD1"은 인간 PD1의 변이체, 이소형 및 중 상동체를 포함하여 사용될 수 있다.
- [0297] 일부 구현예에서, "PD1"은 PD1의 야생형 인간 형태를 지칭한다. 본 발명의 항체는 인간 이외의 종으로부터의 PD1, 특히 시노물구스 원숭이(*Macaca fascicularis*)로부터의 PD1과 교차 반응할 수 있다. 인간 및 시노물구스 PD1 아미노산 서열의 예는 표 7에 제공되어 있다. 특정 구현예에서, 항체는 인간 PD1에 대해 완전히 특이적일 수 있고, 비인간 교차 반응성을 나타내지 않을 수 있다.
- [0298] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "VEGFR2"는 VEGFR2의 생물학적 활성의 적어도 일부를 보유하는 혈관 내피 성장 인자 수용체 2(Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2)(KDR 또는 FLK1로도 알려짐) 및 이의 변이체를 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, VEGFR2는 인간, 랫트, 마우스 및 닭을 포함하는 천연 서열 VEGFR2의 모든 종을 포함할 수 있다. 용어 "VEGFR2"는 인간 VEGFR2의 변이체, 이소형 및 중 상동체를 포함하여 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, "VEGFR2"는 VEGFR2의 야생형 인간 형태를 지칭한다. 본 발명의 항체는 인간 이외의 종으로부터의 VEGFR2, 특히 붉은털 원숭이(*Macaca mulatta*) 유래의 VEGFR2와 교차 반응할 수 있다. 인간 및 붉은털 VEGFR2 아미노산 서열의 예는 표 7에 제공되어 있다. 특정 구현예에서, 항체는 인간 VEGFR2에 대해 완전히 특이적일 수 있고, 비인간 교차 반응성을 나타내지 않을 수 있다.
- [0299] 본원에서 사용되는 바와 같이, 본 발명의 항체 또는 "항-PD1 및 항-VEGFR2 길항제 항체"("항-PD1 및 항-VEGFR2 항체"로 상호교환 가능하게 지칭됨)의 맥락에서 사용되는 "길항제"는 PD1 및 VEGFR2에 결합하여 PD1 및 VEGFR2

생물학적 활성 및/또는 PD1 및/또는 VEGFR2 신호에 의해 매개되는 하류 경로(들)를 억제할 수 있는 항체를 지칭한다. 항-PD1 및 항-VEGFR2 길항제 항체는 PD1 및 VEGFR2에 대한 세포 반응의 수용체 결합 및/또는 유도과 같은, PD1 및/또는 VEGFR2 신호전달에 의해 매개되는 하류 경로를 포함하여, PD1 및 VEGFR2 생물학적 활성을(유의하게) 차단, 길항, 억제 또는 감소시킬 수 있는 항체를 포함한다. 본 발명의 목적을 위해, 용어 "항-PD1 및 항-VEGFR2 길항제 항체"는 모든 용어, 제목, 및 기능적 상태 및 특성을 포함하는 것으로 명백히 이해될 것이며, 이로써 PD1 및 VEGFR2 자체, 및 PD1 및 VEGFR2 생물학적 활성(T 세포의 항종양 세포 활성의 활성화를 억제하는 능력을 포함하나 이에 한정되지 않음), 또는 활성 또는 생물학적 활성의 결과는 의미 있는 정도로 실질적으로 무효화, 감소 또는 중화된다.

[0300] 항체가 다른 수용체에 결합하는 것보다 PD1 또는 VEGFR2와 더 큰 친화도, 결합력으로 보다 용이하고/하거나 더 긴 기간으로 결합하는 경우, 항체는 "특이적으로 결합하거나", "특이적으로 상호작용하거나", "우선적으로 결합하거나", "결합하거나", "상호작용"한다.

[0301] "항체 분자"는 면역글로불린 분자의 가변 영역에 위치한 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해, 탄수화물, 폴리뉴클레오티드, 지질, 폴리펩티드 등과 같은 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 면역글로불린 분자이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체 분자"는, 온전한 다클론 또는 단클론 항체뿐만 아니라, 임의의 항원 결합 단편(예를 들어, "항원 결합 부분") 또는 이의 단쇄, 항체를 포함하는 융합 단백질, 및 제한 없이 예를 들어, scFv, 단일 도메인 항체(예를 들어, 상어 및 카멜리드 항체), 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv를 포함하는 항원 인식 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 구성을 포함한다.

[0302] "항체 분자"는 IgG, IgA, 또는 IgM(또는 이의 하위 부류)과 같은 임의의 부류의 항체를 포함하며, 항체는 임의의 특정 부류일 필요는 없다. 중쇄 불변 영역의 항체 아미노산 서열에 따라, 면역글로불린은 상이한 부류로 배정될 수 있다. 면역글로불린에는 5가지 주요 부류, IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM가 있고, 이들 중 몇몇은 하위 부류(이소형), 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 추가로 분류될 수 있다. 면역글로불린의 상이한 부류에 상응하는 중쇄 불변 영역은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 지칭된다. 면역글로불린의 상이한 부류의 서브유닛 구조 및 3차원 구성은 공지되어 있다.

[0303] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어, 항체 분자의 "항원 결합 부분"은 PD1에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 온전한 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항체 분자의 항원 결합 기능은 온전한 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다. 항체 분자의, 용어 "항원 결합 부분" 내에 포함된 결합 단편의 예는, Fab; Fab'; F(ab')₂; VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; 항체의 단일 아암의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편; 단일 도메인 항체(dAb) 단편, 및 단리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다.

[0304] 용어 "Fc 영역"은 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는 데 사용된다. "Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역 또는 변이체 Fc 영역일 수 있다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 다양할 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 일반적으로 Cys226 위치에서의 아미노산 잔기로부터, 또는 Pro230으로부터 이의 카르복실-말단까지 신장되는 것으로 정의된다. Fc 영역의 잔기 번호는 Kabat에서와 같이 EU 인덱스의 번호이다. 면역글로불린의 Fc 영역은 일반적으로 2개의 불변 도메인, CH2 및 CH3을 포함한다. 당업계에 공지된 바와 같이, Fc 영역은 이량체 또는 단량체 형태로 존재할 수 있다.

[0305] 항체의 "가변 영역"은 항체 경쇄의 가변 영역 또는 항체 중쇄의 가변 영역을 단독으로 또는 조합하여 지칭한다. 당업계에 공지된 바와 같이, 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 각각 초가변 영역이라고도 알려진 3개의 상보성 결정 영역(CDR)에 의해 연결된 4개의 프레임워크 영역(FR)으로 구성되며, 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다. 예를 들어, 항체를 인간화하거나 최적화하는 경우에서 CDR의 측면에 FR을 선택하는 경우, 동일한 정규 부류의 CDR 서열을 함유하는 항체로부터의 FR이 바람직하다.

[0306] 본 출원에서 사용된 CDR 정의는, 면역글로불린 레파토리 분석 및 단리된 항체 및 그의 항원과의 공결정의 구조적 분석의 조합을 기반으로 하는, 이 분야에서 생성된 많은 이질적이고 종종 상충되는 방식에 사용된 도메인을 포함한다(Swindells 등의 리뷰, 2016, abYsis: Integrated Antibody Sequence and Structure-Management, Analysis, and Prediction. J Mol Biol. [PMID: 27561707; Epub 22 August 2016] 참조). 본원에 사용된 CDR 정의("통합" 정의)는 이러한 모든 이전 통찰의 교시를 포함하고, 표적 결합 상보성을 잠재적으로 매개하는 전체 잔기 환경을 샘플링하는 데 필요한 모든 적절한 루프 위치를 포함한다.

[0307] 표 1은 본원에 정의된 바와 같은 CDR을 갖는 MAb005 인간화 항-PD1 항체의 VL 도메인의 아미노산 서열을 나타낸

다. 표 2는 본원에 정의된 바와 같은 CDR을 갖는 Mab005 인간화 항-PD1 항체의 VH 도메인의 아미노산 서열을 나타낸다.

[0308] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "보존적 치환"은 기능적 활성을 유의한 정도로 유해하게 변화시키지 않는 또 다른 아미노산으로 아미노산을 치환하는 것을 지칭한다. "보존적 치환"의 바람직한 예는, 다음의 BLOSUM 62 치환 매트릭스에서 값이 ≥ 0 인 다른 아미노산으로 하나의 아미노산을 치환하는 것이다(Henikoff & Henikoff, 1992, PNAS 89: 10915-10919 참조):

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	4	-1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	1	0	-3	-2	0
R	-1	5	0	-2	-3	1	0	-2	0	-3	-2	2	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	-3
N	-2	0	6	1	-3	0	0	0	1	-3	-3	0	-2	-3	-2	1	0	-4	-2	-3
D	-2	-2	1	6	-3	0	2	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	-1	-4	-3	-3
C	0	-3	-3	-3	9	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
Q	-1	1	0	0	-3	5	2	-2	0	-3	-2	1	0	-3	-1	0	-1	-2	-1	-2
E	-1	0	0	2	-4	2	5	-2	0	-3	-3	1	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	6	-2	-4	-4	-2	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
H	-2	0	1	-1	-3	0	0	-2	8	-3	-3	-1	-2	-1	-2	-1	-2	-2	2	-3
I	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	4	2	-3	1	0	-3	-2	-1	-3	-1	3
L	-1	-2	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	2	4	-2	2	0	-3	-2	-1	-2	-1	1
K	-1	2	0	-1	-3	1	1	-2	-1	-3	-2	5	-1	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
M	-1	-1	-2	-3	-1	0	-2	-3	-2	1	2	-1	5	0	-2	-1	-1	-1	-1	1
F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	6	-4	-2	-2	1	3	-1
P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	-2
S	1	-1	1	0	-1	0	0	0	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	4	1	-3	-2	-2
T	0	-1	0	-1	-1	-1	-1	-2	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	1	5	-2	-2	0
W	-3	-3	-4	-4	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-1	1	-4	-3	-2	11	2	-3
Y	-2	-2	-2	-3	-2	-1	-2	-3	2	-1	-1	-2	-1	3	-3	-2	-2	2	7	-1
V	0	-3	-3	-3	-1	-2	-2	-3	-3	3	1	-2	1	-1	-2	-2	0	-3	-1	4.

[0309] 용어 "단클론 항체"(Mab)는 예를 들어, 임의의 진핵, 원핵 또는 파지 클론을 포함하는 단일 카피 또는 클론으로부터 유래된 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 지칭하며, 이를 생산하는 방법을 지칭하지는 않는다. 바람직하게는, 본 발명의 단클론 항체는 균질하거나 실질적으로 균질한 집단에 존재한다.

[0311] "인간화" 항체 분자는 비인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 사슬, 또는 이의 단편(예컨대, Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 항체의 다른 항원 결합 하위 서열)인 비인간(예를 들어, 쥐와 동물) 항체 분자의 형태, 또는 이의 항원 결합 부분을 지칭한다. 인간화 항체는 수용자의 CDR로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 용량을 갖는 마우스, 랫트 또는 토끼와 같은 비인간 종(공여자 항체)의 CDR로부터의 잔기로 대체되는 인간 면역글로불린(수용체 항체)일 수 있다.

[0312] "인간 항체 또는 완전한 인간 항체"는 인간 항체 유전자를 가진 유전자이식 마우스 또는 인간 세포로부터 유래된 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분을 지칭한다.

[0313] 용어 "키메라 항체"는 가변 영역 서열이 하나의 종으로부터 유래되고 불변 영역 서열이 다른 종, 예컨대 가변 영역 서열이 마우스 항체로부터 유래되고 불변 영역 서열이 인간 항체로부터 유래되는 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분을 지칭하도록 의도된다.

[0314] "항체-약물 접합체" 및 "면역접합체"는 PD1 및 VEGFR2에 결합하고 세포독성제, 세포증식 억제제 및/또는 치료제에 접합되는 항체 유도체를 포함하는 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분을 지칭한다.

[0315] 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분은 당업계에 공지된 기술, 예를 들어 재조합 기술, 파지 디스플레이 기술, 합성 기술 또는 이러한 기술 또는 당업계에 쉽게 알려진 다른 기술의 조합을 사용하여 생산될 수 있다.

[0316] 용어 "단리된 분자"(여기에서, 분자는 예를 들어, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 또는 항체임)는 그 유래 또는 유도원에 의해, (1) 그 천연 상태에서 이를 동반하는 자연적으로 연관된 성분과 연관되지 않거나, (2) 동일한 종으로부터의 다른 분자가 실질적으로 없거나, (3) 상이한 종으로부터의 세포에 의해 발현되거나, (4) 자연에서 발생하지 않는 분자이다. 따라서, 화학적으로 합성되거나, 자연적으로 기원하는 세포와 상이한 세포계에서 발현되는 분자는 그의 자연적으로 연관된 성분으로부터 "단리된" 것이다. 분자는 또한 당업계에 공지된 정제 기술을

사용하여 단리함으로써 자연적으로 연관된 성분이 실질적으로 없게 될 수 있다. 분자 순도 또는 균질성은 당업계에게 공지된 다수의 수단으로 분석될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩티드 샘플의 순도는 당업계에 공지된 기술을 사용하여 폴리펩티드를 시각화할 수 있도록 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 및 겔의 염색을 사용하여 분석될 수 있다. 특정 목적을 위해, 더 높은 해상도는 HPLC 또는 정제용으로 당업계에 공지된 다른 수단을 사용함으로써 제공될 수 있다.

- [0317] 용어 "에피토프"는 항체 분자의 항원 결합 영역 중 하나 이상에서 항체 분자 또는 이의 항원 결합 부분에 의해 인식되고 이에 의해 결합될 수 있는 분자의 부분을 지칭한다. 에피토프는 일차 2차 또는 3차 단백질 구조의 정의된 영역으로 이루어질 수 있고, 항체의 항원 결합 영역 또는 이의 항원 결합 부분에 의해 인식되는 표적의 2차 구조 단위 또는 구조 도메인의 조합을 포함한다. 에피토프는 마찬가지로 아미노산 또는 당 측쇄와 같은 분자의 정의된 화학적 활성 표면 기로 구성될 수 있고, 특이적 3차원 구조적 특성뿐만 아니라 특이적 전하 특성을 갖는다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항원 에피토프"는, 예를 들어, 종래의 면역분석법, 항체 경쟁 결합 분석법 또는 x-선 결정학 또는 관련 구조적 결정 방법(예를 들어 NMR)에 의해 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 결정되는 바와 같은 항체 분자가 특이적으로 결합할 수 있는 폴리펩티드의 일부로서 정의된다.
- [0318] 용어 "결합 친화도" 또는 " K_D "는 특정 항원-항체 상호작용의 해리 속도를 지칭한다. K_D 는 결합 속도 또는 "온-속도(k_{on})"에 대한 "오프 속도(k_{off})"라고도 하는 해리 속도의 비율이다. 따라서, K_D 는 k_{off} / k_{on} 과 동일하고, 몰 농도(M)로서 표현된다. 이는 K_D 가 작을수록 결합 친화도가 더 강력하다는 것을 의미한다. 따라서, 1 μ M의 K_D 는 1 nM의 K_D 와 비교하여 약한 결합 친화도를 나타낸다. 항체에 대한 K_D 값은 당업계에 잘 확립된 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 항체의 K_D 를 결정하기 위한 하나의 방법은, 일반적으로 Biacore[®] 시스템과 같은 바이오센서 시스템을 사용하는 표면 플라즈몬 공명(SPR)을 사용하는 것이다.
- [0319] 용어 "효능"은 생물학적 활성의 측정치이며, 본원에 기술된 바와 같은 PD1 또는 VEGFR2 활성 분석에서 측정된 활성의 50%를 억제하기 위한 IC₅₀ 또는 항원 PD1 또는 VEGFR2에 대한 항체 또는 항체 약물 접합체의 유효 농도로 지정될 수 있다.
- [0320] 본원에 사용된 "유효량" 또는 "치료적 유효량"이라는 구절은 원하는 치료 결과를 달성하는 데 필요한 양(투여량 및 투여 기간, 및 투여 수단에 따른 양)을 지칭한다. 유효량은 대상체에게 치료적 이점을 부여하기 위해 필요한 활성제의 적어도 최소량이지만, 독성량 미만인 양이다.
- [0321] 본 발명의 항체 분자의 생물활성과 관련하여 본원에서 사용되는 용어 "억제" 또는 "중화"는, 예를 들어, PD1 또는 VEGFR2에 대한 항체의 생물학적 활성 또는 결합 상호작용을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 억제되는 진행 또는 중증도에 대해 실질적으로 길항, 방지, 예방, 억제, 둔화, 파괴, 제거, 감소 또는 역전하는 항체의 능력을 의미한다.
- [0322] "숙주 세포"는 폴리뉴클레오티드 삽입체의 혼입을 위한 벡터(들)의 수용자일 수 있거나 수용자였던 개별 세포 또는 세포 배양물을 포함한다. 숙주 세포는 단일 숙주 세포의 자손을 포함하며, 자손은 자연적, 우발적 또는 고의적 돌연변이로 인해 원래의 부모 세포와 반드시 완전히 (형태 또는 게놈 DNA 보체에서) 동일하지 않을 수 있다. 숙주 세포는 본 발명의 폴리뉴클레오티드(들)로 생체 내 형질감염된 세포를 포함한다.
- [0323] 본원에서 사용되는 바와 같이, "벡터"는 숙주 세포에서 하나 이상의 관심 유전자(들) 또는 서열(들)을 전달하고, 바람직하게는 발현할 수 있는 작제물을 의미한다. 벡터의 예는, 바이러스 벡터, 네이키드 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 플라스미드, 코스미드 또는 파지 벡터, 양이온성 응결제와 연관된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 리포솜에 캡슐화된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 및 생산자 세포와 같은 특정 진행 세포를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0324] 본원에서 사용되는 바와 같이, 달리 명시되지 않는 한, 용어 "치료하는"은 이러한 용어가 적용되는 장애 또는 병태, 또는 이러한 장애 또는 병태의 하나 이상의 증상의 진행을 역전, 완화, 억제, 지연시키거나, 개시를 지연시키거나, 또는 예방하는 것을 의미한다. 본원에서 사용된 용어 "치료"는 달리 명시되지 않는 한, 위에서 정의된 바와 같은 치료 행위를 지칭한다. 용어 "치료하는"은 또한 대상체의 보조 및 신보조 치료를 포함한다. 의심의 여지를 없애기 위해, 본원에서 "치료"에 대한 지칭은 근치적, 완화적 및 예방적 치료에 대한 지칭을 포함한다. 의심의 여지를 없애기 위해, 본원에서 "치료"에 대한 지칭은 또한 근치적, 완화적 및 예방적 치료에 대한 지칭을 포함한다.

- [0325] 본원에서 구현예가 용어 "포함하는"으로 기술되는 경우, 그렇지 않으면 "구성하는" 및/또는 "본질적으로 구성되는"의 관점에서 기술된 유사한 구현예가 또한 제공된다는 것으로 이해된다.
- [0326] 본 발명의 양태 또는 구현예가 마쿠쉬(Markush) 그룹 또는 다른 그룹의 대안의 관점에서 기술되는 경우, 본 발명은 전체로서 열거된 전체 그룹, 개별적으로 그룹의 각각의 구성원, 및 주요 그룹의 모든 가능한 하위 그룹뿐만 아니라, 하나 이상의 그룹 구성원이 없는 주요 그룹을 포함한다. 본 발명은 또한 청구된 발명에서의 임의의 그룹 구성원 중 하나 이상을 명시적으로 배제하는 것을 고려한다.
- [0327] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 상충되는 경우, 정의를 포함하는 본 명세서를 우선으로 한다. 본 명세서 및 청구범위 전반에 걸쳐, 단어 "포함하다" 또는 "포함하는" 또는 "포함하고 있는"과 같은 변형은, 언급된 정수 또는 정수의 군을 포함하지만 임의의 다른 정수 또는 정수의 군을 배제하지 않는 것을 암시하는 것으로 이해될 것이다. 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수형을 포함하고 복수 용어는 단수형을 포함한다. 용어 "예" 또는 "예를 들어"에 따르는 임의의 예(들)는 완전한 또는 제한적인 것을 의미하지 않는다.
- [0328] 본 발명의 실시는, 달리 명시되지 않는 한, 당 기술분야의 기술 범위 내에 있는, 분자 생물학(재조합 기술 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 종래의 기술을 사용할 것이다.
- [0329] 이제 첨부 도면을 참조하여 본 발명의 특정 비제한적 구현예를 설명할 것이다.
- [0330] **실시예 1. 최적화된 항-PD1 치료 항체의 생성**
- [0331] **개요**
- [0332] 본 실시예에서, 동시에 VEGFR2의 길항제이기도 한, 최적화된 길항제의 패널인 항-PD1 항체를 성공적으로 생성한다. 이들 항-PD1 항체는 양호하게 발현되고, 바람직한 인간 생식선에 대해 생물리화학적으로 안정적이며, 고도로 가용성이며, 최대한의 동일성을 갖는다.
- [0333] **물질 및 방법**
- [0334] **PD1 라이브러리 생성 및 선택**
- [0335] PD1 Fab 레퍼토리를 질량 올리고 합성 및 PCR로 조립하였다. 돌연변이 유발을 VL(표 1) 및 VH(표 2) 도메인의 CDR 및 CDR-근위 영역에 적용하였다. 그런 다음, 증폭된 Fab 레퍼토리를 제한-결합을 통해 파지미드 벡터로 클로닝하고, 대장균 TG-1 세포로 형질전환시키고, 파지 레퍼토리를 이전에 상세히 기술된 바와 같이(Finlay 등, 2011, Methods Mol Biol 681: 383-401) 본질적으로 구조하였다.
- [0336] 파지 선택은 스트렙타비딘 자기 마이크로비드를 비오틴화 PD1 또는 VEGFR2 표적 단백질(인간 또는 원숭이)로 코팅하고, PBS로 비드를 세척하고, PBS pH 7.4 + 5% 탈지유 단백질에서 재현탁하여 수행하였다. 이들 비드를 선별의 1 라운드에서 100 nM 표적 단백질로 코팅한 다음, 3회의 연속적인 라운드에서 항원 농도를 감소시켰다. 각 라운드에서, TG1 세포로 재감염하기 전에 트립신을 사용하여 파지를 용리시켰다.
- [0337] **세포질 추출물 생산(소규모)**
- [0338] 개별 대장균 클론에서 가용성 Fab의 생산을 수행하였다. 로그 성장 단계에서의 대장균 TG1 세포를 이소프로필 1-티오-β-D-갈락토피라노시드로 유도하였다. 가용성 Fab를 함유하는 세포질 추출물을 동결/해동 사이클로 생성하였다: 박테리아 세포 펠릿을 -20℃에서 밤새 냉동시킨 다음, 실온에서 해동하고 PBS pH 7.4에서 재현탁시켰다. 가용성 Fab를 함유하는 상청액을 실온에서 진탕하고 원심분리한 후 수집하였다.
- [0339] **IgG 발현 및 정제**
- [0340] 리드 패널 항-PD1 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 암호화하는 포유류 코돈 최적화 합성 유전자 및 Mab005를 각각 효과기 기능 null 인간 IgG1('IgG1null'; 정상적인 면역글로불린 ADCC, ADCP 및 CDC 기능을 폐지하는, 하부 힌지 내에 L234A, L235A, G237A 돌연변이를 함유하는 인간 IgG1) 및 인간 Cκ 도메인을 포함하는 포유동물 발현 벡터 내로 클로닝하였다. 포유류 발현 시스템에서 중쇄 및 경쇄 함유 벡터의 공동 형질감염을 수행한 다음, IgG의 단백질 A 기반 정제, 변성 및 비-변성 SDS-PAGE에 대한 정량화 및 QC를 수행하였다.
- [0341] **Fab 및 IgG에 대한 직접 결합 ELISA**
- [0342] 재조합 단백질에 대한 리드 패널의 결합 및 교차 반응성을 결합 ELISA로 초기에 평가하였다. 인간 PD1 인간 Fc

태그 재조합 단백질 및 시노볼구스 원숭이 PD1 인간 Fc 태그 재조합 단백질을 MaxiSorp™ 평평한 바닥 96 웰 플레이트의 표면에 1 µg/ml로 코팅하였다. 정제된 Fab 또는 IgG 샘플을 500 nM 내지 0.98 nM에서 시작하여 2배 연속 희석으로 적정하고 코팅된 항원에 결합시켰다. 마우스 항-c-myc 항체에 이어서 서양고추냉이 과산화효소에 결합된 당나귀 항-마우스 IgG를 사용하여 Fab를 검출하였다. 서양고추냉이 퍼옥시다아제에 결합된 마우스 항-인간 IgG를 사용하여 IgG를 검출하였다. 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 기질 용액(TMB)으로 결합 신호를 가시화하고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0343] **Fab 페리프렘에 대한 알파스크린 에피토프 경쟁 분석**

[0344] 알파스크린 분석(Perkin Elmer)을 384-웰 백색 마이크로역가 플레이트(Greiner)에서 25 µl의 최종 부피로 수행하였다. 반응 완충액은 1 x PBS pH 7.3(Oxoid, 카탈로그 넘버 BR0014G) 및 0.05% (v/v) Tween® 20(Sigma, 카탈로그 넘버 P9416)을 함유하였다. 반응 완충액 중 희석된 페리프렘 샘플을 비오틴화된 인간 PD1-His/AviTag와 함께 0.6 nM 최종 농도로 실온에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 0.3 nM의 hMAb005 IgG 및 20 µg/ml의 항-인간 IgG1 수용자 비드(최종 농도)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 인큐베이션한 다음, 20 µg/ml(최종 농도)에서 스트렙타비딘 공여자 비드를 첨가하고 실온에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 광의 방출을 EnVision 다중 표지 플레이트 판독기(Perkin Elmer)에서 측정하고 EnVision 관리자 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 값을 초 당 카운트(CPS)로서 기록하고, 누화에 대해 보정하였다. 신호 감소 백분율을 이와 관련 없는 샘플에 대해 계산하였다.

[0345] **PD1/PD-L1 세포 기반 길항 분석**

[0346] PD1/PD-L1 차단 세포 기반 생물검정(Promega)을 사용하여 PD1/PD-L1 상호작용을 차단하는 데 있어서의 항체의 효능을 측정하였다. 분석 전날, PD-L1 aAPC/CHO-K1 세포를 해동하고 세포 회수 배지(90% Ham의 F12/10% FBS)로 옮겼다. 세포 현탁액을 웰당 100 µl로, 2개의 96-웰, 백색, 평평한 바닥의 분석 플레이트의 내부 60 웰 각각에 분배하였다. 세포 회수 배지를 외부 웰 및 분석 플레이트 각각에 첨가하고 37°C/5% CO₂에서 밤새 인큐베이션하였다. 분석 당일, 샘플 IgG를 300 nM 내지 0.04 nM 및 PD-L1 aAPC/CHO-K1 세포를 함유하는 분석 플레이트에 첨가된 희석 당 40 µl의 분석 완충액(99% RPMI 1640/1% FBS) 중에서 4배 희석하였다. 양성 억제 대조군은 IgG1null 형태의 mAb005 및 니볼루맵 IgG4를 포함하였다. 음성 억제 대조군으로서, 무관한 IgG를 포함시켰다. 그런 다음, PD1 효과기 세포를 분석 완충액(99% RPMI 1640/1% FBS)에서 해동하고, PD-L1 aAPC/CHO-K1 세포 및 IgG 적정 샘플을 함유하는 분석 플레이트의 웰에 세포 현탁액을 첨가하였다. 분석 플레이트를 37°C/5% CO₂ 인큐베이터에서 6시간 동안 인큐베이션하고, 5 내지 10분 동안 주변 온도로 평형화시킨 다음, 80 µl의 Bio-Glo™ 시약(Promega)을 첨가하였다. 분석 플레이트를 추가로 5 내지 30분 동안 주변 온도에서 인큐베이션하고, 이어서 발광 신호를 10, 20 및 30분에서 측정하였다.

[0347] **일방향 인간 DC:T 세포 혼합 림프구 반응(MLR) 분석**

[0348] CD14+ 단핵구를 3명의 공여자 유래의 PBMC로부터 분리하고, GM-CSF 및 IL-4의 존재 하의 시험관 내에서 배양하여 미성숙 단핵구 유래 수지상 세포(mo-DC)를 생산하였다. TNF α를 첨가하여 배양물에서 mo-DC를 추가로 성숙시켰다. Pan-T 세포를 동종 PBMC 공여자로부터 분리하였다. 적정된 시험 물품의 존재 하에 약 5일 동안 10:1 T 세포:DC 비율로 새롭게 분리된 pan T 세포로 성숙한 DC를 공동-배양함으로써 일방향 MLR을 설정하였다. 활성은 ELISA를 통해 MLR의 5일차에 IFN-γ 생성을 정량화함으로써 측정하였다.

[0349] **결과 및 논의**

[0350] **라이브러리 생성 및 스크리닝**

[0351] 길항 항-PD1 IgG hMAb005의 가변 도메인을 인간 IgG1-카파 Fab 포맷으로 파지 디스플레이 벡터에 클로닝하였다. NNK 무작위 배정을 사용한 올리고뉴클레오타이드 돌연변이 유발을 하위 라이브러리당 5 내지 6개의 잔기를 스트레치하여 적용하여, 5개의 VL 하위 라이브러리(표 1) 및 6개의 VH(표 2)를 생성하였다. 이들 라이브러리를 대장균으로 형질전환시키고, 구조하고, 각 라이브러리로부터의 파지 모집단을 인간 및 cyno PD1 및 인간 및 붉은털 원숭이 VEGFR2 단백질 상에서 4회의 라운드에서 선별하였다.

[0352] 그런 다음, 각각의 라이브러리 선택으로부터 인간 PD1, cyno PD1, 인간 VEGFR2 및 cyno VEGFR2에 대한 개별 클론의 결합을 검사하기 위해 페리프렘 포맷에서 Fab의 ELISA 스크리닝을 수행하였다(도 1). 이들 분석은 모든 선택 라운드에서의 개별 클론이 양성 대조군 hMAb005 Fab와 신호에서 유사한 PD1 상동체 둘 모두에 결합하는 것을

나타낸다는 것을 입증하였다. 중요하게는, 결합 분석은 또한 여러 라이브러리에서, 클론의 집단이 풍부하여 PD1 활성을 유지할 뿐만 아니라, 인간 및/또는 cyno VEGFR2에 대해 상당히 개선된 결합을 나타낸다는 것을 입증하였다. 이들 선택된 집단으로부터의 168개의 클론을 선별하고, hMAb005 IgG와의 알파스크린 PD1 에피토프 경쟁 및 VL 및 VH 도메인의 DNA 시퀀싱 둘 모두에서 추가로 특성화하였다. 알파스크린 분석은 VEGFR2에 대한 결합이 개선된 LCDR1 및 LCDR3 라이브러리 둘 모두에서의 고유 서열(도 1)이 PD1에 대한 hMAb005 결합에 대한 에피토프 경쟁을 유지하였음을 보여주었다(도 2). 대조적으로, VEGFR2에 대한 개선된 결합을 나타낸 HCDR1, 2 및 3 라이브러리 유래의 클론은 hMAb005와 효과적으로 경쟁하지 않았으며, 이는 VH 도메인에서의 VEGFR2 친화도-개선 돌연변이가 PD1 상에서 에피토프 변이를 초래하였음을 시사한다(도 2). PD1 결합을 유지한 모든 VEGFR2-개선 클론의 서열 분석은 LCDR1(표 3) 및 LCDR3(표 4) 둘 모두에서, 상당한 수의 돌연변이가 양성으로 선택되었다는 것을 입증하였다.

[0353] 위의 분석에 기초하여, PD1의 두 상동체 및 VEGFR2의 두 상동체 모두에 높은 결합을 나타내는 LCDR1 또는 LCDR3에 돌연변이를 갖는 5개의 대표적인 클론(그림 1), 및 >75%의 hMAb005/PD1 상호작용의 신호 감소 백분율(그림 2)이 IgG 포맷의 발현 및 특성화에 대해 선택되었다(표 5). 또한, LCDR1 및 LCDR3 둘 모두에서 잠재적으로 유익한 돌연변이를 조합한 6개의 실험용 조합 IgG 클론을 만들었다(클론 MAB01 내지 MAB06, 표 5). 이들 11개의 리드 IgG 클론을 인간 IgG1 null 포맷으로 생성하였다.

[0354] **리드 IgG 특이성 및 효능 특성**

[0355] 표 4에 요약된 11개의 리드 IgG1 null 클론과 hMAb005 및 이소형 IgG1 null을 인간 및 cyno PD1에 대한 적정 ELISA 결합에서 조사하였다(도 3a). 이 분석은 모든 11개의 리드 클론이 hMAb005 IgG1과 마찬가지로 인간 및 cyno PD1에 대해 유사하게 강력한 결합을 갖는 반면, 이소형 대조군은 어느 단백질에도 결합하지 않음을 보여주었다. 대조적으로, IgG를 VEGFR2 단백질에 대한 결합에 대해 시험했을 때, 모든 11개의 리드 클론은 hMAb005와 비교하여 인간 및 붉은털 상동체 둘 모두에 대한 결합 효능을 상당히 증가시켰다(도 3b).

[0356] hMAb005에 비해 리드 클론에서 이러한 VEGFR2 반응성의 증가가 수용체와의 약리학 관계를 변경할 수 있는지의 여부를 조사하기 위해, 인간 VEGFR2 리포터 분석이 천연 VEGF 반응 요소 NFAT(Promega, 제조업체의 지침에 따라 수행됨)의 조절 하에서의 루시페라아제 발현의 유도 조사에 사용되었다. 이 분석에서, 가용성 VEGF-165 단백질을 VEGFR2 리포터 세포에 첨가하고, 모든 IgG1 단백질의 VEGF-165에 의해 유도된 신호에 길항하는 능력을 조사하였다(도 4). IgG1 hMAb005 및 이소형 IgG1 둘 모두는 VEGFR2 신호의 길항작용을 나타내지 않았다. 그러나, 놀랍게도, 모든 리드 IgG1 null 항체는 VEGF-VEGFR2 신호 유도의 강력한 길항작용을 입증하였으며, 다수의 클론은 임상적으로 승인된 항-VEGFR2 암 약물인 '라무시루맵'과 유사한 범위로 효능을 나타냈다(도 4). hMAb005 IgG1이 VEGFR2에 강력하게 작용하는 것으로 나타났기 때문에, 이는 매우 예상치 못한 발견이었다. 전술한 데이터는 PD1 에피토프 특이성을 유지하였지만, 모든 리드 항체에 대한 VEGFR2 약리학의 완전한 역전을 시사한다. 이러한 데이터를 추가로 조사하기 위해, 라이브러리 유래 클론(도 5a 내지 5e) 및 LCDR 1 및 3에서 돌연변이를 조합한 클론(도 5f 내지 5k)에 대한 개별 분석을 생성하였다. 이들 분석은 항체 MAB01 내지 MAB06이 VEGFR2 신호 전달의 가장 강력한 억제제임을 시사하였고, 이는 각각의 CDR에 의해 매개된 VEGFR2 결합의 개선이 상승적으로 조합될 수 있음을 입증한다.

[0357] 본원에 요약된 분석의 조합은, 놀랍게도 이들 항체의 CDR에서의 아미노산 다양성의 심층 샘플링이 PD1 및 VEGFR2 표적 결합 특이성의 동시 최적화를 가능하게 하여, 다수의 리드 분자에서 전구 항체 hMAb005의 VEGFR2 작용제 표현형의 역전을 초래하였음을 입증하였다. 생성된 리드 항체는 임상적으로 관련된 PD1 및 VEGFR2 신호 전달 경로의 이중 길항작용의 유익한 특성을 갖는다.

[0358] **리드 IgG 변이체 생성 및 분석**

[0359] 면역원성 위험을 감소시키기 위해, 클론 MAB06(MAB06.1 내지 MAB06.8)의 8개의 변이체를 생성하여 이의 인간 생식선 서열로 돌연변이될 수 있는 능력에 대해 다수의 CDR 잔기를 실험적으로 조사하였다. 이들 클론은 LCDR1 및 2(표 8) 및 HCDR2(표 9)에 생식계통 돌연변이를 함유하였다. 모든 8개의 클론을 IgG1 null 포맷으로 발현시키고 정제하였다. 모든 클론을 단백질 A 친화성 컬럼을 통해 용이하게 발현시키고 정제하였고, 생성된 단백질은 (SEC에 의해 측정했을 때) > 94%의 % 단량체 IgG를 나타냈다.

[0360] MAB06.1 내지 MAB06.8 IgG를 PD1 및 VEGFR2 신호전달 둘 모두에 길항하는 능력에 대해 시험하였다. 모든 8개의 클론은 PD1/PD-L1 세포 신호전달 생물검정에서 PD1 신호전달에 길항하는 능력을 보유하고 있으며, 그 효능은 SHR-1210 IgG1-3M 및 니볼루맵 둘 모두와 유사하였다(도 6). 유사하게, 모든 8개의 클론은 라무시루맵과 유사한 효

능으로 VEGF/VEGFR2 세포 신호전달 생물검정에서 VEGFR2 신호전달에 길항하는 농도 의존적 능력을 보유하였다(도 7). 클론 MAB06.5(도 8a 및 8b), MAB06.6(도 8c 및 8d), MAB06.7(도 8e 및 8f), 및 MAB06.8(도 8g 및 8h)에 대한 PD1 및 VEGFR2 길항작용의 비교 분석은, 클론 MAB06의 서열이 두 수용체 모두의 신호전달을 길항하는 능력을 유지하면서 LCDR1, LCDR2(표 8) 및 HCDR2(표 9)에서 다수의 잔기의 인간화를 수용할 수 있음을 입증하였다. 중요하게는, 도 4, 도 5, 도 7 및 도 8에서 입증된 바와 같이, 대조군 SHR-1210 IgG13M(hMab005)은 VEGF의 존재 시 VEGFR2 신호전달을 억제할 수 없는 것으로 나타났다.

[0361] 전술한 결과는 단일 분자에서 PD1 및 VEGFR2 경로 둘 모두를 길항하는 능력은 중앙 미세환경에서 고도로 활성화된 것으로 알려진 2개의 주요 면역억제 신호를 차단함으로써 항체 SHR-1210(hMab005)에 대한 임상적 이점을 제공할 수 있음을 입증한다. 실제로, PD1 및 VEGFR2 수용체 둘 모두는 인간 종양의 면역 세포에서 공동-발현되는 것으로 입증되었으며, 이는 도 9에 도시된 바와 같이, 이중-길항화 제제가 단일 세포에서 이중기능적 방식으로 작용할 가능성이 있음을 시사한다.

[0362] 높은 친화도로 신호전달 수용체에 결합하는 항체는 수용체 리간드가 존재하지 않을 때 수용체 활성화의 강력한 작용제가 될 위험이 있다. 이를 조사하기 위해, VEGF가 없는 상태에서 VEGFR2 생물검정을 반복하였다. 고친화도 항-VEGFR2 IgG1 대조군 항체인 라부시루맙, 이소형 대조군 인간 IgG1, MAB06.5, MAB06.8 및 VEGF-165 단백질 모두가 이 분석에서 적정되었으며, 항체 단백질은 1000 nM 농도로부터 시작하였다(도 10). VEGF-165만이 농도 의존적 수용체 활성화를 입증하였으며, 이는 MAB06.5 및 MAB06.8 IgG1은 VEGF의 존재 시 VEGFR2의 길항제이며(도 8), VEGF의 부재 시 VEGFR2의 작용제가 아님(도 10)을 확인한다.

[0363] MAB06.5 및 MAB06.8의 PD1 길항 효능을 추가로 확인하기 위해, 두 분자 모두를 인간 DC:T 세포 일방향 MLR 검정에서 분석하였으며, 양성 대조군으로서 니블루맙(항-PD1) 및 활성화의 표지자로서 측정된 IFN- γ 를 사용하였다(도 11 참조). MLR 분석은 2회의 반복 실행에서 3개의 별도의 인간 공여자 쌍으로 수행하였다. 이들 분석은 MAB06.5 및 MAB06.8 둘 모두가 니블루맙과 동등한 PD1 차단 유도 IFN- γ 신호전달에서 농도 의존적 효능을 나타냈음을 입증하였다. 이는 공여자 쌍 1(도 11a, 도 11b), 공여자 쌍 2(도 11c, 도 11d), 및 공여자 쌍 3(도 11e, 도 11f)에 대한 모든 실행에서도 나타났으며, T 세포에서 PD1의 기능을 차단하는 높은 재현성을 입증한다.

[0364] **3 세대 리드 IgG 변이체 생성 및 분석**

[0365] W02019170885A1은 PD1에 대한 분자의 친화도를 향상시킬 가능성이 있는 hMab005의 VH 도메인에서 만들어질 수 있는 다수의 돌연변이를 개시하고 있다. 본원에 기술된 신규 클론의 맥락에서 이들 이전에 정의된 돌연변이의 가능한 유용성을 조사하기 위해, 클론 MAB06.8의 9개의 변이체를 생성하여 PD1 및/또는 VEGFR2에 대한 결합을 잠재적으로 추가로 개선하도록 다수의 VH CDR 잔기를 돌연변이시키는 능력에 대해 실험적으로 조사하였다. 이들 클론은 모두 9개의 고유한 VH 서열로 발현된 MAB06.8 VL 서열(서열번호 47, 표 8)을 함유하였다(표 10). 모든 8개의 클론을 IgG1 null 포맷으로 발현시키고 정제하였다. (응집을 겪는 두 MAB06.8.3 및 MAB06.8.5 이외의) 모든 클론을 단백질 A 친화도 컬럼을 통해 용이하게 발현시키고 정제하였으며, 생성된 단백질은 (SEC에 의해 측정했을 때) > 95%의 % 단량체 IgG를 나타냈다.

[0366] 인간 및 cyno PD1에 결합하는 적정 ELISA에서 7개의 양호하게 발현된 IgG1 null 클론(MAB06.8.3 및 MAB06.8.5 생략)과 hMab005 및 이소형 IgG1 null을 조사하였다(도 12a 및 도 12b). 이러한 분석은 이들 7개의 클론의 대부분이 인간 및 cyno PD1에 대한 결합을 유지한 반면, 이소형 대조군은 두 단백질에 대한 결합을 나타내지 않았음을 나타냈다. 주목할 만한 예외는 MAB06.8.4였으며, 이는 cyno PD1에 결합하는 능력을 상실하였다(도 12b). IgG를 VEGFR2 단백질에 대한 결합에 대해 시험했을 때, 모든 7개의 클론은 인간 및 cyno 상동체 둘 모두에 대한 결합을 입증하였다(도 12c 및 도 12d).

[0367] 대부분의 클론에서의 PD1 및 VEGFR2 둘 모두에 대한 결합 결합 친화도의 이러한 유지에도 불구하고, 이에 이어 7개의 변이체를 PD1 및 VEGFR2 길항 생물검정에서 조사했을 때, MAB06.8의 유익한 특성은 유지되기도 강화되기도 않았다. 모든 7개의 클론은 양성 대조군(도 13a 및 도 13b), MAB06(도 5), MAB06.5(도 8) 및 MAB06.8(도 8)과 비교하여 PD1, VEGFR2, 또는 둘 모두를 길항하는 능력의 감소를 나타냈다.

[0368] 특허, 특허 출원, 문헌, 서적 및 논문을 포함하나 이에 한정되지 않는, 본원에 인용된 모든 문서 또는 문서의 일부는 임의의 목적을 위해 그 전체가 참조로서 본원에 명시적으로 통합된다. 하나 이상의 통합된 문서 또는 문서의 일부가 본 출원에서 그 용어의 정의와 모순되는 용어를 정의하는 경우, 본 출원에 나타난 정의를 우선시한다. 그러나, 본원에 인용된 임의의 참조, 문헌, 간행물, 특허, 특허 공개, 및 특허 출원에 대한 언급은, 그것이 유효한 선행기술에 해당한다는 것 또는 전 세계 어느 국가에서도 일반적인 일반 지식의 일부를 구성한다는 것을

인정하는 것, 또는 어떤 형태의 제안으로 간주되어서는 안 된다.

[0369] 본 발명은 바람직한 또는 예시적인 구현예를 참조하여 설명되었지만, 당업자는 본 발명의 사상 및 범주로부터 벗어나지 않고 다양한 변형 및 변경이 이루어질 수 있고 이러한 변형이 본원에서 명확하게 고려된다는 것을 인식할 것이다. 본원에 개시되고 첨부된 청구범위에 제시된 특정 구현예에 대한 제한은 의도되지 않으며, 임의의 추론되어서는 안 된다.

[0370] **구현예**

[0371] 첨부된 청구범위에도 불구하고, 본 개시는 다음의 번호가 매겨진 구현예를 제시한다.

[0372] 1. PD1 및 VEGFR2 둘 모두에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원 결합 부분으로서, 항체 또는 항원 결합 부분은 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하며, 여기에서:

[0373] (a) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSKYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;

[0374] (b) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGSKYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;

[0375] (c) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLS(서열번호 8)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;

[0376] (d) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQGIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하거나;

[0377] (e) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하거나;

[0378] (f) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLS(서열번호 8)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVYSIPWT(서열번호 6)의 LCDR3를 포함하거나;

[0379] (g) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQTIGTWLT(서열번호 9)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나;

[0380] (h) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQTIGTWLT(서열번호 9)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;

[0381] (i) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQGIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나;

[0382] (j) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나;

[0383] (k) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQESGIWLG(서열번호 12)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVAELPFG(서열번호 10)의 LCDR3를 포함하거나;

[0384] (l) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQGIGPWLS(서열번호 4)의 LCDR1,

TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;

- [0385] (m) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 2)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 LASQPLGIWLS(서열번호 7)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0386] (n) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 5)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0387] (o) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TASSLAD(서열번호 40)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0388] (p) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLAD(서열번호 41)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0389] (q) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANTYYVDSVKG(서열번호 38)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0390] (r) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, TASSLAD(서열번호 40)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0391] (s) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QLYYFDY(서열번호 3)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLAD(서열번호 41)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하거나;
- [0392] (t) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYMMS(서열번호 1)의 HCDR1, TISGGGANKYYVDSVKG(서열번호 42)의 HCDR2 및 QVYYFDY(서열번호 64)의 HCDR3를 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQESGIWLS(서열번호 39)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 43)의 LCDR2 및 QQVSVTPFT(서열번호 11)의 LCDR3를 포함하는, 항체 또는 항체의 항원 결합 부분.
- [0393] 2. 구현예 1에 있어서,
- [0394] (a) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44를 포함하거나;
- [0395] (b) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0396] (c) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 24를 포함하거나;
- [0397] (d) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 14를 포함하거나;
- [0398] (e) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 15를 포함하거나;
- [0399] (f) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 16을 포함하거나;
- [0400] (g) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 17을 포함하거나;
- [0401] (h) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 18을 포함하거나;
- [0402] (i) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 19를 포함하거나;
- [0403] (j) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 20을 포함하거나;
- [0404] (k) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 21을 포함하거나;
- [0405] (l) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 22를 포함하거나;
- [0406] (m) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 13을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 23을 포함하거나;
- [0407] (n) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 44를 포함하거나;

- [0408] (o) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45를 포함하거나;
- [0409] (p) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46을 포함하거나;
- [0410] (q) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 48을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하거나;
- [0411] (r) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 45를 포함하거나;
- [0412] (s) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 49를 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 46을 포함하거나;
- [0413] (t) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 73을 포함하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 47을 포함하는, 항체 또는 항체의 항원 결합 부분.
- [0414] 3. 구현예 1 또는 구현예 2에 있어서, 항체 또는 항원 결합 부분은 PD1-PDL1 및 VEGFR2-VEGF 신호전달 경로 둘 모두를 길항할 수 있는, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0415] 4. PD1 및 VEGFR2 둘 모두에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원 결합 부분으로서, 항체 또는 항원 결합 부분은 PD1 및 VEGFR2 둘 모두에 결합하기 위해 구현예 1 내지 구현예 3 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분과 교차 경쟁하고;
- [0416] (a) 완전한 생식선 인간 프레임워크 아미노산 서열을 포함하고;
- [0417] (b) 인간 PD1, 시노몰구스 PD1, 인간 VEGFR2 및 붉은털 VEGFR2에 특이적으로 결합하고;
- [0418] (c) 인간 PD-L1에 대한 인간 PD1의 결합을 길항하고 인간 VEGF에 반응하여 인간 VEGFR2의 신호전달을 길항하는, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0419] 5. 구현예 1 내지 구현예 4 중 어느 하나에 있어서, 항체는 인간, 인간화 또는 키메라인, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0420] 6. 구현예 1 내지 구현예 5 중 어느 하나에 있어서, VH 영역, VL 영역, 또는 VH 및 VL 영역 둘 모두는 하나 이상의 인간 프레임워크 영역 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0421] 7. 구현예 1 내지 구현예 6 중 어느 하나에 있어서, VH 영역, VL 영역, 또는 VH 및 VL 영역 둘 모두는 CDR이 삽입된 인간 가변 영역 프레임워크 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0422] 8. 구현예 1 또는 구현예 3에 있어서, VH 영역은 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 아미노산 서열이 삽입된 IGHV3-7 인간 생식선 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0423] 9. 구현예 1, 구현예 3 및 구현예 8 중 어느 하나에 있어서, VL 영역은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열이 삽입된 IGKV1-39 인간 생식선 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0424] 10. 구현예 1 내지 구현예 9 중 어느 하나에 있어서, 항체는 면역글로불린 불변 영역을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0425] 11. 구현예 10에 있어서, 면역글로불린 불변 영역은 IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY인, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0426] 12. 구현예 11에 있어서, 면역글로불린 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 또는 IgA2인, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0427] 13. 구현예 10에 있어서, 면역글로불린 불변 영역은 면역학적으로 불활성인, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0428] 14. 구현예 10에 있어서, 면역글로불린 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG1 불변 영역, 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역, 또는 야생형 인간 IgG2 불변 영역인, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0429] 15. 구현예 13에 있어서, 면역글로불린 불변 영역은 서열번호 25 내지 31 중 어느 하나를 포함하는, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0430] 16. 구현예 1 내지 구현예 15 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 항원 결합 부분은 Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, scFv, 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 다이아바디, 트리아바디, 테트라바디, 또는 비스-scFv인, 항원 결합 부분.

- [0431] 17. 구현에 1 내지 구현에 16 중 어느 하나에 있어서, 항체는 단클론인, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0432] 18. 구현에 1 내지 구현에 17 중 어느 하나에 있어서, 항체는 사랑체 항체, 사가 항체 또는 다중특이적 항체인, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0433] 19. 구현에 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 항원 결합 부분은 (a) 인간 PD1 또는 (b) 인간 PD1 및 시노몰구스 PD1 또는 (c) 인간 PD1 및 붉은털 PD1 또는 (d) 인간 PD1, 시노몰구스 PD1 및 붉은털 PD1에 특이적으로 결합하는, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0434] 20. 구현에 1 내지 19 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 항원 결합 부분은 (a) 인간 VEGFR2 또는 (b) 인간 VEGFR2 및 시노몰구스 VEGFR2 또는 (c) 인간 VEGFR2 및 붉은털 VEGFR2 또는 (d) 인간 VEGFR2, 시노몰구스 VEGFR2 및 붉은털 VEGFR2에 특이적으로 결합하는, 항체 또는 항원 결합 부분.
- [0435] 21. 치료제에 연결된 구현에 1 내지 구현에 20 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분을 포함하는, 면역접합체.
- [0436] 22. 구현에 21에 있어서, 치료제는 세포독소, 방사성 동위원소, 화학요법제, 면역조절제, 항혈관형성제, 항증식제, 세포자멸촉진제, 세포증식 억제 효소, 세포용해 효소, 치료 핵산, 항혈관형성제, 항증식제, 또는 세포자멸촉진제인, 면역접합체.
- [0437] 23. 구현에 1 내지 구현에 20 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분, 또는 구현에 21 또는 구현에 22의 면역접합체, 및 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는, 약학적 조성물.
- [0438] 24. 구현에 1 내지 구현에 20 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분의
- [0439] (a) VH 영역 아미노산 서열;
- [0440] (b) VL 영역 아미노산 서열; 또는
- [0441] (c) 상기 VH 및 상기 VL 영역 아미노산 서열 둘 모두를 암호화하는, 핵산 분자.
- [0442] 25. 구현에 24의 핵산 분자를 포함하는, 발현 벡터.
- [0443] 26. 구현에 24의 핵산 분자 또는 구현에 25의 발현 벡터를 포함하는, 재조합 숙주 세포.
- [0444] 27. 항-PD1 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 생산하는 방법으로서, 방법은,
- [0445] 핵산 분자가 발현됨으로써 항체 또는 항원 결합 부분을 생산하는 조건 하에서 구현에 25의 발현 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포를 배양하는 단계; 및
- [0446] 항체 또는 항원 결합 부분을 숙주 세포 또는 배양물로부터 분리하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0447] 28. 대상체에서 면역 반응을 향상시키는 방법으로서, 구현에 1 내지 구현에 20 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분의 치료적 유효량, 구현에 21 또는 구현에 22의 면역접합체, 또는 구현에 23의 약학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0448] 29. 대상체에서 암, 감염성 질환, 또는 면역 질환을 치료하거나 예방하는 방법으로서, 구현에 1 내지 구현에 20 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분의 치료적 유효량, 구현에 21 또는 구현에 22의 면역접합체, 또는 구현에 23의 약학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0449] 30. 구현에 29에 있어서, 암은 췌장암, 흑색종, 유방암, 폐암, 기관지암, 대장암, 전립선암, 위암, 난소암, 방광암, 뇌 또는 중추신경계 암, 말초신경계 암, 식도암, 자궁경부암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 신장암, 고환암, 담도암, 소장 또는 맹장암, 침샘암, 갑상선암, 부신암, 골육종, 연골육종, 또는 혈액 조직의 암인, 방법.
- [0450] 31. 구현에 29에 있어서, 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 진균 또는 기생충인, 방법.
- [0451] 32. 구현에 29에 있어서, 감염성 질환은 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 감염인, 방법.
- [0452] 33. 암, 감염성 질환, 또는 면역 질환의 치료에 사용하기 위한, 구현에 1 내지 구현에 20 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분, 구현에 21 또는 구현에 22의 면역접합체, 또는 구현에 23의 약학적 조성물.
- [0453] 34. 구현에 33에 있어서, 암은 췌장암, 흑색종, 유방암, 폐암, 기관지암, 대장암, 전립선암, 위암, 난소암, 방

광암, 뇌 또는 중추신경계 암, 말초신경계 암, 식도암, 자궁경부암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 신장암, 고환암, 담도암, 소장 또는 맹장암, 침샘암, 갑상선암, 부신암, 골육종, 연골육종, 또는 혈액 조직의 암인, 항체 또는 항원 결합 부분, 면역접합체, 또는 약학적 조성물.

[0454] 35. 구현에 33에 있어서, 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 진균 또는 기생충인, 항체 또는 항원 결합 부분, 면역접합체 또는 약학적 조성물.

[0455] 36. 구현에 33에 있어서, 감염성 질환은 인간 면역 결핍 바이러스(HIV) 감염인, 항체 또는 항원 결합 부분, 면역접합체 또는 약학적 조성물.

[0456] 37. 의약으로서의 용도를 위한, 구현에 1 내지 구현에 20 중 어느 하나의 항체 또는 항원 결합 부분, 구현에 21 또는 구현에 22의 면역접합체, 또는 구현에 23의 약학적 조성물.

[표 1] hMAb005 VL 돌연변이 유발 서브 라이브러리의 아미노산 서열.

LFR1	LCDR1	LFR2	LCDR2	LFR3	LCDR3	LFR4
DIQMTQSPSSLSASV GDRVITTC (서열번호 50)	LASQTIGTWLT (서열번호 9)	WYQQKPGKAPKLLIY (서열번호 51)	TATSLAD (서열번호 5)	GVPSRFGSGGTDFTLTII SSLQPEDFATYYC (서열번호 52)	QQVYSIPWT (서열번호 6)	FGGGTKVEIK (서열번호 53)
DIQMTQSPSSLSASV GDRVITTC (서열번호 50)	LASQTIGTWLT (서열번호 9)	WYQQKPGKAPKLLIY (서열번호 51)	TATSLAD (서열번호 5)	GVPSRFGSGGTDFTLTII SSLQPEDFATYYC (서열번호 52)	QQVYSIPWT (서열번호 6)	FGGGTKVEIK (서열번호 53)
DIQMTQSPSSLSASV GDRVITTC (서열번호 50)	LASQTIGTWLT (서열번호 9)	WYQQKPGKAPKLLIY (서열번호 51)	TATSLAD (서열번호 5)	GVPSRFGSGGTDFTLTII SSLQPEDFATYYC (서열번호 52)	QQVYSIPWT (서열번호 6)	FGGGTKVEIK (서열번호 53)
DIQMTQSPSSLSASV GDRVITTC (서열번호 50)	LASQTIGTWLT (서열번호 9)	WYQQKPGKAPKLLIY (서열번호 51)	TATSLAD (서열번호 5)	GVPSRFGSGGTDFTLTII SSLQPEDFATYYC (서열번호 52)	QQVYSIPWT (서열번호 6)	FGGGTKVEIK (서열번호 53)
DIQMTQSPSSLSASV GDRVITTC (서열번호 50)	LASQTIGTWLT (서열번호 9)	WYQQKPGKAPKLLIY (서열번호 51)	TATSLAD (서열번호 5)	GVPSRFGSGGTDFTLTII SSLQPEDFATYYC (서열번호 52)	QQVYSIPWT (서열번호 6)	FGGGTKVEIK (서열번호 53)

전술한 바와 같이, 본 출원에 사용된 “통합” CDR 정의는 고전적인 Kabat 정의와 비교하여 확장된 정의이다. 전술한 각각의 서열에서, 경색 프레임워크 영역(LFR) 및 CDR은 붉은 글씨체로 표시되어 있고, 돌연변이 유발의 위치에는 밑줄이 그어져 있다.

[0457]

[표 2] hMAb005 VH 돌연변이 유발 서브 라이브러리의 아미노산 서열.

HFR1	HCDR1	HFR2	HCDR2	HFR3	HCDR3	HFR4
EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAAS (서열번호 54)	<u>GFTFSSYMMS</u> (서열번호 1)	WVRQAPGKGLEW (서열번호 55)	VATISGGGANTYYPD SVKG (서열번호 56)	RFTISRDNAKNSLYLQMIN SLRAEDTAVYCAR (서열번호 57)	QLYYFDY (서열번호 3)	WGQGTITVYSS (서열번호 58)
EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAAS (서열번호 54)	<u>GFTFSSYMMS</u> (서열번호 1)	WVRQAPGKGLEW (서열번호 55)	VATISGGGANTYYPD SVKG (서열번호 56)	RFTISRDNAKNSLYLQMIN SLRAEDTAVYCAR (서열번호 57)	QLYYFDY (서열번호 3)	WGQGTITVYSS (서열번호 58)
EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAAS (서열번호 54)	<u>GFTFSSYMMS</u> (서열번호 1)	WVRQAPGKGLEW (서열번호 55)	VATISGGGANTYYPD SVKG (서열번호 56)	RFTISRDNAKNSLYLQMIN SLRAEDTAVYCAR (서열번호 57)	QLYYFDY (서열번호 3)	WGQGTITVYSS (서열번호 58)
EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAAS (서열번호 54)	<u>GFTFSSYMMS</u> (서열번호 1)	WVRQAPGKGLEW (서열번호 55)	VATISGGGANTYYPD SVKG (서열번호 56)	RFTISRDNAKNSLYLQMIN SLRAEDTAVYCAR (서열번호 57)	QLYYFDY (서열번호 3)	WGQGTITVYSS (서열번호 58)
EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAAS (서열번호 54)	<u>GFTFSSYMMS</u> (서열번호 1)	WVRQAPGKGLEW (서열번호 55)	VATISGGGANTYYPD SVKG (서열번호 56)	RFTISRDNAKNSLYLQMIN SLRAEDTAVYCAR (서열번호 57)	QLYYFDY (서열번호 3)	WGQGTITVYSS (서열번호 58)
EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAAS (서열번호 54)	<u>GFTFSSYMMS</u> (서열번호 1)	WVRQAPGKGLEW (서열번호 55)	VATISGGGANTYYPD SVKG (서열번호 56)	RFTISRDNAKNSLYLQMIN SLRAEDTAVYCAR (서열번호 57)	QLYYFDY (서열번호 3)	WGQGTITVYSS (서열번호 58)
EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAAS (서열번호 54)	<u>GFTFSSYMMS</u> (SEQ IDNO:1)	WVRQAPGKGLEW (서열번호 55)	VATISGGGANTYYPD SVKG (서열번호 56)	RFTISRDNAKNSLYLQMIN SLRAEDTAVYCAR (서열번호 57)	QLYYFDY (서열번호 3)	WGQGTITVYSS (서열번호 58)

전술한 바와 같이, 본 출원에 사용된 “통합” CDR 정의는 고전적인 Kabat 정의와 비교하여 확장된 정의이다. 전술한 각각의 서열에서, 경재 프레임워크 영역(HFR) 및 CDR은 굵은 글씨체로 표시되어 있고, 돌연변이 유발의 위치에는 밑줄이 그어져 있다.

[표 3] VEGFR2 에 대한 개선된 결합을 나타내는 클론의 LCDR1 에서 발견되는 위치 특이적 돌연변이.

<u>L</u>	<u>A</u>	<u>S</u>	<u>Q</u>	<u>T</u>	<u>I</u>	<u>G</u>	<u>T</u>	<u>W</u>	<u>L</u>	<u>T</u>
				E	A	R	G			S
				G	L	S	I			
				K	S		L			
				P	V		P			
				S						

원래 LCDR1 서열 LASQTIGTWLT(서열번호 9)는 상단 행으로 도시되어 있다. LASQX₁X₂X₃X₄WLX₅는 변이체 서열이며, 여기에서 X₁은 T, E, G, K, P 또는 S 이고, X₂는 I, A, L, S 또는 V 이고, X₃은 G, R 또는 S 이고, X₄는 T, G, I, L 또는 P 이고, X₅는 T 또는 S 이다(서열번호 59).

[0459]

[표 4] VEGFR2 에 대한 개선된 결합을 나타내는 클론의 LCDR3 에서 발견되는 위치 특이적 돌연변이.

<u>Q</u>	<u>Q</u>	<u>V</u>	<u>Y</u>	<u>S</u>	<u>I</u>	<u>P</u>	<u>W</u>	<u>T</u>
			A	A	L		F	A
			F	E	T			G
			N	M	V			N
			S	N				R
				Q				S
				V				

원래 LCDR3 서열 QQVYSIPWT(서열번호 6)는 상단 행으로 도시되어 있다. QQVX₁X₂X₃PX₄X₅는 변이체 서열이며, 여기에서 X₁은 Y, A, F, N 또는 S 이고, X₂는 S, A, E, M, N, Q 또는 V 이고, X₃은 I, L, T 또는 V 이고, X₄는 W 또는 F 이고, X₅는 T, A, G, N, R 또는 S 이다(서열번호 60).

[0460]

[표 5] VEGFR2 에 대한 개선된 결합을 나타내는 IgG 의 경쇄 가변 영역 서열.

클론	VL 아미노산 서열	서열번호
MAB02A03	DIQMTQSSSSLSASVGDRTITCLASQIGPWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSLA DGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVYSIPWTFGGGTKVEIK	14
MAB02B03	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCLASQPLGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSL ADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVYSIPWTFGGGTKVEIK	15
MAB02D08	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCLASQESGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSL ADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVYSIPWTFGGGTKVEIK	16
MAB05G03	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCLASQITGTWLTWYQQKPGKAPKLLIYTATSL ADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVAELPFGFGGGTKVEIK	17
MAB05E08	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCLASQITGTWLTWYQQKPGKAPKLLIYTATSL ADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVSVTPFTFGGGTKVEIK	18
MAB01	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCLASQIGPWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSL ADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVAELPFGFGGGTKVEIK	19
MAB02	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCLASQPLGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSL ADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVAELPFGFGGGTKVEIK	20
MAB03	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCLASQESGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSL ADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVAELPFGFGGGTKVEIK	21
MAB04	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCLASQIGPWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSL ADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVSVTPFTFGGGTKVEIK	22
MAB05	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCLASQPLGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSL ADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVSVTPFTFGGGTKVEIK	23
MAB06	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCLASQESGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSL ADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVSVTPFTFGGGTKVEIK	24

[0461]

[0462]

[표 6] 항체 Fc 영역 아미노산 서열의 예.

[0463]

인간 IgG4 야생형

[0464]

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKY
GPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSDQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 25)

[0465]

인간 IgG4(S228P)

[0466]

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKY
GPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSDQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 26)

[0467]

인간 IgG1 야생형

[0468]

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKY
CDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSDQEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
SCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 27)

[0469]

인간 IgG1-3M

[0470]

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKY
CDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSDQEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
SCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 28)

[0471]

인간 IgG2 야생형

[0472]

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKY
CVCPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 29)

[0473] **인간 IgG1 야생형 "REEM" 동종이형**

[0474] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 30)

[0475] **인간 IgG1-3M "REEM" 동종이형**

[0476] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 31)

[0477] **[표 7] 막 단백질 아미노산 서열의 예.**

[0478] **인간 PD1 서열**

[0479] MQIPQAPWPVVAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPTFSPALLVTEGDNATFTCSFSNTSESVFLNWRMSPSNQTDKLAAPFEDRSQPGQDCRFVRTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGYLTCGAI SLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRAGQFQTLVVG VVGGLLGSLLVWVLAVICRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSDYDYGELDFQWREKTPPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSMGTSPPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL (서열번호 32)

[0480] **시노물구스 원숭이 PD1 서열**

[0481] MQIPQAPWPVVAVLQLGWRPGWFLESPPDRPWNPTFSPALLVTEGDNATFTCSFSNASESVFLNWRMSPSNQTDKLAAPFEDRSQPGQDCRFVRTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGYLTCGAI SLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRAGQFQALVVG VVGGLLGSLLVWVLAVICRAAQTIEARRTGQPLKEDPSAVPVFSDYDYGELDFQWREKTPPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSGLTSSPARRGSADGPRSPRPLRPEDGHCSWPL (서열번호 33)

[0482] **인간 KDR(VEGFR2) 서열**

[0483] MQSKVLLAVALWLCVETRAASVGLPSVSLDLPRLSIQKDILTIKANTLQITCRGQRDLWLWPNNQSGSEQRVEVTECSDFLCKTLTI PKVIGNDTGAYKCFYRETDLASVIYVVYQDYRSPFIASVSDQHG VVIITENKNKT VVI PCLGSI SNLNVSLCARYPEKRFVPDGNRI SWDSKKGFTIPSYMISYAGMVFCEAKI NDESYQSIMYIVVVYGYRIYDVVLSPSHGIEL SVGEKLVNCTARTELNVGIDFNWEYPSKHKHKKLVNRDLKTQSGSEMKKFLSTLIDGVTRSDQGLYTC AASSGLMTKKNSTFVRVHEKPFVAFSGMESLVEATVGERVRIPAKYLGYPPEIKWYKNGIPLESNHTIKAGHVLTIMEVSRDTGNYTIVLTNPI SKEKQSHVSVLVVYVPPQIGEKSLI SPVDSYQYGTQTLTCTVYAI PPPHHIHWYWL EEECANEPSQAVSVTNYPCEEWRVSDVDFQGGNKIEVNKNQFALIEGKNKTVSTLVIQAANVSALYKCEAVNKVGRGERVIFSHVTRGPEITLQPDMPQTEQESVSLWCTADRSTFENLTWYKLGPOPLPHV GELPTPVCKNLDLWKL NATMFSNSTNDILIMELKNASLQDQGDYVCLAQDRKTKKRHCVRQLTVLERVAPTITGNLENQTTSIGESIEVSCTASGNPPPQIMWFKDNETLVEDSGIV LKDGNRNLTIRRVRKEDEGLYTCQACSVLGC AKVEAFFIEGAQEKTNLEII ILVGTAVIAMFFWLLVI ILRTV KRANGELKTGYLSI VMDPDELPLDEH CERLPYDASKWEFPRDLKLGKPLGRGAFGQVIEADAFGIDKTATCRTVAVKMLKEGATHSEHRALMSELKILIHIGHHLNVNLLGACTKPGGPLMVI VEFCKFGNLSTYLRSKRNEFPYKTKGARFRQGDYVGAIPVDLKRRLDSITSSQSASSSGFVEEKSLSDVEEEEAPEDLYKDFL TLEHLICYSFQVAKGMEFLA SRKCIHRDLAARNILLSEKNVVICDFGLARDIYKDPDYVRKGDARLPLKWMAPETIFDRVYTIQSDVWSFGVLLWEIFSLGASPYPGVKIDEEFCRRLKEG TRMRAPDYTTPEMYQTMDCWHGEPQRPTFSELVEHLGNLLQANAQQDGKDYIVLPISETLSMEEDSGLSLPTSPVSCMEEEEVCDPKFHYDNTAGISQYL QNSKRKSRPVSVKTFEDIPLPEEVKVI PDDNQTDSGMVLASEELKTLEDRTKLSPSFGGMVPSKSRESVASEGNSQTSQYSGYHSDDTDTTVYSSEEAE LKLEIGVQTGSTAQILQPDSGTTLSSPPV (서열번호 34)

[0484] **붉은털 KDR(VEGFR2) 서열**

[0485] MASKVLLAVALWLCVETRAASVGLPSVSLDLPRLSIQKDILTIKANTLQITCRGQRDLWLWPNNQSGSEQRVEVTECSDFLCKTLTI PKVIGNDTGAYKCFYRETDLASVIYVVYQDYRSPFIASVSDQHG VVIITENKNKT VVI PCLGSI SNLNVSLCARYPEKRFVPDGNRI SWDSKKGFTIPSYMISYAGMVFCEAKI NDESYQSIMYIVVVYGYRIYDVVLSPSHGVEL SVGEKLVNCTARTELNVGIDFNWEYPSKHKHKKLVNRDLKTQSGSEMKKFLSTLIDGVTRSDQGLYTC AASSGLMTKKNSTFVRVHEKPFVAFSGMESLVEATVGERVRIPVKYLGYPPEIKWYKNGIPLESNHTVKGHVLTIMEVSRDTGNYTIVLTNPI SKEKQSHVSVLVVYVPPQIGEKSLI SPVDSYQYGTQTLTCTVYAI PPPHHIHWYWL EEECPNEPSQAVSVTNYPCEEWRVSDVDFQGGNKIEVNKNQFALIEGKNKTVSTLVIQAANVSALYKCEAVNKVGRGERVIFSHVTRGPEITLQPDLPQTEQESVSLWCTADKSTFENLTWYKLGPOPLPHV GELPTPVCKNLDLWKL NATIFSNSTNDILIMELKNASLQDQGDYVCAQDRKTKKRHCVRQLTVLERVAPMITGNLENQTTSIGETIEVSCTASGNPPPQIMWFKDNETLVEDSGIV LKDGNRNLTIRRVRKEDEGLYTCQACSVLGC AKVEAFFIEGAQEKTNLEII ILVGTAVIAMFFWLLVI ILRTV KRANGELKTGYLSI VMDPDELPLDEH CERLPYDASKWEFPRDLKLGKPLGRGAFGQVIEADAFGIDKTATCRTVAVKMLKEGATHSEHRALMSELKILIHIGHHLNVNLLGACTKPGGPLMVI VEFCKFGNLSTYLRSKRNEFPYKTKGARFRQGDYVGAIPVDLKRRLDSITSSQSASSSGFVEEKSLSDVEEEEAPEDLYKDFL TLEHLICYSFQVAKGMEFLA SRKCIHRDLAARNILLSEKNVVICDFGLARDIYKDPDYVRKGDARLPLKWMAPETIFDRVYTIQSDVWSFGVLLWEIFSLGASPYPGVKIDEEFCRRLKEG

TRMRAPDYTTPEMYQTMLDCWHGEPSSQRPTFSELVEHLGNLQANAQQDGKDYI VLP I SETLSMEEDSGLSLPTSPVSCMEEVEVCDPKFHYDNTAGISQYL
 QNSKRKSRPVSVKTFEDIPLLEEPEVKVIPDDNQTDSGMVLASEELKTLREDRTKLAPSFSGMVSSKSRESVASEGNSQTSQYQSGYHSDDTTIVYSSEEAEI
 LKLEIGVQTGSTAQILQPDSTLSSPPV (서열번호 35)

[표 8] VEGFR2 에 대한 개선된 결합을 나타내는 IgG 의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열.

클론	VL 영역 아미노산 서열	서열번호
MAB06.1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQESGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSLAD GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVSVTPFTFGGGTKVEIK	44
MAB06.2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQESGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSLAD GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVSVTPFTFGGGTKVEIK	45
MAB06.3	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQESGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYAASSLAD GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVSVTPFTFGGGTKVEIK	46
MAB06.4	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQESGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVSVTPFTFGGGTKVEIK	47
MAB06.5	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQESGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSLAD GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVSVTPFTFGGGTKVEIK	44
MAB06.6	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQESGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYTATSLAD GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVSVTPFTFGGGTKVEIK	45
MAB06.7	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQESGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYAASSLAD GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVSVTPFTFGGGTKVEIK	46
MAB06.8	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQESGIWLSWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVSVTPFTFGGGTKVEIK	47

[0486]

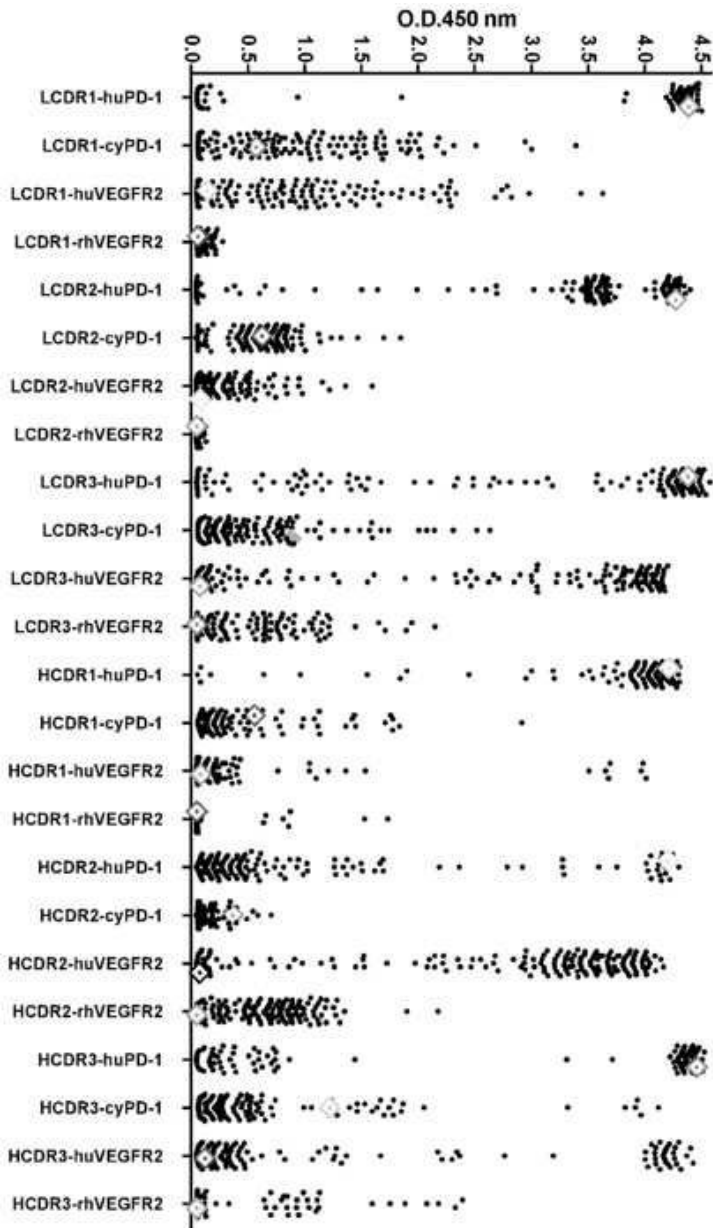
[표 9] VEGFR2 에 대한 개선된 결합을 나타내는 IgG 의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열.

클론	VH 영역 아미노산 서열	서열번호
MAB06.1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGANTY YVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYYFDYWGQGT TTVTVSS	48
MAB06.2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGANTY YVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYYFDYWGQGT TTVTVSS	48
MAB06.3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGANTY YVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYYFDYWGQGT TTVTVSS	48
MAB06.4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGANTY YVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYYFDYWGQGT TTVTVSS	48
MAB06.5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSNKY YVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYYFDYWGQGT TTVTVSS	49
MAB06.6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSNKY YVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYYFDYWGQGT TTVTVSS	49
MAB06.7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSNKY YVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYYFDYWGQGT TTVTVSS	49
MAB06.8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSNKY YVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYYFDYWGQGT TTVTVSS	49

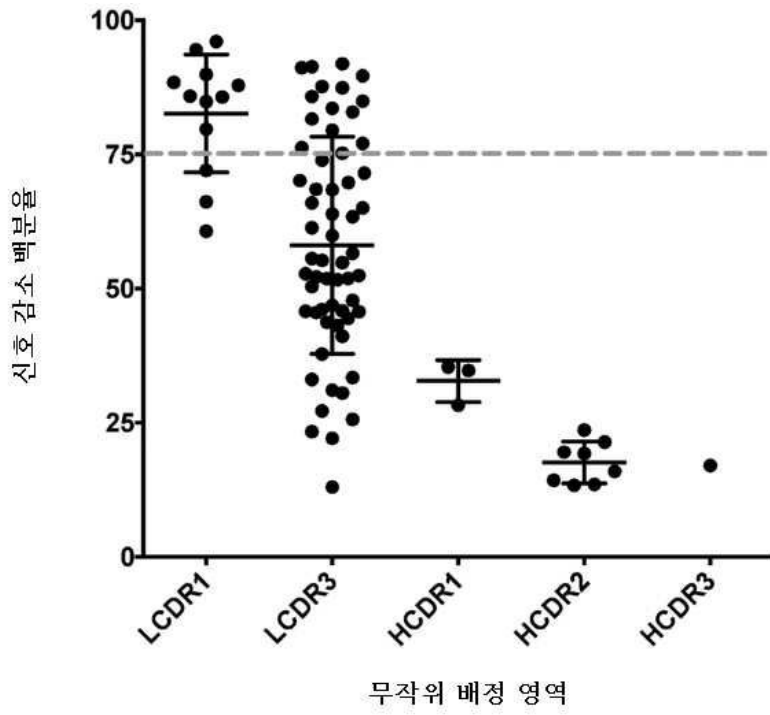
[0487]

도면

도면1

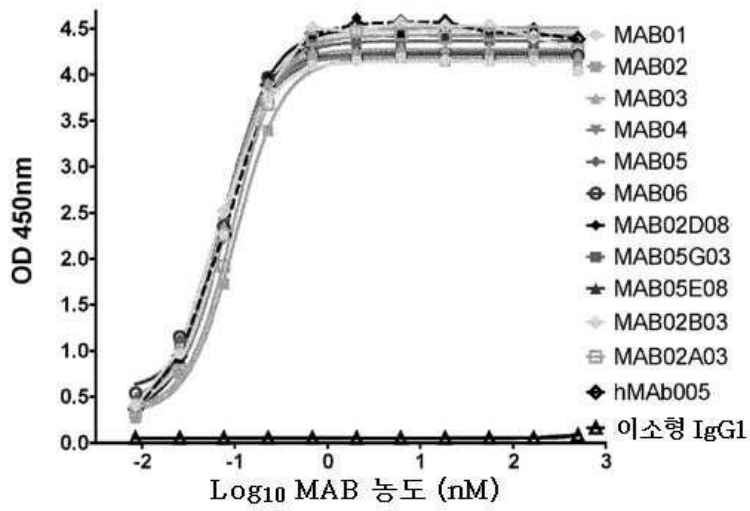


도면2

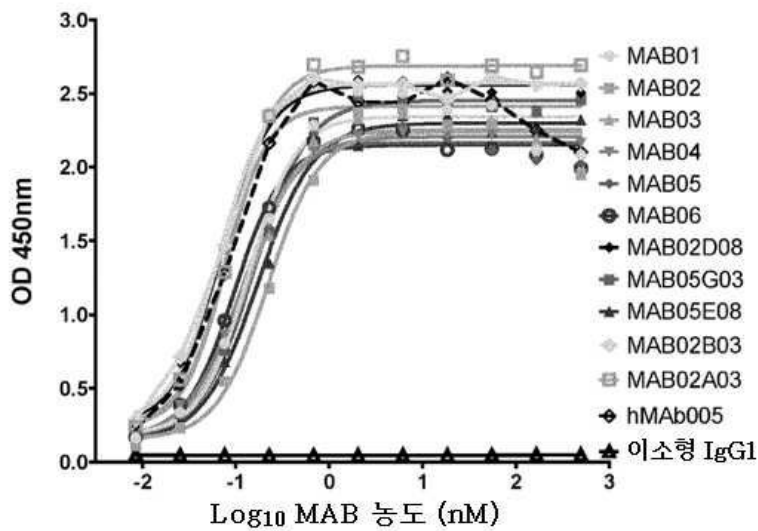


도면3a

huPD-1 에 대한 IgG 결합 ELISA

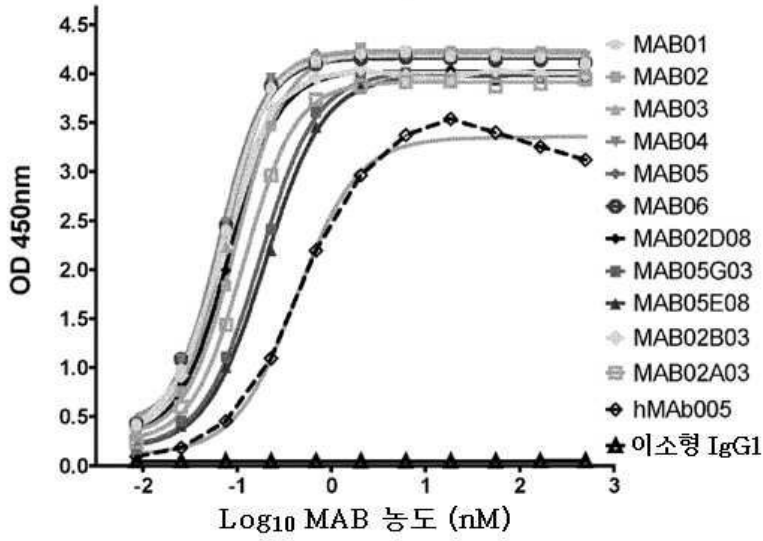


cyPD-1 에 대한 IgG 결합 ELISA

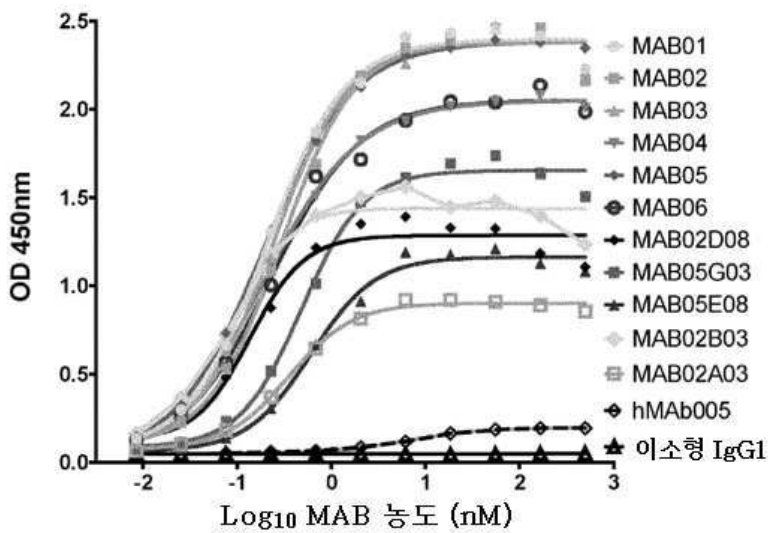


도면3b

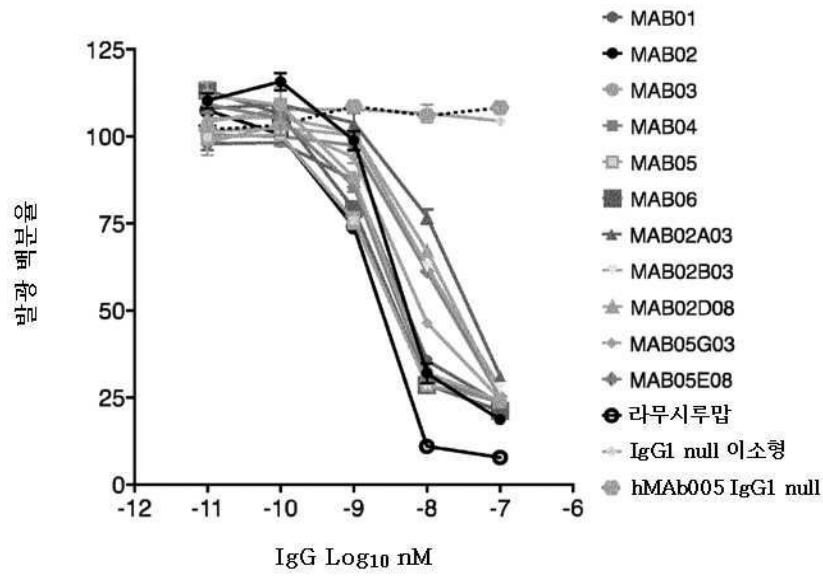
huVEGFR2 에 대한 IgG 결합 ELISA



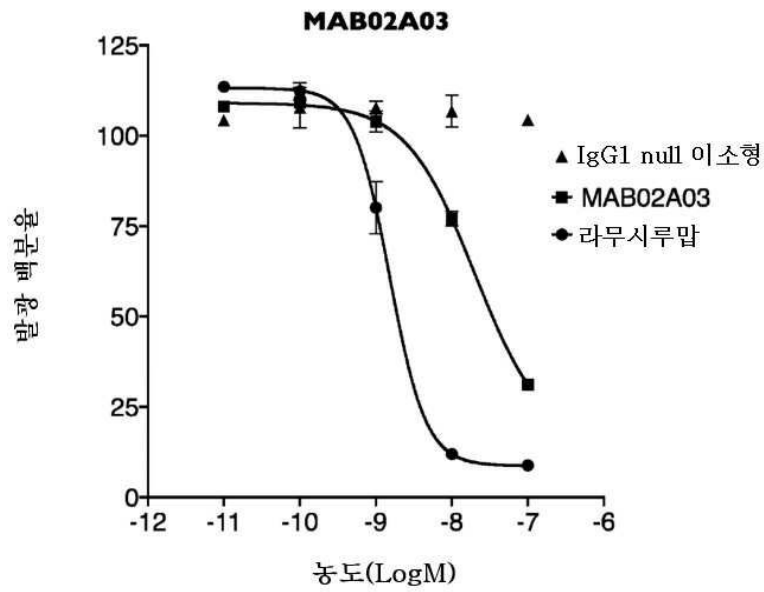
rhVEGFR2 에 대한 IgG 결합 ELISA



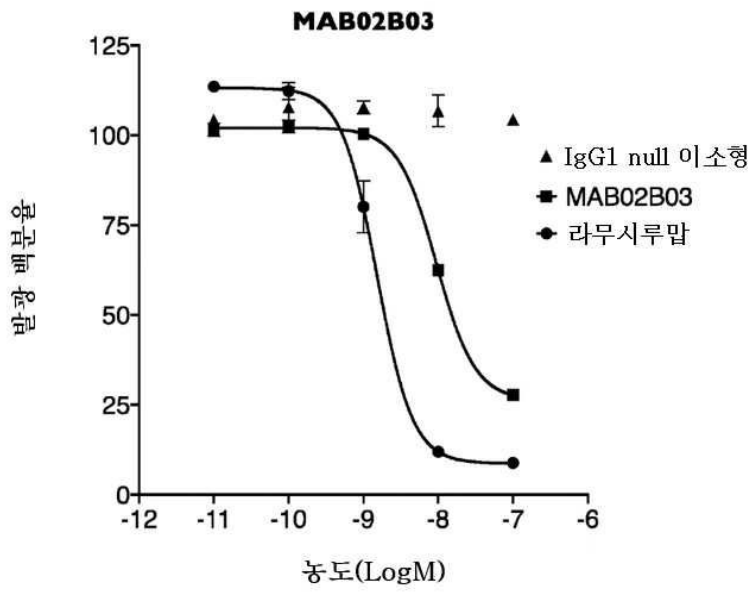
도면4



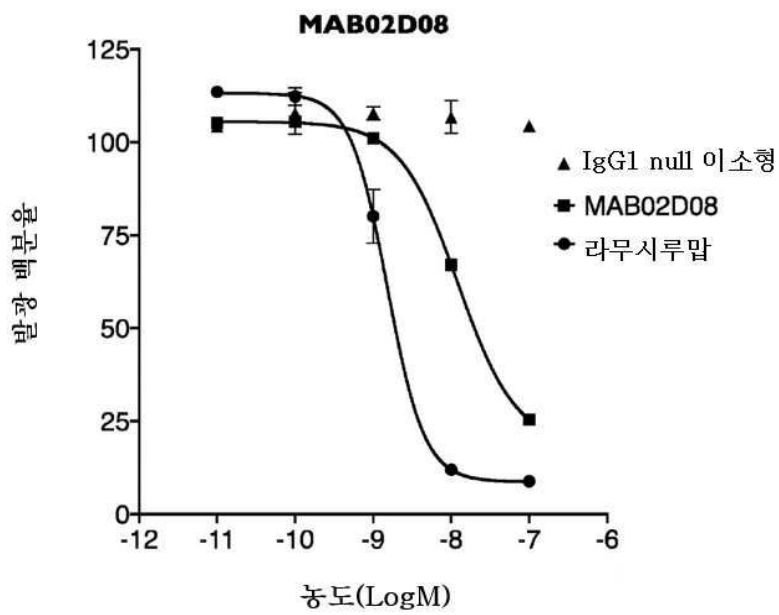
도면5a



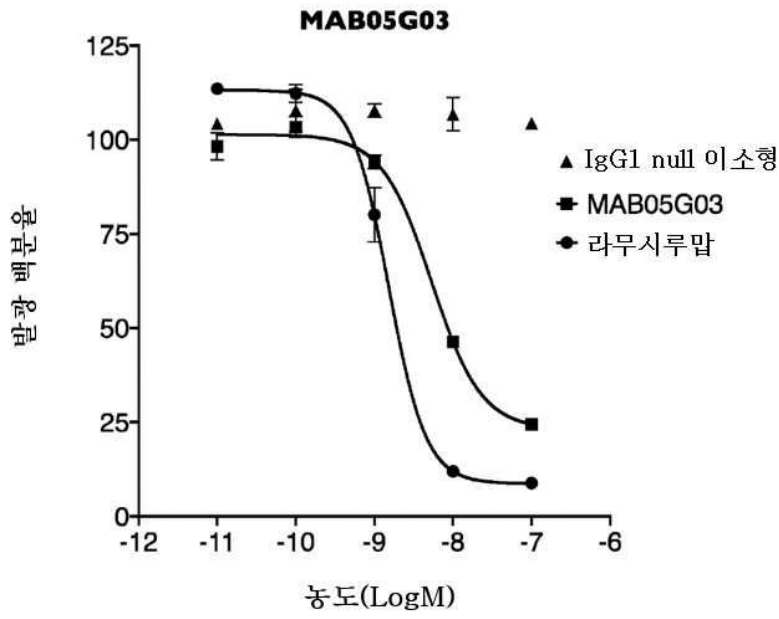
도면5b



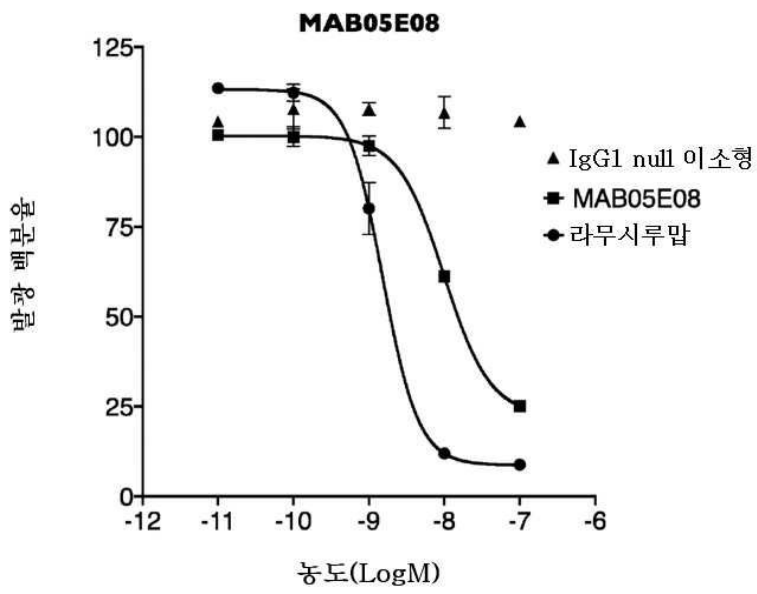
도면5c



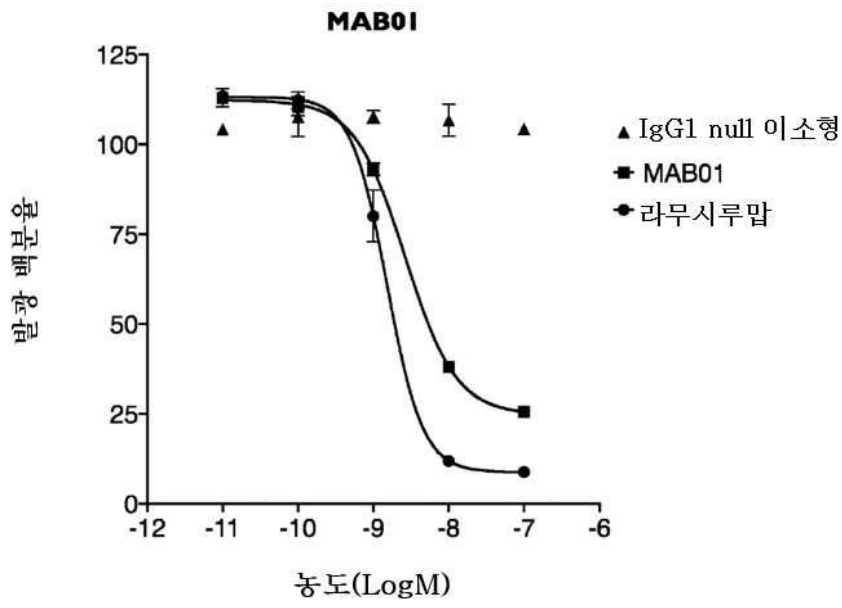
도면5d



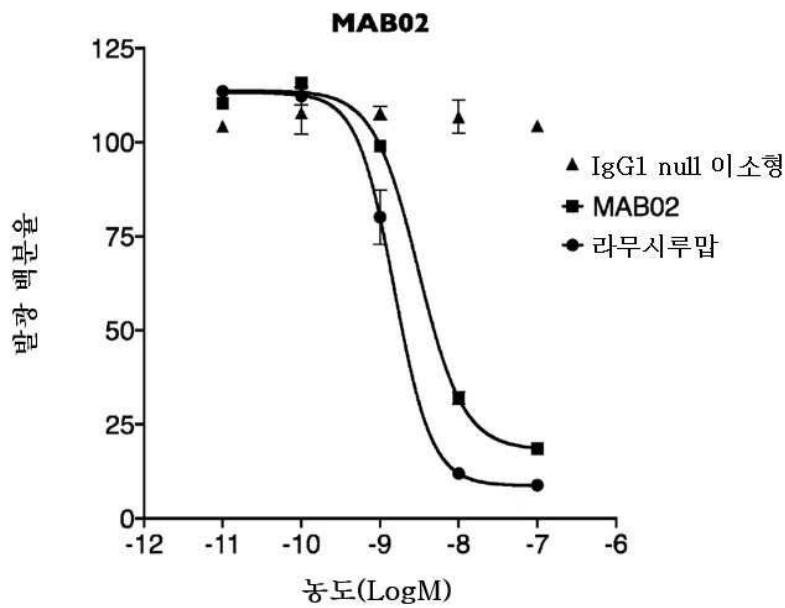
도면5e



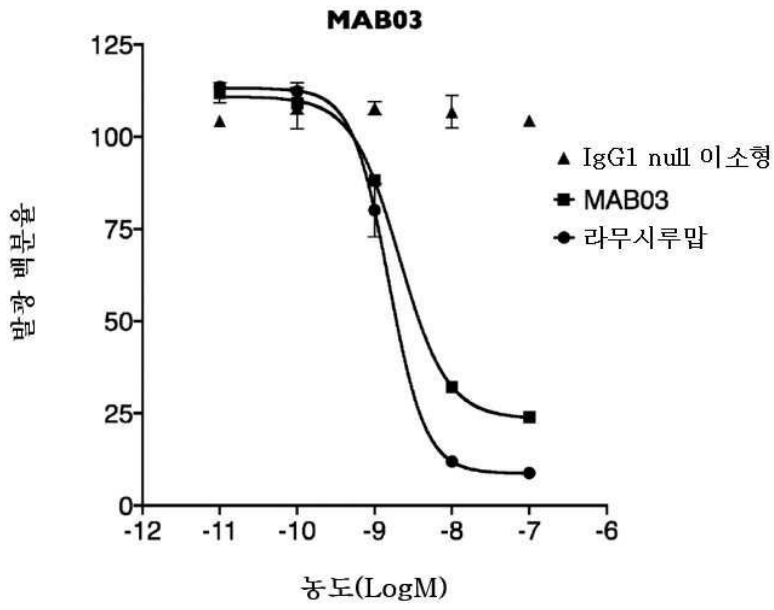
도면5f



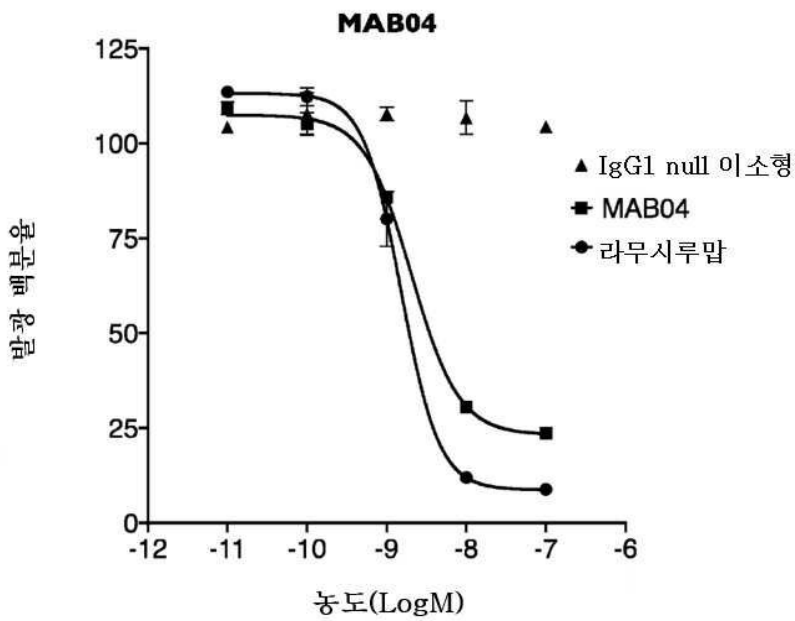
도면5g



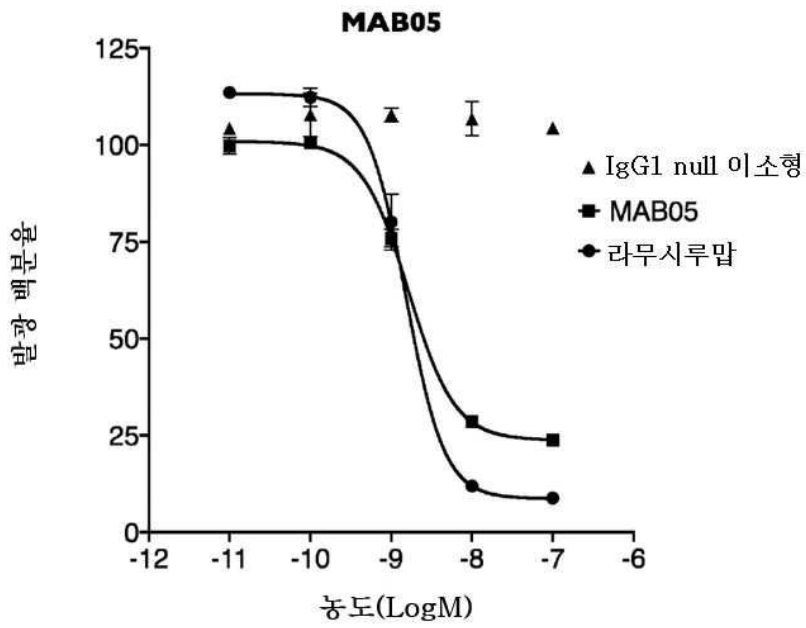
도면5h



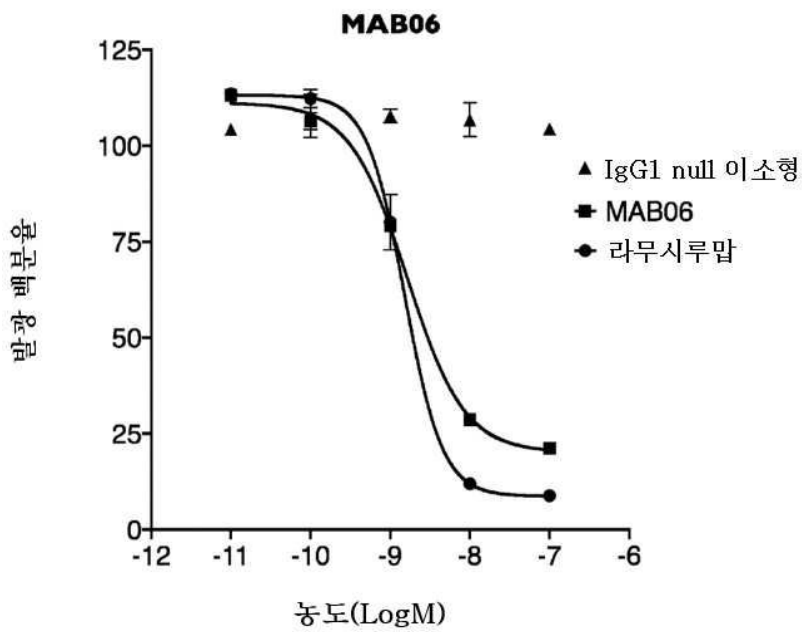
도면5i



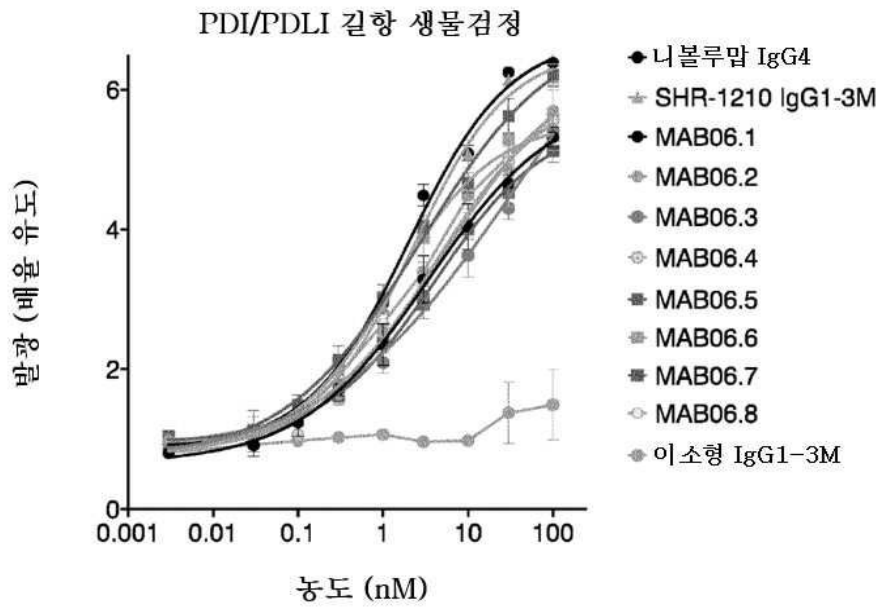
도면5j



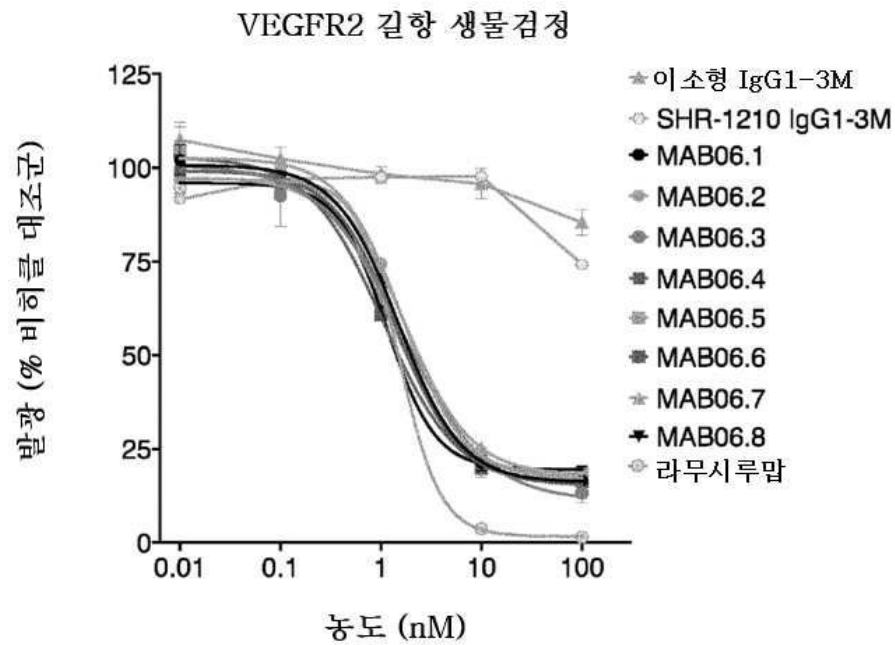
도면5k



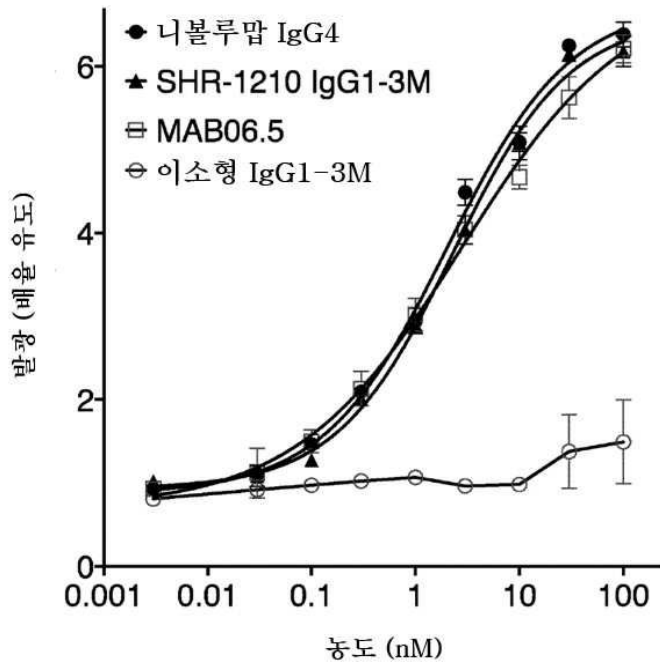
도면6



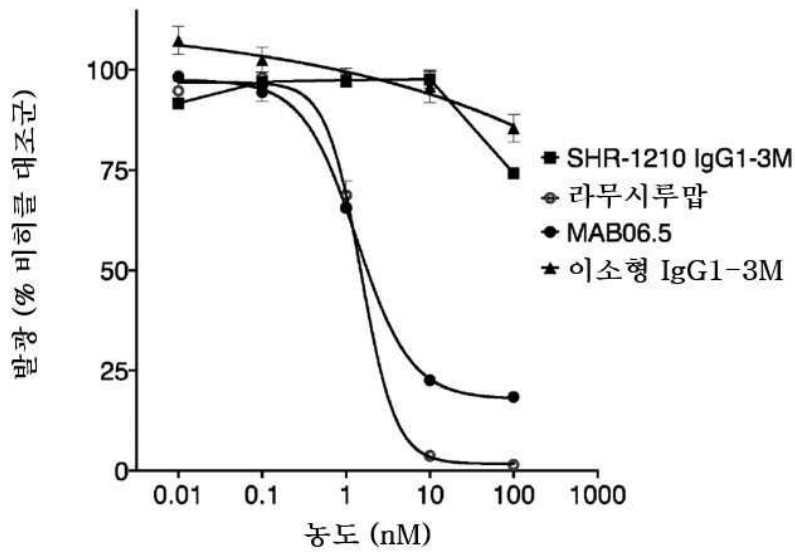
도면7



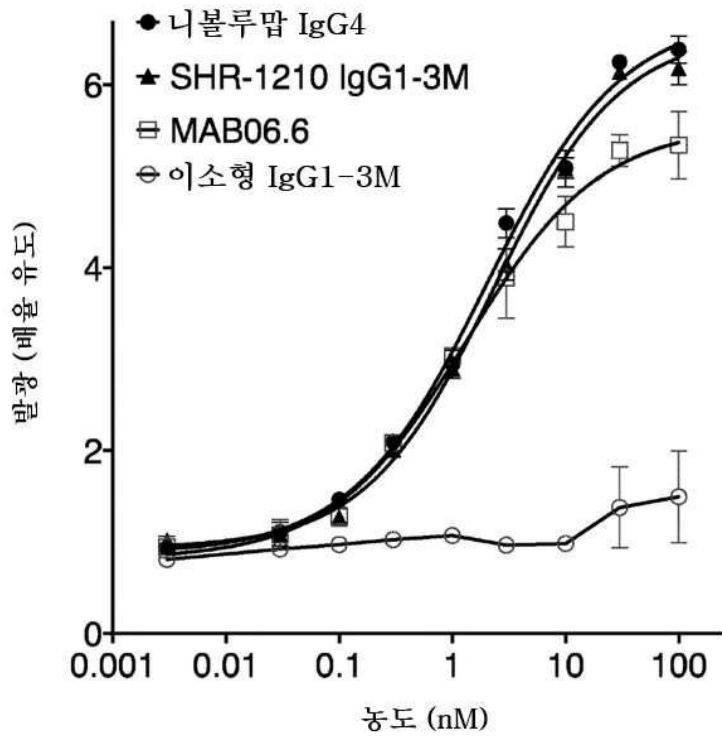
도면8a



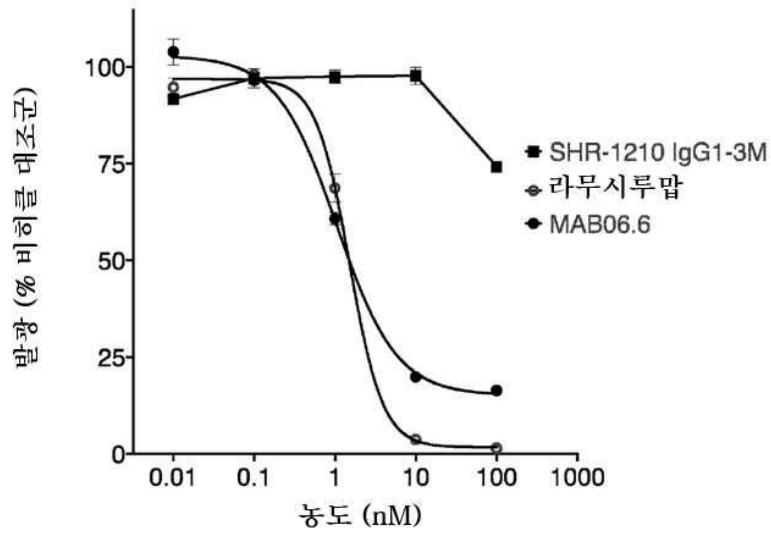
도면8b



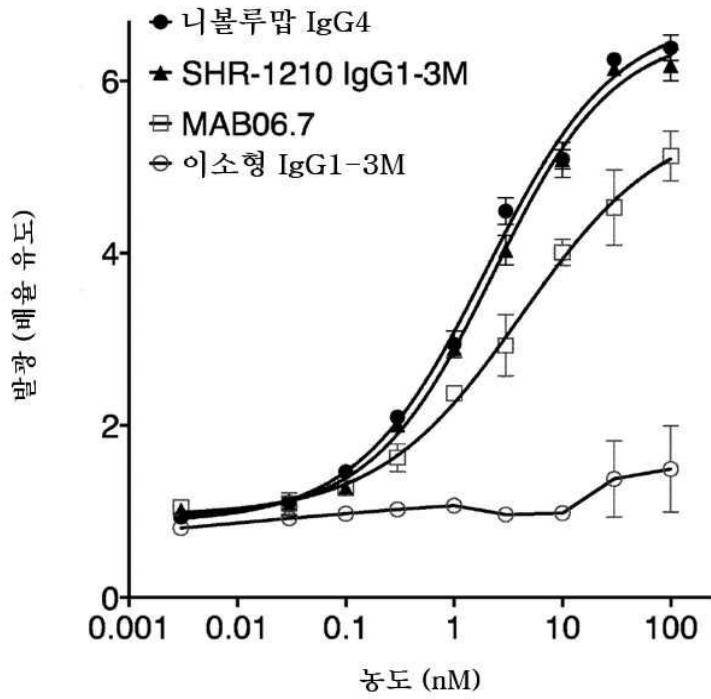
도면8c



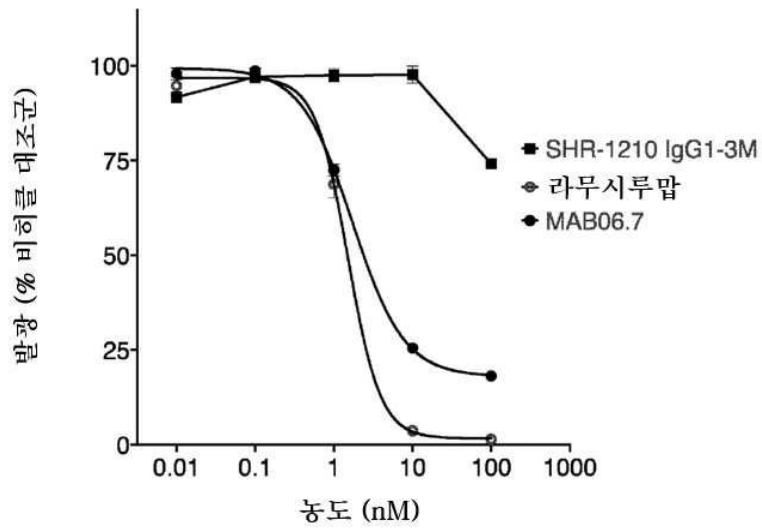
도면8d



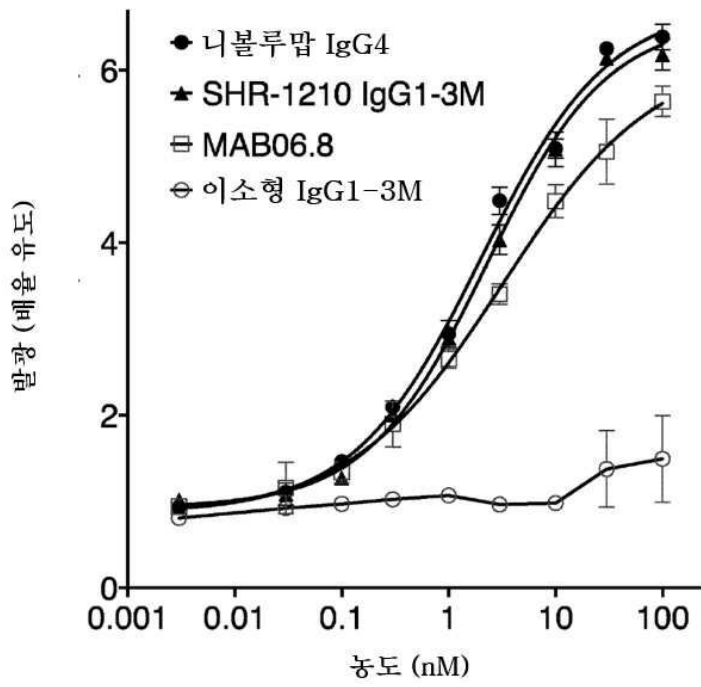
도면8e



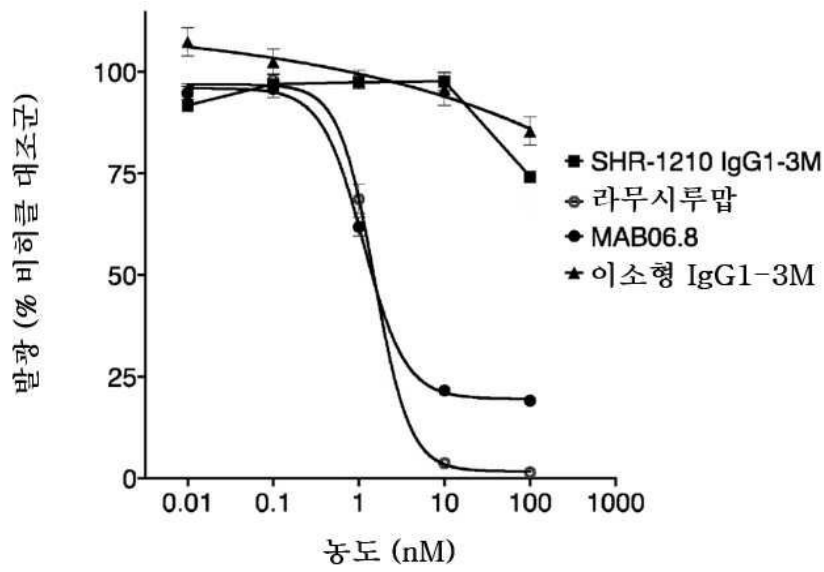
도면8f



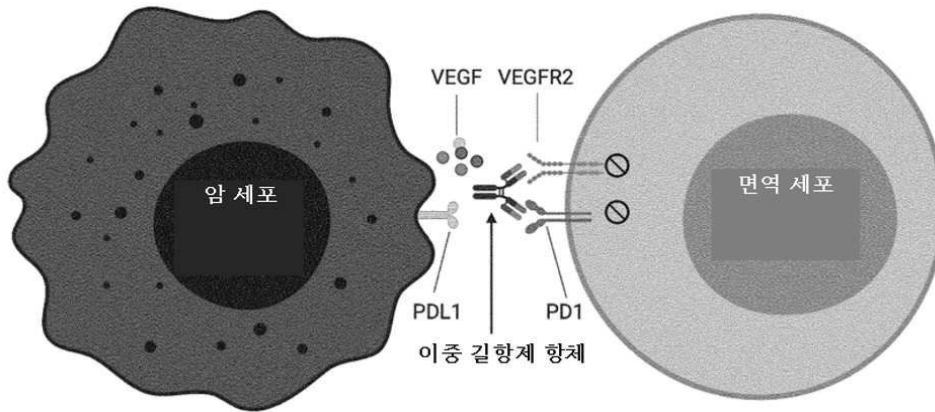
도면8g



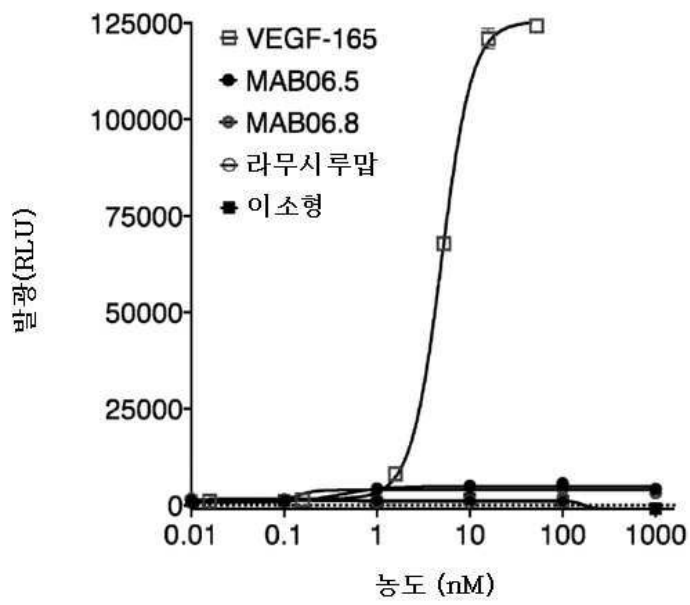
도면8h



도면9

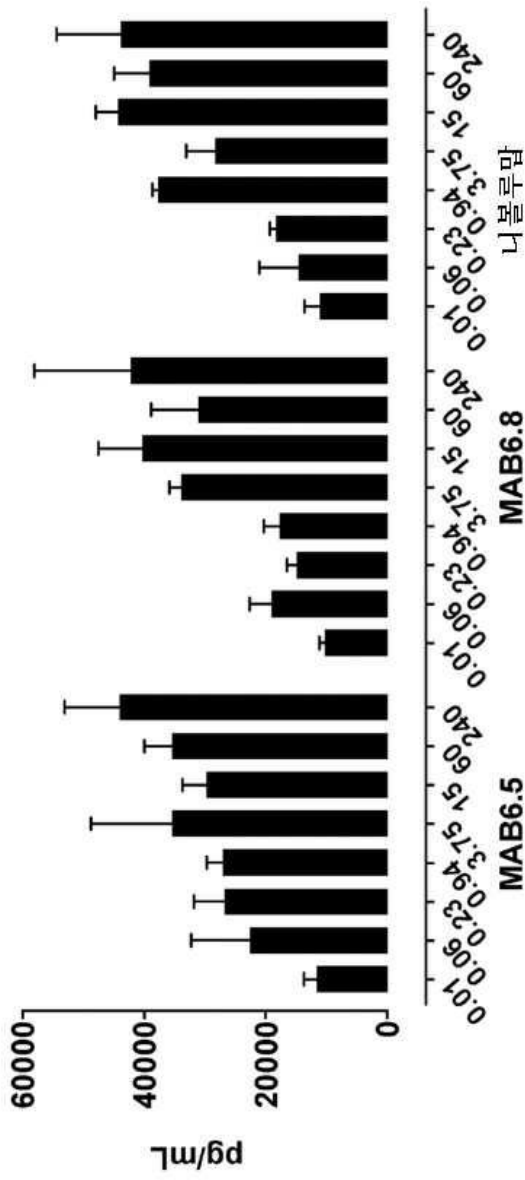


도면10



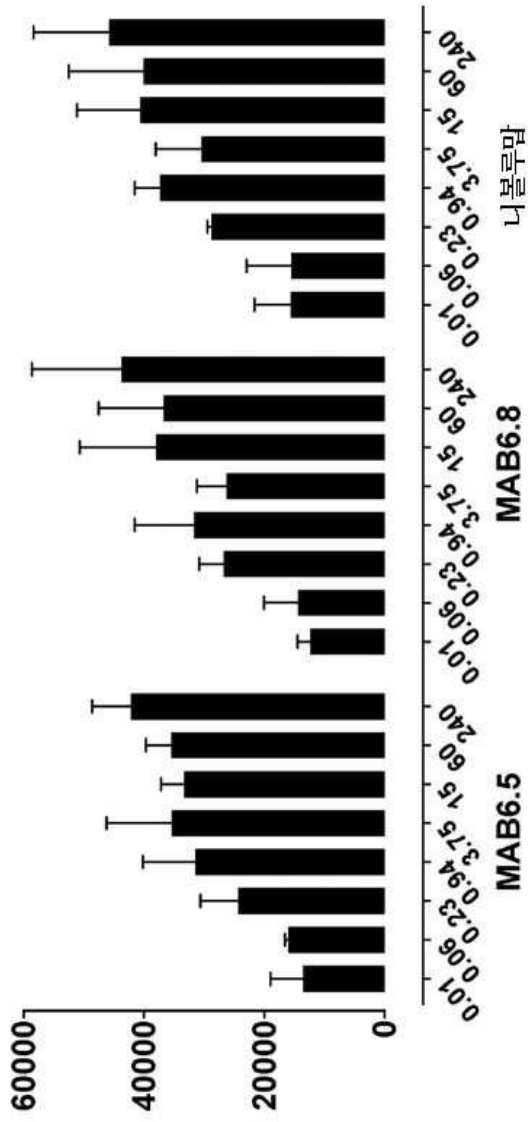
도면11a

상 1 실험 1



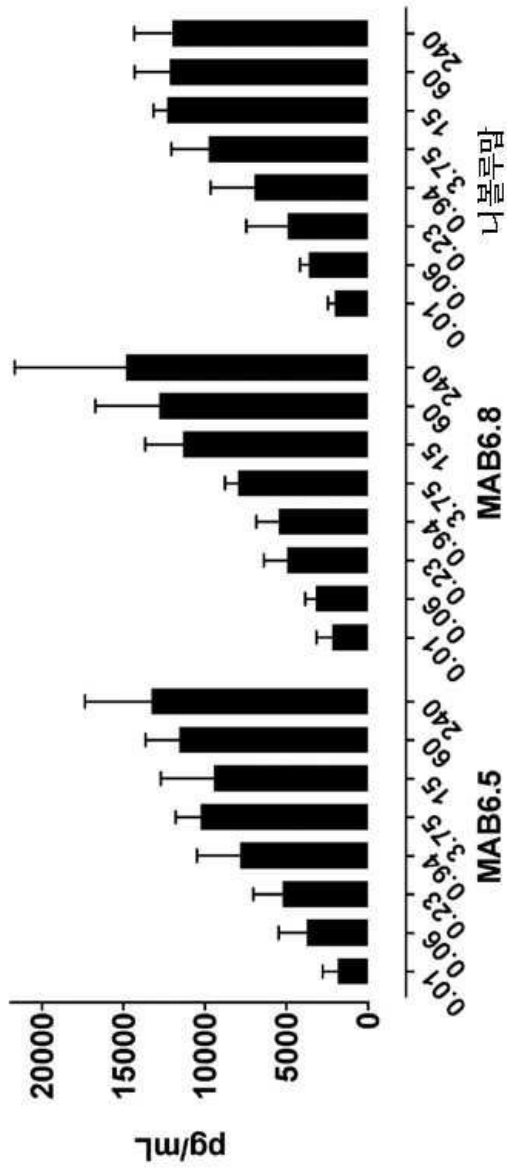
도면11b

쌍 1 실험 2



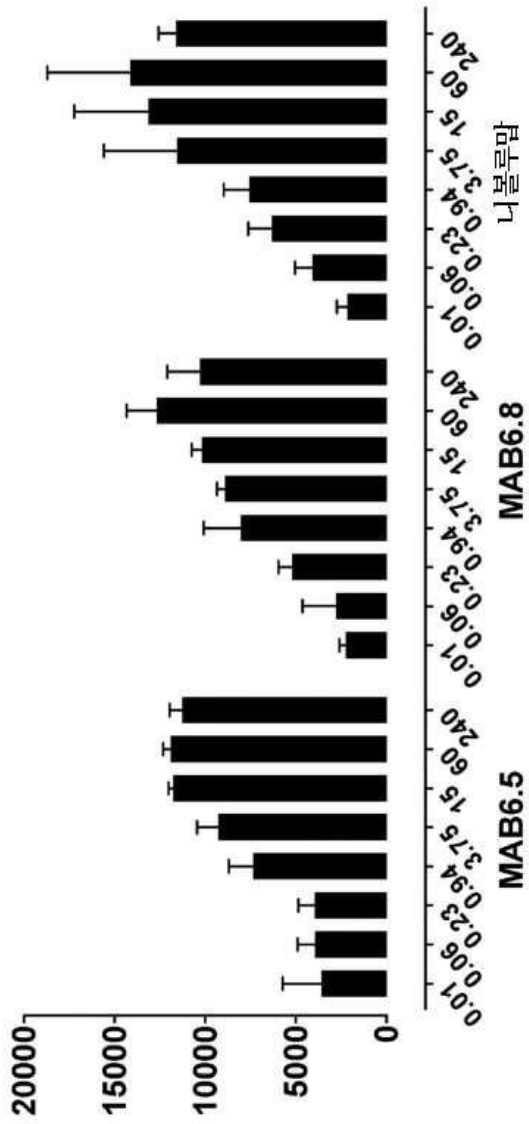
도면11c

실험 1



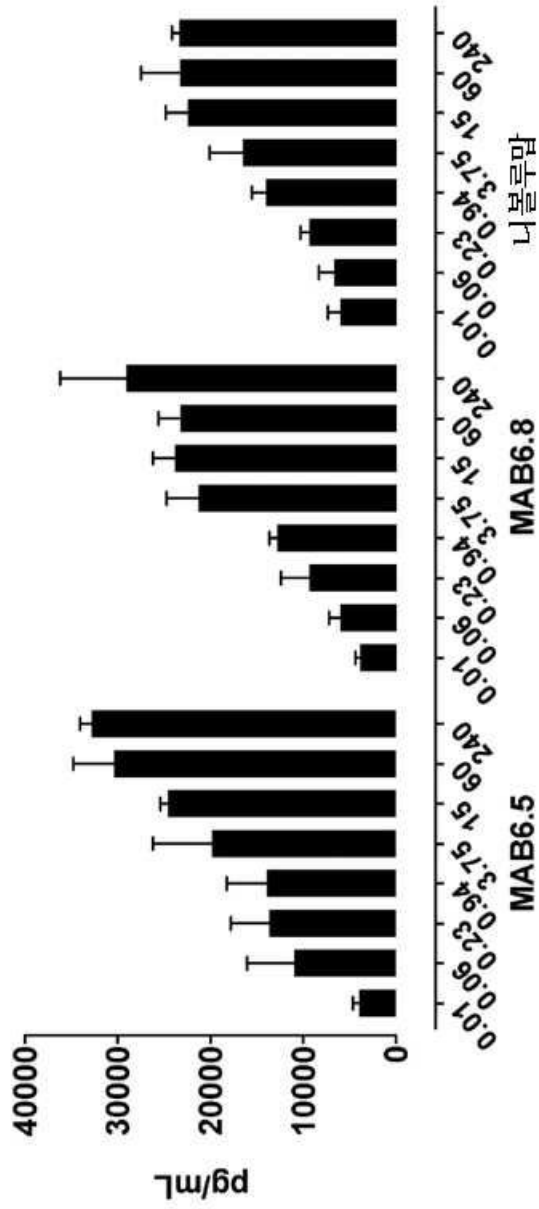
도면11d

장 2 실험 2



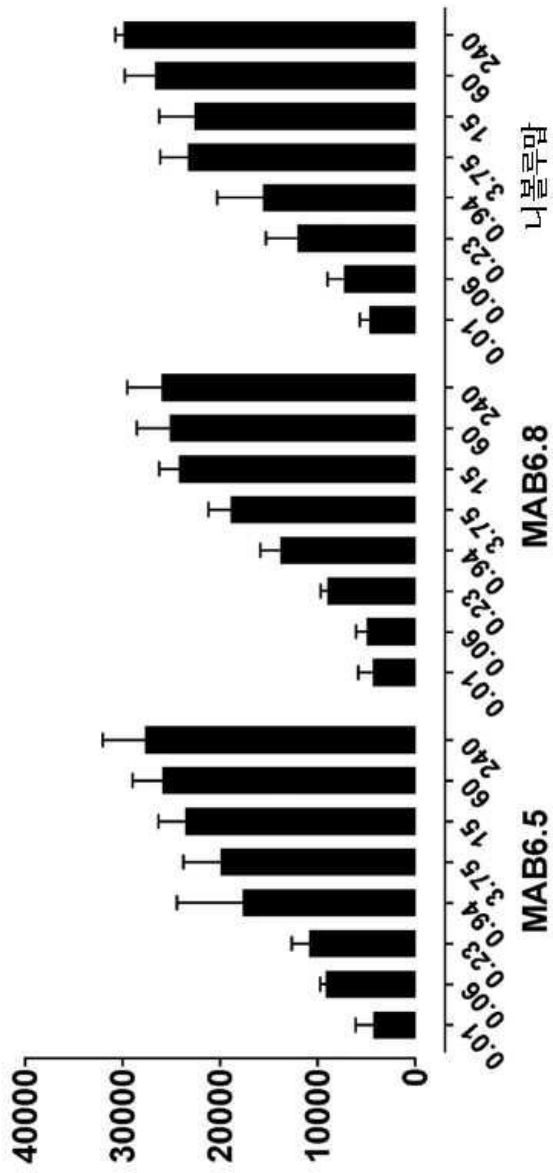
도면11e

쌍 3 실험 1

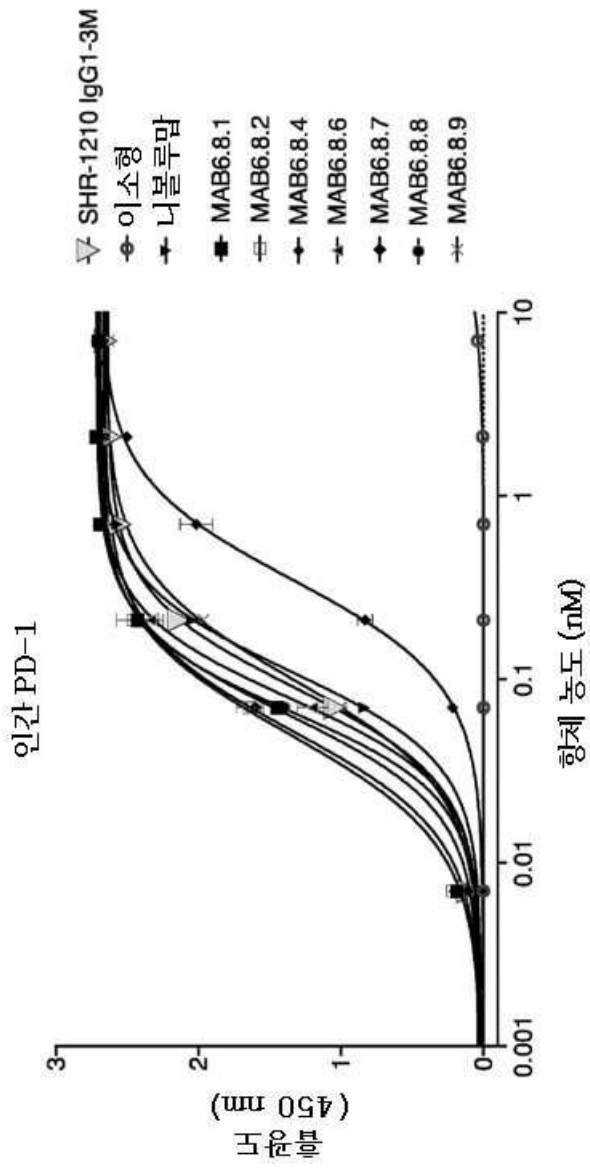


도면11f

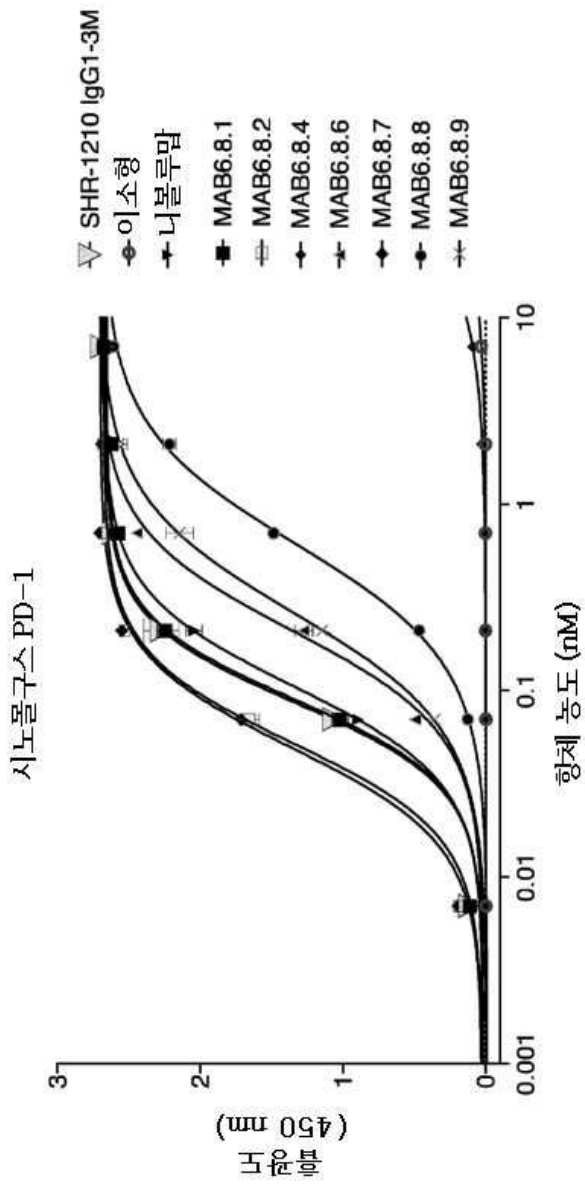
장 3 실험 2



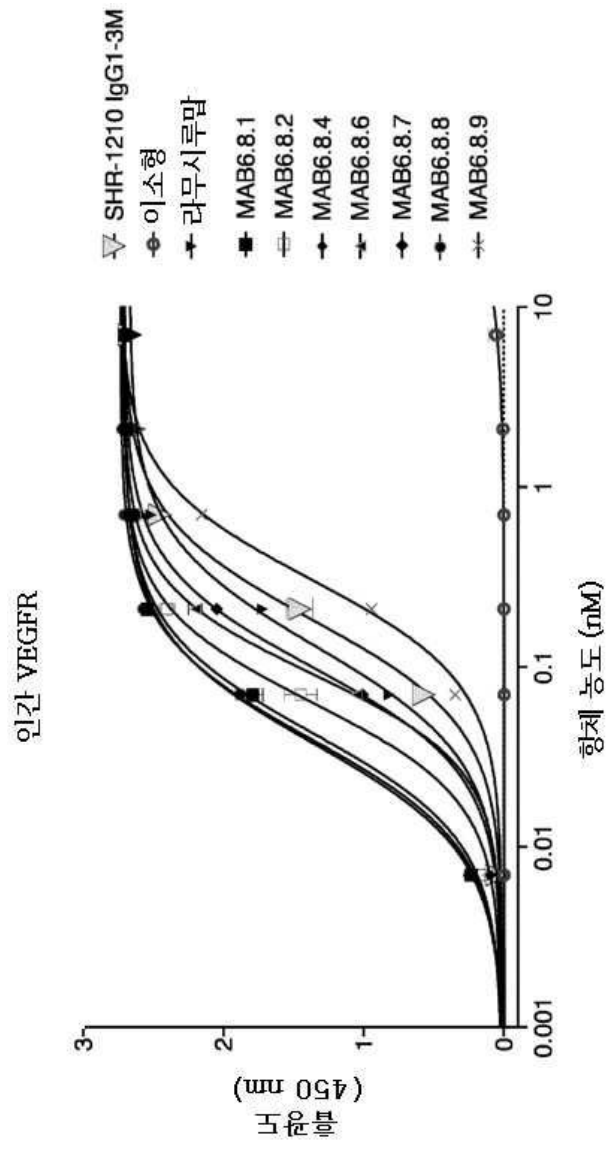
도면12a



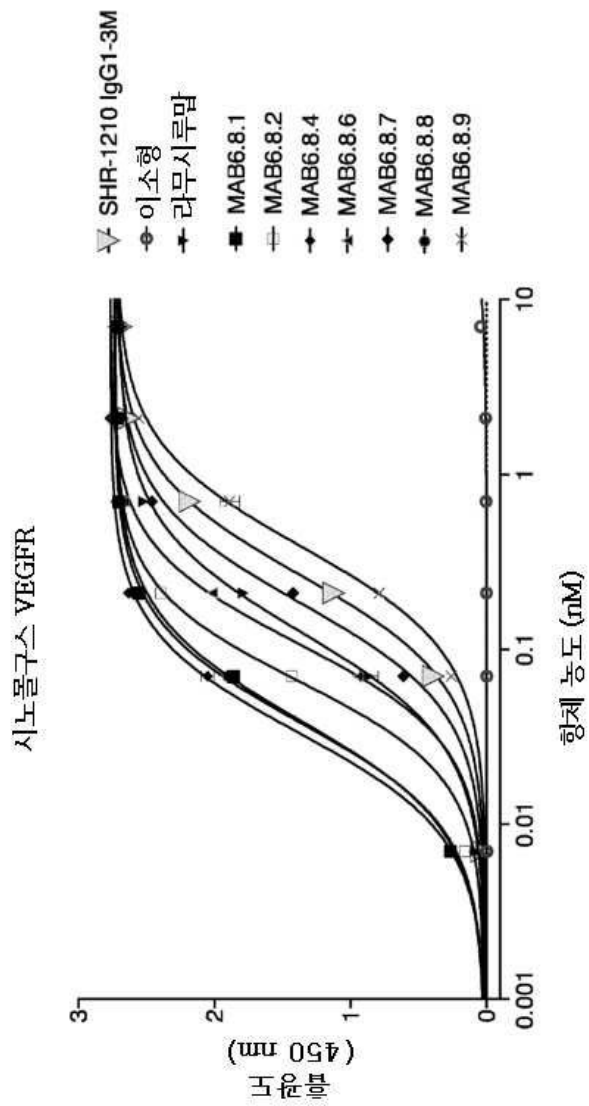
도면12b



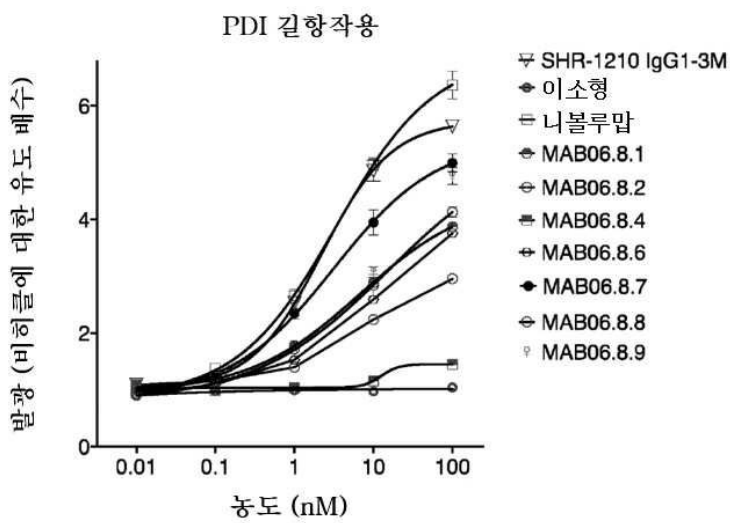
도면12c



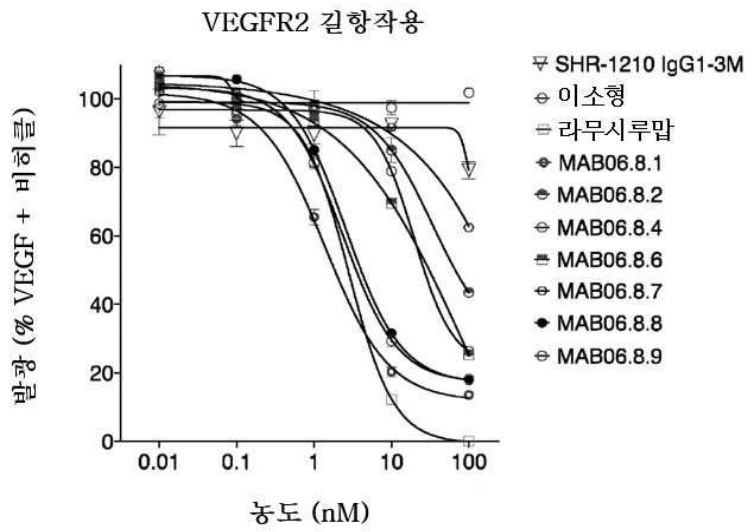
도면12d



도면13a



도면13b



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> ULTRAHUMAN EIGHT LIMITED

<120> PD1 AND VEGFR2 DUAL-BINDING AGENTS

<130> UHEL-002/02WO 332951-2018

<150> GB 2013180.1

<151> 2020-08-24

<150> GB 1914747.9

<151> 2019-10-11

<160> 75

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HCDR1

<400> 1

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Met Met Ser

1 5 10

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HCDR2

<400> 2

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

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HCDR3

<400> 3

Gln Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR1

<400> 4

Leu Ala Ser Gln Gly Ile Gly Pro Trp Leu Ser

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR2

<400> 5

Thr Ala Thr Ser Leu Ala Asp

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR3

<400> 6

Gln Gln Val Tyr Ser Ile Pro Trp Thr

1 5

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR1

<400> 7

Leu Ala Ser Gln Pro Leu Gly Ile Trp Leu Ser

1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR1

<400> 8

Leu Ala Ser Gln Glu Ser Gly Ile Trp Leu Ser

1 5 10

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR1

<400> 9

Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Thr

1 5 10

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR3

<400> 10

Gln Gln Val Ala Glu Leu Pro Phe Gly

1 5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR3

<400> 11

Gln Gln Val Ser Val Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR1

<400> 12

Leu Ala Ser Gln Glu Ser Gly Ile Trp Leu Gly

1 5 10

<210> 13

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable (VH) region

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Met Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 14

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

light chain variable (VL) region

<400> 14

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Ser Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Gly Ile Gly Pro Trp

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Thr Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Tyr Ser Ile Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 15

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable (VL) region

<400> 15

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Pro Leu Gly Ile Trp

 20 25 30

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

 35 40 45

Tyr Thr Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Tyr Ser Ile Pro Trp

 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 100 105

<210> 16

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable (VL) region

<400> 16

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Glu Ser Gly Ile Trp

 20 25 30

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

 35 40 45

Tyr Thr Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60

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

 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 19

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable (VL) region

<400> 19

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

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

85

90

95

Gly Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 20

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable (VL) region

<400> 20

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

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Pro Leu Gly Ile Trp

20

25

30

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

35

40

45

Tyr Thr Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Ala Glu Leu Pro Phe

85

90

95

Gly Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 21

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable (VL) region

<400> 21

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

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Glu Ser Gly Ile Trp

20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Thr Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Ala Glu Leu Pro Phe
 85 90 95
 Gly Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 22

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable (VL) region

<400> 22

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

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable (VL) region

<400> 23

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Pro Leu Gly Ile Trp

 20 25 30

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

 35 40 45

Tyr Thr Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Ser Val Thr Pro Phe

 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 100 105

<210> 24

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable (VL) region

<400> 24

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Glu Ser Gly Ile Trp

 20 25 30

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

 35 40 45

Tyr Thr Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

145 150 155 160
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

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

 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 26

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human IgG4(S228P) antibody Fc region

<400

> 26

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 27

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 28

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human IgG1-3M antibody Fc region

<400> 28

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 29

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

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

1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95
 Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110
 Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 145 150 155 160
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
 165 170 175
 Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
 180 185 190
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

 195 200 205
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 225 230 235 240
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 245 250 255
 Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

 260 265 270
 Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 290 295 300
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 305 310 315 320
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 30

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 245 250 255
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 260 265 270
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 290 295 300
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 305 310 315 320
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 32

<211> 288

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

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> 33

<211> 288

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 33

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 Glu Ser Pro Asp Arg Pro Trp
 20 25 30

Asn Ala Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Leu Val Thr Glu Gly Asp
 35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Ala 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 Arg 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 Ala 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 Gln Gly Thr Ile Glu 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 Ala Pro

 225 230 235 240
 Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
 245 250 255
 Leu Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
 260 265 270
 Ser Pro Arg Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
 275 280 285
 <210> 34
 <211> 1356
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 34
 Met Gln Ser Lys Val Leu Leu Ala Val Ala Leu Trp Leu Cys Val Glu
 1 5 10 15
 Thr Arg Ala Ala Ser Val Gly Leu Pro Ser Val Ser Leu Asp Leu Pro
 20 25 30
 Arg Leu Ser Ile Gln Lys Asp Ile Leu Thr Ile Lys Ala Asn Thr Thr
 35 40 45
 Leu Gln Ile Thr Cys Arg Gly Gln Arg Asp Leu Asp Trp Leu Trp Pro
 50 55 60

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

Lys Tyr Leu Gly Tyr Pro Pro Pro Glu Ile Lys Trp Tyr Lys Asn Gly
 355 360 365
 Ile Pro Leu Glu Ser Asn His Thr Ile Lys Ala Gly His Val Leu Thr
 370 375 380

 Ile Met Glu Val Ser Glu Arg Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Val Ile Leu
 385 390 395 400
 Thr Asn Pro Ile Ser Lys Glu Lys Gln Ser His Val Val Ser Leu Val
 405 410 415
 Val Tyr Val Pro Pro Gln Ile Gly Glu Lys Ser Leu Ile Ser Pro Val
 420 425 430
 Asp Ser Tyr Gln Tyr Gly Thr Thr Gln Thr Leu Thr Cys Thr Val Tyr
 435 440 445

 Ala Ile Pro Pro Pro His His Ile His Trp Tyr Trp Gln Leu Glu Glu
 450 455 460
 Glu Cys Ala Asn Glu Pro Ser Gln Ala Val Ser Val Thr Asn Pro Tyr
 465 470 475 480
 Pro Cys Glu Glu Trp Arg Ser Val Glu Asp Phe Gln Gly Gly Asn Lys
 485 490 495
 Ile Glu Val Asn Lys Asn Gln Phe Ala Leu Ile Glu Gly Lys Asn Lys
 500 505 510

 Thr Val Ser Thr Leu Val Ile Gln Ala Ala Asn Val Ser Ala Leu Tyr
 515 520 525
 Lys Cys Glu Ala Val Asn Lys Val Gly Arg Gly Glu Arg Val Ile Ser
 530 535 540
 Phe His Val Thr Arg Gly Pro Glu Ile Thr Leu Gln Pro Asp Met Gln
 545 550 555 560
 Pro Thr Glu Gln Glu Ser Val Ser Leu Trp Cys Thr Ala Asp Arg Ser
 565 570 575

 Thr Phe Glu Asn Leu Thr Trp Tyr Lys Leu Gly Pro Gln Pro Leu Pro
 580 585 590
 Ile His Val Gly Glu Leu Pro Thr Pro Val Cys Lys Asn Leu Asp Thr

Ile Glu Ala Asp Ala Phe Gly Ile Asp Lys Thr Ala Thr Cys Arg Thr
 850 855 860
 Val Ala Val Lys Met Leu Lys Glu Gly Ala Thr His Ser Glu His Arg
 865 870 875 880
 Ala Leu Met Ser Glu Leu Lys Ile Leu Ile His Ile Gly His His Leu
 885 890 895

 Asn Val Val Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Lys Pro Gly Gly Pro Leu
 900 905 910
 Met Val Ile Val Glu Phe Cys Lys Phe Gly Asn Leu Ser Thr Tyr Leu
 915 920 925
 Arg Ser Lys Arg Asn Glu Phe Val Pro Tyr Lys Thr Lys Gly Ala Arg
 930 935 940
 Phe Arg Gln Gly Lys Asp Tyr Val Gly Ala Ile Pro Val Asp Leu Lys
 945 950 955 960

 Arg Arg Leu Asp Ser Ile Thr Ser Ser Gln Ser Ser Ala Ser Ser Gly
 965 970 975
 Phe Val Glu Glu Lys Ser Leu Ser Asp Val Glu Glu Glu Glu Ala Pro
 980 985 990
 Glu Asp Leu Tyr Lys Asp Phe Leu Thr Leu Glu His Leu Ile Cys Tyr
 995 1000 1005
 Ser Phe Gln Val Ala Lys Gly Met Glu Phe Leu Ala Ser Arg Lys
 1010 1015 1020

 Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu
 1025 1030 1035
 Lys Asn Val Val Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile
 1040 1045 1050
 Tyr Lys Asp Pro Asp Tyr Val Arg Lys Gly Asp Ala Arg Leu Pro
 1055 1060 1065
 Leu Lys Trp Met Ala Pro Glu Thr Ile Phe Asp Arg Val Tyr Thr
 1070 1075 1080

 Ile Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile

1085	1090	1095
Phe Ser Leu Gly Ala Ser Pro Tyr Pro Gly Val Lys Ile Asp Glu		
1100	1105	1110
Glu Phe Cys Arg Arg Leu Lys Glu Gly Thr Arg Met Arg Ala Pro		
1115	1120	1125
Asp Tyr Thr Thr Pro Glu Met Tyr Gln Thr Met Leu Asp Cys Trp		
1130	1135	1140
His Gly Glu Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Ser Glu Leu Val Glu		
1145	1150	1155
His Leu Gly Asn Leu Leu Gln Ala Asn Ala Gln Gln Asp Gly Lys		
1160	1165	1170
Asp Tyr Ile Val Leu Pro Ile Ser Glu Thr Leu Ser Met Glu Glu		
1175	1180	1185
Asp Ser Gly Leu Ser Leu Pro Thr Ser Pro Val Ser Cys Met Glu		
1190	1195	1200
Glu Glu Glu Val Cys Asp Pro Lys Phe His Tyr Asp Asn Thr Ala		
1205	1210	1215
Gly Ile Ser Gln Tyr Leu Gln Asn Ser Lys Arg Lys Ser Arg Pro		
1220	1225	1230
Val Ser Val Lys Thr Phe Glu Asp Ile Pro Leu Glu Glu Pro Glu		
1235	1240	1245
Val Lys Val Ile Pro Asp Asp Asn Gln Thr Asp Ser Gly Met Val		
1250	1255	1260
Leu Ala Ser Glu Glu Leu Lys Thr Leu Glu Asp Arg Thr Lys Leu		
1265	1270	1275
Ser Pro Ser Phe Gly Gly Met Val Pro Ser Lys Ser Arg Glu Ser		
1280	1285	1290
Val Ala Ser Glu Gly Ser Asn Gln Thr Ser Gly Tyr Gln Ser Gly		
1295	1300	1305
Tyr His Ser Asp Asp Thr Asp Thr Thr Val Tyr Ser Ser Glu Glu		
1310	1315	1320

Ala Glu Leu Leu Lys Leu Ile Glu Ile Gly Val Gln Thr Gly Ser
 1325 1330 1335

Thr Ala Gln Ile Leu Gln Pro Asp Ser Gly Thr Thr Leu Ser Ser
 1340 1345 1350

Pro Pro Val
 1355

<210> 35

<211> 1356

<212> PRT

<213> Macaca mulatta

<400> 35

Met Ala Ser Lys Val Leu Leu Ala Val Ala Leu Trp Leu Cys Val Glu
 1 5 10 15

Thr Arg Ala Ala Ser Val Gly Leu Pro Ser Val Ser Leu Asp Leu Pro
 20 25 30

Arg Leu Ser Ile Gln Lys Asp Ile Leu Thr Ile Lys Ala Asn Thr Thr
 35 40 45

Leu Gln Ile Thr Cys Arg Gly Gln Arg Asp Leu Asp Trp Leu Trp Pro
 50 55 60

Asn Asn Gln Ser Gly Ser Glu Gln Arg Val Glu Val Thr Glu Cys Ser
 65 70 75 80

Asp Gly Leu Phe Cys Lys Thr Leu Thr Ile Pro Lys Val Ile Gly Asn
 85 90 95

Asp Thr Gly Ala Tyr Lys Cys Phe Tyr Arg Glu Thr Asp Leu Ala Ser
 100 105 110

Val Ile Tyr Val Tyr Val Gln Asp Tyr Arg Ser Pro Phe Ile Ala Ser
 115 120 125

Val Ser Asp Gln His Gly Val Val Tyr Ile Thr Glu Asn Lys Asn Lys
 130 135 140

Thr Val Val Ile Pro Cys Leu Gly Ser Ile Ser Asn Leu Asn Val Ser
 145 150 155 160

Leu Cys Ala Arg Tyr Pro Glu Lys Arg Phe Val Pro Asp Gly Asn Arg

Val Tyr Val Pro Pro Gln Ile Gly Glu Lys Ser Leu Ile Ser Pro Val
 420 425 430

Asp Ser Tyr Gln Tyr Gly Thr Thr Gln Thr Leu Thr Cys Thr Val Tyr
 435 440 445

Ala Ile Pro Pro Pro His His Ile His Trp Tyr Trp Gln Leu Glu Glu
 450 455 460

Glu Cys Pro Asn Glu Pro Ser Gln Ala Val Ser Val Thr Asn Pro Tyr
 465 470 475 480

Pro Cys Glu Glu Trp Arg Ser Val Glu Asp Phe Gln Gly Gly Asn Lys
 485 490 495

Ile Glu Val Asn Lys Asn Gln Phe Ala Leu Ile Glu Gly Lys Asn Lys
 500 505 510

Thr Val Ser Thr Leu Val Ile Gln Ala Ala Asn Val Ser Ala Leu Tyr
 515 520 525

Lys Cys Glu Ala Val Asn Lys Val Gly Arg Gly Glu Arg Val Ile Ser
 530 535 540

Phe His Val Thr Arg Gly Pro Glu Ile Thr Leu Gln Pro Asp Leu Gln
 545 550 555 560

Pro Thr Glu Gln Glu Ser Val Ser Leu Trp Cys Thr Ala Asp Lys Ser
 565 570 575

Thr Phe Glu Asn Leu Thr Trp Tyr Lys Leu Gly Pro Gln Pro Leu Pro
 580 585 590

Val His Val Gly Glu Leu Pro Thr Pro Val Cys Lys Asn Leu Asp Thr
 595 600 605

Leu Trp Lys Leu Asn Ala Thr Ile Phe Ser Asn Ser Thr Asn Asp Ile
 610 615 620

Leu Ile Met Glu Leu Lys Asn Ala Ser Leu Gln Asp Gln Gly Asp Tyr
 625 630 635 640

Val Cys Val Ala Gln Asp Arg Lys Thr Lys Lys Arg His Cys Val Val
 645 650 655

Arg Gln Leu Thr Val Leu Glu Arg Val Ala Pro Met Ile Thr Gly Asn

Met Val Ile Val Glu Phe Cys Lys Phe Gly Asn Leu Ser Thr Tyr Leu

915 920 925

Arg Ser Lys Arg Asn Glu Phe Val Pro Tyr Lys Thr Lys Gly Ala Arg

930 935 940

Phe Arg Gln Gly Lys Asp Tyr Val Gly Ala Ile Pro Val Asp Leu Lys

945 950 955 960

Arg Arg Leu Asp Ser Ile Thr Ser Ser Gln Ser Ser Ala Ser Ser Gly

965 970 975

Phe Val Glu Glu Lys Ser Leu Ser Asp Val Glu Glu Glu Glu Ala Pro

980 985 990

Glu Asp Leu Tyr Lys Asp Phe Leu Thr Leu Glu His Leu Ile Cys Tyr

995 1000 1005

Ser Phe Gln Val Ala Lys Gly Met Glu Phe Leu Ala Ser Arg Lys

1010 1015 1020

Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu

1025 1030 1035

Lys Asn Val Val Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile

1040 1045 1050

Tyr Lys Asp Pro Asp Tyr Val Arg Lys Gly Asp Ala Arg Leu Pro

1055 1060 1065

Leu Lys Trp Met Ala Pro Glu Thr Ile Phe Asp Arg Val Tyr Thr

1070 1075 1080

Ile Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile

1085 1090 1095

Phe Ser Leu Gly Ala Ser Pro Tyr Pro Gly Val Lys Ile Asp Glu

1100 1105 1110

Glu Phe Cys Arg Arg Leu Lys Glu Gly Thr Arg Met Arg Ala Pro

1115 1120 1125

Asp Tyr Thr Thr Pro Glu Met Tyr Gln Thr Met Leu Asp Cys Trp

1130 1135 1140

His Gly Glu Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Ser Glu Leu Val Glu

1145 1150 1155
 His Leu Gly Asn Leu Leu Gln Ala Asn Ala Gln Gln Asp Gly Lys

1160 1165 1170
 Asp Tyr Ile Val Leu Pro Ile Ser Glu Thr Leu Ser Met Glu Glu

1175 1180 1185
 Asp Ser Gly Leu Ser Leu Pro Thr Ser Pro Val Ser Cys Met Glu

1190 1195 1200
 Glu Glu Glu Val Cys Asp Pro Lys Phe His Tyr Asp Asn Thr Ala

1205 1210 1215
 Gly Ile Ser Gln Tyr Leu Gln Asn Ser Lys Arg Lys Ser Arg Pro

1220 1225 1230
 Val Ser Val Lys Thr Phe Glu Asp Ile Pro Leu Glu Glu Pro Glu

1235 1240 1245
 Val Lys Val Ile Pro Asp Asp Asn Gln Thr Asp Ser Gly Met Val

1250 1255 1260
 Leu Ala Ser Glu Glu Leu Lys Thr Leu Glu Asp Arg Thr Lys Leu

1265 1270 1275
 Ala Pro Ser Phe Ser Gly Met Val Ser Ser Lys Ser Arg Glu Ser

1280 1285 1290
 Val Ala Ser Glu Gly Ser Asn Gln Thr Ser Gly Tyr Gln Ser Gly

1295 1300 1305
 Tyr His Ser Asp Asp Thr Asp Thr Thr Val Tyr Ser Ser Glu Glu

1310 1315 1320
 Ala Glu Leu Leu Lys Leu Ile Glu Ile Gly Val Gln Thr Gly Ser

1325 1330 1335
 Thr Ala Gln Ile Leu Gln Pro Asp Ser Gly Thr Thr Leu Ser Ser

1340 1345 1350
 Pro Pro Val

1355

<210> 36

<211> 5

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> immunoglobulin constant region motif

<400> 36

Arg Asp Glu Leu Thr

1 5

<210> 37

<211> 4

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> immunoglobulin constant region motif

<400> 37

Arg Glu Glu Met

1

<210> 38

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HCDR2

<400> 38

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

1 5 10 15

Gly

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR1

<400> 39

Arg Ala Ser Gln Glu Ser Gly Ile Trp Leu Ser

1 5 10

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR2

<400> 40

Thr Ala Ser Ser Leu Ala Asp

1 5

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR2

<400> 41

Ala Ala Ser Ser Leu Ala Asp

1 5

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HCDR2

<400> 42

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

1 5 10 15

Gly

<210> 43

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR2

<400> 43

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 44

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable (VL) region

<400> 44

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Tyr Thr Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Ser Val Thr Pro Phe

 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 100 105

<210> 45

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> light chain variable (VL) region

<400> 45

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Tyr Thr Ala Ser Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

<400> 47

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 48

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable (VH) region

<400> 48

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

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

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

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

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

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

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 49

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable (VH) region

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Met Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 50

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LFR1

<400> 50

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 51

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LFR2

<400> 51

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

1 5 10 15

<210> 52

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LFR3

<400> 52

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

20

25

30

<210> 53

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LFR4

<400> 53

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 54

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HFR1

<400> 54

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

20

25

<210> 55

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HFR2

<400> 55

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

1 5 10

<210> 56

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HCDR2

<400> 56

Val Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 57

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HFR3

<400> 57

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 58

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HFR4

<400> 58

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Thr, Glu, Gly, Lys, Pro or Ser

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is Ile, Ala, Leu, Ser or Val

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is Gly, Arg or Ser

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is Thr, Gly, Ile, Leu or Pro

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa is Thr or Ser

<400> 59

Leu Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Leu Xaa

1 5 10

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL LCDR3

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is Tyr, Ala, Phe, Asn or Ser

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Ser, Ala, Glu, Met, Asn, Gln or Val

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is Ile, Leu, Thr or Val

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is Trp or Phe

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is Thr, Ala, Gly, Asn, Arg or Ser

<400> 60

Gln Gln Val Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Xaa

1 5

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HCDR1

<400> 61

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Leu Met Ser

1 5 10

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HCDR3

<400> 62

Gln Leu Tyr Phe Phe Asp Tyr

1 5

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HCDR3

<400> 63

Gln Leu Tyr Tyr Tyr Asp Tyr

1 5

<210> 64

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HCDR3

<400> 64

Gln Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HCDR3

<400> 65

Gln Leu Tyr Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH HCDR3

<400> 66

Gln Leu Tyr Tyr Ala Asp Tyr

1 5

<210> 67

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable (VH) region

<400> 67

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 68

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable (VH) region

<400> 68

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Leu Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Arg Gln Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

 100 105 110

Thr Val Ser Ser

 115

<210> 69

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable (VH) region

<400> 69

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Leu Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45

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

 50 55 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable (VH) region

<400> 71

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Leu Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

 100 105 110

Thr Val Ser Ser

 115

<210> 72

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable (VH) region

<400> 72

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Leu Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45

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

Ala Arg Gln Leu Tyr Tyr Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 73

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable (VH) region

<400> 73

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

Ala Arg Gln Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 74

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable (VH) region

<400> 74

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Met Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Tyr Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

 100 105 110

Thr Val Ser Ser

 115

<210> 75

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heavy chain variable (VH) region

<400> 75

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Gln Leu Tyr Tyr Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ser
 115