



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0010998
(43) 공개일자 2021년01월29일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2818 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7035530
(22) 출원일자(국제) 2019년05월16일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년12월10일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2019/087287
(87) 국제공개번호 WO 2019/219064
국제공개일자 2019년11월21일
- (30) 우선권주장
62/672,602 2018년05월17일 미국(US)

- (71) 출원인
난징 리즈 바이오랩스 씨오., 엘티디.
중국, 지양수 210000, 난징, 난징 하이-테크 인터
스트리얼 디벨롭먼트 존, 스위트 951-6, 빌딩 에
이, 페이스 1, 시노-대니쉬 에콜로지컬 라이프 사
이언스 인더스트리 파크, 신진후 로드, 3-1
- (72) 발명자
강, 시아오치양
미국 08536 뉴저지 플레인스보로 엘시 드라이브
56
라이, 쇼우평
미국 20876 메릴랜드 저먼타운 마일스톤 마너 레
인 12511
후양, 시아오
중국 210012 지양수 난징 유후아타이 디스트릭트
후아셴 애비뉴 넘버 11
- (74) 대리인
한라특허법인(유한)

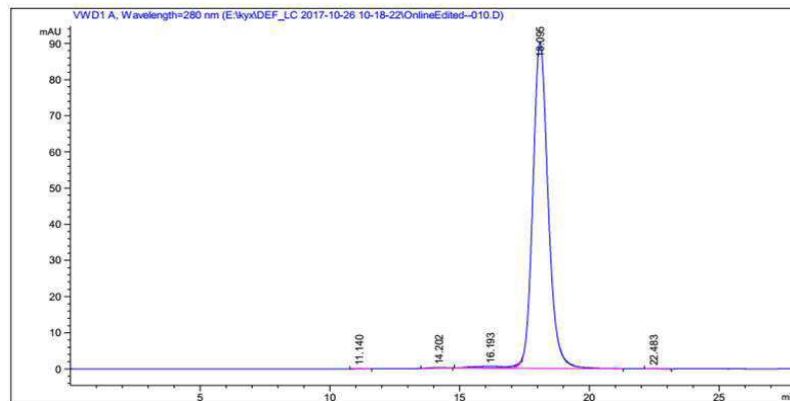
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 항체 결합 피디 1 및 그의 용도

(57) 요약

본 발명은 인간 PD-1에 특이적으로 결합하는 단리된 단클론 항체를 제공한다. 항체를 암호화하는 핵산 분자, 발
현 벡터, 숙주세포 및 항체 발현 방법을 또한 제공한다. 본 발명은 또한 항체를 포함하는 면역접합체, 이중특이
성 분자 및 약학 조성물뿐만 아니라 본 발명의 항-PD-1 항체를 사용하는 진단 및 치료 방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 2317/21 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/33 (2013.01)

C07K 2317/52 (2013.01)

C07K 2317/565 (2013.01)

C07K 2317/622 (2013.01)

C07K 2317/71 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

CDR1 영역, CDR2 영역 및 CDR3 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 단클론 항체 또는 그의 항원-결합 부분으로, CDR1 영역, CDR2 영역 및 CDR3 영역이

(1) 각각 서열번호 1, 2 및 3; 또는

(2) 각각 서열번호 1, 2 및 4

의 아미노산 서열을 포함하고; 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분.

청구항 2

제1항에 있어서,

CDR1 영역, CDR2 영역 및 CDR3 영역을 포함하는 경쇄 가변 영역을 또한 포함하고, CDR1 영역, CDR2 영역 및 CDR3 영역이 각각 서열번호 5, 6 및 7의 아미노산 서열을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분.

청구항 3

제1항에 있어서,

서열번호 8 내지 16 중 어느 하나에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분.

청구항 4

제1항에 있어서,

서열번호 17에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분.

청구항 5

제3항에 있어서,

서열번호 17에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 또한 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분.

청구항 6

제1항에 있어서,

중쇄 및 경쇄를 포함하고, 중쇄가 서열번호 21 내지 38 중 어느 하나에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄가 서열번호 39에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분.

청구항 7

제1항에 있어서,

(a) 인간 PD-1에 결합하고; (b) 원숭이 PD-1에 결합하고; (c) 마우스 PD-1에 결합하지 않고; (d) CD28과 교차 반응하지 않고; (e) ICOS와 교차 반응하지 않고; (f) BTLA와 교차 반응하지 않고; (g) CTLA-4와 교차 반응하지 않고; (h) PD-1-PD-L1 상호작용을 억제하고; (i) PD-1-PD-L2 상호작용을 억제하고; (j) T 세포가 IL-2를 방출하도록 유도하고; (k) T 세포가 IFN γ 를 방출하도록 유도하고; (l) PD-1-발현 세포상에서 ADCC를 유도하지 않고;

및/또는 (m) PD-1-발현 세포상에서 CDC를 유도하지 않는 항체 또는 그의 항원-결합 부분.

청구항 8

제1항에 있어서,

인간, 마우스, 키메라 또는 인간화된 항체인 항체 또는 그의 항원-결합 부분.

청구항 9

제1항의 항체 또는 그의 항원-결합 부분, 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서,

항-종양제를 또한 포함하는 약학 조성물.

청구항 11

종양 성장의 억제를 위한 약제의 제조에서 제1항의 항체 또는 그의 항원-결합 부분의 용도.

청구항 12

제11항에 있어서,

종양이 결장직장 선암종, 폐암, 림프종, 중피종, 흑색종, 및 신-세포암으로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 일반적으로 단리된 단클론 항체, 특히 인간 PD-1에 높은 친화성 및 기능성으로 특이적으로 결합하는 단클론 항체에 관한 것이다. 항체를 암호화하는 핵산 분자, 발현 벡터, 숙주세포 및 항체 발현 방법을 또한 제공한다. 본 발명은 또한 항체를 포함하는 면역접합체, 이중특이성 분자 및 약학 조성물뿐만 아니라 본 발명의 항-PD-1 항체를 사용하는 진단 및 치료 방법을 제공한다.

배경 기술

[0002] 치료 항체, 특히 몇몇 질병-관련된 세포 단백질을 표적화하는 단클론 항체는 제약 산업에서 가장 빠르게 성장하는 부분 중 하나이다.

[0003] 하나의 상기와 같은 표적 단백질은, T 세포 조절인자의 CD28 패밀리의 구성원이나 단백질로서 존재하여, 다른 CD28 패밀리의 구성원의 독립적인(unpaired) 시스템인 잔기 특징이 결여된 PDCD1 유전자(Ishida Y, et al., *EMBO J* 11:3887-95(1992); Francisco LM, et al., *Immunological Reviews*. 236: 219-42 (2010))에 의해 암호화된 예정세포사 단백질 1(또한 PD-1(CD279)로서 공지됨)이다.

[0004] PD-1은, 면역글로불린 상과에 속하며 활성화된 B 세포, T 세포 및 골수세포상에서 발현되는 55 kDa의 I형 막관통 단백질이다(Keir ME, et al., *Annu Rev Immunol* 26:677-704(2008); Agata et al. (1996) *Int Immunol* 8:765-72; Okazaki et al. (2002) *Curr. Opin. Immunol.* 14: 391779-82; Bennett et al. (2003) *J Immunol* 170:711-8). PD-1은 2개의 리간드, PD-L1 및 PD-L2에 결합한다(Dong H, et al., *Nat Med* 5:1365-9(1999); LatchmanY, et al., *Nat Immunol* 2:261-8(2001)). PD-1은 그의 리간드에 결합시, T-세포 수용체(TCR)의 신호전달을 억제하고 면역자극 사이토카인의 분비 및 생존 단백질의 발현을 하향조절하는 것으로 밝혀졌다(Keir ME, et al., *Annu Rev Immunol* 26:677-704(2008); Dong H, et al., *Nat Med* 5:1365-9(1999)).

[0005] 전임상 연구는 PD-1 경로 신호전달의 단독적인(Hirano F, et al., *Cancer Res* 65:1089-96(2005)) 또는 다른 면역관문 억제와 병행된(Woo SR, et al., *Cancer Res* 72(4):917-27(2012)) 파기후의 종양 퇴화 또는 연장된 숙주 생존을 입증하였다.

- [0006] PD-1 수용체를 표적화하는 다수의 암 면역요법제가 개발되었다. 하나의 상기와 같은 항-PD-1 항체는 총 296명의 환자에 대한 임상 시험에서 비-소세포 폐암, 흑색종 및 신세포암의 완전한 또는 부분적인 반응을 생성시킨 니볼루맵(Bristol Myers Squibb에 의해 OPDIVO®의 상표명으로 판매됨)이다(Topalian SL et al. (2012) *The New England Journal of Medicine*. 366 (26): 2443-54). 상기는 2014년 일본에서 및 2014년 미국 FDA에 의해 전이성 흑색종의 치료에 승인되었다. PD-1 수용체를 표적화하는 또 다른 항-PD-1 항체, 켈브롤리주맵(KEYTRUDA™, MK-3475, Merck)이 또한 2014년에 US FDA에 의해 전이성 흑색종의 치료에 승인되었다. 상기는 미국에서 폐암, 림프종 및 중피종에 대한 임상 시험에 사용 중이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 이미 개발되고 승인된 항-PD-1 항체에도 불구하고, 향상된 결합 친화성 및 다른 바람직한 약학적 성질을 갖는 추가적인 단클론 항체가 필요하다.

과제의 해결 수단

- [0008] 본 발명은 인간 또는 원숭이 PD-1에 결합하는 단리된 단클론 항체, 예를 들어 인간 단클론 항체를 제공한다.
- [0009] 하나의 태양에서, 본 발명은 CDR1 영역, CDR2 영역 및 CDR3 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역을 갖는 단리된 단클론 항체(예를 들어 인간 항체) 또는 그의 항원-결합 부분에 관한 것이며, 여기에서 CDR1 영역, CDR2 영역 및 CDR3 영역은
- [0010] (1) 각각 서열번호 1, 2 및 3; 또는
- [0011] (2) 각각 서열번호 1, 2 및 4
- [0012] 에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 여기에서 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 PD-1에 결합한다. 이들 아미노산 서열은 각각 서열번호 40 내지 43의 핵산 서열에 의해 암호화될 수 있다.
- [0013] 하나의 태양에서, 본 발명의 단리된 단클론 항체(예를 들어 인간 항체), 또는 그의 항원-결합 부분은 서열번호 8 내지 16 중 어느 하나에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 여기에서 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 PD-1에 결합한다. 이들 아미노산 서열은 각각 서열번호 44 내지 52의 핵산 서열에 의해 암호화될 수 있다.
- [0014] 하나의 구현예에서 본 발명의 단클론 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 CDR1 영역, CDR2 영역 및 CDR3 영역을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기에서 CDR1 영역, CDR2 영역 및 CDR3 영역은 각각 서열번호 5, 6 및 7에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 여기에서 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 PD-1에 결합한다. 이들 아미노산 서열은 각각 서열번호 53 내지 55의 핵산 서열에 의해 암호화될 수 있다.
- [0015] 하나의 태양에서, 본 발명의 단리된 단클론 항체(예를 들어 인간 항체), 또는 그의 항원-결합 부분은 서열번호 17에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기에서 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 PD-1에 결합한다. 이들 아미노산 서열은 서열번호 56의 핵산 서열에 의해 암호화될 수 있다.
- [0016] 하나의 태양에서, 본 발명의 단리된 단클론 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 각각 CDR1 영역, CDR2 영역 및 CDR3 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기에서 중쇄 가변 영역 CDR1, CDR2 및 CDR3 및 경쇄 가변 영역 CDR1, CDR2 및 CDR3은 (1) 각각 서열번호 1, 2, 3, 5, 6 및 7; 또는 (2) 각각 서열번호 1, 2, 4, 5, 6 및 7에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 여기에서 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 PD-1에 결합한다.
- [0017] 하나의 구현예에서, 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 (1) 각각 서열번호 8 및 17; (2) 각각 서열번호 9 및 17; (3) 각각 서열번호 10 및 17; (4) 각각 서열번호 11 및 17; (5) 각각 서열번호 12 및 17; (6) 각각 서열번호 13 및 17; (7) 각각 서열번호 14 및 17; (8) 각각 서열번호 15 및 17; 또는 (9) 각각 서열번호 16 및 17에 적어도 80%, 85%, 90%,

95%, 98%, 99% 또는 100% 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 여기에서 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 PD-1에 결합한다.

[0018] 하나의 구현예에서, 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 여기에서 중쇄는 상술한 바와 같은 중쇄 가변 영역 및 서열번호 18 또는 19에 제시된 중쇄 불변 영역을 포함하고, 경쇄는 상술한 바와 같은 경쇄 가변 영역 및 서열번호 20에 제시된 경쇄 불변 영역을 포함한다. 서열번호 18 내지 20의 아미노산 서열은 서열번호 57 내지 59의 핵산 서열에 의해 암호화될 수 있다.

[0019] 하나의 구현예에서, 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 (1) 각각 서열번호 21 및 39; (2) 각각 서열번호 22 및 39; (3) 각각 서열번호 23 및 39; (4) 각각 서열번호 24 및 39; (5) 각각 서열번호 25 및 39; (6) 각각 서열번호 26 및 39; (7) 각각 서열번호 27 및 39; (8) 각각 서열번호 28 및 39; (9) 각각 서열번호 29 및 39; (10) 각각 서열번호 30 및 39; (11) 각각 서열번호 31 및 39; (12) 각각 서열번호 32 및 39; (13) 각각 서열번호 33 및 39; (14) 각각 서열번호 34 및 39; (15) 각각 서열번호 35 및 39; (16) 각각 서열번호 36 및 39; (17) 각각 서열번호 37 및 39; 또는 (18) 각각 서열번호 38 및 39에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 디설파이드 결합에 의해 서로 연결된 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기에서 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 PD-1에 결합한다.

[0020] 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 니볼루맵과 같은 종래 기술의 항-PD-1 항체와 비교하여, 인간 PD-1 또는 원숭이 PD-1에 대해 필적하거나 또는 훨씬 더 양호한 결합 친화성/능력을 갖는다. 더욱이, 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 니볼루맵과 같은 종래 기술의 항-PD-1 항체보다 많은 IL-2 및 IFN γ 를 방출하도록 T 세포를 유도하며 더 양호한 생체내 항-종양 효과를 제공한다.

[0021] 특히, 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 인간 PD-1에 대략적으로 1.406×10^{-9} M 이하의 K_D 로 결합하며 PD-L1/PD-L2의 PD-1에의 결합을 억제한다. 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 마우스 PD-1에 결합하지 않으며, CD28, ICOS, BTLA 또는 CTLA-4와 교차 반응하지 않는다. 더욱이, 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 키노몰구스 원숭이 PD-1에, 니볼루맵과 같은 종래 기술의 항-PD-1 항체보다 더 낮은 EC_{50} 값으로 결합하고 T 세포가 더 높은 수준의 IL-2 분비 및 IFN γ 를 방출하도록 유도한다. 본 발명의 항체, 또는 그의 항원-결합 부분은 항원-특이성 기억 반응을 자극하고/하거나 항체 반응을 자극한다.

[0022] 본 발명의 항체는 예를 들어 완전길이 항체, 예를 들어 IgG1 또는 IgG4 아이소타입일 수 있다. 한편으로, 항체는 항체 단편, 예를 들어 Fab 또는 F(ab')₂ 단편, 또는 단쇄 항체일 수 있다. 중쇄 불변 영역은 항-PD-1 항체가 PD-1 발현 세포상에서 항체-의존적인 세포-매개된 세포독성(ADCC) 또는 보체-의존적인 세포독성(CDC)을 유도하지 않도록 특별히 설계된다. 예를 들어, 인간 IgG1 중쇄는 ADCC 또는 CDC 기능의 제거를 위해 L234A, L235A, D265A 및/또는 P329A를 함유할 수 있다. 본 발명의 항체는 마우스, 키메라, 인간 또는 인간화된 항체, 예를 들어 단클론 항체일 수 있다.

[0023] 본 발명은 또한 치료제, 예를 들어 방사성 동위원소에 연결된 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분을 포함하는 면역접합체를 제공한다. 본 발명은 또한 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분과 상이한 결합 특이성을 갖는 제2의 기능성 부분(예를 들어 2차 항체)에 연결된 상기 항체 또는 그의 항원-결합 부분을 포함하는 이중특이성 분자를 제공한다.

[0024] 본 발명의 항체, 또는 그의 항원-결합 부분, 또는 면역접합체 또는 이중특이성 분자, 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물을 또한 제공한다.

[0025] 본 발명의 항체, 또는 그의 항원-결합 부분을 암호화하는 핵산 분자뿐만 아니라 상기와 같은 핵산을 포함하는 발현 벡터 및 상기와 같은 발현 벡터를 포함하는 숙주세포가 또한 본 발명에 의해 포함된다. 발현 벡터를 포함하는 숙주세포를 사용하는 항-PD-1 항체의 제조 방법을 또한 제공하며, 방법은 (i) 숙주세포에서 항체를 발현시키고 (ii) 숙주세포로부터 항체를 분리시키는 단계를 포함한다.

[0026] 더욱 또 다른 태양에서, 본 발명은 피실험자에게 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분을, 피실험자에서 면역 반응이 조절되도록 투여함을 포함하는, 피실험자에서 면역 반응을 조절하는 방법을 제공한다. 바람직하게, 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 피실험자에서 면역 반응을 향상시키거나, 자극하거나 또는 증가시킨다. 추가의 태양에서, 본 발명은 피실험자에게 치료 유효량의 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분을 투여함을 포함하는, 피실험자에서 종양 세포의 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 하나의 구현예에서, 종양은 폐암, 림프종, 중피종, 흑색종, 또는 신세포암으로 이루어지는 그룹 중에서 선택되는 고형 종양이다. 또 다른 태

양에서, 본 발명은 피실험자에게 치료 유효량의 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분을 투여함을 포함하는, 피실험자에서 감염성 질병을 치료 하는 방법을 제공한다. 또 다른 태양에서, 방법은 본 발명의 면역 접합체, 이중특이성 분자, 또는 한편으로 피실험자에서 상기를 발현시킬 수 있는 핵산 분자를 투여함을 포함한다.

[0027] 더욱 추가로, 본 발명은 피실험자에게 (i) 항원; 및 (ii) 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분을, 피실험자에서 항원에 대한 면역 반응이 향상되도록 투여함을 포함하는, 피실험자에서 면역 반응을 향상시키는 방법을 제공한다. 항원은 예를 들어 종양 항원, 바이러스 항원, 세균 항원 또는 병원체로부터의 항원일 수 있다.

[0028] 본 발명의 항체를 적어도 하나의 추가적인 작용제, 예를 들어 면역조절 항체(예를 들어 항-PD-L1 항체, 항-TIM-3 항체, 및/또는 항-CTLA-4 항체), 사이토카인(예를 들어 IL-2 및/또는 IL-21), 또는 공동자극 항체(예를 들어 항-CD137 및/또는 항-GITR 항체)와 함께 사용할 수 있다.

[0029] 본 발명의 다른 특징 및 장점은 하기의 상세한 설명 및 실시예(이들은 제한으로서 해석되어서는 안 된다)로부터 자명해질 것이다. 본 출원 전체를 통해 인용된 모든 참고문헌, GenBank 엔트리, 특허 및 공개된 특허 출원은 명백히 본 명세서에 참고로 인용된다.

도면의 간단한 설명

[0030] 도 1은 항-PD-1 항체 21F12의 HPLC 프로파일을 도시한다.

도 2A 내지 2D는 항-PD-1 항체 21F12, 19E11(A), 21F12-1F6, 21F12-1B12(B), 21F12-1E11, 21F12-1E10, 21F12-3G1(C), 및 21F12-1E11, 21F12-1B12, 21F12-2E1, 21F12-2H7(D)의 인간 PD-1에의 결합 능력을 도시한다.

도 3A 내지 3C는 항-PD-1 항체 21F12-1F6의 인간 PD-1(A), 키노몰구스 원숭이 PD-1(B) 및 마우스 PD-1(C)에의 결합 능력을 도시한다.

도 4A 내지 4D는 항-PD-1 항체 21F12-1F6의 인간 CD28(A), 인간 ICOS(B), 인간 BTLA(C) 및 인간 CTLA4(D)에의 교차 반응성을 도시한다.

도 5A 내지 5F는 인간 PD-1/PD-L1 상호작용에 대한 항-PD-1 항체 21F12-1B12(A), 21F12, 21F12-3G1(B), 21F12, 21F12-1E11, 21F12-1B12, 21F12-2E1, 21F12-2H7(C), 21F12-1C4, 21F12(D), 및 21F12-1E10, 21F12(E)의 차단 능력, 및 인간 PD-1/PD-L2 상호작용에 대한 항 PD-1 항체 21F12-1B12의 차단 능력을 도시한다.

도 6A 및 6B는 CHO-K1-PD-1 세포상에서 발현된 PD-1에 대한 항-PD-1 항체 21F12-1F6(A), 21F12, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1B12 및 21F12-3G1(B)의 결합 능력을 도시한다.

도 7A 및 7B는 인간 PBMC(A) 또는 키노몰구스 원숭이 PBMC(B) 상에서 발현된 PD-1에 대한 항-PD-1 항체 21F12-1F6의 결합 능력을 도시한다.

도 8A 및 8B는 항-PD-1 항체 21F12-1F6이 인간 T 세포가 IL2(A) 및 IFN γ (B)를 방출하도록 유도함을 도시한다.

도 9는 주르캣(Jurkat)-NFAT-PD1 리포터 유전자 시스템에서 PD-1-PD-L1 상호작용에 대한 항-PD-1 항체 21F12-1F6의 차단 능력을 도시한다.

도 10은 항체 21F12-1F6의 Fc γ RI에의 결합 능력을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 본 개시내용을 보다 쉽게 이해할 수 있기 위해서, 몇몇 용어를 먼저 정의한다. 추가적인 정의를 상세한 설명 전체를 통해 제시한다.

[0032] "PD-1"이란 용어는 예정세포사 단백질 1을 지칭한다. "PD-1"이란 용어는 변체, 동형, 상동체, 동원체 및 이원체를 포함한다. 예를 들어, 인간 PD-1 단백질에 특이적인 항체는 몇몇 경우에 인간 이외의 종, 예를 들어 키노몰구스 원숭이로부터의 PD-1 단백질과 교차-반응할 수 있다. 다른 구현예에서, 인간 PD-1 단백질에 특이적인 항체는 인간 PD-1 단백질에 완전히 특이적일 수 있으며 다른 종 또는 다른 유형에 교차-반응성을 나타내지 않거나, 또는 몇몇 다른 종(그러나 모든 다른 종은 아님)으로부터의 PD-1과 교차-반응할 수 있다.

[0033] "인간 PD-1"이란 용어는 PD-1의 인간 서열, 예를 들어 Genbank 수납 번호 NP_005009.2를 갖는 인간 PD-1의 완전한 아미노산 서열을 지칭한다.

- [0034] "면역 반응"이란 용어는 예를 들어 침입 병원체, 병원체로 감염된 세포 또는 조직, 암세포, 또는 자가면역성 또는 병적인 염증의 경우에, 정상 인간 세포 또는 조직의 인체에 대한 선택적 손상, 상기 인체의 파괴, 또는 상기 인체로부터의 제거를 생성시키는 상기 세포 또는 간에 의해 생성되는 림프구, 항원제시세포, 식세포, 과립구, 및 용해성 거대분자(항체, 사이토카인 및 보체 포함)의 작용을 지칭한다.
- [0035] "항원-특이성 T 세포 반응"은 T 세포에 특이적인 항원에 의한 T 세포의 자극으로부터 생성되는 T 세포에 의한 반응을 지칭한다. 항원-특이성 자극시 T 세포에 의한 반응의 비제한적인 예는 증식 및 사이토카인 생성(예를 들어 IL-2 생성)을 포함한다.
- [0036] 본 명세서에 지칭되는 바와 같은 "항체"란 용어는 완전 항체 및 그의 임의의 항원 결합 단편(즉 "항원-결합 부분") 또는 단쇄를 포함한다. 완전 항체는 디설파이드 결합에 의해 서로연결되는 적어도 2개의 중(H)쇄 및 2개의 경(L)쇄를 포함하는 당단백질이다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본 명세서에서 V_H 로서 약기됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, C_{H1} , C_{H2} 및 C_{H3} 으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본 명세서에서 V_L 로서 약기됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인 C_L 로 구성된다. V_H 및 V_L 영역은, 보다 보존되는 영역(프레임워크 영역(FR)이라 칭한다)과 산재된, 고가변성 영역(상보성 결정 영역(CDR)이라 칭한다)으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L 은 하기의 순서로 아미노-말단에서부터 카복시-말단으로 배열되는 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 통상적으로 면역글로불린의, 면역계의 다양한 세포(예를 들어 효과기 세포) 및 고전적인 보체계의 제1 성분(C1q)을 포함하는 숙주 조직 또는 인자에의 결합을 매개할 수 있다. 때때로, 중쇄 불변 영역은 상기와 같은 기능이 제거되도록 변형된다.
- [0037] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 항체의 "항원-결합 부분"(또는 간단히 "항체 부분")이란 용어는 항원(예를 들어 PD-1 단백질)에 특이적으로 결합하는 능력을 유지하는 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항체의 항원-결합 기능이 완전길이 항체의 단편에 의해서 수행될 수 있음이 입증되었다. 항체의 "항원-결합 부분"이란 용어내에 포함되는 결합 단편의 예는 (i) Fab 단편, V_L , V_H , C_L 및 C_{H1} 도메인으로 이루어지는 1가 단편; (ii) $F(ab')_2$ 단편, 힌지 영역에서 디설파이드 가교에 의해 연결되는 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편; (iii) V_H 및 C_{H1} 도메인으로 이루어지는 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 가지의 V_L 및 V_H 도메인으로 이루어지는 Fv 단편, (v) dAb 단편(Ward *et al.*, (1989) *Nature* 341:544-546), V_H 도메인으로 이루어진다; (vi) 단리된 상보성 결정 영역(CDR); 및 (viii) 나노바디, 단일 가변 도메인 및 2개의 불변 도메인을 함유하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 더욱 또한, Fv 단편의 2개 도메인, V_L 및 V_H 는 별도의 유전자에 의해 암호화되지만, 재조합 방법을 사용하여, 이들을 V_L 및 V_H 영역이 짝을 이루어 1가 분자(단쇄 Fv(scFv)로서 공지됨; 예를 들어 문헌[Bird *et al.*, (1988) *Science* 242:423-426]; 및 문헌[Huston *et al.*, (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883]을 참조하시오)를 형성하는 단일 단백질 쇄로서 만들어질 수 있게 하는 합성 링커에 의해 결합시킬 수 있다. 상기와 같은 단쇄 항체를 또한 항체의 "항원-결합 부분"이란 용어내에 포함시키고자 한다. 이들 항체 단편을 당해 분야의 숙련자에게 공지된 통상적인 기법을 사용하여 획득하며, 단편을 온전한 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 선별한다.
- [0038] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭하고자 한다(예를 들어 PD-1 단백질에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 PD-1 단백질 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없다). 그러나, 인간 PD-1 단백질에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원, 예를 들어 다른 종으로부터의 PD-1 단백질에 대해 교차-반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.
- [0039] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "단클론 항체" 또는 "단클론 항체 조성물"이란 용어는 단일 분자 조성의 항체 분자의 제제를 지칭한다. 단클론 항체 조성물은 특정 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화성을 나타낸다.
- [0040] "아이소타입"이란 용어는 중쇄 불변 영역 유전자에 의해 암호화되는 항체 부류(예를 들어 IgM 또는 IgG1)를 지칭한다.
- [0041] "항원을 인식하는 항체" 및 "항원에 특이적인 항체"란 어구는 본 명세서에서 "항원에 특이적으로 결합하는

항체"란 용어와 호환 가능하게 사용된다.

- [0042] "항체 유도체"란 용어는 항체의 임의의 변형된 형태, 예를 들어 항체 및 또 다른 작용제 또는 항체의 접합체를 지칭한다.
- [0043] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "인간 PD-1에 특이적으로 결합하는" 항체는, 인간 PD-1 단백질(및 가능하게는 하나 이상의 비-인간 종으로부터의 PD-1 단백질)에 결합하지만 비-PD-1 단백질에는 실질적으로 결합하지 않는 항체를 지칭하고자 한다. 바람직하게, 항체는 인간 PD-1 단백질에 "높은 친화성"으로, 즉 1×10^{-8} M 이하, 및 보다 바람직하게는 5×10^{-9} M 이하의 KD로 결합한다.
- [0044] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 단백질 또는 세포에 "실질적으로 결합하지 않는"이란 용어는 단백질에 결합하지 않거나 또는 높은 친화성으로 결합하지 않음, 즉 단백질 또는 세포에 1×10^{-6} M 이상, 보다 바람직하게는 1×10^{-5} M 이상, 보다 바람직하게는 1×10^{-4} M 이상, 보다 바람직하게는 1×10^{-3} M 이상, 훨씬 더 바람직하게는 1×10^{-2} M 이상으로 결합함을 의미한다.
- [0045] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "Kassoc" 또는 "Ka"란 용어는 특정 항체-항원 상호작용의 결합율을 지칭하고자 하는 반면, 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "Kdis" 또는 "Kd"란 용어는 특정 항체-항원 상호작용의 해리율을 지칭하고자 한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "KD"란 용어는, Kd 대 Ka(즉 Kd/Ka)의 비로부터 획득되고 몰 농도(M)로서 나타내는 해리 상수를 지칭하고자 한다. 항체의 KD 값을 당해 분야에 충분히 확립된 방법을 사용하여 측정할 수 있다. 항체의 KD를 측정하는 바람직한 방법은 표면 플라즈몬 공명, 바람직하게는 바이오센서 시스템, 예를 들어 Biacore™ 시스템의 사용에 의한다.
- [0046] IgG 항체에 대한 "높은 친화성"이란 용어는 표적 항원에 대해 1×10^{-6} M 이하, 보다 바람직하게는 5×10^{-8} M 이하, 훨씬 더 바람직하게는 1×10^{-8} M 이하, 및 훨씬 더 바람직하게는 5×10^{-9} M 이하의 KD를 갖는 항체를 지칭한다. 그러나, "높은 친화성" 결합은 다른 항체 아이소타입에 대해 변할 수 있다. 예를 들어, IgM 아이소타입에 대한 "높은 친화성" 결합은 10^{-6} M 이하, 보다 바람직하게는 10^{-7} M 이하, 훨씬 더 바람직하게는 10^{-8} M 이하의 KD를 갖는 항체를 지칭한다.
- [0047] "IC₅₀"(또한 최대 절반 억제 농도로서 공지됨)이란 용어는 항체의 부재에 비해 특정한 생물학적 또는 생화학적 기능을 50%까지 억제하는 항체의 농도를 지칭한다.
- [0048] "EC₅₀"(또한 최대 절반 유효 농도로서 공지됨)이란 용어는 기준선과 명시된 노출 시간후 최대 사이의 중간 반응을 유도하는 항체의 농도를 지칭한다.
- [0049] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "항체-의존적인 세포 세포독성", "항체-의존적인 세포-매개된 세포독성" 또는 "ADCC"란 용어는 세포-매개된 면역 방어 기전(이에 의해 면역계의 효과기 세포는 표적 세포, 예를 들어 막 표면 항원이 항체에 의해 결합된 종양 세포를 활발히 용해시킨다)을 지칭한다. 본 발명의 항체는 면역세포를 보호하기 위해서 PD-1-발현 세포상에서 ADCC를 유도하지 않는다.
- [0050] "보체-의존적인 세포독성" 또는 "CDC"란 용어는 일반적으로 IgG 및 IgM 항체의 효과기 기능을 지칭하며, 이들 항체는 표면 항원에 결합시 고전적인 보체 경로를 촉발하여, 막 공격 복합체의 형성 및 표적 세포 용해를 유도한다. 본 발명의 항체는 면역세포를 보호하기 위해서 PD-1-발현 세포상에서 CDC를 유도하지 않는다.
- [0051] "피실험자"란 용어는 임의의 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. "비인간 동물"이란 용어는 모든 척추동물, 예를 들어 포유동물 및 비-포유동물, 예를 들어 비-인간 영장류, 양, 개, 고양이, 소, 말, 닭, 양서류, 및 파충류를 포함하지만, 포유동물, 예를 들어 비-인간 영장류, 양, 개, 고양이, 소 및 말이 바람직하다.
- [0052] 본 발명의 다양한 태양을 하기 서브섹션에 더욱 상세히 기재한다.
- [0053] 본 발명은 항-PD-1 항체에 관한 것이며, 그의 서열 정보를 하기 표 1에 요약한다.
- [0054] 표 1에서 CDR 영역은 카뮈트 넘버링 시스템에 의해 결정되었다. 그러나, 당해 분야에 주지된 바와 같이, CDR 영역은 또한, 중쇄/경쇄 가변 영역 서열에 기초하여, 다른 시스템, 예를 들어 코티아, CCG 및 IMGT 시스템/방법에 의해 결정될 수 있다.

[0055] [표 1] 항-PD-1 항체의 아미노산 서열번호

표 1

[0056]

항체	서열번호											
	V _H CDR1	V _H CDR2	V _H CDR3	V _H	C _H	중쇄	V _L CDR1	V _L CDR2	V _L CDR3	V _L	C _L	경쇄
21F12	1	2	3	8	18	21	5	6	7	17	20	39
					19	22						
21F12-1B 12	1	2	3	9	18	23	5	6	7	17	20	39
					19	24						
21F12-1E 11	1	2	3	10	18	25	5	6	7	17	20	39
					19	26						
21F12-2E 1	1	2	3	11	18	27	5	6	7	17	20	39
					19	28						
21F12-2H 7	1	2	3	12	18	29	5	6	7	17	20	39
					19	30						
21F12-1C 4	1	2	3	13	18	31	5	6	7	17	20	39
					19	32						
21F12-1E 10	1	2	3	14	18	33	5	6	7	17	20	39
					19	34						
21F12-1F 6	1	2	3	15	18	35	5	6	7	17	20	39
					19	36						
21F12-3G1	1	2	4	16	18	37	5	6	7	17	20	39
					19	38						

[0057] 본 발명의 항체는 서열번호 18의 아미노산 서열을 갖는 돌연변이 IgG1 불변 영역을 함유할 수 있다. 본 발명의 항체는 또한 서열번호 19의 아미노산 서열을 갖는 IgG4 불변 영역을 함유할 수 있다.

[0058] PD-1에 대한 증가된 결합 능력을 갖는 항-PD-1 항체 및 유리한 기능성 성질

[0059] 본 발명의 항체, 또는 그의 항원-결합 부분은 니볼루맙과 같은 선행 기술의 항-PD-1 항체와 비교하여 인간 PD-1 또는 원숭이 PD-1에 대해 필적하거나 또는 훨씬 더 양호한 결합 친화성/능력을 갖는다. 더욱이, 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 PBMC가 니볼루맙과 같은 선행 기술의 항-PD-1 항체와 비교하여 더 많은 IL-2 및 IFN γ 를 방출하게 유도하고 더 양호한 생체내 항-종양 효과를 제공한다.

[0060] 특히, 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 인간 PD-1에 대략적으로 1.406×10^{-9} M 이하의 K_D 로 결합하며 PD-L1/PD-L2의 PD-1에의 결합을 억제한다. 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 마우스 PD-1에 결합하지 않으며, CD28, ICOS, BTLA 또는 CTLA-4와 교차 반응하지 않는다. 더욱이, 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 키노몰구스 원숭이 PD-1에 니볼루맙과 같은 종래 기술의 항-PD-1 항체보다 더 낮은 EC_{50} 값으로 결합하고 PBMC가 더 높은 수준의 IL-2 분비 및 IFN γ 를 방출하도록 유도한다. 본 발명의 항체, 또는 그의 항원-결합 부분은 항원-특이성 기억 반응을 자극하고/하거나 항체 반응을 자극한다.

[0061] 본 발명의 바람직한 항체는 인간 단클론 항체이다. 추가로 또는 한편으로, 항체는 예를 들어 키메라 또는 인간화된 단클론 항체일 수 있다.

[0062] 단클론성 항-PD-1 항체

[0063] 인간 PD-1에 결합하는 다른 항-PD-1 항체의 V_H 및 V_L 서열(또는 CDR 서열)은 본 발명의 항-TIM-3 항체의 V_H 및 V_L 서열(또는 CDR 서열)과 "혼합되고 합치"될 수 있다. 바람직하게 V_H 및 V_L 채(또는 상기와 같은 채내의 CDR)가 혼합되고 합치되는 경우, 특정한 V_H/V_L 짝짓기로부터의 V_H 서열은 구조적으로 유사한 V_H 서열로 교체된다. 마찬가지로, 바람직하게 특정한 V_H/V_L 짝짓기로부터의 V_L 서열은 구조적으로 유사한 V_L 서열로 교체된다.

[0064] 상응하게, 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합 부분은

[0065] (a) 상기 표 1에 나열된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

- [0066] (b) 상기 표 1에 나열된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역, 또는 또 다른 항-PD-1 항체의 V_L
- [0067] 을 포함하며, 여기에서 항체는 인간 PD-1에 특이적으로 결합한다.
- [0068] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항원 결합 부분은
- [0069] (a) 상기 표 1에 나열된 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 영역; 및
- [0070] (b) 상기 표 1에 나열된 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 영역, 또는 또 다른 항-PD-1 항체의 CDR
- [0071] 을 포함하며, 여기에서 항체는 인간 PD-1에 특이적으로 결합한다.
- [0072] 더욱 또 다른 구현예에서, 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 인간 PD-1과 결합하는 다른 항체의 CDR, 예를 들어 상이한 항-PD-1 항체의 중쇄 가변 영역으로부터의 CDR1 및/또는 CDR3, 및/또는 경쇄 가변 영역으로부터의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3과 결합된 항-PD-1 항체의 중쇄 가변 CDR2 영역을 포함한다.
- [0073] 또한, CDR3 도메인은 CDR1 및/또는 CDR2 도메인(들)과 독립적으로, 단독으로 동족 항원에 대한 항체의 결합 특이성을 결정할 수 있으며, 공통의 CDR3 서열에 기초하여 동일한 결합 특이성을 갖는 다수의 항체를 예측가능하게 생성시킬 수 있음이 당해 분야에 주지되어 있다. 예를 들어 하기의 문헌을 참조하십시오: Klimka *et al.*, *British J. of Cancer* 83(2):252-260 (2000); Beiboer *et al.*, *J. Mol. Biol.* 296:833-849 (2000); Rader *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95:8910-8915 (1998); Barbas *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 116:2161-2162 (1994); Barbas *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92:2529-2533 (1995); Ditzel *et al.*, *J. Immunol.* 157:739-749 (1996); Berezov *et al.*, *BLAjournal 8: Scientific Review* 8 (2001); Igarashi *et al.*, *J. Biochem* (Tokyo) 117:452-7 (1995); Bourgeois *et al.*, *J. Virol* 72:807-10 (1998); Levi *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:4374-8 (1993); Polymenis and Stoller, *J. Immunol.* 152:5218-5329 (1994) 및 Xu and Davis, *Immunity* 13:37-45 (2000). 또한 미국특허 제 6,951,646; 6,914,128; 6,090,382; 6,818,216; 6,156,313; 6,827,925; 5,833,943; 5,762,905 및 5,760,185 호를 참조하십시오. 이들 각각의 참고문헌은 내용 전체가 본 명세서에 참고로 인용된다.
- [0074] 상응하게, 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체는 항-PD-1 항체의 중쇄 가변 영역의 CDR2 및 적어도 항-PD-1 항체의 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역의 CDR3, 또는 또 다른 항-PD-1 항체의 중 및/또는 경쇄 가변 영역의 CDR3를 포함하며, 여기에서 항체는 인간 PD-1에 특이적으로 결합할 수 있다. 이들 항체는 바람직하게는 (a) PD-1과의 결합에 대해 경쟁하고; (b) 기능성 특징을 유지하며; (c) 동일한 에피토프에 결합하고; 및/또는 (d) 본 발명의 항-PD-1 항체와 유사한 결합 친화성을 갖는다. 더욱 또 다른 구현예에서, 항체는 항-PD-1 항체의 경쇄 가변 영역의 CDR2, 또는 또 다른 항-PD-1 항체의 경쇄 가변 영역의 CDR2를 추가로 포함할 수 있으며, 여기에서 항체는 인간-PD-1에 특이적으로 결합할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체는 항-PD-1 항체의 중 및/또는 경쇄 가변 영역의 CDR1, 또는 또 다른 항-PD-1 항체의 중 및/또는 경쇄 가변 영역의 CDR1을 포함할 수 있으며, 여기에서 항체는 인간-PD-1에 특이적으로 결합할 수 있다.
- [0075] 보존적 변형
- [0076] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체는 본 발명의 항-PD-1 항체의 서열과 하나 이상의 보존적 변형에 의해 상이한 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열의 중 및/또는 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 항원 결합을 제거하지 않는 몇몇 보존적 서열 변형을 수행할 수 있음은 당해 분야에서 이해된다. 예를 들어 하기의 문헌을 참조하십시오: Brummell *et al.*, (1993) *Biochem* 32:1180-8; de Wildt *et al.*, (1997) *Prot. Eng.* 10:835-41; Komissarov *et al.*, (1997) *J. Biol. Chem.* 272:26864-26870; Hall *et al.*, (1992) *J. Immunol.* 149:1605-12; Kelley and O'Connell (1993) *Biochem.* 32:6862-35; Adib-Conquy *et al.*, (1998) *Int. Immunol.* 10:341-6 및 Beers *et al.*, (2000) *Clin. Can. Res.* 6:2835-43.
- [0077] 상응하게, 하나의 구현예에서, 항체는 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및/또는 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기에서
- [0078] (a) 중쇄 가변 영역 CDR1 서열은 상기 표 1에 나열된 서열 및/또는 그의 보존적 변형을 포함하고; 및/또는
- [0079] (b) 중쇄 가변 영역 CDR2 서열은 상기 표 1에 나열된 서열 및/또는 그의 보존적 변형을 포함하고; 및/또는
- [0080] (c) 중쇄 가변 영역 CDR3 서열은 상기 표 1에 나열된 서열 및/또는 그의 보존적 변형을 포함하고; 및/또는
- [0081] (d) 경쇄 가변 영역 CDR1, 및/또는 CDR2, 및/또는 CDR3 서열은 상기 표 1에 나열된 서열(들); 및/또는 그의 보

존적 변형을 포함하고;

[0082] (e) 항체는 인간 PD-1에 특이적으로 결합한다.

[0083] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "보존적 서열 변형"이란 용어는 아미노산 서열을 함유하는 항체의 결합 특징에 그다지 영향을 미치지 않거나 또는 변경시키지 않는 아미노산 변형을 지칭하고자 한다. 상기와 같은 보존적 변형은 아미노산 치환, 부가 및 결실을 포함한다. 변형을 당해 분야에 공지된 표준 기법, 예를 들어 부위-지향된 돌연변이유발 및 PCR-매개된 돌연변이유발에 의해 본 발명의 항체에 도입시킬 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 교체된 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 당해 분야에 정의되어 있다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄(예를 들어 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어 아스파르트산, 글루탐산), 하전되지 않은 극성 측쇄(예를 들어 글리신, 아스파라진, 글루타민, 세린, 스레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄(예를 들어 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타-분지된 측쇄(예를 들어 스레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다. 따라서, 본 발명의 항체의 CDR 영역내 하나 이상의 아미노산 잔기를 동일한 측쇄 패밀리로부터의 다른 아미노산 잔기로 교체시킬 수 있으며 변경된 항체를 본 명세서에 기재된 기능 분석을 사용하여, 유지된 기능(즉 상기에 제시된 기능)에 대해 시험할 수 있다.

[0084] 조작 및 변형된 항체

[0085] 본 발명의 항체를 출발 물질로서 본 발명의 항-PD-1 항체의 V_H/V_L 서열 중 하나 이상을 갖는 항체를 사용하여 제조하여 변형된 항체를 조작할 수 있다. 항체를, 하나 또는 2개의 가변 영역(즉 V_H 및/또는 V_L)내, 예를 들어 하나 이상의 CDR 영역내 및/또는 하나 이상의 프레임워크 영역내의 하나 이상의 잔기를 변형시킴으로써 조작할 수 있다. 추가로 또는 한편으로, 항체를, 예를 들어 항체의 효과기 기능(들)을 변경시키기 위해서 불변 영역(들)내의 잔기를 변형시킴으로써 조작할 수 있다.

[0086] 몇몇 구현예에서, CDR 접목을 사용하여 항체의 가변 영역을 조작할 수 있다. 항체는 주로 6개의 중쇄 및 경쇄 상보성 결정 영역(CDR)에 위치한 아미노산 잔기를 통해 표적 항원과 상호작용한다. 이러한 이유로, CDR내 아미노산 서열은 CDR 밖의 서열보다 개별적인 항체간에 더욱 다양하다. CDR 서열은 대부분의 항체-항원 상호작용을 담당하기 때문에, 상이한 성질을 갖는 상이한 항체로부터의 프레임워크 서열상에 접목된 특정한 천연 항체로부터의 CDR 서열을 포함하는 발현 벡터를 구성함으로써 특정한 천연 항체의 성질을 모방하는 재조합 항체를 발현시키는 것이 가능하다(예를 들어 하기의 문헌을 참조하십시오: Riechmann et al. (1998) *Nature* 332:323-327; Jones et al. (1986) *Nature* 321:522-525; Queen et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86:10029-10033; 미국특허 제 5,225,539; 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762 및 6,180,370 호).

[0087] 상응하게, 본 발명의 또 다른 구현예는 상술한 바와 같은 본 발명의 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및/또는 상술한 바와 같은 본 발명의 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 단클론 항체, 또는 그의 항원 결합 부분에 관한 것이다. 이들 항체는 본 발명의 단클론 항체의 V_H 및 V_L CDR 서열을 함유하지만, 상이한 프레임워크 서열을 함유할 수 있다.

[0088] 상기와 같은 프레임워크 서열을 생식세포계열 항체 유전자 서열을 포함하는 공개 DNA 데이터베이스 또는 공개된 참고문헌으로부터 획득할 수 있다. 예를 들어, 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자의 생식세포계열 DNA 서열을 "VBase" 인간 생식세포계열 서열 데이터베이스(www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase)에서 인터넷상에서 입수할 수 있다)뿐만 아니라 상기에 인용된 문헌[Kabat et al. (1991)]; 문헌[Tomlinson et al. (1992) *J. Mol. Biol.* 227:776-798]; 및 문헌[Cox et al. (1994) *Eur. J. Immunol.* 24:827-836](각각의 문헌의 내용은 명백히 본 명세서에 참고로 인용된다)에서 찾을 수 있다. 또 다른 예로서, 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자의 생식세포계열 DNA 서열을 Genbank 데이터베이스에서 찾을 수 있다. 예를 들어, HCo7 HuMAb 마우스에서 발견된 하기의 중쇄 생식세포계열 서열을 첨부되는 Genbank 수납 번호: 1-69(NG--0010109, NT--024637 & BC070333), 3-33(NG--0010109 & NT--024637) 및 3-7(NG--0010109 & NT--024637)에서 입수할 수 있다. 또 다른 예로서, HCo12 HuMAb 마우스에서 발견된 하기의 중쇄 생식세포계열 서열을 첨부되는 Genbank 수납 번호: 1-69(NG--0010109, NT--024637 & BC070333), 5-51(NG--0010109 & NT--024637), 4-34(NG--0010109 & NT--024637), 3-30.3(CAJ556644) & 3-23(AJ406678)에서 입수할 수 있다.

[0089] 항체 단백질 서열을, Gapped BLAST(상기 Altschul et al. (1997))(당해 분야의 숙련자에게 주지되어 있다)라 칭하는 서열 유사성 검색 방법 중 하나를 사용하여 편집된 단백질 서열 데이터베이스에 대해서 비교한다.

- [0090] 본 발명의 항체에 사용하기에 바람직한 프레임워크 서열은 본 발명의 항체에 의해 사용된 프레임워크 서열과 구조적으로 유사한 것이다. V_H CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을, 프레임워크 서열이 유래된 생식세포계열 면역글로불린 유전자에서 발견되는 것과 동일한 서열을 갖는 프레임워크 영역상에 접목시키거나, 또는 CDR 서열을, 생식세포계열 서열과 비교하여 하나 이상의 돌연변이를 함유하는 프레임워크 영역상에 접목시킬 수 있다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 항체의 항원 결합 능력을 유지시키거나 또는 향상시키기 위해서 프레임워크 영역내 잔기를 돌연변이시키는 것이 이로운 것으로 밝혀졌다(예를 들어 미국특허 제 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762 및 6,180,370 호를 참조하시오).
- [0091] 또 다른 유형의 가변 영역 변형은 V_H 및/또는 V_L CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 영역내 아미노산 잔기를 돌연변이시켜, 관심 항체의 하나 이상의 결합 성질(예를 들어 친화성)을 개선시키는 것이다. 부위-지향된 돌연변이유발 또는 PCR-매개된 돌연변이유발을 수행하여 돌연변이(들)를 도입시키고, 항체 결합, 또는 다른 관심 기능 성질에 대한 효과를 당해 분야에 공지된 바와 같은 시험관내 또는 생체내 분석에서 평가할 수 있다. 바람직한 보존적 변형(당해 분야에 공지된 바와 같은)을 도입시킨다. 돌연변이는 아미노산 치환, 부가 또는 결실일 수 있으나, 바람직하게는 치환이다. 더욱이, 전형적으로 CDR 영역내 1, 2, 3, 4 또는 5개 초과 잔기가 변경된다.
- [0092] 상응하게, 또 다른 구현예에서, 본 발명은 (a) 본 발명의 서열, 또는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_H CDR1 영역; (b) 본 발명의 서열, 또는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_H CDR2 영역; (c) 본 발명의 서열, 또는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_H CDR3 영역; (d) 본 발명의 서열, 또는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_L CDR1 영역; (e) 본 발명의 서열, 또는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_L CDR2 영역; 및 (f) 본 발명의 서열, 또는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_L CDR3 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 단리된 항-PD-1 단클론 항체, 또는 그의 항원 결합 부분을 제공한다.
- [0093] 본 발명의 조작된 항체는, 예를 들어 항체의 성질을 개선시키기 위해 V_H 및/또는 V_L 내 프레임워크 잔기에 변형이 수행된 항체를 포함한다. 전형적으로, 상기와 같은 프레임워크 변형은 항체의 면역원성을 감소시키기 위해 이루어진다. 예를 들어 하나의 접근법은 하나 이상의 프레임워크 잔기를 상응하는 생식세포계열 서열로 "역돌연변이"시키는 것이다. 보다 구체적으로, 체세포 돌연변이를 겪은 항체는 항체가 유래된 생식세포계열 서열과 상이한 프레임워크 잔기를 함유할 수 있다. 상기와 같은 잔기는 항체 프레임워크 서열을 항체가 유래된 생식세포계열 서열에 비교함으로써 식별될 수 있다.
- [0094] 또 다른 유형의 프레임워크 변형은, T 세포 에피토프를 제거하고, 이에 의해 항체의 잠재적인 면역원성을 감소시키기 위해 프레임워크 영역내 또는 심지어 하나 이상의 CDR 영역내 하나 이상의 잔기를 돌연변이시킬 수 반한다. 이러한 접근법을 또한 "탈면역"으로서 지칭하며 이는 미국특허 공보 제 20030153043 호에 더욱 상세히 기재되어 있다.
- [0095] 프레임워크 또는 CDR 영역내에서 이루어진 변형외에 또는 이에 대한 대안으로서, 본 발명의 항체를, Fc 영역내에 변형을 포함시키기 위해서, 전형적으로는 항체의 하나 이상의 기능성 성질, 예를 들어 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합, 및/또는 항원-의존적인 세포 세포독성을 변경시키기 위해서 조작할 수 있다. 더욱 또한, 본 발명의 항체를 화학적으로 변형시키거나(예를 들어 하나 이상의 화학적 부분을 항체에 부착시킬 수 있다) 또는 그의 글리코실화를 변경시키기 위해서 변형시키고, 이는 다시 항체의 하나 이상의 기능성 성질을 변경시킬 수 있다.
- [0096] 하나의 구현예에서, C_H1 의 힌지 영역을, 힌지 영역 중의 시스테인 잔기의 수가 변경되도록, 예를 들어 증가 또는 감소되도록 변형시킨다. 이러한 접근법은 미국특허 제 5,677,425 호에 추가로 기재되어 있다. C_H1 의 힌지 영역 중의 시스테인 잔기의 수를 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 조립을 촉진하거나 또는 항체의 안정성을 증가 또는 감소시키기 위해 변형시킨다.
- [0097] 또 다른 구현예에서, 항체의 Fc 힌지 영역을, 항체의 생물학적 반감기를 감소시키기 위해 돌연변이시킨다. 보다 구체적으로, 하나 이상의 아미노산 돌연변이를, 항체가 고유의 Fc-힌지 도메인 SpA 결합에 비해 손상된 스타필

로코커스 단백질 A(SpA) 결합을 갖도록 Fc-힌지 단편의 C₄₂-C₄₃ 도메인 계면 영역에 도입시킨다. 상기 접근법은 미국특허 제 6,165,745 호에 더욱 상세히 기재되어 있다.

[0098] 더욱 또 다른 구현예에서, 항체의 글리코실화를 변형시킨다. 예를 들어, 아글리코실화된(aglycosylated) 항체를 만들 수 있다(즉 항체가 글리코실화가 없다). 글리코실화를, 예를 들어 항원에 대한 항체의 친화성을 증가시키기 위해 변경시킬 수 있다. 상기와 같은 탄수화물 변형을, 예를 들어 항체 서열내 하나 이상의 글리코실화 부위를 변경시킴으로써 수행할 수 있다. 예를 들어 하나 이상의 가변 영역 프레임워크 글리코실화 부위를 제거하여 상기 부위에서 글리코실화를 제거하는 하나 이상의 아미노산 치환을 수행할 수 있다. 상기와 같은 아글리코실화는 항원에 대한 항체의 친화성을 증가시킬 수 있다. 예를 들어 미국특허 제 5,714,350 및 6,350,861 호를 참조하시오.

[0099] 추가로 또는 한편으로, 변경된 유형의 글리코실화를 갖는 항체, 예를 들어 감소된 양의 푸코실 잔기를 갖는 저푸코실화된 항체 또는 증가된 양분된 GlcNac 구조를 갖는 항체를 제조할 수 있다. 상기와 같은 변경된 글리코실화 패턴은 항체의 ADCC 능력을 증가시키는 것으로 입증되었다. 상기와 같은 탄수화물 변형을, 예를 들어 변경된 글리코실화 기구를 갖는 숙주 세포에서 항체를 발현시킴으로써 수행할 수 있다. 변경된 글리코실화 기구를 갖는 세포는 당해 분야에 기재되었으며 본 발명의 제조항 항체를 발현하여 변경된 글리코실화를 갖는 항체를 생성시키는 숙주 세포로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 세포주 Ms704, Ms705, 및 Ms709는 푸코실트랜스퍼라제 유전자, FUT8(α(1,6)-푸코실트랜스퍼라제)이 없으며, 따라서 Ms704, Ms705, 및 Ms709 세포주에서 발현된 항체는 그의 탄수화물상에 푸코스가 없다. Ms704, Ms705, 및 Ms709 FUT8-/- 세포주는, 2개의 교체 벡터를 사용하여 CHO/DG44 세포에서 FUT8 유전자의 표적화된 붕괴에 의해 생성되었다(미국특허 공보 제 20040110704 호 및 문헌 [Yamane-Ohnuki et al. (2004) *Biotechnol Bioeng* 87:614-22]을 참조하시오). 또 다른 예로서, EP 1,176,195는 푸코실 트랜스퍼라제를 암호화하는 기능적으로 붕괴된 FUT8 유전자를 갖는 세포주를 기재하며, 따라서 상기와 같은 세포주에서 발현된 항체는 α-1,6 결합-관련된 효소를 감소시키거나 제거함으로써 저푸코실화를 나타낸다. EP 1,176,195는 또한 항체의 Fc 영역에 결합하는 N-아세틸글루코사민에 푸코스를 부가하는 효소 활성이 낮거나 또는 효소 활성을 갖지 않는 세포주, 예를 들어 래트 골수종 세포주 YB2/O(ATCC CRL 1662)를 기재한다. PCT 공보 WO 03/035835는 푸코스를 Asn(297)-연결된 탄수화물에 부착시키는 능력이 감소된 변형 CHO 세포주, Lec13 세포를 기재하며, 이는 또한 상기 숙주 세포에서 발현된 항체의 저푸코실화를 생성시킨다(또한 문헌 [Shields et al. (2002) *J. Biol. Chem.* 277:26733-26740]을 참조하시오). 변형된 글리코실화 프로파일을 갖는 항체를 또한 PCT 공보 WO 06/089231에 기재된 바와 같이 계란에서 생성시킬 수 있다. 한편으로, 변형된 글리코실화 프로파일을 갖는 항체를 식물 세포, 예를 들어 개구리밥에서 생성시킬 수 있다. PCT 공보 WO 99/54342는 조작된 세포주에서 발현된 항체가, 항체의 증가된 ADCC 활성을 생성시키는 증가된 양분된 GlcNac 구조를 나타내도록 당단백질-변형 글리코실 트랜스퍼라제(예를 들어 β(1,4)-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III(GnTIII))를 발현하도록 조작된 세포주를 기재한다(또한 문헌[Umana et al. (1999) *Nat. Biotech.* 17:176-180]을 참조하시오). 한편으로, 항체의 푸코스 잔기를 푸코시다제 효소를 사용하여 절단할 수 있다, 예를 들어 푸코시다제 α-L-푸코시다제는 항체로부터 푸코실 잔기를 제거한다(Tarentino et al. (1975) *Biochem.* 14:5516-23).

[0100] 본 개시내용에 의해 고려되는 본 명세서의 항체의 또 다른 변형은 peg화(pegylation)이다. 항체를, 예를 들어 항체의 생물학적(예를 들어 혈청) 반감기를 증가시키기 위해 peg화시킬 수 있다. 항체를 peg화시키기 위해서, 항체 또는 그의 단편을 전형적으로 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 예를 들어 PEG의 반응성 에스테르 또는 알데히드 유도체와, 하나 이상의 PEG기가 항체 또는 항체 단편에 부착되는 조건하에서 반응시킨다. 바람직하게, peg화를 반응성 PEG 분자(또는 유사한 반응성 수용성 중합체)와 아실화 반응 또는 알킬화 반응을 통해 수행한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "폴리에틸렌 글리콜"이란 용어는 다른 단백질, 예를 들어 모노(C1-C10) 알코시- 또는 아릴옥시-폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜-말레이미드를 유도체화하는데 사용된 PEG의 형태 중 어느 하나를 포함하고자 한다. 몇몇 구현예에서, peg화되는 항체는 아글리코실화된 항체이다. 단백질의 peg화 방법은 당해 분야에 공지되어 있으며 본 발명의 항체에 적용될 수 있다. 예를 들어 EPO 154 316 및 EP 0 401 384를 참조하시오.

[0101] 항체의 물리적 성질

[0102] 본 발명의 항체를 그의 다양한 물리적 성질에 의해 특성화시켜, 그의 상이한 부류를 검출 및/또는 구별할 수 있다.

[0103] 예를 들어, 항체는 경쇄 또는 중쇄 가변 영역 중 어느 하나에 하나 이상의 글리코실화 부위를 함유할 수 있다.

상기와 같은 글리코실화 부위는 변경된 항원 결합으로 인해 항체의 증가된 면역원성 또는 항체의 pK_a의 변경을 생성시킬 수 있다(Marshall et al (1972) *Annu Rev Biochem* 41:673-702; Gala and Morrison (2004) *J Immunol* 172:5489-94; Wallick et al (1988) *J Exp Med* 168:1099-109; Spiro (2002) *Glycobiology* 12:43R-56R; Parekh et al (1985) *Nature* 316:452-7; Mimura et al. (2000) *Mol Immunol* 37:697-706). 글리코실화는 N-X-S/T 서열을 함유하는 동기에서 발생하는 것으로 공지되었다. 일부 예에서, 가변 영역 글리코실화를 함유하지 않는 항-PD-1 항체를 갖는 것이 바람직하다. 이는 가변 영역 중에 글리코실화 동기를 함유하지 않는 항체를 선택하거나 또는 글리코실화 영역내 잔기를 돌연변이시킴으로써 성취될 수 있다.

[0104] 바람직한 구현예에서, 항체는 아스파라진 이성질현상 부위를 함유하지 않는다. 아스파라진의 탈아미드화는 N-G 또는 D-G 서열상에서 발생하며 폴리펩티드 쇄에 뒤를림을 도입시켜 그의 안정성을 감소시키는 이소아스파르트산 잔기를 생성시킬 수 있다(이소아스파르트산 효과).

[0105] 각각의 항체는 특유의 등전점(pI)을 가질 것이며, 이는 일반적으로 6 내지 9.5의 pH 범위내에 있다. IgG1 항체의 pI는 전형적으로 7 내지 9.5의 pH 범위내에 있고 IgG4 항체에 대한 pI는 전형적으로 6 내지 8의 pH 범위내에 있다. 정상 범위 밖의 pH를 갖는 항체는 생체내 조건하에서 약간의 폴립 및 불안정성을 가질 수 있을 것으로 짐작된다. 따라서, 정상 범위내에 있는 pI 값을 함유하는 항-PD-1 항체를 갖는 것이 바람직하다. 이는 정상 범위내의 pI를 갖는 항체를 선택하거나 또는 하전된 표면 잔기를 돌연변이시킴으로써 성취될 수 있다.

[0106] 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산 분자

[0107] 또 다른 태양에서, 본 발명은 본 발명의 항체의 중 및/또는 경쇄 가변 영역, 또는 CDR을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 핵산은 완전세포, 세포 용해물, 또는 부분적으로 정제되거나 실질적으로 순수한 형태로 존재할 수 있다. 핵산은 다른 세포 성분 또는 다른 오염물질, 예를 들어 다른 세포 핵산 또는 단백질로부터 표준 기법에 의해 정제될 때 "단리되거나" 또는 "실질적으로 순수하게 된다". 본 발명의 핵산은 예를 들어 DNA 또는 RNA일 수 있으며 인트론 서열을 함유할 수도, 함유하지 않을 수도 있다. 바람직한 구현예에서, 핵산은 cDNA 분자이다.

[0108] 본 발명의 핵산을 표준 분자 생물학 기법을 사용하여 수득할 수 있다. 하이브리도마(예를 들어 하기에 추가로 기재하는 바와 같은 인간 면역글로불린 유전자를 갖는 트랜스제닉 마우스로부터 제조된 하이브리도마)에 의해 발현되는 항체의 경우, 하이브리도마에 의해 제조된 항체의 경쇄 및 중쇄를 암호화하는 cDNA를 표준 PCR 증폭 또는 cDNA 클로닝 기법에 의해 수득할 수 있다. 면역글로불린 유전자 라이브러리로부터 수득된 항체의 경우(예를 들어 파지 디스플레이 기법을 사용하여), 상기와 같은 항체를 암호화하는 핵산을 유전자 라이브러리로부터 회수할 수 있다.

[0109] 본 발명의 바람직한 핵산 분자는 PD-1 단클론 항체 또는 CDR의 V_H 및 V_L 서열을 암호화하는 것을 포함한다. 일단 V_H 및 V_L 분절을 암호화하는 DNA 단편이 수득되면, 상기 DNA 단편을 표준 재조합 DNA 기법에 의해 추가로 조작하여, 예를 들어 가변 영역 유전자를 완전길이 항체 쇄 유전자, Fab 단편 유전자 또는 scFv 유전자로 전환시킬 수 있다. 이러한 조작에서, V_L- 또는 V_H-암호화 DNA 단편을 또 다른 단백질, 예를 들어 항체 불변 영역 또는 가요성 링커를 암호화하는 또 다른 DNA 단편에 작동적으로 연결시킨다. 이러한 상황에서 사용되는 바와 같은 "작동적으로 연결된"이란 용어는 2개의 DNA 단편을, 2개의 DNA 단편에 의해 암호화된 아미노산 서열이 인-프레임으로 남아있도록 결합시킴을 의미하고자 한다.

[0110] V_H 영역을 암호화하는 단리된 DNA를, V_H-암호화 DNA를 중쇄 불변 영역(C_{H1}, C_{H2} 및 C_{H3})을 암호화하는 또 다른 DNA 분자에 작동적으로 연결시킴으로써 완전길이 중쇄 유전자로 전환시킬 수 있다. 마우스/인간 중쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당해 분야에 공지되어 있으며 상기 영역을 포함하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 수득될 수 있다. 중쇄 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM 또는 IgD 불변 영역일 수 있으나, 가장 바람직하게는 IgG1 또는 IgG4 불변 영역이다. Fab 단편 중쇄 유전자의 경우, V_H-암호화 DNA를 오직 중쇄 C_{H1} 불변 영역만을 암호화하는 또 다른 DNA 분자에 작동적으로 연결시킬 수 있다.

[0111] V_L 영역을 암호화하는 단리된 DNA를, V_L-암호화 DNA를 경쇄 불변 영역, C_L을 암호화하는 또 다른 DNA 분자에 작동적으로 연결시킴으로써 완전길이 경쇄 유전자(뿐만 아니라 Fab 경쇄 유전자)로 전환시킬 수 있다. 마우스/인간 경쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당해 분야에 공지되어 있으며 상기 영역을 포함하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 수득될 수 있다. 바람직한 구현예에서, 경쇄 불변 영역은 카파 또는 람다 불변 영역일 수 있다.

[0112] scFv 유전자를 생성시키기 위해서, V_H- 및 V_L-암호화 DNA 단편을, V_H 및 V_L 서열이 인접한 단쇄 단백질로서 발현

될 수 있도록, 가요성 링커를 암호화하는, 예를 들어 아미노산 서열(Gly4-Ser)3을 암호화하는 또 다른 단편에 작동적으로 연결시키며, 이때 V_L 및 V_H 영역은 가요성 링커에 의해 연결된다(예를 들어 문헌[Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426]; 문헌[Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883]; 문헌[McCafferty et al., (1990) *Nature* 348:552-554]을 참조하시오).

[0113] 본 발명의 단클론 항체의 생성

[0114] 본 발명의 단클론 항체(mAb)를 문헌[Kohler and Milstein (1975) *Nature* 256: 495]의 주지된 체세포 하이브리드화(하이브리도마) 기법을 사용하여 생성시킬 수 있다. 단클론 항체의 생성에 대한 다른 구현에는 B 림프구의 바이러스 또는 종양유전자 형질전환 및 파지 디스플레이 기법을 포함한다. 키메라 또는 인간화된 항체가 또한 당해 분야에 주지되어 있다. 예를 들어 미국특허 제 4,816,567; 5,225,539; 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762 및 6,180,370 호(이들의 내용은 전체가 본 명세서에 참고로 분명히 인용된다)를 참조하시오.

[0115] 본 발명의 단클론 항체를 생성시키는 트랜스펙토마의 생성

[0116] 본 발명의 항체를 또한, 예를 들어 당해 분야에 주지된 바와 같은 재조합 DNA 기법 및 유전자 형질감염 방법의 조합을 사용하여 숙주 세포 트랜스펙토마(transfectoma)에서 생성시킬 수 있다(예를 들어 Morrison, S. (1985) *Science* 229:1202). 하나의 구현예에서, 표준 분자 생물학 기법에 의해 수득된 DNA 암호화 부분 또는 완전길이 경쇄 및 중쇄를, 유전자가 전사 및 번역 조절 서열에 작동적으로 연결되도록 하나 이상의 발현 벡터에 삽입시킨다. 이러한 상황에서, "작동적으로 연결된"은 항체 유전자를, 벡터내의 전사 및 번역 조절 서열이 항체 유전자의 전사 및 번역을 조절하는 의도된 기능을 제공하도록 벡터에 결합시킴을 의미하고자 한다.

[0117] "조절 서열"이란 용어는 항체쇄 유전자의 전사 또는 번역을 조절하는 프로모터, 인핸서 및 다른 발현 조절 요소(예를 들어 폴리아데닐화 신호)를 포함하고자 한다. 상기와 같은 조절 서열은 예를 들어 문헌[Goeddel, *Gene Expression Technology. Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)]에 기재되어 있다. 포유동물 숙주 세포 발현에 바람직한 조절 서열은 포유동물 세포에서 높은 수준의 단백질 발현을 유도하는 바이러스 요소, 예를 들어 거대세포바이러스(CMV), 유인원 바이러스 40(SV40), 아데노바이러스, 예를 들어 아데노바이러스 주요 말기 프로모터(AdMLP) 및 폴리오마로부터 유래된 프로모터 및/또는 인핸서를 포함한다. 한편으로, 비바이러스 조절 서열, 예를 들어 유비퀴틴 프로모터 또는 β -글로빈 프로모터를 사용할 수 있다. 더욱 더, 조절 요소는 상이한 소스, 예를 들어 SV40 초기 프로모터 및 인간 T 세포 백혈병 바이러스 1형의 긴 말단 반복부로부터의 서열을 함유하는 SR α 프로모터 시스템으로부터의 서열로 구성된다(Takebe et al. (1988) *Mol. Cell. Biol.* 8:466-472). 발현 벡터 및 발현 조절 서열은 사용된 발현 숙주 세포와 양립성이도록 선택된다.

[0118] 항체 경쇄 유전자 및 항체 중쇄 유전자를 동일한 또는 별도의 발현 벡터에 삽입시킬 수 있다. 바람직한 구현예에서, 가변 영역을 사용하여, 상기 영역을 V_H 분절이 벡터내의 C_H 분절(들)에 작동적으로 연결되고 V_L 분절이 벡터내의 C_L 분절에 작동적으로 연결되도록 이미 목적하는 아이소타입의 중쇄 불변 및 경쇄 불변 영역을 암호화하는 발현 벡터내에 삽입시킴으로써 임의의 항체 아이소타입의 완전길이 항체 유전자를 생성시킨다. 추가로 또는 한편으로, 재조합 발현 벡터는 숙주 세포로부터 항체쇄의 분비를 촉진하는 신호 펩티드를 암호화할 수 있다. 항체쇄 유전자를, 신호 펩티드가 항체쇄 유전자의 아미노 말단에 인-프레임 연결되도록 벡터내에 클로닝시킬 수 있다. 신호 펩티드는 번역글로불린 신호 펩티드 또는 이중 신호 펩티드(즉 비-번역글로불린 단백질로부터의 신호 펩티드)일 수 있다.

[0119] 항체쇄 유전자 및 조절 서열 외에, 본 발명의 재조합 발현 벡터는 추가적인 서열, 예를 들어 숙주 세포에서 벡터의 복제를 조절하는 서열(예를 들어 복제 기원) 및 선택성 마커 유전자를 가질 수 있다. 선택성 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포의 선택을 용이하게 한다(예를 들어 미국특허 제 4,399,216; 4,634,665 및 5,179,017 호를 참조하시오). 예를 들어, 전형적으로 선택성 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포에, 약물, 예를 들어 G418, 하이그로마이신 또는 메토타렉세이트에 대한 내성을 부여한다. 바람직한 선택성 마커 유전자는 디하이드로폴레이트 리덕타제(DHFR) 유전자(메토타렉세이트 선택/증폭과 함께 dhfr-숙주 세포에 사용하기 위한) 및 네오 유전자(G418 선택을 위한)를 포함한다.

[0120] 경쇄 및 중쇄의 발현을 위해서, 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 발현 벡터(들)를 표준 기법에 의해 숙주 세포내에 형질감염시킨다. 다양한 형태의 "형질감염"이란 용어는 외인성 DNA의 원핵생물 또는 진핵생물 숙주 세포내로의 도입에 통상적으로 사용되는 광범위하게 다양한 기법, 예를 들어 일렉트로포레이션, 칼슘-포스페이트 침전, DEAE-텍스트란 형질감염 등을 포함하고자 한다. 본 발명의 항체를 원핵생물 또는 진핵생물 숙주 세포에서 발현시키는 것은 이론적으로 가능하지만, 진핵생물 세포, 및 가장 바람직하게는 포유동물 숙주 세포에서의 항체의

발현이 가장 바람직한데, 그 이유는 상기와 같은 진핵생물 세포 및 특히 포유동물 세포가 원핵생물 세포보다는, 더 적합하게 폴딩되고 면역학적으로 활성인 항체를 조립하고 분비할 것 같기 때문이다.

[0121] 본 발명의 재조합 항체의 발현에 바람직한 포유동물 숙주 세포는 중국 햄스터 난소(CHO 세포)(문헌[Urlaub and Chasin, (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220]에 기재된 dhfr- CHO 세포 포함, 예를 들어 문헌[R. J. Kaufman and P. A. Sharp (1982) *J. Mol. Biol.* 159:601-621]에 기재된 바와 같은 DHFR 선택성 마커와 함께 사용됨), NSO 골수종 세포, COS 세포 및 SP2 세포를 포함한다. 특히 NSO 골수종 세포와 함께 사용하기 위해서, 또 다른 바람직한 발현 시스템은 WO 87/04462, WO 89/01036 및 EP 338,841에 개시된 GS 유전자 발현 시스템이다. 항체 유전자를 암호화하는 재조합 발현 벡터를 포유동물 숙주 세포내에 도입시키는 경우, 숙주 세포를 숙주 세포에서 항체의 발현, 또는 보다 바람직하게는 숙주 세포가 증식되는 배양 배지내로 항체의 분비를 허용하기에 충분한 기간 동안 배양함으로써 항체를 생성시킨다. 항체를 표준 단백질 정제 방법을 사용하여 배양 배지로부터 회수할 수 있다.

[0122] 면역접합체

[0123] 본 발명의 항체를 치료제에 접합시켜 면역접합체, 예를 들어 항체-약물 접합체(ADC)를 형성시킬 수 있다. 적합한 치료제는 대사길항물질, 알킬화제, DNA 작은 홈 결합제, DNA 삽입제, DNA 가교결합제, 히스톤 데아세틸라제 억제제, 핵 수출 억제제, 프로테아솜 억제제, 국소이성화효소 I 또는 II 억제제, 열충격 단백질 억제제, 티로신 키나제 억제제, 항생제 및 유사분열방지제를 포함한다. ADC에서, 항체 및 치료제를 바람직하게는 절단성 링커, 예를 들어 펩티딜, 디설파이드, 또는 하이드라존 링커를 통해 접합시킨다. 보다 바람직하게, 링커는 펩티딜 링커, 예를 들어 Val-Cit, Ala-Val, Val-Ala-Val, Lys-Lys, Pro-Val-Gly-Val-Val, Ala-Asn-Val, Val-Leu-Lys, Ala-Ala-Asn, Cit-Cit, Val-Lys, Lys, Cit, Ser, 또는 Glu이다. ADC를 미국특허 제 7,087,600; 6,989,452; 및 7,129,261 호; PCT 공보 WO 02/096910; WO 07/038,658; WO 07/051,081; WO 07/059,404; WO 08/083,312; 및 WO 08/103,693; 미국특허 공보 20060024317; 20060004081; 및 20060247295에 기재된 바와 같이 제조할 수 있으며; 이들의 내용은 본 명세서에 참고로 인용된다.

[0124] 이중특이성 분자

[0125] 또 다른 태양에서, 본 개시내용은 적어도 2개의 상이한 결합 부위 또는 표적 분자에 결합하는 이중특이성 분자를 생성시키기 위해 적어도 하나의 다른 기능성 분자, 예를 들어 또 다른 펩티드 또는 단백질(예를 들어 또 다른 항체 또는 수용체에 대한 리간드)에 연결된 본 발명의 하나 이상의 항체를 포함하는 이중특이성 분자를 특징으로 한다. 따라서, 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "이중특이성 분자"는 3개 이상의 특이성을 갖는 분자를 포함한다.

[0126] 하나의 구현예에서, 이중특이성 분자는 항-Fc 결합 특이성 및 항-Pd-1 결합 특이성외에, 제3의 특이성을 갖는다. 제3의 특이성은 항-항상 인자(EF), 예를 들어 세포독성 활성화에 관련된 표면 단백질에 결합하고 이에 의해 표적 세포에 대한 면역 반응을 증가시키는 분자에 대한 것일 수 있다. 예를 들어, 항-항상 인자는 세포독성 T-세포(예를 들어 CD2, CD3, CD8, CD28, CD4, CD40, 또는 ICAM-1을 통해) 또는 다른 면역 세포에 결합하여, 표적 세포에 대해 증가된 면역 반응을 생성시킬 수 있다.

[0127] 이중특이성 분자는 다수의 상이한 포맷 및 크기로 존재할 수 있다. 크기 스펙트럼의 한 쪽 끝에서, 이중특이성 분자는, 동일한 특이성의 2개의 결합 가치를 갖는 대신에 각각 상이한 특이성을 갖는 2개의 결합 가치를 가짐을 제외하고, 전통적인 항체 포맷을 유지한다. 다른 극단에 펩티드 쇄에 의해 연결된 2개의 단쇄 항체 단편(scFv)으로 이루어지는 이중특이성 분자, 소위 Bs(scFv)₂ 구조물이 있다. 중간 크기의 이중특이성 분자는 펩티딜 링커에 의해 연결된 2개의 상이한 F(ab) 단편을 포함한다. 상기 및 다른 포맷의 이중특이성 분자는 유전자 조작, 체 세포 하이브리드화, 또는 화학적 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어 상기에 인용된 문헌[Kufer et al]; 문헌[Cao and Suresh, *Bioconjugate Chemistry*, 9 (6), 635-644 (1998)]; 및 문헌[van Spriell et al., *Immunology Today*, 21 (8), 391-397 (2000)], 및 상기 중에 인용된 참고문헌을 참조하시오.

[0128] 약학 조성물

[0129] 또 다른 태양에서, 본 개시내용은 약학적으로 허용 가능한 담체와 함께 제형화된 본 발명의 하나 이상의 항체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 조성물은 하나 이상의 추가적인 약학적으로 활성인 성분, 예를 들어 또 다른 항체 또는 약물을 임의로 함유할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물을 또한, 항-PD-1 항체가 백신에 대한 면역 반응을 향상시키도록, 예를 들어 또 다른 면역-자극제, 항암제, 항-바이러스제, 또는 백신과 병용 요법으로 투여

할 수 있다.

- [0130] 약학 조성물은 임의의 수의 부형제를 포함할 수 있다. 사용될 수 있는 부형제는 담체, 표면 활성제, 증점 또는 유화제, 고체 결합제, 분산 또는 현탁 보조제, 용해제, 착색제, 풍미제, 코팅제, 붕해제, 운환제, 감미제, 보존제, 등장화제, 및 이들의 조합을 포함할 수 있다. 적합한 부형제의 선택 및 용도가 문헌[Gennaro, ed., Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 2003)]에 교시되어 있으며, 그의 개시내용은 본 명세서에 참고로 인용된다.
- [0131] 바람직하게, 약학 조성물은 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 척추 또는 상피 투여(예를 들어 주사 또는 주입에 의해)에 적합하다. 투여 경로에 따라, 활성 화합물을 산의 작용 및 상기 화합물을 불활성화시킬 수 있는 다른 자연 조건으로부터 보호하는 물질로 코팅할 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "비경구 투여"란 어구는 장내 및 국소 투여 이외의 투여 방식, 대개는 주사에 의한 투여를 의미하며, 비제한적으로 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 낭내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척추내, 경막의 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다. 한편으로, 본 발명의 항체를 비-경구 경로, 예를 들어 국소, 상피 또는 점막 투여 경로를 통해, 예를 들어 비내, 경구, 질, 직장, 설하 또는 국소적으로 투여할 수 있다.
- [0132] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용 가능한 염을 포함할 수 있다. "약학적으로 허용 가능한 염"은 모 화합물의 목적하는 생물학적 활성을 유지하고 임의의 원치않는 독성학적 효과를 부여하지 않는 염을 지칭한다. 상기 와 같은 염은 산부가염 및 염기부가염을 포함한다. 산부가염은 무독성 무기산, 예를 들어 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 인산 등뿐만 아니라 무독성 유기산, 예를 들어 지방족 모노- 및 디카복실산, 페닐-치환된 알칸산, 하이드록시 알칸산, 방향족산, 지방족 및 방향족 설폰산 등으로부터 유도된 염을 포함한다. 염기부가염은 알칼리토금속, 예를 들어 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등뿐만 아니라 무독성 유기 아민, 예를 들어 N,N'-디벤질에틸렌디아민, N-메틸글루카민, 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 프로카인 등으로부터 유도된 염을 포함한다.
- [0133] 약학 조성물은 멸균 수용액 또는 분산액의 형태일 수 있다. 약학 조성물을 또한 미세유화액, 리포솜, 또는 고농도 약물에 적합한 다른 정렬된 구조로 제형화할 수 있다.
- [0134] 단일 투여형을 생성시키기 위해 담체 물질과 병용될 수 있는 활성 성분의 양은 치료되는 피실험자 및 특정 투여 방식에 따라 변할 것이며 일반적으로는 치료 효과를 생성시키는 조성물의 양일 것이다. 일반적으로, 상기 양은 100 퍼센트 중, 약학적으로 허용 가능한 담체와 함께, 약 0.01% 내지 약 99 퍼센트의 활성 성분, 바람직하게는 약 0.1% 내지 약 70%, 가장 바람직하게는 약 1% 내지 약 30%의 활성 성분의 범위일 것이다.
- [0135] 투여량 섭생을 최적의 목적하는 반응(예를 들어 치료학적 반응)을 제공하도록 조절한다. 예를 들어, 단일 일시 주사를 투여하거나, 다수의 분할 용량을 시간에 걸쳐 투여하거나 또는 용량을 치료의 긴급 상황에 의해 지시되는 바와 같이 비례해서 감소시키거나 증가시킬 수 있다. 비경구 조성물을 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 단위 투여량으로 제형화하는 것이 특히 유리하다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 단위 투여형은 치료되는 피실험자에게 단위 투여량으로서 적합한 물리적으로 별개의 단위를 지칭하며; 각각의 단위는 요구되는 약학 담체와 함께 목적하는 치료 효과를 생성시키는 것으로 계산된 미리정해진 양의 활성 화합물을 함유한다. 한편으로, 항체를 서방성 제형으로서 투여할 수 있으며, 이 경우에 덜 빈번한 투여가 요구된다.
- [0136] 항체의 투여를 위해서, 투여량 범위는 약 0.0001 내지 100 mg/kg, 및 보다 대개는 0.01 내지 5 mg/kg 속주 체중이다. 예를 들어 투여량은 0.3 mg/kg 체중, 1 mg/kg 체중, 3 mg/kg 체중, 5 mg/kg 체중 또는 10 mg/kg 체중이거나 또는 1-10 mg/kg의 범위 이내일 수 있다. 예시적인 치료 섭생은 주당 1회, 2주마다 1회, 3주마다 1회, 4주마다 1회, 1개월에 1회, 3개월마다 1회 또는 3 내지 6개월마다 1회의 투여를 수반한다. 본 발명의 항-PD-1 항체의 바람직한 투여량 섭생은 정맥내 투여를 통한 1 mg/kg 체중 또는 3 mg/kg 체중을 포함하며, 이때 항체는 하기의 투여 스케줄 중 하나를 사용하여 제공된다: (i) 6개의 투여량에 대해서 4주마다, 이어서 3개월마다; (ii) 3주마다; (iii) 3 mg/kg 체중 1회에 이어서, 1 mg/kg 체중 3주마다. 일부의 방법에서, 투여량을 약 1 내지 1000 μ g/ml 및 일부의 방법에서 25 내지 300 μ g/ml의 혈장 항체 농도가 성취되도록 조절한다.
- [0137] 본 발명의 항-PD-1 항체의 "치료 유효 투여량"은 바람직하게는 질병 증상의 중증도의 감소, 무-질병 증상 기간의 빈도 및 지속기간의 증가, 또는 질병 고통으로 인한 장애 또는 불구의 예방을 생성시킨다. 예를 들어, 종양이 있는 피실험자의 치료에 대해서, "치료 유효 투여량"은 바람직하게는 종양 성장을 치료되지 않은 피실험자에 비해 적어도 약 20%, 보다 바람직하게는 적어도 약 40%, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 약 60%, 및 더욱 더 바람직하게는 적어도 약 80%까지 억제한다. 치료 화합물의 치료 유효량은 종양 크기를 감소시키거나, 또는 피실험자

(전형적으로 인간이거나 또는 또 다른 포유동물일 수 있다)의 증상을 달리 개선시킬 수 있다.

- [0138] 약학 조성물은 임플란트, 경피 패치, 및 미세캡슐화된 전달 시스템을 포함한, 조절된 방출 제형일 수 있다. 생분해성, 생체적합성 중합체, 예를 들어 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리옥소에스테르, 및 폴리락트산을 사용할 수 있다. 예를 들어 문헌[Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978]을 참조하십시오.
- [0139] 치료 조성물을 의료 기구, 예를 들어 (1) 무바늘 피하 주사 기구(예를 들어 미국특허 제 5,399,163; 5,383,851; 5,312,335; 5,064,413; 4,941,880; 4,790,824; 및 4,596,556 호); (2) 미세-주입 펌프(미국특허 제 4,487,603 호); (3) 경피 기구(미국특허 제 4,486,194 호); (4) 주입 장치(미국특허 제 4,447,233 및 4,447,224 호); 및 (5) 삼투성 기구(미국특허 제 4,439,196 및 4,475,196 호)를 통해 투여할 수 있으며, 상기 특허의 개시내용은 본 명세서에 참고로 인용된다.
- [0140] 몇몇 구현예에서, 본 발명의 인간 단클론 항체를 적합한 생체내 분배를 보장하도록 제형화할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 치료 화합물이 혈액-뇌 장벽을 가로지를 수 있게 하기 위해서, 상기 화합물을 리포솜으로 제형화할 수 있으며, 리포솜은 특정한 세포 또는 기관으로의 선택적인 수송을 향상시키기 위해 표적화 부분을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어 미국특허 제 4,522,811; 5,374,548; 5,416,016; 및 5,399,331 호; 하기 문헌을 참조하십시오: V. V. Ranade (1989) *J. Clin. Pharmacol.* 29:685; Umezawa et al., (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 153:1038; Bloeman et al. (1995) *FEBS Lett.* 357:140; M. Owais et al. (1995) *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:180; Briscoe et al. (1995) *Am. J. Physiol.* 1233:134; Schreier et al. (1994) *J. Biol. Chem.* 269:9090; Keinanen and Laukkanen (1994) *FEBS Lett.* 346:123; 및 Killian and Fidler (1994) *Immunomethods* 4:273.
- [0141] 본 발명의 용도 및 방법
- [0142] 본 발명의 항체(조성물, 이중특이성, 및 면역접합체)는 예를 들어 PD-1의 봉쇄에 의한 면역 반응의 향상을 수반하는 다수의 시험관내 및 생체내 유용성을 갖는다. 항체를 다양한 상황에서 면역성을 향상시키기 위해 배양물 중에서, 시험관내에서 또는 생체외에서 세포에, 또는 인간 피실험자에게, 예를 들어 생체내에 투여할 수 있다. 상응하게, 하나의 태양에서, 본 발명은 피실험자에게, 피실험자에서의 면역 반응을 변형시키도록 본 발명의 항체, 또는 그의 항원-결합 부분을 투여함을 포함하는, 피실험자에서 면역 반응을 변형시키는 방법을 제공한다. 바람직하게, 반응이 향상되거나, 자극되거나 또는 상향-조절된다.
- [0143] 바람직한 피실험자는 면역 반응의 향상이 필요한 인간 환자를 포함한다. 방법은 면역 반응(예를 들어 T-세포 매개된 면역 반응)을 증대시킴으로써 치료될 수 있는 질환을 갖는 인간 환자의 치료에 특히 적합하다. 특정한 구현예에서, 방법은 생체내 암 치료에 특히 적합하다. 면역성의 항원-특이적 향상을 성취하기 위해서, 항-PD-1 항체를 관심 항원과 함께 투여하거나 또는 항원이 이미 치료하고자 하는 피실험자(예를 들어 종양-함유 또는 바이러스-함유 피실험자) 중에 존재할 수 있다. PD-1에 대한 항체를 또 다른 작용제와 함께 투여하는 경우, 이 둘을 어느 한 순서로 또는 동시에 투여할 수 있다.
- [0144] PD-1의 PD-L1 및/또는 PD-L2 분자에의 결합을 억제하고 항원-특이성 T 세포 반응을 자극하는 본 발명의 항-PD-1 항체의 능력을 고려하여, 본 발명은 또한 항원-특이성 T 세포 반응을 자극하거나, 향상시키거나 또는 상향조절하기 위해 항체를 사용하는 시험관내 및 생체내 방법을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 항원-특이성 T 세포를 본 발명의 항체와 접촉시켜, 항원-특이성 T 세포 반응을 자극함을 포함하는 상기 T 세포 반응의 자극 방법을 제공한다. 항원-특이성 T 세포 반응의 임의의 적합한 지표를 사용하여 항원-특이성 T 세포 반응을 측정할 수 있다.
- [0145] 상기과 같은 적합한 지표의 비제한적인 예는 항체의 존재하에서 증가된 T 세포 증식 및/또는 항체의 존재하에서 증가된 사이토카인 생성을 포함한다. 바람직한 구현예에서, 항원-특이성 T 세포에 의한 인터류킨-2 생성이 자극된다.
- [0146] 본 발명은 또한 피실험자에게, 피실험자에서의 면역 반응(예를 들어 항원-특이성 T 세포 반응)을 자극하도록 본 발명의 항체를 투여함을 포함하는, 피실험자에서 면역 반응(예를 들어 항원-특이성 T 세포 반응)을 자극하는 방법을 제공한다. 바람직한 구현예에서, 피실험자는 종양-함유 피실험자이고 종양에 대한 면역 반응이 자극된다. 또 다른 바람직한 구현예에서, 피실험자는 바이러스-함유 피실험자이고 바이러스에 대한 면역 반응이 자극된다.
- [0147] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 피실험자에게, 피실험자에서 종양의 성장이 억제되도록 본 발명의 항체를 투여함을 포함하는, 피실험자에서 종양 세포의 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 더욱 또 다른 구현예에서, 본 발

명은 피실험자에게, 피실험자에서 바이러스 감염이 치료되도록 본 발명의 항체를 투여함을 포함하는, 피실험자에서 바이러스 감염을 치료하는 방법을 제공한다.

[0148] 본 발명의 상기 및 다른 방법을 하기에 더욱 상세히 논의한다.

[0149] 앞

[0150] 항체에 의한 PD-1의 봉쇄는 환자에서 암성 세포에 대한 면역 반응을 향상시킬 수 있다. 하나의 태양에서, 본 발명은 암성 종양의 성장이 억제되도록 항-PD-1 항체를 사용하는 생체내 피실험자의 치료에 관한 것이다. 항-PD-1 항체를 단독으로 사용하여 암성 종양의 성장을 억제할 수 있다. 한편으로, 항-PD-1 항체를 암 치료에 사용되는 다른 면역원성 작용제, 예를 들어 종양용해성 바이러스, 또는 하기에 기재하는 바와 같은 다른 항체와 함께 사용할 수 있다.

[0151] 상응하게, 하나의 구현예에서, 본 발명은 피실험자에게 치료 유효량의 항-PD-1 항체, 또는 그의 항원-결합 부분을 투여함을 포함하는, 피실험자에서 종양 세포의 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 바람직하게, 항체는 키메라 또는 인간화된 항-PD-1 항체이다.

[0152] 본 발명의 항체를 사용하여 성장을 억제시킬 수 있는 바람직한 암은 전형적으로 면역요법에 반응성인 암을 포함한다. 치료에 바람직한 암의 비제한적인 예는 폐암, 림프종, 중피종, 흑색종 및 신세포암을 포함한다. 추가로, 본 발명은 본 발명의 항체를 사용하여 억제시킬 수 있는 불응성 또는 재발성 암을 포함한다.

[0153] 본 발명의 방법을 사용하여 치료될 수 있는 다른 암의 예는 골암, 췌장암, 피부암, 두경부암, 피부 또는 안내 악성 흑색종, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문 부위암, 위암, 고환암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 자궁경부암종, 질암종, 음문암종, 호지킨병, 비-호지킨 림프종, 식도암, 소장암, 내분비계암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직육종, 요도암, 음경암, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병을 포함한 만성 또는 급성 백혈병, 아동기의 고형 종양, 림프구성 림프종, 방광암, 신장 또는 요관암, 신우암종, 중추신경계(CNS)의 신생물, 1차 CNS 림프종, 종양 혈관형성, 척수 축 종양, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시육종, 표피암, 편평세포암, T-세포 림프종, 석면에 의해 유발된 경우를 포함한 환경에 의해 유발된 암, 및 상기 암의 조합을 포함한다. 본 발명은 또한 전이암, 특히 PD-L1을 발현하는 전이암의 치료에 유용하다 (Iwai et al. (2005) *Int. Immunol.* 17:133-144).

[0154] 임의로, PD-1에 대한 항체를 면역원제, 예를 들어 암성 세포, 정제된 종양 항원(제조합 단백질, 펩티드 및 탄수화물 분자 포함), 및 면역 자극 사이토카인을 암호화하는 유전자로 형질감염된 세포와 병용할 수 있다(He et al (2004) *J. Immunol.* 173:4919-28). 사용될 수 있는 종양 백신의 비제한적인 예는 흑색종 항원의 펩티드, 예를 들어 gp100의 펩티드, MAGE 항원, Trp-2, MART1 및/또는 티로시나제, 또는 사이토카인 GM-CSF를 발현하도록 형질감염된 종양 세포를 포함한다.

[0155] PD-1 봉쇄는 백신화 프로토콜과 병용시 더욱 유효한 듯하다. 종양에 대한 백신화에 대한 다수의 실험적 전략이 고안되었다(하기의 문헌을 참조하시오: Rosenberg, S., 2000, *Development of Cancer Vaccines*, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C., 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738; Restifo, N. and Sznol, M., *Cancer Vaccines*, Ch. 61, pp. 3023-3043 in DeVita et al. (eds.), 1997, *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, Fifth Edition). 이들 전략 중 하나에서, 백신을 자기유래 또는 동종이계 종양 세포를 사용하여 제조한다. 이들 세포 백신은 종양 세포를 GM-CSF를 발현하도록 형질도입시키는 경우 가장 유효한 것으로 나타났다. GM-CSF는 종양 백신화를 위한 효능있는 항원 제시 활성제인 것으로 나타났다(Dranoff et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 3539-43).

[0156] 다양한 종양에서 유전자 발현 및 대규모 유전자 발현 패턴의 연구는 소위 종양 특이성 항원의 정의를 도출하였다(Rosenberg, SA (1999) *Immunity* 10: 281-7). 다수의 사례에서, 이들 종양 특이성 항원은 종양 및 종양이 발생한 세포에서 발현된 분화 항원, 예를 들어 멜라닌세포 항원 gp100, MAGE 항원, 및 Trp-2이다. 보다 중요하게, 이들 항원 중 다수는 숙주에서 발견된 종양 특이성 T 항원의 표적인 것으로 입증될 수 있다. PD-1 봉쇄를 종양에서 발현된 제조합 단백질 및/또는 펩티드의 콜렉션과 함께, 이들 단백질에 대한 면역 반응을 생성시키기 위해 사용할 수 있다. 이들 단백질은 통상적으로 면역계에 의해 자기-항원으로 보이며 따라서 상기에 관용성이다. 종양 항원은 염색체의 텔로미어 합성에 요구되고 인간암의 85% 초과 및 단지 제한된 수의 체세포 조직에서 발현되는 단백질 텔로머라제를 포함할 수 있다(Kim et al. (1994) *Science* 266: 2011-2013). 이들 체세포 조직은 다양한 수단에 의해 면역 공격으로부터 보호될 수 있다. 종양 항원은 또한, 단백질 서열을 변경시키거나 2개의 관

려되지 않은 서열간의 융합 단백질(즉 필라델피아 염색체에서 bcr-abl)을 생성시키는 체세포 돌연변이, 또는 B 세포 종양으로부터 이디오타입으로 인해 암세포에서 발견된 "네오-항원"일 수 있다.

[0157] 다른 종양 백신은 인간암에 연루된 바이러스, 예를 들어 인유두종 바이러스(HPV), 간염 바이러스(HBV 및 HCV) 및 카포시 헤르페스 육종 바이러스(KHSV)로부터의 단백질을 포함할 수 있다. PD-1 봉쇄와 함께 사용될 수 있는 종양 특이성 항원의 또 다른 형태는 종양 조직 자체로부터 단리된 정제된 열충격 단백질(HSP)이다. 상기 열충격 단백질은 종양 세포로부터의 단백질의 단편을 함유하며, 상기 HSP는 종양 면역성의 유도를 위한 항원제시세포로의 전달에 매우 효율적이다(Suot & Srivastava (1995) *Science* 269:1585-1588; Tamura et al. (1997) *Science* 278:117-120).

[0158] 수지상 세포(DC)는 항원-특이성 반응을 초회항원자극하는데 사용될 수 있는 효능있는 항원제시세포이다. DC를 생체외에서 생성시킬 수 있으며 다양한 단백질 및 펩티드 항원뿐만 아니라 종양 세포 추출물이 로딩될 수 있다(Nestle et al. (1998) *Nature Medicine* 4: 328-332). DC를 또한 상기 종양 항원을 발현하도록 유전자 수단에 의해 형질도입시킬 수 있다. DC를 또한 면역화를 목적으로 종양 세포에 직접 융합시켰었다(Kugler et al. (2000) *Nature Medicine* 6:332-336). 백신화의 방법으로서, DC 면역화를 PD-1 봉쇄와 유효하게 병용하여 보다 효능있는 항-종양 반응을 활성화시킬 수 있다.

[0159] PD-1 봉쇄를 또한 표준 암 치료와 병용할 수 있다. PD-1 봉쇄를 화학요법 섭생과 유효하게 병용할 수 있다. 이러한 경우에, 투여되는 화학요법 시약의 용량을 감소시키는 것이 가능할 수 있다(Mokyr et al. (1998) *Cancer Research* 58: 5301-5304). 상기와 같은 조합의 예는 흑색종 치료를 위해 다카바진과 병용되는 항-PD-1 항체이다. 상기와 같은 조합의 또 다른 예는 흑색종 치료를 위해 인터류킨-2(IL-2)와 병용되는 항-PD-1 항체이다. PD-1 봉쇄 및 화학요법의 병용 배후의 과학적 근거는 세포사, 즉 대부분의 화학요법 화합물의 세포독성 작용의 결과인 세포사가 항원제시 경로에서 종양 항원의 증가된 수준을 생성시킬 것이라는 것이다. 세포사를 통한 PD-1 봉쇄와 상승작용을 생성시킬 수 있는 다른 병용 요법은 방사선, 수술, 및 호르몬 박탈이다. 이들 각각의 프로토콜은 숙주에서 종양 항원의 소스를 생성시킨다. 혈관형성 억제제를 또한 PD-1 봉쇄와 병용할 수 있다. 혈관형성의 억제는 종양 세포사를 도출하며, 이는 종양 항원을 숙주 항원제시 경로에 공급할 수 있다.

[0160] 종양은 광범위하게 다양한 기전에 의해 숙주 면역감시를 회피한다. 이들 기전 중 다수는, 종양에 의해 발견되고 면역억제성인 단백질의 불활성화에 의해 극복될 수 있다. 특히 TGF- β (Kehrl et al. (1986) *J. Exp. Med.* 163: 1037-1050), IL-10(Howard & O'Garra (1992) *Immunology Today* 13: 198-200), 및 Fas 리간드(Hahne et al. (1996) *Science* 274: 1363-1365)가 포함된다. 각각의 이들 개체에 대한 항체를 항-PD-1과 병용하여, 면역억제제의 효과에 대응하고 숙주에 의한 종양 면역 반응을 촉진할 수 있다.

[0161] 숙주 면역 반응성을 활성화하는 다른 항체를 항-PD-1과 병용할 수 있다. 이는 DC 기능 및 항원제시를 활성화하는 수지상 세포 표면상의 분자를 포함한다. 항-CD40 항체는 T 세포 헬퍼 활성을 유효하게 대체할 수 있으며(Ridge et al. (1998) *Nature* 393: 474-478) PD-1 항체와 함께 사용될 수 있다(Ito et al. (2000) *Immunobiology* 201 (5) 527-40). T 세포 공동자극 분자, 예를 들어 CTLA-4(예를 들어 미국특허 제 5,811,097 호), OX-40(Weinberg et al. (2000) *Immunol* 164: 2160-2169), 4-1BB(Melero et al. (1997) *Nature Medicine* 3: 682-685 (1997), 및 ICOS(Hutloff et al. (1999) *Nature* 397: 262-266)에 대한 활성화 항체를 또한 증가된 수준의 T 세포 활성화를 위해 제공할 수 있다.

[0162] 항원 특이성 T 세포의 생체외 활성화 및 확대, 및 종양에 대한 항원-특이성 T 세포를 자극하기 위한 상기 세포의 수용자내로의 입양 전달을 수반하는 다수의 실험적 치료 프로토콜이 또한 존재한다(Greenberg & Riddell (1999) *Science* 285: 546-51). 이들 방법을 또한 감염성 인자, 예를 들어 CMV에 대한 T 세포 반응을 활성화하기 위해 사용할 수 있다. 항-PD-1 항체 존재하의 생체외 활성화는 입양 전달된 T 세포의 빈도 및 활성을 증가시킬 수 있다.

[0163] 감염성 질병

[0164] 본 발명의 다른 방법을 사용하여 특정 독소 또는 병원체에 노출된 환자를 치료한다. 상응하게, 본 발명의 또 다른 태양은 피실험자에게, 피실험자가 감염성 질병이 치료되도록 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분을 투여함을 포함하는, 피실험자에서 감염성 질병을 치료하는 방법을 제공한다. 바람직하게, 항체는 키메라, 인간화된 또는 인간 항체이다.

[0165] 상기 논의된 바와 같은 종양에 대한 적용과 유사하게, 항체 매개된 PD-1 봉쇄를 단독으로, 또는 항원보강제로서, 또는 백신과 함께 사용하여 병원체, 독소 및 자기-항원에 대한 면역 반응을 자극할 수 있다.

상기 치료학적 접근법이 특히 유용할 수 있는 병원체의 예는 현재 유효 백신이 없는 병원체, 또는 통상적인 백신이 완전하게 유효하지 못한 병원체를 포함한다. 이들은 비제한적으로 HIV, 간염(A, B & C), 인플루엔자, 헤르페스, 지아르디아, 말라리아, 리슈마니아, 스타필로코커스 아우레우스, 슈도모나스 아에루기노사를 포함한다.

[0166] 병용 요법

[0167] 또 다른 태양에서, 본 발명은 본 발명의 항-PD-1 항체(또는 그의 항원-결합 부분)를 면역 반응을 자극하는데 유효하고, 이에 의해 피실험자에서 면역 반응을 더욱 향상시키거나, 자극하거나 또는 상향조절하는 하나 이상의 추가적인 항체와 공-투여하는 병용 요법의 방법을 제공한다. 하나의 구현예에서, 본 발명은 피실험자에게 항-PD-1 항체 및 하나 이상의 추가적인 면역-자극 항체, 예를 들어 항-LAG-3 항체, 항-PD-L1 항체 및/또는 항-CTLA-4 항체를, 면역 반응이 예를 들어 종양 성장을 억제하거나 항-바이러스 반응을 자극하기 위해서 피실험자에서 자극되도록 투여함을 포함하는, 피실험자에서 면역 반응을 자극하기 위한 방법을 제공한다.

[0168] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 피실험자에게, 항-PD-1 항체 및 하나 이상의 추가적인 면역-자극 항체, 예를 들어 항-LAG-3 항체, 항-PD-L1 항체 및/또는 항-CTLA-4 항체를, 종양 성장이 억제되도록 투여함을 포함하는, 과증식성 질병(예를 들어 암)을 치료하기 위한 방법을 제공한다.

[0169] 항체에 의한 PD-1 및 하나 이상의 제2 표적 항원, 예를 들어 CTLA-4 및/또는 LAG-3 및/또는 PD-L1의 봉쇄는 환자에서 암성 세포에 대한 면역 반응을 향상시킬 수 있다. 본 개시내용의 항체를 사용하여 성장이 억제될 수 있는 암은 전형적으로 면역요법에 반응성인 암을 포함한다. 본 개시내용의 병용 요법에 의한 치료를 위한 암의 전형적인 예는 상기에 항-PD-1 항체에 의한 단일요법의 논의에서 구체적으로 나열한 암을 포함한다.

[0170] 몇몇 구현예에서, 본 명세서에 논의된 치료 항체의 조합을 약학적으로 허용 가능한 담체 중의 단일 조성물로서 동반 투여하거나, 또는 약학적으로 허용 가능한 담체 중에 각각의 항체를 갖는 별도의 조성물로서 동반 투여할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 치료 항체의 조합을 순차적으로 투여할 수 있다.

[0171] 더욱 또한, 병용 요법의 하나 초과 용량을 순차적으로 투여하는 경우, 순차적인 투여의 순서는 역전되거나 또는 각각의 투여 시점에서 동일한 순서로 유지될 수 있으며, 순차적인 투여를 동반 투여, 또는 그의 임의의 조합과 병용할 수 있다.

[0172] 병용된 PD-1 및 CTLA-4 및/또는 LAG-3 및/또는 PD-L1 봉쇄를 또한 표준 암 치료와 추가로 병용할 수 있다. 예를 들어, 병용된 PD-1 및 CTLA-4 및/또는 LAG-3 및/또는 PD-1 봉쇄를 화학요법 섭생과 유효하게 병용할 수 있다. 이러한 경우에, 본 개시내용의 조합과 함께 투여되는 다른 화학요법 시약의 용량을 감소시키는 것이 가능하다(Mokyr *et al.* (1998) *Cancer Research* 58: 5301-5304).

[0173] 또 다른 예에서, 항-PD-1 및 항-CTLA-4 및/또는 항-LAG-3 항체 및/또는 항-PD-L1 항체의 조합을 항-신생물 항체, 예를 들어 RituxanTM(리투시맵), HerceptinTM(트라스투맵), BexxarTM(토시투모맵), ZevalinTM(이브리투모맵), CampathTM(알렘투맵), LymphocideTM(에프르투맵), AvastinTM(베바시주맵), 및 TarcevaTM(에를로티닙)와 함께 사용할 수 있다. 예로서, 이론에 얽매이지 않는 것은 아니지만, 항암 항체 또는 독소에 접합된 항암 항체에 의한 치료는 암세포(예를 들어 종양 세포)를 유도할 수 있으며, 이는 CTLA-4, LAG-3, PD-L1 또는 PD-1에 의해 매개되는 면역 반응을 강화시킬 것이다. 예시적인 구현예에서, 과증식성 질병(예를 들어 암 종양)의 치료는 항암 항체를 항-PD-1 및 항-CTLA-4 및/또는 항-LAG-3 항체 및/또는 항-PD-L1 항체와 함께, 동반하여 또는 순차적으로 또는 그의 임의의 조합으로 포함할 수 있으며, 이는 숙주에 의한 항-종양 면역 반응을 강화시킬 수 있다.

[0174] 종양은 광범위하게 다양한 기전에 의해 숙주 면역감시를 회피한다. 이들 기전 중 다수는, 종양에 의해 발현되고 면역억제성인 단백질의 불활성화에 의해 극복될 수 있다. 특히 TGF- β (Kehrl *et al.* (1986) *J. Exp. Med.* 163: 1037-1050), IL-10(Howard & O'Garra (1992) *Immunology Today* 13: 198-200), 및 Fas 리간드(Hahne *et al.* (1996) *Science* 274: 1363-1365)가 포함된다. 또 다른 실시예에서, 각각의 이들 개체에 대한 항체를 항-PD-1 및 항-CTLA-4 및/또는 항-LAG-3 항체 및/또는 항-PD-L1 항체 조합과 추가로 병용하여, 면역억제제의 효과에 대응하고 숙주에 의한 종양 면역 반응을 촉진할 수 있다.

[0175] 숙주 면역 반응성을 활성화하는데 사용될 수 있는 다른 항체를 항-PD-1 및 항-CTLA-4 및/또는 항-LAG-3 항체 및/또는 항-PD-L1 항체 조합과 함께 사용할 수 있다. 이들은 DC 기능 및 항원제시를 활성화하는 수지상 세포 표면상의 분자를 포함한다. 항-CD40 항체(상기 Ridge *et al.*)를 항-PD-1 및 항-CTLA-4 및/또는 항-LAG-3 및/또는 항-PD-L1 조합과 함께 사용할 수 있다(상기 Ito *et al.*). T 세포 공동자극 분자(상기 Weinberg *et al.*, 상기

Melero et al., 상기 Hutloff et al.)에 대한 다른 활성화 항체를 또한 증가된 수준의 T 세포 활성화를 위해 제공할 수 있다.

- [0176] 항원 특이성 T 세포의 생체의 활성화 및 확대, 및 종양에 대한 항원-특이성 T 세포의 수용자내로의 상기 세포의 입양 전달을 수반하는 다수의 실험적 치료 프로토콜이 또한 존재한다(상기 Greenberg & Riddell). 이들 방법을 또한 감염성 인자, 예를 들어 CMV에 대한 T 세포 반응을 활성화하기 위해 사용할 수 있다. 항-PD-1 및 항-CTLA-4 및/또는 항-LAG-3 항체 및/또는 항-PD-L1 항체 존재하의 생체의 활성화는 입양 전달된 T 세포의 빈도 및 활성을 증가시킬 것으로 예상될 수 있다.
- [0177] 본 개시내용을 하기의 실시예에 의해 추가로 예시하며, 실시예를 추가의 제한으로서 해석해서는 안 된다. 본 출원 전체를 통해 인용된 모든 도면 및 모든 참고문헌, Genbank 서열, 특허 및 공개된 특허 출원은 명백히 본 명세서에 참고로 인용된다.
- [0178] 실시예
- [0179] 실시예 1 파지 패닝(panning), 선별 및 친화성 성숙화
- [0180] 파지 라이브러리
- [0181] 항체 단쇄 파지 디스플레이 라이브러리를, 경쇄 가변 영역(VL) 및 중쇄 가변 영역(VH)의 레퍼토리를 클로닝함으로써 생성시켰다. 중쇄 및 경쇄 레퍼토리를, 주로 말초 혈액으로부터 채집한 인간 림프구로부터 PCR 증폭에 의해 생성시켰다. VL 레퍼토리 및 VH 레퍼토리를 혼합하고 증폭 프라이머로 PCR을 수행하였다. 항체의 최종 포맷은 가요성 링커 펩티드(GGGGSGGGSGGGGS(서열번호 60))에 의해 결합된 VH 및 VL 단편을 갖는 단쇄 Fv(scFv)이었다.
- [0182] 인간 PD-1에 대한 파지 라이브러리 패닝
- [0183] 특정한 scFv 단편을 디스플레이하는 파지 입자의 선택을 Immuno 96 MicroWell™ 플레이트(Nunc, 덴마크 소재)상에서 수행하였다. 먼저, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 포스페이트-완충된 염수(PBS) 중의 PD-1 재조합 단백질(AcroBiosystems, cat# PD1-H5221)을 4°C에서 밤새 플레이트상에 코팅하였다. PBS 중의 2%(w/v) 분유(2% MPBS)로 차단 후에, 약 10^{11} 파지 입자를 함유하는 라이브러리를 가하고 플레이트를 실온(RT, 25-28°C)에서 2시간 동안 배양하였다. 0.1% 트윈 20을 함유하는 PBS(PBS-T)로 플레이트를 10 내지 20회 세척한 다음 PBS로 10 내지 20회 세척함으로써 결합되지 않은 파지를 제거하였다. 결합된 파지는 50 μl 의 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 트립신 10분에 이어서 50 μl 의 50 mM 글리신-HCl pH 2.0(10분 후에 50 μl 의 200 mM Na_2HPO_4 , pH 7.5로 바로 중화시켰다)과 배양하여 용출시켰다. 4회 라운드의 패닝을 수행하였다.
- [0184] 파지 선별
- [0185] 세 번째 및 네 번째 라운드의 패닝으로부터, 파지를 골라내고 인간 PD-1 결합에 대해 시험하였다. 구체적으로, 인간 PD-1(AcroBiosystems, cat# PD1-H5221)을 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 96-웰 플레이트상에 코팅하고, 단일 클론 파지를 플레이트에 가하였다. 이어서 결합되지 않은 파지를 씻어내고 결합된 파지를 항-M13 2차 항체(Abcam, cat#ab50370)에 의해 검출하였다.
- [0186] 클론 21F12, 16B2, 16C1, 19E11 및 45E2를 포함하여 ELISA 양성 클론을 서열분석하고, 이로부터 5개의 독특한 서열을 식별하였다. 항-PD-1 항체 21F12의 중/경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 ID 번호를 상기 표 1에 나타내었다.
- [0187] 친화성 성숙화
- [0188] 클론 21F12로부터의 항체의 결합 친화성을 개선시키기 위해서, HCDR1 및 HCDR3에 대한 2개의 파지 라이브러리를 패닝을 위해 구성하였다. 3회 라운드의 패닝 후에, 변체를 ELISA 선별에 의해 인간 PD-1(AcroBiosystems, cat# PD1-H5221)에 대한 양성 결합에 대해 시험하였다. 양성 변체의 해리속도 순위를 Octet Red 96(Fortebio)에 의해 측정하였다. 개선된 해리속도를 갖는 클론을 골라내고 분석을 위해 완전길이 IgG로 전환시켰다. 변체 항-PD-1 항체 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, 및 21F12-3G1의 중/경쇄의 아미노산 서열 ID 번호를 또한 상기 표 1에 요약하였다.
- [0189] 각각의 항-PD-1 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 발현 벡터 pcDNA3.1(Invitrogen)내에 삽입하였으며, 여기에서 항체는 서열번호 18에 제시된 아미노산 서열을 갖는 돌연변이 IgG1 불변 영역 및 서열

번호 20에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 불변 영역을 함유하였다. 벡터를 제조사의 설명에 따라 ExpiCHO™ 발현 시스템(ThermoFisher)을 사용하여 CHO-S 세포내로 동시-형질감염시켰다. 형질감염된 세포를 ExpiCHO™ 발현 배지에서 12일간 배양하고, 이어서 배양 상등액을 수확하고 단백질을 친화성 크로마토그래피(GE healthcare)에 의한 정제를 위해 보냈다.

[0190] 실시예 2 항-PD-1 단클론 항체의 물리적 및 화학적 특징

[0191] 클론 21F12로부터의 항체를 크기 배제 크로마토그래피에서 시험하였다. 특히, 20 μ g의 샘플을 러닝 완충제로서 100 mM 나트륨 포스페이트 + 100 mM Na₂SO₄, pH 7.0을 사용하여 TSK G3000SWXL 컬럼상에 주입하였다. 실험 시간은 29분이었다. 모든 측정을 Agilent 1220 HPLC상에서 수행하였다. 데이터를 OpenLAB 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.

[0192] 도 1에 도시된 바와 같이, 항체 21F12의 주 피크는 SEC에서 95% 초과였으며, 이는 정제된 항체의 높은 순도 및 온전함을 암시한다.

[0193] 실시예 3 인간 PD-1에 결합된 항-PD-1 항체

[0194] ELISA 분석을 인간 PD-1에 대한 항체의 상대적인 결합 능력의 측정을 위해 수행하였다.

[0195] 인간 PD-1 단백질(SINO Biological Inc., Cat# 10377-H08H-100)을 4°C, 25 ng/웰에서 밤새 배양에 의해 96-웰 플레이트상에 고정화시켰다. 이어서 플레이트를 37°C에서 1시간 동안 PBS 중의 1% BSA와의 배양에 의해 차단하였다. 차단 후에, 플레이트를 PBST(0.05% 트윈 20을 함유하는 PBS)로 3회 세척하였다. 연속 희석된 항-PD-1 항체(서열번호 18의 돌연변이 IgG1 불변 영역을 가짐) 또는 인간 IgG 대조용(US20190016800A1에 따라 제조됨, 서열번호 61 및 62에 제시된 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열 사용)을 결합 완충제(0.05% 트윈20 및 0.5% BSA를 함유하는 PBS) 중에서 제조하고 37°C에서 1시간 동안 고정화된 단백질과 배양하였다. 결합 후에, 플레이트를 PBST로 3회 세척하고, 37°C에서 1시간 동안, 결합 완충제 중에서 1/20,000 희석된 페록시다제-표지된 염소 항-인간 F(ab')₂ 항체(Jackson Immuno Research, Cat# 109-035-097)와 배양하고, 다시 세척하고, TMB(ThermoFisher Cat#34028)로 15분간 전개시키고, 이어서 1M H₂SO₄로 정지시켰다. 각각의 플레이트 웰은 각 단계에서 50 μ l의 용액을 함유하였다.

[0196] 450 nm 내지 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 인간 PD-1에 결합하는 항체에 대한 EC₅₀ 값 및 결합 곡선을 도 2A 내지 2D에 도시하였으며, 이는 본 발명의 항-PD-1 항체가 인간 PD-1에 특이적으로 결합하였음을 암시한다.

[0197] 실시예 4 인간 및 키노몰구스 PD-1에 결합된 항-PD-1 항체

[0198] ELISA 분석을 제조함 인간, 키노몰구스 및 마우스 PD-1에 대한 항체의 상대적인 결합 활성의 측정을 위해 수행하였다.

[0199] 인간 PD-1 단백질(SINO Biological Inc., Cat#10377-H08H-100), 키노몰구스 PD-1 단백질(Acrobiosystems, Cat# PD1-C5223), 또는 마우스 PD-1 단백질(SINO Biological Inc., Cat# 50124-M08H)을 4°C, 25 ng/웰에서 밤새 배양에 의해 96-웰 플레이트상에 고정화시켰다. 이어서 플레이트를 37°C에서 1시간 동안 PBS 중의 1% BSA와의 배양에 의해 차단하였다. 차단 후에, 플레이트를 PBST(0.05% 트윈20을 함유하는 PBS)로 3회 세척하였다. 연속 희석된 니볼루맵 유사체(양성 대조용으로서 사용됨, 서열번호 63 및 64에 제시된 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 사용하여 제조됨), 항-PD-1 항체 21F12-1F6(서열번호 18의 돌연변이 IgG1 불변 영역을 가짐), 인간 IgG 대조용(실시예 3에서 제조된 바와 같은)을 결합 완충제(0.05% 트윈20 및 0.5% BSA를 함유하는 PBS) 중에서 제조하고 37°C에서 1시간 동안 고정화된 단백질과 배양하였다. 결합 후에, 플레이트를 PBST로 3회 세척하고, 37°C에서 1시간 동안, 결합 완충제 중에서 1/20,000 희석된 페록시다제-표지된 염소 항-인간 F(ab')₂ 항체(Jackson Immuno Research, Cat# 109-035-097)와 배양하고, 다시 세척하고, TMB(ThermoFisher Cat#34028)로 15분간 전개시키고, 이어서 1M H₂SO₄로 정지시켰다. 각각의 플레이트 웰은 각 단계에서 50 μ l의 용액을 함유하였다.

[0200] 450 nm 내지 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 인간 PD-1, 키노몰구스 PD-1 또는 마우스 PD-1에 결합하는 항체에 대한 EC₅₀ 값 및 결합 곡선을 도 3A 내지 3C에 도시하였다. 데이터는 항-PD-1 항체 21F12-1F6이 인간 및 원숭이 PD-1에 특이적으로 결합하였지만 마우스 PD-1에는 결합하지 않음을 암시하였다. 특히, 항체 21F12-1F6은 원숭이 PD-1에, 니볼루맵 유사체에 비해 더 낮은 EC₅₀ 값으로 결합하였다.

[0201] 실시예 5 인간 및 키노몰구스 PD-1 단백질에 대한 항-PD-1 항체의 결합 친화성

[0202] 인간 PD-1 및 키노몰구스 PD-1에 대한 항체 21F12-1F6의 동역학적 결합 활성을 Biacore X100 시스템(Biacore, GE Healthcare)을 사용하여 표면 플라스몬 공명(SPR)에 의해 측정하였다.

[0203] 간단히, 고정화 완충제(10 mM 나트륨 아세테이트, pH 4.5) 중의 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 염소 항-인간 Fc γ (Jackson Immuno Catalog#109-005-098)를 유동 세포에 주입하여, 8008.5 RU의 고정화 수준을 생성시켰다. 러닝 완충제(HBS-EP+ 완충제)와 함께 항-PD-1 항체 21F12-1F6(서열번호 18의 돌연변이 IgG1 불변 영역을 가짐)를 유동 세포에 5 μl /분의 유량으로 주입하였다. 12.5 nM 내지 200 nM 범위의 다양한 농도의 인간 PD-1-his 단백질(Acrobiosystems, Cat#PD1-H5221)을 러닝 완충제에서 희석하여 제조하였다. 각 농도의 인간 PD-1 단백질을 120s의 결합 단계 동안 30 μl /분의 유량으로 주입한 다음 500s 해리를 수행하였다. 각 주기에 이어서, CM5 칩 표면을 30s 동안 30 μl /분의 유량으로 10 mM 글리신-HCl(pH 1.5)의 주입에 의해 재생시켰다. 배경 제거 결합 센서그램을 결합 K_a 및 해리 K_d 의 속도를 분석하기 위해 사용하고, 평행 해리 상수 K_D 를 상응하게 계산하였다. 생성된 데이터 세트를 Biacore X100 평가 소프트웨어를 사용하여 1:1 Langmuir 결합 모델에 적합시켰다.

[0204] 원숭이 PD-1 결합에 대해서, 고정화 완충제(10 mM 나트륨 아세테이트, pH 4.5) 중의 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 염소 항-인간 Fc γ (Jackson Immuno Catalog#109-005-098)를 유동 세포에 주입하여, 7807.1 RU의 고정화 수준을 생성시켰다. 러닝 완충제(HBS-EP+ 완충제)와 함께 항-PD-1 항체 21F12-1F6를 유동 세포에 5 μl /분의 유량으로 주입하였다. 12.5 nM 내지 200 nM 범위의 다양한 농도의 키노몰구스 PD-1-his 단백질(Acrobiosystems, Cat#PD1-C5223)을 러닝 완충제에서 희석하여 제조하였다. 각 농도의 키노몰구스 PD-1 단백질을 유동 세포에 120s의 결합 단계 동안 30 μl /분의 유량으로 주입한 다음 500s 해리를 수행하였다. 각 주기에 이어서, CM5 칩 표면을 30s 동안 30 μl /분의 유량으로 10 mM 글리신-HCl(pH 1.5)의 주입에 의해 재생시켰다. 배경 제거 결합 센서그램을 결합 K_a 및 해리 K_d 의 속도를 분석하기 위해 사용하고, 평행 해리 상수 K_D 를 상응하게 계산하였다. 생성된 데이터 세트를 Biacore X100 평가 소프트웨어를 사용하여 1:1 Langmuir 결합 모델에 적합시켰다.

[0205] 하기 표 2는 항-PD-1 항체 21F12-1F6의, 인간 PD-1 단백질 및 키노몰구스 PD-1 단백질에 대한 결합 친화성을 요약하였다.

[0206] [표 2] 항-PD-1 항체의, 인간 PD-1 단백질 및 키노몰구스 PD-1 단백질에 대한 결합 친화성

표 2

항체	PD-1 단백질	$K_a(\text{M}^{-1}\text{S}^{-1})$	$K_d(\text{S}^{-1})$	$K_D(\text{M})$
21F12-1F6	huPD-1-his	6.476E+5	9.106E-5	1.406E-9
	cynoPD-1-his	9.672E+4	1.096E-4	1.133E-9

[0208] 실시예 6 항-PD-1 항체는 인간 ICOS, 인간 CD28, 인간 CTLA-4 또는 인간 BTLA에 교차 반응하지 않았다

[0209] ELISA 분석을 항-PD-1 항체의, 재조합 인간 ICOS, 인간 CD28, 인간 CTLA4 및 인간 BTLA에의 결합 활성의 측정

[0210] 인간 ICOS(Acrobiosystems, Cat# ICS-H5250), 인간 CD28(Acrobiosystems, Cat# 11524-H02H), 인간 CTLA-4(Acrobiosystems, Cat# CT4-H5229), 또는 인간 BTLA(Acrobiosystems, Cat# BTA-H52E0)를 4°C, 25 ng/웰에서 밤새 배양에 의해 96-웰 플레이트상에 고정화시켰다. 이어서 플레이트를 37°C에서 1시간 동안 PBS 중의 1% BSA와의 배양에 의해 차단하였다. 차단 후에, 플레이트를 PBST(0.05% 트윈 20을 함유하는 PBS)로 3회 세척하였다. 연속 희석된 니볼루탐 유사체(실시예 4에서 제조된 바와 같은), 21F12-1F6(서열번호 18의 돌연변이 IgG1 불변 영역을 가짐) 및 인간 IgG 대조용(실시예 3에서 제조된 바와 같은)을 결합 완충제(0.05% 트윈20 및 0.5% BSA를 함유하는 PBS) 중에서 제조하고 37°C에서 1시간 동안 고정화된 단백질과 배양하였다. 결합 후에, 플레이트를 PBST로 3회 세척하고, 37°C에서 1시간 동안, 결합 완충제 중에서 1/20,000 희석된 페록시다제-표지된 염소 항-인간 F(ab')₂ 항체(Jackson Immuno Research, Cat# 109-035-097)와 배양하고, 다시 세척하고, TMB(ThermoFisher Cat#34028)로 15분간 전개시키고, 이어서 1M H₂SO₄로 정지시켰다. 각각의 플레이트 웰은 각 단계에서 50 μl 의 용액을 함유하였다.

[0211] 450 nm 내지 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 인간 ICOS, 인간 CD28, 인간 CTLA4 및 인간 BTLA에 결합하는 항체의 전형적인 결합 곡선을 각각 도 4A 내지 4D에 도시하였다. 데이터는 항-PD-1 항체 21F12-1F6가 시험된 바와

같은 단백질에 결합하지 않음을 나타내었다.

[0212] 실시예 7 항-PD1 항체는 PD-1과 PD-L1 또는 PD-L2와의 상호작용을 차단하였다

[0213] 인간 PD-L1 또는 PD-L2에 대한 인간 PD-1 결합을 억제하는 항-PD-1 항체의 능력을 평가하기 위해서, ELISA 차단 분석을 수행하였다.

[0214] 인간 PD-1(Leadshiolabs에서 제조됨, 서열번호 66에 제시된 NP_005009.2의 아미노산 서열)을 4℃, 25 ng/웰에서 밤새 배양에 의해 96-웰 플레이트상에 고정화시켰다. 비특이적인 결합 부위를 37℃에서 1시간 동안 PBS 중의 1% BSA와의 배양에 의해 차단하였다. 차단 후에, 플레이트를 PBST(0.05% 트윈 20을 함유하는 PBS)로 3회 세척하였다. 연속 희석된 니볼루맵 유사체(실시예 4에서 제조된 바와 같은), 항-PD-1 21F12 항체(모두 서열번호 18의 돌연변이 IgG1 불변 영역을 가짐) 및 인간 IgG 대조용(실시예 3에서 제조된 바와 같은)을 결합 완충제(0.05% 트윈20 및 0.5% BSA를 함유하는 PBS) 중에서 제조하고 같은 부피로 0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 제조된 인간 PD-L1-마우스 Fc-태그(Leadshiolabs에서 제조됨, 서열번호 65에 제시된 아미노산 서열)와 혼합하고, 이어서 수득된 혼합물을 37℃에서 1시간 동안 고정화된 단백질과 배양하였다. 그 후에, 플레이트를 PBST로 3회 세척하고, 37℃에서 1시간 동안, 결합 완충제 중에서 1/10,000 희석된 페록시다제-표지된 염소 항 마우스-Fc IgG(Jackson Immuno Research, Cat# 115-035-164)와 배양하고, 다시 세척하고, TMB(ThermoFisher Cat#34028)로 15분간 전개시키고, 이어서 1M H_2SO_4 로 정지시켰다. 각각의 플레이트 웰은 각 단계에서 50 μl 의 용액을 함유하였다.

[0215] 450 nm 내지 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이들 항체에 대한 전형적인 결합 곡선 및 IC_{50} 값을 각각 도 5A 내지 5E에 도시하였다. 결과는 본 발명의 항-PD-1 항체가 인간 PD1과 PD-L1간의 상호작용을 차단함을 가리켰다.

[0216] 유사하게, 100 ng/웰의 인간 PD-1(Leadshiolabs에서 제조됨, 서열번호 66에 제시된 아미노산 서열)을 4℃에서 밤새 배양에 의해 96-웰 플레이트상에 고정화시켰다. 비특이적인 결합 부위를 37℃에서 1시간 동안 PBS 중의 1% BSA와의 배양에 의해 차단하였다. 차단 후에, 플레이트를 PBST(0.05% 트윈 20을 함유하는 PBS)로 3회 세척하였다. 연속 희석된 니볼루맵 유사체(실시예 4에서 제조된 바와 같은), 21F12-1F6(서열번호 18의 돌연변이 IgG1 불변 영역을 가짐) 및 인간 IgG 대조용(실시예 3에서 제조된 바와 같은)을 결합 완충제(0.05% 트윈20 및 0.5% BSA를 함유하는 PBS) 중에서 제조하고 같은 부피로 0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 제조된 인간 PD-L2-his-태그(SINO Biological Inc, Cat# 10292-H08H)와 혼합하고, 이어서 수득된 혼합물을 37℃에서 1시간 동안 고정화된 단백질과 배양하였다. 그 후에, 플레이트를 PBST로 3회 세척하고, 37℃에서 1시간 동안, 결합 완충제 중에서 1/5,000 희석된 페록시다제-표지된 마우스 항 his-태그 항체(GenScript, Cat# A00612)와 배양하고, 다시 세척하고, TMB(ThermoFisher Cat#34028)로 15분간 전개시키고, 이어서 1M H_2SO_4 로 정지시켰다. 각각의 플레이트 웰은 각 단계에서 50 μl 의 용액을 함유하였다.

[0217] 450 nm 내지 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이들 항체에 대한 전형적인 결합 곡선 및 IC_{50} 값을 각각 도 5F에 도시하였다. 결과는 항체 21F12-1F6가 인간 PD1과 PD-L2간의 상호작용을 차단함을 가리켰다.

[0218] 실시예 8 항 PD-1 항체는 CHO-K1-PD-1 세포에 의해 발현된 세포 표면 PD-1에 결합되었다

[0219] 항-PD-1 항체를 CHO-K1 세포상에서 안정하게 발현된 인간 PD-1에의 결합 능력에 대해 시험하였다.

[0220] 중국 햄스터 난소 상피 CHO-K1 세포주(ATCC, cat# CCL-61)를 37℃에서 5% CO_2 가 있는 가습 배양기에서 10% FBS를 함유하는 F-12K 배지에서 유지시켰다. 서열번호 66의 인간 PD-1을 암호화하는 핵산 서열을 폴리테일렌이민(MW25K, 23966-2, Polyscience)을 사용하여 CHO-K1 세포에 형질감염시키고, 인간 PD-1을 안정하게 발현하는 클론을 제한 희석에 의해 수득하였다.

[0221] 연속 희석된 항-PD-1 항체를 상기 제조된 50 μl 의 10000 CHO-K1 세포에 가하였다. 수득된 혼합물을 4℃에서 30분간 배양하고, 이어서 세포를 PBS 완충제로 2회 세척하였다. 결합을 PBS 완충제(1:100) 중의 PE-표지된 당나귀 항-인간 IgG(Jackson Immuno Research Cat# 109-116-098) 2차 시약을 사용하여, 상기 2차 시약을 혼합물과 4℃에서 30분간 배양한 다음 2회 세척하여 검출하였다. 그 후에, 세포를 PBS 완충제에 재현탁시켰다. 인간 PD-1 결합의 분석을 BD Accuri C5 유식 세포계(BD Bioscience)로 수행하였다. 이들 항체에 대한 전형적인 결합 곡선 및 EC_{50} 값을 도 6A 및 6B에 나타내었다.

[0222] 결과는 본 발명의 항-PD-1 항체(서열번호 18의 돌연변이 IgG1 불변 영역을 가짐) 및 니볼루맵 유사체가 CHO-K1 세포상에 안정하게 발현된 인간 PD-1에 유사한 EC_{50} 값으로 특이적으로 결합함을 나타내었다.

- [0223] 실시예 9 항 PD-1 항체는 자극된 PBMC에 의해 발현된 세포 표면 PD-1에 결합하였다
- [0224] 항-PD-1 항체를 자극된 PBMC상에 발현된 인간 및 키노몰구스 PD-1에 결합하는 능력에 대해 시험하였다.
- [0225] 인간 및 키노몰구스 PBMC를 밀도 구배 원심분리에 의해 말초 혈액으로부터 분리하였다. 3×10^6 인간 PBMC를, PBS(Hyclone, cat#SH3025601) 중에 희석된 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 24시간 동안 코팅된 항-CD3(Biogems, cat#05121-25-500) 항체에 의해 예비-자극하였다. 3×10^6 키노몰구스 PBMC를 $20 \text{ ng}/\text{mL}$ 의 농도로 2일간 SEB(Toxin Tech, cat#BT202)에 의해 예비-자극하였다. 연속 희석된 니볼루맵 유사체(실시예 4에서 제조된 바와 같은) 및 21F12-1F6(서열번호 18의 돌연변이 IgG1 불변 영역을 가짐)를 각각 100,000 인간 PBMC 또는 100,000 키노몰구스 PBMC에 가하였다. 혼합물을 4°C 에서 30분간 배양하고, 이어서 세포를 PBS(Hyclone, cat#SH3025601) 완충제를 사용하여 2회 세척하였다. 세포를 4°C 에서 30분간 제조사의 설명에 따라 PE-표지된 염소 항-인간 IgG(Jackson Immuno Research, cat#109-116-098) 2차 시약과 함께 배양하고, 이어서 2회 세척하였다. 그 후에, 세포를 PBS 완충제에 재현탁시켰다. PD-1 결합의 분석을 BD Accuri C5 유식 세포계(BD Bioscience)로 수행하였다. 이들 항체에 대한 전형적인 결합 곡선 및 EC_{50} 값을 도 7A 및 7B에 나타내었다.
- [0226] 결과는 항-PD-1 항체, 21F12-1F6 및 니볼루맵 유사체 모두가 인간 및 키노몰구스 자극된 PBMC상에서 발현된 인간 PD-1에 특이적으로 결합할 수 있으며, 여기에서 항체 21F12-1F6는 니볼루맵 유사체에 비해 더 낮은 EC_{50} 값으로 원숭이 PD-1에 결합함을 나타내었다.
- [0227] 실시예 10 항-PD-1 항체는 IL-2 및 IFN γ 를 방출하도록 인간 T 세포를 유도하였다
- [0228] 항-PD-1 항체의 기능 활성을 SEB 자극 후에 인간 PBMC상에서 평가하였다.
- [0229] 인간 PBMC를 밀도 구배 원심분리에 의해 건강한 공여자의 말초 혈액으로부터 분리하였다. 헤파린 처리된 혈액을 2배 부피 PBS에 의해 희석하고, 희석된 혈액을 SepMate-50(Stemcell, cat#86450) 튜브에 층상화하였다. 1200 g에서 10분간 실온에서 원심분리 후에, 림프구 함유 분획을 수확하고 PBS로 세척하고, 10% DMSO(Sigma, cat#D2650) 및 90% FBS(Gibco, cat#10099141)로 구성된 동결 배지에 재현탁시키고, 이어서 액체 질소에서 보관하였다. 7.5×10^6 인간 PBMC를 SEB(Toxin Tech, cat#BT202)로 $20 \text{ ng}/\text{mL}$ 의 농도로 24시간 동안 자극하였다. 100,000개의 수득된 세포를 96-웰 플레이트의 각 웰 중에서 완전 RPMI 1640(Gibco, cat#22400089)에 도말하였다. 연속 희석된 니볼루맵 유사체(실시예 4에서 제조된 바와 같은), 21F12-1F6(서열번호 18의 돌연변이 IgG1 불변 영역을 가짐) 및 인간 IgG 대조용(Biolegend, Cat#QA16A15)을 각각 배지에 가하였다. SEB를 $20 \text{ ng}/\text{mL}$ 의 최종 농도로 가하고, 수득된 혼합물을 37°C 에서 2일 동안 배양하고, 배양 상등액을 수집하고 IL-2 및 IFN γ 수준을 인간 IL2 ELISA 키트(R&D, cat# DY202) 및 인간 IFN-감마 ELISA 키트(R&D, cat#DY285B)를 제조사의 설명에 따라 사용하여 ELISA에 의해 검출하였다.
- [0230] IL-2 수준을 도 8A에 도시하는 반면, IFN γ 수준을 도 8B에 도시하였다.
- [0231] 결과는 자극된 인간 PBMC가 니볼루맵 유사체 또는 IgG 대조용의 처리에 비해 21F12-1F6 처리에 의해 보다 높은 수준의 IL2 및 IFN γ 를 방출함을 나타내었다.
- [0232] 실시예 11 항-PD-1 항체는 주르캣-NFAT-PD1 리포트 유전자 발광을 유도하였다
- [0233] 항-PD-1 항체의 활성을 주르캣-NFAT-PD-1 리포트 유전자 분석시에 평가하였다.
- [0234] 주르캣-NFAT-PD1 효과기 세포를 CHO-PDL1/CD3 표적 세포와 공-배양했을 때, PD-1-PD-L1 상호작용에 대한 TCR-NFAT 매개된 발광이 억제되었다. 세포 혼합물에 항-PD-1 항체를 가한 후에, PD-1-PDL1 상호작용이 차단되었고 이어서 발광이 회복되었다.
- [0235] 중국 햄스터 난소 상피 CHO-K1 세포주(ATCC, cat# CCL-61)를 37°C 에서 5% CO_2 가 있는 가슴 배양기에서 10% FBS를 함유하는 F-12K 배지에서 유지시켰다. 인간 PD-L1(서열번호 67에 제시된 바와 같은 NP_054862.1의 아미노산) 및 OKT3-scFv(서열번호 68에 제시된 아미노산 서열)를 암호화하는 핵산 서열을 폴리에틸렌이민(MW25K, 23966-2, Polyscience)을 사용하여 CHO-K1 세포에 동시-형질감염시키고, 인간 PD-L1 및 OKT3-scFv를 안정하게 발현하는 클론을 제한 희석에 의해 수득하였다. 수득된 CHO-PDL1/CD3 표적 세포를 1일째에 96 웰 플레이트(30000 세포/웰)상에 도말하였다. 2일째에, 96웰 플레이트상의 배지(10% FBS를 함유하는 DMEM-F12)를 버리고, 이어서 연속 희석된 항-PD-1 항체 및 주르캣-NFAT-PD1 세포(주르캣 세포주(CBTCCAS, Clone E6-1)를 일렉트로포레이션에 의해, 서열번호 66의 인간 PD-1을 암호화하는 핵산 서열 및 pGL4.30[luc2P/NFAT-RE/Hygro](Promega, E848

A)과 동시-형질감염시킴으로써 제조됨, 인간 PD-1 및 NFAT를 안정하게 발현하는 클론을 제한 희석에 의해 수득하였다)(30000 세포/웰)를 플레이트에 가하였다. 플레이트를 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 6시간 동안 배양하였다. 이어서 60 μl의 One-Glo™ 시약(Promega Corporation Cat# E6130)을 분석 플레이트의 웰에 가하고 발광 플레이트 판독기(Tecan F200)를 사용하여 발광을 측정하였다. EC₅₀ 값을 계산하였으며, PD-L1 및 PD-1 상호작용 차단에 대한 전형적인 곡선을 도 9에 도시하였다.

[0236] 결과는 항-PD-1 항체 21F12-1F6(서열번호 18의 돌연변이 IgG1 불변 영역을 가짐) 및 니볼루맵 유사체가 인간 PD-1과 PD-L1간의 상호작용을 유사한 EC₅₀ 값으로 차단함을 나타내었다.

[0237] 실시예 12 FcγRI 결합

[0238] L234A, L235A, D265A 및 P329A 돌연변이를 갖는 돌연변이 IgG1 불변 영역 또는 IgG4 불변 영역을, FcγR-Fc 상호작용을 제거하기 위해 항체 21F12-1F6의 중쇄 불변 영역으로서 사용하였다. ELISA 분석을, 수득된 항체의 인간 FcγRI에 대한 상대적인 결합 활성의 측정에 사용하였다.

[0239] 인간 FcγRI(Acrobiosystems, Cat# FCA-H52H2)를 4℃에서 밤새 배양에 의해 96-웰 플레이트상에 고정화시켰다. 이어서 플레이트를 37℃, 200 μl/웰에서 1시간 동안 PBS 중의 1% BSA와의 배양에 의해 차단하였다. 차단 후에, 플레이트를 PBST(0.05% 트윈20을 함유하는 PBS)로 3회 세척하였다. 연속 희석된 리툽시맵 유사체(양성 대조용으로서 사용됨, US5736137에 따라 제조됨, 서열번호 69 및 70에 제시된 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 가짐), 돌연변이 IgG1 불변 영역을 갖는 21F12-1F6 및 IgG4 불변 영역을 갖는 21F12-1F6를 결합 완충제(0.05% 트윈20 및 0.5% BSA를 함유하는 PBS) 중에서 제조하고 37℃에서 1시간 동안 고정화된 단백질과 배양하였다. 결합 후에, 플레이트를 PBST로 3회 세척하고, 37℃에서 1시간 동안, 결합 완충제 중에서 1/10,000 희석된 페록시다제-표지된 염소 항-인간 F(ab')₂ 항체(Jackson Immuno Research, Cat# 109-035-097)와 배양하고, 다시 세척하고, TMB(ThermoFisher Cat#34028)로 15분간 전개시키고, 이어서 1M H₂SO₄로 정지시켰다. 각각의 플레이트 웰은, 달리 나타내지 않는 한, 각 단계에서 50 μl의 용액을 함유하였다.

[0240] 450 nm 내지 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. FcγRI-항체 결합에 대한 EC₅₀ 및 전형적인 결합 곡선을 도 10에 도시하였다.

[0241] 결과는 IgG4 중쇄 불변 영역 또는 돌연변이 IgG1 중쇄 불변 영역을 갖는 21F12-1F6이 야생형 IgG1 중쇄 불변 영역을 갖는 리툽시맵 유사체와 비교하여 인간 FcγRI에 매우 약하게 결합함을 나타내었다.

[0242] 실시예 13 항-PD-1 항체는 항체-의존적인 세포-매개된 세포독성(ADCC)을 유도하지 않았다

[0243] 항체-의존적인 세포-매개된 세포독성(ADCC) 분석을 주르캣-PD1 세포상에서 수행하였다. 주르캣-PD1 세포를 일렉트로포레이션에 의해, 인간 PD-1을 암호화하는 핵산 서열(서열번호 66에 제시된 아미노산)로 주르캣 세포주(CBTCCAS, 클론 E6-1)를 형질감염시킴으로써 제조하였다. 인간 PD-1을 안정하게 발현하는 클론을 제한 희석에 의해 수득하였다.

[0244] 주르캣-PD1 세포를 웰당 10,000 세포의 밀도로 시딩하고 분석 완충제(무 페놀 레드 MEM 배지+1% FBS) 중의 100 nM 또는 10 nM 항-PD-1 항체(돌연변이 IgG1 불변 영역 또는 IgG4 불변 영역을 가짐)와 30분간 예비-배양하였다. 건강한 공여자로부터의 PBMC 효과기 세포를 10:1, 25:1 또는 50:1의 E/T 비로 가하여 ADCC 효과를 개시시켰다. Daudi(CBTCCAS, cat# TCHu140)상의 리툽시맵 유사체(실시예 13에서 제조된 바와 같은)의 ADCC 효과를 내부 대조용으로서 사용하여 분석 품질을 보장하였다. 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양 후에, 세포 상등액을 세포독성 LDH 분석 키트(Dojindo, Cat# CK12)를 사용하여 방출된 LDH 측정을 위해 채집하였다. OD_{490nm}에서의 흡광도를 F50(Tecan) 상에서 판독하였다. 세포 용해의 백분율을 하기 식에 따라 계산하였다:

[0245] % 세포 용해 = 100 X (OD_{샘플} - OD_{표적 세포} + 효과기 세포) / (OD_{최대 방출} - OD_{최소 방출}).

[0246] 데이터를 Graphpad Prism에 의해 분석하였다.

[0247] 데이터는 돌연변이 IgG1 불변 영역을 갖는 항-PD-1 항체 21F12-1F6도, IgG4 불변 영역을 갖는 21F12-1F6도 주르캣-PD1 세포에 대해 ADCC 활성을 갖지 않음을 나타내었다.

[0248] 실시예 14 항-PD-1 항체는 보체-의존적인 세포독성(CDC)을 유도하지 않았다

[0249] 주르캣-PD1 세포상의 보체-의존적인 세포독성(CDC). 주르캣-PD1 세포를 웰당 5,000 세포의 밀도로 시딩하고 분

석 완충제(무 페놀 레드 MEM 배지+1% FBS) 중의 100 nM 또는 10 nM 항체와 30분간 예비-배양하였다. 이어서 건강한 공여자로부터의 혈장을 10 부피%, 20 부피% 및 50 부피%의 농도로 플레이트에 가하여 CDC 효과를 개시시켰다. 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 4시간 동안 배양 후에, 세포에 Cell-Titer Glo 시약(Promega, Cat# G7572)을 가지고 RLU 데이터를 F50(Tecan) 상에서 관독하였다. 세포 용해의 백분율을 하기 식에 따라 계산하였다:

$$\% \text{ 세포 용해} = 100 \times (1 - (\text{RLU}_{\text{샘플}}) / (\text{RLU}_{\text{세포}} + \text{NHP}))$$

여기에서 NHP는 정상 인간 혈장을 나타낸다.

데이터는 돌연변이 IgG1 불변 영역을 갖는 항-PD-1 항체 21F12-1F6도, IgG4 불변 영역을 갖는 21F12-1F6도 주르캣-PD1 세포에 대해 CDC 활성을 갖지 않음을 나타내었다.

실시예 15 항-PD-1 항체는 생체내 항-종양 효과를 가졌다

항-PD-1 항체의 생체내 효능을 결장 암종을 갖는 hPD-1 KI 마우스에서 연구하였다.

본 명세서의 실험을 위해서, 인간 PD-1의 세포외 부분을 발현하는 인간화된 마우스 C57BL/6J-Pdcd1^{em1(PDCD1)Smoc}를 Shanghai Model Organisms Center, Inc로부터 구입하였다.

MC38 쥐 결장 암종 세포주를 Obio Technology (Shanghai) Corp., Ltd.로부터 구입하였다. MC38 세포를 레트로바이러스 형질도입을 사용하여 오보알부민(OVA)을 암호화하는 핵산 서열(서열번호 71에 제시된 바와 같은 AAB59956의 아미노산)로 형질도입시켰다. 세포를 제한 희석에 의해 후속적으로 클로닝하였다. OVA 단백질을 고도로 발현하는 클론을 ELISA 키트(cloud clone corp, CEB459Ge)를 사용하여 선택하였다. MC38-OVA 클론을 4 µg/ml 푸로마이신(Gibco, A11138-03)과 함께 10% 소 태아 혈청이 있는 완전 배지에서 유지시켰다.

C57BL/6J-Pdcd1^{em1(PDCD1)Smoc} 마우스에게 1x10⁶ MC38-OVA 세포를 피하 이식하고, 평균 종양 부피가 대략 80 mm³ (LxW²/2)에 도달한 0일째에 3개의 그룹(각각의 그룹에서 N=7)으로 무작위 분류하였다. 0, 3, 7, 10, 및 14일째에, 마우스에게 각각 21F12-1F6(돌연변이 IgG1 불변 영역을 가짐, 10 mg/kg), 니블루맵 유사체(실시예 4에서 제조된 바와 같은, 10 mg/kg), 및 PBS를 복강내 투여하였다. 종양 부피를 실험 동안 주당 2회 캘리퍼스 측정에 의해 모니터링하였다.

항-PD-1 항체 21F12-1F6 및 니블루맵 유사체의 처리는 PBS 그룹에 비해 유의수준의 종양 성장 억제를 생성시켰으며, 21F12-1F6 그룹은 하기 표 3에 나타난 바와 같이 니블루맵 유사체 그룹에 비해 더 높은 TGI 비율을 나타내었다(89.95% 대 76.71%).

[표 3] MC38-OVA 종양 성장 억제

표 3

그룹	용량	동물 수	종양 부피(mm ³) ^a (14일째에)	TGI (%) ^b	P ^c
PBS	/	7	722.01±82.28	/	/
니블루맵 유사체	10 mg/kg	7	163.60±54.66	76.71%	<0.001
21F12-1F6	10 mg/kg	7	73.73±20.55	89.95%	<0.001

^a종양 부피 데이터를 평균±SEM으로서 나타내었다;

^bTGI = (1 - 투여 그룹에서 종양 부피 변화/대조용 그룹에서 종양 부피 변화) x 100%

^cPBS 그룹과 비교된, 2-원 ANOVA 수행에 이어서 Tukey의 다중 비교 검정 수행됨.

[0264] 본 출원의 서열을 하기에 요약한다.

설명/ 서열/서열번호 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, 및 21F12-3G1에 대한 VH-CDR1 SYIYH(서열번호:1) AGCTACTACATCCAC(서열번호:40) 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, 및 21F12-3G1에 대한 VH-CDR2 VINPSGGSTTYAQKFQG(서열번호:2) GTGATTAAACCCCTCCGGCGGCTCCACCACCTATGCTCAGAAAGTTCAGGGC(서열번호:41) 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6에 대한 VH-CDR3 GSYSSGWDYYYYYGMDV(서열번호:3) GGCTCTCTCTCCCGCTGGGATTACTACTATTACTACGGCATGGACGTG(서열번호:42) 21F12-3G1에 대한 VH-CDR3 GSYNSGWDYYYYYGMDV(서열번호:4) GGCTCTCTACAACCTCCGGCTGGGATTACTACTATTACTACGGCATGGACGTG(서열번호:43) 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, 및 21F12-3G1에 대한 VL-CDR1 RSSQSLHSQGYNYLD(서열번호:5) CGCTCCAGCCAGTCCCTGCTGCACAGCCAGGGCTACAATTATCTGGAT(서열번호:53) 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, 및 21F12-3G1에 대한 VL-CDR2 LGSNRAS(서열번호:6) CTGGGCTCTAACAGGGCCTCC(서열번호:54) 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, 및 21F12-3G1에 대한 VL-CDR3 MQALQIPWT(서열번호:7) ATGCAGGCTCTGCAGACCCCATGGACA(서열번호:55) 21F12에 대한 VH QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYIFTSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQG RVTMTTRDTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLTVTVSS (서열번호:8) CAGATGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCTTCCGTGAAGCTGTCCT GTAAGGCCCTCCGGCTACATCTTACCAGCTACTACATCCACTGGGTGAGGCAGGCTCCCGACAG GGACTGGAATGGGTGGGCGTGATTAACCCCTCCGGCGGCTCCACCACCTATGCTCAGAAGTTCCA GGGCAGGGTGACCATGACAGGGACACCTCCATCTCCACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTG AGGTCCGACGACACCGTGGTGTACTACTGCGCTAGGGGCTCCTACTCCTCCGGCTGGGATTACTA CTATTACTACGGCATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCCGTGTGACCGTGAGCTCC(서열번호:44) 21F12-1B12에 대한 VH QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYPFQSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQG RVTMTTRDTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLTVTVSS (서열번호:9) CAGATGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCTTCCGTGAAGCTGTCCT GTAAGGCCCTCCGGCTACCCCTTCAGAGCTACTACATCCACTGGGTGAGGCAGGCTCCCGACAG GGACTGGAATGGGTGGGCGTGATTAACCCCTCCGGCGGCTCCACCACCTATGCTCAGAAGTTCCA GGGCAGGGTGACCATGACAGGGACACCTCCATCTCCACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTG AGGTCCGACGACACCGTGGTGTACTACTGCGCTAGGGGCTCCTACTCCTCCGGCTGGGATTACTA CTATTACTACGGCATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCCGTGTGACCGTGAGCTCC(서열번호:45) 21F12-1E11에 대한 VH QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYFFQSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQG
--

[0265]

RVTMTRDTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLVTVSS (서열번호: 10) CAGATGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCTTCCGTGAAGCTGTCCT GTAAGGCCCTCCGGCTACTTCTTCCAGAGCTACTACATCCACTGGGTGAGGCAGGCTCCCGGACAG GGACTGGAATGGGTGGGCGTGATTAACCCCTCCGGCGGCCTCCACCACCTATGCTCAGAAGTTCCA GGGCAGGGTGACCATGACCAGGGACACCTCCATCTCCACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGGCTG AGGTCCGACGACACCGTGGTGACTACTGCGCTAGGGGCTCCTACTCCTCCGGCTGGGATTACTA CTATTACTACGGCATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCTCC(서열번호: 46)
21F12-2E1에 대한 VH QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASEYIFQSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQ RVTMTRDTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLVTVSS (서열번호: 11) CAGATGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCTTCCGTGAAGCTGTCCT GTAAGGCCCTCCGAGTACATCTTCCAGAGCTACTACATCCACTGGGTGAGGCAGGCTCCCGGACAG GGACTGGAATGGGTGGGCGTGATTAACCCCTCCGGCGGCCTCCACCACCTATGCTCAGAAGTTCCA GGGCAGGGTGACCATGACCAGGGACACCTCCATCTCCACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGGCTG AGGTCCGACGACACCGTGGTGACTACTGCGCTAGGGGCTCCTACTCCTCCGGCTGGGATTACTA CTATTACTACGGCATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCTCC(서열번호: 47)
21F12-2H7에 대한 VH QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASQYIFQSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQ RVTMTRDTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLVTVSS (서열번호: 12) CAGATGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCTTCCGTGAAGCTGTCCT GTAAGGCCCTCCGAGTACATCTTCCAGAGCTACTACATCCACTGGGTGAGGCAGGCTCCCGGACAG GGACTGGAATGGGTGGGCGTGATTAACCCCTCCGGCGGCCTCCACCACCTATGCTCAGAAGTTCCA GGGCAGGGTGACCATGACCAGGGACACCTCCATCTCCACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGGCTG AGGTCCGACGACACCGTGGTGACTACTGCGCTAGGGGCTCCTACTCCTCCGGCTGGGATTACTA CTATTACTACGGCATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCTCC(서열번호: 48)
21F12-1C4에 대한 VH QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASDYIFQSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQ RVTMTRDTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLVTVSS(서열번 호: 13) CAGATGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCTTCCGTGAAGCTGTCCT GTAAGGCCCTCCGACTACATCTTCCAGAGCTACTACATCCACTGGGTGAGGCAGGCTCCCGGACAG GGACTGGAATGGGTGGGCGTGATTAACCCCTCCGGCGGCCTCCACCACCTATGCTCAGAAGTTCCA GGGCAGGGTGACCATGACCAGGGACACCTCCATCTCCACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGGCTG AGGTCCGACGACACCGTGGTGACTACTGCGCTAGGGGCTCCTACTCCTCCGGCTGGGATTACTA CTATTACTACGGCATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCTCC(서열번호: 49)
21F12-1E10에 대한 VH QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYPFTSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQ RVTMTRDTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLVTVSS (서열번호: 14) CAGATGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCTTCCGTGAAGCTGTCCT GTAAGGCCCTCCGGCTACCTTTCACAGCTACTACATCCACTGGGTGAGGCAGGCTCCCGGACAG GGACTGGAATGGGTGGGCGTGATTAACCCCTCCGGCGGCCTCCACCACCTATGCTCAGAAGTTCCA GGGCAGGGTGACCATGACCAGGGACACCTCCATCTCCACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGGCTG AGGTCCGACGACACCGTGGTGACTACTGCGCTAGGGGCTCCTACTCCTCCGGCTGGGATTACTA CTATTACTACGGCATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCTCC(서열번호: 50)
21F12-1F6에 대한 VH QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYIFQSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQ RVTMTRDTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLVTVSS(서열번 호: 15) CAGATGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCTTCCGTGAAGCTGTCCT GTAAGGCCCTCCGGCTACATCTTCCAGAGCTACTACATCCACTGGGTGAGGCAGGCTCCCGGACAG

[0266]

[0267]

GCTAGCACAAAGGGACCTTCGGTGTCCCACTGGCCCCGTCCTCAGAAGCACATCTGAGTCCAC CGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCTGAGCCAGTGACCGTGTCTGGAACAGCG GCGCCCTGACATCCGGAGTGACACCTTTCCCGCCGTGCTCCAGTCCAGCGGACGTACAGCCTG TCTTCCGTGGTGACAGTGCCAGCTCTTCCCTGGGCACCAAGACATATACCTGCAACGTGGACCA TAAGCCTAGCAATACCAAGGTGGATAAGAGGGTGGAGTCTAAGTACGGACACCTTGCCACCA TGTCAGCTCTCTGAGTTTCTGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCTCCAAAGCCTAAGGACACC CTGATGATCTCTCGGACACCTGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCAGGAGGAGCCCCGA GGTGCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGC CAAGAGAG GAGCAGTTTAAATAGCACATACCGCGTGGTGTCTGTGCTGACCGTGTGTCATCAGGATTGGCTGAA CGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCCAGCTCTATCGAAGAAGACAATC TCTAAGGCTAAGGGACAGCCTCGCGAGCCACAGGTGTACACCTGCCCCCTTCCAGGAGGAGA TGACAAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTGACATCGCTGTG GAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACCAATTACAAGACCACACCCCGTGTGGACTCTG ATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCAGGCTGACAGTGGATAAGAGCCGTTGGCAGGAGGGCAACGTG TTAGCTGCTCTGTGATGCACGAGGCTCTGCACAATCATTATACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGTCT CTGGGCAAGTAA(서열번호: 58)
21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, 및 21F12-3G1 에 대한 CL RTVAAPSVFIFPPSDQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSL SSLTLLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(서열번호: 20) CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC GCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTACCCAGAGAAAGC CAAAGTGCAGTGAAGGTGGA CAACGCCCTGCAGAGCGGAAACAGCCAGGAAAGCGTGACAGAGCAGGATTCCAAGGATTCCACA TACAGCTGAGCAGCACACTGACACTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCT GCGAAGTGACACACAGGAGCTGTCTCTCCCTGTGACAAAGAGCTTCAACAGAGGAGAAATGCTG A(서열번호: 59)
21F12 에 대한 중쇄 QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYIFTSYIHWVRQAPGQGLEWVGVNPSGGSTTYAQKFQ RVTMTRDTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호: 21) QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYIFTSYIHWVRQAPGQGLEWVGVNPSGGSTTYAQKFQ RVTMTRDTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLVTVSSASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK(서열번호: 22)
21F12-1B12 에 대한 중쇄 QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYPFQSYIHWVRQAPGQGLEWVGVNPSGGSTTYAQKFQ RVTMTRDTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호: 23) QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYPFQSYIHWVRQAPGQGLEWVGVNPSGGSTTYAQKFQ RVTMTRDTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLVTVSSASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV

[0268]

LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSGK(서열번호: 24)
21F12-1E11 에 대한 종책 QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYFFQSYIHWVRQAPGGGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRIRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYIIYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호: 25) QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYFFQSYIHWVRQAPGGGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRIRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYIIYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSGK(서열번호: 26)
21F12-2E1 에 대한 종책 QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASEYIFQSYIHWVRQAPGGGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRIRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYIIYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호: 27) QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASEYIFQSYIHWVRQAPGGGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRIRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYIIYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSGK(서열번호: 28)
21F12-2H7 에 대한 종책 QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASQYIFQSYIHWVRQAPGGGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRIRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYIIYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호: 29) QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASQYIFQSYIHWVRQAPGGGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRIRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYIIYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSGK(서열번호: 30)
21F12-1C4 에 대한 종책 QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASDYIFTSYIHWVRQAPGGGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRIRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYIIYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호: 31) QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASDYIFTSYIHWVRQAPGGGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRIRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYIIYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호: 32)

[0269]

RVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMITKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTIPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK(서열번호: 32) 21F12-1E10 에 대한 종책 QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYPFTSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQG RVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVV CVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL NKALAAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTIPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK(서열번호: 33) QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYPFTSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQG RVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMITKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTIPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK(서열번호: 34) 21F12-1F6에 대한 종책 QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYIFQSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQG RVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVV CVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL NKALAAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTIPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK(서열번호: 35) QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYIFQSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQG RVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTVVYYCARGSYSSGWDYYYYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMITKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTIPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK(서열번호: 36) 21F12-3G1 에 대한 종책 QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYIFTSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQG RVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTVVYYCARGSYNSGWDYYYYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVV CVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL NKALAAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTIPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK(서열번호: 37) QMQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYIFTSYIHWVRQAPGQGLEWVGVINPSGGSTTYAQKFQG RVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTVVYYCARGSYNSGWDYYYYYGMDVWGKGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMITKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTIPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK(서열번호: 38) 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, 및 21F12-3G1 에 대한 경책 DVVMITQSLSLPVTGPASISCRSSQSLHSQGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSRAGVDPDRFSG SGSGTDFILKISRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
--

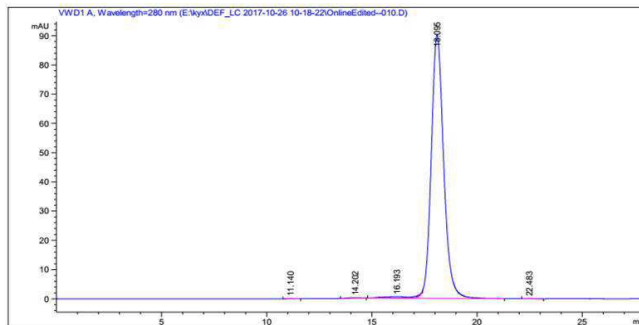
[0270]

VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 39)
링커 GGGSGGGSGGGSGGGS (서열번호: 60)
인간 IgG 대조용에 대한 중쇄 QVQLQESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMSSVVRQAPGKGLEWVSGINWSSGGSTYYADSVKGRSTISRDNSENKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCATGGYWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDILMISRTPETVCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKITTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVPFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 61)
인간 IgG 대조용에 대한 경쇄 DIRLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDSATYYCCQSYSTPTTFGQGTCLTVLGRITVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 62)
니콜루랍 유사체에 대한 중쇄 QVQLVESGGGVVQPGSRRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVITWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSENKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCATNDYWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDILMISRTPETVCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKITTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVPFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 63)
니콜루랍 유사체에 대한 경쇄 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAITGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 64)
인간 PD-L1-마우스 Fc-태그 Mnifavfifrtwyhllnftvtpkldyveysnmtieckfjvckqldlaalivwemedkniiqfvhgeedkvqhsyqrarllkdqslgnaalqitdvklqdagvyrnmisyygga dyknitvknpyrknqnlvdpvtsehelctqaegypkaevitwssdhqvlsgktttnskreklfrvtsthrnttneif yctfnldpeerhtaelpelplahppnerVPRDCGCKPCICITVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTCTVVVDISKDDPEVQFSWFVDVDEHTAQTPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEYKCKRVNSAFAPIEKTIKTKGRPKAPQVYITPPPKQMAKDKVSLTCMITDFFPEDI TVEWQWNGQPAENYKNTQPMIDTGSYFVYSKLVNQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTKSLSHSPGK (서열번호: 65)
인간 PD-1 Mqipqapwvwwavlqlgwrp gvfldspdpwrppftfpallvvtgednatfcsfnrtsefvlwvymspnqtldklaafpedrsqpgqdcrrfvtqlpnrgrdfmrvnamds gylcgaialpkaqkesha elrvtenaevptahpspsppa gqfqlvvgv gglsgvlvllvwlavicsraargtigant gqplkedpsavp vfvldygdldfvrktpeppvpcvp eqteyativ fpgmgntsspangsad gprsaqlrpedghcswpl (서열번호: 66)
인간 PD-L1 Mnifavfifrtwyhllnftvtpkldyveysnmtieckfjvckqldlaalivwemedkniiqfvhgeedkvqhsyqrarllkdqslgnaalqitdvklqdagvyrnmisyygga dyknitvknpyrknqnlvdpvtsehelctqaegypkaevitwssdhqvlsgktttnskreklfrvtsthrnttneif yctfnldpeerhtaelpelplahppnerhtilgaillclgvaltfnfihkgmmmdvkkcgidnkskqs dthleet (서열번호: 67)
OKT3-scFv MERHWIFILLLL SVTAGVHSQVQLQQSGAELARPGASVKMCKASGYTFIRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGTNYNQKFKDKATLTIDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLVSSGGGGSGGGSGGGGSGQIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNVYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLTISGMEAEADAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINSSVVPVLQKVNSTTTKPVLRTPSPVHTGTSGQPQRPEDCRPRGSVKGTLGFACDIYIWAPLAGICVALLSLIITLI CYHRSRKRVKCKPRPLVRQEGKPRPSEKIV (서열번호: 68)
리톡시랍 유사체에 대한 중쇄 QVQLQQPGAEIVKPGASVKMCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFK

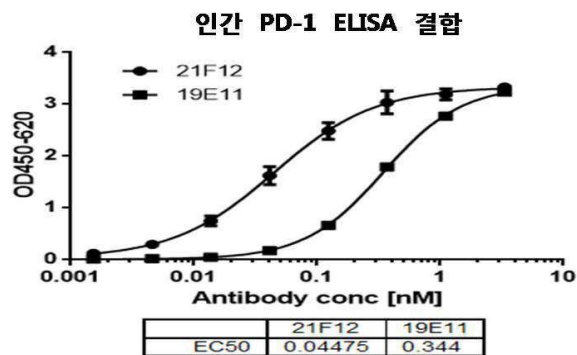
GKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNWVWAGITVTVSAASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDILMISRTPETVCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKITTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVPFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 69)
리톡시랍 유사체에 대한 경쇄 QIVLSQSPAILASAPGEKVTMTCRASSSVSYIHWVFQKPGSSPKPWIIYATSNLASGVPRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEADAATYYCQQWTSNPPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 70)
오브알부민 Mgsigaamefcfdvfkellvhanenifypiaimsalamvylgakdstrtqinkvvrfdklpgfgdsieaqcgtssrvhssrldlnqitkpnvysfslasriya eerypilylqcvkelyrgglepfnfqtadqarelinsw esqtnqimvlqpsvdsqtamvhnafk glwefakfkdeditqampfvteqeskpvmqmyqiglfirvasma sekmlkilelpfasgmsmhllp devsgleqle sinfektewtsrvme ekikvypmkmeekynltsvmamgitdv fsssanlsgissaesllsqavhaahaeinaagrevvgsaagvdaasvseffadhpffakhiatnavffigrcvsp (서열번호: 71)

도면

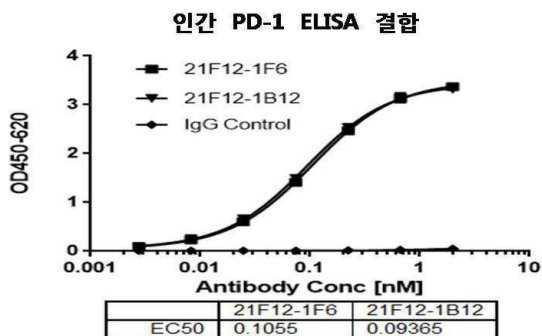
도면1



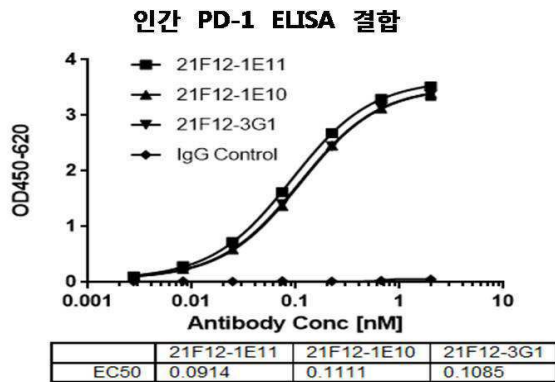
도면2a



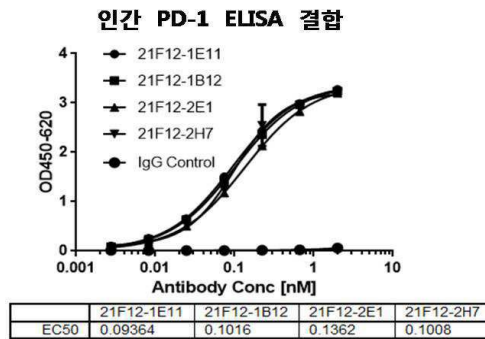
도면2b



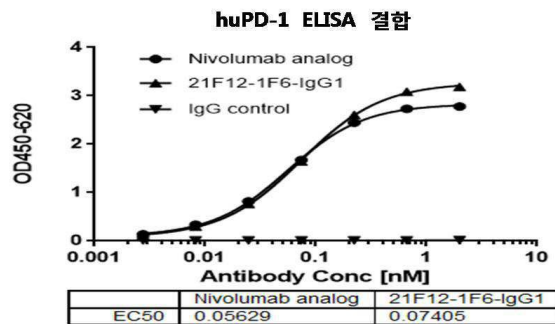
도면2c



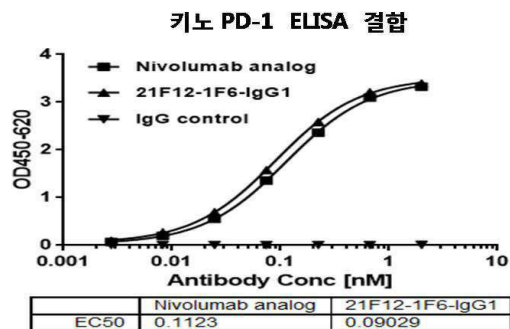
도면2d



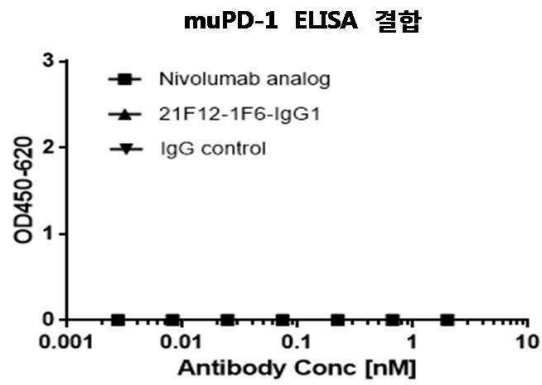
도면3a



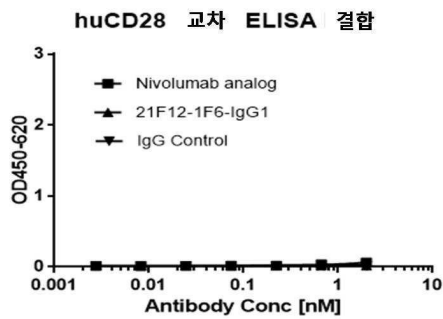
도면3b



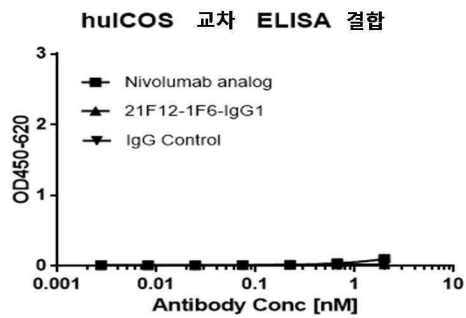
도면3c



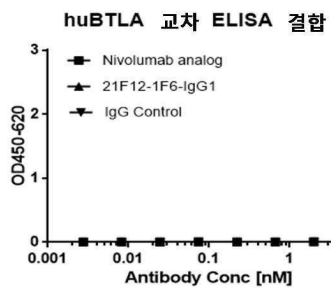
도면4a



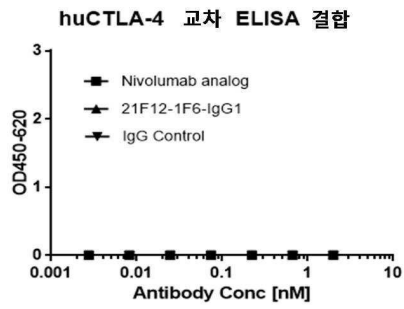
도면4b



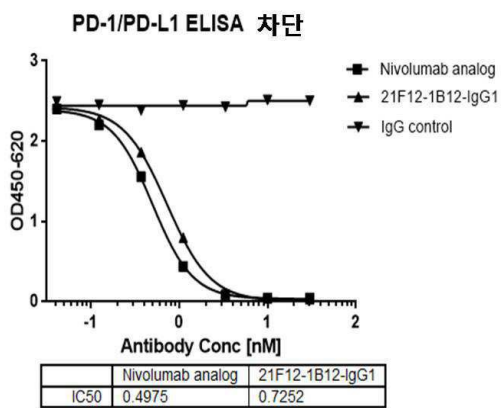
도면4c



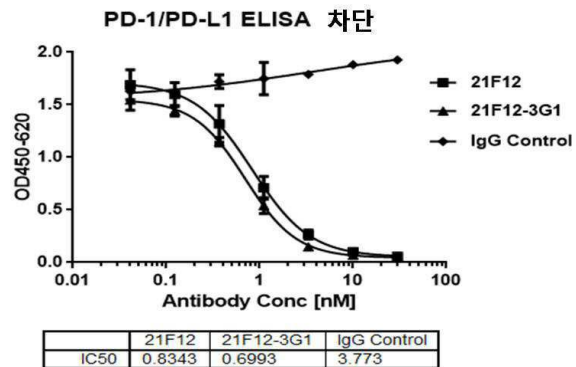
도면4d



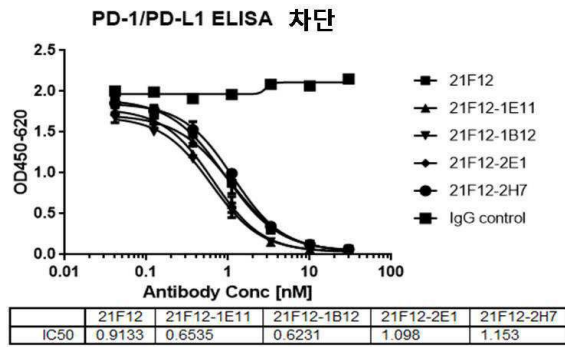
도면5a



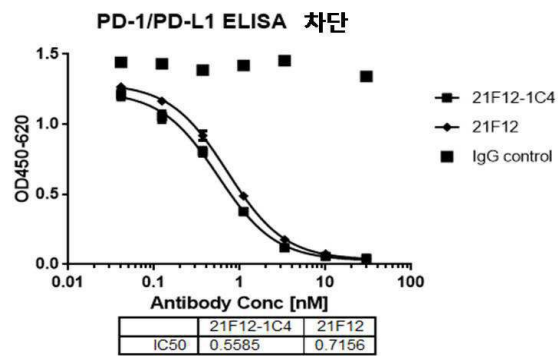
도면5b



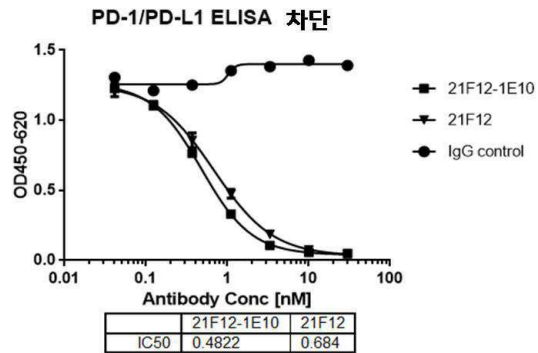
도면5c



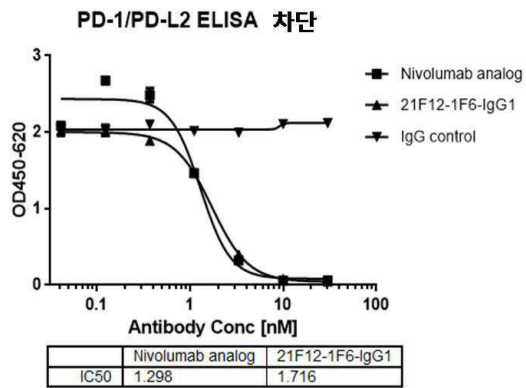
도면5d



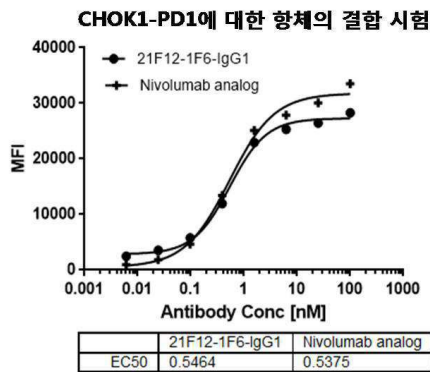
도면5e



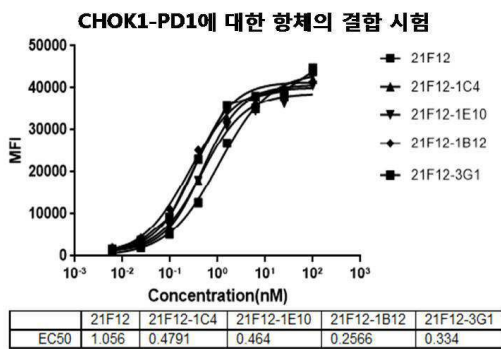
도면5f



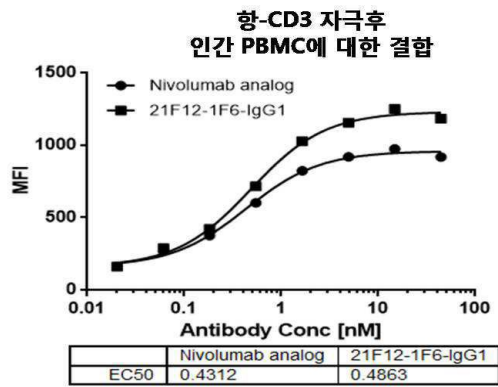
도면6a



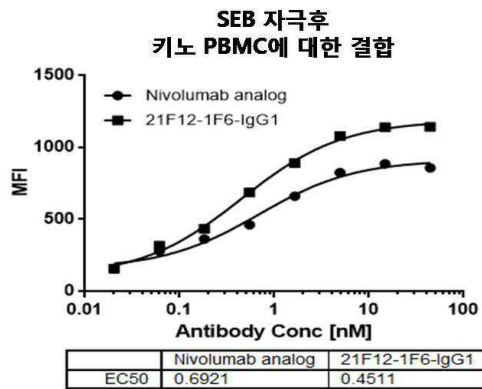
도면6b



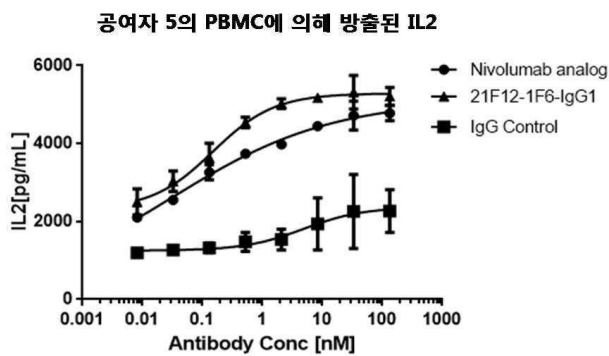
도면7a



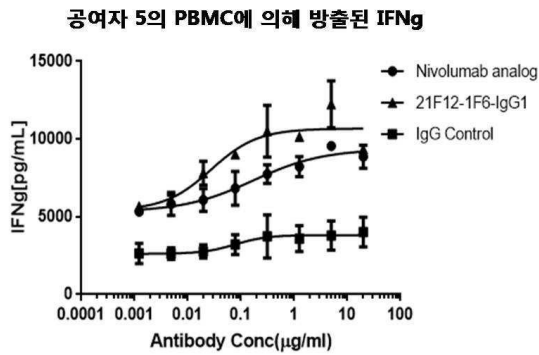
도면7b



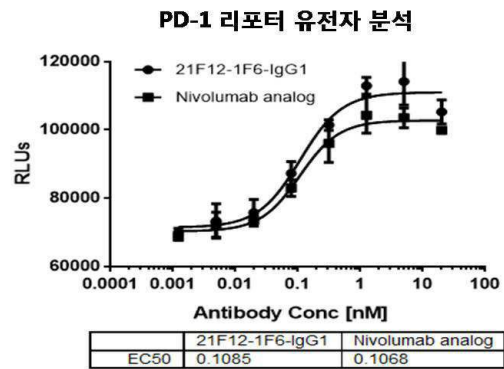
도면8a



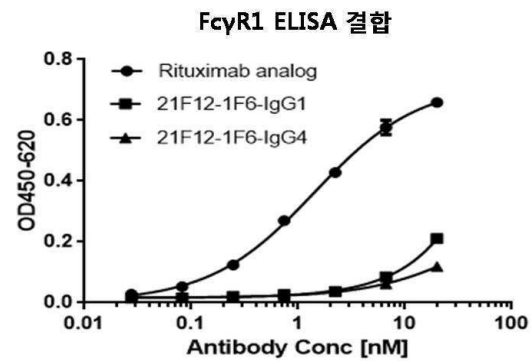
도면8b



도면9



도면10



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Nanjing Leads Biolabs Co., Ltd

<120> ANTIBODY BINDING PD-1 AND USE THEREOF

<130> 55534 00009

<150> US62/672,602

<151> 2018-05-17

<160> 71

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-CDR1 for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,
21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 1

Ser Tyr Tyr Ile His

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> VH-CDR2 for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,
21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 2

Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-CDR3 for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,
21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6

<400> 3

Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-CDR3 for 21F12-3G1

<400> 4

Gly Ser Tyr Asn Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 5

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-CDR1 for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,

21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 5

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Gln Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp

1 5 10 15

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-CDR2 for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,

21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 6

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser

1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><223> VL-CDR3 for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,

21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 7

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 8

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12

<400> 8

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 9

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-1B12

<400> 9

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Gln Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 10

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-1E11

<400> 10

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Phe Phe Gln Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 11

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-2E1

<400> 11

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Glu Tyr Ile Phe Gln Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 12

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-2H7

<400> 12

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Phe Gln Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 13

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-1C4

<400> 13

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 14

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-1E10

<400> 14

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

35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 15

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-1F6

<400> 15

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Gln Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 16

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-3G1

<400> 16

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Gly Ser Tyr Asn Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 17

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,
21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 17

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Gln Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 18

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> mutant IgG1 CH for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1,

21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 18

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 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 Ala 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 Ala 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> 19
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> IgG4 CH for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,
 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1
 <400> 19
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 20

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

$\langle 220 \rangle \langle 223 \rangle$ CL for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,

21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

 $\langle 400 \rangle$ 20

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 21

<211> 456

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for 21F12

<400> 21

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
130 135 140

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
195 200 205

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
210 215 220

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
225 230 235 240

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
245 250 255

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

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

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
325 330 335
Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
340 345 350
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
355 360 365
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380

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

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 22

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for 21F12

<400> 22

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

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

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

 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140
 Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

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

 225 230 235 240
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 260 265 270
 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 275 280 285
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 290 295 300
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 305 310 315 320
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 325 330 335
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 340 345 350
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 355 360 365
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 370 375 380
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 385 390 395 400
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 405 410 415
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445
 Leu Ser Leu Gly Lys
 450
 <210> 23
 <211> 456
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Heavy chain for 21F12-1B12
 <400> 23

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Gln Ser Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110
Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
130 135 140
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145 150 155 160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
195 200 205
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
210 215 220
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
225 230 235 240
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

245 250 255
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
260 265 270
Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

275 280 285
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
290 295 300
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
305 310 315 320
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
325 330 335
Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

340 345 350
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
355 360 365
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
385 390 395 400
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

405 410 415
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
420 425 430
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
435 440 445
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 24

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for 21F12-1B12

<400

> 24

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110
Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

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

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
195 200 205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
210 215 220
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
325 330 335

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

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

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Gly Lys
450

<210> 25

<211> 456

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for 21F12-1E11

<400> 25

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Phe Phe Gln Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

225 230 235 240

 Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 245 250 255
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 260 265 270
 Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 275 280 285
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 290 295 300

 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 305 310 315 320
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 325 330 335
 Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 340 345 350
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 355 360 365

 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 370 375 380
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 385 390 395 400
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 405 410 415
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 420 425 430

 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 435 440 445
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455
 <210> 26
 <211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for 21F12-1E11

<400> 26

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Phe Phe Gln Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

115 120 125

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

130 135 140

Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

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

 275 280 285
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 290 295 300
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 305 310 315 320
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 325 330 335
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

 340 345 350
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 355 360 365
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 370 375 380
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 385 390 395 400
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu

 405 410 415
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445
 Leu Ser Leu Gly Lys
 450
 <210> 27

<211> 456

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for 21F12-2E1

<400> 27

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

1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Glu Tyr Ile Phe Gln Ser Tyr

20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110
Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

115 120 125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr

130 135 140
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro

145 150 155 160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

165 170 175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

180 185 190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile

195 200 205

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
 210 215 220
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 225 230 235 240
 Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 245 250 255
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 260 265 270
 Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 275 280 285
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 290 295 300
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 305 310 315 320
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 325 330 335
 Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 340 345 350
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 355 360 365
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 370 375 380
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 385 390 395 400
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 405 410 415
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 420 425 430
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 435 440 445
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450

455

<210> 28

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for 21F12-2E1

<400> 28

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Glu Tyr Ile Phe Gln Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

115 120 125

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

130 135 140

Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
 195 200 205
 Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
 210 215 220
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
 225 230 235 240

 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 245 250 255
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 260 265 270
 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 275 280 285
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 290 295 300

 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 305 310 315 320
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 325 330 335
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 340 345 350
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 355 360 365

 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 370 375 380
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 385 390 395 400
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 405 410 415
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430

 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

435 440 445
 Leu Ser Leu Gly Lys
 450
 <210> 29
 <211> 456
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Heavy chain for 21F12-2H7
 <400> 29
 Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Phe Gln Ser Tyr
 20 25 30

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

 Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 130 135 140
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160

 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

180	185	190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile		
195	200	205
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val		
210	215	220
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala		
225	230	235
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro		
245	250	255
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val		
260	265	270
Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val		
275	280	285
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
290	295	300
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		
305	310	315
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala		
325	330	335
Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro		
340	345	350
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr		
355	360	365
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser		
370	375	380
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		
385	390	395
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr		
405	410	415
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe		
420	425	430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 30
<211> 453
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Heavy chain for 21F12-2H7
<400> 30

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

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

65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110
Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr

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

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
195 200 205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
210 215 220
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
225 230 235 240
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
290 295 300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
325 330 335
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
405 410 415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445
 Leu Ser Leu Gly Lys
 450
 <210
 > 31
 <211> 456
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Heavy chain for 21F12-1C4
 <400> 31
 Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

 Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 130 135 140
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

165	170	175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser		
180	185	190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile		
195	200	205
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val		
210	215	220
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala		
225	230	235
		240
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro		
245	250	255
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val		
260	265	270
Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val		
275	280	285
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
290	295	300
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		
305	310	315
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala		
325	330	335
Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro		
340	345	350
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr		
355	360	365
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser		
370	375	380
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		
385	390	395
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr		
405	410	415

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 32
<211> 453
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Heavy chain for 21F12-1C4
<400> 32

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
130 135 140

Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro

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

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

 275 280 285
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 290 295 300
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 305 310 315 320
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 325 330 335
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

 340 345 350
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 355 360 365
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 370 375 380
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 385 390 395 400

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

405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

435 440 445

Leu Ser Leu Gly Lys

450

<210> 33

<211> 456

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for 21F12-1E10

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

115 120 125

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

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

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

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

 325 330 335
 Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 340 345 350
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 355 360 365
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 370 375 380

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

385 390 395 400

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

405 410 415

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

420 425 430

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

435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 34

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for 21F12-1E10

<400> 34

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

115	120	125	
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr			
130	135	140	
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro			
145	150	155	160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val			
165	170	175	
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser			
180	185	190	
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr			
195	200	205	
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val			
210	215	220	
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe			
225	230	235	240
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr			
245	250	255	
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val			
260	265	270	
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val			
275	280	285	
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser			
290	295	300	
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu			
305	310	315	320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser			
325	330	335	
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro			
340	345	350	
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln			
355	360	365	

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

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Gly Lys
450

<210> 35
<211> 456
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Heavy chain for 21F12-1F6
<400> 35

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Gln Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
130 135 140

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
195 200 205

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
210 215 220

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
225 230 235 240

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
245 250 255

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
260 265 270

Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
275 280 285

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
290 295 300

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
305 310 315 320

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
325 330 335

Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
340 345 350

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

355 360 365
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 370 375 380
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 385 390 395 400
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 405 410 415

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 420 425 430
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 435 440 445
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455

<210> 36

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for 21F12-1F6

<400> 36

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

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

65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100	105	110	
Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser			
115	120	125	
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr			
130	135	140	
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro			
145	150	155	160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val			
165	170	175	
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser			
180	185	190	
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr			
195	200	205	
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val			
210	215	220	
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe			
225	230	235	240
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr			
245	250	255	
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val			
260	265	270	
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val			
275	280	285	
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser			
290	295	300	
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu			
305	310	315	320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser			
325	330	335	
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro			
340	345	350	

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

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

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Gly Lys
450

<210

> 37

<211> 456

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for 21F12-3G1

<400> 37

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Ser Tyr Asn Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
130 135 140

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
195 200 205

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
210 215 220

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
225 230 235 240

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
245 250 255

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
260 265 270

Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
275 280 285

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
290 295 300

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
305 310 315 320

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
325 330 335

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

340 345 350
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
355 360 365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
385 390 395 400
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
405 410 415
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 38

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for 21F12-3G1

<400> 38

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr

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

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Tyr Asn Ser Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

115 120 125

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

130 135 140

Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe

225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser

290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser

325 330 335
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

 340 345 350
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 355 360 365
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 370 375 380
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 385 390 395 400
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu

 405 410 415
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445
 Leu Ser Leu Gly Lys
 450
 <210> 39
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Light chain for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1,

 21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1
 <400> 39
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Gln Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

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

115					120					125					
Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe
130					135					140					
Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln
145					150					155					160
Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser
165					170					175					
Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu

180 185 190

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

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

215

<210> 40

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-CDR1 for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 40

agctactaca tccac

15

<210> 41

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-CDR2 for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,
21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 41

gtgattaacc cctccggcgg ctccaccacc tatgtcaga agttccaggg c 51

<210> 42

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-CDR3 for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,
21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6

<400> 42

ggctcctact cctccggctg ggattactac tattactacg gcatggacgt g 51

<210> 43

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-CDR3 for 21F12-3G1

<400> 43

ggctcctaca actccggctg ggattactac tattactacg gcatggacgt g 51

<210> 44

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12

<400> 44

cagatgcagc tggcgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ctggcgcttc cgtgaagctg 60

tcctgtaagg cctccggcta catcttcacc agctactaca tccactgggt gaggcaggct 120

cccggacagg gactggaatg ggtggcgctg attaacccct ccggcggtc caccacctat 180

gctcagaagt tccagggcag ggtgaccatg accagggaca cctccatctc caccgcctac 240

atggagctgt ccaggctgag gtccgacgac accgtggtgt actactgcgc taggggctec 300

tactcctccg gctgggatta ctactattac tacggcatgg acgtgtgggg caagggcacc 360

ctggtgaccg tgagctcc 378

<210> 45

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-1B12

<400> 45

cagatgcagc tggatgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ctggcgcttc cgtgaagctg 60
tcctgtaagg cctccggcta ccccttcag agctactaca tccactgggt gaggcaggct 120

cccggacagg gactggaatg ggtgggcgtg attaacccct ccggcggctc caccacctat 180
gtcagaagt tccagggcag ggtgacatg accagggaca cctccatctc caccgcctac 240
atggagctgt ccaggctgag gtccgacgac accgtggtgt actactgcgc taggggctcc 300
tactctccg gctgggatta ctactattac tacggcatgg acgtgtgggg caagggcacc 360
ctggtgaccg tgagctcc 378

<210> 46

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-1E11

<400> 46

cagatgcagc tggatgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ctggcgcttc cgtgaagctg 60

tcctgtaagg cctccggcta cttcttcag agctactaca tccactgggt gaggcaggct 120
cccggacagg gactggaatg ggtgggcgtg attaacccct ccggcggctc caccacctat 180
gtcagaagt tccagggcag ggtgacatg accagggaca cctccatctc caccgcctac 240
atggagctgt ccaggctgag gtccgacgac accgtggtgt actactgcgc taggggctcc 300
tactctccg gctgggatta ctactattac tacggcatgg acgtgtgggg caagggcacc 360
ctggtgaccg tgagctcc 378

<210> 47

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-2E1

<400> 47

cagatgcagc tggatgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ctggcgcttc cgtgaagctg 60
 tcctgtaagg cctccgagta catcttcag agctactaca tccactgggt gaggcaggct 120
 cccggacagg gactggaatg ggtgggcgtg attaacccct cggcgggctc caccacctat 180
 gctcagaagt tccaggcgag ggtgacctg accagggaca cctccatctc caccgcctac 240
 atggagctgt ccaggctgag gtccgacgac accgtggtgt actactgcgc taggggctcc 300
 tactcctccg gctgggatta ctactattac tacggcatgg acgtgtgggg caagggcacc 360
 ctggtgaccg tgagctcc 378

<210> 48

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-2H7

<400> 48

cagatgcagc tggatgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ctggcgcttc cgtgaagctg 60
 tcctgtaagg cctccgagta catcttcag agctactaca tccactgggt gaggcaggct 120
 cccggacagg gactggaatg ggtgggcgtg attaacccct cggcgggctc caccacctat 180
 gctcagaagt tccaggcgag ggtgacctg accagggaca cctccatctc caccgcctac 240
 atggagctgt ccaggctgag gtccgacgac accgtggtgt actactgcgc taggggctcc 300
 tactcctccg gctgggatta ctactattac tacggcatgg acgtgtgggg caagggcacc 360

ctggtgaccg tgagctcc 378

<210> 49

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-1C4

<400> 49

cagatgcagc tggatgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ctggcgcttc cgtgaagctg 60
 tcctgtaagg cctccgacta catcttcacc agctactaca tccactgggt gaggcaggct 120
 cccggacagg gactggaatg ggtgggcgtg attaacccct cggcgggctc caccacctat 180
 gctcagaagt tccaggcgag ggtgacctg accagggaca cctccatctc caccgcctac 240
 atggagctgt ccaggctgag gtccgacgac accgtggtgt actactgcgc taggggctcc 300
 tactcctccg gctgggatta ctactattac tacggcatgg acgtgtgggg caagggcacc 360

ctggtgaccg tgagctcc 378

<210> 50

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-1E10

<400> 50

cagatgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ctggcgcttc cgtgaagctg 60

tcctgtaagg cctccggcta ccctttcacc agctactaca tccactgggt gaggcaggct 120

cccggacagg gactggaatg ggtgggcgtg attaacccct ccggcggctc caccacctat 180

gctcagaagt tccagggcag ggtgaccatg accagggaca cctccatctc caccgcctac 240

atggagctgt ccaggctgag gtccgacgac accgtggtgt actactgcgc taggggctcc 300

tactcctccg gctgggatta ctactattac tacggcatgg acgtgtgggg caagggcacc 360

ctggtgaccg tgagctcc 378

<210> 51

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-1F6

<400> 51

cagatgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ctggcgcttc cgtgaagctg 60

tcctgtaagg cctccggcta catcttcag agctactaca tccactgggt gaggcaggct 120

cccggacagg gactggaatg ggtgggcgtg attaacccct ccggcggctc caccacctat 180

gctcagaagt tccagggcag ggtgaccatg accagggaca cctccatctc caccgcctac 240

atggagctgt ccaggctgag gtccgacgac accgtggtgt actactgcgc taggggctcc 300

tactcctccg gctgggatta ctactattac tacggcatgg acgtgtgggg caagggcacc 360

ctggtgaccg tgagctcc 378

<210> 52

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH for 21F12-3G1

<400> 52

cagatgcagc tggcgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ctggcgcttc cgtgaagctg 60
tcctgtaagg cctccggcta catcttcacc agctactaca tccactgggt gaggcaggct 120

cccggacagg gactggaatg ggtgggcgtg attaacccct ccggcggttc caccacctat 180
gctcagaagt tccagggcag ggtgacatg accagggaca cctccatctc caccgcctac 240
atggagctgt ccaggctgag gtccgacgac accgtggtgt actactgcgc taggggctcc 300
tacaactccg gctgggatta ctactattac tacggcatgg acgtgtgggg caagggcacc 360
ctggtgaccg tgagctcc 378

<210> 53

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-CDR1 for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,

21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 53

cgctccagcc agtccctgct gcacagccag ggctacaatt atctggat 48

<210> 54

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-CDR2 for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,

21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 54

ctgggctcta acagggcctc c 21

<210> 55

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

VL-CDR3 for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,

21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 55

Ala Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Thr Gly Cys Ala Gly Ala

1

5

10

15

Cys Cys Cys Cys Ala Thr Gly Gly Ala Cys Ala

20

25

<210> 56

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,
21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 56

gacgtggtca tgaccagag cccactgtct ctgccagtga cacctggaga gccagcttct	60
atctcctgcc gctccagcca gtcctgtctg cacagccagg gctacaatta tctggattgg	120
tacctgcaga agcccgcca gtcctcag ctgctgatct atctgggctc taacagggcc	180
tccggagtgc ctgaccggtt tagcggctct ggctccggca ccgatttcac actgaagatc	240
tccagggtgg aggtgagga cgtgggcgtg tactattgta tgcaggctct gcagaccca	300
tggacatttg gccaggcac aaaggtggag atcaag	336

<210> 57

<211> 993

<212> DNA

<

213> Artificial Sequence

<220><223> Mutant IgG1 CH for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1,
21F12-2H7, 21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 57

gctagacca aggaccatc cgtgttccca ctggccccct ccagcaagtc caccagcgga	60
ggaacagccg ctctgggatg cctgtgaag gactacttcc cagagcccg gacagtgagc	120
tggaaactctg gcgcccagc cagcggagtg cacacatttc ccgccgtgct ccagtcttcc	180
ggcctgtact ctctgagtc tgtgtgacc gtgccctcca gctctctggg caccagaca	240
tatatctgca acgtgaatca caagccaagc aatacaagg tggacaagaa ggtggagccc	300

aagtcttgtg ataagacca tacatgcccc cctgtcctg ctccagaggc tgctggagga	360
ccaagcgtgt tcctgtttcc acccaagcct aaggacacc tgatgatctc caggaccccc	420
gaggtgacat gcgtggtggt ggctgtgagc cagaggacc ccgaggtgaa gtttaactgg	480
tacgtggatg gcgtggaggt gcataatgct aagaccaagc ctagggagga gcagtacaac	540
tctacctatc ggggtgtgtc cgtgtgaca gtgtgcacc aggactggct gaacggcaag	600

gagtataagt gcaagggtgtc taataaggcc ctggctgtctc ctatcgagaa gaccatctcc 660
aaggccaagg gccagcctag agagccacag gtgtacacac tgcctccatc tcgcgacgag 720

ctgaccaaga accagggtgtc cctgacatgt ctgggtgaagg gcttctatcc ttccgacatc 780
gctgtggagt gggagagcaa cggccagcca gagaacaatt acaagaccac accccctgtg 840
ctggactccg atggcagctt ctttctgtat agcaagctga ccgtggataa gtccagggtg 900
cagcagggca acgtgttttc ttgtccgtg atgcatgagg ctctgcacaa tcattataca 960
cagaagagcc tgtctctgtc ccctggcaag tga 993

<210> 58
<211> 984
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> IgG4 CH for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,
21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 58

gctagcacia agggaccttc cgtgttccca ctggccccct gctccagaag cacatctgag 60
tccaccgccg ctctgggctg tctggtgaag gactacttcc ctgagccagt gaccgtgtcc 120
tggaacacgg gcgccctgac atccggagtg cacaccttcc ccgccgtgct ccagtccagc 180
ggactgtaca gcctgtcttc cgtggtgaca gtgcccagct cttccctggg caccaagaca 240
tatacctgca acgtggacca taagcctagc aataccaagg tggataagag ggtggagtct 300
aagtacggac caccttgccc accatgtcca gtcctgagt ttctgggagg accatccgtg 360

ttcctgttcc ctccaaagcc taaggacacc ctgatgatct ctcggacacc tgaggtgacc 420
tgcgtggagg tggacgtgtc ccaggaggac cccgaggtgc agttcaactg gtacgtggat 480
ggcgtggagg tgcacaatgc taagaccaag ccaagagagg agcagtttaa tagcacatac 540
cgctgggtgt ctgtgtgac cgtgtgtcat caggattggc tgaacggcaa ggagtataag 600
tgcaaggatga gcaataaggg cctgcccagc tctatcgaga agacaatctc taaggctaag 660
ggacagcctc gcgagccaca ggtgtacacc ctgccccctt cccaggagga gatgacaaag 720
aaccaggtga gcctgacctg tctggtgaag ggcttctatc catctgacat cgctgtggag 780

tgggagtcca acggccagcc cgagaacaat tacaagacca caccacccgt gctggactct 840
gatggctcct tctttctgta ttccaggctg acagtggata agagccggtg gcaggagggc 900
aacgtgttta gctgctctgt gatgcacgag gctctgcaca atcattatac ccagaagtec 960
ctgagcctgt ctctgggcaa gtaa 984

<210> 59

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CL for 21F12, 21F12-1B12, 21F12-1E11, 21F12-2E1, 21F12-2H7,
21F12-1C4, 21F12-1E10, 21F12-1F6, and 21F12-3G1

<400> 59

```

cgtacggtgg ctgcaccatc tgtcttcac tccccgcat ctgatgagca gttgaaatct      60
ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctacc ccagagaagc caaagtgcag      120
tggaagggtg acaacgccct gcagagcgga aacagccagg aaagcgtgac agagcaggat      180
tccaaggatt ccacatacag cctgagcagc aacttgacac tgtccaaggc cgactacgag      240
aagcacaagg tgtacgcctg cgaagtgaca caccagggac tgcctcccc tgtgacaaag      300
agcttcaaca gaggagaatg ctga                                           324

```

<210> 60

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker

<400> 60

```

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

```

<210> 61

<211> 439

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for human IgG control

<400> 61

```

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

```

```

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

```

35	40	45	
Ser Gly Ile Asn Trp Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Thr Gly Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
100	105	110	
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg			
115	120	125	
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr			
130	135	140	
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser			
145	150	155	160
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser			
165	170	175	
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr			
180	185	190	
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
195	200	205	
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro			
210	215	220	
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys			
225	230	235	240
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val			
245	250	255	
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp			
260	265	270	
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe			
275	280	285	

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 290 295 300
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 305 310 315 320
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 325 330 335
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 355 360 365
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 370 375 380
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 385 390 395 400
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 420 425 430
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435

<210> 62

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light chain for human IgG control

<400> 62

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Gly 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 Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Arg Thr Val Ala
 100 105 110
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175
 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 63

<211> 440

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain for Nivolumab analog

<400> 63

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser
 20 25 30

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

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

 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
 115 120 125
 Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 130 135 140
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
 145 150 155 160
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
 165 170 175

 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
 180 185 190
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 195 200 205
 Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 210 215 220
 Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 225 230 235 240

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

275 280 285
Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
305 310 315 320
Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
340 345 350
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400
Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
405 410 415
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

<210> 64

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light chain for Nivolumab analog

<400> 64

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

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 65

<211> 465

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human PD-L1-mouse Fc-tag

<400> 65

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu

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

 65 70 75 80
 Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn
 85 90 95
 Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr
 100 105 110
 Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val
 115 120 125
 Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val

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

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

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr

260 265 270

Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp

275 280 285

Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr

290 295 300

Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser

305 310 315 320

Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

325 330 335

Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys

340 345 350

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr

355 360 365

Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr

370 375 380

Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln

385 390 395 400

Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met

405 410 415

Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys

420 425 430

Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu

435 440 445

Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly

450 455 460

Lys

465

<210> 66

<211> 288

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human PD-1

<400> 66

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> 67

<211> 290

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human PD-L1

<400> 67

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu

1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile

50 55 60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser

65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn

85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr

100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val

115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val

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

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

 Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys
 260 265 270
 Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu
 275 280 285
 Glu Thr
 290
 <210> 68
 <211> 367
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> OKT3-scFv
 <400> 68
 Met Glu Arg His Trp Ile Phe Leu Leu Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

 Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg
 20 25 30
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

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

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

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

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

 Thr Thr Lys Pro Val Leu Arg Thr Pro Ser Pro Val His Pro Thr Gly
 275 280 285

Thr Ser Gln Pro Gln Arg Pro Glu Asp Cys Arg Pro Arg Gly Ser Val
290 295 300

Lys Gly Thr Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
305 310 315 320

Leu Ala Gly Ile Cys Val Ala Leu Leu Leu Ser Leu Ile Ile Thr Leu
325 330 335

Ile Cys Tyr His Arg Ser Arg Lys Arg Val Cys Lys Cys Pro Arg Pro
340 345 350

Leu Val Arg Gln Glu Gly Lys Pro Arg Pro Ser Glu Lys Ile Val
355 360 365

<210> 69
<211> 451
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Heavy chain for Rituximab analog
<400> 69

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

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

370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450

<210> 70

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light chain for Rituximab analog

<400> 70

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

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

115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190

 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 71
 <211> 386
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Ovalbumin
 <400> 71
 Met Gly Ser Ile Gly Ala Ala Ser Met Glu Phe Cys Phe Asp Val Phe
 1 5 10 15
 Lys Glu Leu Lys Val His His Ala Asn Glu Asn Ile Phe Tyr Cys Pro
 20 25 30

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

Val Tyr Ser Phe Ser Leu Ala Ser Arg Leu Tyr Ala Glu Glu Arg Tyr
100 105 110

Pro Ile Leu Pro Glu Tyr Leu Gln Cys Val Lys Glu Leu Tyr Arg Gly
115 120 125

Gly Leu Glu Pro Ile Asn Phe Gln Thr Ala Ala Asp Gln Ala Arg Glu
130 135 140

Leu Ile Asn Ser Trp Val Glu Ser Gln Thr Asn Gly Ile Ile Arg Asn
145 150 155 160

Val Leu Gln Pro Ser Ser Val Asp Ser Gln Thr Ala Met Val Leu Val
165 170 175

Asn Ala Ile Val Phe Lys Gly Leu Trp Glu Lys Ala Phe Lys Asp Glu
180 185 190

Asp Thr Gln Ala Met Pro Phe Arg Val Thr Glu Gln Glu Ser Lys Pro
195 200 205

Val Gln Met Met Tyr Gln Ile Gly Leu Phe Arg Val Ala Ser Met Ala
210 215 220

Ser Glu Lys Met Lys Ile Leu Glu Leu Pro Phe Ala Ser Gly Thr Met
225 230 235 240

Ser Met Leu Val Leu Leu Pro Asp Glu Val Ser Gly Leu Glu Gln Leu
245 250 255

Glu Ser Ile Ile Asn Phe Glu Lys Leu Thr Glu Trp Thr Ser Ser Asn
260 265 270

Val Met Glu Glu Arg Lys Ile Lys Val Tyr Leu Pro Arg Met Lys Met
275 280 285

Glu Glu Lys Tyr Asn Leu Thr Ser Val Leu Met Ala Met Gly Ile Thr
290 295 300

Asp Val Phe Ser Ser Ser Ala Asn Leu Ser Gly Ile Ser Ser Ala Glu
305 310 315 320

Ser Leu Lys Ile Ser Gln Ala Val His Ala Ala His Ala Glu Ile Asn
325 330 335

Glu Ala Gly Arg Glu Val Val Gly Ser Ala Glu Ala Gly Val Asp Ala

340	345	350
Ala Ser Val Ser Glu Glu Phe Arg Ala Asp His Pro Phe Leu Phe Cys		
355	360	365
Ile Lys His Ile Ala Thr Asn Ala Val Leu Phe Phe Gly Arg Cys Val		
370	375	380
Ser Pro		
385		