



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0128544  
(43) 공개일자 2020년11월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61P 31/16 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
C07K 16/2818 (2013.01)  
A61P 31/16 (2018.01)  
(21) 출원번호 10-2020-7027823  
(22) 출원일자(국제) 2019년03월08일  
심사청구일자 없음  
(85) 번역문제출일자 2020년09월25일  
(86) 국제출원번호 PCT/EP2019/055901  
(87) 국제공개번호 WO 2019/170885  
국제공개일자 2019년09월12일  
(30) 우선권주장  
1803745.7 2018년03월08일 영국(GB)  
(뒷면에 계속)

(71) 출원인  
울트라휴먼 에이트 리미티드  
영국 켄트 시티13 9에프에프 샌드위치 램스게이트  
로드 이노베이션 하우스 크레스톤 리브스 엘엘피  
내  
(72) 발명자  
핀레이 윌리엄 제임스 조나단  
영국 켄트 시티13 9에프에프 샌드위치 램스게이트  
로드 이노베이션 하우스 크레스톤 리브스 엘엘피  
내  
(74) 대리인  
특허법인(유한)케이비케이

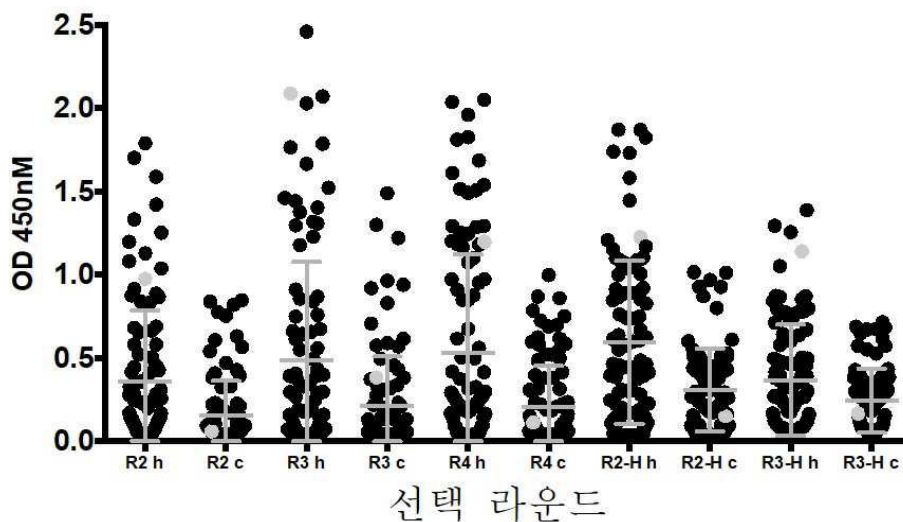
전체 청구항 수 : 총 41 항

(54) 발명의 명칭 PD1 결합제

(57) 요약

본 명세서에는 세포 예정사 1(PD1)특이적으로 결합하는 항체 분자 및 관련 핵산 분자, 벡터 및 숙주 세포가 제공된다. 또한 본 명세서에는 상기 항체 분자의 의학적 용도가 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**A61P 35/00** (2018.01)  
*A61K 2039/505* (2013.01)  
*C07K 2317/10* (2013.01)  
*C07K 2317/24* (2013.01)  
*C07K 2317/33* (2013.01)  
*C07K 2317/55* (2013.01)  
*C07K 2317/76* (2013.01)  
*C07K 2317/94* (2013.01)

---

(30) 우선권주장

|           |             |        |
|-----------|-------------|--------|
| 1807176.1 | 2018년05월01일 | 영국(GB) |
| 1811302.7 | 2018년07월10일 | 영국(GB) |
| 1816372.5 | 2018년10월08일 | 영국(GB) |
| 1817652.9 | 2018년10월29일 | 영국(GB) |

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

항-PD1 항체(anti-Programmed cell death 1 antibody) 또는 이의 항원-결합 부분으로서, 상기 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되,

(a) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;

(b) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QVYFDY(서열번호 44)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;

(c) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QLYFDY(서열번호 45)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;

(d) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QLYAFDY(서열번호 46)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;

(e) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 48)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYIPWT(서열번호 47)의 LCDR3을 포함하거나;

(f) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGAEKYYVDSVKG(서열번호 49)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQD(서열번호 50)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;

(g) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 48)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYIPWT(서열번호 47)의 LCDR3을 포함하거나;

(h) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGAEKYYVDSVKG(서열번호 49)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQD(서열번호 50)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;

(i) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSNTYYVDSVKG(서열번호 51)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISTWLN(서열번호 52)의 LCDR1, AASSLAS(서열번호 53)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;

(j) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QVYFDY(서열번호 44)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLHS(서열번호 54)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나; 또는

(k) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QVYFDY(서열번호 44)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하는, 항체 또는 항원-결합 부분.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

- (a) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 1을 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 2를 포함하거나;
- (b) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 3을 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 4를 포함하거나;
- (c) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 5를 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 6을 포함하거나;
- (d) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 7을 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 8을 포함하거나;
- (e) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 9를 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 10을 포함하거나; 또는
- (f) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 11을 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 12를 포함하는, 항체 또는 항원-결합 부분.

### 청구항 3

항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분으로서, 상기 항체는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역 및 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되,

- (a) 상기 HCDR1은 아미노산 서열 G-F-T-F-S-S-Y-X<sub>1</sub>-M-S(식 중, X<sub>1</sub>은 L 또는 임의의 다른 아미노산임)(서열번호 26)를 포함하고;
- (b) 상기 HCDR2는 아미노산 서열 X<sub>1</sub>-A-X<sub>2</sub>-I-S-G-G-G-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub>-Y-Y-X<sub>6</sub>-D-S-V-K-G(식 중, X<sub>1</sub>은 V 또는 V의 보존적 치환이고, X<sub>2</sub>는 T 또는 N이고, X<sub>3</sub>은 A 또는 S이며, X<sub>4</sub>는 E 또는 N이고, X<sub>5</sub>는 T 또는 K이며, X<sub>6</sub>은 P 또는 V임)(서열번호 27)를 포함하며;
- (c) 상기 HCDR3은 아미노산 서열 X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub>-D-Y(식 중, X<sub>1</sub>은 Q 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, T, L, M 또는 N)이고, X<sub>2</sub>는 L 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, G, K, M, Q, S 또는 V)이며, X<sub>3</sub>은 Y 또는 Y의 보존적 치환(예를 들어, H)이고, X<sub>4</sub>는 Y 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, A, D, F, G, M, E, I, K, S 또는 W)이며, X<sub>5</sub>는 F 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, A, D, E, I, K, M, S 또는 W)임)(서열번호 28)를 포함하고;
- (d) 상기 LCDR1은 아미노산 서열 R-A-S-Q-S-I-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub>(식 중, X<sub>1</sub>은 S 또는 S의 보존적 치환이고, X<sub>2</sub>는 S 또는 S의 보존적 치환이며, X<sub>3</sub>은 Y 또는 Y의 보존적 치환이고, X<sub>4</sub>는 L 또는 L의 보존적 치환이며, X<sub>5</sub>는 N 또는 T, 또는 N 또는 T의 보존적 치환임)(서열번호 32)를 포함하며;
- (e) 상기 LCDR2는 아미노산 서열 X<sub>1</sub>-A-X<sub>2</sub>-S-L-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>(식 중, X<sub>1</sub>은 A 또는 T, 또는 A 또는 T의 보존적 치환이고, X<sub>2</sub>는 S 또는 S의 보존적 치환이며, X<sub>3</sub>은 Q 또는 임의의 다른 아미노산이고, X<sub>4</sub>는 S 또는 임의의 다른 아미노산임)(서열번호 33)를 포함하고;
- (f) 상기 LCDR3은 아미노산 서열 Q-Q-X<sub>1</sub>-Y-S-X<sub>2</sub>-P-X<sub>3</sub>-T(식 중, X<sub>1</sub>은 S 또는 임의의 다른 아미노산이고, X<sub>2</sub>는 T 또는 임의의 다른 아미노산이며, X<sub>3</sub>은 W 또는 임의의 다른 아미노산임)(서열번호 34)를 포함하는, 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분.

### 청구항 4

항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분으로서, 상기 항체 또는 항원-결합 부분은 PD1에 대한 결합에 대해서 제1 항 내지 제3항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합 부분과 교차-경쟁하고; 그리고

- (a) 완전 생식세포계열 인간 프레임워크 아미노산 서열을 포함하고;
- (b) 인간 PD1 및 시노몰거스(cynomolgus) PD1에 특이적으로 결합하며;

- (c) 인간 PD-L1에 대한 인간 PD1의 결합을 260ng/ml 미만의 EC50으로 길항작용하고;
- (d) 단량체 시노몰거스 PD1에 32nM 미만의 KD로 결합하며;
- (e) 시노몰거스 PD1-발현 세포에 6.5nM 미만의 EC50으로 결합하고;
- (f) 시노몰거스 PD1 및 인간 PD1 상의 기능적으로 동일한 에피토프에 결합하며;
- (g) LCDR2에서 높은 MHC 클래스 II 결합 친화도를 갖는 인간 생식세포계열 펩타이드 서열을 포함하고;
- (h) 항체 Mab005의 가변 도메인 서열을 포함하는 항-PD1 항체에 비해서 감소된 수의 면역원성 펩타이드를 포함하며;
- (i) 항체 Mab005의 가변 도메인 서열을 포함하는 항-PD1 항체에 비해서 감소된 면역원성을 나타내고;
- (j) 탈면역된(deimmunized) VL 영역을 포함하고;
- (k) KDR, FZD5, ULBP2 및 EPHB6 중 하나 이상에 대한 결합을 나타내지 않으며;
- (l) KDR, FZD5, ULBP2 및 EPHB6 중 하나 이상을 효능작용하지 않거나 최소한으로 효능작용하는, 항체 또는 항원-결합 부분.

#### 청구항 5

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

#### 청구항 6

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

#### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 VH 영역, 상기 VL 영역 또는 상기 VH 및 상기 VL 영역 둘 다는 내부에 CDR이 삽입된 인간 가변 영역 프레임워크 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항원-결합 부분.

#### 청구항 8

제1항 또는 제3항에 있어서, 상기 VH 영역은 내부에 상기 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 아미노산 서열이 삽입된IGHV3-7 인간 생식세포계열 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항원-결합 부분.

#### 청구항 9

제1항, 제3항 및 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 VL 영역은 내부에 상기 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3이 삽입된IGKV1-39 인간 생식세포계열 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항원-결합 부분.

#### 청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 면역글로불린 불변 영역을 포함하는, 항체 또는 항원-결합 부분.

#### 청구항 11

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

#### 청구항 12

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

### 청구항 13

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

### 청구항 14

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

### 청구항 15

제13항에 있어서, 상기 면역글로불린 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하는, 항체 또는 항원-결합 부분.

### 청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 부분은 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fv, scFv, 단일 도메인 항체(dAb), 맥시바디(maxibody), 미니바디(minibody), 인트라바디(intrabody), 다이아바디(diabody), 트리아바디(triabody), 테트라바디(tetrabody), v-NAR 또는 비스-scFv인, 항체 또는 항원-결합 부분.

### 청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 단클론성인, 항체 또는 항원-결합 부분.

### 청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 사량체 항체, 4가 항체 또는 다중특이적 항체인, 항체 또는 항원-결합 부분.

### 청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 제1 항원 및 제2 항원에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체이되, 상기 제1 항원은 PD1이고, 상기 제2 항원은 PD1이 아닌, 항체 또는 항원-결합 부분.

### 청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 부분은 (a) 인간 PD1 또는 (b) 인간 PD1 및 시노몰거스 PD1에 특이적으로 결합하는, 항체 또는 항원-결합 부분.

### 청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 부분은 IgG1 포맷으로 존재하되, 상기 항원-결합 부분은 약 90℃ 내지 약 93℃의 용융 온도(T<sub>m</sub>)를 갖는, 항체 또는 항원-결합 부분.

### 청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 부분은 인간화된 항체 Mab005의 가변 도메인 서열을 포함하는 항-PD1 항체에 비해서 노출된 아미노산 잔기의 감소된 산화를 겪는, 항체 또는 항원-결합 부분.

### 청구항 23

치료제에 연결된 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합 부분을 포함하는, 면역접합체(immunoconjugate).

### 청구항 24

제23항에 있어서, 상기 치료제는 세포독소, 방사성동위원소, 화학치료제, 면역조절제, 혈관생성억제제(anti-

angiogenic agent), 증식억제제(antiproliferative agent), 아포토시스촉진제(pro-apoptotic agent), 세포분열 억제 효소(cytostatic enzyme), 세포용해 효소(cytolytic enzyme), 치료용 핵산, 혈관생성억제제, 증식억제제 또는 아포토시스촉진제인, 면역접합체.

#### 청구항 25

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합 부분 또는 제23항 또는 제24항의 면역접합체 및 억제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는, 억제학적 조성물.

#### 청구항 26

핵산 분자로서, 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합 부분의

- (a) VH 영역 아미노산 서열;
  - (b) VL 영역 아미노산 서열; 또는
  - (c) VH 영역 및 VL 영역 아미노산 서열 둘다
- 를 암호화하는, 핵산 분자.

#### 청구항 27

제26항의 핵산 분자를 포함하는, 발현 벡터.

#### 청구항 28

제26항의 핵산 분자 또는 제27항의 발현 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포.

#### 청구항 29

항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분의 생산 방법으로서,

제27항의 발현 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포를, 핵산 분자가 발현되는 조건 하에서 배양함으로써 상기 항체 또는 항원-결합 부분을 생산하는 단계; 및

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

#### 청구항 30

대상체에서 면역 반응을 향상시키는 방법으로서, 상기 대상체에게 치료적 유효량의 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합 부분, 제23항 또는 제24항의 면역접합체 또는 제25항의 억제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

#### 청구항 31

대상체에서 암, 감염성 질환 또는 면역 질환의 치료 또는 예방 방법으로서, 상기 대상체에게 치료적 유효량의 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합 부분, 제23항 또는 제24항의 면역접합체 또는 제25항의 억제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

#### 청구항 32

제31항에 있어서, 상기 암은 췌장암, 흑색종, 유방암, 폐암, 기관지암, 결장직장암, 전립선암, 위암, 난소암, 방광암, 뇌 또는 중추신경암, 말초신경계암, 식도암, 자궁경부암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 신장암, 고환암, 담도암, 소장 또는 충수암, 침샘암, 갑상선암, 부신암, 골육종, 연골육종 또는 혈액조각암인, 방법.

#### 청구항 33

제31항에 있어서, 상기 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 진균 또는 기생충성인, 방법.

**청구항 34**

제31항에 있어서, 상기 감염성 질환은 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 감염인, 방법.

**청구항 35**

제30항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 분자, 상기 항원-결합 부분, 상기 면역접합체 또는 상기 억제학적 조성물의 투여는 상기 대상체에서 혈관종을 유도하지 않거나 최소한의 혈관종을 유도하는, 방법.

**청구항 36**

암, 감염성 질환 또는 면역 질환의 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합 부분, 제23항 또는 제24항의 면역접합체 또는 제25항의 억제학적 조성물.

**청구항 37**

제36항에 따라서 사용하기 위한 항체 또는 항원-결합 부분, 면역접합체 또는 억제학적 조성물로서, 상기 암은 췌장암, 흑색종, 유방암, 폐암, 기관지암, 결장직장암, 전립선암, 위암, 난소암, 방광암, 뇌 또는 중추신경암, 말초신경계암, 식도암, 자궁경부암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 신장암, 고환암, 담도암, 소장 또는 충수암, 침샘암, 갑상선암, 부신암, 골육종, 연골육종 또는 혈액조직암인, 항체 또는 항원-결합 부분, 면역접합체 또는 억제학적 조성물.

**청구항 38**

제36항에 따라서 사용하기 위한 항체 또는 항원-결합 부분, 면역접합체 또는 억제학적 조성물로서, 상기 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 진균 또는 기생충성인, 항체 또는 항원-결합 부분, 면역접합체 또는 억제학적 조성물.

**청구항 39**

제36항에 따라서 사용하기 위한 항체 또는 항원-결합 부분, 면역접합체 또는 억제학적 조성물로서, 상기 감염성 질환은 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 감염인, 항체 또는 항원-결합 부분, 면역접합체 또는 억제학적 조성물.

**청구항 40**

제36항에 따라서 사용하기 위한 항체 또는 항원-결합 부분, 면역접합체 또는 억제학적 조성물로서, 암, 감염성 질환 또는 면역 질환의 치료에서의 상기 항체 또는 항원-결합 부분, 상기 면역접합체 또는 상기 억제학적 조성물의 사용은 혈관종을 유도하지 않거나 최소한의 혈관종을 유도하는, 항체 또는 항원-결합 부분, 면역접합체 또는 억제학적 조성물.

**청구항 41**

의약으로서 사용하기 위한, 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합 부분, 제23항 또는 제24항의 면역접합체 또는 제25항의 억제학적 조성물.

**발명의 설명****기술 분야**

[0001] **관련 출원의 상호 참조**

[0002] 본 출원은 영국 특허 출원 제1817652.9호(출원일: 2018년 10월 29일, 영국 특허 출원 제1816372.5호(출원일 2018년 10월 8일), 영국 특허 출원 제1811302.7호(출원일 2018년 7월 10일), 영국 특허 출원 제1807176.1호(출원일 2018년 5월 1일) 및 영국 특허 출원 제1803745.7호(출원일 2018년 3월 8일)의 이익을 주장하며, 이들 각각의 개시내용은 전문이 참조에 의해 인용된다.

[0003] **전자적으로 제출된 텍스트 파일의 설명**

[0004] 본 출원과 함께 전자적으로 제출된 텍스트 파일의 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 포함된다: 서열 목록의 컴퓨터 판독 가능한 포맷의 카피(파일명: UHEL\_001\_01WO\_SeqList\_ST25.txt, 기록일: 2019년 3월 7일, 파일

크기 113,139바이트).

## [0005] 기술분야

[0006] 본 발명은 PD1(세포 예정사 1(Programmed cell death 1), PDCD1, CD279, PD-1, SLEB2, PD-1, SLE1로서도 공지됨)에 특이적으로 결합하는 항체 분자 및 이의 의학적 용도에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0007] PD1은 면역글로불린 슈퍼패밀리의 구성원이고, T 세포 상에서 주로 발현되고, 프로-B 세포(pro-B cell) 상에서 또한 관찰된 세포 표면 수용체이다. PD1은 2개의 공지된 리간드, PD-L1 및 PD-L2에 결합한다. 이들 리간드와 T 세포 상의 PD1의 상호작용은 T 세포 염증성 활성을 하향 조절하며, 이것은 면역 자가-관용(self-tolerance)을 촉진시킨다. 따라서, PD1은 면역 "관문"인 것으로 설명된다. 이러한 관문 활성화는 자기-항원에 반응성인 림프절-존재 T-세포에서 아포토시스(세포 예정사)를 촉진시킴으로써 자가면역 위험을 최소화한다고 입증되어 있다. 중요하게는, PD1 결합이 또한 조절(항-염증성) T 세포의 생존을 촉진시킨다.

[0008] 비-질환 상태에서 PD1/PD-L1(2) 결합의 역할은 자가-관용에 중요하지만, 또한 면역 감시 동안 종양 세포가 "외부물질"로서 식별되는 것을 탈출하는 주요 기전이다. 사실, PD-L1은 몇몇 암에서 고도로 발현된다고 밝혀져 있다. 따라서, PD1을 표적으로 하여, 이의 기능을 길항시키는 단클론성 항체는, 높은 PD-L1 발현을 갖고/갖거나 높은 수준의 돌연변이를 나타내는 악성 세포에 대한 면역 반응을 증진시킴으로써, 암을 치료하는 데 있어서 상당한 잠재적인 가치를 가질 수 있다. 전임상 증거 및 보다 최근의 임상 증거의 중요한 증거는, PD1/PD-L1(2) 결합의 차단이 T 세포의 항종양 활성을 향상시키고, 혈액 악성종양 및 고형 악성종양 둘 다의 성장을 저해할 수 있다는 것을 시사한다. PD1/PD-L1 활성화는 또한 만성 질환, 예컨대, HIV에서 유도될 수 있기 때문에, 항-PD1 길항작용 항체는 또한 감염성 질환 설정에서 치료 가치를 가질 수 있다. 따라서, 길항작용 항-PD1 mAb는 암, 면역 및 감염성 질환 설정에서 면역치료제로서 작용하고, 현재 확립된 요법의 효과를 증폭시킬 가능성을 갖는다.

[0009] 현재 승인된 항체 요법 대부분은 면역화된 설치류로부터 유래된다. 이들 항체 중 대다수는 인간 v-유전자 프레임워크 서열 내에 뮤린 CDR을 "그래프팅(grafting)"시킴으로써 "인간화"로서 공지된 방법을 겪는다(문헌[Nelson *et al.*, 2010, Nat Rev 약물 Discov 9: 767-774] 참고). 이러한 방법은 대개 부정확하고, 생성된 항체의 표적 결합 친화도의 감소로 이어진다. 본래 항체의 결합 친화도로 되돌아가게 하기 위해서, 뮤린 잔기가 일반적으로 그래프팅된 v-도메인의 가변 도메인 프레임워크 내의 주요 위치에 도입된다("역-돌연변이(back-mutation)"이라고도 공지됨).

[0010] CDR 그래프팅 및 역 돌연변이를 통해서 인간화된 항체는 완전 뮤린 v-도메인을 갖는 것과 비교할 때 임상에서 더 낮은 면역 반응 속도를 유도한다고 밝혀져 있지만, 이러한 기본적인 그래프팅 방법을 사용하여 인간화된 항체는 그래프팅된 CDR 루프에 여전히 보유된 잠재적인 물리적인 불안정성 및 면역원성 모티프로 인해서 상당한 임상 개발 위험을 여전히 갖는다. 단백질 면역원성의 동물 시험은 보통 인간에서의 면역 반응을 예측하지 못하기 때문에, 치료 용도를 위해서 조작된 항체는 정제된 단백질에서 예측된 인간 T-세포 에피토프 함량, 비-인간 생식세포계열 아미노산 함량 및 응집 가능성을 최소화시키는 것에 초점을 맞추고 있다.

[0011] 따라서, 이상적인 인간화된 효능작용적 항-PD1 항체는 양호하게 특징규명된 인간 생식세포계열 서열의 프레임워크 및 CDR 둘 다에서 발견되는 것과, v-도메인에서 가능한 많은 동일한 잔기를 가질 것이다. 문헌[Townsend *et al.* (2015; PNAS 112: 15354-15359)]에는 래트, 토끼 및 마우스 항체로부터 유래된 CDR이 바람직한 인간 프레임워크에 그래프팅되고, 이어서 "증강 이진 치환(Augmented Binary Substitution)"이라고 지칭되는 인간 생식세포계열화(germ-lineing) 접근법에 적용되는 항체를 생성시키는 방법이 기재되어 있다. 이 접근법이 본래 항체 파라토프에서 기본적인 가소성을 입증하였지만, 연구자가 상당히 정확한 항체-항원 공결정 구조 데이터를 소유하고 있는 경우에도, 임의의 주어진 항체의 CDR 루프에서 어느 개별 잔기가 인간 생식세포계열로 그리고 어떤 조합으로 전환될 수 있는지를 확실하게 예측하는 것은 여전히 가능하지 않다. 추가로, Townsend 등의 연구는 개발 위험 모티프의 제거가 이로울 수 있는 위치에서 인간 생식세포계열에서 발견되는 잔기를 넘어 돌연변이유발의 추가를 다루지 않았다. 이것은 이러한 방법을 본질적으로 비효율적으로 만드는 기술적 한계이며, 시작 항체 서열의 추가 변형 단계가 요구된다. 또한, 현재 개별 v-도메인의 단백질 서열의 원위 위치 또는 심지어는 파트너 v-도메인 상의 어느 변형이 항원 결합 친화도 및 특이성을 유지하면서 위험 모티프의 제거를 용이하게 하는지를 정확하게 예측할 수 없다.

[0012] 따라서 CDR 생식세포계열화 및 개발 품질 최적화는 복잡하고, 다원적인 문제인데, 그 이유는 이러한 예에서 하기를 비롯한 분자의 다양한 기능성 특성이 바람직하게는 유지되거나 개선되어야 하기 때문이다: 표적 결합 특이

성, PD1/PD-L1 신호전달 길항성(antagonism), 인간 및 동물 시험 중(예를 들어, 크랩-섭취 마카크(crab-eating macaque), 즉, 마카카 파시쿨라리스(*Macaca fascicularis*)라고도 알려진 시노몰거스 원숭이(cynomolgus monkey) 둘 다로부터의 PD1에 대한 친화도는 상당히 정확한 전임상 안정성 시험을 가능하게 하기 위해서 가능한 유사해야 함, v-도메인 생물물리학적 안정성 및/또는 IgG 발현 수율이 제조 목적을 위해서 최적화되어야 함. 항체 조작 연구는 주요 CDR 내의 심지어는 단일 잔기 위치의 돌연변이가 이들 목적하는 분자 특성 모두에 대해서 상당히 부정적인 효과를 가질 수 있다는 것을 밝혀냈다.

[0013] 국제 특허 공개 제W02015/085847A1호에는 "Mab005"라고 지칭되는 길항작용 무린 항-PD1 IgG 분자, 및 또한 Mab005의 인간화된 형태의 제조 방법이 기재되어 있다. 이들 Mab005의 인간화된 형태는 전통적인 인간화 기술을 사용하여, 즉, 카바트-정의된 무린 CDR을 인간 중쇄 및 경쇄 프레임워크 서열 내에 그래프팅시킴으로써 제조되었고, 여기서 인간 프레임워크 잔기 중 일부는 상응하게 위치된 Mab005 무린 잔기에 잠재적으로 역 돌연변이된다. 상기에 언급된 이유로 인해서, 국제 특허 공개 제W02015/085847A1호에 기재된 Mab005의 이러한 인간화된 형태는 이상적이지 않다.

### 발명의 내용

[0014] 본 발명은 다수의 항-PD1 항체 및 이의 의학적 용도를 제공한다.

[0015] 본 발명의 일 양상에 따라서, 인간 PD1 및 선택적으로 또한 시노몰거스 원숭이 PD1, 또는 이의 항원-결합 부분에 특이적으로 결합하는 항체 분자가 제공되며, 여기서 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 하기를 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다:

[0016] 하기 순서의 서열의 아미노산: G-F-T-F-S-S-Y-L 또는 임의의 아미노산(예를 들어 A/D/E/F/G/H/I/N/P/Q/S/T/V/W/Y)-M-S를 갖는 HCDR1(서열번호 26);

[0017] 하기 순서의 서열의 아미노산: V 또는 V-A-T/N-I-S-G-G-A/S-E/N-T/K-Y-Y-P/V-D-S-V-K-G의 보존적 치환을 갖는 HCDR2(서열번호 27); 및

[0018] 하기 순서의 서열의 아미노산: Q 또는 임의의 아미노산(예를 들어 T/L/M/N)-L 또는 임의의 아미노산(예를 들어 G/K/M/Q/S/V)-Y 또는 Y의 보존적 치환(예를 들어 H)-Y 또는 임의의 아미노산(예를 들어 A/D/F/G/M-A/D/E/F/I/K/M/S/W)-F 또는 임의의 아미노산(예를 들어 A/D/EI/K/M/S/W)-D-Y를 갖는 HCDR3(서열번호 28).

[0019] 본 발명의 일 양상에서, 항체 분자 또는 항원-결합 부분의 HCDR1은 서열 GFTFSSYMMS(국제 특허 공개 제 W02015/085847A1; US2016/376367A1호에 개시된 서열번호 29; Mab005 무린/인간화된 항체 HCDR1), TISGGGANTYYPDSVKG(국제 특허 공개 제W02015/085847A1호; 미국 특허 제US2016/376367A1호에 개시된 서열번호 30; Mab005 무린/인간화된 항체 HCDR2)를 제외할 수 있고/있거나 항체 분자 또는 항원-결합 부분의 HCDR3은 서열 QLYYFDY(국제 특허 공개 제W02015/085847A1호; 미국 특허 제US2016/376367A1호에 개시된 서열번호 31; Mab005 무린/인간화된 항체 HCDR3)를 제외할 수 있다.

[0020] 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 하기를 갖는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다:

[0021] 하기 순서의 서열의 아미노산: R-A-S-Q-S-I-S 또는 S-S의 보존적 치환 또는 S-Y의 보존적 치환 또는 Y-L의 보존적 치환 또는 L-N/T의 보존적 치환 또는 N 또는 T의 보존적 치환을 갖는 LCDR1(서열번호 32);

[0022] 하기 순서의 서열의 아미노산: A/T 또는 A 또는 T-A-S의 보존적 치환 또는 S-S-L-Q의 보존적 치환 또는 임의의 아미노산(예를 들어, A/H)-S 또는 임의의 아미노산(예를 들어, D, Y)을 갖는 LCDR2(서열번호 33); 및

[0023] 하기 순서의 서열의 아미노산: Q-Q-S 또는 임의의 아미노산(예를 들어, V)-Y-S-T 또는 임의의 아미노산(예를 들어, I)-P-W 또는 임의의 아미노산(예를 들어, L)-T를 갖는 LCDR3(서열번호 34).

[0024] 본 발명의 일 양상에서, 항체 분자 또는 항원-결합 부분의 LCDR1은 서열 LASQTIGTWLT(국제 특허 공개 제 W02015/085847A1호; 미국 특허 제US2016/376367A1호에 개시된 서열번호 35; Mab005 무린/인간화된 항체 LCDR1)를 제외할 수 있고/있거나 항체 분자 또는 항원-결합 부분의 LCDR2는 서열 TATSLAD(국제 특허 공개 제 W02015/085847A1호; 미국 특허 제US2016/376367A1호에 개시된 서열번호 36; Mab005 무린/인간화된 항체 LCDR2)를 제외할 수 있고/있거나 항체 분자 또는 항원-결합 부분의 LCDR3은 서열 QQVYSIPWT(국제 특허 공개 제 W02015/085847A1호; 미국 특허 제US2016/376367A1호에 개시된 서열번호 37; Mab005 무린/인간화된 항체 LCDR3)를 제외할 수 있다.

[0025] 일부 양상에서, 본 명세서에는 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 개시되며, 여기서 항체는 HCDR1, HCDR2

및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역 및 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되,

- [0026] (a) 상기 HCDR1은 아미노산 서열 G-F-T-F-S-S-Y-X<sub>1</sub>-M-S(식 중, X<sub>1</sub>은 L 또는 임의의 다른 아미노산임)(서열번호 26)를 포함하고;
- [0027] (b) 상기 HCDR2는 아미노산 서열 X<sub>1</sub>-A-X<sub>2</sub>-I-S-G-G-G-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub>-Y-Y-X<sub>6</sub>-D-S-V-K-G(식 중, X<sub>1</sub>은 V 또는 V의 보존적 치환이고, X<sub>2</sub>는 T 또는 N이고, X<sub>3</sub>은 A 또는 S이며, X<sub>4</sub>는 E 또는 N이고, X<sub>5</sub>는 T 또는 K이며, X<sub>6</sub>은 P 또는 V임)(서열번호 27)를 포함하며;
- [0028] (c) 상기 HCDR3은 아미노산 서열 X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub>-D-Y(식 중, X<sub>1</sub>은 Q 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, T, L, M 또는 N)이고, X<sub>2</sub>는 L 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, G, K, M, Q, S 또는 V)이며, X<sub>3</sub>은 Y 또는 Y의 보존적 치환(예를 들어, H)이고, X<sub>4</sub>는 Y 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, A, D, F, G, M, E, I, K, S 또는 W)이며, X<sub>5</sub>는 F 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어 A, D, E, I, K, M, S 또는 W)임)(서열번호 28)를 포함하고;
- [0029] (d) 상기 LCDR1은 아미노산 서열 R-A-S-Q-S-I-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub>(식 중, X<sub>1</sub>은 S 또는 S의 보존적 치환이고, X<sub>2</sub>는 S 또는 S의 보존적 치환이며, X<sub>3</sub>은 Y 또는 Y의 보존적 치환이고, X<sub>4</sub>는 L 또는 L의 보존적 치환이며, X<sub>5</sub>는 N 또는 T 또는 N 또는 T의 보존적 치환임)(서열번호 32)를 포함하며;
- [0030] (e) 상기 LCDR2는 아미노산 서열 X<sub>1</sub>-A-X<sub>2</sub>-S-L-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>(식 중, X<sub>1</sub>은 A 또는 T 또는 A 또는 T의 보존적 치환이고, X<sub>2</sub>는 S 또는 S의 보존적 치환이며, X<sub>3</sub>은 Q 또는 임의의 다른 아미노산이고, X<sub>4</sub>는 S 또는 임의의 다른 아미노산임)(서열번호 33)를 포함하고;
- [0031] (f) 상기 LCDR3은 아미노산 서열 Q-Q-X<sub>1</sub>-Y-S-X<sub>2</sub>-P-X<sub>3</sub>-T(식 중, X<sub>1</sub>은 S 또는 임의의 다른 아미노산이고, X<sub>2</sub>는 T 또는 임의의 다른 아미노산이며, X<sub>3</sub>은 W 또는 임의의 다른 아미노산임)(서열번호 34)를 포함한다.
- [0032] 일부 양상에서, 본 발명은 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하며, 여기서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되,
- [0033] (a) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0034] (b) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QVYFDY(서열번호 44)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0035] (c) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QLYFFDY(서열번호 45)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0036] (d) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QLYAFDY(서열번호 46)의 HCDR3을 포함하며; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0037] (e) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSETYYVDSVKG(서열번호 48)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하며; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSIPWT(서열번호 47)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0038] (f) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGAEKYYVDSVKG(서열번호 49)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQD(서열번호 50)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0039] (g) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSETYYVDSVKG(서열번호 48)의

HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 47)의 LCDR3을 포함하거나;

[0040] (h) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGAEKYYVDSVKG(서열번호 49)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQD(서열번호 50)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;

[0041] (i) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSNTYYVDSVKG(서열번호 51)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISTWLN(서열번호 52)의 LCDR1, AASSLAS(서열번호 53)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;

[0042] (j) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QVYYFDY(서열번호 44)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLHS(서열번호 54)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나; 또는

[0043] (k) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QVYYFDY(서열번호 44)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함한다.

[0044] 일부 양상에서, 본 명세서에는 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 개시되며, 여기서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되,

[0045] VH 영역 아미노산 서열은,

[0046] (a) 서열번호 38의 HCDR1;

[0047] (b) 서열번호 39, 서열번호 48, 서열번호 49 또는 서열번호 51의 HCDR2; 및

[0048] (c) 서열번호 40, 서열번호 44, 서열번호 45 또는 서열번호 46의 HCDR3을 포함하고;

[0049] VL 영역 아미노산 서열은,

[0050] (a') 서열번호 41 또는 서열번호 52의 LCDR1;

[0051] (b') 서열번호 42, 서열번호 50, 서열번호 53 또는 서열번호 54의 LCDR2; 및

[0052] (c') 서열번호 43 또는 서열번호 47의 LCDR3을 포함한다.

[0053] 일부 양상에서, 본 명세서에는 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 개시되며, 여기서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되,

[0054] (a) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 1을 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 2를 포함하거나;

[0055] (b) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 3을 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 4를 포함하거나;

[0056] (c) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 5를 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 6을 포함하거나;

[0057] (d) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 7을 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 8을 포함하거나;

[0058] (e) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 9를 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 10을 포함하거나; 또는

[0059] (f) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 11을 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 12를 포함한다.

[0060] 또한 본 발명에 따라서 치료제에 연결, 융합 또는 접합된 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분을 포함하는 면역접합체(immunoconjugate)가 제공된다.

[0061] 또 다른 양상에서 본 발명은 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분을 암호화하는

핵산 분자를 제공한다.

- [0062] 추가로 본 발명의 핵산 분자를 포함하는 벡터가 제공된다.
- [0063] 또한 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다.
- [0064] 추가 양상에서 항-PD1 항체 및/또는 이의 항원-결합 부분의 생산 방법이 제공되며, 이 방법은 본 발명의 숙주 세포를 항체 및/또는 이의 항원-결합 부분의 발현 및/또는 생산을 야기하는 조건 하에서 배양하는 단계, 및 항체 및/또는 이의 항원-결합 부분을 숙주 세포 또는 배양물로부터 단리시키는 단계를 포함한다.
- [0065] 본 발명의 또 다른 양상에서 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.
- [0066] 추가로 대상체에서 면역 반응을 향상시키는 방법이 제공되며, 이 방법은 유효량의 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0067] 추가 양상에서, 대상체에서 암을 치료 또는 예방하는 방법이 제공되며, 이 방법은 유효량의 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0068] 추가로 본 명세서에는 의약으로서 사용하기 위한, 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 약제학적 조성물이 제공된다. 본 발명은 또한 암의 치료에 사용하기 위한, 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0069] 또 다른 양상에서 본 발명은 제2 치료제, 예를 들어, 항암제와 함께 조합하여 별개로, 순차적으로 또는 동시에 사용하기 위한, 용도를 위한 항체 분자, 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 면역접합체, 또는 핵산 분자, 또는 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 치료 방법을 제공한다.
- [0070] 추가 양상에서 암의 치료를 위한 의약의 제조에서의, 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 약제학적 조성물의 용도가 제공된다.
- [0071] 본 발명은 또한 대상체에서 감염성 질환을 치료 또는 예방하는 방법을 제공하며, 이 방법은 유효량의 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0072] 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 진균 또는 기생충으로 이루어진 군으로부터의 모든 양상에서 선택될 수 있다. 일 실시형태에서, 감염성 질환은 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 감염이다.
- [0073] 또한 감염성 질환의 치료에 사용하기 위한, 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 약제학적 조성물이 제공된다.
- [0074] 추가로 감염성 질환의 치료를 위한 의약의 제조에서의 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 약제학적 조성물이 제공된다.
- [0075] 본 발명은 또한 대상체에서 감염성 질환을 치료 또는 예방하는 방법을 제공하며, 이 방법은 유효량의 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 면역접합체, 또는

는 본 명세서에 정의된 바와 같은 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

- [0076] 본 발명은 또한 인간 PD1 및 선택적으로 또한 시노몰거스 원숭이 PD1, 또는 이의 항원-결합 부분에 특이적으로 결합하는 항체 분자의 생산 방법을 제공하며, 이 방법은,
- [0077] (1) 비-인간 기원으로부터의 항-PD1 CDR을 인간 v-도메인 프레임워크 내에 그래프팅하여 인간화된 항-PD1 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분을 생산하는 단계;
- [0078] (2) CDR 내에 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 인간화된 항-PD1 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분의 클론의 라이브러리를 생성시키는 단계;
- [0079] (3) 인간 PD1 및 선택적으로 또한 시노몰거스 원숭이 PD1에 대한 결합에 대해서 라이브러리를 스크리닝하는 단계;
- [0080] (4) 인간 PD1 및 선택적으로 또한 시노몰거스 원숭이 PD1에 대한 결합 특이성을 갖는 스크리닝 단계 (3)로부터 클론을 선택하는 단계; 및
- [0081] (5) 단계 (4)로부터 선택된 클론으로부터 인간 PD1 및 선택적으로 또한 시노몰거스 원숭이 PD1, 또는 이의 항원-결합 부분에 특이적으로 결합하는 항체 분자를 생산하는 단계를 포함한다.
- [0082] 방법은, 인간화를 향상시키고/시키거나 인간 T 세포 에피토프 함량을 최소화시키고/시키거나 단계 (5)에서 생산된 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분의 제조 특성을 개선시키기 위해서, 단계 (4)에서 선택된 클론의 CDR 내의 특정 위치에서의 추가 탐색적 돌연변이생성에 기초하여, 단계 (4)에서 선택된 클론을 기반으로 하는 추가 클론을 생산하는 추가 단계를 포함할 수 있다.

## 도면의 간단한 설명

- [0083] **도 1. 인간 및 시노(cyno) PD1-Fc 단백질에 대한 라이브러리-유래된 항-PD1 Fab의 직접 결합 ELISA.** 클론은 다중 파지 선택 분지(multiple phage selection branch)로부터 유래되었고, 여기서 파지 집단은 각각의 라운드에서 바이오티닐화된 인간, 또는 시노몰거스 원숭이 PD1 단백질에 대해서 선택되었다. 표준 선택을 R2-R4로 넘버링한다. '해머-허그(Hammer-Hug)' 라운드를 R2-H 및 R3-H로 넘버링한다. 각각의 라운드의 선택 후, 라이브러리-유래된 클론(회색 원)을 인간(h) 및 시노(c) PD1 둘 다에 대해서, 원형질막 주위(periplasmically)-발현된 Fab 단백질로서 스크리닝하였다. 각각의 라운드에서 평균  $\pm$  SD 값을 회색 막대로 표현한다. 인간 IgG1 Fab로서 발현된 Mab005 v-도메인을 각각의 플레이트에 대한 양성 대조군으로서 사용하였다(회색 원).

**도 2A 및 도 2B. 인간 및 시노 PD1-Fc 단백질에 결합하는 정제된 단량체 Fab에 대한 직접 적정 ELISA.** 인간 Fab 포맷의 Mab005 및 라이브러리-유래된 클론을 인간(도 2A) 및 시노(도 2B) PD1-Fc 단백질에 대한 직접 결합 ELISA에서 적정하였다(nM 단위).

**도 3A 및 도 3B. 생식세포계열에 대한 돌연변이에 대한 CDR 잔기 관용의 분석.** 64개의 고유한 scFv 클론의 ELISA-양성 집단의 CDR에서 무린 아미노산 보유 빈도의 플롯을 각각  $V_L$ (도 3A; 서열번호 110, 114 및 116) 및  $V_H$ (도 3B; 서열번호 95, 92 및 106) 도메인에 대해서 제시한다. HCDR3 내 이외의, 인간/무린 잔기 돌연변이생성에 대해서 표적화된 잔기 만을 플로팅한다. X-축 상의 괄호 안에 제시된 CDR 잔기는 그래프팅을 위해서 사용된 인간 생식세포계열에서 발견된 것과 동일하였다(IGKV1-39 및 IGHV3-7). 두 플롯 모두에서 75%에서의 회색 파선은 인간 생식세포계열에 의한 무린 잔기 대체의 관용에 대한 컷-오프를 나타낸다.

**도 4A 및 도 4B. 인간 및 시노 PD1-Fc 단백질에 결합하는 라이브러리-유래된 IgG1(Null) 클론에 대한 직접 적정 ELISA.** 인간 IgG1 포맷의 Mab005 및 라이브러리-유래된 클론을 인간(도 4A) 및 시노(도 4B) PD1-Fc 단백질에 대한 직접 결합 ELISA에서 적정하였다(nM 단위).

**도 5A 내지 도 5D. 인간 및 시노 PD1-Fc 단백질에 결합하는 디자이너 IgG1 클론 IgG1-01 내지 IgG1-15에 대한 직접 적정 ELISA.** 인간 IgG1 포맷의 Mab005 및 디자이너 클론을 인간(도 5A, 도 5B) 및 시노(도 5C, 도 5D) PD1-Fc 단백질에 대한 직접 결합 ELISA에서 적정하였다(nM 단위).

**도 6A 및 도 6B. 알파스크린에서 IgG1 단백질의 에피토프 경쟁 분석**

항-PD1 IgG1 클론을 알파스크린 기술을 사용하여 에피토프 경쟁 검정에 적용하였다. 이 검정에서, 용액 중에서 인간 PD1 단백질에 결합하는 Mab005 IgG1에 대해서 경쟁시킴으로서 라이브러리-유래된(도 6A) 및 디자이너

(도 6B) IgG를 모체 Mab005 에피토프의 상대적인 친화도 및 보유에 대해서 분석하였다. 분석된 모든 클론은 PD1에 결합하는 Mab-005의 강력한 농도-의존적인 중화를 나타내었다.

**도 7A 내지 도 7C. 인간 PD1+ CHO 세포에 대한 유세포 분석 결합.** IgG1-Mab005(인간화), 리드(lead) 라이브러리-유래된(도 7A) 및 디자이너(도 7B) IgG를 인간 PD1을 발현하는 CHO-K1 세포에 대한 특이적 결합에 대해서 시험하였다. 거의 모든 클론의 경우 인간 PD1에 대해서 농도-의존적인 결합이 관찰되었고, IgG1-Mab005(인간화)에 대해서 더 약한 결합이 관찰되었다. 클론 IgG1-15가 유일한 제외였는데, IgG1-Mab005(인간화)보다 더 약한 결합을 나타낸다(도 7C).

**도 8A 및 도 8B. 시노 PD1+ CHO 세포에 대한 결합의 유세포 분석 시험.** IgG1-Mab005(인간화), 리드 라이브러리-유래된(도 8A) 및 디자이너(도 8B) IgG를 시노 PD1을 발현하는 CHO-K1 세포에 대한 특이적 결합에 대해서 시험하였다. 모든 클론의 경우 IgG1-Mab005(인간화)에 대해서 관찰된 것보다 상당히 더 강한 결합으로, 시노 PD1에 대해서 농도-의존적인 결합이 관찰되었다.

**도 9. 세포-기반 PD1/PD-L1 길항성 검정.** 인간 IgG1널 포맷의 리드 클론 IgG1-11, IgG1-14, IgG1-06D02 및 IgG1-16H10의 경우, 세포 표면에서 인간 PD1 기능의 길항성의 분석은, 모든 신규 클론이 IgG1-Mab005(인간화) 및 IgG4 니볼루맵 유사체 둘 다에 비해서 더 높은 상대적인 역가(potency)로 농도-의존적인 길항작용 활성을 나타냈다는 것을 나타내었다.

**도 10A 내지 도 10E. 표적외(off-target) 결합 분석 칩 어레이 검정.** IgG1-Mab005(인간화)에 대한 4975개의 인간 수용체에 대한 어레이-기반 결합 스크리닝을 수행한 후, PD1 및 추정 Mab005 표적외 결합 단백질을 암호화하는 플라스미드가 어레이되고, HEK293 세포를 형질주입시키는 데 사용되는 칩 상에서 결합 특이성의 확인적 분석을 수행하였다. 공동 암호화된 마커 ZS green에 대한 스크리닝에 의해서 모든 플라스미드의 효과적인 형질주입을 확인하였다(도 10A). 이어서 IgG1-Mab005(인간화)(도 10B), 아이소타입 IgG1(도 10C), 리톡시맵(도 10D) 및 1차 항체가 없는 것(도 10E)을 사용하여 별개의 칩을 2회 프로빙하였다. 이들 분석은, IgG1-Mab005(인간화)만 PD1에 대한 결합을 나타내었지만, IgG1-Mab005(인간화)는 또한 KDR, FZD5 및 ULBP2 단백질에 대한 예상치 못한 표적외 결합을 나타내었다는 것을 확인해 주었다.

**도 11A 내지 도 11T. 표적외 결합 분석 재-어레이 검정.** 관련 표적을 암호화하는 플라스미드가 어레이되고, HEK293 세포를 형질주입시키는 데 사용되는 칩 상에서 결합 특이성의 분석을 수행하였다. 공동 암호화된 마커 ZS green에 대한 스크리닝에 의해서 모든 플라스미드의 형질주입을 확인하였다(도 11A). 이어서 펌브롤리주맵 유사체(도 11B), 리톡시맵(도 11C), 아이소타입 IgG1(도 11D), mVH/mVL Mab005-IgG1(도 11E), IgG1-Mab005(인간화)(도 11F) 및 라이브러리-유래된 및 디자이너 리드 IgG(도 11G 내지 도 11T)를 사용하여 별개의 칩을 2회 프로빙하였다. 이들 분석은, mVH/mVL Mab005 IgG1(본래 무린 하이브리도마 v-도메인) 및 IgG1-Mab005(인간화)(인간화된 v-도메인) 둘 다가 PD1에 대한 결합을 나타내었을 뿐만 아니라 KDR, FZD5 및 ULBP2 단백질에 대한 예상치 못한 표적외 결합을 나타내었다는 것을 확인해 주었다. 이에 반해서, 리드 항체 중 어느 것(도 11G 내지 도 11T)도 PD1 이외의 임의의 단백질 상에서 측정 가능한 신호(즉, 결합)를 나타내지 않았다.

**도 12A 내지 도 12P. 일시적으로-형질주입된 HEK293 세포를 사용한 유세포 분석법에 의한 PD1 결합 분석.** 인간 PD1(회색선) 또는 ZS 녹색 마커(검정선)를 암호화하는 플라스미드가 일시적으로 형질주입된 HEK293 세포 상에서 결합 특이성의 분석을 수행하였다. 이어서 형질주입된 세포를 mVH/mVL Mab005-IgG1, IgG1-Mab005(인간화), 펌브롤리주맵 유사체, 아이소타입 IgG1 및 리드 항체의 하위세트(IgG1-06D02, IgG1-12H04, IgG1-05, IgG1-08)를 사용하여 염색하였다. 각각의 항체를 고( $5\mu\text{g}/\text{ml}$ )농도 및 보통( $1\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 농도로 반복적인 염색으로 사용하였다. 이들 분석은, 모든 항체(아이소타입 대조군 IgG1 이외의 것)가 PD1에 대한 결합을 나타내었지만, 어떠한 항체도 ZS-녹색 형질주입된 세포 상에서 측정 가능한 신호를 나타내지 않았음을 확인해 주었다.

**도 13A 내지 도 13P. 일시적으로-형질주입된 HEK293 세포를 사용한 유세포 분석법에 의한 FZD5 결합 분석.** 인간 FZD5(회색선) 또는 ZS 녹색 마커(검정선)를 암호화하는 플라스미드가 일시적으로 형질주입된 HEK293 세포 상에서 결합 특이성의 분석을 수행하였다. 이어서 형질주입된 세포를 mVH/mVL Mab005-IgG1, IgG1-Mab005(인간화), 펌브롤리주맵 유사체, 아이소타입 IgG1 및 리드 항체의 하위세트(IgG1-06D02, IgG1-12H04, IgG1-05, IgG1-08)를 사용하여 염색하였다. 각각의 항체를 고( $5\mu\text{g}/\text{ml}$ )농도 및 보통( $1\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 농도로 반복적인 염색으로 사용하였다. 이들 분석은, FZD5-발현 세포에 대해서 결합을 나타낸 유일한 항체는 mVH/mVL Mab005-IgG1 및 IgG1-Mab005(인간화)였음을 확인해 주었다.

**도 14A 내지 도 14P. 일시적으로-형질주입된 HEK293 세포를 사용한 유세포 분석법에 의한 KDR 결합 분석.** 인간

KDR(회색선) 또는 ZS 녹색 마커(검정선)를 암호화하는 플라스미드가 일시적으로 형질주입된 HEK293 세포 상에서 결합 특이성의 분석을 수행하였다. 이어서 형질주입된 세포를 mVH/mVL Mab005-IgG1, IgG1-Mab005(인간화), 램브롤리주맵 유사체, 아이소타입 IgG1 및 리드 항체의 하위세트(IgG1-06D02, IgG1-12H04, IgG1-05, IgG1-08)를 사용하여 염색하였다. 각각의 항체를 고( $5\mu\text{g}/\text{ml}$ )농도 및 보통( $1\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 농도로 반복적인 염색으로 사용하였다. 이들 분석은, KDR-발현 세포에 대해서 결합을 나타낸 유일한 항체는 mVH/mVL Mab005-IgG1 및 IgG1-Mab005(인간화)였음을 확인해 주었다.

**도 15A 내지 도 15P. 일시적으로-형질주입된 HEK293 세포를 사용한 유세포 분석법에 의한 ULBP2 결합 분석.** 인간 ULBP2(회색선) 또는 ZS 녹색 마커(검정선)를 암호화하는 플라스미드가 일시적으로 형질주입된 HEK293 세포 상에서 결합 특이성의 분석을 수행하였다. 이어서 형질주입된 세포를 mVH/mVL Mab005-IgG1, IgG1-Mab005(인간화), 램브롤리주맵 유사체, 아이소타입 IgG1 및 리드 항체의 하위세트(IgG1-06D02, IgG1-12H04, IgG1-05, IgG1-08)를 사용하여 염색하였다. 각각의 항체를 고( $5\mu\text{g}/\text{ml}$ )농도 및 보통( $1\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 농도로 반복적인 염색으로 사용하였다. 이들 분석은, ULBP2-발현 세포에 대해서 결합을 나타낸 유일한 항체는 mVH/mVL Mab005-IgG1 및 IgG1-Mab005(인간화)였음을 확인해 주었다.

**도 16A 내지 도 16F. 표적의 결합 분석 ELISA 검정.** IgG1-Mab005(인간화), mVH/mVL Mab005-IgG1, 라이브리리-유래된 클론 및 인간 IgG1널 포맷의 디자인어 클론을 인간 PD1(도 16A) 및 시노 PD1(도 16B), 인간 VEGFR2(도 16C) 및 레서스 VEGFR2(도 16D), 인간 FZD5(도 16E) 및 BSA(도 16F) 단백질에 대해서 직접 결합 ELISA에서 적정하였다( $\mu\text{g}/\text{ml}$  단위). 이들 분석은, 모든 항-PD1 항체가 PD1에 대한 결합을 나타냈을 뿐만 아니라, IgG1-Mab005(인간화) 및 mVH/mVL Mab005-IgG1은 VEGFR2 및 FZD5 단백질에 대한 측정 가능한 표적의 결합을 나타내었다는 것을 확인해 주었다.

**도 17. 바이코어(Biacore)에 의한 mVH/mVL Mab005-IgG1 및 IgG1-Mab005(인간화)의 VEGFR2 결합.** 인간 및 레서스 단백질 VEGFR2-his 단백질을 항-인간 IgG1-Fc 항체에 의해서 포획된, mVH/mVL Mab005-IgG1 및 IgG1-Mab005(인간화)에 대해서 직접 결합 ELISA에서 적정하였다(nM 단위). 이들 분석은, 항-PD1 항체 둘 다 VEGFR2 제조합 단백질에 대한 결합을 나타내었지만, 결합은 고농도의 가용성 분석물에서만 관찰되었다는 것을 확인해 주었다. 그 결과, 신뢰할 만한 KD 값이 생성될 수 없었다.

**도 18. 세포-기반 VEGFR2 효능성(agonism) 검정.** mVH/mVL Mab005-IgG1, IgG1-Mab005(인간화), 라이브리리-유래된 클론 및 인간 IgG1널 포맷의 디자인어 클론을 인간 VEGFR2 신호전달 검정에서 적정하였다(nM 단위). mVH/mVL Mab005-IgG1, IgG1-Mab005(인간화) 및 양성 대조군 단백질(인간 VEGF-165) 모두는 강한 농도-의존적인 VEGFR2 효능성을 유도하였다. 리드 클론 IgG1-04, IgG1-08, IgG1-06D02 및 IgG1-12H04는  $1\mu\text{M}$ 만큼 높은 농도에서도, 측정 가능한 효능성을 나타내지 않았다.

**도 19. IgG의 시차 주사 열량측정법(Differential Scanning Calorimetry: DSC).** IgG1널 형태의 하기 항체에 대한 DSC 검정 데이터: (mAb-1) IgG1-05, (mAb-2) IgG1-08, (mAb-3) IgG1-Mab005(인간화), (mAb-4) IgG1-06D02 및 (mAb-5) IgG1-12H04.

**도 20A 및 도 20B. 강제 산화(forced oxidation) 전 및 후 IgG로부터의 트립신 처리된(tryptic) 펩타이드의 역상 크로마토그래피 분석.** 역상 크로마토그램은 IgG1널 형태의 항체: IgG1-Mab005(인간화)(도 20A)는 최대 6개의 펩타이드가 산화 후 변화되지만, 리드 클론, 예컨대, IgG1-06D02(도 20B)는 단지 2개의 변형으로 산화에 더 높은 내성을 나타내었다는 것을 입증하였다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0084] 본 발명의 제1 양상에 따라서, 인간 PD1 및 또한 시노몰거스 원숭이 PD1, 또는 이의 항원-결합 부분에 특이적으로 결합하는 항체 분자가 제공되며, 여기서 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 하기를 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다:

[0085] 하기 순서의 서열의 아미노산: G-F-T-F-S-S-Y-L 또는 임의의 아미노산(예를 들어 A/D/E/F/G/H/I/N/P/Q/S/T/V/W/Y)-M-S를 갖는 HCDR1(서열번호 26);

[0086] 하기 순서의 서열의 아미노산: V 또는 V-A-T/N-I-S-G-G-A/S-E/N-T/K-Y-Y-P/V-D-S-V-K-G의 보존적 치환을 갖는 HCDR2(서열번호 27); 및

[0087] 하기 순서의 서열의 아미노산: Q 또는 임의의 아미노산(예를 들어 T/L/M/N)-L 또는 임의의 아미노산(예를 들어 G/K/M/Q/S/V)-Y 또는 Y의 보존적 치환(예를 들어 H)-Y 또는 임의의 아미노산(예를 들어 A/D/F/G/M-

A/D/E/F/I/K/M/S/W)-F 또는 임의의 아미노산(예를 들어 A/D/EI/K/M/S/W)-D-Y을 갖는 HCDR3(서열번호 28).

- [0088] 일부 양상에서 본 명세서에 제공된 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분은 서열번호 20 또는 서열번호 21을 포함하거나 이것으로 이루어진 PD1 단백질에 특이적으로 결합한다. 일부 양상에서 본 명세서에 제공된 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분은 서열번호 20 또는 서열번호 21과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 PD1 단백질에 특이적으로 결합한다.
- [0089] 본 발명의 일 양상에서, 항체 분자 또는 항원-결합 부분의 HCDR1은 서열 GFTFSSYMMS(국제 특허 공개 제 W02015/085847A1호; 미국 특허 제US2016/376367A1호에 개시된 서열번호 29; MAb005 무린/인간화된 항체 HCDR1)을 제외할 수 있고/있거나 항체 분자 또는 항원-결합 부분의 HCDR2는 서열 TISGGGANTYYPDSVKG(국제 특허 공개 제 W02015/085847A1호; 미국 특허 제US2016/376367A1호에 개시된 서열번호 30; MAb005 무린/인간화된 항체 HCDR2)를 제외할 수 있고/있거나 항체 분자 또는 항원-결합 부분의 HCDR3은 서열 QLYYFDY(국제 특허 공개 제 W02015/085847A1호; 미국 특허 제US2016/376367A1호에 개시된 서열번호 31; MAb005 무린/인간화된 항체 HCDR3)를 제외할 수 있다.
- [0090] 본 발명에 따른 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 하기를 갖는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다:
- [0091] 하기 순서의 서열의 아미노산: R-A-S-Q-S-I-S 또는 S-S의 보존적 치환 또는 S-Y의 보존적 치환 또는 Y-L의 보존적 치환 또는 L-N/T의 보존적 치환 또는 N 또는 T의 보존적 치환을 갖는 LCDR1(서열번호 32);
- [0092] 하기 순서의 서열의 아미노산: A/T 또는 A 또는 T-A-S의 보존적 치환 또는 S-S-L-Q의 보존적 치환 또는 임의의 아미노산(예를 들어, A/H)-S 또는 임의의 아미노산(예를 들어, D, Y)을 갖는 LCDR2(서열번호 33); 및
- [0093] 하기 순서의 서열의 아미노산: Q-Q-S 또는 임의의 아미노산(예를 들어, V)-Y-S-T 또는 임의의 아미노산(예를 들어, I)-P-W 또는 임의의 아미노산(예를 들어, L)-T를 갖는 LCDR3(서열번호 34).
- [0094] 본 발명의 일 양상에서, 항체 분자 또는 항원-결합 부분의 LCDR1은 서열 LASQTIGTWLT(국제 특허 공개 제 W02015/085847A1호; 미국 특허 제US2016/376367A1호에 개시된 서열번호 35; MAb005 무린/인간화된 항체 LCDR1)를 제외할 수 있고/있거나 항체 분자 또는 항원-결합 부분의 LCDR2는 서열 TATSLAD(국제 특허 공개 제 W02015/085847A1호; 미국 특허 제US2016/376367A1호에 개시된 서열번호 36; MAb005 무린/인간화된 항체 LCDR2)를 제외할 수 있고/있거나 항체 분자 또는 항원-결합 부분의 LCDR3은 서열 QQVYSIPWT(국제 특허 공개 제 W02015/085847A1호; 미국 특허 제US2016/376367A1호에 개시된 서열번호 37; MAb005 무린/인간화된 항체 LCDR3)를 제외할 수 있다.
- [0095] 일부 양상에서, 본 명세서에는 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 개시되며, 여기서 항체는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역 및 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되,
- [0096] (a) 상기 HCDR1은 아미노산 서열 G-F-T-F-S-S-Y-X<sub>1</sub>-M-S(식 중, X<sub>1</sub>은 L 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, A, D, E, F, G, H, I, N, P, Q, S, T, V, W 또는 Y)임)(서열번호 26)를 포함하고;
- [0097] (b) 상기 HCDR2는 아미노산 서열 X<sub>1</sub>-A-X<sub>2</sub>-I-S-G-G-G-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub>-Y-Y-X<sub>6</sub>-D-S-V-K-G(식 중, X<sub>1</sub>은 V 또는 V의 보존적 치환이고, X<sub>2</sub>는 T 또는 N이고, X<sub>3</sub>은 A 또는 S이며, X<sub>4</sub>는 E 또는 N이고, X<sub>5</sub>는 T 또는 K이며, X<sub>6</sub>은 P 또는 V임)(서열번호 27)를 포함하며;
- [0098] (c) 상기 HCDR3은 아미노산 서열 X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub>-D-Y(식 중, X<sub>1</sub>은 Q 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, T, L, M 또는 N)이고, X<sub>2</sub>는 L 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, G, K, M, Q, S 또는 V)이며, X<sub>3</sub>은 Y 또는 Y의 보존적 치환(예를 들어, H)이고, X<sub>4</sub>는 Y 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, A, D, F, G, M, E, I, K, S 또는 W)이며, X<sub>5</sub>는 F 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어 A, D, E, I, K, M, S 또는 W)임)(서열번호 28)를 포함하고;
- [0099] (d) 상기 LCDR1은 아미노산 서열 R-A-S-Q-S-I-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub>(식 중, X<sub>1</sub>은 S 또는 S의 보존적 치환이고, X<sub>2</sub>는 S 또는 S의 보존적 치환이며, X<sub>3</sub>은 Y 또는 Y의 보존적 치환이고, X<sub>4</sub>는 L 또는 L의 보존적 치환이며, X<sub>5</sub>는 N 또는 T 또는 N 또는 T의 보존적 치환임)(서열번호 32)를 포함하며;

- [0100] (e) 상기 LCDR2는 아미노산 서열  $X_1$ -A- $X_2$ -S-L- $X_3$ - $X_4$ (식 중,  $X_1$ 은 A 또는 T 또는 A 또는 T의 보존적 치환이고,  $X_2$ 는 S 또는 S의 보존적 치환이며,  $X_3$ 은 Q 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, A 또는 H)이고,  $X_4$ 는 S 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, D 또는 Y)임)(서열번호 33)를 포함하고;
- [0101] (f) 상기 LCDR3은 아미노산 서열 Q-Q- $X_1$ -Y-S- $X_2$ -P- $X_3$ -T(식 중,  $X_1$ 은 S 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, V)이고,  $X_2$ 는 T 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, I)이며,  $X_3$ 은 W 또는 임의의 다른 아미노산(예를 들어, L)임)(서열번호 34)를 포함한다.
- [0102] 일부 양상에서, 본 명세서에는 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 개시되며, 여기서 항체는 아미노-말단에서 카복실-말단 순서로, FR1-HCDR1-FR2-HCDR2-FR3-HCDR3-FR4를 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역 및 아미노-말단에서 카복실-말단 순서로, FR1-LCDR1-FR2-LCDR2-FR3-LCDR3-FR4를 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하며, 여기서 HCDR1은 서열번호 26이고, HCDR2는 서열번호 27이며, HCDR3은 서열번호 28이고, LCDR1은 서열번호 32이며, LCDR2는 서열번호 33이고, LCDR3은 서열번호 34이며, 여기서 중쇄 FR1, FR2, FR3 및 FR4 아미노산 서열은 서열번호 120의 중쇄 FR1, FR2, FR3 및 FR4 아미노산 서열이고(표 2 참고), 경쇄 FR1, FR2, FR3 및 FR4 아미노산 서열은 서열번호 122의 경쇄 FR1, FR2, FR3 및 FR4 아미노산 서열이다(표 2 참고).
- [0103] 본 명세서에 설명된 바와 같이, 본 발명자들은 처음으로 국제 특허 공개 제WO2015/085847A1호; 미국 특허 제US2016/376367A1호에 개시된 뮤린 항-PD1 항체 Mab005로부터 유래된 CDR 서열을 사용하여 다수의 최적화된 항-PD1 항체 분자를 생성시키는 것을 성공시켰다. 본 발명의 실시형태에서, 이들 항체 분자는(최대로 정확한 영양류 독성 및 pk 연구를 가능하게 하기 위해서) 인간 PD1뿐만 아니라 시노물거스 원숭이 PD1 둘 다에 대한 결합 특이성 및 친화도에서 동등성을 갖도록 선택되었다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 최적화된 항체 분자의 추가 선별은 PD1의 시노물거스 원숭이 오쏘로그에 대한 개선된 결합, PD1/PD-L1 신호전달의 중화에서의 개선된 역가, 개선된 가변 도메인 안정성, 높은 발현 수율 및/또는 감소된 면역원성 가능성을 제공하였다. 중요하게는, 이들 항체는 또한 인간 수용체 KDR(VEGFR2로서도 공지됨), FZD5 및 ULBP2에 대한 표적의 결합을 제거함으로써, Mab005에 비해서 PD1 결합의 특이성을 극적으로 개선시켰다.
- [0104] 일부 양상에서, 본 발명의 바람직한 최적화된 항-PD1 항체 분자는 상응하는 뮤린 CDR 또는 다른(예컨대, 프레임워크) 아미노산 위치에서 최대 수의 인간 생식세포계열 치환을 가질 필요는 없다. 하기의 실험 부분에서 설명된 바와 같이, 본 발명자들은 "최대 인간화된" 항체 분자가 항-PD1 결합 특성 및/또는 다른 바람직한 특징의 관점에서 반드시 "최대 최적화"되는 것은 아님을 발견하였다.
- [0105] 일부 실시형태에서, 본 발명의 최적화된 항-PD1 항체 분자는 시노 PD1 상의 기능적으로 동일한 에피토프에 대한 결합에서 Mab005 항체(WO2015/085847A1; US2016/376367A1)에 비해서 개선된다. 하기 실험 부분에 설명된 바와 같이, 본 발명자들은 일부 최적화된 클론이 단량체 시노 PD1 단백질에 대한 결합에 대해서 32nM보다 더 낮은 바이코어 KD 값(예를 들어, 2.7 내지 15nM) 및 시노 PD1-발현 CHO 세포의 유세포 분석 염색에서 6.5nM보다 더 낮은 EC50 값(예를 들어, 0.86 내지 2.17nM)을 나타낸다는 것을 발견하였다.
- [0106] 본 발명은 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분의 아미노산 서열에 대한 변형을 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 활성 및/또는 친화도를 향상시키거나 감소시킨 변이체뿐만 아니라 그들의 특성에 유의하게 영향을 미치지 않는 기능적으로 동등한 가변 영역 및 CDR을 포함하는 항체 분자 및 이의 상응하는 항원-결합 부분을 포함한다. 예를 들어, 아미노산 서열을 돌연변이시켜 PD1에 대한 원하는 결합 친화도를 갖는 항체를 얻을 수 있다. 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입뿐만 아니라, 하나의 잔기에서부터 100개 이상의 잔기를 포함하는 폴리펩타이드까지의 길이 범위의 아미노- 및/또는 카복실-말단 융합을 포함하는 삽입이 예상된다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체 분자 또는 에피토프 태그에 결합된 항체 분자를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 혈액 순환에서 항체의 반감기를 증가시키는 효소 또는 폴리펩타이드의 항체의 N- 또는 C-말단에 대한 융합을 포함한다.
- [0107] 본 발명의 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 글리코실화 및 비글리코실화 폴리펩타이드뿐만 아니라 다른 번역 후 변형을 갖는 폴리펩타이드, 예를 들어, 상이한 당과의 글리코실화, 아세틸화 및 인산화를 포함할 수 있다. 본 발명의 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 예를 들어, 글리코실화 부위를 형성 또는 제거하기 위해 하나 이상의 아미노산 잔기를 첨가, 제거 또는 대체함으로써 돌연변이되어 이러한 번역 후 변형을 변경할 수 있다.
- [0108] 본 발명의 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 예를 들어 아미노산 치환에 의해 변형되어 항체에서 잠재적 단백질 분해 부위를 제거할 수 있다.

- [0109] 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분에서, HCDR1은 아미노산 서열: G-F-T-F-S-S-Y-A/D/E/F/H/I/L/N/P/Q/S/T/V/W/Y-M-S(서열번호 55)를 가질 수 있고; HCDR2는 아미노산 서열: V-A-T/N-I-S-G-G-S/A-E/N-T/K-Y-Y-V/P-D-S-V-K-G(서열번호 56)를 가질 수 있고; HCDR3은 아미노산 서열: Q/L/M/N/T-L/G/K/Q/M/S/V-Y/H-Y/A/D/G/F/M-F/A/D/E/I/K/M/S/W/Y-D-Y(서열번호 57)를 가질 수 있다.
- [0110] 예를 들어, HCDR1은 아미노산 서열: G-F-T-F-S-S-Y-L/A/S-M-S(서열번호 58)를 가질 수 있고; HCDR2는 아미노산 서열: V-A-T-I-S-G-G-S/A-E/N-T/K-Y-Y-V-D-S-V-K-G(서열번호 59)를 가질 수 있고; HCDR3은 아미노산 서열: Q-L/V-Y-Y/G/F/A-F/Y/A-D-Y(서열번호 60)를 가질 수 있다.
- [0111] 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분에서, LCDR1은 아미노산 서열: R-A-S-Q-T/S-I-G/S-T/S-W/Y-L-T/N(서열번호 61)을 가질 수 있고; LCDR2는 아미노산 서열 T/A-A-T/S-S-L-A/Q/H-D/S(서열번호 62)를 가질 수 있고; LCDR3은 아미노산 서열: Q-Q-V/S-Y-S-I/T-P-W/L-T(서열번호 63)를 가질 수 있다.
- [0112] 예를 들어, LCDR1은 아미노산 서열: R-A-S-Q-S-I-G/S-T/S-W/Y-L-N(서열번호 64)을 가질 수 있고; LCDR2는 아미노산 서열 A-A-S-S-L-Q/H-S(서열번호 65)를 가질 수 있고; LCDR3은 아미노산 서열: Q-Q-S-Y-S-I/T-P-W-T(서열번호 66)를 가질 수 있다.
- [0113] 본 발명의 구체적인 실시형태에서, 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 하기를 포함할 수 있다:
- [0114] (a) 아미노산 서열
- [0115] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSETYYVDSVKG(서열번호 48; HCDR2), QLYGFDY(서열번호 40; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QQSYSIPWT(서열번호 47; LCDR3)[클론 06D02]; 또는
- [0116] (b) 아미노산 서열
- [0117] GFTFSSYAMS(서열번호 67; HCDR1), VATISGGGSKYYVDSVKG(서열번호 68; HCDR2), QLYGFDY(서열번호 40; HCDR3), RASQSISTWLN(서열번호 52; LCDR1), AATSLAS(서열번호 69; LCDR2) 및 QQSYSIPWT(서열번호 47; LCDR3)[클론 08F04];
- [0118] (c) 아미노산 서열
- [0119] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGAETYYVDSVKG(서열번호 70; HCDR2), QLYFFDY(서열번호 45; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), TASSLQD(서열번호 71; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 11G05];
- [0120] (d) 아미노산 서열
- [0121] GFTFSSYAMS(서열번호 67; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYYADY(서열번호 72; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), TASSLAD(서열번호 73; LCDR2) 및 QQSYSIPWT(서열번호 47; LCDR3)[클론 12E02];
- [0122] (e) 아미노산 서열
- [0123] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGAEKYYVDSVKG(서열번호 49; HCDR2), QLYGFDY(서열번호 40; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQD(서열번호 50; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 12H04];
- [0124] (f) 아미노산 서열
- [0125] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSNTYYVDSVKG(서열번호 51; HCDR2), QLYGFDY(서열번호 40; HCDR3), RASQSISTWLN(서열번호 52; LCDR1), AASSLAS(서열번호 53; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 12B07];
- [0126] (g) 아미노산 서열
- [0127] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGAEKYYVDSVKG(서열번호 49; HCDR2), QLYGFDY(서열번호 40; HCDR3), RASQSISSYLN(서열번호 74; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 13G02];

- [0128] (h) 아미노산 서열
- [0129] GFTFSSYSMS(서열번호 75; HCDR1), VATISGGGAETYYVDSVKG(서열번호 70; HCDR2), QLYGFDY(서열번호 40; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QSYSIPWT(서열번호 47; LCDR3)[클론 14C07];
- [0130] (i) 아미노산 서열
- [0131] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSNKYYVDSVKG(서열번호 68; HCDR2), QLYGFDY(서열번호 40; HCDR3), RASQSIGTYLN(서열번호 76; LCDR1), AATSLQS(서열번호 77; LCDR2) 및 QSYSIPWT(서열번호 47; LCDR3)[클론 15C10];
- [0132] (j) 아미노산 서열
- [0133] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGAETYYVDSVKG(서열번호 49; HCDR2), QLYAFDY(서열번호 46; HCDR3), RASQSIGSYLN(서열번호 78; LCDR1), TASSLQS(서열번호 79; LCDR2) 및 QSYSIPWT(서열번호 47; LCDR3)[클론 16C07];
- [0134] (k) 아미노산 서열
- [0135] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QVYYFDY(서열번호 44; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLHS(서열번호 54; LCDR2) 및 QSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 16H10];
- [0136] (l) 아미노산 서열
- [0137] GFTFSSYPMS(서열번호 80; HCDR1), VATISGGGSETYYVDSVKG(서열번호 48; HCDR2), QLYYYDY(서열번호 81; HCDR3), RASQSISTWLN(서열번호 52; LCDR1), AASSLQY(서열번호 82; LCDR2) 및 QSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 17B11];
- [0138] (m) 아미노산 서열
- [0139] GFTFSSYAMS(서열번호 67; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYYADY(서열번호 72; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-01(VL 도메인은 JK4 서열을 함유함)];
- [0140] (n) 아미노산 서열
- [0141] GFTFSSYAMS(서열번호 67; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYYADY(서열번호 72; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-02(VL 도메인은 JK1 서열을 함유함)];
- [0142] (o) 아미노산 서열
- [0143] GFTFSSYAMS(서열번호 67; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYYADY(서열번호 72; HCDR3), RASQSISSYLN(서열번호 74; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-03(VL 도메인은 JK1 서열을 함유함)];
- [0144] (p) 아미노산 서열
- [0145] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QVYYFDY(서열번호 44; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-04(VL 도메인은 JK4 서열을 함유함)];
- [0146] (q) 아미노산 서열
- [0147] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QVYYFDY(서열번호 44; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-05(VL 도메인은 JK1 서열을 함유함)];
- [0148] (r) 아미노산 서열
- [0149] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QVYYFDY(서열번호 44; HCDR3),

RASQSISSYLN(서열번호 74; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-06(VL 도메인은 JK1 서열을 함유함)];

[0150] (s) 아미노산 서열

[0151] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYGFDY(서열번호 40; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-07(VL 도메인은 JK4 서열을 함유함)];

[0152] (t) 아미노산 서열

[0153] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYGFDY(서열번호 40; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-08(VL 도메인은 JK1 서열을 함유함)];

[0154] (u) 아미노산 서열

[0155] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYGFDY(서열번호 40; HCDR3), RASQSISSYLN(서열번호 74; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-09(VL 도메인은 JK1 서열을 함유함)];

[0156] (v) 아미노산 서열

[0157] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYFFDY(서열번호 45; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-10(VL 도메인은 JK4 서열을 함유함)];

[0158] (w) 아미노산 서열

[0159] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYFFDY(서열번호 45; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-11(VL 도메인은 JK1 서열을 함유함)];

[0160] (x) 아미노산 서열

[0161] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYFFDY(서열번호 45; HCDR3), RASQSISSYLN(서열번호 74; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-12(VL 도메인은 JK1 서열을 함유함)];

[0162] (y) 아미노산 서열

[0163] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYAFDY(서열번호 46; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-13(VL 도메인은 JK4 서열을 함유함)];

[0164] (z) 아미노산 서열

[0165] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYAFDY(서열번호 46; HCDR3), RASQSISSWLN(서열번호 41; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-14(VL 도메인은 JK1 서열을 함유함)];

[0166] (z1) 아미노산 서열

[0167] GFTFSSYLMS(서열번호 38; HCDR1), VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39; HCDR2), QLYAFDY(서열번호 46; HCDR3), RASQSISSYLN(서열번호 74; LCDR1), AASSLQS(서열번호 42; LCDR2) 및 QQSYSTPWT(서열번호 43; LCDR3)[클론 IgG1-15(VL 도메인은 JK1 서열을 함유함)].

[0168] 일부 양상에서, 본 발명은 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하며, 여기서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되,

[0169] (a) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 4

1)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;

- [0170] (b) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QVYFFDY(서열번호 44)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0171] (c) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QLYFFDY(서열번호 45)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0172] (d) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QLYAFDY(서열번호 46)의 HCDR3을 포함하며; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0173] (e) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEYYVDSVKG(서열번호 48)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하며; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSIPWT(서열번호 47)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0174] (f) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGAEKYYVDSVKG(서열번호 49)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQD(서열번호 50)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0175] (g) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEYYVDSVKG(서열번호 48)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSIPWT(서열번호 47)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0176] (h) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGAEKYYVDSVKG(서열번호 49)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQD(서열번호 50)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0177] (i) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSNTYYVDSVKG(서열번호 51)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 52)의 LCDR1, AASSLAS(서열번호 53)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나;
- [0178] (j) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QVYFFDY(서열번호 44)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLHS(서열번호 54)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하거나; 또는
- [0179] (k) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QVYFFDY(서열번호 44)의 HCDR3을 포함하고; 상기 VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함한다.
- [0180] 일부 양상에서, 본 명세서에는 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 개시되며, 여기서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되, 여기서 VH 영역은 표 17의 VH 영역 아미노산 서열 중 임의의 하나를 포함하고, VL 영역은 표 17의 VL 영역 아미노산 서열 중 임의의 하나를 포함한다.
- [0181] 일부 양상에서, 본 명세서에는 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 개시되며, 여기서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되,
- [0182] (a) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 1을 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 2를 포함하거나;
- [0183] (b) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 3을 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 4를 포함하거나;
- [0184] (c) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 5를 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 6을 포함하거나;
- [0185] (d) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 7을 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 8을 포함하거나;

- [0186] (e) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 9를 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 10을 포함하거나; 또는
- [0187] (f) 상기 VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 11을 포함하고, 상기 VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 12를 포함한다.
- [0188] 일부 양상에서, 본 명세서에는 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 개시되며, 여기서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하되,
- [0189] (a) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 1과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 2와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하거나;
- [0190] (b) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 3과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 4와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하거나;
- [0191] (c) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 5와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 6과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하거나;
- [0192] (d) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 7과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 8과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하거나;
- [0193] (e) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 9와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 10과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하거나;
- [0194] (f) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 11과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하고, VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 12와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일하다. 일부 양상에서, 항-PD1 항체의 CDR 아미노산 서열은 언급된 서열 내의 CDR 아미노산 서열과 100% 동일한 반면, FR 아미노산 서열은 언급된 서열 내의 FR 아미노산 서열과 100% 미만 동일하다.
- [0195] 일부 양상에서, 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 또는 항원-결합 부분은 단리될 수 있다.
- [0196] 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 본 명세서에 개시된 CDR의 세트를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 PD1에 대한 결합에 대해서 교차-경쟁할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 단리된 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하며, 여기서 항체 또는 항원-결합 부분은 본 명세서에 개시된 CDR의 세트를 포함하는 항체 또는 항원-결합 부분과 PD1에 대한 결합에 대해서 교차-경쟁하고; (a) 완전 생식세포계열 인간 프레임워크 아미노산 서열을 포함하고/하거나; (b) 인간 PD1 및 시노물거스 PD1에 특이적으로 결합하고/하거나; (c) 인간 PD-L1에 대한 인간 PD1의 결합을 260ng/ml보다 더 낮은 EC50으로 길항작용하고/하거나; (d) 32nM보다 더 낮은 KD로 단량체 시노물거스 PD1에 결합하고/하거나; (e) 시노 PD1-발현 세포에 6.5nM보다 더 낮은 EC50으로 결합하고/하거나; (f) 시노물거스 PD1 및 인간 PD1 상의 기능적으로 동일한 에피토프에 결합하고/하거나; (g) L2CDR2에서 높은 MHC 클래스 II 결합 친화도를 갖는 인간 생식세포계열 펩타이드 서열을 포함하고/하거나; (h) 항체 Mab005의 가변 도메인 서열을 포함하는 항-PD1 항체에 비해서 감소된 수의 면역원성 펩타이드를 포함하고/하거나; (i) 항체 Mab005의 가변 도메인 서열을 포함하는 항-PD1 항체에 비해서 감소된 면역원성을 나타내고/내거나; (j) 탈면역된 VL 영역(예를 들어, 완전 탈면역된 VL 영역)을 포함하고/하거나; (k) KDR, FZD5, ULBP2 및 EPHB6 중 하나 이상에 대한 결합을 나타내지 않고/않거나; (l) KDR, FZD5, ULBP2

및 EPHB6 중 하나 이상을 효능작용시키지 않거나 최소한으로 효능작용한다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 항원-결합 부분의 KD 값은 바이아코어 분석에 의해서 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 항원-결합 부분의 EC50 값은 PD-1 발현 세포(예를 들어, CHO 세포)의 유세포 분석 염색에 의해서 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, KDR, FZD5, ULBP2 또는 EPHB6에 대한 결합은 유세포 분석법 분석에 의해서 결정될 수 있다.

[0197] 일부 실시형태에서, 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분은 낮은 면역원성을 갖는다. 특정 경우에, 항체 또는 항원-결합 부분은 GFTFSSYMS(서열번호 29)의 HCDR1, TISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 30)의 HCDR2, QLYYFDY(서열번호 31)의 HCDR3, LASQTIGTWLT(서열번호 35)의 LCDR1, TATSLAD(서열번호 36)의 LCDR2, 및 QQVYSIPWT(서열번호 37)의 LCDR3을 포함하는 항-PD1 항체에 비해서 감소된 면역원성을 나타낸다. 일부 예에서, 항체 또는 항원-결합 부분의 면역원성 위험은 항체 또는 부분에서(예를 들어, 항체 또는 부분의 가변 영역에서) T 세포 에피토프의 위치를 식별함으로써 *in silico*로 결정될 수 있다.

[0198] 예를 들어, 항체 또는 항원-결합 부분 내의 T 세포 에피토프는 iTope<sup>TM</sup>를 사용함으로써 식별될 수 있다. iTope<sup>TM</sup>를 사용하여 인간 MHC 클래스 II에 대한 무차별 고친화도 결합을 갖는 펩타이드에 대한 VL 영역 및 VH 영역 서열을 분석하였다. 무차별 고친화도 MHC 클래스 II 결합 펩타이드는 약물 단백질의 임상 면역원성에 대한 높은 위험 지표인 T 세포 에피토프의 존재와 상관 관계가 있는 것으로 생각된다. iTope<sup>TM</sup> 소프트웨어는 34개의 인간 MHC 클래스 II 대립유전자의 개방-말단 결합 홈 내에서 펩타이드의 아미노산 측쇄와 특이적 결합 포켓(특정 포켓 위치; p1, p4, p6, p7 및 p9) 간의 선호되는 상호작용을 예측한다. 이들 대립유전자는 임의의 특정 민족 집단에서 가장 많이 발견된 것에 대한 가중치를 부여하지 않고, 전세계에서 발견된 가장 일반적인 HLA-DR 대립유전자를 나타낸다. 20개의 대립유전자는 '개방' p1 구성을 포함하고, 14개는 83번 위치의 글리신이 발린으로 치환되는 '폐쇄' 구성(closed configuration)을 포함한다. 주요 결합 잔기의 위치는 시험 단백질 서열에 걸쳐 있는 8개의 아미노산에 의해 중첩되는 9량체 펩타이드의 인 실리코 생성에 의해 달성된다. 이 과정은 MHC 클래스 II 분자에 결합하거나 결합하지 않는 펩타이드 사이에서 높은 정확도로 성공적으로 구별된다.

[0199] 또한, 다른 단백질 서열의 시험관내 인간 T 세포 에피토프 매핑 분석에 의해 이전에 확인된 T 세포 에피토프에 대한 매칭을 위해서 TCED<sup>TM</sup>(T Cell Epitope Database<sup>TM</sup>) 검색을 사용하여, VL 및 VH 영역 서열을 분석함으로써 항체 또는 항원-결합 부분 내의 T 세포 에피토프를 식별할 수 있다. TCED<sup>TM</sup>은 관련이 없는 단백질 및 항체 서열로부터 유래된 펩타이드의 대규모(10,000개 초과)의 펩타이드) 데이터베이스에 대해 임의의 시험 서열을 검색하는 데 사용된다.

[0200] 일부 실시형태에서, 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분은 낮은 면역원성을 나타낼 수 있는데, 그 이유는 항체 또는 부분은 이의 서열 내의 하기 펩타이드 중 하나 이상을 적은 수로 갖기 때문이다: 고친화도 외부물질('HAF' - 고 면역원성 위험), 저친화도 외부물질('LAF' - 더 낮은 면역원성 위험) 및/또는 TCED+(TCED<sup>TM</sup> 데이터베이스에서 이미 식별된 에피토프).

[0201] 일부 실시형태에서, 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분은 이의 서열 내에 높은 생식세포계열 에피토프(GE) 함량을 가질 수 있다. 일부 예에서, 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분은 이의 서열 내에(예를 들어, VL 및/또는 VH 영역 서열 내에) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개(또는 20개 초과)의 생식세포계열 에피토프를 갖는다. 생식세포계열 에피토프는 높은 MHC 클래스 II 결합 친화도를 갖는 인간 생식세포계열 펩타이드 서열로서 정의될 수 있다. 생식세포계열 에피토프 9량체 펩타이드는 광범위한 생식세포계열 펩타이드를 사용한 이전 연구에서 검증된 바와 같이 T 세포 관용으로 인해서 면역원성 가능성을 갖지 않을 것이다. 중요하게는, 이러한 생식세포계열 v-도메인 에피토프(인간 항체 불변 영역에서 유사한 서열에 의해 추가로 제공됨)는 또한 항원 제시 세포의 막에서 MHC 클래스 II 점유에 대해서 경쟁하여, T 세포 자극에 필요한 '활성 역치'를 달성하기에 충분한 외래 펩타이드 제시 위험을 감소시킨다. 따라서 높은 GE 함량은 항체 치료제의 임상 개발에서 유리한 품질이고, 낮은 면역원성을 제공할 수 있다. 일부 예에서, 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분은 LCDR2 내에 높은 MHC 클래스 II 결합 친화도(예를 들어, 생식세포계열 에피토프)를 갖는 인간 생식세포계열 펩타이드 서열을 포함한다.

[0202] 특정 실시형태에서, 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분은 항체 Mab005의 가변 도메인 서열을 포함하는 항-PD1 항체에 비해서 중쇄 및 경쇄 가변 영역 둘 다의 프레임워크에서 발견되는 감소된 수의 HAF, LAF 및/또는 TCED+ 에피토프를 가질 수 있다(표 2). 일부 실시형태에서, HAF, LAF 및/또는 TCED+ 에피토프는 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분의 VL 및/또는 VH 영역 서열에 존재하지 않는다.

- [0203] 예를 들어, Mab005의 LCDR-1에서 발견되는 TCED+ 및 HAF 펩타이드 'VTITCLASQ'(서열번호 83)는 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분에서 이 서열을 경쇄 GE 'VTITCRASQ'(서열번호 84)로 전환시키는, 6번 위치에서 돌연변이 L>R에 의해서 제거될 수 있다.
- [0204] 일부 실시형태에서, Mab005의 LCDR-1에서 발견되는 LAF 펩타이드 'IGTWLTWYQ'(서열번호 85)는, 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분에서 이 서열을 'ISSWLNWYQ'(서열번호 86)로 전환시키는, 4번 위치에서 단일 류린 잔기 W 만을 보유함으로써 제거될 수 있다(표 12).
- [0205] 일부 실시형태에서, Mab005 HAF 펩타이드 'LLIYTATSL'(서열번호 87) 및 'LIYTATSLA'(서열번호 88), 및 LAF 펩타이드 'IYTATSLAD'(서열번호 89)는 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분에서 류린 서열 'TATSLAD'(서열번호 36)로부터의 완전 생식세포계열 서열 'AASSLQS'(서열번호 42)로의 LCDR2의 돌연변이에 의해서 GE 서열로 전환되거나 제거될 수 있다.
- [0206] Mab005 FW3/LCDR3 영역은 또한 LAF 펩타이드 'YYCQQVYSI'(서열번호 90)를 암호화한다. 일부 실시형태에서, 이러한 에피토프는 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분에서 6번 위치에서 생식세포계열화 돌연변이 V>S에 의해서 제거될 수 있다.
- [0207] Mab005의 VH 영역에서, 펩타이드 서열 'LYYFDYWQ'(서열번호 91)(HCDR3 및 FW4에 걸쳐 있음)는 LAF인 것을 발견하였다. 일부 실시형태에서, 이러한 펩타이드에서 3번 위치에서의 돌연변이 Y>A는 항-PD1 항체 또는 항원-결합 부분에서 이러한 에피토프의 제거를 가능하게 한다(표 4, 표 12).
- [0208] 용어 "교차-경쟁한다", "교차-경쟁", "교차-차단한다", "교차-차단된" 및 "교차-차단하는"은 본 명세서에서 표적 PD1(예를 들어, 인간 PD1)에 대한 본 발명의 항-PD1 항체의 알로스테릭(allosteric) 조절을 통해서 직접적으로 또는 간접적으로 결합을 방해하는 항체 또는 이의 부분의 능력을 의미하도록 상호 교환 가능하게 사용된다. 항체 또는 이의 부분이 표적에 대한 또 다른 것의 결합을 방해할 수 있는 정도, 따라서 그것이 본 발명에 따라서 교차-차단 또는 교차-경쟁한다고 지칭될 수 있는지의 여부는 경쟁 결합 검정을 사용하여 결정될 수 있다. 결합 경쟁 검정은 균질 시간 분해 형광(Homogeneous Time Resolved Fluorescence: HTRF)이다. 특히 적합한 하나의 정량적 교차-경쟁 검정은 FACS- 또는 알파스크린-기반 접근법을 사용하여 표적에 대한 결합과 대해서, 표지된(예를 들어, His 태그된, 바이오티닐화된 또는 방사성 표지된) 항체 또는 이의 부분과 다른 항체 또는 이의 부분 간의 경쟁을 측정한다. 일반적으로, 교차-경쟁 항체 또는 이의 부분은, 예를 들어, 교차-경쟁 검정에서 표적에 결합하여, 검정 동안 그리고 제2 항체 또는 이의 부분의 존재 하에서, 본 발명에 따른 면역글로불린 단일 가변 도메인 또는 폴리펩타이드의 기록된 변위가 주어진 양에서 존재하는 잠재적 교차-차단 항체 또는 이의 단편에 의한 최대 이론적인 변위(예를 들어, 교차-차단될 필요가 있는 차가운(예를 들어, 비표지된) 항체 또는 이의 단편에 의한 변위)의 100% 이하(예를 들어, FACS 기반 경쟁 검정에서)인 것이다. 바람직하게는, 교차-경쟁 항체 또는 이의 부분은 10% 내지 100%, 또는 50% 내지 100%의 기록된 변위를 갖는다.
- [0209] 본 명세서에 정의된 바와 같은 항-PD1 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 열적으로 안정적일 수 있다. 일부 경우에, 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 류린 항-PD1 항체 Mab005 또는 Mab005-IgG1(인간화)과 실질적으로 동일한 열 안정성을 가질 수 있다. 일부 경우에, 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 류린 항-PD1 항체 Mab005 또는 Mab005-IgG1(인간화)보다 더 양호하게 열 안정적일 수 있다. 일부 예에서, 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 약 90℃ 내지 약 93℃의 용융 온도(T<sub>m</sub>)를 가질 수 있고, IgG1 포맷으로 존재할 수 있다. 일부 양상에서, 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 약 90.8℃ 내지 약 92.2℃의 T<sub>m</sub>를 가질 수 있고, IgG1 포맷으로 존재할 수 있다. 일부 양상에서, 항원-결합 부분은 Fab 포맷으로 존재할 수 있다. 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분의 용융 온도는 시차 주사 열량측정법(differential scanning calorimetry: DSC) 검정에 의해서 분석될 수 있다.
- [0210] 본 명세서에 정의된 바와 같은 항-PD1 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 산화에 대해서 내성(예를 들어, 노출된 아미노산 잔기의 산화에 대해서 내성)일 수 있다. 일부 경우에, 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 류린 항-PD1 항체 Mab005 또는 Mab005-IgG1(인간화), 또는 항체 Mab005의 가변 도메인 서열을 포함하는 항-PD1 항체-IgG1(인간화)에 비해서 노출된 아미노산 잔기의 감소된 산화를 겪을 수 있다. 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분의 산화 내성은 항체 분자 또는 항원-결합 부분에 산화 시약(예를 들어, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)을 첨가하고, 역상(RP) 및 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC) 방법에 의해서 산화에 의해서 유도된 변화를 측정함으로써 분석될 수 있다.
- [0211] 특정 실시형태에서, 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 PD1에 특이적으로 결합하고, 막 수용체 KDR(VEGFR2로서도 공지됨), FZD5(프리즐드 클래스 수용체(frizzled class receptor) 5), ULBP2(UL16 결합 단백질 2) 및 EPHB6 중 하나에 결합하지 않는다(또는 특이적으로 결합하지 않는다). 일부 양상에서, KDR, FZD5, ULBP2 및/또

는 EPHB6은 인간 단백질이다. 일부 실시형태에서, KDR은 레서스 단백질이다. 일부 실시형태에서, 인간 KDR 단백질은 서열번호 22의 아미노산 서열 또는 서열번호 22와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 그것으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 레서스 KDR 단백질은 서열번호 23의 아미노산 서열 또는 서열번호 23과 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 그것으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 인간 FZD5 단백질은 서열번호 24의 아미노산 서열 또는 서열번호 24와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 그것으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 인간 ULBP2 단백질은 서열번호 25의 아미노산 서열 또는 서열번호 25와 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 그것으로 이루어진다. 일 실시형태에서, 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 KDR, FZD5, ULBP2 및 EPHB6 어느 것에도 결합하지 않는다. 일부 실시형태에서, 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 상기 막 수용체에 대해서 항체 Mab005 또는 IgG1-Mab005(인간화)가 나타내는 결합에 비해서 KDR, FZD5, ULBP2 및 EPHB6 중 하나 이상에 대한 감소된 결합을 나타낸다. 일부 경우에, PD1, KDR, FZD5, ULBP2 또는 EPHB6에 대한 항체 또는 이의 항원-결합 부분의 결합은 유세포 분석법 분석에 의해서 결정될 수 있다.

[0212] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 PD1에 특이적으로 결합하고, KDR, FZD5, ULBP2 및 EPHB6(예를 들어, 인간 KDR, 인간 FZD5, 인간 ULBP2 또는 인간 EPHB6) 중 하나 이상을 효능작용하지 않거나 최소한으로 효능작용한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 PD1에 특이적으로 결합하고, 항체 Mab005 또는 IgG1-Mab005(인간화)가 나타내는 KDR, FZD5, ULBP2 또는 EPHB6의 효능성에 비해서 KDR, FZD5, ULBP2 및 EPHB6(예를 들어, 인간 KDR, 인간 FZD5, 인간 ULBP2 또는 인간 EPHB6) 중 하나 이상의 감소된 효능성을 나타낸다. 일부 경우에, 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분에 의한 KDR, FZD5, ULBP2 또는 EPHB6의 효능성은 KDR(또는 VEGFR2), FZD5, ULBP2 또는 EPHB6 신호전달 리포터 검정에 의해서 결정될 수 있다.

[0213] 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 항원-결합 부분은 번역 후 변형(post-translational modification: PTM) 부위, 예를 들어 글리코실화 부위(N-결합 또는 O-결합), 탈아미노화 부위, 인산화 부위 또는 이성질체화/단편화 부위를 제거하는 하나 이상의 치환, 결실 및/또는 삽입을 포함할 수 있다.

[0214] 350개 이상의 PTM 유형이 공지되어 있다. PTM의 주요 형태는 인산화, 글리코실화(N- 및 O-결합), 수모일화, 팔미토일화, 아세틸화, 황화, 미리스토일화, 프레닐화 및 메틸화(K 및 R 잔기의)를 포함한다. 특정 PTM에 대한 원인인 추정 아미노산 부위를 식별하는 통계적 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다(문헌[Zhou *et al.*, 2016, Nature Protocols 1: 1318-1321]) 참고). 예를 들어, 치환, 결실 및/또는 삽입에 의한 이러한 부위의 제거 및 이어서 선택적으로 (a) 결합 활성 및/또는 (b) PTM의 손실에 대해 (실험적으로 그리고/또는 이론적으로) 시험하는 것이 고려된다.

[0215] 예를 들어, Mab005 무린 HCDR2(본 명세서에 정의된 바와 같음, 즉, 아미노산 서열 VATISGGGANTYYPDSVKG(서열번호 92))는 잔기 10(N)에서 추정 탈아미노화 부위를 갖는 것으로 식별되었다. 예를 들어, (예를 들어 E, Q, S 또는 D로의) 보존적 또는 비-보존적 치환에 의해 본 발명의 HCDR2의 동등한 위치에서 이들 부위의 제거가 예상된다(예를 들어, 클론 06D02 및 표 3 및 표 4에서 다른 클론에서와 같음).

[0216] 유사하게, Mab005 무린 HCDR1(본 명세서에 정의된 바와 같음, 즉, 아미노산 서열 GFTFSSYMS(서열번호 29))은 잔기 8(M)에서 추정 산화 부위를 갖는 것으로 식별되었다. 예를 들어, (예를 들어 A/D/E/F/H/I/L/N/P/Q/S/T/V/W/Y로의) 보존적 또는 비-보존적 치환에 의해 본 발명의 HCDR1의 동등한 위치에서 이들 부위의 제거가 예상된다(예를 들어, 클론 06D02 및 표 3 및 표 4에서 발견되는 추가 서열에 예시된 바와 같음).

[0217] 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 인간, 인간화 또는 키메라일 수 있다.

[0218] 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 CDR이 삽입된 하나 이상의 인간 가변 도메인 프레임워크 스캐폴드를 포함할 수 있다. 예를 들어, VH 영역, VL 영역 또는 VH 및 VL 영역 둘 다는 하나 이상의 인간 프레임워크 영역 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

- [0219] 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 상응하는 HCDR 서열이 삽입된 IGHV3-7 인간 생식세포계열 스캐폴드를 포함할 수 있다. 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 상응하는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 아미노산 서열의 세트가 삽입된 IGHV3-7 인간 생식세포계열 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함할 수 있다.
- [0220] 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 상응하는 LCDR 서열이 삽입된 IGKV1-39 인간 생식세포계열 스캐폴드를 포함할 수 있다. 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 상응하는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열의 세트가 삽입된 IGKV1-39 인간 생식세포계열 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함할 수 있다.
- [0221] 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 상응하는 HCDR 서열이 삽입된 IGHV3-7 인간 생식세포계열 스캐폴드 및 상응하는 LCDR 서열이 삽입된 IGKV1-39 인간 생식세포계열 스캐폴드를 포함할 수 있다. 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 상응하는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 아미노산 서열의 세트가 삽입된 IGHV3-7 인간 생식세포계열 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 상응하는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열의 세트가 삽입된 IGKV1-39 인간 생식세포계열 스캐폴드 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함할 수 있다. HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열은 표 4의 클론 중 임의의 하나의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열일 수 있다(모든 6개의 CDR 서열은 동일한 클론으로부터 유래됨).
- [0222] 일부 양상에서, 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 면역글로불린 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 또는 IgA2이다. 추가 실시형태에서, 면역글로불린 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 또는 IgA2이다. 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 면역학적으로 불활성인 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 양상에서, 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 야생형 인간 IgG1 불변 영역을 포함하는 면역글로불린 불변 영역, 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역 또는 아미노산 치환 L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 양상에서, 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 야생형 인간 IgG2 불변 영역 또는 야생형 인간 IgG4 불변 영역을 포함하는 면역글로불린 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 양상에서, 항-PD1 항체는 표 18의 아미노산 서열 중 임의의 하나를 포함하는 면역글로불린 불변 영역을 포함할 수 있다. 표 18의 Fc 영역 서열은 CH1 도메인에서 시작한다. 일부 양상에서, 항-PD1 항체는 인간 IgG4, 인간 IgG4(S228P), 인간 IgG2, 인간 IgG1, 인간 IgG1-3M 또는 인간 IgG1-4M의 Fc 영역의 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 불변 영역을 포함할 수 있다. 예를 들어, 인간 IgG4(S228P) Fc 영역은 야생형 인간 IgG4 Fc 영역에 비해서 하기 치환: S228P를 포함한다. 예를 들어, 인간 IgG1-3M Fc 영역은 야생형 인간 IgG1 Fc 영역에 비해서 하기 치환: L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 반면, 인간 IgG1-4M Fc 영역은 야생형 인간 IgG1 Fc 영역에 비해서 하기 치환: L234A, L235A, G237A 및 P331S를 포함한다. 일부 양상에서, 면역글로불린 분자의 불변 영역에서 아미노산 잔기의 위치는 EU 명명법(Ward *et al.*, 1995 *Therap. Immunol.* 2:77-94)에 따라서 넘버링된다. 일부 양상에서, 면역글로불린 불변 영역은 RDELТ(서열번호 93) 모티프 또는 REEM(서열번호 94) 모티프(표 18)를 포함할 수 있다. REEM(서열번호 94) 알로타입은 RDELТ(서열번호 93) 알로타입보다 더 작은 인간 집단에서 발견된다. 일부 양상에서, 항-PD1 항체는 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하는 면역글로불린 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 양상에서, 항-PD1 항체는 표 4의 클론의 임의의 하나의 6개의 CDR 아미노산 서열 및 표 18의 Fc 영역 아미노산 서열의 임의의 하나를 포함할 수 있다. 일부 양상에서, 항-PD1 항체는 표 18의 Fc 영역 아미노산 서열 중 임의의 하나를 포함하는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 및 카파 경쇄 불변 영역 또는 람다 경쇄 불변 영역인 면역글로불린 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있다.
- [0223] 일부 양상에서, 본 명세서에는 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 개시되며, 여기서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역, 경쇄 가변(VL) 영역 및 중쇄 불변 영역을 포함하되,
- [0224] (a) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;
- [0225] (b) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QVYFDY(서열번호 44)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;
- [0226] (c) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QLYFFDY(서열번호 45)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1,

AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;

[0227] (d) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QLYAFDY(서열번호 46)의 HCDR3을 포함하며; VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나

[0228] (e) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSETYYVDSVKG(서열번호 48)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하며; VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 47)의 LCDR3을 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;

[0229] (f) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGAEEKYYVDSVKG(서열번호 49)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQD(서열번호 50)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;

[0230] (g) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSETYYVDSVKG(서열번호 48)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하며; VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 47)의 LCDR3을 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;

[0231] (h) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGAEEKYYVDSVKG(서열번호 49)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQD(서열번호 50)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;

[0232] (i) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSNTYYVDSVKG(서열번호 51)의 HCDR2 및 QLYGFDY(서열번호 40)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLAS(서열번호 53)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;

[0233] (j) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QVYFDY(서열번호 44)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLHS(서열번호 54)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나; 또는

[0234] (k) VH 영역 아미노산 서열은 GFTFSSYLMS(서열번호 38)의 HCDR1, VATISGGGSEKYYVDSVKG(서열번호 39)의 HCDR2 및 QVYFDY(서열번호 44)의 HCDR3을 포함하고; VL 영역 아미노산 서열은 RASQSISSWLN(서열번호 41)의 LCDR1, AASSLQS(서열번호 42)의 LCDR2 및 QQSYSTPWT(서열번호 43)의 LCDR3을 포함하고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함한다.

[0235] 일부 양상에서, 본 명세서에는 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 개시되며, 여기서 항체는 중쇄 가변 (VH) 영역, 경쇄 가변(VL) 영역 및 중쇄 불변 영역을 포함하되,

[0236] (a) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 1을 포함하거나 이것으로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 2를 포함하거나 이것으로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역 또는 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;

[0237] (b) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 3을 포함하거나 이것으로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 4를 포함하거나 이것으로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역 또는 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;

[0238] (c) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 5를 포함하거나 이것으로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 6을 포함하거나 이것으로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P

를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역 또는 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;

[0239] (d) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 7을 포함하거나 이것으로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 8을 포함하거나 이것으로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역 또는 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;

[0240] (e) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 9를 포함하거나 이것으로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 10을 포함하거나 이것으로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역 또는 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함하거나;

[0241] (f) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 11을 포함하거나 이것으로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 12를 포함하거나 이것으로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG4 불변 영역, 아미노산 치환 S228P를 포함하는 인간 IgG4 불변 영역, 야생형 인간 IgG2 불변 영역; 야생형 인간 IgG1 불변 영역 또는 아미노산 치환 L234A, L235A 및 G237A를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역을 포함한다.

[0242] 일부 양상에서, 본 명세서에는 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 개시되며, 여기서 항체는 중쇄 가변(VH) 영역, 경쇄 가변(VL) 영역 및 중쇄 불변 영역을 포함하되,

[0243] (a) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 1을 포함하거나 이것으로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 2를 포함하거나 이것으로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;

[0244] (b) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 3을 포함하거나 이것으로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 4를 포함하거나 이것으로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;

[0245] (c) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 5를 포함하거나 이것으로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 6을 포함하거나 이것으로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;

[0246] (d) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 7을 포함하거나 이것으로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 8을 포함하거나 이것으로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;

[0247] (e) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 9를 포함하거나 이것으로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 10을 포함하거나 이것으로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함하거나;

[0248] (f) VH 영역 아미노산 서열은 서열번호 11을 포함하거나 이것으로 이루어지고; VL 영역 아미노산 서열은 서열번호 12를 포함하거나 이것으로 이루어지고; 중쇄 불변 영역은 서열번호 13 내지 19 중 임의의 하나를 포함한다.

[0249] 일부 양상에서, 항-PD1 항체는 면역 효과기 النيل 수 있다. 일부 양상에서, 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 면역 효과기 기능을 유도하지 않거나, 선택적으로 면역 효과기 기능을 억제한다. 일부 양상에서, 항-PD1 항체는 인간 Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RIIa, Fc $\gamma$ RIIIa 및 Fc $\gamma$ RIIIb 수용체에 대해서 측정 가능한 결합이 결핍될 수 있지만, 인간 Fc $\gamma$ RIIIb 수용체에 대한 결합을 유지하고, 선택적으로 인간 FcRn 수용체에 대한 결합을 유지한다. Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RIIa, Fc $\gamma$ RIIIa 및 Fc $\gamma$ RIIIb는 활성화 수용체의 예이다. Fc $\gamma$ RIIIb는 저해성 수용체의 예이다. FcRn은 재순환 수용체의 예이다. 일부 양상에서, 인간 Fc 수용체에 대한 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분의 결합 친화도는 바이아코어<sup>®</sup> 분석으로 측정될 수 있다. 일부 양상에서, 균질 시간 분해 형광(HTRF)을 사용하여 인간 Fc 수용체에 대한 항-PD1 항체의 결합을 연구할 수 있다. HTRF의 일례에서, 인간 IgG1(야생형)을 Fc 감마 수용체의 완전 슈트(full suite)와 같이 표지하고, 이어서 조작된 Fc 단편을 갖는 항체를 적정 경쟁에서 사용한다. 일부 양상에서, PD1-양성 세포를 인간 백혈구 및 항-PD1 항체와 혼합할 수 있고, CDC, ADCC 및/또는 ADCP에 의한 세포 사멸을 측정할 수 있다. 일부 양상에서, 인간 IgG1-3M의 Fc 영역의 아미노산 서열을 포함하는 항-PD1 항체(표 18 참조)는 효과기 நீ이다. 일부 양상에서, 인간 IgG1-3M의 Fc 영역의 아미노산 서열을 포함하는 항-PD1 항체(표 18 참조)는 효과기 நீ이 아니다.

[0250] 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 Fab 단편, F(ab)<sub>2</sub> 단편, Fv 단편, 4량체 항체, 4가 항체, 다중특이적 항체(예를 들어, 2가 항체), 도메인-특이적 항체, 단일 도메인 항체, 단클론성 항체 또는 융합 단백질일 수 있다. 일 실시형태에서, 항체는 제1 항원 및 제2 항원에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체일 수 있고, 여기서 제1

항원은 PD1이고, 제2 항원은 PD1이 아니다. 항체 분자 및 이들의 작제 및 사용 방법은 예를 들어 문헌[Holliger & Hudson (2005, Nature Biotechnol. 23(9): 1126-1136)]에 기재되어 있다.

- [0251] 본 발명의 또 다른 양상에서, 치료제에 연결된 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분을 포함하는 면역접합체가 제공된다.
- [0252] 적합한 치료제의 예는 세포독소, 방사성동위원소, 화학치료제, 면역조절제, 혈관생성억제제, 증식억제제, 아포토시스촉진제 및 세포분열억제 및 세포용해 효소(예를 들어 RNases)를 포함한다. 추가로 치료제는 치료용 핵산, 예컨대, 면역조절제, 혈관생성억제제, 항-증식제 또는 아포토시스촉진제를 암호화하는 유전자를 포함한다. 이들 약물 설명어(drug descriptor)는 상호 배타적이지 않으므로, 치료제는 상기 용어 중 하나 이상을 사용하여 기재될 수 있다.
- [0253] 면역접합체에 사용하기에 적합한 치료제의 예는 타산, 메이탄신, CC-1065 및 듀오카마이신, 칼리키아미신 및 다른 엔다이인(enediyne) 및 아우리스타틴을 포함한다. 다른 예는 항-폴레이트, 빈카 알칼로이드 및 안트라사이클린을 포함한다. 식물 독소, 다른 생물활성 단백질, 효소(즉, ADEPT), 방사성동위원소, 광감작제(photosensitizer)가 면역접합체에서도 사용될 수 있다. 또한, 리소솜 또는 중합체와 같은 세포독성제로서 2차 담체를 사용하여 접합체를 제조할 수 있고, 적합한 세포독소는 세포의 기능을 저해 또는 방지하고/하거나 세포를 파괴시키는 작용제를 포함한다. 대표적인 세포독소는 항생제, 튜블린 중합 저해제, DNA에 결합하여 이를 방해하는 알킬화제 및 단백질 합성 또는 단백질 키나제, 포스포타아제, 토포이소머라아제, 효소 및 사이클클린과 같은 필수 세포 단백질의 기능을 방해하는 작용제를 포함한다.
- [0254] 대표적인 세포독소는 독소루비신, 다우노루비신, 이다루비신, 아클라루비신, 조루비신, 미톡산트론, 에피루비신, 카루비신, 노갈라마이신, 메노가틸, 피라루비신, 발루비신, 사이타라빈, 켄시타빈, 트라이플루리딘, 안시타빈, 에노시타빈, 아자시티딘, 독시플루리딘, 펜토스타틴, 브록수딘(broxuhidine), 카페시타빈, 클라드리빈, 데시타빈, 플록수딘, 플루다라빈, 고우게로틴(gougerotin), 퓨로마이신, 테가푸르, 티아조푸린, 아드라마이신(adhamycin), 시스플라틴, 카보플라틴, 사이클로포스파미드, 다카바진, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 미톡산트론, 블레오마이신, 메클로르에타민, 프레드니손, 프로카르바진, 메토크세이트, 플루오로우라실, 에토포사이드, 탁솔, 탁솔 유사체, 플라틴, 예컨대, 시스-플라틴 및 카보-플라틴, 미토마이신, 티오테파, 타산, 빈크리스틴, 다우노루비신, 에피루비신, 악티노마이신, 안트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 타목시펜, 이다루비신, 도라스타틴/아우리스타틴, 헤미아스테린, 에스페라마이신 및 메이탄시노이드를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.
- [0255] 적합한 면역조절제는 종양에 대한 호르몬 작용을 차단하는 항-호르몬 및 사이토카인 생산을 억제하거나, 자가-항원 발현을 하향-조절하거나 또는 MHC 항원을 차폐하는 면역억제제를 포함한다.
- [0256] 또한 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분을 암호화하는 핵산 분자가 제공된다. 핵산 분자는 (a) VH 영역 아미노산 서열; (b) VL 영역 아미노산 서열; 또는 (c) 본 명세서에 기재된 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분의 VH 및 VL 영역 아미노산 서열 둘 다를 암호화할 수 있다. 일부 양상에서, 본 명세서에 정의된 바와 같은 핵산 분자는 단리될 수 있다.
- [0257] 추가로 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자를 포함하는 벡터가 제공된다. 벡터는 발현 벡터일 수 있다.
- [0258] 또한 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 숙주 세포는 재조합 숙주 세포일 수 있다.
- [0259] 추가 양상에서 항-PD1 항체 및/또는 이의 항원-결합 부분의 생산 방법이 제공되며, 이 방법은 본 발명의 숙주 세포를 항체 및/또는 이의 항원-결합 부분의 발현 및/또는 생산을 야기하는 조건 하에서 배양하는 단계, 및 항체 및/또는 이의 항원-결합 부분을 숙주 세포 또는 배양물로부터 단리시키는 단계를 포함한다.
- [0260] 본 발명의 또 다른 양상에서 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.
- [0261] 추가로 대상체에서 면역 반응을 향상시키는 방법이 제공되며, 이 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본

발명의 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

- [0262] 추가 양상에서, 대상체에서 암을 치료 또는 예방하는 방법이 제공되며, 이 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 경우에, 대상체에게 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터를 투여하는 것은 대상체에서 혈관종을 유도하지 않거나 최소한의 혈관종을 유도한다.
- [0263] 예를 들어, 암은 췌장암, 흑색종, 유방암, 폐암, 기관지암, 결장직장암, 전립선암, 위암, 난소암, 방광암, 뇌 또는 중추신경암, 말초신경계암, 식도암, 자궁경부암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 신장암, 고환암, 담도암, 소장 또는 충수암, 침샘암, 갑상선암, 부신암, 골육종, 연골육종 또는 혈액조직암일 수 있다.
- [0264] 본 발명은 또한 암의 치료에 사용하기 위한, 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0265] 또 다른 양상에서 본 발명은 제2 치료제, 예를 들어, 항암제와 함께 조합하여 별개로, 순차적으로 또는 동시에 사용하기 위한, 용도를 위한 항체 분자, 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 면역접합체, 또는 핵산 분자, 또는 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 치료 방법을 제공한다.
- [0266] 추가 양상에서 암의 치료를 위한 의약의 제조에서의, 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명의 약제학적 조성물의 용도가 제공된다.
- [0267] 본 발명은 또한 대상체에서 감염성 또는 면역 질환을 치료 또는 예방하는 방법을 제공하며, 이 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 면역접합체, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 핵산 분자, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 벡터, 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0268] 일 실시형태에서, 본 발명은 요법에 사용하기 위한 본 명세서에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공한다.
- [0269] 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 부형제, 담체 또는 희석제를 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 부형제는 2차 반응을 유발하지 않으며, 예를 들어, 항-PD1 항체 분자의 투여 촉진, 수명 및/또는 신체에서의 효능 증가 또는 용액에서의 용해도 증가를 허용하도록 하는 약제학적 조성물에 도입되는 화합물 또는 화합물의 조합일 수 있다. 이들 약제학적으로 허용 가능한 비히클은 널리 공지되어 있으며, 항-PD1 항체 분자의 투여 방식의 기능으로서 당업자에 의해 조정될 것이다.
- [0270] 일부 실시형태에서, 항-PD1 항체 분자는 투여 전에 재구성을 위해 동결건조된 형태로 제공될 수 있다. 예를 들어, 동결건조된 항체 분자는 멸균수에서 재구성될 수 있고, 개체에게 투여되기 전에 식염수와 혼합될 수 있다.
- [0271] 항-PD1 항체 분자는 일반적으로 약제학적 조성물의 형태로 투여될 것이며, 이것은 항체 분자 이외에 적어도 1종의 성분을 포함할 수 있다. 따라서, 약제학적 조성물은 항-PD1 항체 분자 이외에 약제학적으로 허용 가능한 부형제, 담체, 완충제, 안정화제 또는 당업자에게 널리 공지된 다른 물질을 포함할 수 있다. 이러한 물질은 비독성이어야 하고, 항-PD1 항체 분자의 효능을 방해하지 않아야 한다. 담체 또는 다른 물질의 정확한 성질은 투여 경로에 좌우될 것이며, 이는 하기에 논의된 바와 같은 볼러스(bolus), 주입, 주사 또는 임의의 다른 적합한 경로일 수 있다.
- [0272] 비경구, 예를 들어 피하 또는 정맥 내 투여의 경우, 예를 들어, 주사에 의해, 항-PD1 항체 분자를 포함하는 약제학적 조성물은 무발열원(pyrogen-free)이고 적합한 pH, 등장성 및 안정성을 갖는 비경구적으로 허용 가능한 수용액의 형태일 수 있다. 당업자는, 예를 들어, 등장성 비히클, 예컨대, 염화나트륨 주사제, 링거 주사제, 젯산 링거 주사제를 사용하여 적합한 용액을 양호하게 제조할 수 있다. 완충제, 예컨대, 인산염, 시트레이트 및

기타 유기산; 항산화제, 예컨대, 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제(예컨대, 옥타데실다이메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드; 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 사이클로헥산올; 3'-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 라이신; 글루코스, 만노스 또는 덱스트린을 포함하는 당당류, 이당류 및 기타 탄수화물; 킬레이팅제, 예컨대, EDTA; 당, 예컨대, 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨; 염-형성 반대-이온, 예컨대, 나트륨; 금속 착물(예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대, TWEEN<sup>™</sup>, PLURONICS<sup>™</sup> 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함하는 보존제, 안정화제, 완충제, 항산화제 및/또는 다른 첨가제가 필요에 따라 사용될 수 있다.

[0273] 항-PD1 항체 분자를 포함하는 약제학적 조성물은 치료하고자 하는 병태에 따라 동시에 또는 순차적으로 단독으로 또는 다른 치료제와 조합되어 투여될 수 있다.

[0274] 본 명세서에 기재된 항-PD1 항체 분자는 예방학적 또는 예방적 치료를 포함하여(예를 들어, 개체에서 발생하는 질환의 위험을 감소시키기 위해 개체에서 질환이 발병되기 전의 치료; 발병 지연; 또는 발병 후 중증도 감소), 인간 또는 동물 신체의 치료 방법에 사용될 수 있다. 치료 방법은 항-PD1 항체 분자를 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0275] 투여는 일반적으로 "치료적 유효량"으로, 이것은 환자에게 이점을 나타내기에 충분하다. 이러한 이점은 적어도 하나의 증상의 적어도 개선일 수 있다. 실제 투여되는 양 및 투여 속도 및 투여 시간 경과에 치료하고자 하는 대상체의 성질 및 중증도, 치료하고자 하는 특정 포유동물, 개별 환자의 임상적 병태, 장애의 원인, 조성물의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄 및 의료 전문가에게 공지된 다른 인자에 따라 좌우될 것이다. 치료 처방, 예를 들어, 투여량 등에 대한 결정 등은 일반의 및 기타 의료 전문가의 책임이며, 증상의 중증도 및/또는 치료하고자 하는 질환의 진행에 따라 달라질 수 있다. 적절한 용량의 항체 분자는 당업계에 널리 공지되어 있다 (Ledermann J.A. *et al.*, 1991, *Int. J. Cancer* 47: 659-664; Bagshawe K.D. *et al.*, 1991, *Antibody, Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals* 4: 915-922). 투여될 의학의 유형에 적절하게 사용될 수 있는 특정 투여량이 본 명세서 또는 문헌[Physician's Desk Reference (2003)]에 제시될 수 있다. 치료적 유효량 또는 적합한 용량의 항체 분자는 동물 모델에서 시험관내 활성 및 생체내 활성을 비교함으로써 결정될 수 있다. 마우스 및 다른 시험 동물에서 유효 투여량을 인간에 대해서 외삽하는 방법이 공지되어 있다. 정확한 용량은 항체가 예방 또는 치료를 위한 것인지, 치료하고자 하는 영역의 크기 및 위치, 항체의 정확한 성질(예를 들어, 전체 항체, 단편) 및 항체에 부착된 임의의 검출 가능한 표지 또는 다른 분자의 성질에 좌우될 것이다.

[0276] 전형적인 항체 용량은 전신 적용의 경우 100 $\mu$ g 내지 1g이고, 국소 적용의 경우 1 $\mu$ g 내지 1mg의 범위일 것이다. 초기의 더 높은 부하 용량(loading dose), 그 다음 1회 이상의 더 낮은 용량이 투여될 수 있다. 전형적으로, 항체는 전체 항체, 예를 들어 IgG1 또는 IgG4 아이소타입일 수 있다. 이것은 성인 환자의 단일 치료를 위한 용량이며, 어린이 및 유아에 대해 비례적으로 조정될 수 있고, 분자량에 비례하여 다른 항체 형태에 대해서도 조정될 수 있다. 치료는 의사의 재량에 따라 매일, 주 2회, 주 단위 또는 월 단위 간격으로 반복될 수 있다. 개체의 치료 스케줄은 항체 조성물의 약동학적 및 약력학적 특성, 투여 경로 및 치료하고자 하는 질환의 성질에 따라 달라질 수 있다.

[0277] 치료는 주기적일 수 있고, 투여 사이의 기간은 약 2주 이상일 수 있으며, 예를 들어 약 3주 이상, 약 4주 이상, 약 1개월에 1회 이상, 약 5주 이상 또는 약 6주 이상일 수 있다. 예를 들어, 치료는 2 내지 4주마다 또는 4 내지 8주마다 일 수 있다. 치료는 수술 전 및/또는 후에 제공될 수 있고/있거나 외과적 치료 또는 침습적 절차의 해부학적 부위에서 직접 투여되거나 적용될 수 있다. 적합한 체형 및 투여 경로는 상기에 기재되어 있다.

[0278] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항-PD1 항체 분자는 피하 주사로 투여될 수 있다. 피하 주사는 예를 들어, 장기간 예방/치료를 위해 자동 주입기를 사용하여 투여될 수 있다.

[0279] 일부 실시형태에서, 항-PD1 항체의 치료 효과는 용량에 따라 몇몇 반감기 동안 지속될 수 있다. 예를 들어, 단일 용량의 항-PD1 항체 분자의 치료 효과는 1개월 이상, 2개월 이상, 3개월 이상, 4개월 이상, 5개월 이상 또는 6개월 이상 동안 개체에서 지속될 수 있다.

[0280] 본 발명은 또한 인간 PD1 및 선택적으로 또한 시노물거스 원숭이 PD1, 또는 이의 항원-결합 부분에 특이적으로 결합하는 항체 분자의 생산 방법을 제공하며, 이 방법은,

[0281] (1) 비-인간 기원으로부터의 항-PD1 CDR을 인간 v-도메인 프레임워크 내에 그래프팅하여 인간화된 항-PD1 항체

분자 또는 이의 항원-결합 부분을 생산하는 단계;

- [0282] (2) CDR 내에 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 인간화된 항-PD1 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분의 클론의 라이브러리를 생성시키는 단계;
- [0283] (3) 인간 PD1 및 선택적으로 또한 시노물거스 원숭이 PD1에 대한 결합에 대해서 라이브러리를 스크리닝하는 단계;
- [0284] (4) 인간 PD1 및 선택적으로 또한 시노물거스 원숭이 PD1에 대한 결합 특이성을 갖는 스크리닝 단계 (3)으로부터 클론을 선택하는 단계; 및
- [0285] (5) 단계 (4)로부터 선택된 클론으로부터 인간 PD1 및 선택적으로 또한 시노물거스 원숭이 PD1, 또는 이의 항원-결합 부분에 특이적으로 결합하는 항체 분자를 생산하는 단계를 포함한다.
- [0286] 방법은, 인간화를 향상시키고/시키거나 인간 T 세포 에피토프 함량을 최소화시키고/시키거나 단계 (5)에서 생산된 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분의 제조 특성을 개선시키기 위해서, 단계 (4)에서 선택된 클론의 CDR 내의 특정 위치에서의 추가 탐색적 돌연변이생성에 기초하여, 단계 (4)에서 선택된 클론을 기반으로 하는 추가 클론을 생산하는 추가 단계를 포함할 수 있다.
- [0287] 상기 방법에 적용 가능한 선별(refinement)는 하기 실시예 1에 기재된 바와 같다.
- [0288] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "PD1"은 PD1의 생물학적 활성의 적어도 일부를 보유하는 세포 예정사 단백질 1 및 이의 변이체를 지칭한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, PD1은 인간, 래트, 마우스 및 닭을 비롯한 모든 종의 네이티브 서열 PD1을 포함한다. 용어 "PD1"은 인간 PD1의 변이체, 아이소폼 및 종 동족체를 포함하도록 사용된다. 본 발명의 항체는 인간 이외의 종으로부터의 PD1, 특히 시노물거스 원숭이(마카카 파시쿨라리스)의 PD1과 교차-반응할 수 있다. 인간 및 시노물거스 PD1 아미노산 서열의 예는 표 19에 제공되어 있다. 특정 실시형태에서, 항체는 인간 PD1에 대해 완전히 특이적일 수 있고, 비-인간 교차-반응성을 나타내지 않을 수 있다.
- [0289] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 본 발명의 항체 또는 "항-PD1 길항제 항체"(교환 가능하게 "항-PD1 항체"로 지칭됨)의 맥락에서 사용된 "길항제"는 PD1에 결합하여, PD1 신호전달에 의해 매개되는 PD1 생물학적 활성 및/또는 하류 경로(들)를 저해할 수 있는 항체를 지칭한다. 항-PD1 길항제 항체는 수용체 결합 및/또는 PD1에 대한 세포 반응의 도출과 같은 PD1 신호전달에 의해 매개되는 하류 경로를 포함하는, PD1 생물학적 활성을(상당히 포함) 차단, 길항작용, 억제 또는 감소시킬 수 있는 항체를 포함한다. 본 발명의 목적을 위해서, 용어 "항-PD1 길항제 항체"는 PD1 자체 및 PD1 생물학적 활성(T 세포의 항종양 세포 활성의 활성화를 억제하는 능력을 포함하지만 이것에 제한되지 않음) 또는 활성 또는 생물학적 활성의 결과가 실질적으로 무의미하거나, 감소되거나 또는 임의의 유의미한 정도로 중화되는 모든 용어, 제목 및 기능적 상태 및 특징을 포함한다는 것이 명확하게 이해될 것이다.
- [0290] PD1이 다른 수용체에 결합하는 것보다 더 큰 친화성, 결합활성으로 보다 용이하게 결합하고/하거나 더 긴 지속시간으로 결합하는 경우, 항체는 PD1과 "특이적으로 결합", "특이적으로 상호작용", "우선적으로 결합", "결합" 또는 "상호작용"한다.
- [0291] "항체 분자"는 면역글로불린 분자의 가변 영역에 위치한 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해, 표적, 예컨대, 탄수화물, 폴리뉴클레오타이드, 지질, 폴리펩타이드 등에 특이적으로 결합할 수 있는 면역글로불린 분자이다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "항체 분자"는 무손상 다클론성 또는 단클론성 항체뿐만 아니라 임의의 항원 결합 단편(예를 들어, "항원-결합 부분") 또는 이의 단일쇄, 항체를 포함하는 융합 단백질 및 항원 인식 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 구성, 예를 들어 scFv, 단일 도메인 항체(예를 들어, 샹크 및 카멜리드 항체), 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 다이아바디, 트라이아바디, 테트라바디 v-NAR 및 비스-scFv를 포함하지만 이들로 제한되지 않는 구성을 포함한다.
- [0292] "항체 분자"는 임의의 클래스의 항체, 예컨대 IgG, IgA 또는 IgM(또는 이의 서브-클래스)을 포함하며, 항체는 임의의 특정 클래스일 필요는 없다. 중쇄의 불변 영역의 항체 아미노산 서열에 따라, 면역글로불린은 상이한 클래스에 배정될 수 있다. 면역글로불린의 하기의 5가지 주요 클래스가 있고: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM, 이들 중 몇몇은 서브 클래스(아이소타입), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 더 나누어질 수 있다. 상이한 클래스의 면역글로불린에 상응하는 중쇄 불변 영역을 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤라고 한다. 상이한 클래스의 면역글로불린의 소단위 구조 및 3차원 구성이 널리 공지되어 있다.

- [0293] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 항체 분자의 "항원 결합 부분"이라는 용어는 PD1에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 무손상 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항체 분자의 항원 결합 기능은 무손상 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다. 항체 분자의 "항원 결합 부분"이라는 용어에 포함되는 결합 단편의 예는 Fab; Fab'; F(ab')<sub>2</sub>; VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; 항체의 단일 아암(arm)의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편; 단일 도메인 항체(dAb) 단편 및 단리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다.
- [0294] 용어 "Fc 영역"을 사용하여 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의한다. "Fc 영역"은 네이티브 서열 Fc 영역 또는 변이체 Fc 영역일 수 있다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 달라질 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 일반적으로 Cys226번 위치의 아미노산 잔기로부터 또는 Pro230에서부터 이의 카복실-말단으로 신장되는 것으로 정의된다. Fc 영역에서 잔기의 넘버링은 카바에서와 같은 EU 인덱스의 넘버링이다. 면역글로불린의 Fc 영역은 일반적으로 CH2 및 CH3의 2개의 불변 도메인을 포함한다. 당업계에서 공지된 바와 같이, Fc 영역은 이량체 또는 단량체 형태로 존재할 수 있다.
- [0295] 항체의 "가변 영역"은 항체 경쇄의 가변 영역 또는 항체 중쇄의 가변 영역을 단독으로 또는 조합하여 지칭한다. 당업계에서 공지된 바와 같이, 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 각각 초가변 영역(hypervariable region)으로도 공지된 3개의 상보성 결정 영역(CDR)에 의해 연결된 4개의 프레임워크 영역(FR)으로 이루어지며, 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다. CDR에 축적하기 위한 FR을 선택하는 경우, 예를 들어, 항체를 인간화 또는 최적화하는 경우, 동일한 표준 클래스 내에 CDR 서열을 함유하는 항체로부터의 FR이 바람직하다.
- [0296] 본 출원에 사용된 CDR 정의는 면역글로불린 레퍼토리 분석 및 항체와 항원의 단리 시에 그리고 공-결정에서의 항체의 구조적 분석의 조합에 기초하여, 현장에서 생성된 많은 이질적인, 종종 상충되는 구조에 사용된 도메인을 조합한다(문헌[Swindells *et al.*, 2016, abYsis: Integrated Antibody Sequence and Structure-Management, Analysis, and Prediction. J Mol Biol. [PMID: 27561707; Epub 22 August 2016]]의 검토 참조). 본 명세서에 사용된 CDR 정의("통합된" 체계)는 이러한 모든 이전 통찰의 내용을 포함하고, 잠재적으로 표적-결합 상보성을 매개하는 전체 잔기 랜드스케이프를 샘플링하는 데 필요한 모든 적절한 루프 위치를 포함한다.
- [0297] 표 1은 동일한 CDR을 정의하기 위해서 널리 공지된 대안 시스템과 비교하여, 본 명세서에 정의된 바와 같은 Mab005 류틴 항-PD1 항체 CDR의 아미노산 서열("통합된" 체계)을 나타낸다.
- [0298] 용어 "Mab005-IgG1(인간화)"은 표 2의 가변 중쇄 영역 서열 표지된 PD1-VH1 및 가변 경쇄 영역 서열 표지된 PD1-VL1, 및 인간 IgG1 불변 영역을 포함하는 항-PD1 항체를 지칭한다.
- [0299] 본 명세서에서 사용된 바와 같이 용어 "보존적 치환"은 아미노산을 기능적 활성을 현저하게 해롭게 변화시키지 않는 또 다른 아미노산으로 치환하는 것을 지칭한다. "보존적 치환"의 바람직한 예는 하나의 아미노산을 하기 BLOSUM 62 치환 매트릭스에서 값이 0 이상인 또 다른 아미노산으로 치환하는 것이다(문헌[Henikoff & Henikoff, 1992, PNAS 89: 10915-10919] 참조):

[0300]

[0301]

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

하계는, 본 발명의 단클론성 항체는 동종 또는 실질적으로 동종 집단으로 존재한다.

- [0302] "인간화된" 항체 분자는 비-인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 포함하는 키메라 면역글로불린, 면역글로불린쇄 또는 이의 단편(예컨대, Fv, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> 또는 항체의 다른 항원-결합 서브서열)인 비-인간(예를 들어, 뮤린) 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분의 형태를 지칭한다. 인간화된 항체는 수용자의 CDR 유래 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 수용력을 갖는 마우스, 래트 또는 토끼와 같은 비-인간 종(공여자 항체)의 CDR 유래 잔기로 치환된 인간 면역글로불린(수용자 항체)일 수 있다.
- [0303] "인간 항체 또는 완전 인간 항체"는 인간 항체 유전자를 보유하는 트랜스제닉 마우스 또는 인간 세포로부터 유래된 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분을 지칭한다.
- [0304] 용어 "키메라 항체"는, 가변 영역 서열이 마우스 항체로부터 유래되고 불변 영역 서열은 인간 항체로부터 유래된 항체 분자와 같은, 가변 영역 서열이 하나의 종으로부터 유래되고 불변 영역 서열은 다른 종으로부터 유래된 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분을 지칭하는 것으로 의도된다.
- [0305] "항체-약물 접합체" 및 "면역접합체"는 PD1에 결합하고, 세포 독성, 세포분열억제제 및/또는 치료제에 접합된 항체 유도체를 포함하는 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분을 지칭한다.
- [0306] 본 발명의 항체 분자 또는 이의 항원-결합 부분은 당업계에 널리 공지된 기술, 예를 들어, 재조합 기술, 파지 디스플레이 기술, 합성 기술 또는 이러한 기술의 조합 또는 당업계에 쉽게 공지된 다른 기술을 사용하여 생성될 수 있다.
- [0307] 용어 "단리된 분자"(분자이든, 예를 들어, 폴리펩타이드이든, 폴리뉴클레오타이드이든 또는 항체이든)는 그 기원 또는 유도원으로 인해서 (1) 네이티브 상태에서 동반되는 자연 연관 성분과 회합되지 않거나, (2) 동일한 종으로부터의 다른 분자가 실질적으로 존재하지 않거나, (3) 상이한 종으로부터의 세포에 의해서 발현되거나, (4) 자연에서 발생하지 않는 분자이다. 따라서, 화학적으로 합성되거나 자연적으로 기원하는 세포와 상이한 세포 시스템에서 발현된 분자는 자연 연관된 성분으로부터 "단리"될 것이다. 분자는 또한 당업계에 널리 공지된 정제 기술을 사용하여 단리에 의해서 자연 연관 성분이 실질적으로 존재하지 않게 될 수 있다. 분자 순도 또는 균질성은 당업계에 널리 공지된 다수의 수단에 의해서 검정될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드 샘플의 순도는 폴리아크릴아마이드 겔 전기영동 및 겔의 염색을 사용하여 당업계에 널리 공지된 기술을 사용하여 폴리펩타이드를 가시화함으로써 검정될 수 있다. 특정 목적을 위해서, HPLC 및 정제를 위해서 당업계에 널리 공지된 다른 수단을 사용함으로써 더 높은 분해능이 제공될 수 있다.
- [0308] 용어 "에피토프"는 항체 분자의 항원-결합 영역 중 하나 이상에서 항체 분자, 또는 이의 항원-결합 부분에 의해 인식되고 결합될 수 있는 분자의 부분을 지칭한다. 에피토프는 1차, 2차 또는 3차 단백질 구조의 한정된 영역으로 구성될 수 있으며, 항체의 항원 결합 영역, 또는 이의 항원-결합 부분에 의해 인식되는 표적의 2차 구조 단위 또는 구조 도메인의 조합을 포함한다. 에피토프는 마찬가지로 아미노산 또는 당 측쇄와 같은 분자의 한정된 화학적 활성 표면 군화로 구성될 수 있으며, 특정 3차원 구조적 특성뿐만 아니라 특정 전하 특성을 가질 수 있다. 본 명세서에 사용된 용어 "항원 에피토프"는 당업계에 널리 공지된 임의의 방법, 예를 들어 통상적인 면역 검정, 항체 경쟁적 결합 검정 또는 x-선 결정학 또는 관련 구조 결정 방법(예들 들어, NMR)에 의해 항체 분자가 특이적으로 결합할 수 있는 폴리펩타이드의 일부로서 정의된다.
- [0309] 용어 "결합 친화도" 또는 "KD"는 특정 항원-항체 상호작용의 해리도를 지칭한다. KD는 "오프-레이트(off-rate)( $k_{off}$ )"라고도 하는 해리 상수와 결합 상수 또는 "온-레이트(on-rate)( $k_{on}$ )"의 비율이다. 따라서  $K_D$ 는  $k_{off}/k_{on}$ 과 동일하고, 몰 농도(M)로 표현된다.  $K_D$ 가 작을수록 결합 친화력이 더 강하다는 것을 따른다. 따라서, 1  $\mu$ M의  $K_D$ 는 1nM의 KD와 비교하여 약한 결합 친화도를 나타낸다. 항체에 대한 KD 값은 당업계에 널리 확립된 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 항체의 KD를 결정하는 한 가지 방법은 표면 플라즈몬 공명(SPR)을 사용하는 것이고, 일반적으로 바이오코어® 시스템과 같은 바이오센서 시스템을 사용한다.
- [0310] 용어 "억가"는 생물학적 활성의 측정치이며, IC<sub>50</sub>, 즉, 본 명세서에 기재된 PD1 활성 검정에서 측정된 활성의 50%를 저해하기 위한, 항원 PD1에 대한 항체 또는 항체 약물 접합체의 유효 농도로서 지정될 수 있다.
- [0311] 본 명세서에 사용된 어구 "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 원하는 치료 결과를 달성하기 위해 필요한 양(투여량 및 시간 기간 및 투여 수단)을 지칭한다. 유효량은 대상체에게 치료적 이점을 부여하는데 필요한 활성제의 적어도 최소량 이상이지만 독성량 미만이다.

- [0312] 본 발명의 항체 분자의 생물활성과 관련하여 본 명세서에 사용된 용어 "저해한다" 또는 "중화시킨다"는 예를 들어, 항체 분자의 PD1에 대한 생물학적 활성 또는 결합 상호작용을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 진행 또는 중증도를 실질적으로 길항, 금지, 방지, 억제, 둔화, 방해, 제거, 정지, 감소 또는 역전시키는 항체의 능력을 의미한다.
- [0313] "숙주 세포"는 폴리뉴클레오타이드 삽입물의 도입을 위한 벡터(들)에 대한 수용자였거나 수용자일 수 있는 개별 세포 또는 세포 배양물을 포함한다. 숙주 세포는 단일 숙주 세포의 자손을 포함하고, 자손은 자연적, 우발적 또는 고의적인 돌연변이로 인해 본래의 모 세포와 (형태학 또는 게놈 DNA 보체에서) 완전히 동일할 필요는 없을 수 있다. 숙주 세포는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드(들)로 생체내에서 형질주입된 세포를 포함한다.
- [0314] 본 명세서에 사용된 바와 같이, "벡터"는 숙주 세포에서 관심대상의 하나 이상의 유전자(들) 또는 서열(들)을 전달하고, 바람직하게는 발현할 수 있는 작제물을 의미한다. 벡터의 예는 바이러스 벡터, 네이키드(naked) DNA 또는 RNA 발현 벡터, 플라스미드, 코스미드 또는 파지 벡터, 양이온성 축합제와 관련된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 리포솜에 캡슐화된 DNA 또는 RNA 발현 벡터 및 생산자 세포와 같은 특정 진행 세포를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.
- [0315] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "치료하는"은 달리 지시되지 않는 한, 이러한 용어가 적용되는 장애 또는 병태 또는 이러한 장애 또는 병태의 하나 이상의 증상의 역전, 완화, 이의 진행 저해, 이의 진행 지연, 이의 발병 지연 또는 예방하는 것을 의미한다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "치료"는 달리 지시되지 않는 한, 상기에 정의된 바와 같은 치료 행동을 지칭한다. 용어 "치료하는"은 또한 대상체의 아주반트(adjuvant) 및 네오아주반트(neoadjuvant) 치료를 포함한다. 의심의 여지를 피하기 위해, 본 명세서의 "치료"에 대한 언급은 치유, 일시적 치료 및 예방학적 치료에 대한 언급을 포함한다. 의심의 여지를 피하기 위해, 본 명세서의 "치료"에 대한 언급은 또한 치유, 일시적 치료 및 예방학적 치료에 대한 언급을 포함한다.
- [0316] 본 명세서에서 "포함하는"이라는 언어로 실시형태가 기술된 경우, "이루어진" 및/또는 "본질적으로 이루어진"의 용어로 기재된 달리 유사한 실시형태도 제공되는 것으로 이해된다.
- [0317] 본 발명의 양상 또는 실시형태가 마쿠쉬(Markush) 군 또는 다른 대안의 군화에 의해 설명되는 경우, 본 발명은 전체이지만 군의 각 구성원을 개별적으로 열거된 전체 군 및 주요 군의 모든 가능한 하위군뿐만 아니라 군 구성원 중 하나 이상이 없는 주요 군도 포함한다. 본 발명은 또한 청구된 발명에서 임의의 군 구성원 중 하나 이상을 명시적으로 배제하는 것을 예상한다.
- [0318] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속한 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 충돌의 경우, 정의를 포함한 본 명세서가 우선할 것이다. 본 명세서 및 청구범위 전체에서, 용어 "포함하다" 또는 "포함하다" 또는 "포함하는"과 같은 변형은 언급된 정수 또는 정수 군을 포함하지만 다른 정수 또는 정수 군을 배제하는 것을 의미하지 않는 것으로 이해될 것이다. 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수형은 복수를 포함하고 복수형은 단수를 포함할 것이다. 용어 "예컨대" 또는 "예를 들어" 뒤에 나오는 모든 예(들)는 완전하거나 제한하려는 것이 아니다.
- [0319] 달리 지시되지 않는 한, 본 발명의 실시는 당업자가 속한 분자 생물학 (재조합 기술 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 종래 기술을 이용할 것이다.
- [0320] 본 발명의 특별한 비제한적인 실시형태를 이제 첨부 도면을 참조하여 설명할 것이다.
- [0321] **실시예 1. 최적화된 항-PD1 치료용 항체의 생성**
- [0322] **도입부**
- [0323] 본 실시예에서, 본 발명자들은 효능작용적이고 최적화된 항-PD1 항체의 패널을 성공적으로 생성시켰다. 이들 항-PD1 항체는 양호하게 발현되고, 생물리화적으로 안정적이고, 가용성이 높으며, 바람직한 인간 생식세포계열 대 한 최대화된 동일성을 갖는다.
- [0324] **물질 및 방법**
- [0325] **PD1 라이브러리 생성 및 선택**
- [0326] 매스 올리고(mass oligo) 합성 및 PCR에 의해 PD1 Fab 레퍼토리를 조립하였다. 이어서 증폭된 Fab 레퍼토리를 제한-결찰을 통해 파지미드 벡터 내로 클로닝시키고, 이.콜라이 TG-1 세포로 형질전환시키고, 파지 레퍼토리를 이전에 상세히 기술된 바와 같이 본질적으로 구제하였다(Finlay *et al.*, 2011, Methods Mol Biol 681: 383-

401).

[0327] 스트렙타비딘 자성 마이크로비드를 바이오티닐화된 PD1 표적 단백질(인간 또는 시노)로 코팅하고, 비드를 PBS로 3회 세척하고, 5% 탈지유 단백질을 함유한 PBS pH 7.4에 재현탁시킴으로써 파지 선택을 수행하였다. 이들 비드를 라운드 1의 선택에서 100nM 표적 단백질로 코팅한 후, 3회의 연속적인 라운드에서 항원 농도를 감소시켰다. 각각의 라운드에서, 트립신을 사용하여 파지를 용리시킨 후 TG1 세포로 재감염시켰다.

[0328] **원형질막 주위 추출물 생산(소규모)**

[0329] 개별 이. 콜라이 클론에서 가용성 Fab의 생산을 수행하였다. 대수 성장기의 이. 콜라이 TG1 세포를 아이소프로필 1-티오-β-D-갈락토피라노사이드로 유도하였다. 가용성 Fab를 함유하는 원형질막 주위 추출물을 동결/해동 주기에 의해서 생성시켰다: 박테리아 세포 펠릿을 -20℃에서 밤새 동결시키고, 이어서 실온에서 해동시키고, PBS pH 7.4 중에 재현탁시켰다. 실온에서의 진탕 및 원심분리 후 가용성 Fab를 함유하는 상청액을 수집하였다.

[0330] **Fab 생산 및 정제**

[0331] 항-PD1 Fab의 패널을 대규모 생산을 위해서 선택하였다. 이. 콜라이 TG1 배양물(500ml)을 제조하고, 상기에 같이 가용성 Fab 발현을 유도하였다. 가용성 Fab를 함유하는 원형질막 주위 추출물을 상기와 같이 동결/해동 주기에 의해서 추출시켰다. 가용성 Fab를 함유하는 상청액을 실온에서의 헤드-오버-헤드 회전으로 1시간 후 수집하고, 원심분리시키고, 0.22μm 막을 통해서 여과시켰다. His-Trap HP 친화도 칼럼(회합된 His 태그를 통한 정제를 위해서), 그 다음 변형된 단백질 A 또는 CaptureSelect™ IgG-CH1 친화도 매트릭스 칼럼을 사용한 2단계 정제 절차에 의해서 가용성 Fab를 정제시켰다.

[0332] **IgG 발현 및 정제**

[0333] 리드 패널 항-PD1 항체 및 Mab005 변이체의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 암호화하는 포유동물 코돈-최적화된 합성 유전자 및 램브로리주맵 유사체를 각각 효과기 기능 널 인간 IgG1('IgG1널'; 정상 면역글로불린 ADCC, ADCP 및 CDC 기능을 제거하는 더 낮은 힌지에서의 L234A, L235A, G237A 돌연변이를 함유하는 인간 IgG1) 및 인간 Cκ 도메인을 포함하는 포유동물 발현 벡터 내에 클로닝시켰다. 벡터를 함유하는 중쇄 및 경쇄의 포유동물 발현 시스템에서의 공동-형질주입을 수행하였고, 그 다음 IgG의 단백질 A-기반 정제, 정량 및 변성 및 비-변성 SDS-PAGE 상에서의 QC를 수행하였다.

[0334] **Fab 및 IgG에 대한 직접 결합 ELISA**

[0335] 재조합 단백질에 대한 리드 패널의 결합 및 교차-반응성을 먼저 결합 ELISA에 의해서 평가하였다. 인간 PD1 인간 Fc 태그된 재조합 단백질 및 시노몰거스 원숭이 PD1 인간 Fc 태그된 재조합 단백질을 MaxiSorp™ 편평-바닥 96웰 플레이트의 표면에 1μg/ml로 코팅하였다. 정제된 Fab 또는 IgG 샘플을 500nM에서 시작하여 0.98nM까지 2배 연속 희석으로 적정하고, 코팅된 항원에 결합하게 하였다. 마우스 항-c-myc 항체, 그 다음 호스래디쉬 퍼옥시다제에 접합된 당나귀 항-마우스 IgG를 사용하여 Fab를 검출하였다. 호스래디쉬 퍼옥시다제에 접합된 마우스 항-인간 IgG를 사용하여 IgG를 검출하였다. 결합 신호를 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 기질 용액(TMB)을 사용하여 가시화하고, 흡광도를 450nm에서 측정하였다.

[0336] **IgG1널 항체에 대한 알파스크린 에피토프 경쟁 검정**

[0337] 알파스크린 검정(퍼킨 엘머사(Perkin Elmer))을 384-웰 흰색 마이크로타이터 플레이트(그레이너사(Greiner))에서 25μl 최종 부피로 수행하였다. 반응 완충제는 1×PBS pH 7.3(옥소이드사(Oxoid), 카탈로그 번호 BR0014G) 및 0.05%(v/v) Tween® 20(시그마사(Sigma), 카탈로그 번호 P9416)을 함유하였다. 정제된 IgG 샘플을 500nM의 최종 농도에서 시작하여 3배 연속 희석으로 적정하고, 0.6nM의 최종 농도로 20분 동안 실온에서 바이오티닐화된 인간 PD1-His/AviTag와 함께 인큐베이션시켰다. 0.3nM의 모체 IgG 및 20μg/ml(최종 농도)의 항-인간 IgG1 역선택 비드를 첨가하고, 혼합물을 1시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. 20μg/ml(최종 농도)의 스트렙타비딘 도너 비드의 첨가 후에 30분 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. 광 방출을 EnVision 멀티레이블 플레이트 판독기(퍼킨 엘머사)에서 측정하고, EnVision 매니저 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 값을 초당 카운트(Counts Per Second: CPS)로서 기록하고, 크로스토크(crosstalk)에 대해서 보정하였다. GraphPad Prism 소프트웨어(그래프패드 소프트웨어사, 미국 캘리포니아주 라올라 소재)의 MFI 값 및 4 파라미터를 사용하여 EC50 값을 계산하였다.

[0338] **용액 중에서 단량체 인간 및 시노 PD1에 대한 IgG 친화도의 바이아코어 분석**

[0339] 바이아코어 3000(GE) 상에서 용액 중 항원을 사용한 SPR을 통해서 정제된 IgG의 친화도(KD)를 결정하였다. 두 채널에 대한 Wizard 지침에 따라 아민 커플링을 사용하여 pH 4.5에서 아세트이트 완충제에서 2000RU 수준으로 CM5 센서 칩 상에 마우스 항-인간 항체(CH1 특이적)를 고정시켰다. 하나의 채널을 백그라운드 신호 보정에 사용하였다. 표준 전개 완충제 HBS-EP pH 7.4를 사용하였다. 재생은 pH 1.5에서 10 $\mu$ l의 10mM 글리신을 20 $\mu$ l/분으로 1회 주입하여 수행하였다. IgG 샘플을 30 $\mu$ l/분으로 50nM에서 2분 동안 주입한 후 60초의 오프-레이트가 이어졌다. 단량체 항원(인간 PD1 His 태그 또는 시노물거스 원숭이 PD1 His 태그)을 100nM에서 3.1nM까지 2배 연속 희석하여 30 $\mu$ l/분에서 2분 동안 주입한 후 300초의 오프-레이트가 이어졌다. 얻은 센서그램을 바이아코어 3000 평가(BIAevaluation) 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 회합 및 해리 단계를 1:1 Langmuir 결합 모델에 동시에 피팅시킴으로써 KD를 계산하였다.

#### [0340] IgG의 유세포 분석법

[0341] 정제된 IgG를 CHO-K1 안정 세포주 및 CHO-K1 야생형 세포에서 발현된 인간 및 시노 PD1에 대한 결합에 대해 FAC로 시험하였다. IgG 샘플을 500nM 내지 0.98nM에서 시작하여 3배 연속 희석으로 적정하였다. FITC에 접합된 마우스 항-인간 IgG로 IgG의 결합을 검출하였다. 결과를 유세포 분석기(Attune™ NxT Acoustic Focusing Cytometer, 인비트로젠사(Invitrogen)/썬모피셔 사이언티픽사(ThermoFisher Scientific))의 BL-1 채널 검출기에서 샘플당 10000개 세포의 평균 형광 강도(MFI)를 조사하여 분석하였다.

#### [0342] PD1/PD-L1 세포-기반 길항성 검정

[0343] PD1/PD-L1 차단 세포-기반 생물검정(프로메가사(Promega))을 사용하여 PD1/PD-L1 상호작용을 차단하는 항체의 효능을 측정하였다. 검정 전날, PD-L1 aAPC/CHO-K1 세포를 해동시키고, 세포 회수 배지(90 Ham's F12/10% FBS)로 옮겼다. 세포 현탁액을 웰당 100 $\mu$ l로 두 개의 96웰, 흰색, 편평-바닥 검정 플레이트의 내부 60웰 각각에 분배하였다. 세포 회수 배지를 각각의 외부 웰 및 검정 플레이트에 첨가하고 37°C/5% CO2에서 밤새 인큐베이션시켰다. 검정일에, 샘플 IgG를 분석 완충제(99% RPMI 1640/1% FBS)에서 300nM에서 0.04nM로 4배 희석시키고, PD-L1 aAPC/CHO-K1 세포를 포함하는 검정 플레이트에 희석액 당 40 $\mu$ l를 첨가하였다. 양성 저해 대조군은 인간 PD1 항체 AF1086(알렌다 시스템사(R&D systems)), IgG1형의 mAb005 및 IgG1형의 펄브롤리주맵 mab 유사체를 포함하였다. 음성 저해 대조군으로서, 관련이 없는 IgG를 포함하였다. PD1 효과기 세포를 검정 완충제(99% RPMI 1640/1% FBS)에서 해동시키고, 세포 현탁액을 PD-L1 aAPC/CHO-K1 세포 및 IgG 적정 샘플을 함유하는 검정 플레이트의 웰에 첨가하였다. 검정 플레이트를 37°C/5% CO2 인큐베이터에서 6시간 동안 인큐베이션시키고, 5 내지 10분 동안 주변 온도와 평형을 이루게 한 후 80 $\mu$ l의 Bio-Glo™ 시약(프로메가사)을 첨가하였다. 검정 플레이트를 주변 온도에서 추가로 5 내지 30분 동안 인큐베이션시키고, 그 다음 발광 신호를 10분, 20분 및 30분에 측정하였다.

#### [0344] 항체 v-도메인 T 세포 에피토프 함량: 인 실리코 분석

[0345] 치료용 항체 및 단백질에서 T 세포 에피토프의 위치를 식별하는 것에 기초한 인 실리코 기술(압제나사(Abzena, Ltd.))을 항체 v-도메인에서의 잠재적 면역원성을 평가하기 위해 사용하였다. iTope™를 사용하여 인간 MHC 클래스 II에 대한 무차별 고친화도 결합을 갖는 펩타이드에 대한 주요 리드의 VL 및 VH 서열을 분석하였다. 무차별 고친화도 MHC 클래스 II 결합 펩타이드는 약물 단백질의 임상 면역원성에 대한 높은 위험 지표인 T 세포 에피토프의 존재와 상관 관계가 있는 것으로 생각된다. iTope™ 소프트웨어는 34개의 인간 MHC 클래스 II 대립유전자의 개방-말단 결합 홈 내에서 펩타이드의 아미노산 측쇄와 특이적 결합 포켓(특정 포켓 위치; p1, p4, p6, p7 및 p9) 간의 선호되는 상호작용을 예측한다. 이들 대립유전자는 임의의 특정 민족 집단에서 가장 많이 발견된 것에 대한 가중치를 부여하지 않고, 전세계에서 발견된 가장 일반적인 HLA-DR 대립유전자를 나타낸다. 20개의 대립유전자는 '개방' p1 구성을 포함하고, 14개는 83번 위치의 글리신이 발린으로 치환되는 '폐쇄' 구성을 포함한다. 주요 결합 잔기의 위치는 시험 단백질 서열에 걸쳐 있는 8개의 아미노산에 의해 중첩되는 9량체 펩타이드의 인 실리코 생성에 의해 달성된다. 이 과정은 MHC 클래스 II 분자에 결합하거나 결합하지 않는 펩타이드 사이에서 높은 정확도로 성공적으로 구별된다.

[0346] 또한, 다른 단백질 서열의 시험관내 인간 T 세포 에피토프 매핑 분석에 의해 이전에 확인된 T 세포 에피토프에 대한 매핑을 위해서 TCED™(T 세포 에피토프 데이터베이스™) 검색을 사용하여 서열을 분석하였다. TCED™은 관련이 없는 단백질 및 항체 서열로부터 유래된 펩타이드의 대규모(10,000개 초과 펩타이드) 데이터베이스에 대해 임의의 시험 서열을 검색하는 데 사용된다.

[0347] **항체 v-도메인 특이성 시험: 인간 수용체 어레이 분석**

[0348] 인간 세포막 수용체 프로테옴 어레이를 레트로제닉스사(Retrogenix Ltd.)에서 수행하였다. 1차 스크린: 5 $\mu$ g/ml의 IgG1-Mab005(인간화) 항체를 4975 인간 원형질막 단백질을 개별적으로 발현하는 고정 HEK293 세포/슬라이드에 대한 결합에 대해 스크리닝하였다(14개 슬라이드 세트, 슬라이드 세트당 n=2 슬라이드). 모든 형질주입 효율은 최소 임계값을 초과하였다. 항체 결합은 AF647 형광 2차 항-인간 IgG1 항체를 사용하여 검출하였다. ImageQuant에서 형광(AF647 및 Zsgreen1)을 분석하여 1차 히트(2회 반복 스캔)를 식별하였다. 모든 히트를 암호화하는 벡터를 서열결정하여 올바른 아이덴티티를 확인하였다. 확인/특이성 스크린: 모든 히트를 암호화하는 벡터와 MS4A1(CD20) 및 EGFR을 암호화하는 대조군 벡터를 새로운 슬라이드에서 중복하여 스팟팅(spotting)하고, 이를 사용하여 이전과 같이 인간 HEK293 세포를 역형질주입시켰다. 모든 형질주입 효율은 최소 임계값을 초과하였다. 동일한 고정 슬라이드를 각각의 시험 항체 5 $\mu$ g/ml, 음성 대조군 항체 5 $\mu$ g/ml, 1 $\mu$ g/ml 리톡시맵 바이오밀러(양성 대조군), 아이소타입 IgG1(Ab00102 인간 IgG1 항-플루오레세인) 또는 시험 분자 없음(2차 단독; 음성 대조군)으로 처리하였다(처리당 당 n=2 슬라이드). 슬라이드를 상기와 같이 분석하였다. 유세포 분석법 확인 스크린: Zsgreen1 단독, Zsgreen1 및 PD1, FZD5, KDR 또는 ULBP2를 암호화하는 발현 벡터를 인간 HEK293 세포에 형질주입시켰다. 각각의 살아있는 형질주입체를 각각의 시험 항체 및 아이소타입 대조군 항체 1 및 5mg/ml와 함께 인큐베이션시켰다. 세포를 세척하고, 세포 마이크로어레이 스크린에 사용된 것과 동일한 AF647 항-인간 IgG Fc 검출 항체와 함께 인큐베이션시켰다. 세포를 다시 세척하고, Accuri 유세포 분석기(BD)를 사용하여 유세포 분석법으로 분석하였다. 7AAD 생/사 염료를 사용하여 죽은 세포를 제외하고, Zsgreen1 양성 세포(즉, 형질주입된 세포)를 분석을 위해 선택하였다.

[0349] **DSC 분석**

[0350] 버전 1.22 소프트웨어를 실행하는 MicroCal PEAQ-DSC(멜버른 인스트루먼트사(Malvern Instruments), 영국 멜버른 소재)를 사용하여 시험품의 Tm을 분석하였다. 샘플을 20 내지 110 $^{\circ}$ C 범위에 걸쳐서 200 $^{\circ}$ C/시간의 속도로 가열시켰다. 열 데이터를 단백질 농도에 기초하여 정규화하였다. 가열 스캔 데이터로부터 단백질의 Tm을 결정하였다.

[0351] **강제 산화 분석**

[0352] 무손상 IgG의 강제 산화 분석을 위해: PBS 완충제 중의 IgG1 샘플을 실온에서 2시간 동안 0.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 처리하고, 이어서 Dionex Ultimate 3000RS HPLC 시스템(써모피셔 사이언티픽사, 영국 헤멜 햄프스테드 소재)에서의 RP 분석(무손상 항체 및 소단위, 트립신 처리된 펩타이드) 전에 -80 $^{\circ}$ C에서 저장하였다. 무손상 항체 환원을 위해서, DTT를 0.33M의 최종 농도로 첨가하고, 샘플을 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시키고, 즉시 RP로 분석하였다. Dionex Ultimate 3000RS HPLC 시스템(써모피셔 사이언티픽사, 영국 헤멜 햄프스테드 소재)에 연결된 PLRP-S 1000, 5 $\mu$ m, 2.1mm $\times$ 50mm 칼럼(에질런트 테크놀로지스사(Agilent Technologies), 영국 스타포트 소재)을 사용하여 크로마토그래피 분리를 수행하였다. 이 방법은 24분에 걸쳐 80% 완충제 A(0.02% TFA, 7.5% H<sub>2</sub>O 중의 아세트나이트릴)에서 50% 완충제 B(0.02% TFA, 7.5% H<sub>2</sub>O 중의 아세트나이트릴)까지 선형 구배로 이루어졌다. 유량은 0.5ml/분이었고, 온도를 분석 전체에서 70 $^{\circ}$ C로 유지시켰다. 검출을 280nm에서 UV 흡수에 의해 수행하였다.

[0353] 소화된 IgG의 강제 산화 분석을 위해: 제조사의 프로토콜에 따라 SMART Digest<sup>TM</sup> 키트(써모피셔 사이언티픽사, 영국 헤멜 햄프스테드 소재)를 사용하여 네이티브 및 산화된 IgG1 샘플을 트립신으로 분해시켰다. 생성된 트립신 처리된 펩타이드를 즉시 RP로 분석하였다. 크로마토그래피 분리를 Dionex Ultimate 3000RS HPLC 시스템(써모피셔 사이언티픽사, 영국 헤멜 햄프스테드 소재)에 연결된 Acquity UPLC CSH C18 칼럼, 130 $\text{\AA}$ , 1.7 $\mu$ m, 2.1mm $\times$ 150mm(워터스사(Waters), 영국 엘스트리 소재)를 사용하여 수행하였다. 이 방법은 4분에 걸친 95% 완충제 A(H<sub>2</sub>O 중의 0.1% FA)에서 15% 완충제 B(75% 아세트나이트릴 중의 0.085% FA)로의 선형 구배, 이어서 22분에 걸친 15% 완충제 B에서 60% 완충제 B로의 선형 구배로 이루어졌다. 유량은 0.2ml/분이었고, 온도를 분석 전체에서 40 $^{\circ}$ C로 유지시켰다. 검출을 280nm에서 UV 흡수에 의해 수행하였다.

[0354] HIC 분석을 위해, Dionex Ultimate 3000RS HPLC 시스템(써모피셔 사이언티픽사, 영국 헤멜 햄프스테드 소재)에 연결된 TSKgel Butyl-NPR 4.6mm $\times$ 35mm HIC 칼럼(토소 바이오사이언스사(TOSOH Bioscience Ltd.), 영국 리딩 소재)을 사용하여 크로마토그래피 분리를 수행하였다. 방법은 60% 완충제 A(100mM 인산나트륨 pH 7.0, 2M 황산암모늄)에서 90% 완충제 B(100mM 인산나트륨 pH 7.0)로의 9분에 걸친 선형 구배로 이루어졌다. 유량은 1.2ml/분이었다. 검출을 280nm에서 UV 흡수에 의해 수행하였다.

[0355] **결과 및 논의**

[0356] **바람직한 인간 생식세포계열 v-유전자 상의 CDR 그래프팅**

[0357] 효능작용적 무린 항-PD1 IgG MA005의 CDR(mVH/mL; WO2015/085847A1 및 표 2 참조)을 먼저 CDR 그래프팅을 사용하여 인간 생식세포계열 면역글로불린 v-도메인 프레임워크 서열 스캐폴드에 도입하였다. 최적의 약물-유사 특성을 갖는 최종 리드 치료용 IgG 화합물에 대한 본 발명자들의 조작 노력을 편향시키기 위해, 본 발명자들은 모체 항체의 CDR을 우수한 용해도 및 약물 개발 품질을 갖고, 발현된 인간 항체 레퍼토리에서 높은 빈도로 사용되는 것으로 공지된 "바람직한" 생식세포계열 스캐폴드 IGHV3-7 및 IGKV1-39에 그래프팅시키기로 선택하였다.

[0358] 이러한 스캐폴드 및 그래프팅된 CDR 정의는 표 2에 요약되어 있다. 무린 항-D1 항체에 대한 중쇄 및 경쇄 서열이 또한 표 2에 나타나있다. 이러한 CDR 그래프팅 과정은 널리 공지되어 있지만, 주어진 인간 v-도메인 서열의 세트가 비-인간 CDR 그래프팅에 적합한 수용체 프레임워크로서 작용할 것인지 예측하는 것은 여전히 문제가 있다. 부적합한 프레임워크의 사용은 표적 결합 기능의 손실, 단백질 안정성 문제 또는 심지어 최종 IgG의 발현 손상을 야기할 수 있다. 따라서, IGHV3-7/IGKV1-39 이식편을 CDR 돌연변이생성 및 개선된 클론의 선택을 위한 주형으로 채택하였다.

[0359] **라이브러리 생성 및 스크리닝**

[0360] CDR-그래프팅된 IGHV3-7/IGKV1-39 v-도메인 서열을 Fab 파지 디스플레이 포맷으로 조합하고, 돌연변이생성 라이브러리 카세트를 올리고 합성 및 조립에 의해 생성시켰다. 최종 Fab 라이브러리를 파지 디스플레이 벡터에 결합시키고, 전기 천공법을 통해 이.콜라이 내에 형질전환시켜  $1.3 \times 10^9$  개의 독립적인 클론을 생성시켰다. 96개의 클론을 서열결정함으로써 라이브러리 구축 품질을 검증하였다. 이러한 서열결정 데이터는 각각의 분산 위치에서 무린 또는 인간 생식세포계열 잔기를 암호화하는 위치가 대략 50%의 빈도로 효과적으로 샘플링되었음을 나타내었다. 헬퍼 파지 M13을 사용하여 라이브러리를 구축하였고, 선택을 다중 개별 분지로 바이오티닐화된 인간 및 시노물거스 원숭이 PD1-Fc 단백질 상에서 수행하였다.

[0361] 선택 후 스크리닝(도 1) 및 DNA 서열결정은, ELISA에서 인간 및 시노 PD1에 대해서 강한 결합을 나타내고, 알파 스크린 검정에서 인간 및 시노 PD1에 결합하는 IgG1-Mab005(인간화)의 50% 초과와 저해를 나타내는 64개의 고유한, 인간 및 시노 PD1-결합 Fab 클론의 존재를 나타내었다. 이들 64개의 클론 중에서, 프레임워크 서열은 완전 생식세포계열을 유지하였지만, 모든 CDR에서 돌연변이가 또한 관찰되었다(표 3). 리드 클론을 인간 및 시노 PD1-Fc 둘 다에 대한 결합에 대해서 CDR 생식세포계열화의 수준 대 ELISA 신호에 기초하여 순위매겼다. 이어서 이러한 순위로부터의 상위 12개 클론의 v-도메인을 하기와 같이 추가 시험을 위해서 IgG 발현 벡터 내에 서브클로닝시켰다(표 4). 상위 12개의 클론을 또한 이. 콜라이 발현으로부터 Fab 단백질을 발현시키고, 균질화까지 정제시키고, 정량하고, 인간 PD1-Fc 및 시노 PD1-Fc에 대한 직접 ELISA 결합 분석에 적용하였다(도 2A 및 도 2B, 표 5). 예상치 못하게, 시노 PD1 단백질에 대한 Fab 단백질의 결합은 몇몇 라이브러리-유래된 클론에 대한 결합 EC50 값이 Mab005(인간화) Fab의 값보다 상당히 개선되었다는 것을 나타내었다(표 5). 이것은 인간 PD1 결합에 대해 관찰된 것과 거의 동일한 모든 라이브러리 유래 클론에 대한 EC50 값으로 이어진 반면, Mab005(인간화) Fab의 시노 결합은 인간에 대한 것보다 상당히 낮았다. 실제로, Mab005(인간화) Fab의 결합은 시노 PD1에 대해서 충분히 약하여, 적용된 최고 농도(500nM)에서도 결합 신호 포화를 달성하지 못했는데, 이는 이러한 단백질에 대해 시노 PD1 EC50 값을 계산할 수 없음을 의미한다(표 5). 이러한 값은 입증된 단량체 Fab 단백질로 생성되었기 때문에, 몇몇 클론에서 시노 단백질에 대한 1:1 결합 개선을 반영하였다.

[0362] 라이브러리 선택으로부터 직접 유래된 리드 클론의 경우 생식세포계열화 돌연변이가 모든 CDR에서 발견된 반면, 서열 분석은 추가 클론을 최대 인간화를 갖도록 설계할 수 있는 가능성을 남겼다. 따라서, 인간 및 시노 단백질에 대해서 결합 신호를 갖는 64개의 서열-고유한 히트를 사용하여 이러한 기능적으로 특징구명된 집단의 CDR에서 무린 아미노산에 대한 보유 빈도를 분석하였다. 위치 아미노산 보유 빈도를  $V_L$  및  $V_H$  도메인에서 발견되는 백분율로서 표현하였다(각각 도 3A 및 도B). 75% 미만의 RF를 갖는 무린 잔기는 일련의 조합 설계에서 표적 결합 파라토프에 필수적이지 않을 수 있고 생식세포계열화에 개방될 가능성이 있는 위치로 간주되었다(표 4). VH 도메인(CDR-H3 제외)에서 CDR-H1 및 H2의 9개 무린 잔기 중 4개 만 75%를 초과하는 보유 빈도를 나타내었으며, CDR-H1에서 발견된 유일한 무린 잔기(M)는 임의의 기능성 클론에서 발견되지 않았는데, 이는 0%의 빈도 값을 제공한다(도 3B).  $V_L$  도메인에서, Mab005 서열로부터 유래된 13개의 무린 CDR 잔기 중 2개 만 75% 초과 빈도로 유지되었다(도 3A). 이 분석은 전체 CDR-L2 서열이 IGKV1-39에 대한 생식세포계열 아이덴티티를 가능하게 할 수 있음을 강력하게 시사하였다. 중요하게는, Mab005의 CDR-L3에서 발견되고 거의 100%로 유지되는 트립토판(W) 잔

기(도 3A)는 경쇄 스폴라이싱 동안 J 분절에 의해 제공된 위치에 존재하며, 시작 라이브러리에서 인간 JK4 서열의 사용으로 인해서 비-인간으로 간주되었다. 이러한 관찰은, 일련의 디자이너 클론에서 경쇄의 재설계가 JK4 대신 인간 JK1 서열을 포함하도록 허용하였는데, 그 이유는 인간 JK1이 자연적으로 그 위치에 W 잔기를 함유하여, 생성된 경쇄 서열을 CDR-L2 및 L3에서 완전 생식세포계열화시키기 때문이다(표 4).

[0363] 75% 초과 RF를 갖는 뮤린 잔기 만을 함유한 설계에 접두사 "MH"(MH = 최대 인간화된)를 제공하였다.  $V_L$  및  $V_H$  도메인 둘 다에 대해서, 집단에서 관찰된 가장 인간화된 CDR을 조합한 또 다른 디자이너 v-도메인 세트('TTP' = 총 이론적으로 가능한)를 또한 생성시켰다. 총 5개의 디자이너  $V_H$  및 3개의 디자이너  $V_L$  도메인을 생성시켰다: CDR-H1 및 H3에서  $V_H$  도메인 MH-AA-VH, MH-LV-VH, MH-LG-VH, MH-LF-VH, MH-LA-VH 샘플링된 변이체 서열, 및 CDR-L1에서 MH-VL, MH-JK1-VL, TTP-JK1-VL 샘플링된 변이체, 및 또한 JK4>JK1 스왑(swap). 실제로, TTP-JK1-VL에서 W>Y 및 JK4>JK1 돌연변이는 이 서열이 전체 v-도메인에 걸쳐서 완전 인간 생식세포계열화되도록 하였다. 이러한 작제물을 매트릭스 방식으로 공동 형질주입시켜 총 15개의 최종 디자이너 IgG를 생성시켰다(표 4). 유전자 합성에 의해서 MH 및 TTP 클론을 생성시켰고, (상기에 요약된 12개의 라이브러리-유래된 클론 및 양성 대조군 IgG1-Mab005(인간화)와 함께), IgG1널 포맷의 생산을 위해서 인간 발현 벡터에 클로닝하였다. 모든 IgG는 쉽게 발현되었고, 포유동물 세포의 일시적인 형질주입으로부터 정제시켰다.

### [0364] 리드 IgG 특이성 및 역가 특성

[0365] 이어서, 상기에 기재된 정제된 IgG를 직접 적정 ELISA 포맷으로 인간 및 시노 PD1-F에 대한 결합에 대해 시험하였다. 이러한 분석은, 몇몇 라이브러리-유래된 클론이 인간 및 시노 PD1 결합 프로파일을 갖고, IgG1-Mab005(인간화)와 유사하거나(2배 이내), 개선된 EC50 값을 가졌다는 것을 입증하였다(도 4A 및 도 4B, 표 6). 하나의 주목할 만한 예외는 클론 IgG1-14C07이었는데, 이것은 PD1의 두 오쏘로그에 대해서 불량한 결합을 나타내었고, 이 클론에 대한 EC50 값을 결정하는 것을 불가능하게 만들었다. 유사하게, 대부분의 디자이너 IgG는 IgG1-Mab005(인간화)와 유사하거나(3배 이내), 개선된 EC50 값을 가졌다(도 5A 내지 도 5D, 표 7). 클론 IgG1-01, IgG1-02 및 IgG1-03은 PD1의 오쏘로그 중 하나 또는 둘 다에 대해 불량한 결합을 나타내었지만, 이들 클론에서 발견되는 CDR-H1 및 H3 돌연변이가 조합으로 사용될 때 결합에 방해가 됨을 입증하였다. IgG에 직접 결합하는 것에 대한 ELISA EC50 값은 진정한 1:1 결합 친화도가 아닌 결합활성에 의해 강하게 영향을 받기 때문에, 본 발명자들은 하기에 설명된 바와 같이 더 높은 감도, 용액상 에피토프 경쟁 및 바이아코어 결합 친화도 결정을 수행하였다.

[0366] 바이오티닐화된 단량체 인간 PD1에 대한 IgG1-Mab005(인간화) 결합과의 에피토프 경쟁에 대한 IgG의 시험을 허용하기 위해 알파스크린 검정을 확립하였다. 이러한 검정에서, 최위-성능의 라이브러리-유래된 IgG 및 디자이너 IgG는 IC50 값을 통해 보다 효과적으로 차별화되었다(표 8). 다수의 클론이 IgG1-Mab005(인간화)보다 Mab005 에피토프에 대해 동등하거나 개선된 경쟁을 나타내었지만(도 6A 및 도 6B), 하기를 비롯한 몇몇은 손상된 에피토프 경쟁(Mab005보다 2배 초과 더 낮음)을 나타냈다: IgG1-15C10, IgG1-13G02, IgG1-08F04, IgG1-16C07, IgG1-12H11, IgG1-12E02, IgG1-14C07, IgG1-01, IgG1-02, IgG1-03, IgG1-06, IgG1-09, IgG1-12 및 IgG1-15(표 8). 특히, 이 검정에서 가장 성능의 디자이너 IgG는 이전에 ELISA 검정에서 불량한 시노 오쏘로그 교차 반응성을 갖는 것으로 나타난 것 및 CDR-L1 생식세포계열화 돌연변이가 W>Y를 포함한 모든 클론을 포함하였다.

[0367] 용액상, 단량체 인간 및 시노 PD1 단백질에 대한 모든 IgG에 대해 결합 친화도의 바이아코어 분석을 수행하였다. 모든 경우에 낮은  $Chi^2$  값을 갖는 정확한 1:1 결합 친화도가 획득되었다(표 9). 이들 분석은 Fab 및 IgG ELISA 및 알파스크린 검정에서 일관되게 가장 높은 EC50 및 IC50 값을 제공하는 라이브러리-유래된 클론이 인간 및 시노 PD1에 대해 가장 높은 친화도 결합을 나타내었음을 보여주었다. 중요하게는, 라이브러리-유래된 클론 IgG1-06D02, IgG1-12B07, IgG1-12H04 및 IgG1-16H10, 및 디자이너 클론 IgG1-04, IgG1-05, IgG1-08, IgG1-10, IgG1-11, IgG1-13 및 IgG1-14는 모두 IgG1-Mab005(인간화)에 비해서, 인간 및 시노 PD1 둘 다에 대해 개선된 결합 친화도를 나타냈다. 중요하게는, 이러한 친화도의 개선은, 예상치 못하게, 8배 차이(인간 KD - 4.0nM, 시노 KD - 32.0nM)를 나타내는 IgG1-Mab005(인간화)와 상반되게, 이러한 클론에 대한 인간/시노 친화도를 3배 이내(모든 KD 값 4.9nM 미만)로 정상화시켰다. 인간과 시노 표적 오쏘로그 사이의 3배 미만의 친화도 차이는 예를 들어, 원숭이 안전성, PK 및 PD 모델링 실험의 상당히 더 양호한 설계 및 해석을 가능하게 하기 때문에 전임상 약물 개발 검정에 매우 유용하다. 두 PD1 오쏘로그에 대한 결합의 이러한 상대적 정상화는 이들 리드 클론을 2.7의 친화도 차이를 나타내는 IgG1-펩브리주맙 유사체에 대한 결합에서 매우 유사하게 만들었다. 또한, IgG1-14 및 IgG1-15 클론의 친화도를 비교하여, IgG1-14의 CDR-L1에서 단일 '뮤린' W 잔기의 영향을 확인하였는데(표 4), 그 이유는 IgG1-15에서 Y에 대한 단일 잔기의 돌연변이가 인간 및 시노 PD1 둘 다에 대해 약

10 배의 KD 손실을 초래하였기 때문이다(표 9). 이러한 발견은, W>Y 돌연변이가 일반적으로 상대적으로 보존적인 치환으로 간주되기 때문에, CDR 잔기가 인간 생식세포계열 아이덴티티로 전환될 수 있거나 전환될 수 없는 '선택'을 결정하는 데 있어서 어려움을 강조하였다.

[0368] 세포막에서 리드 IgG 결합 특이성의 유세포 분석

[0369] PD1에 대한 항체를 유세포 분석법을 통해 세포 표면에서 농도 의존적인 결합에 대해 분석하였다. 인간 또는 시노 PD1이 안정적으로 형질주입된 CHO 세포 상에서 초기 분석을 수행하였다. 이들 분석은, 리드 라이브러리-유래된(도 7A) 및 디자이너 클론(도 7B, 도 7C)이 IgG1-Mab005(인간화)와 동등하거나 개선된 역가로 막-제시된 인간 PD1에 대해서 농도-의존적인 결합을 나타낸다는 것을 나타내었다(표 10). 중요하게는, CDR-L1 'W' 잔기의 영향을 다시 관찰하였는데, 그 이유는 IgG1-14가 인간 PD1에 대해서 IgG1-15보다 더 강한 결합을 나타내었기 때문이다(도 7C). 시노 PD1 CHO 세포 상에서 수행된 분석은, 몇몇 라이브러리-유래된(도 8A) 및 디자이너 리드(도 8B)가 IgG1-Mab005(인간화)와의 비교 시에 시노 PD1에 대해서 상당히 개선된 결합을 나타내었다는 것을 추가로 확인해 주었다(표 10). 비형질주입된 CHO 세포에서는 최고 농도에서조차 어떠한 클론에 대해서도 결합 신호가 관찰되지 않았다.

[0370] PD1-PDL1 차단 검정에서의 리드 IgG 분석

[0371] 세포-기반 PD1/PD-L1 차단 리포터 검정에서, 시험된 모든 클론은 PD1의 농도-의존적인 길항성을 나타내었다. 중요하게는, 다수의 클론(IgG1-06D02, IgG1-12H04, IgG1-16H10, IgG1-05, IgG1-08, IgG1-11 및 IgG1-14 포함)은 IgG1-Mab005(인간화)와의 비교 시에 PD1 차단에서 개선된 역가를 나타내었다(표 11). 또한, 클론 IgG1-06D02 및 IgG1-16H10은 IgG1-Mab005(인간화) 및 IgG4 니볼루맵 유사체(도 9)보다, 검정에서 증가된 최대 신호를 나타냈다.

[0372] 항체 v-도메인 T 세포 에피토프 분석

[0373] 치료용 항체 및 단백질에서 T 세포 에피토프의 위치를 식별하는 것에 기초한 인 실리코 기술(압제나사)을 Mab005 및 리드 v-도메인의 면역원성을 평가하기 위해 사용하였다. v-도메인 열의 분석은 중첩된 9량체 펩타이드(각각 최종 펩타이드가 8 개의 잔기에 의해 중첩됨)를 사용하여 수행하였고, 이를 34개의 MHC 클래스 II 알로 타입 각각에 대해 시험하였다. 각각의 9량체를 잠재적인 '적합성' 및 MHC 클래스 II 분자와의 상호작용에 기초하여 점수를 매겼다. 소프트웨어에 의해 계산된 펩타이드 점수는 0 내지 1이다. 높은 평균 결합 점수(iTope™ 점수 기록 기능에서 0.55 초과)를 생성한 펩타이드를 강조하였고, MHC 클래스 II 결합 펩타이드의 50% 초과(즉, 34개의 대립 유전자 중 17개)가 높은 결합 친화도(0.6 초과점수)를 갖는 경우, 이러한 펩타이드는 CD4+ T 세포 에피토프를 함유할 위험이 높은 것으로 간주되는 '고친화도' MHC 클래스 II 결합 펩타이드로 정의되었다. 낮은 친화도 MHC 클래스 II 결합 펩타이드는 0.55 초과(그러나 대부분 0.6 초과가 아님)의 결합 점수로 상당한 수의 대립유전자(50% 초과)에 결합한다. TCED™를 사용하여 서열의 추가 분석을 수행하였다. 이 서열은 압제나사에서 수행된 이전의 시험관내 T 세포 에피토프 매핑 연구에서 T 세포 반응을 자극하는 관련되지 않은 단백질/항체로부터의 펩타이드(T 세포 에피토프) 사이의 임의의 높은 서열 상동성을 확인하기 위해 BLAST 검색에 의해 TCED™를 조사하는데 사용되었다.

[0374] 펩타이드를 다음의 4개의 클래스로 분류하였다: 고친화도 외부물질('HAF' - 고 면역원성 위험), 저친화도 외부물질('LAF' - 더 낮은 면역원성 위험), TCED+(데이터베이스에서 이미 식별된 에피토프), 및 생식세포계열 에피토프('GE' - 높은 MHC 클래스 II 결합 친화도를 갖는 인간 생식세포계열 펩타이드 서열). 생식세포계열 에피토프 9량체 펩타이드는 광범위한 생식세포계열 펩타이드를 사용한 이전 연구에서 검증된 바와 같이 T 세포 관용으로 인해서 면역원성 가능성을 갖지 않을 것이다. 중요하게는, 이러한 생식세포계열 v-도메인 에피토프(인간 항체 불변 영역에서 유사한 서열에 의해 추가로 제공됨)는 또한 항원 제시 세포의 막에서 MHC 클래스 II 점유에 대해서 경쟁하여, T 세포 자극에 필요한 '활성 역치'를 달성하기에 충분한 외래 펩타이드 제시 위험을 감소시킨다. 따라서 높은 GE 함량은 항체 치료제의 임상 개발에서 유리한 품질이다.

[0375] 도 12에 나타난 바와 같이, 주요 리드 v-도메인은 IgG1-Mab005(인간화)과 비교할 때 펩타이드 에피토프 함량에서 상당히 이로운 변화를 나타냈다(표 12). IgG1-Mab005(인간화) 및 모든 리드의 v-도메인 프레임워크 영역(즉, CDR 서열 외부)은 서열에서 생식세포계열이기 때문에(표 2), 예측된 면역원성의 개선은 CDR 잔기의 생식세포계열화의 결과로서 발생한다(표 4, 표 12). 사실, 몇몇 클론에서, VL 도메인은 완전히 탈면역된 것을 발견하였다. GE 에피토프 함량은 또한 리드 클론의 VL 영역에서 상당히 증가되는 것을 발견하였고(모든 리드 중 1 내지 3 이

상), TCED+ 에피토프를 모든 리드에서 VL 도메인으로부터 제거하였다(표 12). 중요하게는, 리드 클론의 VL CDR에서 발견되는 생식세포계열화 돌연변이에 의해서 다수의 HAF 및 LAF 에피토프를 제거하였다. 예를 들어, IgG1-Mab005(인간화)의 LCDR-1에서 발견되는 TCED+ 및 HAF 펩타이드 'VTITCLASQ'(서열번호 83)를 이 서열을 경계 GE 'VTITCRASQ'(서열번호 84)로 전환시키는, 6번 위치에서 돌연변이 L>R에 의해서 모든 리드 클론에서 제거하였다. 유사하게, IgG1-Mab005(인간화)의 LCDR-1에서 발견되는 LAF 펩타이드 'IGTWLTWYQ'(서열번호 85)를, 이 서열을 'ISSWLNWYQ'(서열번호 86)로 전환시키는, 4번 위치에서 단일 퓨린 잔기 W 만을 보유함으로써 모든 리드 클론에서 제거할 수 있다(표 12). 클론 06D02, IgG1-05, IgG1-08, IgG1-11 및 IgG1-14에서, IgG1-Mab005(인간화) 펩타이드 'LLIYTATSL'(서열번호 87) 및 'LIYTATSLA'(서열번호 88), 및 LAF 펩타이드 'IYTATSLAD'(서열번호 89)를 퓨린 서열 'TATSLAD'(서열번호 36)로부터의 완전 생식세포계열화 서열 'AASSLQS'(서열번호 42)로의 LCDR2의 돌연변이에 의해서 GE 서열로 전환시키거나 제거하였다. IgG1-Mab005(인간화) FW3/LCDR3 영역은 또한 LAF 펩타이드 'YYCQVYSI'(서열번호 90)를 암호화하였다. 이러한 에피토프를 6번 위치에서의 생식세포계열화 돌연변이 V>S에 의해서 모든 리드에서 제거하였다. IgG1-Mab005(인간화)의 VH 영역에서, 펩타이드 서열 'LYYFDYWQG'(서열번호 91)(HCDR3 및 FW4에 걸쳐 있음)는 LAF인 것을 발견하였다. 이러한 펩타이드에서 3번 위치에서의 돌연변이 Y>A는 클론 IgG1-14(표 4, 표 12)에서 이러한 에피토프의 제거를 가능하게 하였다.

#### [0376] 항체 결합 특이성 분석

[0377] 초기 임상 시험에서, 인간화된 형태의 Mab005는 다른 항-PD1 또는 항-PD-L1 치료제로는 볼 수 없었던 혈관종과 같은 인간 환자에게 비정상적인 독성을 유발하는 것으로 보고되었다. 이 보고서는, 인간화 Mab005가 다른 항-PD1 항체에서 발견되지 않는 고유한 '표적외' 결합 특징을 가질 수 있음을 시사하였다. 혈관종은 과도한 혈관의 집합에 의해 형성되는 양성 종양으로, 종종 피부에서 발생하지만 간 및 기타 기관에서도 발생할 수 있다. 본 발명자들은 Mab005가 혈관 발달 또는 조직 분화와 관련된 미확인 및 예측 불가능한 수용체에 결합할 수 있다고 가정하였다. 이러한 가능성을 조사하기 위해서, 4975개의 고유한 인간 막 수용체를 발현하는 세포의 고밀도 어레이를 사용하는 시험관내 기술(레트로제닉스사(Retrogenix, Ltd.))를 사용하여 IgG1-Mab005(인간화)에서 표적외 결합 특이성을 스크리닝하였다. 이 수용체 어레이 결합 스크린은 IgG1-Mab005(인간화)가 막-발현된 PD1에 강한 결합을 나타내었지만, 또한 4개의 잠재적인 표적외 결합 특이성을 가졌음을 식별하였다: FZD5(프리즐드 클래스 수용체 5), ULBP2(UL16 결합 단백질 2), EphB6 및 KDR(VEGFR2로서도 공지됨). 혈관종은 혈관 생물학-연관 수용체, 예컨대, VEGFR2에 돌연변이가 있는 환자에서 자연적으로 발생하는 것으로 알려져 있으며, 라무시루맵(항-VEGFR2)과 같은 암 치료를 위한 혈관 표적화 항체 사용시 보고된 부작용이다. 또한, FZD5는 혈관 발달과 관련된 Wnt 경로 신호전달 수용체이므로 이러한 수용체 중 하나의 기능을 조절하면 혈관 생물학이 조절될 가능성이 있다. 또한 ULBP2는 자연 살해 세포 활성화 수용체 NKG2D에 대한 공지된 리간드이기 때문에, 항-PD1을 사용한 암 요법 동안 이러한 단백질에 대한 결합은 알려지지 않은 결과이다.

[0378] 이러한 표적외 결합 이벤트를 확인하기 위해, 이러한 수용체 및 대조군을 암호화하는 플라스미드를 DNA 서열결정을 위해 제출하였다. 이러한 분석은 암호화된 단백질이 실제로 올바른 서열임을 확인해 주었다. 대조군 및 잠재적 표적 수용체를 위한 플라스미드 샘플을 반복 분석을 위해서 반복물로 새로운 칩에 재배열하였다. 모든 재배열된 플라스미드로부터의 효과적인 발현 유도는 내부 대조군 마커로서 모든 발현 플라스미드에 공동 암호화된 ZS green에 대한 칩을 스캔하여 확인하였다. 이러한 분석은 플라스미드가 스팟팅된 모든 위치에서 명확하게 검출 가능한 ZS 발현을 나타내었다(도 10A). 또한, 이어서, 동일하게-스팟팅된 슬라이드를 사용하여 IgG1-Mab005(인간화)(도 10B), 아이소타입 IgG1(음성 대조군, 도 10C), 리톡시맵(IgG1 양성 대조군, 도 10D) 및 1차 항체 프로브가 적용되지 않은 칩(도 10E)이 형질주입된 세포를 채탐색하였다. 이러한 분석은 IgG1-Mab005(인간화)가 다시 PD1, FZD5, ULBP2 및 KDR가 형질주입된 세포에서 배경(두 칩 모두에서)에 대해 측정 가능한 결합을 나타내었지만, Fc  $\gamma$  R1a(IgG1의 아이소타입으로 인해) 또는 EphB6을 포함하는 임의의 다른 스팟에는 결합하지 않음을 나타내었다(도 10B). 리톡시맵은 예상된 바와 같이 CD20 및 Fc  $\gamma$  R1a(IgG1 아이소타입으로 인해)에 대한 결합을 나타내었고, PD1, FZD5, ULBP2, EphB6 및 KDR에 대한 결합이 관찰되지 않았다(도 10D). 아이소타입 대조군 항체(도 10C)와 1차 항체가 없는 것(도 10E)으로 프로빙된 칩에서, 예상되는 대조군 단백질 만 임의의 신호를 나타냈다. 대조군 칩의 이러한 깨끗한 성능은 PD1, FZD5, ULBP2 및 KDR에 대한 IgG1-Mab005(인간화) 결합 신호가 특이적임을 확인해 주었다.

[0379] 이러한 표적외 결합 활성의 기원 및 이것이 연구에서 생성된 라이브러리-유래된 및 디자이너 IgG에서 유지되는지의 여부를 조사하기 위해서, 추가 칩 결합 분석을 수행하였다(도 11A 내지 도 11T). 상기와 같이, 재배열된 플라스미드를 다시 형질주입 품질에 대해서 확인하고, ZS green 발현의 유도를 확인하였다(도 11A). 추가 대조군 항체; 펩브롤리주맵 유사체(도 11B) 및 리톡시맵(도 11C)은 둘 다 각각의 동족 표적에만 결합하였고, 아이소

타입 대조군 IgG1은 결합을 나타내지 않았다(도 11D). mVH/mVL Mab005-IgG1 및 IgG1-Mab005(인간화)(각각 도 11E 및 도 11F)를 사용한 1차 분석은, 이전에 IgG1-Mab005(인간화)에서만 관찰된 표적의 결합 신호(도 10B)가 또한 mVH/mVL Mab005-IgG1로 프로빙된 칩에서 존재함을 나타내었다. 이러한 발견은, 본래 무린 하이브리도마로부터 직접 유래된 IgG1-Mab005(인간화)의 표적의 결합 반응성이 인간화 과정에서 유도된 다중반응성의 결과가 아님을 확인해 주었다. 따라서 IgG1-Mab005(인간화)의 표적의 결합 활성은 무린 CDR이 인간 생식세포계열 프레임워크에 그래프팅될 때 유지되었기 때문에 CDR에 직접 존재하였다.

[0380] 이어서, 리드 라이브러리-유래된 항체 및 디자이너 항체를 또한 사용하여 이러한 동일한 칩 세트를 프로빙하였다. 놀랍게도, 항체 IgG1-06D02(도 11G), IgG1-11G05(도 11H), IgG1-12H04(도 11I), IgG1-16H10(도 11J), IgG1-04(도 11K), IgG1-05(도 11L), IgG1-06(도 11M), IgG1-08(도 11N), IgG1-11(도 11O), IgG1-13(도 11P), IgG1-14(도 11Q), IgG1-15(도 11R), IgG1-12B07(도 11S) 및 IgG1-10(도 11T)은 임의의 중복 분석에서 PD1 이외의 다른 표적에 대한 측정 가능한 결합을 나타내었다. 이 발견은 리드 항체가 PD1에만 매우 특이적이고 강력한 결합을 유지하고, IgG1-Mab005(인간화)에 대해 관찰된 표적의 반응성이 제거되었음을 입증하였다.

[0381] 최종적으로 이러한 발견을 직교, 고감도 검정으로 확인하기 위해, KDR, ULBP2, FZD5 및 ZS green에 대한 서열-검증 플라스미드(음성 대조군)를 사용하여 인간 세포주 HEK293의 일시적 형질주입을 수행하였다. 이어서 형질주입된 세포를 mVH/mVL Mab005-IgG1, IgG1-Mab005(인간화), 펌프롤리주맵 유사체, 아이소타입 IgG1 및 리드 항체의 하위세트(IgG1-06D02, IgG1-12H04, IgG1-05, IgG1-08)를 사용하여 염색하였다. 각각의 항체를 수용체-형질주입된 세포 및 ZS green-형질주입된 세포(배경 결합을 측정하기 위해) 모두에 대해 고( $5\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 농도 및 보통( $1\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 농도로 반복적인 염색으로 사용하였다. 5 및  $1\mu\text{g}/\text{ml}$ (도 12A 내지 도 12P) 모두에서 PD1-형질주입된 세포의 염색에서, 아이소타입 대조군을 제외한 모든 시험된 항체는 PD1-형질주입된 세포의 예상되는 강력하고 특이적인 염색을 나타내었지만 ZS green-형질주입된 세포는 그렇지 않았다. 대조적으로, FZD5(도 13A 내지 도 13P), KDR(도 14A 내지 도 14P) 및 ULBP2-형질주입된 세포(도 15A 내지 도 15P)의 염색은 도 11로부터의 칩 데이터와 완전한 상관관계를 나타내었고, mVH/mVL Mab005-IgG1 및 IgG1-Mab005(인간화) 만 5 및  $1\mu\text{g}/\text{ml}$  모두에서 3개의 모든 표적에 대해 강한 결합 신호를 나타낸다. 항체 IgG1-06D02, IgG1-12H04, IgG1-05, IgG1-08, 펌프롤리주맵 유사체 또는 아이소타입 IgG1 중 어느 것도 어느 농도에서도 FZD5, KDR 또는 ULBP2-형질주입된 세포 중 임의의 것에 대해 배경보다 높은 측정 가능한 결합을 나타내지 않았다. 추가의 고감도 ELISA 검정에서, 이들 항체는 인간 및 시노 PD1에 결합하는 것을 발견하였지만(도 16A 및 도 16B), 인간 또는 레서스 VEGFR2의 재조합 엑토도메인(도 16C, D), 인간 FZD5(도 16E) 또는 BSA 단백질(도 16F)에는 결합하지 않았다. 이러한 발견은, 돌연변이생성 및 재선택 과정에서 유래된 CDR 서열이 IgG1-Mab005(인간화)와 연관된 임상 독성의 주요 유도자일 수 있는 수용체 KDR, FZD5 및 ULBP2의 표적의 결합을 예기치 않게 제거하였음을 완전히 확인해 주었다.

[0382] 마지막으로, PD1 친화도 평가에 대해 상기에 기재된 조건을 사용하여 바이아코어를 통해 VEGFR2에 대한 mVH/mVL Mab005-IgG1 및 IgG1-Mab005(인간화)의 친화도를 추정하려고 시도하였다. 인간 및 레서스 단량체 VEGFR2-his 단백질을 mVH/mVL Mab005-IgG1 및 IgG1-Mab005(인간화)에 대해서 적정하였다. 항-PD1 항체 둘 다는 다시 VEGFR2 재조합 단백질에 대한 결합을 나타내었지만, 결합은 매우 고농도의 가용성 분석물에서만 관찰되었다(도 17). 결과적으로, 불량한 적합성 값( $\text{Chi}^2 > 6.6$ )을 갖는 복잡한 곡선 만 생성할 수 있었고, 신뢰할 수 있는 KD 값을 정확하게 도출할 수 없었다. 이것은 인간 또는 레서스 VEGFR2에 대한 두 항체의 친화도가 아마도  $\mu\text{M}$  범위로 낮았다는 것을 나타내었다.

[0383] **VEGFR2 활성화 분석**

[0384] IgG1-Mab005(인간화)에서 VEGFR2 반응성이 수용체를 활성화할 수 있는지의 여부를 조사하기 위해, 인간 VEGFR2 리포터 분석을 사용하여 자연 VEGF 반응 요소 NFAT(프로메가사)의 제어 하에 루시페라제 발현의 유도를 조사하였다. 이 검정에서 IgG1-Mab005(인간화) 및 mVH/mVL Mab005-IgG1은 모두 VEGFR2 신호전달의 강력한 농도 의존적 활성화(nM 범위)를 나타내었고, IgG1-Mab005(인간화)는 mVH/mVL Mab005-IgG1보다 더 강력하였다(도 18). 그러나 IgG1-Mab005(인간화)의 활성화 역가는 재조합 인간 VEGF-163의 활성화 역가보다 상당히 더 낮았다(도 18). 중요하게는, 각각의 클론 MAB04, MAB08, 06D02 및 12H04를 또한 이러한 검정에서 분석하였고,  $1\mu\text{M}$ 의 높은 농도에서도 관찰 가능한 활성화 신호가 없음을 나타내었다. 실제로, 리드 IgG 클론에 대한 최대 농도의 신호는 아이소타입 대조군 IgG1에서 관찰된 신호보다 낮았다(도 18).

[0385] **IgG 안정성 분석**

[0386] 시차 주사 열량측정법(DSC)을 사용하여 전반적인 분자 구조 안정성의 지표로서 단백질의 열 안정성을 측정한다. 시험된 모든 IgG1 단백질은 DSC 분석과 완벽하게 상용성이어서, 유사한 샘플 균질성 및 협력성을 나타냈다(도

19). 각각의 항체에 대해 측정된 열 전이 중간점(T<sub>m</sub>)을 표 13에 나타낸다. 5개의 IgG 모두는 72.2℃에서 72.4℃ 까지 유사한 CH2 도메인 T<sub>m1</sub> 값을 나타내는데, 이는 모든 샘플이 높은 온정성을 가짐을 나타낸다. 그러나, 예상치 못하게, 모든 리드 IgG(IgG1-05, IgG1-08, IgG1-06D02 및 IgG1-12H04)는 Fab 도메인에서 매우 높은 안정성을 나타냈으며, T<sub>m2</sub> 값은 90.8℃ 내지 92.2℃ 범위였다(표 13). 대조적으로, Mab005-IgG1(인간화)은 83.8℃의 상당히 낮은 안정성 Fab T<sub>m</sub> 값을 가졌다(표 13). 모든 항체의 가변 도메인 프레임워크 영역 및 항체 불변 영역이 서열에서 동일하고, 따라서 모든 개선이 CDR 서열의 차이에 의해서만 매개되었기 때문에, Mab005-IgG1(인간화)에 비해 리드 항체에 대한 Fab 안정성의 상당한 증가는 예상치 못한 것이었다.

[0387] 트립토판 및 메티오닌과 같은 노출된 아미노산 잔기의 산화는 mAb에 대한 일반적인 분해 경로이다. 중요하게는, 항체의 CDR에서 중요한 측쇄의 산화가 표적 결합 친화도를 감소시킴으로써, 잠재적으로 생물학적 활성에 영향을 미칠 수 있다. 산화는 단백질 저장에서 일반적으로 시간이 지남에 따라 발생하는 과정이어서, 산화 위험을 실시간으로 분석하는 표준 실험실 방법은 단백질에 산화 시약을 추가하는 것이다. 본 연구에서, 실온에서 2시간 동안 PBS 중의 0.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 처리함으로써 IgG에 강제 산화를 적용하였다. 산화는 예를 들어, 산화된 형태의 극성을 증가시킴으로써, 항체의 전체적인 소수성을 변화시킬 수 있기 때문에, 강제 산화에 의해 유도된 잠재적인 변화를 역상(RP) 및 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC) 방법으로 분석하였다.

[0388] RP 분석에서, IgG1-05, IgG1-08, IgG1-06D02 및 IgG1-12H04 클론 중 임의의 것에 대해 무손상(표 14) 또는 환원된(표 15) IgG 형태에서 체류 시간 변화가 관찰되지 않았는데, 이는 측쇄의 상당한 산화가 발생하지 않았음을 시사한다. 대조적으로, Mab005-IgG1(인간화)의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 시, 무손상 IgG의 칼럼 체류 시간(표 14)에서 약 0.6 분의 감소, 환원된 경쇄의 경우 0.8분(표 15)의 감소가 관찰되었는데, 이는 노출된 아미노산의 산화가 항체 경쇄에서 특이적으로 발생하였음을 시사한다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 전 및 후의 트립신 처리된 펩타이드 지문의 RP 분석은 또한 Mab005-IgG1(인간화)를 제외한 모든 IgG에 대해 측쇄 산화 변화가 최소화되었음을 나타내었다. Mab005-IgG1(인간화)의 경우, 강제 산화 후 5개의 펩타이드의 손실 또는 환원에 이어 6개의 추가적인 펩타이드가 나타난다(도 20A). 대조적으로, 클론 IgG1-05, IgG1-08, IgG1-06D02 및 IgG1-12H04는 상당히 적은 수의 펩타이드의 수반되는 손실을 나타내었다. 예를 들어, IgG1-06D02는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 후 단지 2개의 트립신 처리된 펩타이드의 손실 및 2개의 추가적인 피크의 출현을 나타냈다(도 20B).

[0389] H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리는 또한 5개의 시험품 모두에 대해 HIC 상에서 체류 시간의 감소를 유도하였는데, 이는 노출된 아미노산의 약간의 산화를 시사한다(표 16). 다시, Mab005-IgG1(인간화)의 경우 HIC 상에서의 체류에서의 최고 감소(1.1 분)가 관찰된 반면, 클론 IgG1-05, IgG1-08, IgG1-06D02 및 IgG1-12H04의 경우 감소는 단지 0.2 내지 0.3 분이다. 전체적으로, 이러한 발견은 리드 클론 IgG1-05, IgG1-08, IgG1-06D02 및 IgG1-12H04가 Mab005-IgG1(인간화)에 비해 예상치 않게 향상된 물리적 안정성 및 산화 도전에 대한 내성을 가짐을 시사하였다.

[0390] 본 명세서에 요약된 조합된 분석은, 놀랍게도 이들 항체의 CDR에서 생식세포계열 및 비-생식세포계열 아미노산들 다의 심층 샘플링이 다수의 최종 분자에서 표적 결합 특이성, 면역원성 위험, 역가, 생물물리학적 안정성 및 화학적 안정성 위험의 동시 최적화를 가능하게 하였음을 입증하였다.

[0391] 특허, 특허 출원, 기사, 서적 및 논문을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 본 명세서에 인용된 모든 문헌 또는 문헌의 일부는 임의의 목적을 위해 전체적으로 참조에 의해서 명확하게 포함된다. 포함된 문헌 중 하나 이상 또는 문헌의 일부가 본 출원에서의 용어의 정의와 상반되는 용어를 정의하는 경우, 본 출원에 제시된 정의가 우선시된다. 그러나 본 명세서에 인용된 임의의 참고문헌, 기사, 간행물, 특허, 특허 공개 및 특허 출원에 대한 언급은, 그것이 유효한 선행 기술을 구성하거나 세계 임의의 국가에서 공통적인 일반적인 지식의 부분을 형성한다는 인정 또는 제안의 임의의 형태로서 간주되어서는 안 된다.

[0392] 본 발명은 바람직한 또는 예시적인 실시형태를 참조하여 설명되었지만, 당업자는 본 발명의 사상 및 범주를 벗어나지 않으면서 다양한 변형 및 변화가 달성될 수 있고, 그러한 변형이 본 명세서에서 명확하게 고려됨을 인식할 것이다. 본 명세서에 개시되고 첨부된 청구범위에 제시된 특정 실시형태에 대한 어떠한 제한도 의도되지 않으며, 또한 추론되어서는 안 된다.

표 1

대안적인 정의와 비교하여 본 명세서에 정의된 바와 같은 아미노산 서열 류린 항-PD1 CDR(\*통합된\* 체계)

| 방법              | HCDR1                  | HCDR2                            | HCDR3                   | LCDR1                     | LCDR2                    | LCDR3                   |
|-----------------|------------------------|----------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 통합              | GPTFSSYMS<br>(서열번호 95) | VATISGGGANTYYPDSVKG<br>(서열번호 92) | QLYYFDY<br>(서열번호 106)   | LASQTIGTWLT<br>(서열번호 110) | TATSLAD<br>(서열번호 114)    | QOVYSIPWT<br>(서열번호 116) |
| 카바              | SYMS<br>(서열번호 96)      | TISGGGANTYYPDSVKG<br>(서열번호 100)  | QLYYFDY<br>(서열번호 106)   | LASQTIGTWLT<br>(서열번호 110) | TATSLAD<br>(서열번호 114)    | QOVYSIPWT<br>(서열번호 116) |
| 코티아             | GPTFSSY<br>(서열번호 97)   | SGGGAN<br>(서열번호 101)             | QLYYFDY<br>(서열번호 106)   | LASQTIGTWLT<br>(서열번호 110) | TATSLAD<br>(서열번호 114)    | QOVYSIPWT<br>(서열번호 116) |
| IMGT            | GPTFSSYM<br>(서열번호 98)  | ISGGGANT<br>(서열번호 102)           | ARQLYYFDY<br>(서열번호 107) | QTIGTW<br>(서열번호 111)      | TAT<br>(서열번호 115)        | QOVYSIPWT<br>(서열번호 116) |
| AH <sub>0</sub> | GPTFSSYMS<br>(서열번호 95) | ISGGGANTYYPDSVKG<br>(서열번호 103)   | QLYYFD<br>(서열번호 108)    | ASQTIGTW<br>(서열번호 112)    | TATSLAD<br>(서열번호 114)    | VYSIPW<br>(서열번호 117)    |
| AbM             | GPTFSSYMS<br>(서열번호 95) | TISGGGANTY<br>(서열번호 104)         | QLYYFDY<br>(서열번호 106)   | LASQTIGTWLT<br>(서열번호 110) | TATSLAD<br>(서열번호 114)    | QOVYSIPWT<br>(서열번호 116) |
| 접촉              | SSYMS<br>(서열번호 99)     | VATISGGGANTY<br>(서열번호 105)       | ARQLYYFD<br>(서열번호 109)  | GTWLTWY<br>(서열번호 113)     | LLIYTATSLA<br>(서열번호 115) | QOVYSIPW<br>(서열번호 118)  |

[0393]

표 2

MAB005 류린 항-PD1 v-도메인(mVH/mVL) 및 인간 생식세포계열 CDR 그래프트(VH1/VL1)의 아미노산 서열.

v 도메인 인간 생식세포계열: 아미노산 서열:

|         |          |                                                                                                                                  |
|---------|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PD1-mVH | 해당 없음    | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMSNWVRGTPEKLEWVATISGGGANTYYPDSVKGRFTISRDAKNTLYLQMSLRSEDTALYYCARQLYYFDYWGQOTTLTIVSS<br>(서열번호 119) |
| PD1-VH1 | IGHV3-7  | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMSNWVRGAPGRGLEWVATISGGGANTYYPDSVKGRFTISRDAKNTLYLQMSLRSEDTALYYCARQLYYFDYWGQOTTIVTSS<br>(서열번호 120) |
| PD1-mVL | 해당 없음    | DIQMTQSPFASQSASLGEGVITTCIASQTIGTWLTWYQKRPKSPQLLIYTATSLADGVPSRFSGSGSGTKPKFISLQAEDEVITYYCOQVYSIPWTFGGGTKEIK<br>(서열번호 121)          |
| PD1-VL1 | IGKV1-39 | DIQMTQSPFSSLSASVGRVITTCIASQTIGTWLTWYQKRPGRAPKLLIYTATSLADGVPSRFSGSGSGTKDFTLTISLQAEDEVITYYCOQVYSIPWTFGGGTKEIK<br>(서열번호 122)        |

<sup>1</sup>IMGT 시스템에 기초한, 그래프팅에 대해서 사용되는 인간 생식세포계열. <sup>2</sup>CDR 잔기를 볼드체 및 밑줄로 나타낸다. 상기에 언급된 바와 같이, 본 명세서에 사용된 "통합된" CDR 정의는 전통적인 카바 정의와 비교하여 확장된 정의이다. 상기 각각의 서열은 하기 순서의 프레임워크 영역(FR) 및 CDR을 나타낸다: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.

[0394]

3

인간 및 시노 PD1 단백질에 결합하는 것으로 나타난 Fab 클론으로부터의 고유한 CDR.

| LCDR1                     | LCDR2                 | LCDR3                    | HCDR1                    | HCDR2                              | HCDR3                  |
|---------------------------|-----------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------------|------------------------|
| RASQSIGSWLT<br>(서열번호 123) | AASSLAD<br>(서열번호 128) | QQSYSIFLT<br>(서열번호 132)  | GTFSSYAMS<br>(서열번호 67)   | VANISGGGAEKYYPDSVKG<br>(서열번호 147)  | LLYYEDY<br>(서열번호 165)  |
| RASQSIGSYLN<br>(서열번호 78)  | AASSLAS<br>(서열번호 53)  | QQSISIFWT<br>(서열번호 47)   | GTFSSYDMS<br>(서열번호 135)  | VANISGGGAEKYYPDSVKG<br>(서열번호 147)  | MLTYFDY<br>(서열번호 166)  |
| RASQSIGTWLN<br>(서열번호 124) | AASSLHS<br>(서열번호 54)  | QQSISTFWT<br>(서열번호 43)   | GTFSSYEMS<br>(서열번호 136)  | VANISGGGAEKYYPDSVKG<br>(서열번호 148)  | NLYYEDY<br>(서열번호 167)  |
| RASQSIGTYLN<br>(서열번호 76)  | AASSLQD<br>(서열번호 50)  | QQVYSIFLT<br>(서열번호 133)  | GTFSSYFMS<br>(서열번호 137)  | VANISGGGAEKYYPDSVKG<br>(서열번호 148)  | QSYFYDY<br>(서열번호 168)  |
| RASQSIGSWLN<br>(서열번호 41)  | AASSLQS<br>(서열번호 42)  | QQVYSTPWT<br>(서열번호 134)  | GTFSSYVMS<br>(서열번호 138)  | VANISGGGAETYYPDSVKG<br>(서열번호 149)  | QRYFYDY<br>(서열번호 169)  |
| RASQSIGSWLT<br>(서열번호 125) | AATSLAS<br>(서열번호 69)  | GTFSSYSLT<br>(서열번호 139)  | GTFSSYHMS<br>(서열번호 139)  | VANISGGGAETYYPDSVKG<br>(서열번호 150)  | OLYHYDY<br>(서열번호 170)  |
| RASQSIGSYLN<br>(서열번호 74)  | AATSLQD<br>(서열번호 129) | GTFSSYIMS<br>(서열번호 140)  | GTFSSYIMS<br>(서열번호 140)  | VANISGGGANKYYPDSVKG<br>(서열번호 151)  | QLYAFDY<br>(서열번호 46)   |
| RASQSIGTWLN<br>(서열번호 52)  | AATSLQS<br>(서열번호 77)  | GTFSSYMLS<br>(서열번호 38)   | GTFSSYMLS<br>(서열번호 38)   | VANISGGGANKYYPDSVKG<br>(서열번호 152)  | GLYDFDY<br>(서열번호 171)  |
| RASQSIGTWLT<br>(서열번호 126) | TASSLAD<br>(서열번호 73)  | GTFSSYNSMS<br>(서열번호 141) | GTFSSYNSMS<br>(서열번호 141) | VANISGGGSEKYYPDSVKG<br>(서열번호 153)  | OLYFFDY<br>(서열번호 45)   |
| RASQSIGTYLN<br>(서열번호 127) | TASSLQD<br>(서열번호 71)  | GTFSSYPMS<br>(서열번호 80)   | GTFSSYPMS<br>(서열번호 80)   | VANISGGGSEKYYPDSVKG<br>(서열번호 154)  | QLYGFDY<br>(서열번호 40)   |
| TASSLQS<br>(서열번호 79)      | TASSLQS<br>(서열번호 79)  | GTFSSYQMS<br>(서열번호 142)  | GTFSSYQMS<br>(서열번호 142)  | VANISGGGSETYYPDSVKG<br>(서열번호 155)  | OLYMFDY<br>(서열번호 172)  |
| TATSLAS<br>(서열번호 130)     | TATSLAS<br>(서열번호 130) | GTFSSYSMS<br>(서열번호 75)   | GTFSSYSMS<br>(서열번호 75)   | VANISGGGSETYYPDSVKG<br>(서열번호 156)  | OLYYADY<br>(서열번호 72)   |
| TATSLQD<br>(서열번호 131)     | TATSLQD<br>(서열번호 131) | GTFSSYTHMS<br>(서열번호 143) | GTFSSYTHMS<br>(서열번호 143) | VANISGGGSNKYYPDSVKG<br>(서열번호 157)  | QLYYEDY<br>(서열번호 173)  |
|                           |                       | GTFSSYVMS<br>(서열번호 144)  | GTFSSYVMS<br>(서열번호 144)  | VANISGGGSNKYYPDSVKG<br>(서열번호 158)  | QLYYIDY<br>(서열번호 174)  |
|                           |                       | GTFSSYVMS<br>(서열번호 145)  | GTFSSYVMS<br>(서열번호 145)  | VATISGGGAEKYYPDSVKG<br>(서열번호 159)  | QLTYKDY<br>(서열번호 175)  |
|                           |                       |                          | GTFSSYTHMS<br>(서열번호 146) | VATISGGGAEKYYPDSVKG<br>(서열번호 159)  | OLYNDY<br>(서열번호 176)   |
|                           |                       |                          |                          | VATISGGGAEKYYPDSVKG<br>(서열번호 49)   | QLYSDY<br>(서열번호 177)   |
|                           |                       |                          |                          | VATISGGGAEKYYPDSVKG<br>(서열번호 49)   | QLYWDY<br>(서열번호 178)   |
|                           |                       |                          |                          | VATISGGGGAETYYPDSVKG<br>(서열번호 160) | QMYFDY<br>(서열번호 179)   |
|                           |                       |                          |                          | VATISGGGGAETYYPDSVKG<br>(서열번호 70)  | QSYFYDY<br>(서열번호 180)  |
|                           |                       |                          |                          | VATISGGGANKYYPDSVKG<br>(서열번호 164)  | QSYFYDY<br>(서열번호 181)  |
|                           |                       |                          |                          | VATISGGGANKYYPDSVKG<br>(서열번호 161)  | QYVYFDY<br>(서열번호 44)   |
|                           |                       |                          |                          | VATISGGGSEKYYPDSVKG<br>(서열번호 162)  | TLTYFYDY<br>(서열번호 182) |
|                           |                       |                          |                          | VATISGGGSEKYYPDSVKG<br>(서열번호 39)   |                        |
|                           |                       |                          |                          | VATISGGGSETYYPDSVKG<br>(서열번호 162)  |                        |
|                           |                       |                          |                          | VATISGGGSETYYPDSVKG<br>(서열번호 48)   |                        |
|                           |                       |                          |                          | VATISGGGSNKYYPDSVKG<br>(서열번호 163)  |                        |
|                           |                       |                          |                          | VATISGGGSNKYYPDSVKG<br>(서열번호 68)   |                        |

표 4

고유한, 라이브러리-유래된 IgG 및 디자인어, PD1 길항작용 IgG의 CDR 서열.

| 클론 명칭      | LCDR1                    | LCDR2                | LCDR3                  | HCDR1                  | HCDR2                             | HCDR3                |
|------------|--------------------------|----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------------------|----------------------|
| 06D02      | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 47) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSETTYVDSVKG<br>(서열번호 48)  | QLYGFDF<br>(서열번호 40) |
| 08F04      | RASQSISSWLN<br>(서열번호 52) | AATSLAS<br>(서열번호 69) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 47) | GTFSSYAMS<br>(서열번호 67) | VATISGGGSKNTYYVDSVKG<br>(서열번호 68) | QLYGFDF<br>(서열번호 40) |
| 11G05      | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | TASSLQD<br>(서열번호 71) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGAETTYVDSVKG<br>(서열번호 70)  | QLYFFDY<br>(서열번호 45) |
| 12E02      | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | TASSLAD<br>(서열번호 73) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 47) | GTFSSYAMS<br>(서열번호 67) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYADF<br>(서열번호 72)  |
| 12H04      | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQD<br>(서열번호 50) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGAETTYVDSVKG<br>(서열번호 49)  | QLYGFDF<br>(서열번호 40) |
| 12B07      | RASQSISSWLN<br>(서열번호 52) | AASSLAS<br>(서열번호 53) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSKNTYYVDSVKG<br>(서열번호 51) | QLYGFDF<br>(서열번호 40) |
| 13G02      | RASQSISSYLN<br>(서열번호 74) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGAETTYVDSVKG<br>(서열번호 49)  | QLYGFDF<br>(서열번호 40) |
| 14C07      | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 47) | GTFSSYSMS<br>(서열번호 75) | VANISGGGAETTYVDSVKG<br>(서열번호 150) | QLYGFDF<br>(서열번호 40) |
| 15C10      | RASQSISSWLN<br>(서열번호 76) | AASSLQS<br>(서열번호 77) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 47) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSKNTYYVDSVKG<br>(서열번호 68) | QLYGFDF<br>(서열번호 40) |
| 16C07      | RASQSISSYLN<br>(서열번호 78) | AASSLQS<br>(서열번호 79) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 47) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGAETTYVDSVKG<br>(서열번호 49)  | QLYADF<br>(서열번호 46)  |
| 16H10      | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLAS<br>(서열번호 54) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QVYFDF<br>(서열번호 44)  |
| 12H11      | RASQSISSWLN<br>(서열번호 52) | AASSLQD<br>(서열번호 92) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYVMS<br>(서열번호 90) | VATISGGGSETTYVDSVKG<br>(서열번호 162) | QLYFFDY<br>(서열번호 91) |
| MH-AA-VH   |                          |                      |                        | GTFSSYAMS<br>(서열번호 67) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYADF<br>(서열번호 72)  |
| MH-LV-VH   |                          |                      |                        | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QVYFDF<br>(서열번호 44)  |
| MH-LG-VH   |                          |                      |                        | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYGFDF<br>(서열번호 40) |
| MH-LF-VH   |                          |                      |                        | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYFFDY<br>(서열번호 45) |
| MH-LA-VH   |                          |                      |                        | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYADF<br>(서열번호 46)  |
| MH-VL      | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) |                        |                                   |                      |
| MH-JK1-VL  | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) |                        |                                   |                      |
| TFP-JK1-VL | RASQSISSYLN<br>(서열번호 74) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) |                        |                                   |                      |
| IgG1-01    | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYAMS<br>(서열번호 67) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYADF<br>(서열번호 72)  |
| IgG1-02    | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYAMS<br>(서열번호 67) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYADF<br>(서열번호 72)  |
| IgG1-03    | RASQSISSYLN<br>(서열번호 74) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYAMS<br>(서열번호 67) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYADF<br>(서열번호 72)  |
| IgG1-04    | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QVYFDF<br>(서열번호 44)  |
| IgG1-05    | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QVYFDF<br>(서열번호 44)  |
| IgG1-06    | RASQSISSYLN<br>(서열번호 74) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QVYFDF<br>(서열번호 44)  |
| IgG1-07    | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYGFDF<br>(서열번호 40) |
| IgG1-08    | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYGFDF<br>(서열번호 40) |
| IgG1-09    | RASQSISSYLN<br>(서열번호 74) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYGFDF<br>(서열번호 40) |
| IgG1-10    | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYFFDY<br>(서열번호 45) |
| IgG1-11    | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYFFDY<br>(서열번호 45) |
| IgG1-12    | RASQSISSYLN<br>(서열번호 74) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYFFDY<br>(서열번호 45) |
| IgG1-13    | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYADF<br>(서열번호 46)  |
| IgG1-14    | RASQSISSWLN<br>(서열번호 41) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYADF<br>(서열번호 46)  |
| IgG1-15    | RASQSISSYLN<br>(서열번호 74) | AASSLQS<br>(서열번호 42) | QOSYSTPWT<br>(서열번호 43) | GTFSSYLMS<br>(서열번호 38) | VATISGGGSEKYYVDSVKG<br>(서열번호 39)  | QLYADF<br>(서열번호 46)  |

표 5

고유한, 라이브러리-유래된 항-PD1 Fab의 ELISA EC50 값.

| 클론 명칭      | huPD1-Fc EC50 (nM) | cyPD1-Fc EC50 (nM) |
|------------|--------------------|--------------------|
| Fab12B07   | 0.2374             | 3.116              |
| Fab12H04   | 0.7078             | 1.402              |
| Fab06D02   | 0.7434             | 1.013              |
| Fab-Mab005 | 1.245              | ND                 |
| Fab14C07   | 1.704              | 2.551              |
| Fab16H10   | 2.055              | 1.105              |
| Fab12H11   | 2.804              | 4.269              |
| Fab16C07   | 3.703              | 4.874              |
| Fab11G05   | 4.27               | 6.379              |
| Fab13G02   | 4.626              | 5.445              |
| Fab15C10   | 4.838              | 6.408              |
| Fab08F04   | 6.861              | 14.2               |
| Fab12E02   | ND                 | ND                 |

N.D. = 결정되지 않음

표 6

고유한, 라이브러리-유래된 항-PD1 IgG1 널 서열의 ELISA EC50 값.

| 클론 명칭       | huPD-1-Fc EC50 (nM) | cyPD-1-Fc EC50 (nM) |
|-------------|---------------------|---------------------|
| IgG1-06D02  | 0.065               | 0.1036              |
| IgG1-08F04  | 0.096               | 0.126               |
| IgG1-12H04  | 0.1116              | 0.1204              |
| IgG1-Mab005 | 0.1141              | 0.1322              |
| IgG1-12B07  | 0.117               | 0.0932              |
| IgG1-15C10  | 0.1393              | 0.1826              |
| IgG1-16H10  | 0.1543              | 0.2337              |
| IgG1-13G02  | 0.1595              | 0.21                |
| IgG1-11G05  | 0.1671              | 0.2451              |
| IgG1-12E02  | 0.1741              | 0.1943              |
| IgG1-12H11  | 0.1795              | 0.2088              |
| IgG1-16C07  | 0.2445              | 0.2372              |
| IgG1-14C07  | N.D.                | N.D.                |

N.D. = 결정되지 않음

[0398]

표 7

고유한, 디자이너 항-PD1 IgG1 널 서열의 ELISA EC50 값.

| 클론 명칭       | huPD-1-Fc EC50 (nM) | cyPD-1-Fc EC50 (nM) |
|-------------|---------------------|---------------------|
| IgG1-11     | 0.04921             | 0.04975             |
| IgG1-07     | 0.08801             | 0.06449             |
| IgG1-13     | 0.107               | 0.09845             |
| IgG1-04     | 0.1083              | 0.138               |
| IgG1-05     | 0.1213              | 0.1349              |
| IgG1-14     | 0.1246              | 0.09586             |
| IgG1-10     | 0.128               | 0.1692              |
| IgG1-08     | 0.1339              | 0.07714             |
| IgG1-Mab005 | 0.1368              | 0.1525              |
| IgG1-09     | 0.1497              | 0.1253              |
| IgG1-15     | 0.172               | 0.1695              |
| IgG1-06     | 0.1752              | 0.1482              |
| IgG1-01     | 0.1781              | N.D.                |
| IgG1-02     | 0.1832              | N.D.                |
| IgG1-12     | 0.2718              | 0.2704              |
| IgG1-03     | N.D.                | N.D.                |

N.D. = 결정되지 않음

[0399]

표 8

항-PD1 IgG1 널 서열의 알파스크린 IC50 값.

| 클론 ID       | CPS IC50 nM |
|-------------|-------------|
| IgG1-11     | 1.413       |
| IgG1-05     | 1.66        |
| IgG1-Mab005 | 2.142       |
| IgG1-08     | 2.361       |
| IgG1-16H10  | 2.498       |
| IgG1-12B07  | 2.557       |
| IgG1-07     | 2.615       |
| IgG1-06D02  | 2.626       |
| IgG1-14     | 3.004       |
| IgG1-04     | 3.24        |
| IgG1-10     | 3.416       |
| IgG1-13     | 3.615       |
| IgG1-12H04  | 4.013       |
| IgG1-11G05  | 4.225       |
| IgG1-15C10  | 5.868       |
| IgG1-13G02  | 7.169       |
| IgG1-08F04  | 7.744       |
| IgG1-16C07  | 9.267       |
| IgG1-12H11  | 15.47       |
| IgG1-15     | ND          |
| IgG1-12E02  | ND          |
| IgG1-14C07  | ND          |
| IgG1-01     | ND          |
| IgG1-02     | ND          |
| IgG1-03     | ND          |
| IgG1-06     | ND          |
| IgG1-09     | ND          |
| IgG1-12     | ND          |

ND = 결정되지 않음

[0400]

표 9

인간 및 시노 단량체 PD1 에 결합하는 IgG1 널에 대한 바이아코어 친화도 값.

| 클론 명칭        | 인간 PD1    |          |      |         | 시노 PD1    |          |      |         |
|--------------|-----------|----------|------|---------|-----------|----------|------|---------|
|              | ka (1/Ms) | kd (1/s) | Chi2 | KD (nM) | ka (1/Ms) | kd (1/s) | Chi2 | KD (nM) |
| IgG1-Pembro* | 4.9E+05   | 2.4E-03  | 1.3  | 4.8     | 3.9E+05   | 6.8E-04  | 1.7  | 1.8     |
| IgG1-Mab005  | 1.2E+05   | 4.7E-04  | 1.3  | 4.0     | 8.8E+04   | 2.8E-03  | 0.4  | 32.0    |
| IgG1-16H10   | 1.6E+05   | 3.4E-04  | 1.2  | 2.1     | 9.3E+04   | 4.2E-04  | 0.3  | 4.5     |
| IgG1-12H04   | 2.0E+05   | 3.2E-04  | 1.1  | 1.6     | 1.4E+05   | 6.4E-04  | 0.8  | 4.7     |
| IgG1-06D02   | 2.0E+05   | 2.5E-04  | 3.0  | 1.3     | 1.3E+05   | 6.2E-04  | 0.4  | 4.9     |
| IgG1-12B07   | 1.7E+05   | 2.5E-04  | 2.2  | 1.5     | 1.1E+05   | 1.6E-03  | 0.5  | 14.2    |
| IgG1-11G05   | 1.2E+05   | 5.8E-04  | 0.4  | 4.7     | 5.5E+04   | 1.3E-03  | 0.3  | 24.0    |
| IgG1-13G02   | 1.5E+05   | 2.0E-03  | 0.4  | 13.4    | 9.7E+04   | 6.4E-03  | 0.4  | 65.5    |
| IgG1-16C07   | 1.5E+05   | 1.8E-03  | 0.3  | 12.0    | 9.6E+04   | 7.5E-03  | 0.4  | 77.7    |
| IgG1-12H11   | 1.5E+05   | 2.8E-03  | 0.3  | 18.1    | 9.9E+04   | 1.0E-02  | 0.4  | 103.0   |
| IgG1-15C10   | 1.4E+05   | 1.8E-03  | 1.3  | 12.3    | 9.6E+04   | 1.4E-02  | 0.4  | 144.0   |
| IgG1-08F04   | 1.3E+05   | 2.5E-03  | 1.1  | 19.5    | 1.5E+05   | 2.6E-02  | 0.7  | 174.0   |
| IgG1-08      | 1.9E+05   | 2.8E-04  | 3.4  | 1.47    | 1.5E+05   | 5.2E-04  | 1.6  | 3.4     |
| IgG1-06      | 1.8E+05   | 2.9E-04  | 2.9  | 1.59    | 1.5E+05   | 5.2E-04  | 1.6  | 3.4     |
| IgG1-04      | 1.5E+05   | 2.7E-04  | 1.6  | 1.87    | 1.2E+05   | 3.2E-04  | 0.8  | 2.7     |
| IgG1-05      | 1.5E+05   | 2.9E-04  | 1.1  | 1.91    | 1.2E+05   | 3.3E-04  | 1.3  | 2.8     |
| IgG1-13      | 1.8E+05   | 4.4E-04  | 1.9  | 2.45    | 1.4E+05   | 9.8E-04  | 1.2  | 6.8     |
| IgG1-14      | 1.8E+05   | 4.6E-04  | 2.2  | 2.57    | 1.4E+05   | 9.7E-04  | 1.2  | 6.9     |
| IgG1-10      | 1.5E+05   | 4.0E-04  | 1.2  | 2.7     | 1.2E+05   | 7.1E-04  | 1.4  | 6.1     |
| IgG1-11      | 1.3E+05   | 4.0E-04  | 1.4  | 3.01    | 1.0E+05   | 7.3E-04  | 0.9  | 7.1     |
| IgG1-015     | 1.6E+05   | 3.5E-03  | 1.6  | 21.5    | 1.2E+05   | 8.6E-03  | 0.9  | 69.9    |

\* 펌브롤리주맵 유사체

표 10

인간 및 시노 PD1-CHO 세포에 결합하는 IgG1 널에 대한 EC50 값.

| 클론 명칭       | huPD-1-Fc EC50 (nM) | cyPD-1-Fc EC50 (nM) |
|-------------|---------------------|---------------------|
| IgG1-Mab005 | 2.319               | 6.532               |
| IgG1-06D02  | 1.779               | 1.561               |
| IgG1-12H04  | 1.952               | 2.172               |
| IgG1-16H10  | 1.681               | 1.221               |
| IgG1-05     | 1.656               | 2.521               |
| IgG1-08     | 1.551               | 2.031               |
| IgG1-11     | 0.978               | 0.861               |
| IgG1-14     | 1.866               | 1.326               |
| IgG1-15     | 2.133               | ND                  |

ND = 결정되지 않음

표 11

인간 PD1/PD-L1 의 IgG1 널 차단에 대한 EC50 값.

| 클론 명칭       | EC50 (ng/ml) |
|-------------|--------------|
| IgG1-Mab005 | 285          |
| IgG1-16H10  | 252          |
| IgG1-12H04  | 188          |
| IgG1-06D02  | 224          |
| IgG1-08     | 127          |
| IgG1-05     | 156          |
| IgG1-14     | 212          |
| IgG1-11     | 172          |

표 12

iTOPE™ 및 TCED™에 의해서 예측된 v-도메인 내의 인간 T 세포 에피토프 함량.

| 클론 명칭      | 생식 세포 계열<br>에피토프 | 저친화도<br>외부물질 | 고친화도<br>외부물질 | TCED+ |
|------------|------------------|--------------|--------------|-------|
| Mab005 VL  | 1                | 4            | 2            | 1     |
| Mab005 VH  | 9                | 3            | 1            | 2     |
| 06D02 VL   | 5                | 0            | 0            | 0     |
| 06D02 VH   | 9                | 3            | 1            | 2     |
| 12H04 VL   | 4                | 1            | 0            | 0     |
| 12H04 VH   | 9                | 3            | 1            | 2     |
| 16H10 VL   | 3                | 0            | 2            | 0     |
| 16H10 VH   | 9                | 3            | 1            | 2     |
| IgG1-05 VL | 5                | 0            | 0            | 0     |
| IgG1-05 VH | 9                | 3            | 1            | 2     |
| IgG1-08 VL | 5                | 0            | 0            | 0     |
| IgG1-08 VH | 9                | 3            | 1            | 2     |
| IgG1-11 VL | 5                | 0            | 0            | 0     |
| IgG1-11 VH | 9                | 3            | 1            | 2     |
| IgG1-14 VL | 5                | 0            | 0            | 0     |
| IgG1-14 VH | 9                | 2            | 1            | 2     |

[0404]

표 13

DSC에 의한 IgG 열 안정성 분석 -℃ 단위의 TM 값.

| <u>IgG</u>        | <u>TM1 (CH2)</u> | <u>TM2 (Fab)</u> |
|-------------------|------------------|------------------|
| Mab005-IgG1 (hum) | 72.2             | 83.8             |
| IgG1-05           | 72.4             | 90.8             |
| IgG1-08           | 72.4             | 91.1             |
| IgG1-06D02        | 72.4             | 92.2             |
| IgG1-12H04        | 72.4             | 91.5             |

[0405]

표 14

무손상 IgG에 대한 역상 크로마토그래피 체류 시간 - 0.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로의 강제 산화 전 (0분) 및 120분 후

| <u>IgG</u>        | <u>0 분</u> | <u>120 분</u> |
|-------------------|------------|--------------|
| Mab005-IgG1 (hum) | 16.4       | 15.8         |
| IgG1-05           | 15.5       | 15.5         |
| IgG1-08           | 15.5       | 15.5         |
| IgG1-06D02        | 15.8       | 15.8         |
| IgG1-12H04        | 15.7       | 15.7         |

[0406]

표 15

환원된 IgG의 경쇄 및 중쇄에 대한 역상 크로마토그래피 체류 시간 - 0.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로의 강제 산화 전(0 분) 및 120 분 후

| IgG               | 경쇄   |       | 중쇄   |       |
|-------------------|------|-------|------|-------|
|                   | 0 분  | 120 분 | 0 분  | 120 분 |
| Mab005-IgG1 (hum) | 13.8 | 13    | 14.2 | 14.4  |
| IgG1-05           | 11.8 | 11.9  | 14.3 | 14.3  |
| IgG1-08           | 11.9 | 11.9  | 14.4 | 14.4  |
| IgG1-06D02        | 12.2 | 12.2  | 14.5 | 14.5  |
| IgG1-12H04        | 11.9 | 11.9  | 14.5 | 14.5  |

[0407]

표 16

IgG에 대한 소수성 상호작용 역상 크로마토그래피 체류 시간 - 0.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로의 강제 산화 전(0 분) 및 120 분 후

| IgG               | 0 분 | 120 분 |
|-------------------|-----|-------|
| Mab005-IgG1 (hum) | 7.7 | 6.6   |
| IgG1-05           | 7   | 6.7   |
| IgG1-08           | 7.3 | 7     |
| IgG1-06D02        | 7.8 | 7.6   |
| IgG1-12H04        | 7.4 | 7.1   |

[0408]

표 17

항체 가변 영역 아미노산 서열의 예.

항체 IgG1-08 중쇄 가변 (VH) 영역

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYLMWVRQAPGKGLEWVATISGGGSEK  
YYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYGFQYWGQGTLLTVSS  
(서열번호 1)

항체 IgG1-08 경쇄 가변 (VL) 영역

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSWLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS  
RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIK (서열번호 2)

항체 IgG1-05 중쇄 가변 (VH) 영역

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYLMWVRQAPGKGLEWVATISGGGSEK  
YYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQVYYFDYWGQGTLLTVSS  
(서열번호 3)

항체 IgG1-05 경쇄 가변 (VL) 영역

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSWLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS  
RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIK (서열번호 4)

항체 IgG1-11 중쇄 가변 (VH) 영역

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYLMWVRQAPGKGLEWVATISGGGSEK  
YYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYFFDYWGQGTLLTVSS  
(서열번호 5)

항체 IgG1-11 경쇄 가변 (VL) 영역

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSWLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS  
RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIK (서열번호 6)

항체 IgG1-14 중쇄 가변 (VH) 영역

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYLMWVRQAPGKGLEWVATISGGGSEK  
YYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYAFDYWGQGTLLTVSS  
(서열번호 7)

항체 IgG1-14 경쇄 가변 (VL) 영역

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSWLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS  
RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIK (서열번호 8)

항체 06D02 중쇄 가변 (VH) 영역

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYLMWVRQAPGKGLEWVATISGGGSET  
YYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYGFQYWGQGTLLTVSS  
(서열번호 9)

항체 06D02 경쇄 가변 (VL) 영역

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSWLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS  
RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGGGTKVEIK (서열번호 10)

항체 12H04 중쇄 가변 (VH) 영역

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYLMWVRQAPGKGLEWVATISGGGAEK  
YYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYGFQYWGQGTLLTVSS  
(서열번호 11)

항체 12H04 경쇄 가변 (VL) 영역

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSWLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQDGVPS  
RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGGGTKVEIK (서열번호 12)

[0409]

표 18

항체 Fc 영역 아미노산 서열의 예.

인간 IgG4 야생형

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSV  
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST  
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT  
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ  
EGNVFSCSVMEALHNHYTQKS LSLSLGK (서열번호 13)

인간 IgG4(S228P)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSV  
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST  
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT  
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ  
EGNVFSCSVMEALHNHYTQKS LSLSLGK (서열번호 14)

인간 IgG1 야생형

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG  
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN  
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL  
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 15)

인간 IgG1-3M

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAEEAAGA  
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN  
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL  
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 16)

인간 IgG2 야생형

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKVERKCCVECPPCAPPVAGPSV  
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF  
RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK  
NQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ  
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 17)

인간 IgG1 야생형 "REEM" 알로타입

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG  
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN  
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE  
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR  
WQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 18)

인간 IgG1-3M "REEM" 알로타입

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAEEAAGA  
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN  
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE  
MKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 19)

[0410]

표 19

막 단백질 아미노산 서열의 예.

인간 PD1 서열

MQIPQAPWPVWVAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPTFSPALLVTEGDNATFTCSFSN  
TSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRN  
DSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLVVGTVGG  
LLGSLVLLVWVLAIVCSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPE  
PPVPCVPEQTEYATIVFPPSGMGTSPPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL (서열번호  
20)

시노볼거스 원숭이 PD1 서열

MQIPQAPWPVWVAVLQLGWRPGWFLESPDRPWNAPTFSALLVTEGDNATFTCSFSN  
ASESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCRFRVTRLPNGRDFHMSVVRARRN  
DSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQALVVGTVGG  
LLGSLVLLVWVLAIVCSRAAQGTIEARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPE  
PPAPCVPEQTEYATIVFPPSGLGTSSPARRGSADGPRSPRLRPEDGHCSWPL (서열번호  
21)

인간 KDR (VEGFR2) 서열

MQSKVLLAVALWLCVETRAASVGLPSVSLDLPRLSIQKDILTIKANTTLQITCRGQRDLWL  
WPNNQSGSEQRVEVTECDGLFCKTLTIKPIGNDTGAYKCFYRETDLASVIYVYVQDYR  
SPFIASVSDQHGVVYITENKNKTVIPCLGSISNLNVSLCARYPEKRFVPDGNRISWDSKK  
GFTIPSYMISYAGMVCEAKINDESYQSIMYIVVVVGYRIYDVVLSPSHGIELSVGEKLVNLC  
TARTELVNVDGIDFNWEYPSKHHKHLVNRDLKTQSGSEMKKFLSTLTIDGVTRSDQGLY  
CAASSGLMTKKNSTFVRVHEKPFVAFGSGMESLVEATVGERVRIPAKYLGYPPEIKWYK  
NGIPLESNHTIKAGHVLTIMEVSRDTGNYTVILTNPISKEKQSHVSVLVVYVPPQIGESLI  
SPVDSYQYGTQTTLCTVYAIPPPPIHHWYVQLEEECANEPSQAVSVTNPYPCEEWRSV  
EDFQGGNKIEVNKNQFALIEGKNKTSTLVIAANVSALYKCEAVNKVGRGERVISFHVTR  
GPEITLQPDMPQTEQESVSLWCTADRSTFENLTWYKLGQPLPIHVGELPTPVCKNLDL  
WKLNATMFSNSTNDILIMELKNASLQDQGDYVCLAQDRKTKKRHCVRQLTVLERVAPTIT  
GNLENQTTSIGESIEVSTASGNPPQIMWFKDNETLVEDSGIVLKDGNRNLTIIRRVKED  
EGLYTCQACSVLGCACVEAFFIIEGAQEKTNLEIIILVGTAVIAMFFWLLVILRTVVRANGG  
ELKTGYLSIVMDPDELPLDEHCERLPYDASKWEFPRDRLKLGKPLGRGAFGQVIEADAFGI  
DKTATCRTVAVKMLKEGATHSEHRALMSELKILIHIGHHLNVNLLGACTKPGGPLMVIVEF  
CKFGNLSTYLRSKRNEFVPYKTKGARFRQGDYVGAIPVDLKRRLDSITSSQSASSGFV  
EEKSLSDVEEEEAPEDLYKDFTLEHLICYSFQVAKGMEFLASRKCIHRDLAARNILLSEKN  
VVKICDFGLARDIYKDPDYVRKGDARLPLKWMAPETIFDRVYTIQSDVWSFGVLLWEIFSL  
GASPYPGVKIDEEFCRRLKEGTRMRAPDYTTPEMYQTMLDCWHGEPSSQRPTFSELVEHL  
GNLLQANAQQDGKDYVLPISETLSMEEDSGLSLPTSPVSCMEEEVCDPKFHYDNTAGIS  
QYLQNSKRKSRPVSVKTFEDIPLEEPVKVIPDDNQTDSGMVLASEELKTLEDRTKLSPSF  
GGMVPSKRSRESVASEGSNQTSGYQSGYHSDDTDTTVYSSEEAECLKIEIGVQTGSTAQI  
LQPDSGTTLSSPPV (서열번호 22)

랫서스 KDR (VEGFR2) 서열

MASKVLLAVALWLCVETRAASVGLPSVSLDLPRLSIQKDILTIKANTTLQITCRGQRDLWL  
WPNNQSGSEQRVEVTECDGLFCKTLTIKPIGNDTGAYKCFYRETDLASVIYVYVQDYR  
SPFIASVSDQHGVVYITENKNKTVIPCLGSISNLNVSLCARYPEKRFVPDGNRISWDSKK  
GFTIPSYMISYAGMVCEAKINDESYQSIMYIVVVVGYRIYDVVLSPSHGVELSVGEKLVN  
CTARTELVNVDGIDFNWEYPSKHHKHLVNRDLKTQSGSEMKKFLSTLTIDGVTRSDQGLY  
TCAASSGLMTKKNSTFVRVHEKPFVAFGSGMESLVEATVGERVRIPVKYLGYPPEIKWY  
KNIPLESNHTIKAGHVLTIMEVSRDTGNYTVILTNPISKEKQSHVSVLVVYVPPQIGESLI

[0411]

LISPVDSYQYGTTQTLTCTVYAIPPPHHIHWYWQLEEECPNEPSQAVSVTNPYPCEEWR  
VEDFQGGNKIEVNKNQFALIEGKNKTVSTLVIQAANVSALYKCEAVNKVGRGERVISFHV  
RGPEITLQPDLPQTEQESVSLWCTADKSTFENLTWYKLGPPQPLPVHVGEPLTPVCKNLD  
LWKLNATIFSNSTNDILIMELKNASLQDQGDYVCVAQDRKTKKRHCVVRLTVLERVAPMI  
TGNLENQTTSIGETIEVSCASGNPPQIMWFKDNETLVEDSGIVLKDGNRNLTIRRVKE  
DEGLYTCCACSVLGCACVEAFFIIEGAQEKTNLEIILVGTAVIAMFFWLLLVIILRTVKRANG  
GELKTGYLSIVMDPDELPLDEHCERLPYDASKWEFPRDRLKLGKPLGRGAFGQVIEADAF  
GIDKTATCRTVAVKMLKEGATHSEHRALMSELKILIHGHHNLNVNLLGACTKPGGPLMVIV  
EFCKFGNLSTYLRSKRNEFVPYKTKGARFRQGDYVGAIPVDLKRRLDSITSSQSSASSG  
FVEEKSLSDEVEEEEAPEDLYKDFLTLEHLICYSFQVAKGMEFLASRCKIHRDLAARNILLSE  
KNVVKICDFGLARDIYKDPDYVRKGDARLPLKWMAPETIFDRVYTIQSDVWSFGVLLWEIF  
SLGASPYPGVKIDEEFCRRLEKGTMRAPDYTTPEMYQTMLDCWHGEPSQRPTFSELVE  
HLGNLLQANAQQDGKDYIVLPISETLSMEEDSGLSLPTSPVSCMEEEEVCDPKFHYDNTA  
GISQYLQNSKRKSRPVSVKTFEDIPLEEPEVKVIPPDDNQDSDGMVLASEELKTLEDRTKLA  
PSFSGMVSSKSRESVASEGSNQTSQYQSGYHSDDTDTTVYSSEEALLKIEIGVQTGST  
AQILQPDSGTTLSSPPV (서열번호 23)

#### 인간 FZD5 서열

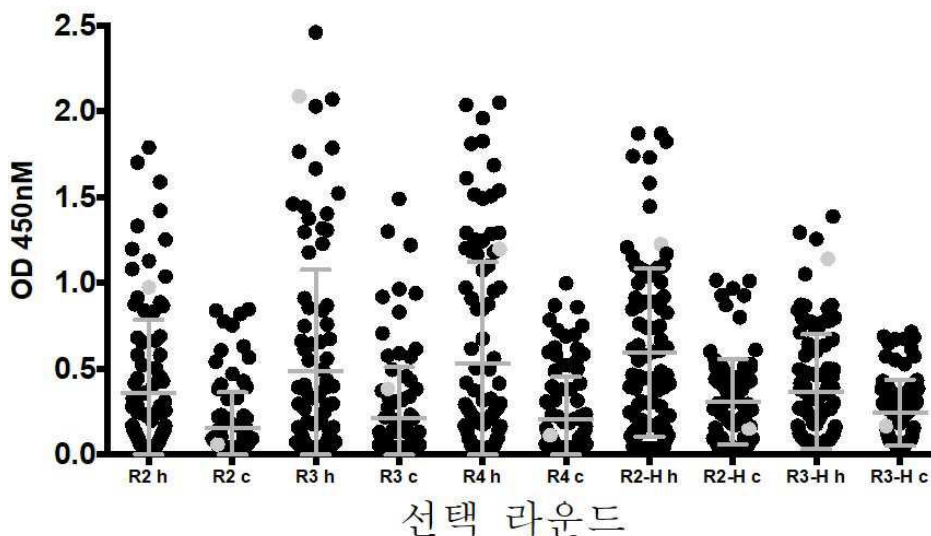
MARPDSAPPSLLLLLAQLVGRAAAASKAPVCQEITVPMCRGIGYNLTHMPNQFNHDTQ  
DEAGLEVHQFWPLVEIQCSPLRFFLCMYTPICLPDYHKPLPPCRSV CERAKAGCSPLM  
RQYGFAPWPERMSCDRLPVLGRDAEVL CMDYNRSEATTAPRPFPAPKPTLPGPPGAPAS  
GGECPAGGPFVCKCREPFVPIKESHPLYNKVRTGQVPNCAPCYQPSFSADERTFATF  
WIGLWSVLCFISTTTVATFLIDMERFRYPERPIIFLSACYLCVSLGFLVRLVVGHASVACSF  
EHNHIIHYETTGPALCTIVLLVYFFGMASSIWWVILSLTWFLAAGMKWGNEAIAGYAQYFH  
LAAWLIPSVKSITALALSSVDGDPVAGICYVGNQNLNSLRGFLVGLPLVLYLLVGTFLLAGF  
VSLFRIRSVIKQGGTKTDKLEKLMIRIGIFTLLYTVPASIVVACYLYEQHYRESWEAALTCAC  
PGHDTGQPRAKPEYVWLMLKYFMCLVVGITSGVWWSGKTVESWRRFTSRCCCRPRRG  
HKSGGAMAAGDYPEASAALTGRTGPPGPAATYHKQVSLSHV (서열번호 24)

#### 인간 ULBP2 서열

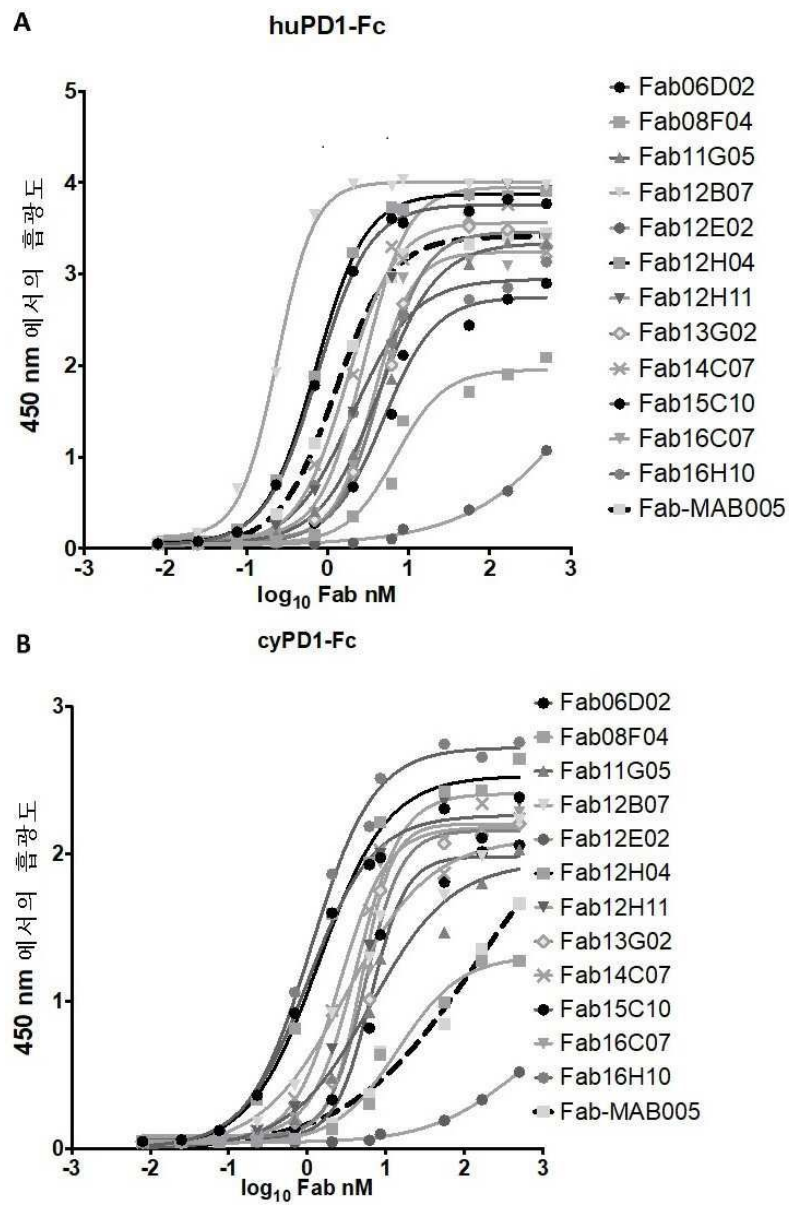
MAAAAATKILLCLPLLLLLSGWSRAGRADPHSLCYDITVIPKFRPGPRWCAVQGGVDEKTF  
LHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTAWKAQNPVLREVVDILTEQLRDIQLENYTPKEPLTLQ  
ARMSCEQKAEGHSSGSWQFSFDGQIFLLFDSEKRMWTTVHPGARKMKEKWENDKVVA  
MSFHYFSMGDCIGWLEDFLMGMDSTLEPSAGAPLAMSSGTTQLRATATTLILCCLLILPC  
FILPGI (서열번호 25)

## 도면

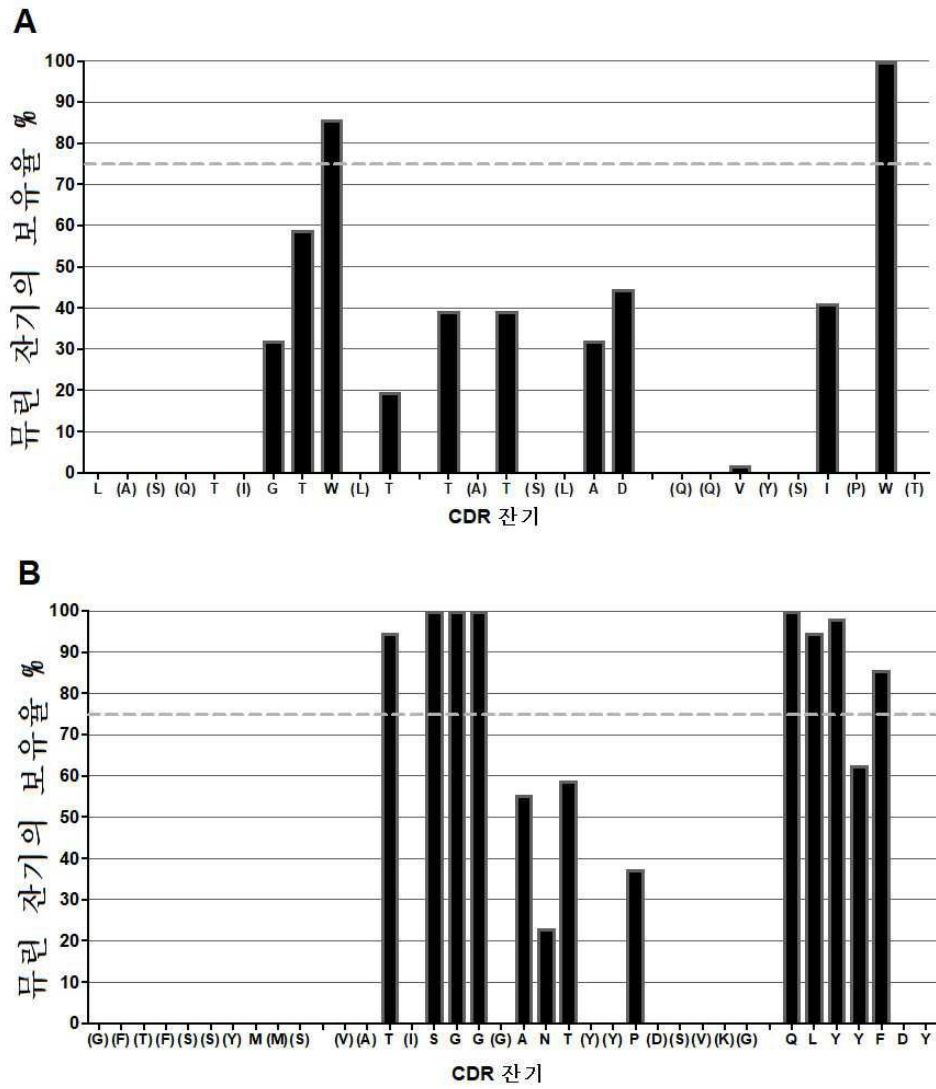
### 도면1



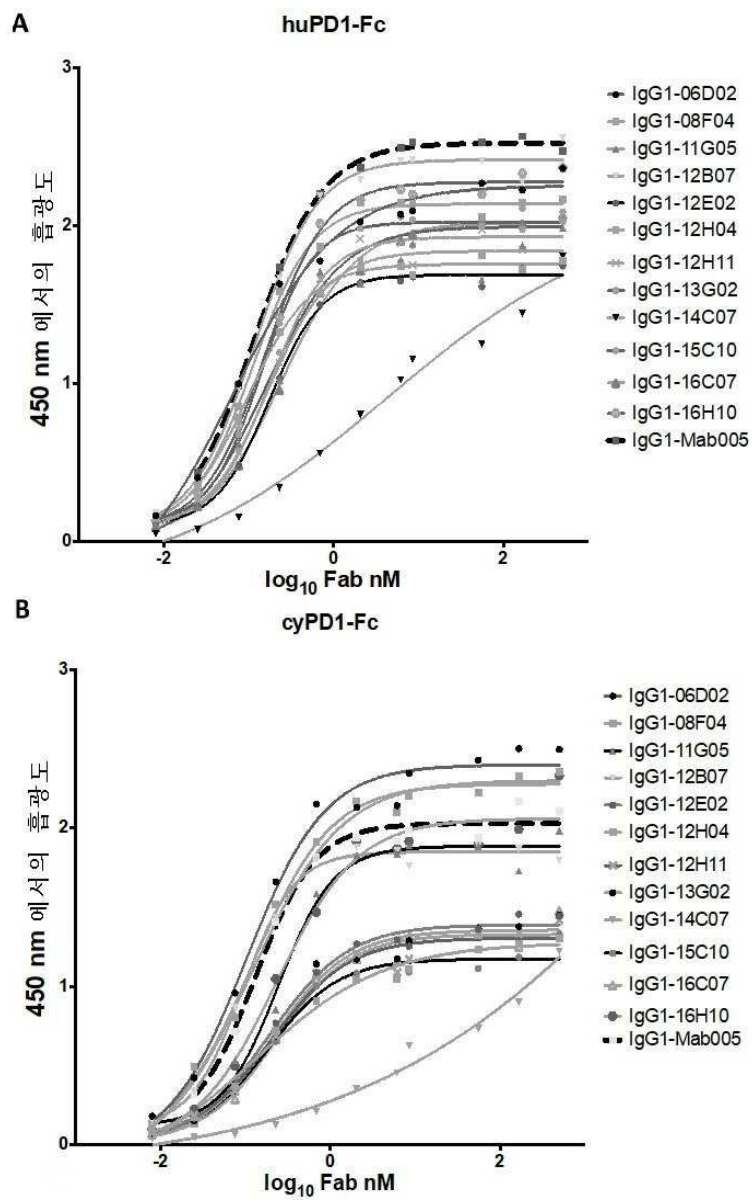
도면2



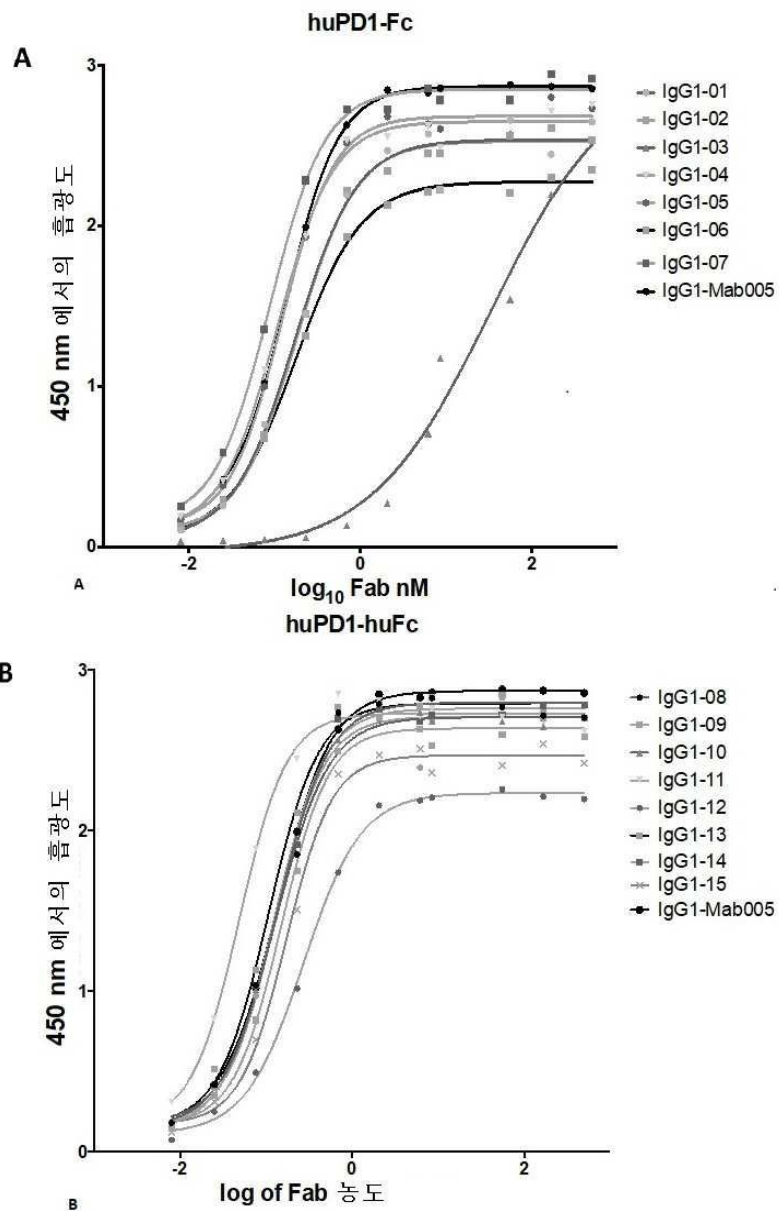
도면3



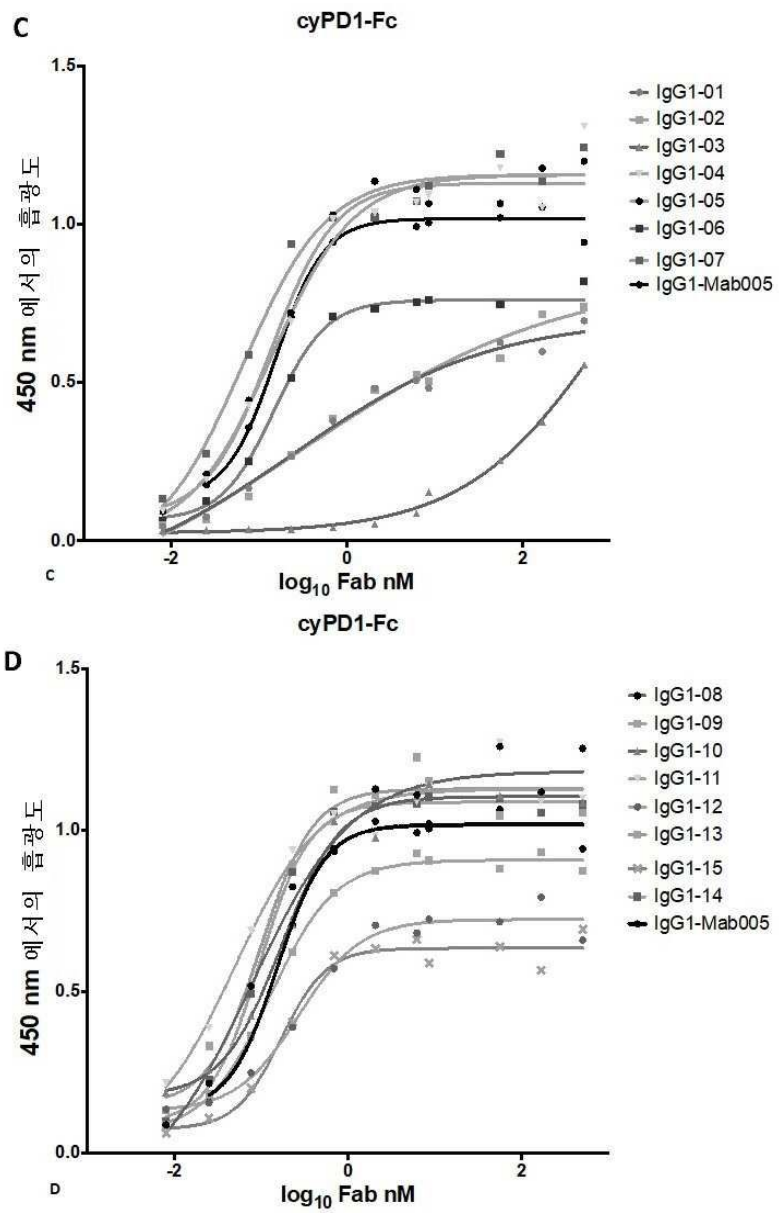
도면4



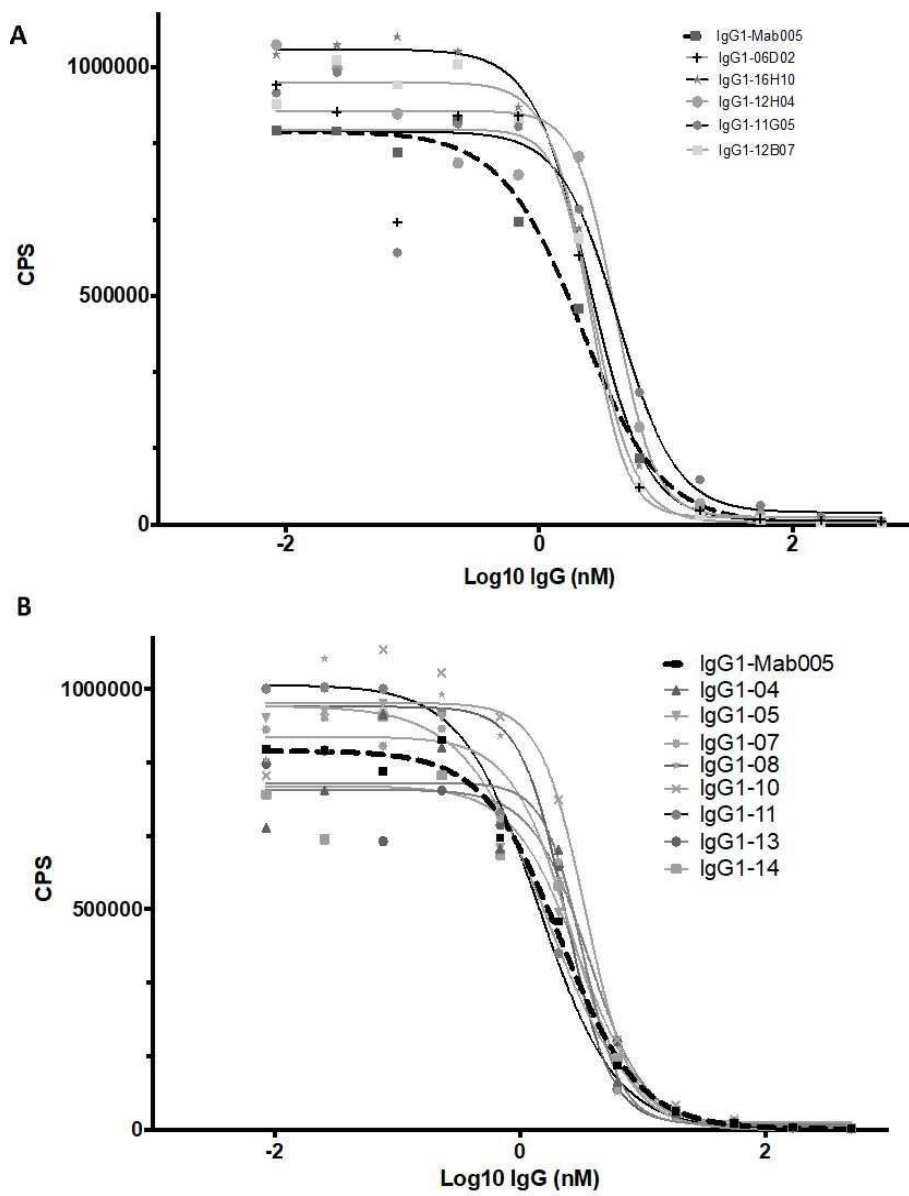
도면5ab



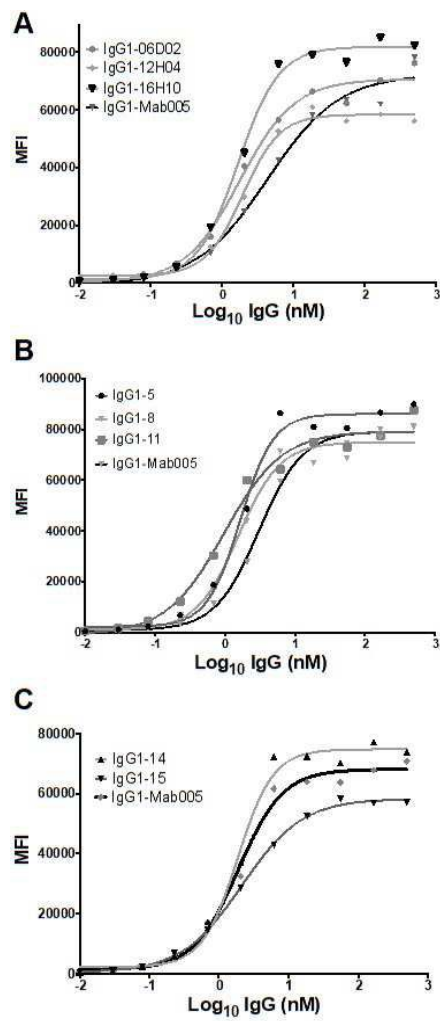
도면5cd



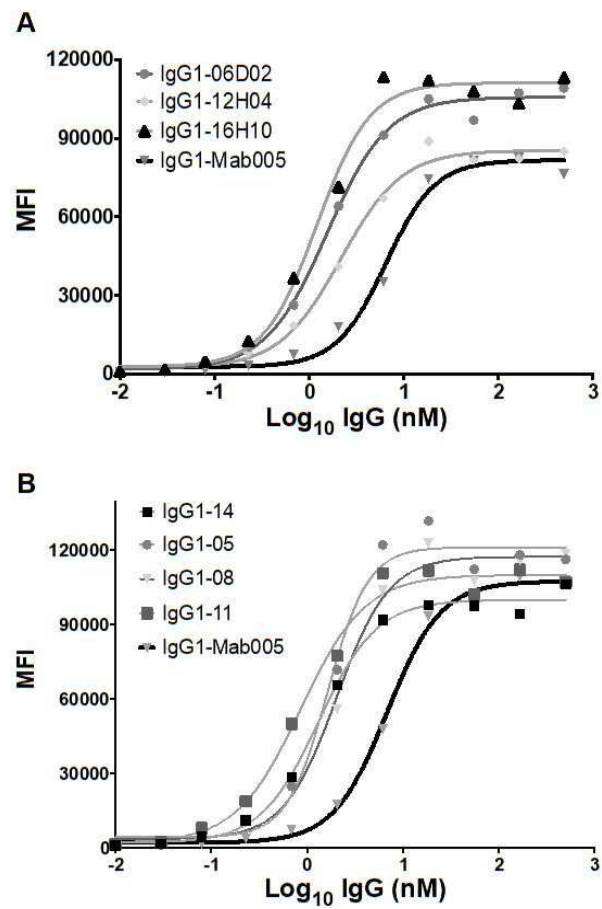
도면6



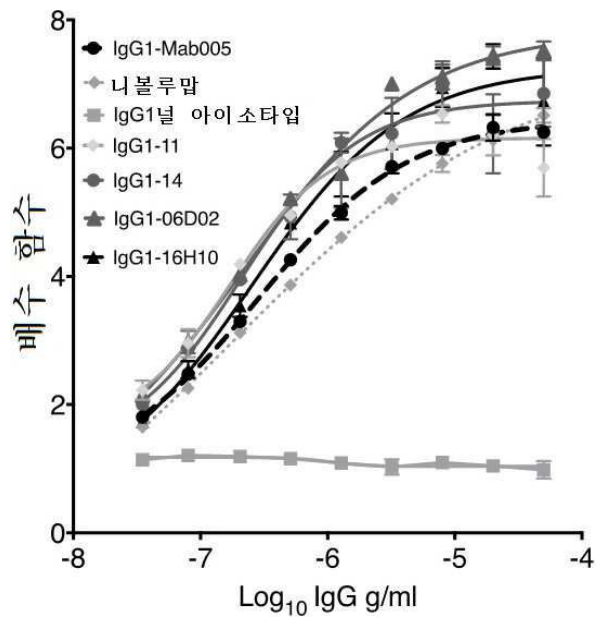
도면7



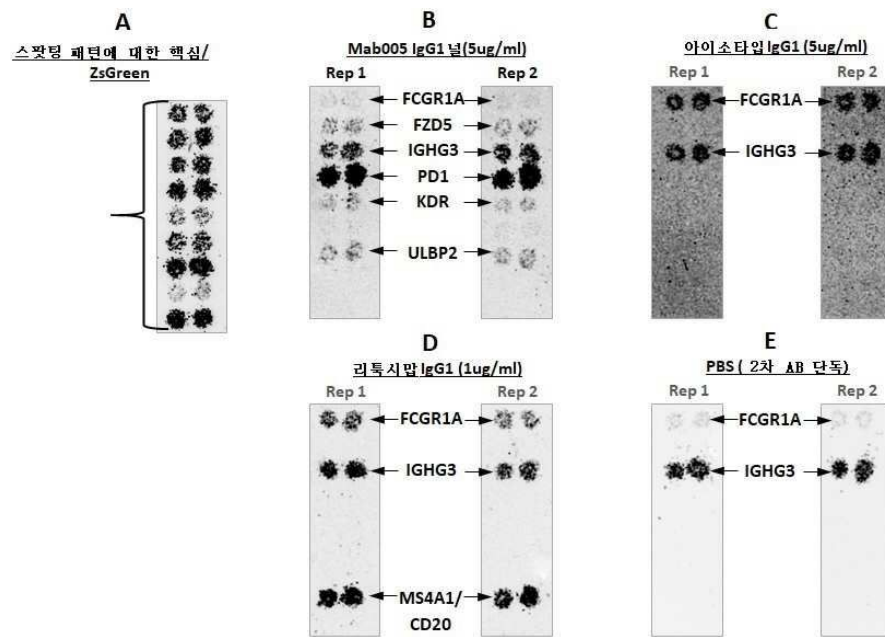
도면8



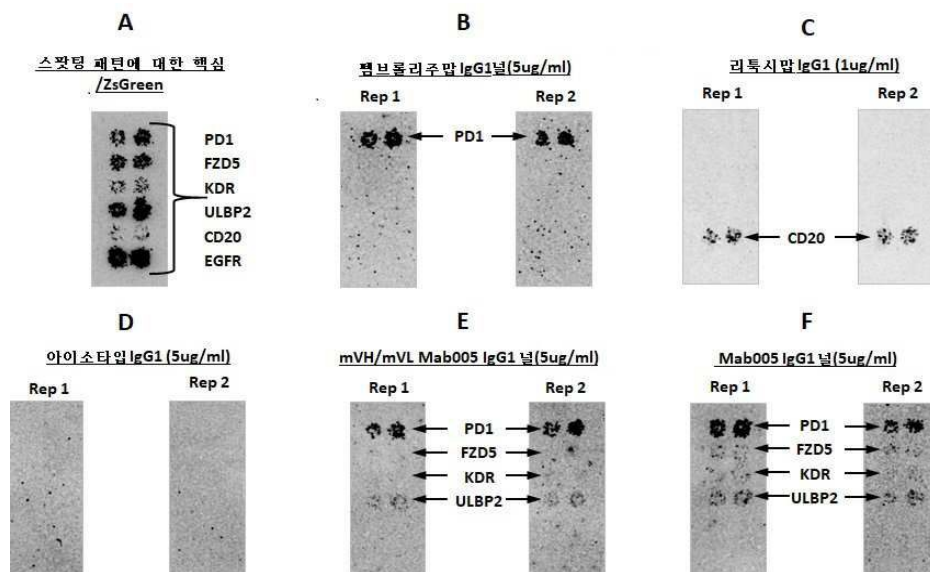
도면9



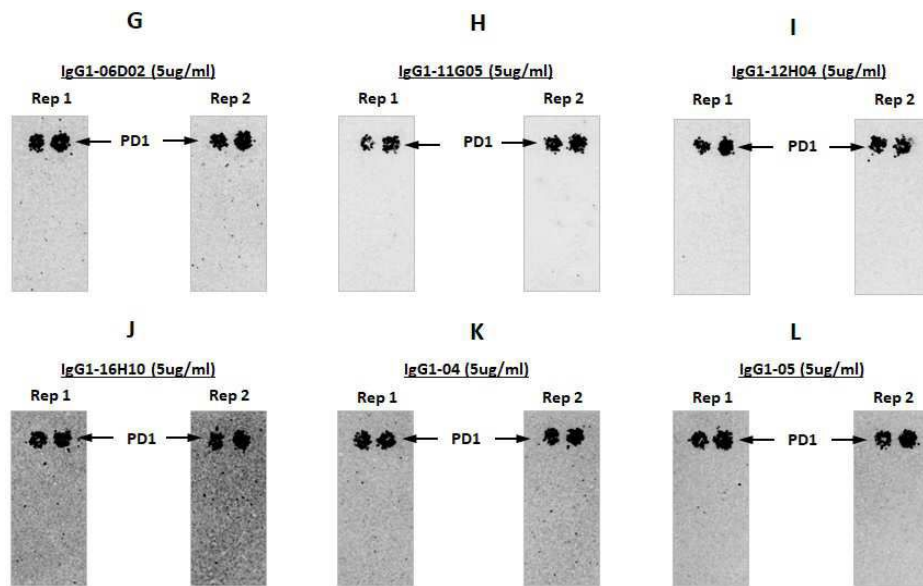
도면10



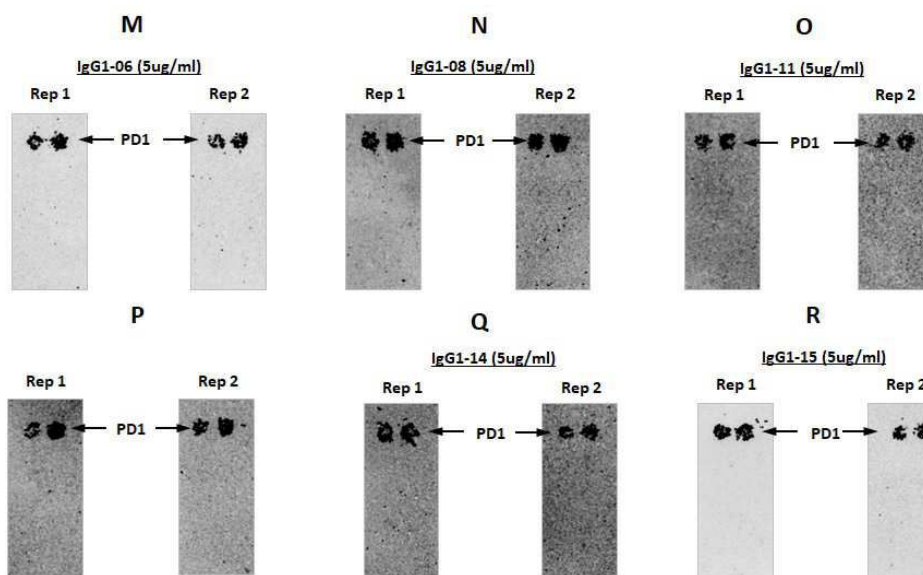
도면11af



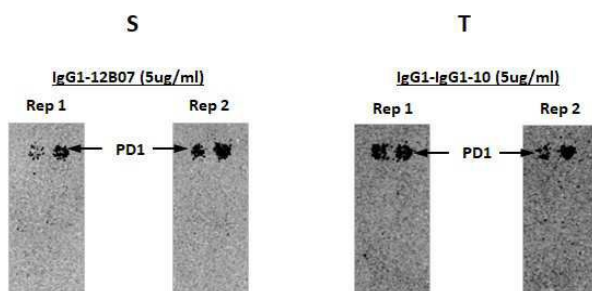
도면11gl



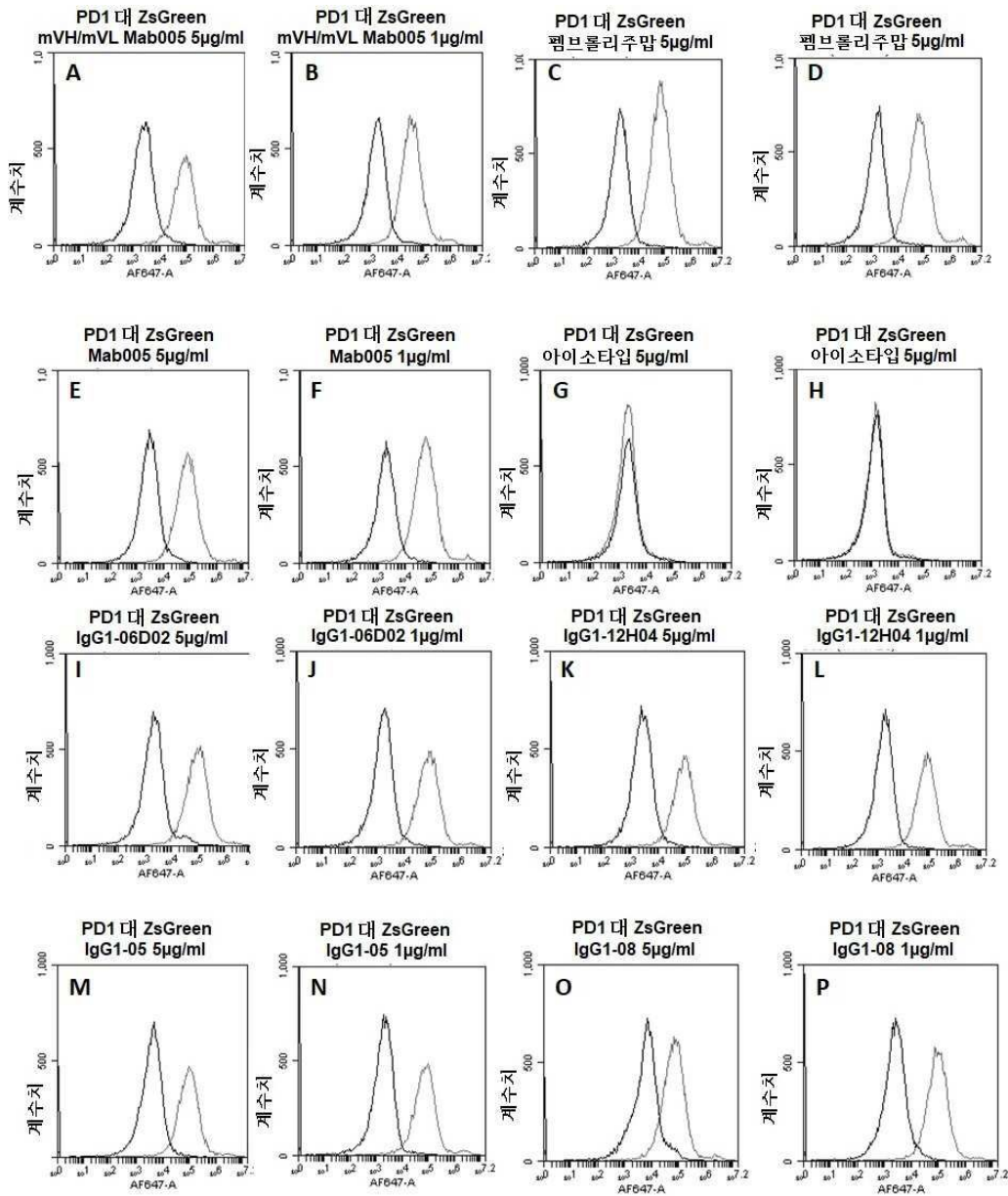
도면11mr



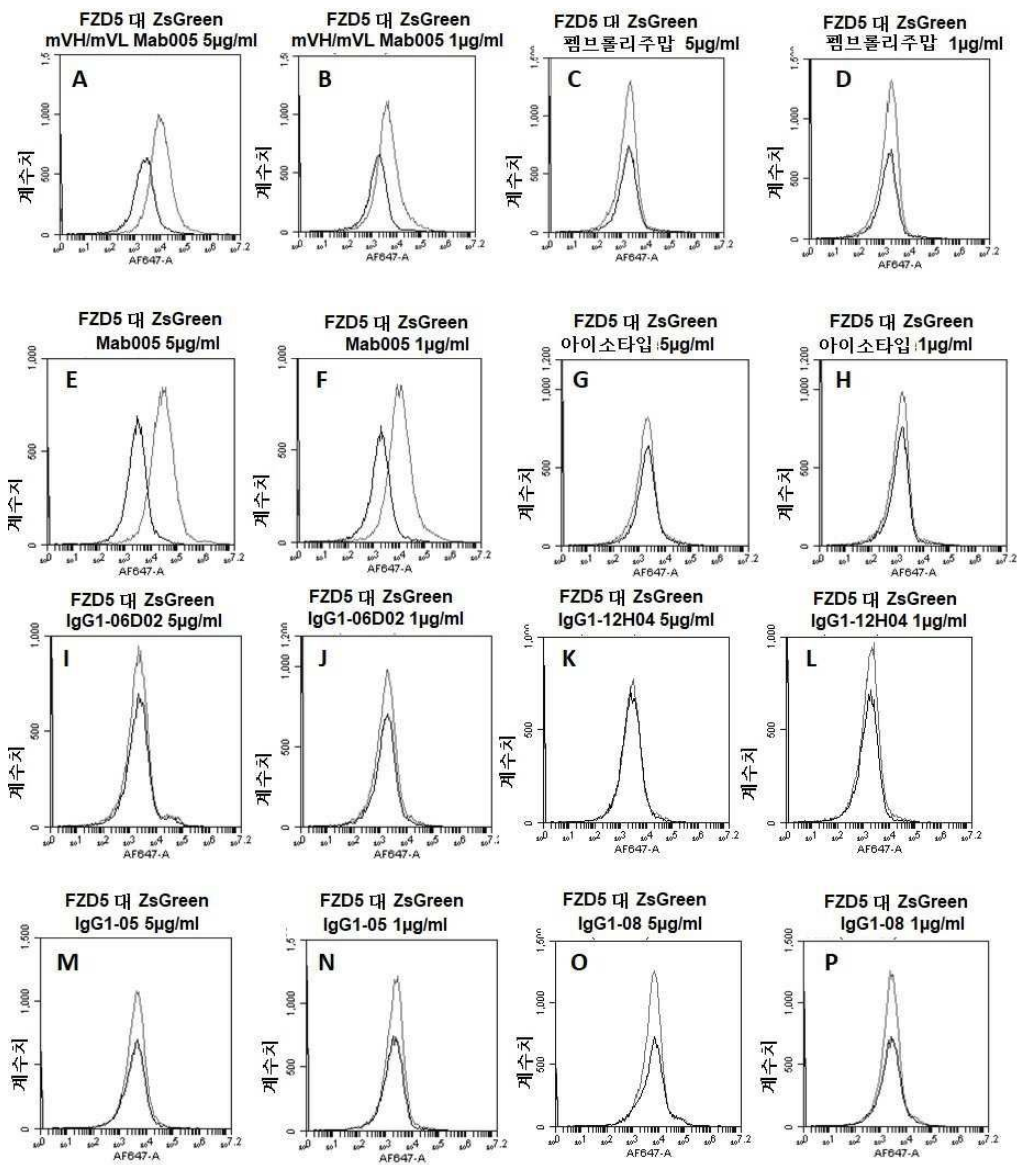
도면11st



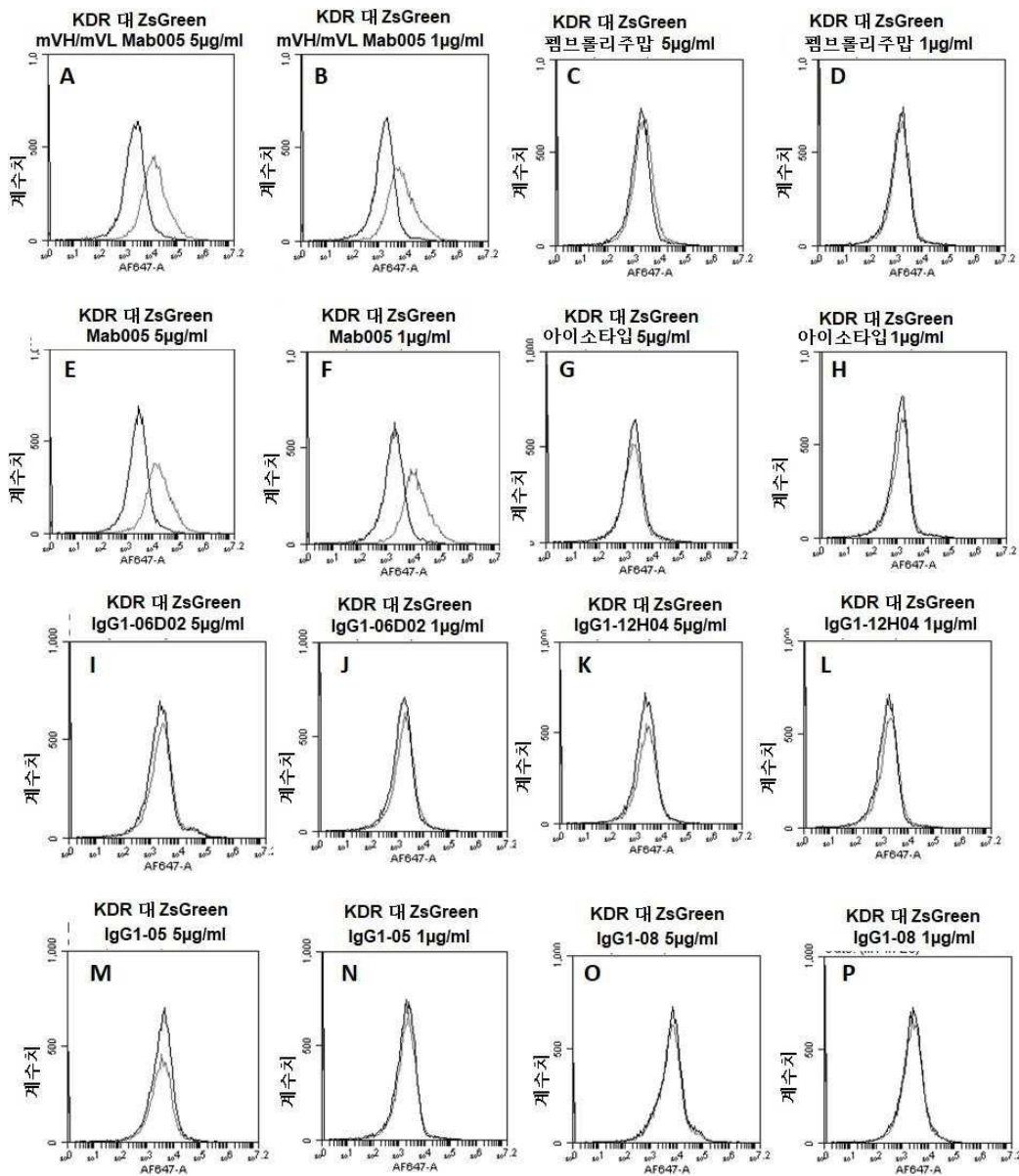
도면12



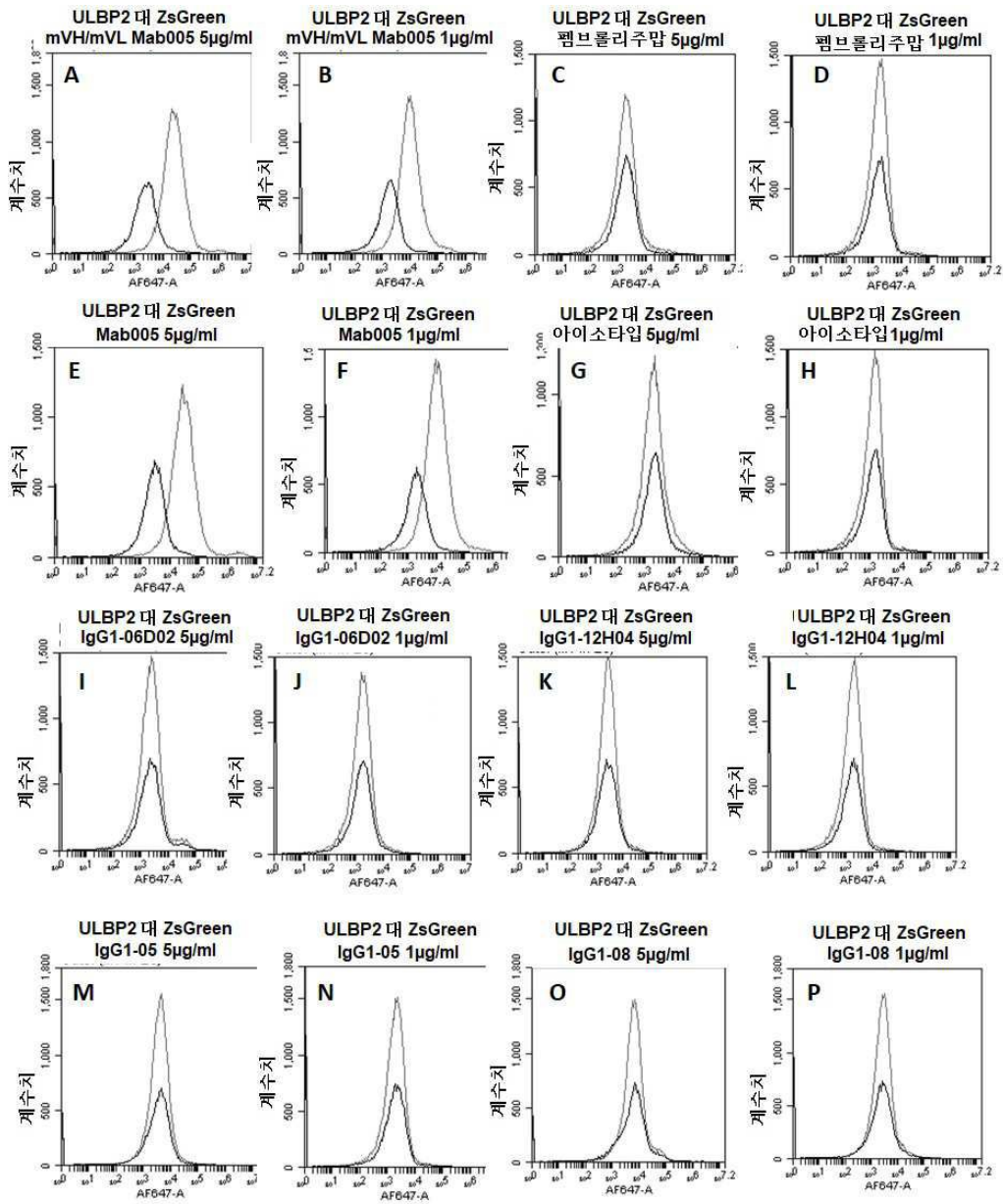
도면13



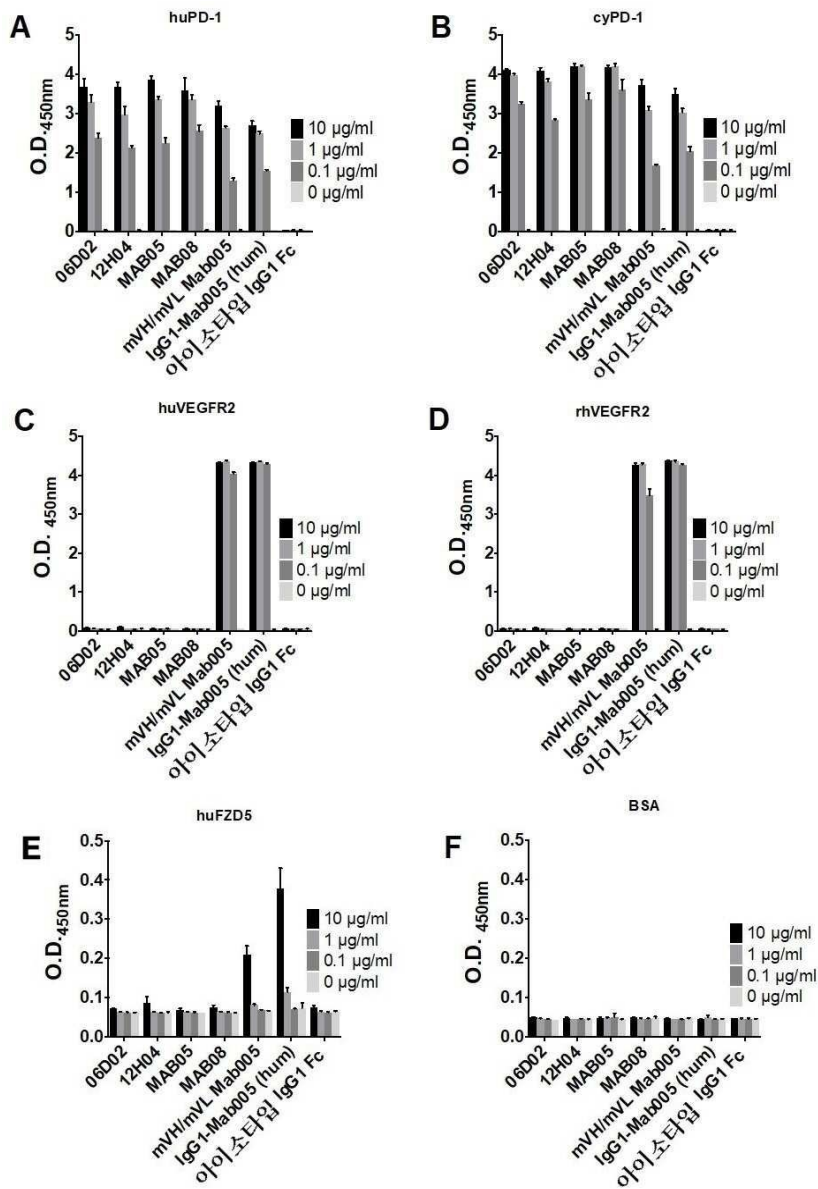
도면14



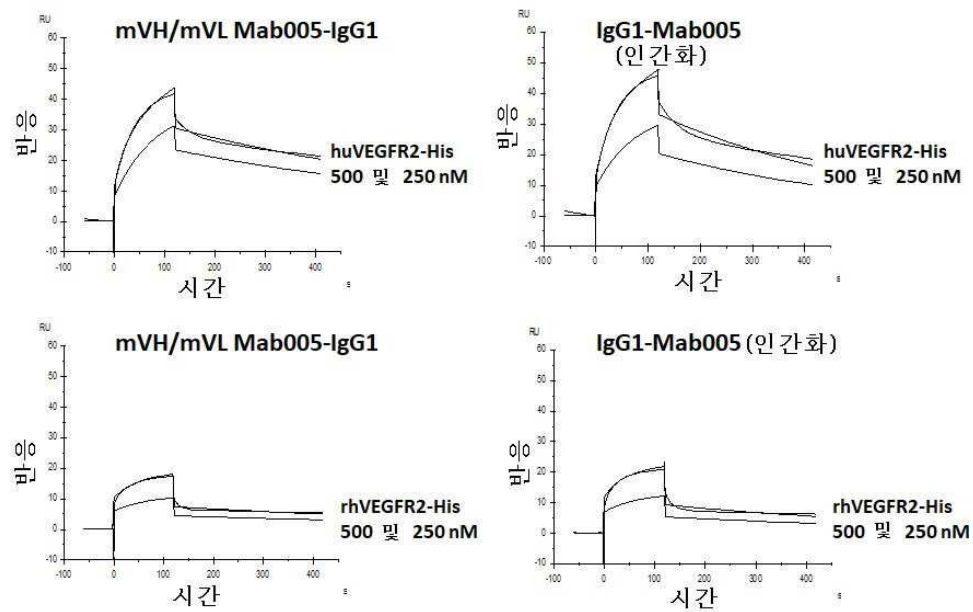
도면15



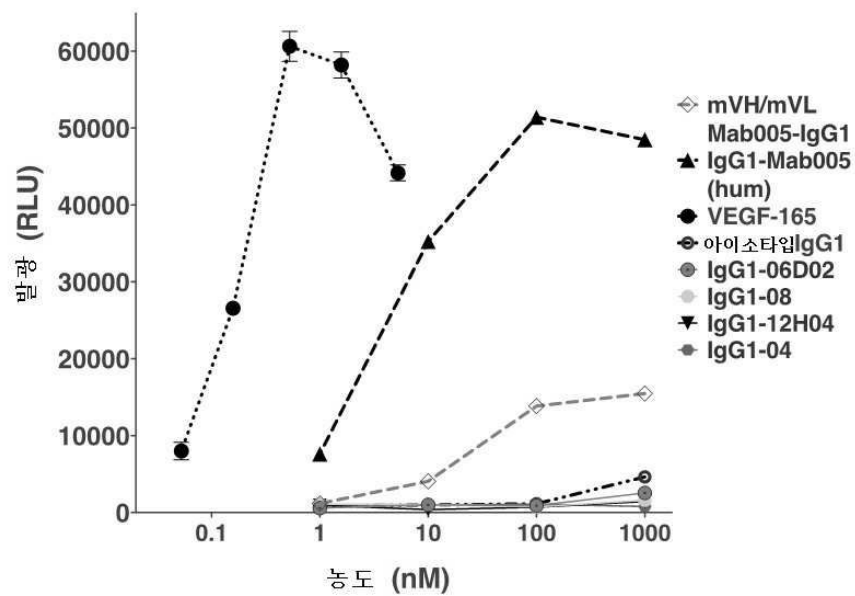
도면16



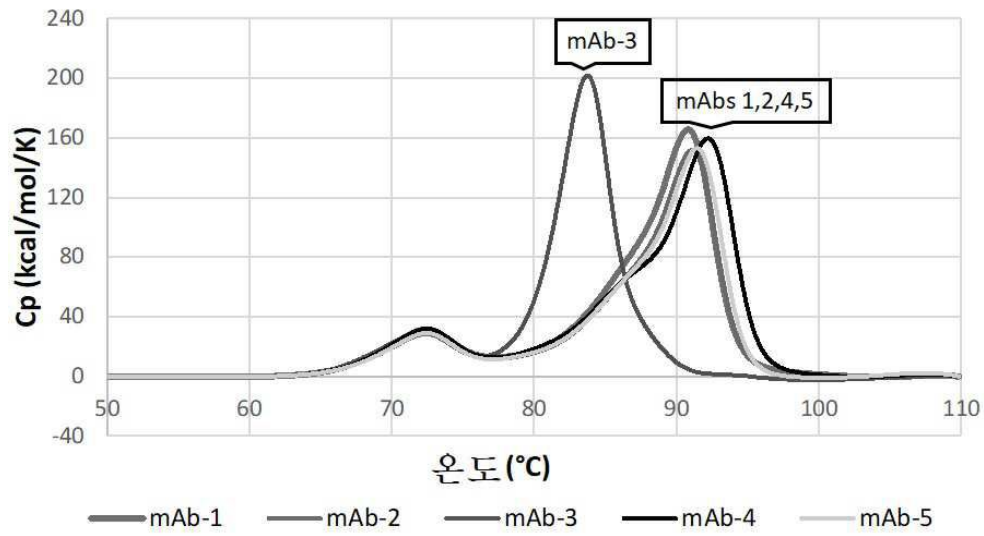
도면17



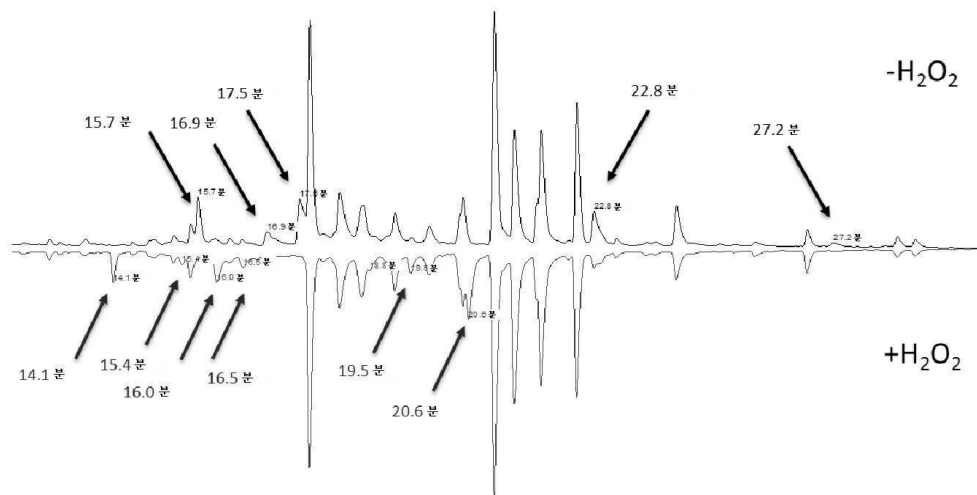
도면18



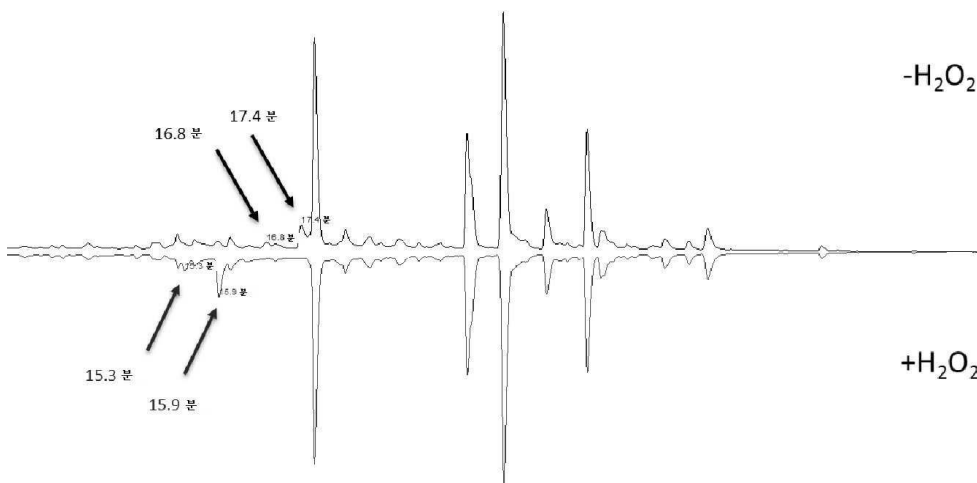
도면19



도면20



A



B

# 서열 목록

## SEQUENCE LISTING

<110> ULTRAHUMAN EIGHT LIMITED

<120> PD1 BINDING AGENTS

<130> UHEL-001/01WO 332951-2006

<150> GB 1817652.9

<151> 2018-10-29

<150> GB 1816372.5

<151> 2018-10-08

<150> GB 1811302.7

<151> 2018-07-10

<150> GB 1807176.1

<151> 2018-05-01

<150> GB 1803745.7

<151> 2018-03-08

<160> 182

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Antibody IgG1-08 heavy chain variable (VH) region

<400>

> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<

223> Antibody IgG1-08 light chain variable (VL) region

<400> 2

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp  
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 Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

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

<210> 3

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Antibody IgG1-05 heavy chain variable (VH) region

<400> 3

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

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

<210> 4

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<

223> Antibody IgG1-05 light chain variable (VL) region

<400> 4

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 5

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Antibody IgG1-11 heavy chain variable (VH) region

<400> 5

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 6

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<

223> Antibody IgG1-11 light chain variable (VL) region

<400> 6

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

1 5 10 15

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

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 Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 7

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Antibody IgG1-14 heavy chain variable (VH) region

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45  
Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val  
50 55 60

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

<210> 8

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<

223> Antibody IgG1-14 light chain variable (VL) region

<400> 8

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

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

<210> 9  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Antibody 06D02 heavy chain variable (VH) region

<400> 9  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Leu Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 100 105 110  
 Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 10  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Antibody 06D02 light chain variable (VL) region

<400> 10  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp  
 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 Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Trp  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105  
 <210> 11  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Antibody 12H04 heavy chain variable (VH) region  
 <400> 11  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Leu Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ala Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 12

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Antibody 12H04 light chain variable (VL) region

<400> 12

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

1 5 10 15

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

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 Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 13

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
  
 65 70 75 80  
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95  
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro  
 100 105 110  
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 115 120 125  
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
  
 130 135 140  
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 145 150 155 160  
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 165 170 175  
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 180 185 190  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
  
 195 200 205  
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
 210 215 220  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
 225 230 235 240  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 245 250 255  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
  
 260 265 270

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

<210> 14

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

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> 15  
 <211> 330  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 15  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
                                  20                      25                      30

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

35

40

45

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

50

55

60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115

120

125

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

130

135

140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145

150

155

160

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

165

170

175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180

185

190

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

195

200

205

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

210

215

220

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

225

230

235

240

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

245

250

255

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

260

265

270

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

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

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

325 330

<210> 16

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

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

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

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

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

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

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

<210> 17

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

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

1                      5                      10                      15  
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
                         20                      25                      30

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

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

<210> 18

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<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 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125  
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140  
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175  
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190  
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205  
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220  
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu  
 225 230 235 240  
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330  
 <210> 19  
 <211> 329  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 19  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15  
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

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

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

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

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

325

<210> 20

<211> 288

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

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> 21  
 <211> 288  
 <212> PRT  
 <213> *Macaca fascicularis*  
 <400> 21  
 Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln  
 1                      5                      10                      15  
 Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Glu Ser Pro Asp Arg Pro Trp  
                          20                      25                      30  
 Asn Ala Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Leu Val Thr Glu Gly Asp  
                          35                      40                      45  
  
 Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Ala Ser Glu Ser Phe Val  
                          50                      55                      60  
 Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala  
 65                      70                      75                      80

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg  
85 90 95

Val Thr Arg Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg  
100 105 110

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu  
115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val  
130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro  
145 150 155 160

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Ala Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly  
165 170 175

Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys  
180 185 190

Ser Arg Ala Ala Gln Gly Thr Ile Glu Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro  
195 200 205

Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly  
210 215 220

Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Ala Pro  
225 230 235 240

Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly  
245 250 255

Leu Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg  
260 265 270

Ser Pro Arg Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu  
275 280 285

<210> 22

<211> 1356

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Met Gln Ser Lys Val Leu Leu Ala Val Ala Leu Trp Leu Cys Val Glu

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

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

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

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

245 250 255  
Asp Phe Asn Trp Glu Tyr Pro Ser Ser Lys His Gln His Lys Lys Leu

260 265 270  
Val Asn Arg Asp Leu Lys Thr Gln Ser Gly Ser Glu Met Lys Lys Phe

275 280 285  
Leu Ser Thr Leu Thr Ile Asp Gly Val Thr Arg Ser Asp Gln Gly Leu

290 295 300  
Tyr Thr Cys Ala Ala Ser Ser Gly Leu Met Thr Lys Lys Asn Ser Thr

305 310 315 320  
Phe Val Arg Val His Glu Lys Pro Phe Val Ala Phe Gly Ser Gly Met

325 330 335  
Glu Ser Leu Val Glu Ala Thr Val Gly Glu Arg Val Arg Ile Pro Ala

340 345 350  
Lys Tyr Leu Gly Tyr Pro Pro Pro Glu Ile Lys Trp Tyr Lys Asn Gly

355 360 365  
Ile Pro Leu Glu Ser Asn His Thr Ile Lys Ala Gly His Val Leu Thr

370 375 380  
Ile Met Glu Val Ser Glu Arg Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Val Ile Leu

385 390 395 400  
Thr Asn Pro Ile Ser Lys Glu Lys Gln Ser His Val Val Ser Leu Val

405 410 415  
Val Tyr Val Pro Pro Gln Ile Gly Glu Lys Ser Leu Ile Ser Pro Val

420 425 430  
Asp Ser Tyr Gln Tyr Gly Thr Thr Gln Thr Leu Thr Cys Thr Val Tyr

435 440 445  
Ala Ile Pro Pro Pro His His Ile His Trp Tyr Trp Gln Leu Glu Glu

450 455 460  
Glu Cys Ala Asn Glu Pro Ser Gln Ala Val Ser Val Thr Asn Pro Tyr

465 470 475 480  
Pro Cys Glu Glu Trp Arg Ser Val Glu Asp Phe Gln Gly Gly Asn Lys

485 490 495

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Gln Leu Thr Val Leu Glu Arg Val Ala Pro Thr Ile Thr Gly Asn  
660 665 670

Leu Glu Asn Gln Thr Thr Ser Ile Gly Glu Ser Ile Glu Val Ser Cys  
675 680 685

Thr Ala Ser Gly Asn Pro Pro Pro Gln Ile Met Trp Phe Lys Asp Asn  
690 695 700

Glu Thr Leu Val Glu Asp Ser Gly Ile Val Leu Lys Asp Gly Asn Arg  
705 710 715 720

Asn Leu Thr Ile Arg Arg Val Arg Lys Glu Asp Glu Gly Leu Tyr Thr  
725 730 735

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

740 745 750  
Ile Ile Glu Gly Ala Gln Glu Lys Thr Asn Leu Glu Ile Ile Ile Leu

755 760 765  
Val Gly Thr Ala Val Ile Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu Leu Val Ile

770 775 780  
Ile Leu Arg Thr Val Lys Arg Ala Asn Gly Gly Glu Leu Lys Thr Gly

785 790 795 800  
Tyr Leu Ser Ile Val Met Asp Pro Asp Glu Leu Pro Leu Asp Glu His

805 810 815  
Cys Glu Arg Leu Pro Tyr Asp Ala Ser Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp

820 825 830  
Arg Leu Lys Leu Gly Lys Pro Leu Gly Arg Gly Ala Phe Gly Gln Val

835 840 845  
Ile Glu Ala Asp Ala Phe Gly Ile Asp Lys Thr Ala Thr Cys Arg Thr

850 855 860  
Val Ala Val Lys Met Leu Lys Glu Gly Ala Thr His Ser Glu His Arg

865 870 875 880  
Ala Leu Met Ser Glu Leu Lys Ile Leu Ile His Ile Gly His His Leu

885 890 895  
Asn Val Val Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Lys Pro Gly Gly Pro Leu

900 905 910  
Met Val Ile Val Glu Phe Cys Lys Phe Gly Asn Leu Ser Thr Tyr Leu

915 920 925  
Arg Ser Lys Arg Asn Glu Phe Val Pro Tyr Lys Thr Lys Gly Ala Arg

930 935 940  
Phe Arg Gln Gly Lys Asp Tyr Val Gly Ala Ile Pro Val Asp Leu Lys

945 950 955 960  
Arg Arg Leu Asp Ser Ile Thr Ser Ser Gln Ser Ser Ala Ser Ser Gly

965 970 975  
Phe Val Glu Glu Lys Ser Leu Ser Asp Val Glu Glu Glu Glu Ala Pro

980 985 990

|                                                                 |      |      |
|-----------------------------------------------------------------|------|------|
| Glu Asp Leu Tyr Lys Asp Phe Leu Thr Leu Glu His Leu Ile Cys Tyr |      |      |
| 995                                                             | 1000 | 1005 |
| Ser Phe Gln Val Ala Lys Gly Met Glu Phe Leu Ala Ser Arg Lys     |      |      |
| 1010                                                            | 1015 | 1020 |
| Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu     |      |      |
| 1025                                                            | 1030 | 1035 |
| Lys Asn Val Val Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile     |      |      |
| 1040                                                            | 1045 | 1050 |
| Tyr Lys Asp Pro Asp Tyr Val Arg Lys Gly Asp Ala Arg Leu Pro     |      |      |
| 1055                                                            | 1060 | 1065 |
| Leu Lys Trp Met Ala Pro Glu Thr Ile Phe Asp Arg Val Tyr Thr     |      |      |
| 1070                                                            | 1075 | 1080 |
| Ile Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile     |      |      |
| 1085                                                            | 1090 | 1095 |
| Phe Ser Leu Gly Ala Ser Pro Tyr Pro Gly Val Lys Ile Asp Glu     |      |      |
| 1100                                                            | 1105 | 1110 |
| Glu Phe Cys Arg Arg Leu Lys Glu Gly Thr Arg Met Arg Ala Pro     |      |      |
| 1115                                                            | 1120 | 1125 |
| Asp Tyr Thr Thr Pro Glu Met Tyr Gln Thr Met Leu Asp Cys Trp     |      |      |
| 1130                                                            | 1135 | 1140 |
| His Gly Glu Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Ser Glu Leu Val Glu     |      |      |
| 1145                                                            | 1150 | 1155 |
| His Leu Gly Asn Leu Leu Gln Ala Asn Ala Gln Gln Asp Gly Lys     |      |      |
| 1160                                                            | 1165 | 1170 |
| Asp Tyr Ile Val Leu Pro Ile Ser Glu Thr Leu Ser Met Glu Glu     |      |      |
| 1175                                                            | 1180 | 1185 |
| Asp Ser Gly Leu Ser Leu Pro Thr Ser Pro Val Ser Cys Met Glu     |      |      |
| 1190                                                            | 1195 | 1200 |
| Glu Glu Glu Val Cys Asp Pro Lys Phe His Tyr Asp Asn Thr Ala     |      |      |
| 1205                                                            | 1210 | 1215 |
| Gly Ile Ser Gln Tyr Leu Gln Asn Ser Lys Arg Lys Ser Arg Pro     |      |      |

1220                      1225                      1230  
Val Ser Val Lys Thr Phe Glu Asp Ile Pro Leu Glu Glu Pro Glu  
1235                      1240                      1245  
Val Lys Val Ile Pro Asp Asp Asn Gln Thr Asp Ser Gly Met Val  
1250                      1255                      1260  
Leu Ala Ser Glu Glu Leu Lys Thr Leu Glu Asp Arg Thr Lys Leu

1265                      1270                      1275  
Ser Pro Ser Phe Gly Gly Met Val Pro Ser Lys Ser Arg Glu Ser  
1280                      1285                      1290  
Val Ala Ser Glu Gly Ser Asn Gln Thr Ser Gly Tyr Gln Ser Gly  
1295                      1300                      1305  
Tyr His Ser Asp Asp Thr Asp Thr Thr Val Tyr Ser Ser Glu Glu  
1310                      1315                      1320  
Ala Glu Leu Leu Lys Leu Ile Glu Ile Gly Val Gln Thr Gly Ser

1325                      1330                      1335  
Thr Ala Gln Ile Leu Gln Pro Asp Ser Gly Thr Thr Leu Ser Ser  
1340                      1345                      1350  
Pro Pro Val

1355  
<210> 23  
<211> 1356  
<212> PRT  
<213> Macaca mulatta  
<400> 23  
Met Ala Ser Lys Val Leu Leu Ala Val Ala Leu Trp Leu Cys Val Glu  
1                      5                      10                      15  
Thr Arg Ala Ala Ser Val Gly Leu Pro Ser Val Ser Leu Asp Leu Pro  
20                      25                      30

Arg Leu Ser Ile Gln Lys Asp Ile Leu Thr Ile Lys Ala Asn Thr Thr  
35                      40                      45  
Leu Gln Ile Thr Cys Arg Gly Gln Arg Asp Leu Asp Trp Leu Trp Pro  
50                      55                      60

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

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

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

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

Leu Ser Thr Leu Thr Ile Asp Gly Val Thr Arg Ser Asp Gln Gly Leu  
 290 295 300  
 Tyr Thr Cys Ala Ala Ser Ser Gly Leu Met Thr Lys Lys Asn Ser Thr

305                      310                      315                      320  
 Phe Val Arg Val His Glu Lys Pro Phe Val Ala Phe Gly Ser Gly Met  
                          325                      330                      335  
 Glu Ser Leu Val Glu Ala Thr Val Gly Glu Arg Val Arg Ile Pro Val  
                          340                      345                      350  
  
 Lys Tyr Leu Gly Tyr Pro Pro Pro Glu Ile Lys Trp Tyr Lys Asn Gly  
                          355                      360                      365  
 Ile Pro Leu Glu Ser Asn His Thr Val Lys Val Gly His Val Leu Thr  
                          370                      375                      380  
 Ile Met Glu Val Ser Glu Arg Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Val Ile Leu  
 385                      390                      395                      400  
 Thr Asn Pro Ile Ser Lys Glu Lys Gln Ser His Val Val Ser Leu Val  
                          405                      410                      415  
  
 Val Tyr Val Pro Pro Gln Ile Gly Glu Lys Ser Leu Ile Ser Pro Val  
                          420                      425                      430  
 Asp Ser Tyr Gln Tyr Gly Thr Thr Gln Thr Leu Thr Cys Thr Val Tyr  
                          435                      440                      445  
 Ala Ile Pro Pro Pro His His Ile His Trp Tyr Trp Gln Leu Glu Glu  
                          450                      455                      460  
 Glu Cys Pro Asn Glu Pro Ser Gln Ala Val Ser Val Thr Asn Pro Tyr  
 465                      470                      475                      480  
  
 Pro Cys Glu Glu Trp Arg Ser Val Glu Asp Phe Gln Gly Gly Asn Lys  
                          485                      490                      495  
 Ile Glu Val Asn Lys Asn Gln Phe Ala Leu Ile Glu Gly Lys Asn Lys  
                          500                      505                      510  
 Thr Val Ser Thr Leu Val Ile Gln Ala Ala Asn Val Ser Ala Leu Tyr  
                          515                      520                      525  
 Lys Cys Glu Ala Val Asn Lys Val Gly Arg Gly Glu Arg Val Ile Ser  
                          530                      535                      540  
  
 Phe His Val Thr Arg Gly Pro Glu Ile Thr Leu Gln Pro Asp Leu Gln  
 545                      550                      555                      560

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

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

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

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

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

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

Arg Gln Leu Thr Val Leu Glu Arg Val Ala Pro Met Ile Thr Gly Asn  
660 665 670

Leu Glu Asn Gln Thr Thr Ser Ile Gly Glu Thr Ile Glu Val Ser Cys  
675 680 685

Thr Ala Ser Gly Asn Pro Pro Pro Gln Ile Met Trp Phe Lys Asp Asn  
690 695 700

Glu Thr Leu Val Glu Asp Ser Gly Ile Val Leu Lys Asp Gly Asn Arg  
705 710 715 720

Asn Leu Thr Ile Arg Arg Val Arg Lys Glu Asp Glu Gly Leu Tyr Thr  
725 730 735

Cys Gln Ala Cys Ser Val Leu Gly Cys Ala Lys Val Glu Ala Phe Phe  
740 745 750

Ile Ile Glu Gly Ala Gln Glu Lys Thr Asn Leu Glu Ile Ile Ile Leu  
755 760 765

Val Gly Thr Ala Val Ile Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu Leu Val Ile  
770 775 780

Ile Leu Arg Thr Val Lys Arg Ala Asn Gly Gly Glu Leu Lys Thr Gly  
785 790 795 800

Tyr Leu Ser Ile Val Met Asp Pro Asp Glu Leu Pro Leu Asp Glu His

|                                                                 |      |      |
|-----------------------------------------------------------------|------|------|
| 805                                                             | 810  | 815  |
| Cys Glu Arg Leu Pro Tyr Asp Ala Ser Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp |      |      |
| 820                                                             | 825  | 830  |
| Arg Leu Lys Leu Gly Lys Pro Leu Gly Arg Gly Ala Phe Gly Gln Val |      |      |
| 835                                                             | 840  | 845  |
| Ile Glu Ala Asp Ala Phe Gly Ile Asp Lys Thr Ala Thr Cys Arg Thr |      |      |
| 850                                                             | 855  | 860  |
| Val Ala Val Lys Met Leu Lys Glu Gly Ala Thr His Ser Glu His Arg |      |      |
| 865                                                             | 870  | 875  |
| Ala Leu Met Ser Glu Leu Lys Ile Leu Ile His Ile Gly His His Leu |      |      |
| 885                                                             | 890  | 895  |
| Asn Val Val Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Lys Pro Gly Gly Pro Leu |      |      |
| 900                                                             | 905  | 910  |
| Met Val Ile Val Glu Phe Cys Lys Phe Gly Asn Leu Ser Thr Tyr Leu |      |      |
| 915                                                             | 920  | 925  |
| Arg Ser Lys Arg Asn Glu Phe Val Pro Tyr Lys Thr Lys Gly Ala Arg |      |      |
| 930                                                             | 935  | 940  |
| Phe Arg Gln Gly Lys Asp Tyr Val Gly Ala Ile Pro Val Asp Leu Lys |      |      |
| 945                                                             | 950  | 955  |
| Arg Arg Leu Asp Ser Ile Thr Ser Ser Gln Ser Ser Ala Ser Ser Gly |      |      |
| 965                                                             | 970  | 975  |
| Phe Val Glu Glu Lys Ser Leu Ser Asp Val Glu Glu Glu Glu Ala Pro |      |      |
| 980                                                             | 985  | 990  |
| Glu Asp Leu Tyr Lys Asp Phe Leu Thr Leu Glu His Leu Ile Cys Tyr |      |      |
| 995                                                             | 1000 | 1005 |
| Ser Phe Gln Val Ala Lys Gly Met Glu Phe Leu Ala Ser Arg Lys     |      |      |
| 1010                                                            | 1015 | 1020 |
| Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu     |      |      |
| 1025                                                            | 1030 | 1035 |
| Lys Asn Val Val Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile     |      |      |
| 1040                                                            | 1045 | 1050 |

|                             |                     |             |
|-----------------------------|---------------------|-------------|
| Tyr Lys Asp Pro Asp Tyr Val | Arg Lys Gly Asp Ala | Arg Leu Pro |
| 1055                        | 1060                | 1065        |
| Leu Lys Trp Met Ala Pro Glu | Thr Ile Phe Asp Arg | Val Tyr Thr |
| 1070                        | 1075                | 1080        |
| Ile Gln Ser Asp Val Trp Ser | Phe Gly Val Leu Leu | Trp Glu Ile |
| 1085                        | 1090                | 1095        |
| Phe Ser Leu Gly Ala Ser Pro | Tyr Pro Gly Val Lys | Ile Asp Glu |
| 1100                        | 1105                | 1110        |
| Glu Phe Cys Arg Arg Leu Lys | Glu Gly Thr Arg Met | Arg Ala Pro |
| 1115                        | 1120                | 1125        |
| Asp Tyr Thr Thr Pro Glu Met | Tyr Gln Thr Met Leu | Asp Cys Trp |
| 1130                        | 1135                | 1140        |
| His Gly Glu Pro Ser Gln Arg | Pro Thr Phe Ser Glu | Leu Val Glu |
| 1145                        | 1150                | 1155        |
| His Leu Gly Asn Leu Leu Gln | Ala Asn Ala Gln Gln | Asp Gly Lys |
| 1160                        | 1165                | 1170        |
| Asp Tyr Ile Val Leu Pro Ile | Ser Glu Thr Leu Ser | Met Glu Glu |
| 1175                        | 1180                | 1185        |
| Asp Ser Gly Leu Ser Leu Pro | Thr Ser Pro Val Ser | Cys Met Glu |
| 1190                        | 1195                | 1200        |
| Glu Glu Glu Val Cys Asp Pro | Lys Phe His Tyr Asp | Asn Thr Ala |
| 1205                        | 1210                | 1215        |
| Gly Ile Ser Gln Tyr Leu Gln | Asn Ser Lys Arg Lys | Ser Arg Pro |
| 1220                        | 1225                | 1230        |
| Val Ser Val Lys Thr Phe Glu | Asp Ile Pro Leu Glu | Glu Pro Glu |
| 1235                        | 1240                | 1245        |
| Val Lys Val Ile Pro Asp Asp | Asn Gln Thr Asp Ser | Gly Met Val |
| 1250                        | 1255                | 1260        |
| Leu Ala Ser Glu Glu Leu Lys | Thr Leu Glu Asp Arg | Thr Lys Leu |
| 1265                        | 1270                | 1275        |
| Ala Pro Ser Phe Ser Gly Met | Val Ser Ser Lys Ser | Arg Glu Ser |

1280                      1285                      1290  
 Val Ala Ser Glu Gly Ser Asn Gln Thr Ser Gly Tyr Gln Ser Gly  
 1295                      1300                      1305  
 Tyr His Ser Asp Asp Thr Asp Thr Thr Val Tyr Ser Ser Glu Glu  
 1310                      1315                      1320  
 Ala Glu Leu Leu Lys Leu Ile Glu Ile Gly Val Gln Thr Gly Ser  
 1325                      1330                      1335  
 Thr Ala Gln Ile Leu Gln Pro Asp Ser Gly Thr Thr Leu Ser Ser  
 1340                      1345                      1350  
  
 Pro Pro Val  
 1355  
 <210> 24  
 <211> 585  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 24  
 Met Ala Arg Pro Asp Pro Ser Ala Pro Pro Ser Leu Leu Leu Leu Leu  
 1                      5                      10                      15  
 Leu Ala Gln Leu Val Gly Arg Ala Ala Ala Ala Ser Lys Ala Pro Val  
 20                      25                      30  
 Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Met Cys Arg Gly Ile Gly Tyr Asn Leu  
 35                      40                      45  
 Thr His Met Pro Asn Gln Phe Asn His Asp Thr Gln Asp Glu Ala Gly  
  
 50                      55                      60  
 Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu Val Glu Ile Gln Cys Ser Pro  
 65                      70                      75                      80  
 Asp Leu Arg Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr Thr Pro Ile Cys Leu Pro  
 85                      90                      95  
 Asp Tyr His Lys Pro Leu Pro Pro Cys Arg Ser Val Cys Glu Arg Ala  
 100                      105                      110  
 Lys Ala Gly Cys Ser Pro Leu Met Arg Gln Tyr Gly Phe Ala Trp Pro

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

Ser Val Lys Ser Ile Thr Ala Leu Ala Leu Ser Ser Val Asp Gly Asp

370 375 380

Pro Val Ala Gly Ile Cys Tyr Val Gly Asn Gln Asn Leu Asn Ser Leu

385 390 395 400

Arg Gly Phe Val Leu Gly Pro Leu Val Leu Tyr Leu Leu Val Gly Thr

405 410 415

Leu Phe Leu Leu Ala Gly Phe Val Ser Leu Phe Arg Ile Arg Ser Val

420 425 430

Ile Lys Gln Gly Gly Thr Lys Thr Asp Lys Leu Glu Lys Leu Met Ile

435 440 445

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

450 455 460

Val Ala Cys Tyr Leu Tyr Glu Gln His Tyr Arg Glu Ser Trp Glu Ala

465 470 475 480

Ala Leu Thr Cys Ala Cys Pro Gly His Asp Thr Gly Gln Pro Arg Ala

485 490 495

Lys Pro Glu Tyr Trp Val Leu Met Leu Lys Tyr Phe Met Cys Leu Val

500 505 510

Val Gly Ile Thr Ser Gly Val Trp Ile Trp Ser Gly Lys Thr Val Glu

515 520 525

Ser Trp Arg Arg Phe Thr Ser Arg Cys Cys Cys Arg Pro Arg Arg Gly

530 535 540

His Lys Ser Gly Gly Ala Met Ala Ala Gly Asp Tyr Pro Glu Ala Ser

545 550 555 560

Ala Ala Leu Thr Gly Arg Thr Gly Pro Pro Gly Pro Ala Ala Thr Tyr

565 570 575

His Lys Gln Val Ser Leu Ser His Val

580 585

<210> 25

<211> 246

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Met Ala Ala Ala Ala Ala Thr Lys Ile Leu Leu Cys Leu Pro Leu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Leu Ser Gly Trp Ser Arg Ala Gly Arg Ala Asp Pro His Ser

20 25 30

Leu Cys Tyr Asp Ile Thr Val Ile Pro Lys Phe Arg Pro Gly Pro Arg

35 40 45

Trp Cys Ala Val Gln Gly Gln Val Asp Glu Lys Thr Phe Leu His Tyr

50 55 60

Asp Cys Gly Asn Lys Thr Val Thr Pro Val Ser Pro Leu Gly Lys Lys

65 70 75 80

Leu Asn Val Thr Thr Ala Trp Lys Ala Gln Asn Pro Val Leu Arg Glu

85 90 95

Val Val Asp Ile Leu Thr Glu Gln Leu Arg Asp Ile Gln Leu Glu Asn

100 105 110

Tyr Thr Pro Lys Glu Pro Leu Thr Leu Gln Ala Arg Met Ser Cys Glu

115 120 125

Gln Lys Ala Glu Gly His Ser Ser Gly Ser Trp Gln Phe Ser Phe Asp

130 135 140

Gly Gln Ile Phe Leu Leu Phe Asp Ser Glu Lys Arg Met Trp Thr Thr

145 150 155 160

Val His Pro Gly Ala Arg Lys Met Lys Glu Lys Trp Glu Asn Asp Lys

165 170 175

Val Val Ala Met Ser Phe His Tyr Phe Ser Met Gly Asp Cys Ile Gly

180 185 190

Trp Leu Glu Asp Phe Leu Met Gly Met Asp Ser Thr Leu Glu Pro Ser

195 200 205

Ala Gly Ala Pro Leu Ala Met Ser Ser Gly Thr Thr Gln Leu Arg Ala

210 215 220

Thr Ala Thr Thr Leu Ile Leu Cys Cys Leu Leu Ile Ile Leu Pro Cys

|                                         |                                                     |     |     |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----|-----|
| 225                                     | 230                                                 | 235 | 240 |
| Phe Ile Leu Pro Gly Ile                 |                                                     |     |     |
|                                         | 245                                                 |     |     |
| <210>                                   | 26                                                  |     |     |
| <211>                                   | 10                                                  |     |     |
| <212>                                   | PRT                                                 |     |     |
| <213>                                   | Artificial Sequence                                 |     |     |
| <220>                                   |                                                     |     |     |
| <223>                                   | anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1 |     |     |
| <220><221>                              | misc_feature                                        |     |     |
| <222>                                   | (8)..(8)                                            |     |     |
| <223>                                   | Xaa is Leu or any other amino acid                  |     |     |
| <400>                                   | 26                                                  |     |     |
| Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Xaa Met Ser |                                                     |     |     |
| 1                                       | 5                                                   | 10  |     |
| <210>                                   | 27                                                  |     |     |
| <211>                                   | 19                                                  |     |     |
| <212>                                   | PRT                                                 |     |     |
| <213>                                   | Artificial Sequence                                 |     |     |
| <220>                                   |                                                     |     |     |
| <223>                                   | anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2 |     |     |
| <220><221>                              | misc_feature                                        |     |     |
| <222>                                   | (1)..(1)                                            |     |     |
| <223>                                   | Xaa is Val or a conservative substitution of Val    |     |     |
| <220><221>                              | misc_feature                                        |     |     |
| <222>                                   | (3)..(3)                                            |     |     |
| <223>                                   | Xaa is Thr or Asn                                   |     |     |
| <220><221>                              | misc_feature                                        |     |     |
| <222>                                   | (9)..(9)                                            |     |     |
| <223>                                   | Xaa is Ala or Ser                                   |     |     |
| <220><221>                              | misc_feature                                        |     |     |
| <222>                                   | (10)..(10)                                          |     |     |
| <223>                                   | Xaa is Glu or Asn                                   |     |     |
| <220><221>                              | misc_feature                                        |     |     |

<222> (11)..(11)

<223> Xaa is Thr or Lys

<220><221> misc\_feature

<222> (14)..(14)

<223>

Xaa is Pro or Val

<400> 27

Xaa Ala Xaa Ile Ser Gly Gly Gly Xaa Xaa Xaa Tyr Tyr Xaa Asp Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<220><221> misc\_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Gln or any other amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is Leu or any other amino acid

<220>

><221> misc\_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Tyr or a conservative substitution of Tyr

<220><221> misc\_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is Tyr or any other amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Phe or any other amino acid

<400> 28

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr

1 5

<210> 29

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MAb005 murine/humanized antibody HCDR1

<400> 29

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Met Met Ser

1 5 10

<210> 30

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MAb005 murine/humanized antibody HCDR2

<400> 30

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

1 5 10 15

Gly

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MAb005 murine/humanized antibody HCDR3

<400> 31

Gln Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<220><221> misc\_feature

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is Ser or a conservative substitution of Ser

<220><221> misc\_feature

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is Ser or a conservative substitution of Ser

<220><221> misc\_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is Tyr or a conservative substitution of Tyr

<220><221> misc\_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Leu or a conservative substitution of Leu

<220><221> misc\_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa is Asn or Thr or a conservative substitution of Asn or Thr

<400> 32

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1                      5                      10

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<220><221> misc\_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Ala or Thr or a conservative substitution of Ala or Thr

<220><221> misc\_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Ser or a conservative substitution of Ser

<220><221> misc\_feature  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa is Gln or any other amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> Xaa is Ser or any other amino acid  
 <400> 33  
 Xaa Ala Xaa Ser Leu Xaa Xaa  
 1 5  
 <210> 34  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR3  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa is Ser or any other amino acid  
  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa is Thr or any other amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (8)..(8)  
 <223> Xaa is Trp or any other amino acid  
 <400> 34  
 Gln Gln Xaa Tyr Ser Xaa Pro Xaa Thr  
 1 5  
 <210> 35  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> MAb005 murine/humanized antibody LCDR1  
 <400> 35

Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Thr

1 5 10

<210> 36

<211>

7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MAb005 murine/humanized antibody LCDR2

<400> 36

Thr Ala Thr Ser Leu Ala Asp

1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MAb005 murine/humanized antibody LCDR3

<400> 37

Gln Gln Val Tyr Ser Ile Pro Trp Thr

1 5

<210> 38

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 38

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Leu Met Ser

1 5 10

<210> 39

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 39

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 40

Gln Leu Tyr Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 41

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<400> 41

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Asn

1 5 10

<210> 42

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 42

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR3

<400> 43

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 44

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 44

Gln Val Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 45

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 45

Gln Leu Tyr Phe Phe Asp Tyr

1 5

<210> 46

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 46

Gln Leu Tyr Ala Phe Asp Tyr

1 5

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR3

<400> 47

Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Trp Thr

1 5

<210> 48

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 48

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 49

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 49

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 50

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 50

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Asp

1 5

<210> 51

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 51

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<400> 52

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Trp Leu Asn

1 5 10

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 53

Ala Ala Ser Ser Leu Ala Ser

1 5

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 54

Ala Ala Ser Ser Leu His Ser

1 5

<210> 55

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<220><221> misc\_feature

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is Ala, Asp, Glu, Phe, His, Ile, Leu, Asn, Pro,  
Gln, Ser, Thr, Val, Trp or Tyr

<400> 55

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Xaa Met Ser

1 5 10

<210> 56

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<220><221> misc\_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Thr or Asn

<220><221> misc\_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is Ser or Ala

<220><221> misc\_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Glu or Asn

<220><221> misc\_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa is Thr or Lys

<220><221> misc\_feature

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is Val or Pro

<400> 56

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<220><221> misc\_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Gln, Leu, Met, Asn or Thr

<220><221> misc\_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is Leu, Gly, Lys, Gln, Met, Ser or Val

<220><221> misc\_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Tyr or His

<220><221> misc\_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is Tyr, Ala, Asp, Gly, Phe or Met

<220><221> misc\_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Phe, Ala, Asp, Glu, Ile, Lys, Met, Ser, Trp or Tyr

<400> 57

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr

1 5

<210> 58

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<220><221> misc\_feature

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is Leu, Ala or Ser

<400> 58

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Xaa Met Ser

1 5 10

<210> 59

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<220><221> misc\_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is Ser or Ala

<220><221> misc\_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Glu or Asn

<220><221> misc\_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa is Thr or Lys

<400> 59

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<220><221> misc\_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is Leu or Val

<220><221> misc\_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is Tyr, Gly, Phe or Ala

<220><221> misc\_feature

<222> (5)..(5)

<223>

> Xaa is Phe, Tyr or Ala

<400> 60

Gln Xaa Tyr Xaa Xaa Asp Tyr

1 5

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<220><221> misc\_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Thr or Ser

<220><221> misc\_feature

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is Gly or Ser

<220><221> misc\_feature

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is Thr or Ser

<220><221> misc\_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is Trp or Tyr

<220><221> misc\_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa is Thr or Asn

<400> 61

Arg Ala Ser Gln Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Leu Xaa

1 5 10

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<220><221> misc\_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Thr or Ala

<220><221> misc\_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Thr or Ser

<220><221> misc\_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is Ala, Gln or His

<220><221> misc\_feature

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is Asp or Ser

<400> 62

Xaa Ala Xaa Ser Leu Xaa Xaa

1 5

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR3

<220><221> misc\_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Val or Ser

<220><221> misc\_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is Ile or Thr

<220><221> misc\_feature

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is Trp or Leu

<400> 63

Gln Gln Xaa Tyr Ser Xaa Pro Xaa Thr

1 5

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<220><221> misc\_feature

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is Gly or Ser  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (8)..(8)  
 <223> Xaa is Thr or Ser  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (9)..(9)  
 <223> Xaa is Trp or Tyr  
 <400> 64  
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Xaa Xaa Xaa Leu Asn  
 1 5 10  
 <210> 65  
 <211>  
 > 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa is Gln or His  
 <400> 65  
 Ala Ala Ser Ser Leu Xaa Ser  
 1 5  
 <210> 66  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR3  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa is Ile or Thr  
 <400> 66  
 Gln Gln Ser Tyr Ser Xaa Pro Trp Thr

1                    5

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 67

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser

1                    5                    10

<210> 68

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 68

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

1                    5                    10                    15

Val Lys Gly

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 69

Ala Ala Thr Ser Leu Ala Ser

1                    5

<210> 70

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 70

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 71

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 71

Thr Ala Ser Ser Leu Gln Asp

1 5

<210> 72

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 72

Gln Leu Tyr Tyr Ala Asp Tyr

1 5

<210> 73

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 73

Thr Ala Ser Ser Leu Ala Asp

1                      5

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<400> 74

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1                      5                      10

<210> 75

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 75

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Ser

1                      5                      10

<210> 76

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<400> 76

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr Leu Asn

1                      5                      10

<210> 77

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 77

Ala Ala Thr Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 78

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<400> 78

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 79

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 79

Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 80

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 80

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Pro Met Ser

1 5 10

<210> 81

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 81

Gln Leu Tyr Tyr Tyr Asp Tyr

1 5

<210> 82

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 82

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Tyr

1 5

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TCED+ and HAF peptide

<400> 83

Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln

1 5

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> converted TCED+ and HAF peptide

<400> 84

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln

1 5

<210> 85

<211> 9  
 <212> PRT  
 <213>  
 > Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> LAF peptide  
 <400> 85  
 Ile Gly Thr Trp Leu Thr Trp Tyr Gln  
 1 5  
 <210> 86  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> converted LAF peptide  
 <400> 86  
 Ile Ser Ser Trp Leu Asn Trp Tyr Gln  
 1 5  
 <210> 87  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> HAF peptide  
 <400> 87  
 Leu Leu Ile Tyr Thr Ala Thr Ser Leu  
 1 5  
 <210> 88  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> HAF peptide  
 <400> 88

Leu Ile Tyr Thr Ala Thr Ser Leu Ala

1 5

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LAF peptide

<400> 89

Ile Tyr Thr Ala Thr Ser Leu Ala Asp

1 5

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LAF peptide

<400> 90

Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Tyr Ser Ile

1 5

<210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LAF peptide

<400> 91

Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

1 5

<210> 92

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 92

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 93

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Arg Asp Glu Leu Thr

1 5

<210> 94

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Arg Glu Glu Met

1

<210> 95

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 95

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Met Met Ser

1 5 10

<210> 96

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 96

Ser Tyr Met Met Ser

1 5

<210> 97

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 97

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 98

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 98

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Met

1 5

<210> 99

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 99

Ser Ser Tyr Met Met Ser

1 5

<210> 100

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 100

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

1 5 10 15

Gly

<

<210> 101

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 101

Ser Gly Gly Gly Ala Asn

1 5

<210> 102

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 102

Ile Ser Gly Gly Gly Ala Asn Thr

1 5

<210> 103

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 103

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

1 5 10 15

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213>

> Mus musculus

<400> 104

Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ala Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 105

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 105

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

1 5 10

<210> 106

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 106

Gln Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 107

Ala Arg Gln Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 108

Gln Leu Tyr Tyr Phe Asp

1 5

<210> 109

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 109

Ala Arg Gln Leu Tyr Tyr Phe Asp

1 5

<210> 110

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 110

Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Thr

1 5 10

<210> 111

<211> 6

<212> PRT

<213>

Mus musculus

<400> 111

Gln Thr Ile Gly Thr Trp

1 5

<210> 112

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 112

Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp

1 5

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 113

Gly Thr Trp Leu Thr Trp Tyr

1 5

<210> 114

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 114

Thr Ala Thr Ser Leu Ala Asp

1 5

<210> 115

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 115

Leu Leu Ile Tyr Thr Ala Thr Ser Leu Ala

1 5 10

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 116

Gln Gln Val Tyr Ser Ile Pro Trp Thr

1 5

<210> 117

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 117

Val Tyr Ser Ile Pro Trp

1 5

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 118

Gln Gln Val Tyr Ser Ile Pro Trp

1 5

<210> 119

<211> 116

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 119

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Met Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Gln Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
100 105 110  
Thr Val Ser Ser  
115  
<210> 120

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> PD1-VH1 IGHV3-7

<400> 120

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

50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Gln Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val  
100 105 110  
Thr Val Ser Ser  
115  
<210> 121

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 121

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Lys Phe Ser Phe Lys Ile Ser Ser Leu Gln Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 122

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> PD1-VL1 IGKV1-39

<400> 122

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 123

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<400> 123

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Trp Leu Thr

1

5

10

<210> 124

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<400> 124

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Trp Leu Asn

1

5

10

<210> 125

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<400> 125

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Thr

1 5 10

<210> 126

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<400> 126

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Trp Leu Thr

1 5 10

<210> 127

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR1

<400> 127

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 128

<211> 7

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 128

Ala Ala Ser Ser Leu Ala Asp

1 5

<210> 129

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 129

Ala Ala Thr Ser Leu Gln Asp

1 5

<210> 130

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 130

Thr Ala Thr Ser Leu Ala Ser

1 5

<210> 131

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR2

<400> 131

Thr Ala Thr Ser Leu Gln Asp

1 5

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR3

<400> 132

Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Leu Thr

1 5

<

210> 133

<211> 9

<212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR3  
 <400> 133

Gln Gln Val Tyr Ser Ile Pro Leu Thr

1 5

<210> 134

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding LCDR3

<400> 134

Gln Gln Val Tyr Ser Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 135

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 135

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asp Met Ser

1 5 10

<210> 136

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 136

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Glu Met Ser

1 5 10

<210> 137  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 137  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Phe Met Ser  
 1 5 10

<210> 138  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 138  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Ser  
 1 5 10

<210> 139  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 139  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr His Met Ser

1 5 10

<210> 140  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 140

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ile Met Ser

1 5 10

<210> 141

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 141

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Ser

1 5 10

<210> 142

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 142

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gln Met Ser

1 5 10

<210> 143

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 143

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Ser

1 5 10

<210> 144

<211> 10

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 144

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Val Met Ser

1 5 10

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 145

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Ser

1 5 10

<210> 146

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR1

<400> 146

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr Met Ser

1 5 10

<210> 147

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 147

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 148

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 148

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 149

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 149

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 150

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 150

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 151

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 151

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 152

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 152

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 153

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 153

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 154

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 154

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 155

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 155

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 156

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 156

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 157

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 157

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 158

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 158

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 159

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 159

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 160

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 160

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 161

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 161

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 162

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 162

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 163

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 163

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 164

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR2

<400> 164

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 165

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 165

Leu Leu Tyr Tyr Glu Asp Tyr

1 5

<210> 166

<

211> 7

<212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3  
 <400> 166  
 Met Leu Tyr Tyr Asp Asp Tyr  
 1 5  
 <210> 167  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3  
 <400> 167  
 Asn Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5  
 <210> 168  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3  
 <400> 168  
 Gln Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5  
 <210> 169  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3  
 <400> 169  
 Gln Lys Tyr Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5

<210> 170  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3  
 <400> 170  
 Gln Leu His Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5  
 <210> 171  
 <211>  
 > 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3  
 <400> 171  
 Gln Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr  
 1 5  
 <210> 172  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3  
 <400> 172  
 Gln Leu Tyr Met Phe Asp Tyr  
 1 5  
 <210> 173  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 173

Gln Leu Tyr Tyr Glu Asp Tyr

1 5

<210> 174

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 174

Gln Leu Tyr Tyr Ile Asp Tyr

1 5

<210> 175

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 175

Gln Leu Tyr Tyr Lys Asp Tyr

1 5

<210> 176

<211>

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 176

Gln Leu Tyr Tyr Met Asp Tyr

1 5

<210> 177

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 177

Gln Leu Tyr Tyr Ser Asp Tyr

1 5

<210> 178

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 178

Gln Leu Tyr Tyr Trp Asp Tyr

1 5

<210> 179

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 179

Gln Met Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 180

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 180

Gln Gln Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 181

<211

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 181

Gln Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 182

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-PD1 antibody molecule or antigen-binding HCDR3

<400> 182

Thr Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5