



공개특허 10-2020-0079511



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0079511
(43) 공개일자 2020년07월03일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7014915
- (22) 출원일자(국제) 2018년11월01일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년05월25일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2018/079931
- (87) 국제공개번호 WO 2019/086573
국제공개일자 2019년05월09일
- (30) 우선권주장
1718101.7 2017년11월01일 영국(GB)
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인
허밍버드 바이오사이언스 홀딩스 피티이. 엘티디.
싱가포르, 싱가포르 117604, 넘버05-37, 1리서치
링크
- (72) 발명자
보이드-커크업 제롬 더글라스
싱가포르, 싱가포르 117604, 넘버05-37, 1 리서치
링크, 허밍버드 바이오사이언스 홀딩스 피티이.
엘티디. 내
타카르 딥티
싱가포르, 싱가포르 117604, 넘버05-37, 1 리서치
링크, 허밍버드 바이오사이언스 홀딩스 피티이.
엘티디. 내
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인한얼

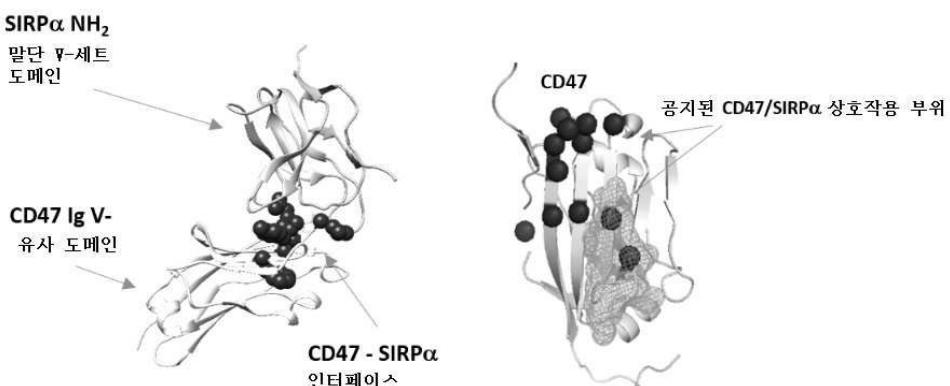
전체 청구항 수 : 총 39 항

(54) 발명의 명칭 CD47 항원-결합 분자

(57) 요약

CD47 항원-결합 분자가 개시되어 있다. 또한, CD47 항원-결합 분자를 암호화하는 핵산 및 발현 벡터, 이를 포함하는 조성물, 및 이를 사용하는 방법이 개시되어 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

잉그램 피어스

싱가포르, 싱가포르 117604, 넘버05-37, 1 리서치
링크, 헤밍버드 바이오사이언스 홀딩스 피티이. 엘
티디. 내

우 지하오

싱가포르, 싱가포르 117604, 넘버05-37, 1 리서치
링크, 헤밍버드 바이오사이언스 홀딩스 피티이. 엘
티디. 내

파스키에비치 콘래드

싱가포르, 싱가포르 117604, 넘버05-37, 1 리서치
링크, 헤밍버드 바이오사이언스 홀딩스 피티이. 엘
티디. 내

브라우어 피터

싱가포르, 싱가포르 117604, 넘버05-37, 1 리서치
링크, 헤밍버드 바이오사이언스 홀딩스 피티이. 엘
티디. 내

구안 시유

싱가포르, 싱가포르 117604, 넘버05-37, 1 리서치
링크, 헤밍버드 바이오사이언스 홀딩스 피티이. 엘
티디. 내

(30) 우선권주장

1720425.6 2017년12월07일 영국(GB)

1720426.4 2017년12월07일 영국(GB)

명세서

청구범위

청구항 1

세포외 영역 1에서 CD47에 결합할 수 있는, 임의로 단리된, 항원-결합 분자.

청구항 2

제1항에 있어서, 항원-결합 분자가 CD47의 V-형 Ig-유사 도메인(V-type Ig-like domain)에 결합할 수 있는 항원-결합 분자.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 항원-결합 분자가 서열 번호 9에 나타낸 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩타이드에 결합할 수 있는 항원-결합 분자.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용을 억제할 수 있는 항원-결합 분자.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가 CD47-발현 세포의 식세포작용을 증가시킬 수 있는 항원-결합 분자.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가 서열 번호 21의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 웨타이드 또는 폴리펩타이드에 결합할 수 있는 항원-결합 분자.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가 다음 (i) 및 (ii)를 포함하는 CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 도메인을 포함하는 항원-결합 분자:

(i) 다음의 CDR:

서열 번호 169의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 170의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 171의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 172의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 173의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가 다음 (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g) 또는

(h)를 포함하는 항원-결합 분자:

(a) (i) 다음의 CDR:

서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);

또는

(b) (i) 다음의 CDR:

서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);

또는

(c)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 139의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);

또는

(d)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 139의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);

또는

(e)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 (VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 140의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);

또는

(f)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 140의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);

또는

(g)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);

또는

(h)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 142의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 다른 아미노산으로 치환된다).

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가 다음 (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g) 또는 (h)를 포함하는 항원-결합 분자:

(a)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;

또는

(b)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;

또는

(c)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 139의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;

또는

(d)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 139의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;

또는

(e)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 140의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;

또는

(f)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 140의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;

또는

(g)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;

또는

(h)(i) 다음의 CDR:

서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 142의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가:

서열 번호 23, 39, 178, 127, 129, 130, 131 또는 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및

서열 번호 31, 44, 179, 128, 133, 134, 135 또는 136의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항원-결합 분자.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가:

(i) 서열 번호 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및

서열 번호 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(ii) 서열 번호 39의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역;
및

서열 번호 44의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(iii) 서열 번호 178의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역;
및

서열 번호 179의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(iv) 서열 번호 127의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역;
및

서열 번호 128의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(v) 서열 번호 129의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역;
및

서열 번호 128의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(vi) 서열 번호 130의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역;
및

서열 번호 128의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(vii) 서열 번호 131의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역;
및

서열 번호 128의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(viii) 서열 번호 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역;
및

서열 번호 128의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(ix) 서열 번호 131의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역;
및

서열 번호 133의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(x) 서열 번호 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역;
및

서열 번호 133의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(xi) 서열 번호 131의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및

서열 번호 134의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(xii) 서열 번호 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및

서열 번호 134의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(xiii) 서열 번호 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및

서열 번호 135의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
또는

(xiv) 서열 번호 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및

서열 번호 136의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항원-결합 문자.

청구항 12

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 문자가 서열 번호 22의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 펩타이드 또는 폴리펩타이드에 결합할 수 있는 항원-결합 문자.

청구항 13

제1항 내지 제5항 또는 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 문자가 다음 (i) 및 (ii)를 포함하는 항원-결합 문자:

(i) 다음의 CDR:

서열 번호 50의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 51의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 52의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 58의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 59의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 60의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).

청구항 14

제1항 내지 제5항, 제12항 또는 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 문자가 다음 (i) 및 (ii)를 포함하는 항원-결합 문자:

(i) 다음의 CDR:

서열 번호 50의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 51의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 52의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 58의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 59의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 60의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역.

청구항 15

제1항 내지 제5항 또는 제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가:

서열 번호 49의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및

서열 번호 57의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항원-결합 분자.

청구항 16

제1항 내지 제5항 또는 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가 다음의 (i) 및 (ii)를 포함하는 항원-결합 분자:

(i) 다음의 CDR:

서열 번호 66의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 67의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 68의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 74의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 75의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 76의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).

청구항 17

제1항 내지 제5항, 제12항 또는 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가 다음 (i) 및 (ii)를 포함하는 항원-결합 분자:

(i) 다음의 CDR:

서열 번호 66의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

서열 번호 67의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

서열 번호 68의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및

(ii) 다음의 CDR:

서열 번호 74의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

서열 번호 75의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

서열 번호 76의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역.

청구항 18

제1항 내지 제5항, 제12항, 제16항 또는 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가:

서열 번호 65의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
서열 번호 73의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 항원-결합 분자.

청구항 19

(i) 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자, 및 (ii) CD47 이외의 항원에 결합할 수 있는 항원-결합 분자를 포함하는, 임의로 단리된, 항원-결합 분자.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가 세포 표면에서 CD47을 발현하는 세포에 결합할 수 있는 항원-결합 분자.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용을 억제할 수 있는 항원-결합 분자.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 분자가 CD47-발현 세포의 식세포작용을 증가시킬 수 있는 항원-결합 분자.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 다른 항원-결합 분자를 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR).

청구항 24

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자 또는 제23항에 따른 CAR을 암호화하는, 임의로 단리된, 핵산, 또는 다수의 핵산.

청구항 25

제24항에 따른 핵산 또는 다수의 핵산을 포함하는, 발현 벡터, 또는 다수의 발현 벡터.

청구항 26

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자, 제23항에 따른 CAR, 제24항에 따른 핵산 또는 다수의 핵산, 또는 제25항에 따른 발현 벡터 또는 다수의 발현 벡터를 포함하는 세포.

청구항 27

제24항에 다른 핵산 또는 다수의 핵산, 또는 제25항에 따른 발현 벡터 또는 다수의 발현 벡터를 포함하는 세포를 핵산(들) 또는 발현 벡터(들)로부터 항원-결합 분자 또는 CAR의 발현에 적합한 조건 하에서 배양함을 포함하는 방법.

청구항 28

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자, 제23항에 따른 CAR, 제24항에 따른 핵산 또는 다수의 핵산, 제25항에 따른 발현 벡터 또는 다수의 발현 벡터, 또는 제26항에 따른 세포를 포함하는 조성물.

청구항 29

의학적 치료 또는 예방 방법에서 사용하기 위한, 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자, 제23항에 따른 CAR, 제24항에 따른 핵산 또는 다수의 핵산, 제25항에 따른 발현 벡터 또는 다수의 발현 벡터, 또

는 제28항에 따른 조성물.

청구항 30

암의 치료 또는 예방 방법에서 사용하기 위한, 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자, 제23항에 따른 CAR, 제24항에 따른 핵산 또는 다수의 핵산, 제25항에 따른 발현 백터 또는 다수의 발현 백터, 제26항에 따른 세포, 또는 제28항에 따른 조성물.

청구항 31

암의 치료 또는 예방 방법에서 사용하기 위한 의약의 제조 시의, 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자, 제23항에 따른 CAR, 제24항에 따른 핵산 또는 다수의 핵산, 제25항에 따른 발현 백터 또는 다수의 발현 백터, 제26항에 따른 세포, 또는 제28항에 따른 조성물의 용도.

청구항 32

대상체에게 치료학적 또는 예방학적 유효량의 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자, 제23항에 따른 CAR, 제24항에 따른 핵산 또는 다수의 핵산, 제25항에 따른 발현 백터 또는 다수의 발현 백터, 제26항에 따른 세포, 또는 제28항에 따른 조성물을 투여함을 포함하는, 암의 치료 또는 예방 방법.

청구항 33

제30항에 따른 용도, 제31항에 따른 용도 또는 제32항에 따른 방법을 위한 항원-결합 분자, 핵산 또는 다수의 핵산, 발현 백터 또는 다수의 발현 백터, 세포 또는 조성물로서, 여기서, 암이 혈액암, 골수 혈액암, 림프아구성 혈액암, 골수이형성 증후군(myelodysplastic syndrome: MDS), 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia: AML), 만성 골수성 백혈병(chronic myeloid leukemia: CML), 급성 림프구성 백혈병(acute lymphoblastic leukemia: ALL), 비-호지킨 림프종(non-Hodgkin's lymphoma: NHL), 다발 공수종(MM), 방광암, 뇌암, 교아세포종, 난소암, 유방암, 결장암, 간암, 간세포암종, 전립선암, 폐암, 비-소세포 폐암(Non-small Cell Lung Cancer: NSCLC), 피부암 및 흑색종으로부터 선택되는 항원-결합 분자, 핵산 또는 다수의 핵산, 발현 백터 또는 다수의 발현 백터, 세포 또는 조성물.

청구항 34

CD47-발현 세포를 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자와 접촉시킴을 포함하여, CD47-발현 세포의 식세포작용을 증가시키는 방법.

청구항 35

CD47에 결합된 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자를 포함하는, 임의로 단리된, 시험관내(*in vitro*) 복합체.

청구항 36

CD47을 함유하거나, 함유하는 것으로 추측되는 샘플을 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자와 접촉시키고, 항원-결합 분자와 CD47의 복합체의 형성을 검출함을 포함하는 방법.

청구항 37

CD47-표적화된 제제를 사용한 치료를 위해 대상체를 선택하거나 계층화(stratifying)하는 방법으로서, 이러한 방법이 시험관내에서 대상체로부터의 샘플을 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자와 접촉시키는 단계, 및 항원-결합 분자와 CD47의 복합체의 형성을 검출하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 38

시험관내 또는 생체내(*in vivo*) 진단제 또는 예후제로서의, 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분자의 용도.

청구항 39

암을 검출하거나, 국재화하거나 영상화하는 방법에서의, 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항원-결합 분

자의 용도로서, 임의로 여기서 암이 혈액암, 골수 혈액암, 림프아구성 혈액암, 골수이형성 증후군(MDS), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 골수성 백혈병(CML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 비-호지킨 림프종(NHL), 다발 공수 종(MM), 방광암, 뇌암, 교아세포종, 난소암, 유방암, 결장암, 간암, 간세포암종, 전립선암, 폐암, 비-소세포 폐암(NSCLC), 피부암 및 흑색종으로부터 선택되는 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 2017년 11월 1일자로 출원된 제GB 1718101.7호, 2017년 12월 7일자로 출원된 제GB 1720425.6호 및 2017년 12월 7일자로 출원된 제GB 1720426.4호의 우선권을 청구하며, 이의 각각의 내용 및 요소들은 모든 목적을 위해 본원에 참고로 포함된다.

발명의 분야

[0003] 본 발명은 문자 생물학, 보다 구체적으로 항체 기술의 분야에 관한 것이다. 본 발명은 또한 의학적 치료 및 예방 방법에 관한 것이다.

배경 기술

발명의 배경

[0005] CD47은 "먹지 말것(don't-eat-me)" 신호이며 정상 세포 상에서 편재하여 여기서 대식구 상의 SIRP α 에 대한 결합은 식세포작용을 억제한다. CD47은 종양내에서 일반적으로 과-발현(over-expression)되며 여기서 이는 면역 회피(immune evasion) 및 불량한 예후와 관련되어 있다. CD47-SIRP α 상호작용의 차단은 종양 세포의 대식구 식세포작용을 회복하며 항-CD47 mAb는 고형 종양 및 혈액학적 악성종양의 마우스 모델에서 항-종양 효능을 나타내었다.

[0006] 제WO 2014/087248 A2호는 사람 CD47에 대해 ~23.6 nM 정도로 높은 친화성을 갖는 일특이적인 항-CD47 항체를 개시하고 있다. 여기에 개시된 고-친화성 CD47 항체는 실질적인 혈구응집을 유도한다(참고: 예컨대, 제WO 2014/087248 A2호의 실시예 8).

발명의 내용

발명의 요약

[0008] 제1 양태에서, 본 발명은 CD47에 결합할 수 있는, 임의로 단리된, 항원-결합 분자를 제공한다.

[0009] 또한 세포외 영역 1에서 CD47에 결합할 수 있는, 임의로 단리된, 항원-결합 분자가 제공된다.

[0010] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47의 V-형 Ig-유사 도메인(domain)에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 서열 번호 9에 나타낸 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩타이드에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용을 억제할 수 있다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47-발현 세포의 식세포작용을 증가시킬 수 있다.

[0011] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 서열 번호 21의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 웹타이드 또는 폴리웹타이드에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 다음 (i) 및 (ii)를 포함한다:

[0012] (i) 다음의 CDR:

[0013] 서열 번호 169의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1

[0014] 서열 번호 170의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2

[0015] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및

[0016] (ii) 다음의 CDR:

- [0017] 서열 번호 171의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0018] 서열 번호 172의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0019] 서열 번호 173의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0020] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 (a), (b), (c), (d), (e), (f) 또는 (g)를 포함한다 :
- [0021] (a) (i) 다음의 CDR:
- [0022] 서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0023] 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0024] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및
- [0025] (ii) 다음의 CDR:
- [0026] 서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0027] 서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0028] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);
- [0029] 또는
- [0030] (b) (i) 다음의 CDR:
- [0031] 서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0032] 서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0033] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및
- [0034] (ii) 다음의 CDR:
- [0035] 서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0036] 서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0037] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);
- [0038] 또는
- [0039] (c)(i) 다음의 CDR:
- [0040] 서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0041] 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0042] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및
- [0043] (ii) 다음의 CDR:

- [0044] 서열 번호 139의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0045] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0046] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);
- [0047] 또는
- [0048] (d)(i) 다음의 CDR:
- [0049] 서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0050] 서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0051] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및
- [0052] (ii) 다음의 CDR:
- [0053] 서열 번호 139의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0054] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0055] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);
- [0056] 또는
- [0057] (e)(i) 다음의 CDR:
- [0058] 서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0059] 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0060] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 (VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및
- [0061] (ii) 다음의 CDR:
- [0062] 서열 번호 140의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0063] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0064] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);
- [0065] 또는
- [0066] (f)(i) 다음의 CDR:
- [0067] 서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0068] 서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0069] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및
- [0070] (ii) 다음의 CDR:

- [0071] 서열 번호 140의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0072] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0073] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);
- [0074] 또는
- [0075] (g)(i) 다음의 CDR:
- [0076] 서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0077] 서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0078] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및
- [0079] (ii) 다음의 CDR:
- [0080] 서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0081] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0082] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다);
- [0083] 또는
- [0084] (h)(i) 다음의 CDR:
- [0085] 서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0086] 서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0087] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및
- [0088] (ii) 다음의 CDR:
- [0089] 서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0090] 서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0091] 서열 번호 142의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0092] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g) 또는 (h)를 포함한다:
- [0093] (a)(i) 다음의 CDR:
- [0094] 서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0095] 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0096] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및
- [0097] (ii) 다음의 CDR:
- [0098] 서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0099] 서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

- [0100] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;
- [0101] 또는
- [0102] (b)(i) 다음의 CDR:
- [0103] 서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0104] 서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0105] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및
- [0106] (ii) 다음의 CDR:
- [0107] 서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0108] 서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0109] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;
- [0110] 또는
- [0111] (c)(i) 다음의 CDR:
- [0112] 서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0113] 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0114] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및
- [0115] (ii) 다음의 CDR:
- [0116] 서열 번호 139의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0117] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0118] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;
- [0119] 또는
- [0120] (d)(i) 다음의 CDR:
- [0121] 서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0122] 서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0123] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및
- [0124] (ii) 다음의 CDR:
- [0125] 서열 번호 139의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0126] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0127] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;
- [0128] 또는
- [0129] (e)(i) 다음의 CDR:
- [0130] 서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0131] 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0132] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및
- [0133] (ii) 다음의 CDR:
- [0134] 서열 번호 140의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0135] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

- [0136] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;
- [0137] 또는
- [0138] (f)(i) 다음의 CDR:
- [0139] 서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0140] 서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0141] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및
- [0142] (ii) 다음의 CDR:
- [0143] 서열 번호 140의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0144] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0145] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;
- [0146] 또는
- [0147] (g)(i) 다음의 CDR:
- [0148] 서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0149] 서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0150] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및
- [0151] (ii) 다음의 CDR:
- [0152] 서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0153] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0154] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역;
- [0155] 또는
- [0156] (h)(i) 다음의 CDR:
- [0157] 서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0158] 서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0159] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및
- [0160] (ii) 다음의 CDR:
- [0161] 서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0162] 서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0163] 서열 번호 142의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역.
- [0164] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:
- [0165] 서열 번호 23, 39, 178, 127, 129, 130, 131 또는 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성(sequence identity)을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0166] 서열 번호 31, 44, 179, 128, 133, 134, 135 또는 136의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.
- [0167] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:
- [0168] (i) 서열 번호 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및

- [0169] 서열 번호 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0170] 또는
- [0171] (ii) 서열 번호 39의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0172] 서열 번호 44의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0173] 또는
- [0174] (iii) 서열 번호 178의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0175] 서열 번호 179의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0176] 또는
- [0177] (iv) 서열 번호 127의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0178] 서열 번호 128의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0179] 또는
- [0180] (v) 서열 번호 129의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0181] 서열 번호 128의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0182] 또는
- [0183] (vi) 서열 번호 130의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0184] 서열 번호 128의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0185] 또는
- [0186] (vii) 서열 번호 131의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0187] 서열 번호 128의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0188] 또는
- [0189] (viii) 서열 번호 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0190] 서열 번호 128의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0191] 또는
- [0192] (ix) 서열 번호 131의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0193] 서열 번호 133의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0194] 또는
- [0195] (x) 서열 번호 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0196] 서열 번호 133의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0197] 또는

- [0198] (xi) 서열 번호 131의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0199] 서열 번호 134의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0200] 또는
- [0201] (xii) 서열 번호 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0202] 서열 번호 134의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0203] 또는
- [0204] (xiii) 서열 번호 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0205] 서열 번호 135의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역;
- [0206] 또는
- [0207] (xiv) 서열 번호 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0208] 서열 번호 136의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.
- [0209] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 서열 번호 22의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 웨타이드 또는 폴리웨타이드에 결합할 수 있다.
- [0210] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 다음 (i) 및 (ii)를 포함한다:
- [0211] (i) 다음의 CDR:
- [0212] 서열 번호 50의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0213] 서열 번호 51의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0214] 서열 번호 52의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및
- [0215] (ii) 다음의 CDR:
- [0216] 서열 번호 58의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0217] 서열 번호 59의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0218] 서열 번호 60의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0219] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 다음 (i) 및 (ii)를 포함한다:
- [0220] (i) 다음의 CDR:
- [0221] 서열 번호 50의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0222] 서열 번호 51의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0223] 서열 번호 52의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및
- [0224] (ii) 다음의 CDR:
- [0225] 서열 번호 58의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0226] 서열 번호 59의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

- [0227] 서열 번호 60의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역.
- [0228] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:
- [0229] 서열 번호 49의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0230] 서열 번호 57의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.
- [0231] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 다음의 (i) 및 (ii)를 포함한다:
- [0232] (i) 다음의 CDR:
- [0233] 서열 번호 66의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0234] 서열 번호 67의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0235] 서열 번호 68의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다); 및
- [0236] (ii) 다음의 CDR:
- [0237] 서열 번호 74의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0238] 서열 번호 75의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0239] 서열 번호 76의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0240] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 다음 (i) 및 (ii)를 포함한다:
- [0241] (i) 다음의 CDR:
- [0242] 서열 번호 66의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0243] 서열 번호 67의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0244] 서열 번호 68의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및
- [0245] (ii) 다음의 CDR:
- [0246] 서열 번호 74의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0247] 서열 번호 75의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0248] 서열 번호 76의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역.
- [0249] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:
- [0250] 서열 번호 65의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0251] 서열 번호 73의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.
- [0252] 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 본 발명에 따른 항원-결합 분자, 및 (ii) CD47 이외의 항원에 결합할 수 있는 항원-결합 분자를 포함하는, 임의로 단리된, 항원-결합 분자를 제공한다.
- [0253] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 세포 표면에서 CD47을 발현하는 세포에 결합할 수 있다.
- [0254] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용을 억제할 수 있다.
- [0255] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47-발현 세포의 식세포작용을 증가시킬 수 있다.
- [0256] 다른 양태에서 본 발명은 본 발명에 따른 항원-결합 분자를 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.
- [0257] 다른 양태에서 본 발명은 본 발명에 따른 항원-결합 분자 또는 CAR을 암호화하는, 임의로 단리된, 핵산, 또는

다수의 핵산을 제공한다.

[0258] 다른 양태에서 본 발명은 본 발명에 따른 핵산 또는 다수의 핵산을 포함하는, 발현 벡터, 또는 다수의 발현 벡터를 제공한다.

[0259] 다른 양태에서 본 발명은 본 발명에 따른 항원-결합 분자, CAR, 핵산 또는 다수의 핵산, 또는 발현 벡터 또는 다수의 발현 벡터를 포함하는 세포를 제공한다.

[0260] 다른 양태에서 본 발명은 본 발명에 따른 핵산 또는 다수의 핵산, 또는 발현 벡터 또는 다수의 발현 벡터를 포함하는 세포를 핵산(들) 또는 발현 벡터(들)로부터 항원-결합 분자 또는 CAR의 발현에 적합한 조건 하에서 배양함을 포함하는 방법을 제공한다.

[0261] 다른 양태에서 본 발명은 본 발명에 따른 항원-결합 분자, CAR, 핵산 또는 다수의 핵산, 발현 벡터 또는 다수의 발현 벡터, 또는 세포를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0262] 다른 양태에서 본 발명은 의학 치료 또는 예방 방법에서 사용하기 위한 본 발명에 따른 항원-결합 분자, CAR, 핵산 또는 다수의 핵산, 발현 벡터 또는 다수의 발현 벡터, 세포, 또는 조성물을 제공한다.

[0263] 다른 양태에서 본 발명은 암의 치료 또는 예방 방법에서 사용하기 위한 본 발명에 따른 항원-결합 분자, CAR, 핵산 또는 다수의 핵산, 발현 벡터 또는 다수의 발현 벡터, 세포, 또는 조성물을 제공한다.

[0264] 다른 양태에서 본 발명은 암의 치료 또는 예방 방법에서 사용하기 위한 의약의 제조시 본 발명에 따른 항원-결합 분자, CAR, 핵산 또는 다수의 핵산, 발현 벡터 또는 다수의 발현 벡터, 세포, 또는 조성물의 용도를 제공한다.

[0265] 다른 양태에서 본 발명은 대상체에게 치료학적 또는 예방학적 유효량의 본 발명에 따른 항원-결합 분자, CAR, 핵산 또는 다수의 핵산, 발현 벡터 또는 다수의 발현 벡터, 세포, 또는 조성물을 투여함을 포함하는, 암의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.

[0266] 다른 양태에서 본 발명은 CD47-발현 세포를 본 발명에 따른 항원-결합 분자와 접촉시킴을 포함하여, CD47-발현 세포의 식세포작용을 증가시키는 방법을 제공한다.

[0267] 다른 양태에서 본 발명은 CD47에 결합된 본 발명에 따른 항원-결합 분자를 포함하는, 임의로 단리된, 시험관내 (*in vitro*) 복합체를 제공한다.

[0268] 다른 양태에서 본 발명은 CD47을 함유하거나, 함유하는 것으로 추측되는 샘플을 본 발명에 따른 항원-결합 분자와 접촉시키고, 항원-결합 분자와 CD47의 복합체의 형성을 검출함을 포함하는 방법을 제공한다.

[0269] 다른 양태에서 본 발명은 CD47-표적화된 제제를 사용한 치료를 위한 대상체를 제공하며, 이러한 방법은 시험관내에서 대상체로부터의 샘플을 본 발명에 따른 항원-결합 분자와 접촉시키는 단계, 및 항원-결합 분자와 CD47의 복합체의 형성을 검출하는 단계를 포함한다.

[0270] 다른 양태에서 본 발명은 시험관내 또는 생체내(*in vivo*) 진단제 또는 예후제로서 본 발명에 따른 항원-결합 분자의 용도를 제공한다.

[0271] 본 발명의 다양한 양태와 관련한 일부 구현예에서 암은 다음 중에서 선택된다: 혈액암, 골수 혈액암, 림프아구성 혈액암, 골수이형성 증후군(myelodysplastic syndrome: MDS), 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia: AML), 만성 골수성 백혈병(chronic myeloid leukemia: CML), 급성 림프구성 백혈병(acute lymphoblastic leukemia: ALL), 비-호지킨 림프종(non-Hodgkin's lymphoma: NHL), 다발 공수종(MM), 방광암, 뇌암, 교아세포종, 난소암, 유방암, 결장암, 간암, 간세포암종, 전립선암, 폐암, 비-소세포 폐암(Non-small Cell Lung Cancer: NSCLC), 피부암 및 흑색종.

설명

[0273] 본 발명은 선행 기술에 개시된 항원-결합 분자와 비교하여 목적한 생물물리학적 및/또는 기능적 특성의 조합을 갖는 항원-결합 분자를 제공한다.

[0274] 본 발명의 양태는 CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 분자에 관한 것이다.

[0275] 본원에 기술된 양태에서, 사람 CD47에 고 친화성으로 결합하고, 비-사람 영장류 CD47과 교차-반응성(cross-reactive)이며, CD47과 SIRP α 사이에 상호작용의 강력한 억제를 나타내는 항원-결합 분자가 제공된다.

- [0276] 특히, 본원에 기술된 항원-결합 분자는 CD47에 선행 기술의 항-CD47 항체보다 더 큰 친화성으로 결합하며 CD47-표적화된 치료제로서 보다 더 강력하다.
- [0277] 또한, 본원에 기술된 항원-결합 분자는 선행 기술의 항-CD47 항체와 비교하여 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용의 보다 효과적인 억제를 위해 제공하는 CD47의 특수한 에피토프에 결합한다. 따라서, 본원에 기술된 항원-결합 분자는 선행 기술의 항-CD47 항체보다 CD47을 발현하는 세포의 식세포작용을 향상시키는데 있어서 보다 더 효과적이다.
- [0278] CD47
- [0279] 사람 CD47(IAP, MER6 및 OA3로서 또한 공지됨)은 UniProt Q08722에 의해 확인된 단백질이다. 사람 CD47 유전자에 의해 암호화된 mRNA의 대안적인 스플라이싱은 C-말단 세포질 성 테일(tai1) 영역의 서열에 있어서 상이한 4개의 동형(isoform)을 생성한다: 동형 OA3-323(UniProt: Q08722-1, v1; 서열 번호 1); 동형 OA3-293(UniProt: Q08722-2; 서열 번호 2), 이는 서열 번호 1의 293번 내지 323번 위치에 상응하는 아미노산 서열을 결여하고 있다; 동형 OA3-305(UniProt: Q08722-3; 서열 번호 3), 이는 서열 번호 1과 관련하여 치환 K304N 및 A305N을 포함하고, 이는 서열 번호 1의 306번 내지 323번 위치에 상응하는 아미노산 서열을 결여하고 있다; 및 동형 OA3-312(UniProt: Q08722-4; 서열 번호 4), 이는 서열 번호 1의 312번 내지 323번 위치에 상응하는 아미노산 서열을 결여하고 있다.
- [0280] 서열 번호 1 내지 4의 N-말단의 18개 아미노산은 신호 펩타이드(signal peptide)를 구성하므로, 동형 OA3-323, OA3-293, OA3-305 및 OA3-312의 성숙한 형태(즉, 신호 펩타이드를 제거하기 위한 프로세싱(processing) 후)는 각각 서열 번호 5 내지 8에 나타낸 아미노산 서열을 갖는다.
- [0281] CD47의 구조 및 기능은 예컨대, Sick et al., Br J Pharmacol. (2012) 167(7): 1415-1430 및 Willingham et al. Proc Natl Acad Sci U S A. (2012) 109(17): 6662-6667에서 고찰되며, 이를 둘 다는 이의 전문이 본원에 참고로 포함된다. CD47은 V-형 Ig-유사 도메인(서열 번호 9), 5개의 막관통 도메인(서열 번호 11, 13, 15, 17 및 19), 및 짧은 C-말단 세포내 테일(서열 번호 20)을 갖는 N-말단 세포외 영역(서열 번호 10)을 포함하는, 면역글로불린 상과(superfamily)에 속하는 편재하여-발현된 ~50 kDa 다중-통과(multi-pass) 막 수용체이다.
- [0282] CD47은 막관통 신호-조절 단백질(SIRP) SIRP α 및 SIRP γ 및 인테그린(예컨대, $\alpha\beta3$ 인테그린)에 대한 연결을 통해 세포-대-세포 통신에 관여하며, 또한 트롬보스폰딘-1(TSP-1)에 대한 결합을 통해 세포-세포외 매트릭스 상호작용을 매개한다. CD47은 부착, 이주, 증식 및 세포자멸사(apoptosis)를 포함하는 광범위한 세포 공정에 관여하며, 면역 공정 및 혈관형성에 있어서 중요한 역할을 담당한다.
- [0283] CD47은 SIRP α 에 대한 리간드이며, 이는 대식구 및 수지 세포 상에서 발현된다. 대식구 세포의 표면 상에서 SIRP α 에 대한 CD47의 결합은 SIRP α ITIM 신호전달(signaling)을 개시(trigger)하여, CD47 발현 세포의 식세포작용을 억제한다. CD47은 다중-통과 막관통 단백질인 반면, SIRP α 는 4개의 세포외 도메인 및 세포내 ITIM-도메인으로 이루어진다. SIRP α 의 말단 V-세트 도메인은 CD47의 Ig V-유사 도메인과 상호작용한다.
- [0284] CD47에 결합시, SIRP α 는 CD47-발현 세포의 식세포작용의 억제를 야기하는 신호전달 캐스케이드(signalling cascade)를 개시한다. 이러한 "먹지 말것" 신호는 SIRP α 의 세포질 도메인내 면역수용체 타이로신-기반 억제모티브(immunoreceptor tyrosine-based inhibitor motif: ITIM)의 Src 키나제에 의한 포스포릴화에 의해 전송된다. Src 상동성-2(SH2) 도메인-함유 타이로신 포스파타제 SHP-1 및 SHP-2의 후속적인 결합 및 활성화는 잠재적으로 식세포 시냅스에서 미오신-IIA의 축적을 방지함을 통해 식세포작용을 차단한다. CD47의 역평행 베타 쉬이트(antiparallel beta sheet)를 따라 상호작용을 파괴하는 것은 하부 ITIM-매개된 신호전달을 방지함으로써 식세포가 '먹어서' 암 세포를 파괴하는 것이 가능하도록 한다.
- [0285] 비정상적인 CD47 발현/활성은 많은 암의 발달 및 진행과 연관되어 있으며, 증거의 축적은 CD47의 세포-표면 발현이 일반적인 메카니즘이며 이에 의해 암 세포는 식세포작용으로부터 자신을 보호함을 시사하고 있다.
- [0286] 본 명세서에서, "CD47"은 임의의 종(species)으로부터의 CD47을 지칭하며 임의의 종으로부터의 CD47 동형, 단편, 변이체 또는 동족체를 포함한다.
- [0287] 본원에 사용된 바와 같이, 단백질의 "단편", "변이체" 또는 "동족체"는 참고 단백질(예컨대, 참고 동형)의 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 바람직하게는 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 것으로 임의로 특징화될 수 있다. 일부 구현예에서 참고 단백질의 단편, 변이체, 동형 및 동족체는 참고 단백질에 의해 수행된 기능을 수행하는 능력에 의해 특징

화될 수 있다.

[0288] "단편"은 참고 단백질의 분획을 일반적으로 지칭한다. "변이체"는 일반적으로 참고 단백질의 아미노산 서열에 대해 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입, 결실 또는 다른 변형을 포함하는 아미노산 서열을 갖지만, 참고 단백질의 아미노산 서열에 대해 고려할만한 정도의 서열 동일성(예컨대, 적어도 60%)을 보유하는 단백질을 지칭한다. "동형"은 일반적으로 참고 단백질(예컨대, OA3-323, OA3-293, OA3-305 및 OA3-312는 모두 서로의 동형이다)의 종과 동일한 종에 의해 발현된 참고 단백질의 변이체를 지칭한다. "동족체"는 일반적으로 참고 단백질의 종과 비교하여 상이한 종에 의해 생산된 참고 단백질의 변이체를 지칭한다. 예를 들면, 사람 CD47 동형 OA3-323(Q08722-1, v1; 서열 번호 1) 및 레서스 마카쿠(Rhesus macaque) CD47(UniProt: F7F5Y9-1, v2; 서열 번호 117)는 서로의 동족체이다. 동족체는 상동유전자(orthologue)를 포함한다.

[0289] 참고 단백질의 "단편"은, 임의로 참고 단백질(즉, 이로부터 단편이 유래된 단백질)의 길이의 적어도 25%일 수 있고 참고 단백질의 길이의 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 하나의 아미노산의 최대 길이를 가질 수 있지만, 임의의 길이(아미노산 수에 의한)일 수 있다.

[0290] CD47의 단편은 10, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 250 또는 300개 아미노산 중 하나의 최소 길이를 가질 수 있고 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 250 또는 300개 아미노산 중 하나의 아미노산의 최대 길이를 가질 수 있다.

[0291] 일부 구현예에서, CD47은 포유동물(예컨대, 영장류(레서스, 시노몰구스(cynomolgous), 비-사람 영장류 또는 사람) 및/또는 설치류(예컨대, 랫트 또는 쥐) CD47)로부터의 CD47이다. CD47의 동형, 단편, 변이체 또는 동족체는 제공된 종, 예컨대, 사람으로부터의 미성숙 또는 성숙한 CD47 동형의 아미노산 서열에 대해 적어도 적어도 70%, 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% (아미노산 서열 동일성) 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 것으로 임의로 특징화될 수 있다.

[0292] 동형, 단편, 변이체 또는 동족체는 임의로 기능적 특성/활성을 적합한 검정에 의한 분석으로 측정된 바와 같이, 예컨대, 참고 CD47(예컨대, 사람 CD47 동형 OA3-323)의 기능적 특성/활성을 갖는 기능적 동형, 단편, 변이체 또는 동족체일 수 있다. 예를 들면, CD47의 동형, 단편, 변이체 또는 동족체는 SIRP α , SIRP γ , TSP-1 및 $\alpha\beta\gamma$ 인테그린 중 하나 이상과의 관련성을 나타낼 수 있다.

[0293] 일부 구현예에서, CD47은 서열 번호 1 내지 8 중 하나에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산을 포함하거나 이로 이루어진다.

[0294] 일부 구현예에서, CD47의 단편은 서열 번호 9 또는 10 중 하나에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진다.

[0295] CD47은 매력적인 치료 표적이다. CD47은 일반적으로 정상의 건강한 세포의 표면에서 발현되며 조혈 줄기 세포로 이주하여 식세포작용을 방지하고, 거의 모든 혈액학적 및 고령 종양에서 상향조절되어 면역 감시를 피하고 식세포작용에서 탈출한다. CD47과 SIRP α 사이의 상호작용을 방해하는 것은 식세포가 "먹어서" 암 세포를 파괴시킬 수 있도록 한다. CD47 차단은 종양-관련 대식구의 전-염증성, 항-종양 상태로의 재극화(repolarising)를 차단하며, 식세포성 세포에 의한 악성 세포의 청소(clearance)는 적응 면역계에 대한 신생-항원 표시의 추가의 경로를 제공한다.

항원-결합 분자

[0296] 본 발명은 CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 분자를 제공한다.

[0297] "항원-결합 분자"는 표적 항원에 결합할 수 있는 분자를 지칭하며, 관련 표적 분자(들)에 대한 결합을 나타내는 한, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 일특이적인(monospecific) 및 다특이적인 항체(예컨대, 이특이적 항체), 및 항체 단편(예컨대, Fv, scFv, Fab, scFab, F(ab')₂, Fab₂, 디아보디(diabody), 트리아보디(triabody), scFv-Fc, 미니보디(minibody), 단일 도메인 항체(예컨대, VHIL 등)를 포함한다.

[0298] 본 발명의 항원-결합 분자는 표적 항원(들)에 결합할 수 있는 모이어티(moiety) 또는 모이어티들을 포함한다. 일부 구현예에서, 표적 항원에 결합할 수 있는 모이어티는 표적 항원에 대해 특이적으로 결합할 수 있는 항체의 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 일부 구현예에서, 표적 항원에 결합할 수 있

는 모이어티는 표적 항원에 결합할 수 있는 앱타머(aptamer), 예컨대 핵산 앱타머를 포함하거나 이로 이루어진다(예를 들면, Zhou and Rossi Nat Rev Drug Discov. 2017 16(3):181-202에서 검토됨). 일부 구현예에서, 표적 항원에 결합할 수 있는 모이어티는 항원-결합 웨타이드/폴리웨타이드, 예컨대, 웨타이드 앱타머, 티오레독신, 모노보디, 안티칼린, 쿠니츠 도메인(Kunitz domain), 아비머(avimer), 노턴(knottin), 피노머(fynomer), 아트리머(atrimer), DARPin, 아파보디(affibody), 나노보디(nanobody)(즉, 단일-도메인 항체(sdAb)) 아필린, 아르마딜로 반복 단백질(ArmRP), OBody 또는 피브로넥틴을 포함하거나 이로 이루어진다(예컨대, 이의 전문이 본원에 참고로 포함된 Reverdatto et al., Curr Top Med Chem. 2015; 15(12): 1082-1101에서 검토됨)(참고: 또한 예컨대, Boersma et al., J Biol Chem (2011) 286:41273-85 and Emanuel et al., Mabs (2011) 3:38-48).

[0300] 본 발명의 항원-결합 분자는 일반적으로 표적 항원에 특이적 결합할 수 있는 항체의 VH 및 VL을 포함하는 항원-결합 도메인을 포함한다. VH 및 VL에 의해 형성된 항원-결합 도메인은 또한 본원에서 Fv 영역으로서 지칭될 수 있다.

[0301] 항원-결합 분자는 항원-결합 폴리웨타이드, 또는 항원-결합 폴리웨타이드 복합체일 수 있거나, 또는 이를 포함할 수 있다. 항원-결합 분자는 항원-결합 도메인을 함께 형성하는 하나 이상의 폴리웨타이드를 포함할 수 있다. 폴리웨타이드는 공유결합적으로 또는 비-공유결합적으로 회합될 수 있다. 일부 구현예에서 폴리웨타이드는 폴리웨타이드(예컨대, VH 및 VL을 포함하는 scFv의 경우, 또는 VH-CH1 및 VL-CL을 포함하는 scFab의 경우)를 포함하는 보다 큰 폴리웨타이드의 부분을 형성한다.

[0302] 항원-결합 분자는 하나 이상의 폴리웨타이드(예컨대, 2, 3, 4, 6, 또는 8 폴리웨타이드)의 비-공유결합성 또는 공유결합성 복합체, 예컨대, 2개의 중쇄 폴리웨타이드 및 2개의 경쇄 폴리웨타이드를 포함하는 IgG-유사 항원-결합 분자를 지칭할 수 있다.

[0303] 본 발명의 항원-결합 분자는 CD47에 결합할 수 있는 모노클로날 항체(mAb)의 서열을 사용하여 설계되고 제조될 수 있다. 항체의 항원-결합 영역, 예를 들어, 단일 쇄 가변 단편(scFv), Fab 및 F(ab')₂ 단편이 또한 사용/제공될 수 있다. "항원-결합 영역"은 이에 대해 주어진 항체가 특이적인 표적에 결합할 수 있는 항체의 임의의 단편이다.

[0304] 항체는 일반적으로 6개의 상보성-결정 영역 CDR을 포함한다; 중쇄 가변(VH) 영역내 3개: HC-CDR1, HC-CDR2 및 HC-CDR3, 및 경쇄 가변(VL) 영역내 3개: LC-CDR1, LC-CDR2, 및 LC-CDR3. 6개의 CDR은 함께 항체의 파라토프(paratope)를 정의하며, 이는 표적 항원에 결합하는 항체의 부분이다.

[0305] VH 영역 및 VL 영역은 각각의 CDR의 어느 하나의 측면의 골격 영역(FR)을 포함하며, 이는 CDR에 대한 스캐폴드(scaffold)를 제공한다. N-말단으로부터 C-말단까지, VH 영역은 다음의 구조: N 말단- [HC-FR1]-[HC-CDR1]-[HC-FR2]-[HC-CDR2]-[HC-FR3]-[HC-CDR3]-[HC-FR4]-C 말단을 포함하고;

[0306] VL 영역은 다음의 구조: N 말단- [LC-FR1]-[LC-CDR1]-[LC-FR2]-[LC-CDR2]-[LC-FR3]-[LC-CDR3]-[LC-FR4]-C 말단을 포함한다.

[0307] 문헌(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991), Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)에 기술된 것과 같은, 항체 CDR 및 FR, 및 문헌(Retter et al., Nucl. Acids Res. (2005) 33 (suppl 1): D671-D674)에 기술된 바와 같은 항체 CDR 및 FR을 정의하는데 수개의 상이한 협약(convention)이 존재한다. 본원에 기술된 항체 클론의 VH 영역 및 VL 영역의 CDR 및 FR은 국제 IMGT(ImMunoGeneTics) 정보 시스템(LeFranc et al., Nucleic Res. (2015) 43(데이터베이스 쟁점):D413-22)에 따라 정의되었으며, 이는 문헌(Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol. (2003) 27:55-77)에 기술된 바와 같은 IMGT V-DOMAIN 번호매김 규칙을 사용한다.

[0308] 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 분자의 CDR을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 분자의 FR을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 분자의 CDR 및 FR을 포함한다. 즉, 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 분자의 VH 영역 및 VL 영역을 포함한다.

[0309] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 본원에 기술된 CD47-결합 항체 클론(즉, 항-CD47 항체 클론 1-1-A1_BM, 1-1-A1, 5-48-A6, 5-48-D2, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10 또는 11A1H1)의 VH/VL 영역인, 또는 이로부터 유래된 VH 영역 및 VL 영역을 포함한다.

[0310] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 하기 (1) 내지 (4) 중 하나에 따른 VH 영역을 포함한다:

- [0311] (1) 다음의 CDR:
- [0312] 서열 번호 24의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0313] 서열 번호 25의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0314] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0315] (2) 다음의 CDR:
- [0316] 서열 번호 50의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0317] 서열 번호 51의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0318] 서열 번호 52의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0319] (3) 다음의 CDR:
- [0320] 서열 번호 66의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0321] 서열 번호 67의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0322] 서열 번호 68의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0323] (4) 다음의 CDR:
- [0324] 서열 번호 169의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0325] 서열 번호 170의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0326] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0327] (5) 다음의 CDR:
- [0328] 서열 번호 137의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR1
- [0329] 서열 번호 138의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR2
- [0330] 서열 번호 26의 아미노산 서열을 갖는 HC-CDR3을 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-CDR1, HC-CDR2, 또는 HC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0331] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 하기 (6) 내지 (15) 중 하나에 따른 VH 영역을 포함한다:
- [0332] (6) 다음의 FR:
- [0333] 서열 번호 27의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR1
- [0334] 서열 번호 28의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR2
- [0335] 서열 번호 29의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR3
- [0336] 서열 번호 30의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR4를 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-FR1, HC-FR2, HC-FR3, 또는 HC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0337] (7) 다음의 FR:
- [0338] 서열 번호 40의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR1
- [0339] 서열 번호 41의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR2
- [0340] 서열 번호 42의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR3
- [0341] 서열 번호 43의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR4를 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-FR1, HC-FR2, HC-FR3, 또는 HC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).

- [0342] (8) 다음의 FR:
- [0343] 서열 번호 53의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR1
- [0344] 서열 번호 54의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR2
- [0345] 서열 번호 55의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR3
- [0346] 서열 번호 56의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR4를 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-FR1, HC-FR2, HC-FR3, 또는 HC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0347] (9) 다음의 FR:
- [0348] 서열 번호 69의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR1
- [0349] 서열 번호 70의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR2
- [0350] 서열 번호 71의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR3
- [0351] 서열 번호 72의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR4를 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-FR1, HC-FR2, HC-FR3, 또는 HC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0352] (10) 다음의 FR:
- [0353] 서열 번호 143의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR1
- [0354] 서열 번호 174의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR2
- [0355] 서열 번호 175의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR3
- [0356] 서열 번호 176의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR4를 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-FR1, HC-FR2, HC-FR3, 또는 HC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0357] (11) 다음의 FR:
- [0358] 서열 번호 143의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR1
- [0359] 서열 번호 144의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR2
- [0360] 서열 번호 147의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR3
- [0361] 서열 번호 152의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR4를 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-FR1, HC-FR2, HC-FR3, 또는 HC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0362] (12) 다음의 FR:
- [0363] 서열 번호 143의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR1
- [0364] 서열 번호 144의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR2
- [0365] 서열 번호 148의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR3
- [0366] 서열 번호 152의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR4를 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-FR1, HC-FR2, HC-FR3, 또는 HC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0367] (13) 다음의 FR:
- [0368] 서열 번호 143의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR1
- [0369] 서열 번호 145의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR2
- [0370] 서열 번호 149의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR3
- [0371] 서열 번호 153의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR4를 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-FR1, HC-FR2, HC-FR3, 또는 HC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0372] (14) 다음의 FR:

- [0373] 서열 번호 143의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR1
- [0374] 서열 번호 146의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR2
- [0375] 서열 번호 150의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR3
- [0376] 서열 번호 153의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR4를 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-FR1, HC-FR2, HC-FR3, 또는 HC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0377] (15) 다음의 FR:
- [0378] 서열 번호 143의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR1
- [0379] 서열 번호 146의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR2
- [0380] 서열 번호 151의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR3
- [0381] 서열 번호 152의 아미노산 서열을 갖는 HC-FR4를 포함하는 VH 영역, 또는 이의 변이체(여기서 HC-FR1, HC-FR2, HC-FR3, 또는 HC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0382] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 상기 (1), (2), (3), (4) 또는 (5) 중 하나에 따른 CDR, 및 상기 (5), (6), (7), (8), (9), (10), (11), (12), (13), (14) 또는 (15) 중 하나에 따른 FR을 포함하는 VH 영역을 포함한다.
- [0383] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 하기 (16) 내지 (25) 중 하나에 따른 VH 영역을 포함한다:
- [0384] (16) (1)에 따른 CDR 및 (6)에 따른 FR을 포함하는 VH 영역.
- [0385] (17) (1)에 따른 CDR 및 (7)에 따른 FR을 포함하는 VH 영역.
- [0386] (18) (2)에 따른 CDR 및 (8)에 따른 FR을 포함하는 VH 영역.
- [0387] (19) (3)에 따른 CDR 및 (9)에 따른 FR을 포함하는 VH 영역.
- [0388] (20) (4)에 따른 CDR 및 (10)에 따른 FR을 포함하는 VH 영역.
- [0389] (21) (1)에 따른 CDR 및 (11)에 따른 FR을 포함하는 VH 영역.
- [0390] (22) (1)에 따른 CDR 및 (12)에 따른 FR을 포함하는 VH 영역.
- [0391] (23) (1)에 따른 CDR 및 (13)에 따른 FR을 포함하는 VH 영역.
- [0392] (24) (1)에 따른 CDR 및 (14)에 따른 FR을 포함하는 VH 영역.
- [0393] (25) (5)에 따른 CDR 및 (15)에 따른 FR을 포함하는 VH 영역.
- [0394] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 하기 (26) 내지 (34) 중 하나에 따른 VH 영역을 포함한다:
- [0395] (26) 서열 번호 23의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역.
- [0396] (27) 서열 번호 39의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역.
- [0397] (28) 서열 번호 49의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역.
- [0398] (29) 서열 번호 65의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역.
- [0399] (31) 서열 번호 178의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동

일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역.

[0400] (31) 서열 번호 127의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역.

[0401] (32) 서열 번호 129의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역.

[0402] (33) 서열 번호 130의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역.

[0403] (34) 서열 번호 131의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역.

[0404] (35) 서열 번호 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역.

[0405] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 하기 (36) 내지 (43) 중 하나에 따른 VL 영역을 포함한다:

[0406] (36) 다음의 CDR:

[0407] 서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

[0408] 서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

[0409] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).

[0410] (37) 다음의 CDR:

[0411] 서열 번호 58의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

[0412] 서열 번호 59의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

[0413] 서열 번호 60의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).

[0414] (38) 다음의 CDR:

[0415] 서열 번호 74의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

[0416] 서열 번호 75의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

[0417] 서열 번호 76의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).

[0418] (39) 다음의 CDR:

[0419] 서열 번호 171의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

[0420] 서열 번호 172의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

[0421] 서열 번호 173의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).

[0422] (40) 다음의 CDR:

[0423] 서열 번호 139의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1

[0424] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2

- [0425] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0426] (41) 다음의 CDR:
- [0427] 서열 번호 140의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0428] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0429] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0430] (42) 다음의 CDR:
- [0431] 서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0432] 서열 번호 141의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0433] 서열 번호 34의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0434] (43) 다음의 CDR:
- [0435] 서열 번호 32의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR1
- [0436] 서열 번호 33의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR2
- [0437] 서열 번호 142의 아미노산 서열을 갖는 LC-CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는 이의 변이체(여기서 LC-CDR1, LC-CDR2 또는 LC-CDR3 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0438] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 하기 (44) 내지 (50) 중 하나에 따른 VL 영역을 포함한다:
- [0439] (44) 다음의 FR:
- [0440] 서열 번호 35의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR1
- [0441] 서열 번호 36의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR2
- [0442] 서열 번호 37의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR3
- [0443] 서열 번호 38의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR4를 포함하는 VL 영역, 또는 이의 변이체(여기서 LC-FR1, LC-FR2, LC-FR3, 또는 LC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0444] (45) 다음의 FR:
- [0445] 서열 번호 45의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR1
- [0446] 서열 번호 46의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR2
- [0447] 서열 번호 47의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR3
- [0448] 서열 번호 48의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR4를 포함하는 VL 영역, 또는 이의 변이체(여기서 LC-FR1, LC-FR2, LC-FR3, 또는 LC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0449] (46) 다음의 FR:
- [0450] 서열 번호 61의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR1
- [0451] 서열 번호 62의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR2
- [0452] 서열 번호 63의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR3
- [0453] 서열 번호 64의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR4를 포함하는 VL 영역, 또는 이의 변이체(여기서 LC-FR1, LC-FR2, LC-FR3, 또는 LC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0454] (47) 다음의 FR:
- [0455] 서열 번호 77의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR1

- [0456] 서열 번호 78의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR2
- [0457] 서열 번호 79의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR3
- [0458] 서열 번호 80의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR4를 포함하는 VL 영역, 또는 이의 변이체(여기서 LC-FR1, LC-FR2, LC-FR3, 또는 LC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0459] (48) 다음의 FR:
- [0460] 서열 번호 154의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR1
- [0461] 서열 번호 155의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR2
- [0462] 서열 번호 177의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR3
- [0463] 서열 번호 158의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR4를 포함하는 VL 영역, 또는 이의 변이체(여기서 LC-FR1, LC-FR2, LC-FR3, 또는 LC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0464] (49) 다음의 FR:
- [0465] 서열 번호 154의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR1
- [0466] 서열 번호 155의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR2
- [0467] 서열 번호 156의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR3
- [0468] 서열 번호 158의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR4를 포함하는 VL 영역, 또는 이의 변이체(여기서 LC-FR1, LC-FR2, LC-FR3, 또는 LC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0469] (50) 다음의 FR:
- [0470] 서열 번호 154의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR1
- [0471] 서열 번호 155의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR2
- [0472] 서열 번호 157의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR3
- [0473] 서열 번호 158의 아미노산 서열을 갖는 LC-FR4를 포함하는 VL 영역, 또는 이의 변이체(여기서 LC-FR1, LC-FR2, LC-FR3, 또는 LC-FR4 중 하나 이상에서 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환된다).
- [0474] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 상기 (36), (37), (38), (39), (40), (41), (42) 또는 (43) 중 하나에 따른 CDR, 및 상기 (44), (45), (46), (47), (48), (49) 또는 (50) 중 하나에 따른 FR을 포함하는 VL 영역을 포함한다.
- [0475] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 하기 (51) 내지 (60) 중 하나에 따른 VL 영역을 포함한다:
- [0476] (51) (36)에 따른 CDR 및 (43)에 따른 FR을 포함하는 VL 영역.
- [0477] (52) (36)에 따른 CDR 및 (44)에 따른 FR을 포함하는 VL 영역.
- [0478] (53) (37)에 따른 VL 영역 및 (45)에 따른 FR을 포함하는 VL 영역.
- [0479] (54) (38)에 따른 CDR 및 (46)에 따른 FR을 포함하는 VL 영역.
- [0480] (55) (39)에 따른 CDR 및 (48)에 따른 FR을 포함하는 VL 영역.
- [0481] (56) (36)에 따른 CDR 및 (49)에 따른 FR을 포함하는 VL 영역.
- [0482] (57) (40)에 따른 CDR 및 (50)에 따른 FR을 포함하는 VL 영역.
- [0483] (58) (41)에 따른 CDR 및 (50)에 따른 FR을 포함하는 VL 영역.
- [0484] (59) (42)에 따른 CDR 및 (50)에 따른 FR을 포함하는 VL 영역.
- [0485] (60) (43)에 따른 CDR 및 (49)에 따른 FR을 포함하는 VL 영역.
- [0486] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 하기 (61) 내지 (70)에 따른 VL 영역을 포함한다:
- [0487] (61) 서열 번호 31의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%,

86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역.

[0488] (62) 서열 번호 44의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역.

[0489] (63) 서열 번호 57의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역.

[0490] (64) 서열 번호 73의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역.

[0491] (65) 서열 번호 179의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역.

[0492] (66) 서열 번호 128의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역.

[0493] (67) 서열 번호 133의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역.

[0494] (68) 서열 번호 134의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역.

[0495] (69) 서열 번호 135의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역.

[0496] (70) 서열 번호 136의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역.

[0497] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 상기 (1) 내지 (35) 중 어느 하나에 따른 VH 영역, 및 상기 (36) 내지 (70) 중 어느 하나에 따른 VL 영역을 포함한다.

[0498] 하나 이상의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환되는 본 발명에 따른 구현예에서, 치환은 예를 들면, 다음 표에 따른 보존적 치환일 수 있다. 일부 구현예에서, 중간 컬럼내 동일한 블록 내의 아미노산은 치환된다. 일부 구현예에서, 가장 우측 컬럼의 동일한 라인 내의 아미노산은 치환된다:

지방족	비-극성	G A P I L V
	극성 - 하전되지 않음	C S T M N Q
	극성 – 하전됨	D E K R
방향족		H F W Y

[0499]

[0500] 일부 구현예에서, 치환(들)은 기능적으로 보존적일 수 있다. 즉, 일부 구현예에서 치환은 등가의 비치환된 분자와 비교하여 치환을 포함하는 항원-결합 분자의 하나 이상의 기능적 특성(예컨대, 표적 결합)에 영향을 미치지 않을 수 있다(또는 실질적으로 영향을 미치지 않을 수 있다).

[0501]

항체의 항원-결합 영역의 VH 및 VL 영역은 함께 Fv 영역을 구성한다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 항원-결합 분자는 CD47에 결합하는 Fv 영역을 포함하거나, 이로 이루어진다. 일부 구현예에서 Fv의 VH 및 VL 영역은 링

커 영역(linker region), 즉, 단일 쇄 Fv(scFv)에 의해 결합된 단일 폴리펩타이드로서 제공된다.

[0502] 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자는 면역글로불린 중쇄 불변 서열 중 하나 이상의 영역을 포함한다. 일부 구현예에서 면역글로불린 중쇄 불변 서열은 IgG(예컨대, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA(예컨대, IgA1, IgA2), IgD, IgE 또는 IgM의 중쇄 불변 서열이거나, 이로부터 유도된다.

[0503] 일부 구현예에서 면역글로불린 중쇄 불변 서열은 사람 면역글로불린 G 1 불변(IGHG1; UniProt: P01857-1, v1; 서열 번호 118)이다. 서열 번호 118의 1번 내지 98번 위치는 CH1 영역(서열 번호 119)을 형성한다. 서열 번호 118의 99번 내지 110번 위치는 CH1 영역과 CH2 영역 사이에 힌지 영역(서열 번호 120)을 형성한다. 서열 번호 118의 111번 내지 223번 위치는 CH2 영역(서열 번호 121)을 형성한다. 서열 번호 118의 224번 내지 330번 위치는 CH3 영역(서열 번호 122)을 형성한다.

[0504] 예시된 항원-결합 분자는 pFUSE-CHIg-hG1을 사용하여 제조되었으며, 이는 서열 번호 118에 대해 CH3 영역내에 치환 D356E, L358M (EU 번호매김에 따라 번호매김된 위치)을 포함한다. pFUSE-CHIg-hG1에 의해 암호화된 CH3 영역의 아미노산 서열은 서열 번호 123에 나타낸다. CH3 영역은 본원에 기술된 바와 같은 항원-결합 분자의 Fc 영역에 대한 변형에 따라서 추가의 치환으로 제공될 수 있음을 인식할 것이다.

[0505] 일부 구현예에서 CH1 영역은 서열 번호 119의 서열, 또는 서열 번호 119의 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 바람직하게는 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서 CH1-CH2 힌지(hinge) 영역은 서열 번호 120의 서열, 또는 서열 번호 120의 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 바람직하게는 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서 CH2 영역은 서열 번호 121의 서열, 또는 서열 번호 121의 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 바람직하게는 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서 CH3 영역은 서열 번호 122 또는 123의 서열, 또는 서열 번호 122 또는 123의 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 바람직하게는 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이로 이루어진다.

[0506] 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자는 면역글로불린 경쇄 불변 서열의 하나 이상의 영역을 포함한다. 일부 구현예에서 면역글로불린 경쇄 불변 서열은 사람 면역글로불린 카파 불변(IGKC; C κ ; UniProt: P01834-1, v2; 서열 번호 124)이다. 일부 구현예에서 면역글로불린 경쇄 불변 서열은 사람 면역글로불린 람다 불변(IGLC; C λ), 예컨대, IGLC1, IGLC2, IGLC3, IGLC6 또는 IGLC7이다. 일부 구현예에서 CL 영역은 서열 번호 124의 서열, 또는 서열 번호 124의 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 바람직하게는 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나, 이로 이루어진다.

[0507] 항체의 항원-결합 영역의 VL 및 경쇄 불변(CL) 영역, 및 VH 영역 및 중쇄 불변 1(CH1) 영역은 함께 Fab 영역을 구성한다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 VH, CH1, VL 및 CL(예컨대, C κ 또는 C λ)을 포함하는 Fab 영역을 포함한다. 일부 구현예에서 Fab 영역은 VH 및 CH1을 포함하는 폴리펩타이드(예컨대, VH-CH1 융합 폴리펩타이드), 및 VL 및 CL(예컨대, VL-CL 융합 폴리펩타이드)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서 Fab 영역은 VH 및 CL을 포함하는 폴리펩타이드(예컨대, VH-CL 융합 폴리펩타이드) 및 VL 및 CH를 포함하는 폴리펩타이드(예컨대, VL-CH1 융합 폴리펩타이드)를 포함하는데; 즉, 일부 구현예에서 Fab 영역은 CrossFab 영역이다. 일부 구현예에서 Fab 또는 CrossFab의 VH, CH1, VL 및 CL 영역은 링커 영역에 의해 결합된 단일 폴리펩타이드로서, 즉, 단일 쇄 Fab(scFab) 또는 단일 쇄 CrossFab(scCrossFab)로서 제공된다.

[0508] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 CD47에 결합하는 Fab 영역을 포함하거나, 이로 이루어진다.

[0509] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항원-결합 분자는 CD47에 결합하는 전체 항체를 포함하거나, 이로 이루어진다. 본원에 사용된 바와 같은, "전체 항체"는 면역글로불린(Ig)의 구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖는 항체를 지칭한다. 상이한 종류의 면역글로불린 및 이의 구조는 예컨대, 문헌: Schroeder and Cavacini J Allergy Clin Immunol. (2010) 125(202): S41-S52에 기술되어 있으며, 이는 이의 전문이 본원에 참고로 포함된다.

[0510] G형의 면역글로불린(즉, IgG)은 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 포함하는 ~150 kDa 당단백질이다. N-말단으로부터 C-말단까지, 중쇄는 VH에 이어서 3개의 불변 도메인(CH1, CH2, 및 CH3)을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함하고, 유사하게 경쇄는 VL에 이어서 CL을 포함한다. 중쇄에 따라서, 면역글로불린은 IgG(예컨대, IgG1, IgG2, IgG3,

IgG4), IgA(예컨대, IgA1, IgA2), IgD, IgE, 또는 IgM로서 분류될 수 있다. 경쇄는 카파(κ) 또는 람다(λ)일 수 있다.

[0511] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항원-결합 분자는 CD47에 결합하는 IgG(예컨대, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA(예컨대, IgA1, IgA2), IgD, IgE, 또는 IgM을 포함하거나, 이로 이루어진다.

[0512] 본 발명의 양태는 다투이적 항원-결합 분자에 관한 것이다. "다특이적"이라는 것은, 항원-결합 분자가 하나 이상의 표적에 대한 특이적인 결합을 나타낸을 의미한다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 이특이적 항원-결합 분자이다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 적어도 2개의 상이한 항원-결합 도메인(즉, 예컨대, 동일하지 않은 VH 및 VL을 포함하는 적어도 2개의 항원-결합 도메인)을 포함한다.

[0513] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47 및 CD47 이외의 항원에 결합하므로, 적어도 이특이적이다. 용어 "이특이적"은 항원-결합 분자가 적어도 2개의 명확한 항원성 결정인자에 특이적으로 결합할 수 있음을 의미한다.

[0514] 본 발명에 따른 항원-결합 분자(예컨대, 다투이적 항원-결합 분자)는 이에 대해 항원-결합 분자가 특이적인 표적에 결합할 수 있는 항원-결합 분자를 포함할 수 있다. 예를 들면, CD47 및 CD47 이외의 항원에 결합할 수 있는 항원-결합 분자는: (i) CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 분자, 및 (ii) CD47 이외의 항원에 결합할 수 있는 항원-결합 분자를 포함한다. 예로써, CD47 및 CD47 이외의 항원에 결합할 수 있는 항원-결합 분자는 (i) CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 분자(예컨대, CD47-결합 Fab 또는 scFv), 및 (ii) CD47 이외의 항원에 결합할 수 있는 항원-결합 분자(예컨대, CD47 이외의 항원에 대해 특이적인 Fab 또는 scFv)를 포함할 수 있다.

[0515] 본 발명에 따른 항원-결합 분자(예컨대, 다투이적 항원-결합 분자)는 이에 대해 항원-결합 분자가 특이적인 표적에 결합할 수 있는 항원-결합 폴리펩타이드 또는 항원-결합 폴리펩타이드 복합체를 포함할 수 있다.

[0516] 일부 구현예에서, 보다 큰 항원-결합 분자(예컨대, 다투이적 항원-결합 분자)의 구성성분 항원-결합 분자는 보다 큰 항원-결합 분자의 "항원-결합 도메인" 또는 "항원-결합 영역"으로 지칭될 수 있다.

[0517] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 분자, 및 CD47 이외의 항원에 결합할 수 있는 항원-결합 분자를 포함한다. 일부 구현예에서, CD47 이외의 항원은 면역 세포 표면 분자이다. 일부 구현예에서, CD47 이외의 항원은 암 세포 항원이다. 일부 구현예에서 CD47 이외의 항원은 수용체 분자, 예컨대, 세포 표면 수용체이다. 일부 구현예에서 CD47 이외의 항원은 세포 신호전달 분자, 예컨대, 사이토킨, 케모킨, 인터페론, 인터루킨 또는 림포킨이다. 일부 구현예에서 CD47 이외의 항원은 성장 인자 또는 호르몬이다.

[0518] 암 세포 항원은 암 세포에 의해 발현되거나 과-발현된 항원이다. 암 세포 항원은 암 세포에 의해 발현되거나 과-발현된 항원이다. 암 세포 항원은 임의의 펩타이드/폴리펩타이드, 당단백질, 지단백질, 글리칸, 당지질, 지질, 또는 이의 단편일 수 있다. 암 세포 항원의 발현은 암과 관련될 수 있다. 암 세포 항원은 암 세포에 의해 비정상적으로 발현될 수 있거나(예컨대, 암 세포 항원은 비정상적인 국재화로 발현될 수 있다), 암 세포에 의해 비정상적인 구조로 발현될 수 있다. 암 세포 항원은 면역 반응을 유발할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원은 암 세포의 세포 표면에서 발현된다(즉, 암 세포 항원은 암 세포 표면 항원이다). 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항원-결합 분자에 의해 결합되는 항원의 부분이 암 세포의 외부 표면(즉, 세포외) 상에 나타난다. 암 세포 항원은 암-관련된 항원일 수 있다. 일부 구현예에서 암 세포 항원은 이의 발현이 암의 증상의 발달, 진행 또는 중증도와 관련된 항원이다. 암-관련된 항원은 암의 원인 또는 병리학과 관련될 수 있거나, 암의 결과로서 비정상적으로 발현될 수 있다. 일부 구현예에서, 암 세포 항원은 이의 발현이 예컨대, 비교가능한 비-암성 세포(예컨대, 동일한 조직/세포형으로부터 유래된 비-암성 세포)에 의한 이의 발현 수준과 비교하여, 암의 세포에 의해 상향 조절된(예컨대, RNA 및/또는 단백질 수준에서) 항원이다. 일부 구현예에서, 암-관련된 항원은 암성 세포에 의해 우선적으로 발현될 수 있고, 비교가능한 비-암성 세포(예컨대, 동일한 조직/세포형으로부터 유래된 비-암성 세포)에 의해 발현되지 않는다. 일부 구현예에서, 암-관련된 항원은 돌연변이된 종양유전자 또는 돌연변이된 종양 억제인자 유전자의 생성물일 수 있다. 일부 구현예에서, 암-관련된 항원은 과발현된 세포 단백질의 생성물, 종양유전자성 바이러스에 의해 생산된 암 항원, 종양태아성 항원(oncofetal antigen), 또는 세포 표면 당지질 또는 당단백질일 수 있다.

[0519] 면역 세포 표면 분자는 면역 세포의 세포 표면에서 또는 위에 발현된 임의의 펩타이드/폴리펩타이드, 당단백질, 지단백질, 글리칸, 당지질, 지질, 또는 이의 단편일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자에 의해 결합된 면역 세포 표면 분자의 부분은 면역 세포의 외부 표면 상에 있다(즉, 세포외이다). 면역 세포 표면 분자는 임의의 면역 세포의 세포 표면에서 발현될 수 있다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 조혈 기원의 세포, 예컨대, 호중구, 호산구, 호염기구, 수지 세포, 림프구, 또는 단핵구일 수 있다. 림프구는 예컨대, T 세포, B

세포, 천연 킬러(NK) 세포, NKT 세포 또는 선천성 램프구 세포(ILC), 또는 이의 전구체(예컨대, 흥선 세포 또는 프레(pre)-B 세포)일 수 있다.

[0520] 일부 구현예에서 CD47 이외의 항원은 혈액 암, 골수 혈액 암, 램프아구 혈액암, 골수이형성 증후군(MDS), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 골수성 백혈병, 급성 램프모구 백혈병(ALL), 비-호지킨 램프종(non-Hodgkin's lymphoma), 다발 골수종, 방광암 또는 뇌암의 세포에 의해 발현된 항원이다.

[0521] 일부 구현예에서 CD47 이외의 항원은 예컨대, 문헌(Hoseini and Cheung Blood Cancer J. (2017) 7(2):e522, 이는 이의 전문이 본원에 참고로 포함된다)에 기술된 바와 같이, AML의 세포에 의해 발현된 항원이다. 일부 구현예에서 CD47 이외의 항원은: CD33, CD123, 월름스 종양 단백질(Wilms' tumor protein: WT1), CD13, CD15, CD30, CD45, C-형 렉틴-유사 분자 1(CLL1), Fms-유사 타이로신 키나제 3(FLT-3), VEGF 및 안지오포이에틴-2(Ang-2)로부터 선택된다. 일부 구현예에서 CD47 이외의 항원은 CD33이다.

[0522] 본원에 기술된 다특이적 항원-결합 분자는 CD47과 관련하여 적어도 1가 결합을 나타내며, 또한 CD47 이외의 항원과 관련하여 적어도 1가 결합을 나타낸다.

[0523] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 영역(예컨대, Fv, Fab 또는 항체), 및 CD47 이외의 항원에 결합할 수 있는 항원-결합 영역(예컨대, Fv, Fab 또는 항체)을 나타낸다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47에 결합할 수 있는 항체의 VH 및 VL, 및 CD47 이외의 항원에 결합할 수 있는 항체의 VH 및 VL을 나타낸다.

[0524] 결합 원자가는 주어진 항원성 결정인자에 대한 항원-결합 분자내 결합 부위의 수를 지칭한다. 예를 들면, 본원에 기술된 IgG1 양식에서, 항-CD47 항체는 CD47에 대한 결합과 관련하여 2가이다.

[0525] 본 발명에 따른 다특이적 항원-결합 분자는 문헌(Brinkmann and Kontermann MAbs (2017) 9(2): 182-212, 이는 이의 전문이 본원에 참고로 포함된다)에 기술된 양식과 같은, 임의의 적합한 양식으로 제공될 수 있다. 적합한 양식은 문헌(Brinkmann and Kontermann MAbs (2017) 9(2): 182-212)의 도 2에 나타낸 것: 항체 접합체(conjugate), 예컨대, IgG₂, F(ab')₂ 또는 CovX-보디(Body); IgG 또는 IgG-유사 분자, 예컨대, IgG, 키메라 IgG, κ λ-보디 일반적인 HC; CH1/CL 융합 단백질, 예컨대, scFv₂-CH₁/CL, VHH₂-CH1/CL; '가변 도메인 단독' 이 특이적인 항원-결합 분자, 예컨대, 탄뎀(tandem) scFv(taFV), 트리플보디(triplebody), 디아보디(diabody: Db), dsDb, Db(kih), DART, scDB, dsFv-dsFv, tandAbs, 삼중 헤드(triple head), 탄뎀 dAb/VHH, 4가(tertravalent) dAb.VHH; 비-Ig 융합 단백질, 예컨대, scFv2-알부민, scDb-알부민, taFv-알부민, taFv-독소, 미니항체, DNL-Fab₂, DNL-Fab₂-scFv, DNL-Fab₂-IgG-사이토킨₂, ImmTAC(TCR-scFv); 변형된 Fc 및 CH3 융합 단백질, 예컨대, scFv-Fc(kih), scFv-Fc(CH3 전하 쌍), scFv-Fc(EW-RVT), scFv-fc(HA-TF), scFv-Fc(SEED보디), taFv-Fc(kih), scFv-Fc(kih)-Fv, Fab-Fc(kih)-scFv, Fab-scFv-Fc(kih), Fab-scFv-Fc(BEAT), Fab-scFv-Fc(SEED보디), DART-Fc, scFv-CH3(kih), TriFab; Fc 융합체, 예컨대, 디-디아보디(Di-diabody), scDb-Fc, taFv-Fc, scFv-Fc-scFv, HCAb-VHH, Fab-scFv-Fc, scFv4-Ig, scFv2-Fcab; CH₃ 융합체, 예컨대, 디아-디아보디(Dia-diabody), scDb-CH3; IgE/IgM CH₂ 융합체, 예컨대, scFv-EHD2-scFv, scFvMHD2-scFv; Fab 융합 단백질, 예컨대, Fab-scFv(비보디(bibody)), Fab-scFv₂(트리보디), Fab-Fv, Fab-dsFv, Fab-VHH, 직교(orthogonal) Fab-Fab; 비-Ig 융합 단백질, 예컨대, DNL-Fab₃, DNL-Fab₂-scFv, DNL-Fab₂-IgG-사이토킨₂; 비대칭 IgG 또는 IgG-유사 분자, 예컨대, IgG(kih), IgG(kih) 일반적인 LC, ZW1 IgG 일반적인 LC, 비클로닉스(Biclonics) 일반적인 LC, CrossMab, CrossMab(kih), scFab-IgG(kih), Fab-scFab-IgG(kih), 직교의 Fab IgG(kih), DuetMab, CH3 전하 쌍 + CH1/CL 전하 쌍, 헌지(hinge)/CH₃ 전하 쌍, SEED-보디, 두오보디(Duobody), 포-인-원(four-in-one)-CrossMab(kih), LUZ-Y 일반적인 LC; LUZ-Y scFab-IgG, FcFc^{*}; 첨부되고(appended) Fc-변형된 IgG, 예컨대, IgG(kih)-Fv, IgG HA-TF-Fv, IgG(kih)scFab, scFab-Fc(kih)-scFv₂, scFab-Fc(kih)-scFv, 하프(half) DVD-Ig, DVI-Ig(포-인-원), CrossMab-Fab; 변형된 Fc 및 CH₃ 융합 단백질, 예컨대, Fab-Fc(kih)-scFv, Fab-scFv-Fc(kih), Fab-scFv-Fc(BEAT), Fab-scFv-Fc-SEED보디, TriFab; 첨부된 IgG-HC 융합체, 예컨대, IgG-HC, scFv, IgG-dAb, IgG-taFV, IgG-CrossFab, IgG-직교의 Fab, IgG-(CαCβ) Fab, scFv-HC-IgG, 탄뎀 Fab-IgG(직교의 Fab) Fab-IgG(CαCβ Fab), Fab-IgG(CR3), Fab-헌지-IgG(CR3); 첨부된 IgG-LC 융합체, 예컨대, IgG-scFv(LC), scFv(LC)-IgG, dAb-IgG; 첨부된 IgG-HC 및 LC 융합체, 예컨대, DVD-Ig, TVD-Ig, CODV-Ig, scFv4-IgG, 지보디(Zybody); Fc 융합체, 예컨대, Fab-scFv-Fc, scFv4-Ig; F(ab')₂ 융합체, 예컨대, F(ab')₂-scFv₂; CH₁/CL 융합

단백질, 예컨대, scFv2-CH1-힌지/CL; 변형된 IgG, 예컨대, DAF(투-인-원(two-in one)-IgG), Dutamab, Mab₂; 및 비-Ig 융합체, 예컨대, DNL-Fab₄-IgG을 포함한다.

[0526] 기술자는 이특이적인 항원-결합 분자를 설계하여 제조할 수 있다. 이특이적 항원-결합 분자를 생산하는 방법은 항원-결합 분자 또는 항체 단편을, 예를 들면, 문헌(Segal and Bast, 2001. Production of Bispecific Antigen-binding molecules. Current Protocols in Immunology. 14:IV:2.13:2.13.1-2.13.16, 이는 이의 전문이 본원에 참고로 포함된다)에 기술된 바와 같이, 예를 들면, 환원성 이황화물 또는 비-환원성 티오에테르 결합과 화학적으로 가교결합시킴을 포함한다. 예를 들면, N-석신이미딜-3-(2-페리딜디티오)-프로페오네이트(SPDP)를 사용하여, 예컨대, 힌지 영역 SH-그룹을 통해 Fab 단편을 화학적으로 가교결합시켜 이황화물-연결된 이특이적 F(ab)₂ 이종이량체를 생성할 수 있다.

[0527] 이특이적 항원-결합 분자를 생산하는 다른 방법은 항체-생산 하이브리도마를 예컨대, 폴리에틸렌 글리콜과 융합시켜 예를 들면, 문헌(D. M. and Bast, B. J. 2001. Production of Bispecific Antigen-binding molecules. Current Protocols in Immunology. 14:IV:2.13:2.13.1-2.13.16)에 기술된 바와 같은 이특이적 항체를 분비할 수 있는 사량체 세포(quadroma cell)를 생산함을 포함한다.

[0528] 본 발명에 따른 이특이적 항원-결합 분자는 또한 예를 들면, 문헌(Antibody Engineering: Methods and Protocols, Second Edition (Humana Press, 2012), at Chapter 40: Production of Bispecific Antigen-binding molecules: Diabodies and Tandem scFv(Hornig and Farber-Schwarz), 또는 French, How to make bispecific antigen-binding molecules, Methods Mol. Med. 2000; 40:333-339, 이들 둘 다의 전체 내용은 본원에 참고로 포함된다)에 기술된 바와 같이, 항원-결합 분자에 대한 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 작제물(construct)로부터의 발현에 의해 재조합적으로 생산될 수 있다.

[0529] 예를 들면, 2개의 항원-결합 단편에 대한 경쇄 및 중쇄 가변 도메인(즉, CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 단편에 대한 경쇄 및 중쇄 가변 도메인, 및 다른 표적 단백질에 결합할 수 있는 항원-결합 단편에 대한 경쇄 및 중쇄 가변 도메인)을 암호화하고, 항원-결합 단편 사이에 적합한 링커 또는 이량체화 도메인을 암호화하는 서열을 포함하는 DNA 작제물은 문자 클로닝 기술에 의해 제조할 수 있다. 재조합 이특이적인 항체는 이후 적합한 숙주세포(예컨대, 포유동물 숙주 세포) 내에서 작제물의 발현(예컨대, 시험관내)에 의해 생산될 수 있으며, 발현된 재조합 이특이적인 항체는 이후 임의로 정제될 수 있다.

Fc 영역

[0531] 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자는 Fc 영역을 포함한다.

[0532] Fc 영역은 하나의 폴리펩타이드로부터의 CH2 및 CH3 영역, 및 다른 폴리펩타이드로부터의 CH2 및 CH3 영역으로 구성된다. 2개의 폴리펩타이드로부터의 CH2 및 CH3 영역은 함께 Fc 영역을 형성한다.

[0533] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 Fc 영역의 회합을 촉진하는 CH2 및 CH3 영역 중 하나 이상에서의 변형을 포함하는 Fc 영역을 포함한다. 항원-결합 분자의 구성성분 폴리펩타이드의 재조합 공-발현 및 후속적인 회합은 수개의 가능한 조합으로 이끈다. 재조합체 생산시 항원-결합 분자내 폴리펩타이드의 목적한 조합의 수율을 개선시키기 위해, 중쇄 폴리펩타이드의 목적한 조합의 회합을 촉진시키는 변형(들)을 Fc 영역 내에 도입하는 것이 유리하다. 변형은 예컨대, 상이한 폴리펩타이드 쇄의 CH2 및/또는 CH3 영역 사이에 소수성 및/또는 정전기적 상호작용을 촉진할 수 있다. 적합한 변형은 예컨대, 문헌(Ha et al., Front. Immunol (2016) 7:394)에 기술되어 있으며, 이는 이의 전문이 본원에 참고로 포함된다.

[0534] 일부 구현예에서 본 발명의 항원 항원-결합 분자는 문헌(Ha et al., Front. Immunol (2016) 7:394: KiH, KiHs-s, HA-TF, ZW1, 7.8.60, DD-KK, EW-RVT, EW-RVTs-s, SEED 또는 A107)의 표 1에 나타낸 바와 같이, 다음의 양식 중 하나에 따라 Fc 영역의 CH3 영역내 쌍을 이룬 치환을 포함하는 Fc 영역을 포함한다.

[0535] 일부 구현예에서, Fc 영역은 예컨대, 문헌(US 7,695,936 및 Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001))에 기술된 바와 같은, "놉-인투-홀(knob-into-hole)" 또는 "KiH" 변형을 포함한다. 이러한 구현예에서, Fc 영역의 CH3 영역 중 하나는 "놉" 변형을 포함하고 다른 CH3 영역은 "홀" 변형을 포함한다. "놉" 및 "홀" 변형은 각각의 CH3 영역 내에 위치함으로써 "놉"은 "홀" 내에 위치하여 폴리펩타이드의 이종이량체화를 촉진(및 이종이량체화를 억제)하고/하거나 이종이량체를 안정화시킨다. 높은 작은 측쇄를 갖는 아미노산을 보다 큰 측쇄를 갖는 아미노산(예컨대, 타이로신 또는 트립토판)으로 치환시킴으로써 작제된다. 높은 큰 측쇄를 갖는 아미노산을 보다 작은 측쇄를 갖는 것(예컨대, 알라닌 또는 트레오닌)으로 치환시킴으로써 생성된다.

- [0536] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자의 Fc 영역의 CH3 영역 중 하나는 치환(본원의 Fc, CH2 및 CH3 영역 내 위치/치환의 번호매김은 Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991에 기술된 바와 같은 EU 번호매김 시스템에 따른다) T366W를 포함하며, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 Y407V를 포함한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 분자의 Fc 영역의 CH3 영역 중 하나는 치환 T366W를 포함하고, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 T366S 및 L368A를 포함한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 분자의 Fc 영역의 CH3 영역 중 하나는 치환 T366W를 포함하고, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 Y407V, T366S 및 L368A를 포함한다.
- [0537] 일부 구현예에서, Fc 영역은 예컨대, 제WO 2014/131694 A1호에 기술된 바와 같은 "DD-KK" 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, CH3 영역 중 하나는 치환 K392D 및 K409D를 포함하고, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 E356K 및 D399K를 포함한다. 변형은 CH3 영역 사이에 정전기적 상호작용을 촉진한다.
- [0538] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 "두오보디" 양식으로 지정된, 문헌(Labrijn et al., Proc Natl Acad Sci U S A. (2013) 110(13):5145-50)에 기술된 바와 같이 변형된 Fc 영역을 포함한다. 일부 구현예에서 CH3 영역 중 하나는 치환 K409R을 포함하고, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 K405L을 포함한다.
- [0539] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 문헌(Strop et al., J Mol Biol. (2012) 420(3):204-19)에 기술된 바와 같은 "EEE-RRR" 변형을 포함하는 Fc 영역을 포함한다. 일부 구현예에서 CH3 영역 중 하나는 치환 D221E, P228E 및 L368E를 포함하고, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 D221R, P228R 및 K409R을 포함한다.
- [0540] 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 문헌(Choi et al., Mol Cancer Ther (2013) 12(12):2748-59)에 기술된 "EW-RVT"를 포함하는 Fc 영역을 포함한다. 일부 구현예에서 CH3 영역 중 하나는 치환 K360E 및 K409W를 포함하고, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 Q347R, D399V 및 F405T를 포함한다.
- [0541] 일부 구현예에서, CH3 영역 중 하나는 치환 S354C를 포함하고, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 Y349C를 포함한다. 이러한 시스테인 잔기의 도입은 Fc 영역의 2개의 CH3 영역 사이에 이황화물 브릿지(disulphide bridge)의 형성을 야기함으로써 이종이량체를 추가로 안정화시킨다(Carter (2001), J Immunol Methods 248, 7-15).
- [0542] 일부 구현예에서, Fc 영역은 "KiH_{S-S}" 변형을 포함한다. 일부 구현예에서 CH3 영역 중 하나는 치환 T366W 및 S354C를 포함하고, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 T366S, L368A, Y407V 및 Y349C를 포함한다.
- [0543] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 문헌(Davis et al., Protein Eng Des Sel (2010) 23(4):195-202)에 기술된 바와 같은 "SEED" 변형을 포함하는 Fc 영역을 포함하며, 여기서 사람 IgG1 CH3 및 IgA CH3의 β -가닥 분절(β -strand segment)은 교환된다.
- [0544] 일부 구현예에서, CH3 영역 중 하나는 치환 S364H 및 F405A를 포함하고, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 Y349T 및 T394F를 포함한다(참고: 예컨대, Moore et al., MAbs (2011) 3(6):546-57).
- [0545] 일부 구현예에서, CH3 영역 중 하나는 치환 T350V, L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 T350V, T366L, K392L 및 T394W를 포함한다(참고: 예컨대, Von Kreudenstein et al., MAbs (2013) 5(5):646-54).
- [0546] 일부 구현예에서, CH3 영역 중 하나는 치환 K360D, D399M 및 Y407A를 포함하고, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 E345R, Q347R, T366V 및 K409V를 포함한다(참고: 예컨대, Leaver-Fay et al., Structure (2016) 24(4):641-51).
- [0547] 일부 구현예에서, CH3 영역 중 하나는 치환 K370E 및 K409W를 포함하고, Fc 영역의 다른 CH3 영역은 치환 E357N, D399V 및 F405T를 포함한다(참고: 예컨대, Choi et al., PLoS One (2015) 10(12):e0145349).
- [0548] **폴리펩타이드**
- [0549] 본 발명은 또한 항원-결합 분자의 폴리펩타이드 구성성분을 제공한다. 폴리펩타이드는 단리되거나 실질적으로 정제된 형태로 제공될 수 있다.
- [0550] 본 발명의 항원-결합 분자는 폴리펩타이드의 복합체일 수 있거나, 이를 포함할 수 있다.
- [0551] 폴리펩타이드가 하나 이상의 도메인 또는 영역을 포함하는 본 명세서에서, 다수의 도메인/영역은 바람직하게는 동일한 폴리펩타이드 쇄내에 존재하는 것으로 인식될 것이다. 즉, 폴리펩타이드는 하나 이상의 도메인을 포함하거나 영역은 도메인/영역을 포함하는 융합 폴리펩타이드이다.

- [0552] 일부 구현예에서 본 발명에 따른 폴리펩타이드는 본원에 기술된 바와 같은 VH를 포함하거나, 이로 이루어진다. 일부 구현예에서 본 발명에 따른 폴리펩타이드는 본원에 기술된 바와 같은 VL을 포함하거나, 이로 이루어진다.
- [0553] 일부 구현예에서, 폴리펩타이드는 하나 이상의 항체 중쇄 불변 영역(CH)을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드는 하나 이상의 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드는 면역글로불린(Ig)의 CH1, CH2 영역 및/또는 CH3 영역을 포함한다.
- [0554] 일부 구현예에서 폴리펩타이드는 면역글로불린 중쇄 불변 서열 중 하나 이상의 영역을 포함한다. 일부 구현예에서 폴리펩타이드는 본원에 기술된 바와 같은 CH1 영역을 포함한다. 일부 구현예에서 폴리펩타이드는 본원에 기술된 바와 같은 CH1-CH2 헌지 영역을 포함한다. 일부 구현예에서 폴리펩타이드는 본원에 기술된 바와 같은 CH2 영역을 포함한다. 일부 구현예에서 폴리펩타이드는 본원에 기술된 바와 같은 CH3 영역을 포함한다.
- [0555] 일부 구현예에서 폴리펩타이드는 다음의 아미노산 치환/아미노산 치환의 조합 중 어느 하나를 포함하는 CH3 영역을 포함한다(예컨대, 문헌(상기 본원에 참고로 포함된, Ha et al., Front. Immunol (2016) 7:394의 표 1에 나타남): T366W; T366S, L368A 및 Y407V; T366W 및 S354C; T366S, L368A, Y407V 및 Y349C; S364H 및 F405A; Y349T 및 T394F; T350V, L351Y, F405A and Y407V; T350V, T366L, K392L 및 T394W; K360D, D399M 및 Y407A; E345R, Q347R, T366V 및 K409V; K409D 및 K392D; D399K 및 E356K; K360E 및 K409W; Q347R, D399V 및 F405T; K360E, K409W 및 Y349C; Q347R, D399V, F405T 및 S354C; K370E 및 K409W; 및 E357N, D399V 및 F405T).
- [0556] 일부 구현예에서 폴리펩타이드의 CH2 및/또는 CH3 영역은 폴리펩타이드와 CH2 및/또는 CH3 영역을 포함하는 다른 폴리펩타이드의 회합을 촉진시키기 위한 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0557] 일부 구현예에서 폴리펩타이드는 면역글로불린 경쇄 불변 서열 중 하나 이상의 영역을 포함한다. 일부 구현예에서 폴리펩타이드는 본원에 기술된 바와 같은 CL 영역을 포함한다.
- [0558] 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 폴리펩타이드는 다음 중 하나에 따른 N-말단으로부터 C-말단까지의 구조를 포함한다:
- [0559] (i) VH
 - [0560] (ii) VL
 - [0561] (iii) VH-CH1
 - [0562] (iv) VL-CL
 - [0563] (v) VL-CH1
 - [0564] (vi) VH-CL
 - [0565] (vii) VH-CH1-CH2-CH3
 - [0566] (viii) VL-CL-CH2-CH3
 - [0567] (ix) VL-CH1-CH2-CH3
 - [0568] (x) VH-CL-CH2-CH3
- [0569] 또한, 본 발명의 폴리펩타이드로 구성된 항원-결합 문자가 본 발명에 의해 제공된다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 문자는 폴리펩타이드의 다음의 조합 중 하나를 포함한다:
- [0570] (A) VH + VL
 - [0571] (B) VH-CH1 + VL-CL
 - [0572] (C) VL-CH1 + VH-CL
 - [0573] (D) VH-CH1-CH2-CH3 + VL-CL
 - [0574] (E) VH-CL-CH2-CH3 + VL-CH1
 - [0575] (F) VL-CH1-CH2-CH3 + VH-CL
 - [0576] (G) VL-CL-CH2-CH3 + VH-CH1

- [0577] (H) VH-CH1-CH2-CH3 + VL-CL-CH2-CH3
- [0578] (I) VH-CL-CH2-CH3 + VL-CH1-CH2-CH3
- [0579] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 상기 (A) 내지 (I)에 나타낸 조합의 폴리펩타이드 중 하나 이상을 포함한다. 예로써, 상기 (D)를 참고로, 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 구조 VH-CH1-CH2-CH3를 포함하는 2개의 폴리펩타이드, 및 구조 VL-CL를 포함하는 2개의 폴리펩타이드를 포함한다.
- [0580] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 다음의 폴리펩타이드의 조합 중 하나를 포함한다:
- [0581] (J) VH(항-CD47) + VL(항-CD47)
- [0582] (K) VH(항-CD47)-CH1 + VL(항-CD47)-CL
- [0583] (L) VL(항-CD47)-CH1 + VH(항-CD47)-CL
- [0584] (M) VH(항-CD47)-CH1-CH2-CH3 + VL(항-CD47)-CL
- [0585] (N) VH(항-CD47)-CL-CH2-CH3 + VL(항-CD47)-CH1
- [0586] (O) VL(항-CD47)-CH1-CH2-CH3 + VH(항-CD47)-CL
- [0587] (P) VL(항-CD47)-CL-CH2-CH3 + VH(항-CD47)-CH1
- [0588] (Q) VH(항-CD47)-CH1-CH2-CH3 + VL(항-CD47)-CL-CH2-CH3
- [0589] (R) VH(항-CD47)-CL-CH2-CH3 + VL(항-CD47)-CH1-CH2-CH3
- [0590] 여기서: "VH(항-CD47)"는 본원에 기술된 바와 같은, 예컨대, (1) 내지 (35) 중 하나에 정의된 바와 같은 CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 분자의 VH를 지칭하며; "VL(항-CD47)"은 본원에 기술된 바와 같은, 예컨대, (36) 내지 (70) 중 하나에 정의된 바와 같은 CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 분자의 VL을 지칭한다. 일부 구현예에서 폴리펩타이드는 서열: 23, 31, 39, 44, 49, 57, 65, 73, 178, 179, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135 또는 136 중 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다.
- [0591] 일부 구현예에서 폴리펩타이드는 서열 번호 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167 또는 168 중 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다.
- [0592] 링커 및 추가의 서열
- [0593] 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자 및 폴리펩타이드는 힌지 영역을 포함한다. 일부 구현예에서 힌지 영역은 CH1 영역과 CH2 영역 사이에 제공된다. 일부 구현예에서 힌지 영역은 CL 영역과 CH2 영역 사이에 제공된다. 일부 구현예에서 힌지 영역은 서열 번호 120의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다.
- [0594] 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자 및 폴리펩타이드는 아미노산 서열 번호 사이에 하나 이상의 링커 서열을 포함한다. 링커 서열은 아미노산 서열 번호 사이에 하나 이상의 링커 서열을 포함한다. 링커 서열은 항원-결합 분자/폴리펩타이드의 VH, VL, CH1-CH2 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역 중 하나 이상의 한쪽 또는 양쪽 말단에 제공될 수 있다.
- [0595] 링커 서열은 기술자에게 공지되어 있으며, 예를 들면, 문헌(Chen et al., Adv Drug Deliv Rev (2013) 65(10): 1357-1369)에 기술되어 있고, 이는 이의 전문이 본원에 참고로 포함된다. 일부 구현예에서, 링커 서열은 굴곡성(flexible) 링커 서열일 수 있다. 굴곡성 링커 서열은 링커 서열에 의해 연결된 아미노산 서열의 상대적인 이동을 허용한다. 굴곡성 링커는 기술자에게 공지되어 있으며, 몇 개는 문헌(Chen et al., Adv Drug Deliv Rev (2013) 65(10): 1357-1369)에서 확인된다. 굴곡성 링커 서열은 흔히 고 비율의 글리신 및/또는 세린 잔기를 포함한다.
- [0596] 일부 구현예에서, 링커 서열은 적어도 하나의 글리신 잔기 및/또는 적어도 하나의 세린 잔기를 포함한다. 일부

구현예에서 링커 서열은 글리신 및 세린 잔기로 이루어진다. 일부 구현예에서, 링커 서열은 1-2, 1-3, 1-4, 1-5 또는 1-10개의 아미노산의 길이를 갖는다.

[0597] 본 발명의 항원-결합 분자 및 폴리펩타이드는 추가의 아미노산 또는 아미노산의 서열을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들면, 항원-결합 분자 및 폴리펩타이드는 아미노산 서열(들)을 포함함으로써 항원-결합 분자/폴리펩타이드의 발현, 폴딩(folding), 트래피킹(trafficking), 프로세싱, 정제 또는 검출을 촉진한다. 예를 들면, 항원-결합 분자/폴리펩타이드는 임의로 항원-결합 분자/폴리펩타이드의 N- 또는 C-말단에서 His, (예컨대, 6XHis), Myc, GST, MBP, FLAG, HA, E, 또는 바이오틴 태그를 암호화하는 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자/폴리펩타이드는 검출가능한 모이어티(moiety), 예컨대, 형광성, 발광성, 면역-검출가능한, 방사선, 화학적, 핵산 또는 효소 표지(enzyme label)를 포함한다.

[0598] 본 발명의 항원-결합 분자 및 폴리펩타이드는 신호 펩타이드(또한 리더 서열 또는 신호 서열로서 공지됨)를 추가로 포함할 수 있다. 신호 펩타이드는 일반적으로 5 내지 30개의 소수성 아미노산의 서열로 이루어지며, 이는 단일 알파 나선을 형성한다. 분비된 단백질 및 세포 표면에서 발현된 단백질은 흔히 신호 펩타이드를 포함한다.

[0599] 신호 펩타이드는 항원-결합 분자/폴리펩타이드의 N-말단에 존재할 수 있으며, 새로이 합성된 항원-결합 분자/폴리펩타이드 내에 존재할 수 있다. 신호 펩타이드는 항원-결합 분자/폴리펩타이드의 효율적인 트래피킹 및 분비를 위해 제공된다. 신호 펩타이드는 흔히 절단(cleavage)에 의해 제거되므로, 항원-결합 분자/폴리펩타이드를 발현하는 세포로부터 분비된 성숙한 항원-결합 분자/폴리펩타이드 내에 포함되지 않는다.

[0600] 신호 펩타이드는 많은 단백질의 경우 알려져 있으며, 데이타베이스, 예를 들면, GenBank, UniProt, Swiss-Prot, TrEMBL, 단백질 정보 공급원(Protein Information Resource), 단백질 데이터 베이스(Protein Data Bank), Ensembl, 및 InterPro에 기록되어 있고/있거나 예컨대, 아미노산 서열 분석 도구, 예를 들면, SignalP (Petersen et al., 2011 Nature Methods 8: 785-786) 또는 Signal-BLAST (Frank and Sippl, 2008 Bioinformatics 24: 2172-2176)를 사용하여 확인/예측할 수 있다.

[0601] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 서열 번호 81 내지 86 중 하나의 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85% 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다.

표지 및 접합체

[0603] 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자는 검출가능한 모이어티를 추가로 포함한다.

[0604] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 검출가능한 모이어티, 예컨대, 형광성 표지, 인광성 표지, 발광성 표지, 면역-검출가능한 표지(예컨대, 에피토프 태그), 방사표지, 화학적, 핵산 또는 효소적 표지를 포함한다. 항원-결합 분자는 검출가능한 모이어티로 공유결합적으로 또는 비-공유결합적으로 표지될 수 있다.

[0605] 형광성 표지는 예컨대, 플루오레세인, 로다민, 알로피코시아닌, 에오신 및 NDB, 희토류의 녹색 형광성 단백질(GFP) 퀄레이트, 예를 들면, 유로퓸(Eu), 테르븀(Tb) 및 사마륨(Sm), 테트라메틸 로다민, 텍사스 레드(Texas Red), 4-메틸 웜밸리페론, 7-아미노-4-메틸 쿠마린, Cy3, 및 Cy5를 포함한다. 방사표지는 방사선동위원소, 예를 들면, 요오드¹²³, 요오드¹²⁵, 요오드¹²⁶, 요오드¹³¹, 요오드¹³³, 브롬⁷⁷, 테크네튬^{99m}, 인듐¹¹¹, 인듐^{113m}, 갈륨⁶⁷, 갈륨⁶⁸, 루테늄⁹⁵, 루테늄⁹⁷, 루테늄¹⁰³, 루테늄¹⁰⁵, 수은²⁰⁷, 수은²⁰³, 레늄^{99m}, 레늄¹⁰¹, 레늄¹⁰⁵, 스칸듐⁴⁷, 텔루륨^{121m}, 텔루륨^{122m}, 텔루륨^{125m}, 툴륨¹⁶⁵, 툴륨¹¹⁶⁷, 툴륨¹⁶⁸, 구리⁶⁷, 불소¹⁸, 이트륨⁹⁰, 팔라듐¹⁰⁰, 비스무쓰²¹⁷ 및 안티모니²¹¹를 포함한다. 발광성 표지는 방사발광성, 화학발광성(예컨대, 아크리디늄 에스테르, 루미놀, 이소루미놀) 및 생물발광성 표지를 포함한다. 면역-검출성 표지는 핫텐(hapten), 펩타이드/폴리펩타이드, 항체, 수용체 및 리간드, 예를 들면, 바이오틴, 아비딘, 스트렙타비딘 또는 디옥시게닌을 포함한다. 핵산 표지는 엡타머를 포함한다. 효소 표지는 예컨대, 퍼옥시다제, 알칼린 포스파타제, 글루코즈 옥시다제, 베타-갈락토시다제 및 루시퍼라제를 포함한다.

[0606] 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자는 화학 모이어티에 접합된다. 화학 모이어티는 치료 효과를 제공하기 위한 모이어티일 수 있다. 항체-약물 접합체는 예컨대, 문헌(Parslow et al., Biomedicines. 2016 Sep; 4(3):14)에서 검토된다. 일부 구현예에서, 화학적 모이어티는 약물 모이어티(예컨대, 세포독성제)일 수 있다. 일부 구현예에서, 약물 모이어티는 화학치료제일 수 있다. 일부 구현예에서, 약물 모이어티는 칼리체아미신(calicheamicin), DM1, DM4, 모노메틸아우리스타틴 E(MMAE), 모노메틸아우리스타틴 F(MMAF), SN-38, 독소루비

신, 두오카르마이신, D6.5 및 PBD로부터 선택된다.

[0607] 항원-결합 분자의 특수한 예시적인 구현예

일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

(i) 서열 번호 107의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드; 및

(ii) 서열 번호 108의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

(i) 서열 번호 109의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드; 및

(ii) 서열 번호 110의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

(i) 서열 번호 111의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드; 및

(ii) 서열 번호 112의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

(i) 서열 번호 113의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드; 및

(ii) 서열 번호 114의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

(i) 서열 번호 159의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드; 및

(ii) 서열 번호 160의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

(i) 서열 번호 161의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드; 및

(ii) 서열 번호 160의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나,

이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

일부 구현 예에서 항원-결합 분자는:

(i) 서열 번호 162의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드; 및

(ii) 서열 번호 160의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

일부 구현 예에서 항원-결합 분자는:

(i) 서열 번호 163의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드; 및

(ii) 서열 번호 160의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

일부 구현 예에서 항워-결합 분자는:

(i) 서열 번호 164의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드; 및

(ii) 서열 번호 160의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

일부 구현 예에서 항원-결합 분자는:

(i) 서열 번호 163의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드: 및

(ii) 서열 번호 165의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이를 이용해 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이를 이용해지다

이부 국현예에서 학위-경학 분가는:

(i) 서열 번호 164의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이를 이론적 2개의 폴리펩ти드인: 미

(ii) 서열 번호 165의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이를 신뢰할 수 있는 풍기페디아드를 포함하거나, 이를 신뢰하지

8.1.3. 유통 구현 예제에서 확인 계획 복기는:

(i) 서열 번호 163의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 아니고 이를 넘어서 2개의 폴리펩ти드인트로드: 단

(ii) 서열 번호 166의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 아니고 서로 다른 유래의 폴리펩ти드를 포함하거나, 아니고 서로 합성된다.

[0644] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0645] (i) 서열 번호 164의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드; 및

[0646] (ii) 서열 번호 166의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

[0647] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0648] (i) 서열 번호 164의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드; 및

[0649] (ii) 서열 번호 167의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

[0650] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0651] (i) 서열 번호 164의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드; 및

[0652] (ii) 서열 번호 168의 아미노산 서열에 대해 적어도 70%, 바람직하게는 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

항원-결합 분자의 기능적 특성

[0654] 본원에 기술된 항원-결합 분자는 특정의 기능적 특성을 참고로 특성화될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항원-결합 분자는 다음의 특성 중 하나 이상을 지닐 수 있다:

[0655] CD47에 결합한다;

[0656] CD47-발현 세포에 결합한다;

[0657] CD47과 SIRP α 사이의 상호작용을 억제한다;

[0658] SIRP α-매개된 신호전달을 억제한다;

[0659] 식세포작용성 세포(예컨대, 대식구)에 의한 CD47-발현 세포의 식세포작용을 증가시킨다;

[0660] 암 항원-특이적인 면역 세포의 수/비율을 증가시킨다;

[0661] 실질적인 적혈구응집을 유발하지 않는다;

[0662] 참고(reference) 항-CD47 항체와 비교하여 적혈구응집을 거의 유발하지 않는다;

[0663] 암 세포의 사멸을 증가시킨다;

[0664] 암의 발달/진행을 억제한다.

[0665] 본원에 기술된 항원-결합 분자 및 항원-결합 도메인은 바람직하게는 관련 표적 항원(들)(예컨대, CD47)에 대해 특이적인 결합을 나타낸다. 본원에 사용된 바와 같이, "특이적인 결합"은 항원에 대해 선택적이며, 비-표적 항원에 대해 비-특이적인 결합으로부터 구별될 수 있는 결합을 지칭한다. 표적 분자에 특이적으로 결합하는 항원-결합 분자/도메인은 바람직하게는 표적에 고 친화성, 및/또는 이것이 다른 비-표적 분자에 결합하는 것보다 더 긴 기간으로 결합한다.

[0666] 주어진 분자에 특이적으로 결합하는 주어진 폴리펩타이드이 능력은 당해 분야에 공지된 방법에 따른 분석, 예를 들면, ELISA, 표면 플라스몬 공명(SPR; 참고: 예컨대, Hearty et al., Methods Mol Biol (2012) 907:411-442),

생물-층 간섭계(Bio-Layer Interferometry)(참고: 예컨대, Lad et al., (2015) J Biomol Screen 20(4): 498-507), 유동 세포분석법, 또는 방사표지된 항원-결합 검정(RIA) 효소-표지된 면역흡착성 검정에 의해 측정될 수 있다. 이러한 분석을 통해 주어진 분자에 대한 결합은 측정되고 정량화될 수 있다. 일부 구현예에서, 결합은 주어진 검정에서 검출된 반응일 수 있다.

[0667] 일부 구현예에서, 비-표적 분자에 대한 항원-결합 분자의 결합 정도는 예컨대, ELISA, SPR, 생물-층 간섭계 또는 RIA에 의해 측정된 바와 같이 표적 분자에 대한 항체의 결합의 약 10% 미만이다. 대안적으로, 결합 특이성은 결합 친화성 측면에서 반영될 수 있으며 여기서 항원-결합 분자는 비-표적 분자에 대한 항원-결합 분자의 KD보다 적어도 0.1 자릿수 (즉, 0.1×10^n , 여기서 n은 자릿수를 나타내는 정수이다) 더 큰 해리 상수(KD)로 결합한다. 이는 임의로 적어도 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 또는 2.0 중 하나일 수 있다.

[0668] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항원-결합 분자는 CD47에 $10 \mu\text{M}$ 이하, 바람직하게는 $\leq 5 \mu\text{M}$, $\leq 2 \mu\text{M}$, $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 500 \text{ nM}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 75 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 40 \text{ nM}$, $\leq 30 \text{ nM}$, $\leq 20 \text{ nM}$, $\leq 15 \text{ nM}$, $\leq 12.5 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 9 \text{ nM}$, $\leq 8 \text{ nM}$, $\leq 7 \text{ nM}$, $\leq 6 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 4 \text{ nM}$, $\leq 3 \text{ nM}$, $\leq 2 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$ 또는 $\leq 500 \text{ pM}$ 중 하나의 K_D 로 결합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 CD47에 $K_D = \leq 10 \text{ nM}$, $\leq 9 \text{ nM}$, $\leq 8 \text{ nM}$, $\leq 7 \text{ nM}$ 또는 $\leq 6 \text{ nM}$, 예컨대, $\sim 5 \text{ nM}$ 의 친화성으로 결합한다.

[0669] 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 CD47에 $EC_{50} = 100 \mu\text{g/ml}$ 이하, 바람직하게는 $\leq 90 \mu\text{g/ml}$, $\leq 80 \mu\text{g/ml}$, $\leq 70 \mu\text{g/ml}$, $\leq 60 \mu\text{g/ml}$, $\leq 50 \mu\text{g/ml}$, $\leq 40 \mu\text{g/ml}$, $\leq 30 \mu\text{g/ml}$, $\leq 20 \mu\text{g/ml}$, $\leq 10 \mu\text{g/ml}$, $\leq 9 \mu\text{g/ml}$, $\leq 8 \mu\text{g/ml}$, $\leq 7 \mu\text{g/ml}$, $\leq 6 \mu\text{g/ml}$, $\leq 5 \mu\text{g/ml}$, $\leq 4 \mu\text{g/ml}$, $\leq 3 \mu\text{g/ml}$, $\leq 2 \mu\text{g/ml}$, $\leq 1.5 \mu\text{g/ml}$, $\leq 1 \mu\text{g/ml}$, $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$, $\leq 0.25 \mu\text{g/ml}$, 또는 $\leq 0.1 \mu\text{g/ml}$ 중 하나의 결합 친화성(예컨대, ELISA에 의해 측정된 바와 같음)으로 결합한다.

[0670] 본 발명의 항원-결합 분자는 목적한 표적 항원(들)의 특수한 영역에 결합할 수 있다. 본 도메인에 따른 항원-결합 분자의 항원-결합 영역은 아미노산의 연속된 서열(즉, 아미노산 1차 서열)로 이루어진 표적 항원(예컨대, CD47)의 선형 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원-결합 영역 분자는 아미노산 서열의 아미노산의 불연속 서열로 이루어진 표적 항원(즉, CD47)의 구조적 에피토프에 결합할 수 있다.

[0671] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 CD47에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 CD47의 세포외 영역내에서 CD47에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 CD47의 세포외 영역 1 내에 CD47(예컨대, 서열 번호 10에 나타낸 영역)에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 CD47의 V-형 Ig-유사 도메인(예컨대, 서열 번호 9에 나타낸 영역)에 결합할 수 있다.

[0672] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 서열 번호 10에 나타낸 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩타이드에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 서열 번호 9에 나타낸 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩타이드에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 서열 번호 9에 나타낸 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩타이드에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 서열 번호 21에 나타낸 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 웨프타이드 또는 폴리펩타이드에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 서열 번호 22에 나타낸 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 웨프타이드 또는 폴리펩타이드에 결합할 수 있다.

[0673] 본원에 사용된 바와 같은, "펩타이드"는 웨프타이드 결합에 의해 연결된 2개 이상의 아미노산 단량체의 쇄를 지칭한다. 웨프타이드는 전형적으로 약 2 내지 50개 아미노산의 영역내 길이를 갖는다. "폴리펩타이드"는 2개 이상의 웨프타이드의 중합체 쇄이다. 폴리펩타이드는 전형적으로 약 50개 아미노산 이상의 길이를 갖는다.

[0674] 주어진 웨프타이드/폴리펩타이드에 결합하는 항원-결합 분자의 능력은 기술자에게 잘 공지된 방법, 예를 들면, ELISA, 면역블롯(예컨대, 웨스턴 블롯), 면역침전, 표면 플라스몬 공명 및 생물층 간섭법에 의해 분석될 수 있다.

[0675] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47의 동일한 영역, 또는 CD47의 오버랩핑 영역(overlapping region)을 클론 1-1-A1_BM, 1-1-A1, 5-48-A6, 5-48-D2, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10 또는 11A1H11 중 하나의 VH 및 VL 서열을 포함하는 항체가 결합된 CD47의 영역에 결합시킬 수 있다.

[0676] 항체가 결합하는 웨프타이드/폴리펩타이드의 영역은 당해 분야에 잘 공지된 다양한 방법, 예를 들면, 항체-항원 복합체의 X-선 공-결정학 분석, 웨프타이드 스캐닝, 돌연변이유발 맵핑, 질량 분광법에 의한 수소-중소수 교환 분

석, 파아지 디스플레이, 경쟁 ELISA 및 단백질분해-기반 '보호' 방법을 사용하여 기술자에 의해 측정될 수 있다. 이러한 방법은 예를 들면, 문헌(Gershoni et al., BioDrugs, 2007, 21(3):145-156)에 기술되어 있으며, 이는 이의 전문이 본원에 참고로 포함된다.

- [0677] 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자는 비-사람 영장류의 CD47과 교차-반응성을 나타낸다. 즉, 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 사람 CD47 및 비-사람 영장류로부터의 CD47 둘 다에 결합한다. 일부 구현예에서 비-사람 영장류는 레서스 마카퀴(rhesus macaque)(마카카 물라타(*Macaca mulatta*))이다.
- [0678] 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자는 CD47이 세포 표면에서(즉, 세포막 내 또는 세포막에서) 발현된 경우 항원-결합 분자(즉, 세포외 항원-결합 분자)에 접근가능한 영역내 CD47에 결합한다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47을 발현하는 세포의 세포 표면에서 발현된 CD47에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 CD47-발현 세포(예컨대, 골수 세포, 골수 백혈병 세포, HL-60 세포, HMC-1 세포, HEL 세포 또는 라지 세포(Raji cell)에 결합할 수 있다.
- [0679] 주어진 세포형에 결합하는 항원-결합 분자의 능력은 세포를 항원-결합 분자와 접촉시키고, 예컨대, 결합하지 않은 항원-결합 분자를 제거하기 위한 세척 단계 후에 세포에 결합된 항원-결합 분자를 검출함으로써 분석할 수 있다. 면역 세포 표면 분자-발현 세포 및/또는 암 세포 항원-발현 세포에 결합하는 항원-결합 분자의 능력은 유동 세포분석법 및 면역형광 현미경 검사법과 같은 방법으로 분석할 수 있다.
- [0680] 본 발명의 항원-결합 분자는 CD47의 길항제일 수 있다. 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 CD47에 의해 매개된 기능 또는 공정(예컨대, 상호작용, 신호전달 또는 다른 활성)을 억제할 수 있다. 본원에서, '억제'는 대조군 상태에 비해 감소, 축소 또는 약화를 지칭한다.
- [0681] 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자는 CD47과 CD47에 대한 리간드 사이의 상호작용을 억제할 수 있다. 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자는 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용을 억제할 수 있다.
- [0682] 2개의 인자 사이의 상호작용을 억제하는 항원-결합 분자의 능력은 예를 들면, 항체/단편의 존재하에서 상호작용의 분석, 또는 상호작용 파트너 중 하나 또는 둘 다와 항체/단편의 항온처리(incubation)에 의해 측정할 수 있다. 주어진 항원-결합 분자가 2개의 상호작용 파트너 사이의 상호작용을 억제할 수 있는지의 여부를 측정하기 위한 적합한 검정의 예는 경쟁 ELISA 검정이다.
- [0683] 주어진 상호작용(예컨대, CD47과 SIRP α 사이)을 억제할 수 있는 항원-결합 분자는 항원-결합 분자의 부재(또는 적절한 대조군 항원-결합 분자의 존재) 하에서의 상호작용의 수준과 비교하여, 항원-결합 분자의 존재하에서 - 또는 상호작용 파트너 중 하나 또는 둘 다와 항원-결합 분자의 항온처리 후- 상호작용 파트너 사이의 상호작용 수준의 감소/축소의 관찰에 의해 확인된다. 적합한 분석은 시험관내에서, 예컨대, 재조합 상호작용 파트너를 사용하여 또는 상호작용 파트너를 발현하는 세포를 사용하여 수행할 수 있다. 상호작용 파트너를 발현하는 세포는 이렇게 내인성적으로 발현할 수 있거나 세포내로 도입된 핵산으로부터 이렇게 발현할 수 있다. 이러한 검정의 목적을 위해, 상호작용 파트너 중 하나 또는 둘 다 및/또는 항원-결합 분자는 상호작용 수준을 검출하고/하거나 측정할 목적을 위한 검출가능한 실체로 표시될 수 있거나 이와 함께 사용될 수 있다.
- [0684] 2개의 결합 파트너 사이의 상호작용을 억제하는 항원-결합 분자의 능력은 또한 이러한 상호작용의 하부 기능적 결과의 분석으로 측정할 수 있다. 예를 들면, CD47과 SIRP α 사이의 상호작용의 하부 기능적 결과는 SIRP α -매개된 신호전달을 포함할 수 있다. 예를 들면, CD47과 SIRP α 의 상호작용을 억제하는 항원-결합 분자의 능력은 SIRP α ITIM 인산화의 분석, 또는 SIRP α -발현 세포에 의한 CD47-발현 세포의 식세포작용의 분석에 의해 측정할 수 있다.
- [0685] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용을 항원-결합 분자의 부재하에서 (또는 적절한 대조군 항원-결합 분자의 존재하에서) CD47과 SIRP α 사이의 상호작용의 수준의 1배, 예컨대, ≤ 0.99 배, ≤ 0.95 배, ≤ 0.9 배, ≤ 0.85 배, ≤ 0.8 배, ≤ 0.75 배, ≤ 0.7 배, ≤ 0.65 배, ≤ 0.6 배, ≤ 0.55 배, ≤ 0.5 배, ≤ 0.45 배, ≤ 0.4 배, ≤ 0.35 배, ≤ 0.3 배, ≤ 0.25 배, ≤ 0.2 배, ≤ 0.15 배, ≤ 0.1 배, ≤ 0.05 배, 또는 ≤ 0.01 배 만까지 억제할 수 있다.
- [0686] 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용을 $100 \mu\text{g/ml}$ 이하, 바람직하게는 $\leq 90 \mu\text{g/ml}$, $\leq 80 \mu\text{g/ml}$, $\leq 70 \mu\text{g/ml}$, $\leq 60 \mu\text{g/ml}$, $\leq 50 \mu\text{g/ml}$, $\leq 40 \mu\text{g/ml}$, $\leq 30 \mu\text{g/ml}$, $\leq 20 \mu\text{g/ml}$, $\leq 10 \mu\text{g/ml}$, $\leq 9 \mu\text{g/ml}$, $\leq 8 \mu\text{g/ml}$, $\leq 7 \mu\text{g/ml}$, $\leq 6 \mu\text{g/ml}$, $\leq 5 \mu\text{g/ml}$, $\leq 4 \mu\text{g/ml}$, $\leq 3 \mu\text{g/ml}$, $\leq 2 \mu\text{g/ml}$, $\leq 1.5 \mu\text{g/ml}$, $\leq 1 \mu\text{g/ml}$, $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$, $\leq 0.25 \mu\text{g/ml}$, 또는 $\leq 0.1 \mu\text{g/ml}$ 중 하나의 IC50(예컨대, ELISA로

측정된 바와 같음)으로 억제한다.

- [0687] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는 SIRP α -매개된 신호전달을 억제한다. SIRP α -매개된 신호전달은 SIRP α -발현 세포, 예컨대, SIRP α -발현 세포(예컨대, 대식구)에 의한 CD47-발현 세포(예컨대, Raji 세포)의 식세포작용의 시험관내 검정을 사용하여 분석할 수 있다. 예를 들면, SIRP α -발현 세포에 의한 CD47-발현 세포의 식세포작용의 시험관내 검정은 문헌(Feng et al., Proc Natl Acad Sci U S A. (2015) 112(7): 2145-2150)(이의 전문이 본원에 참고로 포함됨)에 기술된 바와 같이, 또는 본원의 실험 실시예에 기술된 바와 같이 수행할 수 있다.
- [0688] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 SIRP α -매개된 신호전달을 항원-결합 분자의 부재(또는 적절한 대조군 항원-결합 분자의 존재)하에서 SIRP α -매개된 신호전달의 수준의 1배 미만, 예컨대, ≤ 0.99 배, ≤ 0.95 배, ≤ 0.9 배, ≤ 0.85 배, ≤ 0.8 배, ≤ 0.75 배, ≤ 0.7 배, ≤ 0.65 배, ≤ 0.6 배, ≤ 0.55 배, ≤ 0.5 배, ≤ 0.45 배, ≤ 0.4 배, ≤ 0.35 배, ≤ 0.3 배, ≤ 0.25 배, ≤ 0.2 배, ≤ 0.15 배, ≤ 0.1 배, ≤ 0.05 배, 또는 ≤ 0.01 배로 억제할 수 있다.
- [0689] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 CD47-발현 세포의 식세포작용을 증가시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 SIRP α -발현 세포(예컨대, 대식구)에 의한 CD47-발현 세포(예컨대, Raji 세포)의 식세포작용을 증가시킬 수 있다.
- [0690] SIRP α -발현 세포에 의한 CD47-발현 세포의 식세포작용을 증가시킬 수 있는 항원-결합 분자는 항원-결합 분자의 부재(또는 적절한 대조군 항원-결합 분자의 존재)하에서 검출된 식세포작용의 수준과 비교하여, 항원-결합 분자의 존재하에서 SIRP α -발현 세포에 의한 CD47-발현 세포의 식세포작용의 증가된 수준을 관찰하거나, 이후 CD47-발현 세포와 항원-결합 분자의 항온처리에 의해 확인된다.
- [0691] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 SIRP α -발현 세포(예컨대, 대식구)에 의한 CD47-발현 세포(예컨대, Raji 세포)의 식세포작용을 항원-결합 분자의 부재(또는 적절한 대조군 항원-결합 분자의 존재) 하에서 SIRP α -발현 세포에 의한 CD47-발현 세포의 식세포 작용 수준의 1배 이상, 예컨대, ≥ 1.01 배, ≥ 1.02 배, ≥ 1.03 배, ≥ 1.04 배, ≥ 1.05 배, ≥ 1.1 배, ≥ 1.2 배, ≥ 1.3 배, ≥ 1.4 배, ≥ 1.5 배, ≥ 1.6 배, ≥ 1.7 배, ≥ 1.8 배, ≥ 1.9 배, ≥ 2 배, ≥ 3 배, ≥ 4 배, ≥ 5 배, ≥ 6 배, ≥ 7 배, ≥ 8 배, ≥ 9 배 또는 ≥ 10 배로 증가시킬 수 있다.
- [0692] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 예컨대, 적절한 시험관내 검정, 또는 생체내에서 음성 대조군 상태와 관련하여 암 항원-특이적인 면역 세포(예컨대, CD8+ T 세포 또는 CD8+ CTL)의 수/비율을 증가시킬 수 있다. 문헌(Tseng et al., Proc Natl Acad Sci U S A. (2013) 110(27): 11103-11108(본원에서 이의 전문이 참고로 포함됨))은 항-CD47 항체의 존재하에서 대식구에 의한 CD47-발현 암 세포의 증가된 식세포작용이 암 항원-특이적인 CD8+ T 세포의 증가된 프라이밍(priming)과 관련되었음을 입증하였다. 암 항원-특이적인 면역 세포의 수/비율에 있어서의 증가를 유발할 수 있는 항원-결합 분자는, 예컨대 문헌(Tseng et al., Proc Natl Acad Sci U S A. (2013) 110(27): 11103-11108)에 기술된 바와 같이, T 세포 프라이밍 검정을 사용하여 확인할 수 있다.
- [0693] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 실질적인 혈구응집(예컨대, 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하의 농도에서)를 유발하지 않는다. 혈구응집은 적혈 세포(적혈구)의 응집을 지칭한다.
- [0694] 혈구응집을 유발하는 제제는 헤마글루티닌으로 지칭될 수 있다. 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자는 헤마글루티닌이 아니다.
- [0695] 혈구응집을 유발하는 항체의 능력은 예컨대, 시험관내 혈구응집 검정을 사용하여 분석할 수 있다. 이러한 분석의 목적을 위하여, 혈구응집의 적합한 검정은 예컨대, 제WO 2013/119714 A1호(이의 전문은 본원에 참고로 포함됨)의 실시예 5에 기술되어 있거나, 혈구응집의 검정은 본원의 실험 실시예에 기술되어 있다. "실질적인" 혈구응집은 항원-결합 분자의 부재(또는 혈구응집을 유발하지 않는 적절한 대조군 항원-결합 분자의 존재)하에서 검출된 혈구응집의 수준의 2배 이상, 예컨대, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10배 이상인 혈구응집의 수준일 수 있다.
- [0696] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 참고 항-CD47 항체(예컨대, 선행 기술의 항-CD47 항체)와 비교하여 혈구응집을 거의 유발하지 않는다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 예컨대, 혈구응집의 시험관내 검정을 사용하여 측정된 바와 같이, 참고 항-CD47 항체(예컨대, 선행 기술의 항-CD47 항체)와 비교하여 혈구응집 수준의 1배 미만, 예컨대, ≤ 0.99 배, ≤ 0.95 배, ≤ 0.9 배, ≤ 0.85 배, ≤ 0.8 배, ≤ 0.75 배, ≤ 0.7 배, ≤ 0.65 배, ≤ 0.6 배, ≤ 0.55 배, ≤ 0.5 배, ≤ 0.45 배, ≤ 0.4 배, ≤ 0.35 배, ≤ 0.3 배, ≤ 0.25 배, ≤ 0.2 배, ≤ 0.15 배, ≤ 0.1 배, ≤ 0.05 배, 또는 ≤ 0.01 배의 수준을 유발한다.
- [0697] 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자는 암 세포의 사멸을 증가시킨다. 일부 구현예에서 본 발명의 항원-

결합 분자는 예컨대, 적절한 대조군 상태와 비교하여 생체내에서 암 세포의 수에 있어서의 감소를 유발한다. 암은 CD47을 발현하는 암일 수 있거나, CD47을 발현하는 세포(예컨대, CD47+ AML 세포주, HL-60)일 수 있다. 본 발명의 항원-결합 분자는 적절한 생체내 모델, 예컨대, AML 세포주-유래된 이종이식체 모델에서 항암 활성에 대해 분석될 수 있다.

[0698] 일부 구현예에서 본 발명의 항원-결합 분자는 참고 항-CD47 항체(예컨대, 선행 기술의 항-CD47 항체)와 비교하여 AML 세포주-유래된 이종이식체 모델에서 생체내에서 암 세포의 수의 보다 큰 감소를 유발한다.

[0699] 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 항원-결합 분자의 투여는 예컨대, AML 세포주-유래된 이종이식체 모델에서 측정된 바와 같이, 암의 발달/진행의 억제, 암의 발생의 지연/예방, 종양 성장에 있어서의 감소/이에 대한 지연/이의 예방, 전이에 있어서의 감소/이에 대한 지연/이의 예방, 암의 증상의 중증도에 있어서의 감소, 암 세포의 수에 있어서의 감소, 종양 크기/용적에 있어서의 감소, 및/또는 생존(예컨대, 진행이 없는 생존)에 있어서의 증가 중 하나 이상을 유발할 수 있다.

키메라 항원 수용체(Chimeric antigen receptor: CAR)

[0701] 본 발명은 또한 본 발명의 항원-결합 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드를 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.

[0702] CAR은 항원-결합 및 T 세포 활성화 기능 둘 다를 제공하는 재조합 수용체이다. CAR 구조 및 가공(engineering)은 예를 들면, 이의 전문이 본원에 참고로 포함된 문헌(Dotti et al., Immunol Rev (2014) 257(1))에서 검토된다. CAR은 세포 막 앵커(anchor) 영역에 연결된 항원-결합 영역 및 신호전달 영역을 포함한다. 임의의 힌지 영역은 항원-결합 영역과 세포막 앵커 영역 사이에 분리를 제공할 수 있으며, 굴곡성 링커로서 작용할 수 있다.

[0703] 본 발명의 CAR은 본 발명의 항원-결합 분자를 포함하거나 이로 이루어지거나, 본 발명에 따른 폴리펩타이드를 포함하거나 이로 이루어진 항원-결합 영역을 포함한다.

[0704] 세포막 앵커 영역은 CAR의 항원-결합 영역과 신호전달 영역 사이에 제공되며 CAR을 세포외 공간내 항원-결합 영역, 및 세포 내부의 신호전달 영역을 사용하여, CAR을 발현하는 세포의 세포막에 앵커시키기 위해 제공한다. 일부 구현예에서, CAR은 CD3- ζ , CD4, CD8 또는 CD28 중 하나에 대한 막관통 영역 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어지거나, 또는 이로부터 유래된 아미노산을 포함하거나 이로 이루어진 세포막 앵커 영역을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 참고 아미노산 서열'로부터 유래된' 영역은 참고 서열에 대해 적어도 60%, 예컨대, 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 중 하나의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0705] CAR의 신호전달 영역은 T 세포의 활성화를 허용한다. CAR 신호전달 영역은 CD3- ζ 의 세포내 도메인의 아미노산 서열을 포함할 수 있으며, 이는 CAR-발현 T 세포의 인산화 및 활성화를 위한 면역수용체 타이로신-기반 활성화 모티프(motif)(ITAM)를 제공한다. 다른 ITAM-함유 단백질, 예를 들면, Fc γ RI를 포함하는 신호전달 영역은 또한 CAR에 사용되었다(Haynes et al., 2001 J Immunol 166(1):182-187). CAR의 신호전달 영역은 또한 공-자극성 분자의 신호전달 영역으로부터 유래된 공-자극성 서열을 포함함으로써 표적 단백질에 대한 결합시 CAR-발현 T 세포의 활성화를 촉진시킬 수 있다. 적합한 공-자극성 분자는 CD28, OX40, 4-1BB, ICOS 및 CD27을 포함한다. 일부 경우에 CAR을 가공하여 상이한 세포내 신호전달 경로의 공-자극을 위해 제공한다. 예를 들면, CD28 공자극과 관련된 신호전달은 포스파티딜이노시톨 3-키나제(P13K) 경로를 우선적으로 활성화시키는 반면, 4-1BB-매개된 신호전달은 TNF 수용체 관련 인자(TRAF) 어댑터(adaptor) 단백질을 통한다. 따라서 CAR의 신호전달 영역은 때때로 하나 이상의 공-자극성 분자의 신호전달 영역으로부터 유래된 공-자극성 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD28, OX40, 4-1BB, ICOS 및 CD27 중 하나 이상의 세포내 도메인의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어지거나, 이로부터 유래된 아미노산을 포함하거나 이로 이루어진 하나 이상의 공-자극성 서열을 포함한다.

[0706] 임의의 힌지 영역은 항원-결합 도메인과 막관통 도메인 사이에 분리를 제공할 수 있으며, 굴곡성 링커로서 작용할 수 있다. 힌지 영역은 IgG1으로부터 유래될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR은 IgG1의 힌지 영역의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 이루어지거나, 또는 이로부터 유래되는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 힌지 영역을 포함한다.

[0707] 또한 본 발명에 따른 CAR을 포함하는 세포가 제공된다. 본 발명에 따른 CAR을 사용하여 CAR-발현 면역 세포, 예컨대, CAR-T 또는 CAR-NK 세포를 생성할 수 있다. CAR의 면역 세포로의 가공은 시험관내에서, 배양 동안 수행될

수 있다.

[0708] 본 발명의 CAR의 항원-결합 영역은 임의의 적합한 양식, 예컨대, scFv, scFab 등과 함께 제공될 수 있다.

핵산 및 벡터

[0710] 본 발명은 본 발명에 따른 항원-결합 분자, 폴리펩타이드 또는 CAR을 암호화하는, 핵산, 또는 다수의 핵산을 제공한다.

[0711] 일부 구현예에서, 핵산은 예컨대, 다른 핵산, 또는 천연적으로 존재하는 생물학적 물질로부터 정제되거나 단리된다. 일부 구현예에서 핵산(들)은 DNA 및/또는 RNA를 포함하거나 이로 이루어진다.

[0712] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산 또는 다수의 핵산을 포함하는, 벡터, 또는 다수의 벡터를 제공한다.

[0713] 뉴클레오타이드 서열은 벡터, 예컨대, 발현 벡터내에 함유될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 "벡터"는 외인성 핵산을 세포내로 전달하기 위한 비히클(vehicle)로서 사용된 핵산 분자이다. 벡터는 세포내에서 핵산의 발현을 위한 벡터일 수 있다. 이러한 벡터는 발현될 서열을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 작동적으로 연결된 프로모터 서열을 포함할 수 있다. 벡터는 또한 종결 코돈(termination codon) 및 발현 인핸서(expression enhancer)를 포함한다. 당해 분야에 공지된 임의의 적합한 벡터, 프로모터, 인핸서 및 종결 코돈을 사용하여 본 발명에 따른 벡터로부터 웹타이드 또는 폴리펩타이드를 발현할 수 있다.

[0714] 용어 "작동적으로 연결된"은 선택된 핵산 서열 및 조절성 핵산 서열(예컨대, 프로모터 및/또는 인핸서)가 조절 서열의 영향 또는 제어 하에서 핵산 서열의 발현을 대체하는(함으로써 발현 카세트를 형성하는) 방식으로 공유 결합으로 연결된다. 따라서, 조절 서열이 핵산 서열의 전사에 영향을 미칠 수 있는 경우 조절 서열을 선택된 핵산 서열에 작동적으로 연결시킨다. 이후에, 수득되는 전사체(들)을 목적한 웹타이드(들)/폴리펩타이드(들)로 해독시킬 수 있다.

[0715] 적합한 벡터는 플라스미드, 이원 벡터(binary vector), DNA 벡터, mRNA 벡터, 바이러스 벡터(예컨대, 감마레트로바이러스 벡터(예컨대, 쥐 백혈병 바이러스(MLV)-유래된 벡터), 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 박시니아 바이러스 벡터 및 헤르페스바이러스 벡터), 트랜스포존(transposon)-기반 벡터, 및 인공 염색체(예컨대, 효모 인공 염색체)를 포함한다.

[0716] 일부 구현예에서, 벡터는 진핵세포 벡터, 예컨대, 진핵 세포내에서 벡터로부터 단백질의 발현에 필수적인 성분을 포함하는 벡터일 수 있다. 일부 구현예에서, 벡터는 예컨대, 사이토메갈로바이러스(CMV) 또는 SV40 프로모터를 포함함으로써 단백질 발현을 구동하는 포유동물 벡터일 수 있다.

[0717] 본 발명에 따른 항원-결합 분자의 구성적 폴리펩타이드는 다수의 핵산의 상이한 핵산에 의해, 또는 다수의 벡터의 상이한 벡터에 의해 암호화될 수 있다.

항원-결합 분자 및 폴리펩타이드를 포함/발현하는 세포

[0719] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 항원-결합 분자, 폴리펩타이드 또는 CAR을 포함하거나 이를 발현하는 세포를 제공한다. 또한 본 발명에 따른 핵산, 다수의 핵산, 벡터 또는 다수의 벡터를 포함하거나 이를 발현하는 세포가 제공된다.

[0720] 세포는 진핵 세포, 예컨대, 포유동물 세포일 수 있다. 포유동물은 영장류(레서스(rhesus), 시노몰구스(cynomolgous), 비-사람 영장류 또는 사람) 또는 비-사람 포유동물(예컨대, 토끼, 기니아 피그, 랙트, 마우스 또는 다른 설치류(Rodentia) 목(order)의 임의의 동물 포함), 고양이, 개, 돼지, 양, 염소, 소(암소, 예를 들면, 낙농 암소, 또는 보스(Bos) 목의 임의의 동물), 말(에퀴다에(Equidae) 목의 임의의 동물 포함), 당나귀, 및 비-사람 영장류)일 수 있다.

[0721] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산, 다수의 핵산, 벡터 또는 다수의 벡터를 세포내로 도입시키는 단계를 포함하여, 본 발명에 따른 핵산(들) 또는 벡터(들)을 포함하는 세포를 생산하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 단리된 핵산(들) 또는 벡터(들)을 세포 내로 도입시키는 단계는 형질전환, 형질감염, 전기천공 또는 형질도입(예컨대, 랙트로바이러스 형질도입)을 포함한다.

[0722] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산, 다수의 핵산, 벡터 또는 다수의 벡터를 세포내로 도입시키는 단계를 포함하여, 본 발명에 따른 항원-결합 분자, 폴리펩타이드 또는 CAR을 발현하는/포함하는 세포를 생산하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 방법은 세포에 의한 핵산(들) 또는 벡터(들)의 발현에 적합한 조건 하에서 세포를 배

양하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 시험관내에서 수행된다.

[0723] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 방법에 의해 수득되거나 수득가능한 세포를 제공한다.

항원-결합 분자 및 폴리펩타이드의 생산

[0725] 본 발명에 따른 항원-결합 분자 및 폴리펩타이드는 기술자에게 공지된 폴리펩타이드의 생산 방법에 따라 제조할 수 있다.

[0726] 폴리펩타이드는 화학적 합성, 예컨대, 액체 또는 고체상 합성에 의해 제조될 수 있다. 예를 들면, 펩타이드/폴리펩타이드는 예를 들면, 이의 전문이 본원에 참고로 포함된, 문헌(Chandrudu et al., Molecules (2013), 18: 4373-4388)에 기술된 방법을 사용하여 합성될 수 있다.

[0727] 대안적으로, 항원-결합 분자 및 폴리펩타이드는 재조합 발현에 의해 생산될 수 있다. 폴리펩타이드의 재조합 생산에 적합한 분자 생물학 기술은 둘 다 이의 전문이 참고로 본원에 포함된, 문헌(Green and Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (4th Edition), Cold Spring Harbor Press, 2012, 및 Nat Methods. (2008); 5(2): 135-146)에 제시된 것과 같이, 당해 분야에 잘 공지되어 있다. 항원-결합 분자의 재조합 생산 방법은 또한 둘 다 이의 전문이 본원에 참고로 포함된 문헌(Frenzel et al., Front Immunol. (2013); 4: 217 및 Kunert and Reinhart, Appl Microbiol Biotechnol. (2016) 100: 3451-3461)에 기술되어 있다.

[0728] 일부 경우에, 본 발명의 항원-결합 분자는 하나 이상의 폴리펩타이드 쇄로 구성된다. 이러한 경우에, 항원-결합 분자의 생산은 하나 이상의 폴리펩타이드의 전사 및 해독, 및 항원-결합 분자를 형성하기 위한 폴리펩타이드 쇄의 후속적인 회합을 포함할 수 있다.

[0729] 본 발명에 따른 재조합 생산을 위해, 폴리펩타이드의 발현에 적합한 임의의 세포를 사용할 수 있다. 세포는 원핵세포 또는 진핵세포일 수 있다. 일부 구현예에서 세포는 원핵 세포, 예를 들면, 아르카에아(archaea) 또는 세균의 세포이다. 일부 구현예에서 세균은 그램-음성 세균, 예를 들면, 엔테로박테리아세아에 과(family)의 세균, 예를 들면, 에스케리키아 콜라(Escherichia coli)일 수 있다. 일부 구현예에서, 세포는 진핵 세포, 예를 들면, 효모 세포, 식물 세포, 곤충 세포 또는 포유동물 세포 예컨대, CHO, HEK(예컨대, HEK293), HeLa 또는 COS 세포이다.

[0730] 일부 경우에, 일부 원핵 세포는 진핵 세포와 동일한 폴딩 또는 해독 후 변형을 허용하지 않으므로 세포는 원핵 세포가 아니다. 또한, 매우 높은 발현 수준은 진핵세포내에서 가능하며 단백질은 적절한 태그를 사용하여 진핵 세포로부터 정제하기에 보다 용이할 수 있다. 단백질의 배지내로의 분비를 향상시키는 구체적인 플라스미드를 또한 이용할 수 있다.

[0731] 일부 구현예에서 폴리펩타이드는 예컨대, 이의 전문이 본원에 참고로 포함된, 문헌(Zemella et al. Chembiochem (2015) 16(17): 2420-2431)에 기술된 시스템을 사용하는 것에 따라 세포-유리된-단백질 합성(CFPS)에 의해 제조될 수 있다.

[0732] 생산은 목적한 폴리펩타이드(들)을 발현하도록 변형된 진핵세포의 배양 또는 발효를 포함할 수 있다. 배양 또는 발효는 영양분, 공기/산소 및/또는 성장 인자의 적절한 공급물 제공하는 생물반응기 속에서 수행할 수 있다. 분비된 단백질은 세포로부터 배양 배지/발효 브로쓰(fermentation broth)를 분배하는 단계, 단백질 내용물을 추출하는 단계, 및 개개 단백질을 분리하여 분비된 폴리펩타이드(들)을 단리하는 단계에 의해 수집될 수 있다. 배양, 발효 및 분비 기술은 당해 분야의 기술자에게 잘 공지되어 있으며, 예를 들면, 문헌(Green and Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual(4th Edition; 상기 본원에 참고로 포함됨))에 기술되어 있다.

[0733] 생물반응기는 하나 이상의 용기를 포함하며 여기서 세포가 배양될 수 있다. 생물반응기 속의 배양은 반응기 내로의 반응물의 연속적인 유동, 및 반응기로부터 배양된 세포의 연속적인 유동과 함께 연속적으로 일어날 수 있다. 또한, 배양은 뱃치(batch)에서 일어날 수 있다. 생물반응기는 환경 조건, 예를 들면, pH, 산소, 용기 내로 및 외로의 유동 속도, 및 용기내에서의 교반을 모니터하고 제어함으로써 최적의 조건을 배양되는 세포에 대해 제공한다.

[0734] 목적한 항원-결합 분자/폴리펩타이드(들)을 발현하는 세포를 배양한 후, 목적한 폴리펩타이드(들)을 단리할 수 있다. 당해 분야에 공지된 세포로부터 단백질을 분리하기 위한 임의의 적합한 방법을 사용할 수 있다. 폴리펩타이드를 단리하기 위하여, 영양 배지로부터 세포를 분리하는 것이 필수적일 수 있다. 폴리펩타이드(들)이 세포로부터 분비된 경우, 세포를 분비된 목적한 폴리펩타이드(들)을 함유하는 배양 배지로부터 원심분리하여 분리하는 것이 필요할 수 있다. 목적한 폴리펩타이드(들)이 세포내에서 수집되는 경우, 단백질 단리를 세포 배양 배지로

부터 세포를 분리하기 위한 원심분리, 분해 완충액을 사용한 세포 펠렛(pellet)의 처리, 및 예컨대, 초음파파쇄(sonification), 신속한 동결-해동 또는 삼투압 분리에 의한 세포 파괴를 포함할 수 있다.

[0735] 다른 단백질 및 비-단백질 구성성분을 함유할 수 있는, 상층액 또는 배양 배지로부터 목적한 폴리펩타이드(들)을 단리하는 것이 바람직할 수 있다. 상층액 또는 배양 배지로부터 단백질 구성성분을 분리하기 위한 일반적인 접근법은 침전에 의한다. 상이한 용해도의 단백질은 황산암모늄과 같은 상이한 농도의 침전체에서 침전된다. 예를 들면, 저농도의 침전체에서, 수용성 단백질이 추출된다. 따라서, 상이한 증가하는 농도의 침전체를 가함으로써, 상이한 용해도의 단백질이 구별될 수 있다. 투석을 후속적으로 사용하여 분리된 단백질로부터 황산암모늄을 제거할 수 있다.

[0736] 상이한 단백질을 구별하는 다른 방법, 예를 들면, 이온 교환 크로마토그래피 및 크기 크로마토그래피가 당해 분야에 공지되어 있다. 이는 침전에 대한 대안으로서 사용될 수 있거나, 침전에 대해 후속적으로 수행될 수 있다.

[0737] 목적한 폴리펩타이드(들)이 배양물로부터 단리되면, 폴리펩타이드(들)을 농축시키는 것이 바람직하거나 필요할 수 있다. 단백질을 농축시키는 다수의 방법, 예를 들면, 한외여과 또는 동결건조가 당해 분야에 공지되어 있다.

조성물

[0739] 본 발명은 본원에 기술된 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산, 발현 벡터 및 세포를 포함하는 조성물을 또한 제공한다.

[0740] 본원에 기술된 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산, 발현 벡터 및 세포는 임상 용도를 위한 약제학적 조성물 또는 의약으로서 제형화될 수 있으며 약제학적으로 허용되는 담체, 희석제, 부형제 또는 보조제를 포함할 수 있다. 조성물은 주사 또는 주입을 포함할 수 있는 국소, 비경구, 전신계, 강내(intracavitory), 정맥내, 동맥내, 근육내, 척추강내, 안내(intraocular), 결막내, 종양내, 피하, 피내, 척추강내, 경구 또는 경피 투여 경로를 위해 제형화될 수 있다.

[0741] 적합한 제형은 멸균 또는 등장성 매질 속에 항원-결합 분자를 포함할 수 있다. 의약 및 약제학적 조성물은 젤을 포함하는 유체 형태로 제형화될 수 있다. 유체 제형은 인체 또는 동물체의 선택된 영역에 주사 또는 주입(예컨대, 카테터(catheter)를 통해)에 의해 투여용으로 제형화될 수 있다.

[0742] 일부 구현예에서 조성물은 예컨대, 혈관 또는 종양내로 주사 또는 주입을 위해 제형화된다.

[0743] 본원에 기술된 방법에 따라서 방법은 또한 약제학적으로 유용한 조성물의 생산을 위해 제공되며, 이러한 생산 방법은 다음으로부터 선택된 하나 이상의 단계를 포함할 수 있다: 본원에 기술된 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산(또는 이의 다수), 발현 벡터(또는 이의 다수) 또는 세포를 생산하는 단계; 본원에 기술된 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산(또는 이의 다수), 발현 벡터(또는 이의 다수) 또는 세포를 단리하는 단계; 및/또는 본원에 기술된 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산(또는 이의 다수), 발현 벡터(또는 이의 다수) 또는 세포를 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제(adjuvant), 부형제 또는 희석제와 혼합시키는 단계.

[0744] 예를 들면, 본원에 기술된 본 발명의 추가의 양태는 질환/상태(예컨대, 암)의 치료시 사용하기 위한 의약 또는 약제학적 조성물을 제형화하거나 생산하는 방법에 관한 것이며, 이러한 방법은 본원에 기술된 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산(또는 이의 다수), 발현 벡터(또는 이의 다수) 또는 세포를 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제, 부형제 또는 희석제와 혼합시킴으로써 약제학적 조성물 또는 의약을 제형화하는 단계를 포함한다.

치료학적 및 예방학적 적용

[0746] 본원에 기술된 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산, 발현 벡터, 세포 및 조성물은 치료학적 및 예방학적 방법에서의 용도가 발견된다.

[0747] 본 발명은 의학적 치료 또는 예방 방법에서 사용하기 위한 본원에 기술된 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산(또는 이의 다수), 발현 벡터(또는 이의 다수), 세포 또는 조성물을 제공한다. 또한 질환 또는 상태의 치료 또는 예방용 의약의 제조시 본원에 기술된 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산(또는 이의 다수), 발현 벡터(또는 이의 다수), 세포 또는 조성물의 용도가 제공된다. 대상체에게 치료학적으로 또는 예방학적으로 유효한 양의 본원에 기술된 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산(또는 이의 다수), 발현 벡터(또는 이의 다수), 세포 또는 조성물을 투여함을 포함하는, 질환 또는 상태의 치료 또는 예방 방법이 또한 제공된다.

[0748] 방법은 질환/상태의 발달 또는 진행을 감소시키거나, 질환/상태의 증상의 완화 또는 질환/상태의 병리학에 있어

서의 감소에 효과적일 수 있다. 방법은 질환/상태의 진행을 예방하는데, 예컨대, 질환/상태의 악화를 예방하거나 이의 발달 속도를 지연시키는데 효과적일 수 있다. 일부 구현예에서 방법은 질환/상태에 있어서의 개선, 예컨대, 질환/상태의 증상에 있어서의 감소 또는 질환/상태의 중증도/활성의 일부 다른 관련성에 있어서의 감소를 초래할 수 있다. 일부 구현예에서 방법은 후기 단계(예컨대, 만성 단계 또는 전이)로의 질환/상태의 발달을 예방할 수 있다.

[0749] 본 발명의 물품은 CD47을 발현하는 세포의 수 및/또는 활성에 있어서의 감소로부터 치료학적 또는 예방학적 이점을 유도할 수 있는 임의의 질환/상태의 치료/예방을 위해 사용될 수 있음을 인지하게 될 것이다. 예를 들면, 질환/상태는 CD47을 발현하는 세포가 병리학적으로 연루된 질환/상태, 예컨대, CD47을 발현하는 세포의 증가된 수/비율이 질환/상태의 발병, 발달 또는 진행과 긍정적으로 관련된 질환/상태, 및/또는 질환/상태의 하나 이상의 증상의 중증도, 또는 이에 대해 CD47을 발현하는 세포의 증가된 수/비율이 질환/상태의 발병, 발달 또는 진행을 위한 위험 인자인 질환/상태일 수 있다.

[0750] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라서 치료될/예방될 질환/상태는 예컨대, 질환/상태의 부재하에서 CD47을 발현하는 세포의 수/비율/활성과 비교하여, CD47을 발현하는 세포의 수/비율/활성에 있어서의 증가에 의해 특징화된 질환/상태이다.

[0751] 일부 구현예에서 치료될/예방될 질환/상태는 암이다. CD47은 모든 사람 암에 의해 발현된 세포-표면 마커인 것으로 제안되어 왔다(Willingham et al. Proc Natl Acad Sci U S A. (2012) 109(17): 6662-6667).

[0752] 암은 임의의 원치않는 세포 종식(또는 원치않는 세포 종식에 의해 자체적으로 나타나는 임의의 질환), 신생물 또는 종양일 수 있다. 암은 양성 또는 악성일 수 있으며, 1차 또는 2차(전이성)일 수 있다. 신생물 또는 종양은 세포의 임의의 비정상적인 성장 또는 종식일 수 있으며 임의의 조직내에 위치할 수 있다. 암은 예컨대, 부신, 부신 수질, 항문, 맹장, 방광, 혈액, 골, 골수, 뇌, 유방, 맹장, 중추 신경계(뇌를 포함하거나 배제함), 소뇌, 자궁경관, 결장, 십이지장, 자궁내막, 상피 세포(예컨대, 신장 상피), 담낭, 식도, 교질 세포, 심장, 회장, 공장(jejenum), 신장, 누선(lacrimal glad), 후두, 간, 폐, 림프, 림프절, 림프모구, 턱, 종격, 장간막, 자궁근, 비인두, 장막, 구강, 난소, 췌장, 귀밑 샘, 말초 신경계, 복막, 흉막, 전립샘, 타액선, S상 결장(sigmoid colon), 피부, 소장, 연조직, 비장, 위, 고환, 가슴샘, 갑상선, 혀, 편도선, 기도(trachea), 자궁, 음문, 백혈구 세포로부터 유래된 조직/세포일 수 있다.

[0753] 치료될 종양은 신경 또는 비-신경계 종양일 수 있다. 신경계 종양은 중추 또는 말초 신경계, 예컨대, 신경교종, 수모세포종, 수막종, 신경섬유종, 뇌질피복 세포종(ependymoma), 신경집종, 신경섬유육종, 성상세포종 및 회소돌기아교세포종에서 기원할 수 있다. 비-신경계 암/종양은 임의의 다른 비-신경 조직에서 기원할 수 있으며, 예를 들면, 흑색종, 중피종, 림프종, 골수종, 백혈병, 비-호지킨 림프종(Non-Hodgkin's lymphoma: NHL), 호지킨 림프종, 만성 골수성 백혈병(CML), 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군(myelodysplastic syndrome: MDS), 피하 T-세포 림프종(CTCL), 만성 림프성 백혈병(CL), 간종양, 표피모양 암종(epidermoid carcinoma), 전립선 암종, 유방암, 폐암, 결장암, 난소암, 췌장암, 흉선 암, NSCLC, 혈액 암 및 육종을 포함한다.

[0754] 치료/예방은 다음 중 하나 이상을 목표로 할 수 있다: 암의 증상의 발병/진행의 지연/예방, 암의 증상의 중증도의 감소, 암의 세포의 생존/성장/침입/전이의 감소, 암 세포의 수의 감소 및/또는 대상체의 생존 증가.

[0755] 일부 구현예에서, 치료/예방될 암은 CD47을 발현하는 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 치료/예방될 암은 CD47에 대해 양성인 암이다. 일부 구현예에서, 암은 CD47을 과-발현한다. CD47의 과발현은 동일한 비-암성 세포/비-종양 조직에 의한 발현 수준보다 더 높은 CD47의 발현 수준을 검출함으로써 측정할 수 있다.

[0756] CD47 발현은 임의의 적합한 수단으로 측정할 수 있다. 발현은 유전자 발현 또는 단백질 발현일 수 있다. 유전자 발현은 예컨대, CD47을 암호화하는 mRNA의 검출, 예를 들면, 정량적 실시간 PCR(qRT-PCR)에 의해 측정할 수 있다. 단백질 발현은 예컨대, CD47의 검출에 의해, 예를 들면, 항체-기반 방법에 의해, 예를 들면, 웨스턴 블로트, 면역조직화학, 면역세포화학, 유동 세포분석, 또는 ELISA에 의해 측정할 수 있다.

[0757] 일부 구현예에서, 환자는 예컨대, 대상체로부터 수득된 샘플에서, CD47을 발현하거나, CD47을 과발현하는 암의 검출을 기반으로 하여 본원에 기술된 치료를 위해 선택될 수 있다.

[0758] 다양한 암의 발달 및 진행시 CD47의 역할은 예컨대, 문헌(Sick et al. Br J Pharmacol. (2012) 167(7): 1415-1430 and Chao et al., Curr Opin Immunol. 2012 Apr; 24(2): 225-232(본원에 이의 전문이 참고로 포함됨)에서 검토된다. 상승된 CD47 발현은 수개의 암에 대한 음성 예후성 지시인자(negative prognostic indicator)이며, 암 세포의 사멸을 감소시키고 암 세포의 증식, 이주 및/또는 침입을 증가시킴으로써 암 발달/진행에 기여할 수

있다. CD47은 선천성 대식구 및 NK 세포-매개된 항암 반응을 억제하는 것으로 밝혀졌다(Soto-Pantoja et al., Expert Opin Ther Targets. (2013) 17(1): 89-103, 이는 이의 전문이 본원에 참고로 포함되어 있다).

[0759] CD47은 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 골수성 백혈병(CML), 급성 림프아구성 림프종(ALL), 비-호지킨 림프종(NHL), 다발 골수종(MM), 방광암, 뇌암 및 난소암 세포에 의해 발현된다. 문현(Willingham et al. Proc Natl Acad Sci U S A. (2012) 109(17): 6662-6667)은 난소, 유방, 결장, 방광, 교아세포종, 간세포 암종, 및 전립선 종양의 세포에서 CD47의 발현을 보고하였으며, CD47은 비-소세포 폐암(NSCLC; Zhao et al., Sci Rep. (2016) 6: 29719) 및 흑색종(Ngo et al., Cell Reports (2016) 16, 1701-1716)에서 종양 침입 및 전이를 증진시키는 것으로 최근에 밝혀졌다.

[0760] 따라서, 일부 구현예에서 본 발명에 따라 치료/예방될 암은 다음으로부터 선택된다: 혈액 악성암, 골수 혈액 악성종양, 림프아구 혈액 악성 종양, 골수이형성 증후군(MDS), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 골수성 백혈병(CML), 급성 림프모구 백혈병(ALL), 비-호지킨 림프종(NHL), 다발 골수종(MM), 방광암, 뇌암, 교아세포종, 난소암, 유방암, 결장암, 간암, 간세포 암종, 전립선암, 폐암, 비-소세포 폐암(NSCLC), 피부암 및 흑색종.

[0761] CD47은 모든 특정화된 AML 세포주에서 고도로 발현되며, 따라서 항원 손실의 위험을 감소시키는 기능적 역할을 담당하므로 AML에 대한 특히 매력적인 치료 표적이다. 간에서 조직-잔류성 대식구의 거대 집단(Kupffer 세포)은 혈액학적 악성종양에 대한 매력적인 치료 메카니즘을 나타내며, 대식구-유래된 악성 세포의 청소는 적응 면역 시스템에 대한 신생-항원 표시를 위한 추가의 경로를 제공한다.

[0762] CD47은 또한 자가면역 질환, 염증 질환, 허혈-재판류 손상(IRI) 및 심혈관 질환의 병리학과 관련되어 있다(참고: 예컨대, Soto-Pantoja et al., Expert Opin Ther Targets. (2013) 17(1): 89-103). CD47-SIRPα 축은 제I형 당뇨병과 관련되어 있다(Dugas et al., J Autoimmun. (2010) 35(1):23-32). 트롬보스폰딘-1은 혈관계 전체에서 산화질소 신호전달을 억제하기 위해 CD47을 통해 작용하는 것으로 밝혀졌으며, TSP1-CD47 상호작용의 차단은 조직 허혈을 완화시키고(Isenberg et al., Arterioscler Thromb Vasc Biol. (2008) 28(4): 615-621) 허혈-재판류 손상(IRI)을 감소시킨다(Xiao et al., Liver Transpl. (2015) 21(4): 468-477).

[0763] 따라서, 일부 구현예에서 치료/예방될 질환/장애는 암, 자가면역 질환(예컨대, 제I형 당뇨병), 염증 질환, 허혈-재판류 손상(IRI) 또는 심혈관 질환이다.

[0764] 본 발명의 물품의 투여는 바람직하게는 "치료학적으로 유효한" 또는 "예방학적으로 유효한" 양이며, 이는 대상체에게 치료학적 또는 예방학적 이점을 나타내기 위해 충분하다. 투여된 실제 양, 및 투여 속도 및 기간은 질환/상태의 특성 및 중증도 및 투여된 특수한 물품에 의존할 것이다. 치료의 처방, 예컨대, 투여량에 있어서의 결정 등은 일반 숙련가 및 다른 의사의 책임하에 있으며 전형적으로 치료될 질환/장애, 개인 대상체의 상태, 전달부위, 투여 방법 및 숙련의에게 공지된 다른 인자를 고려한다. 상기 언급한 기술 및 프로토콜의 예는 문헌(Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition, 2000, pub. Lippincott, Williams & Wilkins)에서 찾을 수 있다.

[0765] 투여는 단독으로 또는 다른 치료(treatment)와 함께 치료될 상태에 따라 동시에 또는 순차적으로 이루어질 수 있다. 본원에 기술된 항원-결합 분자 또는 조성물 및 치료제(therapeutic agent)는 동시 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0766] 일부 구현예에서, 방법은 예컨대, 암의 치료/예방을 위한 추가의 치료적 또는 예방적 개입(intervention)을 포함한다. 일부 구현예에서, 치료적 또는 예방적 개입은 화학치료요법, 면역치료요법, 방사선치료요법, 수술, 예방접종 및/또는 호르몬 치료요법으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 치료적 또는 예방적 개입은 백혈구성분채집술을 포함한다. 일부 구현예에서 치료적 또는 예방적 개입은 줄기 세포 이식을 포함한다.

[0767] 본 발명의 항원-결합 분자는 방사선치료요법에서 사용하기에 특히 적합하다. CD47의 길항작용은 종양의 방사선 민감성을 증가시키면서, 조사 후 정상 조직의 다양성을 유지하는데 도움을 주는 것으로 이미 밝혀졌다(Maxhimer et al., Science Translational Medicine (2009) 1(3): 3ra7).

[0768] 동시 투여는 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산(또는 이의 다수), 발현 벡터(또는 이의 다수), 세포 또는 조성물 및 치료제를 함께, 예를 들면, 제제(조합된 제제) 둘 다를 함유하는 약제학적 조성물로서, 또는 서로 및 임의로 동일한 투여 경로를 통해, 예컨대, 동일한 동맥, 정맥 또는 다른 혈관으로 투여 직후의 투여를 지칭한다. 순차적인 투여는 다른 제제의 별도의 투여에 의한 주어진 시간 간격 후 항원-결합 분자/조성물 또는 치료제 중 하나의 투여를 지칭한다. 이것은 일부 구현예에서의 경우이지만, 2개의 제제를 동일한 경로에 의해 투여

하는 것을 필요하지 않다. 시간 간격은 임의의 시간 간격일 수 있다.

[0769] 화학치료요법 및 방사선치료요법 각각은 약물 또는 이온화 방사선(예컨대, X-선 또는 γ -선을 사용하는 방사선 치료요법)을 사용한 암의 치료를 지칭한다. 약물은 화학적 실체, 예컨대, 소 분자 약제, 항생제, DNA 인터컬레이터(intercalator), 단백질 억제제(예컨대, 키나제 억제제), 또는 생물학적 제제, 예컨대, 항체, 항체 단편, 앱타머(aptamer), 핵산(예컨대, DNA, RNA), 웨타이드, 폴리웨타이드, 또는 단백질일 수 있다. 약물은 약제학적 조성물 또는 의약으로서 제형화될 수 있다. 제형은 하나 이상의 약물(예컨대, 하나 이상의 활성제)과 함께 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 희석제, 부형제 또는 담체를 포함할 수 있다.

[0770] 치료는 하나 이상의 약물의 투여를 포함할 수 있다. 약물은 단독으로 또는 다른 치료와 함께 치료될 상태에 따라 동시에 또는 후속적으로 투여될 수 있다. 예를 들면, 화학치료요법은 2개의 약물의 투여를 포함하는 공-치료요법일 수 있으며, 이들 중 하나 이상은 암 치료를 위해 의도될 수 있다.

[0771] 화학치료요법은 하나 이상의 투여 경로, 예컨대, 비경구, 정맥내 주사, 경구, 피하, 피내 또는 종양내로 투여될 수 있다.

[0772] 화학치료요법은 치료 요법에 따라 투여될 수 있다. 치료 요법은 의사 또는 의학 전문가에 의해 제조될 수 있고 치료를 필요로 하는 환자에 맞도록 조정될 수 있는 화학치료요법 투여의 예정된 시간표, 계획, 설계 또는 스케줄일 수 있다. 치료 요법은 다음 중 하나 이상을 나타낼 수 있다: 환자에게 투여하기 위한 화학치료요법의 유형; 각각의 약물 또는 방사선의 용량; 투여 사이의 시간 간격; 각각의 치료의 길이; 임의의 치료 휴일의 수 및 특성 등. 동시-치료요법의 경우, 각각의 약물이 투여되어야 하는 방법을 나타내는 단일 치료 요법이 제공될 수 있다.

[0773] 화학치료요법 약물은 다음으로부터 선택될 수 있다: 아베마시클립, 아비라테론 아세테이트, 아비트렉세이트(메토트렉세이트), 아브락산(파클리탁셀 알부민-안정화된 나노입자 제형), ABVD, ABVE, ABVE-PC, AC, 아칼라브루티닙, AC-T, 아드세트리스(브렌툭시맙 베도틴), ADE, 아도-트라스투주맙 엠탄신, 아드리아마이신(독소루비신 하이드로클로라이드), 아파티닙 디말레이트, 아피니토르(에베롤리무스), 아킨제오(네투피탄트 및 팔로노세트론 하이드로클로라이드), 알다라(이미퀴모드), 알데슬레우킨, 알레켄사(알렉티닙), 알렉티닙, 알렘투주맙, 알림타(페메트렉세드 이나트륨), 알리쿠파(코판리십 하이드로클로라이드), 주사용 알케란(멜팔란 하이드로클로라이드), 알케란 정제(멜팔란), 알록시(팔로노세트론 하이드로클로라이드), 알룬브리그(브리가티닙), 암보클로린(클로람부실), 암보클로린(클로람부실), 아미포스틴, 아미노레볼린산, 아나스트로졸, 아프레피탄, 아레디아(파미드로네이트 이나트륨), 아리미택스(아나스트로졸), 아로마신(액세메스탄), 아라논(넬라라빈), 삼산화비소, 아르제라(오파투무맙), 아스파라기나제 에르위니아 크리산테미, 아테졸리주맙, 아바스틴(베바키주맙), 아벨루맙, 악시캅타젠 실로루셀, 악시티닙, 아자티티딘, 바베키오(아벨루맙), BEACOPP, 베세눔(카르무스틴), 벨레오닥(벨리노스타트), 벨리노스타트, 벤다무스틴 하이드로클로라이드, BEP, 베스폰사(이노투주맙 오조가미신), 베바키주맙, 벡사로텐, 벡스사르(Bexxar)(토시투모맙 및 요오드 I 131 노시투모맙), 비칼루타미드, BiCNU(카르무스틴), 블레오마이신, 블리나투모맙, 블린사이토(Blincyto)(블리나투모맙), 보르테조맙, 보설리프(보수티닙), 보수티닙, 브렌툭시맙 베도틴, 브리가티닙, BuMel, 부설판, 부설페스(부설판), 카바지탁셀, 카보메티스(카보잔티닙-S-말레이트), 카보잔티닙-S-말레이트, CAF, 칼렌스(아칼라브루티닙), 캄페쓰(Campath)(알렘투주맙), 캄프토사르(이리노테칸 하이드로클로라이드), 카페시타빈, CAPOX, 카락(플루오로우라실-국소), 카르보플라틴, 카르보플라틴-탁솔(CARBOPLATIN-TAXOL), 카르필조맙, 카르무브리스(카르무스틴), 카르무스틴, 카르무스틴 이식체, 카소텍스(비칼루타미드), CEM, 세리티닙, 세루비딘(독소루비신 하이드로클로라이드), 세르바릭스(재조합 HPV 2가 백신), 세툭시맙, CEV, 클로람부실, 클로람부실-프레드니손(CHLORAMBUCIL-PREDNISONE), CHOP, 시스플라틴, 클라드리빈, 클라펜(사이클로포스파미드), 클로파라빈, 클로파렉스(클로파라빈), 클로라르(Clolar)(클로파라빈), CMF, 코비메티닙, 코메트리크(카보잔티닙-S-말레이트), 코판리십 하이드로클로라이드, COPDAC, COPP, COPP-ABV, 코스메겐(닥티노마이신), 코텔릭(코비메티닙), 크리조티닙, CVP, 사이클로포스파미드, 사이포스(Cyfos)(이포스파미드), 사이람자(라무시루맙), 사이타라빈, 사이타라빈 리포좀, 사이토사르-U(사이타라빈), 사이톡산(사이클로포스파미드), 다브라페닙, 다카르바진, 다코겐(데시타빈), 닥티노마이신, 다라투무맙, 다르겔렉스(다라누무맙), 다사티닙, 다우노루비신 하이드로클로라이드, 다우노루비신 하이드로클로라이드 및 사이타라빈 리포좀, 텍시타빈, 테피브로티드 나트륨, 테피렐리오(테피브로타이드 나트륨), 테가렐릭스, 테니류킨 디프티톡스, 테노수맙, 테포시트(DepoCyt)(사이타라빈 리포좀), 텍사메타손, 텍스라족산 하이드로클로라이드, 디누툭시맙, 도세탁셀, 독실(독소루비신 하이드로클로라이드 리포좀), 독소루비신 하이드로클로라이드, 독소루비신 하이드로클로라이드 리포좀, Dox-SL(독소루비신 하이드로클로라이드 리포좀), DTIC-도메(Dome)(다카르바진), 두르발루맙, 에푸텍스(플루오로우라실-국소), 엘릭텍(라스부리카제), 엘렌스(에

피루비신 하이드로클로라이드), 엘로투주맙, 엘록사틴(옥살리플라틴), 엘트롬보팩 올라민(Eltrombopag Olamine), 에멘드(아프레피탄), 앰플리시티(엘로투주맙), 에나시데닙 메실레이트, 엔줄루타미드, 에피루비신 하이드로클로라이드, EPOCH, 에르비톡스(세톡시맙), 에리불린 메실레이트, 에리벳지(Erivedge)(비스모데깁), 에를로티닙 하이드로클로라이드, 에르위나제(Erwinaze)(아스파라기나제 에르위니아 크리산테미), 에티올(아미포스틴), 에토포포스(에토포시드 포스페이트), 에토포시드, 에토포시드 포스페이트, 에바세트(독소루비신 하이드로클로라이드 리포좀), 에베롤리무스, 에비스타(락록시펜 하이드로클로라이드), 에보멜라(멜팔란 하이드로클로라이드), 엑세메스탄, 5-FU(플루오로우라실 주사), 5-FU(플루오로우라실-국소), 파레스톤(토레미펜), 파리닥(파노비노스타트), 파슬로덱스(풀베스트란트), FEC, 페마라(레트로졸), 필그라스팀, 플루다라(플루다라빈 포스페이트), 플루다라빈 포스페이트, 플루오로플렉스(플루오로우라실-국소), 플루오로우라실 주사, 플루오로우라실-국소, 플루타미드, 폴렉스(메토트렉세이트), 폴렉스 PFS(메토트렉세이트), 폴피리(FOLFIRI), 폴피리-베바키주맙(FOLFIRI-BEVACIZUMAB), 폴피리-세톡시맙(FOLFIRI-CETUXIMAB), 폴피리녹스(FOLFIRINOX), 폴폭스(FOLFOX), 폴로틴(프랄라트렉세이트), FU-LV, 폴베스트란트, 가르다실(재조합 HPV 4가 백신), 가르다실 9(재조합 HPV 9가 백신), 가지바(오비누투주맙), 게피티닙, 켐시타빈 하이드로클로라이드, 켐시타빈-시스플라틴(GEMCITABINE-CISPLATIN), 켐시타빈-옥살리플라틴(GEMCITABINE-OXALIPLATIN), 켐투주맙 오조가미신, 켐자르(켐시타빈 하이드로클로라이드), 질로트리프(아파티닙 디말레이이트), 글리벡(이마티닙 메실레이트), 글리아델(카르무스틴 이식체), 글리아델 웨이퍼(Gliadel wafer)(카르무스틴 이식체), 글루카르피다제, 고세렐린 아세테이트, 할라벤(에리불린 메실레이트), 헤만게울(프로프라놀롤 하이드로클로라이드), 헤르셉틴(트라스투주맙), HPV 2가 백신, 재조합체, HPV 9가 백신, 재조합체, HPV 4가 백신, 재조합체, 하이캄틴(토포테칸 하이드로클로라이드), 하이드레아(하이드록시우레아), 하이드록시우레아, 하이퍼-CVAD, 이브란스(팔보기클립), 이브리투모맙 티옥세탄, 이브루티닙, ICE, 이클루식(Iclusig)(포나티닙 하이드로클로라이드), 이다마이신(이다루비신 하이드로클로라이드), 이다루비신 하이드로클로라이드, 이델랄리십, 이드히파(에나시데닙 메실레이트), 이펙스(이포스파미드), 이포스파미드, 이포스파미듐(이포스파미드), IL-2(알데스류킨), 이마티닙 메실레이트, 임브루비카(이브루티닙), 임핀지(두르발루맙), 이미퀴모드, 임플리긱(Imlygic)(칼리모겐 라헤르파레프벡(Talimogene Laherparepvec)), 인라이타(Inlyta)(악시티닙), 이노투주맙 오조가미신, 인터페론 알파-2b, 재조합체, 인터루킨-2(알데스류킨), 인트론 A(재조합 인터페론 알파-2b), 요오드 I 131 토시투모맙 및 토시투모맙, 이필리무맙, 이레싸(Iressa)(게피티닙), 이리노테칸 하이드로클로라이드, 이리노테칸 하이드로클로라이드 리포좀, 이스토닥스(로미뎁신), 익사베필론, 익사조닙 시트레이트, 익셈프라(익사베필론), 자카피(Jakafi)(툭솔리티닙 포스페이트), JEB, 제브타나(카바지탁셀), 카드실라(Kadcyla)(아도-트라스투주맙 엠탄신), 케옥시펜(랄록시펜 하이드로클로라이드), 케피반스(팔리페르민), 키트루다(펩브롤리주맙), 키스콸리(Kisqali)(리보키클립), 킴리아흐(Kymriah)(티사겐레클류셀), 카이프롤리스(카르필조닙), 판레오타이드 아세테이트, 라파티닙 디토실레이트, 라르트루보(올라라투맙), 레날리도미드, 렌바티닙 메실레이트, 렌비마(렌바티닙 메실레이트), 레트로졸, 류코보린 칼슘, 류케란(클로람부실), 류프롤라이드 아세테이트, 류스타틴(클라드리빈), 레볼란(아미노레볼린산), 린폴리진(클로람부실), 리포독스(LipoDox)(독소루비신 하이드로클로라이드 리포좀), 로무스틴, 론수르프(트리플루리딘 및 티피라실 하이드로클로라이드), 루프론(류프롤라이드 아세테이트), 루프론 데포트(depot)(류프롤라이드 아세테이트), 루프론 데포트-페드(Lupron Depot-Ped)(류프롤라이드 아세테이트), 린파르자(올라파립), 마르퀴보(빈크리스틴 설레이트 리포좀), 마툴란(프로카르바진 하이드로클로라이드), 메클로르에타민 하이드로클로라이드, 메게스트롤 아세테이트, 메카니스트(트라메티닙), 멜팔란, 멜팔란 하이드로클로라이드, 머캅토푸린, 메스나, 메스넥스(메스나), 메타졸라스톤(테모졸로마이드), 메토트렉세이트, 메토트렉세이트 LPF(메토트렉세이트), 메틸날트렉손 브로마이드, 맥세이트(메토트렉세이트), 맥세이트(Mexate)-AQ(메토트렉세이트), 미도스타우린, 미토마이신 C, 미톡산트론 하이드로클로라이드, 미토지트렉스(미토마이신 C), MOPP, 모조빌(플래릭사포르), 무스타르겐(메클로르에타민 하이드로클로라이드), 무타마이신(미토마이신 C), 마일래란(부설판), 마이로사르(아자시티딘), 마일로타르그(Mylotarg)(켐투주맙 오조가미신), 나노입자 파클리탁셀(파클리탁셀 알부민-안정화된 나노입자 제형), 나벨빈(비노렐빈 타르트레이트), 니시투무맙, 넬라라빈, 네오사르(사이클로스포파미드), 네라티닙 말레에이트, 네릴린스(Nerlynx)(네라티닙 말레에이트), 네투피단트 및 팔로노세트론 하이드로클로라이드, 놀라스타(페그필그라스팀), 뉴포겐(필그라스팀), 넥사바르(소라페닙 토실레이트), 닐란드론(닐루타미드), 닐로티닙, 닐루타미드, 닌라로(Ninlaro)(익사조닙 시트레이트), 니라파립 토실레이트 일수화물, 니볼루맙, 놀바넥스(타목시펜 시트레이트), 엔플레이트(Nplate)(로미프로스팀), 오비누투주맙, 오동조(소나데깁), OEPAP, 오파투무맙, OFF, 올라파립, 올라라투맙, 오마세탁신 메페석시세이트, 온카스파르(페가스파르가제), 온단세트론 하이드로클로라이드, 오니바이드(Onivyde)(이리노테칸 하이드로클로라이드 리포좀), 온탁(데니류킨 디프티톡스), 옵디보(니볼루맙), OPPA, 오시메르티닙, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 파클리탁셀 알부민-안정화된 나노입자 제형, PAD, 팔보시클립, 팔리페르민, 팔로노세트론 하이드로클로라이드, 팔로노세트론 하이드로클로라이드 및 네투피탄트,

파미드로네이트 이나트륨, 파니투무맙, 파노비노스타트, 파라플라트(카르보플라틴), 파라플라틴(카르보플라틴), 파조파닙 하이드로클로라이드, PCV, PEB, 페가스파르가제, 페그필그라스팀, 페그인터페론 알파-2b, PEG-인트론(페그인터페론 알파-2b), 펜브롤리주맙, 페메트렉세드 이나트륨, 페르제타(Perjeta)(페르투주맙), 페르투주맙, 플라티놀(시스플라틴), 플라티놀-AQ(시스플라틴), 플레릭시포르, 포말리도미드, 포말리스트(포말리도미드), 포나티닙 하이드로클로라이드, 포르트라짜(Portrazza)(네시투무맙), 프랄라트렉세이트, 프레드니손, 프로카르바진 하이드로클로라이드, 프롤류킨(알데스루킨), 프롤리아(데노수맙), 프로막타(엘트롬보팩 올라민), 프로프로파놀룰 하이드로클로라이드, 프로벤지(시풀류셀-T), 푸리네틀(머캅토푸린), 푸릭산(머캅토푸린), [항목 없음(No Entries)], 라듐 223 디클로라이드, 랄록시펜 하이드로클로라이드, 라무시루맙, 라스부리카제, R-CHOP, R-CVP, 재조합 사람 과필로마바이러스(HPV) 2가 백신, 재조합 사람 과필로마바이러스(HPV) 9가 백신, 재조합 사람 과필로마바이러스(HPV) 4가 백신, 재조합 인터페론 알파-2b, 레고라페닙, 렐리스토르(메틸날프렉손 브로마이드), R-EPOCH, 레블리미드(레닐리도미드), 류마트렉스(메토트렉세이트), 리보키클립, R-ICE, 리툭산(리툭시맙), 리툭산 하이셀라(리툭시맙 및 하이알루로니다제 사람), 리툭시맙, 리툭시맙 및 하이알루로니다제 사람, 롤라피坦트 하이드로클로라이드, 로미펩신, 로미플로스팀, 루비도마이신(다우노루비신 하이드로클로라이드), 루브라카(루카파립 캄실레이트), 루카파립 캄실레이트, 룩솔리티닙 포스페이트, 라이답트(미도스타우린), 스클레로솔 흉막내 에어로졸(Sclerosol Intrapleural Aerosol)(활석), 실툭시맙, 시풀레우셀-T, 소마톨린 데포트(란레오타이드 아세테이트), 소니데깁, 소라페닙 토실레이트, 스프라이셀(Sprycel)(다사티닙), 스탠포드(STANFORD) V, 멀균 활석 분말(활석), 스테리탈크(Steritalc)(활석), 스티바르가(Stivarga)(레고라페닙), 수니티닙 말레이트, 수텐트(수니티닙 말레이트), 실라트론(페그인터페론 알파-2b), 실반트(실툭시맙), 신리보(오마세탁신 메페식시네이트), 타블로이드(티오구아닌), TAC, 타핀라르(다브라페닙), 타그리쏘(Tagrisso)(오시메르티닙), 활석, 탈리모겐 라헤르파레프백, 타목시펜 시트레이트, 타라빈 PFS(사이타라빈), 타르세바(에를로니팀 하이드로클로라이드), 타르그레틴(벡사로텐), 타시그나(닐로티닙), 탁솔(파클리탁셀), 탁소테레(도세탁셀), 테센트리크(아테졸리주맙), 테모다르(테모졸로마이드), 테모졸로마이드, 템시룰리무스, 탈리도마이드, 탈로미드(탈리도마이드), 티오구아닌, 티오텐파, 티사겐레클류셀, 톨락(플루오로우라실-국소), 토포테칸 하이드로클로라이드, 토헤미펜, 토리셀(템시룰리무스), 토시투모맙 및 요오드 I 131 토시투모맙, 토텍트(덱스라족산 하이드로클로라이드), TPF, 트라베테딘, 트라메티닙, 트라스투무맙, 트레안다(벤다무스틴 하이드로클로라이드), 트리플루리딘 및 티파라실 하이드로클로라이드, 트리세녹스(삼산화비소), 타이케르보(Tykerb)(라파티닙 디토실레이트), 유니툭신(디누툭시맙), 우리딘 트리아세테이트, VAC, 발루비신, 발스타(발루비신), 반데타닙, VAMP, 바루비(롤라피坦트 하이드로클로라이드), 벡티빅스(파니투무맙), VeIP, 벨반(빈블라스틴 설페이트), 벨케이드(보르테조맙), 벨사르(빈블라스틴 설페이트), 베무라페닙, 벤클렉타(베네틱클락스), 베네토클락스, 베르제니오(아베마키클립), 비아두르(류플로라이드 아세테이트), 비다자(아자시티딘), 빈블라스틴 설페이트, 빈카사르 PFS(빈크리스틴 설페이트), 빈크리스틴 설페이트, 빈크리스틴 설페이트 리포惆, 비노렐빈 타르트레이트, VIP, 비스모데깁, 비스토가르드(우리딘 트리아세테이트), 보락사제(글루카르피다제), 보리노스타트, 보트리엔트(파조파닙 하이드로클로라이드), 바이세오스(Vyxeos)(다우노루비신 하이드로클로라이드 및 사아타라빈 리포惆), 웰코보린(유코보린 칼슘), 크살코리(Xalkori)(크리조티닙), 크셀로다(카펙시타빈), XELIRI, XELOX, 크세게바(Xgeva)(데노수맙), 크소피고(라듐 223 디클로라이드), 크탄디(Xtandi)(엔잘루타미드), 예르보이(Yervoy)(이필리무맙), 예르스카르타(Yescarta)(악시카브타겐 실로류셀), 온넬리스(트라베테딘), 잘트랩(지브-아플리베르셉트), 자루시오(Zarxio)(필그라스팀), 제줄라(Zejula)(나라파립 토실레이트 일수화물), 젠보라프(베무라페닙), 제발린(이브리투모맙 티옥세탄), 지네카르드(덱스라족산 하이드로클로라이드), 지브-아플리베르셉트, 조프란(온단세트론 하이드로클로라이드), 졸라넥스(고세렐린 아세테이트), 졸레드론산, 졸린자(보리노스타트), 조메타(졸렌드론산), 자이넬리그(이델랄리십), 자이카디아(세리티닙) 및 자이티가(아비라테론 아세테이트).

[0774]

일부 구현예에서 화학치료제는 다음 중 하나 이상으로부터 선택된다: 사이타라빈, 5-아자사이티딘(5-AZA), 발프로산(VPA), 모든-트랜스 레티노산(ATRA), 테시타빈, 나트륨 페닐부티레이트, 하이드로지우레아, 6-머캅토푸린(6-MP), 6-티오구아닌(6-TG), 모세티노스타트(MGCD0103), 파노비노스타트(LBH-589), 로미펩신, 안트라사이클린, 다우노루비신, 다우노마이신, 이다루비신, 클라드리빈(류스타틴, 2-CdA), 미도스타우린, 플루다라빈(플루다라) 및 토포테칸.

[0775]

일부 구현예에서 화학치료제는 히스톤 데아세틸라제(HDAC) 억제제, 예컨대, 문현(Fredly et al., Clin Epigenetics. (2013) 5(1):12)(이의 전문은 본원에 참고로 포함된다)에 기술된 HDAC 억제제이다. 일부 구현예에서 화학치료제는 사이타라빈이다.

[0776]

항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산(또는 이의 다수), 발현 벡터(또는 이의 다수), 세포 또는 조성물을 생산하는 다수의 용량이 또한 제공될 수 있다. 용량 중 하나 이상, 또는 각각은 다른 치료제의 동시 투여 또는

후속적 투여에 의해 동반될 수 있다.

[0777] 다수의 용량은 예정된 시간 간격으로 분리될 수 있으며, 이는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 또는 31일, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개월 중 하나가 되도록 선택될 수 있다. 예로써, 용량은 7, 14, 21 또는 28일마다(플러스(+)) 또는 마이너스(-) 3분, 2, 또는 1일) 1회 제공될 수 있다.

검출 방법

[0779] 본 발명은 또한 CD47, 또는 CD47을 발현하는 세포를 검출하거나, 국재화하거나 영상화하는 방법에 사용하기 위한 본 발명의 물품을 제공한다.

[0780] 본원에 기술된 항원-결합 분자는 CD47에 대한 항원-결합 분자를 포함하는 방법에서 사용될 수 있다. 이러한 방법은 항원-결합 분자 및 CD47의 결합된 복합체의 검출을 포함할 수 있다.

[0781] 따라서, CD47을 함유하는 또는 함유하는 것으로 예측된 샘플을 접촉시키는 단계, 및 항원-결합 분자와 CD47의 복합체의 형성을 검출하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 또한 CD47을 발현하는 세포를 함유하거나, 함유하는 것으로 예측된 샘플을 접촉시키는 단계, 및 항원-결합 분자 및 CD47을 발현하는 세포의 복합체의 형성을 검출하는 단계를 포함하는 방법이 또한 제공된다.

[0782] 면역검정, 예를 들면, 샌드위치 검정, 예컨대, ELISA를 포함하는, 적합한 방법 양식이 당해 분야에 잘 공지되어 있다. 이러한 방법은 항원-결합 분자, 또는 표적(들), 또는 둘다를 본원에 기술된 바와 같은 검출가능한 모이어티, 예컨대, 형광성 표지, 인광성 표지, 발광성 표지, 면역-검출가능한 표지, 방사선표지, 화학물질, 핵산 또는 효소 표지로 표지하는 단계를 포함할 수 있다. 검출 기술은 당해 분야의 기술자에게 잘 공지되어 있으며 표지제와 상응하도록 선택할 수 있다.

[0783] 이러한 유형의 방법은 질환 또는 상태, 예컨대, 암의 진단 및/또는 예후적 평가를 위한 방법을 기준으로 제공할 수 있다. 이러한 방법은 환자 샘플에서 시험관내에서, 또는 환자 샘플의 프로세싱 후 수행될 수 있다. 일단 샘플이 수집되면, 환자는 수행될 시험관내 방법에 대해 존재될 필요가 없으므로, 이러한 방법은 인체 또는 동물체에서 실시되지 않는 것일 수 있다. 일부 구현예에서 방법은 생체내에서 수행된다.

[0784] 샘플 속의 검출은 질환/상태(예컨대, 암)의 진단, 질환/상태에 대한 경향의 목적을 위해, 또는 질환/상태, 예를 들면, 본원에 기술된 질환/상태에 대한 예후(예측)을 제공하기 위해 사용될 수 있다. 진단 또는 예후는 기준(이미 진단된) 질환/상태에 관한 것일 수 있다.

[0785] 이러한 방법은 CD47 또는 CD47을 발현하는 세포 중 하나 이상을, 예컨대, 환자 샘플에서 검출하거나 정량화하는 단계를 포함할 수 있다. 방법이 관련 인자를 정량화하는 단계를 포함하는 경우, 이러한 방법은 진단 또는 예후 평가의 일부로서 표준 또는 참고 값에 대해 예정된 양을 비교하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 다른 진단/예후 시험을 본원에 기술된 것과 함께 사용함으로써 진단 또는 예후의 정확성을 향상시키거나 본원에 기술된 시험을 사용함으로써 수득된 결과를 확인할 수 있다.

[0786] 샘플은 임의의 조직 또는 체액으로부터 취할 수 있다. 샘플은 혈액의 양; 피브린 응괴 및 혈액 세포의 제거 후 수득된 혈액의 유체 부위를 포함할 수 있는 개의1 혈액으로부터 유래된 혈청의 양; 조직 샘플 또는 생검(biposy); 늑막 유액(pleural fluid); 뇌척수 유액(CSF); 또는 상기 개인으로부터 단리된 세포를 포함할 수 있거나 이로부터 유래될 수 있다. 일부 구현예에서, 샘플은 질환/상태(예컨대, 질환의 증상이 나타나거나, 질환/상태의 발병에 포함된 조직 또는 조직들)에 의해 영향받는 조직 또는 조직들로부터 수득되거나 유래될 수 있다.

[0787] 본 발명은 또한 CD47-표적화된 제제를 사용한 치료를 위해 대상체를 선택/계층화(stratifying)하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서 대상체는 본 발명에 따른 치료/예방을 위해 선택되거나, 예컨대, 개인으로부터 수득된 샘플 속에서 CD47, 또는 CD47을 발현하는 세포의 검출/정량화를 기반으로 하여, 이러한 치료/예방으로부터 유리할 수 있는 대상체로서 확인된다.

대상체

[0789] 본원에 기술된 본 발명의 양태에 따른 대상체는 임의의 동물 또는 사람일 수 있다. 대상체는 바람직하게는 포유동물, 보다 바람직하게는 사람이다. 대상체는 비-사람 포유동물일 수 있지만, 보다 바람직하게는 사람이다. 대상체는 남성 또는 여성일 수 있다. 대상체는 환자일 수 있다. 대상체는 치료를 필요로 하는 질환 또는 상태(예컨대, 암)으로 진단될 수 있거나, 이러한 질환/상태를 가진 것으로 예측될 수 있거나, 이러한 질환/상태가 발달

할/결릴(contracting) 위험에 처해있을 수 있다.

[0790] 본 발명에 따른 구현예에서, 대상체는 바람직하게는 사람 대상체이다. 일부 구현예에서, 본원의 발명의 치료학적 또는 예방학적 방법에 따라 치료될 대상체는 암을 가지거나 암으로 발달할 위험이 있는 대상체이다. 본 발명에 따른 구현예에서, 대상체는 이러한 질환/상태의 특정 마커(marker)에 대한 특성화를 기반으로 하는 방법에 따른 치료를 위해 선택될 수 있다.

키트(Kit)

[0792] 본원에 기술된 본 발명의 일부 양태에서 부분의 키트(kit of parts)가 제공된다. 일부 구현예에서 키트는 예정된 양의 본원에 기술된 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산(또는 이의 다수), 발현 벡터(또는 이의 다수), 세포 또는 조성물을 갖는 적어도 하나의 용기를 가질 수 있다.

[0793] 일부 구현예에서, 키트는 본원에 기술된 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산(또는 이의 다수), 발현 벡터(또는 이의 다수), 세포 또는 조성물을 생산하기 위한 물질을 포함할 수 있다.

[0794] 키트는 명시된 질환/상태를 치료하기 위하여 환자에게 투여하기 위한 설명서와 함께, 항원-결합 분자, 폴리펩타이드, CAR, 핵산(또는 이의 다수), 발현 벡터(또는 이의 다수), 세포 또는 조성물을 제공할 수 있다.

[0795] 일부 구현예에서 키트는 예정된 양의 다른 치료제(예컨대, 항-감염제 또는 화학치료요법제)를 갖는 적어도 하나의 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 구현예에서, 키트는 또한 제2의 의약 또는 약제학적 조성물을 포함함으로써 2개의 의약 또는 약제학적 조성물이 동시에 또는 별도로 투여되어 이들은 특수한 질환 또는 상태에 대한 조합된 치료를 제공할 수 있다. 치료제는 또한 종양 또는 혈액에 주사 또는 주입하는데 적합하도록 제형화할 수 있다.

서열 동일성

[0797] 본원에 사용된 바와 같이, "서열 동일성"은 서열을 정렬하고, 필요한 경우, 갭(gap)을 도입한 후, 서열 사이에 서열 동일성의 최대 퍼센트를 달성하기 위해, 참고 서열내 뉴클레오타이드/아미노산 잔기와 동일한 대상체 서열내 뉴클레오타이드/아미노산 잔기의 퍼센트를 지칭한다. 2개 이상의 아미노산 또는 핵산 서열 사이의 서열 동일성 퍼센트를 측정할 목적을 위한 쌍식 및 다중 서열 정렬은 당해 분야의 기술자에게 공지된 다양한 방식으로, 예를 들면, 공공 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예를 들면, ClustalOmega(Soeding, J. 2005, Bioinformatics 21, 951-960), T-coffee (Notredame et al. 2000, J. Mol. Biol. (2000) 302, 205-217), Kalign (Lassmann and Sonnhammer 2005, BMC Bioinformatics, 6(298)) 및 MAFFT (Katoh and Standley 2013, Molecular Biology and Evolution, 30(4) 772-780 소프트웨어를 사용하여 달성할 수 있다. 이러한 소프트웨어를 사용하는 경우, 예컨대, 갭 패널티 및 연장 패널티에 대한 디폴트 매개변수(default parameter)를 바람직하게 사용한다.

[0798]

서열

서열번호	설명	서열
1	사람 CD47 동형 OA3-323 (UniProt: Q08722-1, v1)	MWPLVAALLLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTCNDTVVIPCFTVNMEAQNTEVYVKWKF KGRDIYTFDGAJNKNSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTR EGETIIELKYRVRVSWFSPNENILIVIPIFAILFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVIT VIVIVGAILFVPGESLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVG LSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRKAVEEPLNAFKESKG MMNDE
2	사람 CD47 동형 OA3-293 (UniProt: Q08722-2)	MWPLVAALLLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTCNDTVVIPCFTVNMEAQNTEVYVKWKF KGRDIYTFDGAJNKNSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTR EGETIIELKYRVRVSWFSPNENILIVIPIFAILFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVIT VIVIVGAILFVPGESLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVG LSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRN
3	사람 CD47 동형 OA3-305 (UniProt: Q08722-3)	MWPLVAALLLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTCNDTVVIPCFTVNMEAQNTEVYVKWKF KGRDIYTFDGAJNKNSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTR EGETIIELKYRVRVSWFSPNENILIVIPIFAILFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVIT VIVIVGAILFVPGESLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVG LSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRN
4	사람 CD47 동형 OA3-312 (UniProt: Q08722-4)	MWPLVAALLLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTCNDTVVIPCFTVNMEAQNTEVYVKWKF KGRDIYTFDGAJNKNSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTR EGETIIELKYRVRVSWFSPNENILIVIPIFAILFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVIT VIVIVGAILFVPGESLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVG LSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRKAVEEPLN
5	성숙한 사람 CD47 동형 OA3-323 (UniProt: Q08722-1, v1 19 내지 323 번 위치)	QLLFNKTKSVEFTCNDTVVIPCFTVNMEAQNTEVYVKWKFGRDIYTFDGAJNKNSTVPT DFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTRGETIIELKYRVRVSWFSPN ENILIVIPIFAILFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGESLKN TGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGL SILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRKAVEEPLNAFKESKGMMNDE
6	성숙한 사람 CD47 동형 OA3-293 (UniProt: Q08722-2 19 내지 292 번 위치)	QLLFNKTKSVEFTCNDTVVIPCFTVNMEAQNTEVYVKWKFGRDIYTFDGAJNKNSTVPT DFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTRGETIIELKYRVRVSWFSPN ENILIVIPIFAILFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGESLKN TGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGL SILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRN
7	성숙한 사람 CD47 동형 OA3-305 (UniProt: Q08722-3, 19 내지 305 번 위치)	QLLFNKTKSVEFTCNDTVVIPCFTVNMEAQNTEVYVKWKFGRDIYTFDGAJNKNSTVPT DFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTRGETIIELKYRVRVSWFSPN ENILIVIPIFAILFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGESLKN TGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGL SILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRN
8	성숙한 사람 CD47 동형 OA3-312 (UniProt: Q08722-4 19 내지 311 번 위치)	QLLFNKTKSVEFTCNDTVVIPCFTVNMEAQNTEVYVKWKFGRDIYTFDGAJNKNSTVPT DFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTRGETIIELKYRVRVSWFSPN ENILIVIPIFAILFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGESLKN TGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGL SILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRKAVEEPLN
9	V-형 Ig-유사 도메인 (UniProt: Q08722-1 19 내지 127 번 위치)	QLLFNKTKSVEFTCNDTVVIPCFTVNMEAQNTEVYVKWKFGRDIYTFDGAJNKNSTVPT DFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTRGETII
10	사람 CD47 세포외 영역 1 (UniProt: Q08722-1 19 내지 141 번 위치)	QLLFNKTKSVEFTCNDTVVIPCFTVNMEAQNTEVYVKWKFGRDIYTFDGAJNKNSTVPT DFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTRGETIIELKYRVRVSWFSPN E
11	사람 CD47 막관통 영역 1 (UniProt: Q08722-1 142 내지 162 번 위치)	NILIVIPIFAILFWGQFGI
12	사람 CD47 세포질	KTLKYRSGGMDEKT

[0799]

	영역 1 (UniProt: Q08722-1 163 내지 176 번 위치)	
13	사람 CD47 막관통 영역 2 (UniProt: Q08722-1 177 내지 197 번 위치)	IALLVAGLVITVIVIVGAILF
14	사람 CD47 세포외 영역 2 (UniProt: Q08722-1 198 내지 207 번 위치)	VPGEYSLKNA
15	사람 CD47 막관통 영역 3 (UniProt: Q08722-1 208 내지 228 번 위치)	TGLGLIVTSTGILILLHYYVF
16	사람 CD47 세포질 영역 2 (UniProt: Q08722-1 229 내지 235 번 위치)	STAIGLT
17	사람 CD47 막관통 영역 4 (UniProt: Q08722-1 236 내지 256 번 위치)	SFVIAILVIQVIAYILAVVGL
18	사람 CD47 세포외 영역 3 (UniProt: Q08722-1 257 내지 268 번 위치)	SLCIAACIPMHG
19	사람 CD47 막관통 영역 5 (UniProt: Q08722-1 269 내지 289 번 위치)	PLLISGLSILALAQLLGLVYM
20	사람 CD47 세포질 영역 3 (UniProt: Q08722-1 290 내지 323 번 위치)	KFVASNQKTIQPPRKAVEEPLNAFKESKGMMNDE
21	1-1-A1 및 1-1- A1_BM (UniProt: Q08722-1 56 내지 65 번 위치)에 의해 표적화된 사람 CD47의 영역	VWKWFKGGRDI
22	5-48-A6 및 5-48-D2 (UniProt: Q08722-1 24 내지 34 번 위치) 에 의해 표적화된 사람 CD47의 영역	KTKSVEFTFCN
23	1-1-A1_BM h 중쇄 가변 영역	QVQLQQSGPDLKKPGASVKVSCKVSGYFTNYVIHWRQKPGQGLEWMGYINPYNDGT KSNEKFKGKATLTSKSSTSAYMELSSLTSEDTAVYYCASGGYYTMDYWGGQGTSVTVSS

[0800]

24	1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 중쇄 CDR1	GYTFTNYV
25	1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 중쇄 CDR2	INPYNDGT
26	1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H6, 11A1H8, 11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 중쇄 CDR3	ASGGYYTMDY
27	1-1-A1_BM 중쇄 FR1	QVQLQQSGPDLKKPGASVKVSCKVS
28	1-1-A1_BM 중쇄 FR2	IHWVRQKPGQGLEWMGY
29	1-1-A1_BM 중쇄 FR3	KSNEFKFGKATLSDKSSTSAYMELSSLTSEDTAVYYC
30	1-1-A1_BM 중쇄 FR4	WGQGTSVTVSS
31	1-1-A1_BM 경쇄 가변 영역	DVVMTQTPLSLPVTLGDQASISCRSSQHLEYNSNGYSYLHWYQQRPGQSPQLLIYKISNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADLGYYCSQSTHVPTYFGGGTKLEIK
32	1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H10, 11A1H11 경쇄 CDR1	QHLEYNSNGYSY
33	1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H11 경쇄 CDR2	KIS
34	1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5 11A1H6, 11A1H7 11A1H8, 11A1H9 11A1H10 경쇄 CDR3	SQSTHVPYT
35	1-1-A1_BM 경쇄 FR1	DVVMTQTPLSLPVTLGDQASISCRSS
36	1-1-A1_BM 경쇄 FR2	LHWYQQRPGQSPQLLIY
37	1-1-A1_BM 경쇄 FR3	NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADLGYYC
38	1-1-A1_BM 경쇄 FR4	FGGGTKLEIK
39	1-1-A1 중쇄 가변 영역	EVQLQQSGPDLVKPGASVKMSCKASGYTFTNYVIHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGT SNEFKFGKATLSDKSSTSAYMELSSLTSEDSAVYYCASGGYYTMDYWGQGTSVTVSS
40	1-1-A1 중쇄 FR1	EVQLQQSGPDLVKPGASVKMSCKAS
41	1-1-A1 중쇄 FR2	IHWVKQKPGQGLEWIGY
42	1-1-A1 중쇄 FR3	KSNEFKFGKATLSDKSSTSAYMELSSLTSEDSAVYYC

[0801]

43	1-1-A1 중쇄 FR4	WGQGTSVTVSS
44	1-1-A1 경쇄 가변 영역	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQHLEYNSNGYSYLHWYLQKPGQSPQLLIYKISNRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSTHVPYTFGGGTKEIK
45	1-1-A1 경쇄 FR1	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSS
46	1-1-A1 경쇄 FR2	LHWYLQKPGQSPQLLIY
47	1-1-A1 경쇄 FR3	NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC
48	1-1-A1 경쇄 FR4	FGGGTKEIK
49	5-48-A6 중쇄 가변 영역	QVQLKESGPGLVAPSQSQLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGKGLEWLGVWAGGSTNY NSALMSRLSISKDNKSQVFLKMNSLQTDDTAMYCARVPTGRISFYAMDYWGQGTS VTVSS
50	5-48-A6 중쇄 CDR1	GFSLTSG
51	5-48-A6 중쇄 CDR2	IWAGGST
52	5-48-A6 중쇄 CDR3	ARVPTGRISFYAMDY
53	5-48-A6 중쇄 FR1	QVQLKESGPGLVAPSQSQLSITCTV
54	5-48-A6 중쇄 FR2	VHMVRQPPGKGLEWLGV
55	5-48-A6 중쇄 FR3	NYNSALMSRLSISKDNKSQVFLKMNSLQTDDTAMYC
56	5-48-A6 중쇄 FR4	WGQGTSVTVSS
57	5-48-A6 경쇄 가변 영역	DIKMTQSPSSMYSLLGERVTITCKASQDISSYLSWFQQKPGKSPKTLYRANRLVDGVPSR FSGSGSGQDYSLTISSELEYEDMGIIYYCLQYDEFPYTFGGGTKEIK
58	5-48-A6 경쇄 CDR1	QDISSY
59	5-48-A6 경쇄 CDR2	RAN
60	5-48-A6 경쇄 CDR3	LQYDEFPYT
61	5-48-A6 경쇄 FR1	DIKMTQSPSSMYSLLGERVTITCKAS
62	5-48-A6 경쇄 FR2	LSWFQQKPGKSPKTLY
63	5-48-A6 경쇄 FR3	RLVDGVPSRFSGSGSQDYSLTISSELEYEDMGIIYYC
64	5-48-A6 경쇄 FR4	FGGGTKEIK
65	5-48-D2 중쇄 가변 영역	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDSRYWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSTIN YTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCATGTGFAYWGQGTDTVSA
66	5-48-D2 중쇄 CDR1	GFDFSRW
67	5-48-D2 중쇄 CDR2	INPDSTS
68	5-48-D2 중쇄 CDR3	ATGTGFAY
69	5-48-D2 중쇄 FR1	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
70	5-48-D2 중쇄 FR2	MSWVRQAPGKGLEWIGE
71	5-48-D2 중쇄 FR3	NYTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYC
72	5-48-D2 중쇄 FR4	WGQGTLTVSA
73	5-48-D2 경쇄 가변 영역	DIQMTQSPASLASVGETVTITCRASENIYSYLAWYQQKQGKSPQLLVYNAKTLAEGVPSR FSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYYCQHHYTPWTFGGVTKLEIK
74	5-48-D2 경쇄 CDR1	EINIYSY
75	5-48-D2 경쇄 CDR2	NAK
76	5-48-D2 경쇄 CDR3	QHHYVTPWT
77	5-48-D2 경쇄 FR1	DIQMTQSPASLASVGETVTITCRAS
78	5-48-D2 경쇄 FR2	LAWYQQKQGKSPQLLVY
79	5-48-D2 경쇄 FR3	TLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYYC
80	5-48-D2 경쇄 FR4	FGGVTKLEIK
81	1-1-A1 중쇄 신호 P	MIEWSWIFLFLSGTAGVHS
82	1-1-A1 경쇄 신호 P	MKLPVRLLVLMFWIPASSS
83	5-48-A6 중쇄 신호 P	MAVLVLFLCLVAFPSCVLS
84	5-48-A6 경쇄 신호 P	MRTPAQFLGILLLWFPGIKC

[0802]

85	5-48-D2 중쇄 신호 P	MDFGLIFFIVALLKGVQC
86	5-48-D2 경쇄 신호 P	MSVPTQVLGLLLLWLTGARC
87	1-1-A1_BM 중쇄 DNA	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCAGACCTGAAGAACGCTGGAGGCCAGCGTGAA GGTGTCTGTAAAGGTGTCGGCTACACCTCACAAACTATGTGATCCACTGGGTAGG CAGAACGCCAGCTGGAGCTGGAGTGGATGGCTACATCAACCCCTATAATGACGGC ACCAAGTCTAATGAGAAGTTAAAGGCAAGGCCACCCCTGACATCTGATAAGAGCAGCA CCAGCGCTACATGGAGCTGTAGCTGACCAGCGAGGACACAGCGCTGACTATT GCGCTCCGGCGCTACTATACAATGGATTATGGGGCCAGGGCACCGCGTGACAG TGTCTCT
88	1-1-A1_BM 경쇄 DNA	GACGTGGTCATGACCCAGACACCACTGTCCTGCCTGTGACCCCTGGGCCAGCGGC TCTATCAGCTGAGAACCTCCAGCACCTGGAGTACAGCAACCGCTACTCTATCTGC ACTGGTATCAGCAGCGCCAGGACAGTCTCACAGCTGCTGATCTACAAGATCTCAA TCGGTTCAAGCGCGTGTGACAGGTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCCACCGATTTCAC ACTGAAAGTACAGCAGACTGGAGCTGAGGACCTGGCGTGTACTATTGCTCCAGTC TACCCACGTGCCCTATACATTGGGGCCGGCACCAAGCTGGAGATCAAG
89	1-1-A1 중쇄 DNA	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGACCTAGTAAAGCCTGGGGCTCAGTGAAG ATGTCCTGCAAGGCTCTGGATACACATTACTAAATTGTTATACACTGGGTGAAGCA GAAGCCTGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATAATCCTTACAATGATGGTACT AAAGTCAATGAGAAGTCAAGGCCACACTGACTTCAGACAAATCCTCCACCT CAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCCTTACTGTG CAAGCGGAGGGTACTATACTATGGACTATTGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGCTC CTCG
90	1-1-A1 경쇄 DNA	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCACTTGGAGATCAAGCCT CCATCTCTGGCAGCTAGTCAACACCTTGAAATCAGTAATGGGACTCTCTATTGCT TGGTACCTGCAAGGCCAGGCGAGTCTCCACAGCTCTGATCTACAATTTCCAACC GATTTCTGGGGTCCCGACAGGTTAGTGGCAGTGGAGTGGATCAGGGACAGATTCAACCT CAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGGGTTTATTCTGCTCTCAAAGTACA CATGTTCTGACATCTGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAA
91	5-48-A6 중쇄 DNA	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGGCCCTCACAGAGCCTGTC CATCATCTGCACTGCTCTGGGTTTCAATTAAAGCTTACAGTGGTGTACACTGGGCTGCC AGCCTCAGGAAAGGGCTGGAGTGGCTGGAGTAATGGCTGGTGAAGCACAA ATTATAATTGGCTCTCATGTCCAGACTGAGCATCAGCAAAGACAACCTCAAAGAGCCA AGTTTCTTAAAATGAAAGTCTGCAAACAGTGTGACACAGCCATGTAACACTGTGCCA GAGTTCGACAGCTGGATTAATCTTATGCTACAGTATGAGTTCCGTACAC AACCTCAGTACCGCTCTCTCG
92	5-48-A6 경쇄 DNA	GACATCAAGATGACCGAGTCCTCATCTTCCATGATTCTCTGGAGAGAGACTCA CTATCACTTGAAGGGAGCTCAGGACATTAGTAGCTTAAAGCTGGTCCAGCAGAA ACCAGGGAAGTCTCTAAGACCTGATCTATGTCGAAACAGATTGGTGGATGGGGT CCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGCAAGGATTATTCTCACCATCAGCAGC CTGGAGTATGAGATATGGGAATTATTATGCTACAGTATGAGTTCCGTACAC GTTCCGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAA
93	5-48-D2 중쇄 DNA	GAGGTGAAGCTCTGAGTCTGGAGGTGGCCTGGCAGCCTGGAGGATCCCTGAAA CTCTCTGTGCAAGGCTCAGGATTCTGGATTAGTAGATGAGTGGATGAGTTGGTCCGGC AGGCTCCAGGGAAAGGGCTAGATGGATTGGAGAAATTAAATCCAGATACAGCAGTACGAT AAACATACAGCCATCTCTAAAGGATAAATTCTCATCTCCAGAGACAACCCAAAAATA CGCTGTACCTGCAATGAGCAAGTGGAGATCTGGCAGGACACAGCCTTATTACTGTGC AACTGGAGGGGGCTTACTGGGGCAAGGGACTCTGGTCACTGCTCTCGCG
94	5-48-D2 경쇄 DNA	GACATCCAGATGACTCAGTCAGCTCCAGCTCCCTATGTCATCTGGGGAGAAACTGTCA CCATCACATGTCAGCAAGTGAGAAATTACAGTTATTAGCATGGTATCAGCAGAAAA CAGGGAAAATCTCTGGCTCTGGCTATAATGCAAAAACCTTACAGCAAGGGTGTGC CCTCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGACACAGTTCTGTAAGATCAACAGCCT GCAGCGCTGAAGATTGGAGTTACTGCAACATCATTGTTACTCCGTGGACGT TCGGTGGAGTACCAAGCTGGAAATCAA
95	사람 SIRPA 동형 1 (UniProt: P78324-1, v2)	MEPAGPAPGRLGPLLCLLLAASCACWSVGAGEEEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCATSLI PVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTVDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCV KFRKGSPDDVEFKSGAGTELSSVRAKPSAPVSGPAARATPQHFTVSFTCESHGFSPRDITL KWFKNGNELSDFQTNVDPVGEVSYSIHSTAKVVLTREDVHSQVCEVAHVTLOQDPLRG TANLSETIRVPPTLEVTQQPVRRAENQVNVTQQRKFPQRQLQTWLENGNSRTEASTV TENKDGTYNWMSWLLNVSAHRDDVKLTQVEHDGQPAVSKSHDLKVSAHPKEQGSNT AAENTGSNERNIYIVVGVVCTLVALLMAALYLRIRQKKAQGSTSSTRLHEPEKNAREITQ DTNDITYADLNLPKGKPKPAPQAEPNNHTEYASIQTSPQPAESEDTLYADLDMVHLNRTPK QPAPKPEPSFSEYASVQVPRK
96	사람 SIRPA 동형 2 (UniProt: P78324-2)	MEPAGPAPGRLGPLLCLLLAASCACWSVGAGEEEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCATSLI PVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTVDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCV KFRKGSPDDVEFKSGAGTELSSVRAKPSAPVSGPAARATPQHFTVSFTCESHGFSPRDITL KWFKNGNELSDFQTNVDPVGEVSYSIHSTAKVVLTREDVHSQVCEVAHVTLOQDPLRG TANLSETIRVPPTLEVTQQPVRRAENQVNVTQQRKFPQRQLQTWLENGNSRTEASTV TENKDGTYNWMSWLLNVSAHRDDVKLTQVEHDGQPAVSKSHDLKVSAHPKEQGSNT

[0803]

		AAENTGSNERNIYIVGVVCTL VALLMAALYLVRIRQKKAQGSTSSTRLHEPEKNAREITQVQS LDTNDITYADLNLPKGKPKAPQAEPNNHTEYASIQTSPQPASEDTLYADLDMVHLNRTPKQ
97	사람 SIRPA 동형 4 (UniProt: P78324-4)	MEPAGPAPGRLGPLLCLLAASC A伟SGVAGEEEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT PVGPIQWFRAGPGRELIYNQKEGHFPRVT VSDLT KRN NMDFSI RIGNIT PADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTEL SVRAKPSAPV KFRKGSPDVEFKSGAGTEL SVRAKPSAPV SGPAARATPQHTV SFTCESHGFSPRDI TLKWFKNGNELSDFQTNVDPVGE SVS YIHST WFKNGNE LS FQTNVDPVGE SVS YIHST ANLSETIRVPPTLEVTQQPVRAENQVNVC ENKDGTYNWMSVLLNVNSAHRDDVKLT CQEHDGQPAVSKSHDLKVS AHPKEQGSNTA AENTGSNERNIYIVGVVCTL VALLMAALYLVRIRQKKAQGSTSSTRLHEPEKNAREITQ TNDITYADLNLPKGKPKAPQAEPNNHTEYASIQTSPQPASEDTLYADLDMVHLNRTPKQ PAPKPEPSFSEYASVQVPRK
98	성숙한 사람 SIRPA 동형 1 (UniProt: P20138-1 31 내지 504 번 위치)	EELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSDLTKRN NMDFSI RIGNIT PADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTEL SVRAKPSAPV VSGPAARATPQHTV SFTCESHGFSPRDI TLKWFKNGNELSDFQTNVDPVGE SVS YIHST AKVVL TREDVHSQV CEAHVTLQGDPLRGTA QVRKFYPQRQLQTWLLENGNVS TETASTV TENKDGTYNWMSWLLNVNSAHRDDVKLT CQEHDGQPAVSKSHDLKVS AHPKEQGSNTA AENTGSNERNIYIVGVVCTL VALLMAALYLVRIRQKKAQGSTSSTRLHEPEKNAREITQ QSLTDN DITYADLNLPKGKPKAPQAEPNNHTEYASIQTSPQPASEDTLYADLDMVHLNRTPKQ PAPKPEPSFSEYASVQVPRK
99	성숙한 사람 SIRPA 동형 2 (UniProt: P78324-2 31 내지 478 번 위치)	EELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSDLTKRN NMDFSI RIGNIT PADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTEL SVRAKPSAPV VSGPAARATPQHTV SFTCESHGFSPRDI TLKWFKNGNELSDFQTNVDPVGE SVS YIHST AKVVL TREDVHSQV CEAHVTLQGDPLRGTA QVRKFYPQRQLQTWLLENGNVS TETASTV TENKDGTYNWMSWLLNVNSAHRDDVKLT CQEHDGQPAVSKSHDLKVS AHPKEQGSNTA AENTGSNERNIYIVGVVCTL VALLMAALYLVRIRQKKAQGSTSSTRLHEPEKNAREITQ QSLTDN DITYADLNLPKGKPKAPQAEPNNHTEYASIQTSPQPASEDTLYADLDMVHLNRTPKQ PAPKPEPSFSEYASVQVPRK
100	성숙한 사람 SIRPA 동형 4 (UniProt: P78324-4 31 내지 473 번 위치)	EELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSDLTKRN NMDFSI RIGNIT PADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTEL SVRAKPSAPV VSGPAARATPQHTV SFTCESHGFSPRDI TLKWFKNGNELSDFQTNVDPVGE SVS YIHST AKVVL TREDVHSQV CEAHVTLQGDPLRGTA QVRKFYPQRQLQTWLLENGNVS TETASTV TENKDGTYNWMSWLLNVNSAHRDDVKLT CQEHDGQPAVSKSHDLKVS AHPKEQGSNTA AENTGSNERNIYIVGVVCTL VALLMAALYLVRIRQKKAQGSTSSTRLHEPEKNAREITQ QSLTDN DITYADLNLPKGKPKAPQAEPNNHTEYASIQTSPQPASEDTLYADLDMVHLNRTPKQ PAPKPEPSFSEYASVQVPRK
101	사람 SIRPA 세포외 도메인 (UniProt: P78324-1 31 내지 373 번 위치)	EELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSDLTKRN NMDFSI RIGNIT PADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTEL SVRAKPSAPV VSGPAARATPQHTV SFTCESHGFSPRDI TLKWFKNGNELSDFQTNVDPVGE SVS YIHST AKVVL TREDVHSQV CEAHVTLQGDPLRGTA QVRKFYPQRQLQTWLLENGNVS TETASTV TENKDGTYNWMSWLLNVNSAHRDDVKLT CQEHDGQPAVSKSHDLKVS AHPKEQGSNTA AENTGSNERNIYIVGVVCTL VALLMAALYLVRIRQKKAQGSTSSTRLHEPEKNAREITQ QSLTDN DITYADLNLPKGKPKAPQAEPNNHTEYASIQTSPQPASEDTLYADLDMVHLNRTPKQ PAPKPEPSFSEYASVQVPRK
102	사람 SIRPA 막관통 도메인 (UniProt: P78324-1 374 내지 394 번 위치)	IVGVVCTL VALLMAALYL V
103	사람 SIRPA 세포질 도메인 (UniProt: P78324-1 395 내지 504 번 위치)	RIRQKKAQGSTSSTRLHEPEKNAREITQDNDITYADLNLPKGKPKAPQAEPNNHTEYAS IQTSPQPASEDTLYADLDMVHLNRTPKQ PAPKPEPSFSEYASVQVPRK
104	사람 SIRPA V-형 Ig- 유사 도메인 (UniProt: P78324-1 32 내지 137 번 위치)	EELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRV TVSDLTKRN NMDFSI RIGNIT PADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSG
105	사람 SIRPA C1-형 Ig-유사 도메인 1 (UniProt: P78324-1 148 내지 247 번 위치)	PSAPVVSGPAARATPQHTV SFTCESHGFSPRDI TLKWFKNGNELSDFQTNVDPVGE SVSYIHSTAKV VLTREDVHSQV CEAHVTLQGDPLRGTA NLS
106	사람 SIRPA C1-형 Ig-유사 도메인 2 (UniProt: P78324-1)	PTLEV TQQPVRAENQVNVC RKFYPQRQLQTWLLENGNVS TETASTV TENKDGTYNW MSWLLNVNSAHRDDVKLT CQEHDGQPAVSKSHDLK

[0804]

	254 내지 348 번 위치)	
107	1-1-A1_BM VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQQSGPDLKKPGASVKVSKVSGYTFNTYVIHWVRQKPGQGLEWMGYINPYNDGT KSNEKFKGKATLTSKSTSAYMELSSLTSEDATVYYCAGGGYTMWDWQGQTSVTVSS ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALLOSS GLYSLSVVTVTPSSSLGTQTYICNVNHPSTSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWVYDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVTLP MTKNQVSNTLCVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTPPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
108	1-1-A1_BM VL-Ck	DVMMQTPLSLPVTLDQASISCRSSQHLEYSNGYSYLHWYQQRPGQSPQLLIYKISNR SGVPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDLGVYCSQSTHVPTFGGGTKEIKRTVAAPS IFPPSDEOLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY STLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
109	1-1-A1 VH-CH1-CH2-CH3	EVQLQESGPLVKGPGASVKMSCKASGTYTNTYVIHWVQKPGQGLEWIGYINPYNDGT SNEKFKGKATLTSKSTSAYMELSSLTSEDASVYYCAGGGYTMWDWQGQTSVTVSS STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALLOSS LYSLSVVTVTPSSSLGTQTYICNVNHPSTSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWVYDGVEVHNAKTKP STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVTLP MTKNQVSNTLCVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTPPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
110	1-1-A1 VL-Ck	DVMMQTPLSLPVTLDQASISCRSSQHLEYSNGYSYLHWYQQRPGQSPQLLIYKISNR GVPDFRSFSGSGSGDFTLKISRVEAEDLGVYCSQSTHVPTFGGGTKEIKRTVAAPS FIFPPSDEOLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY STLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
111	5-48-A6 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQESGPLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWRQAPPGKGLEWLGVWAGGST NSNLKESISLKDMSLQTDAMYYCARVPTGRISYFYAMDYWQGQTS NTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFP VLSQSSGLYSLSSVVTPSSSLGTQTYICNVNHPSTSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP CPCPAPELLGGPSVFL ELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWVYDGVEVHNAKTKP EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVTLP SREEMTKNQVSNTLCVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTPPVLDSGSFFLYSKLT KSRWQQGNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
112	5-48-A6 VL-Ck	DIKMTQSPSSMYSLGERVTTICASQDLSYLSWFQQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVPS FSGSGSGQDYSLTISLSSLEYEDMGIVYCLQYDEFPTFGGGTKEIKRTVAAPS FIFPPSDE QLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
113	5-48-D2 VH-CH1-CH2-CH3	EVKLLESGGGLVQPGGSLKSLCAASGFDTSRYWMSVRAQPGKGLEWIGEINPD YTPLSLKDIFISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCATGTGFAYWGQGT LTVVSAASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNS GALTSGVHTFPALLOSSGLYSL SSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHPSTSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP CPCPAPELLGGPSVFL PPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWVYDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVTLP SREEMTKNQVSNTLCVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTPPVL DSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
114	5-48-D2 VL-Ck	DIQMTQSPASLSASVGETVITCRASENIYSLAWYQQKOGKSPQLLVYNAKTLAEGVPS FSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYYCQHHYTPWTFGVTKLEIKRTVAAPS FIFPPS EQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY TLS ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
115	항-CD33 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQESGPLVKKPGSSVKVSKVSGYTFNTYVIHWVQKPGQGLEWIGYIPYNGGT GYNQKFKSKATITADESTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRPAMD YWGQGT LTVSSA STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNS GALTSGVHTFPALLOSS LYSLSVVTVTPSSSLGTQTYICNVNHPSTSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP CPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWVYDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYRV STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVTLP SREEMTKNQVSNTLCVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTPPVL DSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN QQGNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
116	항-CD33 VL-Ck	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASESDVNYGISFMNW FQQKPGKAPKLIYAASNQGS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPQDDFATYYCQGS KEPVWTFQGQGT KVEIKRTVAAPS FIFPPS EQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTY TLS ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
117	레서스 마카우 CD47 (UniProt: F7F5Y9-1, v2)	MWPLVAALLLGSACCGSAQLLNFNTKTSVEFTCNDTV /IPCFVTNMEAQN TTEVYV KWF KGRDIYTFDGA LNKSTAPANFSSAKIEVSQ LLKG DASLKM DKSDA V SHTG NYTCE V TELTR EGETI ELK YR V V G I L F V P G E Y S L K N A T G L G L I V T S T G I L I L H Y V F S T A I G L T S F V I A I L V Q V I A Y I L A V V G L S L C I A C I P M H G P L I S G L I L A Q L L G L V Y M K F V A S N Q K T I Q P P R R N D N F R L K N E E K F I L N
118	사람 IgG1 불변 영역(IGHG1; UniProt:P01857-1,	ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNS GALTSGVHTFPALLOSS GLYSLSVVTVTPSSSLGTQTYICNVNHPSTSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP CPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWVYDG VEVHNAKTKP REEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVTLP SRDEL

	v1)	TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
119	CH1 IgG1 (1·98 of P01857-1, v1)	ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSS GLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
120	힌지 IgG1 (99-110 of P01857-1, v1)	EPKSCDKTHTCP
121	CH2 IgG1 (111-223 of P01857-1, v1)	PCPAPELLGGPSVFLFPPPKPDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNKGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAK
122	CH3 IgG1 (224-330 of P01857-1, v1)	GQPREPVYVTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
123	CH3 (D356E, L358M; EU 번호매김에 따라 번호매김된 위치)	GQPREPVYVTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
124	Cx CL (IGCK; UniProt: P01834-1, v2)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLENNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTTLSKADYEKHKVYACEVTQGLSSPVTKSFNRGEC
125	J6M0 VH-CH1- CH2-CH3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTSFSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGATYRGHS DTYYNQFKGRVTITADKSTTAYMELSSLRSED TAVYYCARGAIYDGYDVLDNWGQGTL VTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPV VLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCAP ELLGGPSVFLFPPPKPDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNKGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
126	J6M0 VL-Ck	DIQMTQSPSSLASVGDVRTITCSASQDISNLYNQKPGKAPKLLIYTTSNLHSGV/PSR FSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYRKLPWTFGQGKTLEIKRTVAAPS/VIFPPSD EQLKSGTASVVCLENNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDTYSLSSTTLS KADYEKHKVYACEVTQGLSSPVTKSFNRGEC
127	11A1H1 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYVIHWVRQAPGKGLEWMGYINPYNDGT SNEKFGRVTLTSKSSTAYMELSSLRSED TAVYYCASGGYYTMDYWQGQGTLT VSS
128	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5 VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPAISCRRSSQHLEYNSGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPTFGGGTKEIK
129	11A1H2 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYVIHWVRQAPGKGLEWMGYINPYNDGT SNEKFGRVTLTSDTSTTAYMELSSLRSED TAVYYCASGGYYTMDYWQGQGTLT VSS
130	11A1H3 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYVIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGT KSNKEKFGRVTLTSDTSTTAYMELSSLRSED TAVYYCASGGYYTMDYWQGQGTLT VSS
131	11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYVIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGT KYNQKFKGRVTLTSDTTTAYMELSLRSDD TAVYYCASGGYYTMDYWQGQGTLT VSS
132	11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTGYVIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNGGT NYAQKFKGRVTLTSDTTTAYMELSLRSDD TAVYYCASGGYYTMDYWQGQGTLT VSS
133	11A1H6, 11A1H7 VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPAISCRRSSQHLEYNSGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPTFGGGTKEIK
134	11A1H8, 11A1H9 VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPAISCRRSSQHLEYSTGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPTFGGGTKEIK
135	11A1H10 VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPAISCRRSSQHLEYNSGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPTFGGGTKEIK
136	11A1H11 VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPAISCRRSSQHLEYNSGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQGTHVPTFGGGTKEIK
137	11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-CDR1	GYFTFGV
138	11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-CDR2	INPYNGGT
139	11A1H6, 11A1H7 LC-CDR1	QHLEYSQGYSY
140	11A1H8, 11A1H9 LC-CDR1	QHLEYSTGYSY
141	11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10 LC-CDR2	KVS
142	11A1H11 LC-CDR3	SQGTHVPYT
143	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8,	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS

[0806]

	11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-FR1	
144	11A1H1, 11A1H2, HC-FR2	IHWVRQAPGKGLEWMGY
145	11A1H3 HC-FR2	MHWVRQAPGQGLEWMGY
146	11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-FR2	IHWVRQAPGQGLEWMGY
147	11A1H1 HC-FR3	KSNEKFGRVLTSDKSSTSAYMELSSLRSEDTAVYYC
148	11A1H2 HC-FR3	KSNEKFGRVLTSDTSTTAYMELSSLRSEDTAVYYC
149	11A1H3 HC-FR3	KSNEKFQGRVLTSDTSTTAYMELSSLRSEDTAVYYC
150	11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 HC-FR3	KYNQKFGRVLTSDTSTTAYMELSRLRSRSLDDTAVYYC
151	11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-FR3	NYAQKFGRVLTSDTSTTAYMELSRLRSRSLDDTAVYYC
152	11A1H1, 11A1H2, 11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-FR4	WGQGTLTVSS
153	11A1H3, 11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 HC-FR4	WGQGTLV
154	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 LC-FR1	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASICRSS
155	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 LC-FR2	LHWYQQRPGQSPRLLIY
156	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H11 LC-FR3	NRFSGVPDRFSGSGCTDFTLKISRVEAEDVGVYYC
157	11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10 LC-FR3	NRDSGVPDRFSGSGCTDFTLKISRVEAEDVGVYYC
158	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 LC-FR4	FGGGTKVEIK
159	11A1H1 VH-CH1- CH2-CH3	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSKASGYTFTNYVHHWRQAPGKGLEWMGYINPYNDGT SNEKFGRVLTSDKSSTSAYMELSSLRSEDTAVYYCASGGYTTMDYWGQGTLTVSSA STKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPALLOSSG LYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCCPAPELLGGPS VFLPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPKG
160	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5 VL-CK	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASICRSSQHLEYNSGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKISNRF SGVPDRFSGSGCTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPTFGGGTKEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
161	11A1H2 VH-CH1- CH2-CH3	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSKASGYTFTNYVHHWRQAPGKGLEWMGYINPYNDGT SNEKFGRVLTSDTSTTAYMELSSLRSEDTAVYYCASGGYTTMDYWGQGTLTVSSA STKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPALLOSSG LYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCCPAPELLGGPS VFLPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPKG
162	11A1H3 VH-CH1-	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSKASGYTFTNYVMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGT

[0807]

	CH2-CH3	KSNEKFQGRVTLTSDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAGGGYTMWDWGQGTLVASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKV/DKKVEPKSCDKTHTCPCTPAPELLGGPSVFL FPPPKPDTLMSRTPETCVVVDSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
163	11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKCASGYTFTNYIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGT KYNQKFKGRVTLTSDTSTTAYMELSRLRSEDTAVYYCAGGGYTMWDWGQGTLVASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKV/DKKVEPKSCDKTHTCPCTPAPELLGGPSVFL FPPPKPDTLMSRTPETCVVVDSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
164	11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKCASGYTFTNYIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNGGT NYAQKFKGRVTLTSDTTAYMELSRLRSEDTAVYYCAGGGYTMWDWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKV/DKKVEPKSCDKTHTCPCTPAPELLGG PSVFLFPPPKPDTLMSRTPETCVVVDSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG
165	11A1H6, 11A1H7 VL-CK	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASIICRSSQHLEYSGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKV/QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDKSTYSL SSTTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
166	11A1H8, 11A1H9 VL-CK	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASIICRSSQHLEYSGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKV/QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDKSTYSL SSTTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
167	11A1H10 VL-CK	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASIICRSSQHLEYSGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKV/QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDKSTYSL SSTTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
168	11A1H11 VL-CK	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASIICRSSQHLEYSGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKISNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKV/QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDKSTYSL SSTTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
169	11A1H_C HC-CDR1	GYTFTX;YV X ₁ = N 또는 G
170	11A1H_C HC-CDR2	INPYNX;GT X ₂ = D 또는 G
171	11A1H_C LC-CDR1	QHLEYSX ₃ GYSY X ₃ = N, Q 또는 T
172	11A1H_C LC-CDR2	KX ₄ S X ₄ = I 또는 V
173	11A1H_C LC-CDR3	SQX ₅ THVPYT X ₅ = S 또는 G
174	11A1H_C HC-FR2	X ₆ HWVRQAPGX;GLEWMGY X ₆ = I 또는 M X ₇ = Q 또는 K
175	11A1H_C HC-FR3	X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ KFX ₁₂ GRVTLTSDX ₁₃ SX ₁₄ SX ₁₅ AYMELSX ₁₆ LRSX ₁₇ DTAVYYC X ₈ = K 또는 N X ₉ = S 또는 Y X ₁₀ = N 또는 A X ₁₁ = E 또는 Q X ₁₂ = K 또는 Q X ₁₃ = T 또는 K X ₁₄ = T 또는 S X ₁₅ = T 또는 S X ₁₆ = S 또는 R X ₁₇ = E 또는 D

[0808]

176	11A1H_C HC-FR4	WGQQGTLVX ₁₈ X ₁₉ X ₂₀ X ₂₁ X ₁₈ = T 이거나 부재함 X ₁₉ = V 이거나 부재함 X ₂₀ = S 이거나 부재함 X ₂₁ = S 이거나 부재함
177	11A1H_C LC-FR3	NRX ₂₂ SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC X ₂₂ = D 또는 F
178	11A1H_C VH	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTX ₂₂ YVX ₂₃ HWRQAPGX ₂₄ GLEWMGYINPYN X ₂₅ GTX ₂₆ X ₂₇ X ₂₈ X ₂₉ KFX ₃₀ GRVTLTSX ₃₁ SX ₃₂ SX ₃₃ AYMELSX ₃₄ LRSX ₃₅ DTAVYYCASGGYYT MDYW GQGTLVX ₃₆ X ₃₇ X ₃₈ X ₃₉ X ₂₂ = N 또는 G X ₂₃ = I 또는 M X ₂₄ = Q 또는 K X ₂₅ = D 또는 G X ₂₆ = K 또는 N X ₂₇ = S 또는 Y X ₂₈ = N 또는 A X ₂₉ = E 또는 Q X ₃₀ = K 또는 Q X ₃₁ = T 또는 K X ₃₂ = T 또는 S X ₃₃ = T 또는 S X ₃₄ = S 또는 R X ₃₅ = E 또는 D X ₃₆ = T 이거나 부재함 X ₃₇ = V 이거나 부재함 X ₃₈ = S 이거나 부재함 X ₃₉ = S 이거나 부재함
179	11A1H_C VL	DVVMTQSPLSPVTLGQPASISCRSSQHLEYSX ₄₀ GYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKX ₄₁ SN RX ₄₂ SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQX ₄₃ THVPYTFGGGTKEIK X ₄₀ = N, Q 또는 T X ₄₁ = I 또는 V X ₄₂ = D 또는 F X ₄₃ = S 또는 G

[0809]

[0810] 본 발명은 이러한 조합이 명확하게 허용될 수 없거나 명백히 피해지는 경우를 제외하고는 기술된 양태 및 바람직한 특징의 조합을 포함한다.

[0811]

본원에 사용된 단락 제목은 조직화 목적만을 위한 것이며 기술된 주제를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0812]

본 발명의 양태 및 구현에는 첨부된 도면을 참고로, 예로써 이제 나타낼 것이다. 추가의 양태 및 구현에는 당해 분야의 기술자에게 명백할 것이다. 본 내용에서 언급된 모든 문헌은 참고로 본원에 포함된다.

[0813]

후속되는 청구범위를 포함하는, 본 명세서 전반에 걸쳐서, 내용이 달리 요구하지 않는 한, 단어 "포함하다 (comprise)" 및 "포함한다(comprises)" 및 "포함하는(comprising)"과 같은 변형은 기술된 정수 또는 단계 또는 정수들 또는 단계들의 그룹의 포함 뿐만 아니라 임의의 다른 정수 또는 단계 또는 정수들 또는 단계들의 그룹의 배제도 암시하는 것으로 이해될 것이다.

[0814]

명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용된 바와 같이, 단수형 "a", "an", 및 "the"는 내용이 달리 명확하게 기술하지 않는 한 복수 지시대상을 포함한다. 범위는 본원에서 "약" 하나의 특수 값, 및/또는 "약" 다른 특수 값으로 표현될 수 있다. 이러한 범위가 표현된 경우, 다른 구현에는 하나의 특수한 값으로부터 및/또는 다른 특수한 값 까지를 포함한다. 유사하게, 값을 근사치로 표현하는 경우, 선행사 "약"의 사용에 의해, 특수한 값이 다른 구현 예를 형성하는 것으로 이해될 것이다.

[0815]

핵산 서열이 본원에 개시된 경우, 이의 역 상보체가 또한 명백히 고려된다.

[0816]

본원에 기술된 방법은 바람직하게는 시험관내에서 수행될 수 있다. 용어 "시험관내"는 배양물 속에서 세포로 수행된 과정을 포함하는 것으로 의도되는 반면, 용어 "생체내"는 완전한 다-세포 유기체를 사용하여/상에서의 과정을 포함하는 것으로 의도된다.

도면의 간단한 설명

[0817]

본 발명의 원리를 설명하는 구현예 및 실험은 첨부된 도면을 참고로 이제 논의될 것이다.

도 1. SIPRP_a 및 CD47 도메인과, 구체(sphere)와 겹쳐진 항-CD47 항체를 생성하기 위한 면역원으로서 사용된

영역의 상호작용의 3D 구조를 나타내는 리본 다이아그램(Ribbon diagram).

도 2a 및 도 2b. 사람 CD47에 대한 항-CD47 항체의 결합의 친화성을 나타내는 센서그램(Sensorgram). (2a) 1-1-A1에 대한 센서그램. (2b) 1-1-A1_BM에 대한 센서그램.

도 3a 내지 3d. 유동 세포분석법에 의해 측정된 바와 같은 항-CD47 항체에 의한 CD47-발현 세포의 염색을 나타내는 히스토그램. (3a) 항-CD47 항체 클론 1-1-A1 또는 동형 대조군 항체에 의한 HEK293T 세포(CD47을 발현함), 또는 HEK293T-유래된 CD47 녹아웃(knockout) 세포의 염색을 나타내는 히스토그램. (3b) 항-CD47 항체 클론 1-1-A1_BM 또는 동형 대조군 항체에 의한 HEK293T 세포, 또는 HEK293T-유래된 CD47 녹아웃 세포의 염색을 나타내는 히스토그램. (3c) 항-CD47 항체 클론 B6H12 또는 동형 대조군 항체에 의한 HEK293T 세포, 또는 HEK293T-유래된 CD47 녹아웃 세포의 염색을 나타내는 히스토그램. (3d) 항-CD47 항체 클론 B6H12에 의한 MM.1S 세포, H929 세포, U226 세포, 8226 세포 및 RAJI 세포의 염색을 나타내는 히스토그램.

도 4. ELISA에 의해 측정된 바와 같은 항원-결합 분자에 의해 사람 CD47과 사람 SIRP α 사이의 상호작용의 억제를 나타내는 막대 그래프(bar chart).

도 5. ELISA에 의해 측정된 바와 같은, 나타낸 항원-결합 분자에 의한 사람 CD47(hCD47) 및 레서스 마카퀴 CD47(RhCD47)에 대한 결합을 나타내는 그래프.

도 6. 유동 세포분석법으로 측정된 바와 같은, 나타낸 항원-결합 분자 또는 PBS의 존재하에서 대식구에 의한 CFSE-표지된 Raji 세포의 식세포작용을 나타내는 히스토그램.

도 7a 내지 7c. 나타낸 항원-결합 분자의 존재하에서 대식구에 의한 CFSE-표지된 HL-60 세포의 식세포작용을 나타내는 형광 현미경 이미지 및 막대 그래프. (7a 및 7b) (7a) 동형 대조군 항체(음성 대조군), (7b) 항-CD47 클론 1-1-A1_BM IgG1의 존재하에서 결합 식세포작용을 나타내는 이미지, (7c) 나타낸 항원-결합 분자의 존재하에서 대식구에 의한 CFSE-표지된 HL-60 세포에 대한 대식세포 지표를 요약하는 막대 그래프.

도 8. 사람 CD47에 대한 항-CD47 항체 1-1-A1_BM의 결합의 친화성을 나타내는 센서그램.

도 9. ELISA에 의해 측정된 바와 같은, 나타낸 항원-결합 분자에 의한 사람 CD47에 대한 결합을 나타내는 그래프.

도 10. ELISA에 의해 측정된 바와 같은, 나타낸 항원-결합 분자에 의한 사람 VISTA에 대한 결합을 나타내는 그래프.

도 11a 내지 11h. 사람 CD47에 대한 항-CD47 항체의 결합 친화성을 나타내는 센서그램. (11a) 11A1BM에 대한 센서그램. (11b) 11A1H3에 대한 센서그램. (11c) 11A1H5에 대한 센서그램. (11d) 11A1H6에 대한 센서그램. (11e) 11A1H7에 대한 센서그램. (11f) 11A1H9에 대한 센서그램. (11g) 11A1H10에 대한 센서그램. (11h) 11A1H11에 대한 센서그램.

도 12. ELISA에 의해 측정된 바와 같은, 나타낸 항원-결합 분자에 의한 사람 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용의 억제를 나타내는 그래프.

도 13. 나타낸 항원-결합 분자에 의한 혈구응집의 분석 결과를 나타내는 이미지. 양성 대조군 = 항-적혈 세포 항체(항 RBC), 음성 대조군 = 무관한 표적 항원(비관련 Ag)에 대해 특이적인 동형 매치된 항체, 및 완충제 단독(BUFFER).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0818] 실시예

[0819] 다음의 실시예에서, 본 발명자들은 CD47 분자에서 목적한 특이적인 영역에 대해 표적화된 신규한 CD47-특이적인 항체 클론의 생성, 생물물리학적 및 기능적 특성화 및 이러한 항원-결합 분자의 치료학적 평가를 기술한다.

[0820] 실시예 1: CD47 표적 설계 및 항-CD47 항체 하이브리도마 생산

[0821] 본 발명자들은 CD47-결합 모노클로날 항체를 생성시키기 위한 사람 CD47(서열 번호 10)의 세포외 영역 1의 Ig-유사 V 영역(서열 번호 9) 내의 2개의 영역을 선택하였다. 본 발명자들은 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용에 포함되는 것으로 알려진 CD47의 영역에 초점을 맞추었다(도 1).

[0822] 1.1 하이브리도마 생산

- [0823] 대략 6주령의 암컷 BALB/c 마우스를 InVivos(싱가포르 소재)로부터 구입하였다. 동물을 특수한 병원체가 없는 조건 하에 가두고 기관 동물 보호 및 사용 위원회(Institutional Animal Care and Use Committee: IACUC) 가이드라인에 부합하게 처리하였다.
- [0824] 하이브리도마 생산을 위해, 마우스를 항원성 웨بت아이드의 등록 혼합물을 사용하여 각각의 주사 사이의 2주 간격으로 총 4회 복강내 주사로 면역화하였다. 면역화용 항원은 다음 중 하나를 포함하였다:
- [0825] i) 50 µg 이하의, KLH (China Peptides Co. Ltd, 중국 소재)와 접합된 합성 웨بت아이드
 - [0826] ii) 50 µg 이하의 시판되는 재조합 Fc-태그된 사람 CD47(Sinobiological Inc, 중국 소재)
 - [0827] iii) 20×10^6 개 이하의, 사람 CD47을 과발현하는 동종동계 세포.
- [0828] 융합을 위한 비장을 수거하기 전에, 마우스를 3일 연속일 동안 항원 혼합물로 부스트(boost)하였다. 최종 부스트 후 24시간 째에, 총 비장세포를 단리하고 흑색종 세포주 P3X63.Ag8.653(ATCC, USA)와, PEG로 ClonaCell-HY 하이브리도마 클로닝 키트를 사용하여 제조업자의 설명서(Stemcell Technologies, 캐나다)에 따라 융합시켰다.
- [0829] 융합된 세포를 ClonaCell-HY 배지 C(StemCell Technologies, 캐나다 소재) 속에서 37°C에서 5% CO₂ 항온처리기 속에서 밤새 배양하였다. 다음 날, 융합된 세포를 원심분리하고 10 ml의 ClonaCell-HY 배지 C 속에 재현탁시킨 다음, HAT 구성성분을 함유하는 반고체 메틸셀룰로즈-기반 ClonaCell-HY 배지 D(StemCell Technologies, 캐나다 소재) 90 ml와 온화하게 혼합하였으며, 이는 하이브리도마 선택과 클로닝을 한 단계로 합한다.
- [0830] 융합된 세포를 이후에 96웰 플레이트에 플레이팅하고 37°C에서 5% CO₂ 항온처리기 속에서 성장하도록 한다. 7 내지 10일 후에, 단일 하이브리도마 클론을 단리하고, 항체 생산 하이브리도마를 효소-연결된 면역흡착성 검정(ELISA) 및 형광성-활성화된 세포 분류(FACs)로 상청액을 스크리닝함으로써 선택하였다.
- [0831] 1.2 항체 가변 영역 증폭 및 서열분석
- [0832] 총 RNA를 하이브리도마세포로부터 TRIzol 시약(Life Technologies, Inc., USA)을 사용하여 제조업자의 프로토콜을 사용하여 추출하였다. 이중-가닥 cDNA를 SMARTer RACE 5'/3' 키트(Clontech™, USA)를 사용하여 제조업자의 설명서에 따라 합성하였다. 요약하면, 1 µg의 총 RNA를 사용하여 완전한 길이의 cDNA를 5'-RACE CDS 프라이머(키트내에서 제공됨)를 사용하여 생성시키고, 5' 어댑터(SMARTer II A 프라이머)를 이후에 각각의 cDNA 내로 제조업자의 설명서에 따라 혼입시켰다. cDNA 합성 반응은 다음을 함유하였다: 5X 제1-가닥 완충제, DTT(20 mM), dNTP 혼합물(10 mM), RNase 억제제(40 U/ µl) 및 SMARTScribe 리버스 트랜스크립타제(100 U/ µl).
- [0833] 혈통별-준비된(race-ready) cDNA를 SeqAmp DNA 폴리미라제(Clontech™, USA)를 사용하여 증폭시켰다. 증폭 반응물은 SeqAmp DNA 폴리미라제, 2X Seq AMP 완충제, 어댑터 서열에 대해 상보성인, 5' SMARTer Race 키트내에 제공된 5' 일반적인(universal) 프라이머, 및 각각의 중쇄 또는 경쇄 불변 영역 프라이머에 대해 어닐링(annealing)된 3' 프라이머를 함유하였다. 5' 불변 영역을 앞서 보고된 프라이머 혼합물을 기반으로 문헌(Krebber et al. J. Immunol. Methods 1997; 201: 35-55, Wang et al. Journal of Immunological Methods 2000, 233: 167-177 또는 Tiller et al. Journal of Immunological Methods 2009; 350:183-193)에 의해 설계하였다. 다음의 열 프로토콜을 사용하였다: 94°C에서 1분 동안의 예비-변성 주기; 94°C에서 30초, 55°C에서 30초 및 72°C에서 45초 동안의 35회 주기; 및 72°C에서 3분 동안의 최종 연장.
- [0834] 대략 550 bp의 수득되는 VH 및 VL PCR 생성물을 pJET1.2/평활말단(blunt) 벡터 내로 CloneJET PCR 클로닝 키트(Cloning Kit)(Thermo Scientific, USA)를 사용하여 클로닝하고 매우 충분한(competent) *E. coli* DH5 α를 형질전환시키는데 사용하였다. 수득되는 형질전환체로부터, 플라스미드 DNA를 Miniprep 키트(Qiagene, 독일 소재)을 사용하여 제조하고 서열분석하였다. DNA 서열분석은 AITbiotech가 수행하였다. 이러한 서열분석 데이터를 국제 IMGT(ImMunoGeneTics) 정보 시스템(LeFranc et al., Nucleic Res. (2015) 43(데이터베이스 쟁점): D413-22)을 사용하여 분석함으로써 개개 CDR 및 골격 서열을 특성화하였다. VH 및 VL의 5' 말단에서의 신호 웨بت아이드를 SignalP (v 4.1; Nielsen, in Kihara, D (ed): Protein Function Prediction (Methods in Molecular Biology vol. 1611) 59-73, Springer 2017)으로 확인하였다.
- [0835] 3개의 모노클로날 항-CD47 항체 클론을 추가의 개발을 위해 선택하였다: 1-1-A1, 5-48-A6 및 5-48-D2.
- [0836] 항체 클론 1-1-A1의 사람화된 버전을 또한 표준 방법에 따라 항체 클론 1-1-A1의 CDR을 사람 항체 골격 영역을 포함하는 VH 및 VL 내로 클로닝함으로써 제조하였다. 이러한 항체 클론을 항체 클론 1-1-A1_BM으로 지정하였다.

항체 클론	VH/VL 서열	항체를 생성하는데 사용된 펩타이드 면역원
1-1-A1_BM	VH = 서열번호:23	서열번호:21
	VL = 서열번호:31	
1-1-A1	VH = 서열번호:39	서열번호:22
	VL = 서열번호:44	
5-48-A6	VH = 서열번호:49	
	VL = 서열번호:57	
5-48-D2	VH = 서열번호:65	
	VL = 서열번호:73	

[0837]

실시예 2: 항체 생산 및 정제**2.1 VH 및 VL의 발현 벡터 내로의 클로닝:**

[0839]

항-CD47 항체 클론의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 암호화하는 DNA 서열을 사람-마우스 키메라 항체의 작제를 위한 pFUSE-CHIg-hG1 및 pFUSE2ss-CL Ig-hk(InvivoGen, USA) 진핵세포 발현 벡터 내로 아클로닝(subcloning)하였다. pFUSE-CHIg-hG1에 의해 암호화된 사람 IgG1 불변 영역은 사람 IgG1 불변 영역(IGHG1; UniProt:P01857-1, v1)에 대해 CH3 영역내 치환 D356E, L358M(EU 번호매김에 따라 번호매김된 위치)를 포함한다. pFUSE2ss-CL Ig-hk는 사람 IgG1 경쇄 카파 불변 영역(IGCK; UniProt: P01834-1, v2)을 암호화한다.

[0840]

신호 펩타이드를 따르는 가변 영역을 클로닝 벡터로부터 SeqAmp 효소(Clontech™, USA)를 사용하여 제조업자 프로토콜에 따라 증폭시켰다. VH 또는 VL내 적절한 영역과 15 내지 20bp 오버랩 및 제한 부위로서 5' 말단에서 6 bp를 갖는 전방(forward) 및 역방(reverse) 프라이머를 사용하였다. DNA 삽입체 및 pFuse 벡터를 제조업자가 추천한 제한 효소로 분해하여 골격이 도입되지 않도록 보증하고(예컨대, VH의 경우 EcoRI 및 NheI, VL의 경우 AgeI 및 BsiWI) 이의 각각의 플라스미드내로 T4 리가제 효소(Thermo Scientific, USA)를 사용하여 연결시켰다. 3:1의 몰 비의 DNA 삽입체 대 벡터를 연결에 사용하였다.

[0841]

2.2 포유동물 세포내에서 항체의 발현

[0842]

항체를 1) Expi293 일시적인 발현 시스템 키트(Transient Expression System Kit)(Life Technologies, USA), 또는 2) HEK293-6E 일시적인 발현 시스템(CNRC-NRC, Canada)을 사용하여 제조업자의 설명서에 따라 발현시켰다.

[0843]

1) Expi293 일시적인 발현 시스템:

[0844]

세포주 유지:

[0845]

HEK293F 세포(Expi293F)를 Life Technologies, Inc(USA)로부터 수득하였다. 세포를 50 IU/ml 폐니실린 및 50 µg/ml 스트렙토마이신(Gibco, USA)이 보충된 혈청-유리된, 단백질-유리된, 화학적으로 정의된 배지(Expi293 발현 배지, Thermo Fisher, USA) 속에서 37°C에서 8% CO₂ 및 80% 습윤화된, 진탕 플랫폼이 장착된 항온처리기 속에서 배양하였다.

[0846]

형질감염:

[0847]

Expi293F 세포를 발현 플라스미드로 ExpiFectamine 293 시약 키트(Reagent kit)(Gibco, USA)를 사용하여 이의 제조업자의 프로토콜에 따라 형질감염시켰다. 요약하면, 유지시 세포를 배지 교환에 적용시켜 배양물을 회전시켜 항생제를 제거하고, 세포 펠렛을 형질감염 1일 전에 항생제의 부재하에서 새로운 배지 속에 재-현탁시켰다. 형질감염일에, 2.5 x 10⁶/ml의 생존가능한 세포를 각각의 형질감염을 위해 진탕기 플라스크내에 씨딩(seeding)하였다. DNA-ExpiFectamine 복합체를 혈청-감소된 배지인, Opti-MEM(Gibco, USA) 속에서, 25분 동안 실온에서 형성시킨 후 세포에 가하였다. 인핸서를 형질감염된 세포에 형질감염 후 16 내지 18 시간째에 가하였다. 동량의 배지를 형질감염 4일 후에 형질감염체에 채워 세포 응집을 방지하였다. 형질감염체를 7일째에 4000 x g에서 15 분 동안 원심분리함으로써 수거하고, 0.22 µm 멸균 여과기 유닛(unit)을 통해 여과하였다.

[0848]

2) HEK293-6E 일시적인 발현 시스템

[0849]

세포주 유지:

[0851] HEK293-6E 세포를 National Research Council Canada로부터 구입하였다. 세포를 0.1% 콜리포(Kolliphor)-P188 및 4 mM L-글루타민(Gibco, USA) 및 25 µg/ml G-418가 보충된 혈청-유리된, 단백질-유리된, 화학적으로 정의된 Freestyle F17 배지(Invitrogen, USA) 속에서 37°C에서 5% CO₂ 및 80% 습윤화된, 진탕 플랫폼이 장착된 항온처리기 속에서 배양하였다.

[0852] 형질감염:

[0853] HEK293-6E 세포를 발현 플라스미드로 PEIproTM(Polyplus, USA)을 사용하여 이의 제조업자의 프로토콜에 따라 형질감염시켰다. 요약하면, 유지시 세포를 배지 교환에 적용시켜 원심분리로 항생제를 제거하고, 세포 웰렛을 항생제가 들어있지 않은 신선한 배지로 형질감염 1일 전에 재-현탁시켰다. 형질감염 당일에, 1.5 내지 2 x 10⁶ 개의 세포/ml의 생존가능한 세포를 각각의 형질감염을 위한 진탕기 플라스크 속에 씨딩하였다. DNA 및 PEIproTM을 1:1의 비로 혼합하고 복합체가 세포에 가하기 전 실온에서 5분 동안 F17 배지 속에서 형성하도록 하였다. 0.5% (w/v)의 트립톤 N1을 형질전환체에 형질감염 후 24 내지 48시간 째에 가하였다. 형질전환체를 4000 x g에서 15 분 동안 원심분리에 의해 6-7일째에 수거하고 상층액을 0.22 µm 멀균 여과기 유닛을 통해 여과하였다.

[0854] 세포를 다음의 폴리펩타이드의 조합을 암호화하는 벡터로 형질감염시켰다:

항원-결합 분자	폴리펩타이드	항체
[1]	1-1-A1_BM VH-CH1-CH2-CH3 (서열번호:107) + 1-1-A1_BM VL-Ck (서열번호:108)	항-CD47 클론 1-1-A1_BM IgG1
[2]	1-1-A1 VH-CH1-CH2-CH3 (서열번호:109) + 1-1-A1 VL-Ck (서열번호:110)	항-CD47 클론 1-1-A1 IgG1
[3]	5-48-A6 VH-CH1-CH2-CH3 (서열번호:111) + 5-48-A6 VL-Ck (서열번호:112)	항-CD47 클론 5-48-A6 IgG1
[4]	5-48-D2 VH-CH1-CH2-CH3 (서열번호:113) + 5-48-D2 VL-Ck (서열번호:114)	항-CD47 클론 5-48-D2 IgG1
[5]	항-CD33 VH-CH1-CH2-CH3 (서열번호:115) + 항-CD33 VL-Ck (서열번호:116)	항-CD33 IgG1

[0855]

2.3 항체 정제

[0856]

친화성 정제, 완충제 교환 및 저장:

[0857]

형질감염된 세포에 의해 배양 상층액내로 분비된 항체를 액체 크로마토그래피 시스템 AKTA Start(GE Healthcare, 영국 소재)을 사용하여 정제하였다. 구체적으로, 상층액을 HiTrap 단백질 G 컬럼(GE Healthcare, 영국 소재) 상에 5 ml/min의 결합 속도에서 로딩/loading)한 다음, 컬럼을 10개 컬럼 용적의 세척 완충제(20 mM 인산나트륨, pH 7.0)로 세척하였다. 결합된 mAb를 용출 완충제(0.1 M 글리신, pH 2.7)로 용출시키고 용출제를 분획화시켜 적절한 양의 중화 완충제(1 M 트리스, pH 9)를 함유하는 수집 퓨브내로 분획화하였다. 정제된 mAb를 함유하는 중화된 용출 완충제를 PBS 내로 30K MWCO 단백질 농축제(Thermo Fisher, USA 소재) 또는 3.5K MWCO 투석 카세트(Thermo Fisher, USA)를 사용하여 교환하였다. 모노클로날 항체를 0.22 µm 여과기를 통과시켜 멀균시키고, 등분(aliquoting)하고 -80°C에서 저장을 위해 스냅-동결(snap-freezing)시켰다.

[0858]

2.4 항체-순도 분석

[0860] 크기 배제 크로마토그래피(SEC):

[0861] 항체 순도를 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 HiLoad 16/600 슈퍼덱스(Superdex) 200 pg 컬럼(GE Healthcare, 영국 소재)을 사용하여 AKTA Explorer 액체 크로마토그래피 시스템(GE Healthcare, 영국 소재)을 사용하여 수행하였다. 단백질 샘플을 SEC 컬럼에 0.2 내지 1.5 mg/ml의 범위의 농도에서 적용시키고 1 x PBS를 1 ml/min의 유동 속도에서 컬럼에 펌핑(pumping)하였다. 단백질을 이들의 분자량에 따라 용출시켰다.

[0862] 나트륨-도데실 살레이트 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(SDS-PAGE):

[0863] 항체 순도를 SDS-PAGE에 의해 환원 및 비-환원 조건 하에서 표준 방법에 따라 분석하였다. 요약하면, 4% 내지 20% TGX 단백질 겔(Bio-Rad, USA)을 사용하여 단백질을 Mini-Protean 전기영동 시스템(Bio-Rad, USA)을 사용하여 용해하였다. 비-환원 조건을 위해, 단백질 샘플을 2x 램블리(Laemmli) 샘플 완충제(Bio-Rad, USA)와 혼합함으로써 변성시키고 95°C에서 5 내지 10분 동안 비등시킨 후 겔에 로딩시켰다. 환원 조건을 위해, 5%의 β-머캅토에탄올(β ME), 또는 40 mM DTT(디티오프레이탈)을 함유하는 2x 샘플 완충제를 사용하였다. 전기영동을 150V의 고정 전압에서 1시간 동안 SDS 작동 완충제(25 mM 트리스, 192 mM 글리신, 1% SDS, pH 8.3) 속에서 수행하였다.

[0864] 실시예 3: 생물물리학적 특성화

[0865] 3.1 BLITz 시스템을 사용한 전반적인 친화성 연구

[0866] 생물-층 간섭법(Bio-Layer Interferometry: BLI) 실험을 단일 채널 BLITz 시스템(ForteBio, 캘리포니아주 멘로파크(Menlo Park) 소재)을 사용하여 사람 IgG를 포획하기 위한 항-사람 면역글로불린 G(IgG) Fc (AHC) 코팅된 바이오센서 텁(Pall ForteBio, 캘리포니아주 멘로 파크 소재)을 사용하여 수행하였다. 바이오센서를 우선 검정 완충액(인산염 완충된 염수) 속에서 적어도 10분 동안에 이어서 완충제 기본선 속에서 30초 동안 수화시키고 사람 IgG를 바이오센서 텁 위로 25 내지 50 nM 범위의 농도에서 120초 동안 로딩하였다. 이후에, 텁을 검정 완충액을 사용하여 30초 동안 간단히 세척하여 제2 완충제 기본선을 수득하기 위한 비특이적으로 결합된 단백질 또는 결합되지 않은 IgG를 제거하였다. IgG와 항원(500 nM 내지 0 nM)의 결합 상을 120초에 설정한 다음 해리 상(검정 완충제 단독)을 120초 동안 설정하였다. 모든 BLITz 작동을 실온에서 1000 rpm의 교반 속도에서 측정하고 AHC 바이오센서를 검정 후 10 mM의 글리신(pH 2.7)을 사용하여 재생시켰다. AHC 센서 상의 고정된 항체와 사람 CD47 사이의 결합 친화성을 소프트웨어 BLITz Pro를 사용하여 결합 역학 곡선을 분석함으로써 측정하였다. 모든 센서그램(sensorgram)은 감해진 참고이며 상이한 농도의 항원 및 전반적으로 피팅된(fitted) 데이터에 대해 생성된 동적 상수(KD/Ka/Kd)에서 결합 곡선을 분석한 1:1 모델로 전반적으로 피팅시켰다. 모든 결합 곡선을 결합 단계와 해리 단계 사이의 정렬불량(misalignment)을 교정하는 단계 교정에 적용시키고 0.9 이상의 R^2 값을 지닌 곡선을 분석에 사용하였다.

[0867] IgG1 양식의 항-CD47 항체 클론을 사람 CD47에 대한 결합 친화성에 대해 분석하였다.

[0868] 분석에 대한 각각의 센서그램을 도 2a 및 2b에 나타낸다. 클론 1-1-A1은 9 nM의 K_D 를 가진 것으로 밝혀졌으며, 1-1-A1_BM은 16.1 nM의 K_D 를 가진 것으로 밝혀졌다.

[0869] 별도의 실험에서, 사람 CD47에 대한 1-1-A1_BM(실시예 2.2의 [1])의 친화성을 BLI에 의해 항-펜타(Penta)-HIS(HIS1K) 옥텟 센서(Octet sensor)를 사용하여 분석하였다. 완충제 기본선을 30초 동안 수득한 다음, 센서를 his-태그된 사람 CD47(1.2 μM)로 120초 동안 로딩하였다. 제2의 완충제 기본선을 60초 동안 수득한 후, 1-1-A1_BM을 갖는 결합 상을 15.6 M 내지 500 nM 범위의 농도에서 120초 동안, 및 해리 상을 완충제 속에서 120초 동안 수득하였다.

[0870] 결과는 도 8에 나타낸다. 1-1-A1_BM은 당해 검정에서 사람 CD47에 $K_D = 10.4$ nM로 결합하는 것으로 밝혀졌다.

[0871] 3.2 유동 세포분석법에 의한 세포 표면 항원-결합의 분석

[0872] HEK293T 세포(이는 고 수준의 CD47을 발현한다) 및 HEK293T 세포-유래된 CD47 녹아웃 세포주의 세포를 20 μg/ml의 항-CD47 항체 또는 동형 대조군 항체와 함께 4°C에서 1시간 동안 항온처리하였다. 항-CD47 항체 클론 B6H12(Santa Cruz Biotechnology, 제품 번호 sc-12730)를 양성 대조군으로서 분석에 포함시켰다.

[0873] 세포를 FACS 완충제(5mM EDTA 및 0.5% BSA가 들어있는 PBS)로 3회 세척하고 FITC-접합된 항-FC 항체(Invitrogen, USA 소재) 속에서 40분 동안 2 내지 8°C에서 재현탁시켰다. 세포를 다시 세척하고 유동 세포 분석

을 위해 MACSQuant 10(Miltenyi Biotec, 독일 소재)을 사용하여 200 μ L의 FACS 유동 완충제(5mM EDTA가 들어 있는 PBS) 속에 재현탁시켰다. 획득 후, 모든 미가공 데이터(raw data)를 Flowlogic 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 세포를 전방 및 측면 스캐터 프로파일(side scatter profile)을 사용하여 게이팅(gating)시키고 형광성 강도의 메디안(Median of Fluorescence Intensity: MFI) 값을 천연 및 과발현 세포 집단에 대해 측정하였다.

[0874] 항-CD47 항체는 사람 CD47에 고 특이성으로 결합하는 것으로 밝혀졌다. 도 3a 및 3b는 클론 1-1-A1 및 1-1-A1_BM을 사용하여 수득된 결과를 나타내며, 도 3c는 시판되는 항-CD47 항체 클론 B6H12(양성 대조군)을 사용하여 수득된 결과를 나타낸다.

[0875] 다발 골수종 및 베켓 림프종 세포주를 CD47 발현에 대해 유동 세포분석법에 의해 항-CD47 항체 클론 B6H12을 사용하여 분석하였다. 요약하면, 0.5×10^6 개의 세포를 4% 파라포름알데하이드로 10분 동안 실온에서 처리함으로써 고정시키고, 후속적으로 APC-접합된 항-CD47 항체로 1:11 희석에서 30분 동안 4°C에서 염색시켰다. 분석 결과를 도 3d 및 하기 표에 나타낸다:

세포주	CD47에 대해 양성인 세포 %
MM.1S	99.9
H929	2.23
U226	93.3
8226	99.4
RAJI	97.9

[0876]

3.3 항체 특이성을 측정하기 위한 ELISA

[0877] ELISA를 사용하여 항체의 결합 특이성을 측정하였다. 항체를 표적 웨타이드 및 단백질 뿐만 아니라, 각각의 마우스, 랙트 및 원숭이 동족체(Sino Biological Inc., 중국 소재)에 대해서도 시험하였다.

[0878]

ELISA를 표준 프로토콜에 따라 수행하였다. 요약하면, 96-웰 플레이트(Nunc, 덴마크)를 인산염-완충된 염수(PBS) 속에서 1 μ g/ml의 Fc-태그된 사람 CD47로 16시간 동안 4°C에서 코팅하였다. 1시간 동안 트리스 완충제 염수(TBS) 중 1% BSA로 실온에서 차단시킨 후, 후보물 항원-결합 분자를 10 μ g/ml인 최고 농도로 일련 희석시키고 플레이트에 가하였다. 실온에서 1시간 항온처리한 후, 플레이트를 0.05% 트윈 20(TBS-T)을 함유하는 TBS로 3회 세척한 다음 HRP-접합된 항-His 항체(Life Technologies, Inc., USA 소재)와 함께 1시간 동안 실온에서 항온처리하였다. 세척 후, 플레이트를 비색 검출 기질 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(Turbo-TMB; Pierce, USA)을 사용하여 전개시켰다. 반응을 2M H₂SO₄로 정지시키고 OD를 450 nM에서 측정하였다.

[0879]

레서스 마카우 CD47(RhCD47)에 대한 항-CD47 클론 1-1-A1_BM IgG1(실시예 2.2의 [1])의 결합을 사람 CD47(hCD47)에 대한 결합과 비교하였다.

[0880]

결과는 도 5에 나타낸다.

[0881]

실시예 4: 기능적 특성화

[0882]

4.1 CD47-SIRP α 상호작용을 차단하는 능력의 분석

[0883]

96-웰 플레이트(Nunc, 덴마크 소재)를 1 X PBS 중 1 μ g/ml의 태그되지 않은 사람 CD47 단백질(Sinobiological Inc, 중국 소재)으로 16시간 동안 4°C에서 코팅시켰다. 1시간 동안 실온에서 TBS 중 1% BSA로 차단시킨 후, 1 μ g /ml의 SIRP α /사람 His 태그된 융합 단백질(Sinobiological Inc, 중국 소재)을 항체의 부재하에서, 또는 증가하는 농도의 항-CD47 항체의 존재하에서 실온에서 1시간 동안 가하였다. 플레이트를 TBS-T로 3회 연속적으로 세척하고 HRP-접합된 항-his 제2 항체(Thermo Scientific, USA 소재)와 함께 1시간 동안 실온에서 항온처리하였다. 세척 후, 플레이트를 비색 검출 기질 Turbo-TMB(Pierce, USA)로 전개시켰다. 반응을 2M H₂SO₄로 정지시키고, OD를 450 nM에서 측정하였다.

[0884]

CD47-SIRP α 상호작용의 억제 퍼센트를 SIRP α (100%)의 부재하에서 신호에 대해 계산하였다.

- [0886] 제1 실험에서, CD47과 SIRP α 사이의 상호작용의 억제를 다음의 항원-결합 분자에 대해 평가하였다:
- [0887] 항-CD47 클론 1-1-A1 IgG1(실시예 2.2의 [2])
- [0888] 항-CD47 클론 5-48-A6 IgG1(실시예 2.2의 [3])
- [0889] 항-CD47 클론 5-48-D2 IgG1(실시예 2.2의 [4])
- [0890] 결과는 도 4에 나타낸다. 수개의 항-CD47 결합 항체는 CD47-SIRP α 상호작용의 강력한 억제제인 것으로 밝혀졌다.
- [0891] 4.2 시험관내 식세포작용 검정
- [0892] 시험관내 식세포작용 검정을 표준 프로토콜에 따라 수행하였다. 요약하면, Raji 또는 HL60 세포를 10% 소 태아 혈청(FBS) 및 1% Pen/Strep이 보충된 RPMI-1640 속에서 37°C에서 5% CO₂ 항온처리기 속에서 배양하였다. 이후에 HL-60 또는 Raji 세포를 수거하고 CellTrace CFSE 세포 증식 키트(Thermo Scientific, USA 소재)를 사용하여, 제조업자의 프로토콜에 따라 CFSE-표지하였다. 이후에, 표지된 세포를 사람 말초 혈액-유래된 대식구(Stemcell Technologies, 캐나다 소재)와 함께 20 μ g/ml의 항-CD47 항체, 또는 동형 대조군 항체의 존재하에서 2시간 동안 37°C에서 항온처리하였다. 세포를 1X PBS로 3회 세척하여 모든 비-식세포작용된 표지된 세포를 제거하고 200 μ L의 FACS 유동 완충제(5 mM EDTA가 들어있는 PBS) 속에 유동 세포분석 분석을 위해 MACSQuant 10(Miltenyi Biotec, 독일 소재)을 사용하여 재현탁시켰다. 획득 후, 모든 미가공 데이터를 Flowlogic 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 세포를 전방 및 측면 스캐터 프로파일을 사용하여 게이팅하고, 인겔프된(engulfed) 효과기 세포의 퍼센트를 계산하였다.
- [0893] 제1 실험에서, 항원-결합 분자를 PBS가 항체 대신 첨가된 음성 대조군 조건과 비교하여, 대식구에 의한 CSFE-표지된 Raji 세포의 식세포작용을 촉진하는 이들의 능력에 대해 분석하였다.
- [0894] 다음의 항원-결합 분자를 본 실험에서 분석하였다:
- 항-CD47 클론 1-1-A1_BM IgG1(실시예 2.2의 [1])
- [0895] 항-CD47 항체 클론 B6H12(Santa Cruz Biotechnology, 제품 번호 sc-12730)를 양성 대조군 조건으로서 포함시켰다.
- [0896] 결과는 도 6에 나타낸다. 항-CD47 클론 1-1-A1_BM IgG1은 대식구에 의한 Raji 세포의 식세포작용을 촉진하는데 있어 매우 강력한 것으로 밝혀졌다.
- [0897] 별도의 실험에서, 항원-결합 분자를 형광 현미경으로 측정된 바와 같이, 대식구에 의한 CSFE-표지된 HL-60 세포의 식세포작용을 촉진시키는 이들의 능력에 대해 분석하였다. 대식구 지수를 형광 현미경을 사용하여 200개 세포에 대해, 대식세포당 인겔프된 CFSE-표지된 HL-60 세포의 수로서 계산하였다.
- [0898] 항-CD47 클론 1-1-A1_BM IgG1(실시예 2.2의 [1])을 실험에서 분석하고, 동형 대조군 조건을 음성 대조군으로서 포함시켰다.
- [0899] 결과는 도 7a 내지 7c에 나타낸다. 항-CD47 클론 1-1-A1_BM IgG1은 대식구에 의한 HL-60 세포의 식세포작용을 유도하는데 있어서 강력한 것으로 밝혀졌다.
- [0900] 실시예 5: 항-CD47 클론 1-1-A1의 사람화된 베타의 생산

[0902] 항-CD47 항체 클론 1-1-A1의 사람화된 버전을 생산하고 실시예 2에 기술된 바와 같이 정제하였다.

항원-결합 분자	폴리펩타이드	항체
[6]	서열번호:159 + 서열번호:160	11A1H1-IgG1
[7]	서열번호:161 + 서열번호:160	11A1H2-IgG1
[8]	서열번호:162 + 서열번호:160	11A1H3-IgG1
[9]	서열번호:163 + 서열번호:160	11A1H4-IgG1
[10]	서열번호:164 + 서열번호:160	11A1H5-IgG1
[11]	서열번호:163 + 서열번호:165	11A1H6-IgG1
[12]	서열번호:164 + 서열번호:165	11A1H7-IgG1
[13]	서열번호:163 + 서열번호:166	11A1H8-IgG1
[14]	서열번호:164 + 서열번호:166	11A1H9-IgG1
[15]	서열번호:164 + 서열번호:167	11A1H10-IgG1
[16]	서열번호:164 + 서열번호:168	11A1H11-IgG1

[0903] [0904] 항-CD47 항체 클론 1-1-A1의 사람화된 버전의 CDR을 하기 나타낸다:

클론	HC-CDR1	HC-CDR2	HC-CDR3	LC-CDR1	LC-CDR2	LC-CDR3
1A11H1						
1A11H2	GYTFTNYV (서열번호:24)	INPYNDGT (서열번호:25)		QHLEYSNGYSY (서열번호:32)	KIS (서열번호:33)	
1A11H3						
1A11H4						
1A11H5	GYTFTGYV (서열번호:137)	INPYNGGT (서열번호:138)				
1A11H6	GYTFTNYV (서열번호:24)	INPYNDGT (서열번호:25)	ASGGYYTMDY (서열번호:26)	QHLEYSQGYSY (서열번호:139)		SQSTHVPYT (서열번호:34)
1A11H7	GYTFTGYV (서열번호:137)	INPYNGGT (서열번호:138)		QHLEYSTGYSY (서열번호:140)	KVS (서열번호:141)	
1A11H8	GYTFTNYV (서열번호:24)	INPYNDGT (서열번호:25)		QHLEYSNGYSY (서열번호:32)	KIS (서열번호:33)	SQGTHVPYT (서열번호:142)
1A11H9						
1A11H10	GYTFTGYV (서열번호:137)	INPYNGGT (서열번호:138)				
1A11H11						
컨센서스	GYTFTX ₁ YV X ₁ = N 또는 G (서열번호:169)	INPYNX ₂ GT X ₂ = D 또는 G (서열번호:170)	ASGGYYTMDY (서열번호:26)	QHLEYSX ₃ GYSY X ₃ = N, Q 또는 T (서열번호:171)	KX ₄ S X ₄ = I 또는 V (서열번호:172)	SQX ₅ THVPYT X ₅ = S 또는 G (서열번호:173)

[0905]

[0906] 항-CD47 항체 클론 1-1-A1의 사람화된 버전의 FR을 하기에 나타낸다:

클론	HC-FR1	HC-FR2	HC-FR3	HC-FR4
1A11H1	QVQLVQSGAEVKP GASVKVSCKAS (서열번호:143)	IHWVRQAPGKGLEW MGY (서열번호:144)	KSNEFKGRVTLTS DKSSTSAYMELSSL RSEDTAVYYC (서열번호:147)	WGQGTLTVSS (서열번호:152)
1A11H2			KSNEFKGRVTLTS DTSTTAYMELSSL RSEDTAVYYC (서열번호:148)	
1A11H3			MHWVRQAPGQGLEW MGY (서열번호:145)	WGQGTLV (서열번호:153)
1A11H4			KYNQKFKGRVTLTS DTSTTAYMELSSL RSDDTAVYYC (서열번호:150)	
1A11H5			NYAQKFKGRVTLTS DTSTTAYMELSSL RSEDTAVYYC (서열번호:151)	WGQGTLTVSS (서열번호:152)
1A11H6			KYNQKFKGRVTLTS DTSTTAYMELSSL RSDDTAVYYC (서열번호:150)	WGQGTLV (서열번호:153)
1A11H7			NYAQKFKGRVTLTS DTSTTAYMELSSL RSEDTAVYYC (서열번호:151)	WGQGTLTVSS (서열번호:152)
1A11H8			KYNQKFKGRVTLTS DTSTTAYMELSSL RSDDTAVYYC (서열번호:150)	WGQGTLV (서열번호:153)
1A11H9			NYAQKFKGRVTLTS DTSTTAYMELSSL RSEDTAVYYC (서열번호:151)	
1A11H10			NYAQKFKGRVTLTS DTSTTAYMELSSL RSEDTAVYYC (서열번호:151)	WGQGTLTVSS (서열번호:152)
1A11H11			X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ KFX ₁₂ GRV TLTSDX ₁₃ SX ₁₄ SX ₁₅ A YMELSX ₁₆ LRSX ₁₇ DT AVYYC X ₈ = K 또는 N X ₉ = S 또는 Y X ₁₀ = N 또는 A X ₁₁ = E 또는 Q X ₁₂ = K 또는 Q X ₁₃ = T 또는 K X ₁₄ = T 또는 S X ₁₅ = T 또는 S X ₁₆ = S 또는 R X ₁₇ = E 또는 D (서열번호:175)	
컨센서스(Co nsensus)	QVQLVQSGAEVKP GASVKVSCKAS (서열번호:143)	X ₆ IHWVRQAPGX ₇ GLE WMGY X ₆ = I 또는 M X ₇ = Q 또는 K (서열번호:174)	X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ KFX ₁₂ GRV TLTSDX ₁₃ SX ₁₄ SX ₁₅ A YMELSX ₁₆ LRSX ₁₇ DT AVYYC X ₈ = K 또는 N X ₉ = S 또는 Y X ₁₀ = N 또는 A X ₁₁ = E 또는 Q X ₁₂ = K 또는 Q X ₁₃ = T 또는 K X ₁₄ = T 또는 S X ₁₅ = T 또는 S X ₁₆ = S 또는 R X ₁₇ = E 또는 D (서열번호:175)	WGQGTLVX ₁₈ X ₁₉ X ₂₀ X ₂₁ X ₁₈ = T 이거나 부재함 X ₁₉ = V 이거나 부재함 X ₂₀ = S 이거나 부재함 X ₂₁ = S 이거나 부재함 (서열번호:176)

[0907]

클론	LC-FR1	LC-FR2	LC-FR3	LC-FR4
1A11H1	DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSS (서열번호:154)	LHWYQQRPGQSPRLIY (서열번호:155)	NRFSGVPDRFSGSG SGTDFTLKISRVEAE DVGVYYC (서열번호:156)	
1A11H2				
1A11H3				
1A11H4				
1A11H5				
1A11H6				FGGGTKEIK (서열번호:158)
1A11H7			NRDSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYC (서열번호:157)	
1A11H8				
1A11H9				
1A11H10			NRFSGVPDRFSGSG SGTDFTLKISRVEAE DVGVYYC (서열번호:156)	
1A11H11				
컨센서스	DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSS (서열번호:154)	LHWYQQRPGQSPRLIY (서열번호:155)	NRX ₂₂ SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYC X ₂₂ = D 또는 F (서열번호:177)	FGGGTKVEIK (서열번호:158)

[0908]

실시예 6: 항-CD47 항체 클론 1-1-A1의 사람화된 버전의 생물물리학적 특성화

[0909]

6.1 항체 특이성을 측정하기 위한 ELISA

[0910]

항-CD47 클론 1-1-A1의 사람화된 버전의 결합 특이성을 ELISA로 분석하였다.

[0911]

96-웰 플레이트(Nunc, 덴마크 소재)를 PBS 속에서 1 µg/ml의 사람 CD47 또는 VISTA 단백질로 1시간 동안 실온에서 코팅하였다. 플레이트를 1시간 동안 실온에서 0.05% 트윈 20(TBS-T)을 함유하는 트리스 완충제 염수 중 1% BSA로 차단시켰다. 시험 항원-결합 분자를 0.002 pg/ml 내지 200 µg/ml 범위의 농도에서 가하고, 플레이트를 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 이후에 플레이트를 TBS-T로 3회 세척한 다음, HRP-접합된 제2 항체와 함께 1시간 동안 실온에서 항온처리하였다. 세척 후, 플레이트를 비색 검출 기질 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(Turbo-TMB; Pierce, USA)로 전개시켰다. 반응을 3.5분 후 2M H₂SO₄로 정지시키고 OD를 450 nm에서 측정하였다.

[0912]

다음의 항원-결합 분자를 실험에서 분석하였다:

[0913]

- 11A1H3-IgG1(실시예 5의 [8]).

[0914]

- 11A1H4-IgG1(실시예 5의 [9]).

[0915]

- 11A1H5-IgG1(실시예 5의 [10]).

[0916]

- 11A1H6-IgG1(실시예 5의 [11]).

[0917]

- 11A1H7-IgG1(실시예 5의 [12]).

[0918]

- 11A1H9-IgG1(실시예 5의 [14]).

[0919]

- 11A1H10-IgG1(실시예 5의 [15]).

[0920]

- 11A1H11-IgG1(실시예 5의 [16]).

[0921]

- 항-CD47 클론 1-1-A1_BM IgG1(실시예 2.2의 [1]).

[0922]

- 항-CD33 IgG1(실시예 2.2의 [5])(음성 대조군) - 도 9에서 'M195'로서 지칭됨.

- 항-CD33 IgG1(실시예 2.2의 [5])(음성 대조군) - 도 9에서 'M195'로서 지칭됨.

[0924] 결과는 도 9에 나타낸다. 사람화된 항체는 사람 CD47에 대한 결합을 나타내었다. EC₅₀ 값을 계산하고 1-1-A1_BM에 대한 EC₅₀에 대해 EC₅₀ 값에 있어서의 배 증가(fold increase)를 하기에 나타낸다.

항체	EC₅₀ (μg/mL)	1-1-A1_BM에 대한 EC₅₀에 있어서의 배 증가
11A1H3	0.00022	0.12
11A1H4	0.00018	0.10
11A1H5	0.00015	0.08
11A1H6	13.4	7444
11A1H7	36.8	20444
11A1H9	23.5	13056
11A1H10	38.1	21167
11A1H11	0.0021	1.17
11A1BM	0.0018	1.0

[0925]

[0926] 별도의 ELISA에서, 항원-결합 분자를 사람 VISTA에 대한 결합에 대해 평가하였다. 항-사람 VISTA 항체 VSTB112(예컨대, 제WO 2015/097536호에 기술됨)를 양성 대조군으로서 포함시켰다.

[0927]

결과는 도 10에 나타낸다. 사람화된 항체는 사람 VISTA와 교차-반응하지 않는 것으로 밝혀졌다.

[0928]

6.2 BLItz 시스템을 사용한 전반적인 친화성 연구

[0929]

사람 CD47에 대한 항-CD47 클론 1-1-A1의 사람화된 버전의 결합 친화성은 사람 IgG를 포획하기 위한 항-사람 면역글로불린 G(IgG) Fc(AHC) 코팅된 바이오센서 텁(Pall ForteBio, 캘리포니아주 멘로 파크 소재)을 사용하여 단일 채널 BLItz 시스템(ForteBio, 캘리포니아주 멘로 파크 소재)을 사용하여 수행된 BLI 실험에서 존재하였다. 바이오센서를 우선 검정 완충제(인산염 완충된 염수) 속에서 적어도 10분 동안에 수화시킨 다음 완충제 기본선을 60초 동안 수화시키고 사람 IgG를 바이오센서 텁으로 25 nM에서 120초 동안 로딩시켰다. 이후에, 텁을 60초 동안 검정 완충제로 간단히 세척하여 제2 완충제 기본선을 수득하기 위한 비특이적으로 결합된 단백질 또는 결합되지 않은 IgG를 제거하였다. IgG와 항원(250 nM 내지 62.5 nM)의 결합을 120초에서 설정한 후 해리 상(검정 완충제 단독)으로 120초 동안 설정하였다. 모든 BLItz를 실온에서 1000 rpm의 교반 속도에서 측정하고 AHC 바이오센서를 검정후 10 mM의 글리신(pH 2.7)을 사용하여 재생시켰다. AHC 센서 상에서 고정된 항체와 사람 CD47 사이의 결합 친화성을 소프트웨어 BLItz Pro를 사용하여 결합 동적 곡선을 분석함으로써 측정하였다. 모든 센서그램은 감해진 참고이었으며 상이한 농도의 항원에서의 결합 곡선을 분석하여 전반적으로 설정된 데이터에 대해 동적 상수(KD/Ka/Kd)를 생성한 1:1 모델로 전반적으로 피팅시켰다. 모든 결합 곡선을 결합 단계와 해리 단계 사이의 정렬불량을 교정하는 단계 교정에 적용시키고 0.9 이상의 R² 값을 지닌 곡선만을 분석에 사용하였다.

[0930]

대표적인 센소그램을 도 11a 내지 11h에 나타내며, 계산된 동적 상수 및 열역학 상수를 하기 나타낸다.

항체	K_D (nM)	K_{on} (M⁻¹s⁻¹)	K_{dis} (s⁻¹)
11A1BM	9.31	1.30 × 10 ⁵	1.21 × 10 ⁻³
11A1H3	3.39	2.66 × 10 ⁵	9.04 × 10 ⁻⁴
11A1H5	9.28	1.29 × 10 ⁵	1.20 × 10 ⁻³
11A1H6	134	1.08 × 10 ⁵	1.44 × 10 ⁻²
11A1H7	232	3.24 × 10 ⁵	7.50 × 10 ⁻³
11A1H9	23.3	2.73 × 10 ⁵	6.35 × 10 ⁻³
11A1H10	111	8.09 × 10 ⁴	8.98 × 10 ⁻³
11A1H11	13.8	1.18 × 10 ⁵	4.28 × 10 ⁻³

[0931]

실시예 7: 항-CD47 항체 클론 1-1-A1의 사람화된 버전의 기능적 특성화

[0932]

7.1 CD47-SIRP_a 상호작용을 차단하는 능력의 분석

[0933]

사람 CD47과 SIRP_a 사이의 상호작용을 억제하는 항-CD47 항체 클론 1-1-A1의 사람화된 버전의 능력을 실시예

4.1에 기술된 바와 같이, ELISA로 시험하였다.

[0935] 다음의 항원-결합 분자를 실험에서 분석하였다:

[0936] · 11A1H4-IgG1(실시예 5의 [9]).

[0937] · 11A1H5-IgG1(실시예 5의 [10]).

[0938] · 11A1H6-IgG1(실시예 5의 [11]).

[0939] · 11A1H7-IgG1(실시예 5의 [12]).

[0940] · 11A1H9-IgG1(실시예 5의 [14])

[0941] · 11A1H10-IgG1(실시예 5의 [15])

[0942] · 11A1H11-IgG1(실시예 5의 [16]).

[0943] · 항-CD47 클론 1-1-A1_BM IgG1(실시예 2.2의 [1]).

[0944] · 항-CD33 IgG1(실시예 2.2의 [5])(음성 대조군) - 도 12에서 'M195'로 지칭됨.

[0945] · J6M0-IgG1(하기 [17])(음성 대조군).

[0946] · 동형 대조군 hIgG(음성 대조군).

항원-결합 분자	폴리펩타이드	항체
[17]	J6M0 VH-CH1-CH2-CH3 (서열번호:125) + J6M0 VL-Ck (서열번호:126),	J6M0-IgG1

[0947] 결과는 도 12에 나타낸다. IC50 값을 계산하고, 1-1-A1_BM에 대한 IC50에 대해 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용의 억제에 대한 IC50 값에 있어서의 배 증가를 하기에 나타낸다.

항체	IC ₅₀ (μg/mL)	1-1-A1_BM에 대한 IC ₅₀ 에 있어서의 배 증가
11A1H4	0.150	0.32
11A1H5	0.201	0.42
11A1H6	>100	>200
11A1H7	>100	>200
11A1H9	>100	>200
11A1H10	>100	>200
11A1H11	0.483	1.02
11A1BM	0.474	1.00

[0949]

7.2 시험관내 혈구응집 검정

[0950] 항-CD47 항체 클론 1-1-A1의 사람화된 버전의 혈구응집 능력을 시험관내 혈구응집 검정을 사용하여 시험하였다.

[0951] 시험 항원-결합 분자의 혈구응집 능력을 평가하기 위하여, 혈액을 1X PBS로 완전히 세척하고 선명한 상층액이 관찰될 때까지 1500 rpm에서 5분 동안 원심분리함으로써 사람 RBC를 제조하였다. 검정을 위해, 1% 사람 RBC를 1시간 동안 실온에서 증가하는 농도의 시험 항원-결합 분자의 존재 또는 부재하에서 환저 96 웰 플레이트 속에서 항온처리하였다. 혈구응집의 존재를 가라앉지 않은 RBC의 존재로 입수하였으며, 이는 혈구응집되지 않은 RBC의 강조된 적색 점(punctuated red dot)과 비교하여 흐리게 보인다.

[0952] 항-적혈 세포 항체(AbCam, 제품 번호 ab34858) 조건을 혈구응집을 위한 양성 대조군으로서 포함시켰으며, 동형 대조군 항체 조건을 음성 대조군으로서 포함시켰다.

[0954] 다음의 항원-결합 분자를 실험에서 분석하였다:

[0955] · 11A1H1-IgG1(실시예 5의 [6]).

[0956] · 11A1H2-IgG1(실시예 5의 [7]).

[0957] · 11A1H3-IgG1((실시예 5의 [7])).

[0958] · 11A1H4-IgG1(실시예 5의 [8]).

[0959] · 11A1H5-IgG1(실시예 5의 [10]).

[0960] · 11A1H6-IgG1(실시예 5의 [11]).

[0961] · 11A1H7-IgG1(실시예 5의 [12]).

[0962] · 11A1H9-IgG1(실시예 5의 [14]).

[0963] · 11A1H10-IgG1(실시예 5의 [15]).

[0964] · 11A1H11-IgG1(실시예 5의 [16]).

[0965] · 항-CD47 클론 1-1-A1_BM IgG1(실시예 2.2의 [1]).

[0966] · 항-CD33 IgG1(실시예 2.2의 [5])(음성 대조군) - 도 13에서 'M195'로서 지칭됨.

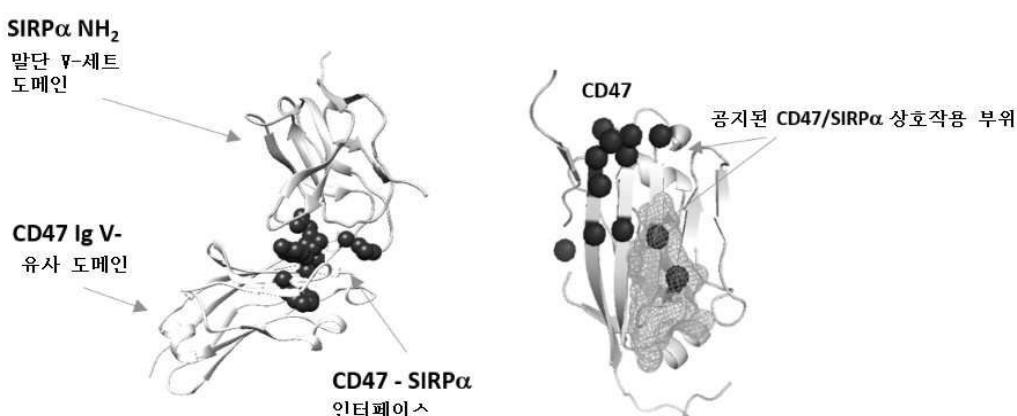
[0967] · J6M0-IgG1(실시예 7.1의 [17])(음성대조군) - 도 13에서 '무관한 Ag'로서 지칭됨.

[0968] · 항-적혈 세포 항체(AbCam, 제품 번호 ab34858) - 도 13에서 '항(ANTI) RBC'로 지칭됨.

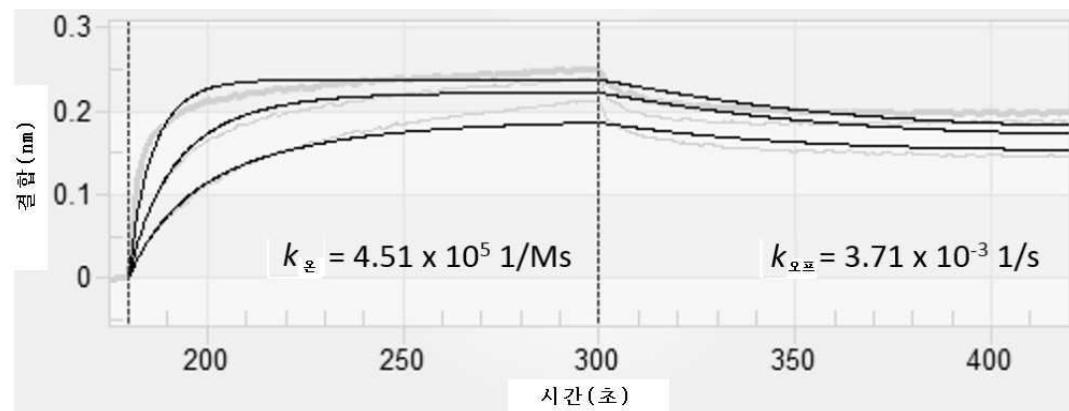
[0969] 결과는 도 13에 나타낸다.

도면

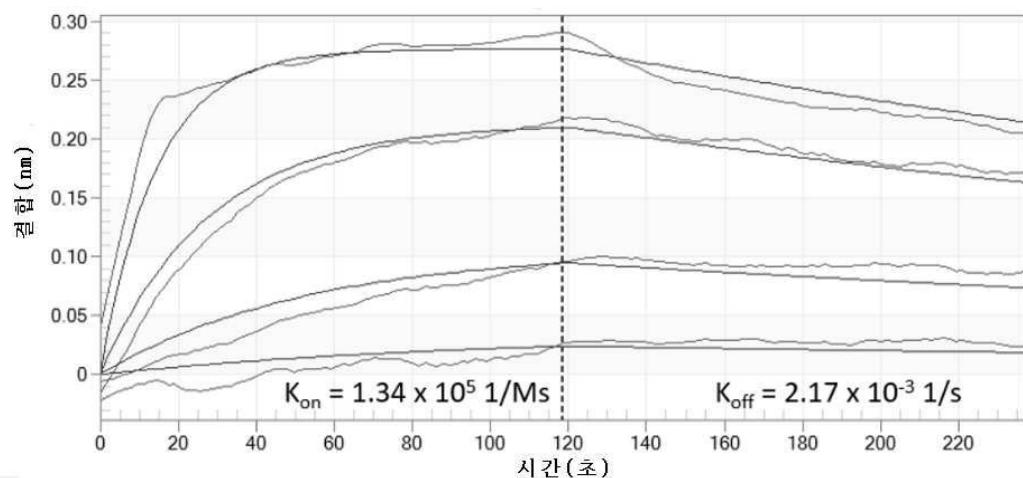
도면1



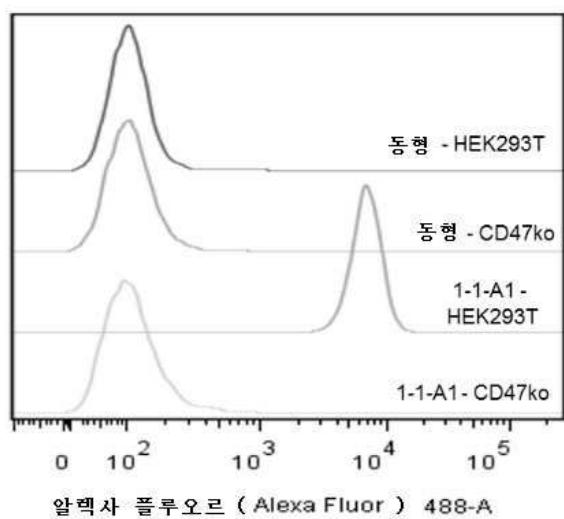
도면2a



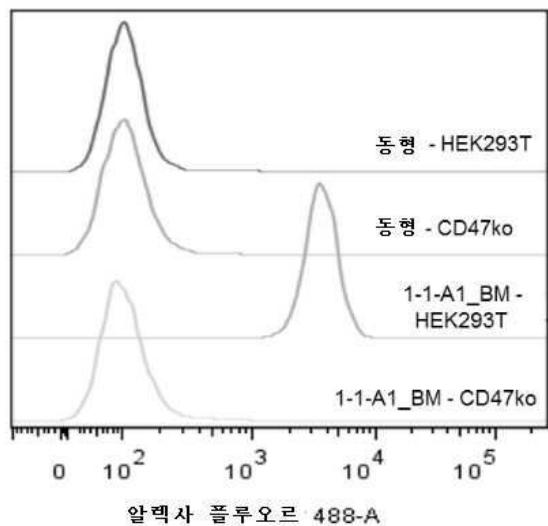
도면2b



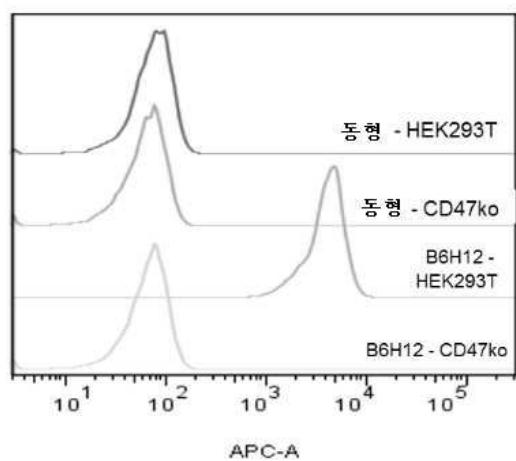
도면3a



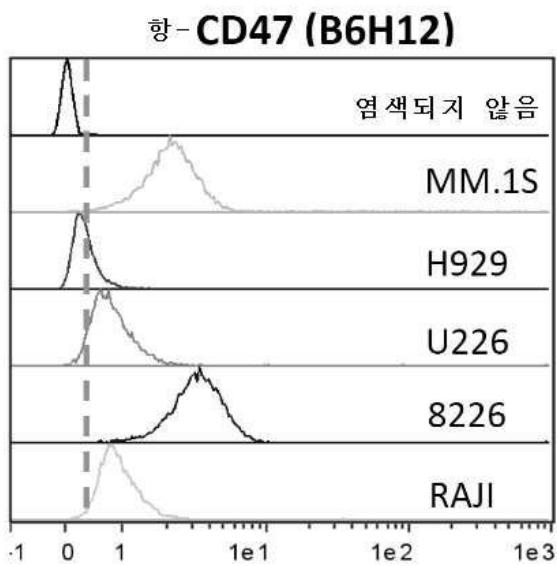
도면3b



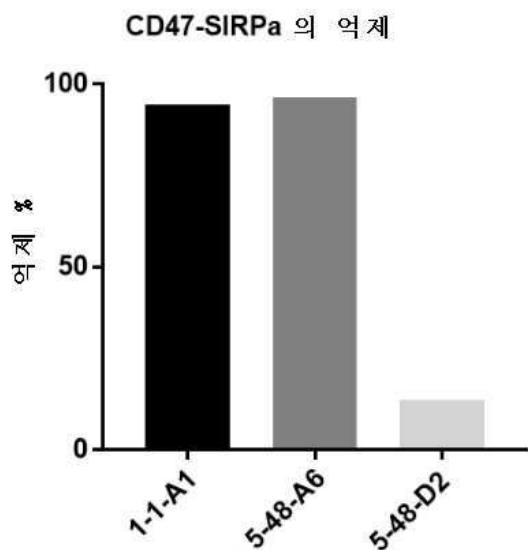
도면3c

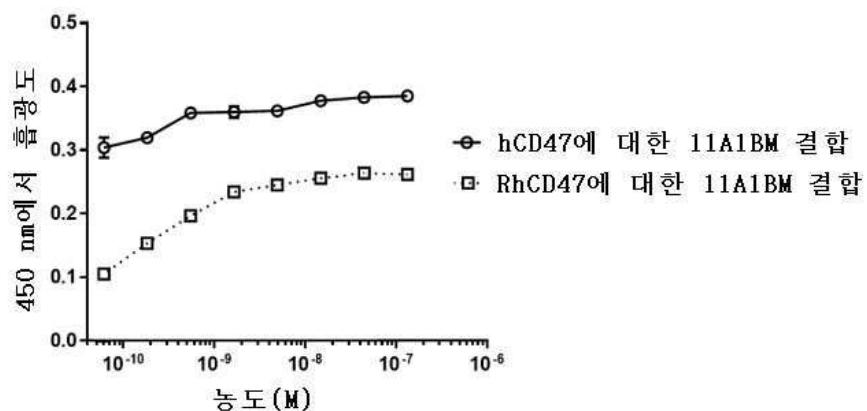
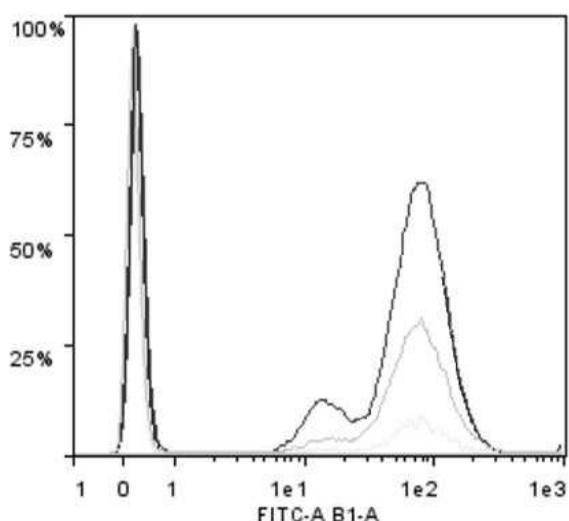


도면3d

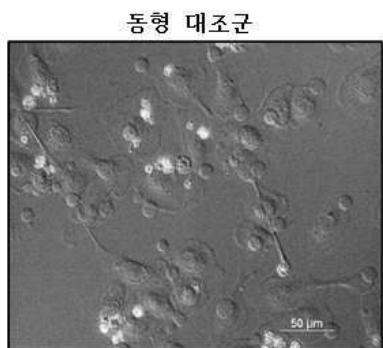


도면4

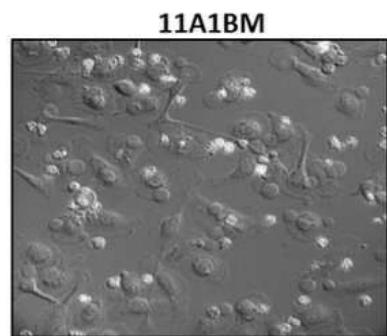


도면5**도면6**

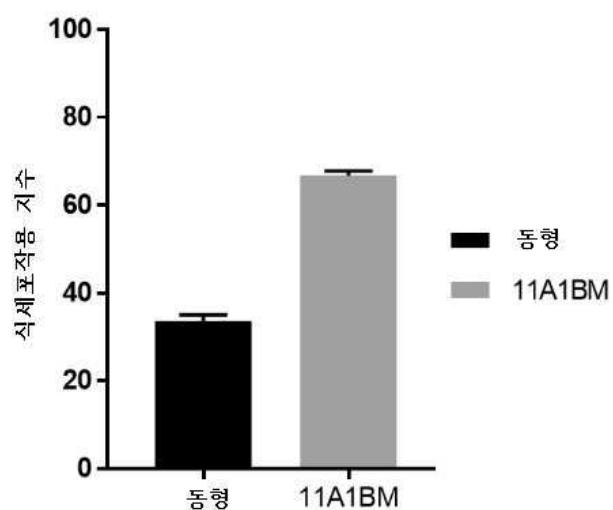
범례	집단	살아있는 세포 %	FITC 양성 %
	음성 대조군 (PBS)	71.54	27
	B6H12 대조군	73.39	59
	1-1-A1 mAb	77.51	74.63

도면7a

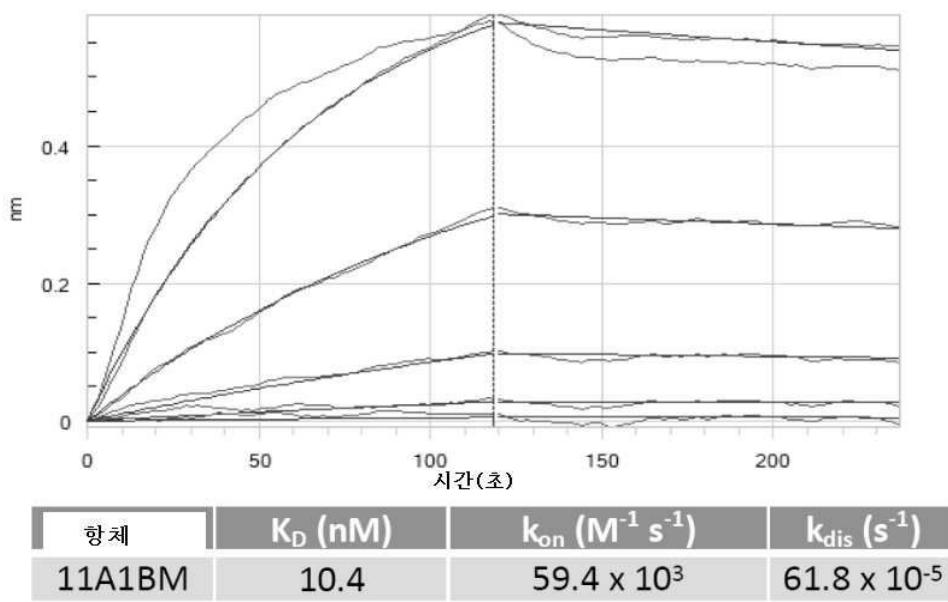
도면7b



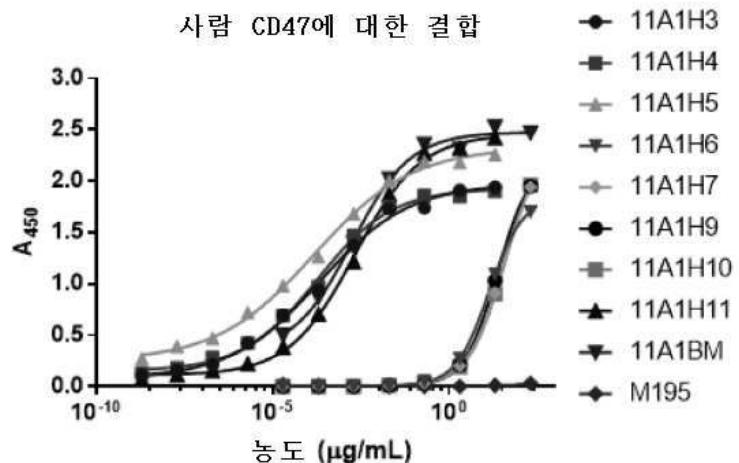
도면7c



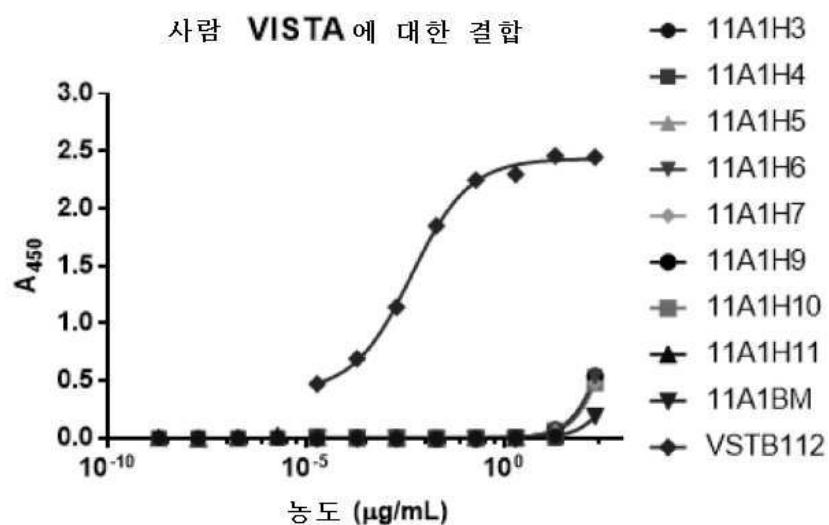
도면8



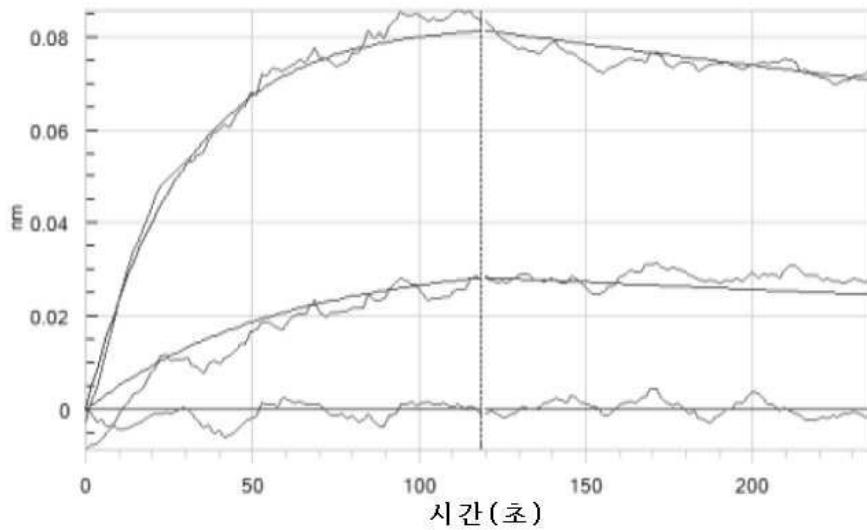
도면9



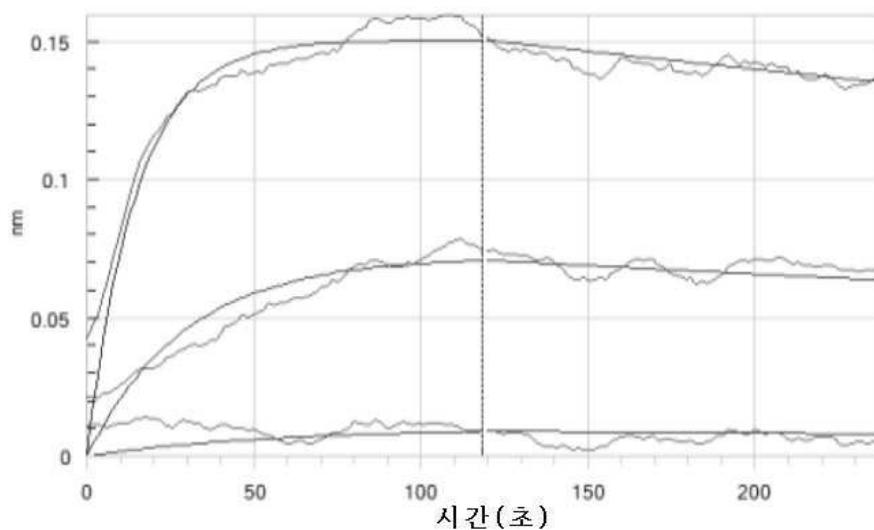
도면10



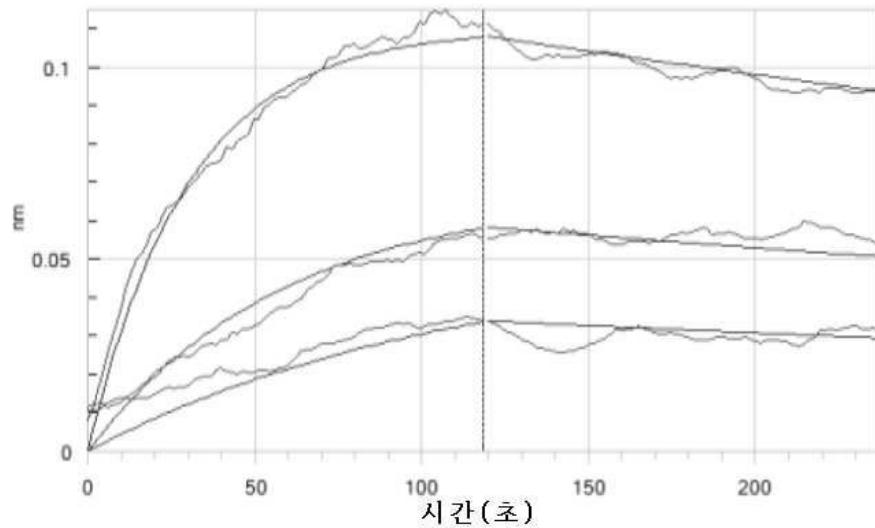
도면11a



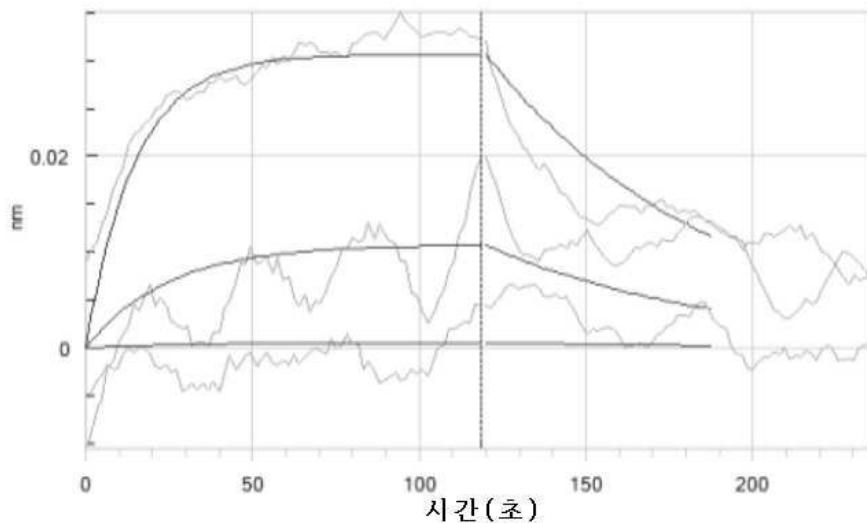
도면11b



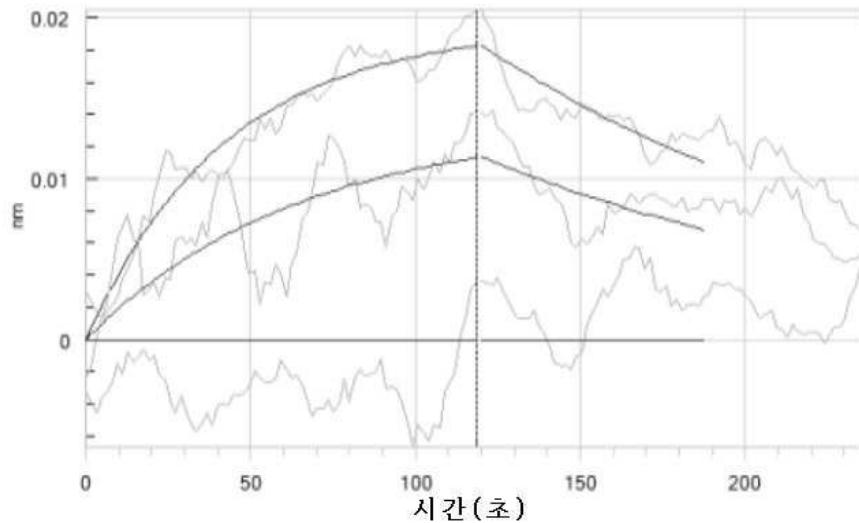
도면11c



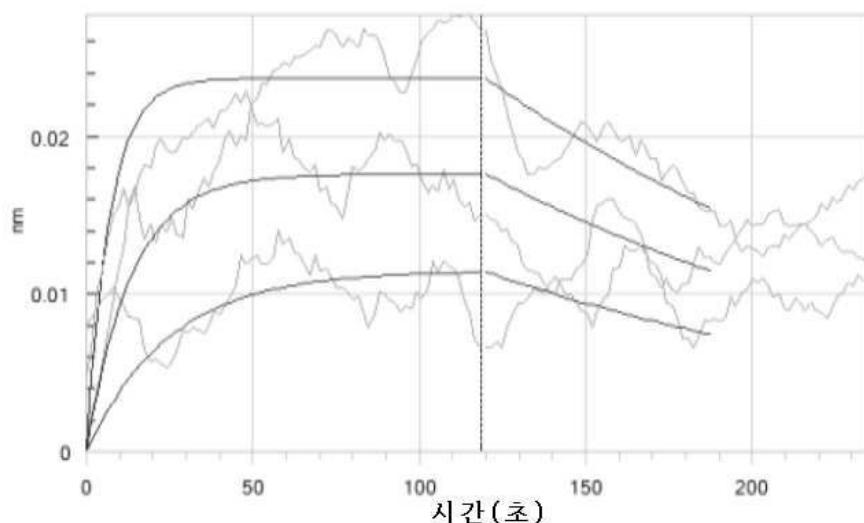
도면11d



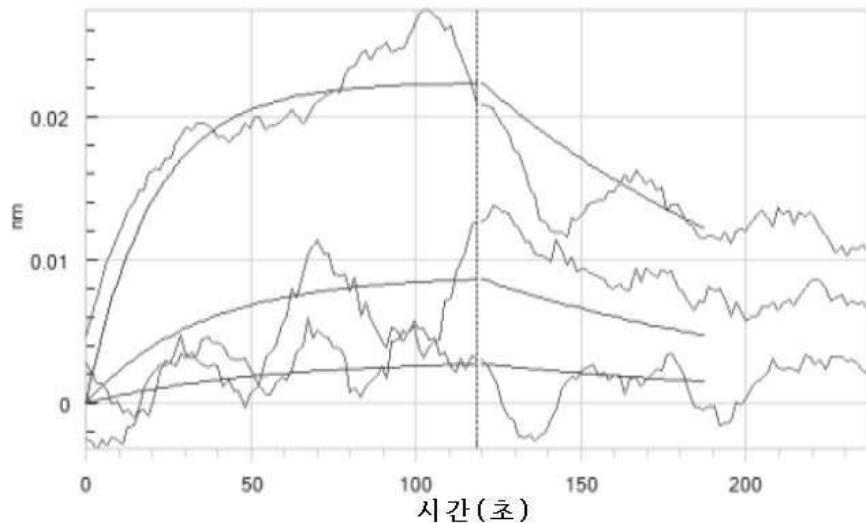
도면11e



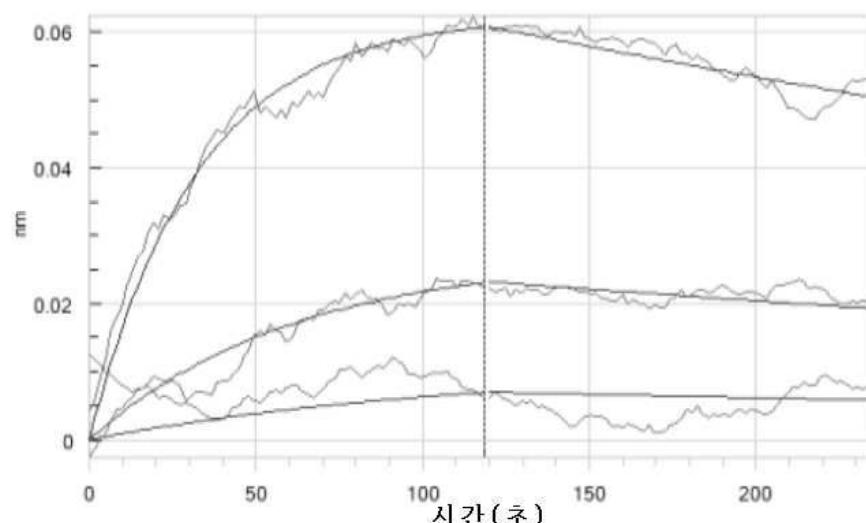
도면11f



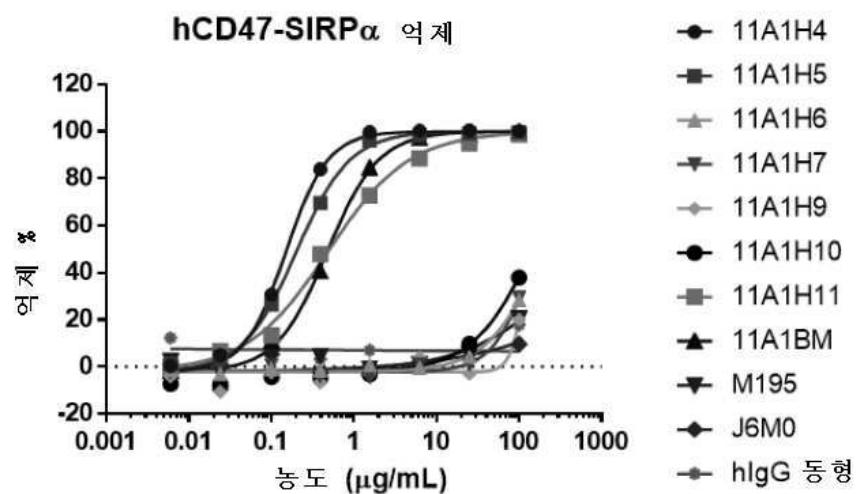
도면11g



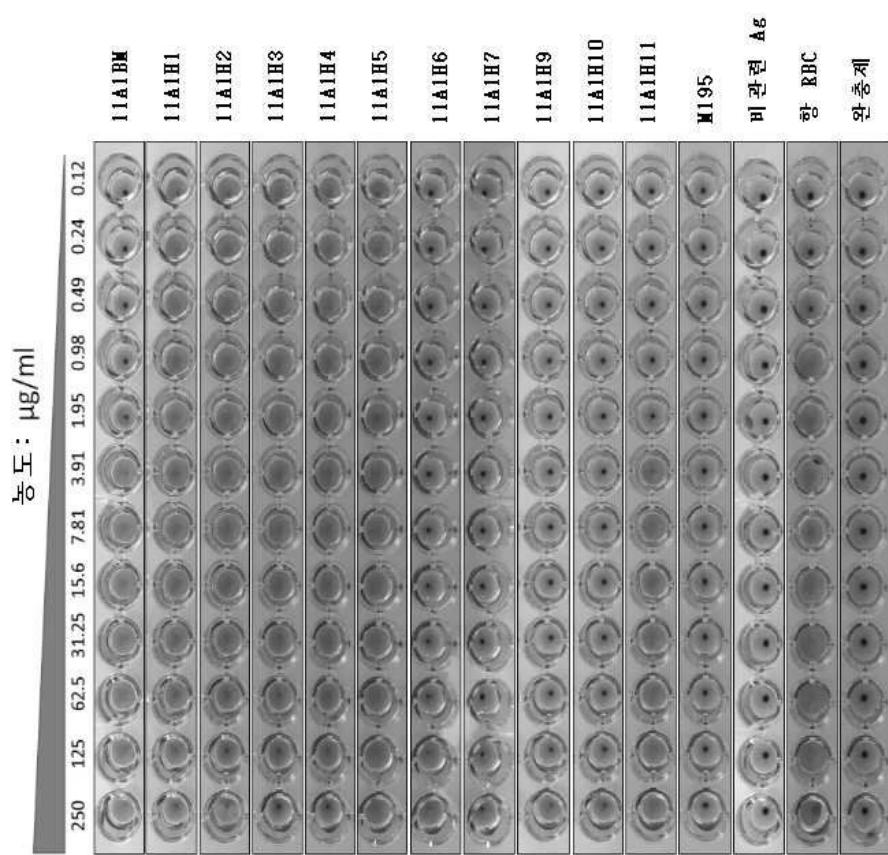
도면11h



도면12



도면13



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Hummingbird Bioscience Pte. Ltd. (All states)

Clegg, Richard I (LS only)

<120> CD47 Antigen-Binding Molecules

<130> IPA200525-GB

<150> GB 1718101.7

<151> 2017-11-01

<150> GB 1720425.6

<151> 2017-12-07

<150> GB 1720426.4

<151> 2017-12-07

<160> 179

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 323

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 isoform OA3-323

<400> 1

Met Trp Pro Leu Val Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Ala Cys Cys Gly

1 5 10 15

Ser Ala Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe

20 25 30

Cys Asn Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala

35 40 45

Gln Asn Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr

100 105 110

Thr Cys Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu

115 120 125

Leu Lys Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu

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

<210> 2

<211> 292

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 isoform OA3-293

<400> 2

Met Trp Pro Leu Val Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Ala Cys Cys Gly

1 5 10 15

Ser Ala Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe

20 25 30

Cys Asn Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala

35 40 45

Gln Asn Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr

100 105 110

Thr Cys Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu

115 120 125

Leu Lys Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu

130 135 140

Ile Val Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe

145 150 155 160

Gly Ile Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr

165 170 175

Ile Ala Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val

180 185 190

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

195 200 205

Gly Leu Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His

210 215 220

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

225 230 235 240

Ile Leu Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu

245	250	255
Ser Leu Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile		
260	265	270
Ser Gly Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr		
275	280	285
Met Lys Phe Val		
290		
<210> 3		
<211> 305		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens CD47 isoform OA3-305		
<400> 3		
Met Trp Pro Leu Val Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Ala Cys Cys Gly		
1	5	10
Ser Ala Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe		
20	25	30
Cys Asn Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala		
35	40	45
Gln Asn Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp		
50	55	60
Ile Tyr Thr Phe Asp Gly Ala Leu Asn Lys Ser Thr Val Pro Thr Asp		
65	70	75
Phe Ser Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala		
85	90	95
Ser Leu Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr		
100	105	110
Thr Cys Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu		
115	120	125
Leu Lys Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu		
130	135	140
Ile Val Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe		
145	150	155
160		

Gly Ile Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr

165 170 175

Ile Ala Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val

180 185 190

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

195 200 205

Gly Leu Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His

210 215 220

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

225 230 235 240

Ile Leu Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu

245 250 255

Ser Leu Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile

260 265 270

Ser Gly Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr

275 280 285

Met Lys Phe Val Ala Ser Asn Gln Lys Thr Ile Gln Pro Pro Arg Asn

290 295 300

Asn

305

<210> 4

<211> 311

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 isoform OA3-312

<400> 4

Met Trp Pro Leu Val Ala Ala Leu Leu Gly Ser Ala Cys Cys Gly

1 5 10 15

Ser Ala Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe

20 25 30

Cys Asn Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala

35 40 45

Gln Asn Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp

50	55	60
Ile Tyr Thr Phe Asp Gly Ala Leu Asn Lys Ser Thr Val Pro Thr Asp		
65	70	75
Phe Ser Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala		
85	90	95
Ser Leu Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr		
100	105	110
Thr Cys Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu		
115	120	125
Leu Lys Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu		
130	135	140
Ile Val Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe		
145	150	155
Gly Ile Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr		
165	170	175
Ile Ala Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val		
180	185	190
Gly Ala Ile Leu Phe Val Pro Gly Glu Tyr Ser Leu Lys Asn Ala Thr		
195	200	205
Gly Leu Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His		
210	215	220
Tyr Tyr Val Phe Ser Thr Ala Ile Gly Leu Thr Ser Phe Val Ile Ala		
225	230	235
Ile Leu Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu		
245	250	255
Ser Leu Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile		
260	265	270
Ser Gly Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr		
275	280	285
Met Lys Phe Val Ala Ser Asn Gln Lys Thr Ile Gln Pro Pro Arg Lys		
290	295	300

Ala Val Glu Glu Pro Leu Asn

305 310

<210> 5

<211> 305

<212> PRT

<213> Homo sapiens mature CD47 isoform OA3-323

<400> 5

Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe Cys Asn

1 5 10 15

Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala Gln Asn

20 25 30

Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala Ser Leu

65 70 75 80

Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr Thr Cys

85 90 95

Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu Leu Lys

100 105 110

Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu Ile Val

115 120 125

Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe Gly Ile

130 135 140

Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr Ile Ala

145 150 155 160

Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val Gly Ala

165 170 175

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

180 185 190

Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His Tyr Tyr

195

200

205

Val Phe Ser Thr Ala Ile Gly Leu Thr Ser Phe Val Ile Ala Ile Leu

210

215

220

Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu Ser Leu

225

230

235

240

Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile Ser Gly

245

250

255

Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr Met Lys

260

265

270

Phe Val Ala Ser Asn Gln Lys Thr Ile Gln Pro Pro Arg Lys Ala Val

275

280

285

Glu Glu Pro Leu Asn Ala Phe Lys Glu Ser Lys Gly Met Met Asn Asp

290

295

300

Glu

305

<210> 6

<211> 274

<212> PRT

<213> Homo sapiens mature CD47 isoform OA3-293

<400> 6

Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe Cys Asn

1

5

10

15

Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala Gln Asn

20

25

30

Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp Ile Tyr

35

40

45

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

50

55

60

Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala Ser Leu

65

70

75

80

Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr Thr Cys

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

<210> 7

<211> 287

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens mature CD47 isoform OA3-305

<400> 7

Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe Cys Asn

1 5 10 15

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

260	265	270
Phe Val Ala Ser Asn Gln Lys Thr Ile Gln Pro Pro Arg Asn Asn		
275	280	285
<210> 8		
<211> 293		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens mature CD47 isoform OA3-312		
<400> 8		
Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe Cys Asn		
1	5	10
Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala Gln Asn		
20	25	30
Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp Ile Tyr		
35	40	45
Thr Phe Asp Gly Ala Leu Asn Lys Ser Thr Val Pro Thr Asp Phe Ser		
50	55	60
Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala Ser Leu		
65	70	75
Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr Thr Cys		
85	90	95
Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu Leu Lys		
100	105	110
Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu Ile Val		
115	120	125
Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe Gly Ile		
130	135	140
Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr Ile Ala		
145	150	155
Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val Gly Ala		
165	170	175
Ile Leu Phe Val Pro Gly Glu Tyr Ser Leu Lys Asn Ala Thr Gly Leu		
180	185	190

Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His Tyr Tyr
195 200 205

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

Phe Val Ala Ser Asn Gln Lys Thr Ile Gln Pro Pro Arg Lys Ala Val
275 280 285
Glu Glu Pro Leu Asn
290

<210> 9
<211> 109
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> V-type Ig-like domain

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

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

20

<210> 12

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 cytoplasmic region 1

<400> 12

Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr

1 5 10

<210> 13

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 transmembrane region 2

<400> 13

Ile Ala Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val

1 5 10 15

Gly Ala Ile Leu Phe

20

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 extracellular region 2

<400> 14

Val Pro Gly Glu Tyr Ser Leu Lys Asn Ala

1 5 10

<210> 15

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 transmembrane region 3

<400> 15

Thr Gly Leu Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu

1 5 10 15

His Tyr Tyr Val Phe

20

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 cytoplasmic region 2

<400> 16

Ser Thr Ala Ile Gly Leu Thr

1 5

<210> 17

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 transmembrane region 4

<400> 17

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

1 5 10 15

Ala Val Val Gly Leu

20

<210> 18

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 extracellular region 3

<400> 18

Ser Leu Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly

1 5 10

<210> 19

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 transmembrane region 5

<400> 19

Pro Leu Leu Ile Ser Gly Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu

1 5 10 15

Gly Leu Val Tyr Met

20

<210> 20

<211> 34

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 cytoplasmic region 3

<400> 20

Lys Phe Val Ala Ser Asn Gln Lys Thr Ile Gln Pro Pro Arg Lys Ala

1 5 10 15

Val Glu Glu Pro Leu Asn Ala Phe Lys Glu Ser Lys Gly Met Met Asn

20 25 30

Asp Glu

<210> 21

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 region targeted by 1-1-A1 and 1-1-A1_BM

<400> 21

Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp Ile

1 5 10

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 region targeted by 5-48-A6 and 5-48-D2

<400> 22

Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe Cys Asn

1 5 10

<210> 23

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM heavy chain variable region

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20	25	30
Val Ile His Trp Val Arg Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35	40	45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Ser Asn Glu Lys Phe		
50	55	60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Thr Ser Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Ser Gly Gly Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser		
100	105	110
Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 24		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
><223> 1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H6, 11A1H8		
heavy chain CDR1		
<400> 24		
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Val		
1	5	
<210> 25		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> 1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H6, 11A1H8		
heavy chain CDR2		
<400> 25		
Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr		
1	5	
<210> 26		
<211> 10		

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H6,

11A1H8, 11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 heavy chain CDR3

<400> 26

Ala Ser Gly Gly Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 27

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM heavy chain FR1

<400> 27

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser

20 25

<210> 28

<

211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM heavy chain FR2

<400> 28

Ile His Trp Val Arg Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10 15

Tyr

<210> 29

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM heavy chain FR3

<400> 29

Lys Ser Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys

1 5 10 15

Ser Ser Thr Ser Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp

20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM heavy chain FR4

<400> 30

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 31

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM light chain variable region

<400> 31

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

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5,
11A1H10, 11A1H11 light chain CDR1

<400> 32

Gln His Leu Glu Tyr Ser Asn Gly Tyr Ser Tyr

1 5 10

<210> 33

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5,
11A1H11 light chain CDR2

<400> 33

Lys Ile Ser

1

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5,
11A1H6, 11A1H7 11A1H8, 11A1H9 11A1H10 light chain CDR3

<400> 34

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 35

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM light chain FR1

<400> 35

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

1 5 10

15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser

20 25

<210> 36

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM light chain FR2

<400> 36

Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile

1 5 10

15

Tyr

<210> 37

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM light chain FR3

<400> 37

Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly

1 5 10

15

Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly

20 25

30

Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 38

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM light chain FR4

<400> 38

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 39

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 heavy chain variable region

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Thr Ser Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Gly Gly Tyr Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 40

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 heavy chain FR1

<400> 40

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser

20 25

<210> 41

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 heavy chain FR2

<400> 41

Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10 15

Tyr

<210> 42

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 heavy chain FR3

<400> 42

Lys Ser Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys

1 5 10 15

Ser Ser Thr Ser Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp

20 25 30

Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 43

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 heavy chain FR4

<400> 43

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 44

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 light chain variable region

<400>

> 44

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

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 45

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 light chain FR1

<400> 45

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

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser

20 25

<210> 46

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 light chain FR2

<400> 46

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Tyr

<210> 47

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 light chain FR3

<400> 47

Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly

20	25	30	35
----	----	----	----

Val Tyr Phe Cys

35

<210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 light chain FR4

<400> 48

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 49

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 heavy chain variable region

<400> 49

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 50

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 heavy chain CDR1

<400> 50

Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Gly

1 5

<210> 51

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 heavy chain CDR2

<400> 51

Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 52

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 heavy chain CDR3

<400> 52

Ala Arg Val Pro Thr Gly Arg Ile Lys Ser Tyr Phe Tyr Ala Met Asp

1 5 10 15

Tyr

<210> 53

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 heavy chain FR1

<400> 53

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

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser

20 25

<210> 54

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 heavy chain FR2

<400> 54

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

1 5 10 15

Val

<210> 55

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 heavy chain FR3

<400> 55

Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn

1 5 10 15

Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp

20 25 30

Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

35

<210> 56

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 heavy chain FR4

<400> 56

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 57

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 light chain variable region

<400> 57

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ser Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr

65 70 75 80

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 58

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 light chain CDR1

<400> 58

Gln Asp Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 59

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 light chain CDR2

<400> 59

Arg Ala Asn

1

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 light chain CDR3

<400> 60

Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 61

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 light chain FR1

<400> 61

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ser Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser

20 25

<210> 62

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 light chain FR2

<400> 62

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

1 5 10 15

Tyr

<210> 63

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 light chain FR3

<400> 63

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

1 5 10 15

Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr Glu Asp Met Gly

20 25 30

Ile Tyr Tyr Cys

35

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 light chain FR4

<400> 64

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 65

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> 5-48-D2 heavy chain variable region

<400> 65

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Ser Ala

115

<210> 66

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 heavy chain CDR1

<400> 66

Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr Trp

1 5

<210> 67

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 heavy chain CDR2

<400> 67

Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile

1 5

<210> 68

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 heavy chain CDR3

<400> 68

Ala Thr Gly Thr Gly Phe Ala Tyr

1 5

<210> 69

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 heavy chain FR1

<400> 69

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20 25

<210> 70

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 heavy chain FR2

<400> 70

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

1 5 10 15

Glu

<210> 71

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 heavy chain FR3

<400> 71

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

35

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 heavy chain FR4

<400> 72

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

1 5 10

<210> 73

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 light chain variable region

<400> 73

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

1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr

20 25 30

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

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

Thr Phe Gly Gly Val Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100	105
-----	-----

<210> 74

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 light chain CDR1

<400> 74

Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr

1	5
---	---

<210> 75

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 light chain CDR2

<400> 75

Asn Ala Lys

1

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 light chain CDR3

<400

> 76

Gln His His Tyr Val Thr Pro Trp Thr

1	5
---	---

<210> 77

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 light chain FR1

<400> 77

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser

20	25
----	----

<210> 78

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 light chain FR2

<400> 78

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Tyr

<210> 79

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 light chain FR3

<400> 79

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Gly

20	25	30
----	----	----

Ser Tyr Tyr Cys

35

<210> 80

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 light chain FR4

<400> 80

Phe Gly Gly Val Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 81

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 heavy chain SignalP

<400> 81

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

1 5 10 15

Val His Ser

<210> 82

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 light chain SignalP

<400> 82

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala

1 5 10 15

Ser Ser Ser

<210> 83

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 heavy chain SignalP

<400> 83

Met Ala Val Leu Val Leu Phe Leu Cys Leu Val Ala Phe Pro Ser Cys

1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 84

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 light chain SignalP

<400> 84

Met Arg Thr Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp Phe Pro

1 5 10 15

Gly Ile Lys Cys

20

<210> 85

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 heavy chain SignalP

<400> 85

Met Asp Phe Gly Leu Ile Phe Phe Ile Val Ala Leu Leu Lys Gly Val

1 5 10 15

Gln Cys

<210> 86

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 light chain SignalP

<400> 86

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr

1 5 10 15

Gly Ala Arg Cys

20

<210> 87
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> 1-1-A1_BM heavy chain DNA
<400> 87
caggtgcagc tgcagcagtc tggaccagac ctgaagaagc ctggagccag cgtgaaggtg 60
tcctgttaagg tgtccggcta cacttcaca aactatgtga tccactgggt gaggcagaag 120

ccaggacagg gcctgttgcgatggctac atcaaccct ataatgacgg caccaggct 180
aatgagaagt ttaaggcca ggccaccctg acatctgata agagcagcac cagcgctac 240
atggagctgt ctggctgac cagcgaggac acagecggtt actattgcgc ttccggggc 300
tactatacaa tggattattt gggccagggc accagcgtga cagtgtcctc t 351

<210> 88
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> 1-1-A1_BM light chain DNA
<400> 88
gacgtggtca tgacccagac accactgtcc ctgcctgtga ccctggcga tcaggcctc 60
atcagctgtta gaagctccca gcacctggag tacagcaacg gctactccta tctgcactgg 120

tatcagcagc gcccaggaca gtctccacag ctgctgatct acaagatctc taatcggttc 180
agcggcgtgc ctgacaggtt ttccggctct ggcagcggca ccgatttac actgaagatc 240
agcagagtgg aggctgagga cctggcgtg tactattgtt cccagttac ccacgtgccc 300
tatacatattt gccccggcac caagctggag atcaag 336

<210> 89
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> 1-1-A1 heavy chain DNA
<400> 89
gagggtccagc tgcagcagtc tggacctgac ctgtttaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact aattatgtta tacactgggt gaaggcagaag 120

cctgggcagg gccttgagt gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaagtcc	180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccac ctcagctac	240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagcggaggg	300
tactatacta tggactattt gggtaaggaa acctcagtc acgtctccctc g	351
<210> 90	
<211> 336	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> 1-1-A1 light chain DNA	
<400> 90	
gatgttgtga tgacccaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttgaga tcaagcctcc	60
atctcttgca gatctagtca acaccttcaa tacagtaatg gatactccta tttgcattgg	120
tacctgcaga agccaggcca gtctccacag ctccctgatct aaaaaatttc caaccgattt	180
tctgggtcc cagacaggtt cagttggcagt ggatcaggaa cagattcac actcaagatc	240
agcagagtgg aggctgagga tctgggggtt tatttctgct ctc当地gtac acatgttccg	300
tacacattcg gaggggggac caagctggaa ataaaaa	336
<210> 91	
<211> 369	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> 5-48-A6 heavy chain DNA	
<400> 91	
caggtgcagc tgaaggagtc aggacctggc ctgggtggcgc ctc当地cacagag cctgtccatc	60
acttgactg tctctgggtt ttcatcaacc agttatgggt tacactgggt tc当地ccagcct	120
ccagggaaagg gtc当地ggagt gctgggagta atatggctg gtggaaagcac aaattataat	180
tccggctctca tgtccagact gagcatcagc aaagacaact ccaagagccaa agtttctta	240
aaaatgaaca gtc当地gaaac tcatgacaca gccatgtact actgtgccag agttccgaca	300
ggtc当地ggatta aatcttattt ctatgctatg gactactggg gtcaaggaac ctc当地gtcacc	360
gtctccctcg	369
<210> 92	
<211> 321	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> 5-48-A6 light chain DNA

<400> 92

gacatcaaga tgaccaggc tccatcttc atgtattcat ctcttgaga gagagtact 60

atcacttgca aggcgagtca ggacattag agctattaa gctggttcca gcagaaacca 120

gggaagtctc ctaagacct gatctatcg gcaaacagat tggtgatgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tggcaagat tattctctca ccatcagcag cctggagat 240

gaagatatgg gaatttatta ttgtctacag tatgtgagt ttccgtacac gttcgaggg 300

gggaccaagc tggaaataaa a 321

<210> 93

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 heavy chain DNA

<400> 93

gagggtgaagc ttctcgagtc tggaggtggc ctggcagc ctggaggatc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctcaggatt cgatTTAGT agatactgga tgagTTGGT ccggcaggct 120

ccagggaaag ggctagaatg gattggagaa attaatccag atagcagtagataaactat 180

acgcacatctc taaaggataa attcatcatc tccagagaca acgcacaaaa tacgtgtac 240

ctgcaaatga gcaaagttag atctgaggac acagccctt attactgtgc aactgggacg 300

gggtttgctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgcg 345

<210> 94

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 light chain DNA

<400> 94

gacatccaga tgactcgatc tccagcttc ctagtgcacat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcacatgtc gagcaagtga gaatattac agttatTTAGT catggtatca gcagaaacag 120

ggaaaatctc cttagctct ggtctataat gcaaaaacct tagcagaagg tgtgccctca 180

aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tttctctga agatcaacag cctgcagcct 240

gaagatTTG ggagtattata ctgtcaacat cattatgtta ctccgtggac gttcggtgga 300

gtcaccaagc tggaaatcaa a 321

<210> 95

<211> 504

<212> PRT

<213> Homo sapiens SIRPA isoform 1

<400> 95

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

1 5 10 15

Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu

20 25 30

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

35 40 45

Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly

50 55 60

Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr

65 70 75 80

Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser

165 170 175

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser

180 185 190

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

195 200 205

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

450 455 460
 Glu Asp Thr Leu Thr Tyr Ala Asp Leu Asp Met Val His Leu Asn Arg
 465 470 475 480
 Thr Pro Lys Gln Pro Ala Pro Lys Pro Glu Pro Ser Phe Ser Glu Tyr
 485 490 495
 Ala Ser Val Gln Val Pro Arg Lys

500
 <210> 96
 <211> 508
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens SIRPA isoform 2
 <400> 96
 Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

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

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

130 135 140
 Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala
 145 150 155 160

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser
 165 170 175
 Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser
 180 185 190
 Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser
 195 200 205
 Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser
 210 215 220
 Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu
 225 230 235 240
 Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu
 245 250 255
 Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr
 260 265 270
 Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu
 275 280 285
 Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu
 290 295 300
 Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val
 305 310 315 320
 Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp
 325 330 335
 Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His
 340 345 350
 Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly Ser Asn
 355 360 365
 Glu Arg Asn Ile Tyr Ile Val Val Gly Val Val Cys Thr Leu Leu Val
 370 375 380
 Ala Leu Leu Met Ala Ala Leu Tyr Leu Val Arg Ile Arg Gln Lys Lys
 385 390 395 400
 Ala Gln Gly Ser Thr Ser Ser Thr Arg Leu His Glu Pro Glu Lys Asn

405	410	415
Ala Arg Glu Ile Thr Gln Val Gln Ser Leu Asp Thr Asn Asp Ile Thr		
420	425	430
Tyr Ala Asp Leu Asn Leu Pro Lys Gly Lys Lys Pro Ala Pro Gln Ala		
435	440	445
Ala Glu Pro Asn Asn His Thr Glu Tyr Ala Ser Ile Gln Thr Ser Pro		
450	455	460
Gln Pro Ala Ser Glu Asp Thr Leu Thr Tyr Ala Asp Leu Asp Met Val		
465	470	475
His Leu Asn Arg Thr Pro Lys Gln Pro Ala Pro Lys Pro Glu Pro Ser		
485	490	495
Phe Ser Glu Tyr Ala Ser Val Gln Val Pro Arg Lys		
500	505	
<210> 97		
<211> 503		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens SIRPA isoform 4		
<400>		
> 97		
Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys		
1	5	10
Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu		
20	25	30
Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala Ala Gly		
35	40	45
Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly		
50	55	60
Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr		
65	70	75
Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu		
85	90	95
Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr		
100	105	110

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

115 120 125

Pro Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser Val Arg

130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser Pro

165 170 175

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

180 185 190

Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser Ile

195 200 205

His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser Gln

210 215 220

Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu Arg

225 230 235 240

Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu Glu

245 250 255

Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr Cys

260 265 270

Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu Glu

275 280 285

Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu Asn

290 295 300

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

305 310 315 320

Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp Gly

325 330 335

Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His Pro

340 345 350

Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly Ser Asn Glu

355 360 365

Arg Asn Ile Tyr Ile Val Val Gly Val Val Cys Thr Leu Leu Val Ala

370 375 380

Leu Leu Met Ala Ala Leu Tyr Leu Val Arg Ile Arg Gln Lys Lys Ala

385 390 395 400

Gln Gly Ser Thr Ser Ser Thr Arg Leu His Glu Pro Glu Lys Asn Ala

405 410 415

Arg Glu Ile Thr Gln Asp Thr Asn Asp Ile Thr Tyr Ala Asp Leu Asn

420 425 430

Leu Pro Lys Gly Lys Pro Ala Pro Gln Ala Ala Glu Pro Asn Asn

435 440 445

His Thr Glu Tyr Ala Ser Ile Gln Thr Ser Pro Gln Pro Ala Ser Glu

450 455 460

Asp Thr Leu Thr Tyr Ala Asp Leu Asp Met Val His Leu Asn Arg Thr

465 470 475 480

Pro Lys Gln Pro Ala Pro Lys Pro Glu Pro Ser Phe Ser Glu Tyr Ala

485 490 495

Ser Val Gln Val Pro Arg Lys

500

<210> 98

<211> 474

<212> PRT

<213> Homo sapiens mature SIRPA isoform 1

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gly Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu

35 40 45

Ile Tyr Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser

50	55	60
Asp Leu Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn		
65	70	75
Ile Thr Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys		
85	90	95
Gly Ser Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu		
100	105	110
Ser Val Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala		
115	120	125
Arg Ala Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly		
130	135	140
Phe Ser Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu		
145	150	155
Leu Ser Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser		
165	170	175
Tyr Ser Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val		
180	185	190
His Ser Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp		
195	200	205
Pro Leu Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro		
210	215	220
Thr Leu Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn		
225	230	235
Val Thr Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr		
245	250	255
Trp Leu Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val		
260	265	270
Thr Glu Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val		
275	280	285
Asn Val Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu		
290	295	300

His Asp Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser
 305 310 315 320

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

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

 Asn Arg Thr Pro Lys Gln Pro Ala Pro Lys Pro Glu Pro Ser Phe Ser
 450 455 460
 Glu Tyr Ala Ser Val Gln Val Pro Arg Lys
 465 470
 <210> 99
 <211> 478
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens mature SIRPA isoform 2
 <400> 99
 Glu Glu Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala
 1 5 10 15
 Ala Gly Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro
 20 25 30

Val Gly Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu

35 40 45

Ile Tyr Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ser Val Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala

115 120 125

Arg Ala Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly

130 135 140

Phe Ser Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu

145 150 155 160

Leu Ser Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser

165 170 175

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

180 185 190

His Ser Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp

195 200 205

Pro Leu Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Thr Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr

245 250 255

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

260 265 270

Thr Glu Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val

275

280

285

Asn Val Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu

290

295

300

His Asp Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser

305 310 315 320

Ala His Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly

325

330

335

Ser Asn Glu Arg Asn Ile Tyr Ile Val Val Gly Val Val Cys Thr Leu

340

345

350

Leu Val Ala Leu Leu Met Ala Ala Leu Tyr Leu Val Arg Ile Arg Gln

355

360

365

Lys Lys Ala Gln Gly Ser Thr Ser Ser Thr Arg Leu His Glu Pro Glu

370

375

380

Lys Asn Ala Arg Glu Ile Thr Gln Val Gln Ser Leu Asp Thr Asn Asp

385 390 395 400

Ile Thr Tyr Ala Asp Leu Asn Leu Pro Lys Gly Lys Lys Pro Ala Pro

405

410

415

Gln Ala Ala Glu Pro Asn Asn His Thr Glu Tyr Ala Ser Ile Gln Thr

420

425

430

Ser Pro Gln Pro Ala Ser Glu Asp Thr Leu Thr Tyr Ala Asp Leu Asp

435

440

445

Met Val His Leu Asn Arg Thr Pro Lys Gln Pro Ala Pro Lys Pro Glu

450

455

460

Pro Ser Phe Ser Glu Tyr Ala Ser Val Gln Val Pro Arg Lys

465

470

475

<210> 100

<211> 473

<212> PRT

<213> Homo sapiens mature SIRPA isoform 4

<400> 100

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

1	5	10	15
Ala Gly Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro			
20	25	30	
Val Gly Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu			
35	40	45	
Ile Tyr Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser			
50	55	60	
Asp Leu Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn			
65	70	75	80
Ile Thr Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys			
85	90	95	
Gly Ser Pro Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser			
100	105	110	
Val Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg			
115	120	125	
Ala Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe			
130	135	140	
Ser Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu			
145	150	155	160
Ser Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr			
165	170	175	
Ser Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His			
180	185	190	
Ser Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro			
195	200	205	
Leu Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr			
210	215	220	
Leu Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val			
225	230	235	240
Thr Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp			
245	250	255	

Leu Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr
 260 265 270
 Glu Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn
 275 280 285
 Val Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His
 290 295 300
 Asp Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala
 305 310 315 320
 His Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly Ser
 325 330 335
 Asn Glu Arg Asn Ile Tyr Ile Val Val Gly Val Val Cys Thr Leu Leu
 340 345 350
 Val Ala Leu Leu Met Ala Ala Leu Tyr Leu Val Arg Ile Arg Gln Lys
 355 360 365
 Lys Ala Gln Gly Ser Thr Ser Ser Thr Arg Leu His Glu Pro Glu Lys
 370 375 380
 Asn Ala Arg Glu Ile Thr Gln Asp Thr Asn Asp Ile Thr Tyr Ala Asp
 385 390 395 400
 Leu Asn Leu Pro Lys Gly Lys Lys Pro Ala Pro Gln Ala Ala Glu Pro
 405 410 415
 Asn Asn His Thr Glu Tyr Ala Ser Ile Gln Thr Ser Pro Gln Pro Ala
 420 425 430
 Ser Glu Asp Thr Leu Thr Tyr Ala Asp Leu Asp Met Val His Leu Asn
 435 440 445
 Arg Thr Pro Lys Gln Pro Ala Pro Lys Pro Glu Pro Ser Phe Ser Glu
 450 455 460
 Tyr Ala Ser Val Gln Val Pro Arg Lys
 465 470
 <210> 101
 <211> 343
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens SIRPA extracellular domain

<400> 101

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gly Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu

35 40 45

Ile Tyr Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ser Val Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala

115 120 125

Arg Ala Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly

130 135 140

Phe Ser Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu

145 150 155 160

Leu Ser Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser

165 170 175

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

180 185 190

His Ser Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp

195 200 205

Pro Leu Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Thr Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr
 245 250 255
 Trp Leu Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val
 260 265 270
 Thr Glu Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val
 275 280 285
 Asn Val Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu
 290 295 300
 His Asp Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser
 305 310 315 320
 Ala His Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly
 325 330 335
 Ser Asn Glu Arg Asn Ile Tyr
 340

<210> 102
<211> 21
<212> PRT
<213> Homo sapiens SIRPA transmembrane domain
<400> 102
Ile Val Val Gly Val Val Cys Thr Leu Leu Val Ala Leu Leu Met Ala
1 5 10 15
Ala Leu Tyr Leu Val
20

<210> 103
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens SIRPA cytoplasmic domain
<400> 103
Arg Ile Arg Gln Lys Lys Ala Gln Gly Ser Thr Ser Ser Thr Arg Leu
1 5 10 15
His Glu Pro Glu Lys Asn Ala Arg Glu Ile Thr Gln Asp Thr Asn Asp

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

85 90 95
 Pro Ser Phe Ser Glu Tyr Ala Ser Val Gln Val Pro Arg Lys
 100 105 110

<210> 104

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens SIRPA V-type Ig-like domain

<400> 104

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

Gly Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp
 50 55 60

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

Ser Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly

100 105

<210> 105

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens SIRPA C1-type Ig-like domain 1

<400> 105

Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala Thr Pro Gln

1 5 10 15

His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser Pro Arg Asp

20 25 30

Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser Asp Phe Gln

35 40 45

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

50 55 60

Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser Gln Val Ile

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Asn Leu Ser

100

<210> 106

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens SIRPA C1-type Ig-like domain 2

<400> 106

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

1 5 10 15

Asn Val Thr Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu

20 25 30

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

35 40 45

Val Thr Glu Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu

50 55 60

Val Asn Val Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val

65 70 75 80

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

	85	90	95
<210>	107		
<211>	447		
<212>	PRT		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	1-1-A1_BM VH-CH1-CH2-CH3		
<400>	107		
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Asp Leu Lys Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr			
20	25	30	
Val Ile His Trp Val Arg Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Ser Asn Glu Lys Phe			
50	55	60	
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Thr Ser Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Ser Gly Gly Tyr Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser			
100	105	110	
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu			
115	120	125	
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys			
130	135	140	
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser			
145	150	155	160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser			
165	170	175	
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser			
180	185	190	
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn			

195 200 205

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

210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

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

260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

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

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

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

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 108

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1_BM VL-Ckappa

<400> 108

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

1 5 10 15

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

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

65 70 75 80

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

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

130 135 140

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

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

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 109

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 VH-CH1-CH2-CH3

<400> 109

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Thr Ser Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Gly Gly Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

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

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

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

435 440 445

<210> 110

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1-1-A1 VL-Ckappa

<400> 110

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

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 111
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 VH-CH1-CH2-CH3

<400> 111

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

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

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

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

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

210	215	220
-----	-----	-----

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

225	230	235
-----	-----	-----

240

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

245	250	255
-----	-----	-----

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

260	265	270
-----	-----	-----

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

275	280	285
-----	-----	-----

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

290	295	300
-----	-----	-----

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

305	310	315
-----	-----	-----

320

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

325	330	335
-----	-----	-----

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

340	345	350
-----	-----	-----

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

355	360	365
-----	-----	-----

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

370	375	380
-----	-----	-----

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

385	390	395
-----	-----	-----

400

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

405	410	415
-----	-----	-----

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys

450

<210> 112

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-A6 VL-Ckappa

<400> 112

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ser Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
 35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr
 65 70 75 80

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

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

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 113

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5-48-D2 VH-CH1-CH2-CH3

<400> 113

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Gly Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

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

85	90	95
----	----	----

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

100	105	110
-----	-----	-----

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

115	120	125
-----	-----	-----

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

370	375	380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		
385	390	395
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
405	410	415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		
420	425	430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
435	440	445
<210> 114		
<211> 214		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> 5-48-D2 VL-Ckappa		
<400> 114		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr		
20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val		
35	40	45
Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Val Thr Pro Trp		
85	90	95
Thr Phe Gly Gly Val Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala		
100	105	110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly		
115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		

130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
145	150	155
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		
165	170	175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr		
180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser		
195	200	205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210		
<210> 115		
<211> 446		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> anti-CD33 VH-CH1-CH2-CH3		
<400> 115		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser		
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		
20	25	30
Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
35	40	45
Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe		
50	55	60
Lys Ser Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Asn Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Gly Arg Pro Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
100	105	110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala		

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

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 116

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-CD33 VL-Ckappa

<400> 116

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 Glu Ser Val Asp Asn Tyr

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys

85 90 95

Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105 110

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

115 120 125

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

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

195	200	205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210	215	
<210> 117		
<211> 318		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Rhesus macaque CD47 (UniProt: F7F5Y9-1, v2)		
<400> 117		

Met Trp Pro Leu Val Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Ala Cys Cys Gly		
1	5	10
Ser Ala Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe		
20	25	30

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

Ser Leu Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr

100	105	110
Thr Cys Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu		
115	120	125
Leu Lys Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu		
130	135	140
Ile Val Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe		
145	150	155
Gly Ile Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr		
165	170	175
Ile Ala Leu Leu Val Ala Gly Leu Met Ile Thr Val Ile Val Ile Val		
180	185	190
Gly Ala Ile Leu Phe Val Pro Gly Glu Tyr Ser Leu Lys Asn Ala Thr		
195	200	205
Gly Leu Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His		
210	215	220
Tyr Tyr Val Phe Ser Thr Ala Ile Gly Leu Thr Ser Phe Val Ile Ala		
225	230	235
Ile Leu Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu		
245	250	255
Ser Leu Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile		
260	265	270
Ser Gly Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr		
275	280	285
Met Lys Phe Val Ala Ser Asn Gln Lys Thr Ile Gln Pro Pro Arg Asn		
290	295	300
Asp Asn Phe Arg Leu Lys Asn Glu Glu Lys Phe Ile Leu Asn		
305	310	315
<210> 118		
<211> 330		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Human IgG1 constant region (IGHG1; UniProt:P01857-1, v1)		

<400> 118

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		

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CH1 IgG1
 <400> 119
 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
 Cys Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Cys Ser Ser Cys Leu Thr 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			

<210> 120
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hinge IgG1 (positions 99–110 of P01857-1, v1)
<400> 120
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

1 5 10
<210> 121
<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH2 IgG1 (positions 111–223 of P01857-1, v1)
<400> 121

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

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

100 105 110
Lys

<210> 122
<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH3 IgG1 (positions 224-330 of P01857-1, v1)

<400> 122

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Pro Gly Lys

100 105

<210> 123

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH3 (D356E, L358M; positions numbered according to EU numbering)

<400> 123

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 65 70 75 80
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 85 90 95
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 100 105
<210> 124

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ckappa CL (IGCK; UniProt: P01834-1, v2)

<400> 124

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

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

<210> 125

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> J6M0 VH-CH1-CH2-CH3

<400> 125

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Thr Tyr Arg Gly His Ser Asp Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Ala Ile Tyr Asp Gly Tyr Asp Val Leu Asp Asn Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

225 230 235 240

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

245	250	255
-----	-----	-----

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260	265	270
-----	-----	-----

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275	280	285
-----	-----	-----

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290	295	300
-----	-----	-----

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305	310	315
-----	-----	-----

320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

325	330	335
-----	-----	-----

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

340	345	350
-----	-----	-----

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

355	360	365
-----	-----	-----

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

370	375	380
-----	-----	-----

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

385	390	395
-----	-----	-----

400

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

405	410	415
-----	-----	-----

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420	425	430
-----	-----	-----

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

435	440	445
-----	-----	-----

Pro Gly Lys

450

<210> 126

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> J6M0 VL-Ckappa

<400> 126

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 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Lys Leu Pro Trp

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 127

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H1 VH

<400> 127

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Gly Gly Tyr Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 128

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5 VL

<400> 128

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 129

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H2 VH

<400> 129

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Gly Gly Tyr Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 130

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H3 VH

<400> 130

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Gly Gly Tyr Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val

<210> 131

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 VH

<400> 131

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

<210> 132
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> 11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 VH
<400> 132

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Val Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

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

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Gly Gly Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 133

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H6, 11A1H7 VL

<400> 133

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser

20 25 30

Gln Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 134

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H8, 11A1H9 VL

<400> 134

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser

20 25 30

Thr Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 135

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H10 VL

<400> 135

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 136

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H11 VL

<400> 136

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Gly

85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 137

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-CDR1

<400> 137

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Val

1 5

<210> 138

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-CDR2

<400> 138

Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr

1 5

<210> 139

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H6, 11A1H7 LC-CDR1

<400> 139

Gln His Leu Glu Tyr Ser Gln Gly Tyr Ser Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 140

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H8, 11A1H9 LC-CDR1

<400> 140

Gln His Leu Glu Tyr Ser Thr Gly Tyr Ser Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 141

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10 LC-CDR2

<400> 141

Lys Val Ser

1

<210> 142

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H11 LC-CDR3

<400> 142

Ser Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr

1	5	
---	---	--

<210> 143

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8,
11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-FR1

<400> 143

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser

20	25
----	----

<210> 144

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H1, 11A1H2, HC-FR2

<400> 144

Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Tyr

<210> 145

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H3 HC-FR2

<400> 145

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Tyr

<210> 146

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11

HC-FR2

<400> 146

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Tyr

<210> 147

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H1 HC-FR3

<400> 147

Lys Ser Asn Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Lys

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 148

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H2 HC-FR3

<400> 148

Lys Ser Asn Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Thr

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 149

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H3 HC-FR3

<400> 149

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 150

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 HC-FR3

<400> 150

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 151

<211> 38

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><223> 11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-FR3

<400> 151

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 152

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H1, 11A1H2, 11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-FR4

<400> 152

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 153

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H3, 11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 HC-FR4

<400> 153

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

1 5

<210> 154

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8,

11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 LC-FR1

<400> 154

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser

20 25

<210> 155

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8,

11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 LC-FR2

<400> 155

Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile

1	5	10	15
---	---	----	----

Tyr

<210> 156

<211

> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H11 LC-FR3

<400> 156

Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly

20	25	30
----	----	----

Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 157

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10 LC-FR3

<400> 157

Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly

20	25	30
----	----	----

Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 158

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8,
11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 LC-FR4

<400> 158

Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 159

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H1 VH-CH1-CH2-CH3

<400> 159

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Gly Gly Tyr Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

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

210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

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

260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

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

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

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

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 160

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5 VL-Ckappa

<400> 160

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

<210> 161
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H2 VH-CH1-CH2-CH3

<400> 161

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140

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

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

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

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

 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

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

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 162

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H3 VH-CH1-CH2-CH3

<400> 162

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Gly Gly Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145	150	155	160
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr			
165	170	175	
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln			
180	185	190	
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp			
195	200	205	
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro			
210	215	220	
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro			
225	230	235	240
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr			
245	250	255	
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn			
260	265	270	
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg			
275	280	285	
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val			
290	295	300	
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser			
305	310	315	320
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys			
325	330	335	
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp			
340	345	350	
Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe			
355	360	365	
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu			
370	375	380	
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe			
385	390	395	400

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

405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440

<210> 163

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 VH-CH1-CH2-CH3

<400> 163

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Gly Gly Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

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

210	215	220
-----	-----	-----

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

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

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

245	250	255
-----	-----	-----

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

260	265	270
-----	-----	-----

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

275	280	285
-----	-----	-----

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

290	295	300
-----	-----	-----

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

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

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

325	330	335
-----	-----	-----

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

340	345	350
-----	-----	-----

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

355	360	365
-----	-----	-----

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

370	375	380
-----	-----	-----

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

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

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

405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440

<210> 164

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 VH-CH1-CH2-CH3

<400> 164

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Gly Gly Tyr Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145	150	155	160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser			
165	170	175	
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser			
180	185	190	
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn			
195	200	205	
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His			
210	215	220	
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val			
225	230	235	240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
245	250	255	
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
260	265	270	
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
275	280	285	
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
290	295	300	
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
305	310	315	320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile			
325	330	335	
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			
340	345	350	
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu			
355	360	365	
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn			
370	375	380	
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser			
385	390	395	400

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

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 165

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H6, 11A1H7 VL-Ckappa

<400> 165

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser

20 25 30

Gln Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 166

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H8, 11A1H9 VL-Ckappa

<400> 166

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser

20 25 30

Thr Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 167

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H10 VL-Ckappa

<400> 167

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

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

115

120

125

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

130

135

140

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

145 150 155 160

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

165

170

175

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

180

185

190

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

195

200

205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

215

<210> 168

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H11 VL-Ckappa

<400> 168

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser

20

25

30

Asn Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35

40

45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50

55

60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Gly

85

90

95

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

 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 169
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 11A1H_C HC-CDR1
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa = N or G
 <400> 169
 Gly Tyr Thr Phe Thr Xaa Tyr Val
 1 5
 <210> 170
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 11A1H_C HC-CDR2
 <220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa = D or G

<400> 170

Ile Asn Pro Tyr Asn Xaa Gly Thr

1 5

<210> 171

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H_C LC-CDR1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa = N, Q or T

<400> 171

Gln His Leu Glu Tyr Ser Xaa Gly Tyr Ser Tyr

1 5 10

<210> 172

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H_C LC-CDR2

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa = I or V

<400> 172

Lys Xaa Ser

1

<210> 173

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H_C LC-CDR3

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa = S or G

<400> 173

Ser Gln Xaa Thr His Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 174

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H_C HC-FR2

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = I or M

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> Xaa = Q or K

<400> 174

Xaa His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Xaa Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10 15

Tyr

<210> 175

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H_C HC-FR3

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = K or N

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa = S or Y

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa = N or A

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa = E or Q

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa = K or Q

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> Xaa = T or K

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> Xaa = T or S

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (20)..(20)

<223> Xaa = T or S

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(27)

<223> Xaa = S or R

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa = E or D

<400> 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Phe Xaa Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Xaa

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Xaa Ser Xaa Ala Tyr Met Glu Leu Ser Xaa Leu Arg Ser Xaa Asp

20	25	30
----	----	----

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 176

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H_C HC-FR4

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa = T or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa = V or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> Xaa = S or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa = S or absent

<400> 176

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Xaa Xaa Xaa Xaa

1	5	10
---	---	----

<210> 177

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H_C LC-FR3

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa = D or F

<400> 177

Asn Arg Xaa Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly

20	25	30
----	----	----

Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 178

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 11A1H_C VH

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa = N or G

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (34)..(34)

<223> Xaa = I or M

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (43)..(43)

<223> Xaa = Q or K

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (56)..(56)

<223> Xaa = D or G

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (59)..(59)

<223> Xaa = K or N

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (60)..(60)

<223> Xaa = S or Y

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (61)..(61)

<223> Xaa = N or A

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (62)..(62)

<223> Xaa = E or Q

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (65)..(65)

<223> Xaa = K or Q

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = T or K

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (76)..(76)

<223> Xaa = T or S

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (78)..(78)

<223> Xaa = T or S

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (85)..(85)

<223> Xaa = S or R

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (89)..(89)

<223> Xaa = E or D

<220><221>

> MISC_FEATURE

<222> (114)..(114)

<223> Xaa = T or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (115)..(115)

<223> Xaa = V or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (116)..(116)

<223> Xaa = S or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (117)..(117)

<223> Xaa = S or absent

<400> 178

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

Val Xaa His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Xaa Gly Leu Glu Trp Met

35	40	45
----	----	----

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Xaa Gly Thr Xaa Xaa Xaa Lys Phe

50	55	60
----	----	----

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

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

<210> 179
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> 11A1H_C VL
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (33)..(33)
<223> Xaa = N, Q or T
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (56)..(56)
<223> Xaa = I or V
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (60)..(60)
<223> Xaa = D or F
<220><221> MISC_FEATURE
<222>

(96)..(96)
<223> Xaa = S or G
<400> 179
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln His Leu Glu Tyr Ser
 20 25 30
Xaa Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Xaa Ser Asn Arg Xaa Ser Gly Val Pro

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