



(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 덩티
싱가포르, 싱가포르 117604, 넘버05-37, 1 리서치
링크, 허밍버드 바이오사이언스 홀딩스 피티이.
엘티디. 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한얼

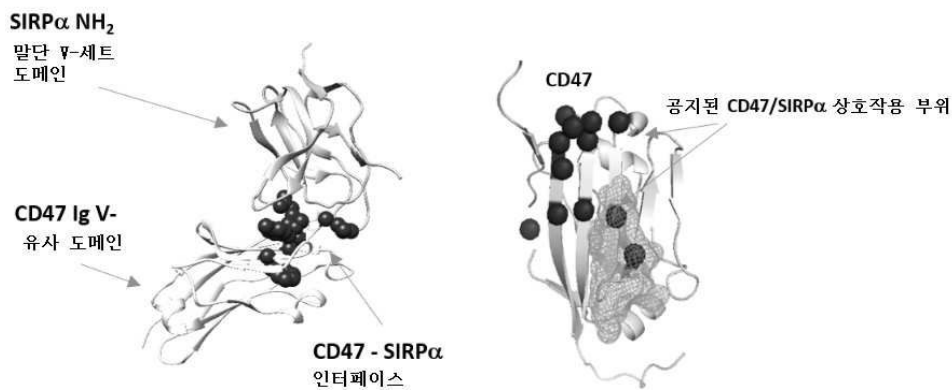
전체 청구항 수 : 총 39 항

(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.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

(30) 우선권주장

1720425.6 2017년12월07일 영국(GB)

1720426.4 2017년12월07일 영국(GB)

(72) 발명자

잉그램 피어스

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

우 지하오

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

파스키에비치 콘래드

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

브라우어 피터

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

구안 시유

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

명세서

청구범위

청구항 1

세포의 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 나타난 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 펩타이드 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 분자.

청구항 12

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

청구항 13

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

(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 분자가 다음 (i) 및 (ii)를 포함하는 항원-결합 분자:

(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 따른 항원-결합 분자를 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR).

청구항 24

제1항 내지 제23항 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 제25항 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 따른 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 제27항 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 제28항 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 벡터 또는 다수의 발현 벡터, 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 벡터 또는 다수의 발현 벡터, 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 벡터 또는 다수의 발현 벡터, 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 벡터 또는 다수의 발현 벡터, 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 골수종(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 벡터 또는 다수의 발현 벡터, 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 골수종(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.

[0002] **발명의 분야**

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

배경 기술

[0004] **발명의 배경**

[0005] CD47은 "먹지 말것(don't-eat-me)" 신호이며 정상 세포 상에서 편재하여 발현되며 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 와 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

[0007] **발명의 요약**

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

[0009] 또한 세포의 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 나타난 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 펩타이드 또는 폴리펩타이드에 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 펩타이드 또는 폴리펩타이드에 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 의학의 제도시 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 골수종(MM), 방광암, 뇌암, 교아세포종, 난소암, 유방암, 결장암, 간암, 간세포암종, 전립선암, 폐암, 비-소세포 폐암(Non-small Cell Lung Cancer: NSCLC), 피부암 및 흑색종.
- [0272] **설명**
- [0273] 본 발명은 선행 기술에 개시된 항원-결합 분자와 비교하여 목적인 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 억제제를 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 억제에 의해 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 세포질성 테일(tail) 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 나타난 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, 이들 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, $\alpha v \beta 3$ 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 억제제 모티프(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 마카퀴(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/활성에 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 $\alpha v \beta 3$ 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 정상적인 건강한 세포의 표면에서 발현되며 조혈 줄기 세포로 이주하여 식세포작용을 방지하고, 거의 모든 혈액학적 및 고형 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.
- [0296] **항원-결합 분자**
- [0297] 본 발명은 CD47에 결합할 수 있는 항원-결합 분자를 제공한다.
- [0298] "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, VhH 등)를 포함한다.
- [0299] 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 앵타머(aptamer), 예컨대 핵산 앵타머를 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 펩타이드/폴리펩타이드, 예컨대, 펩타이드 앵타머, 티오레독신, 모노보디, 안티칼린, 쿠니츠 도메인(Kunitz domain), 아비머(avimer), 노틴(knottin), 피노머(fynomer), 아트리머(atrimer), DARPin, 아프이보디(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 폴리펩타이드, 또는 항원-결합 폴리펩타이드 복합체일 수 있거나, 또는 이를 포함할 수 있다. 항원-결합 분자는 항원-결합 도메인을 함께 형성하는 하나 이상의 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 폴리펩타이드는 공유결합적으로 또는 비-공유결합적으로 회합될 수 있다. 일부 구현예에서 폴리펩타이드는 폴리펩타이드(예컨대, VH 및 VL을 포함하는 scFv의 경우, 또는 VH-CH1 및 VL-CL을 포함하는 scFab의 경우)를 포함하는 보다 큰 폴리펩타이드의 부분을 형성한다.
- [0302] 항원-결합 분자는 하나 이상의 폴리펩타이드(예컨대, 2, 3, 4, 6, 또는 8 폴리펩타이드)의 비-공유결합성 또는 공유결합성 복합체, 예컨대, 2개의 중쇄 폴리펩타이드 및 2개의 경쇄 폴리펩타이드를 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 쇠 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	GAP
		ILV
	극성 - 하전되지 않음	CSTM
		NQ
방향족	극성 - 하전됨	DE
		KR
		HFWY

[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, 단일쇄 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-CH1g-hG1을 사용하여 제조되었으며, 이는 서열 번호 118에 대해 CH3 영역내에 치환 D356E, L358M (EU 번호매김에 따라 번호매김된 위치)을 포함한다. pFUSE-CH1g-hG1에 의해 암호화된 CH3 영역의 아미노산 서열은 서열 번호 123에 나타난다. 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; Cκ; UniProt: P01834-1, v2; 서열 번호 124)이다. 일부 구현예에서 면역글로불린 경쇄 불변 서열은 사람 면역글로불린 람다 불변(IGLC; Cλ), 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, Cκ 또는 Cλ)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 CH1을 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, 단일쇄 Fab(scFab) 또는 단일쇄 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 다특이적 항원-결합 분자에 관한 것이다. "다특이적"이라는 것은, 항원-결합 분자가 하나 이상의 표적에 대한 특이적인 결합을 나타냄을 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, 다특이적 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, 다특이적 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, 다특이적 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 국제화로 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, 종양유전자상 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 림프구 세포(ILC), 또는 이의 전구체(예컨대, 흉선 세포 또는 프레(pre)-B 세포)일 수 있다.

[0520] 일부 구현예에서 CD47 이외의 항원은 혈액 암, 골수 혈액 암, 림프아구 혈액암, 골수이형성 증후군(MDS), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 골수성 백혈병, 급성 림프모구 백혈병(ALL), 비-호지킨 림프종(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, 윌름스 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 안지오프로테틴-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 나타난 것: 항체 접합체(conjugate), 예컨대, IgG₂, F(ab')₂ 또는 CovX-보디(Body); IgG 또는 IgG-유사 분자, 예컨대, IgG, 키메라 IgG, $\kappa\lambda$ -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, 힌지(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-(C α C β) Fab, scFv-HC-IgG, 탄뎀 Fab-IgG(직교의 Fab) Fab-IgG(C α C β Fab), Fab-IgG(CR3), Fab-힌지-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-피리딜디티오)-프로피오네이트(SPDP)를 사용하여, 예컨대, 힌지 영역 SH-그룹을 통해 Fab 단편을 화학적으로 가교결합시켜 이황화물-연결된 이특이적 F(ab)₂ 이중이량체를 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 사랑체 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 제조함으로써 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 분자 클로닝 기술에 의해 제조할 수 있다. 제조한 이특이적인 항체는 이후 적합한 숙주 세포(예컨대, 포유동물 숙주 세포) 내에서 작제물의 발현(예컨대, 시험관내)에 의해 생산될 수 있으며, 발현된 제조한 이특이적인 항체는 이후 임의로 정제될 수 있다.

[0530] 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 제조한 공-발현 및 후속적인 회합은 수개의 가능한 조합으로 이끈다. 제조한체 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 쌍의 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-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 나타난 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, "뮴-인투-홀(knob-into-hole)" 또는 "KiH" 변형을 포함한다. 이러한 구현예에서, Fc 영역의 CH3 영역 중 하나는 "뮴" 변형을 포함하고 다른 CH3 영역은 "홀" 변형을 포함한다. "뮴" 및 "홀" 변형은 각각의 CH3 영역 내에 위치함으로써 "뮴"은 "홀" 내에 위치하여 폴리펩타이드의 이중이량체화를 촉진(및 이중이량체화를 억제)하고/하거나 이중이량체를 안정화시킨다. 뮴은 작은 측쇄를 갖는 아미노산을 보다 큰 측쇄를 갖는 아미노산(예컨대, 타이로신 또는 트립토판)으로 치환시킴으로써 작제된다. 홀은 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 "두오보다" 양식으로 지칭된, 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 이중이량체를 추가로 안정화시킨다(Carter (2001), J Immunol Methods 248, 7-15).
- [0542] 일부 구현예에서, Fc 영역은 "KiH₅-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 쇠내에 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 힌지 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 나 타남): 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 분자가 본 발명에 의해 제공된다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항원-결합 분자는 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 나타난 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)"은 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, 몇개는 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, 데이터베이스, 예를 들면, GenBank, UniProt, Swiss-Prot, TrEMBL, 단백질 정보 공급원(Protein Information Resource), 단백질 데이터 뱅크(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 분자/폴리펩타이드의 신호 펩타이드는 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.

[0602] 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, 회토류의 녹색 형광성 단백질(GFP) 칼레이트, 예를 들면, 유로퓸(Eu), 테르븀(Tb) 및 사마륨(Sm), 테트라메틸 로다민, 텍사스 레드(Texas Red), 4-메틸 움벨리페론, 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, 루테튬⁹⁵, 루테튬⁹⁷, 루테튬¹⁰³, 루테튬¹⁰⁵, 수은²⁰⁷, 수은²⁰³, 레늄^{99m}, 레늄¹⁰¹, 레늄¹⁰⁵, 스칸듐⁴⁷, 텔루륨^{121m}, 텔루륨^{122m}, 텔루륨^{125m}, 툴륨¹⁶⁵, 툴륨¹⁶⁷, 툴륨¹⁶⁸, 구리⁶⁷, 붐소¹⁸, 이트륨⁹⁰, 팔라듐¹⁰⁰, 비스무트²¹⁷ 및 안티모니²¹¹를 포함한다. 발광성 표지는 방사발광성, 화학발광성(예컨대, 아크리디늄 에스테르, 루미놀, 이소루미놀) 및 생물발광성 표지를 포함한다. 면역-검출성 표지는 합텐(hapten), 펩타이드/폴리펩타이드, 항체, 수용체 및 리간드, 예를 들면, 바이오틴, 아비딘, 스트렙타비딘 또는 디곡시게닌을 포함한다. 핵산 표지는 앵타머를 포함한다. 효소 표지는 예컨대, 퍼옥시다제, 알칼린 포스파타제, 글루코즈 옥시다제, 베타-갈락토시다제 및 루시페라제를 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**

[0608] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0609] (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

[0610] (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.

[0611] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0612] (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

[0613] (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.

[0614] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0615] (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

[0616] (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.

[0617] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0618] (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

[0619] (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.

[0620] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0621] (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

[0622] (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.

[0623] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0624] (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

[0625] (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.

[0626] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0627] (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

[0628] (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.

[0629] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0630] (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

[0631] (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.

[0632] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0633] (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

[0634] (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.

[0635] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0636] (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

[0637] (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, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

[0638] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0639] (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

[0640] (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, 이로 이루어진 2개의 폴리펩타이드를 포함하거나, 이로 이루어진다.

[0641] 일부 구현예에서 항원-결합 분자는:

[0642] (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

[0643] (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.

- [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.
- [0653] **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 폴리펩타이드의 능력은 당해 분야에 공지된 방법에 따른 분석, 예를 들면, ELISA, 표면 플라즈몬 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 $\text{EC}_{50} = 100 \mu\text{g/ml}$ 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 목적인 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 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 나타난 영역)에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 CD47의 V-형 Ig-유사 도메인(예컨대, 서열 번호 9에 나타난 영역)에 결합할 수 있다.

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

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

[0674] 주어진 펩타이드/폴리펩타이드에 결합하는 항원-결합 분자의 능력은 기술자에게 잘 공지된 방법, 예를 들면, ELISA, 면역블롯(예컨대, 웨스턴 블롯), 면역침전, 표면 플라즈몬 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 펩타이드/폴리펩타이드의 영역은 당해 분야에 잘 공지된 다양한 방법, 예를 들면, 항체-항원 복합체의 X-선 공-결정학 분석, 펩타이드 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 몰라타*(*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, 세포의 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 표지될 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 미만까지 억제할 수 있다.
- [0686] 일부 구현예에서, 항원-결합 분자는 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용을 100 $\mu\text{g/ml}$ 이하, 바람직하게는 ≤ 90 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 80 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 70 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 60 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 50 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 40 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 30 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 20 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 10 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 9 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 7 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 6 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 5 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 4 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 3 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 1.5 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$, ≤ 0.25 $\mu\text{g/ml}$, 또는 ≤ 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 μ g/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 이중이식체 모델에서 항암 활성화에 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 이중이식체 모델에서 생체내에서 암 세포의 수의 보다 큰 감소를 유발한다.

[0699] 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 항원-결합 분자의 투여는 예컨대, AML 세포주-유래된 이중이식체 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.

[0700] 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 세포의 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 RI을 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.

[0709] **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 펩타이드 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 목적인 펩타이드(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.

[0718] **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, 랫트, 마우스 또는 다른 설치류(로덴티아(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, 레트로바이러스 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.

[0724] **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 그람-음성 세균, 예를 들면, 엔테로박테리아세아에 과(family)의 세균, 예를 들면, 에스케리키아 콜라이(*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 단백질을 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 목적인 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 분리하는 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 배치(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] 목적인 항원-결합 분자/폴리펩타이드(들)을 발현하는 세포를 배양한 후, 목적인 폴리펩타이드(들)을 분리할 수 있다. 당해 분야에 공지된 세포로부터 단백질을 분리하기 위한 임의의 적합한 방법을 사용할 수 있다. 폴리펩타이드를 분리하기 위하여, 영양 배지로부터 세포를 분리하는 것이 필수적일 수 있다. 폴리펩타이드(들)이 세포로부터 분비된 경우, 세포를 분비된 목적인 폴리펩타이드(들)을 함유하는 배양 배지로부터 원심분리하여 분리하는 것이 필요할 수 있다. 목적인 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 분리하는 것이 바람직할 수 있다. 상층액 또는 배양 배지로부터 단백질 구성성분을 분리하기 위한 일반적인 접근법은 침전에 의한다. 상이한 용해도의 단백질은 황산암모늄과 같은 상이한 농도의 침전제에서 침전된다. 예를 들면, 저농도의 침전제에서, 수용성 단백질이 추출된다. 따라서, 상이한 증가하는 농도의 침전제를 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 분리되면, 폴리펩타이드(들)을 농축시키는 것이 바람직하거나 필요할 수 있다. 단백질을 농축시키는 다수의 방법, 예를 들면, 한외여과 또는 동결건조가 당해 분야에 공지되어 있다.

[0738] 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(intracavitary), 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 겔을 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 분리하는 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.

[0745] 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 감소소로부터 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 증식(또는 원치않는 세포 증식에 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 증식일 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(jejunum), 신장, 누선(lacrimal gland), 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(CLL), 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 블롯, 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. 문헌(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 림프아구 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 특징화된 AML 세포주에서 고도로 발현되며, 따라서 항원 손실의 위험을 감소시키는 기능적 역할을 담당하므로 AML에 대한 특히 매력적인 치료 표적이다. 간에서 조직-관류성 대식구의 거대 집단(쿠퍼(Kupffer) 세포)은 혈액학적 악성종양에 대한 매력적인 치료 메커니즘을 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-재관류 손상(IRI) 및 심혈관 질환의 병리학과 관련되어 있다(참고: 예컨대, Soto-Pantoja et al., Expert Opin Ther Targets. (2013) 17(1): 89-103). CD47-SIRP α 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-재관류 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-재관류 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, 전달 부위, 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 방사선민감성을 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 인터칼레이터(intercalator), 단백질 억제제(예컨대, 키나제 억제제), 또는 생물학적 제제, 예컨대, 항체, 항체 단편, 앵타머(aptamer), 핵산(예컨대, DNA, RNA), 펩타이드, 폴리펩타이드, 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(브렌토시맵 베도틴), ADE, 아도-트라스투주맵 엠탄신, 아드리아마이신(독소루비신 하이드로클로라이드), 아파티닙 디말레이트, 아피니토르(에베롤리무스), 아킨제오(네투피탄트 및 팔로노세트론 하이드로클로라이드), 알다라(이미퀴모드), 알데슬레우킨, 알레켄사(알렉티닙), 알렉티닙, 알렘투주맵, 알림타(페메트렉세드 이나트륨), 알리쿠파(코판리십 하이드로클로라이드), 주사용 알케란(멜팔란 하이드로클로라이드), 알케란 정제(멜팔란), 알록시(팔로노세트론 하이드로클로라이드), 알룬브리그(브리가티닙), 암보클로린(클로람부실), 암보클로린(클로람부실), 아미포스틴, 아미노레블린산, 아나스트로졸, 아프레피탄, 아레디아(파미드로네이트 이나트륨), 아리미텍스(아나스트로졸), 아로마신(엑세메스탄), 아라논(벨라라빈), 삼산화비소, 아르제라(오파투무맵), 아스파라기나제 에르위니아 크리스탄테미, 아테졸리주맵, 아바스틴(베바키주맵), 아벨루맵, 악시캅타젠 실로루셀, 악시티닙, 아자티딘, 바벤키오(아벨루맵), BEACOPP, 베세눔(카르무스틴), 벨레오닥(벨리노스타트), 벨리노스타트, 벤다무스틴 하이드로클로라이드, BEP, 베스폰사(이노투주맵 오조가미신), 베바키주맵, 백사로텐, 벅사르(Bexxar)(토시투모맵 및 요오드 I 131 노시투모맵), 비칼루타미드, BiCNU(카르무스틴), 블레오마이신, 블리나투모맵, 블린사이토(Blinicyto)(블리나투모맵), 보르테조미, 보셀리프(보수티닙), 보수티닙, 브렌토시맵 베도틴, 브리가티닙, BuMeI, 부셀판, 부셀팩스(부셀판), 카바지탁셀, 카보메텍스(카보잔티닙-S-말레이트), 카보잔티닙-S-말레이트, CAF, 칼켄스(아칼라브루티닙), 캄패쓰(CamPATH)(알렘투주맵), 캄프토사르(이리노테칸 하이드로클로라이드), 카팩시타빈, CAPOX, 카락(플루오로우라실-국소), 카르보플라틴, 카르보플라틴-탁솔(CARBOPLATIN-TAXOL), 카르필조미, 카르무브리스(카르무스틴), 카르무스틴, 카르무스틴 이식제, 카소텍스(비칼루타미드), CEM, 세리티닙, 세루비딘(독소루비신 하이드로클로라이드), 세르바릭스(제조함 HPV 2가 백신), 세톡시맵, CEV, 클로람부실, 클로람부실-프레드니손(CHLORAMBUCIL-PREDNISONE), CHOP, 시스플라틴, 클라드리빈, 클라펜(사이클로포스파미드), 클로파라빈, 클로파렉스(클로파라빈), 클로라르(Clolar)(클로파라빈), CMF, 코비메티닙, 코메트릭(카보잔티닙-S-말레이트), 코판리십 하이드로클로라이드, COPDAC, COPP, COPP-ABV, 코스메젠(닥티노마이신), 코텔릭(코비메티닙), 크리조티닙, CVP, 사이클로포스파미드, 사이포스(Cyfos)(이포스파미드), 사이람파(라무시루맵), 사이타라빈, 사이타라빈 리포솜, 사이토사르-U(사이타라빈), 사이톡산(사이클로포스파미드), 다브라페닙, 다카르바진, 다코젠(데시타빈), 닥티노마이신, 다라투무맵, 다르젤렉스(다라누무맵), 다사티닙, 다우노루비신 하이드로클로라이드, 다우노루비신 하이드로클로라이드 및 사이타라빈 리포솜, 텍시타빈, 데피브로티드 나트륨, 데피텔리오(데피브로타이드 나트륨), 데가렐릭스, 데니류킨 디프티톡스, 데노수맵, 데포시트(DepoCyt)(사이타라빈 리포솜), 텍사메타손, 텍스라족산 하이드로클로라이드, 디누톡시맵, 도세탁셀, 독실(독소루비신 하이드로클로라이드 리포솜), 독소루비신 하이드로클로라이드, 독소루비신 하이드로클로라이드 리포솜, Dox-SL(독소루비신 하이드로클로라이드 리포솜), DTIC-도메(Dome)(다카르바진), 두르발루맵, 에푸텍스(플루오로우라실-국소), 엘릭텍(라스부리카제), 엘렌스(에

피루비신 하이드로클로라이드), 엘로투주맙, 엘록사틴(옥살리플라틴), 엘트롬보팩 올라민(Eltrombopag Olamine), 에멘드(아프레피탄), 엠플리시티(엘로투주맙), 에나시데닙 메실레이트, 엔줄루타미드, 에피루비신 하이드로클로라이드, EPOCH, 에르비투스(세톡시맙), 에리볼린 메실레이트, 에리벤티(Erivedge)(비스모데깅), 에를로티닙 하이드로클로라이드, 에르위나제(Erwinaze)(아스파라기나제 에르위니아 크리산테미), 에티올(아미포스틴), 에토포포스(에토포시드 포스페이트), 에토포시드, 에토포시드 포스페이트, 에바세트(독소루비신 하이드로클로라이드 리포솜), 에베롤리무스, 에비스타(락록시펜 하이드로클로라이드), 에보멜라(멜팔란 하이드로클로라이드), 엑세메스탄, 5-FU(플루오로우라실 주사), 5-FU(플루오로우라실-국소), 파레스톤(토레미펜), 파리닥(파노비노스타트), 파슬로렉스(폴베스트란트), FEC, 페마라(레트로졸), 필그라스탐, 플루다라(플루다라빈 포스페이트), 플루다라빈 포스페이트, 플루오로플렉스(플루오로우라실-국소), 플루오로우라실 주사, 플루오로우라실-국소, 플루타미드, 폴렉스(메토티렉세이트), 폴렉스 PFS(메토티렉세이트), 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), 가지마(오비누투주맙), 게피티닙, 겐시타빈 하이드로클로라이드, 겐시타빈-시스플라틴(GEMCITABINE-CISPLATIN), 겐시타빈-옥살리플라틴(GEMCITABINE-OXALIPLATIN), 겐투주맙 오조가미신, 겐자르(겐시타빈 하이드로클로라이드), 길로트리프(아파티닙 디말레이트), 글리백(이마티닙 메실레이트), 글리아텔(카르무스틴 이식체), 글리아텔 웨이퍼(Gliadel wafer)(카르무스틴 이식체), 글루카르피다제, 고세렐린 아세테이트, 할라벤(에리볼린 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(팔보키클립), 이브리투모맙 티옥세탄, 이브리티닙, ICE, 이클루식(Iclusig)(포나티닙 하이드로클로라이드), 이다마이신(이다루비신 하이드로클로라이드), 이다루비신 하이드로클로라이드, 이텔랄리십, 이드히파(에나시데닙 메실레이트), 이펙스(이포스파미드), 이포스파미드, 이포스파미드(이포스파미드), IL-2(알데스류킨), 이마티닙 메실레이트, 임브루비카(이브리티닙), 임핀지(두르발루맙), 이미퀴모드, 임플리직(Imlygic)(칼리코젠 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, 이펠리루맙, 이레싸(Iressa)(게피티닙), 이리노테칸 하이드로클로라이드, 이리노테칸 하이드로클로라이드 리포솜, 이스토닥스(로미렙틴), 익사베필론, 익사조닙 시트레이트, 익셈프라(익사베필론), 자카피(Jakafi)(록솔리티닙 포스페이트), JEB, 제브타나(카바지탁셀), 카드실라(Kadcyla)(아도-트라스투주맙 엠탄신), 케옥시펜(랄록시펜 하이드로클로라이드), 케피반스(팔리페르민), 키트루다(렘브롤리주맙), 키스칼리(Kisqali)(리보키클립), 킴리아흐(Kymriah)(티사젠레클루셀), 카이프롤리스(카르필조밂), 란레오타이드 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 리포솜), 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 실레이트 리포솜), 마툴란(프로카르바진 하이드로클로라이드), 메클로르에타민 하이드로클로라이드, 메게스트롤 아세테이트, 메키니스트(트라메티닙), 멜팔란, 멜팔란 하이드로클로라이드, 머캅토푸린, 메스나, 메스넥스(메스나), 메타졸라스톤(데모졸로마이드), 메토티렉세이트, 메토티렉세이트 LPF(메토티렉세이트), 메틸날트렉손 브로마이드, 맥세이트(메토티렉세이트), 맥세이트(Mexate)-AQ(메토티렉세이트), 미도스타우린, 미토마이신 C, 미톡산트론 하이드로클로라이드, 미토지트렉스(미토마이신 C), MOPP, 모조빌(플레릭사포르), 무스타르겐(메클로르에타민 하이드로클로라이드), 무타마이신(미토마이신 C), 마일레란(부설판), 마이로사르(아자시티딘), 마일로타르그(Mylotarg)(겐투주맙 오조가미신), 나노입자 파클리탁셀(파클리탁셀 알부민-안정화된 나노입자 제형), 나벨빈(비노렐빈 타르트레이트), 니시투무맙, 넬라라빈, 네오사르(사이클로스포파미드), 네라티닙 말레이트, 네릴린스(Nerlynx)(네라티닙 말레이트), 네투피탄트 및 팔로노세트론 하이드로클로라이드, 놀라스타(페그필그라스탐), 뉴포젠(필그라스탐), 넥사바르(소라페닙 토실레이트), 닐란드론(닐루타미드), 닐로티닙, 닐루타미드, 닐라로(Ninlaro)(익사조닙 시트레이트), 니라파립 토실레이트 일수화물, 니볼루맙, 놀바텍스(타목시펜 시트레이트), 엔플레이트(Nplate)(로미프로스탐), 오비누투주맙, 오돔조(소니데깅), OEPA, 오파투무맙, OFF, 올라파립, 올라라투맙, 오마세탁신 메페식시세이트, 온카스파르(페가스파르가제), 온단세트론 하이드로클로라이드, 오니바이드(Onivyde)(이리노테칸 하이드로클로라이드 리포솜), 온탁(데니류킨 디프티톡스), 옅디보(니볼루맙), OPPIA, 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, 페그필그라스티, 페그인테페론 알파-2b, PEG-인트론(페그인테페론 알파-2b), 펄브롤리주맙, 페메트렉세드 이나트륨, 페르제타(Perjeta)(페르투주맙), 페르투주맙, 플라티놀(시스플라틴), 플라티놀-AQ(시스플라틴), 플레릭시포르, 포말리도미드, 포말리스트(포말리도미드), 포나티닙 하이드로클로라이드, 포르트라짜(Portrazza)(네시투무맙), 프랄라트렉세이트, 프레드니손, 프로카르바진 하이드로클로라이드, 프룰루킨(알데스루킨), 프룰리아(데노수맙), 프로막타(엘트롬보팩 올라민), 프로프로파놀롤 하이드로클로라이드, 프로벤지(시플루셀-T), 푸리네톨(머캅토프린), 푸릭산(머캅토프린), [항목 없음(No Entries)], 라툼 223 디클로라이드, 칼록시펜 하이드로클로라이드, 라무시루맙, 라스부리카제, R-CHOP, R-CVP, 재조합 사람 파필로마바이러스(HPV) 2가 백신, 재조합 사람 파필로마바이러스(HPV) 9가 백신, 재조합 사람 파필로마바이러스(HPV) 4가 백신, 재조합 인테페론 알파-2b, 레고라페닙, 렐리스토르(메틸날프렉손 브로마이드), R-EPOCH, 레블리미드(레날리도미드), 류마트렉스(메토트렉세이트), 리보키클립, R-ICE, 리톡산(리톡시맙), 리톡산 하이셀라(리톡시맙 및 하이알루로니다제 사람), 리톡시맙, 리톡시맙 및 하이알루로니다제 사람, 롤라피탄트 하이드로클로라이드, 로미렙신, 로미플로스티, 루비도마이신(다우노루비신 하이드로클로라이드), 루브라카(루카파립 캄실레이트), 루카파립 캄실레이트, 룩솔리티닙 포스페이트, 라이담트(미도스타우린), 스크레로솔 흉막내 에어로졸(Scirosol Intrapleural Aerosol)(활석), 실톡시맙, 시플레우셀-T, 소마툴린 데포르(란레오타이드 아세테이트), 소니데깅, 소라페닙 토실레이트, 스프라이셀(Sprycel)(다사티닙), 스탠포드(STANFORD) V, 멸균 활석 분말(활석), 스테리탈크(Steritalc)(활석), 스티바르가(Stivarga)(레고라페닙), 수니티닙 말레이트, 수텐트(수니티닙 말레이트), 실라트론(페그인테페론 알파-2b), 실반트(실톡시맙), 신리보(오마세탁신 메페섹시네이트), 타블로이드(티오구아닌), TAC, 타핀라르(다브라페닙), 타그리쑈(Tagrisso)(오시메르티닙), 활석, 탈리모젠 라헤르파레프백, 타목시펜 시트레이트, 타라빈 PFS(사이타라빈), 타르세바(에를로니틴 하이드로클로라이드), 타르그레틴(백사토텐), 타시그나(닐로티닙), 탁솔(파클리탁셀), 탁소테레(도세탁셀), 테센트릭(아테졸리주맙), 테모다르(테모졸로마이드), 테모졸로마이드, 템시롤리무스, 탈리도마이드, 탈로미드(탈리도마이드), 티오구아닌, 티오테파, 티사젠레클루셀, 툴락(플루오로우라실-국소), 토포테칸 하이드로클로라이드, 토레미펜, 토리셀(템시롤리무스), 토시투모맙 및 요오드 I 131 토시투모맙, 토텍트(텍스라족산 하이드로클로라이드), TPF, 트라벡테딘, 트라메티닙, 트라스투주맙, 트레안다(벤다무스틴 하이드로클로라이드), 트리플루리딘 및 티피라실 하이드로클로라이드, 트리세녹스(삼산화비소), 타이케르브(Tykerb)(라파티닙 디토실레이트), 유니톡신(디누톡시맙), 우리딘 트리아세테이트, VAC, 발루비신, 발스타(발루비신), 반데타닙, VAMP, 바루비(롤라피탄트 하이드로클로라이드), 벡티빅스(파니투무맙), VeIP, 벨반(빈블라스틴 설페이트), 벨케이드(보르테조미), 벨사르(빈블라스틴 설페이트), 베무라페닙, 벤클렉타(베네토클락스), 베네토클락스, 베르제니오(아베마키클립), 비아두르(류폴로라이드 아세테이트), 비다자(아자시티딘), 빈블라스틴 설페이트, 빈카사르 PFS(빈크리스틴 설페이트), 빈크리스틴 설페이트, 빈크리스틴 설페이트 리포솜, 비노렐빈 타르트레이트, VIP, 비스모데깅, 비스토가르드(우리딘 트리아세테이트), 보락사제(글루카르피다제), 보리노스타트, 보트리엔트(파조파닙 하이드로클로라이드), 바익세오스(Vyxeos)(다우노루비신 하이드로클로라이드 및 사이타라빈 리포솜), 웰코보린(류코보린 갈슘), 크살코리(Xalkori)(크리조티닙), 크셀로다(카펙시타빈), XELIRI, XELOX, 크세게바(Xgeva)(데노수맙), 크소피고(라툼 223 디클로라이드), 크탄디(Xtandi)(엔잘루타미드), 예르보이(Yervoy)(이필리무맙), 예르스카르타(Yescarta)(악시카브타겐 실로류셀), 윤델리스(트라벡테딘), 잘트랩(지브-아플리베르셉트), 자룩시오(Zarxio)(필그라스티), 제줄라(Zejula)(니라파립 토실레이트 일수화물), 젤보라프(베무라페닙), 제발린(이브리투모맙 티옥세탄), 지네카르트(텍스라족산 하이드로클로라이드), 지브-아플리베르셉트, 조프란(온단세트론 하이드로클로라이드), 졸라텍스(고세렐린 아세테이트), 졸레드론산, 졸린자(보리노스타트), 조메타(졸렌드론산), 자이텔리그(이텔랄리십), 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), 데시타빈, 나트륨 페닐부티레이트, 하이드로지우레아, 6-머캅토프린(6-MP), 6-티오구아닌(6-TG), 모세티노스타트(MGCD0103), 파노비노스타트(LBH-589), 로미렙신, 안트라사이클린, 다우노루비신, 다우노마이신, 이다루비신, 클라드리빈(류스타틴, 2-CdA), 미도스타우린, 플루다라빈(플루다라) 및 토포테칸.

[0775] 일부 구현예에서 화학치료제는 히스톤 데아세틸라제(HDAC) 억제제, 예컨대, 문헌(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.

[0778] **검출 방법**

[0779] 본 발명은 또한 CD47, 또는 CD47을 발현하는 세포를 검출하거나, 국제화하거나 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)를 제공하기 위해 사용될 수 있다. 진단 또는 예후는 기존(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(biopsy); 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.

[0788] **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/결렬(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.

[0791] **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.

[0796] **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 이용가능한 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)	MWPLVAALLGSACCGSAQLLFNKTKEVEFTFCNDTVVPCFVTNMEAQNTTEVYVWKWF KGRDIYTFDGLNKSIVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTR EGETIELKYRVVSWFSPNENILVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVIT VIVIVGAILFVPGEYSKKNATGLGLIVTSTGILILLHYVVFSTAGLTSFVIALVIQVIAYILAVVG LSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRKAVEEPLNAFKESKGMNDE
2	사람 CD47 동형 OA3-293 (UniProt: Q08722-2)	MWPLVAALLGSACCGSAQLLFNKTKEVEFTFCNDTVVPCFVTNMEAQNTTEVYVWKWF KGRDIYTFDGLNKSIVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTR EGETIELKYRVVSWFSPNENILVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVIT VIVIVGAILFVPGEYSKKNATGLGLIVTSTGILILLHYVVFSTAGLTSFVIALVIQVIAYILAVVG LSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFV
3	사람 CD47 동형 OA3-305 (UniProt: Q08722-3)	MWPLVAALLGSACCGSAQLLFNKTKEVEFTFCNDTVVPCFVTNMEAQNTTEVYVWKWF KGRDIYTFDGLNKSIVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTR EGETIELKYRVVSWFSPNENILVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVIT VIVIVGAILFVPGEYSKKNATGLGLIVTSTGILILLHYVVFSTAGLTSFVIALVIQVIAYILAVVG LSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRNN
4	사람 CD47 동형 OA3-312 (UniProt: Q08722-4)	MWPLVAALLGSACCGSAQLLFNKTKEVEFTFCNDTVVPCFVTNMEAQNTTEVYVWKWF KGRDIYTFDGLNKSIVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTR EGETIELKYRVVSWFSPNENILVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVIT VIVIVGAILFVPGEYSKKNATGLGLIVTSTGILILLHYVVFSTAGLTSFVIALVIQVIAYILAVVG LSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRKAVEEPLN
5	성숙한 사람 CD47 동형 OA3-323 (UniProt: Q08722-1, v1 19 내지 323 번 위치)	QLLFNKTKEVEFTFCNDTVVPCFVTNMEAQNTTEVYVWKFKGRDIYTFDGLNKSIVPT DFSSAKIEVSQLLKGDASLMDKSDAVSHTGNYTCEVTELREGETIELKYRVVSWFSPN ENILVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSKNA TGLGLIVTSTGILILLHYVVFSTAGLTSFVIALVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGL SILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRKAVEEPLNAFKESKGMNDE
6	성숙한 사람 CD47 동형 OA3-293 (UniProt: Q08722-2 19 내지 292 번 위치)	QLLFNKTKEVEFTFCNDTVVPCFVTNMEAQNTTEVYVWKFKGRDIYTFDGLNKSIVPT DFSSAKIEVSQLLKGDASLMDKSDAVSHTGNYTCEVTELREGETIELKYRVVSWFSPN ENILVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSKNA TGLGLIVTSTGILILLHYVVFSTAGLTSFVIALVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGL SILALAQLLGLVYMKFV
7	성숙한 사람 CD47 동형 OA3-305 (UniProt: Q08722-3, 19 내지 305 번 위치)	QLLFNKTKEVEFTFCNDTVVPCFVTNMEAQNTTEVYVWKFKGRDIYTFDGLNKSIVPT DFSSAKIEVSQLLKGDASLMDKSDAVSHTGNYTCEVTELREGETIELKYRVVSWFSPN ENILVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSKNA TGLGLIVTSTGILILLHYVVFSTAGLTSFVIALVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGL SILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRNN
8	성숙한 사람 CD47 동형 OA3-312 (UniProt: Q08722-4 19 내지 311 번 위치)	QLLFNKTKEVEFTFCNDTVVPCFVTNMEAQNTTEVYVWKFKGRDIYTFDGLNKSIVPT DFSSAKIEVSQLLKGDASLMDKSDAVSHTGNYTCEVTELREGETIELKYRVVSWFSPN ENILVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSKNA TGLGLIVTSTGILILLHYVVFSTAGLTSFVIALVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGL SILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRKAVEEPLN
9	V-형 Ig-유사 도메인 (UniProt: Q08722-1 19 내지 127 번 위치)	QLLFNKTKEVEFTFCNDTVVPCFVTNMEAQNTTEVYVWKFKGRDIYTFDGLNKSIVPT DFSSAKIEVSQLLKGDASLMDKSDAVSHTGNYTCEVTELREGETII
10	사람 CD47 세포외 영역 1 (UniProt: Q08722-1 19 내지 141 번 위치)	QLLFNKTKEVEFTFCNDTVVPCFVTNMEAQNTTEVYVWKFKGRDIYTFDGLNKSIVPT DFSSAKIEVSQLLKGDASLMDKSDAVSHTGNYTCEVTELREGETIELKYRVVSWFSPN E
11	사람 CD47 막관통 영역 1 (UniProt: Q08722-1 142 내지 162 번 위치)	NILVIFPIFAILLFWGQFGI
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)	TGLGLIVTSTGILILLHYVVF
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)	KFVASNQKTIQPPRKAVEEPLNAFKESKGMNDE
21	1-1-A1 및 1-1-A1_BM (UniProt: Q08722-1 56 내지 65 번 위치) 에 의해 표적화된 사람 CD47 의 영역	VKWKFKGRDI
22	5-48-A6 및 5-48-D2 (UniProt: Q08722-1 24 내지 34 번 위치) 에 의해 표적화된 사람 CD47 의 영역	KTKSVEFTFCN
23	1-1-A1_BM h 중쇄 가변 영역	QVQLQQSGPDLKKPGASVKVSCVKVSGYFTNYYIHVVVRQKPGQGLEWMGYINPYNDGT KSNEKFKGKATLTSDKSSTSAYMELSSLTSEDVAVYYCASGGYYTMDYWGQGTSTVTVSS

[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	QVQLQQSGPDLKPGASVKVSCKVS
28	1-1-A1_BM 중쇄 FR2	IHWVRQKPGQGLEWMGY
29	1-1-A1_BM 중쇄 FR3	KSNEFKGKATLTSDKSSTAYMELSSLTSEDVAVYYC
30	1-1-A1_BM 중쇄 FR4	WGQGTSTVTVSS
31	1-1-A1_BM 경쇄 가변 영역	DVVMQTPLSLPVTLDQASISCRSSQHLEYSNGYSYLHWYQQRPGQSPQLLIYKISNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCSQSTHVPYTFGGGTKLEIK
32	1-1-A1_BM, 1-1-A1, 11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H10, 11A1H11 경쇄 CDR1	QHLEYSNGYSY
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	DVVMQTPLSLPVTLDQASISCRSS
36	1-1-A1_BM 경쇄 FR2	LHWYQQRPGQSPQLLIY
37	1-1-A1_BM 경쇄 FR3	NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYC
38	1-1-A1_BM 경쇄 FR4	FGGGTKLEIK
39	1-1-A1 중쇄 가변 영역	EVQLQQSGPDLVKPGASVKMSCKASGYTFTNYVIHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGDK SNEFKGKATLTSDKSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASGGYYTMDYWGQGTSTVTVSS
40	1-1-A1 중쇄 FR1	EVQLQQSGPDLVKPGASVKMSCKAS
41	1-1-A1 중쇄 FR2	IHWVKQKPGQGLEWIGY
42	1-1-A1 중쇄 FR3	KSNEFKGKATLTSDKSSTAYMELSSLTSEDSAVYYC

[0801]

43	1-1-A1 중쇄 FR4	WGQGTSTVTSS
44	1-1-A1 경쇄 가변 영역	DVVMQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQHLEYSNGYSYLHWYLQKPGQSPQLLIYKISNRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCQSQSTHVPYTFGGGKLEIK
45	1-1-A1 경쇄 FR1	DVVMQTPLSLPVS LGDQASISCRSS
46	1-1-A1 경쇄 FR2	LHWYLQKPGQSPQLLIY
47	1-1-A1 경쇄 FR3	NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC
48	1-1-A1 경쇄 FR4	FGGGTKLEIK
49	5-48-A6 중쇄 가변 영역	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWAGGSTNY NSALMSRLSISKDNSK SQVFLKMNSLQDDTAMYYCARVPTGRIKSYFYAMDYWGQGTSTV TVSS
50	5-48-A6 중쇄 CDR1	GFSLTSYG
51	5-48-A6 중쇄 CDR2	IWAGGST
52	5-48-A6 중쇄 CDR3	ARVPTGRIKSYFYAMDY
53	5-48-A6 중쇄 FR1	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVS
54	5-48-A6 중쇄 FR2	VHWVRQPPGKGLEWLG
55	5-48-A6 중쇄 FR3	NYNSALMSRLSISKDNSK SQVFLKMNSLQDDTAMYYC
56	5-48-A6 중쇄 FR4	WGQGTSTVTSS
57	5-48-A6 경쇄 가변 영역	DIKMTQSPSSMYSSLGERVTITCKASQDISSYLSWVQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVPSR FSGSGSGQDYSLTISSEYEDMGIYYCLQYDEFPYTFGGGKLEIK
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	DIKMTQSPSSMYSSLGERVTITCKAS
62	5-48-A6 경쇄 FR2	LSWFQKPGKSPKTLIY
63	5-48-A6 경쇄 FR3	RLVDGVPSR FSGSGSGQDYSLTISSEYEDMGIYYC
64	5-48-A6 경쇄 FR4	FGGGTKLEIK
65	5-48-D2 중쇄 가변 영역	EVKLLSGGGLVQPGSKLSCAASGFDFSRYWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSSTIN YTPSLKDKFIISRDN AKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCATGTGFAYWGQGLVTVSA
66	5-48-D2 중쇄 CDR1	GFDFSRYW
67	5-48-D2 중쇄 CDR2	INPDSSSTI
68	5-48-D2 중쇄 CDR3	ATGTGFAY
69	5-48-D2 중쇄 FR1	EVKLLSGGGLVQPGSKLSCAAS
70	5-48-D2 중쇄 FR2	MSWVRQAPGKGLEWIGE
71	5-48-D2 중쇄 FR3	NYTPSLKDKFIISRDN AKNTLYLQMSKVRSEDTALYYC
72	5-48-D2 중쇄 FR4	WGQGLVTVSA
73	5-48-D2 경쇄 가변 영역	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWYQQKQKSPQLLYNAKTLAEGVPSR FSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYQCQHHYVTPWTFGGVTKLEIK
74	5-48-D2 경쇄 CDR1	ENIYSY
75	5-48-D2 경쇄 CDR2	NAK
76	5-48-D2 경쇄 CDR3	QHHYVTPWT
77	5-48-D2 경쇄 FR1	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRAS
78	5-48-D2 경쇄 FR2	LAWYQQKQKSPQLLYY
79	5-48-D2 경쇄 FR3	TLAEGVPSR FSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYQC
80	5-48-D2 경쇄 FR4	FGGVTKLEIK
81	1-1-A1 중쇄 신호 P	MEWSWIFLLSGTAGVHS
82	1-1-A1 경쇄 신호 P	MKLPVRLLVLMFWIPASSS
83	5-48-A6 중쇄 신호 P	MAVLVFLCLVAFPSCVLS
84	5-48-A6 경쇄 신호 P	MRTPAQFLGILLWFPGIKC

[0802]

85	5-48-D2 중쇄 신호 P	MDFGLIFFIVALLKGVQC
86	5-48-D2 경쇄 신호 P	MSVPTQVLGLLLLWLTGARC
87	1-1-A1_BM 중쇄 DNA	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCAGACCTGAAGAAGCCTGGAGCCAGCGTGAA GGTGTCTCTGAAGGTGTCCGGCTACACCTTCACAACTATGTGATCCACTGGGTGAGG CAGAAGCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGGCTACATCAACCCCTATAATGACGGC ACCAAGTCTAATGAGAAGTTTAAGGGCAAGGCCACCCCTGACATCTGATAAGAGCAGCA CCAGCGCTACATGGAGCTGTCTAGCCTGACCAGCGAGGACACAGCCGTGTACTATT GCGCTTCCGGCGGCTACTATACAATGGATTATTGGGGCCAGGACACAGCGTGACAG TGCTCTCT
88	1-1-A1_BM 경쇄 DNA	GACGTGGTCTATGACCCAGACACCACTGTCCCTGCCTGTGACCCCTGGGCGATCAGGCC TCTATCAGCTGTAGAAGCTCCAGCAGCTGGAGTACAGCAACGGCTACTCCTATCTGC ACTGGTATCAGCAGCGCCAGGACAGTCTCCACAGCTGCTGATCTACAAGATCTCTAA TCGGTTTCAGCGGCGTGCCTGACAGGTTTTCGGGCTCTGGCAGCGGCACCGATTTCAC ACTGAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGACCTGGGCGTGTACTATTGCTCCAGTC TACCCAGTGCCTTATACATTGGCGGCGGCCACCAAGCTGGAGATCAAG
89	1-1-A1 중쇄 DNA	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGACCTAGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAG ATGTCTCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTAATTATGTTATACACTGGGTGAAGCA GAAGCCTGGGCGAGGCTTGAAGTGGATTGATATATTATCTTACAATGATGGTACT AAGTCCAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAGACAAATCTCCACCT CAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGGGCTCTATTACTGTG CAAGCGGAGGCTACTATATCTGACTATTGGGGTCAAGGAACCTCAGTACCGCTCTC CTCG
90	1-1-A1 경쇄 DNA	GATGTTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTGACTCTTGGAGATCAAGCCT CCATCTCTTGCAGATCTAGTCAACACCTTGAATACAGTAAATGGATACTCCTATTTCAT TGGTACCTGCAGAAAGCCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAATTTCCAAAC GATTTTCTGGGGTCCAGACAGGTTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGACAGATTTTCAACT CAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGGTTTATTTCTGCTCTCAAGATACA CATGTTCCGTACACATTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA
91	5-48-A6 중쇄 DNA	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAAGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTC CATCACTTGCAGTGTCTCTGGGTTTTTATTAAACAGTTATGGTGTACACTGGGTTCCGCC AGCCTCCAGGAAAGGCTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGCTGGTGAAGCAGCAA ATTATAATTTCGGCTCTCATGTCCAGACTGAGCATCAGCAAGACAACTCCAAGAGCCA AGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGATGACACAGCCATGTACTACTGTGCCA GAGTCCGACAGGTCGGATTAAATCTTATTCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGG AACCTCAGTCAACGCTCTCCTCG
92	5-48-A6 경쇄 DNA	GACATCAAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCATGTATTCATCTCTTGGAGAGAGAGTCA CTATCACTTGCAGGCGAGTCAAGACATTAGTAGCTATTTAAGCTGGTTCAGCAGAA ACCAGGGAAGTCTCCTAAGACCCCTGATCTATCGTCAACAGATTGGTGGATGGGGT CCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGCAAGATTATCTCTCACCATCAGCAGC CTGGAGTATGAAGATATGGGAATTTATTATTGTCTACAGTATGATGAGTTCCGTACAC GTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA
93	5-48-D2 중쇄 DNA	GAGGTGAAGCTTCTCAGTCTGGAGGTGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGATCCCTGAAA CTCTCTGTGCAGCCTCAGGATTCGATTTTAGTAGATACTGGATGAGTTGGGTCCGGC AGGCTCCAGGGAAGGGCTAGAATGGATTGGAGAAATTAATCCAGATAGCAGTACGAT AACTATACGCCATCTCTAAAGGATAAATTCATCATCTCCAGAGACAACGCCAAAAATA CGCTGTACCTGCAAATGAGCAAAGTGAATCTGAGGACACAGCCCTTTATTACTGTGC AACTGGGACCGGGTTTGTCTTACTGGGGCCAAGGGAAGTCTGGTCACTGTCTCTGCG
94	5-48-D2 경쇄 DNA	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCTTCCCTATCTGCATCTGTGGGAGAACTGTCA CCATCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTTACAGTTATTTAGCATGGTATCAGCAGAAA CAGGGAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTATAATGCAAAAACCTTAGCAGAAAGGTGTGC CCTCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAGTTTCTCTGAAGATCAACAGCCT GCAGCCTGAAGATTTTGGGAGTTATTACTGTCAACATCATTATGTTACTCCGTGGAGCT TCGGTGGAGTCAACCAAGCTGGAAATCAAA
95	사람 SIRPA 동형 1 (UniProt: P78324-1, v2)	MEPAGPAPGRLGPLLCLLLAASCAWSGVAGEEELQVIQPKSVLVAAGETATLRCTATSLI PVGPQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTVSDLTNRNMDFSIRIGNITPADAGTYCYV KFRKGSPPDDVEFKSGAGTSLVRAKPSAPVVSIPAARATPQHTVSFTCESHGFSPRDI LKWFKNGNELSDFQTNVDPVGSVSYSIHSTAKVLTREDVHSQVICEVAHVTLQGDPLRG TANLSETIRVPPTLEVTTQQPVRANQNVNVCQVRKFPYQRLQLTWLENGNVSRTETASTV TENKDGTYNWMWLLVNVSAHRDDVKLTQVEHGDQPAVSKSHDLKVSAPHPKEQGSNT AAGENTGSNERNIYVGVVCTLLVALLMAALYLVRIOKKAQGSTSSTRLHEPEKNAREITQ DTNDITYADLNLPKGGKPAQAAEPNNHTEYASIQTSPPASEDTLTADLDMVHLNRPK QPAKPEPSFSEYASVQVPRK
96	사람 SIRPA 동형 2 (UniProt: P78324-2)	MEPAGPAPGRLGPLLCLLLAASCAWSGVAGEEELQVIQPKSVLVAAGETATLRCTATSLI PVGPQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTVSDLTNRNMDFSIRIGNITPADAGTYCYV KFRKGSPPDDVEFKSGAGTSLVRAKPSAPVVSIPAARATPQHTVSFTCESHGFSPRDI LKWFKNGNELSDFQTNVDPVGSVSYSIHSTAKVLTREDVHSQVICEVAHVTLQGDPLRG TANLSETIRVPPTLEVTTQQPVRANQNVNVCQVRKFPYQRLQLTWLENGNVSRTETASTV TENKDGTYNWMWLLVNVSAHRDDVKLTQVEHGDQPAVSKSHDLKVSAPHPKEQGSNT

[0803]

		AAENTGSNERNIYIVGVVCTLLVALLMAALYLVRIRQKKAQGSTSSSTRLHEPEKNAREITQ VQSLDNDITYADLNLPKGKKPAPQAAEPNNHTEYASIQTSQPASEDTLTADLDMVHLN RTPKQPAPKPEPSFSEYASVQVPRK
97	사람 SIRPA 동형 4 (UniProt: P78324-4)	MEPAGPAPGRLLGPLLCLLLAASCAWSGVAGEEELQVIQPKSVLVAAGETATLRCTATSLI PVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYTCV KFRKGSPDVEFKSGAGTELSVRAKPSAPVVS GPAARATPQHTVSFTCESHGFSRDLTK WFKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIHSTAKVLTREDVHSQVCEVAHVTLQGDPLRGT ANLSETIRVPPTLEVTQQPVRANQVNVTCQVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVT ENKDGTYNWMWLLVNVSAHRDDVKLTQVEHDGQPAVSKSHDLKVSAPHPKEQGSNTA AENTGSNERNIYIVGVVCTLLVALLMAALYLVRIRQKKAQGSTSSSTRLHEPEKNAREITQD TNDITYADLNLPKGKKPAPQAAEPNNHTEYASIQTSQPASEDTLTADLDMVHLNRTPKQ PAPKPEPSFSEYASVQVPRK
98	성숙한 사람 SIRPA 동형 1 (UniProt: P20138-1 31 내지 504 번 위치)	EEELQVIQPKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYTCV KFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPSAPV VSGPAARATPQHTVSFTCESHGFSRDLTKWFKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIHST AKVLTREDVHSQVCEVAHVTLQGDPLRGTANLSETIRVPPTLEVTQQPVRANQVNVTC QVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNWMWLLVNVSAHRDDVKLTQ QVEHDGQPAVSKSHDLKVSAPHPKEQGSNTAENTGSNERNIYIVGVVCTLLVALLMAAL YLVRIRQKKAQGSTSSSTRLHEPEKNAREITQDNDITYADLNLPKGKKPAPQAAEPNNHTE YASIQTSQPASEDTLTADLDMVHLNRTPKQPAPKPEPSFSEYASVQVPRK
99	성숙한 사람 SIRPA 동형 2 (UniProt: P78324-2 31 내지 478 번 위치)	EEELQVIQPKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYTCV KFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPSAPV VSGPAARATPQHTVSFTCESHGFSRDLTKWFKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIHST AKVLTREDVHSQVCEVAHVTLQGDPLRGTANLSETIRVPPTLEVTQQPVRANQVNVTC QVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNWMWLLVNVSAHRDDVKLTQ QVEHDGQPAVSKSHDLKVSAPHPKEQGSNTAENTGSNERNIYIVGVVCTLLVALLMAAL YLVRIRQKKAQGSTSSSTRLHEPEKNAREITQVQSLDNDITYADLNLPKGKKPAPQAAEPN NHTEYASIQTSQPASEDTLTADLDMVHLNRTPKQPAPKPEPSFSEYASVQVPRK
100	성숙한 사람 SIRPA 동형 4 (UniProt: P78324-4 31 내지 473 번 위치)	EEELQVIQPKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYTCV KFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPSAPV VSGPAARATPQHTVSFTCESHGFSRDLTKWFKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIHST AKVLTREDVHSQVCEVAHVTLQGDPLRGTANLSETIRVPPTLEVTQQPVRANQVNVTC QVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNWMWLLVNVSAHRDDVKLTQ QVEHDGQPAVSKSHDLKVSAPHPKEQGSNTAENTGSNERNIYIVGVVCTLLVALLMAAL YLVRIRQKKAQGSTSSSTRLHEPEKNAREITQDNDITYADLNLPKGKKPAPQAAEPNNHTE YASIQTSQPASEDTLTADLDMVHLNRTPKQPAPKPEPSFSEYASVQVPRK
101	사람 SIRPA 세포외 도메인 (UniProt: P78324-1 31 내지 373 번 위치)	EEELQVIQPKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT TVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYTCV KFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPSAPV VSGPAARATPQHTVSFTCESHGFSRDLTKWFKNGNELSDFQTNVDPVGESVSYSIHST AKVLTREDVHSQVCEVAHVTLQGDPLRGTANLSETIRVPPTLEVTQQPVRANQVNVTC QVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNWMWLLVNVSAHRDDVKLTQ QVEHDGQPAVSKSHDLKVSAPHPKEQGSNTAENTGSNERNIYIVGVVCTLLVALLMAAL YLVRIRQKKAQGSTSSSTRLHEPEKNAREITQDNDITYADLNLPKGKKPAPQAAEPNNHTE YASIQTSQPASEDTLTADLDMVHLNRTPKQPAPKPEPSFSEYASVQVPRK
102	사람 SIRPA 막관통 도메인 (UniProt: P78324-1 374 내지 394 번 위치)	IVGVVCTLLVALLMAALYL
103	사람 SIRPA 세포질 도메인 (UniProt: P78324-1 395 내지 504 번 위치)	RIRQKKAQGSTSSSTRLHEPEKNAREITQDNDITYADLNLPKGKKPAPQAAEPNNHTEYAS IQTSQPASEDTLTADLDMVHLNRTPKQPAPKPEPSFSEYASVQVPRK
104	사람 SIRPA V-형 Ig- 유사 도메인 (UniProt: P78324-1 32 내지 137 번 위치)	EELQVIQPKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT VSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYTCV KFRKGSPDDVEFKSG
105	사람 SIRPA C1-형 Ig-유사 도메인 1 (UniProt: P78324-1 148 내지 247 번 위치)	PSAPVVS GPAARATPQHTVSFTCESHGFSRDLTKWFKNGNELSDFQTNVDPVGESVS SIHSTAKVLTREDVHSQVCEVAHVTLQGDPLRGTANLS
106	사람 SIRPA C1-형 Ig-유사 도메인 2 (UniProt: P78324-1	PTLEVTQQPVRANQVNVTCQVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETASTVTENKDGTYNW MSWLLVNVSAHRDDVKLTQVEHDGQPAVSKSHDLK

[0804]

	254 내지 348 번 위치)	
107	1-1-A1_BM VH- CH1-CH2-CH3	QVQLQQSGPDLKPKGASVKVSCVSGYTFITNYIHVVVRQKPGQGLEWMGYINPYNDGT KSNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDVAVYYCASGGYYTMDYWGQGTSTVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
108	1-1-A1_BM VL-Ck	DVVMQTPLSLPVTLGDAQSISCRSSQHLEYSNGYSYLHWYQQRPGQSPQLLIYKISNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCSQSTHVPYTFGGGTLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
109	1-1-A1 VH-CH1- CH2-CH3	EVQLQQSGPDLVKPGASVKMSCKASGYTFITNYIHVVVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGT SNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDVAVYYCASGGYYTMDYWGQGTSTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
110	1-1-A1 VL-Ck	DVVMQTPLSLPVTLGDAQSISCRSSQHLEYSNGYSYLHWYLOKPGQSPQLLIYKISNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYTFGGGTLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
111	5-48-A6 VH-CH1- CH2-CH3	QVQLKESGPGVLVAPSSQSLSTITCTVSGFSLTSYGVHVVVRQPPGKGLEWLVGVIWAGGS TNYNSALMSRLSISKDNSKQVFLKMNLSLQDDTAMYYCARVPTGRIKSYFYAMDYWGQGT STVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
112	5-48-A6 VL-Ck	DIKMTQSPSSMYSSLGERVITITCKASQDISYSLWFGQKPKGKSPKTLIYRANRLVDGVP PSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEDMGIYCLQYDEFPYTFGGGTLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
113	5-48-D2 VH-CH1- CH2-CH3	EVKLLSGGGLVQPGGSLKLSAASGDFSRVWMSWVRQAPGKGLEWIGIINPDSSSTIN YTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCATGTGFAYWGQGTSTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
114	5-48-D2 VL-Ck	DIQMTQSPASLSASVGETVITITCRASENYSYLAWYQQKQKSPQLLYNAKTLAEVGP PSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYQCQHHYVTPWTFGGVTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
115	항-CD33 VH-CH1- CH2-CH3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFITDYNMHVVRQAPGQGLEWIGYIYPYNGGT GYNQKFKSKATITADESTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRPAMDYWGQGTSTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
116	항-CD33 VL-Ck	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITITCRASEVDNYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQGS GVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPDFFATYYCQSQKEVPWTFGGGTLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
117	레스스 마카워 CD47 (UniProt: F7F5Y9-1, v2)	MWPLVAALLLSGACCGSAQLLFNKTKEVEFTFCNDTVVIPCFTNMEAQNTTEVYVKKWF KGRDIYTFDGLNKSAPANFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTR EGETIELKYRVVSWFSPNENILVIFPIFAILLFWGQGIKTLKYRSGGMDEKIALLVAGLMI TVIVVGAIFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYVFTAIGLTSFVIALVQVIAIYLA VGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQPPRNDNFRKNEEKFI LN
118	사람 IgG1 불변 영역(IGHG1; UniProt.P01857-1,	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL

[0805]

	v1)	TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
119	CH1 IgG1 (1-98 of P01857-1, v1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
120	힌지 IgG1 (99-110 of P01857-1, v1)	EPKSCDKTHTCP
121	CH2 IgG1 (111-223 of P01857-1, v1)	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAK
122	CH3 IgG1 (224-330 of P01857-1, v1)	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
123	CH3 (D356E, L358M; EU 번호매김에 따라 번호매김된 위치)	GQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
124	Cκ CL (IGCK; UniProt: P01834-1, v2)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
125	J6M0 VH-CH1- CH2-CH3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGATYRGHS DTYYNQFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDAVYYCARGAIYDGYDLDNWGGQTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPCAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
126	J6M0 VL-Cκ	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCSASQDISNLYNMYQQKPGKAPKLLIYYTSLNLSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYRKLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS EQKSGTASVVCCLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSDKSTYLSLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
127	11A1H1 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYVIHWVRQAPGKGLEWMGYINPYNDGK SNEKFQGRVTLTSDKSSTSAIMELSSLRSEDAVYYCASGGYYTMDYWGQGLTVTVSS
128	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5 VL	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQHLEYSNGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKISNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGKVEIK
129	11A1H2 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYVIHWVRQAPGKGLEWMGYINPYNDGK SNEKFQGRVTLTSDTSTTTAYMELSSLRSEDAVYYCASGGYYTMDYWGQGLTVTVSS
130	11A1H3 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYVIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGT KSNEKFQGRVTLTSDTSTSTAYMELSSLRSEDAVYYCASGGYYTMDYWGQGLTV
131	11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYVIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGT KYNQKFQGRVTLTSDTSTTTAYMELSSLRSEDAVYYCASGGYYTMDYWGQGLTV
132	11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYVIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNGGT NYAQKFQGRVTLTSDTSTTTAYMELSSLRSEDAVYYCASGGYYTMDYWGQGLTVTVSS
133	11A1H6, 11A1H7 VL	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQHLEYSQGYSLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGKVEIK
134	11A1H8, 11A1H9 VL	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQHLEYSTGYSLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGKVEIK
135	11A1H10 VL	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQHLEYSNGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGKVEIK
136	11A1H11 VL	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQHLEYSNGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKISNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGKVEIK
137	11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-CDR1	GYTFTGYV
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,	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKAS

	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	KSNEFKGRVTLTSDKSSTSAYMELSSLRSEDATVYYC
148	11A1H2 HC-FR3	KSNEFKGRVTLTSDTSTTTAYMELSSLRSEDATVYYC
149	11A1H3 HC-FR3	KSNEFKGRVTLTSDTSTSTAYMELSSLRSEDATVYYC
150	11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 HC-FR3	KYNQFKGRVTLTSDTSTTTAYMELSLRSDATVYYC
151	11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-FR3	NYAQFKGRVTLTSDTSTTTAYMELSLRSEDATVYYC
152	11A1H1, 11A1H2, 11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 HC-FR4	WGQGLTVTVSS
153	11A1H3, 11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 HC-FR4	WGQGLTV
154	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 LC-FR1	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSS
155	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 LC-FR2	LHWYQQRPGQSPRLIY
156	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H11 LC-FR3	NRFGVPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYYC
157	11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10 LC-FR3	NRDSGVPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYYC
158	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5, 11A1H6, 11A1H7, 11A1H8, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 LC-FR4	FGGGTKVEIK
159	11A1H1 VH-CH1- CH2-CH3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYIHWWVRQAPGKGLEWMGYINPYNDGTK SNEKFKGRVTLTSDKSSTSAYMELSSLRSEDATVYYCASGGYYTMDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDRLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
160	11A1H1, 11A1H2, 11A1H3, 11A1H4, 11A1H5 VL-CK	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQHLSEYNGYSYLHWYQQRPGQSPRLIYKISNRF SGVPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGKTKVEIKRTVAAPSV FIFFPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
161	11A1H2 VH-CH1- CH2-CH3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYIHWWVRQAPGKGLEWMGYINPYNDGTK SNEKFKGRVTLTSDTSTTTAYMELSSLRSEDATVYYCASGGYYTMDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDRLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
162	11A1H3 VH-CH1-	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYVMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGT

[0807]

	CH2-CH3	KSNEKFQGRVLTSDTSTSTAYMELSSLRSEDATVYYCASGGYYTMDYWGQGTLVASTK GPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
163	11A1H4, 11A1H6, 11A1H8 VH-CH1- CH2-CH3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYVIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGT KYNQKFKGRVLTSDTSTTTAYMELSRRLSDDTAVYYCASGGYYTMDYWGQGTLVASTK GPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
164	11A1H5, 11A1H7, 11A1H9, 11A1H10, 11A1H11 VH-CH1- CH2-CH3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTGYVIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNGGT NYAQKFKGRVLTSDTSTTTAYMELSRRLSDDTAVYYCASGGYYTMDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
165	11A1H6, 11A1H7 VL-CK	DVVMTQSPSLPVLTLGQPASISCRSSQHLEYSQGSYSLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRTVAAPSV FIFFPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFPAKQVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
166	11A1H8, 11A1H9 VL-CK	DVVMTQSPSLPVLTLGQPASISCRSSQHLEYSNGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRTVAAPSV FIFFPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFPAKQVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
167	11A1H10 VL-CK	DVVMTQSPSLPVLTLGQPASISCRSSQHLEYSNGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKVSNRD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRTVAAPSV FIFFPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFPAKQVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
168	11A1H11 VL-CK	DVVMTQSPSLPVLTLGQPASISCRSSQHLEYSNGYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKISNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRTVAAPSV FIFFPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFPAKQVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
169	11A1H_C HC-CDR1	GYFTX ₁ YV X ₁ = N 또는 G
170	11A1H_C HC-CDR2	INPYNX ₂ 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 ₇ 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 GRVLTSDX 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	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
177	11A1H_C LC-FR3	NRX ₂₂ SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYC X ₂₂ = D 또는 F
178	11A1H_C_VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTX ₂₂ YVX ₂₃ HWVRQAPGX ₂₄ GLEWMGYINPYN X ₂₅ GTX ₂₆ X ₂₇ X ₂₈ X ₂₉ KFX ₃₀ GRVTLTSDX ₃₁ SX ₃₂ SX ₃₃ AYMELSX ₃₄ LRSX ₃₅ DTAVYYCASGGYYT MDYWGQGTLVX 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	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQHLEYSX ₄₀ GYSYLHWYQQRPGQSPRLLIYKX ₄₁ SN RX ₄₂ SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCSQX ₄₃ THVPYTFGGGKVEIK 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 값까지를 포함한다. 유사하게, 값을 근사치로 표현하는 경우, 선행사 "약"의 사용에 의해, 특수한 값이 다른 구현예를 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 α 및 CD47 도메인과, 구체(sphere)와 겹쳐진 항-CD47 항체를 생성하기 위한 면역원으로서 사용된

영역의 상호작용의 3D 구조를 나타내는 리본 다이어그램(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 역제를 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 역제를 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

실시예

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

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

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).

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 펩타이드의 등록 혼합물을 사용하여 각각의 주사 사이의 2주 간격으로 총 4회 복강내 주사로 면역화하였다. 면역화용 항원은 다음 중 하나를 포함하였다:
- [0825] i) 50 μ g 이하의, KLH (China Peptides Co. Ltd, 중국 소재)와 접합된 합성 펩타이드
- [0826] ii) 50 μ g 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 제에, 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 μ g의 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/ μ l) 및 SMARTScribe 리버스 트랜스크립타제(100 U/ μ l).
- [0833] 혈통별-준비된(race-ready) cDNA를 SeqAmp DNA 폴리머라제(Clontech™, USA)를 사용하여 증폭시켰다. 증폭 반응물은 SeqAmp DNA 폴리머라제, 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) 이. 콜라이(*E. coli*) DH5 α 를 형질전환시키는데 사용하였다. 수득되는 형질전환체로부터, 플라스미드 DNA를 Miniprep 키트(Qiagen, 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 펩타이드를 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_{BM}으로 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	
	VL = 서열번호:44	
5-48-A6	VH = 서열번호:49	서열번호:22
	VL = 서열번호:57	
5-48-D2	VH = 서열번호:65	
	VL = 서열번호:73	

[0837]

[0838]

실시예 2: 항체 생산 및 정제

[0839]

2.1 VH 및 VL의 발현 벡터 내로의 클로닝:

[0840]

항-CD47 항체 클론의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 암호화하는 DNA 서열을 사람-마우스 키메라 항체의 작제를 위한 pFUSE-CHlg-hG1 및 pFUSE2ss-CLlg-hk(InvivoGen, USA) 진핵세포 발현 벡터 내로 아클로닝(subcloning)하였다. pFUSE-CHlg-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-CLlg-hk는 사람 IgG1 경쇄 카파 불변 영역(IGCK; UniProt: P01834-1, v2)을 암호화한다.

[0841]

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 물 비의 DNA 삽입체 대 벡터를 연결에 사용하였다.

[0842]

2.2 포유동물 세포내에서 항체의 발현

[0843]

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.

[0844]

1) Expi293 일시적인 발현 시스템:

[0845]

세포주 유지:

[0846]

HEK293F 세포(Expi293F)를 Life Technologies, Inc(USA)로부터 획득하였다. 세포를 50 IU/ml 페니실린 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.

[0847]

형질감염:

[0848]

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.

[0849]

2) HEK293-6E 일시적인 발현 시스템

[0850]

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 PEIpro™(Polyplus, USA)을 사용하여 이의 제조업자의 프로토콜에 따라 형질감염시켰다. 요약하면, 유지시 세포를 배지 교환에 적용시켜 원심분리로 항생제를 제거하고, 세포 펠렛을 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 PEIpro™를 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 켜에 가하였다. 형질전환체를 4000 x g에서 15분 동안 원심분리에 의해 6-7일째에 수거하고 상층액을 0.22 µm 멸균 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-C _K (서열번호:108)	항-CD47 클론 1-1-A1 _{BM} IgG1
[2]	1-1-A1 VH-CH1-CH2-CH3 (서열번호:109) + 1-1-A1 VL-C _K (서열번호:110)	항-CD47 클론 1-1-A1 IgG1
[3]	5-48-A6 VH-CH1-CH2-CH3 (서열번호:111) + 5-48-A6 VL-C _K (서열번호:112)	항-CD47 클론 5-48-A6 IgG1
[4]	5-48-D2 VH-CH1-CH2-CH3 (서열번호:113) + 5-48-D2 VL-C _K (서열번호:114)	항-CD47 클론 5-48-D2 IgG1
[5]	항-CD33 VH-CH1-CH2-CH3 (서열번호:115) + 항-CD33 VL-C _K (서열번호:116)	항-CD33 IgG1

[0855]

[0856] 2.3 항체 정제

[0857] 친화성 정제, 완충제 교환 및 저장:

[0858] 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 튜브내로 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 멸균시키고, 등분(aliquoting)하고 -80°C에서 저장을 위해 스냅-동결(snap-freezing)시켰다.

[0859] 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 설페이트 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(디티오프레이톨)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 멘로 파크(Menlo Park) 소재)을 사용하여 사람 IgG를 포획하기 위한 항-사람 면역글로불린 G(IgG) Fc (AHC) 코팅된 바이오센서 팁(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 팁 위로 25 내지 50 nM 범위의 농도에서 120초 동안 로딩하였다. 이후에, 팁을 검정 완충액을 사용하여 30초 동안 간단히 세척하여 제2 완충제 기본선을 획득하기 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) 옥테트 센서(Octet sensor)를 사용하여 분석하였다. 완충제 기본선을 30초 동안 획득한 다음, 센서를 his-태그된 사람 CD47(1.2 μ M)로 120초 동안 로딩하였다. 제2의 완충제 기본선을 60초 동안 획득한 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 획득하였다.

[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 μ g/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 버킷 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]

[0877] 3.3 항체 특이성을 측정하기 위한 ELISA

[0878] ELISA를 사용하여 항체의 결합 특이성을 측정하였다. 항체를 표적 펩타이드 및 단백질 뿐만 아니라, 각각의 마우스, 랫트 및 원숭이 동족체(Sino Biological Inc., 중국 소재)에 대해서도 시험하였다.

[0879] 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., USA소재)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.

[0880] 레서스 마카퀴 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.

[0881] 결과는 도 5에 나타낸다.

[0882] 실시예 4: 기능적 특성화

[0883] 4.1 CD47-SIRP α 상호작용을 차단하는 능력의 분석

[0884] 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.

[0885] CD47-SIRP α 상호작용의 억제 퍼센트를 SIRP α (100%)의 부재하에서 신호에 대해 계산하였다.

- [0886] 제1 실험에서, CD47과 SIRP α 사이의 상호작용의 억제에 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 나타난다. 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 CFSE-표지된 Raji 세포의 식세포작용을 촉진하는 이들의 능력에 대해 분석하였다.
- [0894] 다음의 항원-결합 분자를 본 실험에서 분석하였다:
- [0895] · 항-CD47 클론 1-1-A1_{BM} IgG1(실시예 2.2의 [1])
- [0896] 항-CD47 항체 클론 B6H12(Santa Cruz Biotechnology, 제품 번호 sc-12730)를 양성 대조군 조건으로서 포함시켰다.
- [0897] 결과는 도 6에 나타난다. 항-CD47 클론 1-1-A1_{BM} IgG1은 대식구에 의한 Raji 세포의 식세포작용을 촉진하는데 있어 매우 강력한 것으로 밝혀졌다.
- [0898] 별도의 실험에서, 항원-결합 분자를 형광 현미경으로 측정된 바와 같이, 대식구에 의한 CFSE-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.
- [0899] 항-CD47 클론 1-1-A1_{BM} IgG1(실시예 2.2의 [1])을 실험에서 분석하고, 동형 대조군 조건을 음성 대조군으로서 포함시켰다.
- [0900] 결과는 도 7a 내지 7c에 나타난다. 항-CD47 클론 1-1-A1_{BM} IgG1은 대식구에 의한 HL-60 세포의 식세포작용을 유도하는데 있어서 강력한 것으로 밝혀졌다.
- [0901] 실시예 5: 항-CD47 클론 1-1-A1의 사람화된 버전의 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	GYTFTNYV (서열번호:24)	INPYNDGT (서열번호:25)	ASGGYYTMDY (서열번호:26)	QHLEYSNGYSY (서열번호:32)	KIS (서열번호:33)	SQSTHVPYT (서열번호:34)		
1A11H2								
1A11H3								
1A11H4								
1A11H5	GYTFTGYV (서열번호:137)	INPYNGGT (서열번호:138)		QHLEYSQGYSY (서열번호:139)	KVS (서열번호:141)			
1A11H6	GYTFTNYV (서열번호:24)	INPYNDGT (서열번호:25)						
1A11H7	GYTFTGYV (서열번호:137)	INPYNGGT (서열번호:138)						
1A11H8	GYTFTNYV (서열번호:24)	INPYNDGT (서열번호:25)						
1A11H9	GYTFTGYV (서열번호:137)	INPYNGGT (서열번호:138)		QHLEYSTGYSY (서열번호:140)	KIS (서열번호:33)			
1A11H10				QHLEYSNGYSY (서열번호:32)				
1A11H11				QHLEYSX ₃ GYSY (서열번호:171)				
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	QVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCAS (서열번호:143)	IHWVRQAPGKGLEW MGY (서열번호:144)	KSNEKFKGRVLTLS DKSSTSAYMELSSL RSEDVAVYYC (서열번호:147)	WGQGTLLTVSS (서열번호:152)
1A11H2			KSNEKFKGRVLTLS DTSTTTAYMELSSL RSEDVAVYYC (서열번호:148)	
1A11H3		MHWVRQAPGQGLEW MGY (서열번호:145)	KSNEKFKGRVLTLS DTSTTAYMELSSL RSEDVAVYYC (서열번호:149)	WGQGTLLV (서열번호:153)
1A11H4		IHWVRQAPGQGLEW MGY (서열번호:146)	KYNQKFKGRVLTLS DTSTTTAYMELSRL RSDDVAVYYC (서열번호:150)	
1A11H5			NYAQKFKGRVLTLS DTSTTTAYMELSRL RSEDVAVYYC (서열번호:151)	WGQGTLLTVSS (서열번호:152)
1A11H6			KYNQKFKGRVLTLS DTSTTTAYMELSRL RSDDVAVYYC (서열번호:150)	WGQGTLLV (서열번호:153)
1A11H7			NYAQKFKGRVLTLS DTSTTTAYMELSRL RSEDVAVYYC (서열번호:151)	WGQGTLLTVSS (서열번호:152)
1A11H8			KYNQKFKGRVLTLS DTSTTTAYMELSRL RSDDVAVYYC (서열번호:150)	WGQGTLLV (서열번호:153)
1A11H9			NYAQKFKGRVLTLS DTSTTTAYMELSRL RSEDVAVYYC (서열번호:151)	WGQGTLLTVSS (서열번호:152)
1A11H10				
1A11H11				
컨센서스(Consensus)	QVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCAS (서열번호:143)	X ₆ HWVRQAPGX 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)	WGQGTLLVX 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)	LHWYQQRPGQSPRLL IY (서열번호:155)	NRFSGVPDRFSGSG SGTDFTLKISRVEAE DVGYYC (서열번호:156)	FGGGTKVEIK (서열번호:158)
1A11H2				
1A11H3				
1A11H4				
1A11H5				
1A11H6				
1A11H7				
1A11H8				
1A11H9				
1A11H10				
1A11H11			NRFSGVPDRFSGSG SGTDFTLKISRVEAE DVGYYC (서열번호:156)	
컨센서스	DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSS (서열번호:154)	LHWYQQRPGQSPRLL IY (서열번호:155)	NRX ₂₂ SGVPDRFSGSG GSGTDFTLKISRVEA EDVGYYC X ₂₂ = D 또는 F (서열번호:177)	FGGGTKVEIK (서열번호:158)

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

6.1 항체 특이성을 측정하기 위한 ELISA

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

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.

다음의 항원-결합 분자를 실험에서 분석하였다:

- 11A1H3-IgG1(실시예 5의 [8]).
- 11A1H4-IgG1(실시예 5의 [9]).
- 11A1H5-IgG1(실시예 5의 [10]).
- 11A1H6-IgG1(실시예 5의 [11]).
- 11A1H7-IgG1(실시예 5의 [12]).
- 11A1H9-IgG1(실시예 5의 [14]).
- 11A1H10-IgG1(실시예 5의 [15]).
- 11A1H11-IgG1(실시예 5의 [16]).
- 항-CD47 클론 1-1-A1_{BM} IgG1(실시예 2.2의 [1]).
- 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	EC ₅₀ (μg/mL)	1-1-A1_BM에 대한 EC ₅₀ 에 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 팁(Pal1 ForteBio, 캘리포니아주 덴로 파크 소재)을 사용하여 단일 채널 BLITz 시스템(ForteBio, 캘리포니아주 덴로 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 팁으로 25 nM에서 120초 동안 로딩시켰다. 이후에, 팁을 60초 동안 검정 완충제로 간단히 세척하여 제2 완충제 기본선을 획득하기 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 ⁻¹ s ⁻¹)	K _{dis} (s ⁻¹)
11A1BM	9.31	1.30 x 10 ⁵	1.21 x 10 ⁻³
11A1H3	3.39	2.66 x 10 ⁵	9.04 x 10 ⁻⁴
11A1H5	9.28	1.29 x 10 ⁵	1.20 x 10 ⁻³
11A1H6	134	1.08 x 10 ⁵	1.44 x 10 ⁻²
11A1H7	232	3.24 x 10 ⁵	7.50 x 10 ⁻³
11A1H9	23.3	2.73 x 10 ⁵	6.35 x 10 ⁻³
11A1H10	111	8.09 x 10 ⁴	8.98 x 10 ⁻³
11A1H11	13.8	1.18 x 10 ⁵	4.28 x 10 ⁻³

[0931]

[0932] 실시예 7: 항-CD47 항체 클론 1-1-A1의 사람화된 버전의 기능적 특성화

[0933] 7.1 CD47-SIRPα 상호작용을 차단하는 능력의 분석

[0934] 사람 CD47과 SIRPα 사이의 상호작용을 억제하는 항-CD47 항체 클론 1-1-A1의 사람화된 버전의 능력을 실시예

4.1에 기술된 바와 같이, ELISA로 시험하였다.

다음의 항원-결합 분자를 실험에서 분석하였다:

- 11A1H4-IgG1(실시예 5의 [9]).
- 11A1H5-IgG1(실시예 5의 [10]).
- 11A1H6-IgG1(실시예 5의 [11]).
- 11A1H7-IgG1(실시예 5의 [12]).
- 11A1H9-IgG1(실시예 5의 [14]).
- 11A1H10-IgG1(실시예 5의 [15]).
- 11A1H11-IgG1(실시예 5의 [16]).
- 항-CD47 클론 1-1-A1_BM IgG1(실시예 2.2의 [1]).
- 항-CD33 IgG1(실시예 2.2의 [5])(음성 대조군) - 도 12에서 'M195'로 지칭됨.
- J6M0-IgG1(하기 [17])(음성 대조군).
- 동형 대조군 hIgG(음성 대조군).

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

결과는 도 12에 나타낸다. IC₅₀ 값을 계산하고, 1-1-A1_BM에 대한 IC₅₀에 대해 CD47과 SIRPα 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

7.2 시험관내 혈구응집 검정

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

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 1 시간 동안 실온에서 증가하는 농도의 시험 항원-결합 분자의 존재 또는 부재하에서 환자 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.

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.

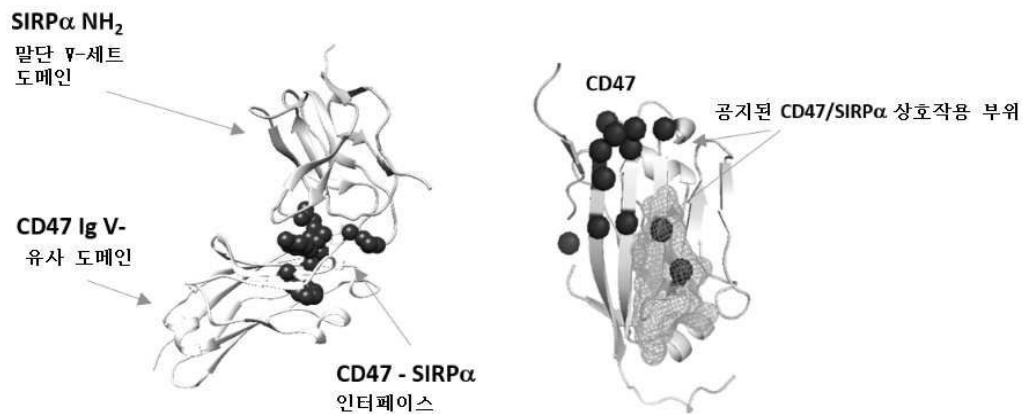
[0967] · J6M0-IgG1(실시예 7.1의 [17])(음성대조군) - 도 13에서 '무관한 Ag'로서 지칭됨.

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

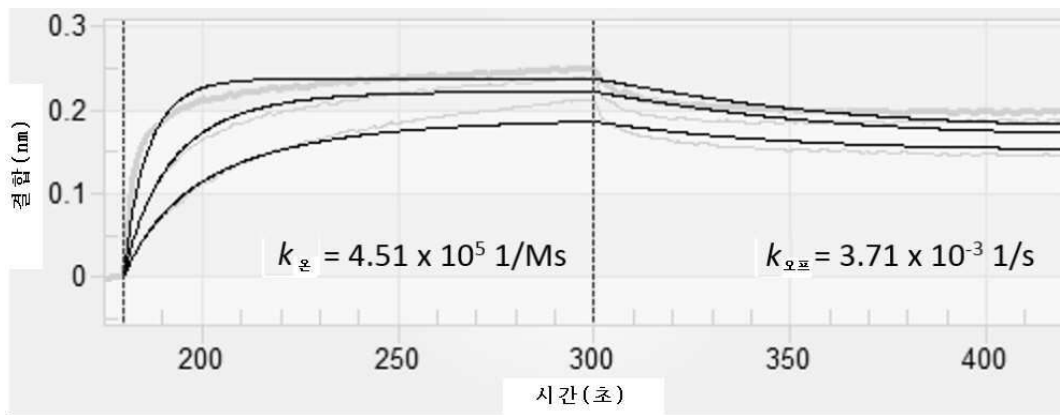
[0969] 결과는 도 13에 나타낸다.

도면

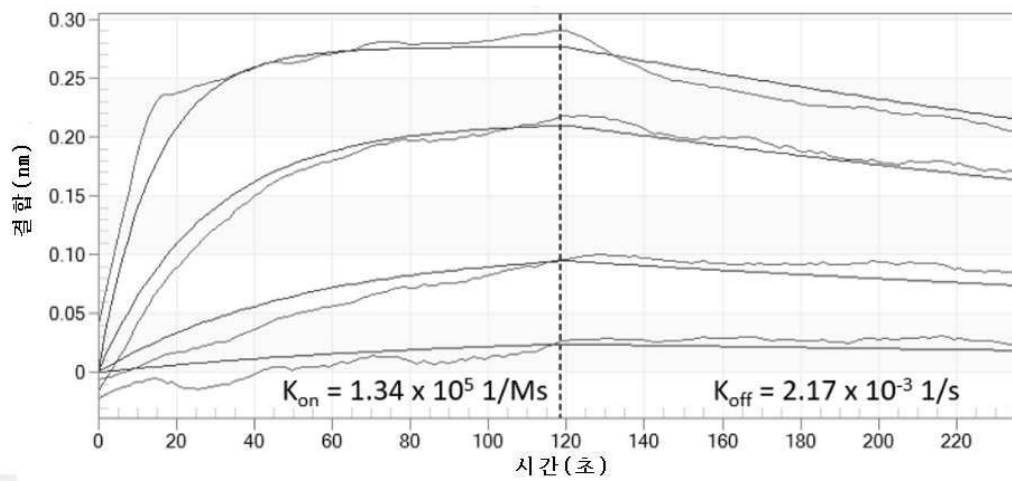
도면1



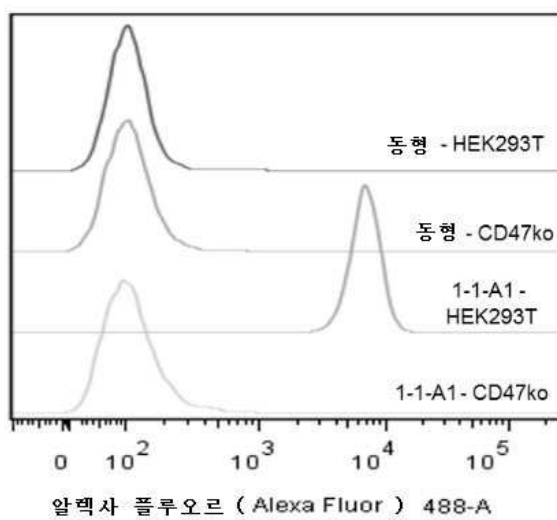
도면2a



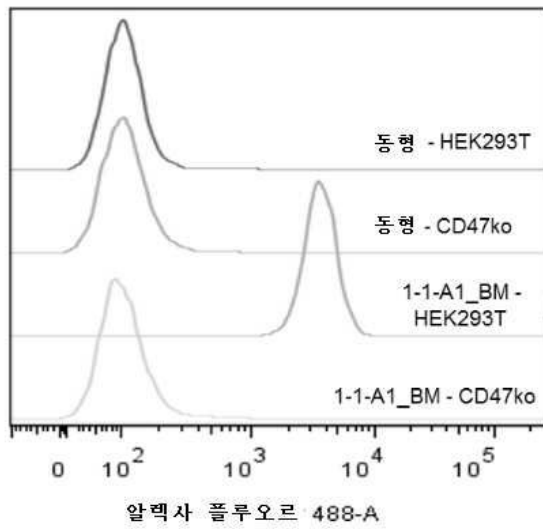
도면2b



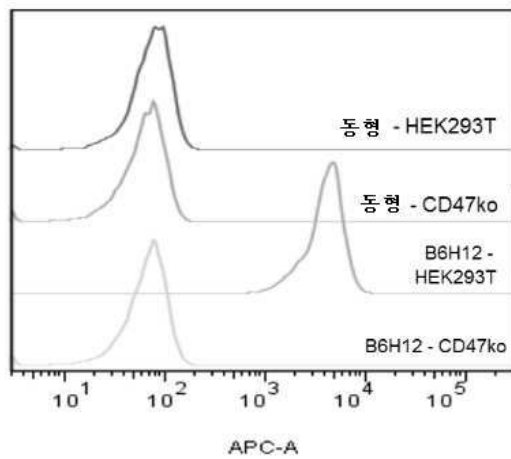
도면3a



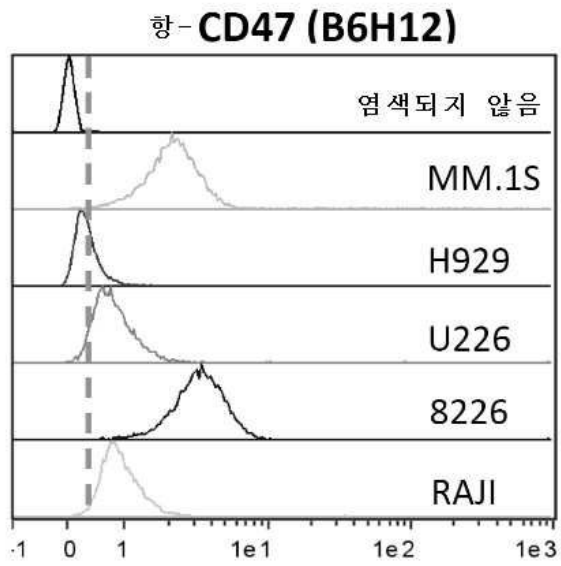
도면3b



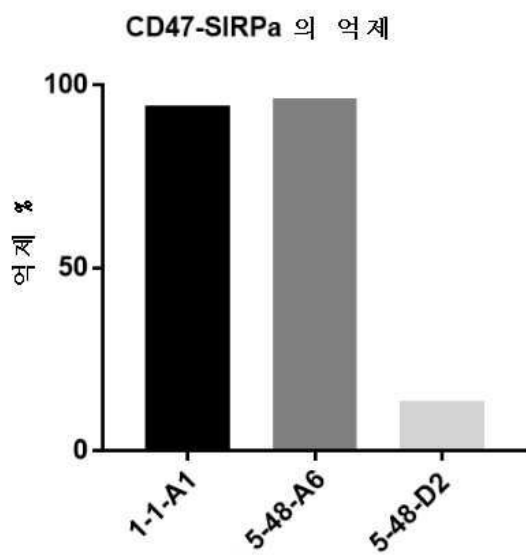
도면3c



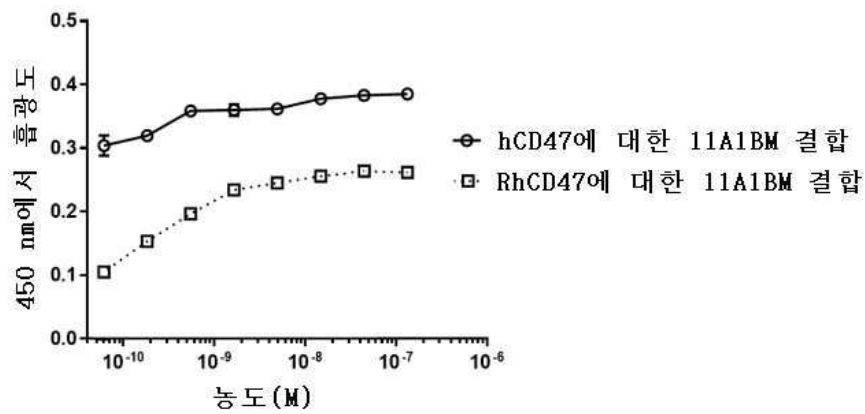
도면3d



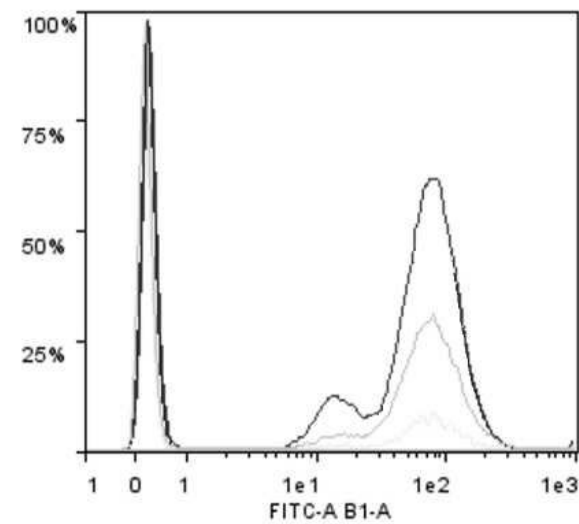
도면4



도면5

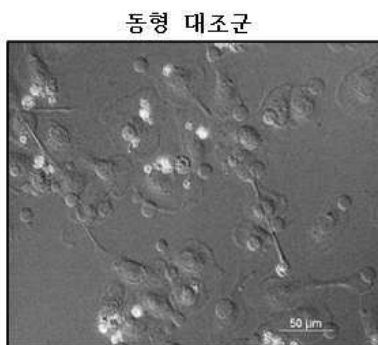


도면6

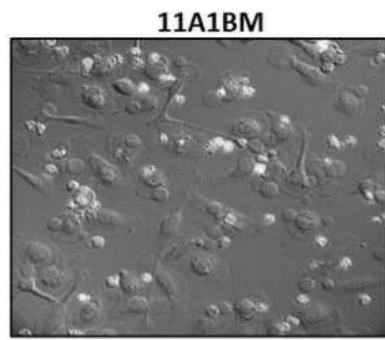


범례	집단	살아있는 세포 %	FITC 양성 %
	음성 대조군 (PBS)	71.54	27
	B6H12 대조군	73.39	59
	1-1-A1 mAb	77.51	74.63

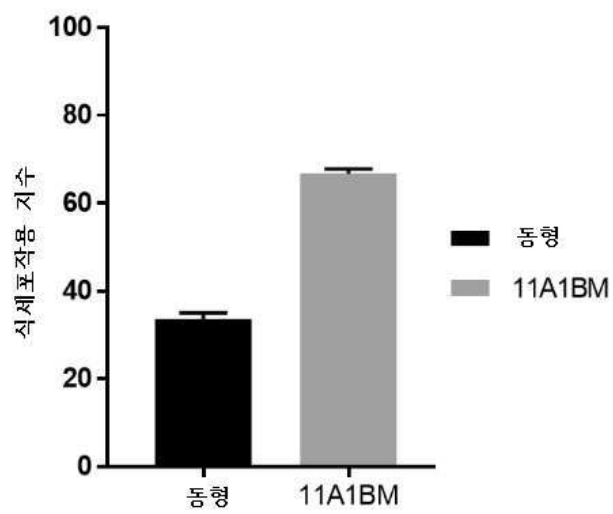
도면7a



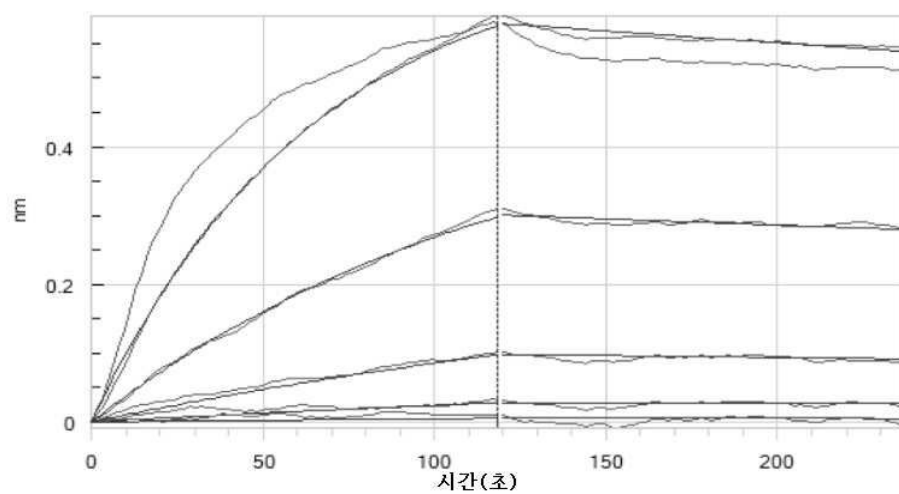
도면7b



도면7c

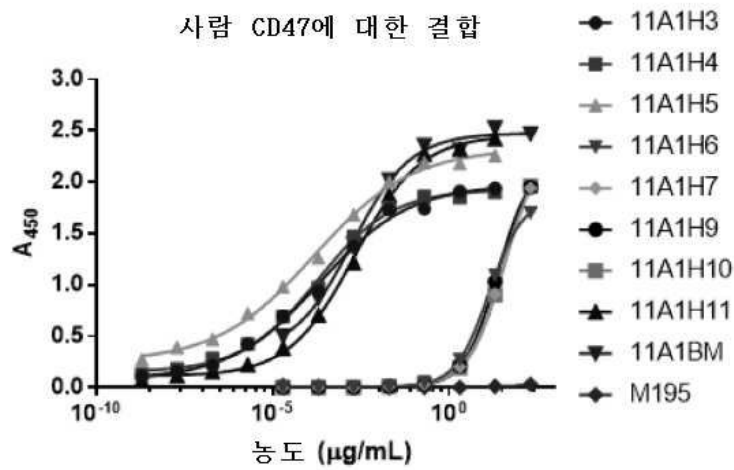


도면8

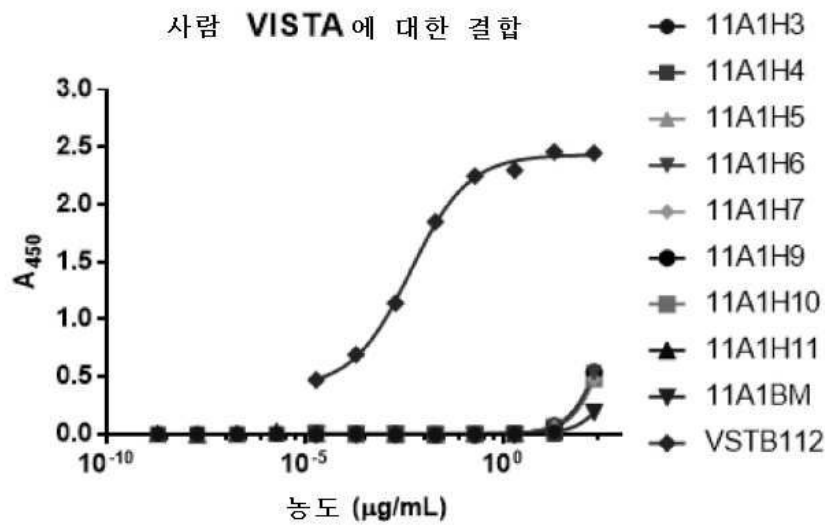


항체	K_D (nM)	k_{on} ($M^{-1} s^{-1}$)	k_{dis} (s^{-1})
11A1BM	10.4	59.4×10^3	61.8×10^{-5}

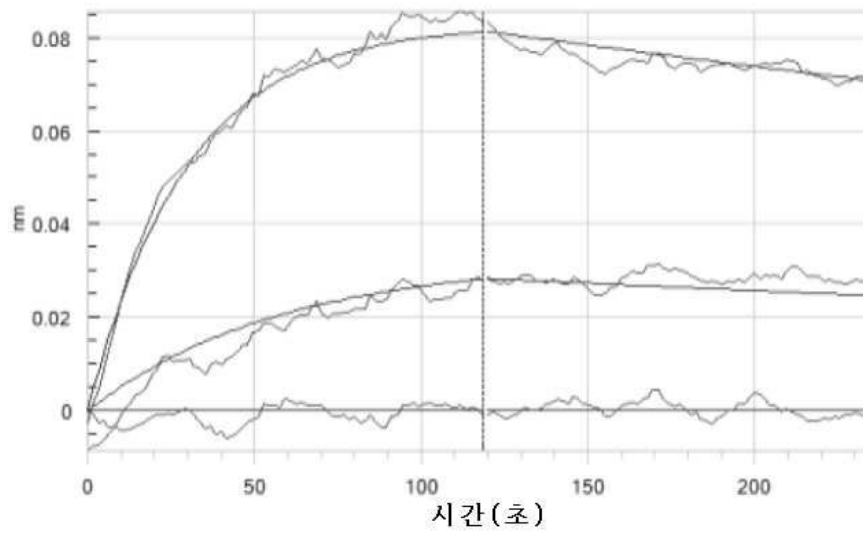
도면9



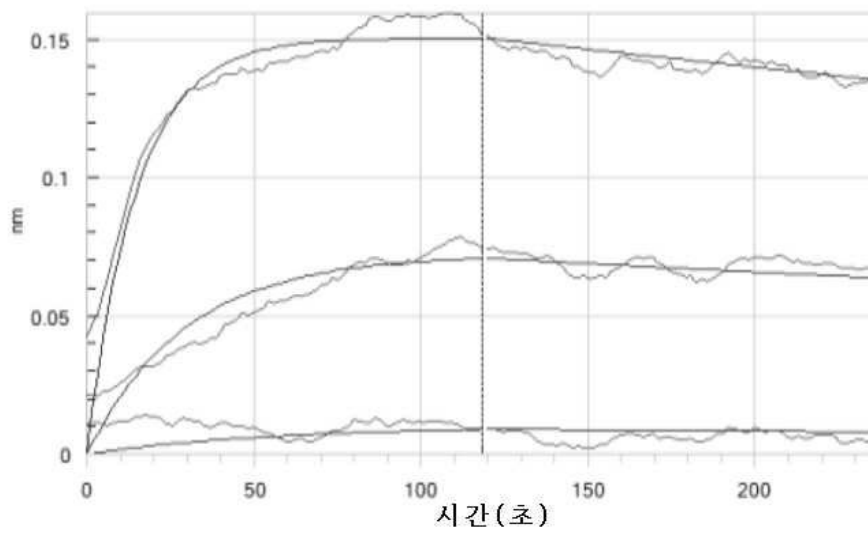
도면10



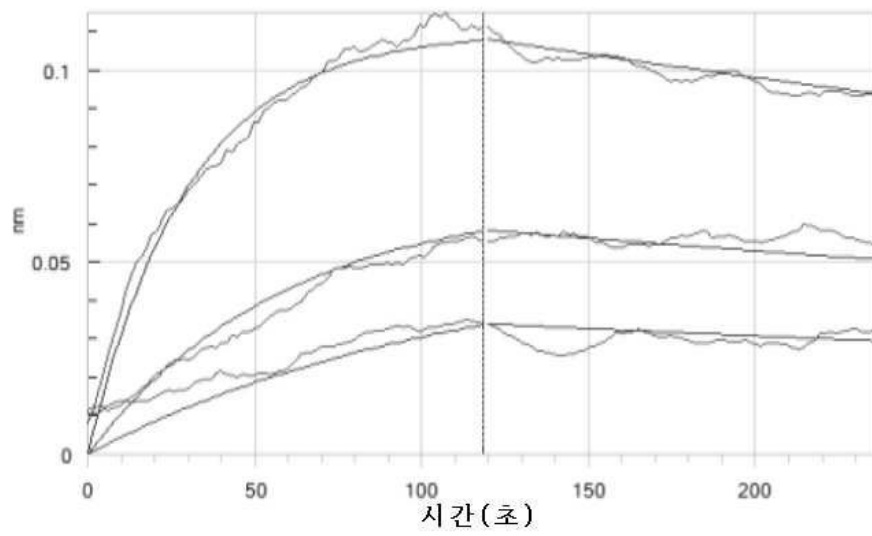
도면11a



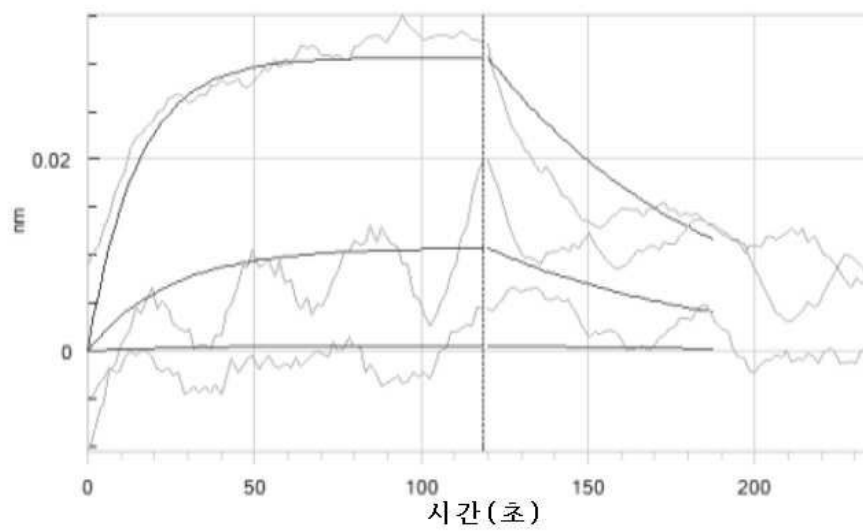
도면11b



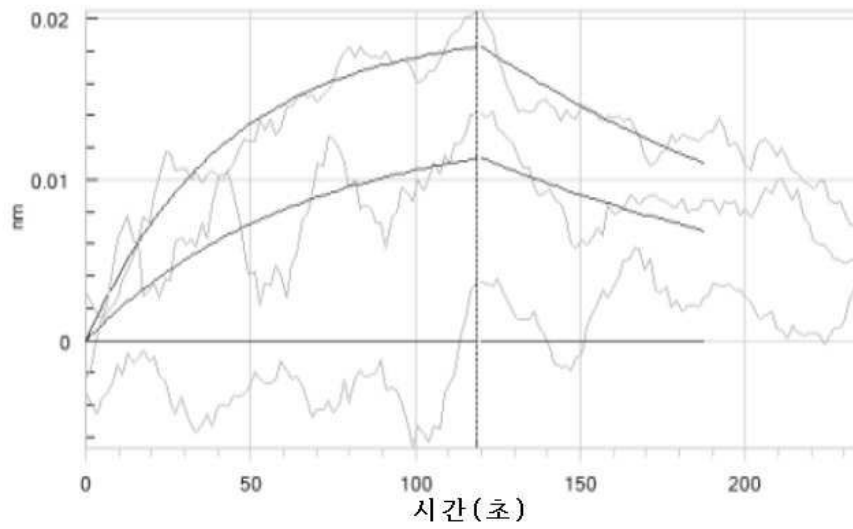
도면11c



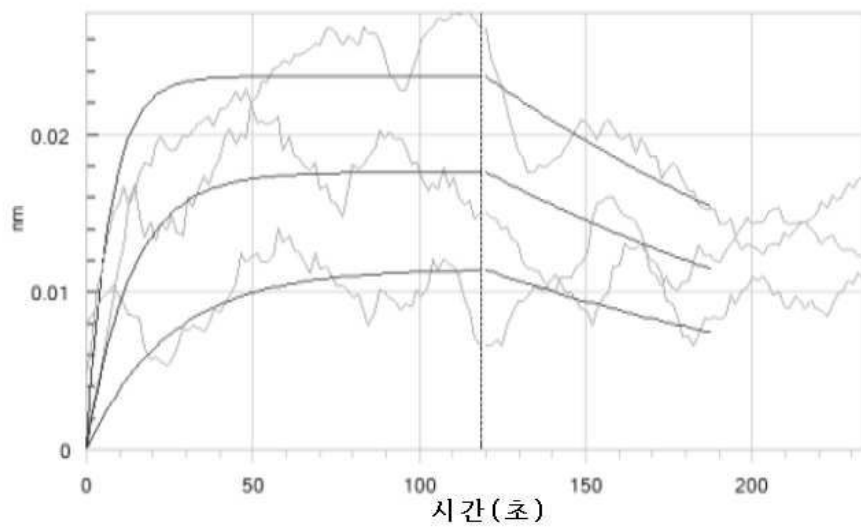
도면11d



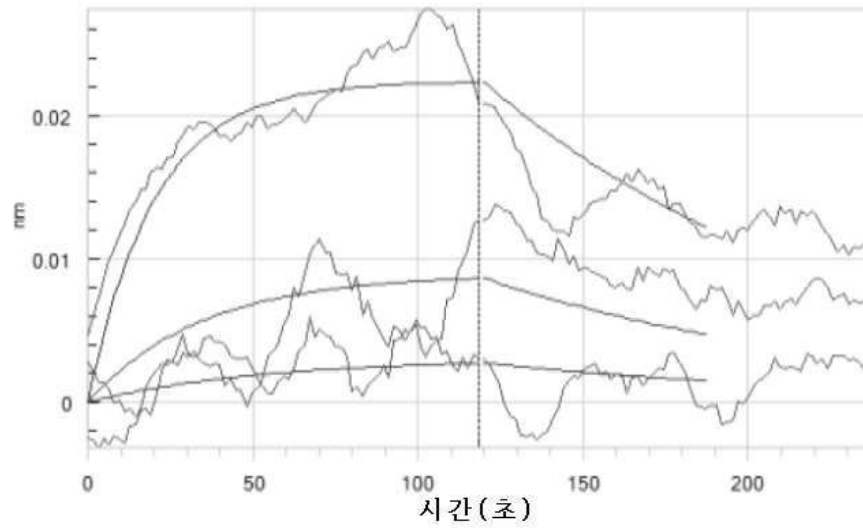
도면11e



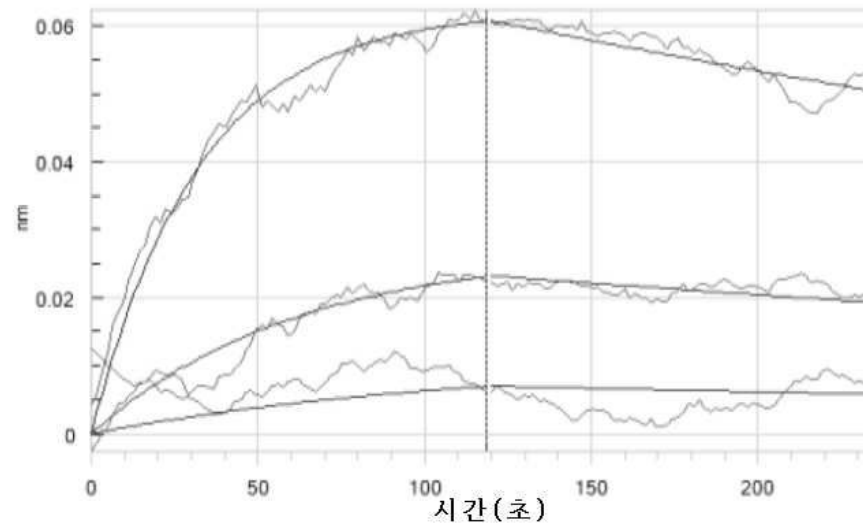
도면11f



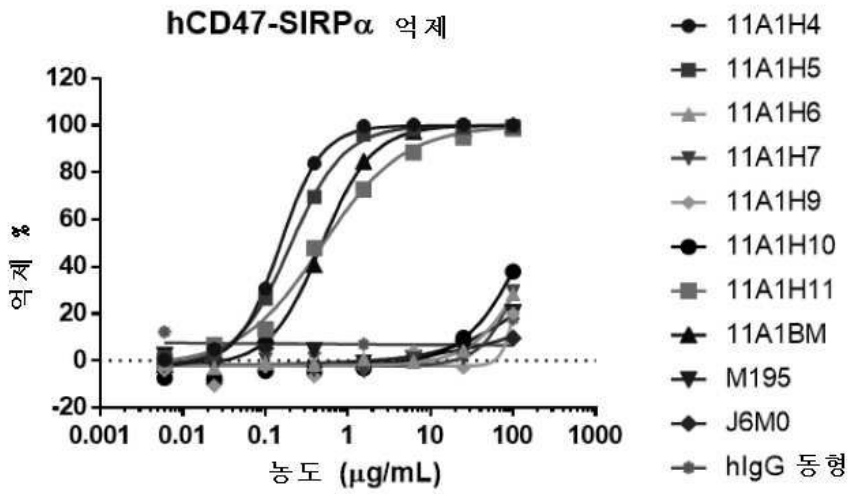
도면11g



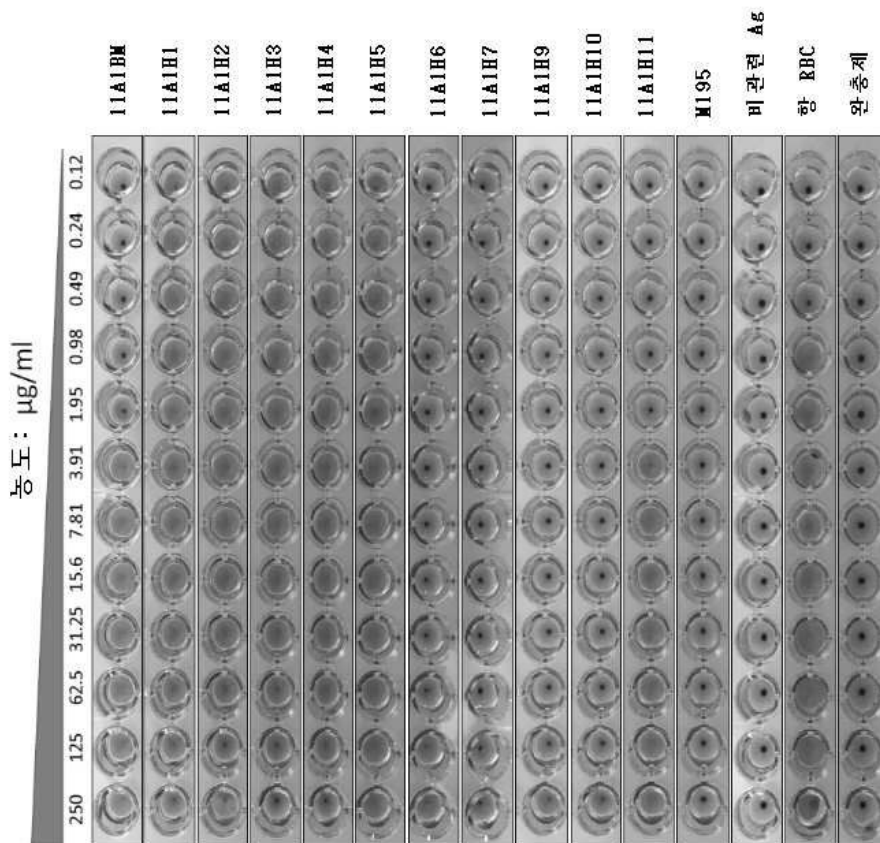
도면11h



도면12



도면13



서열 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

145 150 155 160

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 Lys

290 295 300

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

305 310 315 320

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 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 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 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	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

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 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
290

<210> 9

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V-type Ig-like domain

<400> 9

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

100 105

<210> 10

<211> 123

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 extracellular region 1

<400> 10

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

115 120

<210> 11

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens CD47 transmembrane region 1

<400> 11

Asn Ile Leu Ile Val Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp

1 5 10 15

Gly Gln Phe Gly Ile

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 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 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 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 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 Thr 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 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

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

<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 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 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 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 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 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 80
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 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
tcctgtgaagg tgtccggcta caccttcaca aactatgtga tccactgggt gaggcagaag 120

ccaggacagg gcctggagtg gatgggctac atcaaccctt ataatgacgg caccaagtct 180
aatgagaagt ttaagggcaa ggccaccctg acatctgata agagcagcac cagcgcctac 240
atggagctgt ctacgctgac cagcaggagac acagccgtgt actattgcgc ttccggcggc 300
tactatacaa tggattattg 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 tgaccagac accactgtcc ctgcctgtga ccctgggcga tcaggcctct 60
atcagctgta gaagctccca gcacctggag tacagcaacg gctactccta tctgcaactgg 120

tatcagcagc gcccaggaca gtctccacag ctgctgatct acaagatctc taatcggttc 180
agcggcgtgc ctgacaggtt ttccggctct ggcagcggca ccgatttcac actgaagatc 240
agcagagtgg aggctgagga cctgggcgtg tactattgct ccagctctac ccacgtgccc 300
tatacatttg gcggcggcac caagctggag atcaag 336

<210> 89

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 89

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgac ctagtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg ctcttgata cacattcact aattatgtta tacactgggt gaagcagaag 120

cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaagtcc 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccac ctcagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagcggaggg 300
tactatacta tggactattg gggtaagga acctcagtca ccgtctcctc g 351

<210> 90

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 90

gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
atctcttgca gatctagtca acaccttgaa tacagtaatg gatactccta ttgcatgtgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccacag ctctgatct acaaaatttc caaccgattt 180
tctgggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
agcagagtgg aggctgagga tctgggggtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
tacacattcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 91

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 91

caggtgcagc tgaaggagtc aggacctggc ctggtggcgc cctcacagag cctgtccatc 60
acttgcactg tctctgggtt ttcattaacc agttatgggtg tacactgggt tcgccagcct 120

ccaggaaagg gtctggagtg gctgggagta atatgggctg gtggaagcac aaattataat 180
tcggctctca tgtccagact gagcatcagc aaagacaact ccaagagcca agttttctta 240
aaaatgaaca gtctgcaaac tgatgacaca gccatgtact actgtgccag agttccgaca 300
ggtcggatta aatcttattt ctatgctatg gactactggg gtcaaggaac ctcagtcacc 360
gtctcctcg 369

<210> 92

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 92

gacatcaaga tgaccagtc tccatcttcc atgtattcat ctcttgaga gagagtcact 60

atcacttgca aggcgagtc ggacattagt agctatttaa gctggttcca gcagaaacca 120

gggaagtctc ctaagaccct gatctatcgt gcaaacagat tggatggatgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggcaagat tattctctca ccatcagcag cctggagtat 240

gaagatatgg gaatttatta ttgtctacag tatgatgagt ttccgtacac gtccggaggg 300

gggaccaagc tggaataaaa a 321

<210> 93

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 93

gaggtgaagc ttctcgagtc tggaggtggc ctggtgcagc ctggaggatc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctcaggatt cgattttagt agatactgga tgagtgggt ccggcaggct 120

ccagggaag ggctagaatg gattggagaa attaattccag atagcagtac gataaactat 180

acgccatctc taaaggataa attcatcatc tccagagaca acgcaaaaa tacgctgtac 240

ctgcaaatga gcaaagtgag atctgaggac acagcccttt 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 tgactcagtc tccagcttcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcacatgtc gagcaagtga gaatatctac agttatttag catggtatca gcagaaacag 120

ggaaaatctc ctgagctcct ggtctataat gcaaaaacct tagcagaagg tgtgccctca 180

aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tttctctga agatcaacag cctgcagcct 240

gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat cattatgtta ctccgtggac gtccggtgga 300

gtcaccaagc tggaatcaa 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 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
465 470 475 480
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 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 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 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 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 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
20 25 30

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 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
 225 230 235 240
 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 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 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> 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 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
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> 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 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 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 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 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
 385 390 395 400
 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 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 80
 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
 145 150 155 160
 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> 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 15

 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 80

 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	160
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	240
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 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	320
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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 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 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 Ala Pro Ala Asn

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 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
225 230 235 240
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
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

<210> 119

<211> 98

<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

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

<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 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 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> 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 Thr 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 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> 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 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

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 Thr 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 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 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 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 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 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 Glu 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 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 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 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 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 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 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

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 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 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> 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 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 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 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 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 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> 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 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 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
 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 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 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 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 Thr 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 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 Xaa

85

90

95

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

100

105

110