



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0118527
(43) 공개일자 2022년08월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/18 (2006.01) G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/18 (2013.01)
G01N 33/68 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7025218
(22) 출원일자(국제) 2020년12월21일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년07월20일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/066377
(87) 국제공개번호 WO 2021/133723
국제공개일자 2021년07월01일
(30) 우선권주장
62/953,097 2019년12월23일 미국(US)

(71) 출원인
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
(72) 발명자
스케일스, 수잔나 제인
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
굽타, 니디
미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 러프 레
인 421
페터슨, 앤드류 스콧
미국 94107 캘리포니아주 샌프란시스코 데 하로
스트리트 1177
(74) 대리인
장덕순, 이귀동

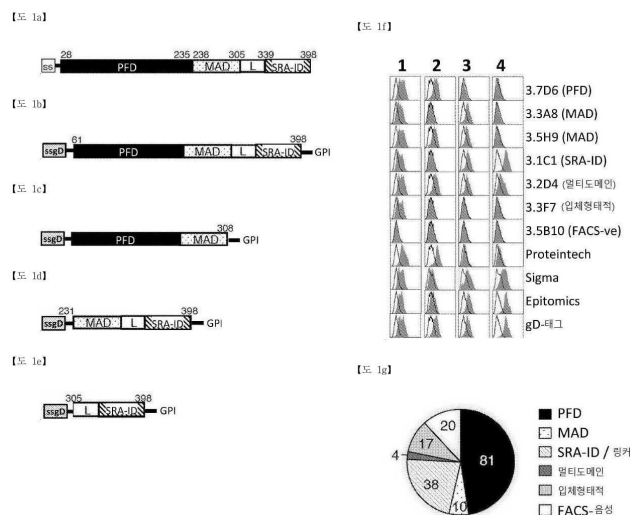
전체 청구항 수 : 총 37 항

(54) 발명의 명칭 아포지질단백질 L1-특이적 항체 및 이용 방법

(57) 요약

본원 발명은 APOL1의 G0과 G1 형태를 G2 형태로부터 식별하고, 발세포 상에서 발견되는 APOL1을 혈청 내에 HDL 입자 상에서 발견되는 것으로부터 식별하고, APOL1을 아포지질단백질 L2, L3, L4 및 L6 (APOL2, APOL3, APOL4 및 APOL6)으로부터 식별하는 항-APOL1 항체를 비롯한, 항-아포지질단백질 L1 (APOL1) 항체, 그리고 이들을 이용 하는 방법을 제공한다.

대표도



(52) CPC특허분류

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/34 (2013.01)

C07K 2319/21 (2013.01)

G01N 2333/775 (2013.01)

- (o) 청구항 제1(o)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 149의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 150의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- (p) 청구항 제1(p)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 159의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 160의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- (q) 청구항 제1(q)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 169의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 170의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- (r) 청구항 제1(r)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 179의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 180의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- (s) 청구항 제1(s)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 189의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 190의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- (t) 청구항 제1(t)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 199의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 200의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나; 또는
- (u) 청구항 제1(u)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 209의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 210의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하는, 항체.

청구항 3

청구항 제1항 또는 제2항에 있어서, 항체는

청구항 제1(a)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(b)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(c)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(d)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(e)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(f)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(g)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(h)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(i)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(j)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(k)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(l)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(m)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(n)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(o)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 149의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(p)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(q)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 169의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(r)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 179의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(s)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 189의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

청구항 제1(t)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 199의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나; 또는

청구항 제1(u)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 209의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하는, 항체.

청구항 4

청구항 제1항 또는 제2항에 있어서, 항체는

청구항 제1(a)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(b)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(c)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(d)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(e)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(f)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(g)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(h)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(i)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱

포함하거나;

청구항 제1(j)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(k)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(l)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(m)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(n)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 140의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(o)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 150의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(p)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 160의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(q)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 170의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(r)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 180의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(s)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 190의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;

청구항 제1(t)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 200의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나; 또는

청구항 제1(u)항의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 210의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하는, 항체.

청구항 5

청구항 제1항 또는 제2항에 있어서, 항체는

서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

서열 번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 121의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 131의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 141의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 151의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 161의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 162의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 171의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 172의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 181의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 182의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 191의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 192의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

서열 번호: 201의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 202의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC); 또는

서열 번호: 211의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 212의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 포함하는, 항체.

청구항 8

아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 여기서 상기 항체는

a) APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 61-103에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 및/또는

b) APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 111-150에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 게다가 또한 여기서 상기 항체는 혈청에서 발견되는 APOL1에 비하여 말세포 상에서 발현되는 APOL1을 우선적으로 인식하는, 항체.

청구항 9

청구항 제8항에 있어서, 항체는

(a) 서열 번호: 173의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 174의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 175의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 176의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 177의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 178의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는

(b) 서열 번호: 183의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 184의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 186의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 187의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 188의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는, 항체.

청구항 10

아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 여기서 상기 항체는

- a) APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 103-111에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고/하거나;
- b) APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 150-172에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고/하거나;
- c) APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 314-333에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고/하거나;
- d) APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 376-398에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 게다가 또한 여기서 상기 항체는 발세포 상에서 발현되는 APOL1 및 혈청에서 발견되는 APOL1 둘 모두를 인식하는, 항체.

청구항 11

청구항 제10항에 있어서, 항체는

(a) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(b) 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(c) 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(d) 서열 번호: 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(e) 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 136의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 137의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 138의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(g) 서열 번호: 143의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 144의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2

및 서열 번호: 145의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 146의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 147의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 148의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는

(h) 서열 번호: 123의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는, 항체.

청구항 12

아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 여기서 상기 항체는

APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 260-314에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 게다가 또한

여기서 상기 항체는 발세포 상에서 발현되는 APOL1에 비하여 혈청에서 발견되는 APOL1을 우선적으로 인식하는, 항체.

청구항 13

청구항 제12항에 있어서, 항체는

(a) 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는

(b) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는, 항체.

청구항 14

아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 여기서 상기 항체는 APOL1의 G2 형태에 비하여 APOL1의 G0과 G1 형태에 우선적으로 결합하는, 항체.

청구항 15

청구항 제14항에 있어서, 항체는

(a) 서열 번호: 143의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 144의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 145의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 146의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 147의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 148의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(b) 서열 번호: 123의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는

(c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 136의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 137의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 138의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는, 항체.

청구항 16

아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하고, 그리고 (a) 아포지질단백질 L2 또는 L3 (APOL2 또는 APOL3)에 유의미하게 결합하지 않고 및/또는 (b) 아포지질단백질 L2 또는 L6 (APOL2 또는 APOL6)에 유의미하게 결합

하지 않는 단리된 항체로서, 여기서 상기 항체는

(a) 서열 번호: 163의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 164의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 165의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 166의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 167의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 168의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

(b) 서열 번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 105의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 106의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는

(c) 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는, 항체.

청구항 17

청구항 제1항 내지 제5항 또는 제8항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 인간화 또는 키메라인, 항체.

청구항 18

청구항 제1항 내지 제5항 또는 제8항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 IgG 항체, 예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4인, 항체.

청구항 19

청구항 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 전장 항체인, 항체.

청구항 20

청구항 제1항 내지 제5항 또는 제8항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 항체 단편, 예컨대 Fv, 단일 사슬 Fv (scFv), Fab, Fab', 또는 (Fab')₂인, 항체.

청구항 21

청구항 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 이중특이적 또는 다중특이적 항체이거나, 또는 항체는 적어도 하나의 다른 분자에 공유적으로 또는 비공유적으로 결합되는, 항체.

청구항 22

청구항 제21항에 있어서, 항체는 적어도 하나의 다른 분자에 공유적으로 또는 비공유적으로 결합되고, 여기서 적어도 하나의 다른 분자는 검출 표지 및/또는 제약학적 작용제를 포함하는, 항체.

청구항 23

청구항 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 서열 번호: 2, 서열 번호: 213 및/또는 서열 번호: 214의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는, 항체.

청구항 24

청구항 제1항 내지 제23항 중 어느 한 항의 항체를 인코딩하는 단리된 핵산.

청구항 25

청구항 제1항 내지 제23항 중 어느 한 항의 항체의 중쇄와 경쇄를 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 핵산을 포함하는 단리된 벡터.

청구항 26

청구항 제24항의 핵산 또는 청구항 제25항의 벡터를 포함하는 단리된 숙주 세포.

청구항 27

APOL1에 결합하는 항체를 생산하는 방법에 있어서, 청구항 제26항의 숙주 세포를 항체의 발현에 적합한 조건하에 배양하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 28

청구항 제27항에 있어서, 항체를 숙주 세포로부터 회수하는 단계를 더욱 포함하는, 방법.

청구항 29

청구항 제28항의 방법에 의해 생산된 항체.

청구항 30

샘플 내에 아포지질단백질 L1 (APOL1)을 검출하는 방법에 있어서:

- APOL1, APOL2, APOL3, APOL4, 또는 APOL6 중에서 적어도 하나를 포함하는 샘플을 제공하는 단계;
- 샘플을 청구항 제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 따른 항-APOL1 항체와 접촉시키는 단계; 및
- 샘플 내에 APOL1 단백질의 존재를, 항-APOL1 항체에 의한 상기 단백질의 인식에 근거하여 검출하는 단계를 포함하되;

임의적으로 여기서 상기 샘플이 인간 신장 세포, 인간 발세포, 인간 내피 세포를 포함하거나, 또는 임의적으로 여기서 상기 샘플이 인간 혈청 또는 혈액 샘플인, 방법.

청구항 31

내인성 아포지질단백질 L1 (APOL1)을 아포지질단백질 L2 (APOL2), 아포지질단백질 L3 (APOL3), 아포지질단백질 L4 (APOL4) 및 아포지질단백질 L6 (APOL6)으로부터 식별하는 방법에 있어서, APOL1, APOL2, APOL3, APOL4 및 APOL6 중에서 적어도 하나를 내포할 수 있는 샘플을 제공하는 단계, 샘플을 청구항 제16항 내지 제23항 중 어느 한 항에 따른 항-APOL1 항체와 접촉시키는 단계, 그리고 상기 샘플에 대한 상기 항체의 결합을 검출하되, 상기 항체가 APOL1에는 특이적으로 결합하지만 APOL2, APOL3, APOL4 및 APOL6 중에서 하나 또는 그 이상에는 유의미하게 결합하지 않는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 32

청구항 제30항 또는 제31항에 있어서, 항체는 항체 5.17D12의 VH CDR1, CDR2 및 CDR3, 그리고 VL CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는, 예컨대 서열 번호: 163-168을 포함하는, 방법.

청구항 33

청구항 제30항 또는 제31항 또는 제32항에 있어서, 샘플을, APOL1의 G0과 G1 형태를 G2 형태로부터 식별할 수 있는 항-APOL1 항체, 예컨대 항체 4.11A10 (서열 번호: 133-138 포함), 4.12E5 (서열 번호: 123-128 포함), 또는 4.11H11 (서열 번호: 143-148 포함)의 VH CDR1, CDR2 및 CDR3, 그리고 VL CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 항체와 접촉시키는 단계를 더욱 포함하는, 방법.

청구항 34

아포지질단백질 L1 (APOL1) G0과 G1 형태를 APOL1 G2 형태로부터 식별하는 방법에 있어서, G0, G1 및 G2 형태 중에서 적어도 하나를 내포할 수 있는 샘플을 제공하는 단계, 샘플을 청구항 제14항, 제15항, 또는 제17항 내지 제23항 중 어느 한 항에 따른 항-APOL1 항체와 접촉시키는 단계, 그리고 상기 샘플에 대한 상기 항체의 결합을 검출하되, 상기 항체가 APOL1의 G2 형태에 비하여 APOL1의 G0과 G1 형태에 우선적으로 결합하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 35

청구항 제30항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 인간 신장 세포, 인간 발세포, 또는 인간 내피 세포를 포함하는, 방법.

청구항 36

아포지질단백질 L1 (APOL1)을 발현하는 발세포를 특이적으로 검출하는 방법에 있어서, 발세포를 포함하는 샘플을 제공하는 단계, 샘플을 청구항 제1항 내지 제11항 또는 제17항 내지 제23항 중 어느 한 항에 따른 항-APOL1 항체와 접촉시키는 단계, 그리고 상기 샘플에 대한 상기 항체의 결합을 검출하되, 상기 항체가 (a) 혈청에서 발견되는 APOL1에 비하여 발세포 상에서 발견되는 APOL1에 우선적으로 결합하고/하거나, (b) 상기 항체가 APOL2에 유의미하게 결합하지 않고/거나, (c) 상기 항체가 APOL6에 유의미하게 결합하지 않는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 37

청구항 제36항에 있어서, (a) 샘플을, 발세포 및 혈청 둘 모두에서 발견되는 APOL1을 인식하고 및/또는 혈청에서 (예를 들면 HDL 입자에서) 발견되는 APOL1을 인식하는 대조 항체와 접촉시키는 단계 및/또는 (b) 샘플을, APOL1의 G0과 G1 형태를 G2 형태로부터 식별할 수 있는 항-APOL1 항체와 접촉시키는 단계 중에서 적어도 하나를 더욱 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 분야

[0002] 본원 발명은 APOL1의 G0과 G1 형태를 G2 형태로부터 식별할 수 있고, 발세포 상에서 발견되는 APOL1을 혈청 내에 HDL 입자 상에서 발견되는 것으로부터 식별할 수 있고 및/또는 APOL1을 아포지질단백질 L2 및 L3 (APOL2 및 APOL3)으로부터 식별할 수 있는 항-APOL1 항체를 비롯한, 항-아포지질단백질 L1 (APOL1) 항체를 제공한다. 본원 발명은 또한, 그 중에서도 특히, 이들 항체를 이용하는 방법, 이들 항체를 만드는 방법, 그리고 이들 항체를 인코딩하는 핵산을 제공한다.

배경 기술

[0003] 배경

[0004] APOL1에 특이적으로 결합하는 항체는 예를 들면, 신장 발세포 상에서 APOL1을 사정하고 이것을 다른 관련된 단백질 예컨대 APOL2 및 APOL3으로부터 식별하고, APOL1의 특정 변이체 사이에서 식별하고, 그리고 다른 위치에서 예컨대 혈청 HDL 입자에서와 대비하여 발세포 상에서 APOL1의 발현을 결정하는 것과 연관된 다양한 검출 방법에서 유용할 수 있다. 예를 들면, G1 및 G2로 명명되는, APOL1의 2가지 변이체 (야생형 APOL1은 G0로서 지정됨)는 유럽계 미국인과 비교하여, 특히 아프리카계 미국인에서 신장병에 대한 위험 요인이다. 순환성 APOL1보다는, 신장 발세포에서 APOL1의 발현이 아마도 신장병에 대한 원인이 된다는 것은 증거에 의해 뒷받침된다. 따라서, 다양한 검출 방법에 대해, 발세포 상에 국지화된 APOL1을 인식하고, 그리고 또한 상이한 형태의 APOL1을 식별할 수 있는 특이적 항체를 이용하는 것이 유익할 수 있다.

[0005] 하지만, 내인성 APOL1의 국지화가 확정적으로 확립되지는 않았는데, 그 이유는 대부분의 공개된 항체가 APOL2와 교차반응하기 때문이다. 예를 들면, 선행 면역국지화 연구는 하기 실시예에서 APOL2와 교차반응하는 것으로 증명되는 상업적으로 가용한 항체를 활용하였다. APOL2는 신장 및 발세포에서 적어도 APOL1만큼 풍부하다. 대부분의 연구는 또한, 정상적으로는 왕래할 수 없는 과다발현된 APOL1을 이용하였고, 그리고 이들 연구에서 이용된 항체는 관련된 APOL 패밀리의 구성원과의 교차반응성에 대해 특장화되지 않았다. 이들 항체는 보고된 바에 따르면, 인간 신장의 발세포, 내피 세포 및 근위 소관에서 내인성 APOL1을 염색시켰다. 이들 앞선 실험에서 이용된 항체 역시 APOL2를 인식한다는 것으로 밝혀졌기 때문에, 이들로부터, APOL1이 이들 주장된 위치 모두에서 진정으로 발현되는지 확인할 수 없다. 하기 실시예에서 설명된 바와 같이, 우리는 내인성 발세포 APOL1을 검출할 만큼 충분히 민감한, APOL1에 특이적으로 결합하는 항체를 산출하였고, 그리고 이들 중에서 일부는 APOL1을 APOL2 및 다른 아포지질단백질 패밀리 구성원 예컨대 APOL3, APOL4 및 APOL6으로부터 식별할 수 있다. 일부 양상에서, 이들 항체는 발세포에서 국지화된 APOL1을 검출하는 데 이용될 수 있는데, 이들은 검출 방법 예컨대 면

역형광 현미경검사 및 면역조직화학에서 이용될 수 있다.

[0006] 본원에서, APOL1 분자의 상이한 영역에 대한 항체가 또한 산출되었는데, 이들은 발세포 상에서 노출되지만 예를 들면, 혈청 HDL 입자에서 발견되는 APOL1에 매몰되는, APOL1의 부분에 관한 정보를 가능하게 한다. 이런 항체는 예를 들면, 세포 예컨대 발세포, 내피 세포 및 간세포에서 발견되는 APOL1을 혈청에서 예컨대 HDL 입자 상에서 발견되는 APOL1로부터 식별하는 데 유용할 수 있다. 이에 더하여, 이런 항체는 다른 분자 예컨대 약물을 APOL1-발현 세포 예컨대 발세포, 내피 세포 및 간세포로 특이적으로 표적화하는 것을 가능하게 할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 요약

[0008] 본원에서 개시는 일정한 항-아포지질단백질 L1 항체에 관계한다. 예시적인 구체예는 아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 포함하고, 여기서 상기 항체는

[0009] (a) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0010] (b) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0011] (c) 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0012] (d) 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0013] (e) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0014] (f) 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0015] (g) 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0016] (h) 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

[0017] (i) 서열 번호: 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및

198의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는

- [0029] (u) 서열 번호: 203의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 204의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 205의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 206의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 207의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 208의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.
- [0030] 일부 구체예에서, 항체는
- [0031] 상기 구체예 (a)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 10의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0032] 상기 구체예 (b)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 19의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 20의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0033] 상기 구체예 (c)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 30의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0034] 상기 구체예 (d)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 40의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0035] 상기 구체예 (e)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 49의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 50의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0036] 상기 구체예 (f)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 59의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 60의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0037] 상기 구체예 (g)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 70의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0038] 상기 구체예 (h)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 79의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 80의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0039] 상기 구체예 (i)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 89의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 90의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0040] 상기 구체예 (j)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 99의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 100의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0041] 상기 구체예 (k)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 109의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 110의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0042] 상기 구체예 (l)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 119의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 120의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0043] 구체예 1(m)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 129의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 130의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도

97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;

- [0044] 상기 구체예 (n)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 139의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 140의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0045] 상기 구체예 (o)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 149의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 150의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0046] 상기 구체예 (p)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 159의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 160의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0047] 상기 구체예 (q)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 169의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 170의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0048] 상기 구체예 (r)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 179의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 180의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0049] 상기 구체예 (s)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 189의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 190의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0050] 상기 구체예 (t)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 199의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 200의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나; 또는
- [0051] 상기 구체예 (u)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 209의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 210의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함한다.
- [0052] 일부 구체예에서, 전술된 바와 같이, 항체는
- [0053] 구체예 (a)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0054] 구체예 (b)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0055] 구체예 (c)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0056] 구체예 (d)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0057] 구체예 (e)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0058] 구체예 (f)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0059] 구체예 (g)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0060] 구체예 (h)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0061] 구체예 (i)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0062] 구체예 1(j)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0063] 구체예 (k)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0064] 구체예 (l)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0065] 구체예 (m)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0066] 구체예 (n)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;

- [0067] 구체예 (o)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 149의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0068] 구체예 (p)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0069] 구체예 (q)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 169의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0070] 구체예 (r)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 179의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0071] 구체예 (s)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 189의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0072] 구체예 (t)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 199의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나; 또는
- [0073] 구체예 (u)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 209의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함한다.
- [0074] 일부 사례에서, 항체는
- [0075] 구체예 (a)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0076] 구체예 (b)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0077] 구체예 (c)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0078] 구체예 (d)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0079] 구체예 (e)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0080] 구체예 (f)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0081] 구체예 (g)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0082] 구체예 (h)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0083] 구체예 (i)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0084] 구체예 (j)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0085] 구체예 (k)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0086] 구체예 (l)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0087] 구체예 (m)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0088] 구체예 (n)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 140의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0089] 구체예 (o)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 150의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0090] 구체예 (p)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 160의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0091] 구체예 (q)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 170의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0092] 구체예 (r)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 180의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0093] 구체예 (s)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 190의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0094] 구체예 (t)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 200의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나; 또는
- [0095] 구체예 (u)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 210의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함한다.
- [0096] 일부 양상에서, 항체는
- [0097] 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0098] 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0099] 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0100] 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

- [0101] 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0102] 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0103] 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0104] 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0105] 서열 번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0106] 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0107] 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0108] 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0109] 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0110] 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 140의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0111] 서열 번호: 149의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 150의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0112] 서열 번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 160의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0113] 서열 번호: 169의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 170의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0114] 서열 번호: 179의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 180의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0115] 서열 번호: 189의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 190의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0116] 서열 번호: 199의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 200의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
- [0117] 서열 번호: 209의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 210의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0118] 일부 사례에서, 항체는
- [0119] 구체예 (a)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 11의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 12와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;
- [0120] 구체예 (b)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 21의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 22의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;
- [0121] 구체예 (c)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 31의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 32의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;
- [0122] 구체예 (d)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 41의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 42의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;
- [0123] 구체예 (e)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 51의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 52의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;
- [0124] 구체예 (f)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 61의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 62의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;

- [illegible]

도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;

[0137] 구체예 (s)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 191의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 192의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;

[0138] 구체예 (t)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 201의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 202의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나; 또는

[0139] 구체예 (u)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 211의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 212의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함한다.

[0140] 일부 구체예에서, 항체는

[0141] 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0142] 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0143] 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0144] 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0145] 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0146] 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0147] 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0148] 서열 번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0149] 서열 번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0150] 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0151] 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0152] 서열 번호: 121의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0153] 서열 번호: 131의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

[0154] 서열 번호: 141의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);

- [0155] 서열 번호: 151의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0156] 서열 번호: 161의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 162의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0157] 서열 번호: 171의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 172의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0158] 서열 번호: 181의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 182의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0159] 서열 번호: 191의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 192의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0160] 서열 번호: 201의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 202의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC); 또는
- [0161] 서열 번호: 211의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 212의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 포함한다.
- [0162] 본원 발명은 또한, 아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 포함하고, 여기서 상기 항체는 APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 61-103에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 및/또는 APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 111-150에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 게다가 또한 여기서 상기 항체는 혈청에서 발견되는 APOL1에 비하여 발세포 상에서 발현되는 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 이런 사례에서, 항체는
- [0163] (a) 서열 번호: 173의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 174의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 175의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 176의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 177의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 178의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는
- [0164] (b) 서열 번호: 183의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 184의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 186의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 187의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 188의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.
- [0165] 본원에서 구체에는 또한, 아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 포함하고, 여기서 상기 항체는 APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 103-111에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 150-172에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 314-333에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 및/또는 APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 376-398에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 게다가 또한 여기서 상기 항체는 발세포 상에서 발현되는 APOL1 및 혈청에서 발견되는 APOL1 둘 모두를 인식한다. 일부 이런 사례에서, 항체는
- [0166] (a) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0167] (b) 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0168] (c) 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

- [0169] (d) 서열 번호: 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0170] (e) 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0171] (f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 136의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 137의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 138의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0172] (g) 서열 번호: 143의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 144의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 145의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 146의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 147의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 148의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는
- [0173] (h) 서열 번호: 123의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.
- [0174] 본원에서 구체에는 또한, 아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 포함하고, 여기서 상기 항체는 APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 260-314에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 게다가 또한 여기서 상기 항체는 발세포 상에서 발현되는 APOL1에 비하여 혈청에서 발견되는 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 이런 사례에서, 항체는
- [0175] (a) 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는
- [0176] (b) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.
- [0177] 본원 발명은 아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 더욱 포함하고, 여기서 상기 항체는 APOL1의 G2 형태에 비하여 APOL1의 G0과 G1 형태에 우선적으로 결합한다. 일부 이런 사례에서, 항체는
- [0178] (a) 서열 번호: 143의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 144의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 145의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 146의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 147의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 148의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0179] (b) 서열 번호: 123의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는
- [0180] (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 136의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 137의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 138의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.

- [0181] 본원 발명은 또한, 아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하고, 그리고 (a) 아포지질단백질 L2 또는 L3 (APOL2 또는 APOL3)에 유의미하게 결합하지 않고 및/또는 (b) 아포지질단백질 L2 또는 L6 (APOL2 또는 APOL6)에 유의미하게 결합하지 않는 단리된 항체를 포함하고, 여기서 상기 항체는
- [0182] (a) 서열 번호: 163의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 164의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 165의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 166의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 167의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 168의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0183] (b) 서열 번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 105의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 106의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는
- [0184] (c) 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.
- [0185] 임의의 상기 구체예에서, 항체는 임의적으로 인간화 또는 키메라일 수 있다. 항체는 또한, IgG 항체, 예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4일 수 있다. 일부 구체예에서, 항체는 전장 항체이다. 다른 구체예에서, 항체는 항체 단편, 예컨대 Fv, 단일 사슬 Fv (scFv), Fab, Fab', 또는 (Fab')₂이다. 일부 구체예에서, 항체는 이중특이적 또는 다중특이적 항체일 수 있거나, 또는 적어도 하나의 다른 분자에 공유적으로 또는 비공유적으로 접합될 수 있다. 일부 구체예에서, 항체는 적어도 하나의 다른 분자에 공유적으로 또는 비공유적으로 접합되고, 여기서 적어도 하나의 다른 분자는 검출 표지 및/또는 제약학적 작용제를 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 2, 서열 번호: 213 및/또는 서열 번호: 214의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에 특이적으로 결합한다.
- [0186] 본원 발명은 또한, 본원에서 설명된 항체를 인코딩하는 단리된 핵산을 포함한다. 본원 발명은 또한, 본원에서 항체의 중쇄와 경쇄를 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 핵산을 포함하는 단리된 벡터를 포괄한다. 본원 발명은 또한, 본원에서 항체를 인코딩하는 핵산 또는 한 세트의 핵산을 포함하는 단리된 숙주 세포를 포괄한다. 게다가, 본원 발명은 APOL1에 결합하는 항체를 생산하는 방법을 예시하고, 이들 방법은 본원에서 항체의 발현에 적합한 조건하에 상기 항체를 인코딩하는 핵산 또는 한 세트의 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함한다. 일부 사례에서, 상기 방법은 항체를 숙주 세포로부터 회수하는 단계를 더욱 포함한다. 본원 발명은 또한, 이들 방법에 의해 생산된 항체를 포함한다.
- [0187] 본원 발명은 또한, 샘플 내에 아포지질단백질 L1 (APOL1)을 검출하는 방법을 포괄하고, 이들 방법은 예를 들면, APOL1, APOL2, APOL3, APOL4, 또는 APOL6 중에서 적어도 하나를 포함하는 샘플을 제공하는 단계; 샘플을 본원 발명에 따른 항-APOL1 항체와 접촉시키는 단계; 및 샘플 내에 APOL1 단백질의 존재를, 항-APOL1 항체에 의한 상기 단백질의 인식에 근거하여 검출하는 단계를 포함한다. 임의적으로 샘플은 인간 신장 세포, 인간 발세포, 인간 내피 세포를 포함하거나, 또는 임의적으로 샘플은 인간 혈청 또는 혈액 샘플이다.
- [0188] 본 출원은 내인성 아포지질단백질 L1 (APOL1)을 아포지질단백질 L2 (APOL2), 아포지질단백질 L3 (APOL3), 아포지질단백질 L4 (APOL4) 및 아포지질단백질 L6 (APOL6)으로부터 식별하는 방법을 더욱 개시하고, 이들 방법은 APOL1, APOL2, APOL3, APOL4 및 APOL6 중에서 적어도 하나를 내포할 수 있는 샘플을 제공하는 단계, 샘플을 항-APOL1 항체와 접촉시키는 단계, 그리고 상기 샘플에 대한 상기 항체의 결합을 검출하되, 상기 항체가 APOL1에는 특이적으로 결합하지만 APOL2, APOL3, APOL4 및 APOL6 중에서 하나 또는 그 이상에는 유의미하게 결합하지 않는 단계를 포함한다. 일부 이런 사례에서, 항체는 항체 5.17D12의 VH CDR1, CDR2 및 CDR3, 그리고 VL CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다, 예컨대 서열 번호: 163-168을 포함한다. 일부 사례에서, 이들 방법은 샘플을, APOL1의 G0과 G1 형태를 G2 형태로부터 식별할 수 있는 항-APOL1 항체, 예컨대 항체 4.11A10 (서열 번호: 133-138 포함), 4.12E5 (서열 번호: 123-128 포함), 또는 4.11H11 (서열 번호: 143-148 포함)의 VH CDR1, CDR2 및 CDR3, 그리고 VL CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 항체와 접촉시키는 단계를 더욱 포함한다.
- [0189] 일부 구체예에서, 본원 발명은 아포지질단백질 L1 (APOL1) G0과 G1 형태를 APOL1 G2 형태로부터 식별하는 방법을 제공하고, 이들 방법은 G0, G1 및 G2 형태 중에서 적어도 하나를 내포할 수 있는 샘플을 제공하는 단계, 샘플을 본원 발명에 따른 항-APOL1 항체와 접촉시키는 단계, 그리고 상기 샘플에 대한 상기 항체의 결합을 검출하

되, 상기 항체가 APOL1의 G2 형태에 비하여 APOL1의 G0과 G1 형태에 우선적으로 결합하는 단계를 포함한다. 일부 사례에서, 샘플은 인간 신장 세포, 인간 발세포, 또는 인간 내피 세포를 포함한다.

[0190]

본원 발명은 또한, 아포지질단백질 L1 (APOL1)을 발현하는 발세포를 특이적으로 검출하는 방법을 예기하고, 이들 방법은 발세포를 포함하는 샘플을 제공하는 단계, 샘플을 본원에서 항-APOL1 항체와 접촉시키는 단계, 그리고 상기 샘플에 대한 상기 항체의 결합을 검출하되, 상기 항체가 (a) 혈청에서 발견되는 APOL1에 비하여 발세포 상에서 발견되는 APOL1에 우선적으로 결합하고, (b) 상기 항체가 APOL2에 유의미하게 결합하지 않고 및/또는 (c) 상기 항체가 APOL6에 유의미하게 결합하지 않는 단계를 포함한다. 일부 사례에서, 이들 방법은 (a) 샘플을, 발세포 및 혈청 둘 모두에서 발견되는 APOL1을 인식하고 및/또는 혈청에서 (예를 들면 HDL 입자에서) 발견되는 APOL1을 인식하는 대조 항체와 접촉시키는 단계 및/또는 (b) 샘플을, APOL1의 G0과 G1 형태를 G2 형태로부터 식별할 수 있는 항-APOL1 항체와 접촉시키는 단계 중에서 적어도 하나를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0191]

도면의 간단한 설명

도 1a-c는 항-APOL1 항체의 APOL1 작제물 및 도메인 특이성을 도시한다. 도 1a는 이들 항체를 CHO 세포 상에서 도메인-매핑하는 데 이용되는 전장 및 절두된 *iAPOL1* 작제물의 개략적 표시를 도시한다: 신호 서열 (ss), 포어 형성 도메인 (PFD, 검은색), 막 주소지정 도메인 (MAD, 반점), 혈청 내성 연관 상호작용 도메인 (SRA-ID, 빗금)이 표시되고, 개재성 링커 도메인 (L)이 흰색 직사각형으로서 도시된다. 야생형 전장 (aa 28-398) 선천적 *APOL1-GO* (*iAPOL1*-CHO; 작제물 a, 선천적 신호 서열 포함 (ss, 흰색)), 그리고 양성 대조로서 N 말단 항-gD 에피토프 태그 (gD) (이것은 분비를 위한 자체의 효율적인 신호 서열을 포함한다) 및 막 부착을 담보하기 위한 C 말단 GPI 앵커를 포함하는 *GO* (aa 61-398; 작제물 b) (작제물 b-e에서 둘 모두 회색) (gD-*iAPOL1*-GPI-CHO)가 생성되었는데, 그 이유는 APOL1이 세포 표면 단백질인지가 아직 확립되지 않았기 때문이다. 절두 돌연변이체 (작제물 c-e)가 도시된다: gD-PFD-MAD-GPI (작제물 c), gD-MAD-SRA-ID-GPI (작제물 d), 그리고 gD-SRA-ID-GPI (작제물 e). 모든 작제물은 독시사이클린-유도성 프로모터 하에 CHO 세포에서 안정되게 발현되었다. 아미노산 번호는 Pays et al에 의해 규정된 바와 같은 도메인 경계를 표시한다 (참조: 실시예 1, 참고문헌 1). MAD 단독은 불안정할 것으로 예측되었고, 따라서 이것은 PFD 또는 SRA-ID와 공동으로 발현되었다. 우리의 매핑 작제물 b와 c는 아미노산 61에서 시작되었는데, 그 이유는 우리의 면역원이 aa 61에서 시작되었기 때문이다.

도 1b는 도메인 매핑을 이끌어 내는 유세포분석 결과의 실례를 제공한다. 5 µg/ml에서 차별적 항체 결합을 보여주는, 48 시간 동안 5 µg/ml dox로 유도 후 (a)에서 표시된 gD-*iAPOL1*-GPI 작제물을 발현하는 안정되게 형질감염된 살아있는 (고정되거나 또는 투과화되지 않은) CHO 세포. PFD-MAD를 발현하지만 MAD-SRA-ID를 발현하지 않는 세포에 결합하는 항체는 PFD 에피토프 (aa 61-235)를 갖는 것으로 표시되었고; MAD-SRA-ID에는 결합하지만 SRA-ID (다시 말하면, aa 238 및 305 사이의 에피토프)에는 결합하지 않은 것들은 MAD 결합체로 명명되었고; 그리고, MAD-SRA-ID 및 SRA-ID 둘 모두에 결합하는 것들은 비록 링커 도메인 (aa 306-338)을 또한 포함하긴 하지만, SRA-ID 결합체 (aa 305-398)로 불렸다. 흰색 히스토그램은 Alexa488 항생쥐 또는 항토끼 이차 단독이고; 회색 히스토그램은 항-APOL1 신호이다. 각 범주에 대한 대표적인 히스토그램이 도시된다: PFD의 경우 3.7D6; MAD의 C 말단의 경우 3.3A8, MAD의 N 말단의 경우 3.5H9; SRA-ID의 경우 3.1C1; 멀티도메인의 경우 3.2D4; 입체형 태적의 경우 3.3F7 및 FACS-음성 (FACS-ve)의 경우 3.5B10. 항체의 명칭에서 접두사 3은 방법 #3 (하기 실시예 1에서 도시된 바와 같음)으로부터 무린 단일클론을 표시하고; 번호 4로 시작하는 다른 항체 (여기에서 예시되지 않음)는 SRA-ID 단백질이 추가적으로 접종된 생쥐로부터 유래된 무린 단일클론이고; 그리고 접두사 5로 명명된 항체는 방법 #5 (표 2A; 및 실시예 2)로부터 토끼 단일클론이다. Proteintech로부터 획득된 상업적인 토끼 다중클론 (11486-2-AP, PFD에 대해 특이적으로 마련됨, aa 1-238)은 PFD 결합체인데, 이것은 우리의 방법론을 입증하는 데 이용되었다. Sigma 다중클론 (HPA018885, aa 263-387에 대해 마련됨) 및 Epitomics 토끼 단일클론 (EPR2907(2), 미공개 펩티드에 대해 마련됨)은 SRA-ID 결합체이다. 각 작제물의 성공적인 APOL1 표면 발현은 항-gD 에피토프 태그 (gD-태그) 항체 (단순 헤르페스 바이러스 당단백질 D에 대한)로 확증되었다.

도 1c는 170개 항체 모두의 육안적 도메인 매핑의 결과를 요약하는 파이 도표를 도시한다. PFD: 81 (170개 중 48%); MAD: 10 (6%); SRA-ID: 38 (22%); 멀티도메인: 4 (2%); 입체형태적: 17 (10%); FACS-음성: 20 (12%).

도 2a-d는 항-APOL1 항체의 선천적 APOL1-GO 결합 및 G1/G2 인식을 도시한다. 도 2a는 5 µg/ml에서 170개 항체 모두를 이용한, 독시사이클린 유도된 (48 시간 동안 5 µg/ml) 전장 선천적 태깅되지 않은 (및 비-GPI 고정된) WT *iAPOL1-GO* (도 1a에서 작제물 a)을 갖는 살아있는 (고정되거나 또는 투과화되지 않은) 안정되게 형질감염된 CHO 세포의 유세포분석을 도시한다. 각 반점은 개별 항체를 나타낸다. 항체 중 88%는 CHO 세포 표면 상에서 전

장 APOL1을 인식한다. 파선은 양성 결합체에 대한 컷오프를 표시한다. 어떤 항체도 유도되지 않은 *iAPOL1*-CHO 세포를 염색시키지 않았는데 (데이터 제시되지 않음), 이것은 CHO 세포에서 배경 염색의 결여를 암시한다.

도 2b는 선천적 APOL1이 GPI-고정된 APOL1에 대해 유사한 표면 입체형태를 갖는다는 것을 보여준다. 5 µg/ml에서 170개 항체 모두를 이용한, 살아있는 선천적 전장 *iAPOL1-GO* (도 1a에서 작제물 a; y 축) 대 gD-*iAPOL1*-GPI (도 1a에서 작제물 b; x 축) 발현 CHO 세포 (둘 모두 24 시간 동안 5 µg/ml 독시사이클린으로 유도됨)의 유세포분석. 각 삼각형은 양쪽 작제물 상에서 FACS에 의한 개별 항체의 MFI를 나타내는데, 항체 3.3A8은 검은색 대신에 흰색으로 작성되고 그래프에서 화살표에 의해 표시된다. 거의 모든 항체가 APOL1의 양쪽 형태에 유사한 강도로 결합하였는데, 이것은 APOL1이 세포 표면 상에서 안정되게 발현되고 GPI 앵커가 다소간 예상치 않게, 표면 접근성에 거의 영향을 주지 못한다는 것을 암시한다.

도 2c는 전장 선천적 *iAPOL1-GO*, *G1* 또는 *G2* 발현 CHO 세포 및 38 SRA-ID 항체만을 제외하고, 도 2a와 동일하다. 모든 FACS-양성 항체는 APOL1-G1 (속이 찬 사각형)와 교차반응하지만, 7개의 항체는 APOL1 G2를 인식하지 않았다 (속이 빈 삼각형: 4.11A10, 4.11H11, 4.12E5, 4.1H8, 4.9F7, 3.2B5 및 3.1C4).

도 2d는 *iAPOL1-GO*, *G1* 또는 *G2*를 발현하는 CHO 세포로부터 획득된 용해물의 웨스턴 블롯이 2.5 µg/ml에서 항체 4.11A10 및 4.12E5에 의한 APOL-G2의 인식의 결여를 확증한다는 것을 보여주고 (다른 항체에 대한 데이터 제시되지 않음), G2를 인식하는 이들의 능력 없음이 세포 표면 세팅에 한정되지 않는다는 것을 보여준다. 양성 대조 항체 3.7D6 (2.5 µg/ml)은 3가지 변이체 모두를 인식한다.

도 3a-3g는 내인성 APOL1이 발세포의 세포 표면 상에 존재한다는 것을 보여준다. **도 3a**는 170개의 항-APOL1 항체 (5 µg/ml) 모두를 이용한, 100 ng/ml IFN γ로 유도된 야생형 (WT) 발세포의 유세포분석을 도시하며, 각 반점은 개별 항체를 나타낸다. *iAPOL1*-CHO 세포의 경우에서와 같이, 대부분의 항체는 WT 발세포에서 세포 표면-결합된 내인성 APOL1을 인식할 수 있었다.

도 3b-3d는 각각, 도 3a 및 도 2a로부터 MFI 데이터를 이용하여, 내인성 발세포 APOL1 (x 축) 및 유도된 *iAPOL1*-CHO 세포 (y-축) 사이의 항체 결합의 상관 플롯을 도시한다. 각 반점은 PFD (도 3b), MAD (도 3c) 또는 SRA-ID (도 3d)에 대한 개별 항체를 나타낸다. 발세포가 *iAPOL1*-CHO 세포보다 더 낮은 수준의 APOL1을 발현하지만 (아래의 **도 3e**, **3f** 및 **3g**와 비교한다), 각 항체에 대한 상대적 신호는 MAD 및 SRA-ID 신호가 CHO 세포 상에서보다 발세포 상에서 현저히 낮다는 것을 제외하고, 유사한 경향을 보여주었다.

도 3e는 5 µg/ml 항-APOL1 PFD 항체 3.7D6을 이용한, 100 ng/ml IFN γ로 24 시간 (h) 유도가 있는 경우 (검은색) 또는 없는 경우 (회색)에 발세포의 유세포분석을 도시한다. 흰색은 Alexa488 항생쥐 이차 항체 단독이다. 내인성 APOL1이 발세포의 표면 상에서 검출 가능하고, 그리고 이동이 IFN γ 상향조절 후 증가한다. 삽도는 비투과화된 WT IFN γ-유도된 발세포 상에서 표면 APOL1의 면역형광을 도시한다.

도 3f는 5 µg/ml에서 24 시간 독시사이클린 유도 (그러나 IFN γ 유도 없음) 후 *iAPOL1*-CHO 세포를 제외하고, **도 3e**의 경우에서와 동일하다. 삽도는 비-투과화된 *iAPOL1*-CHO 세포 상에서 면역형광에 의한, 항체 3.7D6으로 표면 APOL1 염색을 도시한다.

도 3g는 WT 발세포 및 *iAPOL1* 세포주의 웨스턴 블롯을 도시한다. 유도되지 않은 (-) 또는 IFN γ (48 시간 동안 100 ng/ml)로 유도된 WT-발세포; 48 시간 동안 *iAPOL1-GO*-발세포 (추후 설명됨) ± 10 ng/ml 독시사이클린; gD-*iAPOL1*-CHO-GPI (도 1a에서 작제물 b); 및 전장 *iAPOL1*-CHO (작제물 a) (둘 모두 48 시간 동안 ± 5 µg/ml 독시사이클린-유도)의 6 µg 용해물 (왼쪽에서 오른쪽으로). 위쪽 블롯은 0.44 µg/ml Proteintech 항-APOL1 다중클론 (이것은 또한, APOL2를 인식한다)으로 탐침되었고; (참조: 실시예 2), 이것은 이후 벗겨지고 0.05 µg/ml 토끼 3.1C1/3.7D6 인하우스 항체 (중간) 및 칼릭신 부하 대조 (아래쪽)로 재탐침되었다; APOL1 신호는 재탐침으로 인해 더 약하지만, APOL2는 부재한다. 발세포에서 36 kDa APOL2 밴드는 Proteintech 항체에서만 목격되고, 그리고 IFN γ에 의해 상향조절되지만 dox에 의해 상향조절되지 않는다. 발세포에서보다 안정된 세포주에서 *iAPOL1* (41 kDa)의 발현이 더 높다. gD-*iAPOL1*-GPI-CHO (aa 61-398, 25개 aa gD 태그로부터 2.6 kDa를 포함하여 40.5 kDa로 예측됨)에서 GPI 앵커는 아마도 무손상인데, 그 이유는 밴드가 더 작은 단백질을 인코딩함에도 불구하고, *iAPOL1*-CHO (aa 28-398, 41.1 kDa 예측됨)의 것보다 높이 이동하기 때문이다.

도 4a-4c는 발세포에서 표면 신호가 APOL1이라는 확증을 도시한다. **도 4a**는 최고 APOL1 KO 발세포 클론의 특징화를 도시한다. 가장 빨리 성장하는 APOL1 KO 발세포 클론 89401-3 (회색) 대 WT 발세포 (검은색) (둘 모두 24 시간 동안 100 ng/ml IFN γ로 처리됨) 상에서 PFD 항체 3.7D6을 이용한 FACS. APOL1 KO 클론은 Alexa488 항생쥐 이차 항체 단독에 대해 유사한 항-APOL1 3.7D6 신호를 보여주는데 (흰색), 이것은 APOL1의 성공적인 녹아웃

을 암시한다.

도 4b는 다양한 도메인-특이적 항체를 이용한, 클론 89401-3 (4-12% Bis-Tris 겔에서 라인마다 6 µg 용해물)에서 완전한 *APOL1* 녹아아웃의 확증을 도시한다: 3.7D6 및 3.6D12 (PFD); 3.3A8 (MAD); 3.1C1 및 3.6E10 (SRA-ID) 모두 *APOL1*의 상실을 보여준다. 항체 3.6D12는 *APOL2*와 교차반응하고 (하기 실시예 2), 그리고 의도된 바와 같이, 비록 이러한 특정 클론에서 *APOL2* 수준에서 일부 감소가 있는 것으로 보이긴 하지만, *APOL2*가 *APOL1* KO 발세포에서 결실되지 않는다는 것을 보여준다.

도 4b는 발세포 상에서 FACS 이동의 특이성을 도시한다. *APOL1* KO 클론 89401-3에서 유세포분석은 검사된 거의 모든 항-*APOL1* 항체에서 신호의 완전한 상실을 보여준다. 평균 형광 강도 데이터가 수행된 적어도 3번의 독립된 실험 중에서 단 하나의 대표적인 실험으로부터 플로팅된다. 소수의 작은 신호가 CHO 세포에서 FACS-음성으로서 분류된 항체로부터 유래되지 않으며, 오히려 낮은 수준의 비특이적 배경 결합을 나타내는데, 그 이유는 WT 발세포에서 이들 항체에 대한 신호가 훨씬 높았기 때문이다 (**도 6**). P-tech는 Proteintech 다중클론 항-*APOL1*이다.

도 5a-5e는 대다수의 항체가 순환성 *APOL1*을 인식한다는 것을 보여준다.

도 5a는 우리의 항-*APOL1* 트리파노소마용해 차단 검정의 계통도를 도시한다. *APOL1*을 자연적으로 내포하는 정상 인간 혈청 (NHS)을 포함하는 96 웰 평판에서 배양된 트리파노소마 (SRA-음성 트리파노소마 브루세이 브루세이 (*T. brucei brucei*))는 죽고 Alamar Blue 생존력 시약의 청색 컬러를 변화시키지 않는다. 만약 항-*APOL1* 항체 ("Y")가 *APOL1* 활성을 차단하면, 트리파노소마가 생존하고 Alamar Blue가 살아있는 트리파노소마의 대사 활동의 수준에 비례하여 적색으로 변한다. 죽은 (위쪽) 및 살아있는 (아래쪽) 트리파노소마에 대한 대표적인 위상차 이미지가 오른쪽에 도시된다.

도 5b는 트리파노소마용해 활성에 대한 NHS (검은색), 정제된 고밀도 지질단백질 (HDL; 흰색) 및 지질단백질-결합성 NHS (LPDS; 회색)의 적정을 도시한다. Alamar Blue 생존력 검정을 이용하여 사정된, 살아있는 트리파노소마의 백분율은 회색의 함수로서 플로팅된다. 플로팅된 데이터는 NHS의 경우 n=6 실험 및 LPDS의 경우 n=2 실험으로부터 평균 및 S.D.이다. 데이터는 NHS 및 HDL과 비교하여 LPDS에서 더 적은 용해 활성을 증명한다. 1% NHS 미만으로 트리파노소마 사멸의 효율에서 일별 가변성이 있었는데, 이것은 NHS의 공급원, 또는 -80°C에서 적절하게 보관되지 않을 때 *APOL1* 분해에 기인한 활성의 상실에 기인할 수 있었다.

도 5c는 1 µg/ml 항-*APOL1* 항체의 존재에서 혈청-연관된 *APOL1*-매개된 트리파노소마용해 활성의 차단이 플로팅되는 것을 보여준다. 항체는 **도 1c**에서 결정된 바와 같이, 그들의 도메인 인식에 따라서 군화된다. 차단의 백분율은 항체 없음 대조 (NHS 단독)에 정규화함으로써 계산된다. 각 부호는 소정의 항체에 대한 2번의 독립된 실험의 평균을 나타낸다. **도 5d** 및 **도 17**에서 면역침전 검정에서 이용된 항체는 회색으로 플로팅된다. 모든 실험은 1 및 10 µg/ml 항체로 병렬적으로 수행되었지만, 더 높은 엄격함으로 인해 단지 1 µg/ml 데이터만 도시된다는 점에 주의한다. 25%에서 파선은 차단제에 대한 컷오프 한계를 표시하고; 60%에서 파선은 "강한" 차단제에 대한 컷오프를 표시한다.

도 5d는 NHS로부터 *APOL1*의 면역침전을 도시한다. 각 도메인에 대한 클로닝된 항-*APOL1* 항체의 부분집합 (차단 활성의 범위에 대해 선택됨 (**도 5c** 참조))이 Dynabeads에 접합되고 NHS와 함께 배양되었다. 면역침전물이 4-12% Bis-Tris 겔에서 토끼 항-*APOL1* (Proteintech, 위쪽) 또는 토끼 항-APOA1 (Rockland, 아래쪽)로 웨스턴 블로팅되었다. 강한 차단제는 대량의 *APOL1*을 풀다운시켰고, 약한 차단제는 *APOL1*을 거의 또는 전혀 풀다운시키지 못하였고, 그리고 비-차단제는 *APOL1*을 전혀 풀다운시키지 못하였다. 괄호 안에 회색 숫자는 **도 5c**에서 플로팅된 바와 같은 차단 활성 %를 표시한다. *APOL1*이 단지 HDL3b에만 존재 (실시예 1의 참고문헌 50)하고, 이것이 단지 ~5% HDL 입자만을 포함 (실시예 1의 참고문헌 51)하기 때문에, 전체 APOA1 중 단지 일부만 예상한 바와 같이, 최고 항-*APOL1* 항체에 의해 공동면역침전된다. 다른 항체 중에서 일부를 포함하는 다른 실험뿐만 아니라 HPR 풀다운은 **도 17**에서 도시된다.

도 5e는 트리파노소마용해성 차단 대 혈청 *APOL1* 인식의 상관 플롯을 도시한다. 면역침전된 *APOL1* 밴드 (평균적으로 2-3개의 블롯)의 강도가 **도 5d**에서 각 항체에 대한 트리파노소마용해의 차단의 백분율 (y 축)과 대비하여 x 축에서 플로팅된다. 하나의 항체 (3.6H5, 회색으로 도시됨)를 제외하고, 차단제 모두 면역침전에 의해 *APOL1*을 인식하고, 밴드 강도 (0.625의 스피어먼 상관 계수; (3.6H5를 제외하고 0.75))와 충분히 합리적으로 상관하였다.

도 6a-6c는 *APOL1* 입체형태가 순환성 및 세포 표면 *APOL1* 사이에 상이하다는 것을 보여준다. 48 시간 동안 100 ng/ml IFN γ로 유도된 WT 발세포에서 유세포분석 (**도 6a**) 및 10 ng/ml dox로 24 시간 동안 유도된 i*APOL1-GO*

발세포에서 유세포분석 (도 6b)은 모든 개별 항체에서 유사한 결합 패턴을 보여준다. y 축은 평균 형광 강도 (MFI)를 표시한다; WT 발세포의 경우에 유도성 발세포보다 척도가 낮다는 점에 주의한다. 클로닝된 항체 (굵은 글꼴로 표시됨)의 경우 3번의 독립된 실험 및 하이브리도마 정제된 항체의 경우 1-2번의 실험의 평균 및 SD가 플로팅된다. ND는 (비-클로닝된) 항체 이용가능성의 결여로 인한 '결정되지 않음'을 표시한다.

도 6c는 혈청 APOL1 결합에 대한 대용물로서 플로팅된 혈청 APOL1-매개된 트리파노소마성 용해의 차단을 도시한다. y 축은 차단 활성 % (항체 없음 대조에 대해 각각 정규화된, 3번의 독립된 실험의 평균 및 SD)를 나타낸다. 비-차단제는 파선 ($\leq 25\%$ 차단)을 하회한다. 전장 APOL1만을 인식하기 때문에 우리가 매핑할 수 없었던 입체형 태적 항체 (Conf)를 제외하고, 항체는 APOL1의 길이를 따라서 잠정적인 결합 순서 (N에서 C 말단으로)로 열거된다 (참조: 도 7 및 도 19-20).

도 7a-7b는 항 APOL1 항체의 에피토프 매핑 및 APOL1 위상에 대한 모형을 도시한다. 도 7a는 개별 클로닝된 항체의 도메인 매핑 결과의 개략적 표시 (일정한 비율로 작성됨)가, 회색 사각형으로서 3개의 예측된 막경유 (tm) 도메인 (Thomson et al; 실시예 1에서 참고문헌 22)을 갖는 APOL1-GO 상에서 도시된다는 것을 보여준다; L, MAD 및 SRA-ID 사이의 링커. 반점 수직선은 다양한 항체가 아래쪽 aa 번호에서 매핑된 에피토프의 경계를 표시한다 (참조: 도 19 및 20). 아래쪽 반점은 상기 영역에 매핑된 항체의 숫자를 표시한다. G1 및 G2 변이체의 위치가 각각 표시된다.

도 7b 발세포 (위쪽) 및 혈청 APOL/HDL (아래쪽)에서 APOL1 에피토프의 예측된 노출. 검은색 막대는 노출된 영역을 표시하고, 흰색 막대는 비-접근가능 영역을 표시하고, 그리고 회색은 우리가 항체를 획득하지 못했던 영역 (주로 막경유 도메인 및 주변 잔기)을 나타낸다. 반점 수직선 및 숫자는 에피토프 매핑에 의해 결정된 노출/비-노출 경계의 위치를 표시한다.

도 8a-8b는 낮은 pH가 APOL1 위상에 검출가능하게 영향을 주지 않는다는 것을 보여준다. 도 8a는 24 시간 동안 10 ng/ml 독시사이클린으로 처리된 iAPOL1 발세포에서 유세포분석을 도시한다. 이차 항체 단독 배경의 차감 후 4 °C에서 pH 7.0 (검은색) 또는 pH 5.5 (회색)에서 PBS의 존재에서 일차 항체와 함께 배양된 살아있는 세포의 평균 형광 강도. 낮은 pH에서 3개의 상이한 도메인에 대한 임의의 항체의 결합에서 검출 가능한 차이가 없었다. 이러한 실험은 다른 도면에서와 상이한 유세포분석기에서 수행되었고, 따라서 MFI 판독 결과가 더 높았다. 2번의 독립된 실험으로부터 복제물의 평균과 표준 편차가 플로팅된다.

도 8b는 낮은 및 중성 pH에서 혈청 APOL1의 면역침전을 도시한다. 혈청 APOL1은 항-APOL1 항체와 결합된 Dynabeads를 이용하여 면역침전되고 4-12% Bis-Tris 겔에서 이동되었다. 결과의 블롯이 APOL1에 대해 3.1C1/3.7D6으로 면역표지화되었고, APOL1이 APOA1과 함께 차단 항체 (별표)에 의해서만 양쪽 pH 조건에서 풀다운된다는 것을 드러냈다; 약한 차단제 또는 비-차단제는 pH 5.5에서 결합체가 되지 못하였다.

도 9a-9c는 APOL1 위상에 대한 모형을 도시한다. 도 9a는 2개의 막경유 도메인 중에서 적어도 첫 번째 것이 정확하다는 가정 (이들은 DAS 및 SPLIT 서버 예측에 따라서 넘버링된다, 아래의 표 2B)에 근거하여, APOL1 위상에 대한 세포 기반 모형을 도시한다. 도 9a에서, APOL1에서 예측된 막경유 도메인의 번호는 비록 첫 번째 막경유 도메인이 aa ~177-196이라는 점에서는 일치하지만, 이용된 프로그램 (표 2B)에 따라서 1부터 4까지 변한다. 우리의 데이터는 만약 2개의 PFD 막경유 도메인 (175 및 224 사이)이 실재하지 않으면, 임의의 막경유 예측과 완전히 일치하지는 않고, 그리고 세 번째 것 (~338-353)은 완전한 막경유 통과라기보다는 루프이다. 이들 예측된 소수성 영역 중 어느 것에 대해서도 항체가 획득되지 않았는데, 아마도 그 이유는 이들이 항원에 매몰되었기 때문이다. 세포 표면 이중층은 파선으로서 묘사되고, 그리고 숫자는 도 7의 경우에서와 같이, aa 위치를 표시한다. APOL1의 N 말단 및 C 말단 둘 모두의 노출은 정상적으로는 짝수의 막경유 도메인을 예측할 것이지만, 중간에 링커 도메인 (aa 314-333)의 명백한 노출은 2개 또는 4개의 막경유 도메인을 불가능하게 만든다. 유사하게, "절반 스페닝 루프"인 2번째 것 (덜 강하게 예측된 것)을 갖는 3개의 막경유 도메인은 링커 노출 및 MAD가 CHO 세포 상에서 노출된다는 사실을 설명하는 데 유사하게 실패한다. 따라서, SRA-ID 막경유 도메인 (tm3)은 절반 스페닝 루프일 것으로 예상된다. 하지만, APOL1의 일부 부분은 다른 단백질에 의해 매몰될 수 있거나, 또는 지질에 임베드되기 보다는 단순히 접근 불가능한 방향으로 있다. 숫자는 DAS 및 SPLIT 서버에 의해 예측된 막경유 도메인을 표시한다 (표 2B). 포어 형성 도메인은 첫 번째 막경유 도메인까지 완전히 노출되고, 그리고 MAD는 아마도 세포외이지만, MAD가 인간에서 접근 불가능하고 CHO에서 노출된다는 사실을 설명하기 위한, 발세포 및 다른 인간 세포주에서는 발현되지만 CHO 세포에서는 발현되지 않는 가상적인 항체-차단 단백질 (음영된 난원형)에 의해 가려진다. 링커의 단부는 노출되지만, SRA-ID의 세 번째 막경유 및 첫 번째 절반은 접근 불가능하며, 단지 SRA-ID의 C 말단 (G1 I384M 및 G2 돌연변이 포함)만 노출된다. 도 9b-9c는 비록 HDL 막에 매

몰된 것으로 묘사된 영역이 이론적으로는 다른 혈청 단백질, 예컨대 TLF2에서 IgM에 의해 결합될 수 있긴 했지만, 우리의 트리파노소마용해 검정이 HDL-연관된 APOL1 활성을 주로 계측했다는 가정 (도 5d에서 도시된 바와 같음)에 근거하여 혈청에서 APOL1 위상에 대한 모형을 도시한다. 도 9b에서 모형은 예측된 막경유 도메인이 HDL 입자에 매몰된다고 가정하고, 반면 도 9c에서 모형은 이러한 가정을 하지 않고 단지 트리파노소마 차단과 결과만을 보여준다.

도 10a-10f는 APOL1 면역원이 기능적이라는 것을 보여준다. **도 10a**는 his₆-APOL1 항원의 S200 칼럼 정제를 도시한다. NiNTA-정제된 his₆-APOL1이 0.1% DDM의 존재에서 큰 S200 칼럼 상에서 분획되었다. 1142 ml에서 주된 피크는 전장 단량체에 상응한다. 분획물 B4-C1 (검은색 직사각형)은 특징화 및 면역화를 위해 한 데 모아졌다.

도 10b는 his₆-APOL1 항원의 한 데 모아진 최종 분획물 B4-C1의 SDS-PAGE 겔을 도시한다. 샘플이 환원 샘플 완충액에서 끓여지고 Bis-Tris SDS 완충액에서 Bolt 4-20% Bis-Tris PLUS 겔에서 이동되고, 그 이후에 쿠마시 블루 염색이 뒤따랐다. 주된 37 kDa 밴드는 전장 his₆-APOL1을 나타내며, 개별 산물은 24 및 16 kDa에서 나타난다.

도 10c는 트리파노소마용해 검정에 이용된 FLAG-APOL1의 S200 칼럼 정제를 도시한다. FLAG-APOL1이 항-FLAG 항체 칼럼으로 정제되고 0.026% DDM의 존재에서 S200 칼럼에서 분획되었다. 70 ml에서 주된 피크는 전장 단량체에 상응하고, 그리고 검은색 직사각형은 트리파노소마용해 검정에서 이용을 위해 한 데 모아진 분획물 19-21을 표시한다.

도 10d는 **도 10c**에서 S200 분획물의 쿠마시 블루 염색된 4-20 % 트리스-글리신 SDS-PAGE 겔을 도시하고, 전장 단백질에 상응하는 하나의 주된 밴드를 보여준다. 분획물 19-21 (검은색 직사각형)이 이용을 위해 한 데 모아졌다. 분자량 마커는 See Blue Plus 2 (Invitrogen LC5625)이었고, 따라서 APOL1이 이러한 겔에서 41 kDa 주변에서 나타난다.

도 10e는 재조합 APOL1 (rAPOL1)이 트리파노소마를 사멸시키는 데 능동적이라는 것을 보여준다. 0.026% DDM을 내포하는 완충액에서 조제된 3가지 상이한 제조물이 트리파노소마용해 활성에 대해 비교되었다. 트리파노소마 브루세이 브루세이 (*Trypanosoma brucei brucei*)와 함께 배양된 초기 His₆-APOL1 항원 제조물 (**도 10a**로부터; 검은색 실선), 트리파노소마용해 검정에 이용된 후속 (향상된, 덜 분해된) His₆-APOL1 제조물 (검은색 점선) 및 FLAG-APOL1 (**도 10c-d**로부터; 회색 실선)의 연속 희석액은 Alamar Blue 검정에서 재조합 단백질의 유사한 용량의존성 용해 활성을 보여준다. y 축은 도 5의 경우에서와 같이 계산된 죽은 트리파노소마의 백분율을 표시한다.

도 10f는 트리파노소마 용해가 재조합 APOL1에 기인하고 DDM에 기인하지 않는다는 것을 보여주는데, 그 이유는 동등 체적의 DDM 완충액 단독 (흰색)이 트리파노소마 죽음을 야기하지 않기 때문이다.

도 11은 gD-iAPOL1-GPI-발현 CHO 세포 상에서 APOL1의 항체 인식을 도시한다. 전장 gD-APOL1-GO-GPI (**도 1a**에서 작제물 b)에서 170개 항체 모두를 이용한 유세포분석. y 축은 평균 형광 강도 (MFI, 로그 규모)를 표시한다. 각 반점은 개별 항체를 나타낸다. 150개의 FACS-양성 항체 (88%)는 점선보다 위에 있고, 그리고 20개의 음성 항체 (12%)는 점선보다 아래에 있다.

도 12a-12d는 클론의 CRISPR/Cas9-매개된 APOL1 KO 전략 및 특징화를 도시한다. **도 12a**는 상동성 재조합에 의한 APOL1 녹아웃을 시도하기 위한, 전체 APOL1 유전체 좌위 상에서 엑손 1 및 엑손 7을 표적으로 하는 대합된 안내 RNA 위치의 개략적 표시를 도시한다. 뉴클레오티드 내에서 안내 위치는 괄호 안에 표시된다. L은 왼쪽이고, R은 오른쪽이다.

도 12b는 형질감염마다 이용된 gRNA 쌍을 도시하며, 각 쌍은 번호에 의해 표시된다. 세포주는 그들의 개별 gRNA 쌍을 따서 명명된다.

도 12c는 Proteintech 다중클론 항-APOL1을 이용한, 개별 형질감염으로부터 획득된 모든 단일 세포 클론의 웨스턴 블롯을 도시한다. 별표는 APOL1의 완전한 상실을 보여주는 클론 (89401-1, 89401-3, 90109-2 및 90111-1; 유전체 데이터 제시되지 않음)을 표시하고, 반면 2개의 클론 (89402-2 및 90110-2)은 전장 APOL1을 유지하였다. 5개의 클론은 전장 APOL1과 함께 또는 이것 없이, APOL1의 절두된 형태 (tAPOL1)의 발현으로 인해 거부되었다. 의도된 바와 같이, 비록 추가 웨스턴 분석에서 하나의 대립유전자가 89401-3에서 상실될지도 모른다는 것이 암시되긴 했지만 (참조: 도 4b 및 22), 이들 클론 중 어느 것도 APOL2에 대해 녹아웃되지 않았다. 액틴이 부하 대조로서 역할을 하였다.

도 12d는 선택된 단일 세포 *APOL1* KO 발세포 클론의 항체 3.7D6을 이용한 유세포분석을 도시하고, 부모 WT 발세포 (검은색 히스토그램)와 비교하여 표면 상에서 *APOL1* (회색 히스토그램)의 상실 (다시 말하면, 성공적인 녹아웃; 위쪽 열) 또는 존재 (실패한 녹아웃; 아래쪽 열)를 보여준다; 흰색 히스토그램은 Alexa488 항생쥐 이차 항체 단독이다. 클론 89401-3 (굵은 글씨체)이 부모 세포와 더 유사한 형태와 성장물로 인해 추가 연구를 위해 선택되었다.

도 13a-13c는 *iAPOL1* 발세포의 특징화를 도시한다. 도 13a는 *iAPOL1-GO* 발세포 ± 독시사이클린 자극 (16 시간)과 대비하여, WT 및 *APOL1* KO 발세포 (둘 모두 24 시간 IFN γ 후)의 4-12% Bis-Tris 겔에서 용해물에서 *APOL1* 발현의 웨스턴 블롯 (0.04 μ g/ml 토끼 3.1C1 및 3.7D6 혼합물을 이용)을 도시한다. 16 시간 동안 10 ng/ml Dox로 처리 후, WT+IFN γ 보다 10배 더 높은 발현이 목격된다.

도 13b는 유세포분석에 의한 표면 *APOL1* 발현이 1 μ g/ml 3.7D6 항체를 이용할 때, WT (회색; 100 ng/ml IFN γ 로 24 시간 유도됨)보다 *iAPOL1-GO* 발세포 (속이 찬 검은색; 5 ng/ml dox로 24 시간 동안 유도됨)에서 10배 더 높다는 것을 보여준다. *APOL1* KO (검은색 선)는 완전히 음성이고, 예상한 바와 같이, Alexa488 항생쥐 이차 단독 (회색 선)과 중첩된다. 3-4번의 실험으로부터 대표적인 히스토그램이 도시된다.

도 13c는 증가하는 독시사이클린 농도 (ng/ml)에서 *iAPOL1-GO* 발세포 (검은색 막대)에서 표면 *APOL1*의 유세포분석을 도시하고, 이것이 10 ng/ml의 dox에서 포화되고 1 ng/ml 생산 수준이 내인성 비-IFN γ -자극된 발세포 (회색 막대)와 유사하다는 것을 보여준다. 10 ng/ml dox가 장래 실험을 위해 선택되었다. 3번의 실험으로부터 대표적인 데이터가 도시된다. y 축은 로그 MFI이다.

도 14는 무손상 *APOL1*-발세포와 대비하여 투과화된 *APOL1*-발세포에서 유세포분석을 도시한다. 24 시간 동안 100 ng/ml IFN γ 로 유도되고 9개의 대표적인 항체로 염색된 살아있는 비-투과화된 (검은색) *APOL1* WT 발세포와 대비하여 고정되고 사포닌-투과화된 *APOL1* WT 발세포 (회색)의 평균 형광 강도 (MFI) 데이터가 플로팅된다. 막대 위에 숫자는 세포 표면 (비투과화된) 대 총 (투과화된) *APOL1* MFI의 비율에 의해 계산된, 세포 표면 상에서 *APOL1*의 %를 표시한다. MAD 항체 3.3A8 및 4.6A9는 비투과화된 발세포 상에서는 표면 *APOL1*을 검출할 수 없지만, 투과화된 발세포 (하기 실시예 2를 또한 참조한다) 상에서만 아니라 살아있는 비투과화된 *iAPOL1*-CHO 세포 (도 2b에서 흰색 삼각형) 상에서는 세포내 *APOL1*을 검출할 수 있다.

도 15는 MAD가 인간 세포주에서 접근 불가능하다는 것을 보여준다. 48 시간 동안 100 ng/ml IFN γ 로 처리된 JHH-1 (간), 786-O (신장) 및 HCC827 (폐) 세포 상에서 상이한 도메인에 대한 항체를 이용한 유세포분석 모두 발세포와 유사한 패턴의 내인성 *APOL1* 노출 (내인성 및 안정되게 형질감염됨)을 보여주고, 반면 48 시간 동안 10 μ g/ml dox로 처리된 *iAPOL1*-CHO 세포는 접근성이 더 높은 MAD 도메인 (항체 3.3A8 및 4.6A9에서 더 큰 이동)을 갖는다.

도 16은 트리파노소마용해의 항체 차단이 용량 의존성이라는 것을 보여준다. 항-*APOL1* 항체 용량 적정이 각 도메인에 대한 트리파노소마 차단 항체: PFD 항체 3.7D6 (속이 찬 원; IC₅₀ 0.5 nM); MAD 항체 3.3A8 (속이 찬 사각형; IC₅₀ 0.4 nM); 및 SRA-ID 항체 3.1C7 (속이 찬 삼각형; IC₅₀ 1nM) 중에서 하나를 이용한 트리파노소마 차단 검정에서 수행되었다. 살아있는 트리파노소마가 도 4c의 경우에서와 같이 Alamar Blue 검정을 이용하여 측정되었고, 그리고 값을 항체 없음 대조 샘플에 정규화함으로써 차단 %가 계산되었다. 3번의 독립된 실험의 평균 및 SD가 플로팅된다. IC₅₀이 공식 $y = m_1/(1+(m_2/m_0)^{m_3})$ 을 이용하여, KaleidaGraph v4.1에서 계산되었다.

도 17a-17c는 상이한 세트의 *APOL1* 항체를 이용한, NHS로부터 획득된 *APOL1*의 면역침전을 도시한다. 도 17a는 도 5d의 경우에서와 같이, 불량한 차단제인 입체형태적 항체 3.7F5 (서열 번호: 203-212)를 제외하고, 모든 차단 항체가 *APOL1*을 면역침전시킬 수 있었다는 것을 보여준다. 대조적으로 도 17b 또한 도 5d의 경우에서와 같이, 비-차단제 중 어느 것도 *APOL1*을 풀다운시키지 않았다는 것을 보여준다; 차단 항체 3.7D6은 양성 대조로서 마지막 레인에 포함되었다.

도 17c는 HPR이 또한 *APOL1*로 공동면역침전되었는지를 결정하기 위한 차단 및 비-차단 항체의 부분집합을 도시한다; HPR은 차단 항체에 의한 APOA1 풀다운과 동일한 패턴을 보여주었다.

도 18a-18b는 항-*APOL1* 항체에 의한 *iAPOL1*-CHO 인식 및 트리파노소마용해성 차단 사이의 상관의 결여를 도시한다. 1 μ g/ml에서 각 항체 (방법 #3으로부터 105개의 하이브리도마 모두)의 트리파노소마용해 차단의 백분율이 동일한 농도에서 *iAPOL1*-CHO 세포 (도 18a) 또는 *iAPOL1*-발세포 (도 18b)에서 평균 형광 강도 (MFI)와 대비하여 플로팅된다 (도 1a의 작제물 a). 각 반점은 개별 항체를 나타낸다. 표면 결합 및 트리파노소마용해 차단 사

이의 상관성이 불량한데, 그 이유는 ~20개의 비-차단 항체는 FACS에 의해 APOL1을 잘 인식할 수 있었고 (검은색 상자), 반대로 ~20개의 강한 차단제는 CHO 세포 상에서 APOL1을 단지 약하게만 인식하였기 때문이다 (<20의 MFI; 회색 상자). FACS 데이터는 2번의 개별 실험을 대표하고, 그리고 차단 데이터는 2번 실험의 평균이다. **도 18b**는 WT 발세포 (IFN γ -유도됨) 상에서 MFI를 도시하고, 이러한 세포주에서도 표면 결합 및 트리파노소마용해의 상관의 결여를 확증한다. 상기 데이터는 **도 6a** 및 **6c**에서 데이터의 리플롯을 나타낸다.

도 19a-19b는 표면 플라즈몬 공명에 의한 항-APOL1 항체의 에피토프 매핑을 도시한다. PFD (**도 19a**) 또는 SRA-ID (**도 19b**) 펩티드 상에서 PFD 및 SRA-ID 항체에 대해, 항-APOL1 항체를 이용한, 20-mer 펩티드에 관한 Wasatch 데이터의 실례가 도시된다. MAD 항체 모두 이러한 방법에 의해 음성이었고, 따라서 도시되지 않는다.

도 20a-20e는 웨스턴 블로팅에 의한 항-APOL1 항체의 에피토프 매핑을 도시한다. **도 20a**는 검은색 선으로서 아래에 표시된 길이를 따라서, 중첩되는 ~20-mer 펩티드를 갖는 APOL1 단백질의 계통도를 도시한다. P는 PFD를 표시하고, M은 MAD를 표시하고, S는 SRA-ID를 표시하고, 그리고 펩티드는 각 도메인에 대해 연속적으로 넘버링되었다. 절두된 APOL1을 발현하는 Sf9 용해물을 이용한 웨스턴 블롯이 PFD 및 MAD 항체 중에서 일부에 대한 더 넓은 도메인을 결정하는 데 도움을 주었다. FLAG, FLAG-태깅된 절두된 작제물에 대한 항-FLAG 항체.

도 20b-d 상기 펩티드에서 웨스턴 블로팅에 의한 도메인 매핑의 실례. 대부분의 PFD 및 MAD 항체는 이들 펩티드에서 음성이었는데, 이것은 이들 항체에 대한 이들 펩티드 또는 더 긴 또는 비선형 에피토프의 높은 소중합체화에 기인할 수 있었다. SRA-ID 항체 (**도 20d**)는 그들의 동계 펩티드에 잘 결합하였는데, 이것은 선형 에피토프를 암시하였다; 펩티드 S6은 불용성으로 인해 부하되지 않았다는 점에 주의한다. SA, 어떤 펩티드가 블롯에서 검출 가능한지를 결정하기 위한 스트렙타비딘-HRP 대조. FL, 전장 재조합 APOL1 대조 (aa 61-398).

도 20e는 절두된 APOL1을 발현하는 Sf9 용해물을 이용한 웨스턴 블롯이 PFD 및 MAD 항체 중에서 일부에 대한 더 넓은 도메인을 결정하는 데 도움을 주었다는 것을 보여준다. FLAG, FLAG-태깅된 절두된 작제물에 대한 항-FLAG 항체.

도 21a-21e는 신장 발세포에서 APOL 1, 2 및 6의 발현을 도시한다. **도 21a**는 각 APOL 패밀리 구성원에 대해 특이적인 프로브를 이용한, 5개의 정상적인 인간 신장의 RT-PCR을 도시한다. 데이터가 RPL19에 대해 정규화되고, 그리고 5개 신장의 평균 및 SD가 개별 데이터 포인트 위에 플로팅된다 (각 신장은 고유한 부호가 지정되고, 그리고 3번까지의 독립된 RT-PCR의 상대적 발현 ($2^{-\Delta CT}$)의 평균이 각 샘플에 대해 플로팅된다). APOL 프로브 특이성에 대해 **도 30a**를 참조한다.

도 21b는 단독으로 (a, b), 또는 녹색에서 NPHS2 (포도신, c,d) 또는 내피 마커 EGFL7-C1 (표피 성장 인자-유사 7, 혈관 내피 스타틴으로서 또한 알려져 있음; e) 중 어느 하나와 함께 APOL1-C2 (적색 통로)에 대한 프로브를 이용한, 59세 남성으로부터 획득된 정상적인 인간 신장의 이중 제자리 혼성화 (ISH)를 도시한다. APOL1 프로브가 APOL2와 교차반응하지 않는다는 증거는 아래의 **도 30b**에서 도시된다. 내피의 검출을 향상시키기 위해, 우리는 IHC (f, 녹색 발색단)에 의해 내피 PVLAP (원형질막 소포 관련 단백질) 및 ISH C2 프로브 (적색)에 의해 APOL1 mRNA를 공동염색시켰는데, 이것은 APOL1 mRNA가 내피에서 검출 한계 미만이라는 것을 확증하였다. 근위 소관에서 확산성 핑크색 염색은 적색 염료의 비특이적 인공물인데, 그 이유는 이것이 점상이 아니고, 그리고 또한 음성 대조 프로브 DAPI로 목격되었기 때문이다 (아래의 **도 30c**). 화살표는 APOL1 mRNA만을 갖는 세포, NPHS2 또는 EGFL7만을 갖는 세포, 또는 이중 양성인 세포 (이것은 APOL1 대 NPHS2의 경우에만 해당하였다)의 부분집합을 표시한다. 눈금자는 a,c에서 50 μ m; b,d,e에서 20 μ m 및 f에서 10 μ m이었다. 상기 데이터는 3개의 다른 정상적인 신장에서 목격된 것을 대표한다.

도 21c는 **도 21a**의 경우에서와 동일한 프로브를 이용한, 영속화된 분화된 (분화, 상향 삼각형, 38°C에서 성장됨) 또는 미분화된 (미분화, 사각형, 33°C에서 성장됨) 인간 발세포 (3번의 별개의 계대의 평균 $\pm$ SD, 각각 이중으로 분석됨)의 RT-PCR을 도시한다. 가변성은 아마도, APOL1 수준이 계대 동안 감퇴한다는 우리의 관찰에 기인한다. 속이 빈 삼각형 또는 사각형, 처리되지 않음; 속이 찬 삼각형 또는 사각형, IFN γ 처리됨 (24 시간 동안 100 ng/ml). APOL3은 미분화된 발세포에서는 IFN γ 처리 이후에 검출 가능하지만, 분화된 발세포에서는 그렇지 않았다. 별표는 양측 스튜던트 독립샘플 t 검정에 따라서, 발현이 IFN γ 처리에 의해 유의미하게 상승된 APOL을 표시한다 (**, p < 0.01; ***, p < 0.001).

도 21d는 APOL2뿐만 아니라 APOL1을 인식하는 Proteintech 다중클론을 이용한, 영속화된 미분화된 (미분화) 및 분화된 (분화) 발세포 $\pm$ IFN γ 자극의 4-12 % Bis-Tris 겔에서 대표적인 웨스턴 블롯을 도시한다 (참조: **도 22b**). 별표는 다른 항-APOL1 항체로는 목격되지 않는 비특이적 밴드를 표시한다. 액틴이 부하 대조로서 역할을

하였다.

도 22a-22d는 여러 항-APOL1 항체가 APOL2와 교차반응한다는 것을 보여준다. **도 22a**는 면역형광에 의한 항체의 APOL-패밀리 반응성을 도시한다. COS 세포가 태깅되지 않은 *APOL1-G0*, *APOL2*, *APOL3a-myc-FLAG*, *APOL4-myc* 또는 *APOL6-myc-FLAG*로 형질감염되었다 (cDNA에 대해 표 3을 참조한다). 40-48 시간 후, 세포가 PFA 고정되고, 트리톤 X-100 투과화되고, 그리고 표시된 상업적인 토끼 다중클론 항-APOL1 항체 (1 µg/ml에서; Ptech, Proteintech; Epito, Epitomics), 그 이후에 Alexa488 항토끼로 염색되었다. *APOL 3-6*의 형질감염이 에피토프 태그에 대한 염색 (생쥐 항-FLAG-M2 또는 *APOL4-myc*의 경우 생쥐 항-myc 9E10, 그 이후에 Alexa647 항생쥐를 이용)에 의해 확증되었고, 그리고 임의의 양성 신호가 예상한 바와 같이, 태그와 공동국지화하였다 (**도 31b**). 모든 결과는 적어도 1번의 독립된 실험에서 실증되었다.

도 22b는 0.44 µg/ml 상업적인 다중클론 항체를 이용한, 24 시간 IFN γ 자극 후 발세포에서 APOL-형질감염된 COS 세포 또는 내인성 APOL1의 웨스턴 블롯이 IF 데이터를 확증한다는 것을 보여준다. 용해물이 4-12 % Bis-Tris 겔에서 이동되었고, 그리고 액틴이 부하 대조로서 역할을 하였다. UT, 형질감염되지 않은 COS; G0, G1 (I384M, S342G), G2 (DN388,Y389)는 3가지 APOL1 변이체이다; L2, APOL2; L3, APOL3a-myc-FLAG; L4, APOL4-myc, L6: 태깅되지 않은 APOL6; WT, 야생형 발세포; KO, *APOL1* CRISPR 녹아웃 발세포.

도 22c는 1 µg/ml에서 인하우스 생쥐 mAb를 제외하고, **도 22a**의 경우에서와 동일하다. 이차 항체는 5.17D12의 경우 Alexa488 항토끼이었고, 그리고 다른 것들의 경우 Alexa488 항생쥐이었다. 5.17D12 및 3.7D6은 APOL1-특이적이고, 그리고 비록 mAb 4.17A5가 APOL4와 약하게 교차반응하긴 하지만, 이것은 이러한 조직에서 *APOL4* 발현의 결여로 인해 신장 염색의 목적으로 APOL1-특이적인 것으로 고려될 수 있었다 (도 21a 및 21c). 대조적으로, 3.6D12 mAb는 IF에 의해 APOL 2, 3 및 4와 교차반응한다.

도 22d는 2 µg/ml에서 위쪽 인하우스 생쥐 mAb, 또는 APOL1의 양쪽 단부를 커버하고 웨스턴 블로팅을 위한 우리의 바람직한 시약인 0.05 µg/ml에서 토끼 3.7D6 및 3.1C1의 혼합물 (아래쪽 블롯)로 탐침된, **도 22b**의 경우에서와 동일한 용해물을 도시한다. 비교를 위해, C 말단 APOL1-G2 에피토프에 매핑하는 항체 4.12E5 (하기 실시예 1) 역시 포함된다; 이것은 웨스턴 블로팅에 의해 APOL1-G2를 거의 인식하지 못하고 APOL2-6와 교차반응하지 않는다 (역시 IF에 의해, **도 31b**). 결과는 입체형태적으로 민감한 것으로 보이는 APOL4 교차반응성을 제외하고, IF 교차반응성을 확증한다. 3.6D12 항체는 *APOL1* KO 발세포에서 APOL2를 계속 인식한다 (실시예 1에서 설명된 바와 같이 발생됨). 4.17A5 웨스턴이 다른 것들보다 더 긴 노출에서 도시된다는 점에 주의한다.

도 23은 내인성 APOL1이 면역조직화학에 의해 신장 발세포 및 내피 세포에서 발견된다는 것을 보여준다. 인접한 절편 (오른쪽)에서 0.5 µg/ml APOL1-특이적 토끼 단일클론 항체 (rabmab) 5.17D12 또는 토끼 IgG 아이소타입 대조로 염색된, 10x (왼쪽, 40 µm 눈금자) 또는 20x (중심 및 오른쪽, 20 µm 눈금자)에서 포르말린-고정된 파라핀 포매된 정상적인 인간 신장의 면역조직화학. 어두운 화살표는 발세포 및 사구체 내피, 각각에서 APOL1 염색을 표시한다. 사구체와 모세관 또한 양성이고, 아마도 염색 순환성 APOL1이었다 (흰색 화살표). 선행 보고 (실시예 2, 참고문헌 73)와 달리, 염색이 근위 소관에서는 현저하지 않았다. 이러한 염색 패턴은 상이한 에피토프에 대한 2가지 다른 위쪽 항-APOL1 항체에 의해 중복되었고, 그리고 조사된 적어도 5개의 신장을 대표한다 (도 33b 및 데이터 제시되지 않음). G, 사구체; PT, 근위 소관.

도 24a-24d는 내인성 및 안정되게 형질감염된 APOL1이, 배양된 발세포의 소포체에 국지화된다는 것을 보여준다. **도 24a-24c**는 *iAPOL1-G0* 발세포의 iEM을 도시한다. *iAPOL1-G0* *iAPOL1-G0*를 재발현하는 (48 시간 5 ng/ml 독시사이클린 유도 후) *APOL1* KO 발세포가 4% PFA 고정되고, 25 µg/ml rabmab 5.17D12, 그 이후에 단백질-A 금으로 면역표지화되었다. ER (**도 24a-b**) 및 골지 (**도 24c**)에서 APOL1의 대표적인 염색이 도시된다. 모든 눈금자는 200 nm이었다. *, ER 내강; M, 미토콘드리아; L, 리소좀; E, 초기 엔도솜; G, 골지. APOL1은 ER 및 골지에서만 목격되며, 미토콘드리아 또는 엔도리소좀 시스템에서는 목격되지 않는다. ER의 좀 더 핵주위 영역에서 APOL1 염색 및 미토콘드리아와 MAM으로부터 이의 부재의 실례가 항체 염색이 APOL1-특이적이라는 것을 보여주는 유도되지 않은 대조 (**도 39e-39f**)와 함께, **도 39a-39d**에서 도시된다.

도 24d는 야생형 분화된 발세포에서 내인성 APOL1 (위쪽 열)이 2 µg/ml APOL1 5.17D12 (녹색 염색) 및 생쥐 항-칼넥신 (적색 염색)으로 공동염색된 PFA-고정된, 사포닌 투과화된 세포에서 도시된다는 것을 보여준다; 핵 DAPI와의 병합은 오른쪽에 있다. IFN γ -처리된 WT 세포 (중간)는 더 강한 ER APOL1 표지화를 보여주고, 반면 *APOL1* 녹아웃 (아래쪽) 발세포는 이것을 결여하였다. 핵 얼룩 (중첩되는 DAPI)이 많은 세포에서 눈에 띈다는 점에 주의하는데 (APOL1은 그렇지 않음), 이들은 KO뿐만 아니라 WT 세포에서 발견된다는 점에서, 명백히 비특이적이다. 눈금자는 40 µm이다. APOL1은 분화된 및 미분화된 발세포 둘 모두에서 8개의 다른 항체로 유사하게 ER-

국지화되었다 (4.17A5에 대해 도 41을 참조, 그리고 데이터 제시되지 않음).

도 25a-25c는 낮은 비율의 내인성 발세포 APOL1이 원형질막에 있지만 APOL2는 그렇지 않다는 것을 보여준다. 도 25a에서, 살아있는 WT (왼쪽) 또는 *APOL1* KO (오른쪽) 발세포가 2.5 μ g/ml 3.6D12 (APOL2 교차반응성 mAb)와 함께 얼음 위에서 1 시간 동안 배양되었다 (고정 또는 투과화가 없음). 회색은 Alexa488 항생쥐 이차 항체 단독이고; 청색은 처리되지 않고; 적색은 IFN γ -처리된 세포이다. WT에서는 이동이 있지만, KO 세포 (이것은 *APOL2*를 발현하지만 *APOL1*을 발현하지는 않는다)에서는 그렇지 않다. *APOL1* KO 세포에서 신호의 결여는 APOL2가 APOL1보다 풍부함에도 불구하고, 세포 표면 상에 존재하지 않는다는 것을 암시한다 (도 21d 및 도 46a). 따라서, WT 세포에서 3.6D12로 목격된 이동은 예상한 바와 같이, APOL1, 그리고 IFN γ 로 증가를 나타낼 것임에 틀림없다.

도 25b는 얼음 위에서 1 시간 동안 5 μ g/ml APOL1-특이적 3.7D6 (왼쪽) 또는 APOL2 교차반응성 3.6D12 (오른쪽)와 함께 배양되고, 이후 세척되고, PFA 고정되고, Alexa488 항생쥐 (녹색 염색; 청색 염색에서 핵 DAPI로 텃씩워짐)로 검출된 (풍부한 세포내 ER 신호를 목격하는 것을 방지하기 위해 투과화 없이), 살아있는 IFN γ -처리된 WT 발세포 (위쪽), *APOL1* KO 발세포 (중간) 및 간 JHH-1 세포 (아래쪽)를 도시한다. APOL1-특이적 항체 및 APOL2-교차반응성 항체 둘 모두를 이용하여, 점상 신호가 WT 및 JHH-1의 세포 표면에서는 목격되지만, *APOL1* KO 발세포에서는 그렇지 않는데, 이것은 단지 APOL1만 세포 표면 상에 있다는 것을 암시한다. 눈금자는 40 μ m이다. 발세포에서 유사한 결과가 상이한 에피토프에 대한 ≥ 8 개의 다른 항체로 목격되었다 (데이터 제시되지 않음).

도 25c는 세포 표면에서 분산된 낮은 비율의 APOL1 immunogold 입자 (화살표)를 보여주는, APOL1-특이적 항체 5.17D12 및 3.6E10을 이용한, *APOL1-GO* 발세포의 iEM을 도시한다. *, ER 내강. G, 골지. N, 핵. 눈금자 (위쪽에서 아래쪽으로): 100, 200, 200 및 500 nm.

도 26a-26d는 APOL1이 내부 ER 막 면과 결합된다는 것을 보여준다. 도 26a는 사포닌 (또는 트리톤 X-100; 위쪽)으로 투과화된 PFA-고정된 세포의 계통도를 도시하는데, 디기토닌에 의한 세포 표면-특이적 투과화 (무손상 ER 막, 실선; 아래쪽)와 대비하여, 세포 표면 및 ER 막이 투과화된 (파선). PFA 고정은 임의의 세정제와 상관없이 일부 세포 (Nuc, 회색)의 핵 (핵 피막)을 투과한다는 점에 주의한다.

도 26b는 *APOL2*, 또는 독시사이클린-유도된 (20 시간 동안 5 μ g/ml) 안정된 *iAPOL1*-CHO (하기 실시예 1)로 일시적으로 형질감염되고, PFA 고정되고, 사포닌 (위쪽) 또는 디기토닌 (아래쪽)으로 투과화된 COS 세포를 도시한다. 비록 다른 43개의 APOL2-교차 반응기로 유사한 결과가 획득되긴 했지만 (이들 모두 PFD에 대해, 데이터 제시되지 않음), APOL2는 3.6D12 (N 말단 포어 형성 도메인 (PFD)에 대한 mAb)로 염색되어 도시된다. APOL2-COS 세포에 대한 항-칼넥신 내강 도메인 염색이 투과화 조건에 대한 대조로서 APOL2에 인접하게 도시된다 (이러한 항체는 CHO 칼넥신과 교차반응하지 않는다). 비록 3가지 도메인 모두에 대한 모든 다른 APOL1-특이적 항체로 유사한 결과가 획득되긴 했지만 (데이터 제시되지 않음), APOL1은 Alexa488 항생쥐로 각각 검출되는 PFD mAb 3.7D6, 막 주소지정 도메인 (MAD) mAb 3.3A8, 또는 SRA-상호작용 도메인 (SRA-ID) mAb 3.1C1로 염색되어 도시된다 (에피토프 매핑에 대해 하기 실시예 1을 참조한다). APOL2의 경우에는 망상 ER 패턴이 디기토닌 (단지 원형질막만)-투과화된 세포에서 존속하지만, APOL1의 경우에는 그렇지 않는데, 이것은 APOL2가 ER의 세포질면 상에 있고, 반면 APOL1이 내부에 있다는 것을 암시한다. 디기토닌과 함께 APOL1에 대한 핵막 신호가 또한 일부 세포에서 세정제 없이 목격되는데, 그 이유는 PFA가 핵막을 반-투과하기 때문이다 (데이터 제시되지 않음). 디기토닌과 함께, 여기에서 도시된 PFD (3.7D6) 및 SRA-ID (3.1C1) 항체를 비롯한, 더 민감한 항체 중에서 일부 (그러나 MAD 항체 3.3A8은 그렇지 않음)가 ER 내강과 위상적으로 동등한 원형질막 (화살표) 상에서 APOL1을 추가적으로 검출하였다.

도 26c는 (5 ng/ml 독시사이클린으로 24 시간 동안 유도되고), 그리고 10 nm 단백질 A-금으로 각각 검출되는 APOL1 (왼쪽; 토끼 항생쥐 이차 항체로 증폭됨) 또는 가용성 내강 마커 항-KDEL (오른쪽)에 대해 3.6E10으로 면역표지화된 *iAPOL1-GO* 발세포의 대표적인 면역전자 현미경사진을 도시한다. *, ER 내강; M, 미토콘드리아. 눈금자는 200 nm이다. APOL1은 내강 KDEL보다 내부 ER 막 면에 더 가깝게 결합되는 것으로 보인다.

도 26d는 APOL1이 *iAPOL1-GO* 발세포에서 KDEL보다 내부 ER 막과 더 결합된다는 것을 보여준다. 항체-단백질 A-금 복합체의 크기를 최소화하고 정량을 더 정확하게 만들기 위해, 도 26c의 경우에서와 같이, 그러나 토끼 항생쥐 이차 항체 증폭 없이 염색된 55개의 이미지로부터 ER-결합된 금 입자의 정량. APOL1 (계수된 n=81개 금 입자)은 내부 ER 막과 주로 결합되며, 소량이 ER 수조 너비에 비하여 항체-단백질 A-금 복합체의 큰 크기에 의하여 외막/시토플 또는 중심 내강에 기인한다 (상세를 위해 도 48a를 참조한다). 대조적으로, 내강 KDEL 대조

마커 (n=100)는 ER 내강과, 그리고 내막 면의 20 nm 이내에서 동등하게 결합된 것으로 나타났고, 그리고 예상한 바와 같이, 외막 또는 시토플라스마에서는 검출되지 않았다.

도 27a-27c는 APOL1 동종형이 안정된 발세포에서 ER 막의 대향면에 국지화된다는 것을 보여준다. **도 27a**는 총 APOL 분포를 드러내기 위해 PFA 고정되고 트리톤 X-100으로 완전히 투과화된 APOL 동종형의 안정된 폴을 도시하고, 그리고 APOL1/2가 토끼 항-칼넥신 세포질 꼬리 (세포내 도메인, ICD), 그 이후에 Alexa488 항-IgG2a 및 Dy649 항토끼로 공동염색되었다. APOL1 동종형 및 APOL2 둘 모두 ER-결합된 것으로 보이고, 그리고 이들 조건하에 칼넥신과 충분히 공동국지화한다.

도 27b는 세포질 APOL만을 드러내기 위한 디기토닌 투과화, 그리고 생쥐 항-칼넥신 세포외 (내강/ECD) 도메인 및 아이소타입-특이적 이차 (APOL의 경우 Alexa488 항-IgG2a; 칼넥신의 경우 Alexa647 항-IgG1)를 제외하고, **도 27a**의 경우에서와 동일하다. APOL1.vA, vB1, 그리고 vC를 발현하는 소수의 세포는 내강 염색 (비-세포질, 화살표; 화살촉은 망상 (세포질) 신호와 동일한 세포에서 핵 피막 (내강) 신호를 표시한다))을 나타내고, 반면 vB3, APOL2 및 대다수의 vC는 세포질적으로 정향되는데, 그 이유는 이들이 디기토닌에서 망상 ER 염색 패턴을 유지하기 때문이다. 칼넥신 ECD 항체가 유사한 핵막 염색을 내강 APOL1 동종형에 제공하여, 우리의 디기토닌 방법을 입증한다는 점에 주의한다.

도 27c는 10 ng/ml 독시사이클린 (UI 제외, 유도되지 않은 vA 대조)에서 22 시간 유도 이후에 1 µg/ml 3.6D12 및 Alexa488 항생쥐로 염색된 APOL1-GO 동종형 및 APOL2 발세포 안정된 폴 (살아있는 (PI-음성) 세포에서 게이트링된)의 유세포분석을 도시한다. **도 27b**에서 디기토닌 IF에 의해 확인된 위상에 따라서, APOL1.vA 및 vB1은 큰 FACS 이동을 제공하고, 이것은 이들이 분비성이라는 것을 암시하며, vC는 더 작은 이동 (부분적으로 분비성)을 제공하고, 그리고 vB3 및 APOL2 (L2)은 이동이 거의 없다 (다시 말하면 비-분비성). y 축은 최대 %이고, 그리고 x 축은 Alexa488 형광 강도이다. 심지어 분비성 동종형 (vA 및 vB1)도 아마도 그들의 예측된 막경유 도메인을 통해, 세포 표면에 고정됨으로 인해, 배지 내로 실질적으로 분비되지 않았다는 점에 주의한다 (실시예 2, 참고문헌 90) (데이터 제시되지 않음).

도 27d는 안정된 발세포에서 비슷한 수준에서 상이한 APOL1 동종형의 발현을 도시한다. **도 27c**에서 이용된 세포 중 일부는 0.05 µg/ml 3.1C7/3.7D6 (**도 22d**에서 입증됨) 및 부하 대조로서 칼넥신으로 10% 겔에서 웨스턴 블로팅되었다. 상이한 동종형의 유사한 총 발현은 vA 및 vB1에서 더 큰 FACS 이동 (**도 27c**)이 더 높은 발현보다는, 세포 표면으로의 더 큰 분비성 수송에 기인한다는 것을 암시한다. 게다가, APOL1.vA 및 vB1의 유사한 크기는 동일한 VRA/EE 부위에서 개열을 암시하고, 따라서 신호 서열 프로그램 예측에 상반되게, vB1의 43개 aa 신호 서열이 기능적이라는 것을 암시한다 (**표 5**). APOL1.vB3은 신호 서열 개열의 결여와 일관하게, vA보다 크고, 이것은 N 말단 태그의 보유에 의해 확증되었으며 (**도 51c**), 그 뿐만 아니라 더 작은, 잠재적으로 세포질에서 개열된 밴드를 갖는다. 대조적으로, vC는 이것이 1 kDa 이상일 것이라는 예측에도 불구하고, vA보다 작는데, 그 이유는 이것이 주로 비-내강이고 (**표 5**), 따라서 이것이 또한 세포질에서 클리핑될 수 있기 때문이다; 실제로, 높은 발현 수준에서 이것은 이중항으로서 나타난다 (**도 51b**).

도 28a-28b는 발세포에서 APOL1 동종형 발현을 도시한다. **도 28a**는 100 ng/ml IFNγ로 0-4 일 동안 자극된 WT 및 APOL1 KO 발세포의 웨스턴 블롯을 도시한다. 용해물이 **도 27d**의 경우에서와 같이 APOL1에 대해 면역블로팅되고, 이후 부하 대조로서 1A2 항-튜불린으로 재탐침되었다. IFNγ 처리는 APOL1의 수준을 증가시키고, 그리고 희미한 위쪽 밴드 또한 옅은 부하 수준에서 10% 또는 12% 트리스-글리신 겔 (여기에서 12%)에서 재현적으로 검출된다. 주된 밴드보다 작은 밴드가 없다는 점에 주의한다.

도 28b는 IFNγ-자극된 발세포에서 위쪽 APOL1 밴드가 vB3과 동일한 크기라는 것을 보여준다. 마지막 레인에서 9 또는 17 µg의 WT IFNγ-자극된 발세포 용해물 및 더 많은 양의 vB3에 인접하게 부하된, **도 27d**로부터 APOL1 동종형 안정된 발세포 용해물의 웨스턴 블롯. 내인성 APOL1의 위쪽 밴드는 비록 이것이 번역후 변형일 가능성을 배제할 수 없긴 하지만, APOL1.vB3의 것 과 크기에서 유사하다. 분자량 예측 (**표 5**)으로부터, 이것은 어떤 다른 동종형도 나타낼 수 없었다. WT 발세포에서 vA 아래의 밴드는 아마도 분해 산물인데, 그 이유는 이것이 단지 산발적으로만 검출되기 때문이다 (**도 28a**와 비교한다).

도 29는 APOL1 동종형 및 APOL2 세포이하 위치를 요약하기 위한, 세포의 다이어그램을 도시한다. 상기 다이어그램은 APOL1 동종형의 국지화 및 상대적 존재비를 묘사한다 (APOL1 및 APOL2가 소수 변이체와 비교하여 불충분하게 나타내진다는 점에 주의한다). APOL1.vA (검은색), vB1 (스트립드) 및 약간의 vC (크로스 빗금)가 ER 내강 내에 있고 (내막과 결합됨), 그리고 낮은 비율의 각각이 원형질막으로 수송된다. 대조적으로, APOL1.vB3 (파선), APOL2 (체크무늬) 및 대다수의 APOL1.vC (크로스 빗금)가 ER의 세포질면 상에 있고 세포 표면 상에 있지

않다. 이러한 스케치는 BioRender로 작성되었다.

도 30a-30c는 qRT-PCR 및 제자리 혼성화 프로브의 *APOL* 특이성을 도시한다. **도 30a**는 qRT-PCR 프로브가 주로, 지정된 *APOL* 패밀리 구성원에 대해 특이적이라는 것을 보여준다. 각 가용한 *APOL* 패밀리 구성원에 대한 cDNA (cDNA 상제를 위해 표 3을 참조한다)를 시험함으로써, **도 21a** 및 **21c**에서 이용된 *APOL* qRT-PCR 프로브 (L1-L6)의 입증. 적색 막대는 각 프로브에 대한 동계 cDNA를 표시한다. 22보다 높은 C_t 값 (주기 역치)은 프로브가 cDNA와 반응성이 아니라는 것을 암시한다. 비록 L4 프로브가 *APOL3* cDNA와 약간 반응하는 것처럼 보이긴 하지만, 이것은 신장 및 발세포에서 완전히 음성이었기 때문에 (**도 21a** 및 **21c**), 이러한 교차반응성은 이러한 특정 목적에 문제가 되지 않는다. 1 ng DNA에서 2번의 독립된 실험으로부터 삼중물의 평균 및 SD가 도시된다.

도 30b는 *APOL1* ISH 프로브가 *APOL2*와 교차반응하지 않는다는 것을 보여준다. 다양한 FFPE 세포 펠렛이 **도 21b**에서 이용된 *APOL1*-C2 (적색) 프로브로 염색된다. 상기 프로브는 *APOL1* (a) 형질감염된 CHO 세포를 인식하지만 *APOL2* (b) 형질감염된 CHO 세포를 인식하지 않고, 그리고 미분화된 (c) 및 분화된 (e) 인간 영속화된 발세포에서 약한 신호를 제공하였는데, 이것은 IFN γ 자극 (24 시간 동안 100 ng/ml, (d)) 시에 크게 증가하였다. IFN γ -처리된 *APOL1* KO 발세포 (f)에서는 신호가 더 적었는데 (그러나 없지는 않음), 그 이유는 단지 하나의 대립유전자만 완전히 결실되고, 반면 다른 것은 단지 프레임 이동만 되기 때문이다 (하기 실시예 1). *APOL2*-CHO 세포는 IHC에 의해, *APOL2*를 발현하는 것으로 확인되었다 (데이터 제시되지 않음).

도 30c는 정상적인 인간 신장에 적용된 *DAPB*-C2 음성 대조 ISH 프로브 (**도 21b**에서 *APOL1*-C2 프로브와 동일한 실험에서)를 도시하고, 어떤 구별된 부점도 보여주지 않는다. 근위 소관에서 비특이적 적색 배경 염색은 신장 조직에서 이러한 ISH 방법을 이용한 적색 염료의 통상적인 인공물이고 프로브-특이적이지 않다 (이것은 **도 21b**, c에서도 목격되었다).

도 31a-31b는 항-*APOL1* 항체의 에피토프 태그를 이용한 *APOL* 특이성 및 공동국지화를 도시한다. **도 31a**에서, 결과를 확증하고 **도 22a-d**에서 세포가 실질적으로 형질감염되지 않았다는 것을 증명하기 위해, 태깅되지 않은 *APOL 1* 및 *2*, 또는 C 말단에서 myc-FLAG 태깅된 *APOL 3* 및 *6* 또는 *APOL4*-myc 형질감염된 COS 세포가 동일한 항-*APOL1* 항체로 염색되었을 뿐만 아니라 이들 모두 본 연구에서 다른 곳에서 이용되었다 (단지 녹색 통로만, Alexa488 항생쥐 또는 토끼). 형질감염되지 않은 COS 세포가 아래쪽 열에서 도시되고, 3.3A8 (핵) 및 3.6E10 (미토콘드리아)에 의한 비특이적 배경 염색을 보여준다; 이들 2개의 항체는 *APOL1*을 인식하지만 다른 *APOL*을 인식하지 않고, 따라서 *APOL1*-특이적으로 지정된다.

도 31b는 *APOL* 염색이 에피토프 태그와 공동국지화한다는 것을 보여준다. *APOL1* 및 *APOL2* 또한 C 말단에서 myc-FLAG 태깅되었다는 점을 제외하고, COS 세포가 **도 31a**의 경우에서와 같이 형질감염되었다. *APOL* (녹색)의 에피토프 태그 (적색): 항-*APOL1* rabmab의 경우 생쥐 항-FLAG-M2 또는 생쥐 항-myc 9E10 중 어느 하나; 또는 생쥐 항-*APOL1*과 함께 토끼 항-Myc 71D10과의 오버레이. 황색 신호는 2개의 항체가 중첩된다는 것을 표시한다 (다시 말하면 항-*APOL1*이 *APOL*와 교차반응한다); 적색 신호 (에피토프 태그 단독)는 교차반응성 없음을 표시한다. 임의의 공동국지화가 블리드-스루 (bleed-through) 인공물일 가능성을 배제하기 위해, Alexa647 항토끼 또는 생쥐가 이들 태그에 이용되었다. 인접한 형질감염되지 않은 세포에서 배경 염색의 평가를 가능하게 하기 위해, 희소하게 형질감염된 구역이 영상화되었다 - DAPI 핵 염색 (청색)은 형질감염되지 않은 및 형질감염된 세포 핵 둘 모두를 확인한다. 비-형질감염된 세포에서 녹색 신호는 비특이적 염색, 특히 3.3A8의 경우 강한 핵 염색 및 3.6E10의 경우 미토콘드리아 염색을 표시한다. 이들 항체 중 어느 것도 더 멀게 관련된 *APOL6*와 교차반응하지 않았다는 점에 주의한다. *, *APOL2*-myc-FLAG는 아마도 오점힘되는데, 그 이유는 이것이 태깅되지 않은 *APOL2* (**도 31a**와 비교한다)만큼, 여러 항체와 교차반응성이 아니기 때문이다. 상업적인 항체는 Sigma HPA018885, Epitomics EPR2907 (2) (Epito) 및 Proteintech 11486-2-AP (Ptech)이다. 교차반응성 결과는 표 4에서 요약된다.

도 32a-32c는 IHC 염색을 위한 rabmab 5.17D12의 검증 및 상업적인 항체와의 비교를 도시한다. **도 32a**는 0.25 μ g/ml에서 5.17D12로 염색된, *APOL1* 또는 *APOL2* cDNA로 형질감염되거나 또는 그렇지 않은 CHO 세포 (위쪽 열); 또는 IFN γ 로 24 시간 동안 처리되거나 또는 그렇지 않은 또는 *APOL1*에 대해 녹아웃된, 형질감염되지 않은 발세포 (아래쪽 열)의 FFPE 펠렛을 도시한다. *APOL2* 세포 펠렛은 IHC에 의해 3.6D12 및 Proteintech 다중클론에서 양성이었으나 (데이터 제시되지 않음), 성공적인 형질감염을 실증하였다.

도 32b는 0.5 μ g/ml 5.17D12로 염색된, 자체 프로모터 (왼쪽) 또는 비-유전자도입 한배 새끼 (오른쪽) 하에 *APOL1*을 발현하는 *APOL1-GO* 유전자도입 생쥐의 FFPE 신장을 도시한다. 눈금자는 50 μ m이다. 왼쪽 및 오른쪽에서 화살표는 발세포를 보여준다; 중심, 아래쪽 검은색 화살표는 사구체 내피를 보여준다. G, 사구체; PT, 근위

소관.

도 32c는 2 $\mu\text{g/ml}$ 에서 상업적인 Sigma (HPA018885) 및 Proteintech (11486-2-AP) 항-APOL1 다중클론 항체로 염색된 정상적인 인간 신장을 도시한다. 양쪽 항체는 근위 소관, 사구체 및 혈관구조에서 비특이적 결합을 보여준다. 신호 대 잡음 비율을 향상시키는 것을 목표로 하는 항체 적정 검정은 성공적이지 않았다 (도시되지 않음). Sigma 항체는 최근 로트 (E105900)인데, 이것은 이전 로트만큼 강하거나 또는 깔끔하지 않다. 양쪽 이미지는 동일한 배율에서 도시되고, 그리고 눈금자는 50 μm 이다.

도 33a-33b는 간에서 APOL1의 발현을 도시한다. 왼쪽 패널에서 **도 33a**는 도 21b, f에서 신장과 동일한 실험에서 APOL1 mRNA (적색 C2 프로브, 화살표) 및 PVLAP 단백질 (녹색)에 대해 공동염색된 정상적인 인간 간을 도시한다. 간 RNA 신호는 아마도 APOL1-양성 간세포 (참조: **도 33b**)가 대다수의 간 신호를 포함하고, 반면 사구체가 총 신장 중 단지 약 2%만을 구성하기 때문에, RT-PCR (데이터 제시되지 않음) 및 웨스턴 블로팅에 의한 유사한 신호에도 불구하고, 신장에서보다 예상치 않게 약하다. 오른쪽 패널에서 **도 33a**는 음성 대조 DAPI-C2 프로브로는 어떤 신호도 목격되지 않는다는 것을 보여준다. 눈금자는 20 μm 이다.

도 33b는 정상적인 인간 신장 (위쪽) 및 간 (아래쪽)이 **도 23**의 경우에서와 같이 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 토끼 5.17D12 항-APOL1 또는 아이소타입 대조로 염색되었다는 것을 보여준다. APOL1이 간세포에서 중심-소엽 패턴으로 목격되는데, 여기서 강도는 신장 사구체에서보다 약하다. 눈금자는 5x 패널 (왼쪽)에서 200 μm 및 20x 패널에서 50 μm 이다.

도 34는 일시적으로 형질감염된 APOL1-G0, G1과 G2 및 APOL2 모두가 COS7 세포의 ER과 결합된다는 것을 보여준다. COS7 세포가 43 시간 동안 형질감염되고, PFA 고정되고, 트리톤 X-100으로 투과화되었다. APOL1의 경우 1 $\mu\text{g/ml}$ 생쥐 4.17A5 또는 APOL2의 경우 3.6D12 (+ Alexa488 항생쥐, 녹색 통로)로 APOL1 염색이 위쪽에 도시되고, 중간 열과 오버레이에서 ER-특이적 샤프론 토끼 항-칼넥신 (+ Alexa647 항토끼, 적색 통로)이 아래쪽에 도시되는데, 여기서 공동국지화는 황색으로 나타난다. DAPI 핵 염색은 청색이다. 눈금자는 15 μm 이다. 유사한 APOL1 공동국지화가 다른 ER-특이적 샤프론, 단백질 이황화물 이성화효소로 획득되었다 (데이터 제시되지 않음).

도 35는 일시적으로 형질감염된 APOL1이 IF에 의해, COS7 세포 내에서 ER 이외의 구획에서는 검출되지 않는다는 것을 보여준다. COS7 세포가 43 시간 동안 APOL1로 형질감염되고, PFA 고정되고, 그리고 트리톤 X-100 투과화에서 더 잘 작용하는 시토크롬 c로 공동염색을 제외하고, 사포닌으로 투과화되었다. 토끼 3.7D6 (또는 토끼 항-칼넥신 및 페리리핀-2 공동염색의 경우 뮤린 4.17A5, 적색 통로)로 APOL1 염색이 왼쪽에 도시되고, 녹색 (중심)에서 구획 마커 및 오른쪽에 병합이 도시되는데, 여기서 임의의 중첩은 황색으로 나타난다. APOL1은 칼넥신에 대한 ER 항체와 광범위하게 명백히 중첩된다. APOL1의 후기골지망 마커 p230 (Golgin-245); 초기 엔도솜 자가항원 1 (EEA1); 후기 엔도솜 및 리소솜 마커 LAMP1; 재생 엔도솜 마커 트랜스페린 수용체 (TfR); 미토콘드리아 막 사이 공간 마커 시토크롬 c (Cyt C); 또는 페리리핀-2 (PLIN2, Proteintech 15294-1-AP, 도 36에서 입증됨)와의 중첩은 없거나 또는 매우 적었다. 심지어 지질 방울을 증강하기 위한 올레산 처리에서도, APOL1은 세포가 높은 또는 낮은 수준의 APOL1 또는 페리리핀-2를 발현하는지에 상관없이, COS 세포에서 지질 방울에 재배치되지 않았다 (**도 37a**). 눈금자는 15 μm 이고, 그리고 삽도는 각 항체 쌍에 대해, 중첩의 가장 "황색" 구역 (상자형), 일반적으로 핵주위 영역의 3x 배율을 보여주는데, 이것은 ER을 제외하고 임의의 구획과의 의미 있는 중첩의 결여를 확증한다. APOL1의 미토콘드리아 소관과의 간헐적인 외견상 부분적인 중첩이 목격되지만, 삼중 염색은 이런 소관의 또한 칼넥신과의 "공동국지화"를 드러내는데 (데이터 제시되지 않음), 이것은 ER 및 미토콘드리아가 아마도, 상기 위치에서 동일한 미소관 트랙을 공유하고 단순히 이러한 에피형광 현미경 (AxioM2)만으로는 해소될 수 없다는 것을 암시한다. 다른 구획 마커 항체의 검증은 실시예 2에서 설명된다.

도 36a-36b는 토끼 항-페리리핀-2 항체의 검증을 도시한다. **도 36a**는 2개의 항-페리리핀-2 항체가 형질감염된 COS 세포의 면역형광에 의해, 형질감염된 페리리핀-2 (PLIN2)를 인식한다는 것을 보여준다. COS 세포가 45 시간 동안 인간 PLIN2로 일시적으로 형질감염되고, 이후 PFA 고정되고 사포닌 (위쪽) 또는 트리톤 X-100 (아래쪽)으로 투과화되었다. 토끼 항-페리리핀-2 (1.74 $\mu\text{g/ml}$ 의 Proteintech 15294-1-AP, 녹색; 왼쪽) 및 생쥐 항-페리리핀-2 mAb ADFP-5 (3.3 $\mu\text{g/ml}$ 의 Sigma SAB4200452, 적색; 중심) 둘 모두 양쪽 투과화 방법에서, 형질감염된 세포질 페리리핀-2를 목격한다. 하지만, 작은 반점 또는 고리 (화살표)로서 나타나는, 지질 방울 상에서 내인성 페리리핀-2는 단지 사포닌으로만 검출되고 트리톤 X-100 (이것은 이전에 보고된 바와 같이 페리리핀-2 결합 지질을 추출한다)으로는 검출되지 않는다.² ADFP-5 항체가 골지를 추가적으로 염색하는데 (화살표; 항- β 4GALT3과의 공동국지화 (데이터 제시되지 않음)), 이것은 Proteintech 다중클론으로는 목격되지 않는다. 그래서

Proteintech 항-페리리핀-2가 선호되는데, 그 이유는 이것이 지질 방울에 대해 더 선택적일 뿐만 아니라 더 민감하기 때문이다 (참조: 도 36c).

도 36b는 토끼 항-페리리핀-2가 웨스턴 블로팅에 의해, 페리리핀-2를 인식한다는 것을 보여준다. 형질감염되지 않은 (UT) 또는 페리리핀-2 (*PLIN2*)-형질감염된 COS 세포가 마지막 21 시간 동안 10% BSA에서 35 μ M 올레산 (OA)과 함께 (+) 또는 이것 없이 (-) 40 시간 형질감염 후 용해되었다 (-는 10% 지방산-없는 BSA 운반제를 표시한다). 용해물이 10 % 트리스-글리신 겔에서 0.08 μ g/ml 토끼 항-페리리핀-2 (Proteintech 15294-1-AP)로 웨스턴 블로팅되었다. 희미한 이중항 밴드 (여러 배경 밴드보다 덜 강렬함)가 형질감염되지 않은 세포에서 54 kDa 주변에서 목격되고, 상기 밴드는 OA 처리 이후에 더 강렬해지며, 그리고 *PLIN2*-형질감염 후 훨씬 강렬해지는데, 이것은 상기 밴드가 페리리핀-2를 나타낸다는 것을 강하게 암시한다.

도 36c는 페리리핀-2 염색이 형질감염되지 않은 COS 및 발세포에서 지질 방울을 둘러싼다는 것을 보여준다. 형질감염되지 않은 COS (위쪽) 및 분화된 발세포 (아래쪽)에서 페리리핀-2 고리가 지질 방울이라는 것을 실증하기 위해, 세포가 25 μ M 및 100 μ M 올레산으로 각각, 22 시간 동안 처리되고, 이후 면역형광 (PFA/사포닌 방법)을 위해 가공되었다. 토끼 항-페리리핀-2 (그 이후에 Alexa647-항토끼, 적색)에 대한 염색 후, 지질 방울에서 지질이 1 μ g/ml BODIPY 493/503 (DMSO에서 Molecular Probes D3922의 1 mg/ml 스톡으로부터; 녹색 통로)으로 30 분 동안 표지화되고, 세척되고, PFA에서 후위 고정되었다. 화살표는 BODIPY에 의해 염색된 중성 지질을 둘러싸는 내인성 항-페리리핀-2의 실례를 표시한다. 삽도는 상자형 영역의 3x 배율이다.

도 36d는 내인성 페리리핀-2가 분화된 발세포의 웨스턴 블로팅에 의해 검출된다는 것을 보여준다. 도 36b의 경우에서와 같이 용해 및 토끼 항-페리리핀-2로 웨스턴 블로팅 전 마지막 24 시간 내에 100 nM 안지오텐신-II (AngII) 및/또는 100 μ M 올레산과 함께 또는 이것 없이, APOL1을 상향조절하기 위해 발세포가 42 시간 동안 IFN γ 로 처리되었다. 오른쪽 레인은 동일한 겔에서 이동되지만, 모든 항체를 빨아들이는 것을 방지하기 위해 별개로 절단되고 블로팅된, 크기 마커로서 도 36b로부터 PLIN2-COS (비-OA 처리된) 샘플이다 (개재성 레인이 제거되었다). 형질감염된 페리리핀-2와 동일한 크기로 이동하는 54 kDa 밴드가 예상한 바와 같이, 안지오텐신-II 처리 이후에 강도에서 약간 증가하고 (실시예 2, 참고문헌 109), 그리고 올레산 처리 이후에 훨씬 증가하는데, 이것은 상기 밴드가 실제로 페리리핀-2이라는 것을 암시한다. 잘못이 벗겨지고, 그리고 APOL1 수준이 이들 처리에 의해 영향을 받지 않는다는 것을 보여주기 위해, 토끼 3.1C1/3.7D6 항-APOL1로 재탐침되었다. 튜불린 (mAb 1A 2)이 부하 대조로서 역할을 한다.

도 37a-37b는 APOL1이 올레산 처리된 세포 내에 지질 방울에서 목격되지 않는다는 것을 보여준다. 도 37a는 태깅되지 않은 APOL1로 45 시간 동안 일시적으로 형질감염되고 마지막 16 시간 동안 30 μ M 올레산으로 처리된 COS 세포를 도시한다. 세포가 이후, 6 μ g/ml 쥐 4.17A5 항-APOL1 (+Cy3 항-쥐) 및 생쥐 항-페리리핀-2 (+Alexa488 항생쥐)를 이용한 PFA/사포닌 면역형광을 위해 가공되었다. 높고 낮은 수준의 APOL1 형질감염 및 높고 낮은 수준의 페리리핀-2 염색을 나타내는 세포가 도시되는데, 국지화에 영향을 줄지도 모르는 C 말단 RFP 태그를 이용한 선행 연구와 달리, 어떤 경우에도 지질 방울의 표면 상에서는 APOL1의 페리리핀-2와의 공동국지화가 없었다 (실시예 2, 참고문헌 74).

도 37b는 APOL1이 심지어 지질 방울이 올레산으로 확대될 때에도 발세포 ER 내에 머무른다는 것을 보여준다. 분화된 WT 발세포가 24 시간 동안 지질 방울 형성을 증강하기 위한 150 μ M 올레산 (및 APOL1을 자극하기 위한 100 ng/ml IFN γ)으로 처리되고, 그리고 3 μ g/ml 생쥐 항-APOL1 4.17A5 (+Cy3 항생쥐), 토끼 항-칼넥신 (+Dy649 항토끼)을 이용한 면역형광 (PFA/TX-100)을 위해 가공되었다. 지질 방울이 1 μ g/ml BODIPY 493/503 (녹색, Molecular Probes D-3922)으로 투과화 후 15 분 동안 염색되었다. 삽도는 상자형 구역의 3x 배율이다. APOL1이 칼넥신과 공동국지화된 상태로 남아있고 (병합에서 자홍색), 그리고 단백질 중 어느 것도 BODIPY-양성 지질 방울의 외부로 분류되지 않는다.

도 38a-38b는 안정되게 형질감염된 APOL1 G0, G1과 G2 및 APOL2 모두 발세포에서 ER과 결합된다는 것을 보여준다. 도 38a에서, 독시사이클린 유도성 APOL1 발세포 ("*iAPOL1*" 발세포 (하기 실시예 1에서 설명된 바와 같이 만들어진)의 안정된 풀이 10 ng/ml 독시사이클린으로 20 시간 동안 유도되고, PFA 고정되고, 트리톤 X-100으로 투과화되었다. 왼쪽에 1 μ g/ml 생쥐 4.17A5로 APOL1 염색 (녹색 통로), 토끼 항-칼넥신 (Ab22595, 적색, 중심) 및 오른쪽에 병합이 도시되는데, 여기서 건설한 공동국지화는 황색으로 나타나고 핵 DAPI는 청색이다. 세포가 회전 디스크 공조점 현미경검사에 의해 영상화되었다. 눈금자는 40 μ m이다.

도 38b는 도 38a의 경우에서와 같이, 칼넥신 (청색)에 더하여 생쥐 IgG1 항-시토크롬 c (적색 통로)로 매우 동일한 *iAPOL1-G0* 발세포의 삼중 표지화가 APOL1 (L1, 녹색에서)의 미토콘드리아와의 공동국지화가 거의 없다는

것 (오른쪽 상단 병합에서 황색 염색의 결여)을 드러낸다는 것을 보여준다. 이차 항체는 Alexa488 항-IgG2a (APOL1의 경우, "L1"), Alexa555 항-IgG1 (시토크롬 c의 경우, "Cyt C") 및 Dy649 항토키 (칼넥신의 경우, "Cnx")이었다. 삼중 병합은 왼쪽 아래에 있으며, 상자형 구역은 아래쪽 중심 패널에서 3x 확대된다. 두드러지게 청록색 신호는 APOL1 (녹색)의 칼넥신 (청색)과의 탁월한 중첩 및 황색이 거의 없음 (APOL1/시토크롬 c 중첩)을 표시한다. 삼중 중첩의 극소수의 구역이 흰색인데, 이것은 ER에서 APOL1이 미토콘드리아에 매우 근접하게 위치한다는 것을 드러낸다. 별개의 통로가 아래쪽 중심 패널에서 상자형 구역에 대해 도시된다 (2x 추가 확대됨). 오른쪽 아래: 이들 *APOL1* 녹아웃 (KO) 발세포에서 4.17A5 신호 (녹색)의 부재를 보여주는 유도되지 않은 *iAPOL1-GO* 세포; DAPI는 청색이다. 미토콘드리아 중첩의 유사한 결여가 *iAPOL1-G1* 및 *G2*에 대해 획득되었다 (도시되지 않음). 눈금자는 30 μ m이다.

도 39a-39d는 면역전자 현미경검사에 의한, 발세포에서 ER로의 APOL1 국지화 (그러나 미토콘드리아에서는 그렇지 않음)의 추가 실례를 도시한다. 심지어 ER 및 미토콘드리아가 가깝게 병렬되는 곳, 다시 말하면 미토콘드리아 연관된 막 (MAM)의 경우에도, APOL1이 ER에서 머무르고 미토콘드리아에서는 검출되지 않는다는 것을 보여준다. 도 24의 경우에서와 같은 5.17D12 (**도 39a-39c**), 또는 3.6E10 (**도 39d**)으로 염색된 유도된 *iAPOL1-GO* 발세포의 핵주위 영역. 눈금자는 200 nm이다. **도 39e 및 39f**는 임의의 구역에서 APOL1 iEM 염색 (5.17D12 항체로)의 결여를 보여주는 음성 대조 유도되지 않은 *APOL1* KO 발세포를 도시한다. 화살표, 간헐적 배경 금 입자. *, ER 내강. L, 리소좀. M, 미토콘드리아. N, 핵. NE, 핵 피막. 눈금자는 200 nm이다.

도 40a-40d는 분별 및 iEM 에 의한, APOL1이 MAM의 ER 내에 있고 미토콘드리아 내에 있지 않다는 확증을 도시한다. **도 40a**는 4-20% 트리스-글리신 겔에서 IFN γ -처리된 WT 발세포 (ER 역시 5 μ g으로 부하된다)로부터 ER, MAM 및 미토콘드리아의 Percoll 구배 분리로부터 10 μ g의 각 분획물의 웨스턴 블롯을 도시한다. 위쪽에서 아래쪽으로, 마커는 칼넥신 (ER 막), 칼레티쿨린 (ER 내강), TOM20 (미토콘드리아 외막), 시토크롬 c (미토콘드리아 막 사이 공간), 미토푸신-2 (MAM), GM130 (골질 기질), 튜불린 (시토플), APOL1 (토끼 3.1C1/3.7D6으로 탐침됨) 및 APOL1+2 (Proteintech; 2회 노출이 도시됨)이다. APOL1은 예상한 바와 같이, ER 분획물에서 가장 풍부하지만, MAM 및 정도가 덜하긴 하지만 미가공 미토콘드리아에서도 발견되었다 (Shah et al.와 합치) (실시예 2, 참고문헌 94). 하지만, 이것은 심지어 긴 노출 및 더 높은 부하에서도, 정제된 미토콘드리아에 완전히 부재하였다 (아래쪽 열 및 데이터 제시되지 않음). 일부 ER 막은 초음파처리 동안 파괴되었을 수 있는데, 그 이유는 필수적인 막 칼넥신은 그렇지 않지만, 가용성 칼레티쿨린 또한 세포질 분획물에서 농축되기 때문이다. 일부 APOL1이 세포질 분획물에서 목격되기 때문에, 이것은 내부 ER 막 APOL1이 주변적으로 부착되고 산성 골지를 통한 수송 동안 통합될 수 있다는 개념을 잠재적으로 뒷받침한다. 원형질막은 분석되지 않았는데, 그 이유는 표면 APOL1이 세포를 수확하는 데 이용된 트립신에 의해 완전히 전폐되기 때문이다 (FACS에 의해 사정됨, 데이터 제시되지 않음). APOL2는 ER의 세포질면으로의 국지화와 일관하게, ER 분획물에서 가장 풍부하지만, APOL1보다 세포질에서 상대적으로 더 많고 MAM 및 분획물에서 더 적다. MAM 분획물은 예상한 바와 같이, MAM 마커 미토푸신-2에 대해 농축되었고, 그리고 또한 2개의 ER 단백질을 내포하지만 TOM20 외막 미토콘드리아 마커를 내포하지는 않았다 (실시예 2, 참고문헌 83). 골지 막 (GM130-양성) 또한 ER 분획물 내에 존재하였다.

도 40b-40d는 분별과 일관하게, MAM (미토콘드리아 연관된 막, ER의 서브도메인)의 미토콘드리아가 APOL1을 결합한다는 것을 보여주는, *iAPOL1-GO* 발세포 (**도 40b**) 및 일시적으로 *APOL1*-형질감염된 HEK293 세포 (**도 40c-d**) 내에 미토콘드리아 연관된 막 (MAM)에서 APOL1의 iEM을 도시한다. APOL1은 양쪽 세포 유형에서 MAM의 ER 내강의 내부에는 있지만, 연관된 미토콘드리아 내에는 있지 않다. 2개의 가장 강한 APOL1-특이적 항체, 5.17D12 (**도 40b**) 및 3.6E10 (**도 40c-d**)을 이용하여 Immunogold 표지화가 실행되었다. *, ER 내강. 화살표, 발세포에서 APOL1 금 입자. IMM & OMM, 내부 및 외부 미토콘드리아 막. 눈금자: 100 nm (**도 40b**), 200 nm (**도 40c-d**).

도 41a-41b는 내인성 APOL1이 또한, 미분화된 발세포에서 ER-국지화된다는 것을 보여준다. **도 41a**는 PFA 고정되고, 사포닌 투과화되고, 도 24d에서 이용된 것에 대한 독립된 항-APOL1 항체, 2 μ g/ml 뮤린 4.17A5 (+ Alexa488 항생제; 녹색) 및 토끼 항-칼넥신 + Cy3 항토키 (적색)로 공동염색된, 분화된 WT (위쪽) 또는 *APOL1* KO (아래쪽) IFN γ -자극된 발세포를 도시한다. 병합에서 황색은 이들 2개의 단백질의 좋은 공동국지화를 드러낸다. 4.17A5는 또한 *APOL1* KO 발세포 내에 일부 핵에서 (및 일부 WT 핵에서, 여기에서 명확하지는 않음) 비특이적 얼룩을 목격한다는 점에 주의한다. 눈금자는 40 μ m이다. **도 41b**는 미분화된 발세포 및 ER 마커로서 토끼 항 단백질 이황화물 이성화효소 (PDI)를 제외하고, 도 41a의 경우에서와 유사한 데이터를 도시한다. 병합 (오른쪽)에서 황색은 공동국지화를 표시하고, DAPI는 청색이다. 비록 ER이 일반적으로 미분화된 세포에서보다 분화된 세포에서 모든 마커에 대해 덜 망상인 것으로 보이긴 하지만, 내인성 APOL1의 ER 국지화가 발세포 분화 시에 변경되지 않는다 (**도 43**과 또한 비교한다).

도 42는 내인성 간 세포 APOL1이 IF에 의해, ER 이외의 구획 내에서는 검출되지 않는다는 것을 보여준다. JHH-1 세포가 24 시간 동안 100 ng/ml IFN γ 로 처리되고, PFA-고정되고, 사포닌 투과화되고 (트리톤 X-100에서 가장 잘 작용하는 시토크롬 c 제외), 이후 토끼 항-APOL1 5.17D12 (그 이후에, Alexa488 항토끼, 녹색) 및 뮤린 구획 마커 항체 (적색) (Cy3 항생쥐와 함께)로 공동염색되었다. 생쥐 항-GM130이 (시스)-골지에 이용되고; 생쥐 항-칼넥신 (클론 37)이 ER에 이용된 점을 제외하고, 동일한 입증된 구획 마커가 **도 35**의 경우에서와 같이 이용되었다. 지질 방울 (LD)이 토끼 항-페리리핀-2로 염색되었고, 따라서 뮤린 4.17A5가 이들 패널에서 APOL1에 이용되었다. 내인성 APOL1은 심지어 21 시간 동안 100 μ M 올레산 (10% 지방산-없는 BSA에서 NuChekPrep로부터) (LD+OA)으로 이러한 구획의 축적 이후에도, 미토콘드리아, 골지, 초기 또는 후기 엔도솜/리소솜에서만뿐만 아니라 지질 방울에서 검출되지 않는다. 눈금자는 40 μ m이다. 유의미한 APOL1 중첩을 갖는 유일한 구획 (병합에서 황색 신호)은 ER이다.

도 43은 내인성 발세포 APOL1이 IF에 의해, ER 이외의 구획 내에서는 검출되지 않는다는 것을 보여준다. 분화된 WT 발세포가 **도 42**에서 JHH-1 세포의 경우에서와 같이 염색되었다. APOL1 (및 칼넥신)의 지질 방울과의 결합의 결여 결과가 지질 방울의 독립된 마커, BODIPY (**도 37b**)를 이용하여 실증되었다.

도 44a-44b는 삼중 표지화가, 발세포에서 내인성 APOL1이 미토콘드리아에 특이적으로 표적화되지 않는다는 것을 확증한다는 것을 보여준다. **도 44a**는 IFN γ - 자극된 WT (위쪽) 또는 *APOL1* KO (아래쪽) 발세포가 PFA 고정되고, 사포닌 투과화되고, 그리고 쥐 항-APOL1 4.17A5 (생쥐에 대하여 고도로 교차흡착된 + Cy3-항 쥐 (Jackson 712-166-153)), 토끼 항-칼넥신 (+ Alexa647 항토끼 (Jackson 711-606-152), 청색) 및 생쥐 항 시토크롬 c (쥐에 대하여 교차흡착된 + Alexa488 항생쥐 (Jackson 711-546-151), 녹색)으로 삼중 염색되었다는 것을 보여준다. 병합은 APOL1이 칼넥신과 중첩되는 자홍색 염색 및 황색 염색 없음 (이것은 APOL1이 단지 시토크롬 c하고만 중첩되는 경우에 발생할 것이다)을 보여준다. ER 및 미토콘드리아가 중첩되는 것처럼 보이는 제한된 삼중 양성 구역은 흰색이다. 이들 데이터는 비록 APOL1이 가끔, 미토콘드리아 및 ER이 너무 가까워 풀어지지 않는 구역에서 미토콘드리아 내에 있는 것처럼 보이긴 하지만, 이것이 미토콘드리아에 특이적으로 표적화되지 않는다는 것을 암시한다. 4.17A5 항체에서 신호를 결여하는 *APOL1* KO 세포 (아래쪽 패널)는 외견상 미토콘드리아 및 ER 중첩의 구역 (주로 막-풍부한 핵주위 영역에서)을 청록색으로 드러낸다. 눈금자는 40 μ m이다.

도 44b는 미토콘드리아 중첩의 결여가 단지 컬러 검출 치우침이 아니도록 담보하기 위해, 이차 항체 형광단이 칼넥신 (Alexa488 항토끼 (Jackson 711-546-152), 녹색) 및 시토크롬 c (Alexa647 항생쥐 (쥐에 대하여 교차흡착됨; Jackson 715-606-151), 청색)에 대해 교환되었다는 점을 제외하고, **도 44a**의 경우에서와 동일하다. 이 경우에 있어서, 병합은 자홍색 (미토콘드리아 단독) 중첩보다는 ER에서 APOL1에 대한 풍부한 황색 신호 (또는 흰색 삼중 중첩)를 보여준다. 다시 한 번, *APOL1* KO 세포의 병합에서 청록색은 ER 및 미토콘드리아가 가깝게 병렬되는 곳을 표시한다. 눈금자는 40 μ m이다.

도 45a-45b는 내인성 발세포 APOL1이 MAM에 인접한다는 것을 보여준다. **도 45a**는 고정되고 (5 분 동안 -20°C에서, MAM 마커에 대한 최고 프로토콜, 그러나 APOL1에 대해 준최적), 그리고 APOL1 (적색) (2 μ g/ml 5.17D12 (위쪽) 또는 3 μ g/ml 4.17A5 (아래쪽)) 및 MAM 마커 생쥐 항-미토포신-2 mab 6A8 (1 μ g/ml에서 Ab56889; 위쪽) 또는 토끼 항-FACL4 (1 μ g/ml에서 Ab137525; 아래쪽) (녹색)에 대해 공동염색된, 미분화된 WT 발세포 메탄올을 도시한다. DAPI와의 병합은 오른쪽에 도시되고, 그리고 삽도는 개별 상자형 구역의 3x 배율이다. **도 45b**는 2개의 MAM 마커 (녹색)가 ER (칼넥신; 위쪽)보다 미토콘드리아 (시토크롬 c; 아래쪽)와 더 중첩된다는 것을 보여준다 (둘 모두 적색). 삽도는 개별 상자형 구역의 3x 배율이다.

도 46a-46b는 내인성 APOL1 및 APOL2가 발세포에서 막의 대향면 상에 있으며, APOL2가 대다수의 신호를 포함한다는 것을 보여준다. **도 46a**는 PFA 고정되고, 사포닌으로 완전히 (위쪽) 또는 디기토닌으로 원형질막에서만 (아래쪽; **도 26a** 참조) 투과화되고, 그리고 APOL1-특이적 5.17D12 (왼쪽 2개의 칼럼) 또는 APOL2-교차반응성 Sigma HPA018885 (오른쪽 2개의 칼럼), 둘 모두 그 이후에 Alexa488 항토끼로 염색된, IFN γ -처리된 WT 또는 *APOL1* KO 발세포를 도시한다. 내인성 APOL1은 ER의 내부에 있는데, 그 이유는 사포닌으로 목격되는 망상 ER 신호가 디기토닌 투과화 후 핵 피막 신호로 대체되어, 핵막과 인접한 ER에서 내강 APOL1을 나타내기 때문이다; 예상한 바와 같이, 양쪽 신호는 APOL1-의존성이고 KO 세포에서 부재한다. 대조적으로 망상 ER 패턴은 Sigma 항체를 이용하면 양쪽 세정제에서 분명한데, 그 이유는 이것이 내강 APOL1에 더하여 세포질에서 정향된 APOL2를 인식하기 때문이다. *APOL1* KO 발세포에서 Sigma 항체 신호는 당연히 모두 APOL2이다. 실제로, WT 발세포에서 극대 다수의 Sigma 항체 신호 역시 APOL2인데, 그 이유는 첫째로 총 신호가 사포닌 투과화된 세포에서 WT와 비교하여 *APOL1* KO 발세포에서 별로 축소되지 않고; 그리고 두 번째로 디기토닌-투과화된 WT 세포에서 핵막 APOL1 신호가 ER의 외부면에서 APOL2 신호보다 훨씬 약하기 때문이다. 이것은 웨스턴 블로팅에 의해 목격된 더 강한 APOL2 밴

드와 일치한다 (도 21d, 22b). 디기토닌-투과화된 발세포에서 APOL1에 대해 검출된 엔도솜 또는 리소솜 염색이 없었다는 점에 주의한다 (오버레이에 대해 도 52를 참조한다). 도 46b는 APOL2-교차반응성 인하우스 mAb 3.6D12 (Alexa488 항생쥐로 검출됨)가 WT 및 *APOL1* KO 발세포 둘 모두의 디기토닌 투과화 후 Sigma 항체에 대해 ER의 세포질면의 유사한 염색을 보여준다는 것을 보여주고, KO 세포에서 ER 신호가 APOL2이라는 것을 확증한다.

도 47a-47b는 APOL1이 *iAPOL1* 발세포에서 세포 표면에 도달하고 발현 수준에 따라서 증가한다는 것을 보여준다. 도 47a는 10 ng/ml 독시사이클린으로 유도되고, 도 25b의 경우에서와 같이 항체 3.6D12와 함께 얼음 위에서 배양되고, 이후 고정되고 Alexa488 항생쥐로 염색된 살아있는 *iAPOL1-GO*, *G1* 및 *G2* 발세포를 도시한다. *iAPOL1-GO*, *G1* 및 *G2* 사이에 원형질막 염색에서 차이가 없었다. UI는 유도되지 않은 *iAPOL1-GO* (다시 말하면 *APOL1* KO) 세포인데, 이들은 표면 APOL1을 결여한다. 도 47b는 *iAPOL1-GO* 발세포 상에서 0 내지 7.5 ng/ml의 독시사이클린 용량 반응을 제외하고, 도 47a의 경우에서와 동일하다. 마지막 패널은 FACS 데이터와 합치하게, *iAPOL1-GO* 세포에서 1 ng/ml 독시사이클린과 유사한 표면 신호를 보여주는, IFN γ -자극된 WT 발세포에서 내인성 APOL1을 보여준다 (참조: 도 13c).

도 48a-48c는 iEM에 의한, APOL1 및 APOL2의 내부면 대 외부 ER 막 면 국지화의 정량을 도시한다. 도 48a는 금 입자 정량 기준의 계통도를 도시한다. 시토졸은 청색으로 묘사되고, ER 내강은 황색으로 묘사되고, 그리고 ER 막은 리보솜 (청색 난원형)이 산재된 외부 (세포질) 막 면 (OMF) 및 내부 (내강) 막 면 (IMF)이 표시된 7 nm 인지질 이중층으로 묘사된다. 중심에서 20 nm 너비 담청색 구역에서만 아니라 외부 ER 막 침관 상에 위치한 10 nm 금 입자는 OMF 상에서 표지로서 채점되었고; 중심에서 20 nm 너비 담황색 구역에서만 아니라 내부 ER 막 침관 상에 위치한 금 입자는 IMF 상에서 표지로서 채점되었다. 중심에서 어두운 황색 구역에 위치한 금 입자는 ER 내강의 경우에서와 같이 채점되었다. 담청색 및 황색 구역의 너비는 대략 25 nm 길이인, 항체-단백질-A-10 nm 금 입자 복합체의 크기의 함수로서 선택되었다. 배양의 종료 시점에서, 표지화된 절편의 건조 시에, 결합된 금 입자가 절편 상에서 무작위 방향으로 침전된다. 막이 선명하게 보이는, 직각으로 절단된 ER 수조 상에서 금 입자만 정량되었다. 발세포에서 APOL1의 정량을 위해, 60 nm의 최소 내강 너비를 갖는, 직각으로 절단된 ER 수조의 스트레치 상에서 금 입자만 샘플링되었다.

도 48b는 *APOL1* (3.3A8로 표지화됨, 왼쪽) 또는 *APOL2* (3.5C10으로 표지화됨, 오른쪽)로 일시적으로 형질감염되고 10 nm 단백질 A-금으로 검출된, 파라포름알데히드/글루타르알데히드 고정된 HEK-293 세포의 대표적인 전자현미경사진을 도시하고, 양쪽 단백질의 ER 국지화를 보여준다. *, ER 내강; M, 미토콘드리아; N, 핵; NE, 핵 피막; 화살표, 미토콘드리아 막에 매우 근접하게 위치한, ER-결합된 금 입자. 눈금자는 100 nm이다.

도 48c는 ER-결합된 금 입자의 정량이 HEK-293 세포의 ER 막 내에 APOL1 및 APOL2에 대한 차별적 분포를 드러낸다는 것을 보여준다. *APOL1*-293 세포가 항-APOL1 mAb 3.6E10 (SRA-ID에 대한, 속이 찬 사각형 (n=97)) 또는 3.3A8 (MAD에 대한, 속이 빈 사각형 (n=173))로 표지화되었다. *APOL2*-293 세포 (청색)가 항-APOL2 교차반응성 PFD mAb 3.5C10 (속이 찬 원 (n=254)) 또는 4.2C4 (속이 빈 원 (n=264))로 표지화되었다. 금 입자가 (A)에서 개설된 바와 같이 정량되었다; n은 각 항체에 대해 계수된 금 입자의 총수를 표시한다. 대다수의 APOL1은 2가지 상이한 도메인에 대한 항체와 함께 내막 면과 결합되었으며, 발세포가 HEK-293 세포보다 훨씬 넓은 ER 수조를 가짐에도 불구하고, 분포가 발세포에서 발견된 것과 거의 동일하였다 (도 26c와 비교한다). 대조적으로, 양쪽 항-APOL2 항체가 IF에 의해 목격된 세포질 접근성과 합치하게, ER의 외부, 세포질면에 더 가깝게 명확하게 분포되었다 (도 26b). 항체 교차반응성의 검증을 위해 도 31a-b를 참조한다; 이들 4개는 iEM을 위해 바람직한 파라포름알데히드 및 글루타르알데히드 고정에서 가장 강하게 작용하였다.

도 49a-49c는 RT-PCR에 의한, 분화된 WT 발세포에서 *APOL1* 동종형의 상대적 존재비의 정량을 도시한다. 도 49a는 APOL1 및 qRT-PCR 프로브 위치의 상이한 N 말단 스플라이스 동종형의 정렬을 도시한다. 동종형 APOL1.vA (참조 서열 또는 v1로 또한 알려져 있음) (서열 번호: 217), vB1 (v2) (서열 번호: 218), vB3 (v2-3) (서열 번호: 219) 및 vC (v4) (서열 번호: 220)가 각 엑손을 부각시키는 상이한 명암에 맞추어 정렬된다. 주된 동종형 vA (398개 aa 길이)는 엑손 3 및 4를 발현하고, 따라서 이들 2개의 엑손을 포괄하는 프로브 A (Hs01066280_m1)에 의해 검출된다. 동종형 vB1 (414개 aa)은 동종형 vA와 비교하여 엑손 2에 의해 인코딩된 추가의 N 말단 16개 aa를 갖고, 따라서 프로브 A뿐만 아니라 엑손 2-3 경계에 걸쳐 있는 프로브 B (APT29XR_m1)에 의해 인식된다. 동종형 vB3 (396개 aa)은 vB1과 동일한 N 말단 연장을 발현하지만, 신호 서열 개열 부위를 갖는 엑손 4를 결여하고, 따라서 프로브 B 및 엑손 3-5 경계에 걸쳐 있는 프로브 C (Hs_01060189_m1)에 의해 인식된다. 동종형 vC (380개 aa)는 엑손 2 및 4 둘 모두를 결여하고, 따라서 단지 프로브 C에 의해서만 인식된다. 엑손 4에 의해 인코딩된 정상적인 신호 서열 개열 부위 (VRA/EE) (vA의 aa 27 뒤에)는 따라서, vB3 및 vC에 부재하고, 그리고 그

대신에, ER 이입이 발생한다면, 엑손 5에 의해 인코딩된 NVP/SG (vA의 aa 40 뒤에)일 것으로 예측된다.

도 49b는 qRT-PCR 프로브 모두가 의도된 *APOL1* 동종형을 인식한다는 것을 보여준다. TaqMan 프로브의 특이성 (**도 49a**에서 설명됨)이 *APOL1* cDNA (*APOL1* 동종형 vA, vB1, vB3, vC 및 벡터 단독, 물론 음성 대조임)에 대한 qPCR 주기 역치값 (C_t)을 분석함으로써 실증되었다. DNA가 반응마다 4 ng에서 125 pg으로 2배씩 연속 희석되었고, 각 희석은 삼중으로 검사되었다. 표준 곡선이 C_t 및 표준 DNA의 $\log_{10}$ 시작 농도 (피코그램에서) 사이의 선형 회귀로서 산출되었다. *APOL1* 동종형 (표 5) 및 결과의 C_t 값이 각 DNA 농도에 대해 플로팅된다. 22를 초과하는 C_t 값은 프로브 반응성의 결여를 표시한다; vA 및 vB1은 프로브 C (별표)에 의해 완전히 검출 불가능하였고, 따라서 플로팅될 수 없었다. 예상한 바와 같이, 각 특이적 프로브는 예상된 동종형과 충분히 동등하게 반응하였으며, 검사된 농도 범위 위에서 선형 민감도가 있었다.

도 49c는 *APOL1.vA* (참조 서열)가 발세포에서 단연코 가장 풍부한 *APOL1* 동종형이라는 것을 보여준다. RNA가 48 시간 IFN γ 자극 (100 ng/ml)이 있는 경우 및 없는 경우에 계대 23, 24 및 25에서 분화된 인간 발세포로부터 역전사되고 3개의 동종형 특이적 프로브를 이용한 qRT-PCR이 진행되었다. C_t 값이 *RPL19*에 대해 정규화되고, 그리고 IFN γ 가 없는 *APOL1.vA/B1* (프로브 A, Hs01066280_m1)에 상대적인 배수 변화로서 표현되었다. 삼중으로 검정된, 각 동종형에 대한 이들 3가지 계대의 평균 및 SD가 플로팅된다. 정상적인 조건하에, 동종형 vA/vB1 (분비성)은, 거의 검출되지 않는 vB1/vB3 및 vB3/vC (세포질)보다 각각 125x 및 29x 높게 발현되고, 따라서 vA는 극대다수의 vA/vB1 신호를 포함해야 한다. IFN γ -처리하는 모든 동종형을 대략 30x 상향조절하며, 분비성 동종형 vA/vB1이 vB1/vB3 및 세포질 vB3/vC보다 각각 70x 및 27x 높은 발현을 유지한다. 따라서, 분비성 동종형 vA가 IFN γ 자극이 있는 경우 및 없는 경우 둘 모두에서 다른 모든 것들보다 명백히 훨씬 풍부하기 때문에, 세포질 동종형이 이들 세포에서 IF에 의해 검출될 수 없는 것은 놀랍지 않다.

도 50a-50c는 모든 *APOL1* 동종형 및 *APOL2*가 차별적 ER 위상에도 불구하고, COS 세포에서 일시적으로 형질감염될 때 세포 표면에 도달하는 것으로 보인다는 것을 보여준다. **도 50a**는 27개 aa 신호 서열이 결실된 *APOL1* 동종형 vA, vC, vA (Δ ss) 또는 *APOL2* (L2)를 포함하는, 살아있는, 비투과화된 일시적으로 형질감염된 COS 세포의 유세포분석을 도시한다. Alexa488 항생쥐 이차의 회색이고, 3.6D12 (1 μ g/ml)는 적색이다. 예상치 않게, 모든 발현된 DNA는 (Δ ss) 및 *APOL2*를 포함하는 형질감염되지 않은 (DNA 없음) 세포와 비교하여 이동을 제공하였는데, 이것은 이러한 이동이 HEK-293 세포에서 이전에 목격된 바와 같이, 일시적인 과다발현의 인공물이라는 것을 암시한다 (실시예 2, 참고문헌 85). y 축은 최대의 %이다. *APOL2*가 *APOL1* DNA보다 훨씬 잘 일시적으로 형질감염되었고, 따라서 이의 더 큰 이동이 더 큰 막 수송을 반드시 암시하는 것은 아니며, 반면 동일한 세포 유형 (안정된 L2, 아래쪽 패널)에서 안정되게 발현될 때 어떤 표면 *APOL2*도 목격되지 않았다는 점에 주의한다.

도 50b는 표시된 *APOL1* 동종형 또는 *APOL2* (L2)로 일시적으로 형질감염된 사포닌 투과화된 COS 세포의 면역형광을 도시한다. 세포가 항-*APOL1/2* 3.6D12 및 토끼 항-칼넥신 세포내 도메인 (Cnx ICD, 세포질 꼬리 (Ab22595))로 염색되었고, 모든 동종형이 ER에 국지화된다는 것을 보여주었다. 눈금자는 15 μ m이다.

도 50c는 디기토닌 투과화 및 rabmab 5.17H8 (이것은 *APOL2*와 교차반응한다, **도 31a-31b**) 및 생쥐 항-칼넥신 세포외 (내강) 도메인 (클론 37)으로 공동염색을 제외하고, **도 50b**의 경우에서와 동일한 cDNA 형질감염의 면역형광을 도시한다. 디기토닌 데이터는 vA, vB1 및 약간의 vC가 분비성 (핵막 신호를 제공)이고, 반면 vB3, Δ ss, *APOL2* (L2) 및 대다수의 vC가 ER의 세포질면 상에 있다는 것을 암시한다. *APOL1.vC*는 대부분의 세포에서 세포질에 있고, 소수의 세포에서 내강에 있으며, 그리고 여러 세포에서 혼합형 위상 (여기에서 도시된 세포의 경우에 서와 같은)이다. 칼넥신 내강 도메인 항체가 또한 디기토닌으로 핵막 염색을 제공하여, 우리의 기술을 입증한다는 점에 주의한다.

도 51a-51c는 COS 세포에서 일시적인 형질감염 인공물을 도시한다: *APOL2* 및 신호 서열-없는 *APOL1* 동종형은 내강이 아님에도 불구하고 배지에서 나타난다. **도 51a**는 분비성 및 비-분비성 *APOL1/2*가 일시적인 과다발현 시에 배지 내로 분비된다는 것을 보여준다. **도 50a**에서 FACS 실험으로부터 남겨진, 일시적으로 형질감염된 COS 세포는 용해되고, 그리고 단백질 G 세파로오스 비드를 이용하여 1 μ g/ml 3.6D12로 면역침전되고 1 μ g/ml 토끼 5.17H8 (위쪽; 이러한 rabmab는 웨스턴 블로팅에 의해 *APOL2*와 단지 약하게만 교차반응한다는 점에 주의한다; *APOL2*는 IF에 의해 사정될 때 다른 것들보다 실제로 훨씬 잘 형질감염되었다)로 12% 트리스-글리신 겔 상에서 면역블로팅되었다. 조건화된 세포 배지가 또한 농축되고 동일한 방식으로 면역침전되었다 (중간 패널). 투입 용해물은, 5.17H8보다 *APOL2*를 잘 인식하는 1 μ g/ml 3.6D12로 면역표지화된 아래쪽 패널에서 도시된다 (형질감염

되지 않은 및 APOL2가 상이한 순서로 부하되지만, 흰색 선에 의해 표시된 바와 같이 이러한 도면 내에서 정확한 순서로 절단되고 붙여진다는 점에 주의한다). 모든 단백질은 비록 비-분비성 동종형이 ER의 세포질면에 정확하게 국지화되긴 하지만, 기능적 신호 서열과 상관없이, 총 용해물의 경우에서와 동일한 상대적 수준으로 배지에서 검출되었는데 (도 50a-c), 이것은 외견상 "분비"가 과다발현 인공물이라는 것을 암시한다. Δss 가 vA와 동일한 크기라는 점에 주의하는데, 이것은 27개 aa 신호 서열이 예측한 바와 같이, 정상적으로는 vA에서 개열된다는 것을 암시한다 (표 4). UT, 형질감염되지 않음; L2, APOL2; A, APOL1.vA; Δss , 27개 aa 신호 서열이 결실된 APOL1.vA; C, APOL1.vC.

도 51b는 표시된 APOL1 동종형 (도 27a-d에서 안정된 발세포 세포주를 산출하는 데 이용되는 플라스미드와 함께)으로 46 시간 동안 일시적으로 형질감염되고 10% 트리스-글리신 겔에서 0.04 $\mu\text{g/ml}$ 토끼 항-APOL1 3.1C7 / 3.7D6 혼합물로 웨스턴 블로팅된 COS 세포의 총 용해물을 도시한다. 상이한 DNA 제조물을 이용한 2번의 독립된 형질감염이 스플라이스 동종형에 대해 서로 인접하게 도시된다. COS 세포에서 이들 APOL1 동종형의 크기는 상이한 실험에서 동일한 블롯에서 이동될 때, 안정된 발세포의 경우에서와 동일하였다 (데이터 제시되지 않음).

도 51c는 신호 개열의 결여와 합치하게, N 말단이 APOL1-G0.vB3에서 유지된다는 것을 보여준다. 태깅되지 않은 또는 N 말단에서 FLAG-태깅된 APOL1.vB3으로 일시적으로 형질감염된 COS 세포가 용해되고, 그리고 10% 트리스-글리신 겔에서 0.05 $\mu\text{g/ml}$ PFD 항체 3.7D6, 2 $\mu\text{g/ml}$ C 말단 항체 4.12E5 (G2 도메인; 실시예 1) 또는 1 $\mu\text{g/ml}$ 항-FLAG-M2로 웨스턴 블로팅되었다. 예상한 바와 같이, FLAG 태그가 작체물을 더 크게 만들었고, 그리고 항-FLAG를 이용한 위쪽 밴드의 검출에 의해 증거된 바와 같이, 개열되지 않았다.

도 52a-52b는 APOL1이 디기토닌-투과화된 발세포의 엔도솜과 결합되지 않는다는 것을 보여준다. 도 52a는 PFA 고정되고, 디기토닌 투과화되고, 그리고 내인성 APOL1의 경우 2 $\mu\text{g/ml}$ 뮤린 4.17A5 (녹색), 초기 엔도솜의 경우 1 $\mu\text{g/ml}$ 염소 항-EEA1 (적색); 및 후기 엔도솜 및 리소솜의 경우 1 $\mu\text{g/ml}$ 토끼 항-LAMP1 세포질 도메인 (청색), 그 이후에 각각, Alexa488 항생쥐, Cy3 항염소 (Jackson 705-166-147) 및 Alexa647 항토끼로 공동염색된, IFN γ -처리된 WT (위쪽) 또는 APOL1 KO (아래쪽) 발세포를 도시한다. 이러한 디기토닌 기술 (실시예 2, 참고문헌 19)을 이용하면, APOL2-교차반응성 Sigma 항체를 이용한 선행 연구에서와 달리, 점상의 핵외 APOL1 신호가 초기 또는 후기 엔도솜 및 리소솜 마커, EEA1 또는 LAMP1 중 어느 것과도 일치하지 않았다. APOL1-특이적 항체를 이용하는 것은 따라서, 단백질의 국지화를 해석하는 데 결정적이다. 핵외 막 신호는 아마도 원형질막이다. 눈금자는 40 μm 이다.

도 52c는 21 시간 동안 10 ng/ml dox로 유도된 iAPOL1-G0.vB3 발세포가 (a)의 경우에서와 같이 PFA 고정되고, 사포닌 (위쪽) 또는 디기토닌 (아래쪽)으로 투과화되고, 염색되었다는 것을 보여준다. 비록 APOL1.vB3이 완전히 세포질 동종형이긴 하지만, 이것은 엔도솜 또는 리소솜과 안정되게 결합하지 않는다. 삽도는 상자형 영역의 3x 배율이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

상세한 설명

I. 정의

별도로 규정되지 않으면, 본원 발명과 관련하여 이용된 과학 용어 및 기술 용어는 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 의미를 가질 것이다. 게다가, 문맥에 의해 별도로 요구되지 않으면, 단수 용어는 복수를 포함할 것이고, 그리고 복수 용어는 단수를 포함할 것이다.

본 출원에서, "또는"의 이용은 별도로 명시되지 않으면, "및/또는"을 의미한다. 다중 종속항의 맥락에서, "또는"의 이용은 단지 대안으로 하나 이상의 선행하는 독립항 또는 종속항을 다시 인용한다. 또한, 용어, 예컨대 "요소" 또는 "성분"은 별도로 특정되지 않으면, 하나의 단위를 포함하는 원소와 성분, 그리고 하나 이상의 아단위를 포함하는 요소와 성분 둘 모두를 포괄한다.

재조합 DNA, 올리고뉴클레오타이드 합성, 조직 배양 및 형질전환과 관련하여 이용된 예시적인 기술 (예를 들면, 전기천공, 리포펙션), 효소 반응, 그리고 정제 기술은 예를 들면, 그 중에서도 특히 Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))에서 설명된다.

본원 발명에 따라서 활용된 바와 같이, 하기의 용어는 별도로 표시되지 않으면, 하기의 의미를 갖는 것으로 이해될 것이다:

- [0198] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "APOL1" 및 "아포지질단백질 L1"은 별도로 표시되지 않으면, 선천적 동종형을 비롯한 임의의 선천적 인간 APOL1, 그리고 G0, G1과 G2 변이체 형태 및 신호 서열이 있는 형태와 없는 형태를 지칭한다. 상기 용어는 "전장"의 처리되지 않은 인간 APOL1뿐만 아니라 세포에서 처리로부터 발생하는 APOL1의 임의의 형태를 포괄한다. 상기 용어는 또한, 예를 들면, 수탁 번호가 본원의 표 3 및 5에서 제공되는 vA, vB1, vB3 및 vC 동종형을 비롯한, 인간 APOL1의 자연 발생 동종형뿐만 아니라 본원에서 명시적으로 언급되지 않는 다른 단일 뉴클레오타이드 다형성을 포괄한다. 신호 펩티드 (아미노산 1-27)가 있는 경우 및 없는 경우의 G0 형태에서 예시적인 인간 APOL1 단백질의 아미노산 서열은 서열 번호: 1 및 2에서 도시된다. 신호 서열이 없는 다른 예시적인 자연 발생 APOL1 G0 동종형은 서열 번호: 213-214에서 도시된다. APOL1의 G1 변이체는 S342G 및 I384M 치환을 내포한다는 점에서, G0 형태와 상이하다. 예시적인 G1 서열은 서열 번호: 215에서 제공된다. G2 변이체는 아미노산 N388 및 Y389가 결실된다는 점에서, G0 형태와 상이하다. 예시적인 G2 서열은 본원에서 서열 번호: 216에서 발견된다.
- [0199] 본원 발명에서, 만약 아미노산 잔기 또는 잔기의 범위가 APOL1 서열에 대한 명시적인 언급 없이 제공되면, 참조 서열은 서열 번호: 2의 서열인 것으로 의미된다.
- [0200] "친화성"은 분자 (예를 들면, 항체)의 단일 결합 부위 및 이의 결합 파트너 (예를 들면, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총계의 강도를 지칭한다. 별도로 표시되지 않으면, 본원에서 이용된 바와 같이, "결합 친화성"은 결합 쌍의 구성원 (예를 들면, 항체와 항원) 사이에 1:1 상호작용을 반영하는 내재성 결합 친화성을 지칭한다. 파트너 Y에 대한 분자 X의 친화성은 일반적으로, 해리 상수 (K_D)에 의해 표현될 수 있다. 친화성은 본원에서 설명된 것들을 비롯한, 당해 분야에서 공지된 통상적인 방법에 의해 측정될 수 있다. 결합 친화성을 측정하기 위한 특정한 예시적이고 모범적인 방법은 하기에서 설명된다.
- [0201] 본원에서, 용어 "항체"는 중쇄의 적어도 상보성 결정 영역 (CDR) 1, CDR2 및 CDR3, 그리고 경쇄의 적어도 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 분자를 지칭하고, 여기서 상기 분자는 항원에 결합할 수 있다. 상기 용어는 가장 넓은 의미에서 이용되고, 그리고 단일클론 항체, 다중클론 항체, 다중특이적 항체 (예를 들면, 이중특이적 항체), 전장 항체, 단일 사슬 항체, 그리고 항체 단편 (이들이 원하는 APOL1 특이적 결합 활성을 나타내기만 하면)을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 다양한 항체 구조를 포괄한다.
- [0202] "단리된" 항체는 이의 자연 환경의 구성요소로부터 분리된 것이다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 전기이동 (예를 들면, SDS-PAGE, 등전위 초점 (IEF), 모세관 전기이동) 또는 크로마토그래피 (예를 들면, 이온 교환 또는 역상 HPLC) 방법에 의해 결정될 때, 95% 또는 99% 이상의 순도로 정제된다. 항체 순도의 사정을 위한 방법에 관한 검토를 위해, 예를 들면, Flatman et al., *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007)을 참조한다.
- [0203] "항원"은 항체의 표적, 다시 말하면, 항체가 특이적으로 결합하는 분자를 지칭한다. 용어 "에피토프"는 항체가 결합하는, 단백질성 또는 비단백질성 중 어느 한 가지인 항원 상에서 부위를 표시한다. 단백질 상에서 에피토프는 인접한 아미노산 스트레치 (선형 에피토프)로부터 형성될 수 있거나, 또는 예를 들면, 항원의 접힘으로 인해, 다시 말하면 단백질성 항원의 삼차 접힘에 의해 공간적으로 근접하는 비인접한 아미노산 (입체형태적 에피토프)을 포함할 수 있다. 선형 에피토프는 전형적으로, 변성제에 단백질성 항원의 노출 이후에도 항체에 의해 여전히 결합되는 반면, 입체형태적 에피토프는 전형적으로, 변성제로 처리 시에 파괴된다. 에피토프는 고유한 공간적 입체형태에서 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 또는 8-10개의 아미노산을 포함한다.
- [0204] "항-APOL1 항체" 또는 "APOL1-항체" 또는 "APOL1에 특이적으로 결합하는 항체" 또는 "APOL1에 결합하는 항체" 및 유사한 관용구는 앞서 규정된 바와 같은, APOL1에 특이적으로 결합하는 항체를 의미한다. 본원 발명에서, "특이적으로 결합한다" 또는 "특이적 결합" 및 유사한 용어는 결합 쌍의 구성원 사이의 상호작용이 무작위 분자 연합 (다시 말하면 "비특이적 결합")에 기인할 수 없을 만큼, 결합 친화성이 충분히 강하다는 것을 의미한다. 특이적 결합은 일반적으로, $1\mu\text{M}$ 또는 그 이하의 해리 상수 (K_D)를 필요로 한다. 특이적 결합은 종종, 10 nM 또는 그 이하의 K_D 를 필요로 한다.
- [0205] 용어 "중쇄"는 리더 서열이 있거나 또는 없는, 적어도 중쇄 가변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 일부 구체예에서, 중쇄는 중쇄 불변 영역 중에서 적어도 일부를 포함한다. 용어 "전장 중쇄"는 리더 서열이 있거나 또는 없는, 중쇄 가변 영역 및 중쇄 불변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0206] 용어 "경쇄"는 리더 서열이 있거나 또는 없는, 적어도 경쇄 가변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 일부

구체예에서, 경쇄는 경쇄 불변 영역 중에서 적어도 일부를 포함한다. 용어 "전장 경쇄"는 리더 서열이 있거나 또는 없는, 경쇄 가변 영역 및 경쇄 불변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다.

- [0207] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열에서 초가변성이고 항원 결합 특이성을 결정하는 항체 가변 영역의 각 영역, 예를 들면 "상보성 결정 영역" ("CDR")을 지칭한다. 일반적으로, 항체는 6개의 CDR을 포함한다: VH에서 3개 (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3), 그리고 VL에서 3개 (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). 별도로 표시되지 않으면, CDR은 본원에서 서열 표에 따라서 결정된다. 당업자는 CDR 지정이 Chothia, *위와 같음*, McCallum, *위와 같음*, 또는 임의의 다른 과학적으로 용인된 명명법 시스템에 따라서 또한 결정될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 구체적으로:
- [0208] (a) 아미노산 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2), 그리고 96-101 (H3)에서 발생하는 초가변 루프는 만약 그렇지 않으면 Chothia CDR을 구성한다 (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987));
- [0209] (b) 아미노산 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2), 그리고 95-102 (H3)에서 발생하는 CDR은 Kabat CDR을 구성한다 (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)); 그리고
- [0210] (c) 아미노산 잔기 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2), 그리고 93-101 (H3)에서 발생하는 항원 접촉은 MacCallum CDR을 구성한다 (MacCallum et al. *J. Mol. Biol.* 262: 732-745, 1996). 만약 서열이 본원에서 항체의 CDR에 대한 서열 표에서 제공되지 않고, 그리고 상기 3가지 유형의 CDR 중에서 하나 "예를 들면 Chothia CDR 또는 Kabat CDR"이 별도로 명시되지 않으면, Kabat CDR이 의도된다.
- [0211] "프레임워크" 또는 "FR"은 상보성 결정 영역 (CDR)의 일부가 아닌, 가변 영역 잔기의 잔기를 지칭한다. 가변 영역의 FR은 일반적으로 4개의 FR: FR1, FR2, FR3 및 FR4로 구성된다. 따라서, CDR과 FR 서열은 일반적으로 VH (또는 VL)에서 하기 순서로 나타난다: FR1-CDR-H1(CDR-L1)-FR2- CDR-H2(CDR-L2)-FR3- CDR-H3(CDR-L3)-FR4.
- [0212] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체를 항원에 결합시키는 데 관련되는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 선천적 항체의 중쇄와 경쇄의 가변 도메인 (각각, VH와 VL)은 일반적으로 유사한 구조를 갖는데, 각 도메인이 4개의 보존된 프레임워크 영역 (FRs) 및 3개의 상보성 결정 영역 (CDRs)을 포함한다. 참조: 예를 들면, Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007). 가변 도메인은 FR1 및/또는 FR4 중에서 전부 또는 일부가 있거나 또는 없는 중쇄 (HC) CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3; 그리고 FR1 및/또는 FR4 중에서 전부 또는 일부가 있거나 또는 없는 경쇄 (LC) CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3을 포함할 수 있다. 다시 말하면, 가변 도메인은 항원 결합 활성이 유지되지만 하면, FR1 및/또는 FR4의 부분을 결여할 수 있다. 단일 VH 또는 VL 도메인이 항원 결합 특이성을 부여하는 데 충분할 수 있다. 게다가, 특정 항원에 결합하는 항체는 각각, 상보성 VL 또는 VH 도메인의 라이브러리를 선별검사하기 위해, 항원에 결합하는 항체로부터 VH 또는 VL 도메인을 이용하여 단리될 수 있다. 참조: 예를 들면, Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991).
- [0213] 항체의 경쇄와 중쇄 "불변 영역"은 FR 및 CDR 및 가변 영역 외부의 추가 서열 부분을 지칭한다. 일정한 항체 단편은 불변 영역 중에서 전부 또는 일부를 결여할 수 있다. N 말단으로부터 C 말단으로, 각 중쇄는 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 영역으로 또한 불리는 가변 도메인 (VH), 그 이후에 3개의 불변 중쇄 도메인 (CH1, CH2 및 CH3)을 갖는다. 유사하게, N 말단으로부터 C 말단으로, 각 경쇄는 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 영역으로 또한 불리는 가변 도메인 (VL), 그 이후에 불변 경쇄 (CL) 도메인을 갖는다.
- [0214] 본원에서 용어 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 내포하는, 면역글로불린 중쇄의 C 말단 영역을 규정하는데 이용된다. 상기 용어는 선천적 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 한 양상에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 중쇄의 Cys226으로부터, 또는 Pro230으로부터 카르복실 말단까지 걸친다. 하지만, 숙주 세포에 의해 생산되는 항체는 중쇄의 C 말단으로부터 하나 또는 그 이상, 특히 1개 또는 2개의 아미노산의 변이후 개열을 겪을 수 있다. 이런 이유로, 전장 중쇄를 인코딩하는 특이적 핵산 분자의 발현에 의해 숙주 세포에 의해 생산되는 항체는 전장 중쇄를 포함할 수 있거나, 또는 이것은 전장 중쇄의 개열된 변이체를 포함할 수 있다. 이것은 중쇄의 최종 2개의 C 말단 아미노산이 글리신 (G446) 및 리신 (K447, EU 색인에 따른 넘버링)인 경우에 그러할 수 있다. 이런 이유로, Fc 영역의 C 말단 리신 (Lys447), 또는 C 말단 글리신 (Gly446) 및 리신 (Lys447)은 존재하거나 존재하지 않을 수 있다. 따라서, "전장 IgG1"은 예를 들면, Gly446 및 Lys447이 있는, 또는 Lys447이 없는, 또는 Gly446 및 Lys447 둘 모두가 없는 IgG1을 포함한다. 본원에서 Fc 영역을 포함하는 중쇄의 아미노산 서

열은 별도로 표시되지 않으면, C 말단 글리신-리신 디펩티드가 없이 표시된다. 한 양상에서, 본원 발명에 따른 항체 내에 포함된, 본원에서 특정된 바와 같은 Fc 영역을 포함하는 중쇄는 Gly446 및 Lys447 (EU 색인에 따른 넘버링)을 포함할 수 있다. 한 양상에서, 본원 발명에 따른 항체 내에 포함된, 본원에서 특정된 바와 같은 Fc 영역을 포함하는 중쇄는 Gly446 (EU 색인에 따른 넘버링)을 포함할 수 있다. 본원에서 별도로 특정되지 않으면, Fc 영역 또는 불변 영역에서 아미노산 잔기의 넘버링은 Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991에서 설명된 바와 같이, EU 색인으로 또한 불리는 EU 넘버링 시스템에 따른다.

[0215] "작동체 기능"은 항체의 Fc 영역에 기인한 생물학적 활성을 지칭하는데, 이들은 항체 아이소타입에 따라서 변한다. 항체 작동체 기능의 실례는 다음을 포함한다: C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체 의존성 세포 매개된 세포독성 (ADCC); 식균작용; 세포 표면 수용체 (예를 들면, B 세포 수용체)의 하향조절; 그리고 B 세포 활성화.

[0216] 항체의 "부류"는 이의 중쇄에 의해 소유된 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 항체의 5가지 주요 부류: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 있고, 그리고 이들 중에서 몇몇은 하위부류 (아이소타입), 예를 들면, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂로 더욱 나뉘질 수 있다. 일정한 양상에서, 항체는 IgG₁ 아이소타입이다. 일정한 양상에서, 항체는 Fc-영역 작동체 기능을 감소시키기 위한 P329G, L234A 및 L235A 돌연변이를 갖는 IgG₁ 아이소타입이다. 다른 양상에서, 항체는 IgG₂ 아이소타입이다. 일정한 양상에서, 항체는 IgG₄ 항체의 안정성을 향상시키기 위한, 힌지 영역에서 S228P 돌연변이를 갖는 IgG₄ 아이소타입이다. 일부 양상에서, 항체는 비인간 IgG 불변 영역을 가질 수 있고, 그리고 예를 들면, 뮤린 IgG2a 항체 예컨대 뮤린 IgG2a LALAPG 항체일 수 있다. 면역글로불린의 상이한 부류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각, α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 불린다. 항체의 경쇄는 이의 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초하여, 카파 (κ) 및 람다 (λ)로 불리는 2가지 유형 중에서 한 가지에 배정될 수 있다.

[0217] "항체 단편"은 무손상 항체가 결합하는 항원 (다시 말하면 APOL1)에 결합하는 무손상 항체의 부분을 포함하는, 무손상 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 실례는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단일 사슬 항체 분자 (예를 들면, scFv 및 scFab); 단일 도메인 항체 (dAb); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 일정한 항체 단편에 관한 검토를 위해, Holliger and Hudson, *Nature Biotechnology* 23:1126-1136 (2005)을 참조한다.

[0218] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 및 "전체 항체"는 선천적 항체 구조와 실제로 유사한 구조를 갖는, 또는 IgG 항체의 경우에, 본원에서 규정된 바와 같은 Fc 영역을 내포하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭하기 위해 본원에서 교체가 가능하게 이용된다.

[0219] 용어 "키메라" 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부분이 특정 공급원 또는 종으로부터 유래되고, 반면 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지 부분이 상이한 공급원 또는 종으로부터 유래되는 항체를 지칭한다.

[0220] "인간화" 항체는 비인간 CDRs로부터 아미노산 잔기 및 인간 FRs로부터 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 지칭한다. 일정한 양상에서, 인간화 항체는 적어도 1개, 그리고 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실제로 모두 포함할 것인데, 여기서 CDRs의 전부 또는 실제로 전부가 비인간 항체의 것들에 상응하고, 그리고 FRs의 전부 또는 실제로 전부가 인간 항체의 것들에 상응한다. 인간화 항체는 임의적으로, 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들면, 비인간 항체의 "인간화 형태"는 인간화를 겪은 항체를 지칭한다.

[0221] 본원에서 이용된 바와 같이 용어 "단일클론 항체"는 실제로 균질한 항체의 모집단으로부터 획득된 항체를 지칭한다, 다시 말하면, 상기 모집단을 구성하는 개별 항체는 예를 들면, 자연 발생 돌연변이를 내포하거나 또는 단일클론 항체 제조물의 생산 동안 발생하는 가능한 변이체 항체 (이런 변이체는 일반적으로 미량으로 존재한다)를 제외하고, 동일하고 및/또는 동일한 에피토프에 결합한다. 상이한 결정인자 (에피토프)에 대해 지향된 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 다중클론 항체 제조물과 대조적으로, 단일클론 항체 제조물의 각 단일클론 항체는 항원 상에서 단일 결정인자에 대해 지향된다. 따라서, 수식어 "단일클론"은 항체의 실제로 균질한 모집단으로부터 획득되는 것으로서 항체의 특징을 표시하고, 그리고 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로 해석되지 않는다. 예를 들면, 본원 발명에 따른 단일클론 항체는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파지 전사 방법, 그리고 인간 면역글로불린 좌위 중에서 전부 또는 일부를 내포하는 유전자도입 동물을 활용하는 방법을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 다양한 기술에 의해 만들어질 수 있는데, 이런 방법 및

단일클론 항체를 만들기 위한 다른 예시적인 방법은 본원에서 설명된다.

- [0222] "항체 접합체"는 치료제를 포함하지만 이에 한정되지 않는 한 가지 또는 그 이상의 이중성 분자(들)에 접합된 항체이다.
- [0223] 참조 폴리펩티드 서열에 대하여 "퍼센트 (%) 아미노산 서열 동일성"은 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해 서열을 정렬하고 필요하면, 갭을 도입한 후에, 그리고 정렬의 목적으로 임의의 보존성 치환을 서열 동일성의 일부로서 고려하지 않고, 참조 폴리펩티드 서열 내에 아미노산 잔기와 동일한, 후보 서열 내에 아미노산 잔기의 백분율로서 규정된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하는 목적을 위한 정렬은 당해 분야의 기술 범위 안에 있는 다양한 방식으로, 예를 들면, 공개적으로 가용한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2, Clustal W, Megalign (DNASTAR) 소프트웨어 또는 FASTA 프로그램 패키지를 이용하여 달성될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하기 위해 필요한 임의의 알고리즘을 비롯하여, 서열을 정렬하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 대안으로, 동일성 퍼센트 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 이용하여 산출될 수 있다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 Genentech, Inc.에 의해 저술되었고, 그리고 소스 코드가 사용자 문서로 U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559에 제출되었는데, 여기서 이것은 U.S. Copyright 등록 번호 TXU510087하에 등록되고 WO 2001/007611에서 설명된다.
- [0224] 별도로 표시되지 않으면, 본원에서 목적을 위해, 퍼센트 아미노산 서열 동일성 값은 BLOSUM50 비교 매트릭스를 갖는 FASTA 패키지 버전 36.3.8c 또는 그 이후 버전의 ggsearch 프로그램을 이용하여 산출된다. FASTA 프로그램 패키지는 W. R. Pearson and D. J. Lipman (1988), "Improved Tools for Biological Sequence Analysis", PNAS 85:2444-2448; W. R. Pearson (1996) "Effective protein sequence comparison" Meth. Enzymol. 266:227- 258; 및 Pearson et. al. (1997) Genomics 46:24-36에 의해 저술되었고, 그리고 www.fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/fasta_down.shtml 또는 www.ebi.ac.uk/Tools/sss/fasta로부터 공개적으로 가용하다. 대안으로, 국부보다는 전역 정렬이 수행되도록 담보하기 위해 ggsearch (global protein:protein) 프로그램 및 디폴트 옵션 (BLOSUM50; 개방: -10; ext: -2; Ktup = 2)을 이용하여, fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/index.cgi에서 접근 가능한 공개 서버가 서열을 비교하는 데 이용될 수 있다. 퍼센트 아미노산 동일성은 출력 정렬 헤더에서 제공된다.
- [0225] 용어 "핵산 분자" 또는 "폴리뉴클레오티드"는 뉴클레오티드의 중합체를 포함하는 임의의 화합물 및/또는 물질을 포함한다. 각 뉴클레오티드는 염기, 특이적으로 퓨린- 또는 피리미딘 염기 (다시 말하면, 시토신 (C), 구아닌 (G), 아데닌 (A), 티민 (T) 또는 우라실 (U)), 당 (다시 말하면, 데옥시리보오스 또는 리보오스), 그리고 인산염 기로 구성된다. 종종, 핵산 분자는 염기의 서열에 의해 설명되는데, 여기서 상기 염기는 핵산 분자의 일차 구조 (선형 구조)를 나타낸다. 염기의 서열은 전형적으로 5'에서 3'로 나타내진다. 본원에서, 용어 핵산 분자는 예를 들면, 상보성 DNA (cDNA) 및 유전체 DNA를 비롯한 데옥시리보핵산 (DNA), 리보핵산 (RNA), 특히 전령 RNA (mRNA), DNA 또는 RNA의 합성 형태, 그리고 이들 분자 중에서 2가지 또는 그 이상을 포함하는 혼성 중합체를 포괄한다. 핵산 분자는 선형 또는 환상일 수 있다. 이에 더하여, 용어 핵산 분자는 센스와 안티센스 가닥뿐만 아니라 단일 가닥과 이중 가닥 형태 둘 모두를 포함한다. 게다가, 본원에서 설명된 핵산 분자는 자연 발생 또는 비-자연 발생 뉴클레오티드를 내포할 수 있다. 비-자연 발생 뉴클레오티드의 실례는 유도체화된 당 또는 인산염 중추 연쇄 또는 화학적으로 변형된 잔기를 갖는 변형된 뉴클레오티드 염기를 포함한다. 핵산 분자는 또한, 시험 관내에서 및/또는 생체내에서, 예를 들면, 숙주 또는 환자에서 본원 발명의 항체의 직접적인 발현을 위한 벡터로서 적합한 DNA와 RNA 분자를 포괄한다. 이런 DNA (예를 들면, cDNA) 또는 RNA (예를 들면, mRNA) 벡터는 변형되지 않거나 또는 변형될 수 있다. 예를 들면, mRNA는 mRNA가 개체 내로 주입되어 항체가 생체내에서 산출될 수 있도록, RNA 벡터의 안정성 및/또는 인코딩된 분자의 발현을 증강하기 위해 화학적으로 변형될 수 있다 (참조: 예를 들면, Stadler et al, Nature Medicine 2017, 2017년 6월 12일 온라인 공개됨, doi:10.1038/nm.4356 또는 EP 2 101 823 B1).
- [0226] "단리된" 핵산은 자연 환경의 구성요소로부터 분리된 핵산 분자를 지칭한다. 단리된 핵산에는 핵산 분자를 통상적으로 내포하는 세포에 내포된 핵산 분자가 포함되지만, 상기 핵산 분자는 염색체외에 또는 자연 염색체 위치와 상이한 염색체 위치에 존재한다.
- [0227] "항-APOL1 항체를 인코딩하는 단리된 핵산"은 항-APOL1 항체 중쇄와 경쇄 (또는 이들의 단편)를 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 핵산 분자, 단일 벡터 또는 별개의 벡터에서 이런 핵산 분자(들), 그리고 숙주 세포 내에 하나 또는 그 이상의 위치에서 존재하는 이런 핵산 분자(들)를 지칭한다.
- [0228] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "벡터"는 자신이 연관되는 다른 핵산을 증식할 수 있는 핵산 분자를

지칭한다. 상기 용어는 자기 복제 핵산 구조로서 벡터뿐만 아니라 이것이 도입된 숙주 세포의 유전체 내로 통합된 벡터를 포함한다. 일정한 벡터는 그들이 작동가능하게 연결되는 핵산의 발현을 주동할 수 있다. 이런 벡터는 본원에서 "발현 벡터"로서 지칭된다.

[0229] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주" 및 "숙주 세포 배양액"은 교체가능하게 이용되고, 그리고 외인성 핵산이 도입된 세포 및 이런 세포의 자손을 지칭한다.

[0230] 용어 "리더 서열"은 포유류 세포로부터 폴리펩티드의 분비를 용이하게 하는, 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 아미노산 잔기의 서열을 지칭한다. 리더 서열은 포유류 세포로부터 폴리펩티드의 이출 시에 개열되어, 성숙 단백질이 형성될 수 있다. 리더 서열은 자연 또는 합성일 수 있고, 그리고 이들은 그들이 부착되는 단백질에 이종성 또는 상동성일 수 있다. 무제한의 예시적인 리더 서열은 또한, 이종성 단백질로부터 리더 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 리더 서열을 결여한다. 일부 구체예에서, 항체는 선천적 항체 리더 서열 및 이종성 리더 서열에서 선택될 수 있는 적어도 하나의 리더 서열을 포함한다.

[0231] II. 조성물 및 방법

[0232] A. 예시적인 항-APOL1 항체

[0233] 한 양상에서, 본원 발명은 APOL1에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 일부 양상에서, 항체는 발세포의 표면 상에서 노출될 수 있지만 혈청 HDL 입자에서 발견되는 APOL1에 매몰될 수 있는, APOL1의 특정 부분에 특이적으로 결합한다. 이런 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이, 발세포의 표면 상에서 APOL1을, 혈청에서 발견되는, 일반적으로 HDL 입자에서 발견되는 APOL1로부터 식별하는 데 유용할 수 있다. 하기 실시예에서 설명된 바와 같이, APOL1의 노출되고 매몰된 부분은 발세포-국지화된 APOL1 및 HDL-국지화된 APOL1 사이에 다소간 상이하고, 일정한 항체가 각 유형에 대한 차별적인 결합 친화성으로 인해 이들 형태를 식별할 수 있도록 한다.

[0234] APOL1 단백질은 다양한 도메인 (참조: 도 7), 예를 들면 아미노산 28-235에서 PFD (포어 형성 도메인), 막경유 도메인, 아미노산 238-305에서 MAD (막 주소지정 도메인), 아미노산 305-338에서 L (링커) 도메인, 그리고 아미노산 339 내지 398에서 SRA-ID (혈청 내성 관련 상호작용 도메인)를 내포한다. (참고를 위해, 서열 번호: 1, 2, 213 및 214를 참조한다).

[0235] 본원에서 일정한 항체는 예를 들면, APOL1-G0의 아미노산 61 내지 아미노산 172 (서열 번호: 2의 아미노산 61-172)에서 APOL1의 PFD (포어 형성 도메인) 부분 내에 결합한다. 일부 양상에서, 항체는 PFD 영역의 아미노산 61 내지 아미노산 103 (서열 번호: 2의 아미노산 61-103)의 영역에 결합하거나, 또는 이들은 PFD 영역의 아미노산 111 내지 아미노산 150의 영역에 결합할 수 있는데, 이들 중 어느 한 쪽은 이들 항체가 발세포 상에서 발현되는 APOL1을 인식하지만 HDL 입자의 일부로서 순환하는 APOL1을 인식하지 않도록 할 수 있다. 이것은 APOL1의 이들 부분이 발세포 APOL1에서는 노출될 수 있지만 HDL APOL1에서는 접근 불가능하기 때문이다. 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 아미노산 103 내지 아미노산 111 또는 아미노산 150 내지 아미노산 172의 영역에 결합하는데, 이것은 이들 부분이 양쪽 유형의 APOL1에서 노출된다는 점에서, 이들 항체가 발세포 상에서뿐만 아니라 HDL 입자 상에서 발현되는 APOL1을 인식하도록 유사하게 허용할 수 있다. 이런 항체는 또한, 예를 들면 대조로서 역할을 함으로써, 발세포를 혈청 APOL1로부터 식별하는 검정에서 유용할 수 있다.

[0236] 본원에서 일부 항체는 아미노산 260 내지 305 (참조: 서열 번호: 2의 아미노산 260-305)에서 APOL1의 MAD (막 주소지정 도메인) 부분 내에 결합한다. 일정한 양상에서, 항체는 APOL1의 아미노산 260 내지 아미노산 314의 영역에 결합하는데, 상기 영역은 상기 단백질의 MAD 및 L (링커) 영역의 부분을 포함하고, 그리고 이들 항체가 HDL 입자에서 발견되는 APOL1을 인식하지만 발세포 상에서 발현되는 APOL1을 인식하지 않도록 할 수 있다.

[0237] 다른 항체는 아미노산 314 내지 333 (참조: 서열 번호: 2의 아미노산 314-333)에서 APOL1의 L (링커) 영역에 결합하는데, 이것은 이들 항체가 발세포 및 HDL 입자 둘 모두 상에서 APOL1을 인식하도록 할 수 있다. 유사하게, 일부 항체는 아미노산 376 내지 398 (서열 번호: 2의 아미노산 376-398)에서 APOL1의 SRA-ID (혈청 내성 관련 상호작용 도메인) 부분 내에 결합하는데, 이것은 이들 항체가 발세포 및 HDL 입자 둘 모두에서 APOL1을 인식하도록 할 수 있다.

[0238] 발세포에 대한 항체의 결합은 예를 들면, 제자리 혼성화, 면역조직화학 (IHC), 면역침전, 유세포분석, 또는 웨스턴 블로팅에 의해 검사될 수 있다. 발세포 및 HDL 입자 사이의 결합을 식별하기 위해, 예를 들면 유세포분석 또는 면역침전에 의해, 선천적 상태에서 APOL1을 이용하여 결합이 검사될 수 있다. 고정 및/또는 투과화 또는

변성 웨스턴 블롯에서 변성 후, 상이한 APOL1 에피토프가 노출된다.

- [0239] 혈청에서, 다시 말하면 HDL 입자 상에서 APOL1에 대한 항체의 결합은 예를 들면, 트리파노소마용해를 차단하는 이들 항체의 능력을 보고하는, 본원의 실시예에서 설명된 검정에 의해 검사될 수 있다. 따라서, HDL 입자 상에서 APOL1을 인식하는 항체는 트리파노소마용해를 유의미하게 차단할 수 있는 반면, HDL 입자 상에서 APOL1을 유의미하게 인식하지 않는 항체는 본원에서 설명된 검정에서 트리파노소마용해를 유의미하게 차단할 수 없다.
- [0240] 혈청 APOL1에 대한 항체의 특이성을 검사하기 위해 본원에서 이용되는 트리파노소마용해 검정은 아래와 같다. 트리파노소마 브루세이 브루세이 (*Trypanosoma brucei brucei*)가 ATCC로부터 획득되고, 그리고 IMDM (Genentech), 열 비활성화 (30 분 동안 56°C) FBS (Seradigm IXL9/06807/GEN), 1% 혈청 플러스 (Sigma 14008C), HMI-9 (Genentech) 및 1% 히포크산틴 (Genentech)을 내포하는 HMI-9 배지에서 배양되었다. 1×10^5 트리파노소마를 총 100 μ l에서 16 시간 동안 NHS 또는 재조합 APOL1의 연속 희석액으로 처리함으로써, 트리파노소마 용해가 수행되었다. 생존 세포 판독이 제조업체의 프로토콜, (Thermo Fisher, DAL1100)에 따라서 Alamar Blue 검정에 의해 실행되었다. 간단히 말하면 10 μ l의 Alamar Blue가 각 웰에 첨가되고, 37°C에서 4 시간 동안 배양되었다. 살아있는 트리파노소마를 표시하는 적색 형광이 530 nm에서 여기 및 590 nm에서 방출을 갖는, SoftMAX® PRO에 의해 작동된 SpectraMax® 형광계에서 측정되었다. 항체 차단 검정을 위해, 1% 정상 인간 혈청이 실온에서 20 분 동안 1-10 μ g/ml의 항-APOL1 항체 또는 배지와 함께 전배양되었고, 그 이후에 트리파노소마의 첨가가 뒤따랐다. 16 시간 후, Alamar Blue 검정이 상기와 같이 수행되었고, 그리고 배지 단독에 대한 배경 값이 차감되었고 차단 %가 항체 없음 대조에 정규화함으로써 계산되었다. 상기 검정에서 검사된 바와 같이, 트리파노소마용해를 유의미하게 차단하는 항체는 적어도 25% 차단 활성을 보여준다.
- [0241] 본원의 실시예는 다수의 항-APOL1 항체를 설명한다. 이들 항체 중 대부분의 APOL1 결합 특성이 실시예에서 설명되고, 그리고 특정 항체의 아미노산 서열이 또한 결정된 경우에, 이들은 실시예 섹션을 뒤따르는 서열 표에서 제공된다. 하기 실시예에서, 본원에서 항체를 산출하는 데 이용된 참조 서열은 "EMR" (E150, M228, R255) APOL1 변이체 형태 (RefSeq)를 나타내는, 서열 번호: 2의 서열에 상응한다. 본원에서 COS 세포 일시적인 발현 실험은 "KIK" 변이체 (K150, I228I, K255)를 이용하여 수행되었고, 반면 본원에서 이용된 iAPOL1-발세포는 아프리카 변이체 또는 "EIK" 변이체 형태 (E150, I228, K255)를 발현하였다. (각각, 서열 번호: 213 및 214를 참조한다). 본원에서 항체는 이들 3가지 APOL1 형태 모두를 특이적으로 인식하는 것으로 밝혀졌다.
- [0242] 예를 들면, 항체 5.17H8, 5.11H2, 3.6D12, 3.6H5, 3.6G11, 3.5A12, 3.6C2, 3.5C2, 3.2A7, 3.3A7, 3.2B11, 3.3B6, 3.7D6 및 4.17A5는 APOL1의 PFD 영역에 특이적으로 결합한다. 이들 항체 중에서, 항체 5.17H8, 5.17H2 및 3.6C2뿐만 아니라 3.5C2, 3.6C2, 3.5A12, 3.2A7, 3.3A7 및 3.2B11은 HDL 입자 상에서 혈청 APOL1과 비교하여 발세포에 우선적으로 결합한다. 대조적으로, PFD 영역에 또한 특이적으로 결합하는 항체 4.17A5 및 3.7D6은 발세포에 결합하지만 트리파노소마용해를 또한 유의미하게 차단할 수 있는데, 이것은 이들이 발세포 상에서 APOL1 및 혈청 (다시 말하면 HDL) APOL1 둘 모두를 인식한다는 것을 암시한다. 항체 3.6D12, 3.6G11, 3.6H5 및 5.17D12 역시 발세포 및 혈청 둘 모두에서 APOL1을 인식한다. 추가 실례로서, 항체 4.6A9, 1.11G1 및 3.3A8은 아미노산 260 내지 294에서 상기 단백질의 MAD 영역에 결합하고, 그리고 단지 낮은 수준의 발세포 결합만을 보여주면서 트리파노소마용해를 강하게 차단하는데, 이것은 이들 항체가 혈청 (다시 말하면 HDL) APOL1을 우선적으로 인식한다는 것을 암시한다. 유사하게, 항체 3.2C11, 3.7E8 및 3.7B5는 아미노산 294-314에서 MAD-L 영역에 결합하고 발세포 APOL1에 비하여 혈청 APOL1을 우선적으로 인식한다. 항체 3.1C1, 3.1C7, 3.6E10, 3.6H10 및 3.4G10은 상기 단백질의 L 부분에 결합하고 발세포 및 혈청 둘 모두 상에서 APOL1을 인식한다. 항체 3.6H10은 하지만, 발세포 상에서 APOL1을 우선적으로 인식할 수도 있다. 항체 4.11A10, 4.11H11 및 4.12E5는 APOL1의 SRA-ID 부분에 결합하고 발세포 및 혈청 APOL1 둘 모두를 인식한다.
- [0243] 본원에서 일정한 항체는 아포지질단백질 리간드 패밀리의 다른 구성원, 예컨대 APOL2 및/또는 APOL3뿐만 아니라 APOL4 및 APOL6에 유의미하게 결합하지 않는다. 따라서, 일부 양상에서, 항체는 APOL2에 유의미하게 결합하지 않는다. 일부 양상에서 항체는 하기 실시예에서 설명된 검출 방법에 따라서, APOL2 또는 APOL6에 대한 검출 가능한 결합을 보여주지 않는다. 일부 양상에서 항체는 하기 실시예에서 설명된 검출 방법에 따라서, APOL2 또는 APOL3에 대한 검출 가능한 결합을 보여주지 않는다. 일부 양상에서, 항체는 APOL2, APOL3, APOL4, 또는 APOL6 중 어느 것에 대해서도 검출 가능한 결합을 보여주지 않는다. 예를 들면, 항체 5.17D12 및 3.7D6은 APOL1에 특이적으로 결합하고 다른 아포지질단백질 리간드 패밀리의 구성원 예컨대 APOL2, APOL3, APOL4 및 APOL6에 대한 결합을 거의 또는 전혀 보여주지 않는다. 대조적으로 항체 4.17A5는 APOL4뿐만 아니라 APOL1을

검출하지만 APOL2, APOL3 또는 APOL6을 검출하지 않는다. 대조적으로, 항체 3.6D12는 예를 들면, APOL1뿐만 아니라 APOL2 및 APOL3에 결합한다. 5.17D12, 4.17A5 및 3.7D6 각각은 또한, APOL1의 G0, G1 및 G2 변이체를 특이적으로 인식한다.

- [0244] 일부 양상에서 본원에서 항체는 APOL1의 상이한 형태, 다시 말하면 G0, G1 및 G2 변이체를 구별할 수 있다. 예를 들면, 항체 4.11A10, 4.12E5 및 4.11A10은 APOL1의 G0과 G1 형태에는 특이적으로 결합하지만 G2 형태에는 유의미하게 결합하지 않는다. 따라서, 이들 항체는 G0과 G1 형태를 G2 형태로부터 식별할 수 있다.
- [0245] 따라서, 본원에서 항체의 상이한 결합 특징은 일부 양상에서, 발세포 상에서 APOL1이 혈청에서 (다시 말하면 HDL 입자 상에서) APOL1로부터 식별되어야 하는, APOL1이 APOL2 및/또는 APOL3으로부터 또는 APOL2, APOL3, APOL4 및 APOL6 모두로부터 식별되어야 하는, 및/또는 APOL1 G0과 G1 형태가 G2 형태로부터 식별되어야 하는 다양한 진단 검정과 용도에 유용할 수 있다.
- [0246] 하기 실시예에서 설명된 일정한 항체 클론은 염기서열분석되었고, 그리고 이들 항체의 CDR, 가변 영역 및 중쇄와 경쇄 서열은 뒤따르는 하위섹션에서 및 아래의 서열 표에서 제공된다. 일부 양상에서, 본원 발명의 항체는 하기를 포함한다:
- [0247] 1. 아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 여기서 상기 항체는
- [0248] (a) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0249] (b) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0250] (c) 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0251] (d) 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0252] (e) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0253] (f) 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0254] (g) 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0255] (h) 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

및 서열 번호: 195의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 196의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 197의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 198의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는

- [0268] (u) 서열 번호: 203의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 204의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 205의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 206의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 207의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 208의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.
- [0269] 2. 구체예 1의 항체, 여기서 상기 항체는
- [0270] 구체예 1(a)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 10의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0271] 구체예 1(b)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 19의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 20의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0272] 구체예 1(c)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 30의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0273] 구체예 1(d)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 40의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0274] 구체예 1(e)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 49의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 50의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0275] 구체예 1(f)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 59의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 60의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0276] 구체예 1(g)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 70의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0277] 구체예 1(h)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 79의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 80의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0278] 구체예 1(i)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 89의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 90의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0279] 구체예 1(j)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 99의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 100의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0280] 구체예 1(k)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 109의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 110의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;
- [0281] 구체예 1(l)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 119의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VH 및/또는 서열 번호: 120의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 VL을 더욱 포함하거나;

- [illegible]

- [0305] 구체예 1(n)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0306] 구체예 1(o)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 149의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0307] 구체예 1(p)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0308] 구체예 1(q)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 169의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0309] 구체예 1(r)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 179의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0310] 구체예 1(s)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 189의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나;
- [0311] 구체예 1(t)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 199의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함하거나; 또는
- [0312] 구체예 1(u)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 209의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 더욱 포함한다.
- [0313] 4. 구체예 1 또는 2의 항체, 여기서 상기 항체는
- [0314] 구체예 1(a)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0315] 구체예 1(b)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0316] 구체예 1(c)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0317] 구체예 1(d)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0318] 구체예 1(e)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0319] 구체예 1(f)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0320] 구체예 1(g)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0321] 구체예 1(h)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0322] 구체예 1(i)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0323] 구체예 1(j)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0324] 구체예 1(k)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0325] 구체예 1(l)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0326] 구체예 1(m)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0327] 구체예 1(n)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 140의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0328] 구체예 1(o)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 150의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0329] 구체예 1(p)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 160의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0330] 구체예 1(q)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 170의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0331] 구체예 1(r)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 180의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0332] 구체예 1(s)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 190의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나;
- [0333] 구체예 1(t)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 200의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함하거나; 또는
- [0334] 구체예 1(u)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 210의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 더욱 포함한다.
- [0335] 5. 구체예 1 또는 2의 항체, 여기서 상기 항체는
- [0336] 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0337] 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0338] 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

- [0339] 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0340] 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0341] 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0342] 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0343] 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0344] 서열 번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0345] 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0346] 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0347] 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0348] 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0349] 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 140의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0350] 서열 번호: 149의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 150의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0351] 서열 번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 160의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0352] 서열 번호: 169의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 170의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0353] 서열 번호: 179의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 180의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0354] 서열 번호: 189의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 190의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0355] 서열 번호: 199의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 200의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
- [0356] 서열 번호: 209의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열 번호: 210의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0357] 6. 구체예 1-5 중 어느 하나의 항체, 여기서 상기 항체는
- [0358] 구체예 1(a)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 11의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및/또는 서열 번호: 12와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;
- [0359] 구체예 1(b)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 21과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 22와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;
- [0360] 구체예 1(c)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 31과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 32와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;
- [0361] 구체예 1(d)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 41과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 42와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;
- [0362] 구체예 1(e)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 51과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 52와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;
- [0363] 구체예 1(f)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 61과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 62와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;
- [0364] 구체예 1(g)의 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 71과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 72와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 더욱 포함하거나;

- [illegible]

(LC);

- [0381] 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0382] 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0383] 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0384] 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0385] 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0386] 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0387] 서열 번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0388] 서열 번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0389] 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0390] 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0391] 서열 번호: 121의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0392] 서열 번호: 131의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0393] 서열 번호: 141의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0394] 서열 번호: 151의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0395] 서열 번호: 161의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 162의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0396] 서열 번호: 171의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 172의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0397] 서열 번호: 181의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 182의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0398] 서열 번호: 191의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 192의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- [0399] 서열 번호: 201의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 202의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC); 또는
- [0400] 서열 번호: 211의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열 번호: 212의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC)를 포함한다.
- [0401] 8. 아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 여기서 상기 항체는

- [0402] APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 61-103에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 및/또는
- [0403] APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 111-150에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 게다가 또한
- [0404] 여기서 상기 항체는 혈청에서 발견되는 APOL1에 비하여 발세포 상에서 발현되는 APOL1을 우선적으로 인식한다.
- [0405] 9. 구체예 8의 항체, 여기서 상기 항체는
- [0406] (a) 서열 번호: 173의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 174의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 175의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 176의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 177의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 178의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는
- [0407] (b) 서열 번호: 183의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 184의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 186의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 187의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 188의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.
- [0408] 10. 아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 여기서 상기 항체는
- [0409] APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 103-111에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고;
- [0410] APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 150-172에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고;
- [0411] APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 314-333에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 및/또는
- [0412] APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 376-398에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 게다가 또한
- [0413] 여기서 상기 항체는 발세포 상에서 발현되는 APOL1 및 혈청에서 발견되는 APOL1 둘 모두를 인식한다.
- [0414] 11. 구체예 10의 단리된 항체, 여기서 상기 항체는
- [0415] (a) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0416] (b) 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0417] (c) 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0418] (d) 서열 번호: 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0419] (e) 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0420] (f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 136의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 137의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 138의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);

- [0421] (g) 서열 번호: 143의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 144의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 145의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 146의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 147의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 148의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는
- [0422] (h) 서열 번호: 123의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.
- [0423] 12. 아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 여기서 상기 항체는
- [0424] APOL1 G0 (서열 번호: 2)의 아미노산 260-314에 상응하는 APOL1의 영역에 특이적으로 결합하고; 게다가 또한
- [0425] 여기서 상기 항체는 발세포 상에서 발현되는 APOL1에 비하여 혈청에서 발견되는 APOL1을 우선적으로 인식한다.
- [0426] 13. 구체에 12의 항체, 여기서 상기 항체는
- [0427] (a) 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는
- [0428] (b) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.
- [0429] 14. 아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 여기서 상기 항체는 APOL1의 G2 형태에 비하여 APOL1의 G0과 G1 형태에 우선적으로 결합한다.
- [0430] 15. 구체에 14의 항체, 여기서 상기 항체는
- [0431] (a) 서열 번호: 143의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 144의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 145의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 146의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 147의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 148의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0432] (b) 서열 번호: 123의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는
- [0433] (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 136의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 137의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 138의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.
- [0434] 16. 아포지질단백질 L1 (APOL1)에 특이적으로 결합하고, 그리고 (a) 아포지질단백질 L2 또는 L3 (APOL2 또는 APOL3)에 유의미하게 결합하지 않고 및/또는 (b) 아포지질단백질 L2 또는 L6 (APOL2 또는 APOL6)에 유의미하게 결합하지 않는 단리된 항체로서, 여기서 상기 항체는
- [0435] (a) 서열 번호: 163의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 164의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 165의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 166의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 167의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 168의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL);
- [0436] (b) 서열 번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 105의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호:

106의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL); 또는

- [0437] (c) 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH); 그리고 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.
- [0438] 17. 구체에 1 내지 5 또는 8 내지 16 중 어느 하나의 항체, 여기서 상기 항체는 인간화 또는 키메라이다.
- [0439] 18. 구체에 1 내지 5 또는 8 내지 16 중 어느 하나의 항체, 여기서 상기 항체는 IgG 항체, 예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4이다.
- [0440] 19. 구체에 1 내지 18 중 어느 하나의 항체, 여기서 상기 항체는 전장 항체이다.
- [0441] 20. 구체에 1 내지 5 또는 8 내지 16 중 어느 하나의 항체, 여기서 상기 항체는 항체 단편, 예컨대 Fv, 단일 사슬 Fv (scFv), Fab, Fab', 또는 (Fab')₂이다.
- [0442] 21. 구체에 1 내지 20 중 어느 하나의 항체, 여기서 상기 항체는 이중특이적 또는 다중특이적 항체이거나, 또는 여기서 상기 항체는 적어도 하나의 다른 분자에 공유적으로 또는 비공유적으로 접합된다.
- [0443] 22. 구체에 21의 항체, 여기서 상기 항체는 적어도 하나의 다른 분자에 공유적으로 또는 비공유적으로 접합되고, 여기서 적어도 하나의 다른 분자는 검출 표지 및/또는 제약학적 작용제를 포함한다.
- [0444] 23. 구체에 1-22 중 어느 하나의 항체, 여기서 상기 항체는 서열 번호: 2, 서열 번호: 213 및/또는 서열 번호: 214의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에 특이적으로 결합한다.
- [0445] 추가의 양상에서, 본원에서 항-APOL1 항체는 아래의 섹션 1-6에서 더욱 설명된 바와 같이, 임의의 특질을 단독적으로 또는 조합으로 통합할 수 있다. 본원 발명에 따른 일정한 항체는 바로 뒤따르는 하위섹션에서 더 상세하게 추가로 설명된다.
- [0446] 항체 3.6D12
- [0447] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 3, 4 및 5를 포함하는, 3.6D12 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 6, 7 및 8을 포함하는, 3.6D12 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체에서, 항체는 서열 번호: 3, 4, 5, 6, 7 및 8을 포함하는, 3.6D12의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.
- [0448] 일부 구체에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 10의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 10의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 9의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입

또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 10의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 9 및/또는 서열 번호: 10의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0449] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 11의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 12의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 11의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 12의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 11의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 3, 4 및 5의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 6, 7 및 8의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 12의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 11 및/또는 서열 번호: 12의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0450] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 PFD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 103-111로부터 PFD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 발세포 APOL1 및 혈청 APOL1 둘 모두를 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이 유세포분석에 의해 계측될 때, 야생형 발세포 상에서 APOL1을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 트리파노소마용해를 차단할 뿐만 아니라 야생형 발세포 상에서 APOL1을 인식하는데, 이것은 예를 들면 상기 항체가 발세포 및 혈청 둘 모두에서 위치된 APOL1에 결합한다는 것을 표시한다. 일부 양상에서, 항체는 APOL2, APOL3 및 APOL4를 인식하지만 APOL6을 인식하지는 않고, 그리고 따라서 APOL6을 다른 패밀리 구성원으로부터 식별하는 데 이용될 수 있다.

[0451] 항체 3.3B6

[0452] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 13, 14 및 15를 포함하는, 3.3B6 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 16, 17 및 18을 포함하는, 3.3B6 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서,

항체는 서열 번호: 13, 14, 15, 16, 17 및 18을 포함하는, 3.3B6의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0453]

일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 19의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 19의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 20의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 19의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 20의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 19 및/또는 서열 번호: 20의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0454]

일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 21의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 22의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 21의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 22의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 21의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14 및 15의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 16, 17 및 18의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 22의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5

개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 21 및/또는 서열 번호: 22의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0455] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 PFD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 발세포 APOL1 및 혈청 APOL1 둘 모두를 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이 유세포분석에 의해 계측될 때, 야생형 발세포 상에서 APOL1을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 트리파노소마용해를 차단할 뿐만 아니라 야생형 발세포 상에서 APOL1을 인식하는데, 이것은 예를 들면 상기 항체가 발세포 및 혈청 둘 모두에서 위치된 APOL1에 결합한다는 것을 표시한다.

[0456] 항체 3.7D6

[0457] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 23, 24 및 25를 포함하는, 3.7D6 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 26, 27 및 28을 포함하는, 3.7D6 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 23, 324, 25, 26, 27 및 28을 포함하는, 3.7D6의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0458] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 23, 24 및 25의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 26, 27 및 28의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 23, 24 및 25의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 26, 27 및 28의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 23, 24 및 25의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 26, 27 및 28의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 30의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 23, 24 및 25의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 26, 27 및 28의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 29의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 23, 24 및 25의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 26, 27 및 28의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 30의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 29 및/또는 서열 번호: 30의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0459] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 23, 24 및 25의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 26, 27 및 28의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 31의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열

번호: 23, 24 및 25의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 26, 27 및 28의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 32의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 23, 24 및 25의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 26, 27 및 28의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 31의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 32의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 23, 24 및 25의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 26, 27 및 28의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 23, 24 및 25의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 26, 27 및 28의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 31의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 23, 24 및 25의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 26, 27 및 28의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 32의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하지만, 서열 번호: 31 및/또는 서열 번호: 32의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0460] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 PFD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 150-172로부터 PFD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 발세포 APOL1 및 혈청 APOL1 둘 모두를 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이 유세포분석에 의해 측정될 때, 야생형 발세포 상에서 APOL1을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 트리파노소마용해를 차단할 뿐만 아니라 야생형 발세포 상에서 APOL1을 인식하는데, 이것은 예를 들면 상기 항체가 발세포 및 혈청 둘 모두에서 위치된 APOL1에 결합한다는 것을 표시한다. 일부 양상에서, 항체는 임의의 다른 APOL 패밀리를 구성원을 인식하지 않고 APOL1에 특이적이다.

[0461] 항체 3.3A8

[0462] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 33, 34 및 35를 포함하는, 3.3A8 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 36, 37 및 38을 포함하는, 3.3A8 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34, 35, 36, 37 및 38을 포함하는, 3.3A8의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0463] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 40의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체

예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 39의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 40의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 39 및/또는 서열 번호: 40의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0464]

일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 41의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 42의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 41의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 42의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 41의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 33, 34 및 35의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 36, 37 및 38의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 42의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 41 및/또는 서열 번호: 42의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0465]

일부 양상에서, 3.3A8 항체는 APOL1의 MAD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 260-294로부터 MAD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 혈청 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이 유세포분석에 의해 계측될 때, 야생형 발세포 상에서 APOL1을 유의미하게 인식하지 않지만, CHO 세포에서 안정되게 발현되는 APOL1을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 APOL2-6을 인식하지 않는다.

[0466]

항체 3.2C11

[0467]

일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 43, 44 및 45를 포함하는, 3.2C11 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호:

46, 47 및 48을 포함하는, 3.2C11 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44, 45, 46, 47 및 48을 포함하는, 3.2C11의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0468]

일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 49의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 50의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 50의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 49의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 50의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 49 및/또는 서열 번호: 50의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0469]

일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 51의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 52의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 51의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 52의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 51의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 43, 44 및 45의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 46, 47 및 48의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 52

의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 52의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 51 및/또는 서열 번호: 52의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0470] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 MAD 및 링커 (L) 부분 사이의 접합부를 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 294-314로부터 L 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 혈청 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이 유세포분석에 의해 측정될 때, 야생형 발세포 상에서 APOL1을 유의미하게 인식하지 않는다.

[0471] 항체 3.1C1

[0472] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 53, 54 및 55를 포함하는, 3.1C1 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 56, 57 및 58을 포함하는, 3.1C1 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54, 55, 56, 57 및 58을 포함하는, 3.1C1의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0473] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 59의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 60의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 59의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 60의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 59의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 60의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 59 및/또는 서열 번호: 60의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0474] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 61의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도

98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 62의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 61의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 62의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 61의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 53, 54 및 55의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 56, 57 및 58의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 62의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 61 및/또는 서열 번호: 62의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0475] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 링커 (L) 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 314-333으로부터 L 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 혈청 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이 유세포분석에 의해 측정될 때, 야생형 발세포 상에서 APOL1을 유의미하게 인식하지 않는다. 일부 양상에서, 항체는 APOL 2, 3, 4, 또는 6을 인식하지 않는다.

[0476] 항체 3.1C7

[0477] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 63, 64 및 65를 포함하는, 3.7C1 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 66, 67 및 68을 포함하는, 3.7C1 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64, 65, 66, 67 및 68을 포함하는, 3.7C1의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0478] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64 및 65의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 66, 67 및 68의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64 및 65의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 66, 67 및 68의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64 및 65의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 66, 67 및 68의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64 및 65의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 66, 67 및 68의 경쇄 CDR들을 포함

하고, 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64 및 65의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 66, 67 및 68의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 69의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64 및 65의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 66, 67 및 68의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 70의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 69 및/또는 서열 번호: 70의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0479]

일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64 및 65의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 66, 67 및 68의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 71의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64 및 65의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 66, 67 및 68의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 72의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64 및 65의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 66, 67 및 68의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 71의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 72의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64 및 65의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 66, 67 및 68의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64 및 65의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 66, 67 및 68의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 71의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 63, 64 및 65의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 66, 67 및 68의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 72의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 71 및/또는 서열 번호: 72의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0480]

일부 양상에서, 항체는 APOL1의 링커 (L) 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 314-333으로부터 L 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 혈청 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이 유세포분석에 의해 계측될 때, 야생형 발세포 상에서 APOL1을 유의미하게 인식하지 않는다.

[0481]

항체 3.4G10

[0482]

일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 73, 74 및 75를 포함하는, 3.4G10 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 76, 77 및 78을 포함하는, 3.4G10 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 73, 74, 75, 76, 77 및 78을 포함하는, 3.4G10의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 81 및/또는 서열 번호: 82의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0485] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 링커 (L) 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 324-343으로부터 L 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 혈청 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이 유세포분석에 의해 측정될 때, 야생형 발세포 상에서 과다발현되는 APOL1을 유의미하게 인식하지 않는다.

[0486] 항체 3.6E10

[0487] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 83, 84 및 85를 포함하는, 3.6E10 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 86, 87 및 88을 포함하는, 3.6E10 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84, 85, 86, 87 및 88을 포함하는, 3.6E10의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0488] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84 및 85의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 86, 87 및 88의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 89의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84 및 85의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 86, 87 및 88의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 90의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84 및 85의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 86, 87 및 88의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 89의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 90의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84 및 85의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 86, 87 및 88의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 89의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 89의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84 및 85의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 86, 87 및 88의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 90의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 89 및/또는 서열 번호: 90의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0489] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84 및 85의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 86, 87 및 88의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 91의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84 및 85의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 86, 87 및 88의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 92의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도

96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84 및 85의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 86, 87 및 88의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 91의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 92의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84 및 85의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 86, 87 및 88의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84 및 85의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 86, 87 및 88의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84 및 85의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 86, 87 및 88의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 91의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 91의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 83, 84 및 85의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 86, 87 및 88의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 92의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 92의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 91 및/또는 서열 번호: 92의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0490] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 링커 (L) 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 314-333으로부터 L 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 혈청 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이 유세포분석에 의해 계측될 때, 야생형 발세포 상에서 APOL1을 유의미하게 인식하지 않는다.

[0491] 항체 3.3F7

[0492] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 93, 94 및 95를 포함하는, 3.3F7 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 96, 97 및 98을 포함하는, 3.3F7 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94, 95, 96, 97 및 98을 포함하는, 3.3F7의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0493] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 99의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 100의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 99의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 100의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 99의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일

부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 100의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 99 및/또는 서열 번호: 100의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0494]

일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 101의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 102의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 101의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 102의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 101의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 93, 94 및 95의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 96, 97 및 98의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 102의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 101 및/또는 서열 번호: 102의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0495]

일부 양상에서, 항체는 선천적 APOL1을 우선적으로 인식하는데, 그 이유는 이것이 도 1c에서 및 실시예에서 도시된 바와 같이 유세포분석에 의해 전장 (예를 들면 서열 번호: 2)을 인식하지만 임의의 개별 도메인을 인식하지는 않기 때문이다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이 유세포분석에 의해 계측될 때, 과다발현 발세포 상에서 APOL1을 인식한다.

[0496]

항체 3.7F5

[0497]

일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 203, 204 및 205를 포함하는, 3.7F5 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 206, 207 및 208을 포함하는, 3.7F5 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 203, 204, 205, 206, 207 및 208을 포함하는, 3.7F5의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0498]

일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 203, 204 및 205의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 206, 207 및 208의 경

포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 211의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 212의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 211 및/또는 서열 번호: 212의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0500] 일부 양상에서, 항체는 선천적 APOL1을 우선적으로 인식하는데, 그 이유는 이것이 전장 APOL1 (예를 들면 서열 번호: 2)을 인식하지만 임의의 개별 도메인을 인식하지는 않기 때문이다 (도 1c에서 및 실시예에서 도시된 3.3F7와 유사함). 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 45% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이 유세포분석에 의해 계측될 때, 과다발현 발세포 상에서 APOL1을 유의미하게 인식하지 않는다.

[0501] 항체 4.17A5

[0502] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 103, 104 및 105를 포함하는, 4.17A5 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 106, 107 및 108을 포함하는, 4.17A5 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104, 105, 106, 107 및 108을 포함하는, 4.17A5의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0503] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 109의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 110의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 109의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 110의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 110의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 110의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 109 및/또는 서열 번호: 110의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0504] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 111의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%,

적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 112의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 111의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 112의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 111의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 103, 104 및 105의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 106, 107 및 108의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 112의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 111 및/또는 서열 번호: 112의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0505] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 PFD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 150-172로부터 PFD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 혈청 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 본원의 실시예에서 설명된 바와 같이 유세포분석에 의해 측정될 때, 야생형 발세포 상에서 APOL1을 유의미하게 인식하지 않는다. 일부 양상에서, 항체는 APOL2를 유의미하게 인식하지 않는다. 일부 양상에서, 항체는 APOL4를 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 APOL2, APOL3, 또는 APOL6 중 어느 것도 유의미하게 인식하지 않는다. 따라서, 일부 양상에서, 항체는 APOL1 및/또는 APOL4를 다른 관련된 단백질 예컨대 APOL2, APOL3 및/또는 APOL6으로부터 식별하는 데 이용될 수 있다.

[0506] 항체 4.2C4

[0507] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 113, 114 및 115를 포함하는, 4.2C4 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 116, 117 및 118을 포함하는, 4.2C4 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114, 115, 116, 117 및 118을 포함하는, 4.2C4의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0508] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 119의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 119의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역

및 서열 번호: 120의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 119의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 120의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 120의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 119 및/또는 서열 번호: 120의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0509] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 121의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 122의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 121의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 122의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 121의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 121의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 121의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 113, 114 및 115의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 116, 117 및 118의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 122의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 121의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 121 및/또는 서열 번호: 122의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0510] 항체 4.12E5

[0511] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 123, 124 및 125를 포함하는, 4.12E5 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 126, 127 및 128을 포함하는, 4.12E5 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체

예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124, 15, 126, 127 및 128을 포함하는, 4.12E5의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0512] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 129의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 130의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 130의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 129의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 130의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 129 및/또는 서열 번호: 130의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0513] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 131의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 132의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 131의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 132의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 131의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 131의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 131의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱

포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 123, 124 및 125의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 126, 127 및 128의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 132의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 132의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 131의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 131 및/또는 서열 번호: 132의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0514] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 SRA-ID 부분, 예컨대 아미노산 376-398으로부터 상기 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 혈청 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 G2 형태에 비하여 APOL1의 G0과 G1 형태를 우선적으로 인식한다. 따라서, 일부 양상에서, 항체는 G0과 G1 형태를 G2 형태로부터 식별할 수 있다.

[0515] 항체 4.11A10

[0516] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 133, 134 및 135를 포함하는, 4.11A10 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 136, 137 및 138을 포함하는, 4.11A10 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134, 135, 136, 137 및 138을 포함하는, 4.11A10의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0517] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 139의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 140의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 139의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 140의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 140의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 139의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 140의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 140의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 140의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 139 및/또는 서열 번호: 140의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0518] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 140의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의

중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 141의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 142의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 141의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 142의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 141의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 141의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 141의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 133, 134 및 135의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 136, 137 및 138의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 142의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 142의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 141의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 142의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 141 및/또는 서열 번호: 142의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0519] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 SRA-ID 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 376-398로부터 SRA-ID 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 혈청 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 60% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 G2 형태에 비하여 APOL1의 G0과 G1 형태를 우선적으로 인식한다. 따라서, 일부 양상에서, 항체는 G0과 G1 형태를 G2 형태로부터 식별할 수 있다.

[0520] 항체 4.11H11

[0521] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 143, 144 및 145를 포함하는, 4.11H11 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 146, 147 및 148을 포함하는, 4.11H11 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 13, 14, 15, 146, 147 및 148을 포함하는, 4.11H11의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0522] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 149의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 150의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 149의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 150의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 149의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 150의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 149의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 149의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 150의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 150의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 149의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 150의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 149 및/또는 서열 번호: 150의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0523] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 149의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 150의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 151의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 152의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 151의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 152의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 151의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 151의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 151의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 143, 144 및 145의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 146, 147 및 148의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 152의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 151의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 151 및/또는 서열 번호: 152의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0524] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 SRA-ID 부분, 예컨대 아미노산 376-398으로부터 상기 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 G2 형태에 비하여 APOL1의 G0과 G1 형태를 우선적으로 인식한다. 따라서, 일부 양상에서, 항체는 G0과 G1 형태를 G2 형태로부터 식별할 수 있다.

[0525] 항체 4.29C4

[0526] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 153, 154 및 155를 포함하는, 4.29C4 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다.

다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 156, 157 및 158을 포함하는, 4.29C4 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154, 155, 156, 157 및 158을 포함하는, 4.29C4의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0527] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 159의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 160의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 159의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 160의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 160의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 159의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 159의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 160의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 160의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 160의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 159 및/또는 서열 번호: 160의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0528] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 159의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 160의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 161의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 162의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 161의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 162의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 161의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 162의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다.

의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 161의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 161의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 153, 154 및 155의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 156, 157 및 158의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 162의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 162의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 161의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 162의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 161 및/또는 서열 번호: 162의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0529] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 SRA-ID 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 364-376으로부터 SRA-ID 부분을 인식한다. 이들 아미노산은 발세포-발현된 APOL1 및 혈청 APOL1 둘 모두에서 상대적으로 접근 불가능한 것으로 보인다. 따라서, 일부 양상에서, 항체는 발세포-발현된 APOL1 또는 혈청 APOL1 중 어느 것도 유의하게 인식하지 않는다.

[0530] 항체 5.17D12

[0531] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 163, 164 및 165를 포함하는, 5.17D12 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 166, 167 및 168을 포함하는, 5.17D12 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164, 165, 166, 167 및 168을 포함하는, 5.17D12의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0532] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164 및 165의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 166, 167 및 168의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 169의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164 및 165의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 166, 167 및 168의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 170의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164 및 165의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 166, 167 및 168의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 169의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 170의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164 및 165의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 166, 167 및 168의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 169의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164 및 165의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 166, 167 및 168의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 170의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164 및 165의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 166, 167 및 168의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 169의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 169의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164 및 165의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 166, 167 및 168의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 170의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 170의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 169의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 170의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 169 및/또는 서열 번호: 170의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0533] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 169의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 170의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예

컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164 및 165의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 166, 167 및 168의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 171의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164 및 165의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 166, 167 및 168의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 172의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164 및 165의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 166, 167 및 168의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 171의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 172의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164 및 165의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 166, 167 및 168의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 171의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 171의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 163, 164 및 165의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 166, 167 및 168의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 172의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 172의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 171의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 172의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 171 및/또는 서열 번호: 172의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0534] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 PFD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 발세포의 표면 상에서 야생형 APOL1을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 혈청 APOL1을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 차단한다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 적어도 40% 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 예컨대 유세포분석에 의해, 발세포 상에서 내인성 APOL1에 결합한다. 일부 양상에서, 항체는 APOL2를 유의미하게 인식하지 않는다. 일부 양상에서, 항체는 APOL2, APOL3, APOL4, 또는 APOL6 중 어느 것도 유의미하게 인식하지 않는다. 따라서, 일부 양상에서, 항체는 APOL1을 다른 관련된 단백질 예컨대 APOL2, APOL3, APOL4 및/또는 APOL6으로부터 식별하는 데 이용될 수 있다.

[0535] 항체 5.17H8

[0536] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 173, 174 및 175를 포함하는, 5.17H8 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 176, 177 및 178을 포함하는, 5.17H8 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174, 175, 176, 177 및 178을 포함하는, 5.17H8의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0537] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 179의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 180의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 179의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도

95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 180의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 179의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 180의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 179의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 179의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 180의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 180의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 179의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 180의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 179 및/또는 서열 번호: 180의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0538] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 179의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 180의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 181의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 182의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 181의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 182의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 181의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 182의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 181의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 181의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 173, 174 및 175의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 176, 177 및 178의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 182의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 182의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 181의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 182의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 181 및/또는 서열 번호: 182의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0539] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 PFD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 61-103으로부터 PFD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면 유세포분석에 의해 발세포 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 발세포 상에서 발현되는 야생형 APOL1에 특이적으로 결합한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 유의미하게 차단하지 않는다. 예를 들면, 일부

양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 20% 이하로 차단한다. 따라서, 일부 양상에서, 항체는 발 세포 APOL1을 혈청 APOL1로부터 식별하는 데 이용될 수 있다. 추가적으로 이러한 항체는 일부 양상에서 APOL2, APOL3 및 APOL4를 인식하지만 APOL6을 인식하지는 않고, 그리고 따라서 APOL6을 다른 패밀리 구성원으로부터 식별하는 데 이용될 수 있다.

[0540] 항체 5.11H2

[0541] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 183, 184 및 185를 포함하는, 5.11H2 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 186, 187 및 188을 포함하는, 5.11H2 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184, 185, 186, 187 및 188을 포함하는, 5.11H2의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0542] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 189의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 190의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 189의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 189의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 190의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 189의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 189의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 190의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 190의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 189의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 190의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 189 및/또는 서열 번호: 190의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0543] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 189의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 190의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 191의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 192의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 191의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%,

적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 192의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 191의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 192의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 191의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 191의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 183, 184 및 185의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 186, 187 및 188의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 192의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 192의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 191의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 192의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 191 및/또는 서열 번호: 192의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0544] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 PFD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 아미노산 61-103으로부터 PFD 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 발세포 APOL1을 우선적으로 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 발세포 상에서 발현되는 야생형 APOL1에 특이적으로 결합한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 유의미하게 차단하지 않는다. 예를 들면, 일부 양상에서, 항체는 이런 검정에서 트리파노소마용해를 20% 이하 또는 10% 이하로 차단한다. 따라서, 일부 양상에서, 항체는 발세포 APOL1을 혈청 APOL1로부터 식별하는 데 이용될 수 있다.

[0545] 5.14D6 항체

[0546] 일부 양상에서, 본원 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체에 관계하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 193, 194 및 195를 포함하는, 5.14D6 항체의 중쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 196, 197 및 198을 포함하는, 5.14D6 항체의 경쇄 CDR들을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194, 195, 196, 197 및 198을 포함하는, 5.14D6의 중쇄와 경쇄 CDR들을 포함한다.

[0547] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 199의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 200의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 199의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 200의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 199의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 200의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 199의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 199의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖

는 중쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 200의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 200의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄 가변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 199의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 200의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하지만, 서열 번호: 199 및/또는 서열 번호: 200의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0548] 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 199의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 200의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 예를 들면, 상기 섹션에서 설명된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4를 포함한다. 다른 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 201의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 202의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 201의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 202의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 201의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 202의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 201의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 201의 중쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 중쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 193, 194 및 195의 중쇄 CDR들 및/또는 서열 번호: 196, 197 및 198의 경쇄 CDR들을 포함하고, 그리고 서열 번호: 202의 아미노산 서열을 포함하지만 서열 번호: 202의 경쇄 프레임워크 영역에서 5개까지, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 경쇄를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 서열 번호: 201의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 202의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하지만, 서열 번호: 201 및/또는 서열 번호: 202의 프레임워크 영역에서 5개까지의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실, 예컨대 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는다.

[0549] 일부 양상에서, 항체는 APOL1의 링커 (L) 부분을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 잔기 304-323에서 APOL1을 인식한다. 일부 양상에서, 항체는 본원의 실시예에서 설명된 바와 같은 검정에서 트리파노소마용해를 유의미하게 차단한다. 일부 양상에서, 항체는 본원에서 설명된 검정에서 발세포 상에서 APOL1을 유의미하게 인식하지 않는다.

[0550] 1. 항체 친화성

[0551] 일정한 양상에서, 본원에서 제공된 항체는 APOL1에 특이적으로 결합하는데, 이것은 상기 항체가 APOL1에 대해 $\leq 1 \mu\text{M}$ 의 해리 상수 (K_D ; 친화성)를 갖는다는 것을 표시한다. 일부 양상에서, 항체는 APOL1에 대해 $\leq 100 \text{ nM}$ 또는 $\leq 10 \text{ nM}$ 의 친화성을 가질 수 있다.

[0552] 한 양상에서, K_D 는 표면 플라즈몬 공명을 이용하여 측정될 수 있다. 한 양상에서, K_D 는 BIACORE[®] 표면 플라즈몬 공명 검정, 예컨대 BIACore[™] T200 또는 BIACore[™] 8K 검정을 이용하여 측정된다. 예를 들면, BIACore[™] 8K (BIACore, Inc., Piscataway, NJ)를 이용한 검정이 ~300 반응 단위 (RU)에서 단백질 A 칩 상에서 고정된 항체로 25°C 또는 37°C에서 수행될 수 있다. 항원의 10 배 연속 희석액이 37 °C에서 100 mL/분의 유속으로 HBS-P 완

층액에 주입된다. 대안으로, 항원의 10 배 연속 희석액이 25 °C에서 30 μL/분의 유속으로 HBS-P 완충액에 주입된다. 연관 속도 (ka) 및 해리 속도 (kd)가 1:1 랭뮤어 결합 모형 (예를 들면, BIAcore Insight Evaluation 소프트웨어 버전 2.0을 이용하여)을 이용하여 계산된다. 평형 해리 상수 (KD)는 kd/ka 비율로서 계산된다.

[0553] 대안적 방법에서, K_D 는 방사성표지화된 항원 결합 검정 (RIA)에 의해 측정된다. 한 양상에서, RIA는 관심되는 항체의 Fab 버전 및 이의 항원으로 수행된다. 예를 들면, 항원에 대한 Fabs의 용해 결합 친화성은 표지화되지 않은 항원의 적정 연속의 존재에서 Fab를 최소 농도의 (^{125} I)-표지된 항원과 평형시키고, 이후 결합된 항원을 항-Fab 항체-코팅된 평판으로 포획함으로써 측정된다 (참조: 예를 들면, Chen et al., *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)). 검정을 위한 조건을 확립하기 위해, MICROTITER[®] 다중웰 평판 (Thermo Scientific)이 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6)에서 5 μg/ml의 포획 항-Fab 항체 (Cappel Labs)로 하룻밤 동안 코팅되고, 그리고 차후에, 실온 (대략 23°C)에서 2 내지 5 시간 동안 PBS에서 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 차단된다. 비흡착성 평판 (Nunc #269620)에서, 100 pM 또는 26 pM [^{125} I]-항원이 관심되는 Fab의 연속 희석액과 혼합된다 (예를 들면, Presta et al., *Cancer Res.* 57:4593-4599 (1997)에서 항-VEGF 항체, Fab-12의 사정과 일치). 관심되는 Fab는 이후, 하룻밤 동안 항온처리된다; 하지만, 항온처리는 평형이 도달되도록 담보하기 위해 더 긴 기간 (예를 들면, 약 65 시간) 동안 계속될 수도 있다. 그 후에, 혼합물이 실온에서 항온처리를 위해 포획 평판으로 이전된다 (예를 들면, 1 시간 동안). 용액은 이후, 제거되고, 그리고 평판이 PBS에서 0.1% 폴리소르베이트 20 (TWEEN-20[®])으로 8회 세척된다. 평판이 건조될 때, 150 μl/웰의 신틸란트 (MICROSCINT-20[™]; Packard)가 첨가되고, 그리고 이들 평판은 TOPCOUNT[™] 감마 계수기 (Packard)에서 10 분 동안 계수된다. 최대 결합의 20% 이하이거나 또는 이와 동등한 결합을 제공하는 각 Fab의 농도가 경쟁적 결합 검정에서 이용을 위해 선택된다.

[0554] 2. 항체 단편

[0555] 일정한 양상에서, 본원에서 제공된 항체는 항체 단편이다.

[0556] 한 양상에서, 항체 단편은 Fv, 단일 사슬 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, 또는 F(ab')₂ 단편, 특히 Fab 단편이다. 무손상 항체의 파파인 소화는 중쇄와 경쇄 가변 도메인 (각각, VH와 VL), 그리고 또한 경쇄의 불변 도메인 (CL) 및 중쇄의 첫 번째 불변 도메인 (CH1)을 각각 내포하는, "Fab" 단편으로 불리는 2개의 동일한 항원 결합 단편을 생산한다. 용어 "Fab 단편"은 따라서, VL 도메인 및 CL 도메인을 포함하는 경쇄, 그리고 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하는 중쇄 단편을 포함하는 항체 단편을 지칭한다. "Fab' 단편"은 항체 힌지 영역으로부터 하나 또는 그 이상의 시스테인을 포함하는 CH1 도메인의 카르복시 말단에서 잔기의 부가에 의해 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 자유 티올 기를 보유하는 Fab' 단편이다. 펩신 처리는 2개의 항원 결합 부위 (2개의 Fab 단편) 및 Fc 영역의 일부를 갖는 F(ab')₂ 단편을 산출한다. 구제 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 증가된 생체내 반감기를 갖는 Fab 및 F(ab')₂ 단편에 관한 논의를 위해, U.S. 특허 번호 5,869,046을 참조한다.

[0557] 다른 양상에서, 항체 단편은 디아바디, 트리아바디 또는 테트라바디이다. "디아바디"는 이가 또는 이중특이적일 수 있는 2개의 항원 결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 참조: 예를 들면, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003); 및 Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993). 트리아바디 및 테트라바디 역시 Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)에서 설명된다.

[0558] 추가의 양상에서, 항체 단편은 단일 사슬 Fab 단편이다. "단일 사슬 Fab 단편" 또는 "scFab"는 항체 중쇄 가변 도메인 (VH), 항체 중쇄 불변 도메인 1 (CH1), 항체 경쇄 가변 도메인 (VL), 항체 경쇄 불변 도메인 (CL) 및 링커로 구성되는 폴리펩티드이고, 여기서 상기 항체 도메인 및 상기 링커는 N 말단에서 C 말단 방향으로 하기 순서 중에서 한 가지를 갖는다: a) VH-CH1-링커-VL-CL, b) VL-CL-링커-VH-CH1, c) VH-CL-링커-VL-CH1 또는 d) VL-CH1-링커-VH-CL. 특히, 상기 링커는 적어도 30개 아미노산, 바람직하게는 32개 및 50개 사이의 아미노산의 폴리펩티드이다. 상기 단일 사슬 Fab 단편은 CL 도메인 및 CH1 도메인 사이에 자연 이황화 결합을 통해 안정화된다. 이에 더하여, 이들 단일 사슬 Fab 단편은 시스테인 잔기 (예를 들면 Kabat 넘버링에 따른 가변 중쇄에서 위치 44 및 가변 경쇄에서 위치 100)의 삽입을 통한 사슬간 이황화 결합의 산출에 의해 더욱 안정화될지도 모른다.

[0559] 다른 양상에서, 항체 단편은 단일 사슬 가변 단편 (scFv)이다. "단일 사슬 가변 단편" 또는 "scFv"는 링커에 의해 연결된, 항체의 중쇄 (VH)와 경쇄 (VL)의 가변 도메인의 융합 단백질이다. 특히, 링커는 10 내지 25개 아미

노산의 짧은 폴리펩티드이고, 그리고 통상적으로, 유연성을 위한 글리신뿐만 아니라 용해도를 위한 세린 또는 트레오닌이 풍부하고, 그리고 VH의 N 말단을 VL의 C 말단과 연결하거나 또는 그 반대일 수 있다. 이러한 단백질은 불변 영역의 제거 및 링커의 도입에도 불구하고, 본래 항체의 특이성을 유지한다. ScFv 단편에 관한 검토를 위해, 예를 들면, Plüchthun, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)를 참조한다; 또한, WO 93/16185; 및 U.S. 특허 번호 5,571,894와 5,587,458을 참조한다.

[0560] 다른 양상에서, 항체 단편은 단일 도메인 항체이다. "단일 도메인 항체"는 항체의 중쇄 가변 도메인 중에서 전부 또는 일부, 또는 항체의 경쇄 가변 도메인 중에서 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 일정한 양상에서, 단일 도메인 항체는 인간 단일 도메인 항체이다 (Domantis, Inc., Waltham, MA; 참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 6,248,516 B1).

[0561] 항체 단편은 본원에서 설명된 바와 같이, 무손상 항체의 단백질분해성 소화뿐만 아니라 재조합 숙주 세포 (예를 들면, 대장균 (*E. coli*))에 의한 재조합 생산을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 다양한 기술에 의해 만들어질 수 있다.

[0562] 3. 키메라 및 인간화 항체

[0563] 일정한 양상에서, 본원에서 제공된 항체는 키메라 항체이다. 일정한 키메라 항체는 예를 들면, U.S. 특허 번호 4,816,567; 및 Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984))에서 설명된다. 한 가지 실례에서, 키메라 항체는 비인간 가변 영역 (예를 들면, 생쥐, 쥐, 햄스터, 토끼, 또는 비인간 영장류, 예컨대 원숭이로부터 유래된 가변 영역) 및 인간 불변 영역을 포함한다. 추가의 실례에서, 키메라 항체는 "부류 전환된" 항체인데, 여기서 부류 또는 하위부류가 부모 항체의 것으로부터 변화되었다. 키메라 항체는 이들의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0564] 일정한 양상에서, 키메라 항체는 인간화 항체이다. 전형적으로, 비인간 항체는 부모 비인간 항체의 특이성 및 친화성을 유지하면서, 인간에 대한 면역원성을 감소시키기 위해 인간화된다. 일반적으로, 인간화 항체는 CDRs (또는 이들의 부분)가 비인간 항체로부터 유래되고, 그리고 FRs (또는 이들의 부분)가 인간 항체 서열로부터 유래되는 하나 또는 그 이상의 가변 도메인을 포함한다. 인간화 항체는 임의적으로, 인간 불변 영역의 적어도 일부를 또한 포함할 것이다. 일부 양상에서, 인간화 항체에서 일부 FR 잔기는 예를 들면, 항체 특이성 또는 친화성을 복원하거나 또는 향상시키기 위해, 비인간 항체 (예를 들면, CDR 잔기가 유래되는 항체)로부터 상응하는 잔기로 치환된다.

[0565] 인간화 항체 및 이들을 만드는 방법은 예를 들면, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)에서 검토되고, 그리고 예를 들면, Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); US 특허 번호 5, 821,337, 7,527,791, 6,982,321 및 7,087,409; Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005) (특이성 결정 영역 (SDR) 합체를 설명); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) ("표면치환"을 설명); Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005) ("FR 서플링"을 설명); 그리고 Osbourn et al., *Methods* 36:61-68 (2005) 및 Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (FR 서플링에 대한 "보도된 선택" 접근법을 설명)에서 더욱 설명된다.

[0566] 인간화에 이용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은 다음을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다: "최고 적합" 방법을 이용하여 선택된 프레임워크 영역 (참조: 예를 들면, Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정 하위군의 인간 항체의 공통 서열로부터 유래된 프레임워크 영역 (참조: 예를 들면, Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); 및 Presta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)); 인간 성숙 (체성으로 돌연변이된) 프레임워크 영역 또는 인간 생식계열 프레임워크 영역 (참조: 예를 들면, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); 그리고 선별검사 FR 라이브러리로부터 유래된 프레임워크 영역 (참조: 예를 들면, Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) 및 Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)).

[0567] 4. 다중특이적 항체

[0568] 일정한 양상에서, 본원에서 제공된 항체는 다중특이적 항체, 예를 들면 이중특이적 항체이다. "다중특이적 항체"는 적어도 2개의 상이한 부위, 다시 말하면, 상이한 항원 상에서 상이한 에피토프 또는 동일한 항원 상에서 상이한 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 단일클론 항체이다. 일정한 양상에서, 다중특이적 항체는 3개

또는 그 이상의 결합 특이성을 갖는다. 일정한 양상에서, 결합 특이성 중에서 하나는 APOL1에 대한 것이고, 그리고 다른 특이성은 임의의 다른 항원에 대한 것이다. 일정한 양상에서, 이중특이적 항체는 항원의 2개 (또는 그 이상)의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 다중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로서 제조될 수 있다.

[0569] 다중특이적 항체를 만들기 위한 기술은 상이한 특이성을 갖는 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 제조법 공동 발현 (참조: Milstein and Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)) 및 "노브-인-홀" 조작 (참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 5,731,168 및 Atwell et al., *J. Mol. Biol.* 270:26 (1997))을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 무제한의 예시적인 노브-인-홀 치환은 T366W (노브) 및 T366S/ L368A/Y407V (홀)를 포함한다. 일부 구체예에서, 노브-인-홀 치환은 IgG1 불변 도메인 내에 있다.

[0570] 다중특이적 항체는 또한, 항체 Fc-이종이합체성 분자를 만들기 위해 정전 스티어링 효과를 조작함으로써 만들어 질 수 있다. 참조: 예를 들면, WO 2009/089004; Dillon et al., *Mabs* 9(2): 213-230 (2017). 무제한적 실례로서, 2개의 중쇄 가변 영역 및 2개의 경쇄 가변 영역을 포함하는 이중특이적 항체에서, 첫 번째 중쇄 가변 영역은 Q39E 치환 (Kabat 넘버링)을 포함할 수 있고, 첫 번째 경쇄 가변 영역은 Q38K 치환 (Kabat 넘버링)을 포함할 수 있고; 그리고 두 번째 중쇄 가변 영역은 Q39K 치환 (Kabat 넘버링)을 포함할 수 있고, 두 번째 경쇄 가변 영역은 Q38E 치환 (Kabat 넘버링)을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, Q39E/Q38K 및 Q39K/Q38E 치환은 이중특이적 항체의 중쇄와 경쇄의 오대합을 감소시킨다. 유사하게, 첫 번째 중쇄 불변 영역은 S183K 치환 (EU 넘버링)을 포함할 수 있고 첫 번째 경쇄 불변 영역은 V133E 치환 (EU 넘버링)을 포함할 수 있고, 그리고 두 번째 중쇄 불변 영역은 S183E 치환 (EU 넘버링)을 포함할 수 있고 두 번째 경쇄 불변 영역은 V133K 치환 (EU 넘버링)을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, S183K/V133E 및 S183E/V133K 치환은 이중특이적 항체의 중쇄와 경쇄의 오대합을 감소시킨다.

[0571] 일부 구체예에서, 이중특이적 항체는 결합 도메인에서 Q39E/Q38K 및 Q39K/Q38E 치환, 그리고 불변 영역에서 S183K/V133E 및 S183E/V133K 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 이중특이적 항체는 노브-인-홀 치환 및 정전 치환 둘 모두를 포함한다. 참조: 예를 들면, WO 2016/172485, 이것은 여기에서 온전히 참조로서 편입된다.

[0572] 따라서, 일부 구체예에서, a) 첫 번째 중쇄 폴리펩티드 (H1) 및 첫 번째 경쇄 폴리펩티드 (L1)를 포함하는, 첫 번째 항원에 결합하는 첫 번째 중쇄/경쇄 쌍, 그리고 b) 두 번째 중쇄 폴리펩티드 (H2) 및 두 번째 경쇄 폴리펩티드 (L2)를 포함하는, 두 번째 항원에 결합하는 두 번째 중쇄/경쇄 쌍을 포함하는 다중특이적 항체가 제공되고, 여기서 H1 및 H2는 각각, 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 중쇄 불변 도메인 (CH1)을 포함하고, 그리고 L1 및 L2는 각각, 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 경쇄 불변 도메인 (CL)을 포함하고; 여기서 H1의 CH1 도메인은 S183 (EU 넘버링)에서 아미노산 치환을 포함하고, L1의 CL 도메인은 V133 (EU 넘버링)에서 아미노산 치환을 포함하고; 그리고 여기서 H1의 VH 도메인은 위치 Q39에서 아미노산 치환을 포함하고 L1의 VL 도메인은 위치 Q38에서 아미노산 치환을 포함하고 및/또는 H2의 VH 도메인은 위치 Q39에서 아미노산 치환을 포함하고 L2의 VL 도메인은 위치 Q38 (이들 모두 Kabat 넘버링)에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, H1의 VH 도메인은 Q39 (Kabat 넘버링)에서 아미노산 치환을 포함하고, 그리고 L1의 VL 도메인은 Q38 (Kabat 넘버링)에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, H2의 CH1 도메인은 S183 (EU 넘버링)에서 아미노산 치환을 포함하고, 그리고 L2의 CL 도메인은 V133 (EU 넘버링)에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, H2의 VH 도메인은 위치 Q39에서 아미노산 치환을 더욱 포함하고, 그리고 L2의 VL 도메인은 위치 Q38 (Kabat 넘버링)에서 아미노산 치환을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, H1의 CH1 도메인은 S183K 돌연변이를 포함하고 L1의 CL은 V133E 돌연변이를 포함하고, 그리고 H2의 CH1은 S183E 돌연변이를 포함하고 L2의 CL 도메인은 V133K 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, H1의 VH 도메인은 Q39E 돌연변이를 포함하고, L1의 VL 도메인은 Q38K 돌연변이를 포함하고, H2의 VH 도메인은 Q39K 돌연변이를 포함하고, 그리고 L2의 VL 도메인은 Q38E 돌연변이 (이들 모두 Kabat 넘버링)를 포함한다.

[0573] 다중특이적 항체는 또한, 2개 또는 그 이상의 항체 또는 단편을 교차연결함으로써 (참조: 예를 들면, US 특허 번호 4,676,980 및 Brennan et al., *Science*, 229: 81 (1985)); 류신 지퍼를 이용하여 이중특이적 항체를 생성함으로써 (참조: 예를 들면, Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992) 및 WO 2011/034605); 경쇄 오대합 문제를 회피하기 위해 공통 경쇄 기술을 이용함으로써 (참조: 예를 들면, WO 98/50431); 이중특이적 항체 단편을 만들기 위해 "디아바디" 기술을 이용함으로써 (참조: 예를 들면, Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)); 그리고 단일 사슬 Fv (sFv) 이합체를 이용함으로써 (참조: 예를 들면, Gruber et al., *J. Immunol.*, 152:5368 (1994)); 그리고 예를 들면, Tutt et al. *J. Immunol.* 147: 60 (199

1)에서 설명된 바와 같이 삼중특이적 항체를 제조함으로써 만들어질 수 있다.

[0574] 예를 들면, "문어 항체", 또는 DVD-Ig를 비롯한, 3개 또는 그 이상의 항원 결합 부위를 갖는 조작된 항체 또한 본원에 포함된다 (참조: 예를 들면, WO 2001/77342 및 WO 2008/024715). 3개 또는 그 이상의 항원 결합 부위를 갖는 다중특이적 항체의 다른 실례는 WO 2010/115589, WO 2010/112193, WO 2010/136172, WO 2010/145792 및 WO 2013/026831에서 발견될 수 있다. 이중특이적 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 또한, APOL1뿐만 아니라 다른 상이한 항원에 결합하는 항원 결합 부위를 포함하는 "이중 작용 Fab" 또는 "DAF"를 포함한다 (참조: 예를 들면, US 2008/0069820 및 WO 2015/095539).

[0575] 다중특이적 항체는 또한, 동일한 항원 특이성의 하나 또는 그 이상의 결합 팔에서 도메인 교차로, 다시 말하면, VH/VL 도메인 (참조: 예를 들면, WO 2009/080252 및 WO 2015/150447), CH1/CL 도메인 (참조: 예를 들면, WO 2009/080253) 또는 완전한 Fab 팔 (참조: 예를 들면, WO 2009/080251, WO 2016/016299, 또한 Schaefer et al., PNAS, 108 (2011) 1187-1191 및 Klein et al., MAbs 8 (2016) 1010-20 참조)을 교환함으로써 비대칭적 형태로 제공될 수 있다. 한 양상에서, 다중특이적 항체는 교차-Fab 단편을 포함한다. 용어 "교차-Fab 단편" 또는 "xFab 단편" 또는 "교차 Fab 단편"은 중쇄와 경쇄의 가변 영역 또는 불변 영역 중 어느 한 가지가 교환되는 Fab 단편을 지칭한다. 교차-Fab 단편은 경쇄 가변 영역 (VL) 및 중쇄 불변 영역 1 (CH1)로 구성되는 폴리펩티드 사슬, 그리고 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 불변 영역 (CL)으로 구성되는 폴리펩티드 사슬을 포함한다. 비대칭적 Fab 팔은 또한, 정확한 Fab 대합을 주도하기 위해 하전된 또는 비-하전된 아미노산 돌연변이를 도메인 인터페이스 내로 도입함으로써 조작될 수 있다. 참조: 예를 들면, WO 2016/172485.

[0576] 다중특이적 항체에 대한 다양한 추가의 분자 형식은 당해 분야에서 공지되고 본원에 포함된다 (참조: 예를 들면, Spiess et al., Mol Immunol 67 (2015) 95-106).

[0577] 이러한 목적에 유용할 수 있는 이중특이적 항체 형식의 실례는 2개의 scFv 분자가 유연한 링커에 의해 융합되는 이른바 "BiTE" (이중특이적 T 세포 인계이저) 분자 (참조: 예를 들면, WO 2004/106381, WO 2005/061547, WO 2007/042261 및 WO 2008/119567, Nagorsen and Bäuerle, Exp Cell Res 317, 1255-1260 (2011)); 디아바디 (Holliger et al., Prot Eng 9, 299-305 (1996)) 및 이들의 유도체, 예컨대 탠덤 디아바디 ("TandAb"; Kipriyanov et al., J Mol Biol 293, 41-56 (1999)); 디아바디 형식에 기초되지만 추가 안정화를 위한 C 말단 이황화 다리를 특징으로 하는 "DART" (이중 친화성 재표적화) 분자 (Johnson et al., J Mol Biol 399, 436-449 (2010)), 그리고 전체 하이브리드 생쥐/쥐 IgG 분자인 이른바 트리옴 (Seimetz et al., Cancer Treat Rev 36, 458-467 (2010)에서 검토됨)을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 본원에 포함된 특정 T 세포 이중특이적 항체 형식은 WO 2013/026833, WO 2013/026839, WO 2016/020309; Bacac et al., Oncoimmunology 5(8) (2016) e1203498에서 설명된다.

[0578] 5. 항체 변이체

[0579] 일정한 양상에서, 본원에서 제공된 항체의 아미노산 서열 변이체가 예기된다. 예를 들면, 상기 항체의 결합 친화성 및/또는 다른 생물학적 특성을 변경하는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 상기 항체를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 내로 적절한 변형을 도입함으로써, 또는 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있다. 이런 변형은 예를 들면, 항체의 아미노산 서열로부터 결실 및/또는 이들 서열 내로 삽입 및/또는 이들 서열 내에 잔기의 치환을 포함한다. 최종 작제물이 원하는 특징, 예컨대 항원 결합을 소유한다면, 최종 작제물에 도달하기 위해 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합이 만들어질 수 있다.

[0580] a) 치환, 삽입 및 결실 변이체

[0581] 일정한 양상에서, 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환적 돌연변이유발을 위한 관심되는 부위는 CDR 및 FR을 포함한다. 보존성 치환은 "바람직한 치환"의 표제하에 표 1에서 도시된다. 더 실제적인 변화는 "예시적인 치환"의 표제하에 표 1에서 제공되고, 그리고 아미노산 측쇄 부류에 관하여 아래에 더욱 설명된다. 아미노산 치환은 관심되는 항체 내로 도입될 수 있고, 그리고 산물은 원하는 활성, 예를 들면, 유지된/향상된 항원 결합, 감소된 면역원성, 또는 향상된 ADCC 또는 CDC에 대해 선별검사될 수 있다.

[0582] 표 1

표 1

[0583]

본래 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

[0584]

아미노산은 공통 측쇄 특성에 따라 군화될 수 있다:

[0585]

(1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0586]

(2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0587]

(3) 산성: Asp, Glu;

[0588]

(4) 염기성: His, Lys, Arg;

[0589]

(5) 사슬 배향정위에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro;

[0590]

(6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0591]

비보존성 치환은 이들 부류 중에서 한 가지의 구성원을 다른 부류의 구성원으로 교체하는 것을 수반할 것이다.

[0592]

치환 변이체의 한 가지 유형은 부모 항체의 하나 또는 그 이상의 초가변 영역 잔기를 치환하는 것을 수반한다 (예를 들면, 인간화 또는 인간 항체). 일반적으로, 추가 연구를 위해 선택되는 결과의 변이체(들)는 부모 항체에 비하여 일정한 생물학적 특성에서 변형 (예를 들면, 향상) (예를 들면, 증가된 친화성, 감소된 면역원성)을 가질 것이고 및/또는 부모 항체의 실제적으로 유지된 일정한 생물학적 특성을 가질 것이다. 예시적인 치환 변이체는 친화성 성숙된 항체인데, 이것은 예를 들면, 파지 전시-기초된 친화성 성숙 기술, 예컨대 본원에서 설명된 것들을 이용하여 편의하게 산출될 수 있다. 간단히 말하면, 하나 또는 그 이상의 CDR 잔기가 돌연변이되고, 그리고 변이체 항체가 파지에서 전시되고 특정 생물학적 활성 (예를 들면, 결합 친화성)에 대해 선별검사된다.

[0593]

예를 들면, 항체 친화성을 향상시키기 위해 CDRs에서 변경 (예를 들면, 치환)이 만들어질 수 있다. 이런 변경은 CDR "핫스팟", 다시 말하면, 체성 성숙 과정 동안 높은 빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 인코딩된 잔기 (참조: 예를 들면, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)) 및/또는 항원에 접촉하는 잔기에서 만들어질 수 있으며, 결과의 변이체 VH 또는 VL은 결합 친화성에 대해 검사된다. 이차 라이브러리를 구축하고 이로부터 재선별함에 의한 친화성 성숙은 예를 들면, Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).)에서 설명되었다. 친화성 성숙의 일부 양상에서, 다양성이 임의의 다양한 방법 (예를 들면, 오류 가능성 PCR, 사슬 셔플링, 또는 올리고뉴클레오타이드-유도 돌연변이)에 의해, 성숙을 위해 선택된 가변적 유전자 내로 도입된다. 이차 라이브러리가 이후 창출된다. 상기 라이브러리는 이후, 원하는 친화성을 갖는 임의의 항체 변이체를 확인하기 위해 선별검사된다. 다양성을 도

입하기 위한 다른 방법은 CDR-지향된 접근법을 수반하는데, 여기서 여러 CDR 잔기 (예를 들면, 한 번에 4-6개 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합에 관련된 CDR 잔기는 예를 들면, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 또는 모형화를 이용하여 특이적으로 확인될 수 있다. 특히, CDR-H3 및 CDR-L3이 종종 표적화된다.

[0594] 일정한 양상에서, 치환, 삽입 또는 결실은 이런 변경이 항원에 결합하는 항체의 능력을 실제로 감소시키지 않으면, 하나 또는 그 이상의 CDR 내에서 일어날 수 있다. 예를 들면, 결합 친화성을 실제로 감소시키지 않는 보존성 변경 (예를 들면, 본원에서 제시된 바와 같은 보존성 치환)이 CDR에서 만들어질 수 있다. 이런 변경은 예를 들면, CDR에서 항원 접촉 잔기의 외부에 있을 수 있다. 앞서 제공된 일정한 변이체 VH와 VL 서열에서, 각 CDR은 변경되지 않거나, 또는 단지 1개, 2개 또는 3개의 아미노산 치환을 내포한다.

[0595] 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 확인을 위한 유용한 방법은 Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085에 의해 설명된 바와 같이 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"로 불린다. 이러한 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기의 군 (예를 들면, 하전된 잔기, 예컨대 arg, asp, his, lys 및 glu)이 확인되고, 그리고 항체의 항원과의 상호작용이 영향을 받는지를 결정하기 위해 중성 또는 음성으로 하전된 아미노산 (예를 들면, 알라닌 또는 폴리알라닌)에 의해 대체된다. 추가 치환은 초기 치환에 기능적 감수성을 나타내는 아미노산 위치에서 도입될 수 있다. 대안으로 또는 부가적으로, 항원 항체 복합체의 결정 구조는 항체 및 항원 사이의 접촉 포인트를 확인하는 데 이용될 수 있다. 이런 접촉 잔기 및 인접한 잔기는 치환을 위한 후보로서 표적화되거나 또는 제거될 수 있다. 변이체는 그들이 원하는 특성을 내포하는지를 결정하기 위해 선별검사될 수 있다.

[0596] 아미노산 서열 삽입은 1개 잔기로부터 100개 또는 그 이상의 잔기를 내포하는 폴리펩티드까지의 길이 범위에서 변하는 아미노 및/또는 카르복실 말단 융합뿐만 아니라 단일 또는 복수 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 실례는 N 말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 효소 (예를 들면, ADEPT (항체 지향된 효소 전구약물 요법)의 경우) 또는 폴리펩티드에 대한 항체의 N 또는 C 말단에 융합을 포함한다.

[0597] 6. 항체 접합체

[0598] 일정한 양상에서, 본원에서 제공된 항체는 추가 단백질 또는 비단백질성 모이어티를 내포하도록 변형될 수 있다. 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 수용성 중합체의 무제한적 실례는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸셀룰로오스, 텍스트란, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1, 3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산 (동종중합체 또는 무작위 공중합체), 그리고 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 동종중합체, 프롤릴프로필렌 산화물/에틸렌 산화물 공중합체, 폴리옥시에틸화된 폴리올 (예를 들면, 글리세롤), 폴리비닐 알코올, 그리고 이들의 혼합물을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데하이드는 물에서 안정성으로 인해, 제조 시에 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량일 수 있고, 그리고 분지되거나 또는 분지되지 않을 수 있다. 항체에 부착된 중합체의 숫자는 변할 수 있고, 그리고 하나 이상의 중합체가 부착되면, 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 이용되는 중합체의 숫자 및/또는 유형은 향상되는 항체의 특정 특성 또는 기능, 항체 유도체가 규정된 조건하에 요법에서 이용될 것인지의 여부 등을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 고려 사항에 근거하여 결정될 수 있다.

[0599] 본원 발명은 또한, 한 가지 또는 그 이상의 치료제 예컨대 세포독성 작용제, 약물 또는 방사성동위원소에 접합된 (화학적으로 결합된) 본원에서 항체를 포함하는 접합체를 제공한다. 한 양상에서, 접합체는 항체-약물 접합체 (ADC)이고, 여기서 항체는 예를 들면 한 가지 또는 그 이상의 치료제에 접합된다. 항체는 전형적으로, 링커를 이용하여 한 가지 또는 그 이상의 치료제에 연결된다. ADC 기술의 개요는 *Pharmacol Review* 68:3-19 (2016)에서 진술된다.

[0600] 항체 및 다른 작용제의 접합체는 다양한 이중기능성 단백질 연계 작용제, 예컨대 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오) 프로피온산염 (SPDP), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1-카르복실산염 (SMCC), 이미노티올란 (IT), 이미노에스테르의 이중기능성 유도체 (예컨대, 디메틸 아디피메이트 HCl), 활성 에스테르 (예컨대, 디숙신이미딜 수베르산염), 알데하이드 (예컨대, 글루타르알데하이드), 비스-아지도 화합물 (예컨대, 비스 (p-아지도 벤조일) 헥사디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트) 및 비스-활성 플루오르 화합물 (예컨대, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 이용하여 만들어질 수 있다. 예를 들면, 리신 면역독소는 Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1988)에서 진술된다.

7)에서 설명된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지화된 1-이소티오시아나토벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민 펜타아세트산 (MX-DTPA)은 항체에 방사성뉴클레오타이드의 접합을 위한 예시적인 킬레이트화제이다. 참조: WO 94/11026. 링커는 세포에서 세포독성 약물의 방출을 용이하게 하는 "개열 가능한 링커"일 수 있다. 예를 들면, 산-불안정 링커, 펩티드분해효소-민감성 링커, 광불안정 링커, 디메틸 링커 또는 이황화물-내포 링커 (Chari et al., *Cancer Res.* 52:127-131 (1992); U.S. 특허 번호 5,208,020)가 이용될 수 있다.

[0601] 본원에서 접합체 또는 ADC는 상업적으로 가용한 (예를 들면, Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A로부터) BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 술포-EMCS, 술포-GMBS, 술포-KMUS, 술포-MBS, 술포-SIAB, 술포-SMCC 및 술포-SMPB, 그리고 SVSB (숙신이미달-(4-비닐술포)벤조에이트)를 포함하지만 이들에 한정되지 않는 교차연결제 시약으로 제조된 이와 같은 접합체를 명시적으로 예기하지만, 이들에 한정되지 않는다.

[0602] B. 제조합 방법과 조성물

[0603] 항체는 예를 들면, US 4,816,567에서 설명된 바와 같은 제조합 방법과 조성물을 이용하여 생산될 수 있다. 이들 방법을 위해, 항체를 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 단리된 핵산(들)이 제공된다.

[0604] 선천적 항체 또는 선천적 항체 단편의 경우에, 2개의 핵산, 즉 경쇄 또는 이의 단편에 대한 핵산 및 중쇄 또는 이의 단편에 핵산이 필요하다. 이런 핵산(들)은 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 VH를 포함하는 아미노산 서열 (예를 들면, 항체의 경쇄 및/또는 중쇄(들))을 인코딩한다. 이들 핵산은 동일한 발현 벡터 상에 또는 상이한 발현 벡터 상에 있을 수 있다.

[0605] 이중이합체성 중쇄를 갖는 이중특이적 항체의 경우에, 4개의 핵산, 즉 첫 번째 경쇄에 대한 핵산, 첫 번째 이중단량체성 Fc-영역 폴리펩티드를 포함하는 첫 번째 중쇄에 대한 핵산, 두 번째 경쇄에 대한 핵산 및 두 번째 이중단량체성 Fc-영역 폴리펩티드를 포함하는 두 번째 중쇄에 대한 핵산이 필요하다. 이들 4개의 핵산은 하나 또는 그 이상의 핵산 분자 또는 발현 벡터 내에 포함될 수 있다. 이런 핵산(들)은 항체의 첫 번째 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 첫 번째 이중단량체성 Fc-영역을 포함하는 첫 번째 VH를 포함하는 아미노산 서열 및/또는 두 번째 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 두 번째 이중단량체성 Fc-영역을 포함하는 두 번째 VH를 포함하는 아미노산 서열 (예를 들면, 항체의 첫 번째 및/또는 두 번째 경쇄 및/또는 첫 번째 및/또는 두 번째 중쇄)을 인코딩한다. 이들 핵산은 동일한 발현 벡터 상에 또는 상이한 발현 벡터 상에 있을 수 있으며, 통상적으로 이들 핵산은 2개 또는 3개의 발현 벡터 상에 위치된다, 다시 말하면 하나의 벡터가 이들 핵산 중에서 하나 이상을 포함할 수 있다. 이들 이중특이적 항체의 실례는 CrossMab이다 (참조: 예를 들면, Schaefer, W. et al, PNAS, 108 (2011) 11187-11191). 예를 들면, EU 색인 넘버링에 따라서, 이중단량체성 중쇄 중에서 하나는 이른바 "노브 돌연변이" (T366W, 그리고 임의적으로 S354C 또는 Y349C 중에서 하나)를 포함하고, 그리고 다른 하나는 이른바 "홀 돌연변이" (T366S, L368A 및 Y407V, 그리고 임의적으로 Y349C 또는 S354C)를 포함한다 (참조: 예를 들면, Carter, P. et al., *Immunotechnol.* 2 (1996) 73).

[0606] 한 양상에서, 본원에서 보고된 바와 같은 방법에서 이용된 바와 같은 항체를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다.

[0607] 한 양상에서, 항체를 만드는 방법이 제공되는데, 여기서 상기 방법은 상기 제시된 바와 같은 항체의 발현에 적합한 조건하에, 상기 항체를 인코딩하는 핵산(들)을 포함하는 숙주 세포를 배양하고, 그리고 임의적으로, 상기 항체를 숙주 세포 (또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 회수하는 단계를 포함한다.

[0608] 항체의 제조합 생산의 경우에, 예를 들면, 전술된 바와 같은 항체를 인코딩하는 핵산이 단리되고, 그리고 숙주 세포에서 추가 클로닝 및/또는 발현을 위해 하나 또는 그 이상의 벡터 내로 삽입된다. 이런 핵산은 쉽게 단리될 수 있고, 그리고 전통적인 절차 (예를 들면, 항체의 중쇄와 경쇄를 인코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함으로써)를 이용하여 염기서열분석되거나 또는 제조합 방법에 의해 생산되거나 또는 화학적 합성에 의해 획득될 수 있다.

[0609] 항체-인코딩 벡터의 클로닝 또는 발현을 위한 적합한 숙주 세포는 본원에서 설명된 원핵 또는 진핵 세포를 포함한다. 예를 들면, 항체는 특히 글리코실화 및 Fc 작동체 기능이 필요하지 않을 때 세균에서 생산될 수 있다. 세균에서 항체 단편 및 폴리펩티드의 발현에 대해, 예를 들면, US 5,648,237, US 5,789,199 및 US 5,840,523을 참조한다. (대장균 (*E. coli*)에서 항체 단편의 발현을 설명하는, Charlton, K.A., In: *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248, Lo, B.K.C. (ed.), Humana Press, Totowa, NJ (2003), pp. 245-254를 또한 참조한다). 발현 후, 항체는 가용성 분획물에서 세균 세포 페이스트로부터 단리될 수 있고 더욱 정제될 수 있다.

- [0610] 원핵생물에 대하여, 진핵 미생물, 예컨대 글리코실화 경로가 "인간화"되어, 부분적으로 또는 완전 인간 글리코실화 패턴을 갖는 항체의 생산을 유발하는 균류 및 효모 균주를 비롯한, 실모양 균류 또는 효모가 항체-인코딩 벡터에 대한 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다. 참조: Gerngross, T.U., Nat. Biotech. 22 (2004) 1409-1414; 및 Li, H. et al., Nat. Biotech. 24 (2006) 210-215.
- [0611] (글리코실화된) 항체의 발현을 위한 적합한 숙주 세포는 또한, 다세포 생물체 (무척추동물 및 척추동물)로부터 유래된다. 무척추동물 세포의 실례는 식물과 곤충 세포를 포함한다. 특히, 스포도프테라 프루기페르다 (*Spodoptera frugiperda*) 세포의 형질감염을 위해, 곤충 세포와 함께 이용될 수 있는 다양한 바콜로바이러스 계통이 확인되었다.
- [0612] 식물 세포 배양액 또한, 숙주로서 활용될 수 있다. 참조: 예를 들면, US 5,959,177, US 6,040,498, US 6,420,548, US 7,125,978 및 US 6,417,429 (유전자도입 식물에서 항체를 생산하기 위한 PLANTIBODIESTM 기술을 설명).
- [0613] 척추동물 세포 또한, 숙주로서 이용될 수 있다. 예를 들면, 현탁 상태에서 성장하도록 적응되는 포유류 세포주가 유용할 수 있다. 유용한 포유류 숙주 세포주의 다른 실례는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주 (COS-7); 인간 배아 신장 세포주 (예를 들면, Graham, F.L. et al., J. Gen Virol. 36 (1977) 59-74에서 설명된 바와 같은 293 또는 293T 세포); 아기 햄스터 신장 세포 (BHK); 생쥐 세르톨리 세포 (예를 들면, Mather, J.P., Biol. Reprod. 23 (1980) 243-252에서 설명된 바와 같은 TM4 세포); 원숭이 신장 세포 (CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (VERO-76); 인간 경부 암종 세포 (HELA); 개 신장 세포 (MDCK); 버팔로 쥐 간 세포 (BRL 3A); 인간 폐 세포 (W138); 인간 간 세포 (Hep G2); 생쥐 유방 종양 (MMT 060562); TRI 세포 (예를 들면, Mather, J.P. et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383 (1982) 44-68에서 설명된 바와 같이); MRC 5 세포; 그리고 FS4 세포이다. 다른 유용한 포유류 숙주 세포주는 DHFR- CHO 세포를 비롯한, 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포 (Urlaub, G. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77 (1980) 4216-4220); 그리고 골수종 세포주 예컨대 Y0, NS0 및 Sp2/0을 포함한다. 항체 생산에 적합한 일정한 포유류 숙주 세포주에 관한 검토를 위해, 예를 들면, Yazaki, P. and Wu, A.M., Methods in Molecular Biology, Vol. 248, Lo, B.K.C. (ed.), Humana Press, Totowa, NJ (2004), pp. 255-268을 참조한다.
- [0614] 한 양상에서, 숙주 세포는 진핵, 예를 들면, 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포 또는 림프구양 세포 (예를 들면, Y0, NS0, Sp20 세포)이다.
- [0615] **C. 검정**
- [0616] 본원에서 제공된 항-APOL1 항체는 다양한 검정에 의해, 그들의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대해 확인되거나, 선별검사되거나, 또는 특정화될 수 있다.
- [0617] 한 양상에서, 본원 발명의 항체는 예를 들면, 공지된 방법, 예컨대 ELISA, 웨스턴 블롯 등에 의해 항원 결합 활성에 대해 검사된다. 발세포에 대한 항체의 결합은 예를 들면, 제자리 혼성화, 면역조직화학 (IHC), 면역침전, 유세포분석, 또는 웨스턴 블로팅에 의해 검사될 수 있다. 발세포 및 HDL 입자 사이의 결합을 구별하기 위해, 예를 들면 유세포분석 또는 면역침전에 의해, 선천적 상태에서 APOL1을 이용하여 결합이 검사될 수 있다. 고정 및/또는 투과화 또는 변성 웨스턴 블롯에서 변성 후, 상이한 APOL1 에피토프가 노출된다.
- [0618] 혈청에서, 다시 말하면 HDL 입자 상에서 APOL1에 대한 항체의 결합은 예를 들면, 트리파노소마용해를 차단하는 이들 항체의 능력을 보고하는, 본원의 실시예에서 설명된 검정에 의해 검사될 수 있다. 이러한 검정은 상기 및 실시예에서 더 상세하게 설명된다. 이러한 검정은 예를 들면, 존재하는 APOL1이 HDL 입자 상에서 노출되는 정도를 결정하기 위해, 샘플에서 이용될 수 있다.
- [0619] 또한, 연구자의 관심에 따라서, 임의의 상기 검정이 조합될 수 있다.
- [0620] **D. 진단 및 검출을 위한 방법 및 조성물**
- [0621] 일정한 양상에서, 본원에서 제공된 임의의 항체는 생물학적 샘플 내에서 항원 예컨대 APOL1의 존재를 검출하는데 유용하다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "검출하는"은 정량적 또는 정성적 검출을 포괄한다. 일정한 양상에서, 생물학적 샘플은 세포 또는 조직을 포함한다, 예컨대 샘플은 발세포를 내포한다.
- [0622] 일정한 양상에서, 상기 방법은 APOL1에 항-APOL1 항체의 결합을 허용하는 조건하에 생물학적 샘플을 본원에서 설명된 바와 같은 항-APOL1 항체와 접촉시키는 단계, 그리고 상기 항체 및 상기 항원 사이에 복합체가 형성되는지의 여부를 검출하는 단계를 포함한다. 이런 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다. 일정한 양상에서,

검출 방법은 샘플 내에서 발세포와 결합된 내인성 APOL1의 발현을 결정하는 것을 수반한다. 이런 검정을 위해, APOL1을 다른 APOL 형태 예컨대 APOL2, APOL3, APOL4 및 APOL6 중에서 하나 또는 그 이상으로부터 식별하는 항-APOL1 항체, 예컨대 5.17D2, 4.17A5, 3.1C1 및 3.7D6의 CDR들을 포함하는 항체가 이용될 수 있다. 이들 단백질을 식별하지 않는 다른 항체, 예컨대 3.6D12 또는 5.17H8의 CDR들을 갖는 항체는 또한, 이런 검정에서 대조로서 이용될 수 있을지도 모른다. 일부 검정에서, 본원에서 설명된 바와 같이, 발세포 상에서 APOL1에는 특이적으로 결합하지만 혈청에서 APOL1에는 유의미하게 결합하지 않거나 또는 트리파노소마용해를 차단하는 항체가 이용될 수 있다. 일부 검정에서, APOL1의 G0과 G1 형태 및 G2 형태를 구별할 수 있는 항체, 예컨대 4.11A10, 4.12E5 또는 4.11H11의 CDR들을 갖는 항체를 이용함으로써, APOL1 G2가 발세포 상에 존재하는지를 결정하는 것이 바람직할 수 있다. 발세포 상에서 APOL1을 검출하는 데 이용되는 검정은 예를 들면, 유세포분석, 제자리 혼성화 (ISH), 면역세포화학 (IHC), 면역침전, 웨스턴 블롯 등을 포함할 수 있다. 일부 양상에서, 트리파노소마용해 검정이 혈청에서, 예를 들면 HDL 입자 상에서 발견되는 APOL1을 검출하기 위해 본원에서 설명된 바와 같이 이용될 수 있다.

[0623] 일정한 양상에서, 이런 검정을 위해 표지화된 항-APOL1 항체가 제공된다. 표지는 직접적으로 검출되는 표지 또는 모이어티 (예컨대, 형광, 색소생산, 전자 밀도, 화학발광 및 방사성 표지)뿐만 아니라 예를 들면, 효소 반응 또는 분자 상호작용을 통해 간접적으로 검출되는 모이어티, 예컨대 효소 또는 리간드를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 예시적인 표지는 염료 전구체를 산화시키는 과산화수소를 이용하는 효소, 예컨대 HRP, 락토펙시다아제 또는 마이크로페록시다아제, 비오틴/아비딘, 스핀 표지, 박테리오파지 표지, 안정된 유리 라디칼 등과 연계된 방사성 동위원소 ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H 및 ^{131}I , 형광단, 예컨대 회토류 킬레이트 또는 플루오레세인 및 이의 유도체, 로다민 및 이의 유도체, 단실, 움벨리페론, 루시페라아제, 예를 들면, 개똥벌레 루시페라아제 및 세균 루시페라아제 (U.S. 특허 번호 4,737,456), 루시페린, 2,3-디히드로프타라진디온, 양고추냉이 과산화효소 (HRP), 알칼리 인산분해효소, β -갈락토시다아제, 글루코아밀라아제, 라이소자임, 사카라이드 옥시다아제, 예를 들면, 글루코오스 옥시다아제, 갈락토오스 옥시다아제 및 글루코오스-6-인산염 탈수소효소, 헤테로환상 옥시다아제, 예컨대 요산분해효소 및 크산틴 옥시다아제를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 다른 양상에서, 본원에서 항체는 표지화되지 않지만, 예를 들면, 표지를 통합할 수 있거나, 또는 다른 분자의 컬러 또는 상태에서 변화를 유도하여 표지로서 행동할 수 있는 이차 항체를 통해 인식된다.

[0624] E. 제조 물품

[0625] 본원 발명의 다른 양상에서, 전술된 진단 검정에 유용한 재료를 내포하는 제조 물품이 제공된다. 제조 물품은 장래 이용을 위해 보관된, 예를 들면 동결 건조된, 또는 다른 성분 예컨대 완충액 및 안정제를 포함하는 액체 제제에서 본원에서 항체 중에서 적어도 한 가지를 포함하는 조성물 또는 키트일 수 있다. 제조 물품은 항체를 이용한 검정을 수행하는 데 유용한 다른 시약, 예컨대 표지화 시약을 더욱 포함할 수 있다. 제조 물품은 또한, 용기 및 용기 상에 또는 용기와 결합된 표지를 포함할 수 있다.

[0626] III. 실시예

[0627] 다음은 본원 발명의 방법과 조성물의 실시예이다. 앞서 제공된 일반적인 설명을 고려하여, 다양한 다른 구체제가 실시될 수 있는 것으로 이해된다.

[0628] 실시예 1: 도메인-특이적 항체는 혈청 및 발세포에서 APOL1의 막 위상에서 차이를 드러낸다

[0629] 순환성 APOL1 (아포지질단백질 L1)의 2가지 변이체, G1 및 G2는 트리파노소마 브루세이 (*Trypanosoma brucei*) 감염의 아종으로부터 보호하지만, 그와 동시에 만성 신장병의 더 큰 위험을 부가한다. 신장병에서 영향을 받은 HDL 입자에서 또는 발세포 상에서 APOL1의 위상에 관해 알려진 바가 거의 없다. APOL1의 길이를 따라서 항체를 산출함으로써, 우리는 어떤 도메인이 노출되는지를 확인하여, 혈청 및 발세포 표면 APOL1 위상 사이의 차이를 발견하였다. 이들은 생리학적 세팅에서 APOL1 입체형태에 대한 최초의 직접적인 통찰이고, 그리고 APOL1 신병증에 대한 APOL1-표적화된 약물에 영향을 끼친다.

[0630] 순환성 아포지질단백질 L1 (APOL1)은 트리파노소마에 대한 용해성 인자이며, 인간 수면병으로부터 보호한다. 야생형에 대해 내성인 트리파노소마의 종으로부터 보호하도록 진화된, APOL1의 2가지 공통 아프리카 변이체, G1 및 G2는 다소간, 인간을 일정한 만성 신장 질환 (CKD)에 걸리기 쉽도록 만든다. 하지만, APOL1-매개된 신장 발세포 손상의 정확한 기전은 이의 세포이하 국지화 및 이것이 트리파노소마용해에서 이의 역할에 관련되는지의 여부와 더불어, 여전히 명확하지 않다. 유세포분석, 면역침전 및 트리파노소마용해 검정에 의해 혈청 (HDL 입자) 및 신장 발세포에서 APOL1 위상을 매핑하기 위해 170개의 APOL1 도메인-특이적 단일클론 항체가 산출되었

고, 그리고 항체 특이성을 확증하기 위해 *APOL1* 녹아웃 발세포가 산출되었다. 이들 결과는 *APOL1*이 신장 발세포의 세포 표면에 국지화되며, 포어 형성 도메인 (PFD)의 대부분 및 혈청 내성 연관 상호작용 도메인 (SRA-ID)의 C 말단이 노출되지만 막 주소지정 도메인 (MAD)은 그렇지 않다는 것을 암시한다. 대조적으로, 차별적 트리파노소마용해성 차단 활성은 MAD가 혈청 *APOL1*에서 노출되며, PFD의 경우 더 적은 부분만 접근 가능하다는 것을 드러낸다. 혈청 또는 발세포 중 어느 하나에서 *APOL1*의 육안적 위상은 낮은 pH에 의해 검출가능하게 변경되지 않았다. 이들 항체는 생리학적으로 유관한 막에서 선천적 *APOL1* 위상의 조사를 가능하게 하여, 이것이 세포 표면 상에서보다 혈청에서 상이한 입체형태를 갖는다는 것을 드러냈다. 이들 조사 결과는 *APOL1* 위험 변이체-매개된 발세포 손상에 대한 표면 이온 통로 모형에 신뢰성을 부여할 뿐만 아니라 *APOL1*-표적화된 치료제를 설계하기 위한 도메인 접근성 정보를 제공한다.

[0631] 아포지질단백질 L1 (*APOL1*)은 트리파노소마용해를 담당하는 인간 혈청의 성분이고 (참고문헌 1-3), 그리고 신호 서열을 갖고, 따라서 순환 내로 분비되는 *APOL1*-6 유전자 클러스터 (4-5)의 유일한 구성원이다. 순환성 *APOL1*은 트리파노소마 브루세이 브루세이 (*Trypanosoma brucei brucei*)에 대한 내성을 부여하고, 따라서 인간을 아프리카 수면병으로부터 보호한다 (1). *APOL1*은 인간 혈청에서 APOA1 및 합도글로빈 관련 단백질 (HPR)과의 2가지 복합체로 존재한다: 트리파노소마 용해성 인자1 (TLF1)은 지질단백질 입자 (HDL3b)이고, 반면 TLF2는 지질 부족하지만 IgM을 내포한다 (6-8). TbHpHb 수용체를 통해 트리파노소마 내로 TLF1/HDL 입자 (또는 이러한 수용체와 무관한 TLF2)의 내재화 시에, *APOL1*은 낮은 pH에서 리소좀 막 내로 삽입되어, 삼투성 팽화 및 궁극적인 트리파노소마 용해를 야기한다 (6,9-12). *APOL1*은 트리파노소마용해에서 추정 역할을 따서 명명된 3개의 도메인: 포어 형성 도메인 (PFD), 막 주소지정 도메인 (MAD) 및 SRA-상호작용 도메인을 갖는다 (1). *APOL1*의 2가지 코딩 변이체 (G1 및 G2)는 트리파노소마 브루세이 (*T. brucei*)의 다양한 아종에 대한 내성을 제공하도록 진화되었지만 (3,11, 13), 이들은 아프리카 디아스포라에서 만성 신장병의 증가된 위험과 강하게 연관한다 (14-15). 신장병은 순환성 *APOL1*보다는, 신장 발세포 (*APOL1* 신병증에서 영향을 받는 세포 유형)에서 내인성 *APOL1* 변이체에 의해 유발되는 것으로 생각된다 (16-20). *APOL1*은 트리파노소마 및 포유류 세포 둘 모두에서 이온 통로로서 작용하는 것으로 제안되지만, 이의 위치 및 이온의 성격이 여전히 논쟁 중이고 양쪽 종에서 동일한 기전이 작동하는지가 불명확하다 (21-22, 36). 추가적으로, 발세포 막 또는 HDL 입자 중 어느 하나에서 *APOL1*의 위상에 관해 알려진 바가 거의 없다. 게다가, 내인성 *APOL1*이 발세포 표면에서 발견되는지가 확립되지 않았다.

[0632] 발세포 및 혈청 연관된 *APOL1* 둘 모두를 더 잘 특징화하기 위해, 우리는 *APOL1*에 대한 170개의 항체를 산출하였다. 우리는 *APOL1*의 이들 2가지 형태에 대한 상이한 위상을 발견하였고, 그리고 *APOL1* 신병증에 대한 *APOL1*-결합 약물에 의해 표적화 가능할지도 모르는 영역을 확인하였다.

[0633] 재료와 방법

[0634] 재조합 *APOL1* 산출

[0635] 번역화를 위한 His₆-*APOL1*: 인간 *APOL1* (NM_003661) aa 61-398 (모든 스플라이스 동종형이 인식되도록 담보하기 위해)이 N 말단 his₆ 태그로 배콜로바이러스 세포내 발현 벡터 (pBiNTH, Genentech) 내로 하위클로닝되고 10 l Sf9 세포에서 발현되었다. 세포 펠렛이 프로테아제 및 프로테아좀 저해제 MG132를 포함하는 트리스 완충액으로 세척되었고, 이후 2x 컴플리트 프로테아제 저해제 (Roche 11836153001) 플러스 프로테아좀 저해제 MG132를 포함하는 트리스 완충액에서 1% Zwittergent 3-14로 용해되었다. 이것은 3 ml NiNTA 칼럼, 그 이후에 S200 칼럼에 의해 정제되었다. NiNTA 완충액 A와 B는 1% Zwittergent 3-14 및 컴플리트 프로테아제 저해제를 내포하고, 반면 S200 완충액은 0.1% DDM (n-도데실 β-D 말토시드, Sigma)을 내포한다. S200 분획물이 전장 및 분해 산물에 상응하는 3개의 주된 밴드를 보여주었고 (도 10a,b), 따라서 FLAG-*APOL1*을 이용한 향상된 방법이 장래 제조물에서 이용되었다 (하기 참조). 4개의 제조물 (각 분획물 B1-C1)로부터 용리된 단백질이 한 데 모아지고, 200 mM 아르기닌, 137 mM 숙신산염, 0.026% DDM, pH 5에서 조제되고, -80 °C에서 분취량으로 보관되었다.

[0636] 트리파노소마용해 검정을 위한 FLAG-*APOL1*: 항체 매핑을 위한 인간 *APOL1* (NM_003661) aa 61-398 ("전장") 또는 절두 작제물 aa 61-203, 92-321, 61-260 및 88-321 (참조: 도 20)이 N 말단 FLAG 태그를 야기하는 배콜로바이러스 세포내 발현 벡터 (pBiNTF, Genentech) 내로 하위클로닝되었다. Sf9 세포의 2 리터 배양액으로부터 펠렛이 컴플리트 프로테아제 저해제 (Roche 11836153001)를 포함하는 50 mM 트리스, 200 mM NaCl pH 7.5 (완충액 B)에서 재현탁되고 미세용동화되었다. DDM (Anatrace D310LA)이 1%의 최종 농도로 첨가되고 4°C에서 3 시간 동안 교반되었다. 세포 조직파편이 원심분리 (50,000 x g에서 45 분)에 의해 제거되었다. FLAG-*APOL1*이 완충액 B에서 5 ml 항-FLAG 친화성 칼럼에서 정제되고, 100 mM 아세트산염, 200 mM NaCl로 용리되고, 이후 S200 칼럼에서 더욱 정제되었다 (도 10c). pH가 1.5 용적의 1M 트리스 pH 8.0으로 빠르게 중화되었다. 이용된 모든 완충액

은 0.026% DDM 및 컴플리트 프로테아제 저해제를 내포하였다. 용리된 단백질을 분획물 (전장의 경우 19-21)이 한 데 모아지고, 50 mM 트리스 pH 7.5, 200 mM NaCl, 0.026% DDM에서 조제되었다. 분취량이 -80℃에서 보관되었다.

[0637] APOL1 매핑 펩티드

[0638] APOL1의 길이를 따라서 펩티드 (~20 mer) (도 20)가 표준 고체상 Fmoc 화학을 이용하여 합성되고 역상 HPLC에 의해 정제되었다 (23).

[0639] 항체 산출

[0640] HTV (높은 압력 꼬리 정맥 주사) DNA 전달 방법 #1의 경우에, 10마리 Balb/c 생쥐가 각각, mGM-CSF 어쥬번트를 이용하여 pCAGG 벡터에서 *APOL1-G1* 또는 *G2* cDNA로 6 회 (50 µg 격주) 면역화되었다 (24). 방법 #2는 mGM-CSF 및 pORFmoFlt3L 어쥬번트를 이용하여 GeneGun (0.3 µg 격주)에 의해 전달된 동일한 cDNA로 16 회 면역화된 5 마리 Balb/c 생쥐를 이용하였다 (25). 방법 #3의 경우에, 5마리 Balb/c 생쥐의 3개 세트가 각각, 3가지 프로토 콜: a) 16회 용량, RIBI 어쥬번트 (가장 높은 역가를 야기)를 이용하여 10 µg 주 2회; b) CFA/IFA 어쥬번트를 이용하여 50 µg 격주, 7회 용량; c) TLR 카테일을 이용하여 10 µg 주 2회, 16 회 중에서 한 가지를 이용하여 his₆-APOL1-G0로 면역화되었다. 방법 #4의 경우에, SRA-ID 결합 항체를 농축하기 위해, 방법 #3으로부터 낮은 역가 생쥐 중 6마리에 RIBI 어쥬번트를 이용하여 his₆-APOL1-G0 SRA-ID (aa 305-398)가 6x 추가 접종되었다. 15,000여 개의 IgG-양성 하이브리도마 (CloneDetect에 의해 사정될 때)가 his₆-APOL1-G0에서 표준 ELISA에 의해 선별검사되었고 (데이터 제시되지 않음), 그리고 각 면역화로부터 획득된 양성 항체가 제공되었는데, 접두사 1-4는 이용된 면역화 전략 (표 2A에서 요약됨)을 표시한다. 토끼 단일클론 생산 (방법 #5)은 아래에 첨부된 실시 예에서 설명된다.

[0641] 표 2A: 생쥐 내로 주사된 *APOL1-G1* 및 *G2* cDNA를 이용하여 APOL1 변이체-특이적 항체를 산출하려는 시도는 별로 성공적이지 않았고, 이들 변이체에 더하여 APOL1-G0에 결합하는 단지 4개의 약한 APOL1-결합 단일클론만 산출되었다 (방법 1 & 2). 단백질의 주사 (방법 3-5)는 더 나은 결과를 산출하였다 (상세를 위해 상기 참조). 토끼 단일클론 산출 (방법 #5)의 상세를 위해 하기 실시예 2를 참조한다. his₆-APOL1-G0의 특징화를 위해 도 10을 참조 한다. 약어: HTV, 수력학적 꼬리 정맥 전달; I.V., 정맥내

표 2

a) 표 2A

면역화 방법 (및 Ab 접두사)	항원	방법 (숙주 종)	ELISA-양성 항체
1	<i>APOL1-G1</i> 및 <i>G2</i> DNA	HTV (생쥐)	3
2	<i>APOL1-G1</i> 및 <i>G2</i> DNA	GeneGun (생쥐)	1
3	His ₆ -APOL1-G0 단백질	I.V. (생쥐)	105
4	His ₆ -APOL1-G0 단백질 +SRA-ID-G0 부스트	I.V. (생쥐)	26
5	His ₆ -APOL1-G0 단백질	I.V. (토끼)	35

[0643] 항체 클로닝

[0644] iAPOL1-CHO 세포에서 강한 FACS 신호 또는 신호 없음 중 어느 하나 및/또는 트리파노소마용해를 차단하는 능력에 대해 각 도메인에서 선택되는 35개의 무린 항체가 DNA 클로닝을 위해 선택되었고, 그리고 정률 증가 및 추가 분석을 위해 CHO 세포에서 발현되었다; 최초 하이브리도마는 폐기되었다. 벡터는 전술된 바와 같은 이펙터 결여 (effectorless) L234A, L235A, P329G (LALAPG) 돌연변이를 포함하는 무린 IgG2a 중추이었다 (26-27). 클로닝된 항체 중 22개가 ELISA에 의해 APOL1을 성공적으로 인식하였다. 이들 상위 클로닝된 무린 항체 중 소수는 또한,

토끼 또는 쥐 중추로 재포맷되었다. (하기 실시예 2 참조).

[0645] 세포주

[0646] *APOL1*을 안정되게 발현하는 CHO 세포 (*iAPOL1*-CHO)가 렌티바이러스 감염에 의해 산출되었다. G0에 대한 서열 (참조 서열 NM_003661)을 인코딩하는 *APOL1* cDNA가 있는 그대로 (*iAPOL1*-CHO), 또는 N 말단 gD 에피토프 태그 및 C 말단 GPI 앵커 서열 (gD-*iAPOL1*-GPI-CHO 또는 이의 절두 돌연변이체)과 함께, pInducer20 벡터 내로 클로닝되었고, 그리고 렌티바이러스 스톡을 산출하기 위해 HEK-293 세포가 감염되었다 (28). CHO 세포가 *APOL1*-발현 렌티바이러스로 감염되고 웨스턴 블로팅 및 FACS에 의해 발현에 대해 분석되었다.

[0647] 인간 불멸 발세포 (AB 8/13)가 Prof. Moin Saleem로부터 허가를 받아 획득되었다 (29). 이들은 33°C에서 성장되고, 신선한 성장 배지: 10% FBS (Seradigm IXL9/06807/GEN), 1% 글루타민 (Genentech), 1% 펜/스트랩 (Gibco 15140-122), 1% ITS (인슐린, 트랜스페린, 셀레늄; Gibco 41400-045)를 포함하는 RPMI가 주 2-3x 공급되었다.

[0648] *APOL1* KO 세포주를 산출하기 위해, 웹사이트 "crispr (dot) mit (dot) edu." (또한, Haeussler, M.; Schonig, K.; Eckert, H.; Eschstruth, A.; Mianne, J.; Renaud, J. B.; Schneider-Maunoury, S.; Shkumatava, A.; Teboul, L.; Kent, J.; Joly, J. S.; Concordet, J. P., Evaluation of off-target and on-target scoring algorithms and integration into the guide RNA selection tool CRISPOR. *Genome Biol* **2016**, *17* (1), 148을 참조한다)에서 설명된 Zhang 연구소 설계 도구를 이용하여.

[0649] 엑손 1 및 엑손 7을 표적으로 하는 안내 RNA가 설계되었고 (도 12), 그리고 GenScript에 의해 합성되었는데, 그 이유는 단일 gRNA를 이용한 단순한 삽입-결실 전략이 실패하였기 때문이다. Cas9-GFP 및 대합된 안내를 pUC_AIO_EF1T2cas9 벡터에서 공동발현하도록 설계된 맞춤형 플라스미드가 Fugene™ 6 (Promega E2691)을 이용하여 WT 발세포 내로 형질감염되었다. 형질감염체가 GFP 신호에 근거하여 단일 세포 클론으로 분류되었다. 이용된 안내를 따서 명명된 12개의 단일 세포 클론 (각각 2-3개의 클론)이 웨스턴 블로팅에 의해 *APOL1* 단백질의 상실에 대해 분석되었다. 4개의 단일 세포 클론, 89401-1, 89401-3, 90109-2 및 90111-1이 성공적으로 녹아아웃되었다. 클론 89401-3은 부모 발세포 모집단과 유사한 성장과 형태학적 품질을 나타냈고 면밀한 특징화를 위해 선택되었다 (데이터 제시되지 않음).

[0650] *iAPOL1* (dox-유도성 *APOL1*) 발세포의 경우에, 태깅되지 않은 *APOL1* 동종형 A cDNA (Origene SC109941)가 맞춤형 dox-유도성 PiggyBac 벡터 (PB indu *APOL1* T2 mCherry pgk puro, mCherry 제거됨) 내로 재클로닝되고, 그리고 GeneJuice (EMD Millipore 70967)를 이용하여, PiggyBac 유전자전위효소 (pB0, Transposagen Biopharmaceuticals, Inc.)로 *APOL1* KO 클론 89401-3 발세포 내로 동시형질감염되었다. 형질감염된 세포가 형질감염 48 시간 후 2 주 동안 5 µg/ml 푸로마이신으로 선택되었다. 단일 세포 클론이 제한 희석을 이용하여 *iAPOL1* 발현 세포의 풀로부터 산출되었다. 모든 클론이 테트라사이클린-없는 FBS (TaKaRa 631101) 및 5 µg/ml 푸로마이신 (Clontech 631305)을 제외하고, 상기와 같이 33°C에서 발세포 배지에서 유지되었다.

[0651] JHH-1 (인간 간세포 암종), 786-0 (인간 신장 선암종) 및 HCC827 (인간 폐 선암종) 세포가 Genentech, Inc. 세포 저장소 (이곳은 STR 분석에 의해 라인을 검증하고 미코플라스마의 부재를 검사한다)로부터 획득되었고, 그리고 10% FBS, 1% HEPES 및 2 mM 글루타민을 포함하는 RPMI-1640에서 성장되었다.

[0652] 유세포분석

[0653] 세포가 PBS에서 5 mM EDTA로 수확되고, 성장 배지로 1회 및 PBS로 2회 세척되었다. PBS에서 재현탁된 대략 0.5×10^6 /ml의 세포가 얼음 위에서 1 시간 동안 항-*APOL1* 항체와 함께 배양되었다. 2회 PBS 세척 이후에, 2 µg/ml의 Alexa488 항생쥐 또는 항토끼 (각각, Invitrogen A11029 및 A21206)가 검출을 위해 얼음 위에서 1 시간 동안 이용되었다. 세포가 PBS에서 2회 세척되고 1 µg/ml 프로피디움 요오드화물을 포함하는 PBS에서 재현탁되었다. FACSCelesta를 이용한 도 8 및 도 14를 제외하고, 신호가 FACSCalibur3 (Becton Dickinson)에서 관독되었고, 그리고 데이터가 FlowJo v8.4.5를 이용하여 분석되었다. 평균 형광 강도가 이차 항체 단독 배경의 차감 후 PRISM v7에서 플로팅되었다. 낮은 pH 실험을 위해, 세포가 얼음 위에서 1 시간 동안 PBS pH 7.0 또는 PBS pH 5.5의 존재에서 이들 항체와 함께 배양되고 중성 pH에서 이차 항체로 검출되었다.

[0654] 웨스턴 블로팅

[0655] 선천적 RIPA (NP-40) 용해 완충액 (150 mM NaCl, 50 mM 트리스 pH 8, 1% NP-40, 1 mM PMSF 및 1x 컴플리트 프로테아제 저해제 (Roche 11836153001)를 이용하여 세포 용해물이 제조되었다. BCA 검정 (Pierce 23225)을 이용

하여, 단백질 농도가 결정되었다. 세포 용해물이 MOPS 완충액 (Invitrogen NP0001)에서 4-12 % Bis-Tris 겔 (Invitrogen NP03220)에서 이동되고 iBLOT2를 이용하여 니트로셀룰로오스 막으로 전달되었다. 별도로 명시되지 않으면, Precision Plus 단백질 만화경 마커 (BioRad # 1610375)가 분자량을 결정하는 데 이용되었다. TBST (0.1% Tween-20을 포함하는 트리스 완충된 식염수)에서 5% 탈지유에서 차단된 막이 4 °C에서 하룻밤 동안 1-2.5 µg/ml 일차 항체와 함께 배양되었다. 3회 TBST 세척 이후에, 항생쥐 (GE Healthcare NA931V, 1:3000) 또는 항토끼 HRP (Jackson 711-036-152, 1:8000)가 이차 항체로서 첨가되었다. 1 시간 후, 막이 세척되었고, 그리고 단백질이 MR 필름 (Kodak)에 노출된 ECL prime (Amersham RPN2232)을 이용하여 검출되었다. 항-액틴 HRP-접합된 항체 (1:5000에서 클론 13E5, Cell Signaling Technologies 5125S) 또는 칼넥신 (1:1000에서 Abcam Ab22595)이 부하 대조로서 이용되었다. 펩티드 매핑을 위해, DMSO에서 2 µl의 1 mM 펩티드가 5x 샘플 완충액에서 끓여지고, 10% 트리스-글리신 겔에 부하되고, MES 완충액을 이용하여 이동되었다. Sf9 용해물의 세포 펠렛이 선천적 RIPA (NP-40) 용해 완충액에서 용해되고 10% 트리스-글리신 겔에서 이동되었다.

[0656] 면역침전

[0657] 항-APOL1 항체가 제조업체의 프로토콜에 따라서 Dynabeads (ThermoFisher 14311D)에 접합되었다. 간단히 말하면, 10 µg의 각 항체가 회전하면서 37 °C에서 하룻밤 동안 2 mg의 Dynabeads에 접합되었다. 다음 날, 결합되지 않은 항체가 씻겨 나갔고, 그리고 접합된 항체가 50 µg/ml의 최종 농도로 재현탁되었다. 2-5 µg의 접합된 항체가 PBS를 이용한 500 µl의 총 용적에서 4 °C에서 16 시간 동안 1 µl의 희석되지 않은 인간 혈청과 함께 배양되었다. 결합되지 않은 혈청이 PBS에서 150 mM NaCl로 세척되었다. 결합된 APOL1이 낮은 pH 글리신 완충액으로 용리되었다 (이것은 비특이적으로 결합된 단백질의 용리를 방지하기 위해, 직접적인 보일링보다 선호되었다). 용출물이 5x 샘플 완충액 (Invitrogen 39000)에서 끓여지고 4-12% Bis-Tris 겔 (Invitrogen NP03220)에 부하되었다. 면역침전된 APOL1이 토끼 다중클론 APOL1 항체 (Proteintech 11486-2-AP, 1:1000) 및 ECL에 의해 검출되었다. APOA1이 염소 항-APOA1 (Rockland 600-101-109)로 검출되었고, HPR이 1 µg/ml 토끼 항-HPR (Millipore ABS 196) 및 ECL Prime으로 검출되었다. 낮은 pH 실험을 위해, 접합된 항체가 PBS pH 7.0 또는 pH 5.5의 존재에서 4 °C에서 1-2 시간 동안 인간 혈청과 함께 배양되었다.

[0658] 트리파노소마 검정

[0659] 트리파노소마 브루세이 브루세이 (*Trypanosoma brucei brucei*)가 ATCC로부터 MTA 하에 획득되고, 그리고 IMDM (Genentech), 열 비활성화 (30 분 동안 56°C) FBS (Seradigm IXL9/06807/GEN), 1% 혈청 플러스 (Sigma 14008C), HMI-9 (Genentech) 및 1% 히포크산틴 (Genentech)을 내포하는 HMI-9 배지에서 배양되었다. 1×10^5 트리파노소마를 총 100 µl에서 16 시간 동안 NHS 또는 재조합 APOL1의 연속 희석액으로 처리함으로써, 트리파노소마 용해가 수행되었다. 생존 세포 판독이 제조업체의 프로토콜 (30) (Thermo Fisher, DAL1100)에 따라서 Alamar Blue 검정에 의해 실행되었다. 간단히 말하면 10 µl의 Alamar Blue가 각 웰에 첨가되고, 37°C에서 4 시간 동안 배양되었다. 살아있는 트리파노소마를 표시하는 적색 형광이 530 nm에서 여기 및 590 nm에서 방출을 갖는, SoftMAX PRO에 의해 작동된 SpectraMax 형광계에서 측정되었다. 항체 차단 검정을 위해, 1% 정상 인간 혈청이 실온에서 20 분 동안 1-10 µg/ml의 항-APOL1 항체 또는 배지와 함께 전배양되었고, 그 이후에 트리파노소마의 첨가가 뒤따랐다. 16 시간 후, Alamar Blue 검정이 상기와 같이 수행되었고, 그리고 배지 단독에 대한 배경 값이 차감되었고 차단 %가 항체 없음 대조에 정규화함으로써 계산되었다. 데이터가 Prism v7에서 플로팅되었다. 정상 인간 혈청이 Genentech에서 건강한 지원자로부터 획득되었다. 지질단백질 결합성 혈청 (LPDS, 초원심분리에 의해 고갈됨)이 Kalen Biomedical (Cat#780100)로부터 상업적으로 획득되었다. KBr-밀도 구배 정제된 HDL이 Millipore (LP3-5MG)로부터 획득되었다.

[0660] 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 및 Wasatch 비닝

[0661] 96 x 96 어레이 기반 SPR 영상화 시스템 (Carterra USA)이 항-ApoL1 단일클론 항체의 에피토프 매핑에 이용되었다. 간단히 말하면, 정제된 단일클론 하이브리도마 항체가 10 mM 아세트산나트륨 완충액 pH 4.5에서 10 µg/ml로 희석되었다. 아민 연계를 이용하여, 항체의 어레이를 창출하기 위해 연속 흐름 마이크로스팟터 (Carterra, USA)를 이용하여 항체가 SPR 센서프리즈 CMD 200M 칩 (XanTec Bioanalytics, Germany) 위에 직접적으로 고정되었다. 연계 후, 이들 항체가 에탄올아민으로 차단되고 작업 완충액 (10 mM HEPES, pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA 및 0.005% Tween 20)으로 시발되었다. APOL1의 100 nM의 상이한 펩티드를, 10 mM HEPES, pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA 및 0.005% Tween 20의 작업 완충액에서 25 °C에서 바이오센서 칩 상에서, 고정된 항-APOL1 항체의 전역에 흘러 보냄으로써 에피토프 매핑이 수행되었다. APOL1 펩티드의 각 관류 후, 칩 표면이 10 mM 글리신, pH 2.0을 이용하여 재생되었다. 결합 데이터가 Wasatch 비닝 소프트웨어 도구를 이용하여 처리되었다.

[0662] **항-APOL1 항체 산출 및 도메인 특이성**

[0663] 항체를 산출하기 위해 여러 접근법이 취해졌는데 (표 2A), 가장 성공적인 접근법은 트리파노소마용해-활성 his6-태깅된 APOL1-GO (야생형; 도 10)의 접종이었다. 이것은 ELISA에 의해 APOL1 항원을 인식하는 135개의 생쥐 단일클론 (이들 중 22개는 성공적으로 클로닝되었다) 및 35개의 클로닝된 토끼 단일클론 (참조: 실시예 2)을 산출하였다 (데이터 제시되지 않음).

[0664] 이들 항체가 세포에서 발현된 APOL1을 인식할 수 있는지를 검사하기 위해, 170개 항체 모두가, 독시사이클린-유도성 GPI-고정된 WT-APOL1 (gD-iAPOL1-GPI-CHO; 도 1a)을 안정되게 발현하는 CHO 세포에서 유세포분석에 의해 검사되었다. 150개 (88%)의 항체가 gD-APOL1-GPI (작제물 b)를 인식하였고, 그리고 20개의 항체가 FACS-음성이었다 (도 11). 절두된 gD-iAPOL1-GPI 작제물 c-e를 발현하는 CHO 세포에서 유세포분석은 81개의 항체를 PFD (aa 61-235; 도 1b, 1c)에 매핑하였다. 이러한 작제물은 PFD에 대해 특이적으로 마련된 Proteintech 다중클론 항체의 결합에 의해 더욱 검증되었다 (도 1b). 10개의 항체는 MAD에 매핑되었고, 그리고 38개의 항체는 SRA-ID 또는 링커에 매핑되었다 (도 1b, 1c). 항-APOL1 Sigma 다중클론 및 Epitomics 토끼 단일클론 또한 SRA-ID/링커에 결합하였다. 3개의 도메인 모두에 결합하는 4개의 항체는 멀티도메인으로 불렸고; 그리고 (17) 전장 APOL1에만 결합하고 개별 도메인에는 결합하지 않는 항체는 입체형태적이라고 표시화되었다. 따라서, 우리는 APOL1의 각 도메인에 대한 복수의 항체를 획득하였다 (도 1c).

[0665] **APOL1은 세포 표면 상에 존재한다**

[0666] APOL1이 리소솜에서 염화물 통로 (12, 21, 32) 또는 원형질막에서 양이온 통로를 형성하는지는 여전히 논쟁 중이다 (24,25). 우리의 항체가 CHO 세포에서 발현된 GPI-고정된 gD-APOL1을 인식했기 때문에, 우리는 유세포분석에 의해, 비 GPI-고정된 태깅되지 않은 선천적 전장 APOL1 (iAPOL1-CHO 세포에서 작제물 a) 역시 세포 표면에 국지화되는지를 검사하였다 (도 2a). 선천적 APOL1은 GPI-고정된 gD-APOL1 (도 2b)과 동일한 항체 중 88% (150/170) (도 2a)에 의해 세포 표면에서 실제로 검출되었다. 이들 항체는 모든 도메인을 포괄하였는데, 이것은 전형적인 다중통과 이온 통로와 달리, APOL1의 유의미한 부분이 노출된다는 것을 암시한다. 비록 이들 항체가 APOL1-GO에 대해 마련되긴 했지만, SRA-ID 결합체 모두 APOL1-G1을 또한 인식하였고 (S342G 및 I384M), 그리고 7개를 제외한 모두가 G2를 인식하였다 (Δ 388N/ Δ 389Y; 도 2c, 2D).

[0667] CHO 세포에서 표면 발현은 단순히 형질감염 인공물인 것은 아닌데, 그 이유는 우리의 항체 중에서 대부분이, 비 투과화된 영속화된 인간 발세포의 표면 상에서 내인성 APOL1 (도 3a)을 또한 검출하였기 때문이다 (26). 발세포는 낮은 수준의 내인성 APOL1을 발현하는데, 이것은 예상한 바와 같이 (27), 인터페론 감마 (IFN γ) 처리 후 증가하지만 (도 3e), iAPOL1-CHO 세포에서 관찰되는 높은 수준을 달성하지는 못하였다 (도 3f, 3g). 대부분의 PFD 항체는 iAPOL1-CHO에서와 유사하게 내인성 APOL1을 검출하였다 (도 3b). 하지만, 대부분의 MAD 및 SRA-ID 결합체는 iAPOL1-CHO 세포보다 발세포를 훨씬 못하게 인식하였다 (도 3c 및 3d). 발세포가 APOL1-유도된 신병증의 표적 세포이기 때문에, 우리는 우리의 항체 레퍼토리를 이용하여 발세포에서 APOL1 발현과 위상을 이해하는 데 노력을 집중하였다.

[0668] **발세포 표면 APOL1을 향한 항체의 특이성**

[0669] 발세포 표면 상에서 APOL1 신호의 특이성을 확증하기 위해, 우리는 먼저, CRISPR/Cas9를 이용하여 내인성 APOL1을 녹아웃시켰다 (도 12). FACS 및 웨스턴 블로팅이 APOL1의 전손을 확증하였다 (그러나 APOL2는 그렇지 않음; 도 4a, 4b). 중요하게는, FACS에 의해, 어떤 항-APOL1 항체로도 표면 신호가 검출되지 않았는데 (단지 일부 항체에 대한 데이터만 제시됨) (도 4c), 이것은 도 3에서 표면 신호가 APOL1을 실제로 나타낸다는 것을 확증하였다. 여러 항체에 의한 WT 발세포 결합의 관찰된 결여 (도 3a-d)는 낮은 내인성 발현 수준에 기인할 수 있었다. 이런 이유로, 우리는 가음성을 방지하기 위해, APOL1-GO를 독시사이클린-유도성 프로모터 하에 APOL1-KO 발세포 내로 재도입하였다 (iAPOL1-GO 발세포). 이것은 APOL1 단백질 수준의 제어를 독시사이클린-의존성 방식으로 제공하여 (도 13), IFN γ 가 있는 경우 또는 없는 경우 각각에서 WT 발세포와 비교하여 총 및 표면 APOL1에서 10 내지 100배 증가를 야기하였다. 상위 항체를 이용한 유세포분석은 WT 발세포 및 iAPOL1-GO 발세포에서 전체적으로 유사한 결합 패턴을 보여주었다 (도 6a, 6b). 하지만, 비록 PFD 및 SRA-ID 항체가 더 높은 발현 iAPOL1 발세포에 더 강하게 결합하긴 했지만, MAD 항체는 표면 APOL1의 100배 상향조절에도 불구하고 그렇지 않았는데, 이것은 MAD가 내인성 및 과다발현된 APOL1 둘 모두에서 발세포 표면 상에서 접근 불가능할 수 있다는 것을 암시한다. 대조로서, 투과화된 발세포는 MAD 항체로 염색되었다 (도 14). MAD 항체 중에서 대부분이 iAPOL1-CHO 세포 상에서는 APOL1을 검출할 수 있지만 iAPOL1-GO 발세포에서는 효과적으로 그렇게 하지 못했기 때문에 (도 3c), 이것은 MAD가 발세포 막에 매몰될 수 있거나, 또는 아마도 침중팔구 인간 단백질에 의해 가려질 수 있다는 것을

암시하는데, 그 이유는 이것이 검사된 다른 인간 세포주에서 유사하게 접근성이 불량하기 때문이다 (도 15).

[0670] **항-APOL1 항체의 기능적 활성**

[0671] 순환성 APOL1에서 APOL1 도메인의 유사하게 차별적 노출이 있는지를 결정하기 위해, 우리는 트리파노소마 용해의 매개에서 순환성 APOL1의 입증된 기능적 활성을 이용하였다 (12, 35, 36). 우리는 혈청 APOL1의 접근 가능한 부분에 결합하는 항체가 트리파노소마 브루세이 브루세이 (*Trypanosoma brucei brucei*)의 APOL1-매개된 용해를 저해할지도 모른다고 가정하였고 (도 5a), 그리고 이런 이유로, 어떤 APOL1 도메인이 노출되는지를 결정하기 위해 이들 항체의 용해 차단 활성을 측정하였다. 우리는 먼저, Alamar Blue 생존력 검정을 이용하여 정상 인간 혈청 (NHS)에 대한 사멸 곡선을 확립하고, 샌드위치 ELISA에 의해 $\sim 3.16 \pm 0.16$ nM APOL1 (n=22)을 내포하는 1%-10% NHS에서 $\sim 90\%$ -100% 사멸을 달성하였다 (도 5b) (데이터 제시되지 않음). 이러한 검정에서 용해는 아마도, HDL-연관된 APOL1에 주로 기인하는데, 그 이유는 정제된 HDL은 유사하게 활성인 반면, 지질단백질-결합성 NHS는 비활성이었기 때문이다 (도 5b). 170개 항체 모두에 대한 트리파노소마용해성 차단이 1 μ g/ml에서 1% NHS로 검사되고, 0 내지 80% 차단을 야기하였다 (도 5c). 흥미롭게도, 차단이 SRA-ID에 대한 항체 (트리파노소마 브루세이 로데시엔스 (*T.b. rhodesiense*)의 트리파노소마용해를 저해하는 SRA의 능력에 근거하여 예측됨)에 의해서뿐만 아니라 PFD 및 MAD에 대한 항체에 의해 획득되었는데, 이것은 트리파노소마용해를 위해 3개의 도메인 모두가 필요하다는 이전 보고와 합치하거나, 또는 이들 항체가 혈청 APOL1에서 입체형태적 변화를 매개한다는 것을 암시한다 (12, 29). 항체는 강한 차단제 (>60% 차단), 중간 차단제 (26-59%) 또는 비-차단제 (<25%; 도 5c)로서 분류되었다. 비-차단제는 아마도, 순환성 APOL1을 인식하지 않거나, 또는 비중요 부위에 결합하였다. 차단은 가파른 저해 곡선 및 0.4 nM-1nM의 IC₅₀으로, 항체 농도에 고도로 민감하였다. (도 16). 게다가, 모든 차단 항체가 순환성 APOL1에 결합하였는데, 그 이유는 이들 차단 항체는 이것을 NHS로부터 면역침전시킬 수 있는 반면, 비-차단제는 그렇게 하는 데 실패하였기 때문이다 (도 5d 및 17). 혈청 APOL1 차단 및 이것에 결합 사이에 강한 상관성이 있었는데 (도 5e), 이것은 에피토프 노출이 핵심 결정인자라는 것을 암시하였다. 각 도메인 내에 차단제 및 비-차단제의 존재는 단지 일정한 영역만 순환에서 접근 가능하고, 다른 것들은 아마도, HDL 입자에 매몰되거나 또는 다른 단백질에 결합된다는 것을 암시한다. APOA1뿐만 아니라 HPR이 APOL1과 공동면역침전되었는데 (도 5d 및 도 17c), 이것은 적어도 일부 APOL1이 자유로운 상태보다는 TLF1 또는 TLF2와의 복합체의 상태로 있다는 것을 확증한다 (37). IgM의 공동면역침전 (TLF2에만 국한됨) (7)을 증명하려는 노력은 항-IgM 항체 배경으로 인해 실패하였다. 요약하면, 혈청 APOL1을 인식하는 모든 항체는 또한, 결합 부위와 상관없이, 트리파노소마용해를 차단할 수 있었다.

[0672] **세포 표면 및 순환성 APOL1 접근성 사이의 상관**

[0673] 트리파노소마용해성 차단이 혈청 APOL1 결합에 대한 유용한 대용물이기 때문에 (도 5e), 우리는 혈청에서 APOL1의 위상을 세포 표면과 대비하여 비교하기 위해 차단 데이터를 효과적으로 이용할 수 있었다. iAPOL1-CHO 세포에서 결합이 트리파노소마용해성 차단과 무관하였는데 (도 18) (7), 이것은 APOL1의 2가지 공급원에서 차별적 도메인 접근성을 암시하였다.

[0674] 더 중요하게는, 혈청 APOL1 및 신장병-관련 발세포 사이에 차별적 APOL1 접근성이 또한 있었다 (도 18b). 일부 항체는 WT 및 iAPOL1 발세포에서 표면 APOL1에는 결합하지만 (도 6a, 6b) 순환성 APOL1에는 그렇지 않았고 (트리파노소마용해성 차단의 결여에 의해 판단될 때, 도 6c) 그 반대의 경우도 가능하다. 예를 들면, PFD 결합체 중에서 대부분 (예를 들면 5.17H8, 5.11H2, 3.6C2, 3.2A7, 3.2A7 및 3.2B11)은 발세포 APOL1을 인식하지만, 혈청 APOL1을 차단하거나 또는 면역침전시키지 못하였다 (도 6 및 17) (10). 반대로, 3.3B6 및 4.17A5는 상위 트리파노소마용해성 차단제 중에서 하나이지만, 발세포 표면을 상대적으로 약하게 인식하였다. 더 특히, MAD 항체 중에서 대부분 (4.6A9, 1.11G1 및 3.3A8)은 낮은 발세포 APOL1 검출에도 불구하고 강한 차단제이었고 (도 6b,c), 그리고 순환성 APOL1을 강하게 면역침전시켰다 (도 5d). 유사하게, 대부분의 SRA-ID 결합체 (링커 영역에 대한 항체 포함)는 발세포 인식을 거의 또는 전혀 보여주지 않으면서 잘 차단하였고 (예를 들면 3.7E8, 3.7B5), 그리고 3.6H10의 경우에는 정반대이었다. 이것은 순환성 APOL1과 대비하여, 발세포 표면 상에서 차별적 접근성을 갖는 APOL1의 구별되는 영역이 있다는 것을 암시한다.

[0675] **APOL1 위상**

[0676] 항-APOL1 항체의 더 상세한 에피토프 맵을 획득하기 위해, 우리는 표면 플라즈몬 공명 및 웨스턴 블로팅뿐만 아니라 절두된 APOL1을 발현하는 Sf9 용해물을 또한 이용한 웨스턴 블로팅에 의해, APOL1의 전체 길이에 걸쳐 있는 중첩 펩티드의 패널에 대한 이들의 결합을 결정하였다 (도 19a-b 및 20a-e에서 실례). 결과 및 이에 따른 위상 예측은 도 7에서 요약되고, 그리고 3개의 예측된 막경유 도메인 (22, 36, 38)이 정확하다는 가정에 크게 의

존한다. (참조: 표 2B.)

b) 표 2B: 막경유 예측 프로그램 결과

모형	# tm*	Tm1	Tm2	Tm3	Tm4	FACS 데이터 적합?
DAS 서버	3	177-197	(183-222)	338-353		tm3이 헤어핀 루프인 경우에만
DAS/cgi	2	184-193	341-351			아니요, MAD가 세포 내에 있지 않고*, 그리고 링커가 노출됨
TMHMM	1	177-199				아니요, PFD 및 C 말단 둘 모두 노출됨
Tmpred	2	177-196	332-353			아니요, MAD가 세포 내에 있지 않고*, 그리고 링커가 노출됨
Tmpred	4	177-196	(212-230)	(257-276)	332-353	아니요, 링커가 노출됨
SPLIT 서버	3	175-196	(200-224)	338-354		tm3이 헤어핀 루프인 경우에만

* N 말단 신호 서열은 막경유 도메인으로서 계수되지 않는다

아미노산은 도메인에 따라서 착색된다: 청색에서 PFD, 녹색에서 MAD, 검은색에서 링커 (노출된 부분은 발세포에서 314-333이다) 및 적색에서 SRA-ID. 괄호는 약한 tm 예측을 표시한다.

비록 MAD가 발세포 또는 다른 인간 세포주에서 노출되지 않지만, 이것은 CHO 세포 내에 있고, 따라서 우리는 이것이 세포내에 있지 않거나 또는 막에 매몰되기 보다는, 발세포 및 다른 인간 세포에서 다른 단백질에 결합된다고 생각하는데, 그 이유는 막경유 도메인이 중 사이에서 근본적으로 상이할 것 같지 않기 때문이다.

tm3에 대한 2개의 완전 막경유 도메인 및 헤어핀 (반) 루프를 이용한 작업 모형에 대해 도 9를 참조한다.

발세포에서, N- 및 C 말단 둘 모두 노출되는데 (도 7), 이것은 짝수의 막경유 도메인, 또는 심중팔구 2개의 완전 막경유 도메인 및 1개의 헤어핀 (다시 말하면 반-루프; 표 2B)의 존재를 암시한다. PFD는 첫 번째 예측된 막경유 도메인까지 세포외이며, 2개의 막경유 도메인이 작은 세포내 루프에 의해 분리되는 것으로 가정된다 (상기 캡티드에 대해 어떤 항체도 획득되지 않았기 때문에 검증불가능). MAD는 완전히 접근 불가능하지만, CHO 세포에서 노출되고, 따라서 우리는 이것이 발세포 또는 인간 세포주 특이적 단백질에 의해 가려진다는 가설을 제기하고 (도 15), 막경유 배열이 중 사이에서 상이하지 않다고 가정한다. 3번째 막경유 도메인에 링커가 노출되지만, SRA-ID가 aa 376 뒤에서만 접근 가능하다. 대부분의 이른바 SRA-ID 항체는 링커 (aa 306-339)에 실질적으로 매핑되었다; 9개의 진정한 SRA-ID 결합체 중에서, 8개는 바로 C 말단에 있었고, 이들 중 7개는 APOL1-G2에 결합하지 않았다 (도 2c). 다른 하나는 예측된 이중 코일에 따라서, 아마도 매몰되는 선행하는 캡티드에 매핑되었다 (22).

대조적으로 혈청에서 (아마도 HDL 입자에서), PFD의 N 말단이 aa 103 (영역 111-150)까지 매몰되고, 그리고 MAD의 대부분 및 링커의 시작이 노출되는 것으로 보인다. 막경유 도메인이 매몰된다고 가정할 때 (항체의 결합으로 인해 검증불가능), 나머지 위상은 발세포와 유사하다. 하지만, 우리는 막경유 도메인이 HDL 입자의 표면 상에서 노출될 수 있는 가능성을 배제할 수 없다.

낮은 pH는 APOL1 위상에 영향을 주지 않는다

APOL1의 위상을 더욱 탐침하기 위해, 우리는 APOL1이 인공 막 내로 삽입되거나 또는 HDL로부터 트리파노소마 리소좀 막으로 전위되기 위해 (알려진 대로라면 MAD를 통해), 낮은 pH-촉발된 입체형태적 변화를 필요로 한다는 사전 지식에 의존하였고 (1, 21, 32), 그리고 낮은 pH가 에피토프 노출을 변화시킬지를 결정하려 시도하였다. 이런 이유로, iAPOL1-발세포가 산성 및 중성 pH에서 각 도메인에 대한 항체와 함께 배양되었지만, 결합에서 차이가 없다는 것이 드러났는데 (도 8a), 이것은 육안적 위상 변화가 산성 pH에서 발세포 상에서 발생하지 않는다는 것을 암시한다.

APOL1이 낮은 pH에서 HDL로부터 방출되는지를 검사하기 위해, 우리는 이것을 pH 5.5에서 각 도메인에 대한 비-

차단 항체로 면역침전시키려 시도했지만 성공하지 못하였다 (도 8b). 게다가, 이들 차단 항체는 낮은 pH에서 APOL1과 함께 APOA1을 풀다운시켰다 (도 8b). 양쪽 결과는 APOL1이 이들 조건하에 HDL 입자로부터 해리되지 않았다는 것을 암시하고, HDL 입자로부터 APOL1 해리가 산성 pH 단독에 의해 촉발되는지에 관해 의문을 제기하였다.

[0687] 결과에 관한 논의

[0688] 우리는 세포 표면 상에서 및 혈청에서 APOL1의 위상을 조사하기 위해 APOL1에 대한 170개의 단일클론 항체를 산출하고 특징화하였다. 우리의 조사 결과는 APOL1이 세포주 상에서와 대비하여 혈청에서 상이한 위상을 나타낸다는 것을 증명하는데, 이것은 APOL1의 2가지 공급원을 최적으로 표적화하기 위해 상이한 시약이 필요할 것이라는 것을 암시한다.

[0689] APOL1의 어떤 도메인이 HDL 입자에서 노출되는지를 결정하기 위해, 우리는 혈청 APOL1의 인식을 위한 고처리량 프록시로서 혈청-매개된 트리파노소마용해의 차단에 대해 모든 항체를 선별검사하였다. 우리는 혈청 APOL1을 면역침전시킬 수 있는 모든 단일 항체가 결합 부위와 상관없이, 트리파노소마용해성 차단제라는 것을 발견하였다. 어떤 단계에서 이러한 차단이 발생하는지가 여전히 결정되지 않았지만, 차단 항체의 존재비는 이들이 APOL1에서 입체형태적 변화를 단순히 야기하거나 또는 예방할 수 있다는 것을 암시한다. 일부 양상에서, 본원에서 항체는 생체내에서 순환성 APOL1의 역할을 연구하기 위한 중요한 도구를 제공할 수 있다.

[0690] 우리의 데이터는 비록 트리파노소마 리소솜에서 APOL1의 위상이 HDL에서와 상이할 수 있긴 하지만, 발세포 및 혈청 사이에 APOL1의 입체형태에서 차이를 드러낸다. 트리파노소마용해성 및 발세포 APOL1 사이의 다른 차이점은 단지 위험 변이체만 포유류 세포에게 독성이라는 점 (39, 40, 19), 그리고 동형접합성이 CKD의 발달의 위험을 증가시킨다는 점 (14-15, 41)이다. 내인성 APOL1 세포독성에 대한 제안된 기전은 다양하고 상충되는데 (33), 심지어 세포독성이 세포내에서 또는 세포 표면에서 발생하는지조차도 불분명하다. 우리의 데이터는 APOL1이 발세포 표면에 있다는 증거를 제공하고, 세포 표면 양이온 통로 모형 (32, 39, 42)을 잠재적으로 뒷받침한다. 하지만, APOL1의 광범위한 노출 및 예측된 낮은 숫자의 막경유 도메인 (2-4)은 ≥ 6 개의 막경유 도메인 및 극소수의 세포외 잔기를 갖는 전형적인 이온 통로와 명백히 상이하다 (43).

[0691] 우리의 발세포 위상 모형은 막경유 도메인 및 인접한 잔기 및 MAD를 제외하고, APOL1의 대부분의 세포외 노출을 예측한다. MAD는 CHO 세포에서는 세포외에 있지만, 발세포뿐만 아니라 검사된 다른 내생적으로 발현 인간 세포주에서는 가려지고 인간-특이적 결합 파트너에 의해 추정적으로 폐쇄된다 (도 9a 및 도 15). 흥미롭게도, SRA-ID에서 양성 G1 I384M 및 G2 결실은 APOL1에서 노출되고, 반면 병원성 G1 S342G 치환은 추정 3번째 막경유 도메인 내에 있을 것으로 예측되는데, 다만 상기 에피토프에 대한 항체의 부재로 인해, 이의 접근성의 평가가 불가능하다. 숨겨진 에피토프가 막에 진정으로 임베드되거나, 또는 배향정위 또는 다른 단백질 결합으로 인해 단순히 접근 불가능한지는 여전히 불분명하다. PFD (aa 158-166)에서 BH3-단독 도메인은 다른 BH3-단독 단백질에 상동성을 보유하지만, 아포토시스 및 자가포식에서 이의 역할은 여전히 논쟁 중이다 (44-45). 이러한 에피토프 (3.7D6)가 BH3-도메인 상호작용 단백질과 유사하게, 세포질 이외에서 (다시 말하면 내강에서) 명백히 노출되기 때문에, 우리는 이것이 아포토시스 또는 자가포식에서 일정한 역할을 수행할 것 같지 않은 것으로 생각한다. 많은 전압-게이팅 칼륨 통로에서, 이온 전도성 포어는 세포외 루프를 갖는 2개의 막경유 나선의 4개의 단위로 구성된다. APOL1에 대해, 우리는 적어도 2개의 APOL1 분자가 Bruno et al,에 의해 정의된 낮은 pH 모형과 유사하게, 아마도 포어를 형성하는 PFD 막경유 영역으로 소중함체화해야 한다고 추측하는데, 상기 모형은 영역 94-169에서 pH 및 막-의존성 입체형태적 변화가 상기 통로의 양이온 선택성을 조절할 것으로 예측하였다 (21). 우리는 이러한 도메인이 세포외에 있지만, 전체 위상에서 어떤 pH-의존성 변화도 검출할 수 없었다는 것에 동의한다. 이것은 APOL1이 자신이 명백히 임베드되는 원형질막으로 가는 도중에, 낮은 pH 구획 (아마도 골지) (46)에 이미 종속되었기 때문일지도 모른다. 하지만, 이온 통로 폐쇄 또는 개방을 표시할지도 모르는 작은 입체형태적 변화가 반드시 검출 가능한 것은 아닐 것이다.

[0692] 혈청 APOL1에서, 발세포와는 대조적으로, PFD의 대부분은 접근 불가능하고, 잠재적으로 TLF 입자에 매몰되거나 또는 그 자체로 접힘되며, 반면 MAD는 주로 노출된다 (도 9b, 9c). 하지만, 차단 항체가 반드시 매핑 가능한 것은 아니었고, 따라서 현재 예측된 것보다 더 많은 영역이 노출되는 것이 가능하다는 점에 주의한다. 위상 차이는 단일층을 이룬 발세포 및 이중층을 이룬 지질단백질 입자 사이의 차별적 단백질-지질 상호작용에 기인할 수 있었다. 우리의 데이터는 MAD가 이전에 제안된 바와 같은 HDL-결합 영역 (1, 12)이기보다는, PFD 및/또는 SRA-ID의 초기 부분, 아마도 3개의 예측된 막경유 도메인이라는 것을 암시한다; 하지만, 이들 소수성 영역에 대한 항체의 부재로 인해, 확정적인 응답이 불가능하다. SRA-ID의 C 말단 (376-398)은 SRA에 결합하는 능력 및 G2 변

이체 ($\Delta N388/Y389$)의 그렇게 하는 능력 없음과 합치하게, HDL에서 노출된다; 하지만 우리는 G1에서 S342G가 노출되는지를 결정할 수 없었다 (15, 47). 중요한 경고는 우리의 항체가, 아마도 상이한 위상을 가질, IgM과의 TLF1 (HDL3b) 또는 지질 부족 TLF2 복합체를 차단하는지를 우리가 식별할 수 없다는 점이다. 양쪽 복합체는 차단 APOL1 항체와 공동면역침전된 APOA1 및 HPR (48)을 내포한다.

[0693] 요약하면, 우리는 선천적 APOL1이 배양된 발세포 및 안정되게 형질감염된 CHO 세포의 세포 표면 상에 존재하고, 따라서 비록 비정형성 위상을 가질지라도, 정확하게 위치되어 표면 이온 통로를 형성한다는 것을 보여주었다. 더 중요하게는, APOL1은 세포 표면 상에서 및 순환에서 상이한 입체형태를 갖는데, 이것은 APOL1-결합 작용제가 APOL1의 양쪽 공급원에 반드시 결합하지는 않을 것이라는 것을 의미한다. 발세포에서 제안된 APOL1-suPAR 상호 작용 (49)이 우리의 항체 중 어느 것에 의해 차단되는지를 검사하는 것은 이러한 상호작용에서 APOL1의 현재 미지의 공급원에 관한 단서를 제공할지도 모른다. 우리의 항체는 순환성 APOL1을 잠재적으로 표적화할 수 있지만, 아마도 사구체 여과 장벽을 교차하여 적어도 IgG 형식에서 발세포 APOL1에 접근하지는 않을 것이다.

[0694] **항체 도메인 매핑에 관한 상세**

[0695] 임의의 한 가지 제공된 방법이 검사된 모든 항체에 대해 최적이었던 것은 아니기 때문에, 항체 도메인을 이해하기 위해 상이한 접근법으로부터 데이터가 조합되었다. 간결성을 위해, "결합체"는 발세포 FACS 양성 항체를 지칭하고, 반면 "차단제"는 트리파노소마용해 차단제 (다시 말하면 혈청 APOL1 결합체)를 지칭한다. 우리의 면역원이 첫 60개 aa를 결여했기 때문에, 이러한 영역에 대한 항체가 당연히 없었다. PFD에서, 2개의 결합 비-차단제 및 약한 차단제 (5.11H2 및 5.17H8)가 aa 61-92에 매핑되었는데 (도 20e), 이것은 이러한 영역이 발세포에서는 노출되지만 혈청 APOL1에서는 그렇지 않다는 것을 암시한다 (도 7). 게다가, 상위 차단제 중에서 2개, 3.6D12 및 3.7D6은 또한 좋은 발세포 결합체로서, aa 101-130 및 151-172 사이에 2곳의 구별되는 영역에 매핑되었다 (도 19a 및 20b). 영역 111-150을 인식하는 우리의 다른 항체 중에서 대부분은 3개의 항체를 제외하고, 비-차단제 및 약한 결합체이었다 (도 18). 어떤 항체도 aa 170-240에 매핑되지 않았는데, 우리는 아마도, 2개의 예측된 막경유 도메인 (aa 177-196 및 204-224) (22)이 항원에 매몰될 수 있었기 때문이라고 추측한다.

[0696] 단지 4개의 MAD 결합체만 성공적으로 클로닝되었다: 3개의 차단 비-결합체가 MAD의 C 말단 절반 (aa 260-305)에 매핑되었는데, 이것은 이러한 영역이 혈청에서는 노출되지만 발세포 상에서는 그렇지 않다는 것을 암시한다. 대조적으로 4.12F4 및 3.5H9 (이들은 클로닝될 수 없었다)는 MAD의 N 말단 (235-260)에 매핑되지만 결합 및 차단 둘 모두에 대해 음성이었는데, 이것은 이러한 도메인이 양쪽 사례에서 매몰될 수 있다는 것을 암시한다. 따라서, 발세포에서는 전체 MAD가 매몰되지만, 혈청에서는 C 말단 부분이 노출된다.

[0697] 대부분의 SRA-ID 결합체는 MAD 및 SRA-ID 사이의 링커 영역 (aa 306-339)에 실질적으로 매핑되고, 단지 9개만 SRA-ID를 적절하게 인식하는데, 이들 중 7개는 APOL1-G2를 인식하지 않고 (도 2c,d), 그리고 바로 C 말단 펩티드 (aa 376-398)에 실제로 매핑된다. 결합하거나 또는 차단하는 데 실패한 4.29C4는 펩티드 364-385에 결합하였는데, 이것은 이러한 영역이 예측된 이중 코일에 따라서 거기에 매몰된다는 것을 암시한다 (22). 링커 도메인 항체 중에서, MAD에 인접한 것들 모두 (aa 284-313) 혈청 APOL1만을 인식하였다. aa 314-333에 매핑되는 3개의 항체는 결합하고 차단할 수 있었고, 반면 2개의 약한/비결합 차단제는 aa 324-333에 매핑되었다. 따라서, 혈청 APOL1에서는 링커 (aa 303-330)의 대부분이 노출되지만, 발세포에서는 aa 306-313이 접근 불가능하다. 하지만, SRA-ID의 바로 C 말단은 혈청 및 표면 APOL1 둘 모두에서 쉽게 접근 가능하다. APOL1의 다른 영역에 대한 항체의 결여로 인해, 우리는 APOL1의 완전한 위상을 자신 있게 예측할 수는 없고, 다만 3개의 예측된 막경유 도메인 영역이 정확하다고 가정할 수 있을 뿐이다 (22). 작업 모형은 도 9에서 제시된다.

[0698] 서열이 획득된 항체에 대한 아미노산 서열은 아래의 서열 표에서 더욱 제공된다.

[0699] **실시예 1에 대한 참고문헌**

- [0700] 1. Pays, E.; Vanhollebeke, B.; Vanhamme, L.; Paturiaux-Hanocq, F.; Nolan, D. P.; Perez-Morga, D., The trypanolytic factor of human serum. *Nat Rev Microbiol* **2006**, 4 (6), 477-86.
- [0701] 2. Samanovic, M.; Molina-Portela, M. P.; Chessler, A. D.; Burleigh, B. A.; Raper, J., Trypanosome lytic factor, an antimicrobial high-density lipoprotein, ameliorates Leishmania infection. *PLoS Pathog* **2009**, 5 (1), e1000276.
- [0702] 3. Vanhamme, L.; Paturiaux-Hanocq, F.; Poelvoorde, P.; Nolan, D. P.; Lins, L.; Van Den Abbeele, J.; Pays, A.; Tebabi, P.; Van Xong, H.; Jacquet, A.; Moguilevsky, N.; Dieu, M.; Kane, J. P.; De Baetselier, P.; Brasseur, R.; Pays, E., Apolipoprotein L-I is the trypanosome lytic factor of human

serum. *Nature* **2003**, *422* (6927), 83-7.

- [0703] 4. Duchateau, P. N.; Pullinger, C. R.; Cho, M. H.; Eng, C.; Kane, J. P., Apolipoprotein L gene family: tissue-specific expression, splicing, promoter regions; discovery of a new gene. *J Lipid Res* **2001**, *42* (4), 620-30.
- [0704] 5. Page, N. M.; Butlin, D. J.; Lomthaisong, K.; Lowry, P. J., The human apolipoprotein L gene cluster: identification, classification, and sites of distribution. *Genomics* **2001**, *74* (1), 71-8.
- [0705] 6. Hajduk, S. L.; Hager, K.; Esko, J. D., High-density lipoprotein-mediated lysis of trypanosomes. *Parasitol Today* **1992**, *8* (3), 95-8.
- [0706] 7. Raper, J.; Fung, R.; Ghiso, J.; Nussenzweig, V.; Tomlinson, S., Characterization of a novel trypanosome lytic factor from human serum. *Infect Immun* **1999**, *67* (4), 1910-6.
- [0707] 8. Hajduk, S. L.; Moore, D. R.; Vasudevacharya, J.; Siqueira, H.; Torri, A. F.; Tytler, E. M.; Esko, J. D., Lysis of *Trypanosoma brucei* by a toxic subspecies of human high density lipoprotein. *J Biol Chem* **1989**, *264* (9), 5210-7.
- [0708] 9. Bishop, J. R.; Shimamura, M.; Hajduk, S. L., Insight into the mechanism of trypanosome lytic factor-1 killing of *Trypanosoma brucei brucei*. *Mol Biochem Parasitol* **2001**, *118* (1), 33-40.
- [0709] 10. Drain, J.; Bishop, J. R.; Hajduk, S. L., Haptoglobin-related protein mediates trypanosome lytic factor binding to trypanosomes. *J Biol Chem* **2001**, *276* (32), 30254-60.
- [0710] 11. Oli, M. W.; Cotlin, L. F.; Shiflett, A. M.; Hajduk, S. L., Serum resistance-associated protein blocks lysosomal targeting of trypanosome lytic factor in *Trypanosoma brucei*. *Eukaryot Cell* **2006**, *5* (1), 132-9.
- [0711] 12. Perez-Morga, D.; Vanhollebeke, B.; Paturiaux-Hanocq, F.; Nolan, D. P.; Lins, L.; Homble, F.; Vanhamme, L.; Tebabi, P.; Pays, A.; Poelvoorde, P.; Jacquet, A.; Brasseur, R.; Pays, E., Apolipoprotein L-I promotes trypanosome lysis by forming pores in lysosomal membranes. *Science* **2005**, *309* (5733), 469-72.
- [0712] 13. Cooper, A.; Ilboudo, H.; Alibu, V. P.; Ravel, S.; Enyaru, J.; Weir, W.; Noyes, H.; Capewell, P.; Camara, M.; Milet, J.; Jamonneau, V.; Camara, O.; Matovu, E.; Bucheton, B.; MacLeod, A., APOL1 renal risk variants have contrasting resistance and susceptibility associations with African trypanosomiasis. *Elife* **2017**, *6*.
- [0713] 14. Tzur, S.; Rosset, S.; Shemer, R.; Yudkovsky, G.; Selig, S.; Tarekegn, A.; Bekele, E.; Bradman, N.; Wasser, W. G.; Behar, D. M.; Skorecki, K., Missense mutations in the APOL1 gene are highly associated with end stage kidney disease risk previously attributed to the MYH9 gene. *Hum Genet* **2010**, *128* (3), 345-50.
- [0714] 15. Genovese, G.; Friedman, D. J.; Ross, M. D.; Lecordier, L.; Uzureau, P.; Freedman, B. I.; Bowden, D. W.; Langefeld, C. D.; Oleksyk, T. K.; Uscinski Knob, A. L.; Bernhardt, A. J.; Hicks, P. J.; Nelson, G. W.; Vanhollebeke, B.; Winkler, C. A.; Kopp, J. B.; Pays, E.; Pollak, M. R., Association of trypanolytic ApoL1 variants with kidney disease in African Americans. *Science* **2010**, *329* (5993), 841-5.
- [0715] 16. Freedman, B. I.; Limou, S.; Ma, L.; Kopp, J. B., APOL1-Associated Nephropathy: A Key Contributor to Racial Disparities in CKD. *Am J Kidney Dis* **2018**, *72* (5S1), S8-S16.
- [0716] 17. Santoriello, D.; Husain, S. A.; De Serres, S. A.; Bombach, A. S.; Crew, R. J.; Vasilescu, E. R.; Serban, G.; Campenot, E. S.; Kiryluk, K.; Mohan, S.; Hawkins, G. A.; Hicks, P. J.; Cohen, D. J.; Radhakrishnan, J.; Stokes, M. B.; Markowitz, G. S.; Freedman, B. I.; D'Agati, V. D.; Batal, I., Donor APOL1 high-risk genotypes are associated with increased risk and inferior prognosis of de novo collapsing glomerulopathy in renal allografts. *Kidney Int* **2018**, *94* (6), 1189-1198.
- [0717] 18. Freedman, B. I.; Pastan, S. O.; Israni, A. K.; Schladt, D.; Julian, B. A.; Gautreaux, M. D.;

Hauptfeld, V.; Bray, R. A.; Gebel, H. M.; Kirk, A. D.; Gaston, R. S.; Rogers, J.; Farney, A. C.; Orlando, G.; Stratta, R. J.; Mohan, S.; Ma, L.; Langefeld, C. D.; Bowden, D. W.; Hicks, P. J.; Palmer, N. D.; Palanisamy, A.; Reeves-Daniel, A. M.; Brown, W. M.; Divers, J., APOL1 Genotype and Kidney Transplantation Outcomes From Deceased African American Donors. *Transplantation* **2016**, *100* (1), 194-202.

- [0718] 19. Beckerman, P.; Bi-Karchin, J.; Park, A. S.; Qiu, C.; Dummer, P. D.; Soomro, I.; Boustany-Kari, C. M.; Pullen, S. S.; Miner, J. H.; Hu, C. A.; Rohacs, T.; Inoue, K.; Ishibe, S.; Saleem, M. A.; Palmer, M. B.; Cuervo, A. M.; Kopp, J. B.; Susztak, K., Transgenic expression of human APOL1 risk variants in podocytes induces kidney disease in mice. *Nat Med* **2017**, *23* (4), 429-438.
- [0719] 20. Aghajan, M.; Booten, S. L.; Althage, M.; Hart, C. E.; Ericsson, A.; Maxvill, I.; Ochaba, J.; Menschik-Lundin, A.; Hartleib, J.; Kuntz, S.; Gattis, D.; Ahlstrom, C.; Watt, A. T.; Engelhardt, J. A.; Monia, B. P.; Magnone, M. C.; Guo, S., Antisense oligonucleotide treatment ameliorates IFN-gamma-induced proteinuria in APOL1-transgenic mice. *JCI Insight* **2019**, *4* (12).
- [0720] 21. Bruno, J.; Pozzi, N.; Oliva, J.; Edwards, J. C., Apolipoprotein L1 confers pH-switchable ion permeability to phospholipid vesicles. *J Biol Chem* **2017**, *292* (44), 18344-18353.
- [0721] 22. Thomson, R.; Genovese, G.; Canon, C.; Kovacsics, D.; Higgins, M. K.; Carrington, M.; Winkler, C. A.; Kopp, J.; Rotimi, C.; Adeyemo, A.; Doumatey, A.; Ayodo, G.; Alper, S. L.; Pollak, M. R.; Friedman, D. J.; Raper, J., Evolution of the primate trypanolytic factor APOL1. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2014**, *111* (20), E2130-9.
- [0722] 23. Chan, W. C.; White, P. D., *Fmoc solid phase peptide synthesis : a practical approach*. Oxford University Press: New York, 2000; p xxiv, 346 p.
- [0723] 24. Hazen, M.; Bhakta, S.; Vij, R.; Randle, S.; Kallop, D.; Chiang, V.; Hotzel, I.; Jaiswal, B. S.; Ervin, K. E.; Li, B.; Weimer, R. M.; Polakis, P.; Scheller, R. H.; Junutula, J. R.; Hongo, J. A., An improved and robust DNA immunization method to develop antibodies against extracellular loops of multi-transmembrane proteins. *MAbs* **2014**, *6* (1), 95-107.
- [0724] 25. Vij, R.; Lin, Z.; Schneider, K.; Seshasayee, D.; Koerber, J. T., Analysis of the effect of promoter type and skin pretreatment on antigen expression and antibody response after gene gun-based immunization. *PLoS One* **2018**, *13* (6), e0197962.
- [0725] 26. Lo, M., Kim, H. S., Tong, R. K., Bainbridge, T. W., Vernes, J. M., Zhang, Y., Lin, Y. L., Chung, S., Dennis, M. S., Zuchero, Y. J., Watts, R. J., Couch, J. A., Meng, Y. G., Atwal, J. K., Brezski, R. J., Spiess, C., and Ernst, J. A. (2017) Effector-attenuating Substitutions That Maintain Antibody Stability and Reduce Toxicity in Mice. *J Biol Chem* *292*, 3900-3908.
- [0726] 27. Schlothauer, T., Herter, S., Koller, C. F., Grau-Richards, S., Steinhart, V., Spick, C., Kubbies, M., Klein, C., Umana, P., and Mossner, E. (2016) Novel human IgG1 and IgG4 Fc-engineered antibodies with completely abolished immune effector functions. *Protein Eng Des Sel* *29*, 457-466
- [0727] 28. Meerbrey, K. L.; Hu, G.; Kessler, J. D.; Roarty, K.; Li, M. Z.; Fang, J. E.; Herschkowitz, J. I.; Burrows, A. E.; Ciccio, A.; Sun, T.; Schmitt, E. M.; Bernardi, R. J.; Fu, X.; Bland, C. S.; Cooper, T. A.; Schiff, R.; Rosen, J. M.; Westbrook, T. F.; Elledge, S. J., The pINDUCER lentiviral toolkit for inducible RNA interference in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2011**, *108* (9), 3665-70.
- [0728] 29. Saleem, M. A.; O'Hare, M. J.; Reiser, J.; Coward, R. J.; Inward, C. D.; Farren, T.; Xing, C. Y.; Ni, L.; Mathieson, P. W.; Mundel, P., A conditionally immortalized human podocyte cell line demonstrating nephrin and podocin expression. *J Am Soc Nephrol* **2002**, *13* (3), 630-8.
- [0729] 30. Raz, B.; Iten, M.; Grether-Buhler, Y.; Kaminsky, R.; Brun, R., The Alamar Blue assay to determine drug sensitivity of African trypanosomes (T.b. rhodesiense and T.b. gambiense) in vitro. *Acta Trop* **1997**, *68* (2), 139-47.

- [0730] 31. Lan, X.; Jhaveri, A.; Cheng, K.; Wen, H.; Saleem, M. A.; Mathieson, P. W.; Mikulak, J.; Aviram, S.; Malhotra, A.; Skorecki, K.; Singhal, P. C., APOL1 risk variants enhance podocyte necrosis through compromising lysosomal membrane permeability. *Am J Physiol Renal Physiol* **2014**, *307* (3), F326-36.
- [0731] 32. Thomson, R.; Finkelstein, A., Human trypanolytic factor APOL1 forms pH-gated cation-selective channels in planar lipid bilayers: relevance to trypanosome lysis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2015**, *112* (9), 2894-9.
- [0732] 33. Olabisi, O. A.; Heneghan, J. F., APOL1 Nephrotoxicity: What Does Ion Transport Have to Do With It? *Semin Nephrol* **2017**, *37* (6), 546-551.
- [0733] 34. Nichols, B.; Jog, P.; Lee, J. H.; Blackler, D.; Wilmot, M.; D'Agati, V.; Markowitz, G.; Kopp, J. B.; Alper, S. L.; Pollak, M. R.; Friedman, D. J., Innate immunity pathways regulate the nephropathy gene Apolipoprotein L1. *Kidney Int* **2015**, *87* (2), 332-42.
- [0734] 35. Cooper, A.; Capewell, P.; Clucas, C.; Veitch, N.; Weir, W.; Thomson, R.; Raper, J.; MacLeod, A., A Primate APOL1 Variant That Kills *Trypanosoma brucei gambiense*. *PLoS Negl Trop Dis* **2016**, *10* (8), e0004903.
- [0735] 36. Molina Portela, M. P.; Raper, J.; Tomlinson, S., An investigation into the mechanism of trypanosome lysis by human serum factors. *Mol Biochem Parasitol* **2000**, *110* (2), 273-82.
- [0736] 37. Shiflett, A. M.; Bishop, J. R.; Pahwa, A.; Hajduk, S. L., Human high density lipoproteins are platforms for the assembly of multi-component innate immune complexes. *J Biol Chem* **2005**, *280* (38), 32578-85.
- [0737] 38. Thomson, R.; Samanovic, M.; Raper, J., Activity of trypanosome lytic factor: a novel component of innate immunity. *Future Microbiol* **2009**, *4* (7), 789-96.
- [0738] 39. Olabisi, O. A.; Zhang, J. Y.; VerPlank, L.; Zahler, N.; DiBartolo, S., 3rd; Heneghan, J. F.; Schlondorff, J. S.; Suh, J. H.; Yan, P.; Alper, S. L.; Friedman, D. J.; Pollak, M. R., APOL1 kidney disease risk variants cause cytotoxicity by depleting cellular potassium and inducing stress-activated protein kinases. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2016**, *113* (4), 830-7.
- [0739] 40. Ma, L.; Divers, J.; Freedman, B. I., Mechanisms of Injury in APOL1-associated Kidney Disease. *Transplantation* **2019**, *103* (3), 487-492.
- [0740] 41. Parsa, A.; Kao, W. H.; Xie, D.; Astor, B. C.; Li, M.; Hsu, C. Y.; Feldman, H. I.; Parekh, R. S.; Kusek, J. W.; Greene, T. H.; Fink, J. C.; Anderson, A. H.; Choi, M. J.; Wright, J. T., Jr.; Lash, J. P.; Freedman, B. I.; Ojo, A.; Winkler, C. A.; Raj, D. S.; Kopp, J. B.; He, J.; Jensvold, N. G.; Tao, K.; Lipkowitz, M. S.; Appel, L. J.; Investigators, A. S.; Investigators, C. S., APOL1 risk variants, race, and progression of chronic kidney disease. *N Engl J Med* **2013**, *369* (23), 2183-96.
- [0741] 42. O'Toole, J. F.; Schilling, W.; Kunze, D.; Madhavan, S. M.; Konieczkowski, M.; Gu, Y.; Luo, L.; Wu, Z.; Bruggeman, L. A.; Sedor, J. R., ApoL1 Overexpression Drives Variant-Independent Cytotoxicity. *J Am Soc Nephrol* **2018**, *29* (3), 869-879.
- [0742] 43. Benham, C. D., Simple recipe for blocking ion channels. *Nat Biotechnol* **2005**, *23* (10), 1234-5.
- [0743] 44. Wan, G.; Zhaorigetu, S.; Liu, Z.; Kaini, R.; Jiang, Z.; Hu, C. A., Apolipoprotein L1, a novel Bcl-2 homology domain 3-only lipid-binding protein, induces autophagic cell death. *J Biol Chem* **2008**, *283* (31), 21540-9.
- [0744] 45. Vanhollebeke, B.; Pays, E., The function of apolipoproteins L. *Cell Mol Life Sci* **2006**, *63* (17), 1937-44.
- [0745] 46. Paul Paroutis, N. T., and; Grinstein, S., The pH of the Secretory Pathway: Measurement, Determinants, and Regulation. *american physiology society* **2004**, *19*.
- [0746] 47. Sharma, A. K.; Friedman, D. J.; Pollak, M. R.; Alper, S. L., Structural characterization of the C-

terminal coiled-coil domains of wild-type and kidney disease-associated mutants of apolipoprotein L1. *FEBS J* **2016**, *283* (10), 1846-62.

- [0747] 48. Vanhollebeke, B.; Nielsen, M. J.; Watanabe, Y.; Truc, P.; Vanhamme, L.; Nakajima, K.; Moestrup, S. K.; Pays, E., Distinct roles of haptoglobin-related protein and apolipoprotein L-I in trypanolysis by human serum. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2007**, *104* (10), 4118-23.
- [0748] 49. Hayek, S. S.; Koh, K. H.; Grams, M. E.; Wei, C.; Ko, Y. A.; Li, J.; Samelko, B.; Lee, H.; Dande, R. R.; Lee, H. W.; Hahm, E.; Peev, V.; Tracy, M.; Tardi, N. J.; Gupta, V.; Altintas, M. M.; Garborcauskas, G.; Stojanovic, N.; Winkler, C. A.; Lipkowitz, M. S.; Tin, A.; Inker, L. A.; Levey, A. S.; Zeier, M.; Freedman, B. I.; Kopp, J. B.; Skorecki, K.; Coresh, J.; Quyyumi, A. A.; Sever, S.; Reiser, J., A tripartite complex of suPAR, APOL1 risk variants and alphavbeta3 integrin on podocytes mediates chronic kidney disease. *Nat Med* **2017**, *23* (8), 945-953.
- [0749] 50. Davidson, W. S.; Silva, R. A.; Chantepie, S.; Lagor, W. R.; Chapman, M. J.; Kontush, A., Proteomic analysis of defined HDL subpopulations reveals particle-specific protein clusters: relevance to antioxidative function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2009**, *29* (6), 870-6.
- [0750] 51. Verdery, R. B.; Benham, D. F.; Baldwin, H. L.; Goldberg, A. P.; Nichols, A. V., Measurement of normative HDL subfraction cholesterol levels by Gaussian summation analysis of gradient gels. *J Lipid Res* **1989**, *30* (7), 1085-95.
- [0751] **실시예 2: 아포지질단백질 L1-특이적 항체는 소포체 내부 및 발세포의 원형질막 상에서 내인성 APOL1을 검출한다**
- [0752] *APOL1-G1* 및 *G2* 변이체는 아프리카계 미국인 만성 신장병과 연관한다. 이들 변이체의 과다발현은 제안된 매우 다양한 기전으로 세포를 사멸시키는데, 이들 모두 상이한 구획을 수반한다. 내인성 APOL1의 국지화는 확정적으로 확립되지 않았는데, 그 이유는 대부분의 공개된 항체가 APOL2와 교차반응하기 때문이다. 여기에서 우리는 APOL1-특이적 항체를 산출하였고, 그리고 내인성 발세포 APOL1이 주로 ER 내부에 있고 소량이 세포 표면 상에 있다는 것을 보여준다. 이것은 세포독성의 ER 스트레스 또는 세포 표면 양이온 통로 모형을 잠재적으로 뒷받침한다.
- [0753] 아포지질단백질 L1 (APOL1)의 유전자 변이체 G1 및 G2는 아프리카계 미국인에서 대다수의 인종간 이질적인 만성 신장 질환을 설명한다. *APOL1* 변이체 과다발현에 의한 신장 발세포 세포독성의 복수 기전이 제안되었는데, 이들은 각각, 상이한 세포이하 구획을 수반한다. 내인성 발세포 APOL1이 어떤 구획에 상주하는지는 불명확한데, 그 이유는 선행 면역국지화 연구가, APOL2와 교차반응하는 것으로 증명된 과다발현된 단백질 또는 상업적으로 가용한 항체 중 어느 한 가지를 활용했기 때문이다. 아포지질단백질 L1 (APOL1)의 유전자 변이체 G1 및 G2는 아프리카계 미국인에서 대다수의 인종간 이질적인 만성 신장 질환을 설명한다. *APOL1* 변이체 과다발현에 의한 신장 발세포 세포독성의 복수 기전이 제안되었는데, 이들은 각각, 상이한 세포이하 구획을 수반한다. 내인성 발세포 APOL1이 어떤 구획에 상주하는지는 불명확한데, 그 이유는 선행 면역국지화 연구가, APOL2와 교차반응하는 것으로 증명된 과다발현된 단백질 또는 상업적으로 가용한 항체 중 어느 한 가지를 활용했기 때문이다.
- [0754] APOL1은 인간 신장 발세포 및 내피에서 발견된다. 내인성 발세포 및 형질감염된 APOL1 동종형 vA와 vB1 (및 약간의 동종형 vC) 둘 모두 소포체의 내강면 및 세포 표면에는 국지화되지만, 미토콘드리아, 엔도솜 또는 지질 방울에는 그렇지 않다. 대조적으로, APOL2 및 APOL1의 동종형 vB3과 vC는 소포체의 세포질면으로 국지화하고, 그리고 결과적으로 세포 표면에 부재한다. *APOL1* 녹아웃 발세포는 염색을 결여하는데, 이것은 염색 특이성을 증명한다. 유도성 *APOL1-G0*, *G1* 및 *G2*로 녹아웃 발세포의 안정된 재형질감염은 변이체 사이에 국지화에서 차이 없음을 보여주었다. APOL1은 ER 및 원형질막에서 발견되고, APOL1-매개된 세포독성의 표면 양이온 통로 또는 ER 스트레스 모형을 잠재적으로 뒷받침한다.
- [0755] 말기 신장병은 대부분, 비당뇨병성 신장 질환과 연관되는 *APOL1* 유전자에서 위험 변이체 *G1* 및 *G2* (야생형은 *G0*로서 지정됨)로 인해, 유럽계 미국인과 비교하여 아프리카계 미국인에게 이질적으로 영향을 준다 (참고문헌 52-53). 이들 APOL1 신병증에 대한 치료제의 산출은 먼저, APOL1의 작용 기전에 관한 더 충분한 이해를 필요로 한다 (참고문헌 54-55).
- [0756] 순환성 APOL1보다는 신장 발세포에서 *APOL1*의 발현이 아마도 신장병에 대한 책임이 있다는 것은 증거에 의해 뒷받침된다 (54-58). 어느 한쪽 *APOL1* 위험 변이체의 시험관내 과다발현은 통상적으로 발세포 (59-62)를 비롯한,

많은 세포 유형에서 G0보다 더 세포독성이다. 더 설득력 있게는, 생체내에서 생쥐 발세포에서 특이적으로 높은 수준으로 유도된 *APOL1* 변이체는 단백질 및 인간 국소 분절 사구체경화증과 유사한 사구체 병리를 야기한다 (59).

[0757] *APOL1* 변이체-의존성 세포독성을 설명하기 위한 다양한 추정 기전이 제안되었는데, 이들 모두 상이한 세포이화 구획을 수반한다 (55). 이들은 소포체 (ER) 스트레스; 미토콘드리아 기능장애 (63-64, 72); 증강된 세포 표면 suPAR/인테그린 결합 (65); 표면 양이온 유출 통로 활성화 (62, 66); 콜레스테롤 축적 (67), 그리고 엔도솜 성숙, 자가포식소체 플릭스 또는 리소좀 투과성에서 결함 (59, 60, 62, 68, 69, 70)을 포함한다. 따라서, *APOL1*은 ER (63, 71, 72), 미토콘드리아 (63, 64, 73), 지질 방울 (74), 초기와 후기 엔도솜 (59, 73, 75), 그리고 생화학에 의해 원형질막 (66)으로 다양하게 번역국지화되었다. 하지만, 대부분의 연구는 정상적으로는 수송될 수 없는 과다발현된 *APOL1*을 이용하였고, 그리고 항체가 관련된 *APOL* 패밀리 구성원과의 교차반응성에 대해 특정화되지 않았다. 이들 항체는 보고된 바에 따르면, 발세포, 내피 세포 및 인간 신장의 근위 소관에서 내인성 *APOL1*을 염색시켰지만 (76, 77), 우리는 이들이 또한 *APOL2*를 인식한다는 것을 발견하였고, 그것에 의하여 *APOL1*이 진정으로 거기에서 발현되는지에 의문을 제기한다.

[0758] 여기에서 우리는 면역형광에 의해, *APOL1*에 대해 특이적인 80개의 항체를 특정화하였고, 그리고 비록 2개의 N 말단 스플라이스 동종형이 세포질에 있긴 하지만, *APOL1*이 내피 세포 및 발세포에서, 특히 발세포 ER 및 원형질막에서 발현된다는 것을 증명한다. 우리의 데이터는 따라서, 세포독성의 ER 스트레스 또는 표면 양이온 통로 모형에 대해 잠재적으로 우호적이다.

[0759] **방법**

[0760] 세포 배양

[0761] 인간 영속화된 발세포 (AB 8/13)가 Moin Saleem (81)로부터 허가를 받아 획득되었고, 그리고 비록 38 °C에서 14-15 일 동안 분화한 후 포도신 및 시냅토포딘에 대한 면역형광에 의해 이들이 정상적으로 염색된다는 것이 주기적으로 실증되긴 했지만, 우리의 실험실에서 유전적으로 확증되지는 않았다. 이들은 33°C에서 성장되고, 신선한 성장 배지 (10% FBS (Seradigm IXL9/06807/GEN), 1% 글루타민, 1% 펜/스트랩 (Gibco 15140-122), 1% 인슐린, 트랜스페린, 셀레늄 (Gibco 41400-045)을 포함하는 RPMI)가 주 3x 공급되고, 그리고 시간이 흐름에 따라서 *APOL1* 발현의 상실로 인해 29번째 세대 후 폐기되었다. *APOL1* CRISPR 녹아웃 발세포, 그리고 독시사이클린-유도성 *iAPOL1-G0*, *G1*과 *G2* 발세포 및 안정된 CHO의 산출은 실시예 1에서 설명된다. 동일한 방법이 각 N 말단 동종형에 대한 유도성 (비-스플라이싱가능) cDNA로 안정되게 형질감염된 *iAPOL1* 발세포를 산출하는 데 이용되었다 (참조: 표 5). 이들 발세포는 배지에서 테트라사이클린-없는 FBS 및 5 µg/ml 푸로마이신을 필요로 한다.

[0762] STR-검증된 COS7 세포가 Genentech, Inc.로부터 획득되고 높은 글루코오스 DMEM, 10% FBS, 1% 글루타민, 1% 비필수 아미노산 (Sigma M7145)에서 유지되었다. 0.9×10^4 COS7 세포/웰을 8-웰 LabTekII 슬라이드에 24 시간 동안 도말하고, 이후 웰마다 0.25 µg DNA를 포함하는 예혼합된 0.7 µl Fugene HD (Promega E231A)를 2 일 동안 첨가함으로써, *APOL* DNA (표 3에서 열거됨)의 형질감염이 달성되었다. JHH-1 세포가 실시예 1의 경우에서와 같이 배양되었다.

[0763] *APOL1* cDNA 클로닝

[0764] 모든 가용한 *APOL* cDNA가 아래의 표 5에서 요약된 바와 같이 획득되었다 (*APOL5*는 가용하지 않았다). 표시된 경우에, C 말단 myc-FLAG 태그 (Origene; 또는 *APOL4*의 경우 단지 C 말단 myc)를 갖는 포유류 발현 벡터 내로 하위클로닝이 EcoRI 및 XhoI 제한 부위를 이용하여 달성되었다. *APOL1* 스플라이스 동종형은 모두 태깅되지 않았다. 모든 작제물은 생어 염기서열분석에 의해 실증되었다.

[0765] 상업적인 항체

[0766] 상업적인 항-*APOL1* 항체는 Sigma로부터 토끼 다중클론 (HPA018885, 로트 E103963 및 E105900, IF의 경우에 0.4 µg/ml 및 웨스턴의 경우에 2 µg/ml에서 이용됨); 및 Proteintech (11486-2-AP, 로트 00048412, IF의 경우에 1 µg/ml 및 웨스턴의 경우에 0.44 µg/ml에서 이용됨); 및 Epitomics로부터 토끼 단일클론 EPR2907(2) 로트 GR145110-2 (IF 및 웨스턴 둘 모두의 경우에 2 µg/ml에서)이었다. 구획 마커 항체는 토끼 항-칼넥신 (Abcam Ab25595, 0.25 µg/ml [GFP-칼넥신과의 공동국지화에 의해 우리의 연구소에서 검증되고 (데이터 제시되지 않음), 그리고 차후에, Abcam에 의해 칼넥신 녹아웃 세포에서 어떤 신호도 제공하지 않는 것으로 밝혀짐]); 토끼 항-PDI (단백질 이황화물 이성화효소; 1:200 Stressgen SPA-890 [칼넥신과의 공동국지화에 의해 검증됨]); 생쥐

항-트랜스페린 수용체 H68.4 (1:250 Invitrogen 13-6800 [내재화된 Alexa488-트랜스페린 리간드와의 공동국지화에 의해 검증됨 (데이터 제시되지 않음)]); 토끼 항-페리리핀-2 (IF의 경우에 1.74 $\mu\text{g/ml}$ 및 웨스턴의 경우에 0.08 $\mu\text{g/ml}$ 에서 Proteintech 15294-1-AP [도 36에서 검증됨]); 생쥐 항-페리리핀-2 클론 ADFP-5 (3.3 $\mu\text{g/ml}$ Sigma SAB4200452 [도 36에서 검증됨]); 염소 항-EEA1 (초기 엔도솜에 대해 1 $\mu\text{g/ml}$ C15, Sc-6414 로트 K1904 [생쥐 항-EEA1과의 공동국지화에 의해 검증됨]); 토끼 항-LAMP1 세포질 도메인 (1 $\mu\text{g/ml}$ Novus NB120-19294 로트 MF159260; [생쥐 항-LAMP1과의 공동국지화에 의해 검증됨]); 1 $\mu\text{g/ml}$ 에서 생쥐 항-미토포신 2 클론 6A8 (Abcam Ab56889); 1 $\mu\text{g/ml}$ 에서 토끼 항-FACL4 (Abcam Ab137525) (둘 모두 IF에 의해, 미토콘드리아에 국지화되는 것으로 확증됨 (도 45b)); 그리고 BD Transduction Laboratories로부터 하기 생쥐 단일클론: 칼넥신 클론 37 (2.5 $\mu\text{g/ml}$ 610523 [토끼 항-칼넥신 및 칼넥신-GFP와의 공동국지화에 의해 검증됨]); LAMP1 H4A3 (0.5 $\mu\text{g/ml}$ 555798 [GFP-LAMP2a와의 공동국지화에 의해 검증됨 (참고문헌 101)]); 시토크롬 c 6H2 (2.5 $\mu\text{g/ml}$ 556432 [우리에 의해 미토콘드리아로 표적화된 GFP의 이의 둘러쌈 (101)에 의해, 그리고 다른 이들에 의한 MitoTracker과의 공동국지화 (참고문헌 102)]에 의해 검증됨); 생쥐 항-TOM20 (1:1000에서 612278, 미토콘드리아 분획물에서 이의 농축 이외에 검증되지 않음 (도 40a)); GM130 클론 35 (1 $\mu\text{g/ml}$ 610823); p230/Golgin-245 (1 $\mu\text{g/ml}$ 611280 [GM130에 근접에 의해 검증됨]); 그리고 EEA1 (초기 엔도솜 항원 1) 클론 14 (1 $\mu\text{g/ml}$ 610457 [EGF 및 트랜스페린의 5 분 펄스와의 중첩에 의해 검증됨])이었다. 다른 항체는 rabmab 항-myc 71D10 (1:200 Cell Signaling Technology 2278), 생쥐 항-FLAG M2 (1 $\mu\text{g/ml}$ Sigma F3165), 생쥐 항-myc 9E10 (2 $\mu\text{g/ml}$, Genentech), β -액틴-HRP 13E5 (1:1000 Cell Signaling Technology 5125), 생쥐 항-튜불린 1A2 (1:10,000 Sigma T9028) 및 토끼 항-칼넥신 (웨스턴 블롯을 위한 1:3000 Stressgen SPA-860).

[0767] 항-APOL1 생쥐 단일클론 항체 산출

[0768] 상기 실시예 1에서 설명된 바와 같이, his₆-APOL1 (NM_003661의 aa 61-398)에 대한 생쥐 단일클론이 산출되었다. 35개의 최고 생쥐 단일클론이 염기서열분석되고, 그리고 전술된 바와 같은 이펙터 결여 L234A, L235A, P329G (LALAPG) 돌연변이를 갖는 뮤린 IgG2a 발현 벡터 내로 클로닝되었는데 (103-104), 22개의 클로닝된 항체가 APOL1을 성공적으로 인식하였다. 다른 종류로 삼중 표지화를 할 수 있게 하기 위해, 이들 최고 클로닝된 항체 중 일부의 Fab 영역이 CHO 세포에서 발현 및 단백질-A 친화성 크로마토그래피에 의한 정제를 위해 토끼 IgG 및/또는 쥐 IgG2b 중추 내로 하위클로닝되었다. 재포맷된 토끼 항체에서 비대합된 시스테인이 잔기 80의 시스테인으로의 돌연변이에 의해 대합되었다 (토끼 3.7D6에서 P80C, 그리고 토끼 3.1C1 및 3.1C7에서 A80C).

[0769] 항-APOL1 토끼 단일클론 (rabmab) 항체 산출 (방법 #5)

[0770] 2마리의 토끼가 면역형광 반응성을 최대화하기 위해 4번째와 5번째 부스트가 고정된 항원으로 이루어진 점을 제외하고, 0.5 mg의 상기 his₆-APOL1 항원으로 각각 5 회 면역화되었다 (Lampire Biological Laboratories에서). 고정을 위해, 16% 스톡으로부터 파라포름알데히드가 실온에서 20 분 동안 및 얼음 위에서 10 분 동안 3% 최종으로 1 mg의 his₆-APOL1에 희석되었고, 이후 PFA가 10,000 MWCO 막 (Pierce)에서 APOL1 완충액 (20 mM 트리스-C1 pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.1% DDM (n-도데실- β -D-말토시드))에서 투석에 의해 제거되었다.

[0771] 토끼 단일클론이 B-세포 클로닝 기술에 의해 APOL1-면역화된 토끼로부터 산출되었다. 말초혈 단핵 세포 (PBMC)가 피콜 밀도 원심분리 후 토끼 전혈로부터 단리되었다. PBMC가 PBS에서 세척되고, 이후 FACS 완충액 (PBS에서 2% FCS)에서 재현탁되고 FITC-표지화 항토끼 IgG (AbD Serotec, BioRad)로 염색되었다. 세척한 후, 세포가 프로피디움 요오드화물을 내포하는 FACS 완충액에서 재현탁되었다. 살아있는 단일 IgG-양성 B 세포가 FACSria 분류기 (BD Biosciences)를 이용하여 96 웰 배양 평판 내로 분류되었다. B 세포가 1 주 동안 B 세포 배양 배지 (Genentech)에서 배양된 후, 상층액이 APOL1 결합에 대해 ELISA에 의해 선별검사되었다. 각 웰에서 B 세포가 100 μl RLT 완충액 (Qiagen, Hilden, Germany)에서 용해되고, 그리고 분자 클로닝 때까지 보관을 위해 -80°C에서 즉시 동결되었다. 각 ELISA-양성 단일클론 항체의 가변 영역 (VH와 VL)이 전술된 바와 같이, 추출된 mRNA로부터 발현 벡터 내로 클로닝되었다 (105). 개별 토끼 항체가 1 ml Expi293 세포에서 재조합적으로 발현되고, 그리고 차후에 고처리량 방식으로 단백질 A 유형 수지로 정제되었다. IF-양성 클론이 정물 증가 (30 ml)를 위해 선택되고, 그리고 임의의 단백질 응집체를 제거하기 위해 단백질 A 칼럼에서, 그 이후에 크기 배제 크로마토그래피에 의해 정제되었다.

[0772] 메탄올 프로토콜에서 APOL1 또는 APOL2를 일시적으로 발현하는 COS 세포 상에서 1 $\mu\text{g/ml}$ 에서 시험함으로써 항체가 면역형광에 대해 선별검사되었고, 그리고 양성 세포가 PFA/트리톤 X-100으로 재검사되었다. 항체를 민감도에 의해 순위 매기기 위해, 안정된 더 낮은 발현 iAPOL1-CHO (참조: 실시예 1)가 PFA/사포닌 방법으로 염색되었

다. 가장 강한 극소수가 발세포에서 내인성 APOL1을 염색하는 데 이용되었다.

[0773] RT-PCR

[0774] 급속 동결된 정상적인 사후 인간 신장이 University of Michigan의 동의를 받아 획득되었다 (3명의 여성, 47, 50 및 62세; 그리고 2명의 남성, 62 및 63세). 전체 RNA가 RNeasy 미니 키트 (Qiagen, Valencia, CA)를 이용하여 조직 또는 세포로부터 추출되었다. RNA분해효소-없는 DNA분해효소 세트 (Qiagen)를 이용하여, 칼럼내 유전체 DNA 절단이 정제 동안 수행되었고, 그리고 제공된 무작위 육합체 프라이머로 높은 수용력 역전사 키트 (Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용하여, cDNA 합성이 실행되었다. 정량적 PCR 반응이 ABI PRISM 서열 검출 시스템 (Applied Biosystems)에서 *APOL*-특이적 프로브 (ThermoFisher Scientific)를 이용하여, Taqman 분석에 의해 삼중으로 수행되었다. 우리는 모든 패밀리 구성원을 인코딩하는 cDNA에서 *APOL* 패밀리 프로브 특이성 (카탈로그 번호: L1은 Hs1066280_m1이고; L2는 Hs00603146_m1이고; L3은 Hs00600896_m1이고; L4는 Hs00540930_m1이고; L5는 Hs00229052_m1이고; 그리고 L6은 Hs00229051_m1이다)을 검증하였고 (도 30a), 그리고 상이한 *APOL1* 프로브의 동종형 특이성이 도 49c에서 도시된다. 상대적 mRNA가 *RPL19*에 대해 정규화된 2-Ct 방법을 이용하여 계산되었다. 데이터가 PRISM.v7 소프트웨어를 이용하여 플로팅되었다.

[0775] 원지 혼성화

[0776] FFPE 고정된 정상적인 사후 남성 (47 및 59세) 인간 신장이 윤리 위원회 허가 및 사전 동의와 함께 MT 그룹 (Van Nuys, CA)으로부터 동의를 받아 획득되었다. 5 μ m로 슬라이드 위에 분할된 신장 또는 세포 펠렛이 Leica BondRx 자동조직염색기 내로 부하되고, 베이킹되고, 탈랍되었다. 슬라이드가 95 $^{\circ}$ C에서 15 분 동안 ER2 및 40 $^{\circ}$ C에서 15 분 동안 Leica 효소로 전처리되었다. 프로브 (모두 Advanced Cell Diagnostics로부터 RNAScope $^{\circ}$ LS 2.5 프로브)가 42 $^{\circ}$ C에서 120 분 동안 혼성화되었다: *APOL1* (Hs-APOL1-02-C2, cat# 569168-C2, NM_003661.3의 nt 768-1431, 10zz); Hs-*NPHS2* (cat# 556538, NM_014625.3의 nt 268-1172, 20zz); Hs-*EGLF7* (cat# 314008, NM_016215.4의 nt 14-1356, 14zz). RNAScope 2.5 LS Duplex 시약 키트 (cat# #2005835)가 신호를 검출하는 데 이용되었다. 우리는 *APOL1* 프로브가 *APOL2*와 교차반응하지 않는다는 것을 실증하였고 발세포에서 내인성 *APOL1*을 검출할 수 있었다 (도 21b). *APOL1* 프로브의 이전 버전 (NM_001126541.1의 cat# 411578 nt 2-902)이 *APOL2*와 교차반응하였고 (그리고 따라서 중단되었고), 그리고 이러한 프로브가 사구체 내피를 염색시켰다는 점에 주의한다 (데이터 제시되지 않음). 절편이 밝은 Mayer의 헤마톡실린으로 대비염색되고, 60 $^{\circ}$ C에서 1 시간 동안 건조되고, Histomount가 적제되었다.

[0777] 면역조직화학

[0778] 항체 선별검사를 위해, 형질감염되지 않은 CHO 세포, 안정된 i*APOL1-GO* CHO (참조: 실시예 1), 일시적으로 형질감염된 *APOL2* CHO 세포, IFN γ 자극이 없는 경우 및 있는 경우에 WT 발세포 (100 ng/ml에서 26 시간), 그리고 IFN γ -자극된 *APOL1* KO 발세포를 비롯한, FFPE 세포 펠렛의 미니 어레이가 산출되었다. 세포 펠렛을 산출하기 위해, CHO 세포의 10개의 15 cm 접시가 48 시간 동안 접시당 12 μ g *APOL2* DNA로 리포펙타민 형질감염되거나; 또는 독시사이클린-유도된 i*APOL1*-CHO 안정된 세포주가 이용되었다. 세포가 PBS에서 5 mM EDTA로 분리되고, 펠렛화되고, 이후 포르말린 고정되고 표준 방법을 이용하여 파라핀 포매되었다 (FFPE). *APOL1-GO* BAC 유전자도입 C57BL/6 생쥐 (인간 *APOL1* 프로모터 하에, 이들은 간, 신장 및 폐에서 인간과 유사하게 *APOL1*을 발현한다)의 산출은 다른 곳에서 설명될 것이다 (참고문헌 106을 또한 참조한다). 모든 무린 하이브리도마 상층액 및 클로닝된 rabmab가 5 μ g/ml에서 Thermo Fisher 자동조직염색기에서 DAKO 표적 복원 용액 및 ABC-HRP 검출을 이용하여 선별검사되었다.

[0779] IHC를 위한 최적화된 프로토콜이 Thermo Fisher 자동조직염색기에서 수행되었다. 99 $^{\circ}$ C에서 DAKO 표적 복원 용액에서 20 분의 열 유도된 항원 복원 후, 일차 항-*APOL1* rabmab 5.17D12가 0.5 μ g/ml로 실온에서 60 분 동안 배양되고, 그 이후에 5 μ g/ml로 30 분 동안 이차 비오틴화된 당나귀 항토끼 항체 (Jackson ImmunoResearch 711-066-152), 이후 30 분 동안 스트렙타비딘-HRP 및 TSA (Perkin Elmer)로 3 분 증폭 단계가 뒤따랐다. 색소원은 DAB이었다. FFPE 정상적인 인간 신장이 Folio 및 Cureline로부터 동의를 받아, 64-89세의 2명의 여성 및 3명의 남성으로부터 획득되었다.

[0780] 면역형광

[0781] 세포가 LabTekII (Nalge Nunc 154534) 슬라이드 위에 도말되고 70-100% 함유로 고정되었다. mAb 선별검사를 위해, 세포가 -20 $^{\circ}$ C 메탄올 (EMD MX0485-6)에서 5 분 동안 고정되거나/투과화되었다. 모든 다른 실험의 경우에, 세포가 실온에서 20 분 동안 PBS에서 3% 파라포름알데히드 (EMS 15710)에 고정되고, PBS에서 50 mM NH₄Cl로 10

분 동안 퀀칭되고, 이후 PBS에서 0.1% TX-100으로 4 분 동안 또는 사포닌 완충액 [PBS에서 0.4% 사포닌 (Sigma S7900), 1% 소 혈청 알부민 (BSA; Sigma A2153), 2% 소 태아 혈청 (Seradigm)]에서 1 시간 동안 투과화되었다. 첫 번째 항체 (4 °C에서 무균 보관됨)가 형질감염된 세포를 선별검사하기 위해 1 µg/ml로 또는 내인성 APOL1을 검출하기 위해 차후에 최적화된 농도로 실온에서 1 시간 동안 적용되었다. PBS (메탄올 또는 TX-100 프로토콜의 경우) 또는 사포닌 완충액 (사포닌 프로토콜)에서 3x 10 분 세척 후, 이차 항체가 1.88 µg/ml로 실온에서 1 시간 동안 적용되고, 3x 세척되고, DAPI (4',6-디아미디노-2-페닐인돌; Life Technologies P36931)를 이용하여 ProLong Gold에서 No. 1.5 커버슬립 아래에 적재되었다. 이차 항체 (50% 글리세롤에서 -20°C에서 보관됨)인, Jackson ImmunoResearch로부터 모든 고도로 교차흡착된 당나귀 F(ab')₂ 항 H&L은 Alexa488 항생쥐 (715-546-150), 쥐에 대해 추가적으로 교차흡착된 Alexa488 항생쥐 (715-546-151), Alexa488 항토끼 (711-546-152), Cy3 항생쥐 (715-166-150), Cy3 항토끼 (711-166-152), Cy3 항-쥐 (생쥐와 최소한도로 교차반응성, 712-166-153), Cy3 항염소 (705-166-147), Alexa647 항토끼 (711-606-152), Dy649 항토끼 (712-496-153), Alexa647 항생쥐 (쥐 항체와의 공동염색을 위한 715-606-150 또는 715-606-151)를 포함하였다. ER 및 미토콘드리아의 삼중 표지화를 위해, 아이소타입-특이적 생쥐 이차가 이용되었다: 듀린 4.17A5에 대한 Alexa488 항-IgG2a (Invitrogen A21131) 및 시토크롬 c에 대한 Alexa555 항-IgG1 (Invitrogen A21127) 및 칼넥신에 대한 Alexa649 항토끼. 대안으로 쥐 4.17A5 및 Cy3 항-쥐가 이용되었다 (도 38).

[0782] 원형질막의 선택적 투과화를 위해, 디기토닌의 농도가 먼저, 자유 GFP가 고정된 세포 밖으로 침출되고, 반면 내강 GFP를 포함하는 ER-표적화된 GFP-칼넥신 (101)이 적색 통로에서 단지 GFP 형광에 의해서만 검출 가능하고 항-GFP 항체에서는 그렇지 않도록 담보함으로써 최적화되었다 (데이터 제시되지 않음). COS 세포에 대한 최적 농도는 0.0025% (20 µM)이었고, 그리고 TX-100 대신에 KHM 완충액 (110 mM 아세트산칼륨, 20 mM Hepes pH 7.4, 2 mM MgCl₂)에서 4 분 동안 적용되었다 (84).

[0783] COS 세포가 60x PlanAPO NA 1.4 대물렌즈, 표준 DAPI/FITC/Cy3/Cy5 필터 세트 및 SlideBook (v5.5)에 의해 관리되는 PhotoMetrics HQ2 카메라가 구비된 AxioM2 영상화 시스템 (Zeiss)에서 영상화되었다. 발세포 및 CHO 세포가 63x PlanAPO N.A. 1.4 오일 대물렌즈 및 SlideBook (v6)에 의해 작동된 405, 488, 561 및 640 nm 레이저가 구비된 회전 원판 공초점 현미경검사 (3i W, Yokogawa W1 회전 원판을 갖는 Zeiss AxioObserver M1 현미경)에 의해 영상화되었다. 카메라는 Hamamatsu FLASH 4.0 sCMOS이었다.

[0784] 전자 현미경검사

[0785] iEM을 위해, T25 플라스크에서 1.4×10^6 HEK-293 세포가 각각, 50 시간 또는 65 시간 동안 12 µl Fugene 6 (Roche 11814443001)을 이용하여 5.4 µg APOL1 또는 APOL2 cDNA로 역으로 형질감염되었다. 발세포 및 일시적으로 형질감염된 HEK-293 세포가 각각, 실온에서 2 시간 동안, 이후 4 °C에서 하룻밤 동안 0.1M 인산염 완충액 (PB), pH 7.4에서 4% 파라포름알데히드로, 그리고 실온에서 2 시간 동안 0.1 M 인산염 완충액 (PB), pH 7.4에서 2% 파라포름알데히드, 0.2% 글루타르알데히드로 고정되었다. 고정이 4 °C에서 수일 동안 0.1 M PB 중 1% PFA에서 지속되었다. 세포가 굽어내지고, 펠렛화되고, 12 % 젤라틴에서 임베드되고, 2.3 M 수크로오스로 동결보호되고, 알루미늄 핀 위에 적재되고, 액체 질소에서 동결되었다. 초박 동결절편이 -120°C에서 절단되고, 그리고 항-APOL1 항체, 그 이후에 단백질-A 금 입자 (10 nm)로 염색되었다. 정량을 위해, APOL1/2 발현 HEK-293 세포 및 발세포의 무작위 이미지가 만들어졌다. 항체마다 적어도 50개의 금 입자의 위치가 다음 중 어느 한 가지로서 채점되었다: (i) OMF: 외부 ER 막 표면 및 시토플라즘 상에서 중첩, 또는 외부 ER 막 표면 및 10 nm 금 입자 표면 사이에 ≤ 15 nm의 거리에서 시토플라즘에 위치됨; (ii) IMF: 내부 ER 막 표면 및 ER 내강 상에서 중첩, 또는 내부 ER 막 표면 및 금 입자 표면 사이에 ≤ 15 nm의 거리에서 내강에 위치됨; 또는 (iii) 내강: 10 nm 금 입자 표면 및 가장 가까운 내부 ER 막 표면 사이에 > 15 nm의 거리에서 ER 내강 내에. 2명의 조사관이 정량 절차를 독립적으로 수행하였다. ER 상에서 금 입자에 관한 이들의 퍼센트 점수가 평균화되었고, 그리고 결과가 각 항체에 대한 라인 차트로서 플로팅되었다.

[0786] 유세포분석

[0787] 생존 세포가 얼음 위에서 1 시간 동안 1 µg/ml 3.6D12로 염색되고, 세척되고, 1 µg/ml Alexa488 항생쥐 (Invitrogen A11029)로 검출되었다. 유세포분석이 실시예 1의 경우에서와 같이 수행되었다.

[0788] 웨스턴 블로팅

[0789] 세포가 See Blue Plus 2 분자량 마커 (Invitrogen LC5925)를 이용하여 10%, 12% 또는 4-20% 트리스-글리신 겔 상에서; 또는 Precision Plus 단백질 만화경 마커 (BioRad # 1610375)를 이용하여 MOPS 완충액에서 4-12% Bis-

Tris 겔 상에서 이동된 점을 제외하고, 세포가 실시예 1의 경우에서와 같이 선천적 RIPA (1% NP-40 완충액)에서 용해되었다. 최고 항-APOL1 항체는 클로닝된 토끼 3.1C1 및 3.7D6 (각각 0.05 µg/ml에서)의 혼합물이었다.

[0790] 발세포 분별

[0791] IFNγ-유도된 WT 발세포의 150 x 15 cm 접시가 트립신처리에 의해 수확되고, 50 스트로크의 Teflon Potter-Elvehjem #22 조직 그라인더로 10 ml (5 x 2ml 배치에서) IB_{cells}-1 완충액 (225 mM 만니톨, 75 mM 수크로오스, 30 mM 트리스-Cl, 0.1 mM EGTA, pH 7.4)에서 수동으로 균질화되고, 초음파처리되고 (Branson 450 초음파파쇄기에서 속도 3.5에서 3 x 10 초), 이후 Wieckowski et al (107)의 프로토콜에 따라 분획되었다. 간단히 말하면, 10,000g 펠렛으로부터 미가공 미토콘드리아가 95,000g에서 30 분 동안 30% Percoll 구배에서 분별에 의해 MAM으로부터 분리되었고; 반면 ER이 100,000g에서 원심분리에 의해 미토콘드리아 상층액으로부터 수집되었다. 10 µg의 각 분획물 (BCA 검정, Pierce에 의해 판단됨)이 4-20% 트리스-글리신 겔에 부하되고 적합한 구획 마커로 탐침되었다.

[0792] 결과

[0793] 신장 발세포는 APOL 1, 2 및 6을 발현한다

[0794] APOL1은 APOL1-APOL6 (78-80)을 포함하는 인간 APOL 패밀리의 유일한 분비된 구성원이고, 그리고 APOL2에 가장 가깝게 관련된다 (53% 단백질 동일성; 표 3). RT-PCR은 APOL 1,2,3 및 6 mRNA는 정상적인 인간 신장에서 발현되지만 APOL4 또는 5는 그렇지 않다는 것을 확증하였다 (도 21a) (78-80). 비록 일부 신호가 발세포와 형태학적으로 닮은 NPHS2-음성 세포에서 또한 목격되긴 하지만, 이중 제자리 혼성화 (ISH)는 발세포에서 APOL1 mRNA (도 21b)가 NPHS2와 공동국지화한다는 것을 정확히 짚어냈다. APOL1 및 내피 EGFL7 mRNA 또는 PVLAP 단백질의 이중 ISH는 사구체 내피 세포에서 어떤 공동국지화도 보여주지 않았고, 따라서 APOL1 mRNA는 부재하거나 또는 이들 세포의 검출 한계 미만이다.

[0795] c) 표 3: APOL 유전자 상동성 및 플라스미드 공급원

표 3

[0796]

APOL 유전자	C-말단 태그	벡터	cDNA의 공급원	수탁	% ID FLS*	항원 동등한 aa	ApoL1 항원과의 % ID	항원과의 % 유사성
APOL1	없음 [#]	pCMV6-XL5	Origene SC109941	NM_003661 [#] NP_003652	100	61-398	100	100
APOL2	없음 [#]	pCMV6-XL4	Origene SC124549	NM_145637 [#] NP_663612	53	1-337	61	65
APOL3, v2	Myc-FLAG	pCMV6-엔트리	Origene RC208325	NM_014349 NP_663614	40	1-331	47	53
APOL4, v1	Myc	pRecei ver-M09	Genecopoeia Z4913	NM_030643 NP_085146	36	24-348	39	43
APOL5	해당 없음	해당 없음	해당 없음	NP_085145	20	16-358 (433개 중에서)	25	21
APOL6	Myc-FLAG	pCMV6-엔트리	Origene RC208481	NM_030641 NP_085144	24	1-298 (343개 중에서)	30	31

[0797] *약어: FLS, 전장 서열; ID, 동일성; 해당 없음, DNA 클론 가용하지 않음.

[0798] [#]N 말단 his₆ 태그를 갖는 APOL1 GO 동종형 A (실제 refseq NM_003661)의 아미노산 61-298을 포함하는 APOL1

(v1) 항원 (배콜로바이러스 벡터에서)이 면역화에 이용되었다. 항체가 IF에 의해 선별검사된, pCMV6-XL5에서 Origene 주장된 NM_003661 동종형 A 클론의 DNA 염기서열분석은 이것이 실질적으로 서열 BC1430381이고, 3개의 공통 SNP: E150K (rs2239785), M228I (rs136175) 및 R255K (rs136176) (참고문헌 110-112)을 내포한다는 것을 드러냈다

[0799] ⁸염기서열분석된 Origene APOL2 클론은 예상된 NM_145637 서열로부터 I245V 변화 (rs132760)를 갖는다.

[0800] ⁹우리는 또한, EcoRI 및 XhoI 부위를 이용한 PCR에 의해, APOL3 대신에 APOL1 및 APOL2를 myc-FLAG/pCMV6-엔트리 내로 하위클로닝하였다 (C 말단에서 태깅됨).

[0801] 해당 없음: APOL5에 대해 어떤 상업적으로 가용한 cDNA도 관찰되지 않았지만, 이것은 검사된 모든 항체에서 음성이었던 APOL6에 밀접하게 관련된다.

[0802] 분화된 영속화된 인간 발세포 (81)에서, 단지 APOL1 및 APOL2 mRNA만 검출되었는데 (도 21c), 둘 모두 예상한 바와 같이, 인터페론 감마 (IFN γ) 자극 시에 >10배 증가하였다 (61). APOL6 또한 IFN γ 처리 후 검출 가능하지만, APOL 3-5는 그렇지 않았다. 비록 IFN γ 에 의한 APOL1 유도가 덜 확인하긴 하지만, 유사한 경향이 미분화된 발세포에서 목격되었다. 웨스턴 블로팅에 의해 APOL2 (37 kDa)는 APOL1 (41 kDa)보다 풍부한 것으로 나타났고, 그리고 둘 모두 IFN γ 처리 시에 증가하였다 (도 21d). 따라서, 발세포에서 APOL1의 특이적 면역국지화는 APOL2 또는 APOL6과 비교차반응성인 항체를 필요로 한다.

[0803] 많은 항-APOL1 항체는 APOL2와 교차반응한다

[0804] 유감스럽게도, 선행 보고 (59, 72, 73, 76, 77)에서 이용된 3가지 상업적인 토끼 항체 모두 APOL2와 교차반응하고 (도 22a-b), Proteintech 다중클론은 면역형광 (IF)에 의해 APOL3 (및 약하게 APOL4, 도시되지 않음)을 추가적으로 인식한다. 이런 이유로, APOL1-특이적 항체를 확인하기 위해, 우리는 APOL1 및 APOL2 형질감염된 COS 세포의 IF에 의해, APOL1에 대한 135개의 생쥐 단일클론 항체 (mAb) (참조: 실시예 1)를 선별검사하였다. APOL1을 검출한 107개의 mAb 중 44개가 APOL2와 교차반응하였다 (데이터 제시되지 않음). 에피토프 커버리지를 확대하기 위해, 우리는 토끼에서 35개의 단일클론 (rabmab)을 더욱 산출하였는데, 이들 중 23개는 APOL1을 면역염색시켰고, 그리고 6개는 APOL2를 또한 염색시켰다. APOL2와의 높은 단일클론 교차반응성 (50/130 IF-양성 =38%)은 예상하지 못했는데, 그 이유는 상기 항원이 단지 61% 상동성만을 갖기 때문이다 (표 3).

[0805] IF에 대한 가장 민감한 APOL1-특이적 항체는 rabmab 5.17D12, 그리고 mAb 4.17A5 및 3.7D6이었다 (도22c). MAb 3.6D12는 더 강하긴 하지만, APOL 2, 3 및 4와 교차반응하였다 (도 22c 및 표 4). 웨스턴 블로팅이 이들 APOL 특이성, 내인성 발세포 APOL1 (WT)을 검출하기 위한 이들의 민감도, 그리고 APOL1-G1 및 G2의 인식을 확증하였다 (도 22d). 41 kDa 발세포 밴드가 APOL1 녹아웃 (KO) 발세포에서 부재하였는데, 이것은 항체 특이성을 확증하였다.

[0806] d) 표 4: 면역형광에 의한 항-APOL1 항체 교차반응성

표 4

항체	종*	도메인 ⁵	APOL1	APOL2	APOL3	APOL4	APOL6
5.17D12	Rabmab	PFD	+++	-	-	-	-
3.7D6	생쥐, 토끼 (P80C), 쥐	PFD	+++	-	-	-	-
4.17A5	생쥐, 쥐	PFD	++++	-	-	+	-
3.6D12	생쥐	PFD	++++	+++	+	+	-
5.17H8	Rabmab	PFD	++++	++	±	±	-
3.5C10	생쥐	PFD	++++	+++	+	+	-
3.3A8	생쥐	MAD	+++	++	-	-	-
4.2C4	생쥐	PFD	+++	#	-	-	-
3.6E10	생쥐	SRA-ID 링커	+++	-	-	-	-
3.1C1	생쥐, 토끼 (A80C) 쥐	SRA-ID 링커	++	-	-	-	-
3.1C7	생쥐, 토끼 (A80C) 쥐	SRA-ID 링커	++	-	±	-	-

4.12E5	생쥐	SRA-ID ^{&}	++	-	-	-	-
Sigma HPA018885	토끼	MAD-SRA-ID	++	+ [^]	-	-	-
Epitomics EPR2907(2)	Rabmab	SRA-ID	++	++	-	-	-
Proteintech 11486-2-AP	토끼	PFD	++++	++++	++	±	-

[0808] * 가장 먼저 열거된 종은 최초이다; 임의의 후속 종은 하위클로닝되었다. 하위클로닝된 토끼 항체는 비대합된 시스템을 방지하기 위해 잔기 80에서 시스테인으로 돌연변이되었다.

[0809] ^{\$} 도메인 매핑에 대해 Gupta *et al.*을 참조한다. PFD, 포어 형성 도메인 (aa 60-235); MAD, 막 주소지정 도메인 (aa 240-303); SRA-ID, SRA-상호작용 도메인 (aa 305-398, MAD-SRA-ID 링커 포함).

[0810] [#] 4.2C4는 PFA/사포닌으로 및 면역전자 현미경검사에 의해 APOL2와 교차반응한다 (그러나 PFA/트리톤 X-100으로는 그렇지 않음, 도 31a-b에서 도시됨).

[0811] [&] 4.12E5는 FACS 또는 웨스턴에 의해, APOL1-G2를 그다지 잘 인식하지 못한다 (비록 이것이 IF 및 IHC에 의해 일정한 정도까지 그러하긴 하지만 (데이터 제시되지 않음))

[0812] [^] Sigma 항체는 메탄올이 아닌 PFA로 고정된 APOL2하고만 교차반응한다.

[0813] +++, 매우 강함; +++ 강함; ++ 중간; + 약함; ± 매우 높은 과다발현자하고만 교차반응한다; n.d., 결정되지 않음.

[0814] APOL1-특이적 항체는 APOL1이 발세포 내에서, 주로 ER에 한정된다는 것을 드러낸다

[0815] 면역조직화학에 의해 APOL1-특이성에 대해 선별검사된 170개의 항체 중에서, 5.17D12가 최고이었다 (도 32a-b). 인간 및 *APOL1* 유전자도입 생쥐 신장에서, 5.17D12는 발세포 및 내피 세포를 염색시켰지만, 상업적인 다중클론 (도 32c) (73, 76)과 달리, 근위 소관의 견실한 염색이 없었다 (도 23, 도 32b). 간 간세포 또한 양성이지만 (도 33a-b), 사구체보다 약했다; 이들의 유사한 웨스턴 블롯 신호 (76)는 아마도, 신장에서 사구체보다 간에서 훨씬 큰 비율의 간세포를 반영한다.

[0816] 세포이하에서, COS 세포에서 일시적으로 발현된 *APOL1-G0*, *G1* 및 *G2*는 핵 피막을 비롯한, 소포체 (ER)에서만 거의 한정적으로 나타났고, 130개의 IF-양성 항체 모두 ER-특이적 마커 칼넥신과 공동국지화하지만, 다른 구획에서는 그렇지 않았다 (도 34-37a 및 데이터 제시되지 않음). 흥미롭게도, APOL2 또한, 신호 서열을 결여함에도 불구하고, 칼넥신과 공동국지화하였다 (도 34). 3가지 APOL1 변이체 모두 유사하게, 안정되게 형질감염된 유도성 *APOL1* ("*iAPOL1*") 발세포에서 ER에는 국지화되지만 미토콘드리아에는 그렇지 않았는데 (도 38a), 이것은 면역전자 현미경검사 (iEM, 도 24a, 24b)에 의해 입증되었다. 비록 APOL1이 가끔, 핵주위 영역에서 IF에 의해 소수의 미토콘드리아와 부분적으로 중첩되는 것처럼 보이긴 했지만, 이것은 아마도 분해능 문제인데, 그 이유는 5-20%의 미토콘드리아가 ER에 매우 근접하게 위치하고 (82), 그리고 APOL1, ER 및 미토콘드리아의 삼중 표지화가 APOL1이 수반성 ER 중첩이 없으면 미토콘드리아에서 결코 목격되지 않는다는 것을 드러냈기 때문이다 (도 38b). 더 설득력 있게는, 미토콘드리아는 심지어 양성 ER 수조에 인접할 때에도, iEM에 의해 일관되게 APOL1-음성이었다 (도 39a-39d). 세포이하 분별 또한, 내인성 발세포 APOL1이 ER 및 미토콘드리아 연관 ER 막 (MAM)에서는 농축되지만 (83), 순수한 미토콘드리아에서는 부재한다는 것을 입증하였다 (도 40a). MAM의 APOL1 iEM은 APOL1이 주로 ER 수조 내에 있고 (도 40b-d), 미토콘드리아 또는 이들 소기관 사이의 공간에는 있지 않다는 것을 입증하였다. iEM은 또한, IF에 의해 식별 가능하지 않은 골지 내에 일부 APOL1을 검출할 수 있었지만 (도 24c), 다른 세포내 소기관에서는 그렇지 않았는데, 이것은 APOL1이 분비성이라는 것을 암시한다.

[0817] 중요하게는, ER-국지화된 APOL1은 단순히 과다발현 인공물인 것은 아니었는데, 그 이유는 내인성 APOL1이 분화된 및 미분화된 발세포 (도 24d 및 도 41a-b) 및 JHH-1 (간) 세포 (도 42) 둘 모두에서 유사하게 ER-국지화되었기 때문이다. 내인성 발세포 APOL1은 IFN γ 에 의한 상황조절 후 증가하였고, *APOL1* KO 발세포 및 다른 구획 (골지, 엔도솜, 미토콘드리아 및 지질 방울 포함)에 부재하였고 (도 43-44 및 37b), 그리고 IF에 의해 MAM 마커와 단지 작은 중첩만을 보여주었다 (도 45a-b). 특히 APOL2-교차반응성 항체는 *APOL1* KO 발세포의 ER을, 거의 WT만큼 강하게 염색시켰는데, 이것은 WT 신호의 대부분이 APOL2를 실질적으로 나타낸다는 것을 암시한다 (도 46a-

b). 요약하면, 내인성, 일시적으로 및 안정되게 발현된 APOL1은 조사된 모든 세포 유형에서 ER-한정된 것으로 보인다.

[0818] APOL1은 원형질막의 세포외면 상에 있지만, APOL2는 그렇지 않다

[0819] 이들 (투과화된) 세포주 중 어떤 것에서도 IF에 의해 원형질막에서 APOL1을 검출하지 못했지만, 대부분의 항체는 비투과화된 WT (그러나 *APOL1-KO*는 그렇지 않음) 발세포 및 안정된 세포주의 유세포분석에 의해 표면 APOL1을 인식하였다 (실시에 1). APOL2-교차반응성 3.6D12는 유사하게, *APOL1 KO* 발세포 (이것은 *APOL2*를 유지한다) 상에서 이동하지 않았는데, 이것은 APOL2가 세포 표면 상에서 발견되지 않는다는 것을 암시한다 (도 25a). 비투과화된 발세포의 염색은 표면 APOL1이 점상이며, 더 높은 발현 JHH-1 세포 및 *iAPOL1-GO*, *G1* 및 *G2* 발세포에서 보다 부점이 더 적고, 덜 밝다는 것을 보여주었다 (도 25b 및 도 47a-b). 표면 APOL1은 전체 중 극히 낮은 비율인데, 그 이유는 투과화된 세포에서 훨씬 강한 ER 신호가 표면 신호를 가리기 때문이다; 게다가, 상대적으로 극소수의 금 입자만 iEM에 의해 발세포 혈장 막 상에서 목격되었다 (도 25c).

[0820] APOL1 및 APOL2는 ER 막의 대향면에 국지화된다

[0821] 단지 APOL1만 세포 표면 상에서 발견되지만, APOL1 및 APOL2 둘 모두 ER-국지화되는 것으로 나타났기 때문에, 우리는 원형질막을 선택적으로 투과하고 ER 막을 무손상 상태로 남겨두는 디기토닌 (84)으로 APOL2-형질감염된 COS 세포를 투과함으로써, APOL2가 ER의 외부면 (세포질면)에 국지화되는지를 조사하였다 (도 26a). 44개의 APOL2 교차반응성 mAb 모두 사포닌 또는 트리톤 X-100 (이것은 모든 세포막을 투과한다)의 경우에서와 같이 디기토닌으로 유사한 ER 염색 패턴을 나타냈는데, 이것은 APOL2가 실제로 ER의 세포질면 상에 있다는 것을 암시한다 (도 26b).

[0822] 대조적으로, 80개의 APOL1-특이적 항체 모두 디기토닌 투과화로 ER 신호 대신에 핵막 (만약 높은 친화성이면, 플러스 원형질막) 신호를 제공하였는데 (도 26b), 이것은 APOL1이 접근 불가능하고, 이런 이유로 ER 내강 (이것은 핵 피막과 인접한다) 내부에 있어야 한다는 것을 암시한다. 따라서, APOL1의 3개 도메인 모두 내강에 있고, 어떤 하나의 단일 에피토프도 세포질 내로 돌출하지 않는다. iEM의 정량은 APOL1이 내강 ER 마커 KDEL처럼 ER 내강에서 가용성이 아닌, *iAPOL1* 발세포의 내부 ER 막 면과 결합된다는 것을 추가적으로 드러냈다 (도 26c, 26d). APOL1은 형질감염된 HEK-293 세포의 내부 ER 막과 유사하게 결합되고 (도 48a-48c), 반면 APOL2는 외부 ER 막을 향해 더 분포되었는데, 이것은 디기토닌으로 관찰된 차별적 국지화를 뒷받침한다.

[0823] 유의미하게는, 내인성 APOL1 및 APOL2는 또한, 디기토닌 투과화된 발세포에서 각각, ER의 내강면 및 세포질면 상에 있었다 (도 46a-46b). 이것은 임의의 대안적으로 스플라이싱된 세포질 APOL1 동종형 (61, 85)이 내강에 있거나 또는 검출 한계 미만이라는 것을 암시한다 (하기를 참조한다). 따라서, APOL1 및 APOL2는 각각, ER 막의 내부면 및 외부면 상에 있다.

[0824] APOL1 동종형은 상이한 ER 위상을 갖는다

[0825] APOL1 위험 변이체는 소포-SNARE VAMP8에 대해 GO보다 못하게 결합하여, 위험 변이체 병리의 추정 기전으로서 엔도솜 트래피킹의 저해를 야기하는 것으로 제안되었다 (73). 하지만, 소포-SNARE는 모두 세포질로 정향되고, 반면 우리는 상기에서 APOL1이 그렇지 않다는 것을 명백히 보여주었다. 경고는 우리는 아마도 주된 참조 동종형 (vA 또는 v1)을 검출한 반면, 발세포의 IFN γ 자극은 APOL1의 3가지 소수 스플라이스 변이체 (동종형 vB1, vB3 및 vC)를 검출가능하게 만든다는 것이다 (61, 85). 이들은 그들의 N 말단에서 서로 다르고, 따라서 모두가 분비될 수 있는 것은 아닌데, 이것은 이들이 세포질에 있고 VAMP8에게 접근이 허용될지도 모르며, 따라서 평가가 필요하다 (도 49a-49c 및 표 5). 명료함을 위해, 본 실시예에서 우리는 스플라이스 형태를 "동종형"으로, 그리고 G1/G2 위험 대립유전자를 "변이체"로 부른다.

[0826] e) 표 5: APOL1 동종형 정보 및 신호 서열 예측

표 5

[0827]

APOL1 동종형	형태	벡터 / 공급원	수탁	FL S* aa	iPSORT 점수 (컷오프 = 0.953) &	Signal P-4.1 D-점수 (컷오프 = 0.45) \$	Secre tome P2.0 @	ss (a a)	예측된 성숙 MW (Da)	IF에 의해 내강 ? ψ

vA (v1)	RefSeq	pcMV6-XL5 (Origene SC109941)	NM_003661 [#] NP_003652	398	예 (2.007)	예 (0.853)	예	27	41,111 (△ss)	예
vV1 (v2)	+ 엑 손2	pcDNA3.1 (GenScript)	NM_145343 NP_663318	414	아니요 (-0.8)	아니요 (0.36)	예	43	41,111 (△ss)	예
vB3 (v2-3)	+ 엑 손2 △엑 손4	pcDNA3.1 (GenScript)	KX192151 [#] APY18924	396	아니요 (-0.8)	아니요 (0.22)	아니 요	0	44,084	아니요
vC (v4)	△엑 손4	pcDNA3.1 (Genscript)	NM_0011365 41 NP_0011300 13	380	예 (1.233)	예 (0.467)	예	0 또 는 21	42,140 39,831 (△ss)	예 & 아니요

[0828] *약어: FLS, 전장 서열; aa, 아미노산; ss, 신호 서열; IF, 면역형광. MW, 분자량 (분비된 경우 (신호 서열의 제거 후, △ss)에 녹색; 비-분비된 경우에 적색)

[0829] [#] DNA가 3개의 공통 SNP E150K (rs2239785), M228I (rs136175) 및 R255K (rs136176)를 내포한다.

[0830] [&] N 말단 신호 서열의 존재에 대한 iPSORT 예측 (63). 0.953을 초과하는 값은 신호 서열을 가질 것으로 예측된다 (예). 이러한 알고리즘이 단지 상기 단백질의 첫 30개 aa만을 고려하고, 따라서 신호 서열이 43 aa인 APOL1.vB1은 비-분비될 것으로 잘못 예측된다는 점에 주의한다.

[0831] ^{\$} N 말단 신호 서열에 대한 Signal P-4.1 예측 (64). 이러한 알고리즘은 상기 단백질의 첫 70개 aa를 평가한다.

[0832] [®] 비-고전적 포유류 단백질 분비에 대한 Secretome P2.0a - 예 또는 아니요는 고전적 신호 서열의 예측에 대해 제공된 주의사항을 지칭한다 (65).

[0833] Ψ 내강 (오른쪽 칼럼 및 도 27)은 상기 단백질이 디기토닌을 이용한 IF에 의해 해독된 바와 같이 ER 내강 내에 있는지의 결과 (그리고 FACS에 의해 원형질막 상에서는 그렇지 않음)를 지칭하고, 그리고 이들 신호 예측 프로그램이 부분적으로는 정확하지만, 실제로 극히 낮은 비율만 내강에 있고 대다수가 세포질에 있을 때, vB1에서 비정상적으로 긴 43aa 신호 서열을 인식하는 데 실패하고 vC를 분비성으로서 예측하였다는 것을 보여준다.

[0834] 4가지 동종형 모두 HEK-293 세포에서 일시적인 과다발현 시에 배지 내로 분비되는 것으로 밝혀졌다 (85). 하지만, 이들 저자들에 의해 제안된 바와 같이 (85), 이것은 과다발현 인공물일 수도 있는데, 그 이유는 우리가 일시적으로 형질감염된 COS 세포에서는 동일한 결과를 획득했지만 안정된 세포주에서는 그러지 못했기 때문이다. 각각의 APOL1 동종형 (이들 모두 ER에 국지화됨, 도 27a)을 개별적으로 발현하는 iAPOL1 발세포에서, 내강에서 나타나는 (디기토닌 기술에 의해) vA 및 vB1 동종형만, 비슷한 수준으로 유도될 때 생존 세포의 FACS에 의해 세포 표면에서 큰 이동을 제공하였다 (다시 말하면 분비 경로를 따라서 수송되었다; 도 27b-27d). 대조적으로, COS 과다상태에서 신호 서열이 결실된 vA (△ss)는, 디기토닌 IF에 의해 예상된 반대의 ER 위상을 가짐에도 불구하고, 세포 표면 상에서 및 배지에서 정상적인 vA와 똑같이 잘 나타났다 (도 50a-51c). 따라서, 배지 내로 "분비된" APOL1은 이전에 제안된 바와 같이, 아마도 적어도 부분적으로, 일시적으로 발현될 때 과다발현-유도된 세포 파열로부터 유래한다 (85).

[0835] 발세포에서 안정된 APOL1.vB1의 ER-내강 국지화는 웨스턴 블롯에 의해 vA에 대한 이의 동일한 크기와 일치하는 데 (도 27d), 이것은 그들의 상이한 신호 서열이 동일한 부위에서 개월된다는 것을 암시한다. 반대로, vB3은 신호 절단 없음 (표 5 및 도 51c) 및 이의 세포질 위치와 일관하게, 더 크게 이동한다; 아래쪽 밴드는 vC와 유사한 세포질 분해 산물일 수 있다. 흥미롭게도, APOL1.vC는 IF에 의해 두드러지게 세포질에 있을 뿐만 아니라 때때로 동일한 세포 내에서 약간의 내강/세포 표면 신호를 보여준다 (도 27b에서 화살표).

[0836] 어떤 내인성 APOL1 동종형이 검출 가능한지를 결정하기 위해, WT 발세포가 웨스턴 블로팅되었다. 주된 밴드는 예상한 바와 같이, vA의 크기이지만, 더 긴 노출이 IFN γ 처리 후 작은 위쪽 밴드를 독특하게 드러냈는데, 상기 밴드는 만약 이것이 스플라이스 동종형이면 vB3만을 나타낼 수 있었고, 그리고 실제로 크기에서 유사하다 (도 28 및 표 5). RT-PCR은 2개의 세포질 동종형 (vB3 및 vC)이 2개의 내강 동종형 (vA 및 vB1; 도 49c)보다 30x 더 풍부하다는 선행 보고 (61, 85)를 확증하였고, 따라서 세포질 내인성 APOL1이 IF에 의해 검출될 수 없었다는

것은 놀랍지 않다. 요약하면, APOL1.vA는 두드러지게 내생적이고 ER 내부에 있으며, 그리고 임의의 소수 세포질 변이체 (vB3 및 vC)는 엔도솜보다는 ER의 외부면에 국지화된 다 (도 27b, 도 52a-b).

[0837] 결과에 관한 논의

[0838] 우리는 APOL1의 국지화를 조사하기 위해 복수의 APOL1-특이적 항체를 특징화하였다. 조직 수준에서, 선행 보고 (59, 73, 76, 77, 86)와 합치하게, 우리는 간 간세포 및 신장의 발세포에서 APOL1 mRNA 및 단백질을 발견했지만, 이것은 식작용적이라기 보다는 생합성적 (분비성)이라고 생각된다. 대조적으로, 우리는 근위 소관 에서 APOL1 단백질을 또는 mRNA를 발견하지 못했는데, 이것은 상업적인 다중클론 (73, 77)으로 근위 세뇨관 염색 이 APOL2 교차반응성이거나 또는 단순히 비특이적일 수 있다는 것을 암시하고 (도 32c), 특이적 항체에 대한 필요성을 부각시켰다. Ma et al. (76)과 달리, 우리는 비록 이러한 프로브의 이전 버전이 APOL2와 교차반응성이긴 했지만, 사구체 내피 세포에서 APOL1 mRNA를 검출할 수 없었다 (데이터 제시되지 않음). 이러한 차이가 우리의 더 짧은 프로브가 덜 민감하기 때문인 것인지 또는 Ma의 프로브가 APOL1-특이적이지 않은 것인지가 불명확하다. 그럼에도 불구하고, 이전에 밝혀진 바와 같이 (73, 77), APOL1 단백질은 IHC에 의해 사구체 내피 세포 및 내피 모세관에서 풍부하였고 (도 23), 따라서 이들 세포 유형에서 혈액으로부터 세포내섭취될지도 모른다.

[0839] 세포이하에서, 주된 (참조) 동종형, APOL1.vA는 ER 내에서 일관되게 (내생적으로, 일시적으로 및 안정되게 발현 된) 발견되었으며, 낮은 비율 (투과화된 및 비투과화된 세포의 비교 FACS에 의해 <20% 추정됨; 도 14)이 골지를 통해 세포 표면으로 수송되었다 (도 29). 이것은 예상치 못한 것은 아닌데, 그 이유는 이것이 확정적인 신호 서열을 소유하고 (79, 85), 그리고 간세포로부터 분비되고 순환성 HDL 입자와 결합되기 때문이다 (71). 하지만, 영속화된 발세포에서는, 분비성 APOL1이 아마도, HDL 입자 생산에만 이용되는 수송 기구의 결여로 인해 세포 표면에 부착된 상태로 남아있다 (87). 표면 APOL1은 세포 전체에 걸쳐 점상으로 나타났고, 그리고 외인성으로 추가된 APOL1과 달리 초점적 영역에 한정되지 않았는데 (65), 이것은 표면 APOL1이 적어도 인테그린 자극의 부재에서 인테그린과 복합화되지 않는다는 것을 암시하였다.

[0840] 트리파노소마 (88)에서 및 시험관내 지질 막 (89-90)에서, APOL1이 산성 pH에서만 막 내로 삽입되기 때문에, 우리는 APOL1이 중성 (91) ER 내강에서 가용성일 것이라고 예상하였다. 하지만, 정량적 iEM은 비록 일부가 초음파 처리에 의해 세포질 분획물 내로 방출되긴 하지만, APOL1.vA가 내부 ER 막 상에 있다는 것을 드러냈는데 (도 40a), 이것은 APOL1이 포스파티딜이노시톨과 주변적으로 결합될지도 모른다는 것을 암시하였다 (70, 74). 우리는 완전한 막 통합 (92)이 세포 표면으로 가는 도중에 ≤ 6 의 pH인 골지(91)에서 일어날 수 있다고 가정한다. 포스파티딜이노시톨은 ER42의 세포질 침판에서 풍부하고, 그리고 비-분비성 APOL1 동종형 (및 APOL2)이 중성 세포질에서 가용성인 대신에, 외부 ER 막과 결합하는 이유를 설명할지도 모른다.

[0841] 내인성 발세포 APOL1 또는 형질감염된 APOL1.vA의 IF 또는 iEM 중 어느 하나에 의해 어떤 유의미한 중첩도 없었 으며, 미토콘드리아, 지질 방울, 또는 엔도솜, 소기관이 다른 이들에 의해 APOL1을 품는 것으로 보고되었다 (59, 64, 73, 74). 이것은 더 풍부한 APOL2 및/또는 부적절한 염색 절차, 에피토프 태그, 형질감염 인공물 또는 상이한 세포 유형이 이들 결과에 기여할 수 있었다는 것을 암시한다. APOL1은 최근에, 미가공 미토콘드리아 펠 렛에서 미토콘드리아 이입 기구에 의존하는 것으로 밝혀졌다 (94). 우리는 이들 "미토콘드리아"가 실질적으로, 미토콘드리아에 가깝게 병렬된 MAM (ER의 서브도메인) (83)일 수 있다고 의심하는데, 그 이유는 우리 수중에서, MAM으로부터 정제된 미토콘드리아가 검출 가능한 APOL1을 내포하지 않기 때문이다 (도 40a). MAM에서 APOL1은 실질적으로, 지질 합성 및 ER 스트레스 신호전달 (83)과 연관된 ER의 서브도메인인 ER 수조 내에 상주한다 (도 40b-d). 미토콘드리아 이입 서열은 세포질에서는 인식되지만 ER에서는 그렇지 않고 (95), 따라서 내강 APOL1.vA 및 vB1은 ER 내강으로부터 미토콘드리아에 도달할 것으로 예상되지 않을 것이다. 따라서, 이것이 과다발현 인공 물이 아니라는 것을 담보하기 위해, 내인성 APOL1로 미토콘드리아 이입 조사 결과 (94)를 실증하는 것이 중요할 것이다. APOL1-RFP23에 의한 지질 방울의 보고된 코팅은 유사하게, 우리의 데이터와 일치하지 않는데, 그 이유 는 이들은 외부 ER 막 (96)으로부터 발아하는 반면, 태깅되지 않은 APOL1은 내막 상에 있고 (도 48), 그리고 칼 넥신처럼 지질 방울 내로 분류되지 않았기 때문이다 (도 37b). 아마도 C 말단 태그가 APOL1의 분포를 변경한다.

[0842] ER에 이전에 국지화된 GFP-APOL1 (신호 서열이 없음 (Δss))은 신호-서열 독립된 ER 표적화 (63)로서 해석되었 지만, 우리는 APOL1 Δss (뿐만 아니라 동종형 vB3, vC 및 APOL2)가 위상적으로 구별되고, 내부가 아닌 외부 ER 막과 결합한다는 것을 보여준다 (도 29). 발세포에서 검출 가능한 내인성 세포질 APOL1의 부재는 이들 발세포 (81)가 배양 중에 APOL1을 상실하기 때문일 수 있었다; 세포질 동종형 vB3 및 vC는 생각건대, 특히 만약 염증성 사이토킨에 의해 상향조절되면 생체내에서 의미 있는 수준으로 발현될 수 있었다 (61). 하지만, 안정되게 발현 된 vB3 및 vC는 ER의 외부면으로는 국지화되지만, VAMP8-양성 초기 엔도솜 또는 분비 과립으로는 국지화되지 않

는다 (97-99). 발세포 APOL1의 공개된 엔도솜 염색이 디기토닌 및 Sigma 항체로 수행되었다는 점에 주의하는데 (59), 이들 조건은 단지 APOL2 또는 세포질 변이체만을 드러낼 것이다 (도 46a). 어떤 경우든, APOL1-매개된 세포독성은 보고된 바에 따르면, 분비성 (엑손 4-양성) 동종형 (vA 및 vB1)에 한정되는데 (85), 여기서 SRA-ID는 세포질 내로 ER (도 26b) 또는 원형질막 (실시예 1) 중 어느 것도 교차하지 않는다. 따라서, 우리는 비록 간접적인 또는 일시적인 효과가 배제될 수 없긴 하지만, 안정된 VAMP8 결합을 통한 엔도솜 또는 자가포식소체 성숙 결합 (59, 70, 73)이 아마도 APOL1-G1 및 G2-매개된 세포독성의 직접적인 기전이 아니라고 논증한다.

[0843] 우리의 국지화 데이터는 APOL1-변이체 매개된 세포독성에 대한 ER 스트레스 (72, 100) 또는 세포 표면 양이온 통로 모형 (62, 66) 중 어느 하나에 대해 우호적이다. 다른 연구 (63, 64, 73)와 합치하게, 변이체 사이에 차별적 국지화가 없었고, 따라서 변이체 효과의 기능 또는 크기가 아마도 다르다. APOL1이 생체내에서 발세포 내에 상주하는 곳을 결정하는 것은 중요할 것이다; 예를 들면, 이것이 기저막 인테그린과 공동국지화하는지의 여부 (65). "두 번째 히트"가 지속되는 APOL1 신병증 환자로부터 획득된 일차 발세포에서 APOL1의 세포이하 국지화를 연구하고 APOL1 단백질이 APOL1 위험 변이체 신장에서 상향조절되는지를 확립하는 것 또한, 유익할 것이다.

[0844] 요약하면, 우리는 내인성 발세포 APOL1을 검출할 만큼 충분히 민감한 첫 번째 APOL1-특이적 항체를 산출하였다. 이들은 선행 연구를 어렵게 만들었던 APOL2 결합으로부터 간섭 없이, APOL1 국지화의 장래 조사 및 상호작용 파트너의 확인을 위한 유용한 도구일 것이다.

[0845] 실시예 2에 대한 참고문헌

[0846] 52. Genovese, G.; Friedman, D. J.; Ross, M. D.; Lecordier, L.; Uzureau, P.; Freedman, B. I.; Bowden, D. W.; Langefeld, C. D.; Oleksyk, T. K.; Uscinski Knob, A. L.; Bernhardt, A. J.; Hicks, P. J.; Nelson, G. W.; Vanhollebeke, B.; Winkler, C. A.; Kopp, J. B.; Pays, E.; Pollak, M. R., Association of trypanolytic ApoL1 variants with kidney disease in African Americans. *Science* **2010**, *329* (5993), 841-5.

[0847] 53. Tzur, S.; Rosset, S.; Shemer, R.; Yudkovsky, G.; Selig, S.; Tarekegn, A.; Bekele, E.; Bradman, N.; Wasser, W. G.; Behar, D. M.; Skorecki, K., Missense mutations in the APOL1 gene are highly associated with end stage kidney disease risk previously attributed to the MYH9 gene. *Hum Genet* **2010**, *128* (3), 345-50.

[0848] 54. Heymann, J.; Winkler, C. A.; Hoek, M.; Susztak, K.; Kopp, J. B., Therapeutics for APOL1 nephropathies: putting out the fire in the podocyte. *Nephrol Dial Transplant* **2017**, *32* (suppl_1), i65-i70.

[0849] 55. Kruzel-Davila, E.; Skorecki, K., Dilemmas and challenges in apolipoprotein L1 nephropathy research. *Curr Opin Nephrol Hypertens* **2019**, *28* (1), 77-86.

[0850] 56. Kopp, J. B.; Heymann, J.; Winkler, C. A., APOL1 Renal Risk Variants: Fertile Soil for HIV-Associated Nephropathy. *Semin Nephrol* **2017**, *37* (6), 514-519.

[0851] 57. Shukha, K.; Mueller, J. L.; Chung, R. T.; Curry, M. P.; Friedman, D. J.; Pollak, M. R.; Berg, A. H., Most ApoL1 Is Secreted by the Liver. *J Am Soc Nephrol* **2017**, *28* (4), 1079-1083.

[0852] 58. Aghajan, M.; Booten, S. L.; Althage, M.; Hart, C. E.; Ericsson, A.; Maxvill, I.; Ochaba, J.; Menschik-Lundin, A.; Hartleib, J.; Kuntz, S.; Gattis, D.; Ahlstrom, C.; Watt, A. T.; Engelhardt, J. A.; Monia, B. P.; Magnone, M. C.; Guo, S., Antisense oligonucleotide treatment ameliorates IFN-gamma-induced proteinuria in APOL1-transgenic mice. *JCI Insight* **2019**, *4* (12).

[0853] 59. Beckerman, P.; Bi-Karchin, J.; Park, A. S.; Qiu, C.; Dummer, P. D.; Soomro, I.; Boustany-Kari, C. M.; Pullen, S. S.; Miner, J. H.; Hu, C. A.; Rohacs, T.; Inoue, K.; Ishibe, S.; Saleem, M. A.; Palmer, M. B.; Cuervo, A. M.; Kopp, J. B.; Susztak, K., Transgenic expression of human APOL1 risk variants in podocytes induces kidney disease in mice. *Nat Med* **2017**, *23* (4), 429-438.

[0854] 60. Lan, X.; Jhaveri, A.; Cheng, K.; Wen, H.; Saleem, M. A.; Mathieson, P. W.; Mikulak, J.; Aviram, S.; Malhotra, A.; Skorecki, K.; Singhal, P. C., APOL1 risk variants enhance podocyte necrosis through compromising lysosomal membrane permeability. *Am J Physiol Renal Physiol* **2014**, *307* (3), F326-36.

[0855] 61. Nichols, B.; Jog, P.; Lee, J. H.; Blackler, D.; Wilmot, M.; D'Agati, V.; Markowitz, G.; Kopp, J.

B.; Alper, S. L.; Pollak, M. R.; Friedman, D. J., Innate immunity pathways regulate the nephropathy gene Apolipoprotein L1. *Kidney Int* **2015**, *87* (2), 332-42.

- [0856] 62. Olabisi, O. A.; Zhang, J. Y.; VerPlank, L.; Zahler, N.; DiBartolo, S., 3rd; Heneghan, J. F.; Schlondorff, J. S.; Suh, J. H.; Yan, P.; Alper, S. L.; Friedman, D. J.; Pollak, M. R., APOL1 kidney disease risk variants cause cytotoxicity by depleting cellular potassium and inducing stress-activated protein kinases. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2016**, *113* (4), 830-7.
- [0857] 63. Granado, D.; Muller, D.; Krausel, V.; Kruzel-Davila, E.; Schuberth, C.; Eschborn, M.; Wedlich-Soldner, R.; Skorecki, K.; Pavenstadt, H.; Michgehl, U.; Weide, T., Intracellular APOL1 Risk Variants Cause Cytotoxicity Accompanied by Energy Depletion. *J Am Soc Nephrol* **2017**, *28* (11), 3227-3238.
- [0858] 64. Ma, L.; Chou, J. W.; Snipes, J. A.; Bharadwaj, M. S.; Craddock, A. L.; Cheng, D.; Weckerle, A.; Petrovic, S.; Hicks, P. J.; Hemal, A. K.; Hawkins, G. A.; Miller, L. D.; Molina, A. J.; Langefeld, C. D.; Murea, M.; Parks, J. S.; Freedman, B. I., APOL1 Renal-Risk Variants Induce Mitochondrial Dysfunction. *J Am Soc Nephrol* **2017**, *28* (4), 1093-1105.
- [0859] 65. Hayek, S. S.; Koh, K. H.; Grams, M. E.; Wei, C.; Ko, Y. A.; Li, J.; Samelko, B.; Lee, H.; Dande, R. R.; Lee, H. W.; Hahm, E.; Peev, V.; Tracy, M.; Tardi, N. J.; Gupta, V.; Altintas, M. M.; Garborcauskas, G.; Stojanovic, N.; Winkler, C. A.; Lipkowitz, M. S.; Tin, A.; Inker, L. A.; Levey, A. S.; Zeier, M.; Freedman, B. I.; Kopp, J. B.; Skorecki, K.; Coresh, J.; Quyyumi, A. A.; Sever, S.; Reiser, J., A tripartite complex of suPAR, APOL1 risk variants and alphavbeta3 integrin on podocytes mediates chronic kidney disease. *Nat Med* **2017**, *23* (8), 945-953.
- [0860] 66. O'Toole, J. F.; Schilling, W.; Kunze, D.; Madhavan, S. M.; Konieczkowski, M.; Gu, Y.; Luo, L.; Wu, Z.; Bruggeman, L. A.; Sedor, J. R., ApoL1 Overexpression Drives Variant-Independent Cytotoxicity. *J Am Soc Nephrol* **2018**, *29* (3), 869-879.
- [0861] 67. Ryu, J. H.; Ge, M.; Merscher, S.; Rosenberg, A. Z.; Desante, M.; Roshanravan, H.; Okamoto, K.; Shin, M. K.; Hoek, M.; Fornoni, A.; Kopp, J. B., APOL1 renal risk variants promote cholesterol accumulation in tissues and cultured macrophages from APOL1 transgenic mice. *PLoS One* **2019**, *14* (4), e0211559.
- [0862] 68. Fu, Y.; Zhu, J. Y.; Richman, A.; Zhang, Y.; Xie, X.; Das, J. R.; Li, J.; Ray, P. E.; Han, Z., APOL1-G1 in Nephrocytes Induces Hypertrophy and Accelerates Cell Death. *J Am Soc Nephrol* **2017**, *28* (4), 1106-1116.
- [0863] 69. Kruzel-Davila, E.; Shemer, R.; Ofir, A.; Bavli-Kertselli, I.; Darlyuk-Saadon, I.; Oren-Giladi, P.; Wasser, W. G.; Magen, D.; Zaknoun, E.; Schuldiner, M.; Salzberg, A.; Kornitzer, D.; Marelja, Z.; Simons, M.; Skorecki, K., APOL1-Mediated Cell Injury Involves Disruption of Conserved Trafficking Processes. *J Am Soc Nephrol* **2017**, *28* (4), 1117-1130.
- [0864] 70. Wan, G.; Zhaorigetu, S.; Liu, Z.; Kaini, R.; Jiang, Z.; Hu, C. A., Apolipoprotein L1, a novel Bcl-2 homology domain 3-only lipid-binding protein, induces autophagic cell death. *J Biol Chem* **2008**, *283* (31), 21540-9.
- [0865] 71. Cheng, D.; Weckerle, A.; Yu, Y.; Ma, L.; Zhu, X.; Murea, M.; Freedman, B. I.; Parks, J. S.; Shelness, G. S., Biogenesis and cytotoxicity of APOL1 renal risk variant proteins in hepatocytes and hepatoma cells. *J Lipid Res* **2015**, *56* (8), 1583-93.
- [0866] 72. Wen, H.; Kumar, V.; Lan, X.; Shoshtari, S. S. M.; Eng, J. M.; Zhou, X.; Wang, F.; Wang, H.; Skorecki, K.; Xing, G.; Wu, G.; Luo, H.; Malhotra, A.; Singhal, P. C., APOL1 risk variants cause podocytes injury through enhancing endoplasmic reticulum stress. *Biosci Rep* **2018**, *38* (4).
- [0867] 73. Madhavan, S. M.; O'Toole, J. F.; Konieczkowski, M.; Barisoni, L.; Thomas, D. B.; Ganesan, S.; Bruggeman, L. A.; Buck, M.; Sedor, J. R., APOL1 variants change C-terminal conformational dynamics and binding to SNARE protein VAMP8. *JCI Insight* **2017**, *2* (14).

- [0868] 74. Chun, J.; Zhang, J. Y.; Wilkins, M. S.; Subramanian, B.; Riella, C.; Magraner, J. M.; Alper, S. L.; Friedman, D. J.; Pollak, M. R., Recruitment of APOL1 kidney disease risk variants to lipid droplets attenuates cell toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2019**, *116* (9), 3712-3721.
- [0869] 75. Mikulak, J.; Oriolo, F.; Portale, F.; Tentorio, P.; Lan, X.; Saleem, M. A.; Skorecki, K.; Singhal, P. C.; Mavilio, D., Impact of APOL1 polymorphism and IL-1beta priming in the entry and persistence of HIV-1 in human podocytes. *Retrovirology* **2016**, *13* (1), 63.
- [0870] 76. Ma, L.; Shelness, G. S.; Snipes, J. A.; Murea, M.; Antinozzi, P. A.; Cheng, D.; Saleem, M. A.; Satchell, S. C.; Banas, B.; Mathieson, P. W.; Kretzler, M.; Hemal, A. K.; Rudel, L. L.; Petrovic, S.; Weckerle, A.; Pollak, M. R.; Ross, M. D.; Parks, J. S.; Freedman, B. I., Localization of APOL1 Protein and mRNA in the Human Kidney: Nondiseased Tissue, Primary Cells, and Immortalized Cell Lines. *Journal of the American Society of Nephrology* **2014**, *26* (2), 339-348.
- [0871] 77. Madhavan, S. M.; O'Toole, J. F.; Konieczkowski, M.; Ganesan, S.; Bruggeman, L. A.; Sedor, J. R., APOL1 localization in normal kidney and nondiabetic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* **2011**, *22* (11), 2119-28.
- [0872] 78. Duchateau, P. N.; Pullinger, C. R.; Cho, M. H.; Eng, C.; Kane, J. P., Apolipoprotein L gene family: tissue-specific expression, splicing, promoter regions; discovery of a new gene. *J Lipid Res* **2001**, *42* (4), 620-30.
- [0873] 79. Monajemi, H.; Fontijn, R. D.; Pannekoek, H.; Horrevoets, A. J., The apolipoprotein L gene cluster has emerged recently in evolution and is expressed in human vascular tissue. *Genomics* **2002**, *79* (4), 539-46.
- [0874] 80. Page, N. M.; Butlin, D. J.; Lomthaisong, K.; Lowry, P. J., The human apolipoprotein L gene cluster: identification, classification, and sites of distribution. *Genomics* **2001**, *74* (1), 71-8.
- [0875] 81. Saleem, M. A.; O'Hare, M. J.; Reiser, J.; Coward, R. J.; Inward, C. D.; Farren, T.; Xing, C. Y.; Ni, L.; Mathieson, P. W.; Mundel, P., A conditionally immortalized human podocyte cell line demonstrating nephrin and podocin expression. *J Am Soc Nephrol* **2002**, *13* (3), 630-8.
- [0876] 82. Rizzuto, R.; Pinton, P.; Carrington, W.; Fay, F. S.; Fogarty, K. E.; Lifshitz, L. M.; Tuft, R. A.; Pozzan, T., Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca²⁺ responses. *Science* **1998**, *280* (5370), 1763-6.
- [0877] 83. van Vliet, A. R.; Verfaillie, T.; Agostinis, P., New functions of mitochondria associated membranes in cellular signaling. *Biochim Biophys Acta* **2014**, *1843* (10), 2253-62.
- [0878] 84. Lorenz, H.; Hailey, D. W.; Lippincott-Schwartz, J., Addressing membrane protein topology using the fluorescence protease protection (FPP) assay. *Methods Mol Biol* **2008**, *440*, 227-33.
- [0879] 85. Khatua, A. K.; Cheatham, A. M.; Kruzel, E. D.; Singhal, P. C.; Skorecki, K.; Popik, W., Exon 4-encoded sequence is a major determinant of cytotoxicity of apolipoprotein L1. *Am J Physiol Cell Physiol* **2015**, *309* (1), C22-37.
- [0880] 86. Kotb, A. M.; Simon, O.; Blumenthal, A.; Vogelgesang, S.; Dombrowski, F.; Amann, K.; Zimmermann, U.; Endlich, K.; Endlich, N., Knockdown of ApoL1 in Zebrafish Larvae Affects the Glomerular Filtration Barrier and the Expression of Nephrin. *PLoS One* **2016**, *11* (5), e0153768.
- [0881] 87. Parks, J. S.; Chung, S.; Shelness, G. S., Hepatic ABC transporters and triglyceride metabolism. *Curr Opin Lipidol* **2012**, *23* (3), 196-200.
- [0882] 88. Pays, E.; Vanhollebeke, B.; Vanhamme, L.; Paturiaux-Hanocq, F.; Nolan, D. P.; Perez-Morga, D., The trypanolytic factor of human serum. *Nat Rev Microbiol* **2006**, *4* (6), 477-86.
- [0883] 89. Bruno, J.; Pozzi, N.; Oliva, J.; Edwards, J. C., Apolipoprotein L1 confers pH-switchable ion permeability to phospholipid vesicles. *J Biol Chem* **2017**, *292* (44), 18344-18353.

- [0884] 90. Thomson, R.; Finkelstein, A., Human trypanolytic factor APOL1 forms pH-gated cation-selective channels in planar lipid bilayers: relevance to trypanosome lysis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2015**, *112* (9), 2894-9.
- [0885] 91. Paroutis, P.; Touret, N.; Grinstein, S., The pH of the secretory pathway: measurement, determinants, and regulation. *Physiology (Bethesda)* **2004**, *19*, 207-15.
- [0886] 92. Thomson, R.; Genovese, G.; Canon, C.; Kovacsics, D.; Higgins, M. K.; Carrington, M.; Winkler, C. A.; Kopp, J.; Rotimi, C.; Adeyemo, A.; Doumatey, A.; Ayodo, G.; Alper, S. L.; Pollak, M. R.; Friedman, D. J.; Raper, J., Evolution of the primate trypanolytic factor APOL1. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2014**, *111* (20), E2130-9.
- [0887] 93. Di Paolo, G.; De Camilli, P., Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics. *Nature* **2006**, *443* (7112), 651-7.
- [0888] 94. Shah, S. S.; Lannon, H.; Dias, L.; Zhang, J. Y.; Alper, S. L.; Pollak, M. R.; Friedman, D. J., APOL1 Kidney Risk Variants Induce Cell Death via Mitochondrial Translocation and Opening of the Mitochondrial Permeability Transition Pore. *J Am Soc Nephrol* **2019**, *30* (12), 2355-2368.
- [0889] 95. Neupert, W., Protein import into mitochondria. *Annu Rev Biochem* **1997**, *66*, 863-917.
- [0890] 96. Olzmann, J. A.; Carvalho, P., Dynamics and functions of lipid droplets. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2019**, *20* (3), 137-155.
- [0891] 97. Advani, R. J.; Bae, H. R.; Bock, J. B.; Chao, D. S.; Doung, Y. C.; Prekeris, R.; Yoo, J. S.; Scheller, R. H., Seven novel mammalian SNARE proteins localize to distinct membrane compartments. *J Biol Chem* **1998**, *273* (17), 10317-24.
- [0892] 98. Behrendorff, N.; Dolai, S.; Hong, W.; Gaisano, H. Y.; Thorn, P., Vesicle-associated membrane protein 8 (VAMP8) is a SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor) selectively required for sequential granule-to-granule fusion. *J Biol Chem* **2011**, *286* (34), 29627-34.
- [0893] 99. Wong, S. H.; Zhang, T.; Xu, Y.; Subramaniam, V. N.; Griffiths, G.; Hong, W., Endobrevin, a novel synaptobrevin/VAMP-like protein preferentially associated with the early endosome. *Mol Biol Cell* **1998**, *9* (6), 1549-63.
- [0894] 100. Haque, S.; Patil, G.; Mishra, A.; Lan, X.; Popik, W.; Malhotra, A.; Skorecki, K.; Singhal, P. C., Effect of APOL1 disease risk variants on APOL1 gene product. *Biosci Rep* **2017**, *37* (2).
- [0895] 101. Austin, C. D.; Wen, X.; Gazzard, L.; Nelson, C.; Scheller, R. H.; Scales, S. J., Oxidizing potential of endosomes and lysosomes limits intracellular cleavage of disulfide-based antibody-drug conjugates. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2005**, *102* (50), 17987-92.
- [0896] 102. Chandra, D.; Liu, J. W.; Tang, D. G., Early mitochondrial activation and cytochrome c up-regulation during apoptosis. *J Biol Chem* **2002**, *277* (52), 50842-54.
- [0897] 103. Lo, M.; Kim, H. S.; Tong, R. K.; Bainbridge, T. W.; Vernes, J. M.; Zhang, Y.; Lin, Y. L.; Chung, S.; Dennis, M. S.; Zuchero, Y. J.; Watts, R. J.; Couch, J. A.; Meng, Y. G.; Atwal, J. K.; Brezski, R. J.; Spiess, C.; Ernst, J. A., Effector-attenuating Substitutions That Maintain Antibody Stability and Reduce Toxicity in Mice. *J Biol Chem* **2017**, *292* (9), 3900-3908.
- [0898] 104. Schlothauer, T.; Herter, S.; Koller, C. F.; Grau-Richards, S.; Steinhart, V.; Spick, C.; Kubbies, M.; Klein, C.; Umana, P.; Mossner, E., Novel human IgG1 and IgG4 Fc-engineered antibodies with completely abolished immune effector functions. *Protein Eng Des Sel* **2016**, *29* (10), 457-466.
- [0899] 105. Seeber, S.; Ros, F.; Thorey, I.; Tiefenthaler, G.; Kaluza, K.; Lifke, V.; Fischer, J. A.; Klostermann, S.; Endl, J.; Kopetzki, E.; Pashine, A.; Siewe, B.; Kaluza, B.; Platzer, J.; Offner, S., A robust high throughput platform to generate functional recombinant monoclonal antibodies using rabbit B cells from peripheral blood. *PLoS One* **2014**, *9* (2), e86184.

- [0900] 106. Grant Wilson, D.; Foreman, O.; Peterson, A. S.; Wen, X.; Scales, S. J. Animal model for nephropathy and agents for treating the same. 2014.
- [0901] 107. Wieckowski, M. R.; Giorgi, C.; Lebieczinska, M.; Duszynski, J.; Pinton, P., Isolation of mitochondria-associated membranes and mitochondria from animal tissues and cells. *Nat Protoc* **2009**, *4* (11), 1582-90.
- [0902] 108. Ohsaki, Y.; Maeda, T.; Fujimoto, T., Fixation and permeabilization protocol is critical for the immunolabeling of lipid droplet proteins. *Histochem Cell Biol* **2005**, *124* (5), 445-52.
- [0903] 109. Yang, Y.; Yang, Q.; Yang, J.; Ma, Y.; Ding, G., Angiotensin II induces cholesterol accumulation and injury in podocytes. *Sci Rep* **2017**, *7* (1), 10672.
- [0904] 110. Bannai, H.; Tamada, Y.; Maruyama, O.; Nakai, K.; Miyano, S., Extensive feature detection of N-terminal protein sorting signals. *Bioinformatics* **2002**, *18* (2), 298-305.
- [0905] 111. Petersen, T. N.; Brunak, S.; von Heijne, G.; Nielsen, H., SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions. *Nat Methods* **2011**, *8* (10), 785-6.
- [0906] 112. Bendtsen, J. D.; Jensen, L. J.; Blom, N.; Von Heijne, G.; Brunak, S., Feature-based prediction of non-classical and leaderless protein secretion. *Protein Eng Des Sel* **2004**, *17* (4), 349-56.
- [0907] 비록 전술된 발명이 이해의 명료함을 위해 예시와 실례로서 일부 상세하게 설명되긴 했지만, 이들 설명과 실례는 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 본원에서 인용된 모든 특허와 과학 문헌의 개시는 명시적으로 온전히 참조로서 편입된다.

[0908] IV. 일정한 서열의 표

서열 번호	설명	서열
1	인간 APOL1 (리더 서열 있음) GO 형태 EMR 변이체 수탁 번호 NP003652	MEGAALLRVS VLCIWMsALF LGVGVRAEEA GARVQONVPS GTDTGDPQSK PLGDWAAAGTM DPRESSIFIED AIKYFKKVS TQNLLLLTD NEAWNGFVAA AELPRNEADE LRKALDNLAR QMIMKDKNVH DKGGQYRNWF LKEFPRLKSE LEDNIRRLRA LADGVQKVHK GTTIANVVSGLSISSGILT LVGMGLAPFT EGGSLVLEP GMELGITAAL TGITSSMDY GKQWVQAQA HDLVIKSLDK LKEVREFLGE NISNPLSLAG NTYQLTRGIG KDIRALRRAR ANLQSVPHAS ASRPVTEPI SAESGBQVER VNEPSILEMS RGVKLTDVAP VSFFLVLDVV YLVYESKHLH BGAKSETABE LKEVAQBLEE KLNILNNYK ILQADQEL
2	리더 서열 이 없는 인 간 APOL1 - GO 형태 EMR 변이체 NP003652	EA GARVQONVPS GTDTGDPQSK PLGDWAAAGTM DPRESSIFIED AIKYFKKVS TQNLLLLTD NEAWNGFVAA AELPRNEADE LRKALDNLAR QMIMKDKNVH DKGGQYRNWF LKEFPRLKSE LEDNIRRLRA LADGVQKVHK GTTIANVVSGLSISSGILT LVGMGLAPFT EGGSLVLEP GMELGITAAL TGITSSMDY GKQWVQAQA HDLVIKSLDK LKEVREFLGE NISNPLSLAG NTYQLTRGIG KDIRALRRAR ANLQSVPHAS ASRPVTEPI SAESGBQVER VNEPSILEMS RGVKLTDVAP VSFFLVLDVV YLVYESKHLH BGAKSETABE LKEVAQBLEE KLNILNNYK ILQADQEL
3	3.6D12 VH CDR1	RCAMS
4	3.6D12 VH CDR2	ATSRDSTYYTSDSVKG
5	3.6D12 VH CDR3	QIDDTYVDALDY
6	3.6D12 VL CDR1	RASKIISKYLA
7	3.6D12 VL CDR2	SGFTLQS
8	3.6D12 VL CDR3	QQHNEYPLT
9	3.6D12 VH	EVMLVESGGGLVRPGGSLKLSCTASGFTFRCAMSWVRQTPEKLEWWSAISRDSTYYTSD SVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMSLSRSEDAMTYCARQIDDTYVDALDYWGQTSV
10	3.6D12 VL	DVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKIISKYLAWYQEKPGTKIKLLIYSGFTLQSGIPSRF SGSGSGTDFTLTISSELPEDFAMTYCQQHNEYPLTPGA
11	3.6D12 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGAYAEVMLVESGGGLVRPGGSLKLSCTASGFTFRCAMSWVRQTPEK RLEWWSAISRDSTYYTSDSVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMSLSRSEDAMTYCARQIDDTYV DALDYWGQTSVTVSSASTKGPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTVNNGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQGITCNVAHPASSTKVDKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIPPKIKDVLNLSLSPVTCVVDVSEDDPDVQISWFWNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQWMSGKEPKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPEPEEMTKKQVLTCHVTDMPEDITYVEWTNNGKTELNYKNTPEVLDSGSGYPMYSKLR VEKKNWVERNSYSCSVVHGLHNHHTTKSFRTPGK
12	3.6D12 LC L A L A P G	MGWSCIILFLVATATGVHSDVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKIISKYLAWYQEKPGKT IKLLIYSGFTLQSGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAMTYCQQHNEYPLTPGAGTKLE

서열 번호	설명	서열
	mIgG2a	IKRADAAPTVSIIPPPSSBQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQD SKDSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCBATHTSTSPIVKSFNRNEC
13	3.3B6 VH CDR1	SHWMQ
14	3.3B6 VH CDR2	AIYPGDGDTKFTQKFKD
15	3.3B6 VH CDR3	NLYGYFDY
16	3.3B6 VL CDR1	RSSTGAVTSGNFAN
17	3.3B6 VL CDR2	GADNRAP
18	3.3B6 VL CDR3	ALWYSDHWV
19	3.3B6 VH	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTHWMQVLKQRPGGLEWIGAIYPGDGDTKFTQ KFKDKATLTADKSSITAYMQLSSLASEDSAVYYCARENLYGYFDYWGQGTTL
20	3.3B6 VL	QAVVYQESALTTSPGETVTLTCRSSSTGAVTSGNFANVWQEPDHLFTGLIGGADNRAPGVP RFSQSLIGDKAALIIITGAQTEDEAIYFCALWYSDHWVFGG
21	3.3B6 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGAYAQVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTHWMQVLKQRPGQ GLEWIGAIYPGDGDTKFTQKFKDKATLTADKSSITAYMQLSSLASEDSAVYYCARENLYGY FDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVYPLAPVCGDTGSSVILGCLVKGYPPEPVTLTWNSGLSS GVHTFFAVLQSDLYTLSSSVTVTSSITWPSQSIICNVVAHPSSTKVDKIEPRGPTIKPCPPC KCPAPNAAGGPSVFIPPKIKDVLMISSLSPITCVVVDVSEDDPDVQISWFWNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQWMSGKEPKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVL PPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYENTEPVLDSGSEYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHGLHNHHTKESFSRTPGK
22	3.3B6 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSAQAVVYQESALTTSPGETVTLTCRSSSTGAVTSGNFANVWQEPD HLFTGLIGGADNRAPGVPARFSGSLIGDKAALIIITGAQTEDEAIYFCALWYSDHWVFGGGTK LTVLGGPKSTPTLTVPFPPSSEELKENKATLVCLISNFPSPSGVTAVKANGTPIITGGVDTSNP TEGKNKFMASFLHLTSDQWRSHNSFTCQVTHEGDTVEKLSRADCL
23	3.7D6 VH CDR1	NYGYN
24	3.7D6 VH CDR2	WINTNTGQTYAEEPRG
25	3.7D6 VH CDR3	LIYDGDYISSDF
26	3.7D6 VL CDR1	GASENIYGALN
27	3.7D6 VL CDR2	GATNLAD
28	3.7D6 VL CDR3	QNALSMPT
29	3.7D6 VH	QIQLVQSGPDLKKPGETVKISCRITSGYAFINYGVNWKQAPGKGLKWMGWINTNTGQTYAE EPRGRFAISLETASTAFLTISNLKNEDSATYFCARLIYDGDYISSDFWGQGTTL
30	3.7D6 VL	DIQMTQSPDLSASVGETVTITCGASENIYGALNFWYQRKQKSPQLLIYGATNLADGMSSRP

[0910]

서열 번호	설명	서열
		SGSRSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNALSMPTTFGG
31	3.7D6 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGAYAQIQLVQSGPDLKKPGETVKISCRISGYAFTNYGVNVVQAPGK GLKWMGWINTWGTQTYAEEPRGRFAISLETSASTAPLTISNLKNEDSAITYPCARLIYDGDY ISSDFWGGTTLTVSSASTKGPSVYPLAPVCGDTTGSSTVLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTPPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQITCNVAHPASSTKVKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIPPPKIKDVLMSLSPIVTCVVDVSEDDPDVQISWFWNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQWMSGKEPKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPPEEEMTKQVTLTCMVTDPMFEDIYVEWTNNGKTELNTKNTPEVLDSGSYFMYSKLR VEKKNWVERNSYSCSVVHGBLHNHHTTKSFSRTPGK
32	3.7D6 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDIQMTQSPDLSASVGETVTITCGASENITGALNWWYQKQGES PQLLIYGATNLADGMSRFSRSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNALSMPTTFGGGKLE IKRADAAPTYSIIPPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVEWKIDGSEKQNGVLNSWTDQD SKDSTYSKSSLTLTLDKDEYERHNSYTCEATHKTSPIVKSPNRNEC
33	3.3A8 VH CDR1	NYEIH
34	3.3A8 VH CDR2	AIHPGNGVTAYNQMEKG
35	3.3A8 VH CDR3	NFDY
36	3.3A8 VL CDR1	RSSQSLTNSYGITYLS
37	3.3A8 VL CDR2	EISNRFS
38	3.3A8 VL CDR3	LQGTQHPPT
39	3.3A8 VH	QVQFQQSGAELVRPGASVKEVTCKALGYTFSNYEIHVVRRQPPVHGLEWIGAIHPGNGVTAYNQ MFKGRATLAADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTENEDYWGQGTAL
40	3.3A8 VL	DVVVTQTPLSLPVSGDQVSISSRSGSLTNSYGITYLSWFLKPGQSPQLLIYEISNRFSG VPDRFSGSGGTDFTLKISTIKPEDLGVPFCLOGTQHPPTFGA
41	3.3A8 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGAYAQQVQFQQSGAELVRPGASVKEVTCKALGYTFSNYEIHVVRRQPPVH GLEWIGAIHPGNGVTAYNQMFGRATLAADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTENEDYWGQ GTALTSSASTKGPSVYPLAPVCGDTTGSSTVLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFP AVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQITCNVAHPASSTKVKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPN AAGGPSVFIPPPKIKDVLMSLSPIVTCVVDVSEDDPDVQISWFWNNVEVHTAQQTTHRED YNSTLRVVSALPIQHQQWMSGKEPKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEE MTKKQVTLTCMVTDPMFEDIYVEWTNNGKTELNTKNTPEVLDSGSYFMYSKLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHGBLHNHHTTKSFSRTPGK
42	3.3A8 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDVVVTQTPLSLPVSGDQVSISSRSGSLTNSYGITYLSWFL KPGQSPQLLIYEISNRFSGVDRFSGSGGTDFTLKISTIKPEDLGVPFCLOGTQHPPTFGA GTKLEIKRADAAPTYSIIPPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKIDGSEKQNGVLNS WTDQDSKSTYSMSSTLTLTLDKDEYERHNSYTCEATHKTSPIVKSPNRNEC
43	3.2C11 VH CDR1	DYEIH
44	3.2C11 VH	GIHPGNGGTAYNPKFEG

[0911]

서열 번호	설명	서열
	CDR2	
45	3.2C11 VH	WVDY
	CDR3	
46	3.2C11 VL	RSSQSLVNRHGITYLS
	CDR1	
47	3.2C11 VL	EISNRFS
	CDR2	
48	3.2C11 VL	FGQTHQPFT
	CDR3	
49	3.2C11 VH	QVQLQQSGAELVRPGASVKLSCKALGYTFTDYEIHVVKQTPVHGLEWIGGIHPGNGGTAYNP KFKGKATLTADTSSSTASMESSLTSEDSAVVYCTDWVDYWGQGTTL
50	3.2C11 VL	DVVVTQTPLSLPVPNGDQVSISSRSSQSLVNRHGITYLSWYLHKPGQSPQLLIYEISNRFSG VPDRPSGSGSGTDFTLKISTIKPEDLGMYTCFQGTHTQPTFGG
51	3.2C11 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLQQSGAELVRPGASVKLSCKALGYTFTDYEIHVVKQTPVH GLEWIGGIHPGNGGTAYNPKFKGKATLTADTSSSTASMESSLTSEDSAVVYCTDWVDYWGQ GTTLTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSTVLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFP AVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQITCNVAHPASSTKVDEKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPN AAGGPSVFIPPPKIKDVLNLSLSPIVTCVVDVSEDDPDVQISWEVNNVVEHTAQQTTHRED YNSTLRVYSALP IQHQDVMGSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAFPQVTVLPPPEEB MTKKQVTLTCNVTFMPEDIYVEWTNNGKTENYKNTEPVLSDGSGYPMYSKLVRVKKNWVE RNSYSCSVVHEGLNNHHTTKFSRTPGK
52	3.2C11 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDVVTQTPLSLPVPNGDQVSISSRSSQSLVNRHGITYLSWYLH KPGQSPQLLIYEISNRFSGVDPDRPSGSGSGTDFTLKISTIKPEDLGMYTCFQGTHTQPTFGG GTKLEIKRADAAPTWSIFPPSSBQLTSGGASVWCFLNNFYPKDINVEWKIDGSEKQGVLS WTDQSKDSTYSMSSTLTLLTKDEYERHNSYTCEATHKTSPTSPVKSFNRENC
53	3.1C1 VH CDR1	NYFIH
54	3.1C1 VH CDR2	WINPGLNNTKYTEEFKG
55	3.1C1 VH CDR3	GNPFVY
56	3.1C1 VL CDR1	KSSQSLNNGNQKKYLT
57	3.1C1 VL CDR2	WTSTRDS
58	3.1C1 VL CDR3	QNDYSYPLT
59	3.1C1 VH	QVQLQQSGPELVKPGASVRISSCKASGYTFTNYFIHVVKQRPQGGLWIGWINPGLNNTKYTE EFGKATLTADKSSSTAYIQLNSLTSEDSAVYFCVNGNPFVYWGQGLV
60	3.1C1 VL	DIVMTQSPSSLTIVTAGEKVTLNCKSSQSLNNGNQKKYLTWLQKPGQPPKLLIYWTSTRDS GVPRDFTGSGSGTDFTLTISVVQAEGLAVYVQNDYSYPLTFGA
61	3.1C1 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGAYAQVQLQQSGPELVKPGASVRISSCKASGYTFTNYFIHVVKQRPQG GLEWIGWINPGLNNTKYTEEFKATLTADKSSSTAYIQLNSLTSEDSAVYFCVNGNPFVY GQGTLVTVSAASTKGPSVYPLAPVCGDTTGSSTVLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQITCNVAHPASSTKVDEKKIEPRGPTIKPCPPCKCPA

[0912]

서열 번호	설명	서열
		PNAAGGPSVFIPPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQQTQHR EDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEPKCKVNNKDLGAPIERTISKPFGSVRAPOVYVLPPE EEMTKKQVTLTCHVTDFMPEDIYVEWTNNKGTENLYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHGLHNHHTTKSPSRTPGK
62	3.1C1 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPSSLTVIAGEKVTLNCKSSQSLNSGNQKKYLTWLQ QKPGQPPKLLIYWTSTRDSGVDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEADVYYQNDYSYPLTFG AGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSBQLTSGGASVVCFLNWFYKIDINVKWKIDGSEKQNGVLN SWTDQDSKSDSTYSMSSTLTLTDEYERHNSYTCBATHTSTSPIVKSFNRNEC
63	3.1C7 VH CDR1	SYVMH
64	3.1C7 VH CDR2	AIYPGKSDIKYNQKFKD
65	3.1C7 VH CDR3	SIPFVY
66	3.1C7 VL CDR1	KSSQSLNSENQKKYLT
67	3.1C7 VL CDR2	WTSTRYS
68	3.1C7 VL CDR3	QNDYSYPLT
69	3.1C7 VH	EVQLQQSGTVLSRPGASVKMSCKASGYTMTSYVHWIKRPGQGLEWIGAIYPGKSDIKYNQ KFKDKAKLTAVTATSTAYMEINSLTNEDSAVYYCTNSIPFVYWGQGLI
70	3.1C7 VL	DIWMTQSPSSLTVTAGEKVTNSCKSSQSLNSENQKKYLTWFPQKPGQPPKLLIYWTSTRYS GIPDRFTGSGSGTVFTLTISVQADDLAVYYQNDYSYPLTFGG
71	3.1C7 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGAYAEVQLQQSGTVLSRPGASVKMSCKASGYTMTSYVHWIKRPGQ GLEWIGAIYPGKSDIKYNQKFKDKAKLTAVTATSTAYMEINSLTNEDSAVYYCTNSIPFVY GGGLTITVSAASTKGPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSSGLSSGVHT PPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAFASSTKVDKIEPRGPTIKPCPPCKCPA PNAAGGPSVFIPPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQQTQHR EDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEPKCKVNNKDLGAPIERTISKPFGSVRAPOVYVLPPE EEMTKKQVTLTCHVTDFMPEDIYVEWTNNKGTENLYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHGLHNHHTTKSPSRTPGK
72	3.1C7 LC mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPSSLTVIAGEKVTNSCKSSQSLNSENQKKYLTWFG QKPGQPPKLLIYWTSTRYSGIPDRFTGSGSGTVFTLTISVQADDLAVYYQNDYSYPLTFG GGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSBQLTSGGASVVCFLNWFYKIDINVKWKIDGSEKQNGVLN SWTDQDSKSDSTYSMSSTLTLTDEYERHNSYTCBATHTSTSPIVKSFNRNEC
73	3.4G10 VH CDR1	SGBSWH
74	3.4G10 VH CDR2	FIHYSGSANYNPSLKS
75	3.4G10 VH CDR3	SVYNYDGAWFPY
76	3.4G10 VL CDR1	SASSSVSSSYLN
77	3.4G10 VL	RTSNLAS

[0913]

서열 번호	설명	서열
	CDR2	
78	3.4G10 VL	HQWSAYPPT
	CDR3	
79	3.4G10 VH	DVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTVTGYSTSGESWHVIRHFPNGLEWNGFIHYSGSANYNP SLKSRISITRDTSKNQFLLQLSVTTDDTATYYCARSVNYDGAWFPPYWGQGLV
80	3.4G10 VL	QIVLTQSPVIMSASPGERVLTCSASSVSSSYLNWYQLKPGSPKVIYRTSNLASGVPAR PSGSGSGTSYSLTISSMEADAASYFCHQWSAYPPTFGG
81	3.4G10 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGAYADVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTVTGYSTSGESWHVIRHFPNG NELEWNGFIHYSGSANYNP SLKSRISITRDTSKNQFLLQLSVTTDDTATYYCARSVNYDGA WFPPYWGQGLVTVSAASTKGPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVLTWNSSGL SSGVHTPPAVLQSDLYTLSSSVTTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIPPKIKDVLMSLSPIVTCVVDVSEDDPDQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHODWMSGKEPKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPPEEEMTKQVLTLCMTVDMPEDIYVEVTNNGKTELNYKNTPEVLDSDGSPFMYSKLR VEKKNWVERNSYSCSVVHGLHNHHTTKSPRTPGK
82	3.4G10 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPSSLTVITGKEVMTNCRSSQSLNSGNQKNYLTWFPQ SPKVIYRTSNLASGVPARFSGSGGTSYSLTISSMEADAASYFCHQWSAYPPTFGGKT ELKRAADAPTVSIFPPSSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKIDINVKWIKDGERQNGVLNSWTQ DSKDYSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCETHKTSSTPIVKSFNRECE
83	3.6E10 VH CDR1	SYLLH
84	3.6E10 VH CDR2	YINPNTGYTEYTONFKD
85	3.6E10 VH CDR3	GNPFVY
86	3.6E10 VL CDR1	RSSQSLNSGNQKNYLT
87	3.6E10 VL CDR2	WTSTRYS
88	3.6E10 VL CDR3	QNDYSYPLT
89	3.6E10 VH	QVQLQQSGAELAKPGASVEMSKASGYIFTSYLLHWVKRPGGLEWIGYINPNTGYTEYTO NFKDRAITADKSSSTAYMQLTSLTSEDSAVYFCVNGNPFVYWGQGLV
90	3.6E10 VL	DIVMTQSPSSLTVITGKEVMTNCRSSQSLNSGNQKNYLTWFPQKPGQPKLLIYWTSTRYS GVDPDRFTGSGGTDFTLTISVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGA
91	3.6E10 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGAYAQVQLQQSGAELAKPGASVEMSKASGYIFTSYLLHWVKRPGQ GLEWIGYINPNTGYTEYTONFKDRAITADKSSSTAYMQLTSLTSEDSAVYFCVNGNPFVY WGQGLVTVSAASTKGPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVLTWNSSGLSSGVHT PPAVLQSDLYTLSSSVTTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKIEPRGPTIKPCPPCKCPA PNAAGGPSVFIPPKIKDVLMSLSPIVTCVVDVSEDDPDQISWFVNNVEVHTAQTQTHR EDYNSTLRVVSALPIQHODWMSGKEPKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPE EEMTKQVLTLCMTVDMPEDIYVEVTNNGKTELNYKNTPEVLDSDGSPFMYSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHGLHNHHTTKSPRTPGK
92	3.6E10 LC L A L A P G	MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPSSLTVITGKEVMTNCRSSQSLNSGNQKNYLTWFPQ QKPGQPKLLIYWTSTRYSGVDPDRFTGSGGTDFTLTISVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFG

[0914]

서열 번호	설명	서열
	mIgG2a	AGTKLEIKRADAAPTYSIFPPSSBQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLN SWTDQDSKSDSTYSMSSTLTITKDEYERHNSYTCBATHKTSTSPIVKSPNRNEC
93	3.3F7 VH CDR1	TYGVH
94	3.3F7 VH CDR2	VIWRGGNTDYNAAFMS
95	3.3F7 VH CDR3	SSYGYHYTMDY
96	3.3F7 VL CDR1	KASQNVGTAVA
97	3.3F7 VL CDR2	WASTRHT
98	3.3F7 VL CDR3	QRYNNFPPT
99	3.3F7 VH	QVQLKQSGPGLVQPSSQLSITCTVSGFSLTTYGVHVVRRQSPGKLEWLGVIWRGGNTDYNAAFMSRLSITKDNSQSQVFFKMNLSLQADDTAITYCAKSSYGYHYTMDYWGHTSV
100	3.3F7 VL	DIVVTQSHRFMSTSVGDRVIITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQRYNNFPPTFGS
101	3.3F7 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGATAGVQLKQSGPGLVQPSSQLSITCTVSGFSLTTYGVHVVRRQSPGKLEWLGVIWRGGNTDYNAAFMSRLSITKDNSQSQVFFKMNLSLQADDTAITYCAKSSYGYHYTMDYWGHTSVIYSSASTKGPVYPLAPVCGDTGSSSVTLGCLVKGYPPEPVTLTWNSGLSSGVHTFPVAVLQSDLYTLSSSVYVTSSTWPSQSIICNVVAHPSSTEVDDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIPPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFWNNVEVHTAQTQTHREDYNSLTRVVSALPIQHQQWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEPEEMTKRQVILTCHVIDFNPEDIYVEVTNNGKTELNYKNTPEVLDSDGSEYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
102	3.3F7 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDIVVTQSHRFMSTSVGDRVIITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQRYNNFPPTFGSGTKLEIKRADAAPTYSIFPPSSBQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKSDSTYSMSSTLTITKDEYERHNSYTCBATHKTSTSPIVKSPNRNEC
103	4.17A5 VH CDR1	NSWIN
104	4.17A5 VH CDR2	RIYPGDGDTKYNGKFKG
105	4.17A5 VH CDR3	PPPGKYEGPGAMDY
106	4.17A5 VL CDR1	RASQDISSYLN
107	4.17A5 VL CDR2	YTSRLHS
108	4.17A5 VL CDR3	QQGNTLPYT
109	4.17A5 VH	QVQLQSGPELLKPGASVKISCKGSGYAFSNSWINWVKLRPGQGLEWIGRIYPGDGDTKYNGKFKGKATLTADKSSSTAHHQLRSLTSYDASVYFCARPPPGKYEGPGAMDYWGQGTSTV
110	4.17A5 VL	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISSYLNWYQQKPDGTLKLLIYYTSRLHSGVPSRF

[0915]

서열 번호	설명	서열
		SGSGSGTDFSLTISNLBQEDIATYFCQQGNTLPYTFGG
111	4.17A5 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLQQSGPELLKPGASVKISCKGSGYAFNSWINVVKLRPGQ GLEWIGRIYPGDDGTQYNGKFKGKATLTADKSSSTAHMQLRSLTSVDSAVYFCARPPFGKYE GPGAMDYWGQGTSTVTSAAKTTAPSVYPLAPYCGDTTGSSTLGLVKGYPPEPVTLTWNSSG SLSSGWHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPCKCPAPNAAGGPSVFIPPPKIKDVLMSLSPIVTCVVDVSEDDPDVQISWFWNNVEVH TAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMGKEPKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPEEBMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEVNTNNGKTELNYKNTPEVLDSDGSYPMYSK LRVEKKNWVERNSYSCSVVHGBLHNNHTTKSFRTPGK
112	4.17A5 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDIQMTQTSSLSASLGDRTVITSCRASQDISSTLNWYQQKPDGT IKLLIYYTSRLHSGVPSRFGSGSGTDFSLTISNLBQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLE IKRADAAPTYSIIPPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQD SKDSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCETHKTSTSPIVSEFNRNEC
113	4.2C4 VH CDR1	DYVIS
114	4.2C4 VH CDR2	EMFPGSGTYYTEKFRG
115	4.2C4 VH CDR3	GTTADY
116	4.2C4 VL CDR1	RASSVNYMY
117	4.2C4 VL CDR2	YTSNLAP
118	4.2C4 VL CDR3	QQFTSSPYT
119	4.2C4 VH	QVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVISWVKRTGQGLEWIGEMFPGSGTYYTE KFRGKATLTADKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGTTADYWGQGTTL
120	4.2C4 VL	ENVLTQSPATMSASLGEKVTMSCRASSVNYMYVYQQKSDASPCLWITYTSNLAPGVPARFS GSGSGNSYSLTISSEMGEDAATYYQQFTSSPYTFGG
121	4.2C4 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVISWVKRTGQ GLEWIGEMFPGSGTYYTEKFRGKATLTADKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGTTADYV GQGTTLTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSTLGLVKGYPPEPVTLTWNSSGSLSSGVHT FPVVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPA PNAAGGPSVFIPPPKIKDVLMSLSPIVTCVVDVSEDDPDVQISWFWNNVEVHTAQQTQTHR EDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMGKEPKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPE EEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEVNTNNGKTELNYKNTPEVLDSDGSYPMYSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHGBLHNNHTTKSFRTPGK
122	4.2C4 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSENVLTQSPATMSASLGEKVTMSCRASSVNYMYVYQQKSDASP KLWITYTSNLAPGVPARFSGSGNSYSLTISSEMGEDAATYYQQFTSSPYTFGGGKLEI KRADAAPTYSIIPPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDS KDSSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCETHKTSTSPIVSEFNRNEC
123	4.12B5 VH CDR1	GYFMH
124	4.12B5 VH	YISCYNGASVYNQRFGK

[0916]

서열 번호	설명	서열
	CDR2	
125	4.12E5 VH	DVLRYPYAVDY
	CDR3	
126	4.12E5 VL	KSSQSLDSDGKTYLN
	CDR1	
127	4.12E5 VL	LVSNLDS
	CDR2	
128	4.12E5 VL	WQGSHPFFT
	CDR3	
129	4.12E5 VH	EVQLQQSGPELVKLTGASVKISCKASGYSTGYFMHWVKQSHGKSLIEWIGYISCYNGASVYVNG RFKGGKATFTIDTSSSTAYMQFNLSLSEDSAVYYCARDVLRYPYAVDYWGQGTSTV
130	4.12E5 VL	DVVMQTPLTSLVITIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPERLIYLVSNLDSG VPARFTGSGSGTDFTLKISRVAEDLGYYVCWQGSHPFFTSGS
131	4.12E5 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSEVQLQQSGPELVKLTGASVKISCKASGYSTGYFMHWVKQSHGK SLEWIGYISCYNGASVYVNGRFKGGKATFTIDTSSSTAYMQFNLSLSEDSAVYYCARDVLRYP YAVDYWGQGTSTVTSVSAKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGTFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVITVTSSTWPSQSIICNVAPASSTKVDKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGSPVFIPTPKIKDVLNLSLSPITCVVDVSEDDPDQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMGKGFCKVNNKDLGAPIERTISKPGSVRAPOVY VLPPPEEEMTKQVTLTCMYTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTPEVPLDSGSPYMSKLR VEKKNWVERNSYSCSVVHGLHMHHTTKSPSRTPGK
132	4.12E5 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDVVMQTPLTSLVITIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQ RPGQSPERLIYLVSNLDSGVPARFTGSGSGTDFTLKISRVAEDLGYYVCWQGSHPFFTSGS GTKLEIKRAAAPTIVSIPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKIDINVKWKIDGSEKQNGVLNS WTDQDSKDSITYSHSSTLTILTKDEYERHNSYTCBATHKTSPIVKSPNRNEC
133	4.11A10 VH CDR1	GYFMH
134	4.11A10 VH CDR2	YISCYNGSVYVNGRFEG
135	4.11A10 VH CDR3	DVLRYPYAVDY
136	4.11A10 VL CDR1	KSSQSLDSDGKTYLN
137	4.11A10 VL CDR2	LVSNLDS
138	4.11A10 VL CDR3	WQGSHPFFT
139	4.11A10 VH	EVQLQQSGPELVKLTGASVKISCKASGYSTGYFMHWVKQSHGKSLIEWIGYISCYNGSVYVNG RFKGGKATFTIDTSSSTAYMQFNLSLSEDSAVYYCARDVLRYPYAVDYWGQGTSTV
140	4.11A10 VL	DVVMQTPLTSLVITIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPERLIYLVSNLDSG VPDRFTGSGSGTDFTLKISRVAEDLGYYVCWQGSHPFFTSGS
141	4.11A10 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSEVQLQQSGPELVKLTGASVKISCKASGYSTGYFMHWVKQSHGK SLEWIGYISCYNGSVYVNGRFKGGKATFTIDTSSSTAYMQFNLSLSEDSAVYYCARDVLRYP YAVDYWGQGTSTVTSVSAKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGTFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVITVTSSTWPSQSIICNVAPASSTKVDKIEPRGPTIKPCP

[0917]

서열 번호	설명	서열
		PCKCPAPNAAGGSPVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVWVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQWMSGKEPKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPPEEEMTKKQVILTCMYTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTPEVLDSDGSYPMYSKLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNNHTTKSPSRTPGK
142	4.11A10 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDVVMQTPLTLSTVIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQ RPGQSPKRLIYLVSNLDSGVDPDRFTGSGSGTDPTLKISRVEAEDLGYYVCWQGSHPPTFGS GTLKLEIKRADAAPTYSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNS WTDQDSKDSYSSSTLTLLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRENC
143	4.11H11 VH CDR1	VYTHN
144	4.11H11 VH CDR2	LINPYNGGTIYNRKFKG
145	4.11H11 VH CDR3	GALTRYEGANDY
146	4.11H11 VL CDR1	RASSSVIYVH
147	4.11H11 VL CDR2	ATSNLAS
148	4.11H11 VL CDR3	QQWSSNPLT
149	4.11H11 VH	EVQVQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFIVYTMNWVQSHGKNLEWIGLINPYNGGTIYNR KPKGKATLTVDKSSSTAYLELLSLTSEDSAVVYCARGALYRYEGANDYWGQGTSTVI
150	4.11H11 VL	QIVLSQPPAILSASPGKEVTMTCRASSSVIYVHWYQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSLSLTISRLEAEDTATYYCQQWSSNPLTFGA
151	4.11H11 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSEVQVQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFIVYTMNWVQSHGK NLEWIGLINPYNGGTIYNRKFKGKATLTVDKSSSTAYLELLSLTSEDSAVVYCARGALYRYE GANDYWGQGTSTVISSAKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYFPEPVILTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVYTSSTWPSQSIICNVAPASSTKVDDKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGSPVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVWVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQWMSGKEPKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPPEEEMTKKQVILTCMYTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTPEVLDSDGSYPMYSKLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNNHTTKSPSRTPGK
152	4.11H11 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSQIVLSQPPAILSASPGKEVTMTCRASSSVIYVHWYQKPGSSP KPWYATSNLASGVPARFSGSGGTSLSLTISRLEAEDTATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLEI KRADAAPTYSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDS KDSYSSSTLTLLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRENC
153	4.29C4 VH CDR1	NYWMN
154	4.29C4 VH CDR2	MIHPDSESRLSQRFKD
155	4.29C4 VH CDR3	LDY
156	4.29C4 VL CDR1	KSSQSLLESNNQENTLA
157	4.29C4 VL	FASTRES

[0918]

서열 번호	설명	서열
	CDR2	
158	4.29C4 VL	QQHYSAPLT
	CDR3	
159	4.29C4 VH	QVQLQQPGAEIVRPGASVKLSCKASGYSFANYWMNVKQRPQGGLWIGMIHPSDSESRLSQ RFKDKATLTVDKSSSTAYMQLNSPTSEDSAVYYCARLDYWGQGTSV
160	4.29C4 VL	DIVMTQSPSSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLKSSNQKNYLAWYQKPGQSPKLLVFPASTRES GVPDRFPGSGSGTDFLTITSSVQAEDLADYFCQQHYSAPLTPGA
161	4.29C4 HC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPSSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLKSSNQKNYLAWYQ GLEWIGMIHPSDSESRLSQRFKDKATLTVDKSSSTAYMQLNSPTSEDSAVYYCARLDYWGQGT TSVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYPPEPVLTWNSSGLSSGVHTPPA VLQSDLYTLSSSVYVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDDKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNA AGGFSVFIFFPKIKDVLMSLSPIVTCVVDVSEDDPDVQISWFEVNNVEVHTAQOTHRREDY NSTLRVVSALPIHQDWMGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAQVYVLPPEPEEM TKKQVTLTCMVTDFMPEDIVVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYPMYSKLRVEKKNWVER NSYSCSVVHEGLHHHTTKSFSRTPGK
162	4.29C4 LC L A L A P G mIgG2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPSSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLKSSNQKNYLAWYQ QKPGQSPKLLVFPASTRESGVDRFPGSGSGTDFLTITSSVQAEDLADYFCQQHYSAPLTPG AGTKLEIKRADAPTISIIPPSSBQLTSGGASVVCFLNFEYPKDINVKWKIDGSEBQNGVLN SWTDQKSDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCBATHTKSTSPIVKSFNWBC
163	5.17D12 VH CDR1	SNYYMC
164	5.17D12 VH CDR2	CVYVSGSGSTYYASWAK
165	5.17D12 VH CDR3	DLSYAGDL
166	5.17D12 VL CDR1	QASESISYLA
167	5.17D12 VL CDR2	GASNLAS
168	5.17D12 VL CDR3	QSAYYNSGGHA
169	5.17D12 VH	QSLBESGGDLVKPGASLTLTCTASGFSFSSNYMCMVVRQAPGKGLEWIACVYVSGSGSTYYA SWAKGRFTFSKTSSTITWTLQMTSLTAADTATYPCARDLSYAGDLWPGTLVTVSS
170	5.17D12 VL	DPVMTQTPAISVSEPVGGTITINQASESISYLAWYQKPGQSPKLLIYGASNLASGVPSRF KSGSGSTEYTLTISDLBCDDAATYYQSAYYNSGGHAFGGTEVVVK
171	5.17D12 HC	MTGLRWLLVAVLKGVQCQSLBESGGDLVKPGASLTLTCTASGFSFSSNYMCMVVRQAPGK GLEWIACVYVSGSGSTYYASWAKGRFTFSKTSSTITWTLQMTSLTAADTATYPCARDLSYAGD LWPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCGDTPSSTVTLGCLVKGYPPEPVTVTNSTGLTNGV RTFPSVYRQSSGLYSLSSVSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLG GPSVFIFFPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVSDQDPEVQFTWYINNEQVRTARPPLEBQQFNS TIRVVSTLPIAHQDWRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEKPYTMGPPEELSS RSVSLTCMINGFYPSDISVBEKNGKAEDNYKTTAPVLDSDGSYFLYNKLSVPTSEWQRGDV PTCSVMHEALHHYTKSISRSPGK
172	5.17D12 LC	NDMRAPTQLLGLLLWLPVICTDPVMTQTPAISVSEPVGGTITINQASESISYLAWYQKPF GQPPKLLIYGASNLASGVPSRFKSGSGSTEYTLTISDLBCDDAATYYQSAYYNSGGHAFG

[0919]

서열 번호	설명	서열
		GGTEVVVKGDVPVAPTVLIPPPAADQVATGTVTVICVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTIENS KTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYNHKEYTCKVTQGTTSVQSFNRGDC
173	5.17H8 VH CDR1	SYAMG
174	5.17H8 VH CDR2	IISSSGSTHYASWA
175	5.17H8 VH CDR3	ARAGSTYYTGYPNL
176	5.17H8 VL CDR1	QASBSIYNLA
177	5.17H8 VL CDR2	GASTLES
178	5.17H8 VL CDR3	QSGYYGISAINNA
179	5.17H8 VH	QSLBESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLSSYAMGWVRQAPGKLEWIGIISSSGSTHYASWA KGRFTISKSTSTVDLKITSPTTEDTATYPCARARAGSTYYTGYPNLWGQGTLVTVSS
180	5.17H8 VL	AIEMTQTASPVSAAVGGTVTINCQASESIYNLAWYQQKPGQRPKLLIYGASTLESGVPSRF KSGSGSTEYTLTISDLECDAAATYYCQSGYYGISAINNAFGGGTEVVVK
181	5.17H8 HC	NETGLAWLLLVAVLKGVCQSLBESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLSSYAMGWVRQAPGK LEWIGIISSSGSTHYASWAKGRFTISKSTSTVDLKITSPTTEDTATYPCARARAGSTYYTG YFNLWGQGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTSPSSTVLGCLEKYLPEPVITVWNSGTLT NGVRTFSPVRSQSGLYSLSSVSVTSSQPVTCNVHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPE LLGGPSVEIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPLRQK PNSTIRVVSFLPAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAIEKTSKARGQPLEPKVVTMGPPREE LSSRSVSLTCHINGFPYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTPAVLDSGSYFLYNKLSVPTSEWQR GDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK
182	5.17H8 LC	NDHRAPTQLGLLLLWLPGVTFATIENTQTASPVSAAVGGTVTINCQASESIYNLAWYQQK GQRPKLLIYGASTLESGVPSRFKSGSGSTEYTLTISDLECDAAATYYCQSGYYGISAINNAF GGGTEVVVKGDVPVAPTVLIPPPAADQVATGTVTVICVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTIEN SKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYNHKEYTCKVTQGTTSVQSFNRGDC
183	5.11H2 VH CDR1	YNYWIIY
184	5.11H2 VH CDR2	CINTGNSGITNYANWAK
185	5.11H2 VH CDR3	GGINSGDYNNL
186	5.11H2 VL CDR1	QASENIYRLLA
187	5.11H2 VL CDR2	DASTLAS
188	5.11H2 VL CDR3	QQAYSNSIDNY
189	5.11H2 VH	QSLBESGGDLVKPGASLTLTCTASGFSFSYNYWYVVRQAPGKLEWIGICINTGNSGITNYA NNAKGRFTISKSTSTTVTLQMTSLTAADTATYPCARGGINSGDYNNLWGPGTLTVTVSS
190	5.11H2 VL	AYDMTQTPASVEVAVGGTVTIKQASENIYRLLAAYQQKPGQAPKLLIYDASTLASGVPSRF

[0920]

서열 번호	설명	서열
191	5.11H2 HC	SGSGSGTQFTLT VSGVQCDDAATTYCCQAYSNSNIDNYFGGGTEVVVK METGLRWLLVAVLKGVCQSLBESGGDLVKPGASLTLTCTASGFSFSYNYWIYWRQAPGK GLEWIGCINTGNSGINTYANWAKGRFTISKTSSTTVLQMTSLTAADTATYFCARGGINSGD YMNWGPGLTVTVSSGQPKAPSVPLAPCCGDTSPSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTVNSGTLT NGVRTFSPSVRQSSGLYSLSSVSVTSSSQPVTCNV AHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPE LLGGPSVFI PPPKPD TLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPLRQQ FNSTIRVVSTLP IAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAIEKTI SKARGQPLEPKVYTMGPPREE LSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSGSYFLYNKLSVPTSEWQR GDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK
192	5.11H2 LC	MDMRAPTQLGLLLLWLPGARCA YDMTQT PASVEVAVGGTVTIKQCASENIYRLAWYQQKP GQAPKLLIYDASTLASGVPFRFSGSGSGTQFTLT VSGVQCDDAATTYCCQAYSNSNIDNYFG GGTEVVVKGDVPVAPT VLIFFPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTIENS KTPQNSADCTYNLSSLTLTSTQYN SHKEYTCKVTQGTTSVYQSPNRGDC
193	5.14D6 VH CDR1	SKTIT
194	5.14D6 VH CDR2	FINTDGRAYYASWA
195	5.14D6 VH CDR3	TNL
196	5.14D6 VL CDR1	QASQSVYKNNYLA
197	5.14D6 VL CDR2	SVSTLDS
198	5.14D6 VL CDR3	LGSYDCSSADCAA
199	5.14D6 VH	QSVESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSKTI TWVRQAPGKLEWIGFINTDGRAYYASWA KGRFTISKTSSTTVDLKITSPITTEDATYFCGRNLWGQGLTVTVSS
200	5.14D6 VL	AQVLTQTSSPVSAAVGSTVTINCCASQSVYKNNYLAWPQKPGQPPKRLIYSVSTLDSGVPS RFGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATTYCLGSDYDCSSADCAAFGGGTEVVVK
201	5.14D6 HC	METGLRWLLVAVLKGVCQSVESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSKTI TWVRQAPGKG LEWIGFINTDGRAYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKITSPITTEDATYFCGRNLWGQGLTVT VSSGQPKAPSVPLAPCCGDTSPSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTVNSGTLNGVRTFSPSVRQS SGLYSLSSVSVTSSSQPVTCNV AHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFI PPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPLRQQFNSTIRVVSTLP IAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAIEKTI SKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMI NGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSGSYFLYNKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEA LHNHYTQKSISRSPGK
202	5.14D6 LC	MDMRAPTQLGLLLLWLPGATFAQVLTQTSSPVSAAVGSTVTINCCASQSVYKNNYLAWPQQ KPGQPPKRLIYSVSTLDSGVPSRFGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATTYCLGSDYDCSSADCA AFGGGTEVVVKGDVPVAPT VLIFFPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTI ENSKTPQNSADCTYNLSSLTLTSTQYN SHKEYTCKVTQGTTSVYQSPNRGDC
203	3.7F5 VH CDR1	DYNVF
204	3.7F5 VH	YIDPYNGATSYNQKFKD

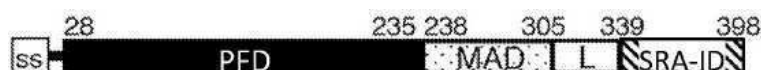
[0921]

서열 번호	설명	서열
	CDR2	
205	3.7F5 VH	GTVRAFFDS
	CDR3	
206	3.7F5 VL	KSSQSLYRNDQINYL A
	CDR1	
207	3.7F5 VL	WASTRES
	CDR2	
208	3.7F5 VL	QQYYSPPT
	CDR3	
209	3.7F5 VH	EIHLQQSGPEVQPGASLKVSCASDYSFTDYNVFWKQSHGKSLEWIAIDPYNGATSYNQ KFKDKATLTVDKSSSTAFMYLNSLTSEDSAVYYCARGTVRAFFDSWGQGTTL
210	3.7F5 VL	DIYMSQSPSSLVSVGKVSLSCKSSQSLLYRNDQINYLAWYQKPGQSPKLLIFWASTRES GVVVRFTGSGSGTDFTLNINTVKAEDLAVYYCQQYYSPPTFGT
211	3.7F5 HCL A L A P G mIg2a	MGWSCIILFLVATATGAYAEIHLQQSGPEVQPGASLKVSCASDYSFTDYNVFWKQSHGK SLEWIAIDPYNGATSYNQKPKDKATLTVDKSSSTAFMYLNSLTSEDSAVYYCARGTVRAFF DSWGQGTTLTVSSASTGKPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTNWSSGSLSSG VHTFPAVLQSDLYLSSSVTVTSSTWPSQITCNVAHPASSTKVKKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPNAAGGPSVFIFPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDQISWFWNNVWHTAQTDQ THREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMGKPKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEEEMTKQVTLTCHVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTPEVLDSGGSYFMYSKLRVYEK KNWVERNSYSCSVHBEGLHNHHTTKSFSTPGK
212	3.7F5 LCL A L A P G mIg2a	MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMSQSPSSLVSVGKVSLSCKSSQSLLYRNDQINYLAWYQ KQKPGQSPKLLIFWASTRESGVVVRFTGSGSGTDFTLNINTVKAEDLAVYYCQQYYSPPTFG TGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGERQNGVLM SWTDQDSKDYSTYSMSSTLTITKDEYERHNSYTCBATHTSTSPIVKSFNRNEC
213	인간 APOL1 KIK 아이소 타입 GO 형태 (신호 서열 없음)	EA GARVQQNVPS GTDTGDPQSK PLGDWAAAGTM DPESIFIED AIKYFKKVS TQNLLLLLTD NEAWNGFVAA AELPRNEADE LRKALDNLAR QMIMKDKNWH DKGQYRNWF LKEFPRLKSE LEDNIRRLRA LADGVQKVHK GTTIANVVSG SLSSSGILT LVGMGLAPFT EGGSVLVLEP GMELGITAAL TGITSSIDY GKKVWTQAQA HDLVIKSLDK LKEVKEFLGE NISNPLSLAG NTYQLTRGIG KDIALRRAR ANLQSVPHAS ASRPRVTEPI SAESGBOVER VNEPSILEMS RGVKLTDFAP VSFPLVLDVV YLVYESKHLH BGAKSETABE LKKVAQELEE KLNILNNYK ILQADQEL
214	인간 APOL1 EIK 아이소 타입 GO 형태 (신호 서열 없음)	EA GARVQQNVPS GTDTGDPQSK PLGDWAAAGTM DPESIFIED AIKYFKKVS TQNLLLLLTD NEAWNGFVAA AELPRNEADE LRKALDNLAR QMIMKDKNWH DKGQYRNWF LKEFPRLKSE LEDNIRRLRA LADGVQKVHK GTTIANVVSG SLSSSGILT LVGMGLAPFT EGGSVLVLEP GMELGITAAL TGITSSIDY GKKVWTQAQA HDLVIKSLDK LKEVKEFLGE NISNPLSLAG NTYQLTRGIG KDIALRRAR ANLQSVPHAS ASRPRVTEPI SAESGBOVER VNEPSILEMS RGVKLTDFAP VSFPLVLDVV YLVYESKHLH BGAKSETABE LKKVAQELEE KLNILNNYK ILQADQEL
215	EMR 아이소	EA GARVQQNVPS GTDTGDPQSK PLGDWAAAGTM DPESIFIED

서열 번호	설명	서열
	타입의 인간 APOL1 G1 변이체 (신호 서열 없음)	AIKYFKKVS TQNLLLLLTD NEAWNGFVAA AELPRNEADE LRKALDNLAR QMIMKDKNWH DKGQYRNWF LKEFPRLKSE LEDNIRRLRA LADGVQKVHK GTTIANVVSG SLSSSGILT LVGMGLAPFT EGGSVLVLEP GMELGITAAL TGITSSIDY GKKVWTQAQA HDLVIKSLDK LKEVKEFLGE NISNPLSLAG NTYQLTRGIG KDIALRRAR ANLQSVPHAS ASRPRVTEPI SAESGBOVER VNEPSILEMS RGVKLTDFAP VSFPLVLDVV YLVYESKHLH BGAKSETABE LKKVAQELEE KLNILNNYK ILQADQEL
216	EMR 아이소 타입의 인간 APOL1 G2 변이체 (신호 서열 없음)	EA GARVQQNVPS GTDTGDPQSK PLGDWAAAGTM DPESIFIED AIKYFKKVS TQNLLLLLTD NEAWNGFVAA AELPRNEADE LRKALDNLAR QMIMKDKNWH DKGQYRNWF LKEFPRLKSE LEDNIRRLRA LADGVQKVHK GTTIANVVSG SLSSSGILT LVGMGLAPFT EGGSVLVLEP GMELGITAAL TGITSSIDY GKKVWTQAQA HDLVIKSLDK LKEVKEFLGE NISNPLSLAG NTYQLTRGIG KDIALRRAR ANLQSVPHAS ASRPRVTEPI SAESGBOVER VNEPSILEMS RGVKLTDFAP VSFPLVLDVV YLVYESKHLH BGAKSETABE LKKVAQELEE KLNILNN_K ILQADQEL

도면

도면1a



도면1b



도면1c



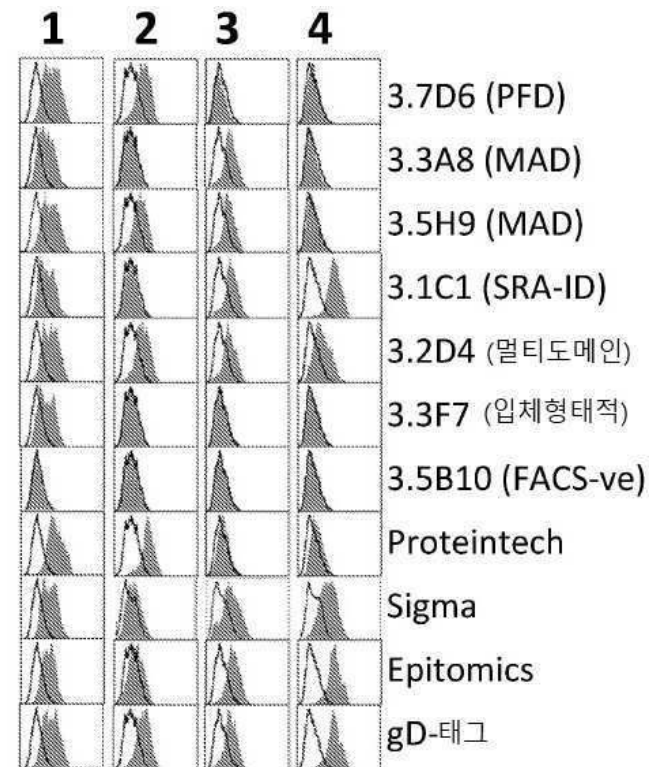
도면1d



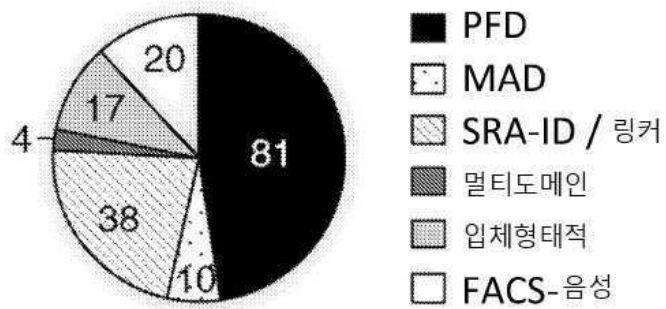
도면1e



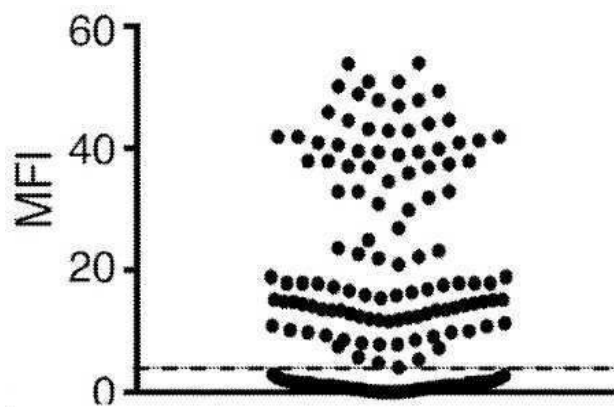
도면1f



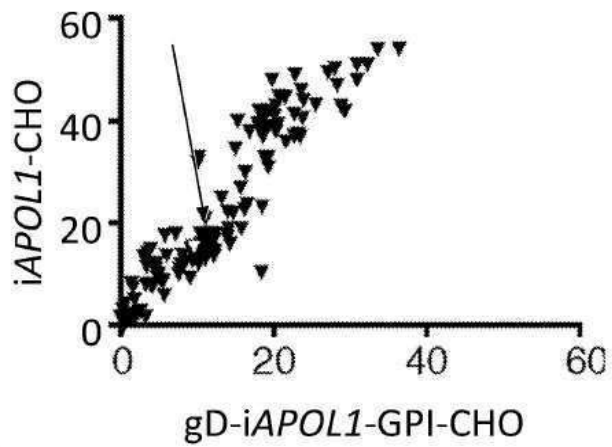
도면1g



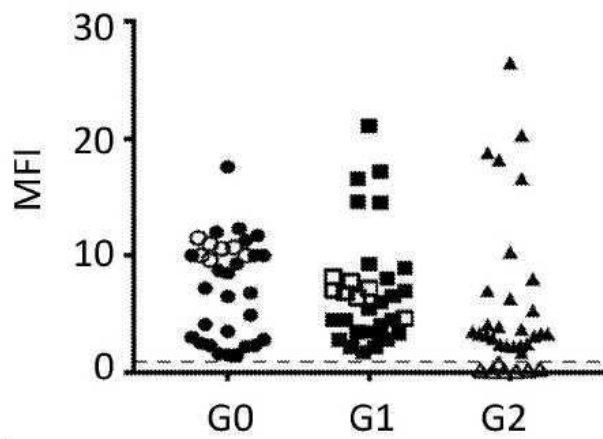
도면2a



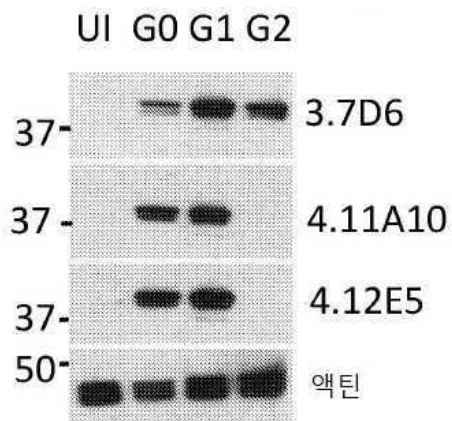
도면2b



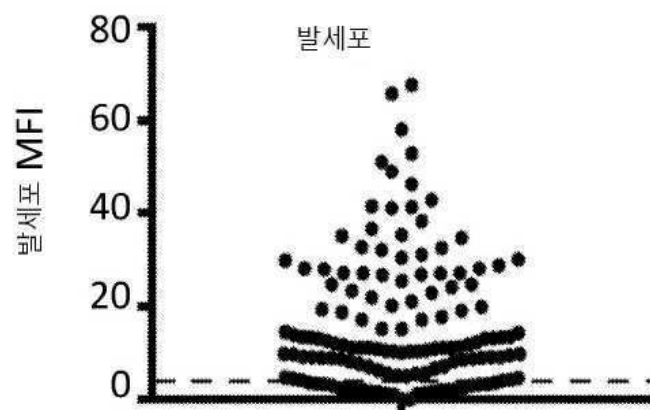
도면2c



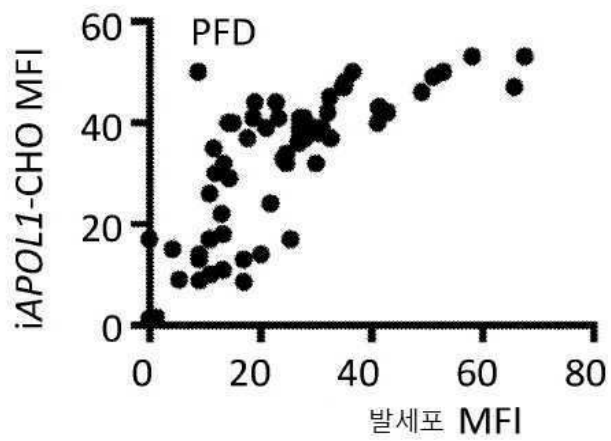
도면2d



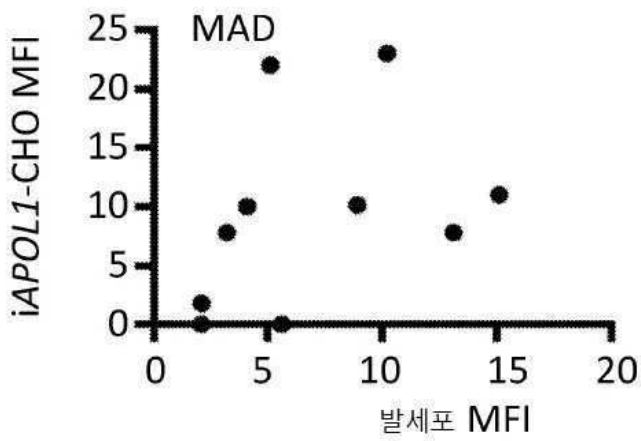
도면3a



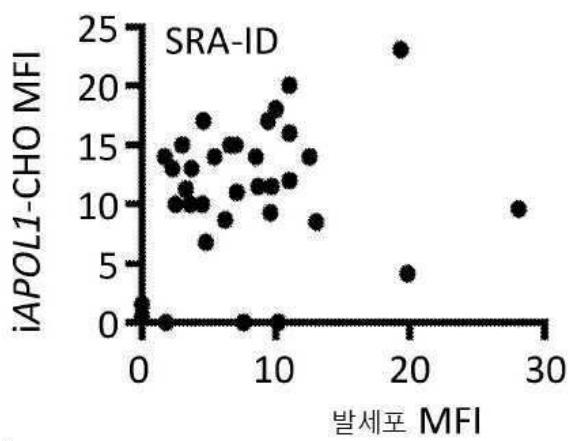
도면3b



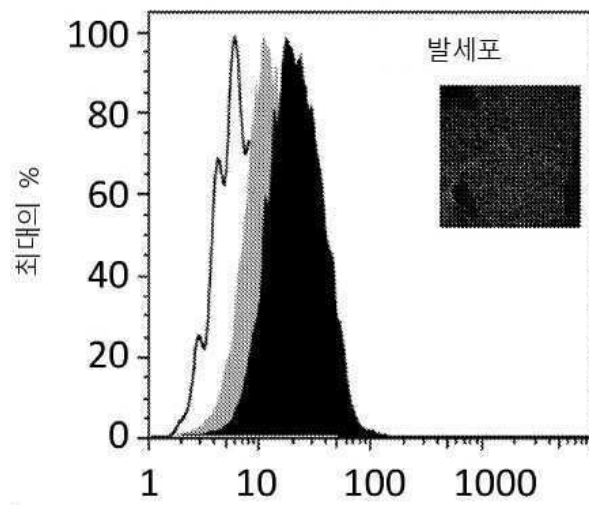
도면3c



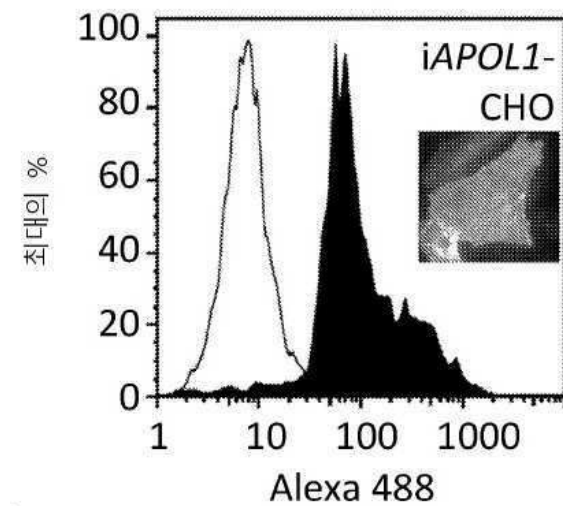
도면3d



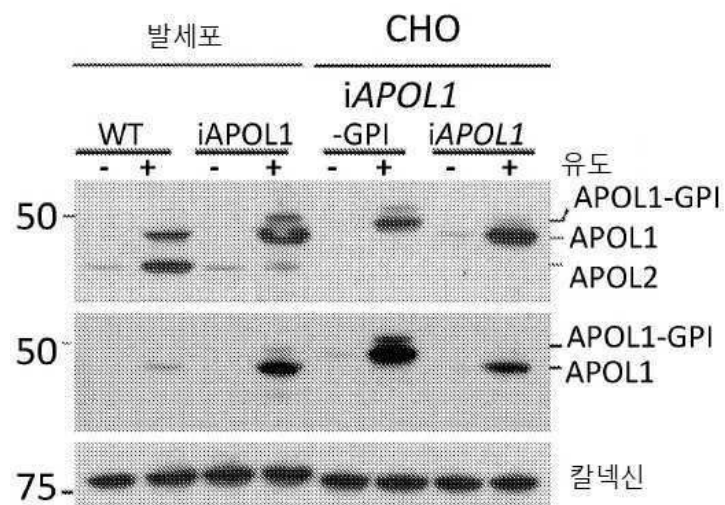
도면3e



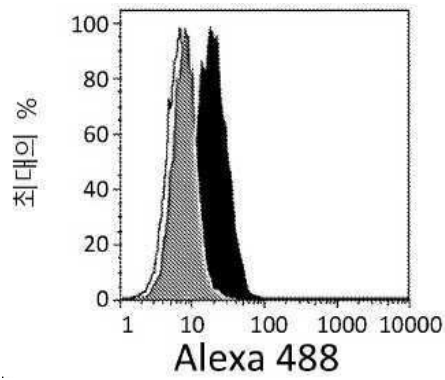
도면3f



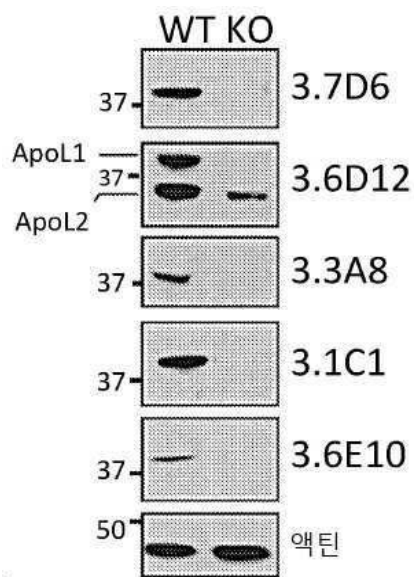
도면3g



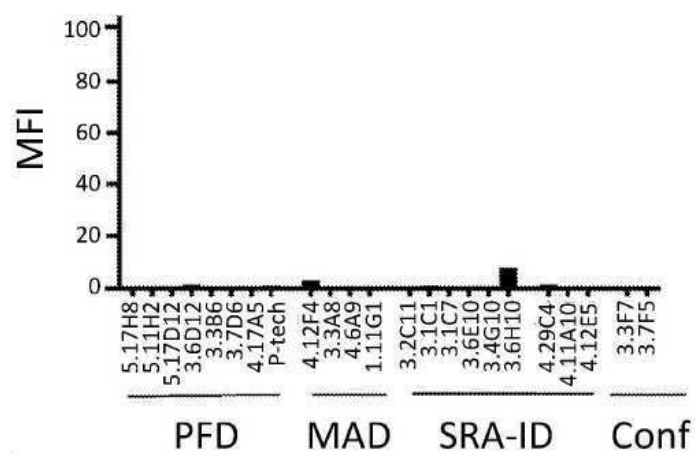
도면4a



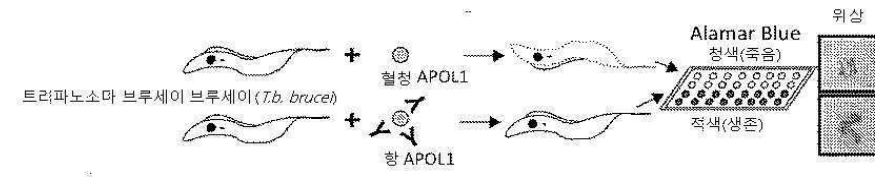
도면4b



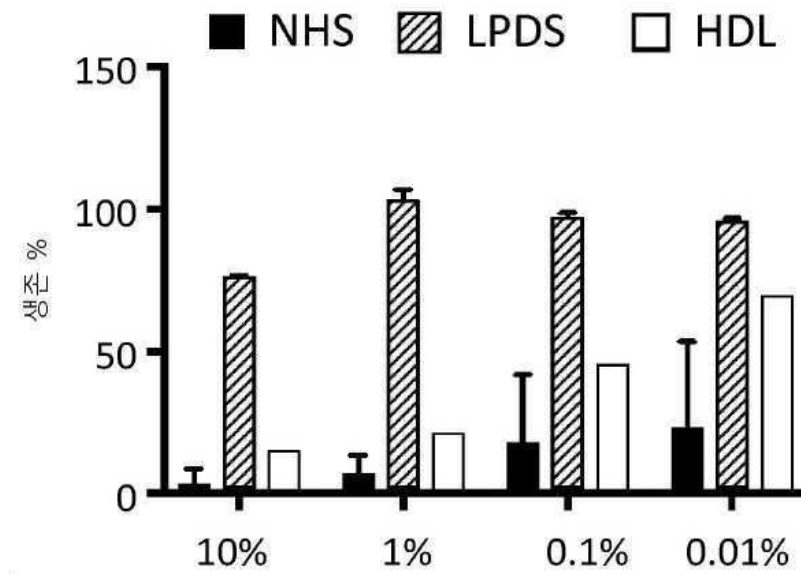
도면4c



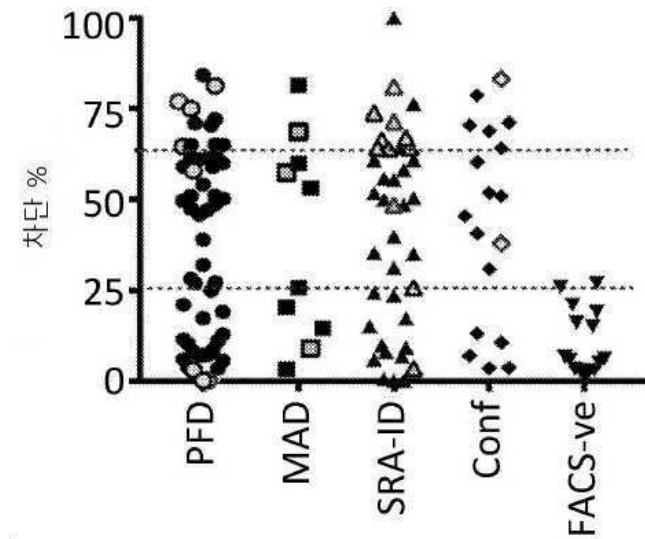
도면5a



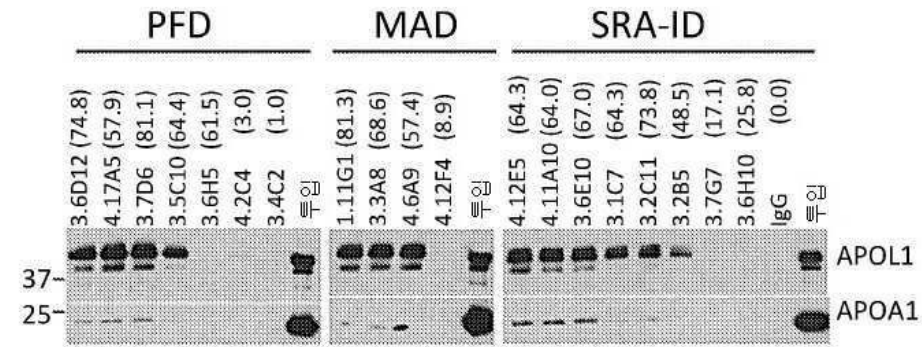
도면5b



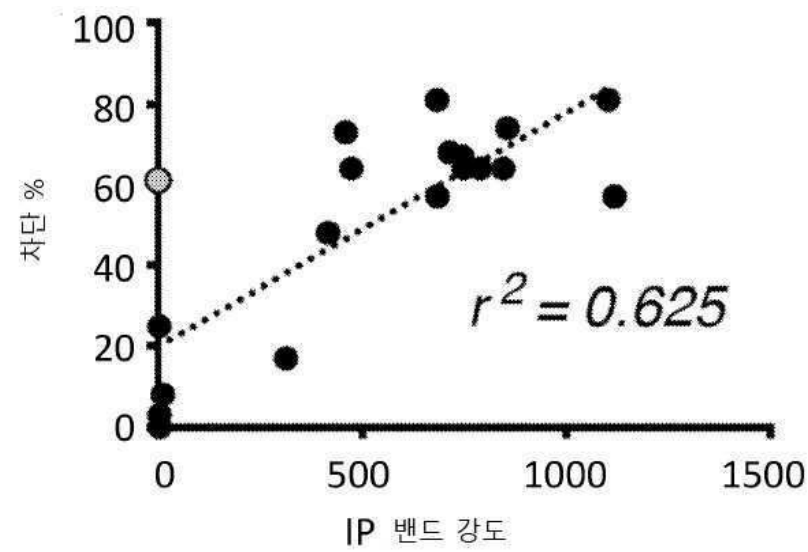
도면5c



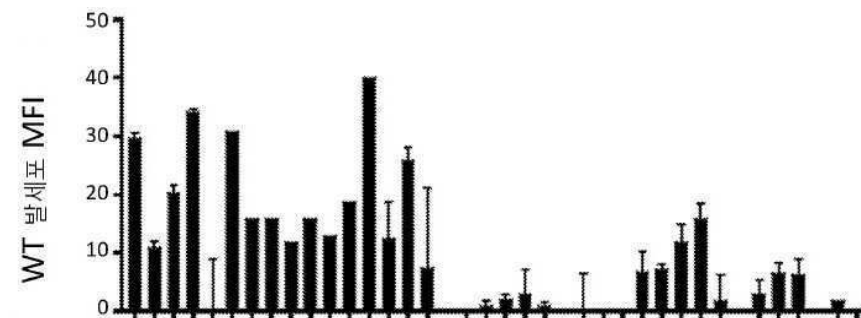
도면5d



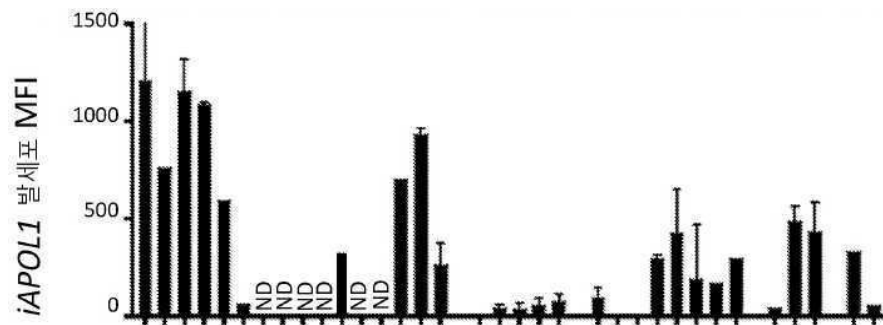
도면5e



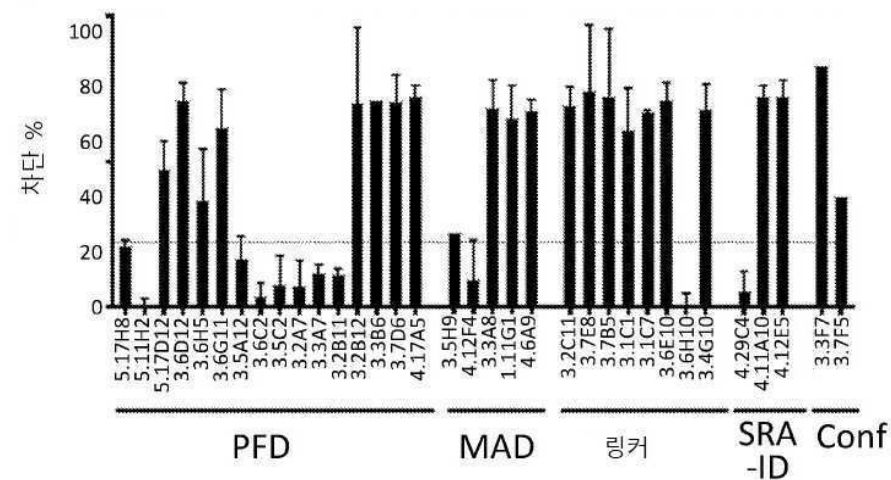
도면6a



도면6b

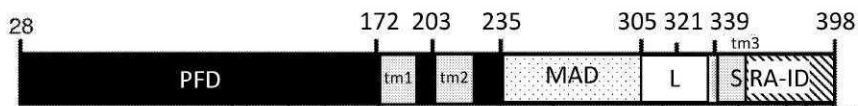


도면6c

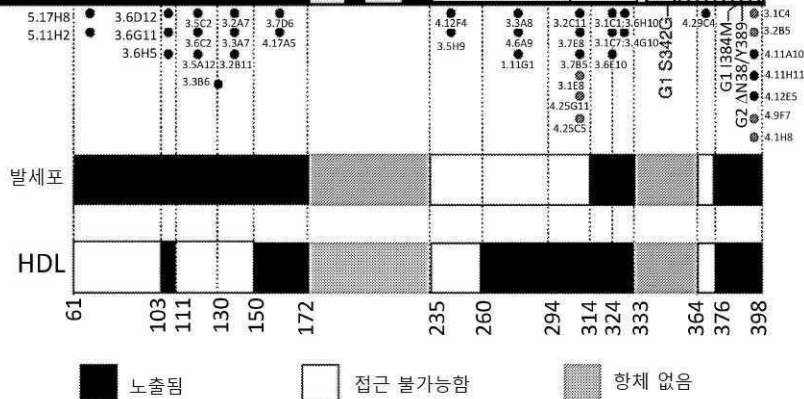


도면7

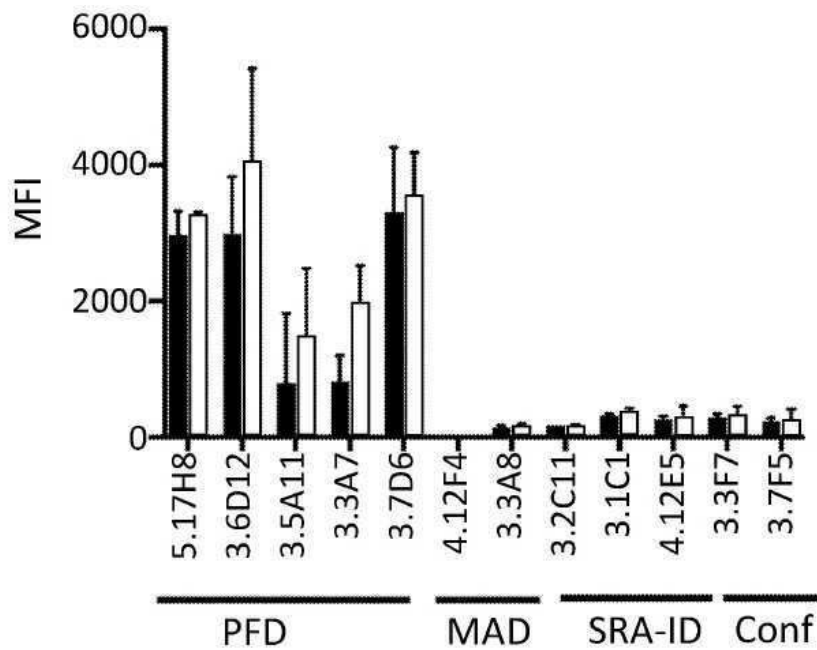
도 7a



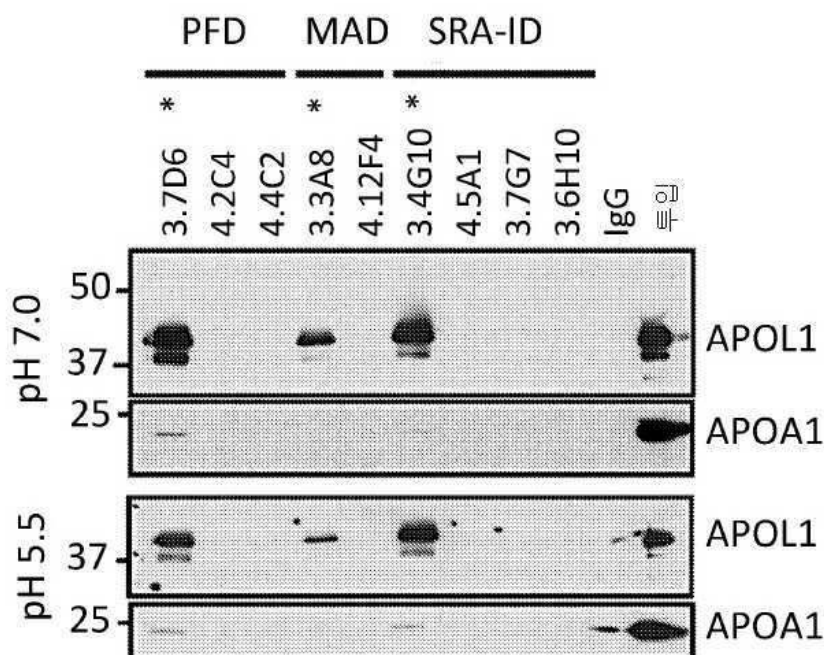
도 7b



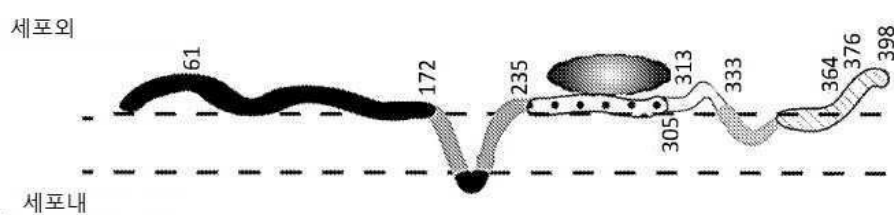
도면8a



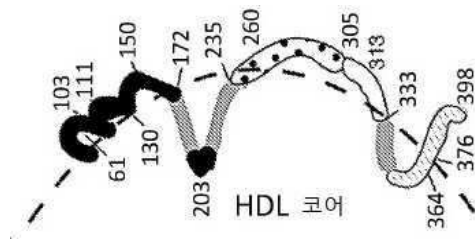
도면8b



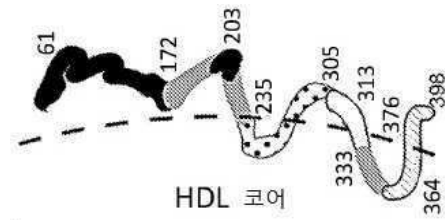
도면9a



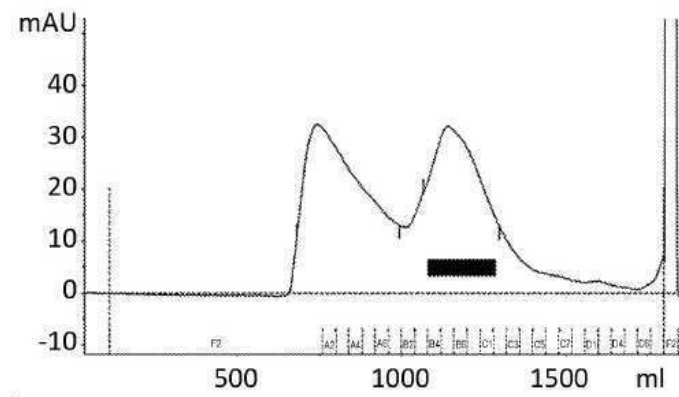
도면9b



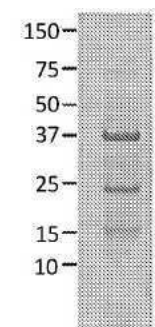
도면9c



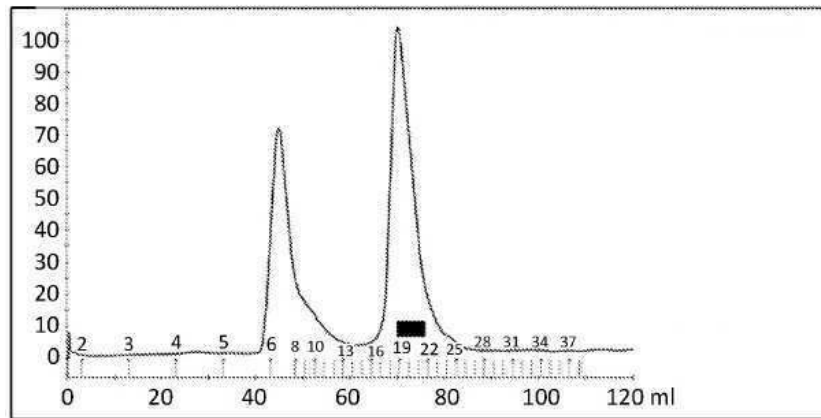
도면10a



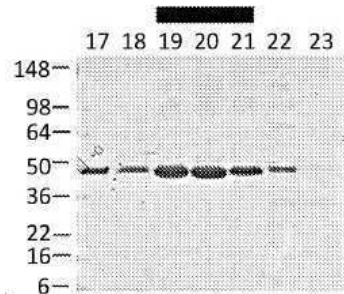
도면10b



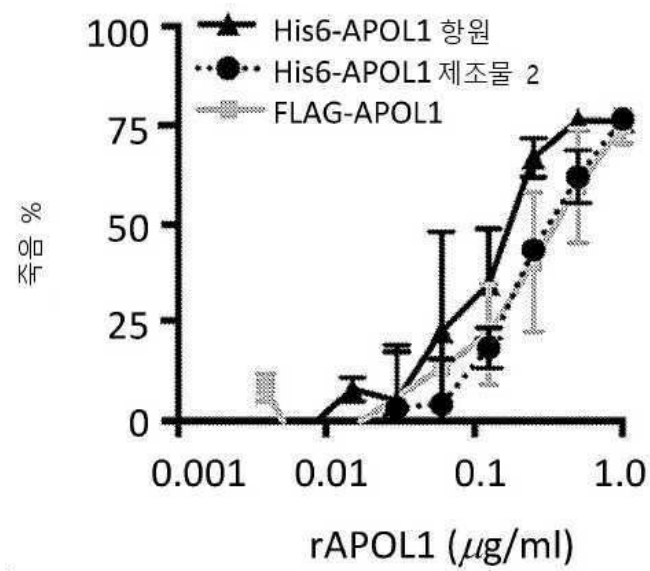
도면10c



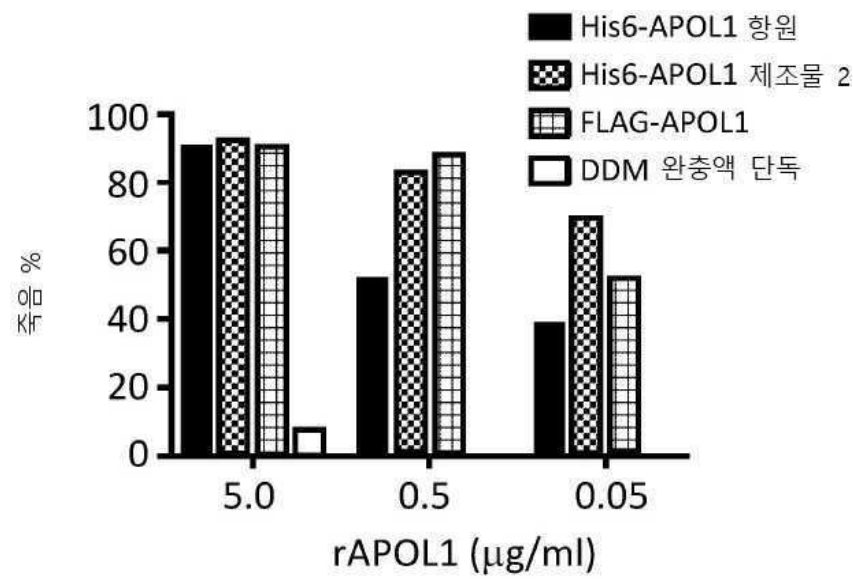
도면10d



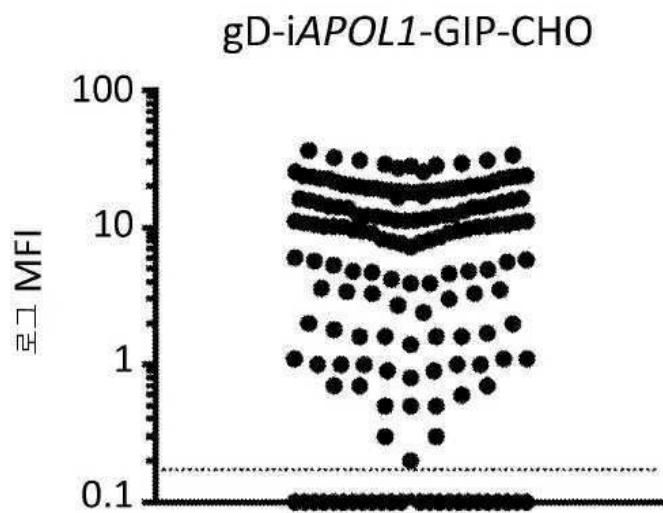
도면10e



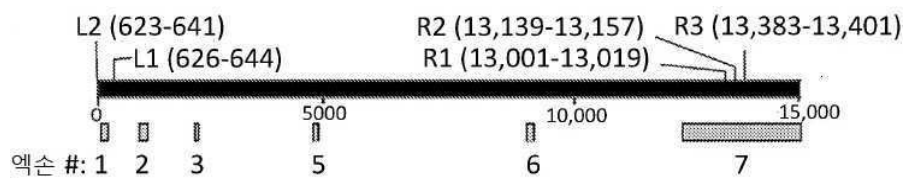
도면10f



도면11



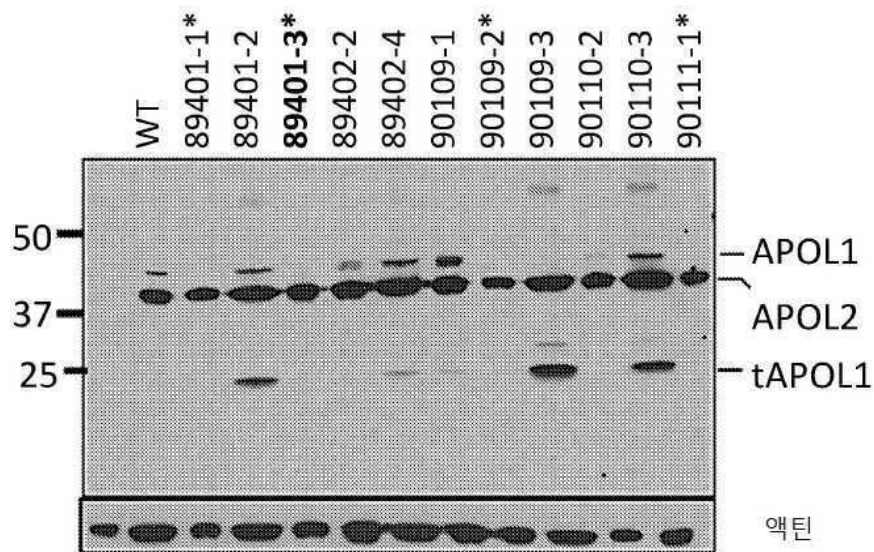
도면12a



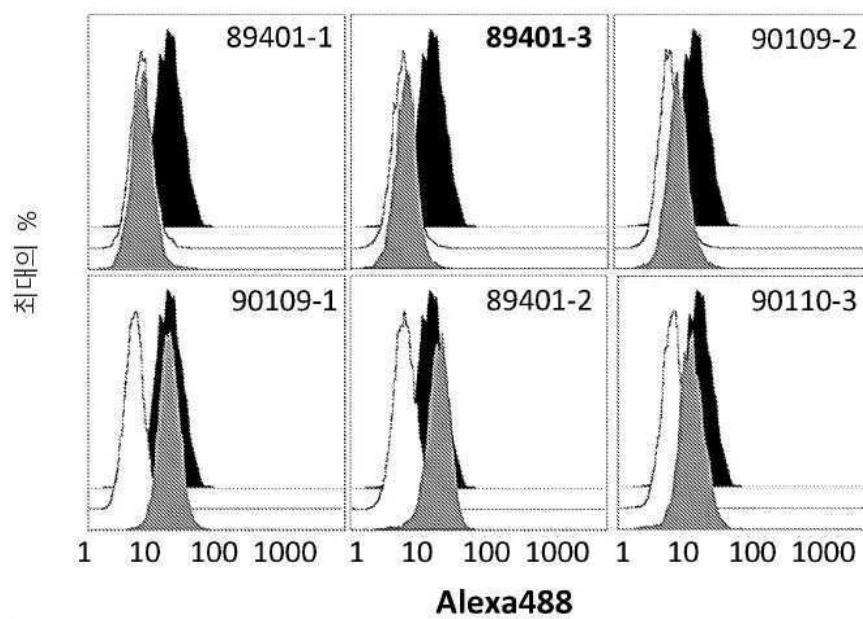
도면12b

gRNA #	gRNA 쌍
89401	L2, R3
89402	L2, R4
90109	L1, R2
90110	L1, R4
90111	L2, R2

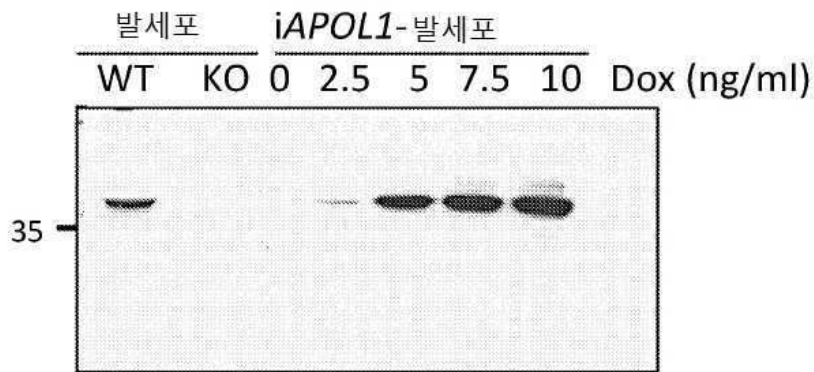
도면12c



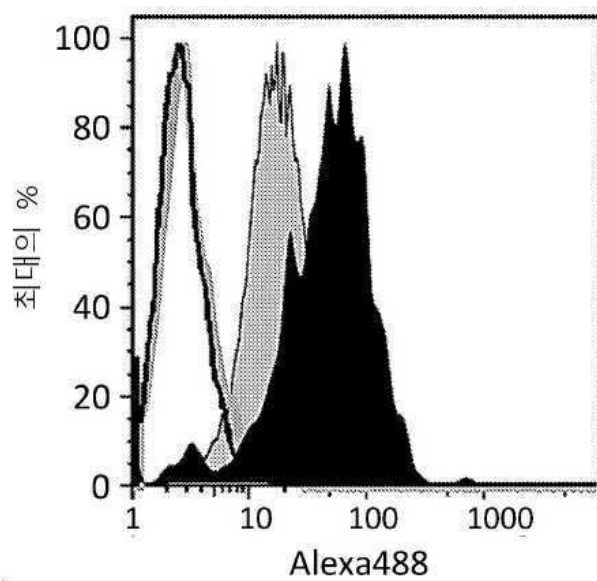
도면12d



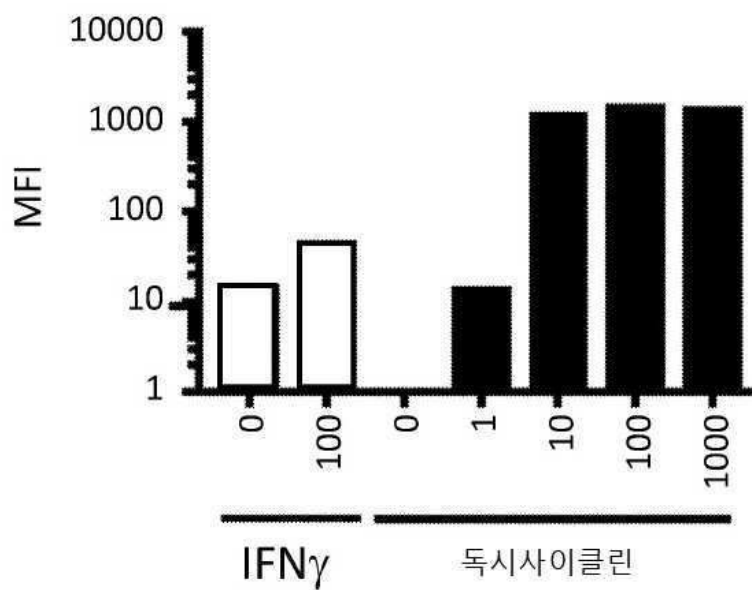
도면13a



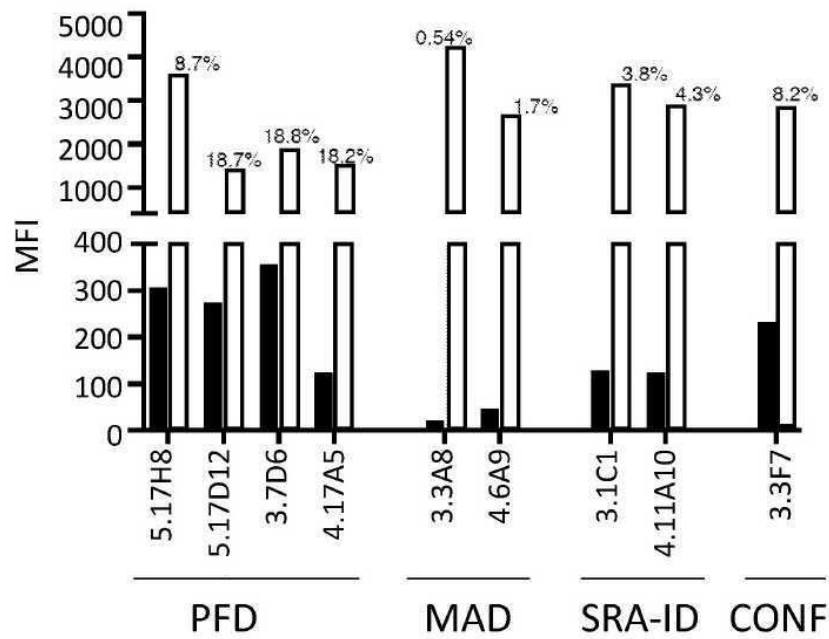
도면13b



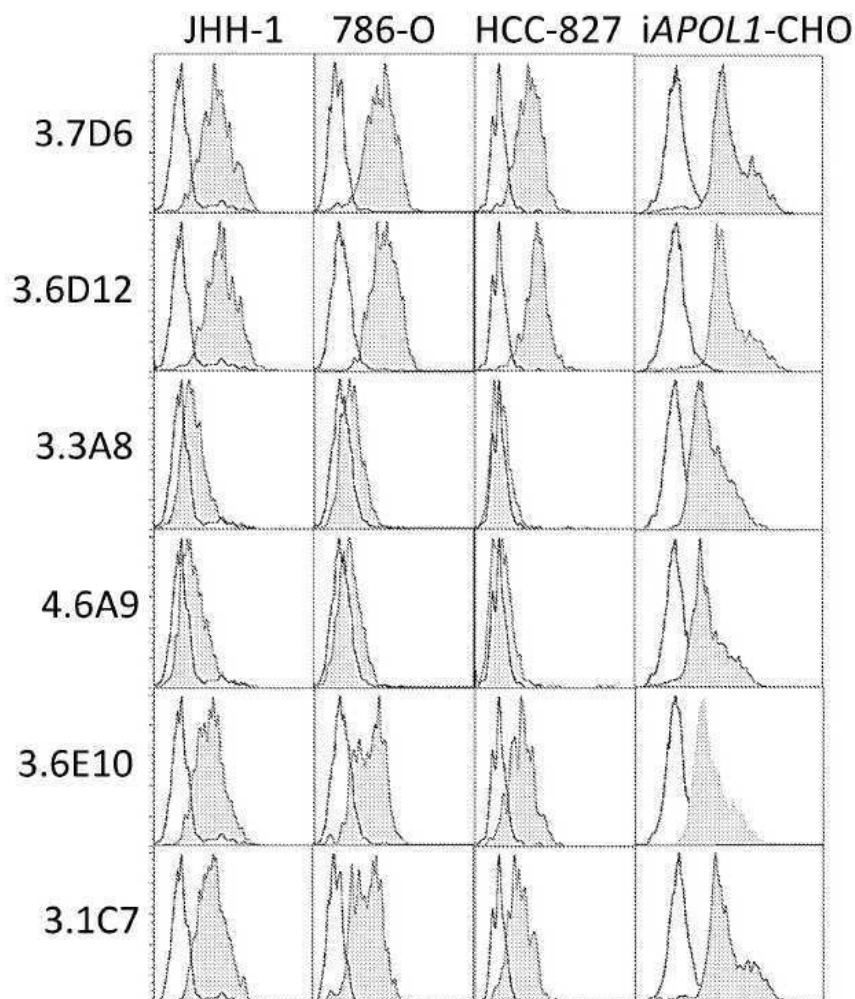
도면13c



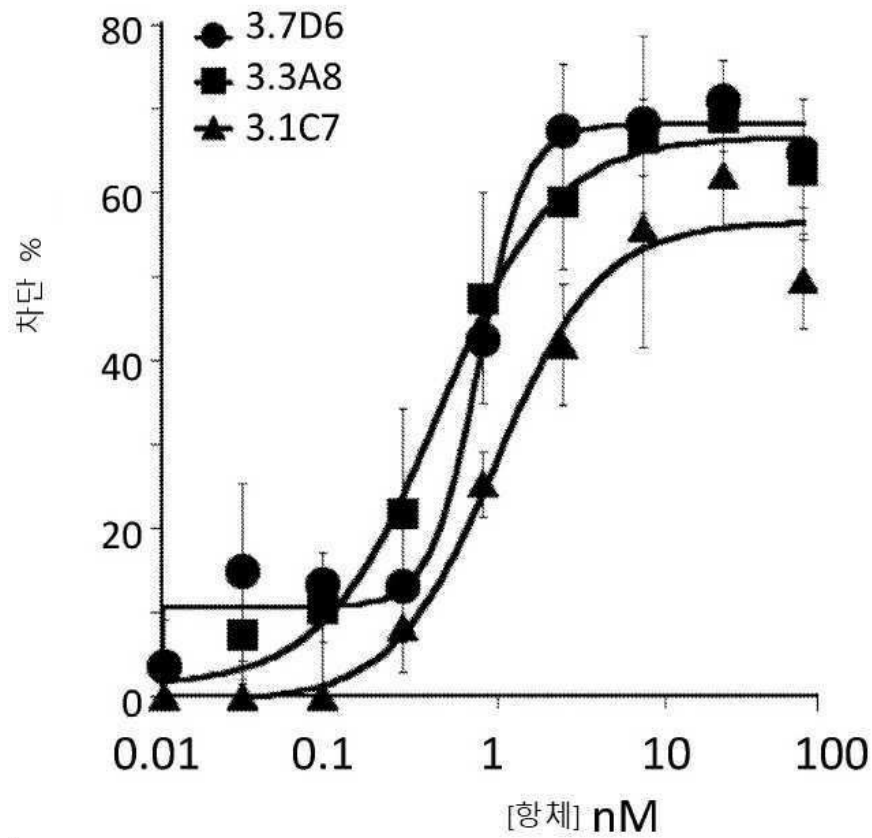
도면14



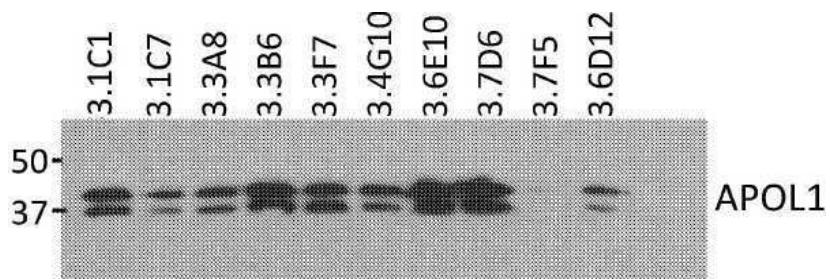
도면15



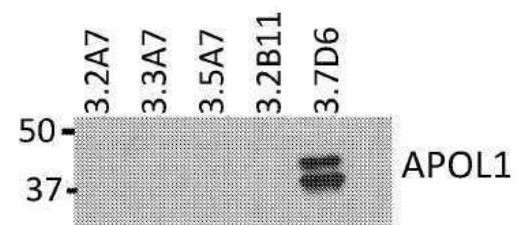
도면16



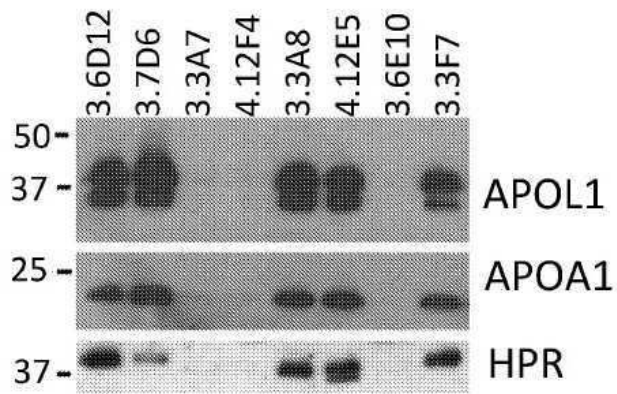
도면17a



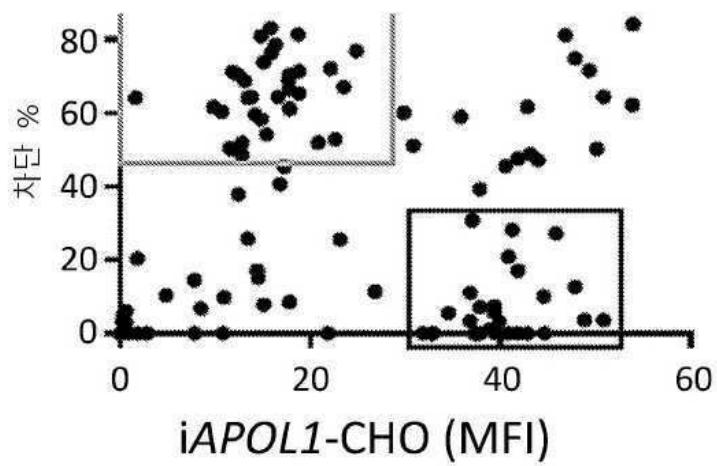
도면17b



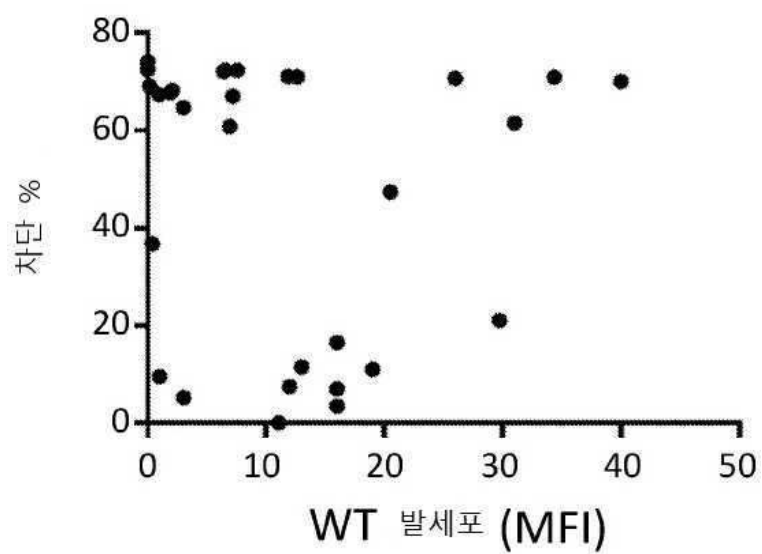
도면17c



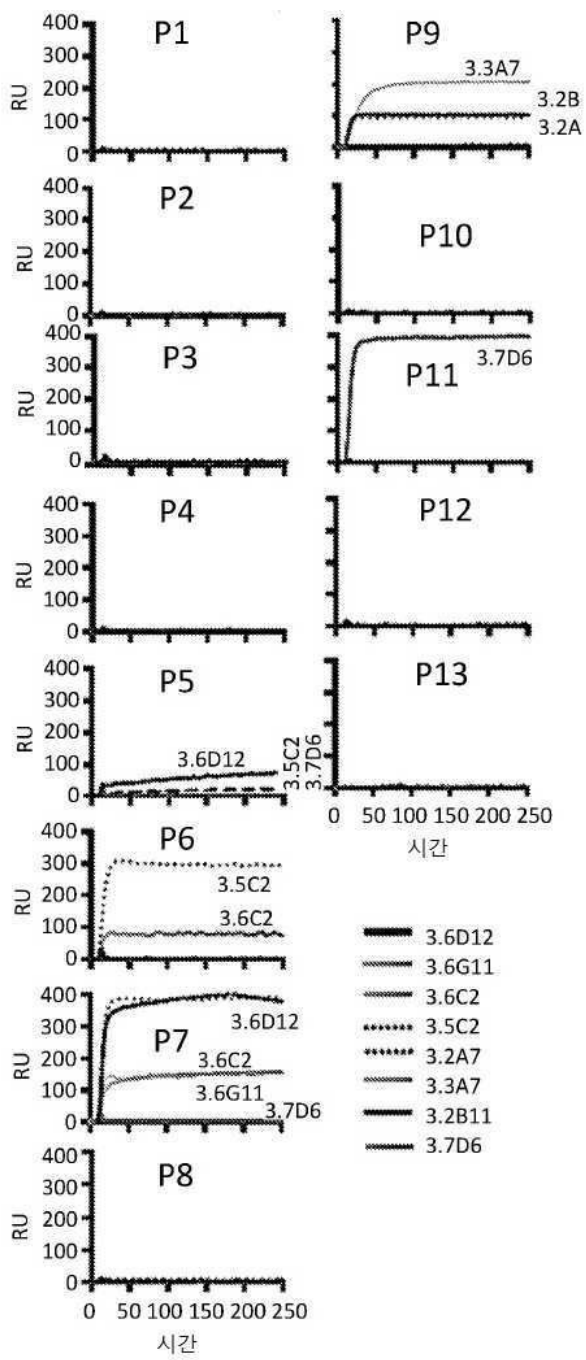
도면18a



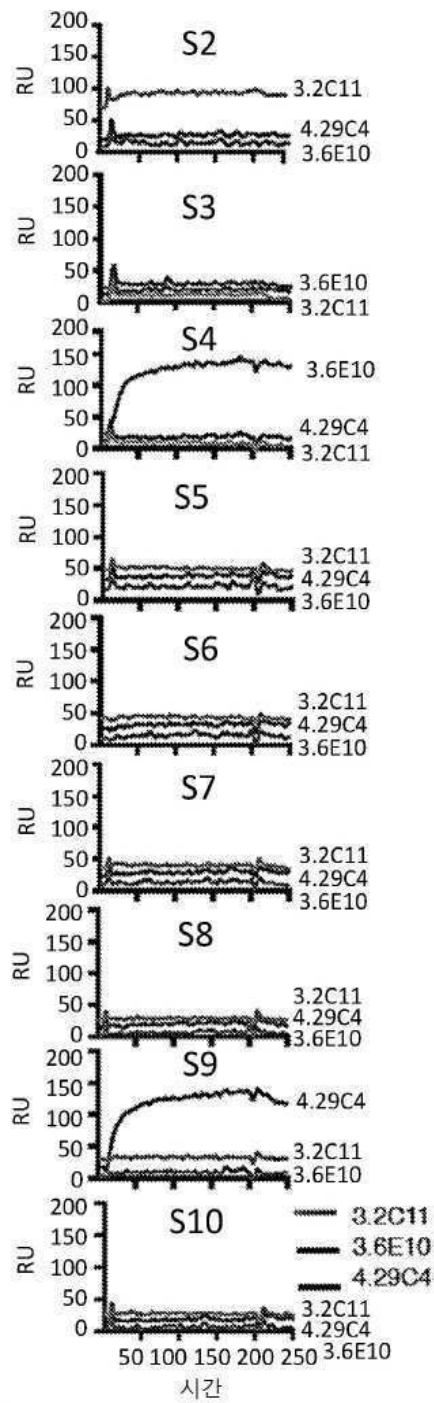
도면18b



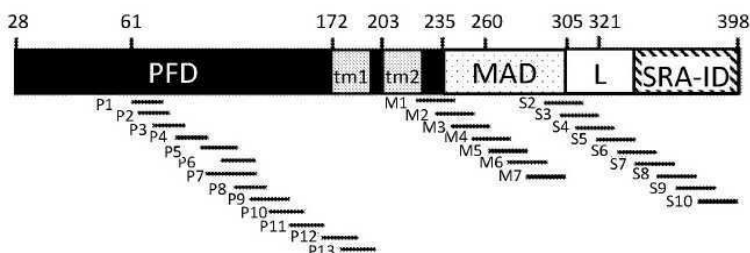
도면19a



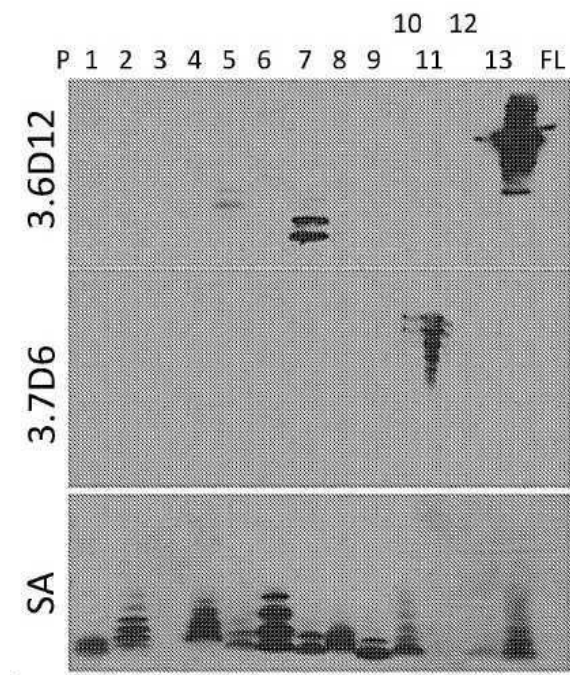
도면19b



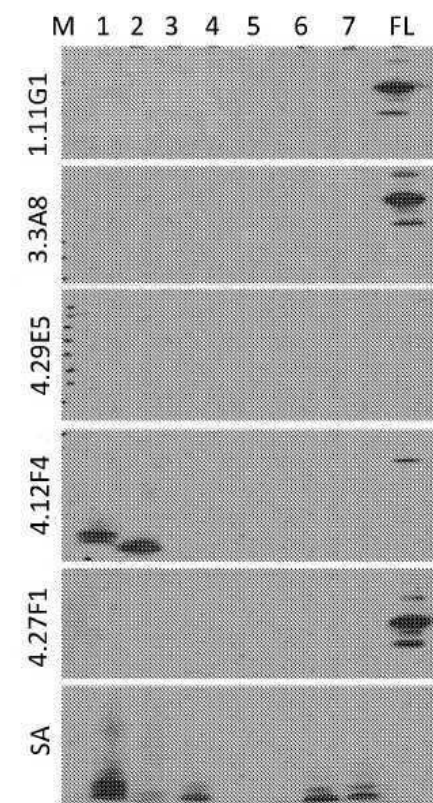
도면20a



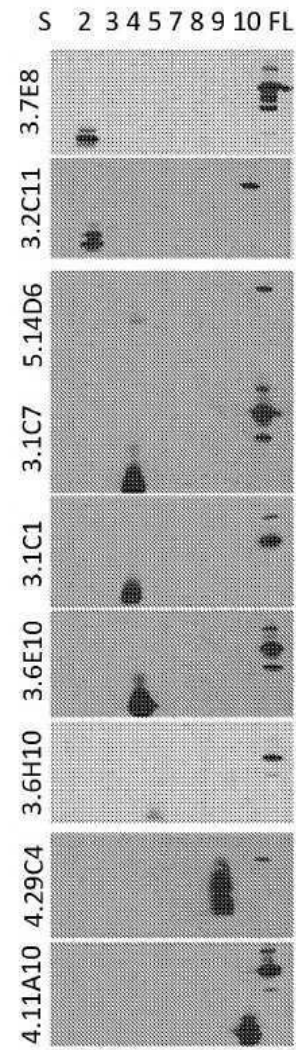
도면20b



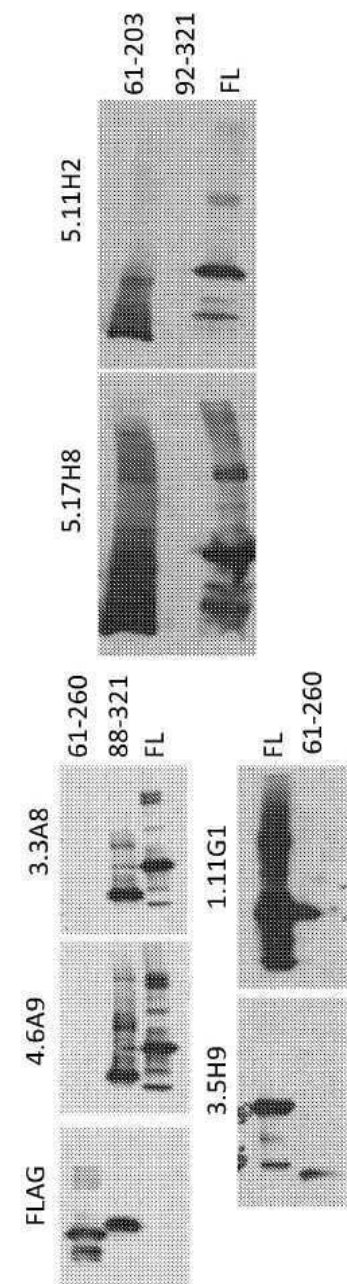
도면20c



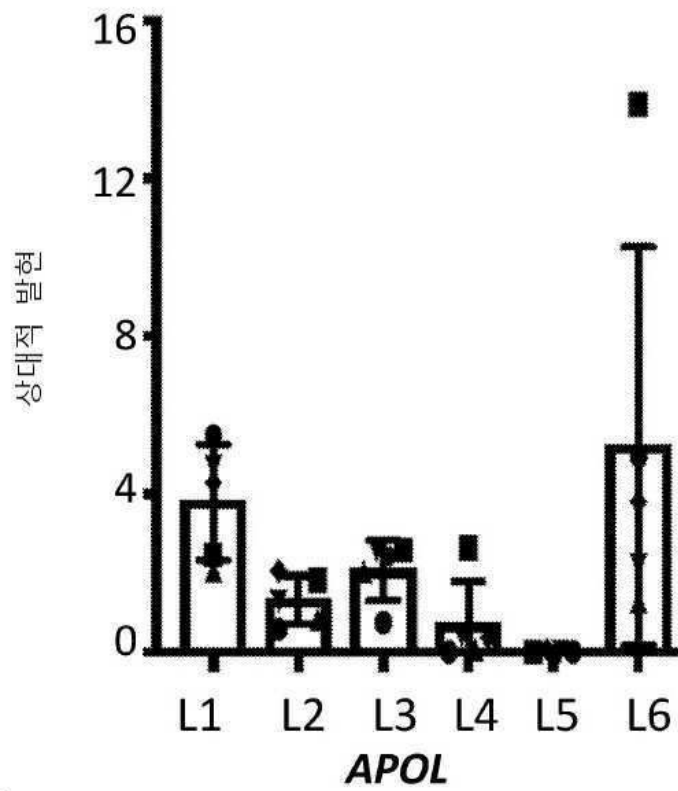
도면20d



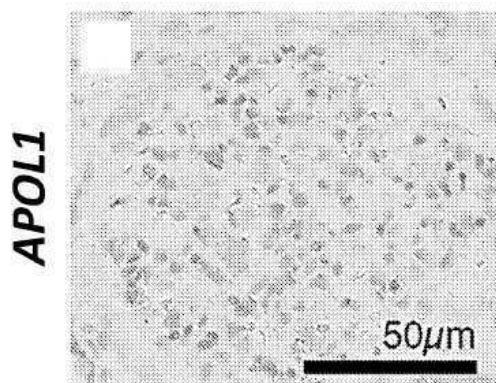
도면20e



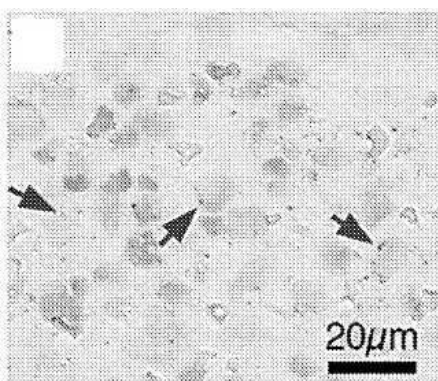
도면21a



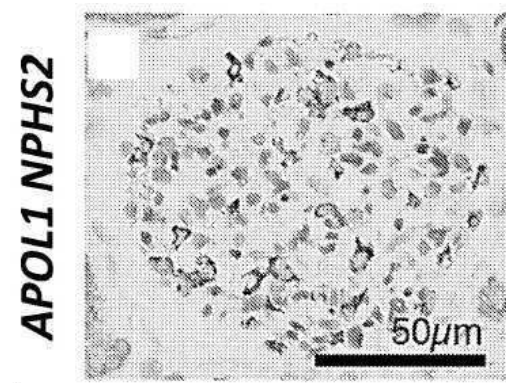
도면21b



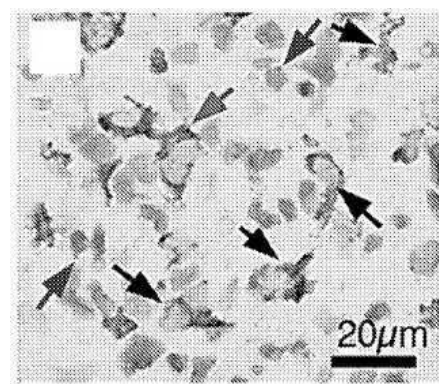
도면21c



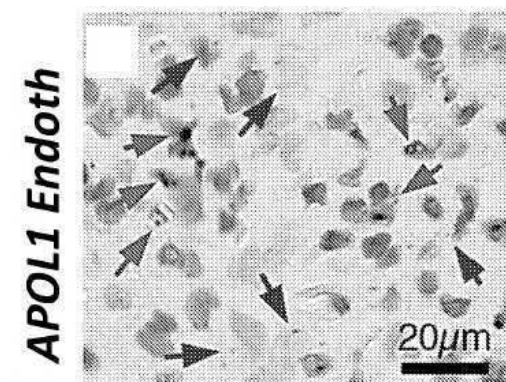
도면21d



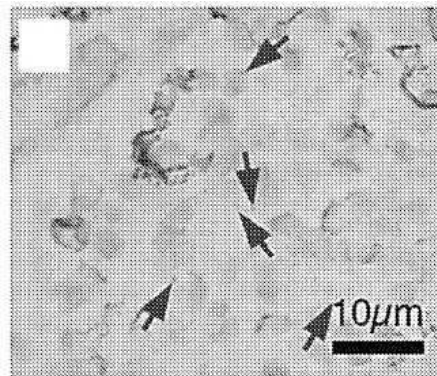
도면21e



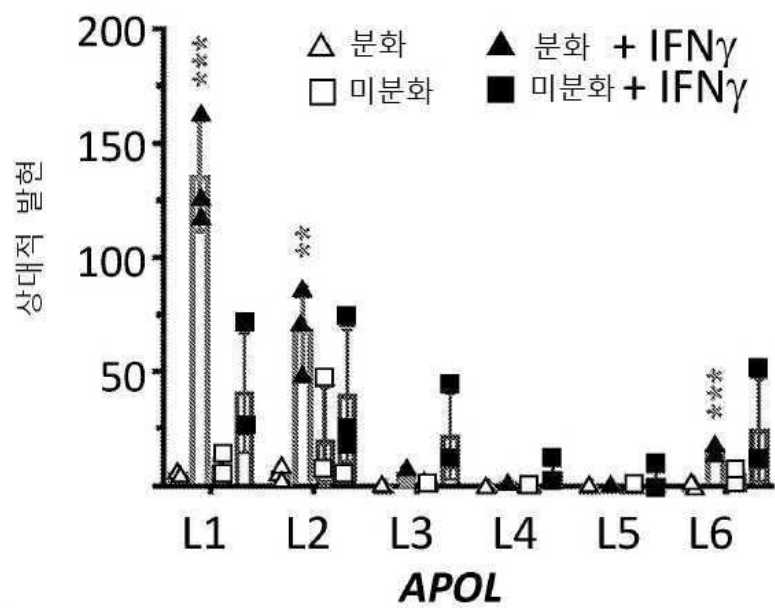
도면21f



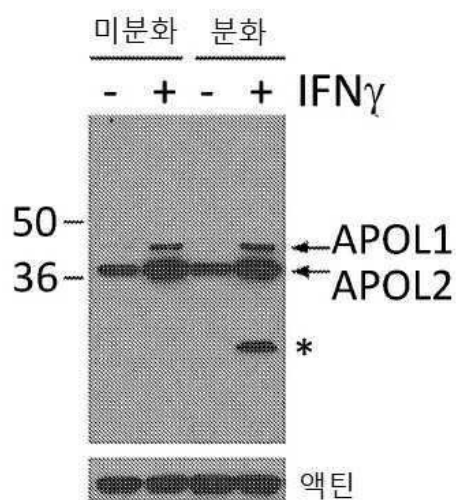
도면21g



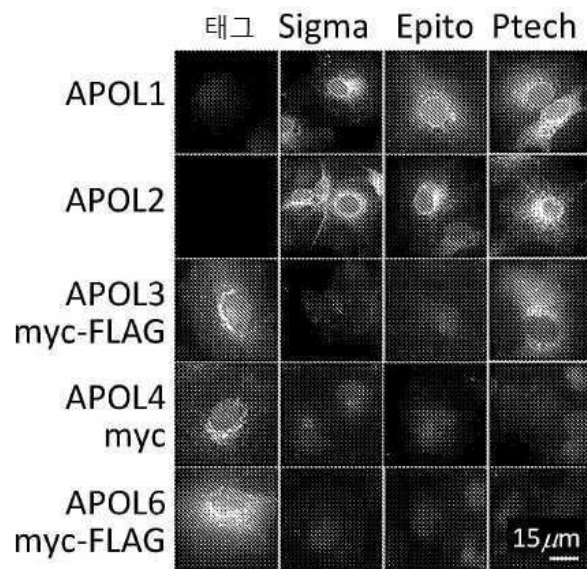
도면21h



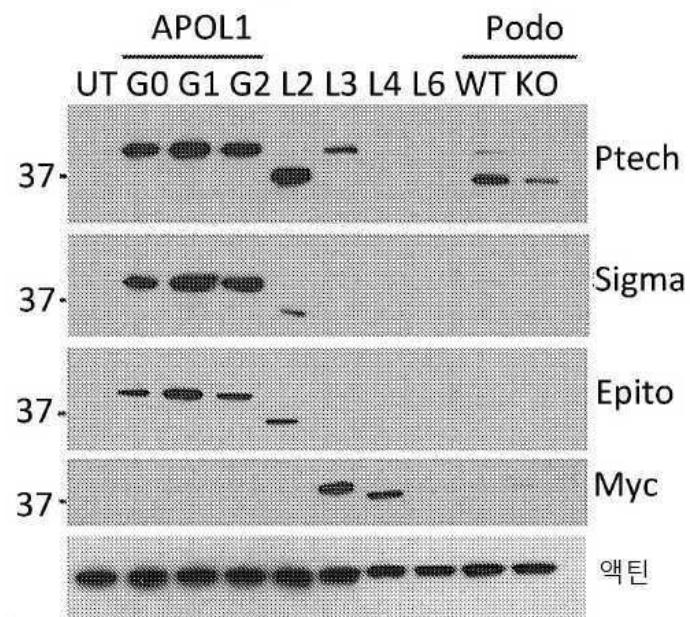
도면21i



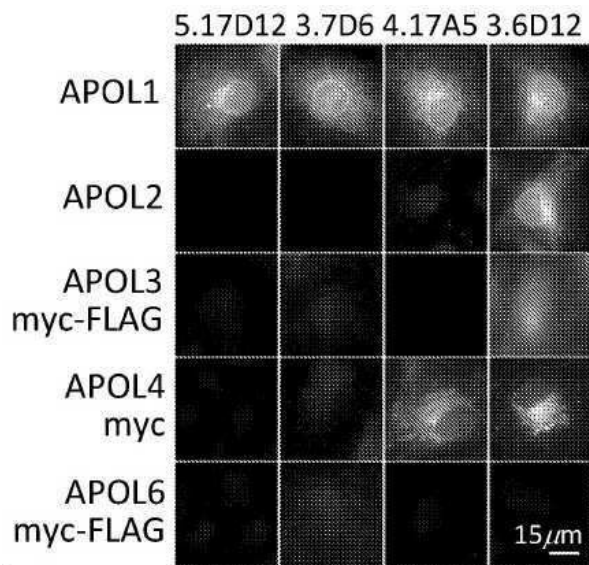
도면22a



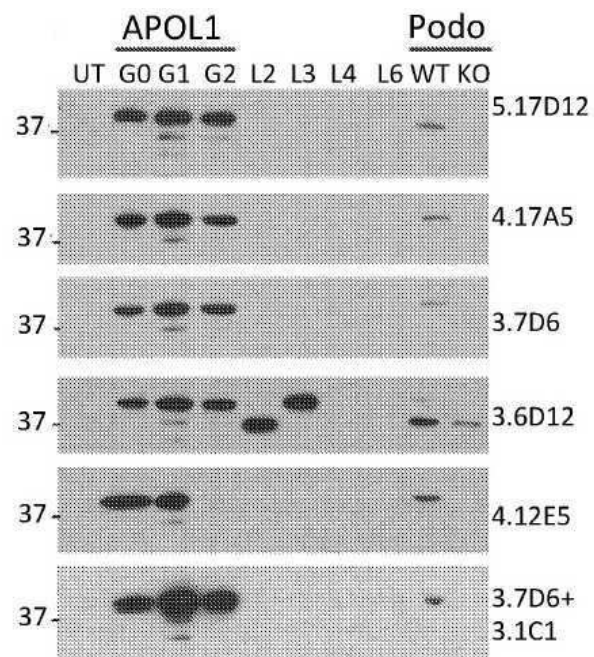
도면22b



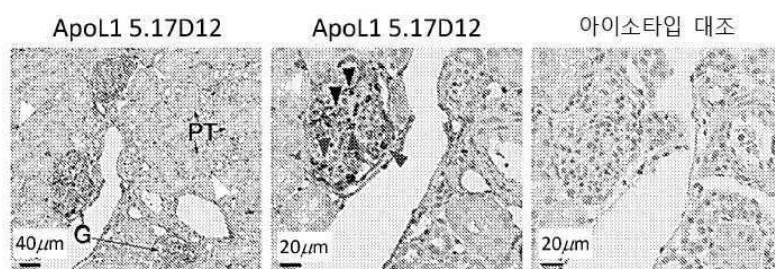
도면22c



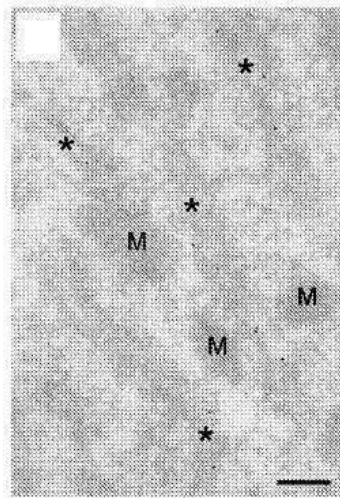
도면22d



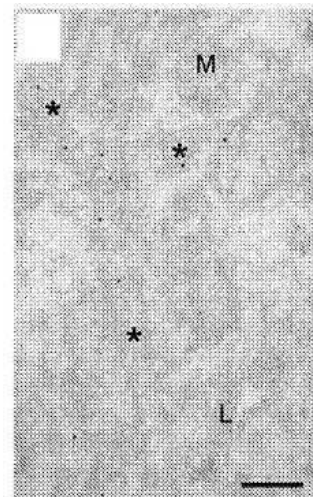
도면23



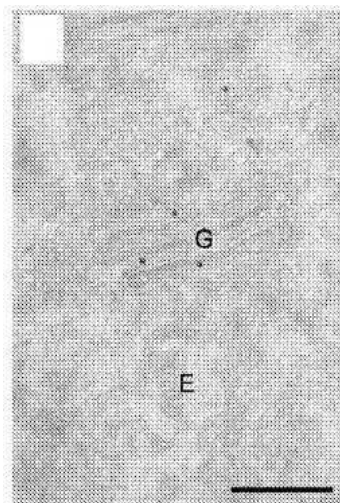
도면24a



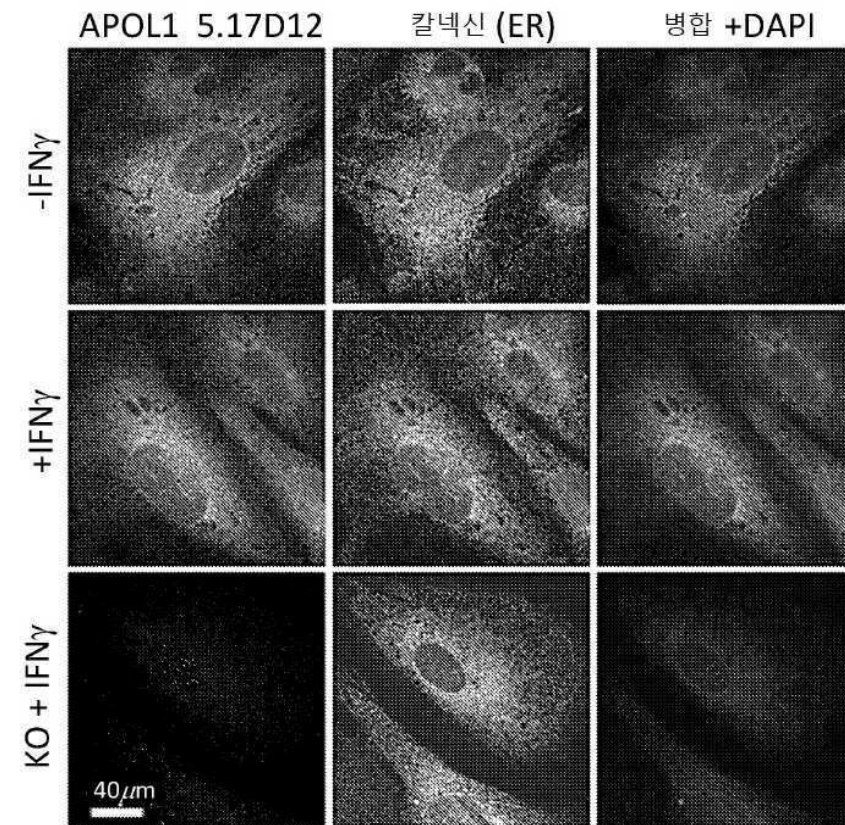
도면24b



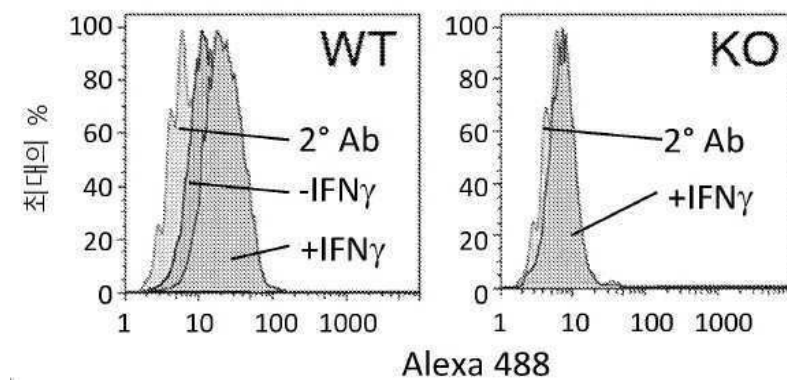
도면24c



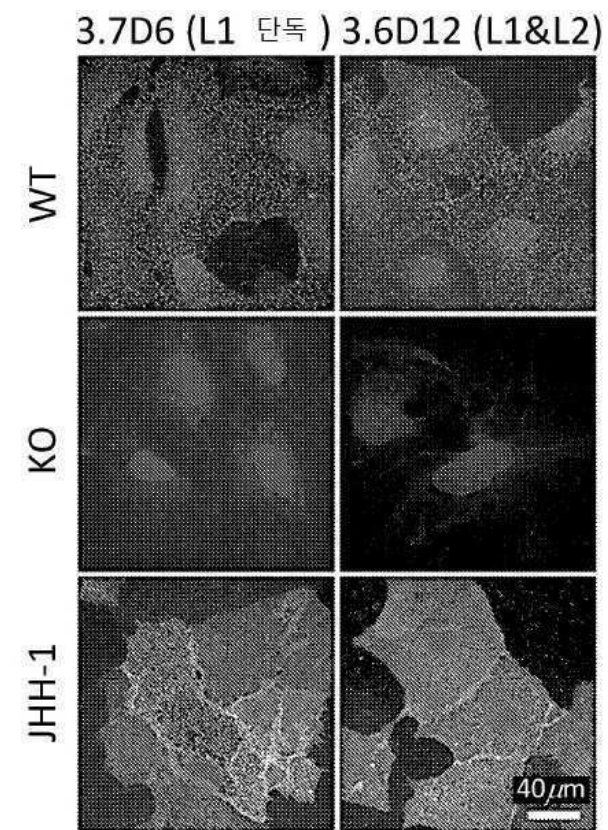
도면24d



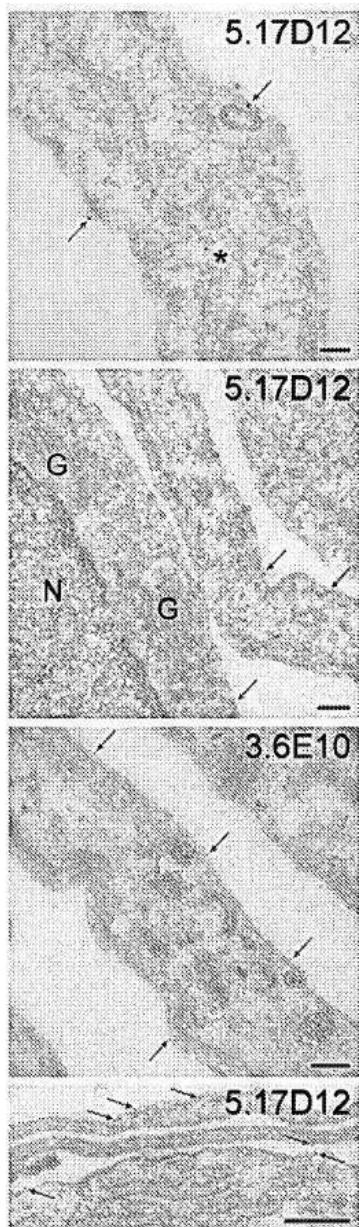
도면25a



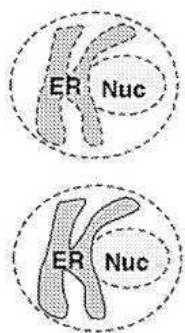
도면25b



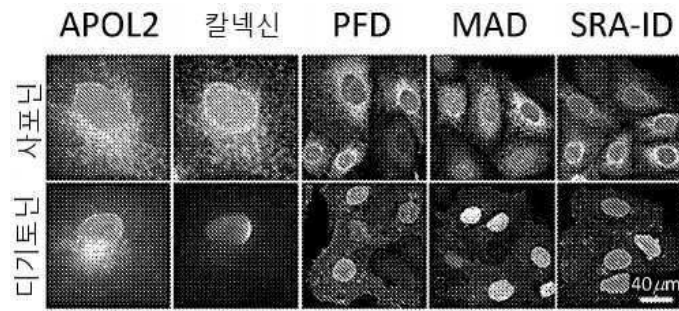
도면25c



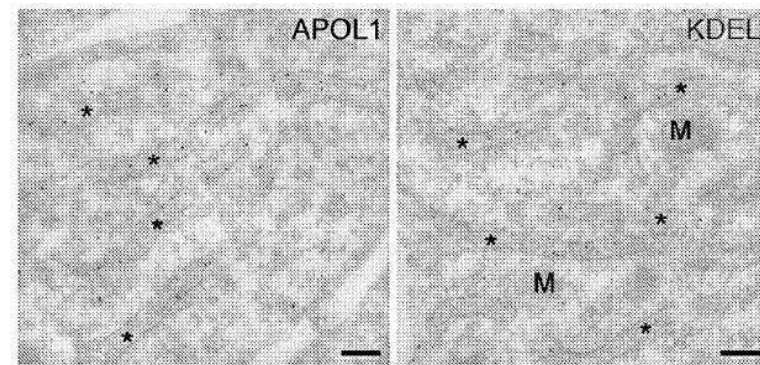
도면26a



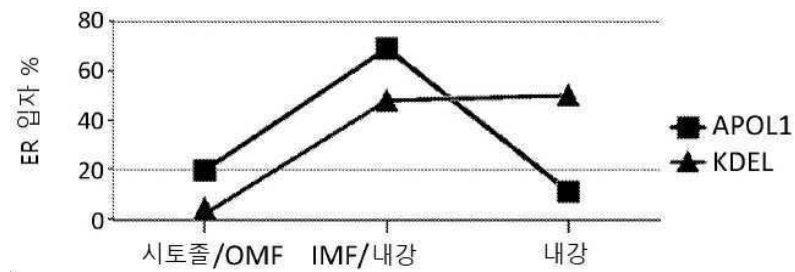
도면26b



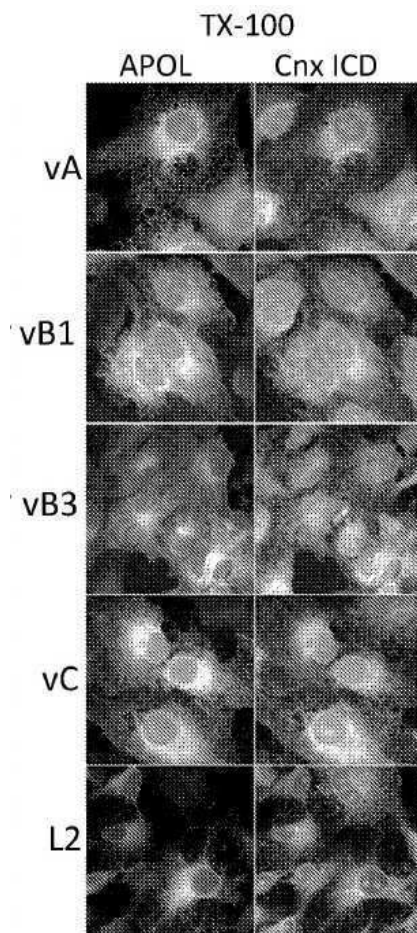
도면26c



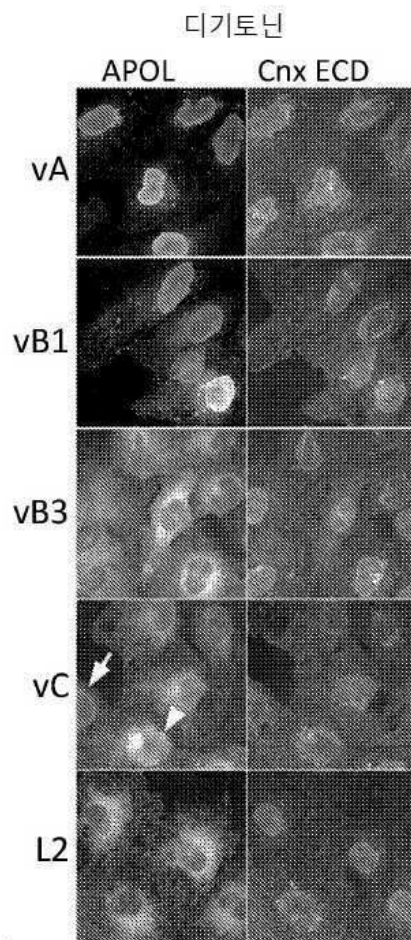
도면26d



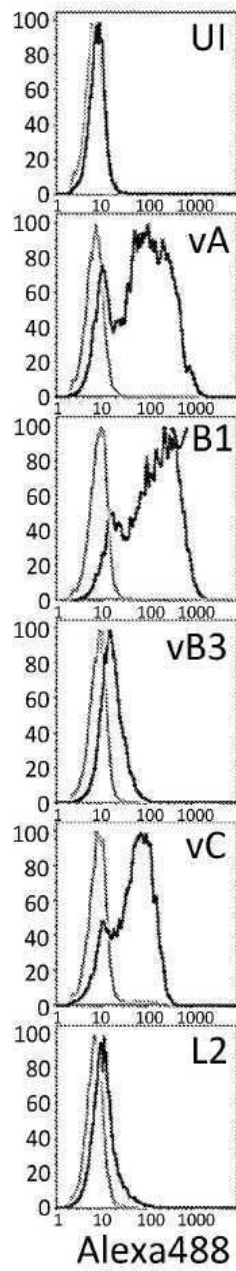
도면27a



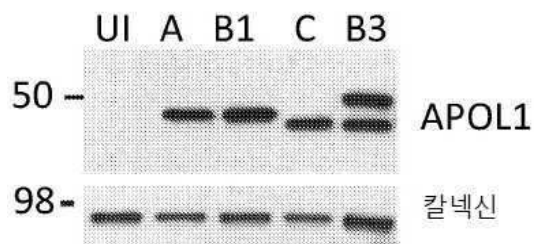
도면27b



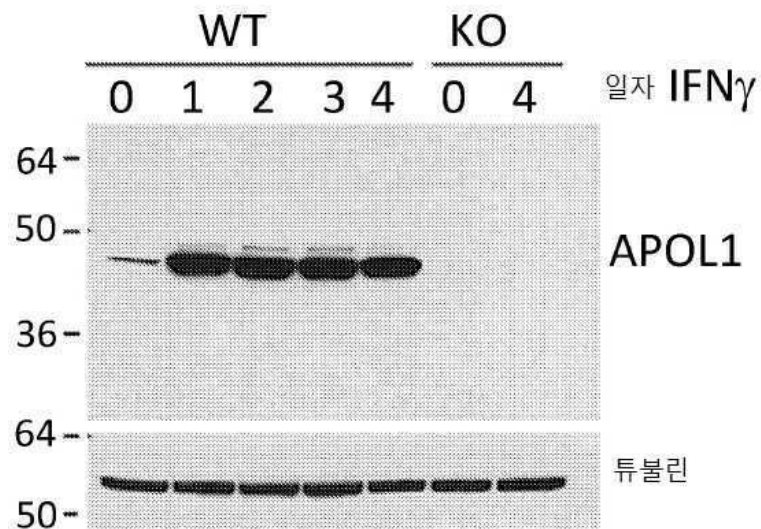
도면27c



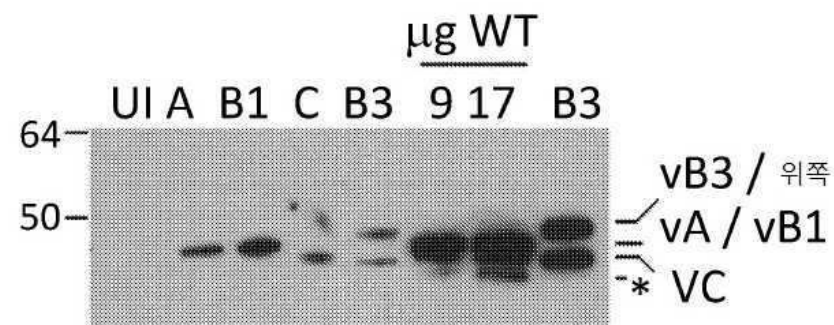
도면27d



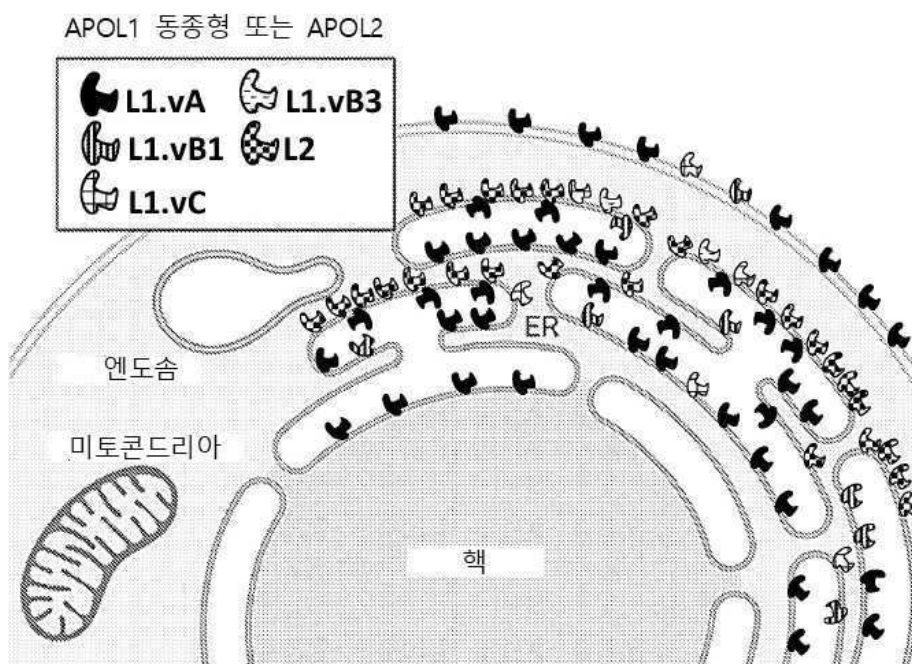
도면28a



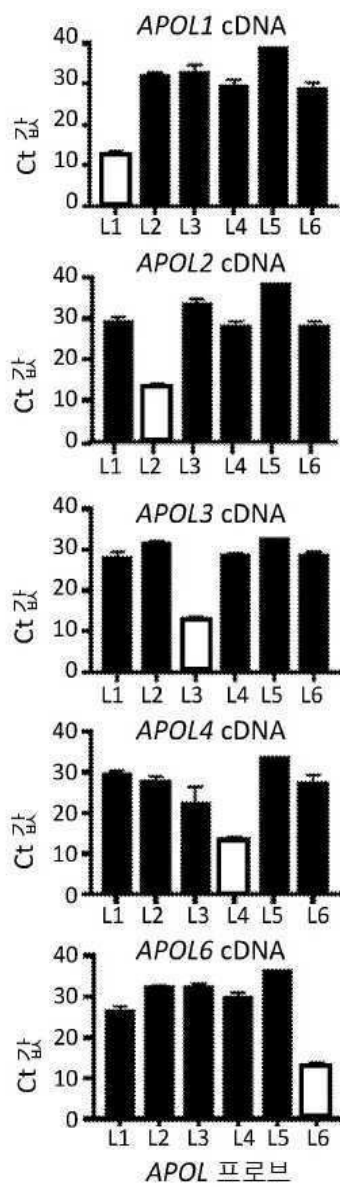
도면28b



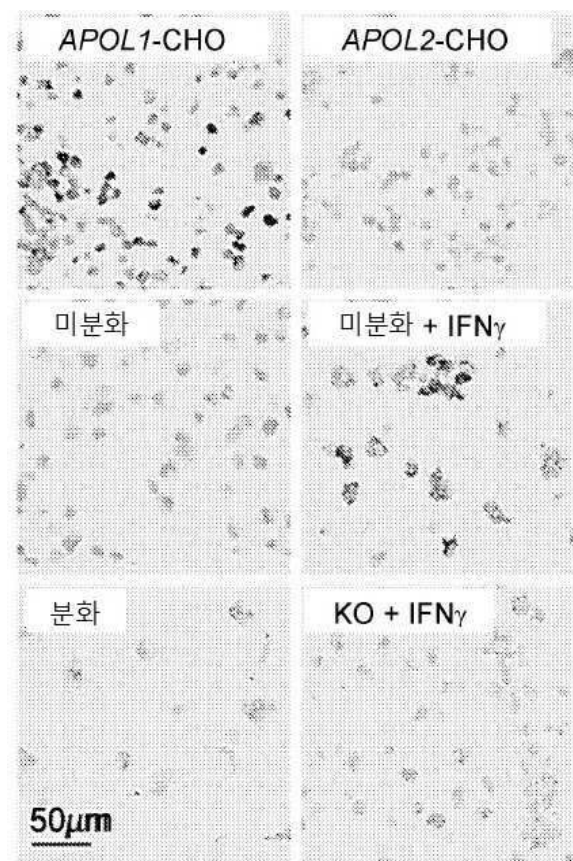
도면29



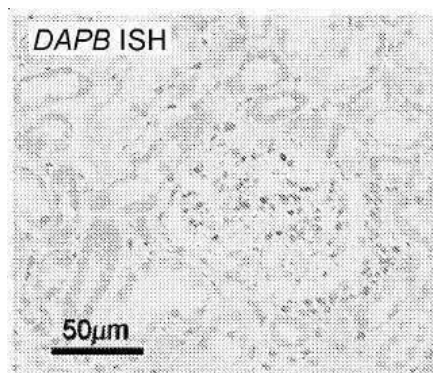
도면30a



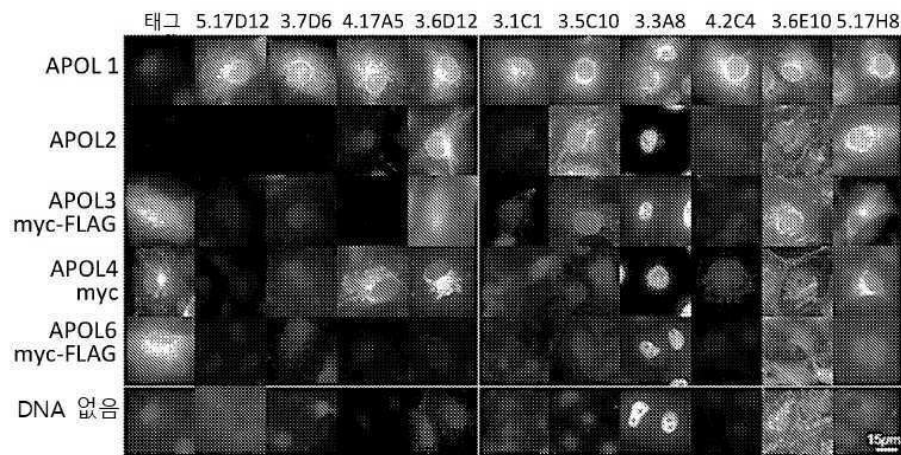
도면30b



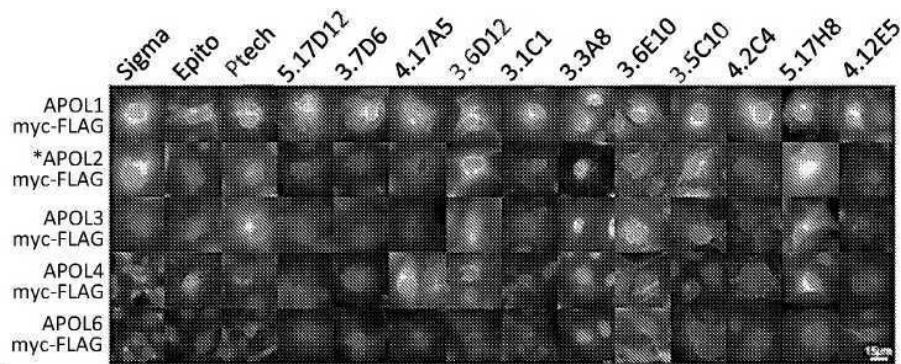
도면30c



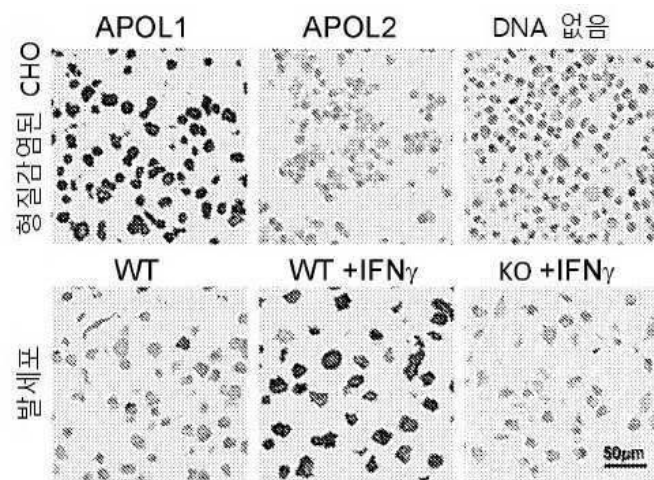
도면31a



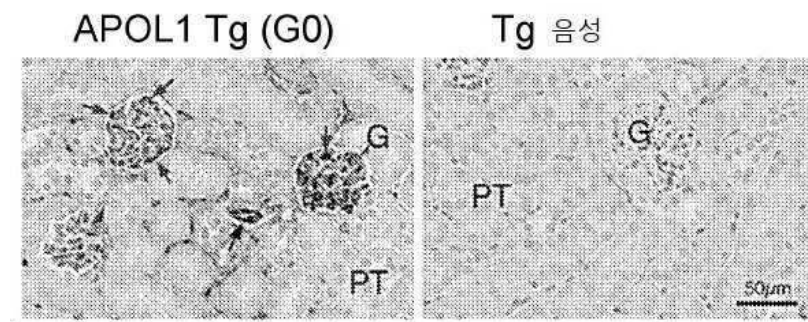
도면31b



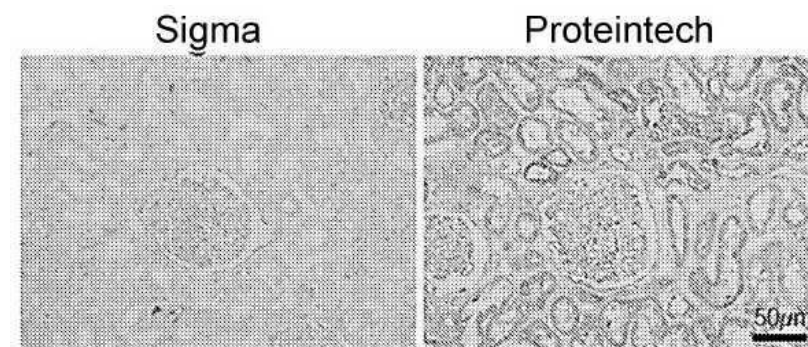
도면32a



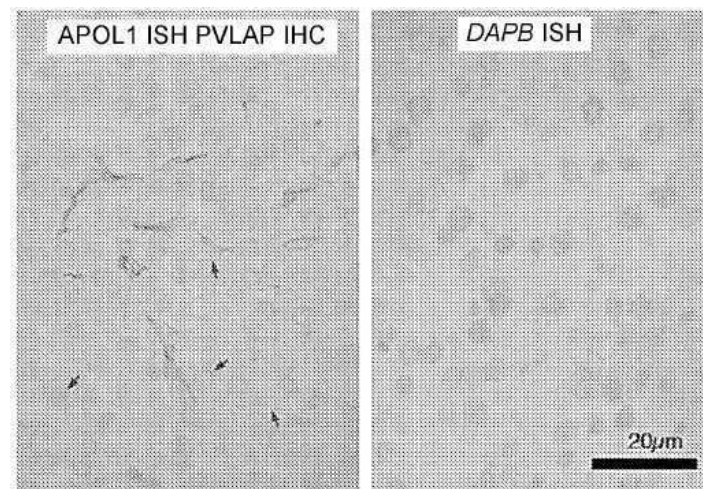
도면32b



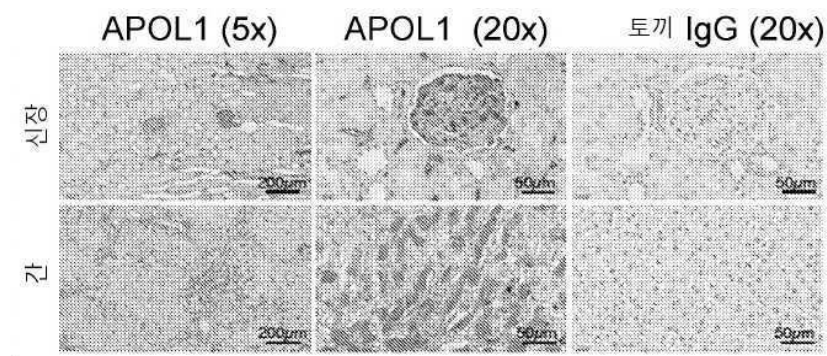
도면32c



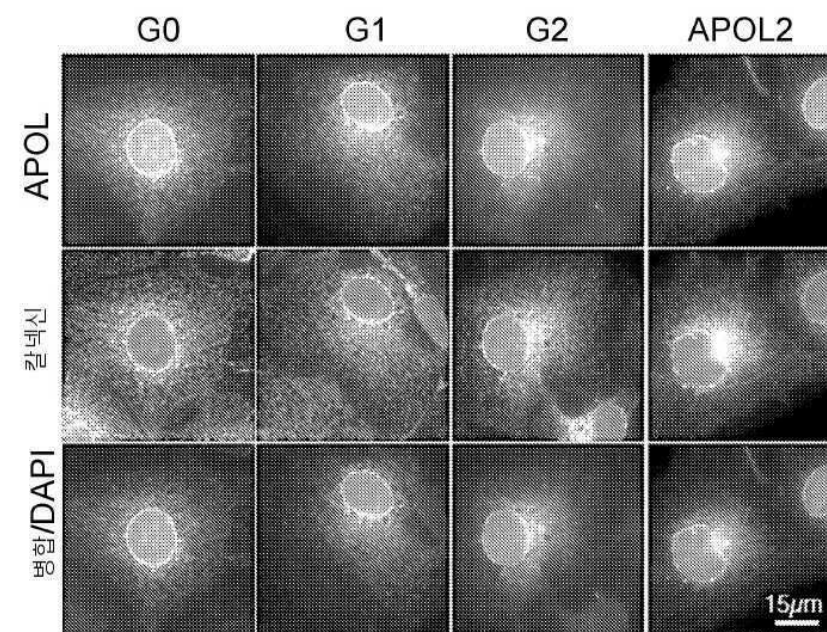
도면33a



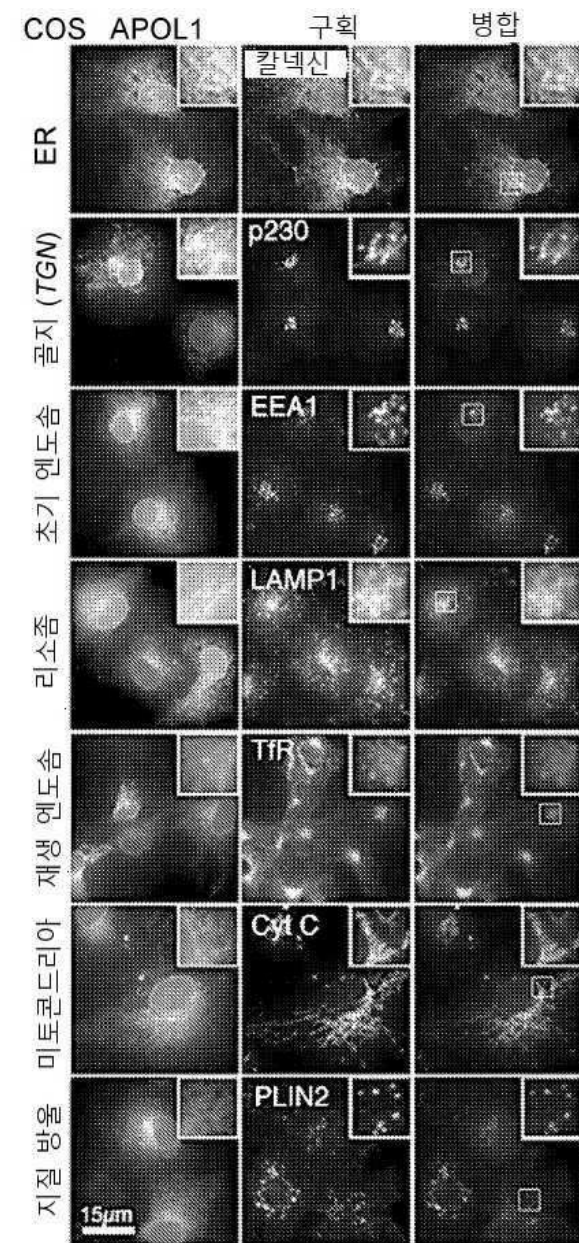
도면33b



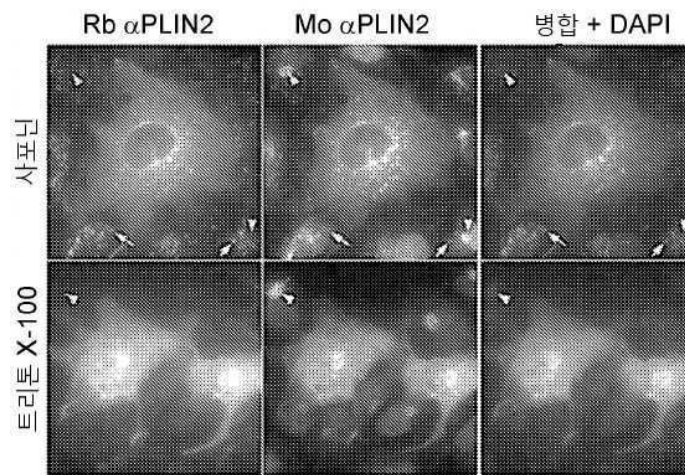
도면34



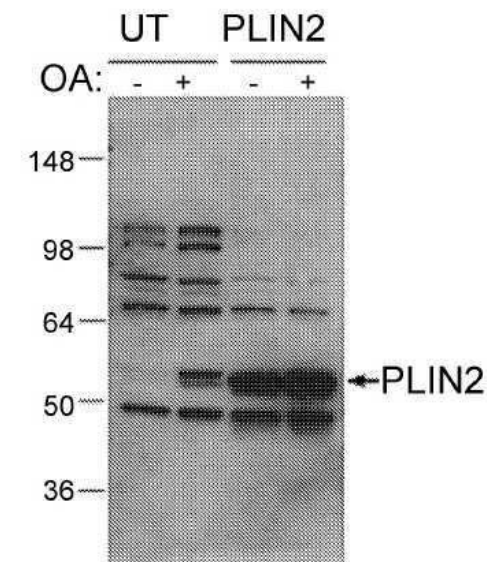
도면35



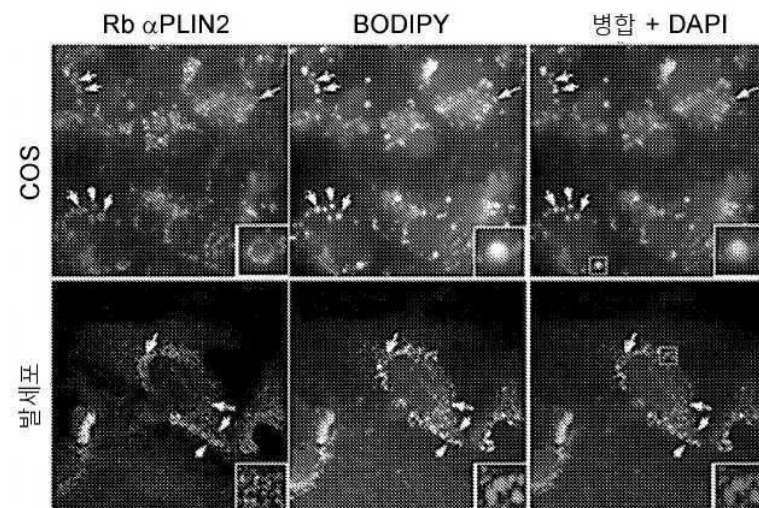
도면36a



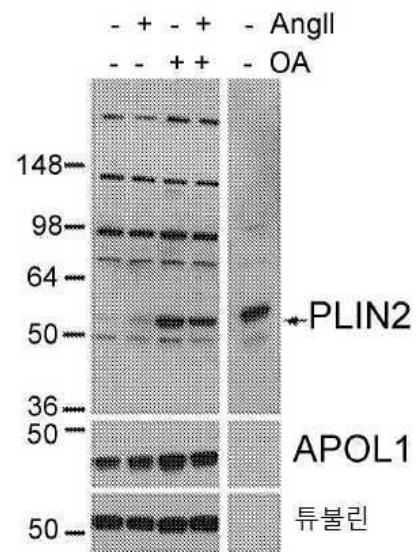
도면36b



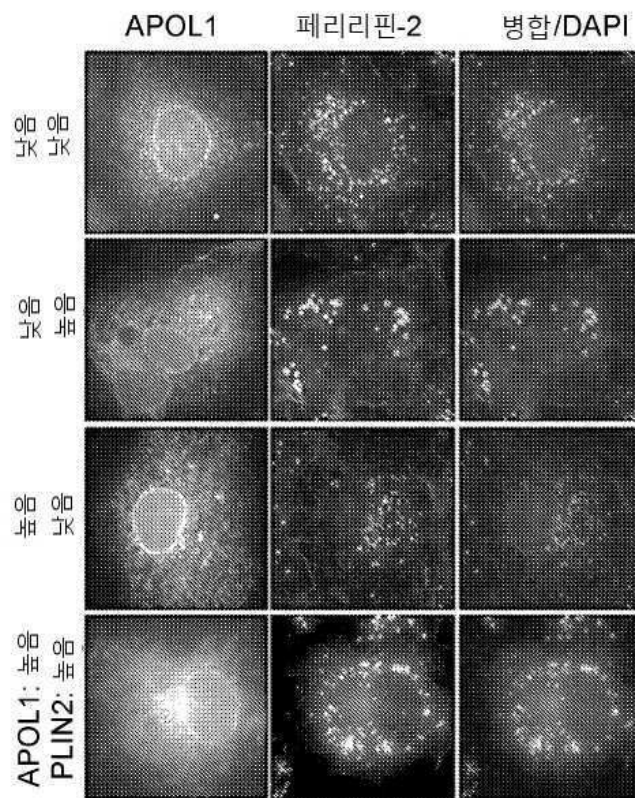
도면36c



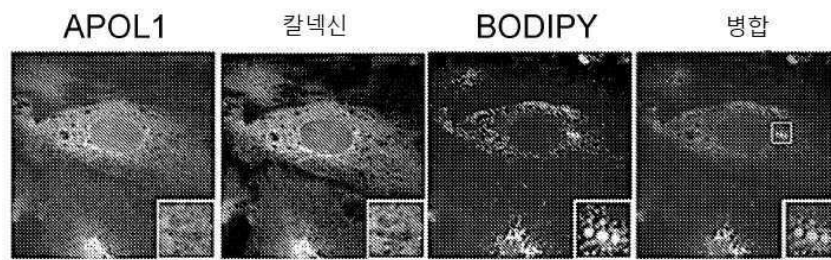
도면36d



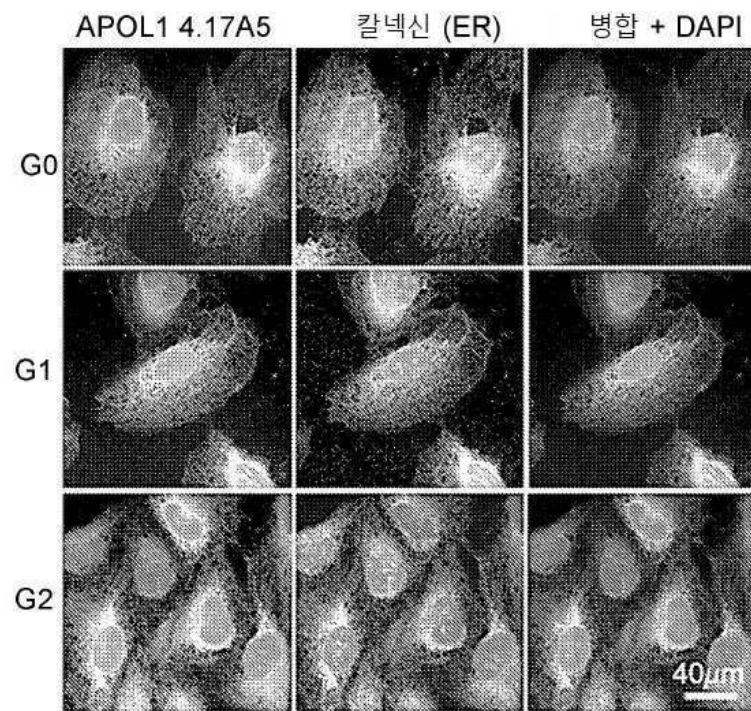
도면37a



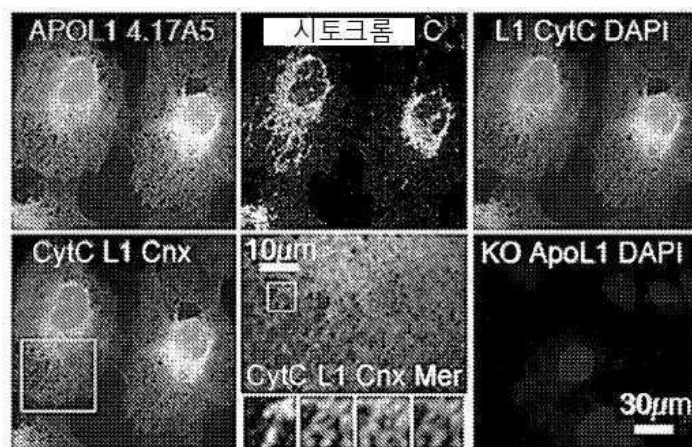
도면37b



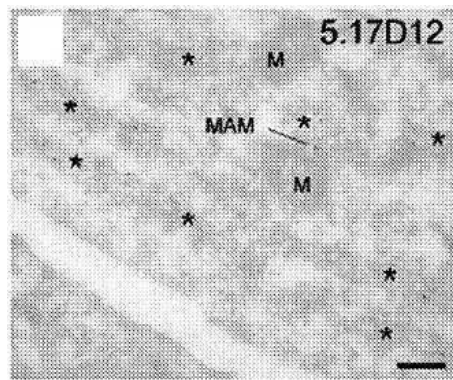
도면38a



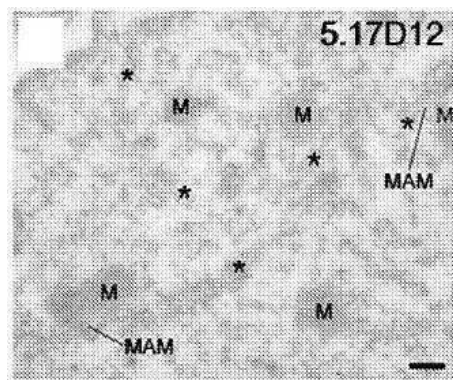
도면38b



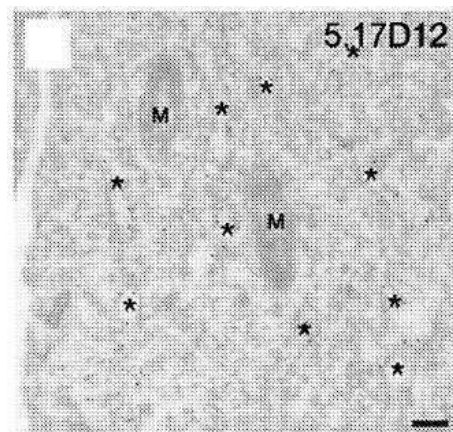
도면39a



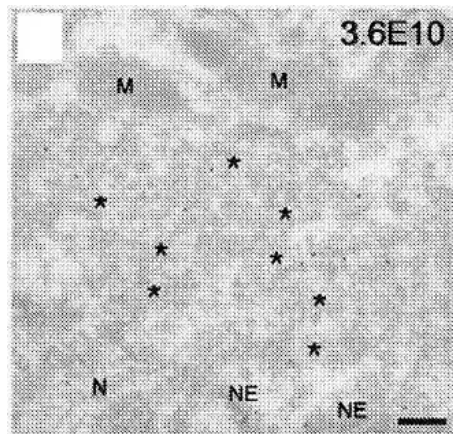
도면39b



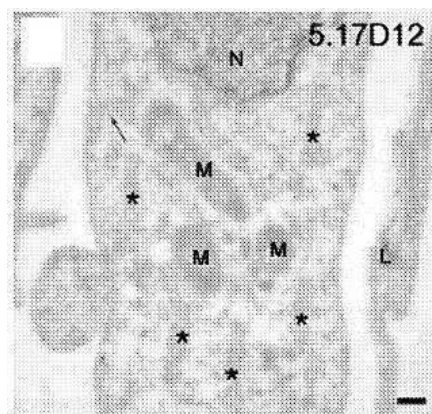
도면39c



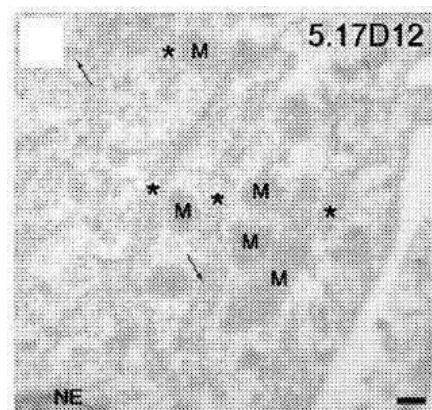
도면39d



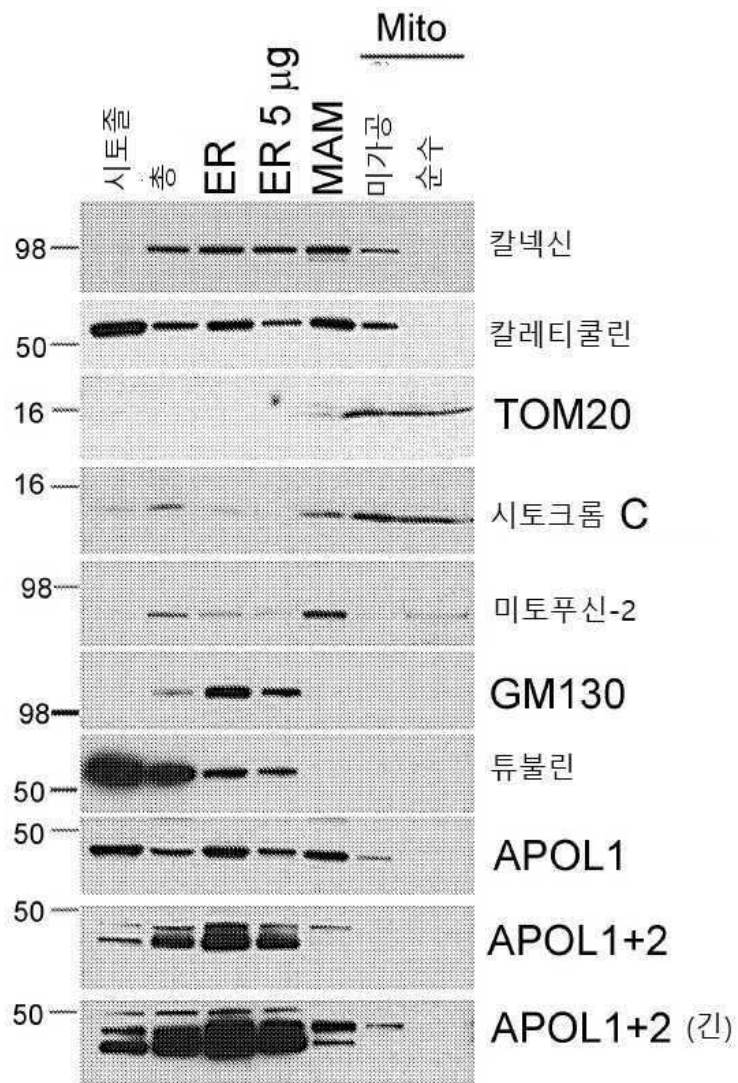
도면39e



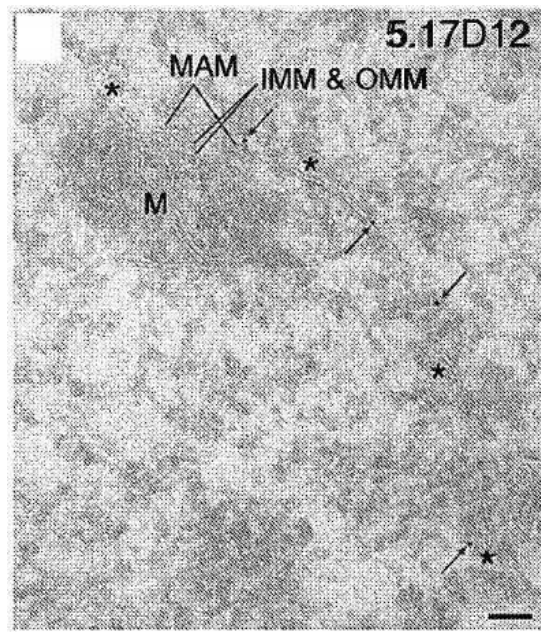
도면39f



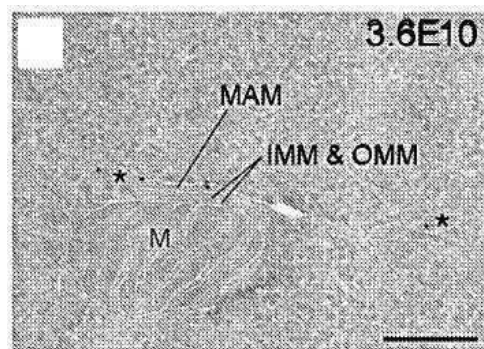
도면40a



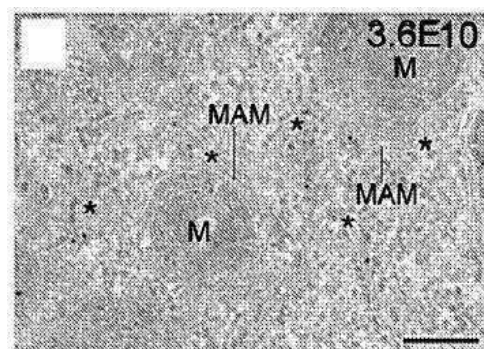
도면40b



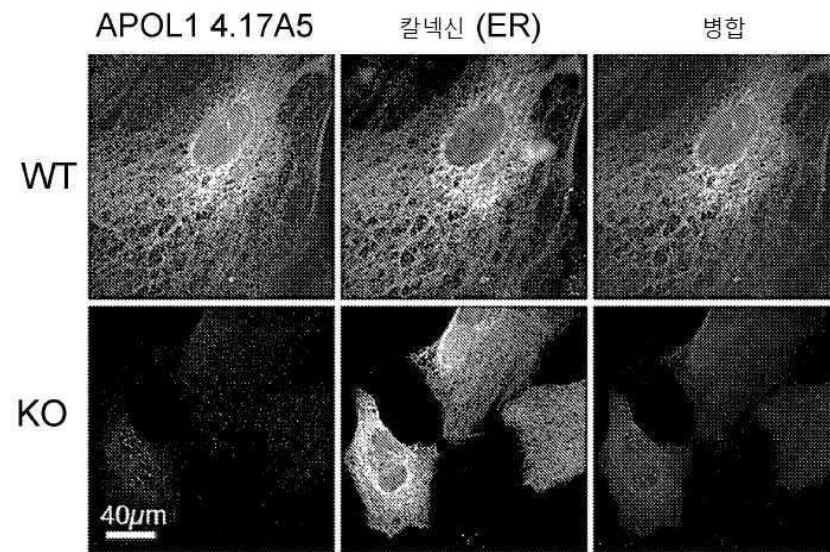
도면40c



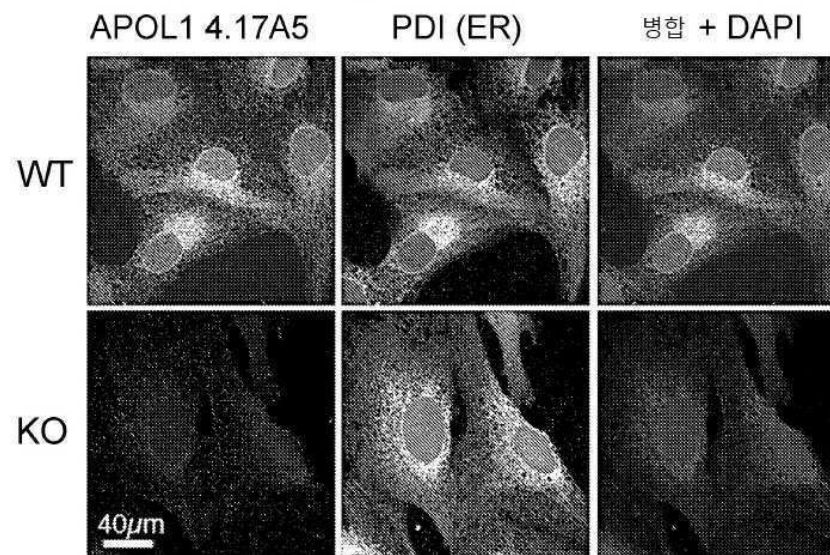
도면40d



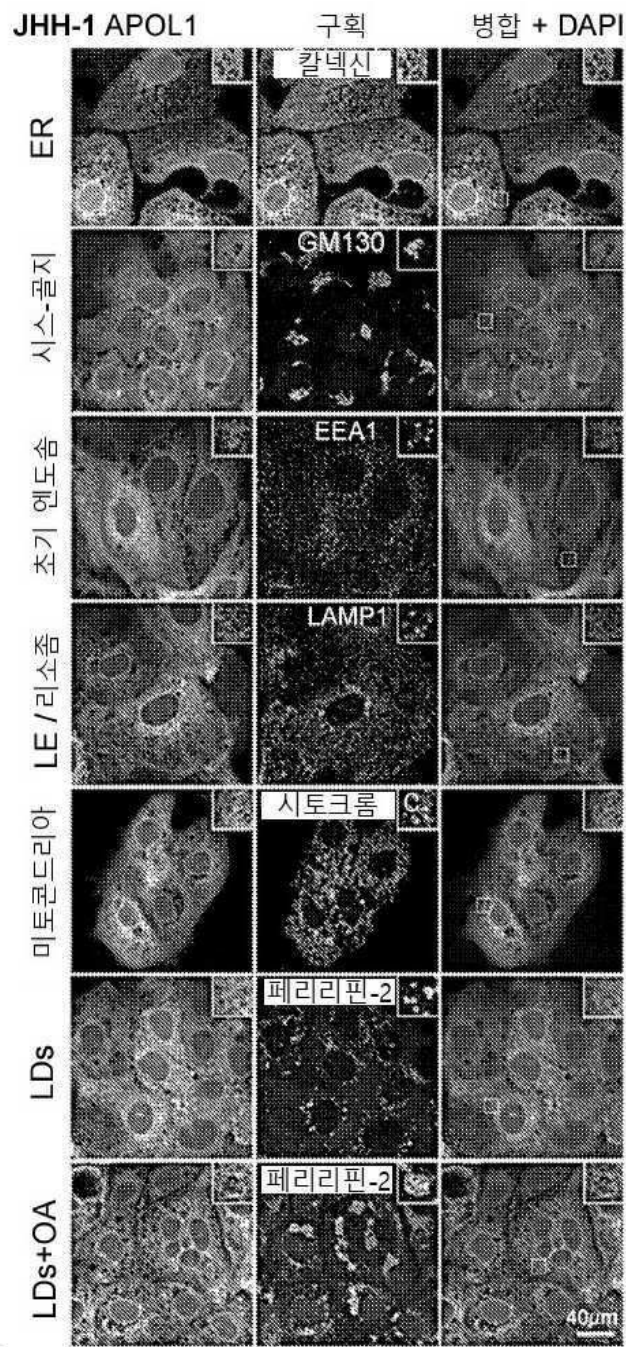
도면41a



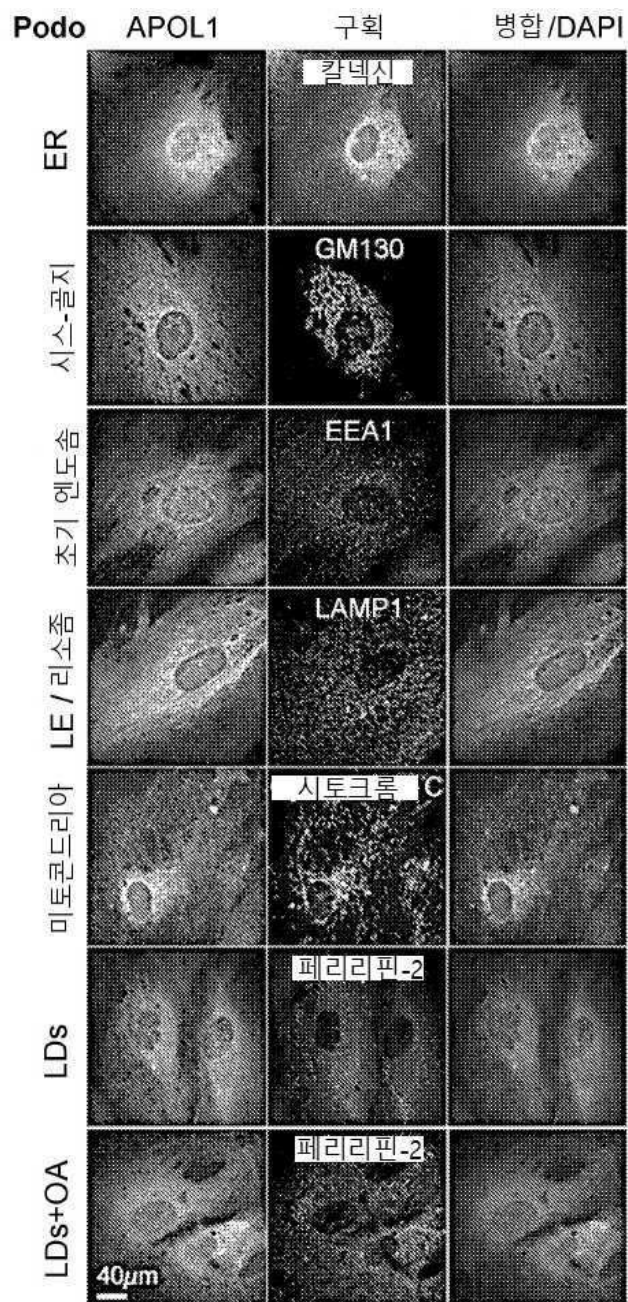
도면41b



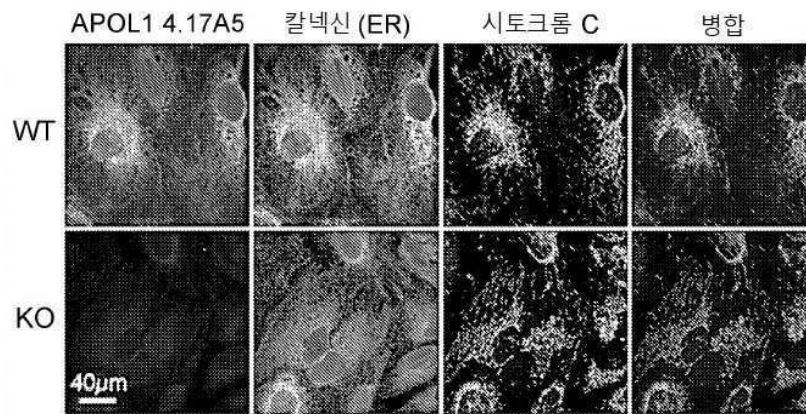
도면42



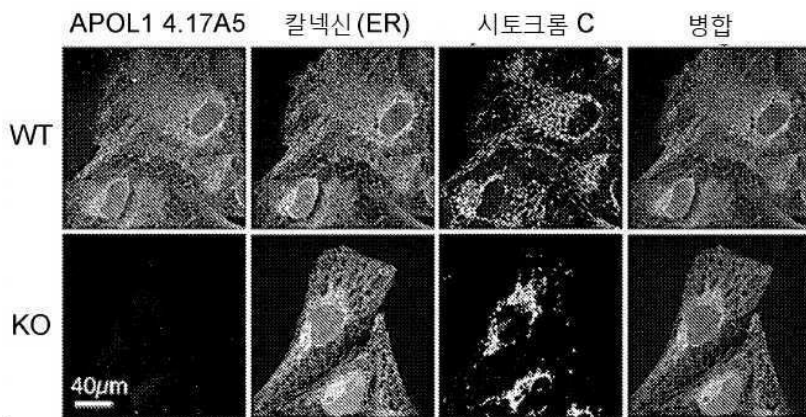
도면43



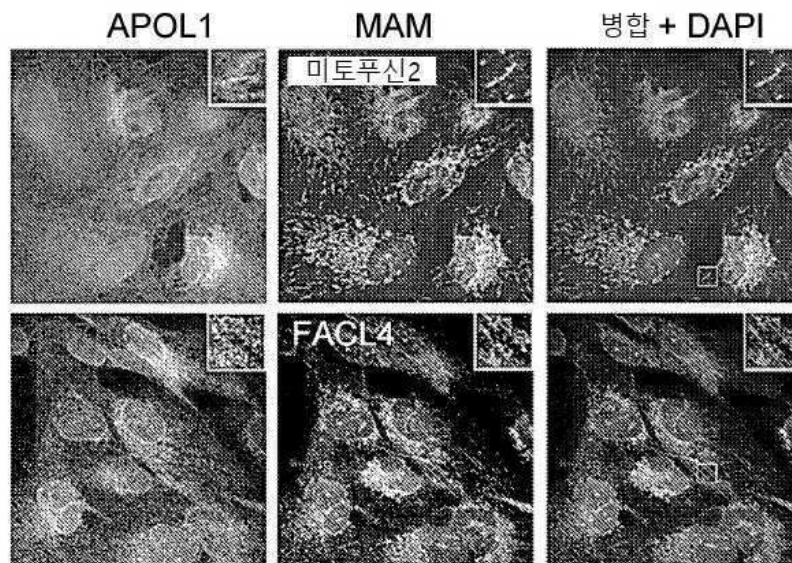
도면44a



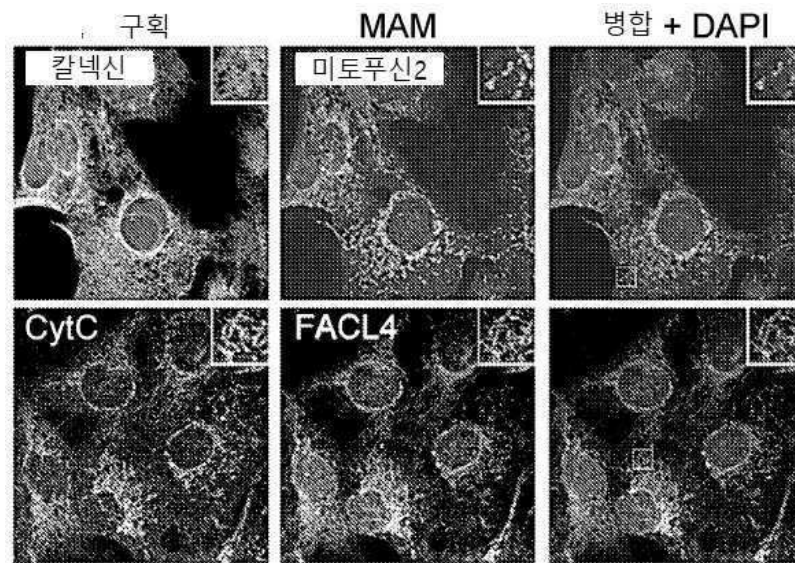
도면44b



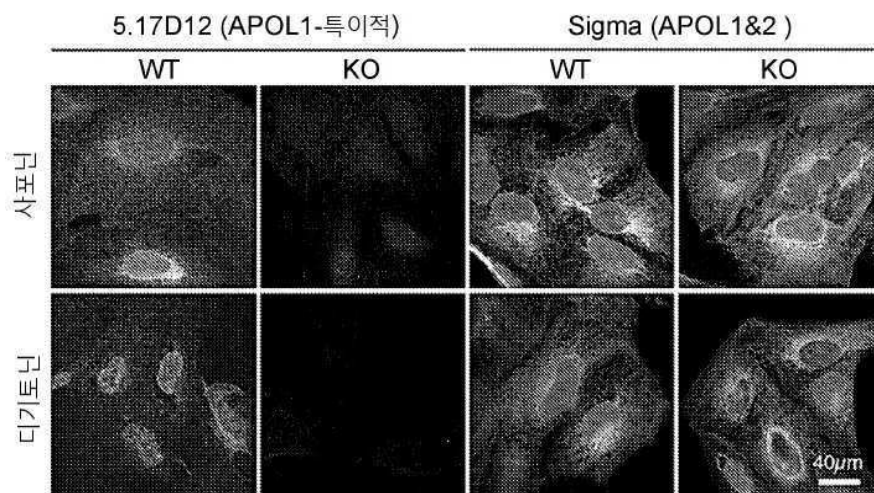
도면45a



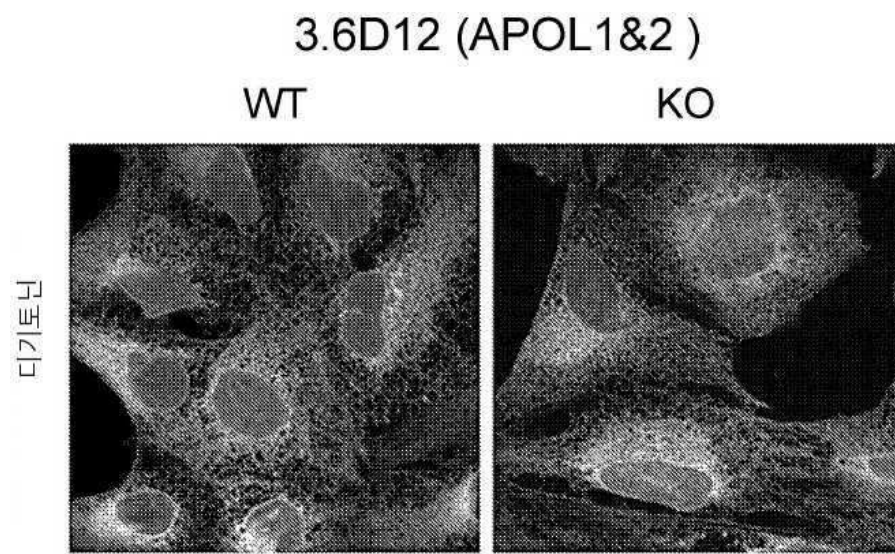
도면45b



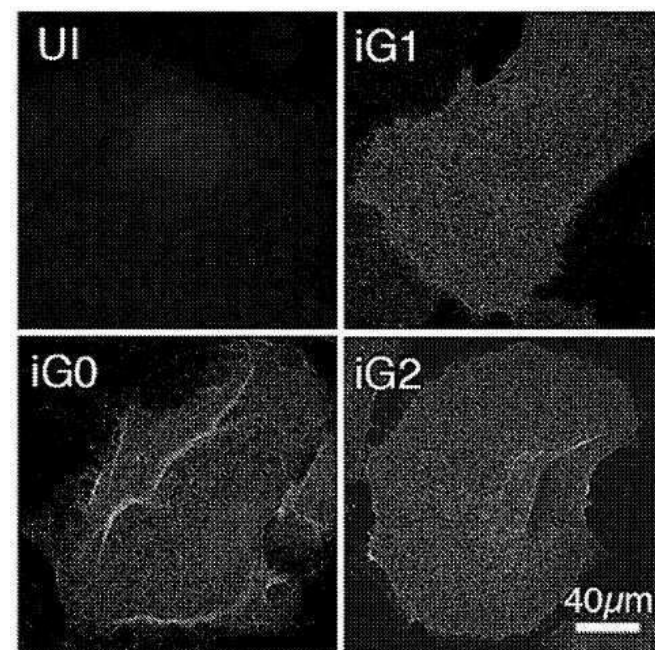
도면46a



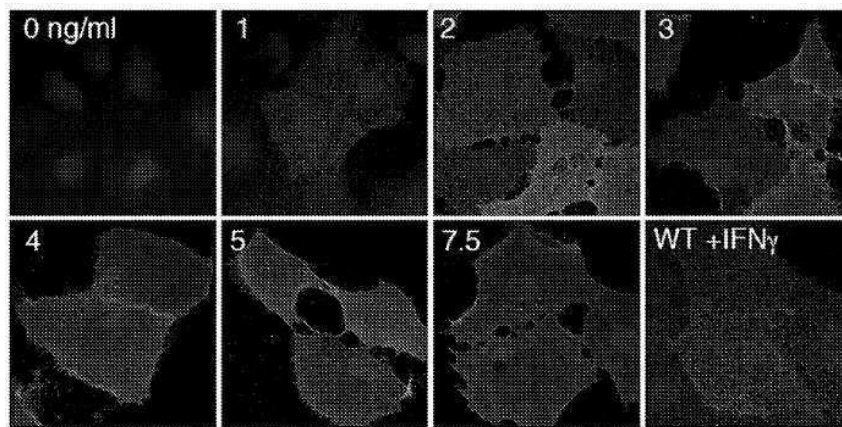
도면46b



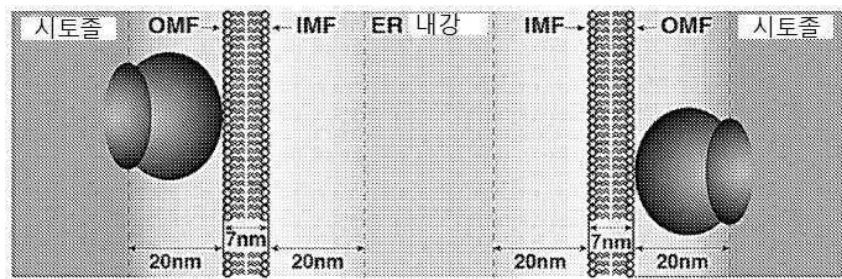
도면47a



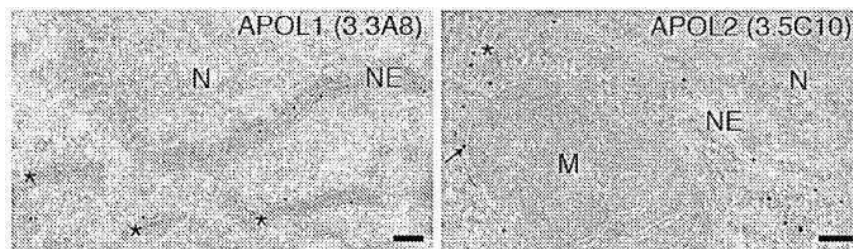
도면47b



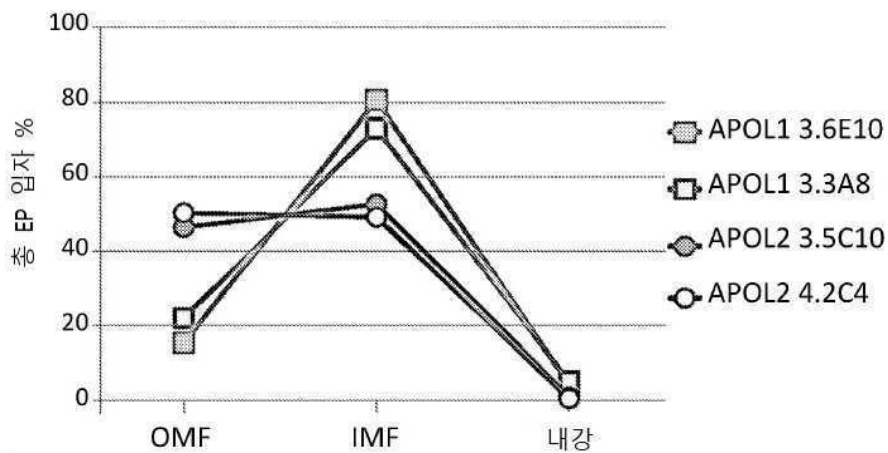
도면48a



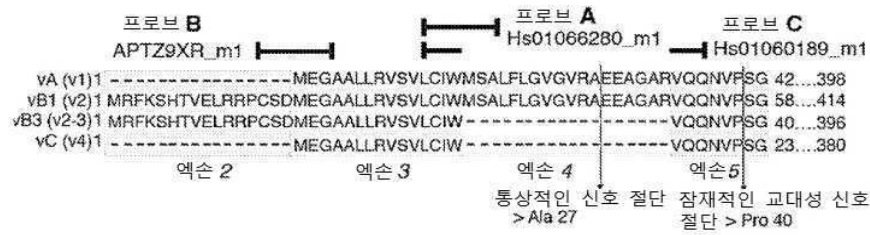
도면48b



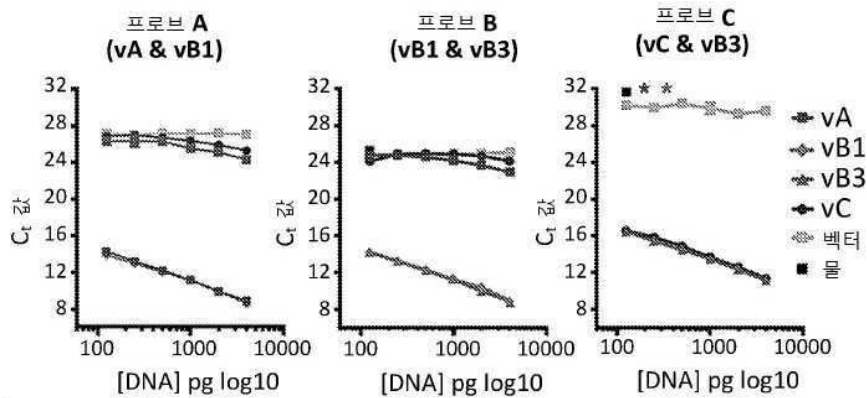
도면48c



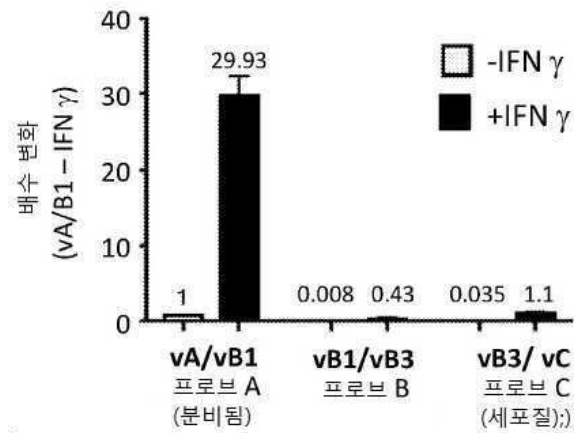
도면49a



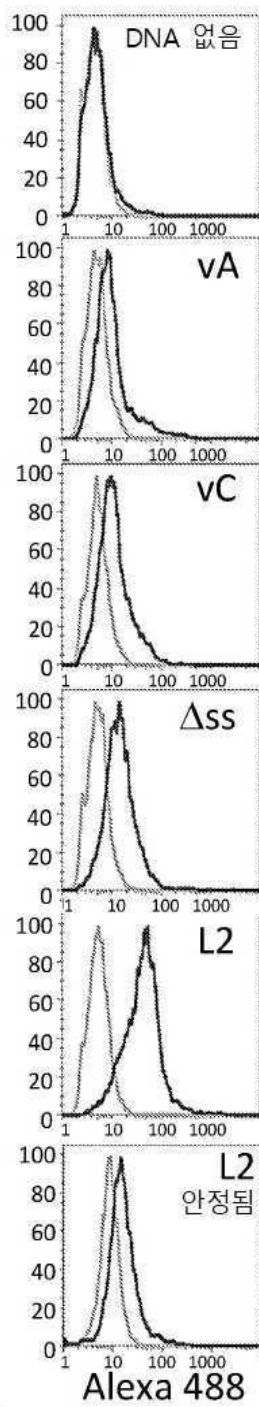
도면49b



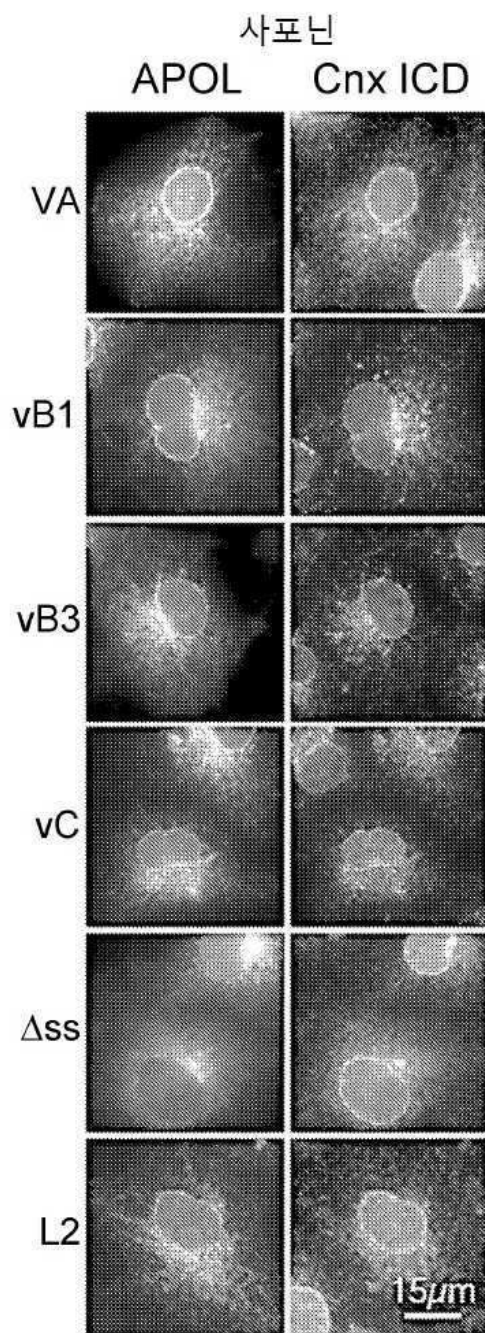
도면49c



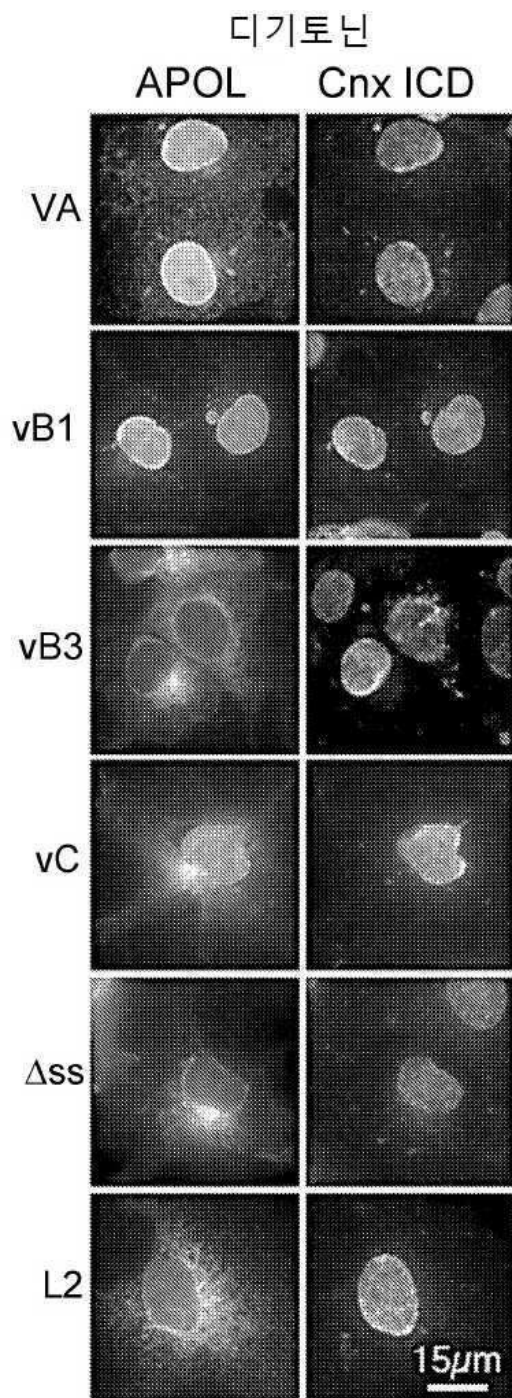
도면50a



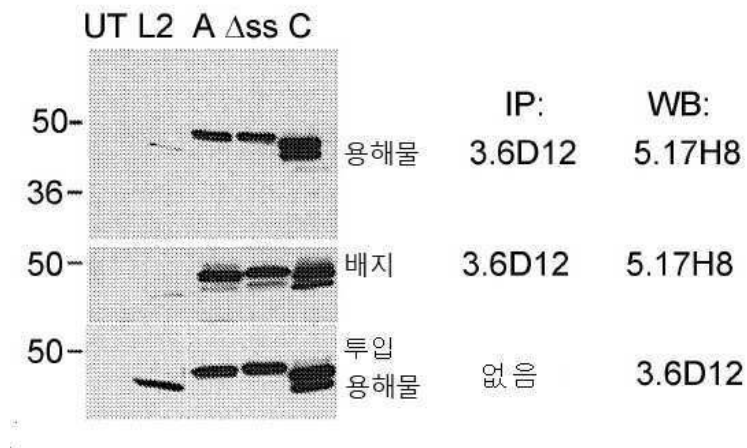
도면50b



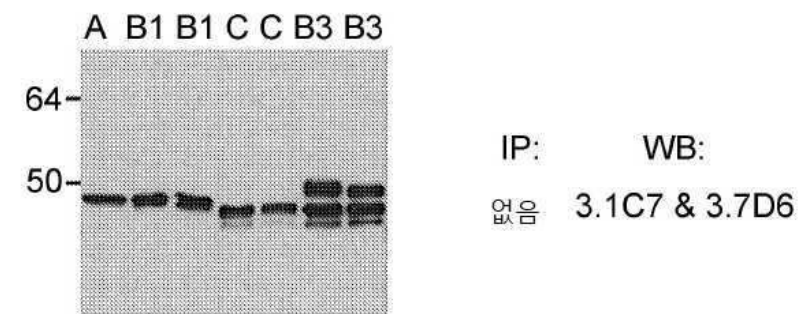
도면50c



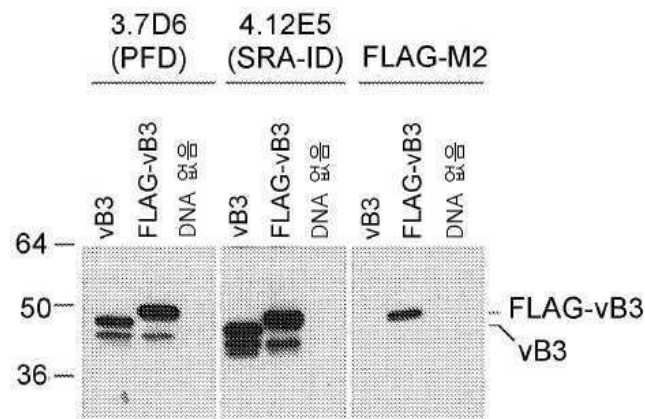
도면51a



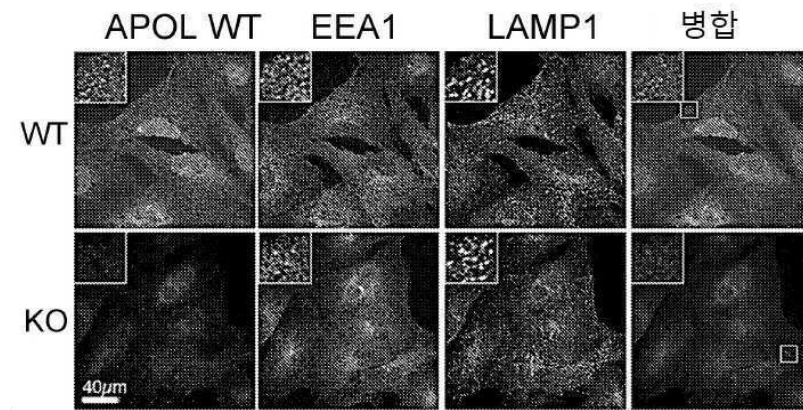
도면51b



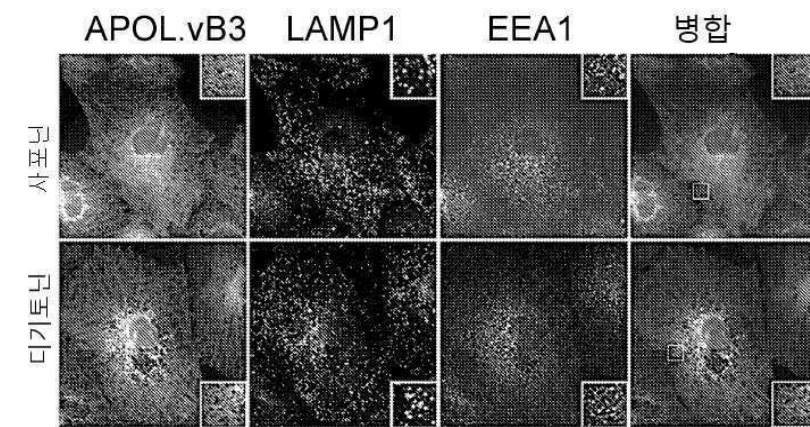
도면51c



도면52a



도면52b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC.

SCALES, Suzanna Jane, et al.

<120> APOLIPOPROTEIN L1-SPECIFIC ANTIBODIES AND METHODS OF USE

<130> 01164-0003-00PCT

<150> US 62/953,097

<151> 2019-12-23

<160> 220

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 398

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(398)

<223> Human APOL1 (with leader sequence) G0 form EMR variant Accession
no. NP003652

<400> 1

Met Glu Gly Ala Ala Leu Leu Arg Val Ser Val Leu Cys Ile Trp Met

1 5 10 15
Ser Ala Leu Phe Leu Gly Val Gly Val Arg Ala Glu Glu Ala Gly Ala

20 25 30
Arg Val Gln Gln Asn Val Pro Ser Gly Thr Asp Thr Gly Asp Pro Gln

35 40 45
Ser Lys Pro Leu Gly Asp Trp Ala Ala Gly Thr Met Asp Pro Glu Ser

50 55 60
Ser Ile Phe Ile Glu Asp Ala Ile Lys Tyr Phe Lys Glu Lys Val Ser

65 70 75 80
Thr Gln Asn Leu Leu Leu Leu Thr Asp Asn Glu Ala Trp Asn Gly

85 90 95
Phe Val Ala Ala Ala Glu Leu Pro Arg Asn Glu Ala Asp Glu Leu Arg

100 105 110
Lys Ala Leu Asp Asn Leu Ala Arg Gln Met Ile Met Lys Asp Lys Asn

115 120 125
Trp His Asp Lys Gly Gln Gln Tyr Arg Asn Trp Phe Leu Lys Glu Phe

130 135 140
Pro Arg Leu Lys Ser Glu Leu Glu Asp Asn Ile Arg Arg Leu Arg Ala

145 150 155 160
Leu Ala Asp Gly Val Gln Lys Val His Lys Gly Thr Thr Ile Ala Asn

165 170 175
Val Val Ser Gly Ser Leu Ser Ile Ser Ser Gly Ile Leu Thr Leu Val

180 185 190
Gly Met Gly Leu Ala Pro Phe Thr Glu Gly Gly Ser Leu Val Leu Leu

195 200 205

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

<210> 2

<211> 370

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(370)

<223> Human APOL1 without leader sequence G0 form EMR variant
NP003652

<400> 2

Glu Ala Gly Ala Arg Val Gln Gln Asn Val Pro Ser Gly Thr Asp Thr
1 5 10 15

Gly Asp Pro Gln Ser Lys Pro Leu Gly Asp Trp Ala Ala Gly Thr Met
20 25 30

Asp Pro Glu Ser Ser Ile Phe Ile Glu Asp Ala Ile Lys Tyr Phe Lys
35 40 45

Glu Lys Val Ser Thr Gln Asn Leu Leu Leu Leu Thr Asp Asn Glu
50 55 60

Ala Trp Asn Gly Phe Val Ala Ala Ala Glu Leu Pro Arg Asn Glu Ala
65 70 75 80

Asp Glu Leu Arg Lys Ala Leu Asp Asn Leu Ala Arg Gln Met Ile Met
85 90 95

Lys Asp Lys Asn Trp His Asp Lys Gly Gln Gln Tyr Arg Asn Trp Phe
100 105 110

Leu Lys Glu Phe Pro Arg Leu Lys Ser Glu Leu Glu Asp Asn Ile Arg
115 120 125

Arg Leu Arg Ala Leu Ala Asp Gly Val Gln Lys Val His Lys Gly Thr
130 135 140

Thr Ile Ala Asn Val Val Ser Gly Ser Leu Ser Ile Ser Ser Gly Ile
145 150 155 160

Leu Thr Leu Val Gly Met Gly Leu Ala Pro Phe Thr Glu Gly Gly Ser
165 170 175

Leu Val Leu Leu Glu Pro Gly Met Glu Leu Gly Ile Thr Ala Ala Leu
180 185 190

Thr Gly Ile Thr Ser Ser Thr Met Asp Tyr Gly Lys Lys Trp Trp Thr
195 200 205

Gln Ala Gln Ala His Asp Leu Val Ile Lys Ser Leu Asp Lys Leu Lys
210 215 220

Glu Val Arg Glu Phe Leu Gly Glu Asn Ile Ser Asn Phe Leu Ser Leu
225 230 235 240

Ala Gly Asn Thr Tyr Gln Leu Thr Arg Gly Ile Gly Lys Asp Ile Arg
245 250 255
Ala Leu Arg Arg Ala Arg Ala Asn Leu Gln Ser Val Pro His Ala Ser
260 265 270
Ala Ser Arg Pro Arg Val Thr Glu Pro Ile Ser Ala Glu Ser Gly Glu
275 280 285

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

Lys Leu Asn Ile Leu Asn Asn Asn Tyr Lys Ile Leu Gln Ala Asp Gln
355 360 365

Glu Leu
370

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6D12 VH CDR1

<400> 3

Arg Cys Ala Met Ser

1 5

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6D12 VH CDR2

<400> 4

Ala Ile Ser Arg Asp Ser Thr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 5

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6D12 VH CDR3

<400> 5

Gln Ile Asp Asp Tyr Tyr Val Asp Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6D12 VL CDR1

<400> 6

Arg Ala Ser Lys Ile Ile Ser Lys Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic: 3.6D12 VL CDR2

<400> 7

Ser Gly Phe Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6D12 VL CDR3

<400> 8

Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 9

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6D12 VH

<400> 9

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Arg Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Arg Asp Ser Thr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val

115

<210> 10

<211> 100

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6D12 VL

<400> 10

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

1 5 10 15

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

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Ala
100

<210> 11

<211> 470

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6D12 HC LALAPG mIgG2a

<400> 11

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

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

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Ile Asp Asp Tyr Tyr Val Asp Ala Leu Asp
 115 120 125
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140
 Gly Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly
 145 150 155 160

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

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

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

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

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

 Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys
 420 425 430
 Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys
 435 440 445
 Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe
 450 455 460
 Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 465 470
 <210> 12
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Synthetic: 3.6D12 LC LALAPG mIgG2a
 <400> 12
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala
 20 25 30
 Ser Pro Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ile Ile
 35 40 45
 Ser Lys Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Ile Lys

 50 55 60
 Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Phe Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg
 65 70 75 80
 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

85 90 95
 Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu
 100 105 110
 Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala

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

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

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3B6 VH CDR1

<400> 13

Ser His Trp Met Gln

1 5

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3B6 VH CDR2

<400> 14

Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Lys Phe Thr Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3B6 VH CDR3

<400> 15

Asn Leu Tyr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 16

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3B6 VL CDR1

<400> 16

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Phe Ala Asn

1 5 10

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3B6 VL CDR2

<400> 17

Gly Ala Asp Asn Arg Ala Pro

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3B6 VL CDR3

<400> 18

Ala Leu Trp Tyr Ser Asp His Trp Val

1 5

<210> 19

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3B6 VH

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Lys Phe Thr Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Asn Leu Tyr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Leu

115

<210> 20

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3B6 VL

<400> 20

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

<210> 21

<211> 468

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3B6 HC LALAPG mIgG2a

<400> 21

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

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Asn Leu Tyr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp
115 120 125

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

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

Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
165 170 175

Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro
180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val
195 200 205

Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His
210 215 220

Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro
225 230 235 240

Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Ala Ala
245 250 255

Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu
260 265 270

Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
275 280 285

Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu
290 295 300

Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr
305 310 315 320

Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser
325 330 335

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

340 345 350
 Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln
 355 360 365

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

Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val
 435 440 445
 Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg
 450 455 460
 Thr Pro Gly Lys

465

<210> 22

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3B6 LC LALAPG mIgG2a

<400> 22

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15

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

65					70						75					80
Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Ile	Gly	Asp	Lys	Ala	Ala	Leu	Ile	Ile	
				85					90					95		
Thr	Gly	Ala	Gln	Thr	Glu	Asp	Glu	Ala	Ile	Tyr	Phe	Cys	Ala	Leu	Trp	
				100				105						110		
Tyr	Ser	Asp	His	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	
			115				120						125			
Gly	Gln	Pro	Lys	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Thr	Val	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	
	130						135					140				

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

His Asn Ser Phe Thr Cys Gln Val Thr His Glu Gly Asp Thr Val Glu
210 215 220
Lys Ser Leu Ser Arg Ala Asp Cys Leu
225 230

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7D6 VH CDR1

<400> 23

Asn Tyr Gly Val Asn

1 5

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7D6 VH CDR2

<400> 24

Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Gln Thr Thr Tyr Ala Glu Glu Phe Arg

1 5 10 15

Gly

<210> 25

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7D6 VH CDR3

<400> 25

Leu Ile Tyr Asp Gly Asp Tyr Ile Ser Ser Asp Phe

1 5 10

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7D6 VL CDR1

<400> 26

Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala Leu Asn

1 5 10

<210>

27

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7D6 VL CDR2

<400> 27

Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp

1 5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7D6 VL CDR3

<400> 28

Gln Asn Ala Leu Ser Met Pro Tyr Thr

1 5

<210> 29

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7D6 VH

<400> 29

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

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Arg Thr Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Gly Val Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Gln Thr Thr Tyr Ala Glu Glu Phe

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Ala Ile Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Phe

65 70 75 80

Leu Thr Ile Ser Asn Leu Lys Asn Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Leu Ile Tyr Asp Gly Asp Tyr Ile Ser Ser Asp Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu

115

<210> 30

<211> 100

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7D6 VL

<400> 30

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

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

65 70 75 80
Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Ala Leu Ser Met Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly
100

<210> 31

<211> 470

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7D6 HC LALAPG mIgG2a

<400> 31

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

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

Glu Glu Phe Arg Gly Arg Phe Ala Ile Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr

180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val

195 200 205

Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val

210 215 220

Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg

225 230 235 240

Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn

245 250 255

Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp

260 265 270

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

275 280 285

Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn

290 295 300

Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn

305 310 315 320

Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp

325 330 335
Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Gly

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

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

370 375 380
Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile

385 390 395 400
Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn

405 410 415
Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys

420 425 430
Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys

435 440 445
Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe

450 455 460
Ser Arg Thr Pro Gly Lys

465 470

<210> 32

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7D6 LC LALAPG mIgG2a

<400> 32

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ser Ala
20 25 30

Ser Val Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile
35 40 45

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

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

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

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3A8 VH CDR1

<400> 33

Asn Tyr Glu Ile His

1

5

<210> 34

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3A8 VH CDR2

<400> 34

Ala Ile His Pro Gly Asn Gly Val Thr Ala Tyr Asn Gln Met Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 35

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3A8 VH CDR3

<400> 35

Asn Phe Asp Tyr

1

<210> 36

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3A8 VL CDR1

<400> 36

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Thr Asn Ser Tyr Gly Ile Thr Tyr Leu Ser

1 5 10 15

<210> 37

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3A8 VL CDR2

<400> 37

Glu Ile Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic: 3.3A8 VL CDR3

<400> 38

Leu Gln Gly Thr His Gln Pro Phe Thr

1 5

<210> 39

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3A8 VH

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Ile His Pro Gly Asn Gly Val Thr Ala Tyr Asn Gln Met Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Ala Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr 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

Thr Glu Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ala Leu

100 105

<210> 40

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3A8 VL

<400> 40

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

1 5 10 15

Asp Gln Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Thr Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

85 90 95

Thr His Gln Pro Phe Thr Phe Gly Ala

100 105

<210> 41

<211> 462

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3A8 HC LALAPG mIgG2a

<400> 41

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Asn Tyr Glu Ile His Trp Val Arg Gln Pro Pro Val His Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile His Pro Gly Asn Gly Val Thr Ala Tyr Asn

65 70 75 80

Gln Met Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Ala Ala Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Thr Glu Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ala Leu
115 120 125
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala
130 135 140
Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu
145 150 155 160
Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp
180 185 190
Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro
195 200 205
Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys
210 215 220
Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro
225 230 235 240
Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
245 250 255
Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro
260 265 270
Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val
275 280 285
Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr
290 295 300
Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala
305 310 315 320
Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys

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

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

 435 440 445
 Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 450 455 460
 <210> 42
 <211> 238
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: 3.3A8 LC LALAPG mIgG2a
 <400> 42
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Asp Val Val Val Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
 20 25 30

 Ser Phe Gly Asp Gln Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
 35 40 45
 Thr Asn Ser Tyr Gly Ile Thr Tyr Leu Ser Trp Phe Leu Leu Lys Pro
 50 55 60
 Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Ile Ser Asn Arg Phe Ser

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

65 70 75 80

 85 90 95

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

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

Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
225 230 235

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.2C11 VH CDR1

<400> 43

Asp Tyr Glu Ile His

1 5

<210> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.2C11 VH CDR2

<400> 44

Gly Ile His Pro Gly Asn Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Pro Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 45

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.2C11 VH CDR3

<400> 45

Trp Val Asp Tyr

1

<210> 46

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.2C11 VL CDR1

<400> 46

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Asn Arg His Gly Ile Thr Tyr Leu Ser

1 5 10 15

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.2C11 VL CDR2

<400> 47

Glu Ile Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.2C11 VL CDR3

<400> 48

Phe Gln Gly Thr His Gln Pro Phe Thr

1 5

<210> 49

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.2C11 VH

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile His Pro Gly Asn Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Pro Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 50

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.2C11 VL

<400> 50

Asp Val Val Val Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Asn Phe Gly

1 5 10 15
 Asp Gln Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Asn Arg

 20 25 30
 His Gly Ile Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Leu His Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu 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 Thr Ile Lys Pro Glu Asp Leu Gly Met Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

 85 90 95
 Thr His Gln Pro Phe Thr Phe Gly Gly
 100 105

<210> 51

<211> 462

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.2C11 HC LALAPG mIgG2a

<400> 51

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

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

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

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

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

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

[illegible]

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

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

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

<210> 53

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C1 VH CDR1

<400> 53

Asn Tyr Phe Ile His

1 5

<210> 54

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C1 VH CDR2

<400> 54

Trp Ile Asn Pro Gly Asn Leu Asn Thr Lys Tyr Thr Glu Glu Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 55

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C1 VH CDR3

<400> 55

Gly Asn Pro Phe Val Tyr

1 5

<210> 56

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C1 VL CDR1

<400> 56

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Lys Tyr Leu

1 5 10 15

Thr

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C1 VL CDR2

<400> 57

Trp Thr Ser Thr Arg Asp Ser

1 5

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C1 VL CDR3

<400> 58

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 59

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C1 VH

<400> 59

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

1 5 10 15

Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Asn Leu Asn Thr Lys Tyr Thr Glu Glu Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Val Asn Gly Asn Pro Phe Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

<210> 60

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C1 VL

<400> 60

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

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

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

<210> 61

<211> 464

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C1 HC LALAPG mIgG2a

<400> 61

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

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

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

	85	90	95
Thr	Ala	Tyr	Ile
Gln	Leu	Asn	Ser
Leu	Thr	Ser	Glu
Asp	Ser	Ala	Val
	100	105	110
Tyr	Phe	Cys	Val
Asn	Gly	Asn	Pro
Phe	Val	Tyr	Trp
Gly	Gln	Gly	Thr
	115	120	125
Leu	Val	Thr	Val
Ser	Ala	Ala	Ser
Thr	Lys	Gly	Pro
Ser	Val	Tyr	Pro
	130	135	140
Leu	Ala	Pro	Val
Cys	Gly	Asp	Thr
Thr	Gly	Ser	Ser
Val	Thr	Leu	Gly
	145	150	155
Cys	Leu	Val	Lys
Gly	Tyr	Phe	Pro
Glu	Pro	Val	Thr
Leu	Thr	Trp	Asn
	165	170	175
Ser	Gly	Ser	Leu
Ser	Gly	Val	His
Thr	Phe	Pro	Ala
Val	Leu	Gln	
	180	185	190
Ser	Asp	Leu	Tyr
Thr	Leu	Ser	Ser
Val	Thr	Val	Thr
Ser	Ser	Thr	
	195	200	205
Trp	Pro	Ser	Gln
Ser	Ile	Thr	Cys
Asn	Val	Ala	His
Pro	Ala	Ser	Ser
	210	215	220
Thr	Lys	Val	Asp
Lys	Lys	Ile	Glu
Pro	Arg	Gly	Pro
Thr	Ile	Lys	Pro
	225	230	235
Cys	Pro	Pro	Cys
Lys	Cys	Pro	Ala
Pro	Asn	Ala	Ala
Gly	Gly	Pro	Ser
	245	250	255
Val	Phe	Ile	Phe
Pro	Pro	Lys	Ile
Lys	Asp	Val	Leu
Met	Ile	Ser	Leu
	260	265	270
Ser	Pro	Ile	Val
Thr	Cys	Val	Val
Val	Asp	Val	Ser
Glu	Asp	Asp	Pro
	275	280	285
Asp	Val	Gln	Ile
Ser	Trp	Phe	Val
Asn	Asn	Val	Glu
Val	His	Thr	Ala
	290	295	300
Gln	Thr	Gln	Thr
His	Arg	Glu	Asp
Tyr	Asn	Ser	Thr
Leu	Arg	Val	Val
	305	310	315
Ser	Ala	Leu	Pro
Ile	Gln	His	Gln
Asp	Trp	Met	Ser
Gly	Lys	Glu	Phe
	325	330	335

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

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
 405 410 415
 Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
 420 425 430
 Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
 435 440 445
 Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 62

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C1 LC LALAPG mIgG2a

<400> 62

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

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr
100 105 110

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

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

<210> 63

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C7 VH CDR1

<400> 63

Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 64

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C7 VH CDR2

<400> 64

Ala Ile Tyr Pro Gly Lys Ser Asp Ile Lys Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 65

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C7 VH CDR3

<400> 65

Ser Ile Pro Phe Val Tyr

1 5

<210> 66

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C7 VL CDR1

<400> 66

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Glu Asn Gln Lys Lys Tyr Leu

1 5 10 15

Thr

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C7 VL CDR2

<400> 67

Trp Thr Ser Thr Arg Tyr Ser

1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C7 VL CDR3

<400> 68

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 69

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C7 VH

<400> 69

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Lys Ser Asp Ile Lys Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Asn Ser Ile Pro Phe Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Ile

100 105 110

<210> 70

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C7 VL

<400> 70

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

 35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Tyr Ser Gly Ile
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Val Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Val Gln Ala Asp Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly
 100 105

<210> 71

<211> 464

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C7 HC LALAPG mIgG2a

<400> 71

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

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

Thr Ala Tyr Met Glu Ile Asn Ser Leu Thr Asn Glu Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Asn Ser Ile Pro Phe Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Ile Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Tyr Pro
130 135 140

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

Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn
165 170 175

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

Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr
195 200 205

Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser
210 215 220

Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
260 265 270

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
275 280 285

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
290 295 300

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

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
325 330 335

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Gly Ala Pro Ile Glu Arg Thr

340 345 350
Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
355 360 365

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

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
435 440 445
Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 72

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.1C7 LC mIgG2a

<400> 72

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

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

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

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

Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys
210 215 220
Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
225 230 235

<210> 73

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.4G10 VH CDR1

<400> 73

Ser Gly Glu Ser Trp His

1 5

<210> 74

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.4G10 VH CDR2

<400> 74

Phe Ile His Tyr Ser Gly Ser Ala Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 75

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.4G10 VH CDR3

<400> 75

Ser Val Tyr Asn Tyr Asp Gly Ala Trp Phe Pro Tyr

1 5 10

<210> 76

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.4G10 VL CDR1

<400> 76

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 77

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.4G10 VL CDR2

<400> 77

Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.4G10 VL CDR3

<400> 78

His Gln Trp Ser Ala Tyr Pro Pro Thr

1 5

<210> 79

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.4G10 VH

<400> 79

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

1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly

20 25 30

Glu Ser Trp His Trp Ile Arg His Phe Pro Gly Asn Glu Leu Glu Trp

35 40 45

Met Gly Phe Ile His Tyr Ser Gly Ser Ala Asn Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe

65 70 75 80

Leu Gln Leu Leu Ser Val Thr Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val

115

<210> 80

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Synthetic: 3.4G10 VL

<400> 80

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

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

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

<210> 81

<211> 470

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.4G10 HC LALAPG mIgG2a

<400> 81

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15

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

Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn
 85 90 95
 Gln Phe Phe Leu Gln Leu Leu Ser Val Thr Thr Asp Asp Thr Ala Thr

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

Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala
355 360 365

Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys
370 375 380

Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile
385 390 395 400

Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn
405 410 415

Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys
420 425 430

Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys
435 440 445

Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe
450 455 460

Ser Arg Thr Pro Gly Lys
465 470

<210> 82
<211> 234
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: 3.4G10 LC LALAPG mIgG2a
<400> 82

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Met Ser Ala
20 25 30

Ser Pro Gly Glu Arg Val Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val
35 40 45

Ser Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Leu Lys Pro Gly Ser Ser Pro
50 55 60

Lys Val Trp Ile Tyr Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
85 90 95
Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Ser Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser
100 105 110

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

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

<210> 83

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6E10 VH CDR1

<400> 83

Ser Tyr Tyr Leu His

1 5

<210> 84

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6E10 VH CDR2

<400> 84

Tyr Ile Asn Pro Asn Thr Gly Tyr Thr Glu Tyr Thr Gln Asn Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 85

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6E10 VH CDR3

<400> 85

Gly Asn Pro Phe Val Tyr

1 5

<210> 86

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6E10 VL CDR1

<400> 86

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

1 5 10 15

Thr

<210> 87

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6E10 VL CDR2

<400> 87

Trp Thr Ser Thr Arg Tyr Ser

1 5

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6E10 VL CDR3

<400> 88

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 89

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6E10 VH

<400> 89

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Asn Thr Gly Tyr Thr Glu Tyr Thr Gln Asn Phe

50 55 60

Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Asn Gly Asn Pro Phe Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

<210> 90

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6E10 VL

<400> 90

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

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

<210> 91

<211> 464

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6E10 HC LALPG mIgG2a

<400> 91

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

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Phe Cys Val Asn Gly Asn Pro Phe Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

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

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

Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn
165 170 175

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

Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr
195 200 205

Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser
210 215 220

Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
260 265 270

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
275 280 285

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
290 295 300

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

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
325 330 335

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Gly Ala Pro Ile Glu Arg Thr

340 345 350
 Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
 355 360 365
 Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys

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

435 440 445
 Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 92

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.6E10 LC LALAPG mIgG2a

<400> 92

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

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

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

85

90

95

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr

100

105

110

Cys Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys

115

120

125

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

130

135

140

Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe

145

150

155

160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp

165

170

175

Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp

180

185

190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys

195

200

205

Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys

210

215

220

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

225

230

235

<210> 93

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3F7 VH CDR1

<400> 93

Thr Tyr Gly Val His

1

5

<210> 94

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3F7 VH CDR2

<400> 94

Val Ile Trp Arg Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met Ser

1 5 10 15

<210> 95

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3F7 VH CDR3

<400> 95

Ser Ser Tyr Gly Tyr His Tyr Thr Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 96

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3F7 VL CDR1

<400> 96

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 97

<211> 7

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3F7 VL CDR2

<400> 97

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr

1 5

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3F7 VL CDR3

<400> 98

Gln Arg Tyr Asn Asn Phe Pro Phe Thr

1 5

<210> 99

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3F7 VH

<400> 99

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met

50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Thr Lys Asp Asn Ser Gln Ser Gln Val Phe Phe

65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys Ser Ser Tyr Gly Tyr His Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly His Gly

100 105 110

Thr Ser Val

115

<210> 100

<211> 100

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3F7 VL

<400> 100

Asp Ile Val Val Thr Gln Ser His Arg Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

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

65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Arg Tyr Asn Asn Phe Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ser
 100

<210> 101

<211> 468

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.3F7 HC LALAPG mIgG2a

<400> 101

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

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

 85 90 95
 Val Phe Phe Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr

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

Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln
355 360 365
Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val
370 375 380
Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val
385 390 395 400
Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu
405 410 415
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg
420 425 430
Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val
435 440 445
Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg
450 455 460
Thr Pro Gly Lys
465
<210> 102
<211> 233
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: 3.3F7 LC LALAPG mIgG2a
<400> 102
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15
Val His Ser Asp Ile Val Val Thr Gln Ser His Arg Phe Met Ser Thr
20 25 30
Ser Val Gly Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val
35 40 45
Gly Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys
50 55 60
Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg
65 70 75 80

Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn
85 90 95
Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Arg Tyr Asn Asn
100 105 110

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

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

<210> 103

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.17A5 VH CDR1

<400> 103

Asn Ser Trp Ile Asn

1 5

<210> 104

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.17A5 VH CDR2

<400> 104

Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Lys Tyr Asn Gly Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 105

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.17A5 VH CDR3

<400> 105

Phe Pro Phe Gly Lys Tyr Glu Gly Pro Gly Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 106

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.17A5 VL CDR1

<400> 106

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 107

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.17A5 VL CDR2

<400> 107

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210>

> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.17A5 VL CDR3

<400> 108

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 109

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.17A5 VH

<400> 109

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Ser

20 25 30

Trp Ile Asn Trp Val Lys Leu Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Lys Tyr Asn Gly Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala His

65 70 75 80

Met Gln Leu Arg Ser Leu Thr Ser Val Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Phe Pro Phe Gly Lys Tyr Glu Gly Pro Gly Ala Met Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val

115

<210> 110

<211> 100

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.17A5 VL

<400> 110

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly
100
<210> 111
<211> 472
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: 4.17A5 HC LALAPG mIgG2a
<400> 111
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Leu Lys
20 25 30
Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ala Phe
35 40 45
Ser Asn Ser Trp Ile Asn Trp Val Lys Leu Arg Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Ile Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Lys Tyr Asn
65 70 75 80
Gly Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95

Thr Ala His Met Gln Leu Arg Ser Leu Thr Ser Val Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Phe Pro Phe Gly Lys Tyr Glu Gly Pro Gly Ala
115 120 125

Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys
130 135 140

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

Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro
165 170 175

Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val
180 185 190

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser
195 200 205

Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys
210 215 220

Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu
225 230 235 240

Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala
245 250 255

Pro Asn Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile
260 265 270

Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val
275 280 285

Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val
290 295 300

Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp
305 310 315 320

Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln
325 330 335

Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp

340 345 350
 Leu Gly Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val
 355 360 365

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

Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr
 435 440 445
 Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys
 450 455 460
 Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 465 470

<210> 112

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.17A5 LC LALAPG mIgG2a

<400> 112

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

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

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

65 70 75 80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Asn

85 90 95

Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr

100 105 110

Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala

115 120 125

Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile

210 215 220

Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

225 230

<210> 113

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.2C4 VH CDR1

<400> 113

Asp Tyr Val Ile Ser

1 5

<210> 114

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> Synthetic: 4.2C4 VH CDR2

<400> 114

Glu Met Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Thr Glu Lys Phe Arg

1 5 10 15

Gly

<210> 115

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.2C4 VH CDR3

<400> 115

Gly Thr Thr Ala Asp Tyr

1 5

<210> 116

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.2C4 VL CDR1

<400> 116

Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met Tyr

1 5 10

<210> 117

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.2C4 VL CDR2

<400> 117

Tyr Thr Ser Asn Leu Ala Pro

1 5

<210> 118

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.2C4 VL CDR3

<400> 118

Gln Gln Phe Thr Ser Ser Pro Tyr Thr

1 5

<210> 119

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.2C4 VH

<400> 119

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Met Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Thr Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 120

<211> 99

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.2C4 VL

<400> 120

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

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

65 70 75 80
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Thr Ser Ser Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly

<210> 121

<211> 464

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.2C4 HC LALAPG mIgG2a

<400> 121

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

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

85	90	95	
Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val			
100	105	110	
Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Thr Thr Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
115	120	125	
Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro			
130	135	140	
Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly			
145	150	155	160
Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn			
165	170	175	
Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln			
180	185	190	
Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr			
195	200	205	
Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser			
210	215	220	
Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro			
225	230	235	240
Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Ala Ala Gly Gly Pro Ser			
245	250	255	
Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu			
260	265	270	
Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro			
275	280	285	
Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala			
290	295	300	
Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val			
305	310	315	320
Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe			
325	330	335	

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Gly Ala Pro Ile Glu Arg Thr

340 345 350

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

355 360 365

Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys

370 375 380

Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn

385 390 395 400

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp

405 410 415

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys

420 425 430

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly

435 440 445

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

450 455 460

<210> 122

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.2C4 LC LALAPG mIgG2a

<400> 122

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala

20 25 30

Ser Leu Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val

35 40 45

Asn Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Asp Ala Ser Pro Lys Leu

50 55 60

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

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

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

180						185						190					
Met	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Lys	Asp	Glu	Tyr	Glu	Arg	His	Asn		
195						200						205					
Ser	Tyr	Thr	Cys	Glu	Ala	Thr	His	Lys	Thr	Ser	Thr	Ser	Pro	Ile	Val		
210						215						220					
Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Asn	Glu	Cys										

225

 $\langle 210 \rangle$ 123

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.12E5 VH CDR1

 $\langle 400 \rangle$

123

Gly Tyr Phe Met His

1 5

<210> 124

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.12E5 VH CDR2

<400> 124

Tyr Ile Ser Cys Tyr Asn Gly Ala Ser Val Tyr Asn Gln Arg Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 125

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.12E5 VH CDR3

<400> 125

Asp Val Leu Arg Tyr Pro Arg Tyr Ala Val Asp Tyr

1 5 10

<210> 126

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.12E5 VL CDR1

<400> 126

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

1 5 10 15

<210> 127

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.12E5 VL CDR2

<400> 127

Leu Val Ser Asn Leu Asp Ser

1 5

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.12E5 VL CDR3

<400> 128

Trp Gln Gly Ser His Phe Pro Phe Thr

1 5

<210> 129

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.12E5 VH

<400> 129

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Cys Tyr Asn Gly Ala Ser Val Tyr Asn Gln Arg Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ile Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val

115

<210> 130

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.12E5 VL

<400> 130

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

<210> 131

<211> 470

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.12E5 HC LALAPG mIgG2a

<400> 131

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

				85				90				95			
Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Phe	Asn	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val
100				105				110							
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Val	Leu	Arg	Tyr	Pro	Arg	Tyr	Ala	Val	Asp
115				120				125							
Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr
130				135				140							
Ala	Pro	Ser	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Pro	Val	Cys	Gly	Asp	Thr	Thr	Gly
145				150				155				160			
Ser	Ser	Val	Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
165				170				175							
Val	Thr	Leu	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His	Thr
180				185				190							
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val
195				200				205							
Thr	Val	Thr	Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	Ser	Gln	Ser	Ile	Thr	Cys	Asn	Val
210				215				220							
Ala	His	Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Glu	Pro	Arg
225				230				235				240			
Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala	Pro	Asn
245				250				255							
Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp
260				265				270							
Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	Ile	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
275				280				285							
Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro	Asp	Val	Gln	Ile	Ser	Trp	Phe	Val	Asn	Asn
290				295				300							
Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln	Thr	His	Arg	Glu	Asp	Tyr	Asn
305				310				315				320			
Ser	Thr	Leu	Arg	Val	Val	Ser	Ala	Leu	Pro	Ile	Gln	His	Gln	Asp	Trp
325				330				335							

Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Gly
340 345 350

Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala
355 360 365

Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys
370 375 380

Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile
385 390 395 400

Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn
405 410 415

Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys
420 425 430

Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys
435 440 445

Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe
450 455 460

Ser Arg Thr Pro Gly Lys
465 470

<210> 132
<211> 238
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: 4.12E5 LC LALAPG mIgG2a
<400> 132

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly

165 170 175

Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser

180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp

195 200 205

Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr

210 215 220

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

225 230 235

<210> 133

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11A10 VH CDR1

<400> 133

Gly Tyr Phe Met His

1 5

<210> 134

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11A10 VH CDR2

<400> 134

Tyr Ile Ser Cys Tyr Asn Gly Val Ser Val Tyr Asn Gln Arg Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 135

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11A10 VH CDR3

<400> 135

Asp Val Leu Arg Tyr Pro Arg Tyr Ala Val Asp Tyr

1 5 10

<210> 136

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11A10 VL CDR1

<400> 136

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

1 5 10 15

<210> 137

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11A10 VL CDR2

<400> 137

Leu Val Ser Asn Leu Asp Ser

1 5

<210> 138

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11A10 VL CDR3

<400> 138

Trp Gln Gly Ser His Phe Pro Phe Thr

1 5

<210> 139

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11A10 VH

<400> 139

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Cys Tyr Asn Gly Val Ser Val Tyr Asn Gln Arg Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ile Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val

115

<210> 140

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11A10 VL

<400> 140

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn Leu Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Thr 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 Trp Gln Gly

85 90 95

Ser His Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser

100 105

<210> 141

<211> 470

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11A10 HC LALAPG mIgG2a

<400> 141

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Thr Gly Tyr Phe Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Cys Tyr Asn Gly Val Ser Val Tyr Asn

65				70				75				80			
Gln	Arg	Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Phe	Thr	Ile	Asp	Thr	Ser	Ser	Ser
85				90				95							
Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Phe	Asn	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val
100				105				110							
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Val	Leu	Arg	Tyr	Pro	Arg	Tyr	Ala	Val	Asp
115				120				125							
Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr
130				135				140							
Ala	Pro	Ser	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Pro	Val	Cys	Gly	Asp	Thr	Thr	Gly
145				150				155				160			
Ser	Ser	Val	Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
165				170				175							
Val	Thr	Leu	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His	Thr
180				185				190							
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val
195				200				205							
Thr	Val	Thr	Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	Ser	Gln	Ser	Ile	Thr	Cys	Asn	Val
210				215				220							
Ala	His	Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Glu	Pro	Arg
225				230				235				240			
Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala	Pro	Asn
245				250				255							
Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp
260				265				270							
Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	Ile	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
275				280				285							
Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro	Asp	Val	Gln	Ile	Ser	Trp	Phe	Val	Asn	Asn
290				295				300							
Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln	Thr	His	Arg	Glu	Asp	Tyr	Asn
305				310				315				320			

Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp
325 330 335

Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Gly
340 345 350

Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala
355 360 365

Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys
370 375 380

Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile
385 390 395 400

Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn
405 410 415

Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys
420 425 430

Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys
435 440 445

Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe
450 455 460

Ser Arg Thr Pro Gly Lys
465 470

<210> 142

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11A10 LC LALAPG mIgG2a

<400> 142

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val
20 25 30

Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45

Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro
 50 55 60
 Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn Leu Asp Ser
 65 70 75 80

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

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

Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr
 210 215 220
 Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 225 230 235

<210> 143

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11H11 VH CDR1

<400> 143

Val Tyr Thr Met Asn

1 5

<210> 144

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11H11 VH CDR2

<400> 144

Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Arg Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 145

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11H11 VH CDR3

<400> 145

Gly Ala Leu Tyr Arg Tyr Glu Gly Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 146

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11H11 VL CDR1

<400> 146

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ile Tyr Val His

1 5 10

<210> 147

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11H11 VL CDR2

<400> 147

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 148

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11H11 VL CDR3

<400> 148

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr

1 5

<210> 149

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11H11 VH

<400> 149

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

1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Ile Val Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Arg Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Ala Leu Tyr Arg Tyr Glu Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Ile

115

<210> 150

<211> 99

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11H11 VL

<400> 150

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ile Tyr Val

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser His Ser Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Ala

<210> 151

<211> 470

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11H11 HC LALAPG mIgG2a

<400> 151

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Ala Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe

35 40 45

Ile Val Tyr Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ala Leu Tyr Arg Tyr Glu Gly Ala Met Asp

115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Ile Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr

180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val

195 200 205

Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val

210 215 220

Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg

225 230 235 240

Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn

245 250 255

Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp

260 265 270

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

275 280 285

Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn

290 295 300

Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn

305 310 315 320
Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp

325 330 335
Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Gly

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

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

370 375 380
Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile

385 390 395 400
Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn

405 410 415
Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys

420 425 430
Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys

435 440 445
Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe

450 455 460
Ser Arg Thr Pro Gly Lys

465 470

<210> 152

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.11H11 LC LALAPG mIgG2a

<400> 152

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser Gln Ile Val Leu Ser Gln Phe Pro Ala Ile Leu Ser Ala

20 25 30

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

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

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

 Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 225 230
 <210> 153
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: 4.29C4 VH CDR1
 <400> 153

Asn Tyr Trp Met Asn

1 5

<210> 154

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.29C4 VH CDR2

<400> 154

Met Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Ser Arg Leu Ser Gln Arg Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 155

<

211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.29C4 VH CDR3

<400> 155

Leu Asp Tyr

1

<210> 156

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.29C4 VL CDR1

<400> 156

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Lys Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 157

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.29C4 VL CDR2

<400> 157

Phe Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 158

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.29C4 VL CDR3

<400> 158

Gln Gln His Tyr Ser Ala Pro Leu Thr

1 5

<210> 159

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.29C4 VH

<400> 159

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Met Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Ser Arg Leu Ser Gln Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 160

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.29C4 VL

<400> 160

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

1 5 10 15

Gln Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Lys Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

His Tyr Ser Ala Pro Leu Thr Phe Gly Ala

100 105

<210> 161

<211> 461

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 4.29C4 HC LALAPG mIgG2a

<400> 161

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg

20 25 30

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

35 40 45

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

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

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

 420 425 430
 Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn
 435 440 445
 His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 450 455 460
 <210> 162
 <211> 239
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: 4.29C4 LC LALAPG mIgG2a
 <400> 162
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15

 Val His Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Met
 20 25 30
 Ser Val Gly Gln Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu

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

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

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

 Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys
 210 215 220
 Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 225 230 235
 <210> 163
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: 5.17D12 VH CDR1
 <400> 163
 Ser Asn Tyr Tyr Met Cys

1 5

<210> 164

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17D12 VH CDR2

<400> 164

Cys Val Tyr Val Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala

1 5 10 15

Lys

<210> 165

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17D12 VH CDR3

<400> 165

Asp Leu Ser Tyr Ala Gly Asp Leu

1 5

<210> 166

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17D12 VL CDR1

<400> 166

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 167

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17D12 VL CDR2

<400> 167

Gly Ala Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 168

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17D12 VL CDR3

<400> 168

Gln Ser Ala Tyr Tyr Ser Asn Ser Gly Gly His Ala

1 5 10

<210> 169

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17D12 VH

<400> 169

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Cys Val Tyr Val Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp

50 55 60

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Trp Thr

65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Leu Ser Tyr Ala Gly Asp Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210>

> 170

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17D12 VL

<400> 170

Asp Pro Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Glu Pro Val Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Tyr Tyr Ser Asn Ser

85 90 95

Gly Gly His Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 171

<211> 459

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17D12 HC

<400> 171

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ala Ser Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser

35 40 45

Ser Asn Tyr Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50

55

60

Glu Trp Ile Ala Cys Val Tyr Val Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr

65

70

75

80

Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Lys Thr Ser Ser Thr

85

90

95

Thr Trp Thr Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr

100

105

110

Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Leu Ser Tyr Ala Gly Asp Leu Trp Gly Pro

115

120

125

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

130

135

140

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

145

150

155

160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr

165

170

175

Trp Asn Ser Gly Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val

180

185

190

Arg Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr

195

200

205

Ser Ser Ser Gln Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn

210

215

220

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr

225

230

235

240

Cys Pro Pro Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro

245

250

255

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

260

265

270

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

275

280

285

Trp Tyr Ile Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu Arg

290 295 300
Glu Gln Gln Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile

305 310 315 320
Ala His Gln Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His

325 330 335
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Arg

340 345 350
Gly Gln Pro Leu Glu Pro Lys Val Tyr Thr Met Gly Pro Pro Arg Glu

355 360 365
Glu Leu Ser Ser Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe

370 375 380
Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Lys Asn Gly Lys Ala Glu

385 390 395 400
Asp Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Ala Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr

405 410 415
Phe Leu Tyr Asn Lys Leu Ser Val Pro Thr Ser Glu Trp Gln Arg Gly

420 425 430
Asp Val Phe Thr Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

435 440 445
Thr Gln Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 172

<211> 236

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17D12 LC

<400> 172

Met Asp Met Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ser Glu Pro Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser
35 40 45

Glu Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
50 55 60

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Asp Leu Glu Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser
100 105 110

Ala Tyr Tyr Ser Asn Ser Gly Gly His Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu
115 120 125

Val Val Val Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro
130 135 140

Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val Cys Val
145 150 155 160

Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val Asp Gly
165 170 175

Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser
180 185 190

Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr
195 200 205

Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr
210 215 220

Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys
225 230 235

<210> 173

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17H8 VH CDR1

<400> 173

Ser Tyr Ala Met Gly

1 5

<210> 174

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17H8 VH CDR2

<400> 174

Ile Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr His Tyr Ala Ser Trp Ala

1 5 10

<210> 175

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17H8 VH CDR3

<400> 175

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

1 5 10 15

<210> 176

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17H8 VL CDR1

<400> 176

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 177

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic: 5.17H8 VL CDR2

<400> 177

Gly Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 178

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17H8 VL CDR3

<400> 178

Gln Ser Gly Tyr Tyr Gly Ile Ser Ala Ile Asn Asn Ala

1 5 10

<210> 179

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17H8 VH

<400> 179

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

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Ala

20 25 30

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

35 40 45

Ile Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr His Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Ala Arg

85 90 95

Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Thr Gly Tyr Tyr Phe Asn Leu Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 180

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17H8 VL

<400> 180

Ala Ile Glu Met Thr Gln Thr Ala Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Gly Tyr Tyr Gly Ile Ser

85 90 95

Ala Ile Asn Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 181

<211> 462

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17H8 HC

<400> 181

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Trp Ile Gly Ile Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr His Tyr Ala Ser Trp

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Ile Thr Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val

165 170 175

Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe

180 185 190

Pro Ser Val Arg Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

195 200 205

Ser Val Thr Ser Ser Ser Gln Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Pro Thr Cys Pro Pro Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

245 250 255

Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

260 265 270

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val

275 280 285

Gln Phe Thr Trp Tyr Ile Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro

290 295 300

Pro Leu Arg Glu Gln Gln Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr

305 310 315 320
Leu Pro Ile Ala His Gln Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys

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

 340 345 350
Lys Ala Arg Gly Gln Pro Leu Glu Pro Lys Val Tyr Thr Met Gly Pro

 355 360 365
Pro Arg Glu Glu Leu Ser Ser Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile

 370 375 380
Asn Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Lys Asn Gly

385 390 395 400
Lys Ala Glu Asp Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Ala Val Leu Asp Ser Asp

 405 410 415
Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Asn Lys Leu Ser Val Pro Thr Ser Glu Trp

 420 425 430
Gln Arg Gly Asp Val Phe Thr Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

 435 440 445
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys

 450 455 460

<210> 182

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.17H8 LC

<400> 182

Met Asp Met Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Pro Gly Val Thr Phe Ala Ile Glu Met Thr Gln Thr Ala Ser Pro

 20 25 30

Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser

 35 40 45

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

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

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

<210>

183

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.11H2 VH CDR1

<400> 183

Tyr Asn Tyr Trp Ile Tyr

1

5

<210> 184

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.11H2 VH CDR2

<400> 184

Cys Ile Asn Thr Gly Asn Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asn Trp Ala

1 5 10 15

Lys

<210> 185

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.11H2 VH CDR3

<400> 185

Gly Gly Ile Asn Ser Gly Asp Tyr Met Asn Leu

1 5 10

<210> 186

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.11H2 VL CDR1

<400> 186

Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Arg Leu Leu Ala

1 5 10

<210> 187

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.11H2 VL CDR2

<400> 187

Asp Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 188

<

211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.11H2 VL CDR3

<400> 188

Gln Gln Ala Tyr Ser Asn Ser Asn Ile Asp Asn Tyr

1 5 10

<210> 189

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.11H2 VH

<400> 189

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Cys Ile Asn Thr Gly Asn Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asn Trp

50 55 60

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Thr

65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Ile Asn Ser Gly Asp Tyr Met Asn Leu Trp Gly Pro

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 190

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.11H2 VL

<400> 190

Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Val Ala Val Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Arg Leu

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Val Ser Gly Val Gln Cys

65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Ser Asn Ser Asn

85 90 95

Ile Asp Asn Tyr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 191

<211> 462

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.11H2 HC

<400> 191

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ala Ser Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser

35 40 45

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

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Cys Ile Asn Thr Gly Asn Ser Gly Ile Thr Asn Tyr
 65 70 75 80
 Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr

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

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

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

 275 280 285
 Gln Phe Thr Trp Tyr Ile Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro
 290 295 300
 Pro Leu Arg Glu Gln Gln Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr

305 310 315 320
 Leu Pro Ile Ala His Gln Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys
 325 330 335
 Lys Val His Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

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

 405 410 415
 Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Asn Lys Leu Ser Val Pro Thr Ser Glu Trp
 420 425 430
 Gln Arg Gly Asp Val Phe Thr Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 435 440 445
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 192

<211> 236

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.11H2 LC

<400> 192

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

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr

85

90

95

Val Ser Gly Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln

100

105

110

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

115

120

125

Val Val Val Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro

130

135

140

Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val Cys Val

145

150

155

160

Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val Asp Gly

165

170

175

Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser

180

185

190

Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr

195

200

205

Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr

210

215

220

Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys

225

230

235

<210> 193

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.14D6 VH CDR1

<400> 193

Ser Lys Thr Ile Thr

1 5
 <210> 194
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: 5.14D6 VH CDR2
 <400> 194
 Phe Ile Asn Thr Asp Gly Arg Ala Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala

1 5 10
 <210> 195
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: 5.14D6 VH CDR3
 <400> 195
 Thr Asn Leu

1
 <210> 196
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 ><223> Synthetic: 5.14D6 VL CDR1
 <400> 196
 Gln Ala Ser Gln Ser Val Tyr Lys Asn Asn Tyr Leu Ala

1 5 10
 <210> 197
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: 5.14D6 VL CDR2
 <400> 197
 Ser Val Ser Thr Leu Asp Ser

1 5
 <210> 198

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.14D6 VL CDR3

<400> 198

Leu Gly Ser Tyr Asp Cys Ser Ser Ala Asp Cys Ala Ala

1 5 10

<210> 199

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.14D6 VH

<400> 199

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

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Lys Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Gly Arg Thr Asn

85 90 95

Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

100 105

<210> 200

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.14D6 VL

<400> 200

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

Ser Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Gln Ser Val Tyr Lys Asn
20 25 30

Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg
35 40 45

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

50 55 60

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

Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Ser Tyr Asp Cys
85 90 95

Ser Ser Ala Asp Cys Ala Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val
100 105 110

Lys

<210> 201

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 5.14D6 HC

<400> 201

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro
20 25 30

Gly Thr Pro Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser
35 40 45

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

50 55 60

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

65				70				75				80			
Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Ser	Thr	Thr	Val	Asp	Leu
85				90				95							
Lys	Ile	Thr	Ser	Pro	Thr	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Gly
100				105				110							
Arg	Thr	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly
115				120				125							
Gln	Pro	Lys	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Cys	Gly	Asp
130				135				140							
Thr	Pro	Ser	Ser	Thr	Val	Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Leu
145				150				155				160			
Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Thr	Leu	Thr	Asn	Gly
165				170				175							
Val	Arg	Thr	Phe	Pro	Ser	Val	Arg	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu
180				185				190							
Ser	Ser	Val	Val	Ser	Val	Thr	Ser	Ser	Ser	Gln	Pro	Val	Thr	Cys	Asn
195				200				205							
Val	Ala	His	Pro	Ala	Thr	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Ala	Pro
210				215				220							
Ser	Thr	Cys	Ser	Lys	Pro	Thr	Cys	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly
225				230				235				240			
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
245				250				255							
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Asp
260				265				270							
Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Thr	Trp	Tyr	Ile	Asn	Asn	Glu	Gln	Val	Arg
275				280				285							
Thr	Ala	Arg	Pro	Pro	Leu	Arg	Glu	Gln	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Ile	Arg
290				295				300							
Val	Val	Ser	Thr	Leu	Pro	Ile	Ala	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Arg	Gly	Lys
305				310				315				320			

Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Pro Leu Glu Pro Lys Val Tyr
 340 345 350
 Thr Met Gly Pro Pro Arg Glu Glu Leu Ser Ser Arg Ser Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Lys Asn Gly Lys Ala Glu Asp Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Ala Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Asn Lys Leu Ser Val Pro
 405 410 415
 Thr Ser Glu Trp Gln Arg Gly Asp Val Phe Thr Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 202
 <211> 239
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: 5.14D6 LC
 <400> 202
 Met Asp Met Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Leu Pro Gly Ala Thr Phe Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Ser Ser Pro
 20 25 30
 Val Ser Ala Ala Val Gly Ser Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser
 35 40 45
 Gln Ser Val Tyr Lys Asn Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro
 50 55 60

Gly Gln Pro Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ser Val Ser Thr Leu Asp Ser
65 70 75 80
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr
85 90 95
Leu Thr Ile Ser Asp Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
100 105 110
Leu Gly Ser Tyr Asp Cys Ser Ser Ala Asp Cys Ala Ala Phe Gly Gly
115 120 125
Gly Thr Glu Val Val Val Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu
130 135 140
Ile Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile
145 150 155 160
Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu
165 170 175
Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro
180 185 190
Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
195 200 205
Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr
210 215 220
Gln Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys

225 230 235

<210> 203

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7F5 VH CDR1

<400> 203

Asp Tyr Asn Val Phe

1 5

<210> 204

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7F5 VH CDR2

<400> 204

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

1 5 10 15

Asp

<210> 205

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7F5 VH CDR3

<400> 205

Gly Thr Val Arg Ala Phe Phe Asp Ser

1 5

<210> 206

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7F5 VL CDR1

<400> 206

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Arg Asn Asp Gln Ile Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 207

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic: 3.7F5 VL CDR2

<400> 207

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7F5 VL CDR3

<400> 208

Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr

1 5

<210> 209

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7F5 VH

<400> 209

Glu Ile His Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Gln Pro Gly Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Val Phe Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Leu

<210> 210

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7F5 VL

<400> 210

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Ser Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Arg

20 25 30

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

35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Thr Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr Phe Gly Thr

100 105

<210> 211

<211> 467

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3.7F5 HC LALAPG mIgG2a

<400> 211

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Ala Tyr Ala Glu Ile His Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Gln

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Glu Trp Ile Ala Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn
 65 70 75 80
 Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser

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

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

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

 275 280 285
 Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val
 290 295 300
 His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu

305 310 315 320
 Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly
 325 330 335
 Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Gly Ala Pro Ile

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

 405 410 415
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val
 420 425 430
 Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val
 435 440 445
 His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr
 450 455 460
 Pro Gly Lys
 465
 <210> 212
 <211>
 239
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic: 3.7F5 LC LALAPG mIgG2a
 <400> 212
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Val Val
 20 25 30
 Ser Val Gly Glu Lys Val Ser Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45
Leu Tyr Arg Asn Asp Gln Ile Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys

50 55 60
Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg Glu
65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Asn Ile Asn Thr Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys

115 120 125
Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro

130 135 140
Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe

145 150 155 160
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp

165 170 175
Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp

180 185 190
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys

195 200 205
Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys

210 215 220
Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

225 230 235

<210> 213

<211> 370

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(370)

<223> Human APOL1 KIK isotype G0 form (no signal sequence)

<400> 213

Glu Ala Gly Ala Arg Val Gln Gln Asn Val Pro Ser Gly Thr Asp Thr

1 5 10 15

Gly Asp Pro Gln Ser Lys Pro Leu Gly Asp Trp Ala Ala Gly Thr Met

20 25 30

Asp Pro Glu Ser Ser Ile Phe Ile Glu Asp Ala Ile Lys Tyr Phe Lys

35 40 45

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

50 55 60

Ala Trp Asn Gly Phe Val Ala Ala Ala Glu Leu Pro Arg Asn Glu Ala

65 70 75 80

Asp Glu Leu Arg Lys Ala Leu Asp Asn Leu Ala Arg Gln Met Ile Met

85 90 95

Lys Asp Lys Asn Trp His Asp Lys Gly Gln Gln Tyr Arg Asn Trp Phe

100 105 110

Leu Lys Glu Phe Pro Arg Leu Lys Ser Lys Leu Glu Asp Asn Ile Arg

115 120 125

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

130 135 140

Thr Ile Ala Asn Val Val Ser Gly Ser Leu Ser Ile Ser Ser Gly Ile

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Val Leu Leu Glu Pro Gly Met Glu Leu Gly Ile Thr Ala Ala Leu

180 185 190

Thr Gly Ile Thr Ser Ser Thr Ile Asp Tyr Gly Lys Lys Trp Trp Thr

195 200 205

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

210 215 220

Glu Val Lys Glu Phe Leu Gly Glu Asn Ile Ser Asn Phe Leu Ser Leu

[illegible]

Asp Pro Glu Ser Ser Ile Phe Ile Glu Asp Ala Ile Lys Tyr Phe Lys

35 40 45

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

50 55 60

Ala Trp Asn Gly Phe Val Ala Ala Ala Glu Leu Pro Arg Asn Glu Ala

65 70 75 80

Asp Glu Leu Arg Lys Ala Leu Asp Asn Leu Ala Arg Gln Met Ile Met

85 90 95

Lys Asp Lys Asn Trp His Asp Lys Gly Gln Gln Tyr Arg Asn Trp Phe

100 105 110

Leu Lys Glu Phe Pro Arg Leu Lys Ser Glu Leu Glu Asp Asn Ile Arg

115 120 125

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

130 135 140

Thr Ile Ala Asn Val Val Ser Gly Ser Leu Ser Ile Ser Ser Gly Ile

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Val Leu Leu Glu Pro Gly Met Glu Leu Gly Ile Thr Ala Ala Leu

180 185 190

Thr Gly Ile Thr Ser Ser Thr Ile Asp Tyr Gly Lys Lys Trp Trp Thr

195 200 205

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

210 215 220

Glu Val Lys Glu Phe Leu Gly Glu Asn Ile Ser Asn Phe Leu Ser Leu

225 230 235 240

Ala Gly Asn Thr Tyr Gln Leu Thr Arg Gly Ile Gly Lys Asp Ile Arg

245 250 255

Ala Leu Arg Arg Ala Arg Ala Asn Leu Gln Ser Val Pro His Ala Ser

260 265 270

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

275 280 285
Gln Val Glu Arg Val Asn Glu Pro Ser Ile Leu Glu Met Ser Arg Gly

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

355 360 365
Glu Leu
370
<210> 215
<211> 370
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(370)
<223> Human APOL1 G1 variant of EMR isotype (no signal sequence)
<400> 215

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

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

	85	90	95
Lys Asp Lys Asn Trp His Asp Lys Gly Gln Gln Tyr Arg Asn Trp Phe			
	100	105	110
Leu Lys Glu Phe Pro Arg Leu Lys Ser Glu Leu Glu Asp Asn Ile Arg			
	115	120	125
Arg Leu Arg Ala Leu Ala Asp Gly Val Gln Lys Val His Lys Gly Thr			
	130	135	140
Thr Ile Ala Asn Val Val Ser Gly Ser Leu Ser Ile Ser Ser Gly Ile			
145	150	155	160
Leu Thr Leu Val Gly Met Gly Leu Ala Pro Phe Thr Glu Gly Gly Ser			
	165	170	175
Leu Val Leu Leu Glu Pro Gly Met Glu Leu Gly Ile Thr Ala Ala Leu			
	180	185	190
Thr Gly Ile Thr Ser Ser Thr Met Asp Tyr Gly Lys Lys Trp Trp Thr			
	195	200	205
Gln Ala Gln Ala His Asp Leu Val Ile Lys Ser Leu Asp Lys Leu Lys			
	210	215	220
Glu Val Arg Glu Phe Leu Gly Glu Asn Ile Ser Asn Phe Leu Ser Leu			
225	230	235	240
Ala Gly Asn Thr Tyr Gln Leu Thr Arg Gly Ile Gly Lys Asp Ile Arg			
	245	250	255
Ala Leu Arg Arg Ala Arg Ala Asn Leu Gln Ser Val Pro His Ala Ser			
	260	265	270
Ala Ser Arg Pro Arg Val Thr Glu Pro Ile Ser Ala Glu Ser Gly Glu			
	275	280	285
Gln Val Glu Arg Val Asn Glu Pro Ser Ile Leu Glu Met Ser Arg Gly			
	290	295	300
Val Lys Leu Thr Asp Val Ala Pro Val Gly Phe Phe Leu Val Leu Asp			
305	310	315	320
Val Val Tyr Leu Val Tyr Glu Ser Lys His Leu His Glu Gly Ala Lys			
	325	330	335

Ser Glu Thr Ala Glu Glu Leu Lys Lys Val Ala Gln Glu Leu Glu Glu
340 345 350

Lys Leu Asn Met Leu Asn Asn Asn Tyr Lys Ile Leu Gln Ala Asp Gln
355 360 365

Glu Leu
370

<210> 216

<211> 368

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(368)

<223> Human APOL1 G2 variant of EMR isotype (no signal sequence)

<400> 216

Glu Ala Gly Ala Arg Val Gln Gln Asn Val Pro Ser Gly Thr Asp Thr
1 5 10 15

Gly Asp Pro Gln Ser Lys Pro Leu Gly Asp Trp Ala Ala Gly Thr Met

20 25 30
Asp Pro Glu Ser Ser Ile Phe Ile Glu Asp Ala Ile Lys Tyr Phe Lys

35 40 45

Glu Lys Val Ser Thr Gln Asn Leu Leu Leu Leu Thr Asp Asn Glu
50 55 60

Ala Trp Asn Gly Phe Val Ala Ala Ala Glu Leu Pro Arg Asn Glu Ala
65 70 75 80

Asp Glu Leu Arg Lys Ala Leu Asp Asn Leu Ala Arg Gln Met Ile Met

85 90 95
Lys Asp Lys Asn Trp His Asp Lys Gly Gln Gln Tyr Arg Asn Trp Phe

100 105 110

Leu Lys Glu Phe Pro Arg Leu Lys Ser Glu Leu Glu Asp Asn Ile Arg
115 120 125

Arg Leu Arg Ala Leu Ala Asp Gly Val Gln Lys Val His Lys Gly Thr
130 135 140

Thr Ile Ala Asn Val Val Ser Gly Ser Leu Ser Ile Ser Ser Gly Ile

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Val Leu Leu Glu Pro Gly Met Glu Leu Gly Ile Thr Ala Ala Leu

180 185 190

Thr Gly Ile Thr Ser Ser Thr Met Asp Tyr Gly Lys Lys Trp Trp Thr

195 200 205

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

210 215 220

Glu Val Arg Glu Phe Leu Gly Glu Asn Ile Ser Asn Phe Leu Ser Leu

225 230 235 240

Ala Gly Asn Thr Tyr Gln Leu Thr Arg Gly Ile Gly Lys Asp Ile Arg

245 250 255

Ala Leu Arg Arg Ala Arg Ala Asn Leu Gln Ser Val Pro His Ala Ser

260 265 270

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

275 280 285

Gln Val Glu Arg Val Asn Glu Pro Ser Ile Leu Glu Met Ser Arg Gly

290 295 300

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

305 310 315 320

Val Val Tyr Leu Val Tyr Glu Ser Lys His Leu His Glu Gly Ala Lys

325 330 335

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

340 345 350

Lys Leu Asn Ile Leu Asn Asn Lys Ile Leu Gln Ala Asp Gln Glu Leu

355 360 365

<210> 217

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: vA (v1)

<400> 217

Met Glu Gly Ala Ala Leu Leu Arg Val Ser Val Leu Cys Ile Trp Met

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Val Gln Gln Asn Val Pro Ser Gly

35 40

<210> 218

<211> 57

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: vB1 (v2)

<400> 218

Met Arg Phe Lys Ser His Thr Val Glu Leu Arg Arg Pro Cys Ser Asp

1 5 10 15

Met Glu Gly Ala Ala Leu Leu Arg Val Ser Val Leu Cys Ile Trp Met

20 25 30

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

35 40 45

Arg Val Gln Gln Asn Val Pro Ser Gly

50 55

<210> 219

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: vB3 (v2-3)

<400> 219

Met Arg Phe Lys Ser His Thr Val Glu Leu Arg Arg Pro Cys Ser Asp

1 5 10 15

Met Glu Gly Ala Ala Leu Leu Arg Val Ser Val Leu Cys Ile Trp Val

20

25

30

Gln Gln Asn Val Pro Ser Gly

35

<210> 220

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: vC (v4)

<400> 220

Met Glu Gly Ala Ala Leu Leu Arg Val Ser Val Leu Cys Ile Trp Val

1

5

10

15

Gln Gln Asn Val Pro Ser Gly

20