



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0143255
(43) 공개일자 2022년10월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/10 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01) *G01N 33/569* (2017.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/10 (2013.01)
A61P 31/14 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2021-0049528

(22) 출원일자 2021년04월16일

심사청구일자 2022년03월14일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

정상택

경기도 성남시 분당구 정자일로 100, A동 1907호
(정자동, 미켈란쉐르빌)

이지선

서울특별시 은평구 불광로1길 11-10, 202호(대조동, 대조동주택)

김보미

경기도 수원시 장안구 정자천로188번길 64, 334동
1504호(정자동, 두견마을 현대백산아파트)

(74) 대리인

위병갑

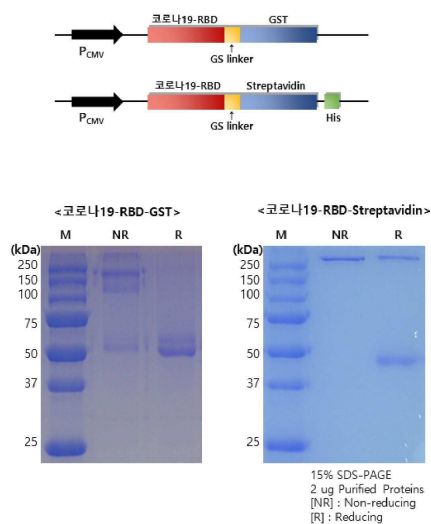
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 코로나-19 바이러스 표적 인간 항체

(57) 요약

본 발명은 신종 코로나 바이러스 (코로나-19 바이러스: SARS-CoV-2)에 대한 인간 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편에 관한 것으로, 본 발명에 따른 COVID-19 질환 원인체인 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 결합하는 인간 항체 및 이의 면역학적 활성을 가진 단편들은 코로나-19 바이러스의 스파이크 단백질의 RBD 영역에 높은 친화도로 결합함으로써 코로나-19 바이러스가 숙주에게 감염되는 것을 효과적으로 막을 수 있으므로, 이를 코로나-19 바이러스 감염증의 예방 또는 치료 용도로 활용할 수 있으며, 상기 항체 및 이의 면역학적 활성을 가진 단편들을 이용하여 신속하게 면역 진단 (검출)이 가능하므로, 높은 감염성을 가진 코로나-19 바이러스의 진단 및 역학조사에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

G01N 33/56983 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/56 (2013.01)

C07K 2317/565 (2013.01)

G01N 2333/165 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2020531101
과제번호	2020-ER5311-01
부처명	질병관리본부
과제관리(전문)기관명	질병관리본부
연구사업명	학술연구개발용역과제
연구과제명	제조합 항원 및 인간항체 라이브러리를 이용한 2019 신종코로나바이러스 치료용 단
클론 항체 발굴 및 개량	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	고려대학교
연구기간	2021.01.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

코로나-19 바이러스(SARS-CoV-2)에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편.

청구항 2

제 1항에 있어서, 면역학적 활성을 가진 단편은 Fab, Fd, Fab', dAb, F(ab'), F(ab')₂, scFv(single chain fragment variable), Fv, 단일쇄 항체, Fv 이량체, 상보성 결정 영역 단편, 인간화 항체, 키메라 항체 및 디아바디(diabody)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인, 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편.

청구항 3

제 1항에 있어서, 서열번호 1 내지 7의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH(Complementarity determining regions Heavy chain)1, 서열번호 8 내지 13의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 14 내지 21의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH3를 포함하는 VH 도메인을 포함하는, 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편.

청구항 4

제 1항에 있어서, 서열번호 45 내지 48의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR1, 서열번호 49 내지 53의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR2, 서열번호 54 내지 58의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR3, 및 서열번호 59 또는 62의 아미노산 서열을 포함하는 FR4를 포함하는 VH 도메인을 포함하는, 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편.

청구항 5

제 1항에 있어서, 서열번호 22 내지 30의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL(Complementarity determining regions Light chain)1, 서열번호 31 내지 36의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 37 내지 44의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL3를 포함하는 VL 도메인을 포함하는, 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편.

청구항 6

제 1항에 있어서, 서열번호 63 내지 71의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR1, 서열번호 72 내지 81의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR2, 서열번호 82 내지 90의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR3 및 서열번호 91 내지 98의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR4를 포함하는 VL 도메인을 포함하는, 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편.

청구항 7

제 1항에 있어서,

(i) 서열번호 1 내지 7의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH1, 서열번호 8 내지 13의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 14 내지 21의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH3를 포함하는 VH 도메인; 및/또는

(ii) 서열번호 22 내지 30의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL(Complementarity determining regions Light chain)1, 서열번호 31 내지 36의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 37 내지 44의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL3를 포함하는 VL 도메인을 포함하는 V 도메인을 포함하는, 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편.

청구항 8

제 1항에 있어서, 서열번호 99 내지 112의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 VH 도메인; 및 서열번호 113 내지 123의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 VL 도메인을 포함하는, 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편.

청구항 9

제 1항의 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 코딩하는 단리된 핵산 분자.

청구항 10

제 9항의 단리된 핵산 분자를 포함하는 벡터.

청구항 11

제 10항의 벡터로 형질전환된 숙주 세포.

청구항 12

- a) 제 9항의 단리된 핵산 분자를 포함하는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계; 및
- b) 숙주 세포 배양물로부터 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 회수하는 단계를 포함하는 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 제조하는 방법.

청구항 13

제 1항의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 함유하는 코로나-19 바이러스 감염증(신종 코로나바이러스 감염증, COVID-19)의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 14

제 1항의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 포함하는, 코로나-19 바이러스 검출용 조성물.

청구항 15

제 14항의 코로나-19 바이러스 검출용 조성물을 포함하는 코로나-19 바이러스 검출 키트.

청구항 16

- (a) 김체로부터 분리된 시료를 제 1항의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편과 접촉시키는 단계; 및
- (b) 항원-항체 복합체 형성을 검출하는 단계를 포함하는, 코로나-19 바이러스를 검출하는 방법.

청구항 17

- (a) 김체로부터 분리된 시료를 제 1항의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편과 접촉시켜 항원-항체 복합체를 형성시키는 단계; 및
- (b) 상기 복합체의 형성을 검출하는 단계를 포함하는, 코로나-19 바이러스 감염증 진단에 관한 정보를 제공하는 방법.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 신종 코로나 바이러스 (코로나-19 바이러스: SARS-CoV-2)에 대한 인간 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 코로나바이러스는 단일가닥 양성 RNA를 게놈으로 가지고 있는 외피가 있는 바이러스로 1937년 처음 발견된 이후 사람을 포함하여 다양한 동물에게서 분리되었다. 코로나바이러스는 4개의 그룹으로 나눌 수 있다. 이중 알파-코로나바이러스(Alpha-coronavirus)와 베타-코로나바이러스(Beta-coronavirus)는 주로 포유류에 감염되고, 감마-코로나바이러스(Gamma-coronavirus)와 델타-코로나바이러스(Delta-coronavirus)는 조류에 감염되지만 최근 폐지에서 델타-코로나바이러스(Delta-coronavirus)의 감염이 확인된 사례가 있다. 코로나바이러스는 이중 간 감염이 이루어질 수 있다. 대표적인 사례로서 2003년에 전세계적으로 유행한 중증급성호흡기증후군을 일으키는 사스(SARS) 코로나바이러스와 2015년에 국내에 전파되어 확산된 메르스(MERS) 코로나바이러스를 들 수 있으며, 이들 바이러스 모두 박쥐에서 유래된 것으로 알려져 있다. 박쥐는 포유동물 중 비행능력이 있어 광범위한 지역에 서식할 수 있으며, 동굴 등 협소한 공간에서 다수의 개체가 집단으로 생활하는 특성으로 인하여 한 개체가 바이러스에 감염될 경우 집단으로 감염이 전달되고 비행을 통한 광범위한 지역으로의 이동을 통하여 다른 동물에 감염을 확산시킬 수 있다. 또한 박쥐는 다른 포유류와 달리 체온이 높아 바이러스에 대한 저항력이 있어 코로나바이러스 숙주인 박쥐는 영향을 받지 않고 지속적인 감염을 전파할 수 있다.

[0003] 상기 기술한 바와 같이 코로나바이러스는 이중 간의 전파가 가능하고 박쥐에서 유래한 신종 코로나바이러스는 사람에게 전파하여 큰 문제를 발생시킬 수 있음이 확인되어 신종 박쥐 유래 코로나바이러스를 검출하기 위한 효과적인 진단법과 치료제의 개발이 시급하다. 현재 국내외에서 항바이러스제의 연구가 활발히 진행되고 있으며, 임상에서 효능을 보인 비 특이적 항바이러스제는 type I 인터페론과 리바비린(ribavirin)이 있으나 감염초기에만 바이러스 억제 효과가 있는 것으로 보고된 바 있고, 메르스 코로나 바이러스 치료제와 사스 코로나 바이러스에 대한 치료제는 최근 개발 필요성이 높아짐에 따라 주목을 받고 있다(A. Zumla et.al, Nature Reviews Drug Discovery, 15:327-347,2016). 그러나, 현재 국내외에 허가 받은 치료제나 백신이 없고, 개발되는 물질의 평가 시스템이 확립되지 못하여 효능 평가를 위한 시스템 개발이 시급한 실정이다.

[0004] 2019년 12월 중국 우한지역에서 발생했다고 보고되는 새로운 코로나바이러스인 코로나-19 바이러스 감염증(신종 코로나바이러스 감염증, COVID-19)은 감염 시 약 2~14일의 잠복기를 거친 뒤 발열 및 기침이나 호흡곤란 등 호흡기 증상, 폐렴이 주 증상으로 나타나지만 무증상 감염 사례도 드물게 나오고 있다. 세계보건기구(WHO)는 코로나-19에 대해 최고 경보단계인 '팬데믹(pandemic)'을 선언했으며, 2020년 4월 11일 21시 기준으로 전세계 215개국의 확진자 1,715,224명, 사망자 103,827명으로 6.05%의 치사율 가지는 질병이다. 코로나-19 바이러스의 유전체는 RNA 바이러스의 하나로 유전체가 들어있는 단백질 껍질 (capsid)를 외막(envelope)이 둘러싸고 있고 표면에는 막 당단백질(membrane glycoprotein) 형태인 스파이크 단백질(spike protein)들이 돌기처럼 돌출된 구조를 가지며, 이 중 스파이크 단백질은 못처럼 튀어나온 숙주에 존재하는 수용체 표면에 결합하여 숙주세포의 안으로 침투하는 역할을 하여 숙주를 바이러스에 감염시키는 중요한 역할을 수행한다. 스파이크 단백질은 기능적으로 숙주세포의 수용체와 결합하는 S1 서브유닛(subunit)과 막에 융합하는 S2 서브유닛으로 나뉘며 S1 서브유닛에는 숙주세포의 ACE2 (Angiotensin converting enzyme 2) 수용체에 결합하는 RBD(Receptor binding domain)가 존재한다. 바이러스가 숙주세포를 감염시키는 것을 막기 위한 바이러스 중화능을 가진 인간 항체 개발 표적으로 스파이크 단백질의 RBD 영역이 매우 적합하며, 실질적으로 선행연구에서 발표된 2003년에 유행한 SARS와 2015년에 유행한 MERS를 중화시킬 수 있는 능력을 가진 인간 항체들도 모두 코로나바이러스의 RBD 영역에 결합하는 항체들이었다.

[0005] 이에, 초고속 탐색 시스템을 이용하여 코로나-19 바이러스 RBD 영역에 결합함으로써 바이러스 중화 능력을 가지는 신규한 인간 항체를 발굴하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명에서는 코로나-19 바이러스의 검출, 코로나-19 바이러스 감염증의 예방 또는 치료 용도의 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0007] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 제공한다.
- [0008] 또한, 본 발명은 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 코딩하는 단리된 핵산 분자, 이를 포함하는 벡터 및 상기 벡터로 형질전환된 숙주 세포를 제공한다.
- [0009] 또한, 본 발명은 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 제조하는 방법을 제공한다.
- [0010] 또한, 본 발명은 코로나-19 바이러스 감염증(신종 코로나바이러스 감염증, COVID-19)의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0011] 또한, 본 발명은 코로나-19 바이러스 검출용 조성물 및 검출 키트를 제공한다.
- [0012] 또한, 본 발명은 코로나-19 바이러스를 검출하는 방법을 제공한다.
- [0013] 아울러, 본 발명은 코로나-19 바이러스 감염증 진단에 관한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0014] 본 발명에 따른 COVID-19 질환 원인체인 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 결합하는 인간 항체 및 이의 면역학적 활성을 가진 단편들은 코로나-19 바이러스의 스파이크 단백질의 RBD 영역에 높은 친화도로 결합함으로써 코로나-19 바이러스가 숙주에게 감염되는 것을 효과적으로 막을 수 있으므로, 이를 코로나-19 바이러스 감염증의 예방 또는 치료 용도로 활용할 수 있으며, 상기 항체 및 이의 면역학적 활성을 가진 단편들을 이용하여 신속하게 면역 진단 (검출)이 가능하므로, 높은 감염성을 가진 코로나-19 바이러스의 진단 및 역학조사에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 본 발명에서 제작한 이합체 코로나-19 바이러스-RBD 영역 항원 단백질 발현 벡터 및 사합체 코로나-19 바이러스-RBD 영역 항원 단백질 발현 벡터를 동물세포에서 발현 및 정제한 후 SDS-PAGE 젤로 확인한 도이다.
- 도 2는 유세포 분석기를 이용한 항체 탐색 모식도이다.
- 도 3은 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 특이적 결합을 나타내는 인간 항체 클론들을 증폭하기 위한 반복적인 스크리닝 과정을 나타낸 도이다.
- 도 4는 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 높은 결합 친화도를 보이는 scFv 인간 항체 변이체 6종의 아미노산 서열을 나타낸 도이다.
- 도 5는 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 높은 결합 친화도를 보이는 VH 인간 항체 변이체 4종의 아미노산 서열을 나타낸 도이다.
- 도 6은 6종의 scFv 항체 변이체의 유세포 분석기를 통한 코로나-19 바이러스-RBD 결합력 분석결과를 나타낸 도이다.
- 도 7은 4종의 VH 항체 변이체의 유세포 분석기를 통한 코로나-19 바이러스-RBD 결합력 분석결과를 나타낸 도이다.
- 도 8은 scFv 변이체 JS 1, JS 2, JS 3, JS 4, JS 5 및 JS 7의 IgG 형태 항체를 발현 및 정제하여 SDS-PAGE 젤로 확인한 도이다.
- 도 9는 scFv 변이체 JS 1, JS 2, JS 3 및 JS 4의 IgG 형태 항체의 결합력을 ELISA로 확인한 도이다.
- 도 10은 VH 변이체 JS-VH 4를 이합체/사합체로 도입하여 제작한 IgG 형태 항체 제작용 발현 벡터 (위) 및 이를 발현하고 정제하여 SDS-PAGE 젤 (아래)로 확인한 도이다.
- 도 11은 VH 변이체 JS-VH 4를 이합체/사합체로 도입하여 제작한 IgG 형태 항체의 결합력을 ELISA로 확인한 도이다.

도 12는 JS-VH 4 유래 scFv 변이체 5종의 코로나-19 바이러스-RBD 결합력 분석 결과를 나타낸 도이다.

도 13은 JS-VH 4 유래 scFv 항체 변이체 5종의 아미노산 서열 분석 결과를 나타낸 도이다.

도 14는 JS-VH4 유래 항체 변이체 중 VH 영역에 아미노산 변이가 일어난 4종 (BM 13, BM 18, BM 57 및 BM 73)의 변이를 다시 JS-VH 4의 서열로 치환하여 (BM 13-1, BM 18-1, BM 57-1 및 BM 73-1) 코로나-19 바이러스-RBD에 대한 결합력을 비교한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 구현예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 구현예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다. 본 발명은 후술하는 특허청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.
- [0017] 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0018] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한 본 명세서에는 바람직한 방법이나 시료가 기재되나, 이와 유사하거나 동등한 것들도 본 발명의 범주에 포함된다. 본 명세서에 참고문헌으로 기재되는 모든 간행물의 내용은 본 발명에 통합된다.
- [0019] 본 명세서 전반을 통하여, 천연적으로 존재하는 아미노산에 대한 통상의 1문자 및 3문자 코드가 사용될 뿐만 아니라 Aib(α -아미노이소부티르산), Sar(N-methylglycine) 등과 같은 다른 아미노산에 대해 일반적으로 허용되는 3문자 코드가 사용된다. 또한 본 발명에서 약어로 언급된 아미노산은 하기와 같이 IUPAC-IUB 명명법에 따라 기재되었다:
- [0020] 알라닌: A, 아르기닌: R, 아스파라긴: N, 아스파르트산: D, 시스테인: C, 글루탐산: E, 글루타민: Q, 글리신: G, 히스티딘: H, 이소류신: I, 류신: L, 리신: K, 메티오닌: M, 페닐알라닌: F, 프롤린: P, 세린: S, 트레오닌: T, 트립토판: W, 티로신: Y 및 발린: V.
- [0022] 일 측면에서, 본 발명은 코로나-19 바이러스(SARS-CoV-2)에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편에 관한 것이다.
- [0023] 일 구현예에서, 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체의 Fc 변이체 또는 Fab 변이체일 수 있다.
- [0024] 일 구현예에서, 면역학적 활성을 가진 단편은 Fab, Fd, Fab', dAb, F(ab'), F(ab')₂, scFv(single chain fragment variable), Fv, 단일쇄 항체, Fv 이량체, 상보성 결정 영역 단편, 인간화 항체, 키메라 항체 및 디아바디(diabody)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있으며, scFv 또는 Fab인 것이 더욱 바람직하다.
- [0025] 일 구현예에서, 상기 항체는 단일클론 항체일 수 있다.
- [0026] 일 구현예에서, 상기 항체는 IgG일 수 있다.
- [0027] 상기 항체는 전체(whole) 항체 형태일 뿐 아니라 항체 분자의 기능적인 단편을 포함한다. 전체 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄(light chain) 및 2개의 전체 길이의 중쇄(heavy chain)를 가지는 구조이며 각각의 경쇄는 중쇄와 다이설파이드 결합(disulfide bond)으로 연결되어 있다. 항체 분자의 기능적인 단편이란 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 뜻하며, 항체 단편의 예는 (i) 경쇄의 가변영역(VL) 및 중쇄의 가변영역(VH)과 경쇄의 불변영역(CL) 및 중쇄의 첫번째 불변 영역(CH1)으로 이루어진 Fab 단편; (ii) VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (iii) 단일 항체의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편; (iv) VH 도메인으로 이루어진 dAb 단편(Ward ES et al., Nature 341:544-546 (1989)); (v) 분리된 CDR 영역; (vi) 2개의 연결된 Fab 단편을 포함하는 2가

단편인 F(ab')₂ 단편; (vii) VH 도메인 및 VL 도메인이 항원 결합 부위를 형성하도록 결합시키는 펩타이드 링커에 의해 결합된 단일쇄 Fv 분자(scFv); (viii) 이특이적인 단일쇄 Fv 이량체(PCT/US92/09965) 및 (ix) 유전자 융합에 의해 제작된 다가 또는 다특이적인 단편인 디아바디(diabody) W094/13804) 등을 포함한다.

[0028] 일 구현예에서, 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편은 서열번호 1 내지 7의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH(Complementarity determining regions Heavy chain)1, 서열번호 8 내지 13의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 14 내지 21의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH3를 포함하는 VH 도메인을 포함할 수 있다.

[0029] 일 구현예에서, 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편은 서열번호 45 내지 48의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR1, 서열번호 49 내지 53의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR2, 서열번호 54 내지 58의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR3, 및 서열번호 59 또는 62의 아미노산 서열을 포함하는 FR4를 포함하는 VH 도메인을 포함할 수 있다.

[0030] 일 구현예에서, 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편은 서열번호 22 내지 30의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL(Complementarity determining regions Light chain)1, 서열번호 31 내지 36의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 37 내지 44의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL3를 포함하는 VL 도메인을 포함할 수 있다.

[0031] 일 구현예에서, 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편은 서열번호 63 내지 71의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR1, 서열번호 72 내지 81의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR2, 서열번호 82 내지 90의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR3 및 서열번호 91 내지 98의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR4를 포함하는 VL 도메인을 포함할 수 있다.

[0032] 일 구현예에서, 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편은 (i) 서열번호 1 내지 7의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH1, 서열번호 8 내지 13의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 14 내지 21의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH3를 포함하는 VH 도메인; 및/또는

[0033] (ii) 서열번호 22 내지 30의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL(Complementarity determining regions Light chain)1, 서열번호 31 내지 36의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 37 내지 44의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL3를 포함하는 VL 도메인을 포함하는 V 도메인을 포함할 수 있다.

[0034] 일 구현예에서, 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편은 서열번호 99 내지 112의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 VH 도메인; 및 서열번호 113 내지 123의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 VL 도메인을 포함할 수 있다.

[0035] 일 구현예에서, 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편은 서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 CL, 서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CH1, 서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CH2 또는 서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CH3 서열을 포함할 수 있다.

[0036] 일 구현예에서, 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편은 i) 서열번호 45 내지 48의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR1, 서열번호 1 내지 7의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH1, 서열번호 49 내지 53의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR2, 서열번호 8 내지 13의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH2, 서열번호 54 내지 58의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR3, 서열번호 14 내지 21의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRH3, 및 서열번호 59 또는 62의 아미노산 서열로 이루어지는

군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR4를 포함하는 VH 도메인; 및/또는 ii) 서열번호 63 내지 71의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR1, 서열번호 22 내지 30의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL1, 서열번호 72 내지 81의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR2, 서열번호 31 내지 36의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL2, 서열번호 82 내지 90의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR3, 서열번호 37 내지 44의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 CDRL3, 및 서열번호 91 내지 98의 아미노산 서열로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나를 포함하는 FR4를 포함하는 VL 도메인을 포함하는 V 도메인을 포함할 수 있다.

[0037] 일 구현예에서, 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편은 scFv 변이체인 JS 1, JS 2, JS 3, JS 4, JS 5 및 JS 7; VH 변이체인 JS-VH 4, JS-VH 9, JS-VH 19 및 JS-VH 21; 및 JS-VH 4 유래 scFv 변이체인 BM 13, BM 18, BM 57 및 BM 73로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 변이체일 수 있다.

[0038] 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체의 면역학적 활성을 가진 단편은 IgG 형태의 항체로 제작될 때 이합체 또는 사합체로 포함되도록 제작될 수 있다.

[0039] 본 발명에서 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편은 동물 유래 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체, 및 이들의 면역학적 활성을 가진 단편으로 이루어진 군에서 선택된 것일 수 있다. 상기 항체는 재조합적 또는 합성적으로 생산된 것일 수 있다.

[0040] 원하는 항원을 피면역 동물에게 면역시켜 생산하는 동물 유래 항체는 일반적으로 치료 목적으로 인간에 투여 시 면역거부반응이 일어날 수 있으며, 이러한 면역거부반응을 억제하고자 키메라 항체(chimeric antibody)가 개발되었다. 키메라 항체는 유전공학적 방법을 이용하여 항-아이소타입(anti-isotype) 반응의 원인이 되는 동물 유래 항체의 불변 영역을 인간 항체의 불변 영역으로 치환한 것이다. 키메라 항체는 동물 유래 항체에 비하여 항-아이소타입 반응에 있어서 상당 부분 개선되었으나, 여전히 동물 유래 아미노산들이 가변 영역에 존재하고 있어 잠재적인 항-이디오타입(anti-idiotypic) 반응에 대한 부작용을 내포하고 있다. 이러한 부작용을 개선하고자 개발된 것이 인간화 항체(humanized antibody)이다. 이는 키메라 항체의 가변 영역 중 항원의 결합에 중요한 역할을 하는 CDR(complementarity determining regions) 부위를 인간 항체 골격(framework)에 이식하여 제작된다.

[0041] 인간화 항체를 제작하기 위한 CDR 이식(grafting) 기술에 있어서 가장 중요한 것은 동물 유래 항체의 CDR 부위를 가장 잘 받아들일 수 있는 최적화된 인간 항체를 선정하는 것이며, 이를 위하여 항체 데이터베이스의 활용, 결정구조(crystal structure)의 분석, 분자모델링 기술 등이 활용된다. 그러나, 최적화된 인간 항체 골격에 동물 유래 항체의 CDR 부위를 이식할지라도 동물 유래 항체의 골격에 위치하면서 항원 결합에 영향을 미치는 아미노산이 존재하는 경우가 있기 때문에, 항원 결합력이 보존되지 못하는 경우가 상당수 존재하므로, 항원 결합력을 복원하기 위한 추가적인 항체 공학 기술의 적용은 필수적이라고 할 수 있다.

[0042] 상기 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편은 생체에서 분리된 (생체에 존재하지 않는) 것 또는 비자연적으로 생산(non-naturally occurring)된 것일 수 있으며, 예컨대, 합성적 또는 재조합적으로 생산된 것일 수 있다.

[0043] 본 발명에서 "항체"라 함은, 면역계 내에서 항원의 자극에 의하여 만들어지는 물질을 의미하는 것으로서, 그 종류는 특별히 제한되지 않으며, 자연적 또는 비자연적(예컨대, 합성적 또는 재조합적)으로 얻어질 수 있다. 항체는 생체 외뿐 아니라 생체 내에서도 매우 안정하고 반감기가 길기 때문에 대량 발현 및 생산에 유리하다. 또한, 항체는 본질적으로 다이머(dimer) 구조를 가지므로 접착능(avidity)이 매우 높다. 완전한 항체는 2개의 전장(full length) 경쇄 및 2개의 전장 중쇄를 가지는 구조이며 각각의 경쇄는 중쇄와 이황화 결합으로 연결되어 있다. 항체의 불변 영역은 중쇄 불변 영역과 경쇄 불변 영역으로 나뉘어지며, 중쇄 불변 영역은 감마(γ), 뮤(μ), 알파(α), 델타(δ) 및 엡실론(ϵ) 타입을 가지고, 서브클래스로 감마1(γ 1), 감마2(γ 2), 감마3(γ 3), 감마4(γ 4), 알파1(α 1) 및 알파2(α 2)를 가진다. 경쇄의 불변 영역은 카파(κ) 및 람다(λ) 타입을 가진다.

[0044] 본 발명에서 용어, "중쇄(heavy chain)"는 항원에 특이성을 부여하기 위해 충분한 가변 영역 서열을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 가변 영역 도메인 V_H 및 3개의 불변 영역 도메인 C_{H1} , C_{H2} 및 C_{H3} 과 힌지(hinge)를 포함하는 전장 중쇄 및 이의 단편을 모두 포함하는 의미로 해석된다. 또한, 용어 "경쇄(light chain)"는 항원에 특이성을 부여하기 위한 충분한 가변 영역 서열을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 가변 영역 도메인 V_L 및 불변 영

역 도메인 C_L 을 포함하는 전장 경쇄 및 이의 단편을 모두 포함하는 의미로 해석된다.

- [0045] 본 발명에서 용어, "가변 영역(variable region) 또는 가변 부위 (variable domain)"는 항원과 특이적으로 결합하는 기능을 수행하면서 서열상의 많은 변이를 보이는 항체 분자의 부분을 의미하고, 가변 영역에는 상보성 결정 영역인 CDR1, CDR2 및 CDR3가 존재한다. 상기 CDR 사이에는 프레임 워크 영역(framework region, FR) 부분이 존재하여 CDR 고리를 지지해주는 역할을 한다. 상기 "상보성 결정 영역"은 항원의 인식에 관여하는 고리 모양의 부위로서 이 부위의 서열이 변함에 따라 항체의 항원에 대한 특이성이 결정된다.
- [0046] 본 발명에서 사용되는 용어 "scFv(single chain fragment variable)"는 유전자 재조합을 통해 항체의 가변영역만을 발현시켜 만든 단쇄항체를 말하며, 항체의 VH 영역과 VL 영역을 짧은 펩티드 사슬로 연결한 단일쇄 형태의 항체를 말한다. 상기 용어 "scFv"는 달리 명시되지 않거나, 문맥상 달리 이해되는 것이 아니라면, 항원 결합 단편을 비롯한 scFv 단편을 포함하고자 한다. 이는 통상의 기술자에게 자명한 것이다.
- [0047] 본 발명에서 용어, "상보성결정영역(complementarity determining region, CDR)"은 면역글로불린의 중쇄 및 경쇄의 고가변 영역(hypervariable region)의 아미노산 서열을 의미한다. 중쇄 및 경쇄는 각각 3개의 CDR을 포함할 수 있다(CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 CDRL1, CDRL2, CDRL3). 상기 CDR은 항체가 항원 또는 항원결정부위에 결합하는 데 있어서 주요한 접촉 잔기를 제공할 수 있다.
- [0048] 본 발명에서, 용어, "특이적으로 결합" 또는 "특이적으로 인식"은 당업자에게 통상적으로 공지되어 있는 의미와 동일한 것으로서, 항원 및 항체가 특이적으로 상호작용하여 면역학적 반응을 하는 것을 의미한다.
- [0049] 본 발명에서 용어, "항원결합단편"은 면역글로불린 전체 구조에 대한 그의 단편으로, 항원이 결합할 수 있는 부분을 포함하는 폴리펩타이드의 일부를 의미한다. 예를 들어, scFv, (scFv) 2, scFv-Fc, Fab, Fab' 또는 F(ab') 2 일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 상기 항원결합단편 중 Fab는 경쇄 및 중쇄의 가변 영역과 경쇄의 불변 영역 및 중쇄의 첫 번째 불변 영역(C_{H1})을 가지는 구조로 1개의 항원 결합 부위를 가진다. Fab'는 중쇄 C_{H1} 도메인의 C-말단에 하나 이상의 시스테인 잔기를 포함하는 힌지 영역(hinge region)을 가진다는 점에서 Fab와 차이가 있다. F(ab') 2 항체는 Fab'의 힌지 영역의 시스테인 잔기가 디설파이드 결합을 이루면서 생성된다. Fv는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 부위만을 가지고 있는 최소의 항체조각으로 Fv 단편을 생성하는 재조합 기술은 당업계에 널리 공지되어 있다. 이중쇄 Fv(two-chain Fv)는 비공유 결합으로 중쇄 가변 부위와 경쇄 가변 부위가 연결되어 있고 단쇄 Fv(single-chain Fv)는 일반적으로 펩타이드 링커를 통하여 중쇄의 가변 영역과 단쇄의 가변 영역이 공유 결합으로 연결되거나 또는 C-말단에서 바로 연결되어 있어서 이중쇄 Fv와 같이 다이머와 같은 구조를 이룰 수 있다. 상기 링커는 1 내지 100개 또는 2 내지 50개의 임의의 아미노산으로 이루어진 펩타이드 링커일 수 있으며, 당업계에 적절한 서열이 알려져 있다. 상기 항원결합단편은 단백질 가수분해 효소를 이용하여 얻을 수 있고(예를 들어, 전체 항체를 파파인으로 제한 절단하면 Fab를 얻을 수 있고 펩신으로 절단하면 F(ab') 2 단편을 얻을 수 있다), 유전자 재조합 기술을 통하여 제작할 수 있다.
- [0050] 본 발명에서 용어 "힌지 영역(hinge region)"은 항체의 중쇄에 포함되어 있는 영역으로서, C_{H1} 및 C_{H2} 영역 사이에 존재하며, 항체 내 항원 결합 부위의 유연성(flexibility)을 제공하는 기능을 하는 영역을 의미한다. 예컨대, 상기 힌지는 인간 항체로부터 유래한 것일 수 있으며, 구체적으로, IgA, IgE, 또는 IgG, 예컨대, IgG1, IgG2, IgG 3, 또는 IgG4로부터 유래한 것일 수 있다.
- [0051] 일 측면에서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 코딩하는 단리된 핵산 분자, 이를 포함하는 벡터 및 상기 벡터로 형질전환된 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0052] 본 발명의 핵산 분자는 단리된 것이거나 재조합된 것일 수 있으며, 단일쇄 및 이중쇄 형태의 DNA 및 RNA뿐만 아니라 대응하는 상보성 서열이 포함된다. 단리된 핵산은 천연 생성 원천에서 단리된 핵산의 경우, 핵산이 단리된 개체의 게놈에 존재하는 주변 유전 서열로부터 분리된 핵산이다. 주형으로부터 효소적으로 또는 화학적으로 합성된 핵산, 예컨대 PCR 산물, cDNA 분자, 또는 올리고뉴클레오타이드의 경우, 이러한 절차로부터 생성된 핵산이 단리된 핵산분자로 이해될 수 있다. 단리된 핵산분자는 별도 단편의 형태 또는 더 큰 핵산 구축물의 성분으로서의 핵산 분자를 나타낸다. 핵산은 다른 핵산 서열과 기능적 관계로 배치될 때 작동가능하게 연결된다. 예를 들면, 전서열 또는 분비 리더(leader)의 DNA는 폴리펩타이드가 분비되기 전의 형태인 전단백질(preprotein)로서 발현되는 경우 폴리펩타이드의 DNA에 작동가능하게 연결되고, 프로모터 또는 인핸서는 폴리펩타이드 서열의 전사에 영향을 주는 경우 코딩 서열에 작동가능하게 연결되며, 또는 리보솜 결합 부위는 번역을 촉진하도록 배치될 때 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 일반적으로 작동가능하게 연결된 연결된 DNA 서열들이 인접하여

위치함을 의미하며, 분비 리더의 경우 인접하여 동일한 리더 프레임 내에 존재하는 것을 의미한다. 그러나 인헨서는 인접하여 위치할 필요는 없다. 연결은 편리한 제한 효소 부위에서 라이게이션에 의해 달성된다. 이러한 부위가 존재하지 않는 경우, 합성 올리고뉴클레오타이드 어댑터 또는 링커를 통상적인 방법에 따라 사용한다.

[0053] 본 발명의 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 코딩하는 단리된 핵산 분자는 코돈의 축퇴성(degeneracy)으로 인하여 또는 상기 항체를 발현시키고자 하는 생물에서 선호되는 코돈을 고려하여, 코딩영역으로부터 발현되는 항체의 아미노산 서열을 변화시키지 않는 범위 내에서 코딩영역에 다양한 변형이 이루어질 수 있고, 코딩영역을 제외한 부분에서도 유전자의 발현에 영향을 미치지 않는 범위 내에서 다양한 변형 또는 수식이 이루어질 수 있으며, 그러한 변형 유전자 역시 본 발명의 범위에 포함됨을 당업자는 잘 이해할 수 있을 것이다. 즉, 본 발명의 핵산 분자는 이와 동등한 활성을 갖는 단백질을 코딩하는 한, 하나 이상의 핵산 염기가 치환, 결실, 삽입 또는 이들의 조합에 의해 변이될 수 있으며, 이들 또한 본 발명의 범위에 포함된다. 이러한 핵산 분자의 서열은 단쇄 또는 이중쇄일 수 있으며, DNA 분자 또는 RNA(mRNA)분자일 수 있다.

[0054] 본 발명에 따른 본 발명의 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 코딩하는 단리된 핵산 분자는 단백질 발현을 위해 발현벡터에 삽입될 수 있다. 발현벡터는, 통상 조절 또는 제어(regulatory) 서열, 선별마커, 임의의 융합 파트너, 및/또는 추가적 요소와 작동가능하게 연결된, 즉, 기능적 관계에 놓인 단백질을 포함한다. 적절한 상태에서, 핵산으로 형질전환된 숙주세포, 바람직하게는, 본 발명에 따른 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 코딩하는 단리된 핵산 분자 함유 발현벡터를 배양하여 단백질 발현을 유도하는 방법에 의해 본 발명에 따른 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편이 생산될 수 있다. 포유류 세포, 박테리아, 곤충 세포, 및 효모를 포함하는 다양한 적절한 숙주세포가 사용될 수 있으나, 이에 제한하는 것은 아니다. 외인성 핵산을 숙주세포에 도입하는 방법은 당해 기술분야에 공지되어 있으며, 사용되는 숙주세포에 따라 달라질 것이다. 바람직하게는, 생산비가 저렴하여 산업적 이용가치가 높은 대장균을 숙주세포로 생산할 수 있다.

[0055] 본 발명의 벡터는 플라스미드 벡터, 코즈미드 벡터, 박테리오파지 벡터 및 바이러스 벡터 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 적합한 벡터는 프로모터, 오퍼레이터, 개시코돈, 종결코돈, 폴리아데닐화 시그널 및 인헨서 같은 발현 조절 엘리먼트 외에도 막 표적화 또는 분비를 위한 시그널 서열 또는 리더 서열을 포함하며 목적에 따라 다양하게 제조될 수 있다. 벡터의 프로모터는 구성적 또는 유도성일 수 있다. 상기 시그널 서열에는 숙주가 에셰리키아속(*Escherichia* sp.)균인 경우에는 *PhoA* 시그널 서열, *OmpA* 시그널 서열 등이, 숙주가 바실러스속(*Bacillus* sp.)균인 경우에는 α -아밀라아제 시그널 서열, 서브틸리신 시그널 서열 등이, 숙주가 효모(*yeast*)인 경우에는 *MF α* 시그널 서열, *SUC2* 시그널 서열 등이, 숙주가 동물세포인 경우에는 인슐린 시그널 서열, α -인터페론 시그널 서열, 항체 분자 시그널 서열 등을 이용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한 벡터는 벡터를 함유하는 숙주 세포를 선택하기 위한 선택 마커를 포함할 수 있고, 복제 가능한 발현벡터인 경우 복제 기원을 포함한다.

[0056] 본 발명에서 용어, "벡터"는 핵산 서열을 복제할 수 있는 세포로의 도입을 위해서 핵산 서열을 삽입할 수 있는 전달체를 의미한다. 핵산 서열은 외생(exogenous) 또는 이종(heterologous)일 수 있다. 벡터로서는 플라스미드, 코즈미드 및 바이러스(예를 들면 박테리오파지)를 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 당업자는 표준적인 재조합 기술에 의해 벡터를 구축할 수 있다(Maniatis, et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988; 및 Ausubel et al., In: *Current Protocols in Molecular Biology*, John, Wiley & Sons, Inc, NY, 1994 등).

[0057] 일 구현예에서, 상기 벡터의 제작 시, 상기 항체를 생산하고자 하는 숙주세포의 종류에 따라 프로모터(promoter), 종결자(terminator), 인헨서(enhancer) 등과 같은 발현조절 서열, 막 표적화 또는 분비를 위한 서열 등을 적절히 선택하고 목적에 따라 다양하게 조합할 수 있다.

[0058] 본 발명에서, 용어 "발현 벡터"는 전사되는 유전자 산물 중 적어도 일부분을 코딩하는 핵산 서열을 포함한 벡터를 의미한다. 일부의 경우에는 그 후 RNA 분자가 단백질, 폴리펩타이드, 또는 펩타이드로 번역된다. 발현 벡터에는 다양한 조절서열을 포함할 수 있다. 전사 및 번역을 조절하는 조절서열과 함께 벡터 및 발현 벡터에는 또 다른 기능도 제공하는 핵산 서열도 포함될 수 있다.

[0059] 본 발명에서, 용어 "숙주세포"는 진핵생물 및 원핵생물을 포함하며, 상기 벡터를 복제할 수 있거나 벡터에 의해 코딩되는 유전자를 발현할 수 있는 임의의 형질 전환 가능한 생물을 의미한다. 숙주세포는 상기 벡터에 의해 형질감염(transfected) 또는 형질전환(transformed) 될 수 있으며, 이는 외생의 핵산분자가 숙주세포 내에 전달되거나 도입되는 과정을 의미한다.

- [0060] 일 구현예에서, 상기 숙주 세포는 박테리아 또는 동물세포일 수 있으며, 동물 세포주는 CHO 세포, HEK 세포 또는 NSO 세포일 수 있고, 박테리아는 대장균일 수 있다.
- [0061] 일 측면에서, 본 발명은 본 발명의 상기 단리된 핵산 분자를 포함하는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계; 및 숙주 세포 배양물로부터 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 회수하는 단계를 포함하는 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0062] 일 구현예에서, 숙주 세포 배양물로부터 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 회수하는 단계 이후에 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 정제하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0063] 본 발명의 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편은 당해 기술분야에서 공지된 다양한 방법으로 분리 또는 정제될 수 있다. 표준 정제방법은 크로마토그래피 기술, 전기영동, 면역, 침강, 투석, 여과, 농축, 및 크로마토포커싱 (chromatofocusing) 기술을 포함한다. 당해 기술분야에 공지된 바와 같이, 예를 들어 박테리아 단백질 A, G, 및 L과 같은 다양한 천연 단백질이 항체와 결합하며, 상기 단백질은 정제에 이용될 수 있다. 종종, 특정 융합 파트너에 의한 정제가 가능할 수 있다.
- [0064] 본 발명에 따른 상기 벡터를 적절한 숙주 세포, 예를 들어, 대장균 또는 효모 세포 등에 형질전환시킨 후, 형질전환된 숙주 세포를 배양함으로써 본 발명에 따른 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 대량 생산할 수 있다. 숙주 세포의 종류에 따른 적절한 배양 방법 및 배지 조건 등은 당해 분야의 통상의 기술자에게 알려진 공지 기술로부터 당업자가 용이하게 선택할 수 있다. 상기 숙주 세포는 대장균(*E. coli*) 또는 바실러스 서브틸러스(*Bacillus subtilis*)와 같은 원핵 생물일 수 있다. 또한, 사카로마이세스 세르비시아(*Saccharomyces cerevisiae*)와 같은 효모, 곤충 세포, 식물 세포, 동물 세포로부터 유래한 진핵 세포일 수 있다. 더욱 바람직하게는, 상기 동물 세포는 자가 또는 동종 이계 동물 세포일 수 있다. 자가 또는 동종 이계 동물 세포에 도입하여 제조된 형질전환체는 개체에 투여되어 암을 치료하는 세포치료 등에 이용될 수도 있다. 상기 숙주 세포로의 벡터 도입방법은 당업자에게 공지된 어느 방법을 사용해도 무방하다. 트랜스제닉(예를 들면, 유전공학처리된) 마우스, 또는 다른 포유동물을 비롯한 다른 유기체들이 본 발명의 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 생산하는데 사용될 수 있다 (예를 들어 US 6,300,129 참조). 예를 들어, 마우스 면역 유전자의 가변 영역 (중쇄 V, D, 및 J 세그먼트, 및 경쇄 V 및 J 세그먼트)만을 상응하는 인간 가변 서열로 대체시켜 공학처리된 마우스가 인간 가변 서열을 갖는 고친화성 항체를 대량 생산하는데 사용될 수 있다는 것이 알려져 있다 (예를 들면, US 6,586,251; US 6,596,541, 및 US 7,105,348 참조).
- [0065] 일 측면에서, 본 발명은 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 함유하는 코로나-19 바이러스 감염증(신종 코로나바이러스 감염증, COVID-19)의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0066] 본 발명에서, 용어 "예방"이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 코로나-19 바이러스 감염증의 발생, 확산 및 재발을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0067] 본 발명에서 사용된 용어 "치료"란 본 발명에 따른 조성물의 투여로 코로나-19 바이러스 감염증 및 이로 인한 합병증의 증세를 호전시키거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다. 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면, 대한의학협회 등에서 제시된 자료를 참조하여 본원의 조성물이 효과가 있는 질환의 정확한 기준을 알고, 개선, 향상 및 치료된 정도를 판단할 수 있을 것이다.
- [0068] 본 발명에서 유효성분과 결합하여 사용된 "치료학적으로 유효한 양"이란 용어는 코로나-19 바이러스 감염증을 예방 또는 치료하는데 유효한 양을 의미하며, 본 발명의 조성물의 치료적으로 유효한 양은 여러 요소, 예를 들면 투여방법, 목적부위, 환자의 상태 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 인체에 사용 시 투여량은 안전성 및 효율성을 함께 고려하여 적정량으로 결정되어야 한다. 동물실험을 통해 결정한 유효량으로부터 인간에 사용되는 양을 추정하는 것도 가능하다. 유효한 양의 결정시 고려할 이러한 사항은, 예를 들면 Hardman and Limbird, eds., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed.(2001), Pergamon Press; 및 E.W. Martin ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed.(1990), Mack PublishingCo.에 기술되어 있다.
- [0069] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서 사용되는 용어, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 건강상태, 코로나-19 바이러스 감염증의 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시 사용

되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여, 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0070] 본 발명의 약학적 조성물은 생물학적 제제에 통상적으로 사용되는 담체, 희석제, 부형제 또는 둘 이상의 이들의 조합을 포함할 수 있다. 본 발명에서 사용되는 용어, "약학적으로 허용가능한"이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다. 상기 담체는 조성물을 생체 내 전달에 적합한 것이면 특별히 제한되지 않으며, 예를 들면, Merck Index, 13th ed., Merck & Co. Inc. 에 기재된 화합물, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로스 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 이용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 유회제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주이용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 당 분야의 적절한 방법으로 또는 Remington's Pharmaceutical Science(Mack Publishing Company, Easton PA, 18th, 1990)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0071] 일 구현예에서, 상기 약학적 조성물은 경구형 제형, 외용제, 좌제, 멸균 주사용액 및 분무제를 포함하는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 제형일 수 있으며, 경구형 또는 주사 제형이 더욱 바람직하다.

[0072] 본 발명에서 사용되는 용어, "투여"란, 임의의 적절한 방법으로 개체 또는 환자에게 소정의 물질을 제공하는 것을 의미하며, 목적하는 방법에 따라 비 경구 투여(예를 들어 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 주사 제형으로 적용)하거나 경구 투여할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설물 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 본 발명의 조성물의 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 통상적으로 사용되는 단순 희석제인 물, 액체 파라핀 이외에 다양한 부형제, 예컨대 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 함께 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제 등이 포함된다. 본 발명의 약학적 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수도 있다. 바람직한 투여방식 및 제제는 정맥 주사제, 피하 주사제, 피내주사제, 근육 주사제, 점적 주사제 등이다. 주사제는 생리식염액, 링겔액 등의 수성 용제, 식물유, 고급 지방산 에스테르(예, 올레인산에칠 등), 알코올 류(예, 에탄올, 벤질알코올, 프로필렌글리콜, 글리세린 등) 등의 비수성 용제 등을 이용하여 제조할 수 있고, 변질 방지를 위한 안정화제(예, 아스코르빈산, 아황산수소나트륨, 피로아황산나트륨, BHA, 토코페롤, EDTA 등), 유화제, pH 조절을 위한 완충제, 미생물 발육을 저지하기 위한 보존제(예, 질산페닐수은, 치메로살, 염화벤잘코늄, 페놀, 크레솔, 벤질알코올 등) 등의 약학적 담체를 포함할 수 있다.

[0073] 본 발명에서 사용되는 용어, "개체"란, 상기 코로나-19 바이러스 감염증이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 원숭이, 소, 말, 양, 돼지, 닭, 칠면조, 메추라기, 고양이, 개, 마우스, 박쥐, 낙타, 쥐, 토끼 또는 기니아 피그를 포함한 모든 동물을 의미하고, "검체"란 이로부터 분리한 비말, 가래, 전혈, 혈장, 혈청, 뇨 또는 타액일 수 있다.

[0074] 본 발명의 약학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 첨가제를 더 포함할 수 있으며, 이때 약제학적으로 허용 가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이드실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엷, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바 납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당, 텍스트로스, 소르비톨 및 탈크 등이 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 약제학적으로 허용 가능한 첨가제는 상기 조성물에 대해 0.1 중량부 내지 90 중량부 포함되는 것이 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0075] 일 측면에서, 본 발명은 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편을 포함하는, 코로나-19 바이러스 검출용 조성물에 관한 것이다.

[0076] 검출(진단) 조성물에 사용되는 본 발명의 상기 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편들은 검출 가능하게 표지되는 것이 바람직하다. 생분자들을 표지하는데 사용 가능한 다양한 방법들이 당업자에게 잘 알려져 있고, 본 발명의 범주 내에서 고려된다. 상기 방법들은 Tijssen, 'Practice and theory of enzyme immuno assays', Burden, RHand von Knippenburg (Eds), Volume 15 (1985), 'Basic methods in molecular biology'; Davis LG, Dimer MD; Battey Elsevier (1990), Mayer et al., (Eds) 'Immunochemical methods in cell and molecular

biology' Academic Press, London (1987), or in the series 'Methods in Enzymology', Academic Press, Inc 에 기술되어 있다.

[0077] 통상의 기술자에게 공지되어 있는 표지 방법과 많은 다른 표지들이 있다. 본 발명에서 사용될 수 있는 표지 종류의 예로는 효소, 방사성 동위원소, 콜로이드 금속, 형광 화합물, 화학발광 화합물 및 생발광 화합물이 있다.

[0078] 통상적으로 사용되는 표지들은 형광물질 (가령, 플루레신, 로다민, 텍사스 레드 등), 효소 (가령, 고추냉이 퍼 옥시다아제, β -갈락토시다아제, 알칼리 포스파타아제), 방사성 동위원소 (가령, ^{32}P 또는 ^{125}I), 바이오틴, 디옥 시게닌, 콜로이드 금속, 화학발광 또는 생발광 화합물 (가령, 디옥세탄, 루미놀 또는 아크리디늄)을 포함한다. 효소 또는 바이오티닐기의 공유 결합법, 요오드화법, 인산화법, 바이오틴화법 등과 같은 표지 방법들이 당 분야에 잘 알려져 있다.

[0079] 검출 방법들로는 오토라디오그래피, 형광 현미경, 직접 및 간접 효소반응 등이 있으며, 이에 제한되지는 않는다. 통상적으로 사용되는 검출 분석법으로는 방사성 동위원소 또는 비-방사성 동위원소 방법이 있다. 이들은 그중에서도 웨스턴블롯팅, 오버레이-분석법, RIA(Radioimmuno Assay) 및 IRMA(Immune Radioimmunometric Assay), EIA(Enzyme Immuno Assay), ELISA(Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), FIA(Fluorescent Immuno Assay) 및 CLIA(Chemiluminescent Immune Assay)이 있다.

[0080] 일 측면에서, 본 발명은 본 발명의 코로나-19 바이러스 검출용 조성물을 포함하는 코로나-19 바이러스 검출 키트에 관한 것이다.

[0081] 일 구현예에서, 상기 키트는 본 발명에 따른 코로나-19 바이러스 검출용 조성물 및 상기 항원-항체 복합체 검출용 시약을 포함할 수 있다. 상기 항원-항체 복합체 검출용 시약은 방사상면역분석, ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) 또는 면역형광분석용 시약을 포함한다.

[0082] 일 구현예에서는 항원-항체 복합체 검출은 항원 항체 결합을 통해 항체 및/또는 항원을 간단하게 검출할 수 있는 Ouchterlony 플레이트, 웨스턴블랏, Crossed IE, Rocket IE, Fused Rocket IE, Affinity IE와 같은 면역 전기영동 (Immuno Electrophoresis)로 달성될 수 있다. 이러한 방법에 사용되는 시약 또는 물질은 공지된 것으로서, 예를 들면 항원-항체반응, 항원에 특이적으로 결합하는 기질, 핵산 또는 펩타이드 앵타머, 복합체와 상호작용하는 수용체 또는 리간드 또는 보조인자와의 반응을 통해 검출될 수 있거나, 또는 질량분석기를 이용할 수 있다. 상기 본원의 항원-항체 복합체와 특이적으로 상호작용 또는 결합하는 시약 또는 물질은 칩 방식 또는 나노 입자(nanoparticle)와 함께 사용될 수 있다. 상기 면역분석 또는 면역염색의 방법은 Enzyme Immunoassay, E. T. Maggio, ed., CRC Press, Boca Raton, Florida, 1980; Gaastra, W., Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA), in Methods in Molecular Biology, Vol. 1, Walker, J.M. ed., Humana Press, NJ, 1984 등에 기재되어 있다. 상술한 면역분석 과정에 의한 최종적인 시그널의 세기를 분석하여 즉, 정상 시료와의 시그널 대조를 수행함으로써, 대상에서 코로나-19 바이러스를 검출함으로써 코로나-19 바이러스 감염 여부를 진단할 수 있다.

[0083] 일 측면에서, 본 발명은 검체로부터 분리된 시료를 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편과 접촉시키는 단계; 및 항원-항체 복합체 형성을 검출하는 단계를 포함하는, 코로나-19 바이러스를 검출하는 방법에 관한 것이다.

[0084] 일 측면에서, 본 발명은 검체로부터 분리된 시료를 본 발명의 코로나-19 바이러스에 특이적인 항체 또는 이의 면역학적 활성을 가진 단편과 접촉시켜 항원-항체 복합체를 형성시키는 단계; 및 상기 복합체의 형성을 검출하는 단계를 포함하는, 코로나-19 바이러스 감염증 진단에 관한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.

[0086] 하기의 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 내용을 구체화하기 위한 것일 뿐 이에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0088] 실시예 1. 코로나-19 바이러스 RBD(Receptor Binding Domain) 항원 제작

[0089] 바이러스가 숙주세포에 존재하는 ACE2(Angiotensin converting enzyme 2) 수용체 표면에 결합하여 숙주를 감염시키는 데 중요하다고 알려진 RBD(Receptor Binding Domain) 영역에 결합하는 항체를 만들기 위하여, 코로나-19 바이러스의 RBD 영역 (서열번호 126)을 항원으로 준비하였다. 또한, 유세포 분리기를 이용하여 항체를 스크리닝

하기에 보다 적합한 항원을 제작하고자 상기 항원에 GST 태그(tag)를 융합한 이합체(dimeric) 형태의 항원 및 스트렙타비딘(Streptavidin) 태그를 융합한 사합체(tetrameric) 형태의 항원을 만들 동물 세포 발현용 벡터를 각각 제작하였다 (도 1). Freestyle 293 expression 배양액 (Gibco, 12338-018) 30 ml+ 각 벡터 혼합 후 PEI(Polyethylenimine) (Polyscience, 23966) 및 각 벡터를 4:1 비율로 섞은 용액을 상온에서 20 분간 두었다가 전날 2×10^6 cells/ml의 밀도로 300 ml 계대배양한 Expi293F 동물세포에 처리하여 트랜스펙션한 뒤, shaking CO₂ incubator에서 37°C, 125rpm 및 8% CO₂ 조건으로 7일간 인큐베이션한 후 원심 분리하여 상등액만 취하였다. 그 후 25x PBS를 이용해 평형(equilibrium)을 맞추었다. 이 후 이를 바틀탑 필터(Bottle top filter)를 이용해 0.2µm 필터 (Merck Millipore)로 여과하고, 여과된 배양액에 각각 GSH 레진 및 Ni-NTA 레진 1 ml을 첨가하고 4°C에서 16 시간 동안 교반하였다. 이 후, 컬럼을 통해 레진을 회수하고 5ml PBS로 세척하였으며 4ml의 pH8.0의 50mM Tris-HCl+10mM reduced glutation (SIGMA) 및 250 mM 이미다졸로 용출하였다. Centrifugal filter units 3K (Merck Millipore)을 사용하여 PBS로 buffer change를 진행한 후 SDS-PAGE를 통해 비환원 조건 (NR)과 환원 조건 (R)에서 각각 정제된 2종 항원 단백질 (서열번호 127의 코로나-19-RBD-GST 및 서열번호 128의 코로나-19-RBD-Streptavidin)의 크기와 순도를 분석하였다 (도 1).

실시예 2. 이합체 형태의 코로나-19 바이러스-RBD를 이용한 인간 항체 스크리닝

상기 실시예에서 제작한 항원 단백질 중 GST가 융합된 항원 단백질을 유세포 분리기를 이용한 스크리닝에 이용하기 위해 Alexa488 형광 분자를 표지화하였다. 이 후, 본 발명자들이 구축한 박테리아 디스플레이된 인간 scFv 항체 라이브러리를 이용하여 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 결합하는 인간 항체 스크리닝을 진행하였다. 구체적으로, 라이브러리 세포 1ml을 2% 글루코스 및 40µg/ml의 클로람페니콜이 포함된 25ml TB 배지에서 37°C 및 250 rpm으로 4시간 배양하고, 배양된 세포를 40µg/ml의 클로람페니콜이 포함된 100ml의 TB 배지에 1:100의 비율로 OD600=0.5까지 배양한 후 20분간 25°C 및 250 rpm에서 쿨링한 뒤, 1 mM IPTG를 첨가하여 25°C 및 250 rpm 조건으로 5시간 동안 인덕션(Induction)을 하고 단백질이 과발현된 대장균을 OD600=8을 기준으로 수득(harvest)하였다. 이 후, 세포들을 유세포 분리기를 이용한 스크리닝에 적합한 스페로플라스트(spheroplasts) 형태로 만들기 위해 세포를 1ml의 10Mm Tris-HCl (pH 8.0)을 사용하여 재부유하여 2번 세척하여 잔여 배지를 제거한 뒤, 1 ml의 STE [0.5 M sucrose, 10 Mm Tris-HCl, 10 Mm EDTA (pH 8.0)] 용액에서 37°C, 30분간 로테이션하여 삼투압 충격(osmotic shock)을 주는 방법으로 세포 외막을 제거하였다. 그 후, 1ml의 Solution A 및 50mg/ml lysozyme solution 20µl를 혼합한 용액에서 37°C의 조건으로 15분간 로테이션(rotation)하여 펩티도글리칸(peptidoglycan) 층을 제거하였고 1ml의 PBS로 세척하고 이 중 300µl에 700µl의 PBS와 200nM(monomer 기준)의 코로나-19-RBD-GST-Alexa488 프로브를 넣고 상온에서 1시간 동안 로테이션하여 스페로플라스트에 형광 프로브를 표지하였다. 이 후, 항원 결합력 증가로 높은 형광을 보이는 클론들을 유세포분리기를 이용하여 회수하였으며 (도 2), 회수된 클론들에서 scFv 유전자들을 PCR 방법으로 증폭하고, 배양, 발현유도, 세포외막 및 펩티도글리칸 층을 제거하는 스페로플라스팅(spheroplasting) 과정, 항원 표지, 및 유세포 분석(flow cytometry)의 선택적인 게이팅(gating)을 통해 코로나19 바이러스-RBD 영역에 높은 친화도를 보이는 스페로플라스트들을 선별하는 과정을 반복하였다 (도 3). 유세포 분석기를 이용한 선별 과정 및 선별 순도(purity)를 높이기 위한 재선별 과정 후에, 농축 과정, PCR 증폭을 통한 선별된 scFv 변이체 유전자 확보 과정, 서브클로닝 과정, 및 트랜스포메이션 과정을 거치고, 원하는 클론들을 증폭(enrich)하기 위해 다음 라운드의 선별 과정을 수행하였다. 이와 같은 반복되는 여러 회차(round)의 탐색 과정으로 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 결합력이 우수한 scFv 변이체 클론들을 확보하였다.

실시예 3. 코로나-19 결합 항체 변이체의 유전자 서열 확인

상기 실시예 2에서 확보한 scFv 변이체 클론들의 유전자 서열을 확인하기 위하여 생어 시퀀싱(Sanger sequencing)을 이용하여 DNA 염기 서열을 분석하였다. 분석을 통해 항체 서열을 갖는 scFv 항체 변이체 6종을 선별하였다. 이 과정에서 scFv의 VH만으로 코로나-19 바이러스-RBD 영역과의 결합력이 증가한 4종의 VH 항체 변이체도 추가적으로 선별하였다. 또한, 6종의 scFv 변이체들의 VH 아미노산 서열 (서열번호 99 내지 104) 및 VL 아미노산 서열 (서열번호 113 내지 118) (도 4) 및 4종의 VH 변이체들의 VH 아미노산 서열 (서열번호 105 내지 108) (도 5)을 확인하였다.

[0097] **실시예 4. 항체 변이체들의 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 대한 결합력 확인**

[0098] 상기 실시예 3에서 선별한 6종의 scFv 항체 변이체들과 4종의 VH 항체 변이체의 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 대한 결합력을 확인하기 위해 유세포 분석기를 이용한 결합력 분석을 진행하였다. 이를 위하여 상기 실시예에서 수행한 방식으로 각각의 변이체와 대조군으로 사용될 Fc (야생형)을 스펙로플라스트로 각각 제작하였다. 제작한 스펙로플라스트들에 스크리닝에 이용된 코로나-19 RBD-Alexa 488 항원을 50 nM의 농도로 결합시키고 상온에서 1 시간 동안 인큐베이션하였다. 비특이적 결합을 제거하기 위해 PBS로 두 차례 세척한 후 유세포 분석기를 이용하여 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 대한 항체 변이체들의 결합력을 분석하였다. 여기에서 양성 대조군으로는 Crucell사(Johnson & Johnson 사에 합병)에서 SARS RBD 결합 항체로 개발한 CR3022 항체를 사용하였다 (SARS-CoV-2 RBD에도 우수한 결합력을 보이는 것으로 최근 공지됨) (참고문헌: 미국특허 US8,106,176 B2, Tian et al BioRxiv 2020, Joyce et al BioRxiv 2020).

[0099] 그 결과, 6종의 scFv 변이체들 및 4종의 VH 변이체 모두 대조군인 Fc(야생형)에 비해 월등히 증가된 형광 신호를 나타내었으며 (도 6 및 7), 이를 통해, 본 발명의 scFv 항체 변이체들과 VH 항체 변이체들이 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 결합하는 친화력이 높은 것을 확인되었다.

[0101] **실시예 5. 6종의 scFv 변이체의 IgG 형태 항체 생산 및 정제**

[0102] 상기 실상에서 선별한 6종의 scFv 항체 변이체를 IgG 형태로 제작한 뒤 코로나-19 바이러스-RBD와의 결합력을 확인하였다. 이를 위해 6종의 scFv의 중쇄 및 경쇄 발현 벡터를 각각 제작하고, 변이체들의 중쇄유전자와 경쇄유전자를 1:1의 비율로 섞고 PEI와 변이체 유전자를 4:1의 비율로 섞어 Expi293F 동물세포에 이용하여 트랜스펙션하였다. 그 후, CO₂ 교반 배양기에서 37℃, 125 rpm 및 8%의 CO₂ 조건으로 7일간 배양하고 원심 분리하여 상등액만 취하였다. 25xPBS를 이용해 평형을 맞추고 0.2 μm의 필터 (Merck Millipore)로 여과하였다. 여과된 배양액에 Protein A 레진 500 μl을 넣고 4℃에서 16 시간 교반한 후 컬럼에 통과시켜 레진을 회수하였다. 회수한 레진을 5 ml PBS로 세척하고 3 ml 100 mM 글라이신 버퍼 (pH 2.7)로 용출한 뒤 1M Tris-HCl (pH 8.0)로 중화시켰다. centrifugal filter units 3K (Merck Millipore)을 사용하여 PBS로 버퍼를 바꾼 후 SDS-PAGE를 통해 각각 정제된 6종의 항체의 크기 및 순도를 분석하였다 (도 8).

[0104] **실시예 6. scFv 변이체의 IgG 형태 항체의 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 대한 결합력 확인**

[0105] 상기 실시예 5에서 발현 및 정제가 완료된 6종의 항체 중 JS1, JS2, JS3 및 JS4의 항체에 대하여 ELISA 실험을 진행하였다. 구체적으로, 단량체(monomeric) RBD 및 GST tag를 융합한 이합체(dimeric) 형태의 RBD 또는 스트렙타비딘 태그를 융합한 사합체(tetrameric) 형태의 RBD를 50 μl씩 서로 다른 Flat Bottom Polystyrene High Bind 96웰 플레이트 (costar)에 0.05 M Na₂CO₃ pH 9.6에 4 μg/ml로 4 ℃, 16 시간 동안 고정화한 후 100 μl의 4% 스킵밀크 (GenomicBase) (in 0.05% PBST pH 6.0/pH 7.4)로 상온에서 2 시간 동안 블로킹하였다. 그 후 0.05% PBST 180 μl로 4 회씩 세척하고 1%의 스킵밀크 (in 0.05% PBST)로 연속 희석(serially dilution)된 4종의 JS 1, JS 2, JS 3 및 JS 4 항체와 대조군으로 Trastuzumab을 50 μl 각 웰에 분주하여 상온에서 1 시간 동안 반응시켰다. 세척 과정 후 항-인간 HRP 컨쥬게이트 (Jackson ImmunoResearch) 50 μl와 상온에서 1 시간 동안 각각 항체 반응시키고 세척하였다. 1-Step Ultra TMB-ELISA Substrate Solution (Thermo Fisher Scientific)을 50 μl씩 첨가해 발색한 뒤 2 M H₂SO₄를 50 μl씩 넣어주어 반응을 종료시키고 Epoch Microplate Spectrophotometer (BioTek)을 이용해 분석하였다. 그 결과, JS1, JS2, JS3 및 JS4의 IgG 항체 모두 대조군인 Trastuzumab보다 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 강한 결합력을 가지는 것을 확인하였다 (도 9).

[0107] **실시예 7. VH 변이체의 IgG 형태 항체 생산 및 정제**

[0108] 상기 실시예 3에서 선별한 4종의 VH 항체 변이체 중 실시예 4의 유세포 분석 결과 코로나-19 바이러스-RBD와 가장 높은 결합력을 보였던 JS-VH 4 변이체가 IgG 형태로도 단백질 상에서 코로나-19 바이러스-RBD와 강한 결합력을 가지는지 확인하기 위해, 항체의 불변 영역인 Fc(Crystallization Fragment)에 JS-VH 4 변이체를 각각 이합체(dimeric) 및 사합체(tetrameric)로 도입한 발현 벡터를 각각 제작하고 Expi293F 동물세포에 트랜스펙션하였다. 그 후, CO₂ 교반 배양기에서 37℃, 125 rpm 및 8%의 CO₂ 조건으로 7일간 배양하고 원심 분리하여 상등액만

취하였다. 25xPBS를 이용해 평형을 맞추고 0.2 μm 의 필터 (Merck Millipore)로 여과하였다. 여과된 배양액에 Protein A 레진 500 μl 을 넣고 4℃에서 16 시간 교반한 후 컬럼에 통과시켜 레진을 회수하였다. 회수한 레진을 5 ml PBS로 세척하고 3 ml 100 mM 글라이신 버퍼 (pH 2.7)로 용출한 뒤 1M Tris-HCl (pH 8.0)로 중화시켰다. centrifugal filter units 3K (Merck Millipore)을 사용하여 PBS로 버퍼를 바꾼 후 SDS-PAGE를 통해 각각 정제된 2종의 항체 (이합체 및 사합체)의 크기 및 순도를 분석하였다 (도 10).

[0110] 실시예 8. VH 변이체의 IgG 형태 항체의 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 대한 결합력 확인

[0111] 상기 실시예 7에서 발현 및 정제가 완료된 이합체 또는 사합체 JS-VH 4 변이체의 IgG 형태의 항체에 대해 ELISA 실험을 진행하였다. 구체적으로, 단량체(monomeric) RBD 및 GST tag를 융합한 이합체(dimeric) 형태의 RBD 또는 스트렙타비딘 태그를 융합한 사합체(tetrameric) 형태의 RBD를 50 μl 씩 서로 다른 Flat Bottom Polystyrene High Bind 96웰 플레이트 (costar)에 0.05 M Na_2CO_3 pH 9.6에 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 4℃, 16 시간 동안 고정화한 후 100 μl 의 4% 스킵밀크 (GenomicBase) (in 0.05% PBST pH 6.0/pH 7.4)로 상온에서 2 시간 동안 블로킹하였다. 그 후 0.05% PBST 180 μl 로 4 회씩 세척하고 1%의 스킵밀크 (in 0.05% PBST)로 연속 희석(serially dilution)된 2종의 JS-VH 4 항체 (이합체 JS_VH 4_Fc 및 사합체 JS_VH 4_Fc)와 대조군으로 Trastuzumab 및 JS 3 항체를 50 μl 각 웰에 분주하여 상온에서 1 시간 동안 반응시켰다. 세척 과정 후 Protein HRP conjugate (GenScript) 50 μl 와 상온에서 1 시간 동안 각각 항체 반응시키고 세척하였다. 1-Step Ultra TMB-ELISA Substrate Solution (Thermo Fisher Scientific)을 50 μl 씩 첨가해 발색한 뒤 2 M H_2SO_4 를 50 μl 씩 넣어주어 반응을 종료시키고 Epoch Microplate Spectrophotometer (BioTek)을 이용해 분석하였다. 그 결과, 이합체 JS_VH 4_Fc 및 사합체 JS_VH 4_Fc (IgG 항체) 모두 대조군인 Trastuzumab보다 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 현저히 강한 결합력을 가지는 것을 확인하였으며, 특히, JS 3보다도 결합력이 높게 나타났다 (도 11).

[0113] 실시예 9. 코로나-19 RBD 영역과 결합하는 JS-VH 4 유래 항체 스크리닝

[0114] 코로나-19 RBD에 특이적으로 결합하는 JS-VH 4에 대한 VL을 발굴하여 코로나-19 RBD에 대한 결합력을 가지는 JS-VH 4 유래 항체를 발굴하기 위해, 본 발명자들이 구축한 박테리아 디스플레이된 인간 scFv 항체 라이브러리의 VH 영역에 JS-VH 4를 일괄적으로 도입한 JS-VH 4 유래 VL shuffling 라이브러리를 제작하였다. 또한, 1차 항체 발굴에 이용되었던 항원인 코로나-19-RBD-GST-Alexa488 프로브와 상기 제작한 박테리아 디스플레이된 JS-VH 4 유래 VL shuffling 라이브러리를 이용하여 코로나-19 RBD에 결합하는 인간 항체 스크리닝을 진행하였다. 구체적으로, 라이브러리 세포 1ml을 2% 글루코스 및 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 클로람페니콜이 포함된 25ml TB 배지에서 37℃ 및 250 rpm으로 4시간 배양하고, 배양된 세포를 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 클로람페니콜이 포함된 100ml의 TB 배지에 1:100의 비율로 OD600=0.5까지 배양한 후 20분간 25℃ 및 250 rpm에서 쿨링한 뒤, 1 mM IPTG를 첨가하여 25℃ 및 250 rpm 조건으로 5시간 동안 인덕션(Induction) 하고 단백질이 과발현된 대장균을 OD600=8을 기준으로 수득(harvest)하였다. 이 후, 세포들을 유세포 분리기를 이용한 스크리닝에 적합한 스페로플라스트(spheroplasts) 형태로 만들기 위해 세포를 1ml의 10Mm Tris-HCl (pH 8.0)을 사용하여 재부유하여 2번 세척하여 잔여 배지를 제거한 뒤, 1 ml의 STE [0.5 M sucrose, 10 Mm Tris-HCl, 10 Mm EDTA (pH 8.0)] 용액에서 37℃, 30분간 로테이션하여 삼투압 충격(osmotic shock)을 주는 방법으로 세포 외막을 제거하였다. 그 후, 1ml의 Solution A 및 50mg/ml lysozyme solution 20 μl 를 혼합한 용액에서 37℃의 조건으로 15분간 로테이션(rotation)하여 펩티도글리칸(peptidoglycan) 층을 제거하였고 1ml의 PBS로 세척하고, 이 중 300 μl 에 700 μl 의 PBS와 200nM(monomer 기준)의 코로나-19-RBD-GST-Alexa488 프로브를 넣고 상온에서 1시간 동안 로테이션하여 스페로플라스트에 형광 프로브를 표지하였다. 이 후, 항원 결합력 증가로 높은 형광을 보이는 클론들을 유세포분리기를 이용하여 회수하였으며 (도 2), 회수된 클론들에서 scFv 유전자들을 PCR 방법으로 증폭하고, 배양, 발현유도, 세포외막 및 펩티도글리칸 층을 제거하는 스페로플라스팅(spheroplasting) 과정, 항원 표지, 및 유세포 분석(flow cytometry)의 선택적인 게이팅(gating)을 통해 코로나19 바이러스-RBD 영역에 높은 친화도를 보이는 스페로플라스트들을 선별하는 과정을 반복하였다 (도 3). 유세포 분석기를 이용한 선별 과정 및 선별 순도(purity)를 높이기 위한 재선별 과정 후에, 농축 과정, PCR 증폭을 통한 선별된 scFv 변이체 유전자 확보 과정, 서브클로닝 과정, 및 트랜스포메이션 과정을 거치고, 원하는 클론들을 증폭(enrich)하기 위해 다음 라운드의 선별 과정을 수행하였다. 이와 같은 반복되는 여러 회차(round)의 탐색 과정으로 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 결합력이 향상된 5종의 scFv 변이체 클론들 (BM 13, BM 18, BM 23, BM 57 및 BM 73)을 확보하였다.

[0116] **실시예 10. JS-VH 4 유래 scFv 변이체들의 코로나-19 바이러스-RBD 영역 결합력 확인**

[0117] 상기 실시예 9에서 확보한 JS-VH 4 유래 scFv 변이체들의 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 대한 결합력을 확인하기 위해, 유세포 분석기를 이용한 결합력 분석을 진행하였다. 이를 위하여 상기 실시예에서 수행한 방식으로 각각의 변이체와 대조군으로 사용될 JS-VH 4를 스페로플라스트로 각각 제작하였다. 제작한 스페로플라스트들에 스크리닝에 이용된 코로나-19 RBD-Alexa 488 항원을 25 nM의 농도로 결합시키고 상온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 비특이적 결합을 제거하기 위해 PBS로 두 차례 세척한 후 유세포 분석기를 이용하여 코로나-19 바이러스-RBD 영역에 대한 각 scFv 변이체의 결합력을 분석하였다. 분석 결과, 5종의 scFv 변이체들이 JS-VH 4와 유사한 형광 신호를 나타내는 것을 확인하였다 (도 12).

[0119] **실시예 11. JS-VH 4 유래 scFv 변이체들의 유전자 서열 확인**

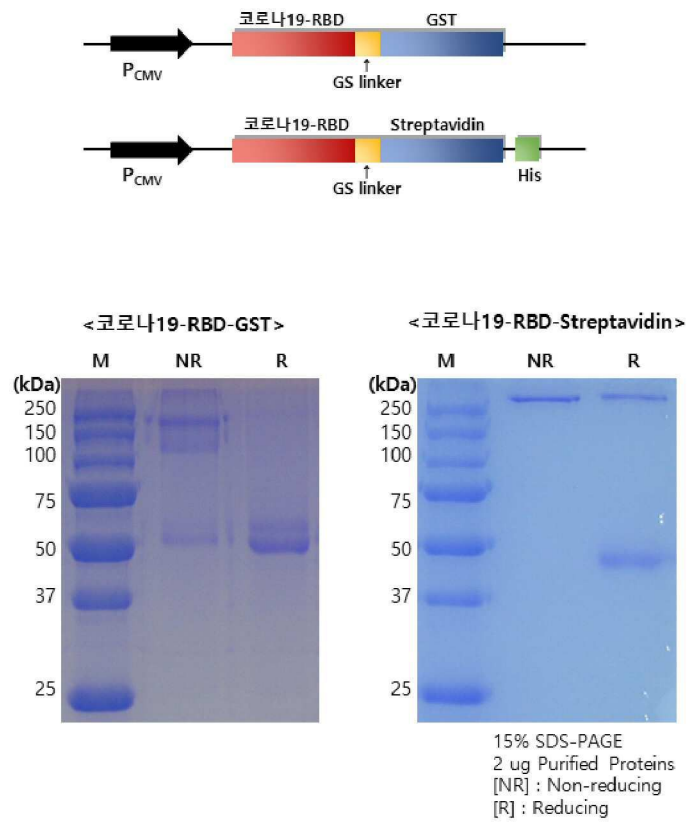
[0120] 상기 실시예 9에서 확보한 5종의 scFv 변이체 클론의 유전자 서열을 확인하기 위해 생어 시퀀싱을 이용하여 DNA 염기 서열을 분석하였다. 5종의 변이체 중 BM 23을 제외한 4종의 scFv 변이체는 JS-VH 4를 일괄적으로 도입한 JS-VH 4 유래 VL shuffling 라이브러리를 이용하여 스크리닝을 진행하였으나 PCR 증폭 과정 중 VH 영역에도 아미노산의 치환이 일어난 것을 확인하였다 (도 13). 또한, 4종의 JS-VH 4 유래 scFv 변이체들 (BM 13, BM 18, BM 57 및 BM 73)의 VH 아미노산 서열 (서열번호 109 내지 112) 및 5종의 JS-VH 4 유래 scFv 변이체들 (BM 13, BM 18, BM23, BM 57 및 BM 73)의 VL 아미노산 서열 (서열번호 119 내지 123)을 확인하였다.

[0122] **실시예 12. VH 영역 아미노산의 치환에 의한 코로나-19 바이러스-RBD 영역 결합력 증가 확인**

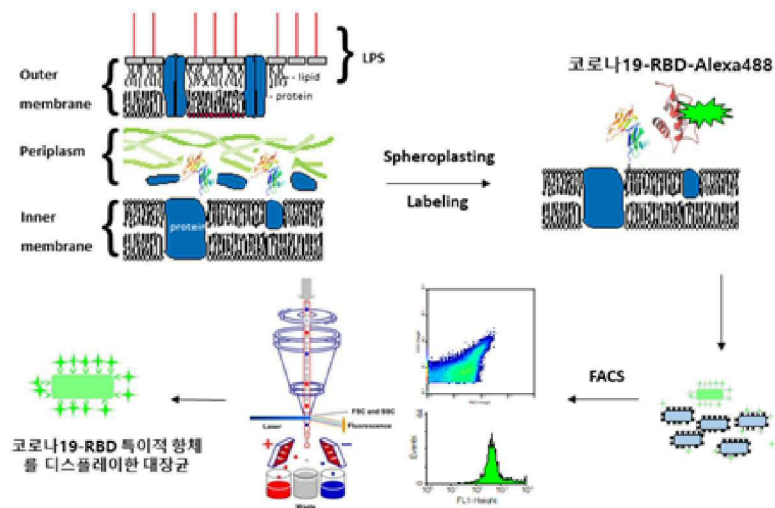
[0123] 상기 실시예 11에서 서열을 확인한 결과 VH 영역에 아미노산 치환이 일어난 4종의 scFv 변이체 (BM 13, BM 18, BM 57 및 BM 73)의 아미노산 치환 변이를 JS-VH 4로 다시 치환하여 VH 영역에 새롭게 도입된 아미노산이 코로나-19 바이러스-RBD와의 결합에 어떠한 영향을 주는지 확인하였다. 그 결과, 4종의 변이체 모두 JS-VH 4로 다시 치환하였을 때, 코로나-19 바이러스-RBD와의 결합이 감소하는 것으로 나타나 (도 14), 이를 통해 새롭게 발굴한 VH 영역의 아미노산들이 코로나-19 바이러스-RBD에 대한 결합력을 향상시키는 것 확인하였다.

도면

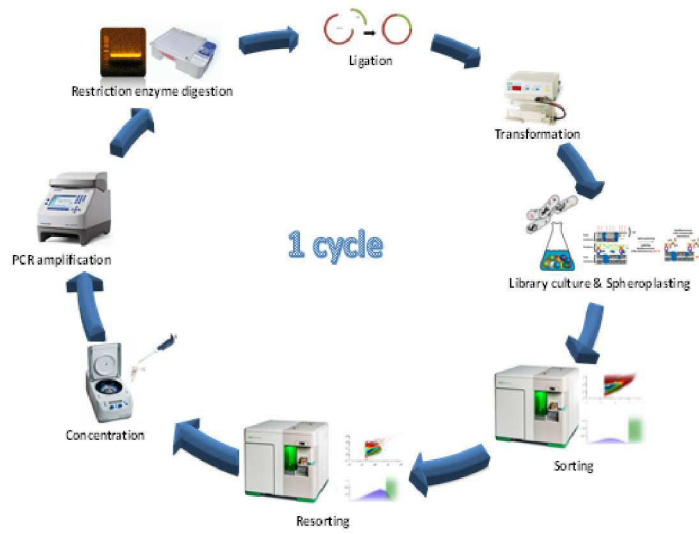
도면1



도면2



도면3



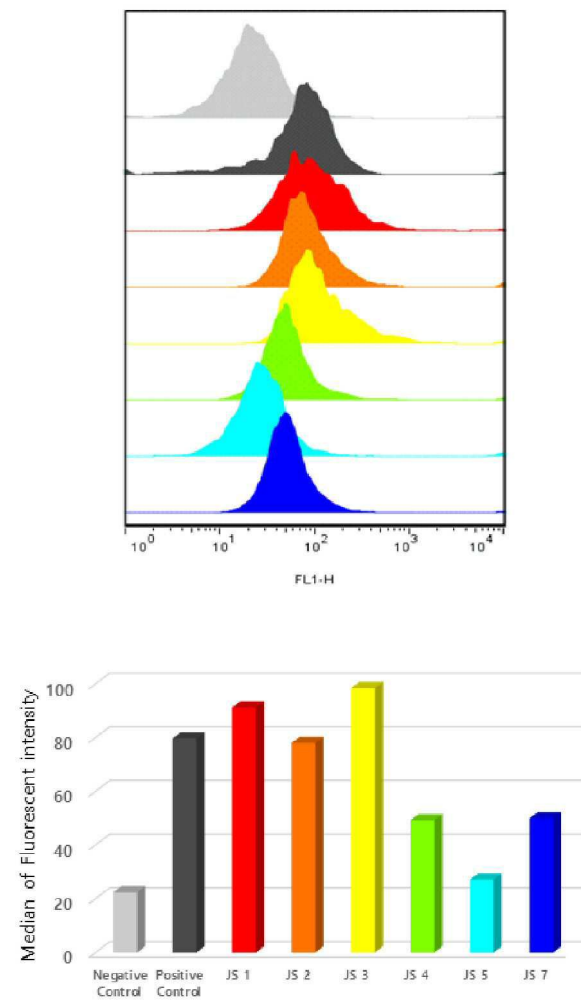
도면4

FR1	CDRH1	FR2	CDRH2	FR3	CDRH3	FR4
1. QVQLVQSGQVWQPGSSLRLSCEAS--GFAIEDNA LNWVRQAPKLEWVY IRSSSYGDTA EYAAVKE RPTISRDSKQZAYLDESLRAEDTAVYIC ARRAIYYGSDTNPFWYDL WRITLVTVSS						
2. QVQLVQSGQVWQPGSSLRLSCEAS--GFAIEDNA LNWVRQAPKLEWVY IRSSSYGDTA EYAAVKE RPTISRDSKQZAYLDESLRAEDTAVYIC ARRAIYYGSDTNPFWYDL WRITLVTVSS						
3. QVQLVQSGQVWQPGSSLRLSCEAS--GFAIEDNA LNWVRQAPKLEWVY IRSSSYGDTA EYAAVKE RPTISRDSKQZAYLDESLRAEDTAVYIC ARRAIYYGSDTNPFWYDL WRITLVTVSS						
4. QVQLVQSGQVWQPGSSLRLSCEAS--GFAIEDNA LNWVRQAPKLEWVY IRSSSYGDTA EYAAVKE RPTISRDSKQZAYLDESLRAEDTAVYIC ARRAIYYGSDTNPFWYDL WRITLVTVSS						
5. QVQLVQSGQVWQPGSSLRLSCEAS--GFAIEDNA LNWVRQAPKLEWVY IRSSSYGDTA EYAAVKE RPTISRDSKQZAYLDESLRAEDTAVYIC ARRAIYYGSDTNPFWYDL WRITLVTVSS						
7. QVQLVQSGQVWQPGSSLRLSCEAS--GFAIEDNA LNWVRQAPKLEWVY IRSSSYGDTA EYAAVKE RPTISRDSKQZAYLDESLRAEDTAVYIC ARRAIYYGSDTNPFWYDL WRITLVTVSS						
FR1	CDRL1	FR2	CDRL2	FR3	CDRL3	FR4
1. EIVLTQSPFLSAVQRYTTCRAS QDVSRK --LAWYQKQKPKLLIY QVS NLASQVSRPTSGSGSTPTLTISLQSDGFATYIC QQVSSPRT --PQQTKVDIKR						1. JS 1
2. EIVLTQSPFLSAVQRYTTCRAS QDVSRK --LAWYQKQKPKLLIY QVS NLASQVSRPTSGSGSTPTLTISLQSDGFATYIC QQVSSPRT --PQQTKVDIKR						2. JS 2
3. EIVLTQSPFLSAVQRYTTCRAS QDVSRK --LAWYQKQKPKLLIY QVS NLASQVSRPTSGSGSTPTLTISLQSDGFATYIC QQVSSPRT --PQQTKVDIKR						3. JS 3
4. EIVLTQSPFLSAVQRYTTCRAS QDVSRK --LAWYQKQKPKLLIY QVS NLASQVSRPTSGSGSTPTLTISLQSDGFATYIC QQVSSPRT --PQQTKVDIKR						4. JS 4
5. DIVMTQSPFLSAVQRYTTCRAS QYIOTY --LAWYQKQKPKLLIY AAS ELQSVSRPTSGSGSTPTLTISLQSDGFATYIC QQVSSPRT --PQQTKVDIKR						5. JS 5
7. QSALTQSPASVSGSQGQVTVISCTUT SSDIYNKR VSMYQKQKPKLLIY EVS DRPSQVSRPTSGSGSTPTLTISLQSDGFATYIC SSYSSDAVY PUTQTKLVLD						7. JS 7

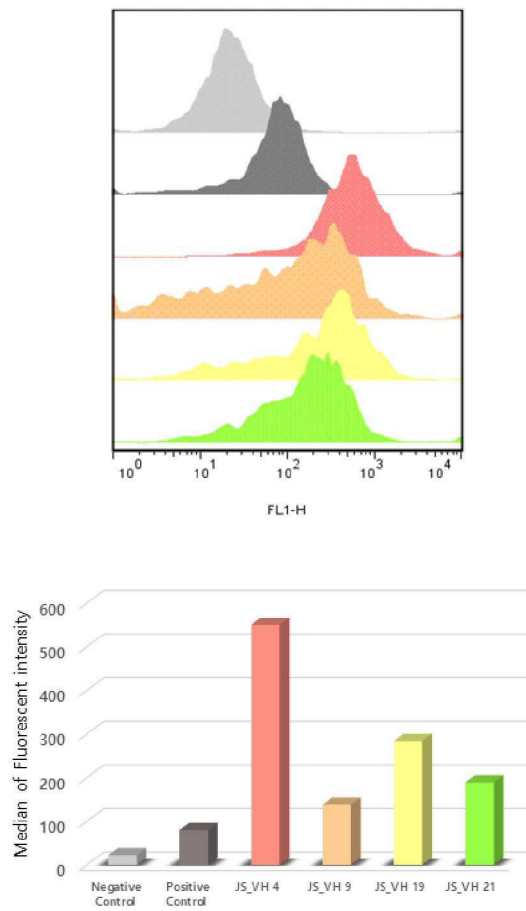
도면5

FR1	CDRH1	FR2	CDRH2	FR3	CDRH3	FR4
A. QVQLVQSGQVWQPGSSLRLSCEAS--GFAIEDNA LNWVRQAPKLEWVY IRSSSYGDTA EYAAVKE RPTISRDSKQZAYLDESLRAEDTAVYIC ARRAIYYGSDTNPFWYDL WRITLVTVSS						
B.G.....						
C.V.....						
D.T.....						
						A. JS_VH 4
						D. JS_VH 9
						C. JS_VH 19
						D. JS_VH 21

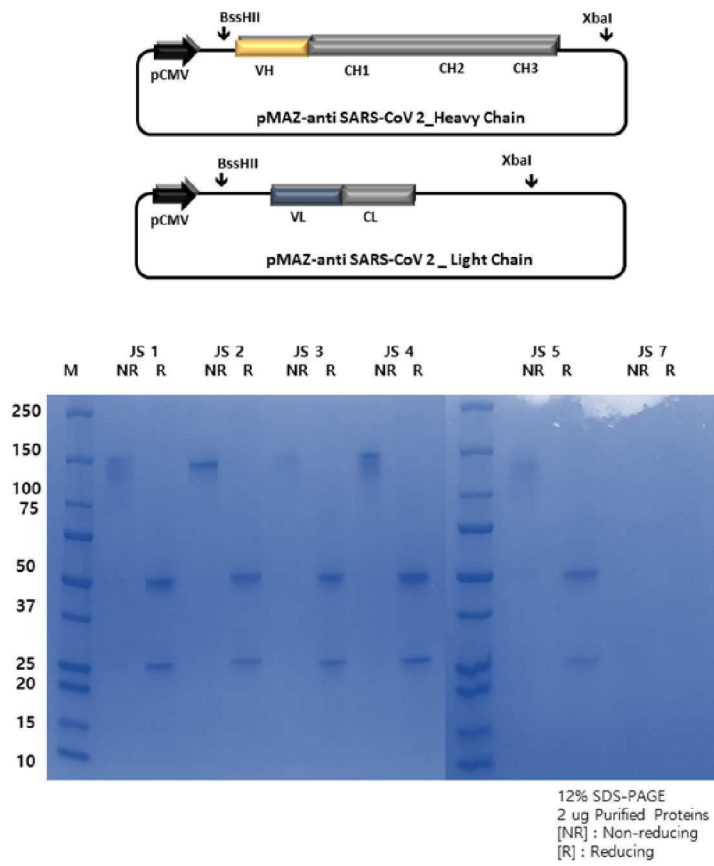
도면6



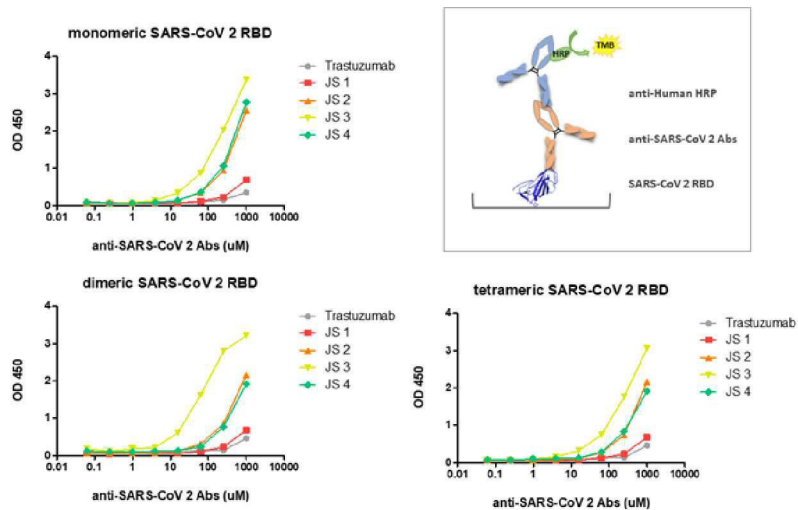
도면7



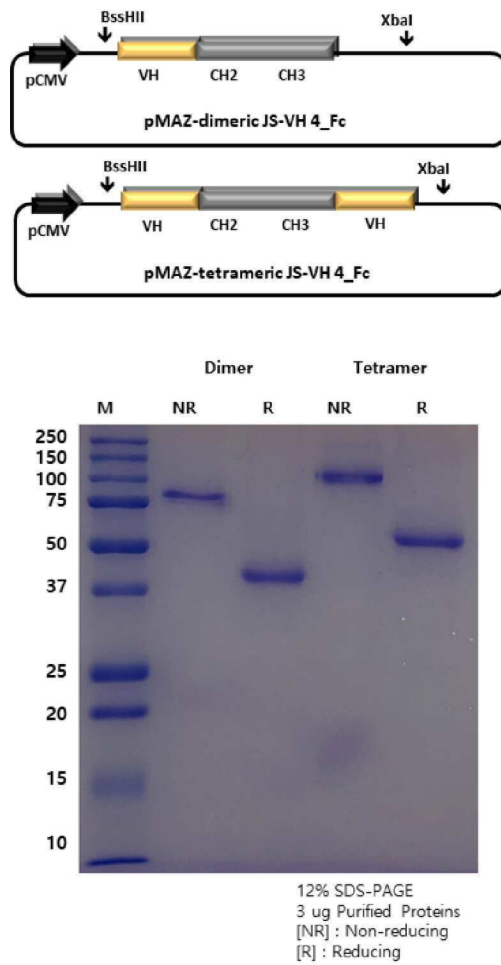
도면8



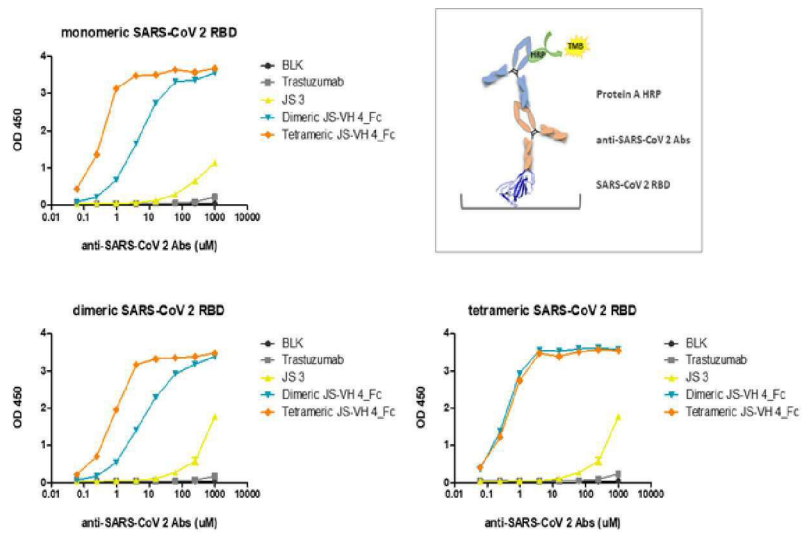
도면9



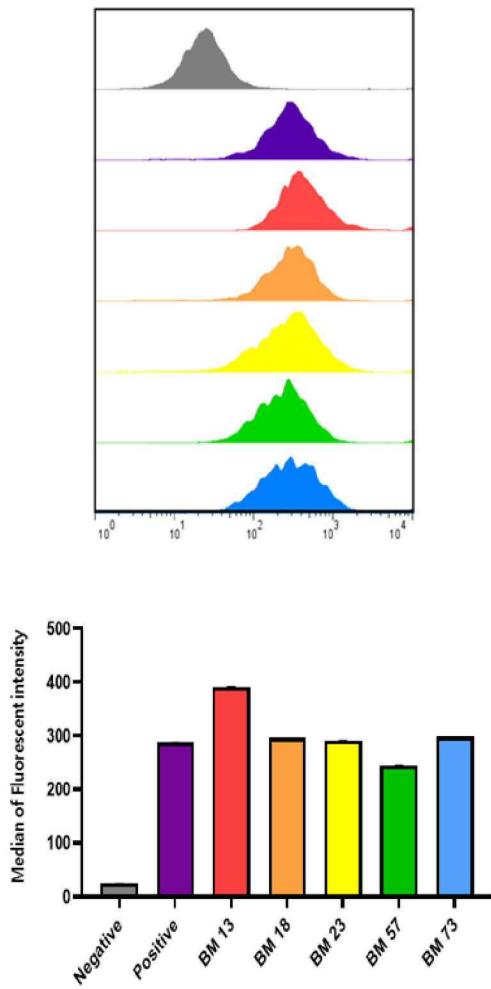
도면10



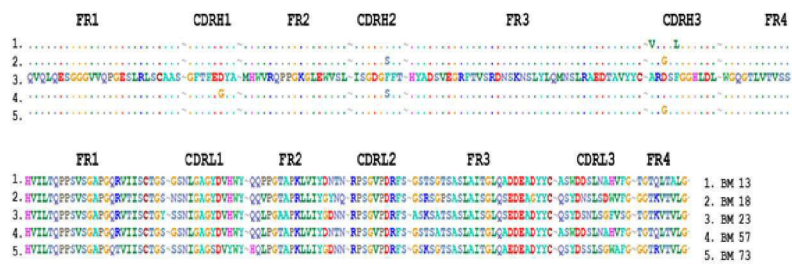
도면11



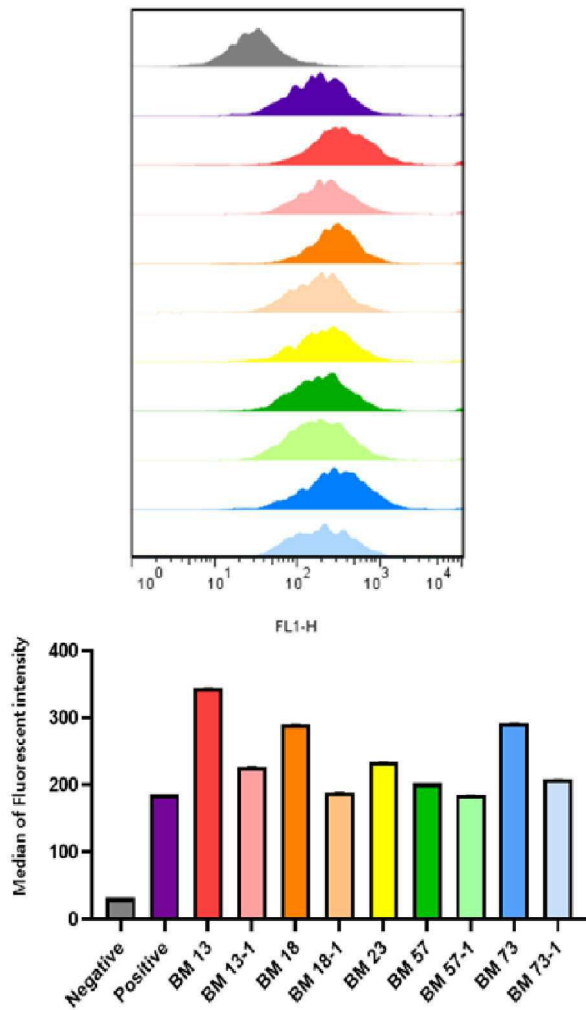
도면12



도면13



도면14



서열 목록

<110> Korea University Research and Business Foundation

<120> HUMAN ANTIBODIES TARGETING SARS-CoV-2

<130> DP-2020-0213

<160> 128

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 (JS 1, JS 2, JS 4)

<400> 1

Gly Phe Ala Ile Gly Asp Asn Ala

1

5

<210> 2
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDRH1 (JS 3)
 <400> 2
 Gly Phe Ala Ile Gly Gly Asn Ala

1 5
 <210> 3
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDRH1 (JS 5)
 <400> 3
 Gly Asp Ser Ile Ser Gly Asp Tyr

1 5
 <210> 4
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDRH1 (JS 7)
 <400> 4
 Gly Tyr Ala Leu Thr His Tyr Gly

1 5
 <210> 5
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDRH1 (JS_VH 4, JS_VH 19, JS_VH 21, BM 13, BM 18, BM 73)

<400> 5
 Gly Phe Thr Phe Glu Asp Tyr Ala
 1 5
 <210> 6

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDRH1 (JS_VH 9)
 <400> 6
 Gly Phe Thr Phe Gly Asp Tyr Ala
 1 5

<210> 7
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDRH1 (BM 57)
 <400> 7

Gly Phe Thr Phe Glu Gly Tyr Ala
 1 5
 <210> 8
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 (JS 1, JS 2, JS 3, JS 4)
 <400> 8
 Ile Arg Ser Asn Ser Tyr Gly Gly Thr Ala
 1 5 10

<210> 9
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDRH2 (JS 5)
 <400> 9

Ile Tyr Tyr Thr Gly Arg Val
 1 5
 <210> 10
 <211> 8
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 (JS 7)

<400> 10

Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asp Thr

1 5

<210> 11

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 (JS_VH 4, JS_VH 9, JS_VH 19, BM 13, BM 73)

<400> 11

Ile Ser Gly Asp Gly Phe Phe Thr

1 5

<210> 12

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 (JS_VH 21)

<400> 12

Ile Ser Gly Asp Gly Phe Tyr Thr

1 5

<210> 13

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 (BM 18, BM 57)

<400> 13

Ile Ser Gly Asp Gly Ser Phe Thr

1 5

<210> 14

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 (JS 1)

<400> 14

Ala Arg Arg Ala His Tyr Tyr Gly Asp Ser Thr Tyr Asn Pro Ser Trp

1 5 10 15

Tyr Phe Asp Leu

20

<210> 15

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 (JS 2, JS 3, JS 4)

<400> 15

Ala Arg Arg Ala His Tyr Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Asn Pro Ser Trp

1 5 10 15

Tyr Phe Asp Leu

20

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 (JS 5)

<400> 16

Ala Lys Asp Pro Pro Trp Thr Met Pro Gly Asn Tyr Trp Tyr Phe Asp

1 5 10 15

Leu

<210> 17

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 (JS 7)

<400> 17

Thr Thr Gly Leu Thr Gly Cys Gly Gly Asp Cys Tyr Tyr Trp Tyr Phe

1 5 10 15

Asp Leu

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 (JS_VH 4, JS_VH 9, JS_VH 21, BM 57)

<400> 18

Ala Arg Asp Ser Phe Gly Gly His Leu Asp Leu

1 5 10

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 (JS_VH 19)

<400> 19

Val Arg Asp Ser Phe Gly Gly His Leu Asp Leu

1 5 10

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 (BM 13)

<400> 20

Val Arg Asp Ser Leu Gly Gly His Leu Asp Leu

1 5 10

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 (BM 18, BM 73)

<400> 21

Ala Arg Gly Ser Phe Gly Gly His Leu Asp Leu

1 5 10

<210> 22

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 (JS 1)

<400> 22

Gln Asp Val Ser Arg Arg

1 5

<210> 23

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 (JS 2, JS 3)

<400> 23

Gln Asp Ile Ser Arg Arg

1 5

<210> 24

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 (JS 4)

<400> 24

Gln Asp Ile Ser Gly Arg

1 5

<210> 25

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 (JS 5)

<400>

> 25

Gln Tyr Ile Gly Thr Tyr

1 5

<210> 26
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 (JS 7)

<400> 26
 Ser Ser Asp Ile Gly Asn Tyr Asn Arg
 1 5

<210> 27
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 (BM 13, BM 57)

<400> 27
 Gly Ser Asn Leu Gly Ala Gly Tyr Asp Val His Trp Tyr
 1 5 10

<210> 28
 <211> 13

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 (BM 18)

<400> 28
 Asn Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His Trp Tyr
 1 5 10

<210> 29
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 (BM 73)

<400> 29
 Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Ser Asp Val Tyr Trp Tyr
 1 5 10

<210> 30
 <211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 (BM 23)

<400> 30

Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His Trp Tyr

1 5 10

<210> 31

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 (JS 1)

<400> 31

Gly Val Ser

1

<210> 32

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 (JS 2, JS 3, JS 4)

<400> 32

Gly Ala Ser

1

<210> 33

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 (JS 5)

<400> 33

Ala Ala Ser

1

<210> 34

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 (JS 7)

<400> 34

Glu Val Ser

1

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 (BM 13, BM 18, BM 57, BM 73)

<400> 35

Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

1 5 10

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 (BM 23)

<400> 36

Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

1 5 10

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 (JS 1, JS 2, JS 4)

<400> 37

Gln Gln Gly Tyr Ser Ser Pro Arg Thr

1 5

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 (JS 3)

<400> 38

Gln Gln Gly Tyr Gly Ser Pro Arg Thr

1 5

<210> 39

<211>

9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 (JS 5)

<400> 39

Gln Gln Ala Asp Ser Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 (JS 7)

<400> 40

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Asp Ala Tyr Val

1 5 10

<210> 41

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 (BM 13, BM 57)

<400> 41

Ala Ser Trp Asp Asp Ser Leu Asn Ala His Val Phe Gly

1 5 10

<210> 42

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 (BM 18)

<400> 42

Gln Ser Tyr Asp Asn Ser Leu Ser Asp Trp Val Phe Gly

1 5 10

<210> 43

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 (BM 73)

<400> 43

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Trp Ala Phe Gly

1 5 10

<210> 44

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 (BM 23)

<400> 44

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

1 5 10

<210> 45

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-FR1 (JS 1, JS 2, JS 3, JS 4)

<400> 45

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser

20 25

<210> 46

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-FR1 (JS 5)

<400> 46
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Ser Pro Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Ser Cys Ala Val Ser
20 25

<210> 47

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-FR1 (JS 7)

<400> 47

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

Ala Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 48

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-FR1 (JS_VH 4, JS_VH 9, JS_VH 19, JS_VH 21, BM 13, BM 18, BM
57, BM 73)

<400> 48

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 49

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-FR2 (JS 1, JS 3, JS 4)

<400> 49

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

1 5 10 15
Tyr

<210> 50
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VH-FR2 (JS 2)
<400> 50

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

1 5 10 15

Tyr

<210> 51
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VH-FR2 (JS 5)
<400> 51

Trp Asn Trp Leu Arg Gln Ser Pro Gly Lys Ala Pro Glu Trp Ile Gly

1 5 10 15

Tyr

<210> 52
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VH-FR2 (JS 7)
<400> 52

Phe Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val Gly

1 5 10 15

Trp

<210> 53
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH-FR2 (JS_VH 4, JS_VH 9, JS_VH 19, JS_VH 21, BM 13, BM 18, BM 57, BM 73)

<400> 53
 Met His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
 1 5 10 15
 Leu

<210> 54
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH-FR3 (JS 1, JS 2, JS 3)
 <400> 54

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

<210> 55
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH-FR3 (JS 4)
 <400> 55

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

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 56

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-FR3 (JS 5)

<400> 56

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 57

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-FR3 (JS 7)

<400> 57

Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Asp Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 58

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-FR3 (JS_VH 4, JS_VH 9, JS_VH 19, JS_VH 21, BM 13, BM 18, BM

57, BM 73)

<400> 58

His Tyr Ala Asp Ser Val Glu Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-FR4 (JS 1, JS 3, JS 4)

<400> 59

Trp Gly Arg Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-FR4 (JS 2)

<400> 60

Trp Gly His Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-FR4 (JS 5, JS 7)

<400> 61

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-FR4 (JS_VH 4, JS_VH 9, JS_VH 19, JS_VH 21, BM 13, BM 18, BM 57, BM 73)

<400> 62

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 63

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR1 (JS 1, JS 3)

<400> 63

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser

20 25

<210> 64

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR1 (JS 2)

<400> 64

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Phe Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser

20 25

<210> 65

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR1 (JS 4)

<400> 65

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Phe Val Gly

1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 20 25
 <210> 66
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR1 (JS 5)
 <400> 66
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 20 25
 <210> 67
 <211> 25
 <212> PRT

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR1 (JS 7)
 <400> 67
 Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 5 10 15
 Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr
 20 25
 <210> 68
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR1 (BM 13, BM 57)
 <400> 68
 His Val Ile Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 5 10 15

 Arg Val Ile Ile Ser Cys Thr Gly Ser
 20 25

<210> 69
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR1 (BM 18)
 <400> 69
 His Val Ile Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser
 20 25

<210> 70
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR1 (BM 73)
 <400> 70

His Val Ile Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Val Ile Ile Ser Cys Thr Gly Ser
 20 25

<210> 71
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR1 (BM 23)
 <400> 71

His Val Ile Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Tyr
 20 25

<210> 72
 <211> 17
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR2 (JS 1, JS 2)

<400> 72

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

1 5 10 15

Tyr

<210> 73

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR2 (JS 3)

<400> 73

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

1 5 10 15

Phe

<210> 74

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR2 (JS 4)

<400> 74

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

1 5 10 15

Tyr

<210> 75

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR2 (JS 5)

<400> 75

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

1 5 10 15
Phe

<210> 76
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VL-FR2 (JS 7)
<400> 76

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

1 5 10 15
Phe

<210> 77
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VL-FR2 (BM 13)
<400> 77

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

1 5 10 15
Asn

<210> 78
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VL-FR2 (BM 18)
<400> 78

Gln Gln Val Pro Gly Thr Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Tyr Asn

1 5 10 15
Gln

<210> 79
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR2 (BM 57)
 <400> 79
 Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Val Ile Tyr Asp Asn Thr
 1 5 10 15
 Asn

<210> 80
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR2 (BM 73)
 <400> 80
 His Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asp Asn
 1 5 10 15
 Asn

<210> 81
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR2 (BM 23)
 <400> 81
 Gln Gln Leu Pro Gly Ala Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asp Asn
 1 5 10 15
 Asn

<210> 82
 <211> 36
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR3 (JS 1, JS 2, JS 4)

<400> 82

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

1 5 10 15

Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser Asp Asp Phe Ala

20 25 30

Thr Tyr Tyr Cys

35

<210> 83

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR3 (JS 3)

<400> 83

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

1 5 10 15

Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser Asp Asp Phe Ala

20 25 30

Thr Tyr Tyr Cys

35

<210> 84

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR3 (JS 5)

<400> 84

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

1 5 10 15

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ser Ala

20 25 30

Thr Tyr Tyr Cys

35

<210> 85
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR3 (JS 7)
 <400> 85
 Asp Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
 1 5 10 15
 Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala
 20 25 30

Asp Tyr Tyr Cys
 35
 <210> 86
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR3 (BM 13)
 <400> 86
 Gly Ser Thr Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 1 5 10 15
 Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
 20 25

<210> 87
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR3 (BM 18)
 <400> 87
 Gly Ser Arg Ser Gly Pro Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 1 5 10 15
 Ser Glu Asp Glu Ala Gly Tyr Tyr Cys
 20 25

<210> 88

<211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR3 (BM 57)
 <400> 88
 Gly Ser Thr Ser Ala Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 1 5 10 15
 Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
 20 25

<210> 89
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR3 (BM 73)
 <400> 89
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 1 5 10 15
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
 20 25
 <210> 90
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR3 (BM 23)
 <400> 90
 Ala Ser Lys Ser Ala Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 1 5 10 15
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
 20 25
 <210> 91
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR4 (JS 1, JS 2, JS 3, JS 4)

<400> 91

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg

1 5 10

<210> 92

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR4 (JS 5)

<400> 92

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

1 5 10

<210> 93

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR4 (JS 7)

<400> 93

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

1 5 10

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR4 (BM 13)

<400> 94

Thr Gly Thr Gln Leu Thr Ala Leu Gly

1 5

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-FR4 (BM 18)

<400> 95

Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

1 5
 <210> 96
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR4 (BM 57)
 <400> 96

Thr Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly

1 5
 <210> 97
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR4 (BM 73)
 <400> 97

Gly Gly Thr Arg Val Thr Val Leu Gly

1 5
 <210> 98
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL-FR4 (BM 23)

<400> 98

Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

1 5
 <210> 99
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH-JS 1
 <400> 99

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

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

 35 40 45
 Gly Tyr Ile Arg Ser Asn Ser Tyr Gly Gly Thr Ala Glu Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Ile
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg Arg Ala His Tyr Tyr Gly Asp Ser Thr Tyr Asn Pro
 100 105 110

Ser Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Pro Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 100
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH-JS 2
 <400> 100

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

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

65 70 75 80
Ala Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
Tyr Cys Ala Arg Arg Ala His Tyr Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Asn Pro
 100 105 110

Ser Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly His Gly Thr Pro Val Thr Val Ser

115 120 125

Ser

<210>	101
<211>	129
<212>	PRT
<213>	Artificial Sequence
<220><223>	VH-JS 3
<400>	101

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

35					40					45									
Gly	Tyr	Ile	Arg	Ser	Asn	Ser	Tyr	Gly	Gly	Thr	Ala	Glu	Tyr	Ala	Ala				
50					55					60									
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Glu	Ser	Lys	Asn	Ile				
65					70					75					80				
Ala	Tyr	Leu	Glu	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr				
85					90					95									
Tyr	Cys	Ala	Arg	Arg	Ala	His	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Asn	Pro				
100					105					110									

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

115 120 125

Ser

<210> 102

<211> 129

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-JS 4

<400> 102

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Ala Ile Gly Asp Asn

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Arg Ser Asn Ser Tyr Gly Gly Thr Ala Glu Tyr Ala Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Ile

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Arg Ala His Tyr Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Asn Pro

100 105 110

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

115 120 125

Ser

<210> 103

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-JS 5

<400> 103

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

1 5 10 15

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

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 104

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-JS 7

<400> 104

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

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

Cys Thr Thr Gly Leu Thr Gly Cys Gly Gly Asp Cys Tyr Tyr Trp Tyr
100 105 110

Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 105

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-JS_VH 4

<400> 105

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Ser Phe Gly Gly His Leu Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 106

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-JS_VH 9

<400> 106

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

115

<210> 107

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-JS_VH 19

<400> 107

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

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Phe Phe Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Glu Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Asp Ser Phe Gly Gly His Leu Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser

115
<210> 108
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VH-JS_VH 21
<400> 108

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

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

115
<210> 109
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-BM 13

<400> 109

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 110

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-BM 18

<400> 110

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

115
<210> 111
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VH-BM 57
<400> 111

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

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

115
<210> 112
<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH-BM 73

<400> 112

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Phe Gly Gly His Leu Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 113

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-JS 1

<400> 113

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Gly Val Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ser Ser Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
100 105
<210> 114
<211> 108
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-JS 2

<400> 114

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ser Ser Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
100 105
<210> 115
<211> 108
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-JS 3

<400> 115

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Gly Ser Pro Arg			
85	90	95	
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg			
100	105		

<210> 116

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-JS 4

<400> 116

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Phe Val Gly

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

85

90

95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg

100

105

<210> 117

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-JS 5

<400> 117

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

<210> 118

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-JS 7

<400> 118

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

1

5

10

15

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

20 25 30
Asn Arg Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ser Pro Gly Thr Ala Pro Gln Leu
35 40 45
Ile Ile Phe Glu Val Ser Asp Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

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

<210> 119
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223

> VL-BM 13

<400> 119
His Val Ile Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Ile Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Leu Gly Ala Gly
20 25 30
Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Pro Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Val Ile Tyr Asp Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

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

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-BM 18

<400> 120

His Val Ile Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

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

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Gly Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Asn Ser		
85	90	95
Leu Ser Asp Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly		
100	105	110

<210> 121

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-BM 57

<400> 121

His Val Ile Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

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

50 55 60
 Ser Gly Ser Thr Ser Ala Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Asp Ser
 85 90 95

Leu Asn Ala His Val Phe Gly Thr Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 122

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-BM 73

<400> 122

His Val Ile Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Val Ile Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
 20 25 30

Ser Asp Val Tyr Trp Tyr His Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

35 40 45
 Leu Ile Tyr Gly Asp Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

50 55 60
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu

65 70 75 80
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser

85 90 95
 Leu Ser Gly Trp Ala Phe Gly Gly Gly Thr Arg Val Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 123

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL-BM 23

<400> 123

His Val Ile Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Ala Ala Pro Lys Leu

35 40 45

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

50 55 60

Ser Ala Ser Lys Ser Ala Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Asn

85 90 95

Leu Ser Gly Phe Val Ser Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 124

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> CL

<400> 124

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105
 <210> 125
 <211> 331
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CH1, CH2, CH3
 <400> 125
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

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

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

 145 150 155 160
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 165 170 175
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

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

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

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

 <210> 126
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> SARS-CoV-2-RBD
 <400> 126
 Arg Val Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn
 1 5 10 15

 Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val
 20 25 30
 Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser
 35 40 45
 Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val

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

 85 90 95
 Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr
 100 105 110
 Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly
 115 120 125
 Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys
 130 135 140
 Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr
 145 150 155 160

 Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser
 165 170 175
 Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val
 180 185 190
 Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly
 195 200 205
 Pro Lys Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn
 210 215
 <210> 127
 <211> 440
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> SARS-CoV-2-RBD-GST
 <400> 127
 Arg Val Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn
 1 5 10 15
 Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val
 20 25 30
 Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser

35 40 45
 Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val
 50 55 60

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

 130 135 140
 Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr
 145 150 155 160
 Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser
 165 170 175
 Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val
 180 185 190
 Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly
 195 200 205

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

 275 280 285

Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn Met Leu Gly Gly
290 295 300

Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu Gly Ala Val Leu
305 310 315 320

Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser Lys Asp Phe Glu
325 330 335

Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu Met Leu Lys Met
340 345 350

Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn Gly Asp His Val
355 360 365

Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp Val Val Leu Tyr
370 375 380

Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu Val Cys Phe Lys
385 390 395 400

Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr Leu Lys Ser Ser
405 410 415

Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala Thr Phe Gly Gly
420 425 430

Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp
435 440

<210> 128

<211> 379

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SARS-CoV-2-RBD-Streptavidin

<400> 128

Arg Val Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn
1 5 10 15

Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser
35 40 45

Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val
50 55 60

Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp
65 70 75 80

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

Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr
100 105 110

Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly
115 120 125

Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys
130 135 140

Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr
145 150 155 160

Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser
165 170 175

Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val
180 185 190

Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly
195 200 205

Pro Lys Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Gly Ser Asp Pro Ser Lys
210 215 220

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

Trp Tyr Asn Gln Leu Gly Ser Thr Phe Ile Val Thr Ala Gly Ala Asp
245 250 255

Gly Ala Leu Thr Gly Thr Tyr Glu Ser Ala Val Gly Asn Ala Glu Ser
260 265 270

Arg Tyr Val Leu Thr Gly Arg Tyr Asp Ser Ala Pro Ala Thr Asp Gly
275 280 285

Ser Gly Thr Ala Leu Gly Trp Thr Val Ala Trp Lys Asn Asn Tyr Arg
290 295 300

Asn Ala His Ser Ala Thr Thr Trp Ser Gly Gln Tyr Val Gly Gly Ala
 305 310 315 320

Glu Ala Arg Ile Asn Thr Gln Trp Leu Leu Thr Ser Gly Thr Thr Glu
 325 330 335

Ala Asn Ala Trp Lys Ser Thr Leu Val Gly His Asp Thr Phe Thr Lys
 340 345 350

Val Lys Pro Ser Ala Ala Ser Ile Asp Ala Ala Lys Lys Ala Gly Val
 355 360 365

Asn Asn Gly Asn Pro Leu Asp Ala Val Gln Gln
 370 375