



등록특허 10-2826436



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년06월27일
(11) 등록번호 10-2826436
(24) 등록일자 2025년06월24일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 14/705* (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01) *C12N 5/0783* (2010.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61K 40/11 (2025.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7040317(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2015년08월28일
심사청구일자 2023년12월21일
- (85) 번역문제출일자 2023년11월22일
- (65) 공개번호 10-2023-0167766
- (43) 공개일자 2023년12월11일
- (62) 원출원 특허 10-2017-7008529
원출원일자(국제) 2015년08월28일
심사청구일자 2020년08월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/047606
- (87) 국제공개번호 WO 2016/033570
국제공개일자 2016년03월03일
- (30) 우선권주장
62/043,273 2014년08월28일 미국(US)
62/078,942 2014년11월12일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
WO2012170807 A2
(뒷면에 계속)
- 전체 청구항 수 : 총 47 항

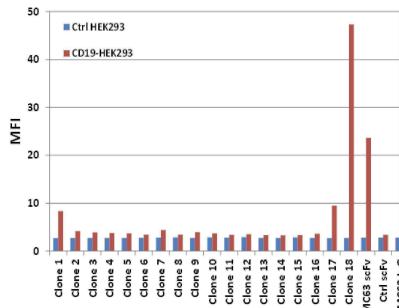
심사관 : 곽희찬

(54) 발명의 명칭 CD19에 특이적인 항체 및 키메라 항원 수용체

(57) 요약

본 발명에 따라 CD19 결합 분자, 예컨대 항체 단편들 예를 들면 단일-사슬 단편들을 비롯한 항-CD19 항체, 및 항체를 포함하는 키메라 수용체, 예를 들면 키메라 항원 수용체 (CARs)가 제공된다. 항체에는 예컨대 쥐의 항체와 같은 레퍼런스 항체와, CD19에 대한 결합을 두고 경쟁하는 인간 항체가 포함된다. 몇몇 구체예에서, 항체는 예를 들면 레퍼런스 항체의 결합 친화성 및/또는 경쟁 억제 특성과 필적할만한 유사한 기능적 특성을 나타낸다. 또한 본 발명에 따라 키메라 수용체를 발현하는 유전자 조작된 세포 및 결합 분자의 용도 및 세포 입양 세포 치료법도 제공된다.

대 표 도



(52) CPC특허분류

A61K 40/31 (2025.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/7051 (2013.01)
C07K 14/70521 (2013.01)
C12N 5/0636 (2025.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/73 (2013.01)

(72) 발명자

파즈마니, 크사바

미국 위성턴 98109 시애틀 웨스트레이크 애비뉴 노
스 스위트 300 307 주노 쎄러퓨티크스 인코포레이
티드 내

듀타-시몬스, 주이

미국 위성턴 98109 시애틀 웨스트레이크 애비뉴 노
스 스위트 300 307 주노 쎄러퓨티크스 인코포레이
티드 내

(56) 선행기술조사문헌

WO2009054863 A2
WO2009091826 A2
US07109304 B
Blood 119(12):2709-2720(2011.12.08.)
US20050070693 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명세서

청구범위

청구항 1

항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로서, 상기 항체 또는 항원-결합 단편은 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하고, 여기서:

(a) 상기 VH 영역은 SEQ ID NO: 18에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 상보성 결정 영역 1 (CDR-H1), SEQ ID NO: 19에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H2, 및 SEQ ID NO: 20에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 CDR-H3을 포함하며; 및

상기 VL 영역은 다음으로 이루어진 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR-L1), CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함한다:

각각 SEQ ID NOs: 21, 22, 및 23;

각각 SEQ ID NOs: 21, 22, 및 24;

각각 SEQ ID NOs: 25, 26, 및 27;

각각 SEQ ID NOs: 28, 29, 및 30; 또는

각각 SEQ ID NOs: 31, 32, 및 33.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 17의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 15의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 13의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 14의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 16의 아미노산 서열을 포함하는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 3

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 항체는 인간 CD19에 특이적으로 결합하는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 항체는 FMC63 및 SJ25C1로 이루어진 군으로부터 선택된 레퍼런스 항-CD19 항체에 의해 특이적으로 결합된 에피토프와 동일 또는 중복된 CD19의 에피토프에 특이적으로 결합하는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 5

청구항 4에 있어서, 항체는 CD19에 대한 결합을 두고, FMC63 및 SJ25C1로 이루어진 군으로부터 선택된 항-CD19 항체와 경쟁하는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 6

청구항 4에 있어서, 레퍼런스 항체가 CD19에 대한 결합을 두고 그 자신과 경쟁하는 것과 적어도 동일한 정도로, 또는 레퍼런스 항체에 의한 경쟁 정도의 1.5배 이하 또는 2배 미만으로 CD19에 대한 결합을 두고 레퍼런스 항체와 경쟁하는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 7

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, CD19에 대한 항체의 결합 친화성은, FMC63 및 SJ25C1로 이루어진 군으로부터 선택된 레퍼런스 항체의 CD19에 대한 결합 친화성과 적어도 동일하게 높은 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 결합 친화성 EC50이 레퍼런스 항체의 EC50에 비해 동일하거나 더 낮거나 또는 레퍼런스 항체의 EC50에 비해 1.5배 이하, 또는 2배 이하 크거나, 3배 이하 크거나 및/또는 10배 이하 더 큰 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 9

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 인간 CD19에 대한 항체의 결합 친화성 (EC50) 및/또는 해리 상수는 100 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1 nM이거나, 또는

100 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1 nM 아래인 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 10

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 항체 또는 단편은 인간 항체인 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 11

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 항체 또는 단편은 재조합체인 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 12

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 항체 또는 단편은 모노클로날인 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 13

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 단일 사슬 단편인 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 14

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 유연한 면역글로불린 링커에 의해 결합된 항체 가변 영역을 포함하는 단편인 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 15

청구항 13에 있어서, 단편은 scFv를 포함하는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 16

청구항 15에 있어서, scFv는 SEQ ID NO: 34에 제시된 서열을 포함하는 링커를 포함하는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 17

청구항 15에 있어서, scFv는 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 또는 10 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 18

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서,

면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부를 추가로 포함하는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 19

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 적어도 일부는 헌지 영역을 포함하는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 20

청구항 18에 있어서, 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부는 Fc 영역을 포함하는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 21

청구항 19에 있어서, 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부는 Fc 영역을 포함하는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 22

청구항 20에 있어서, Fc 영역은 인간 IgG의 Fc 영역인 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 23

청구항 21에 있어서, Fc 영역은 인간 IgG의 Fc 영역인 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 24

청구항 1 또는 청구항 2의 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편 및 이종 분자 또는 모이어티를 포함하는 캔쥬게이트.

청구항 25

청구항 1 또는 청구항 2의 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는 세포외 도메인 및 세포내 시그널링 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR).

청구항 26

청구항 25에 있어서, 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는 세포외 도메인은 scFv을 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.

청구항 27

청구항 25에 있어서, 세포내 시그널링 도메인은 ITAM을 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.

청구항 28

청구항 25에 있어서, 세포내 시그널링 도메인은 CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 시그널링 도메인을 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.

청구항 29

청구항 25에 있어서, 세포외 도메인과 세포내 시그널링 도메인 사이에 막판통 도메인을 추가로 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.

청구항 30

청구항 29에 있어서, 막판통 도메인은 CD28의 막판통 부분을 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.

청구항 31

청구항 25에 있어서, 세포내 시그널링 도메인은 T 세포 공동자극 분자의 세포내 시그널링 도메인을 추가로 포함

하는 것인 키메라 항원 수용체.

청구항 32

청구항 31에 있어서, T 세포 공동자극 분자는 CD28 및 41BB으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 키메라 항원 수용체.

청구항 33

청구항 1 또는 청구항 2의 항체 또는 단편을 인코딩하는 핵산.

청구항 34

청구항 24의 컨쥬게이트를 인코딩하는 핵산.

청구항 35

청구항 25의 키메라 항원 수용체를 인코딩하는 핵산.

청구항 36

청구항 1 또는 청구항 2의 항체 또는 단편을 포함하는 수용체를 발현하는 조작된 세포.

청구항 37

청구항 24의 컨쥬게이트를 포함하는 수용체를 발현하는 조작된 세포.

청구항 38

청구항 25의 키메라 항원 수용체를 포함하는 수용체를 발현하는 조작된 세포.

청구항 39

청구항 38에 있어서, 상기 세포는 T 세포인 것인 조작된 세포.

청구항 40

B 세포 악성종양을 치료하는 데 사용하기 위한, 청구항 1 또는 청구항 2의 항체 또는 그의 단편을 포함하는 조성물.

청구항 41

B 세포 악성종양을 치료하는 데 사용하기 위한, 청구항 24의 컨쥬게이트를 포함하는 조성물.

청구항 42

B 세포 악성종양을 치료하는 데 사용하기 위한, 청구항 25의 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하는 조성물.

청구항 43

B 세포 악성종양을 치료하는 데 사용하기 위한, 청구항 38의 세포를 포함하는 조성물.

청구항 44

청구항 43에 있어서, 약학적으로 허용가능한 부형제를 추가로 포함하는 것인 조성물.

청구항 45

청구항 40에 있어서, B 세포 악성종양은 B 세포 만성 림프구성 백혈병(CLL), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 전립프구성 백혈병, 텔세포 백혈병, 공통 급성 림프구성 백혈병 부재-급성 림프모구 백혈병, 비-호지킨 림프종, 광범위 큰 B세포 림프종(DLBCLs), 다발골수종, 소포 림프종, 비장, 변연부 림프종, 외투세포 림프종, 무통성 B 세포 림프종, 및 호지킨 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 46

청구항 41에 있어서, B 세포 악성종양이 B 세포 만성 림프구성 백혈병(CLL), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 전립프구성 백혈병, 텔세포 백혈병, 공통 급성 림프구성 백혈병, 부재-급성 림프모구 백혈병, 비-호지킨 림프종, 광범위 큰 B세포 림프종(DLBCLs), 다발골수종, 소포 림프종, 비장, 변연부 림프종, 외투세포 림프종, 무통성 B 세포 림프종, 및 호지킨 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 47

청구항 43에 있어서, B 세포 악성종양이 B 세포 만성 림프구성 백혈병(CLL), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 전립프구성 백혈병, 텔세포 백혈병, 공통 급성 림프구성 백혈병, 부재-급성 림프모구 백혈병, 비-호지킨 림프종, 광범위 큰 B세포 림프종(DLBCLs), 다발골수종, 소포 림프종, 비장, 변연부 림프종, 외투세포 림프종, 무통성 B 세포 림프종, 및 호지킨 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

발명의 설명

기술 분야

관련 출원에 대한 상호 참조

[0001] 본 출원은 "CD19에 특이적인 항체 및 키메라 항원 수용체"라는 제목의 2014년 8월 28일자 미국 가특허출원 No. 62/043,273 및 "CD19에 특이적인 항체 및 키메라 항원 수용체"라는 제목의 2014년 11월 12일자 미국 가특허출원 No. 62/078,942에 기초한 우선권 주장 출원으로, 상기 출원들은 그 내용 전체가 본 발명에 참조 통합되었다.

서열 목록의 참조 명합

[0002] 본 발명은 전자 포맷된 서열목록과 함께 출원되었다. 서열목록은 2015년 8월 28일자로 735042000740seqlist.txt라는 파일명으로 생성, 제공되었으며 크기는 215 킬로바이트이다. 서열목록의 전자 포맷에 포함된 정보는 그 전체가 본 발명에 참조 통합되었다.

분야

[0003] 본 발명은 몇 가지 측면에서 CD19 결합 분자, 특히, 항체 단편들을 비롯한 항-CD19 항체에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이러한 항체를 함유하는 재조합 수용체에 관한 것으로, 여기에는 이러한 항체를 함유하는 키메라 항원 수용체 (CARs)가 포함된다. 본 발명은 또한 이러한 수용체 및 항체를 발현하는 유전자 조작된 세포, 및 입양 세포 치료법에(adoptive cell therapy)에 있어서의 그의 용도에 관한 것이기도 하다

배경 기술

배경

[0004] CD19는 대부분의 B 세포 악성종양을 비롯한, 다양한 질병과 병태의 세포 및 조직에 의해, 그리고 정상적인 B 세포 상에서 발현된다. B 세포 악성종양에 걸린 대부분의 환자들은 CD19 및/또는 기타 B 세포 마커를 표적화하는 치료법을 비롯한 현행 치료법에 의해 치유되지 않는다. 항-CD19 항체를 비롯한 다양한 CD19-결합 분자, 및 항-CD19 항체 부분들을 함유하는 키메라 항원 수용체, 및 이러한 키메라 수용체를 발현하는 세포들이 이용가능하다. 개선된 CD19-결합 분자 및 조작된 CD19-표적화 세포가 요구된다. 예를 들어, 입양 세포 치료법에 사용하기 위한, 면역원성이 감소된 분자 및 세포 및/또는 CD19에 특이적으로 결합하는 항체 단편들을 비롯한 인간 항체 및 이러한 인간 항체를 발현하는 키메라 수용체가 요구된다. 본 발명은 이러한 필요를 충족하는 구현예를 제공한다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

- [0009] [0005] 본 발명에 따라 scFv 단편들을 비롯한 단일-사슬 단편들과 같은 항원-결합 항체 단편들을 비롯한 항-CD19 항체와 같은 폴리펩타이드, 및 항원-인식 성분으로서 항체를 함유하는 키메라 항원 수용체 (CARs)와 같은 키메라 수용체를 비롯한, 예컨대 재조합 수용체와 같은 수용체, 융합 단백질을 비롯한, 이러한 항체를 함유하는 폴리펩타이드와 같은 CD19-결합 분자가 제공된다. 특정 구체예에서, 항체는 인간 항체, 예컨대 scFvs를 비롯한 인간 단일-사슬 단편들이다.
- [0010] [0006] 본 발명에 따라 CD19에 특이적으로 결합하는 것들을 비롯하여, 항체 항체 또는 그의 항원-결합 단편들이 제공된다. 몇몇 구체예에서, 항체는 중쇄 CDRs (CDR-Hs) 및 경쇄 CDRs (CDR-Ls)를 비롯한 특정한 상보성 결정 영역(CDRs)을 포함한다. 몇몇 구체예에서, CDRs은 레퍼런스 항체 또는 그의 사슬 또는 서열의 CDRs의 아미노산 서열을 갖거나 포함한다.
- [0011] [0007] 몇몇 구체예에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 중쇄 가변(VL) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 항체, 예컨대, 그의 VH 영역은 SEQ ID NO: 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-H3)을 포함한다. 몇몇 구체예에서, VH 영역은 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 또는 62에 제시된 VH 영역 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 서열 동일성, 예컨대 적어도 약 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 18의 CDR-H1 및 SEQ ID NO: 20의 CDR-H3을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 81, 82, 19 또는 72를 포함하는 CDR-H2 서열을 포함한다.
- [0012] [0008] 몇몇 구체예에서, 항체는 레퍼런스 항체의 중쇄 가변(VL) 영역 내에 함유된 CDR 1, 2, 및 3 서열의 아미노산 서열을 각기 포함하는 CDR-H1, CDR-H2, 및/또는 CDR-H3을 갖는다. 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체의 VH 영역은 SEQ ID NO: 11 또는 12에 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 몇몇 구체예에서, 이것은 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 또는 62에 제시된 아미노산 서열을 갖는다.
- [0013] [0009] 몇몇 구체예에서, 항체는 예컨대, 레퍼런스 항체의 경쇄 가변 (V_L) 영역 내에 함유된 CDR 1, 2, 및 3 서열의 아미노산을 각각 포함하는 CDR-L1, CDR-L2, 및/또는 CDR-L3을 추가로 포함한다. 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체의 V_L 은 SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 또는 17에 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체의 V_L 은 SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17, 71, 65, 64, 66, 70, 69, 67, 90 또는 91에 제시된 아미노산 서열을 갖는다.
- [0014] [0010] 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체, VH, 또는 VL 내의 CDR은 예컨대 본 명세서에 정의된 모든 넘버링 시스템에 의해 정의된 CDR을 가리킨다. 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체 또는 VH 또는 VL의 CDR은 본 명세서의 Kabat 넘버링 시스템에 의해 정의된 CDR, 본 명세서의 Chothia 넘버링 시스템에 의해 정의된 CDR, 또는 본 명세서에 설명된 Contact 시스템에 의해 정의된 CDR을 가리킨다.
- [0015] [0011] 몇몇 구체예에서, 항체는 CDR-H1, CDR-H2 및/또는 CDR-H3을 포함하는 VH 사슬을 함유하되, 여기서 CDR-H1은 DYAMH의 아미노산 서열(SEQ ID NO: 18) 또는 SEQ ID NO: 18에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하고; CDR-H2는 SEQ ID NO: 81 또는 82 또는 19 또는 72의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 81 또는 SEQ ID NO: 82 또는 SEQ ID NO: 19 또는 SEQ ID NO: 72에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하며; 및/또는 CDR-H3은 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 20에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다
- [0016] [0012] 몇몇 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, SEQ ID NO: 81 또는 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다.
- [0017] [0013] 몇몇 구체예에서, 항체는 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 110)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-1을 가지며, 여기서 X_1 은 T, W, S 또는 R; X_2 는 G 또는 A; X_3 는 I, T, D 또는 S; X_4 는 S, R, T 또는 Q; X_5 는 부재(null) 또는 S; X_6 는 부재, D, N 또는 G; X_7 는 부재, V 또는 L; X_8 은 X 또는 부재; X_9 은 X 또는 부재; X_{10} 은 X; X_{11} 은 X; X_{12} 는 Y, F, D 또는 W; X_{13} 은 V, A 또는 L 및 X_{14} 은 S, N 또는 A이다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서, 항체는 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 111)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1을 갖거나 (여기서 X_1 은 T, Q, S, 또는 R; X_2 는 G 또는 A; X_3 는 I, T, D, 또는 S; X_4 는 S, R, T, 또는 Q; X_5 는 부재 또는 S;

X_6 은 G, D, N, 또는 부재; X_7 은 부재, V, 또는 L; X_8 은 D, G, I, L, S, 또는 부재; X_9 은 S, G, A, I, R, 또는 부재; X_{10} 은 H, Y, F, S, 또는 N; X_{11} 은 R, N, D, H, 또는 Y; X_{12} 는 Y, F, D, 또는 W; X_{13} 은 V, A, 또는 L; 및 X_{14} 은 S, N, 또는 A임); 및/또는

[0018] [0014] $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 112)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2을 갖거나 (여기서 X_1 은 D 또는 S; X_2 는 F, V, N, K, 또는 A; X_3 는 S, T, D, 또는 N; X_4 는 K, V, N, Q, 또는 R; X_5 은 R, V, 또는 L; X_6 is는 P, K, A, 또는 E이고; 및 X_7 은 S, P, A, 또는 T임), 및/또는

[0019] [0015] $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 115)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 갖는다 (여기서 X_1 은 X; X_2 는 S, Q, A, 또는 T; X_3 는 Y, S, W, R; X_4 는 A, D, R, T, 또는 Y; X_5 는 X; X_6 는 X; X_7 은 S, P, L, Y, G; X_8 은 X 또는 부재; X_9 은 X 또는 부재; X_{10} 은 L 또는 부재; X_{11} 은 X; 및 X_{12} 는 V, T, 또는 L임). 예를 들어, 몇몇 구체예에서, 항체는 아미노산 서열 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 114)을 포함하는 CDR-L3을 갖는다(여기서 X_1 은 S, G, T, A, Q, C 또는 N; X_2 는 S, Q, A, 또는 T; X_3 는 Y, S, W, R; X_4 는 A, D, R, T, 또는 Y; X_5 는 A, S, P, G, N 또는 D; X_6 는 I, S, G, T, A, L, H, R, N; X_7 은 S, P, L, Y, G; X_8 은 P, T, S, Q, M, R, N 또는 부재; X_9 은 S, L, N, A, M 또는 부재; X_{10} 은 L 또는 부재; X_{11} 은 Y, W, F, V, A 또는 L; 및 X_{12} 는 V, T, 또는 L이다).

[0020] [0016] 이러한 몇몇 구체예 중, 상기 CDR-L1에서, X_3 는 I, T, 또는 S; X_4 는 S, T, 또는 Q; X_8 은 D, G, I, S, 또는 부재; X_9 은 S, G, I, 또는 부재; X_{10} 은 H, Y, S, 또는 N; X_{11} 은 R, N, D, 또는 H; X_{12} 는 Y 또는 D; 및 X_{13} 은 V 또는 L; 및/또는 상기 CDR-L2에서, X_1 은 D; X_4 는 K, V, N, Q, 또는 R; X_6 는 P, K, 또는 A; 및 X_7 은 S, A, 또는 T; 및/또는 상기 CDR-L3에서, X_1 은 S, G, T, A, Q, C, 또는 N; X_5 는 A, S, P, G, N, 또는 D; X_6 는 I, S, G, T, A, L, H, R, 또는 N; X_8 은 P, T, S, Q, M, R, N, 또는 부재; X_9 은 S, L, N, A, M 또는 부재; 및 X_{11} 은 Y, W, F, V, A, 또는 L이다. 몇몇 구체예에서, 상기 CDR-L3에서, X_1 은 S, G, Q, 또는 N; X_2 는 S, Q, 또는 T; X_4 는 A, D, T, 또는 Y; X_5 는 A, S, 또는 G; 및 X_6 는 I, S, N, R, A, H, 또는 T이다.

[0021] 몇몇 구체예에서, CDR-H2는 SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 CDR-H2는 SEQ ID NO: 72 (GISWNSGSIGYADSVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0022] [0018] 몇몇 구체예에서, CDR-L1은 SEQ ID NO: 80, 77, 74, 73, 75, 79, 78, 76, 21, 25, 28, 또는 31에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇 구체예에서, CDR-L1은 SEQ ID NO: 80, 77, 74, 73, 78, 21, 또는 28에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0023] [0019] 몇몇 구체예에서, CDR-L2는 SEQ ID NO: 100, 97, 94, 93, 95, 99, 98, 96, 22, 26, 29, 또는 32에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇 구체예에서, CDR-L2는 SEQ ID NO: 100, 97, 94, 93, 98, 22, 또는 29에 제시된 아미노산 서열을 포함함.

[0024] [0020] 몇몇 구체예에서, CDR-L3은 SEQ ID NO: 109, 106, 103, 101, 104, 108, 107, 105, 102, 23, 24, 27, 30, 또는 33에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇 구체예에서, CDR-L3은 SEQ ID NO: 109, 106, 103, 101, 107, 24 또는 30에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0025] [0021] 몇몇 구체예에서, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3는 각각 SEQ ID NOs: 21, 22, 및 23에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3는 각각 SEQ ID NOs: 21, 22, 및 24에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 25, 26, 및 27에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 28, 29 및 30에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 31, 32, 및 33에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열

동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3는 각각 SEQ ID NOs: 80, 100, 및 109에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 77, 97, 및 106에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 74, 94, 및 103에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 73, 93, 및 101에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 75, 95, 및 104에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 79, 99, 및 108에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 78, 98, 및 107에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 76, 96, 및 105에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; 또는 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 77, 97, 및 106에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0026]

[0022] 몇몇 구체예에서, CDR-L3은 SEQ ID NO: 116, 117, 118, 119, 120, 또는 121에 제시된 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0027]

[0023] 몇몇 구체예에서, CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 각각 SEQ ID NOs: 18, 81, 및 20에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 각각 SEQ ID NOs: 18, 19, 및 20에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 각각 SEQ ID NOs: 18, 82, 및 20에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; 또는 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 각각 SEQ ID NOs: 18, 72, 및 20에 제시된 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0028]

[0024] 몇몇 구체예에서, 항체는 아미노산 서열 X₁GX₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃S (SEQ ID NO: 36)을 포함하는 CDR-L1을 가지며 (여기서 X1은 T, S, 또는 Q, X3은 T, S, 또는 D, X4는 T 또는 S, X5는 부재 또는 S, X6는 부재, D, 또는 N, X7은 부재 또는 V, X8은 부재, G, 또는 I, X9은 부재, G, 또는 R, X10은 S, Y, 또는 N, X11은 D 또는 N, X12는 D 또는 Y, X13은 V 또는 A임); CDR-L2는 아미노산 서열 X₁X₂X₃X₄RPS (SEQ ID NO: 37)을 포함하고 (여기서 X1은 D 또는 S, X2는 V, N, 또는 K, X3는 S, N, 또는 D, 및 X4는 K, Q, 또는 N; 및/또는 CDR-L3은 아미노산 서열 X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂ (SEQ ID NO: 113)을 포함한다 (여기서 X1은 C, S, A, G, 또는 N; X2는 S, A, 또는 T; X3는 Y, W, 또는 R; X4는 A 또는 D; X5는 G, D, 또는 S; X6는 R, S, 또는 N; X7은 Y, L, 또는 G; X8은 N 또는 S; X9은 S, N, 또는 부재; X10은 부재; X11은 V, A, 또는 W; 및 X12은 L 또는 V임).

[0029]

[0025] 몇몇 구체예에서, 항체는 아미노산 서열 X₁GX₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃S (SEQ ID NO: 36)을 포함하는 CDR-L1을 가지며 (여기서 X1은 T, S, 또는 Q, X3은 T, S, 또는 D, X4는 T 또는 S, X5는 부재 또는 S, X6는 부재, D, 또는 N, X7은 부재 또는 V, X8은 부재, G, 또는 I, X9은 부재, G, 또는 R, X10은 S, Y, 또는 N, X11은 D 또는 N, X12는 D 또는 Y, X13은 V 또는 A임); CDR-L2는 아미노산 서열 X₁X₂X₃X₄RPS (SEQ ID NO: 37)을 포함하고 (여기

서 X1은 D 또는 S, X2는 V, N, 또는 K, X3은 S, N, 또는 D, 및 X4는 K, Q, 또는 N임); 및/또는 CDR-L3은 아미노산 서열 X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂ (SEQ ID NO: 38)을 갖는다 (여기서, X1은 C, S, A, G, 또는 N; X2는 S, A, 또는 T; X3은 Y, W, 또는 R; X4는 A 또는 D; X5는 G, D, 또는 S; X6는 R, S, 또는 N; X7은 Y, L, 또는 G; X8은 N 또는 S; X9은 S 또는 부재; X10은 V, A 또는 N; X11은 W 또는 부재; 및 X12는 L 또는 V임).

[0030] [0026] 이러한 몇 가지 구체예 중, CDR-L1에서, X1은 T 또는 S, X3은 T 또는 S, X11은 D 또는 N, 및 X13은 V이 고; 및/또는 CDR-L2에서, X2는 V 또는 N 및 X4는 K 또는 Q이다.

[0031] [0027] 몇몇 구체예에서, CDR-H2는 SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)에 제시된 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 19에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0032] [0028] 몇몇 구체예에서, CDR-L1은 SEQ ID NO: 21, 25, 28, 또는 31에 제시된 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 및/또는 CDR-L2는 SEQ ID NO: 22, 26, 29, 또는 32에 제시된 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 및/또는 CDR-L3은 SEQ ID NO: 23, 24, 27, 30, 또는 33에 제시된 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0033] [0029] 몇몇 구체예에서, CDR-L1, CDR-L2, 및/또는 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 21, 22, 및/또는 23에 제시된 서열, 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함한다.

[0034] [0030] 몇몇 구체예에서, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 21, 22, 및 24에 제시된 서열, 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함한다.

[0035] [0031] 몇몇 구체예에서, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 25, 26, 및 27에 제시된 서열, 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함한다.

[0036] [0032] 몇몇 구체예에서, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 28, 29, 및 30에 제시된 서열, 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함한다. 몇몇 구체예에서, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 31, 32, 및 33에 제시된 서열, 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함한다.

[0037] [0033] 몇몇 구체예에서, 중쇄 및 경쇄 CDRs은 전술한 CDR-L 및 CDR-H 서열에 대하여 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하여, CDR-L 및 CDR-H 서열의 여하한 조합이다.

[0038] [0034] 특정 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 VH 영역을 포함한다.

[0039] [0035] 특정 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 VH 영역을 포함한다.

[0040] [0036] 특정 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0041] [0037] 특정 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

함하는 VL 영역을 포함한다.

[0057] 특정 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0058] 특정 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 69의 아미노산 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0059] 특정 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 67의 아미노산 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0060] 특정 구체예에서, 항체 또는 단편의 VH 영역은 SEQ ID NO: 11, 60, 63, 또는 62의 아미노산 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 및/또는 항체 또는 단편의 VL 영역은 SEQ ID NO: 14, 16, 71, 90, 65, 64, 또는 69의 아미노산 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0061] 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 17의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하고;

[0062] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 15의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하며;

[0063] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 13의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하고;

[0064] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 14의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하며;

[0065] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 16의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하고;

[0066] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 63 및 71의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하며;

[0067] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 62 및 68의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하고;

[0068] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 65의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하며;

[0069] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 60 및 64의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하고;

[0070] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 61 및 66의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하며;

- [0071] [0067] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 63 및 70의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하고;
- [0072] [0068] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 62 및 69의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하며;
- [0073] [0069] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 67의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하고;
- [0074] [0070] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 91의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함하거나; 또는
- [0075] [0071] 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 63 및 90의 아미노산 서열 또는 상기 서열들에 대해 각각 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함한다.
- [0076] [0072] 몇몇 구체예에서, VH 영역은 SEQ ID NO: 11을 포함하고 VL 영역은 SEQ ID NO: 13을 포함한다; 몇몇 구체예에서, VH 영역은 SEQ ID NO: 11을 포함하고 VL 영역은 SEQ ID NO: 14을 포함한다; 몇몇 구체예에서, VH 영역은 SEQ ID NO: 11을 포함하고 VL 영역은 SEQ ID NO: 15을 포함한다; 몇몇 구체예에서, VH 영역은 SEQ ID NO: 11을 포함하고 VL 영역은 SEQ ID NO: 16, 또는 상기 서열에 대하여 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다; 몇몇 구체예에서, VH 영역은 SEQ ID NO: 11을 포함하고 VL 영역은 SEQ ID NO: 17, 또는 상기 서열에 대하여 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0077] [0073] 몇몇 구체예에서, VH 영역은 SEQ ID NO: 12을 포함하고 VL 영역은 SEQ ID NO: 13을 포함한다; 몇몇 구체예에서, VH 영역은 SEQ ID NO: 12을 포함하고 VL 영역은 SEQ ID NO: 14을 포함한다; 몇몇 구체예에서, VH 영역은 SEQ ID NO: 12을 포함하고 VL 영역은 SEQ ID NO: 15을 포함한다; 몇몇 구체예에서, VH 영역은 SEQ ID NO: 12을 포함하고 VL 영역은 SEQ ID NO: 16, 또는 상기 서열에 대하여 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다; 몇몇 구체예에서, VH 영역은 SEQ ID NO: 12을 포함하고 VL 영역은 SEQ ID NO: 16, 또는 상기 서열에 대하여 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0078] [0074] 몇몇 구체예에서, 항체는 1 이상의 유연한 면역글로불린 링커에 의해 연결된 2 이상의 가변 영역를 갖는 것과 같은 단일 사슬 단편이다. 몇몇 구체예에서, 항체는 scFv이다. 몇몇 구체예에서, scFv는 세린 및/또는 글라이신이 풍부한 링커, 예컨대 GGGG (SEQ ID NO: 122) 또는 GGGGS (SEQ ID NO: 123) 반복물(repeats)을 포함하는 링커, 예컨대 SEQ ID NO: 34에 제시된 서열을 포함하는 링커를 포함한다. 몇몇 구체예에서 링커는 SEQ ID NO: 43의 서열을 포함한다.
- [0079] [0075] 몇몇 구체예에서, 항체 단편, 예컨대, scFv는, VH 영역 또는 그의 일부를 함유하며, 그 다음에 링커, 그 다음에 VL 또는 그의 일부가 수반된다. 몇몇 구체예에서, 항체 단편, 예컨대, scFv는 VL 영역 또는 그의 일부를 함유하며, 그 다음에 링커, 그 다음에 VH 영역 또는 그의 일부가 수반된다.
- [0080] [0076] 몇몇 구체예에서, scFv는 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 또는 10에 제시된 아미노산 서열 또는 상기 서열에 대하여 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0081] [0077] 몇몇 구체예에서, scFv는 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 87, 또는 89에 제시된 아미노산 서열, 또는 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 포함한다.
- [0082] [0078] 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 레퍼런스 항체에 의해 특이적으로 결합되는 에피토프와 동일, 유사 및/또는 중복되는 CD19의 에피토프에 특이적으로 결합한다. 몇몇 측면에서, 레퍼런스 항체는 쥐(murine) 또는 키메라 또는 인간 또는 인간화 항-CD19 항체, FMC63, SJ25C1, SEQ ID NO: 39 및/또는 40의 가변 영역 서열을

갖는 항체, 또는 SEQ ID NO: 41 및/또는 42의 가변 영역 서열을 갖는 항체이다. 몇몇 측면에서, 레퍼런스 항체는 전술한 구체예들에 따른 서열(들)을 비롯하여, 전술한 서열들을 포함하는 항체이다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체는 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 87, 또는 89에 제시된 아미노산 서열을 함유하는 scFv일 수 있다. 몇몇 구체예에서, 제공된 항체 또는 단편은 레퍼런스 항체 내의 그것들과 구별되는 1 이상 또는 모든 CDR들을 함유한다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서, 제공된 항체 또는 단편은 FMC63 또는 SJ25C1이라 표시된 항체 내 대응하는 CDRs와 구별되는 1 이상의 또는 모든 CDRs를 함유한다.

[0083] [0079] 예를 들어, FMC63, SJ25C1와 같은 레퍼런스 항체에 의해 특이적으로 결합된 에피토프와 동일 또는 중복되는 CD19의 에피토프에 특이적으로 결합하는 인간 항체 및 항원-결합 단편들, SEQ ID NO: 39 및/또는 40의 가변 영역 서열을 갖는 항체, 또는 SEQ ID NO: 41 및/또는 42의 가변 영역 서열을 가지고 레퍼런스 항체에 존재하는 CDRs와 구별되는 중쇄 및 경쇄 CDRs를 포함하는 항체가 제공된다.

[0084] [0080] 몇몇 구체예에서, 항체는 레퍼런스 항체가 CD19에 대한 결합을 놓고 그 자신과 경쟁하는 것과 적어도 동일한 정도로 레퍼런스 항체와 경쟁하거나, 또는 레퍼런스 항체에 의한 경쟁에 비해 1.5배 이하 또는 2배 낮은, 3배 낮은, 4배 낮은, 5배 낮은, 또는 10배 낮은 정도로 경쟁하거나, 및/또는 예컨대 동일한 분석법에서 측정되는 바와 같이, 그 자신에 대한 결합을 두고 경쟁하는 레퍼런스 항체의 IC50에 비해 측정된 IC50이 1.5배 이하 또는 2배 또는 3배 또는 4배 또는 5배 또는 10배 더 높은 정도로 경쟁한다.

[0085] [0081] 몇몇 구체예에서, CD19에 대한 항체의 결합 친화성은 적어도 CD19에 대한 레퍼런스 항체의 결합 친화성 만큼 높거나 또는 실질적으로 그만큼 높다. 몇몇 측면에서, 항체는 결합 친화성 EC50이 레퍼런스 항체의 EC50과 대략 동일하거나 낮은 결합 친화성을 갖거나 또는 레퍼런스 항체의 EC50에 비해 약 1.5배 이하, 또는 약 2배 이하 크거나, 3배 이하 크거나 및/또는 10배 이하 더 크다. 몇몇 구체예에서, 항체의 결합 친화성은 레퍼런스 항체의 대응하는 형태와 비교된다. 비교는 일반적으로 동일 또는 유사한 분석법에 의한다.

[0086] [0082] 이러한 몇 가지 구체예에서, CD19는 인간 CD19이다. 이러한 몇 가지 구체예에서, 항체 또는 단편은 인간 CD19에 특이적으로 결합하거나, 결합 친화성을 나타내거나 및/또는 CD19에 대한 결합을 두고 경쟁한다.

[0087] [0083] 몇몇 구체예에서, 항체는 인간 항체이다. 몇몇 구체예에서, 항체는 재조합 항체이다. 몇몇 구체예에서, 항체는 모노클로날 항체이다. 몇몇 구체예에서, 항체는 분리된 항체이다.

[0088] [0084] 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부를 추가로 포함한다. The 불변 영역은 예컨대, IgG1 또는 IgG4, 불변 영역 도메인과 같이 예를 들어 인간 IgG를 비롯한, IgG, IgM, IgA, IgE, 및 IgD와 같은 여하한 부류의 인간 또는 기타 항체의 CH1, CH2, CH3, 및/또는 CH4, 및/또는 CL을 1개 이상 포함할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 불변 영역은 인간 IgG Fc 영역과 같은 Fc 영역을 포함한다.

[0089] [0085] 또한 여하한 구체예의 항체 (예컨대 세포외 도메인에 함유되거나 그 일부인)를 비롯하여, 재조합 수용체와 같은 수용체를 비롯한 키메라 문자 및/또는 융합 문자와 같은 문자, 및 부가적인 도메인, 예컨대 세포내 시그널링 도메인, 스페이서, 링커, 및/또는 막관통 도메인이 제공된다. 몇몇 구체예에서, 수용체는 세포내 시그널링 도메인 및 여하한 구체예의 항체 또는 단편을 포함하는 세포외 부분을 포함하는 키메라 항원 수용체이다.

[0090] [0086] 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 scFv를 포함한다. 몇몇 구체예에서, 세포내 시그널링 도메인은 ITAM-함유 문자 또는 수용체 복합체(complex) 예컨대 TCR 수용체 복합체의 천연 접합의 그것과 근사한 시그널을 전달할 수 있는 ITAM 및/또는 시그널링 도메인을 포함한다. 몇몇 측면에서, 세포내 시그널링 도메인은 CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 제타 사슬의 시그널링 도메인을 포함한다.

[0091] [0087] 몇몇 구체예에서, 수용체는 세포외 도메인과 세포내 시그널링 도메인을 연결하는 항체 막관통 도메인을 연결하는 막관통 도메인과 같은 1 이상의 도메인을 추가로 포함한다. 몇몇 측면에서, 막관통 도메인은 예컨대, CD28 및/또는 41BB와 같은 T 세포 공동자극 문자 등의 공동자극 문자의 막관통 부분을 포함한다. 몇몇 구체예에서, T 세포 공동자극 문자는 CD28 및 41BB로 이루어진 군으로부터 선택되며, 몇몇 구체예에서, 수용체는 CD28 및 41BB로부터의 시그널링 도메인을 포함한다.

[0092] [0088] 또한 여하한 구체예의 항체(단편들을 포함) 또는 수용체, 예컨대 여하한 구체예의 키메라 항원 수용체를 인코딩하는 핵산, 이러한 핵산을 포함하는 벡터 및 예를 들어 상기 항체 및/또는 문자의 발현을 위한 상기한 벡터 및/또는 핵산을 함유하는 세포도 제공된다.

[0093] [0089] 따라서, 수용체, 예컨대, 키메라 항원 수용체 (CARs)와 같은 항체 및 문자를 비롯한, 문자를 생산 및 발현하기 위한 세포 및 벡터 역시도 제공된다. 예를 들어, 여하한 구체예의 키메라 항원 수용체를 발현하는 조작

된 세포가 제공된다. 몇몇 측면에서, 세포는 T 세포이다. 몇몇 측면에서, 세포는 NK 세포이다. 몇몇 측면에서, 세포는 줄기 세포이다.

[0094] 또한 항체, 수용체, 분자, 및/또는 세포를 포함하는 조성물, 예컨대 담체와 같은 약학적으로 허용가능한 물질을 추가로 포함하는, 의약 조성물도 제공된다.

[0095] 또한 여하한 구체예의 세포, 항체, 수용체, 조성물, 또는 기타 분자를 예컨대 유효량, 예컨대 치료적 유효량으로 대상자에게 투여함으로써 수행되는, 치료 방법을 비롯한 투여 방법이 제공된다. 몇몇 구체예에서, 대상자는 CD19와 연관된 질병 또는 장애, 예를 들면 B 세포 악성종양, 예를 들면 B 세포 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 급성 림프구성 백혈병 (ALL), 전립프구성 백혈병, 텔세포 백혈병, 공통 급성 림프구성 백혈병, 부재-급성 림프모구 백혈병, 비-호지킨 림프종s, 광범위 큰 B세포 림프종 (DLBCLs), 다발골수종, 소포 림프종, 비장, 변연부 림프종, 외투세포 림프종, 무통성 B 세포 림프종, 또는 호지킨 림프종, 또는 자가면역 또는 염증성 질환 등과 같이 B 세포가 연루된 질병에 걸려있거나 걸린 것으로 의심되는 대상자이다.

[0096] 몇몇 구체예에서, 항체 또는 수용체의 투여는 항체와의 결합을 놓고 경쟁하거나 또는 중복 에피토프에 대한 결합을 두고 경쟁하는 레퍼런스 항체 (또는 레퍼런스 항체를 함유하는 수용체)의 투여에 비해 면역원성 정도가 더 낮은 것과 연관되어 있다. 몇몇 측면에서, 레퍼런스 항체는 인간화, 키메라, 또는 비-인간 항체이다.

도면의 간단한 설명

[0097] 도 1: 도 1A 및 1B는 CD19-발현 HEK293 세포에 대한 예시적인 인간 scFvs의 결합을 비-CD19-발현 HEK293 세포에 대한 결합과 비교한 결합 분석으로부터의 결과를 나타낸다. MFI=평균 형광 강도.

[0094] 도 2는 SDS 예시적인 항-CD19 항체 (scFv 단편들)의 SDS 젤 평가 정제를 나타낸 도면이다.

[0095] 도 3: 도 3A, 3B, 및 3C는 항-CD19 항체를 비롯하여, 예시적인 scFv 항체 (scFv 단편들)의 결합 친화성을 평가한 연구 결과를 나타낸다. MFI=평균 형광 강도.

[0096] 도 4는 항-CD19 scFv 항체 단편들을 비롯하여, 다양한 예시적인 scFv 항체의 결합 친화성을 평가한 연구 결과를 나타낸다. MFI=평균 형광 강도.

[0097] 도 5: 도 5A 및 5B는 경쟁 항체의 다양한 농도의 존재 하에 각각의 표지된 항체의 결합을 평가하는, 경쟁적 결합 분석으로부터의 결과를 나타낸다. MFI=평균 형광 강도.

[0098] 도 6는 다양한 농도의 경쟁적 scFv 항체의 존재 하에, 표지된 레퍼런스 scFv 항체의 결합을 평가하는, 경쟁적 결합 분석으로부터의 결과를 나타낸다. MFI=평균 형광 강도.

[0099] 도 7: 도 7A는 크기-배제 크로마토그래피의 결과를 나타낸다; 컬럼을 보정하고, 표준 단백질을 주입하고, 분획들을 수집하여 레퍼런스를 생성하였다. 도 7B는 항-CD19 scFv (클론 18B)을 동일한 컬럼에 주입한 후 동일 조건 하에서 분획들을 수집하여 얻은 결과를 나타낸다.

[0100] 도 8A는 다음과 같이 좌측에서 우측의 순서, 즉: 세포 단독, 모크(mock) 상등액 (Moc. Supe.) 음성 대조군 항체 (Neg. Ctrl.), 클론 18, 클론 200 내지 287, 세포 단독, Moc. Supe, Neg. Ctrl. 및 클론 18의 순서로, 예시적인 인간 scFv 클론의 CD19-발현 세포에 대한 결합을 평가하는 결합 분석 결과를 나타낸다. CD19-특이적 결합 (별표 표시됨)을 나타내는 예시적인 히트(hits)는 (좌측에서 우측의 순서로): 클론 213, 클론 227, 클론 241, 클론 255, 클론 272, 클론 278, 클론 283 및 클론 285이다. MFI=평균 형광 강도.

[0101] 도 8B는 좌측에서 우측의 순서, 즉: 세포 단독, 모크(mock) 상등액 (Moc. Supe.) 음성 대조군 항체 (Neg. Ctrl.), 클론 18B, 클론 300 내지 387, 세포 단독, Moc. Supe, Neg. Ctrl. 및 클론 18B의 순서로, 예시적인 인간 scFv 클론의 CD19-발현 세포에 대한 결합을 평가하는 결합 분석 결과를 나타낸다. CD19-특이적 결합 (별표 표시됨)을 나타내는 예시적인 히트(hits)는 (좌측에서 우측의 순서로): 클론 302, 클론 305, 클론 313, 클론 314, 클론 318, 클론 324, 클론 327, 클론 328, 클론 336, 클론 339, 클론 377, 클론 379 및 클론 382이다. MFI=평균 형광 강도.

[0102] 도 8C는 좌측에서 우측의 순서, 즉: 세포 단독, 모크(mock) 상등액 (Moc. Supe.) 음성 대조군 항체 (Neg. Ctrl.), 클론 18B, 클론 400 내지 487, 세포 단독, Moc. Supe, Neg. Ctrl. 및 클론 18B의 순서로, 예시적인 인간 scFv 클론의 CD19-발현 세포에 대한 결합을 평가하는 결합 분석 결과를 나타낸다. CD19-특이적 결합 (별표 표시됨)을 나타내는 예시적인 히트(hits)는 (좌측에서 우측의 순서로): 클론 440 및 클론 448이다.

[0103] 도 8D는 CD19-발현 K562 세포에 대한 예시적인 인간 scFvs의 결합을 비-CD19-발현 K562 세포에 대한 결합과 비교한 결합 분석 결과를 나타낸다. MFI=평균 형광 강도.

[0104] 도 9는 예시적인 항-CD19 항체 (scFv 단편들)의 정제를 평가하는 SDS 겔을 도시한 도면이다.

[0105] 도 10: 도 10A-E는 항-CD19 scFv 항체 단편들을 비롯하여 다양한 예시적인 scFv 항체의 결합 친화성을 평가하는 개별적인 결합 분석 결과를 나타낸 도면이다. MFI=평균 형광 강도.

[0106] 도 11은 다양한 농도의 경쟁적 scFv 항체의 존재 하에, 표지된 레퍼런스 scFv 항체의 결합을 평가하는, 경쟁적 결합 분석 결과를 나타낸 도면이다. MFI=평균 형광 강도.

[0107] 도 12A는 항-EGFR 항체에 의한 소팅 및 CD19⁺ B-LCL에 의한 자극에 의한 팽창에 이어 놓축 전(pre) 및 놓축 후 (post)의 세포에 대한 EGFRt의 발현에 의해 측정되는 바와 같은, 형질도입된 CD8+ T 세포에서, VH-VL (HL; 짙은 라인) 또는 VL-VH 배향 (LH; 회색 라인)의 다양한 CARs의 세포 표면 발현을 나타낸다.

[0108] 도 12B는 형질도입된 일차 인간 T 세포에서 예시적인 인간 항-CD19 CARs의 발현을 평가하는 SDS 겔을 나타낸 도면이다.

[0109] 도 13A 및 13B는 CD19-발현 세포에 대한 다양한 항-CD19 특이적인 CARs을 발현하는 일차 인간 CD8⁺ T 세포의 세포분해 활성을 나타낸다. C는 EGFRt 단독 (음성 대조군); FM은 FMC63 scFv CAR, 18은 클론 18 scFv CAR, 17은 클론 17 scFv CAR, 76은 클론 76 scFv CAR, 5는 클론 5 scFv CAR이고 18B는 클론 18B scFv CAR이다.

[0110] 도 14A 및 14B는 CD19-발현 세포와 공동-배양 후 다양한 항-CD19에 특이적인 CARs를 발현하는 일차 인간 CD8⁺ T 세포의 시토카인 분비를 나타낸다. C는 EGFRt 단독 (음성 대조군); FM은 FMC63 scFv CAR, 18은 클론 18 scFv CAR, 17은 클론 17 scFv CAR, 76은 클론 76 scFv CAR, 5는 클론 5 scFv CAR이고 18B는 클론 18B scFv CAR이다.

[0111] 도 15는 CD19-발현 세포와 공동-배양 후 다양한 항-CD19에 특이적인 CARs를 발현하는 일차 인간 CD4⁺ T 세포의 시토카인 분비를 나타낸다. C는 EGFRt 단독 (음성 대조군); FM은 FMC63 scFv CAR, 18은 클론 18 scFv CAR, 17은 클론 17 scFv CAR, 76은 클론 76 scFv CAR, 5는 클론 5 scFv CAR이고 18B는 클론 18B scFv CAR이다.

[0112] 도 16A 및 16B는 CD19-발현 세포와 공동-배양 후 CD19-발현 세포에 대한 다양한 항-CD19에 특이적인 CARs를 발현하는 일차 인간 CD8+ T 세포 또는 CD8+ T 세포의 증식을 각각 나타낸 도면이다.

[0113] 도 17: 도 17A는 다양한 항-CD19 특이적인 CARs를 발현하는 일차 인간 CD8+ T 세포를, 개똥벌레 루시페라제를 발현하는 Raji 세포에 접목된 NSG 마우스들에게 투여 후 이들의 항종양 활성을 나타낸다. 도 17B는 다양한 항-CD19 특이적인 CARs를 발현하는 일차 인간 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 1:1로 하여 Raji 세포에 접목된 NSG 마우스들에게 투여 후, 이들의 항종양 활성을 나타낸다.

[0114] 도 18: 도 18A는 3가지 상이한 키메라 CD19 문자 각각에 대한 74-잔기 또는 75-잔기 막-근위(막-근위) 영역의 아미노산 서열을 나타낸다. 도 18A에 도시된 3 가지 모든 서열 아래에, 인간 및 레수스 서열이 동일한 아미노산을 함유하는 부위가 설명된 영역의 위치를 각기 정렬하여 별표(*)로 표시하였다. 인간 서열과 비교하여 동일하지 않으나 보존적 아미노산 치환을 함유하는 레수스 서열의 위치는 ":"로 표시하였다. 인간 서열과 비교하여 동일하지 않으나 반-보존적 아미노산 치환을 함유하는 레수스 서열의 위치를 "."로 표시하였다. 인간 서열과 비교하여 삽입 또는 동일하지 않고-비보존성/반-보존성 치환을 포함하는 레수스 서열의 위치는 아무런 심볼 표시도 하지 않았다. 도 18B는 인간 CD19, 레수스 CD19 또는 키메라 레수스/인간 CD19 문자 (V1, V2 또는 V3)를 발현하는 세포와 공동-배양 후, 다양한 항-CD19 특이적인 CARs를 발현하는 일차 인간 CD8⁺ T 세포의 시토카인 분비를 나타낸 도면이다. C는 EGFRt 단독 (음성 대조군); FM은 FMC63 scFv CAR, 18은 클론 18 scFv CAR, 17은 클론 17 scFv CAR, 76은 클론 76 scFv CAR, 5는 클론 5 scFv CAR이고 18B는 클론 18B scFv CAR이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0098] [0115] 본 발명에 따라, 항체(예를 들면 scFvs를 비롯한 단일 사슬 단편들과 같은 항원-결합 항체 단편들을 포함)를 비롯한 CD19-결합 문자 및 이러한 항체 및 단편을 함유하는 키메라 수용체를 비롯한 재조합 수용체, 이러한 항체 및 단편들을 인코딩하는 핵산, 및 이를 항체 및 단편들의 발현 및 생산을 위한 재조합 세포와 같은 세포가 제공된다. 또한 상기 항체 및 단편들의 제조 방법 및 항체 및 단편들을 발현 또는 함유하는 세포 역시도

제공된다.

I. CD19 결합 분자

[0100] 몇몇 측면에서 CD19 결합 분자, 예를 들면 CD19-결합 폴리펩타이드가 제공된다. 이러한 결합 분자에는 CD19에 특이적으로 결합하는 항체, 예를 들면 인간 CD19 분자 및 그의 항원-결합 단편들이 포함된다. 또한 이러한 결합 분자에는 이러한 항체를 함유하는 키메라 항원 수용체와 같은 재조합 수용체가 포함된다.

A. CD19 항체

[0102] 가변 중쇄 및 가변 경쇄, 예를 들면 scFvs를 포함하는 것들을 비롯한, 기능성 항체 단편을 포함하는 항-CD19 항체가 제공된다. 또한 이러한 항체, 예컨대, 융합 단백질 및/또는 재조합 수용체 예를 들면 항원 수용체를 비롯한 키메라 수용체를 함유하는 분자도 제공된다. 제공된 항-CD19 항체에는 인간 항체가 포함된다. 몇몇 구체예에서, 항체, 예를 들면 인간 항체는 CD19의 특정 에피토프 또는 영역, 일반적으로 세포외 에피토프 또는 영역에 특이적으로 결합한다. 몇몇 구체예에서, 항체는 예를 들어 마우스 항체, FMC63 또는 SJ25C1 중 1 이상의 다른 항체에 의해 결합된 것과 동일 또는 유사한 CD19의 에피토프 또는 영역과 결합한다. 몇몇 구체예에서, 항체는 이들 공지의 항체들 중 어느 하나에 의해 결합된 CD19d의 중복 에피토프 및/또는 이러한 항체와의 결합을 두고 경쟁하는 중복 에피토프에 결합한다. 항체는 분리된 항체를 포함한다. 분자는 분리된 분자를 포함한다.

[0103] [0118] 발명에서 "항체"라는 용어는 최광의로 사용되며 온전한 항체 및 기능성(항원-결합) 항체 단편, 항원 결합 단편인 (Fab) 단편, $F(ab')_2$ 단편, Fab' 단편, Fv 단편, 재조합 IgG (rIgG) 단편, 단일사슬 가변 단편(scFv)를 비롯하여 항체 단편, 및 단일 도메인 항체(예컨대, sdAb, sdFv, 나노바디) 단편을 비롯, 폴리를로날 및 모노클로날 항체를 포괄한다. 이 용어는 유전자 조작된 및/또는 기타 변형된 형태의 면역글로불린 형태, 예컨대 인트라바디, 웨티바디, 키메라 항체, 완전한 인간 항체, 인간화 항체 및 헤테로콘쥬게이트 항체, 다중특이, 예컨대 이중특이 항체, 다이아바디, 트라이아바디 및 테트라바디, 탄뎀-디--scFv, 탄뎀 tri-scFv를 포괄한다. 달리 언급하지 않는 한, "항체"라는 용어는 그의 기능성 항체 단편을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 이 용어는 또한 IgG 및 그의 서브클래스인, IgM, IgE, IgA, 및 IgD를 비롯하여, 여하한 클래스 또는 서브클래스의 항체를 비롯, 온전한 항체 또는 전장 항체도 포괄한다.

[0104] [0119] "초가변 영역(hypervariable region)" 또는 "HVR"과 동의어인 "상보성 결정 영역(complementarity determining region)," 및 "CDR"이라는 용어는 기술 분야에서, 항원 특이성 및/또는 결합 친화성을 부여하는, 항체 가변 영역 내에서 아미노산의 비-인접(non-contiguous) 서열을 가리키는 것으로 알려져 있다. 일반적으로, 각각의 중쇄 가변 영역에는 3개의 CDRs (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3)이 존재하며 각각의 경쇄 가변 영역에도 3개의 CDRs (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3)이 존재한다. "골격부(Framework regions)" 및 "FR"은 기술 분야에서 중쇄 및 경쇄의 가변 영역의 비-CDR 부분을 가리키는 것으로 알려져 있다. 일반적으로, 각각의 전장(full-length) 중쇄 가변 영역에는 4개의 FR (FR-H1, FR-H2, FR-H3, 및 FR-H4)이 있고, 각각의 전장 경쇄 가변 영역에도 4개의 FR (FR-L1, FR-L2, FR-L3, 및 FR-L4)이 있다.

[0105] [0120] 주어진 CDR 또는 FR의 정확한 아미노산 서열 경계는 하기 문헌에 설명된 공지의 방법을 이용함으로써 쉽게 결정가능하다: Kabat 외 (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD ("Kabat" 넘버링 방식), Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273, 927-948 ("Chothia" 넘버링 방식), MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), "Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography," J. Mol. Biol. 262, 732-745. ("Contact" 넘버링 방식), Lefranc MP et al., "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," Dev Comp Immunol, 2003 Jan;27(1):55-77 ("IMGT" 넘버링 방식), 및 Honegger A and Plueckthun A, "Yet another 넘버링 방식 for immunoglobulin variable domains: automatic modeling and analysis tool," J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3):657-70, ("Aho" 넘버링 방식).

[0106] [0121] 주어진 CDR 또는 FR의 경계는 서열을 동정하는데 사용된 방식에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, Kabat 방식은 구조 정렬에 기반하는 반면, Chothia 방식은 구조 정보에 기반한다. Kabat 방식과 Chothia 방식 양자 모두의 넘버링은 가장 흔한 항체 영역 서열 길이에 기반하되, 예컨대 "30a"과 같은 삽입 문자 및 몇몇 항체에 나타나는 결실을 표시한다. 이들 2 가지 방식은 상이한 위치에 삽입 및 결실("indels")를 나타내므로, 결과적으로 상이한 넘버링이 결과된다. Contact 방식은 복잡한 결정 구조 분석에 기반하며 여러 측면에서 Chothia 넘버링 방식과 유사하다.

[0107]

[0122] 하기 표 1은, 각각 Kabat, Chothia, 및 Contact 방식에 의해 동정된 CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 및 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3의 예시적인 위치 경계를 나타낸 것이다. CDR-H1의 경우, 잔기 넘버링이 Kabat 및 Chothia 넘버링 방식 양자 모두를 이용하여 나타나 있다. FRs은 CDRs 사이에 위치하며, 예를 들어, FR-L1은 CDR-L1과 CDR-L2 사이에 위치하는 형식이다. 나타낸 Kabat 넘버링 방식은 H35A 및 H35B에서 삽입을 나타내므로, 나타낸 Kabat 넘버링 변환을 이용하여 넘버링할 경우, Chothia CDR-H1 루프의 말단은, 루프 길이에 따라, H32와 H34 사이에서 변한다..

표 1

CDR	Kabat	Chothia	Contact
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L30--L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L96
CDR-H1 (Kabat 넘버링 ¹⁾	H31--H35B	H26--H32..34	H30--H35B
CDR-H1 (Chothia 넘버링 ²⁾	H31--H35	H26--H32	H30--H35
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H47--H58
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H93--H101

1 - Kabat 외 (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD

2 - Al-Lazikani 외, (1997) JMB 273,927-948

[0108]

[0123] 따라서, 달리 명시되지 않는 한, 주어진 항체 또는 그의 영역, 예를 들면 그의 가변 영역의 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역," 또는 개별적으로 명시된 CDRs (예컨대, "CDR-H1, CDR-H2)은 여하한 전술한 방식에 의해 정의된 상보성 결정 영역(또는 특이적인 상보성 결정 영역)을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 특정 CDR (예컨대, CDR-H3)이 주어진 V_H 또는 V_L 아미노산 서열에서 대응하는 CDR의 아미노산을 함유한다고 언급되는 경우, 이러한 CDR은 전술한 여하한 방식으로 정의되는 바와 같이, 가변 영역 내 대응하는 CDR (예컨대, CDR-H3)의 서열을 갖는 것으로 이해된다. 몇몇 구체예에서, 명시된 CDR 서열이 명시된다.

[0110]

[0124] 마찬가지로, 달리 언급되지 않는 한, 주어진 항체 또는 그의 영역, 예를 들면 그의 가변 영역의 FR 또는 개별적인 특정된 FR(들) (예컨대, FR-H1, FR-H2)은 상기 여하한 공지 방식에 의해 정의되는 골격(또는 특정 골격) 영역을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 몇몇 경우, 특정 CDR, FR, 또는 FRs 또는 CDRs의 동정을 위한 방식이 명시된다. 예를 들면 CDR은 Kabat, Chothia, 또는 Contact 방법으로 명시된다. 또 다른 경우, CDR 또는 FR의 특정 아미노산 서열이 주어진다.

[0111]

[0125] "가변 영역(variable 영역)" 또는 "가변 도메인(가변 도메인)"이라는 용어는 항원에 대한 항체 결합과 연관된 항체 중쇄 또는 경쇄 도메인을 가리킨다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인(각각 V_H 및 V_L)은 일반적으로 4개의 보존된 프레임워크 영역(FRs) 및 3개의 CDRs을 포함하는 각 도메인과 유사한 구조를 갖는다. [예컨대, Kindt 등 Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman 및 Co., page 91 (2007) 참조]. 단일 V_H 또는 V_L 도메인은 항원-결합 특이성을 부여하는데 충분할 수 있다. 뿐만 아니라, 특정 항원에 결합하는 항체는 각각 상보적인 V_L 또는 V_H 도메인의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 항원에 결합하는 항체로부터의 V_H 또는 V_L 도메인을 이용하여 단리될 수 있다. [예컨대, Portolano 등, J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson 등, Nature 352:624-628 (1991) 참조]

[0112]

[0126] 제공된 항체에는 항체 단편들이 포함된다. An "항체 단편"이라 함은 온전한(intact) 항체가 결합하는 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부를 포함하는 온전한 항체 이외의 분자를 가리킨다. 항체 단편들의 비제한적인 예로는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 다이아바디; 선형 항체; 단일-사슬 항체 분자 (예컨대 scFv); 및 항체 단편들로부터 형성된 다중특이 항체를 들 수 있다. 특정 구체예에서, 항체는 가변 중쇄 영역 및/또는 가변 경쇄 영역, 예를 들면 scFvs을 포함하는 단일-사슬 항체 단편들이다

- [0113] [0127] 단일-도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부 또는 항체의 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 특정 구체예에서, 단일-도메인 항체는 인간 단일-도메인 항체이다.
- [0114] [0128] 항체 단편은 다양한 기술에 의해 만들 수 있으며, 이의 비제한적인 예로는 온전한 항체의 단백질 가수분해 및 재조합 숙주 세포에 의한 생산법을 들 수 있다. 몇몇 구체예에서, 항체는 재조합적으로-생산된 단편, 예컨대 자연발생되지 않는 배열을 포함하는 단편, 예컨대 웹타이드 링커와 같은 합성 링커에 의해 연결된 두 개 이상의 항체 영역 또는 사살을 갖는 것들, 및/또는 자연발생적인 온전한 항체의 효소 절단에 의해 제조될 수 없는 것들이다. 몇몇 측면에서, 항체 단편은 scFvs이다.
- [0115] [0129] "인간화(humanized)" 항체는 모든 또는 실제로 모든 CDR 아미노산 잔기가 비인간 CDR로부터 유래하고 모든 또는 실제로 모든 FR 아미노산 잔기가 인간 FR로부터 유래된 항체이다. 인간화 항체는 필요에 따라 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역를 적어도 일부 포함할 수 있다. 비인간 항체의 "인간화 형태"라 함은, 친(親: parental) 비인간 항체의 특이성과 친화성을 유지하는 한편, 일반적으로 인간에 대한 면역원성을 감소시키기 위해 인간화가 수행된 비인간 항체의 변이체를 가리킨다. 몇몇 구체예에서는, 예컨대 항체 특이성 또는 친화성을 복구 또는 개선시키기 위해, 인간화 항체 중의 몇몇 FR 잔기들을 비인간 항체(예컨대 CDR 잔기가 유래된 항체)로부터의 대응하는 잔기로 치환시킨다.
- [0116] [0130] 본 발명에 따라 제공된 항-CD19 항체에는 인간 항체가 있다. "인간 항체(human antibody)"는 인간 항체 라이브러리를 비롯하여, 인간 항체 레퍼토리 또는 기타 인간 항체-인코딩 서열을 이용하는 인간 또는 인간 세포, 또는 비-인간 소스에 의해 생성된 항체의 아미노산 서열에 대응하는 아미노산 서열을 갖는 항체이다. 한편, 예를 들면 모든 또는 실제로 모든 CDRs이 비-인간인, 비-인간 항원-결합 영역들을 포함하는 비-인간 항체의 인간화 형태는 이 용어로부터 배제된다.
- [0117] [0131] 인간 항체는 항원 챠린지에 응답하여 온전한 인간 항체 또는 인간 가변 영역을 갖는 온전한 항체를 생산하도록 변형된 트랜스제닉 동물에게 면역원을 투여함으로써 제조할 수 있다. 이러한 동물들은 일반적으로 내인성 면역글로불린을 대체하는 인간 면역글로불린 위치, 또는 그 동물의 염색체 내로 무작위 통합되거나 염색체외에 존재하는 인간 면역글로불린 위치의 전부 또는 일부를 함유한다. 이러한 트랜스제닉 동물에서, 내인성 면역글로불린 위치는 일반적으로 불활성화되어 있다. 인간 항체는 또한 인간 레퍼토리로부터 유래된 항체-인코딩 서열을 함유하는, 파지 디스플레이 및 무세포 라이브러리를 비롯한 인간 항체 라이브러리로부터 유래될 수도 있다.
- [0118] [0132] 제공된 항체 중에는 모노클로날 항체 단편들을 비롯한 모노클로날 항체가 포함된다. 본 발명에서 "모노클로날 항체"라 함은 실질적으로 균질한 항체 집단으로부터 또는 그 집단에서 수득되는 항체를 가리키며, 즉, 상기 집단에 포함되는 개별적인 항체들은 자연발생적인 돌연변이를 함유하거나 또는 모노클로날 항체 제제 생산 시 발생하는 가능한 변이체를 제외하고는 동일하며, 이러한 변이체들은 일반적으로 소량 존재한다. 일반적으로 상이한 에피토프들에 지향된 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와 대조적으로, 모노클로날 항체 제제의 모노클로날 항체 각각은 어떤 항원 상의 단일 에피토프에 대해 지향되어 있다. 이 용어는 어떤 특정항 방법으로 항체를 생산한 것을 요구하는 것으로 추정되는 것은 아니다. 모노클로날 항체는 하이브리도마, 재조합 DNA 방법, 파지-디스플레이 및 기타 항체 디스플레이 방법과 같은 다양한 기술에 의해 만들어질 수 있으나 이들 방법으로 한정되지 않는다.
- [0119] [0133] "폴리웹타이드" 및 "단백질"이라는 용어는 아미노산 잔기의 폴리머를 가리키는 것으로 호환적으로 사용되며, 최소 길이로 한정되지 않는다. 제공된 항체 및 항체 사슬 및 기타 웹타이드, 링커 및 CD19-결합 웹타이드를 비롯한 폴리웹타이드들은 천연 및/또는 비-천연 아미노산 잔기를 비롯한 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 이 용어는 또한 폴리웹타이드의 발현후 변형, 예를 들어, 글리코실화, 시알릴화, 아세틸화, 인산화 등도 포함한다. 몇몇 측면에서, 단백질이 소망되는 활성을 유지하는 한, 폴리웹타이드는 본래의 또는 천연 서열과 관련한 변형을 함유할 수 있다. 이러한 변형은 위치-지향된 돌연변이를 통하는 것과 같이 의도적일 수 있으며 또는 예컨대 단백질을 생성하는 숙주의 돌연변이를 통한다던가 또는 PCR 증폭에 기인하는 에러와 같은 사고에 의할 수도 있다.
- [0120] 예시적인 항-CD19 항체
- [0121] [0134] 몇몇 구체예에서, 항-CD19 항체, 예컨대, 항원-결합 항체 단편, contains particular heavy 및/또는 경쇄 CDR 서열 및/또는 heavy 및/또는 경쇄 가변 (V_H 또는 V_L) 영역 서열. Also among provided 항체 are those having 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열.

- [0122] [0135] 몇몇 구체예에서, 항체, 예컨대, 그의 항원-결합 단편은 예를 들면 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63 62, 167 또는 185 제시된, 예를 들면 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 또는 62에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH 영역을 갖는 레퍼런스 항체에 존재하는 아미노산 서열과 같은, 레퍼런스 항체 내에 존재하는 CDR-H3의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-H3)을 포함한다. 몇몇 구체예에서, CDR-H3은 SEQ ID NO: 20을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 항체, 예컨대, 그의 항원-결합 단편은 레퍼런스 항체의 VH 영역 아미노산 서열, 예를 들면 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63 62, 167 또는 185에 제시된, 예를 들면 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 또는 62에 제시된 VH 영역 아미노산 서열에 대해 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 서열 동일성 (또는 100% 동일성)을 갖는 VH 영역을 갖는다.
- [0123] [0136] 몇몇 구체예에서, CDR-H1은 아미노산 서열 DYAMH (SEQ ID NO: 18)을 함유하고, CDR-H2는 아미노산 서열 GISWNSGRIG (SEQ ID NO: 81), GISWNSGSIG (SEQ ID NO: 82), SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)에 제시된 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 72 (GISWNSGSIGYADSVKG)에 제시된 아미노산 서열을 함유하며, 및/또는 CDR-H3은 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 함유한다.
- [0124] [0137] 몇몇 구체예에서, 제공된 항체는 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 갖는 CDR-H3을 함유한다.
- [0125] [0138] 몇몇 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 11 또는 12에 제시된 아미노산 서열을 갖는 V_H 를 함유하거나 또는 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 갖는다. 몇몇 구체예에서, 항체, 예컨대, 그의 항원-결합 단편은, SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 또는 62에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH를 함유하거나 또는 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 갖는다. 몇몇 구체예에서, 항체, 예컨대, 그의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 62, 167 또는 185에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH를 함유하거나 또는 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 갖는다.
- [0126] [0139] 몇몇 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 62, 167 또는 185의 잔기 1-119의 서열 또는 최초 3개 골격 잔기 및 3개의 중쇄 CDRs를 비롯하여, SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 62, 167 또는 185의 일부를 포함하는 서열을 함유한다. 몇몇 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63 또는 62의 잔기 1-119의 서열 또는 최초 3개 골격 잔기 및 3개의 중쇄 CDRs를 비롯하여 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 또는 62의 일부를 포함하는 서열을 함유한다.
- [0127] [0140] 몇몇 구체예에서, 항-CD19 항체는 SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17, 71, 65, 64, 66, 70, 69, 67, 90, 91 또는 187-205에 제시된, 예를 들면 SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 또는 17에 제시된, 또는 SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17, 71, 90, 91, 68, 65, 64, 66, 70, 69, 또는 67에 제시된 경쇄 가변 (V_L) 영역 아미노산 서열에 함유된 CDR 1, 2, 및/또는 3 서열의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 상보성 결정 영역 1, 2, 및/또는 3 (CDR-L1, CDR-L2, 및/또는 CDR-L3)을 각각 갖는다.
- [0128] [0141] 몇몇 구체예에서, 항-CD19 항체는 CDR-L1, CDR-L2, 및/또는 CDR-L3을 포함하고, 여기서:
- [0129] [0142] 몇몇 구체예에서, CDR-L1은 아미노산 서열: $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 110)을 함유하되, 여기서 X_1 은 T, W, S 또는 R; X_2 는 G 또는 A; X_3 은 I, T, D 또는 S; X_4 는 S, R, T 또는 Q; X_5 는 부재 또는 S; X_6 는 부재, D, N 또는 G; X_7 은 부재, V 또는 L; X_8 은 X 또는 부재; X_9 은 X 또는 부재; X_{10} 은 X; X_{11} 은 X; X_{12} 는 Y, F, D 또는 W; X_{13} 은 V, A 또는 L 및 X_{14} 는 S 또는 A이다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서, CDR-L1은 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 226)의 아미노산 서열을 함유하되, 여기서 X_1 은 T, Q, S, 또는 R; X_2 는 G, A 또는 E; X_3 은 I, T, A, D, 또는 S; X_4 는 S, R, T, Q, G 또는 I; X_5 는 부재, S, R 또는 T; X_6 는 G, D, N, 또는 부재; X_7 은 부재, V, L 또는 I; X_8 은 D, G, I, L, S, 또는 부재; X_9 은 S, G, A, I, D, R, 또는 부재; X_{10} 은 H, Y, F, S, 또는 N; X_{11} 은 R, N, D, H, Y 또는 T; X_{12} 는 Y, F, D, W, H, T 또는 S; X_{13} 은 V, A, 또는 L; 및 X_{14} 는 S, N, 또는 A이다. 몇몇 구체예에서, CDR-L1은 아미노산 서열 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 111)을 가지며, 여기서 X_1 은 T, Q, S, 또는 R; X_2 는 G 또는 A; X_3 은 I, T, D, 또는 S; X_4 는 S, R, T, 또는 Q; X_5 는 부재 또는 S; X_6 는 G, D, N, 또는 부재; X_7 은 부재, V, 또는 L; X_8 은 D, G, I, L, S, 또는 부재; X_9 은 S, G, A, I, R, 또는 부재; X_{10} 은 H, Y, F, S, 또는 N; X_{11} 은 R, N, D, H, 또는 Y; X_{12} 는 Y, F, D, 또는 W; X_{13} 은 V, A, 또는 L; 및 X_{14} 는 S, N, 또는 A이다.

- [0130] [0143] 몇몇 구체예에서, CDR-L2는 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 227)의 아미노산 서열을 가지며, 여기서 X_1 은 D, S 또는 G; X_2 는 F, V, N, K, 또는 A; X_3 은 S, T, D, 또는 N; X_4 는 K, V, N, Q, 또는 R; X_5 는 R, V, 또는 L; X_6 는 P, K, A, 또는 E; 및 X_7 은 S, P, A, 또는 T이다. 몇몇 구체예에서, CDR-L2는 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 112)의 아미노산 서열을 가지되, 여기서 X_1 은 D 또는 S; X_2 는 F, V, N, K, 또는 A; X_3 은 S, T, D, 또는 N; X_4 는 K, V, N, Q, 또는 R; X_5 는 R, V, 또는 L; X_6 는 P, K, A, 또는 E; 및 X_7 은 S, P, A, 또는 T이다.
- [0131] [0144] 몇몇 구체예에서, CDR-L3는 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 228)의 아미노산 서열을 갖되, 여기서 X_1 은 S, G, T, A, Q, C, 또는 N; X_2 는 S, Q, A, 또는 T; X_3 은 Y, S, W, R; X_4 는 A, D, R, T, 또는 Y; X_5 는 A, S, P, G, N, 또는 D; X_6 는 I, S, G, T, A, L, H, R, 또는 N; X_7 은 S, P, L, Y, G; X_8 은 P, T, S, Q, M, R, N 또는 부재; X_9 은 S, L, N, A, M, R 또는 부재; X_{10} 은 L, D 또는 부재; X_{11} 은 Y, W, F, V, A, 또는 L; 및 X_{12} 는 V, T, P 또는 L이다. 몇몇 구체예에서, CDR-L3는 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 115)의 아미노산 서열을 갖되, 여기서 X_1 은 X; X_2 는 S, Q, A, 또는 T; X_3 은 Y, S, W, R; X_4 는 A, D, R, T, 또는 Y; X_5 는 X; X_6 는 X; X_7 은 S, P, L, Y, G; X_8 은 X 또는 부재; X_9 은 X 또는 부재; X_{10} 은 L 또는 부재; X_{11} 은 X; 및 X_{12} 는 V, T, 또는 L이다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서, 항체는 아미노산 서열 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 114)을 포함하는 CDR-L3을 가지며, 여기서 X_1 은 S, G, T, A, Q, C 또는 N; X_2 는 S, Q, A, 또는 T; X_3 은 Y, S, W, R; X_4 는 A, D, R, T, 또는 Y; X_5 는 A, S, P, G, N 또는 D; X_6 는 I, S, G, T, A, L, H, R, N; X_7 은 S, P, L, Y, G; X_8 은 P, T, S, Q, M, R, N 또는 부재; X_9 은 S, L, N, A, M 또는 부재; X_{10} 은 L 또는 부재; X_{11} 은 Y, W, F, V, A 또는 L; 및 X_{12} 는 V, T, 또는 L이다.
- [0132] [0145] 몇몇 구체예에서, 예를 들면 SEQ ID NO:110, 226 또는 111에 제시된 것과 같은 CDR-L1에서, X_3 은 I, T, 또는 S; X_4 는 S, T, 또는 Q; X_8 은 D, G, I, S, 또는 부재; X_9 은 S, G, I, 또는 부재; X_{10} 은 H, Y, S, 또는 N; X_{11} 은 R, N, D, 또는 H; X_{12} 는 Y 또는 D; 및 X_{13} 은 V 또는 L이고; 및/또는 예를 들면 SEQ ID NO:227 또는 112에 제시된 것과 같은 CDR-L2에서, X_1 은 D; X_4 는 K, V, N, Q, 또는 R; X_6 는 P, K, 또는 A; 및 X_7 은 S, A, 또는 T이며; 및/또는 예를 들면 SEQ ID NO:228, 114 또는 115에 제시된 CDR-L3에서, X_1 은 S, G, T, A, Q, C, 또는 N; X_5 는 A, S, P, G, N, 또는 D; X_6 는 I, S, G, T, A, L, H, R, 또는 N; X_8 은 P, T, S, Q, M, R, N 또는 부재; X_9 은 S, L, N, A, M 또는 부재; 및 X_{11} 은 Y, W, F, V, A, 또는 L이다. 몇몇 구체예에서, CDR-L3에서, X_1 은 S, G, Q, 또는 N; X_2 는 S, Q, 또는 T; X_4 는 A, D, T, 또는 Y; X_5 는 A, S, 또는 G; 및 X_6 는 I, S, N, R, A, H, 또는 T이다.
- [0133] [0146] 몇몇 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO:83에 제시된 CDR-L1, SEQ ID NO:84에 제시된 CDR-L2 및/또는 SEQ ID NO:85에 제시된 CDR-L3을 함유하는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0134] [0147] 몇몇 구체예에서, 항체, 예컨대, 항체 단편은 SEQ ID NO: 21, 25, 28, 또는 31에 제시된 아미노산 서열을 함유하는 CDR-L1을 함유한다. 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 80, 77, 74, 73, 75, 79, 78, 76, 21, 25, 28, 31 또는 146 내지 152에 제시된 아미노산 서열을 함유하는, 예를 들면 SEQ ID NO: 80, 77, 74, 73, 75, 79, 78, 76, 21, 25, 28, 또는 31에 제시된 아미노산 서열을 함유하는 CDR-L1을 함유한다. 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 80, 77, 74, 73, 78, 21, 또는 28에 제시된 아미노산 서열을 함유하는 CDR-L1을 함유한다.
- [0135] [0148] 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 22, 26, 29, 또는 32에 제시된 아미노산 서열을 함유하는 CDR-L2를 함유한다. 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 아미노산 서열 SEQ ID NO: 100, 97, 94, 93, 95, 99, 98, 96, 22, 26, 29, 32 또는 153 내지 157을 함유하는, 예를 들면 SEQ ID NO: 100, 97, 94, 93, 95, 99, 98, 96, 22, 26, 29, 또는 32에 제시된 아미노산 서열을 함유하는 CDR-L2를 함유한다. 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 100, 97, 94, 93, 98, 22, 또는 29에 제시된 아미노산 서열을 함유하는 CDR-L2를 함유한다.
- [0136] [0149] 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 23, 24, 27, 30, 또는 33에 제시된 서열을 포함하는 CDR-L3을 함유한다. 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 109, 106, 103, 101, 104, 108, 107, 105,

102, 23, 24, 27, 30, 33, 158 또는 159에 제시된 서열, 예를 들면 SEQ ID NO: 109, 106, 103, 101, 104, 108, 107, 105, 102, 23, 24, 27, 30, 또는 33에 제시된 아미노산 서열을 함유하는 CDR-L3을 함유한다. 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 109, 106, 103, 101, 107, 24 또는 30에 제시된 서열을 포함하는 CDR-L3을 함유한다.

[0137] [0150] 몇몇 구체예에서, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 21, 22, 및 23의 서열을 함유하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 21, 22, 및 24의 서열을 함유하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 25, 26, 및 27의 서열을 함유하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 28, 29, 및 30의 서열을 함유하거나; 또는 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 31, 32, 및 33의 서열을 함유한다.

[0138] [0151] 몇몇 구체예에서, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3는 각각 SEQ ID NOs: 21, 22, 및 23의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3는 각각 SEQ ID NOs: 21, 22, 및 24의 서열을 포함하거나 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3는 각각 SEQ ID NOs: 25, 26, 및 27의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3는 각각 SEQ ID NOs: 28, 29, 및 30의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3는 각각 SEQ ID NOs: 31, 32, 및 33의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3는 각각 SEQ ID NOs: 80, 100, 및 109의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3는 각각 SEQ ID NOs: 77, 97, 및 106의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3는 각각 SEQ ID NOs: 74, 94, 및 103의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 73, 93, 및 101의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 75, 95, 및 104의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 79, 99, 및 108의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 78, 98, 및 107의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 76, 96, 및 105의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 73, 93, 및 102의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 77, 97, 및 106의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 163, 164, 및 165의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 80, 100, 및 109의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 146, 97, 및 106의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 28, 153 및 158의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 74, 94, 및 103의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 147, 154 및 121의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 148, 94 및 103의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 75, 95 및 104의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 149, 155 및 119의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 150, 22, 및 120의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 21, 22 및 159의 서열을 포함하거나; CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 28, 156 및 116의 서열을 포함하거나; 또는 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 152, 157 및 117의 서열을 포함한다.

[0139] [0152] 또한 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 갖는 항체가 제공된다.

[0140] [0153] 몇몇 구체예에서, CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 각각 SEQ ID NOs: 18, 81, 및 20의 서열을 포함하거나 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 각각 SEQ ID NOs: 18, 19, 및 20의 서열을 포함하거나; CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 각각 SEQ ID NOs: 18, 82, 및 20의 서열을 포함하거나; 또는 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 각각 SEQ ID NOs: 18, 72, 및 20의 서열을 포함한다.

[0141] [0154] 또한 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 갖는 항체도 제공된다.

[0142] [0155] 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편의 VH 영역은 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 6362, 167 또는 185, 예를 들면 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 또는 62의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 항체 또는 단편의 VL 영역 아미노산 서열 of SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17, 71, 90, 91, 68, 65, 64, 66, 70, 69 67 또는 187 내지 205, 예를 들면 SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17, 71, 90, 91, 68, 65, 64, 66, 70, 69, 또는 67의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편의 VH 영역은 SEQ ID NO: 11, 60, 63, 또는 62의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 항체 또는 단편의 VL 영역은 SEQ ID NO: 14, 16, 71, 90, 65, 64, 또는 69의 아미노산 서열을 포함한다.

- [0143] [0156] 또한 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 갖는 항체도 제공된다.
- [0144] [0157] 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 17의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 15의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 13의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 14의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 16의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 63 및 71의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 62 및 68의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 65의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 60 및 64의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 61 및 66의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 63 및 70의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 67의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 91의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 63 및 90의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 14의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 16의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 63 및 71의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 65의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 60 및 64의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 62 및 69의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 167 및 207의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 168 또는 63 및 208의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 169 또는 11 및 209의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 170 또는 61 및 210의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 171 또는 61 및 211의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 172 및 212의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 173 또는 11 및 213의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 174 또는 11 및 214의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 175 또는 11 및 215의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 176 또는 61 및 216의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 177 또는 61 및 217의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 178 또는 61 및 218의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 179 또는 61 및 219의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 180 또는 12 및 220의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 181 또는 12 및 221의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 182 또는 11 및 222의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 183 또는 60 및 223의 아미노산 서열을 포함하거나; 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 184 또는 11 및 224의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 185 및 225의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0145] [0158] 또한 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 갖는 항체도 제공된다.
- [0146] [0159] 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 SEQ ID NO: 11 또는 12의 아미노산 서열 또는 이러한 서열의 잔기 1-119 또는 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 VH 영역을 함유한다.
- [0147] [0160] 몇몇 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17의 아미노산 서열, 또는 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 VL 영역을 포함 또는 추가로 포함한다.
- [0148] [0161] 몇몇 구체예에서, 항체는 단일-사슬 항체 단편, 예를 들면 scFv 또는 다이아바디이다. 몇몇 구체예에서,

단일-사슬 항체는 2개의 항체 도메인 또는 영역들, 예를 들면 가변 중쇄 (V_H) 영역 및 가변 경쇄 (V_L)를 연결하는 링커를 1 이상 포함한다. 링커는 전형적으로 펩타이드 링커, 예컨대, 유연한 및/또는 가용성 펩타이드 링커이다. 링커로는 글라이신 및 세린이 풍부한 것 및/또는 몇몇 경우 트레오닌이 풍부한 것을 들 수 있다. 몇몇 구체예에서, 링커는 추가로 하전된 잔기, 예를 들면 가용성을 증가시킬 수 있는 라이신 및/또는 글루타메이트를 함유한다. 몇몇 구체예에서, 링커는 추가로 1 이상의 프롤린을 포함한다.

[0149] [0162] 따라서, 단일-사슬 항체 단편들, 예를 들면 scFvs 및 다이아바디, 특히 인간 단일-사슬 단편들, 전형적으로 2개의 항체 도메인 또는 영역, 예를 들면 V_H 및 V_L 도메인을 연결하는 링커(들) 역시도 제공된다. 링커는 일반적으로 펩타이드 링커, 예컨대, 유연한 및/또는 가용성 펩타이드 링커, 예를 들면 글라이신 및 세린이 풍부한 펩타이드 링커이다.

[0150] [0163] 몇몇 측면에서, 글라이신 및 세린 (및/또는 트레오닌)이 풍부한 링커는 적어도 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99%의 동일한 아미노산(들)을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 이들은 글라이신, 세린, 및/또는 트레오닌을 적어도 약 50%, 55%, 60%, 70%, 또는 75% 포함한다. 몇몇 구체예에서, 링커는 실질적으로 글라이신, 세린, 및/또는 트레오닌만으로 이루어진다. 링커는 일반적으로 길이가 약 5 내지 약 50 아미노산의, 일반적으로 또는 약 10 및 내지 또는 약 30 아미노산 길이, 예컨대, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30, 및 몇몇 경우, 10 내지 25 아미노산 길이이다. 예시적인 링커에는 서열 GGGGS (4GS; SEQ ID NO:123) 또는 GGGS (3GS; SEQ ID NO:122)의 다양한 수의 반복물, 예를 들면 이러한 서열의 2, 3, 4, 내지 5개 반복물을 갖는 링커가 포함된다. 예시적인 링커에는 SEQ ID NO: 34 (GGGGSGGGGSGGGGS)에 제시된 서열을 갖거나 서열로 이루어진 것들이 포함된다. 예시적인 링커는 또한 SEQ ID NO: 43 (GSTSGSGKPGSGEGSTKG)에 제시된 서열을 갖거나 서열로 구성된 것들을 추가로 포함한다.

[0151] [0164] 따라서, 몇몇 구체예에서, 전술한 링커, 예를 들면 글라이신/세린이 풍부한 링커, 예컨대 GGGS (SEQ ID NO:122) 또는 GGGGS (SEQ ID NO:123)의 반복물을 갖는 링커, 예를 들면 SEQ ID NO: 34에 제시된 링커를 1개 이상 포함하는, 예컨대 scFvs와 같은 단일-사슬 단편들도 제공된다. 몇몇 구체예에서, 링커는 SEQ ID NO: 34에 제시된 서열을 함유하는 아미노산 서열을 갖는다.

[0152] [0165] The 단편, 예컨대, scFv는 V_H 영역 또는 그의 일부, 이어서 링커, 이어서 V_L 또는 그의 일부를 포함할 수 있다. 단편, 예컨대, scFv는 V_L , 이어서 링커, 이어서 V_H 를 포함할 수 있다.

[0153] [0166] 몇몇 측면에서, scFv는 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 또는 10에 제시된 아미노산 서열, 또는 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 갖는다.

[0154] [0167] 몇몇 측면에서, scFv는 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 87, 또는 89에 제시된 아미노산 서열, 또는 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 갖는다.

[0155] [0168] 몇몇 측면에서, scFv는 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 87, 89, 또는 207 내지 225에 제시된 아미노산 서열, 또는 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열을 갖는다.

[0156] [0169] 몇몇 측면에서, scFv는 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 87 89 또는 207 내지 225에 제시된 바와 같은 서열 또는 이러한 서열과 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일한 서열에 제시된 바와 같이, 그러나 V_H 와 V_L 이 반대 방향으로 정렬된, 즉 상기 서열에 비해 V_L - V_H 의 배향을 갖도록 V_L , 링커 및 V_L 을 함유한다.

[0157] [0170] The 항체, 예컨대, 항체 단편은 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부, 예를 들면 1 이상의 불변 영역 도메인을 함유할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 불변 영역은 경쇄 불변 영역 및/또는 중쇄 불변 영역 1 (CH1)을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 항체는 CH2 및/또는 CH3 도메인, 예를 들면 Fc 영역을 포함한다. 몇몇 구체예에서, Fc 영역은 인간 IgG, 예를 들면 IgG1 또는 IgG4의 Fc 영역이다.

[0158] [0171] 몇몇 구체예에서, 상기 항체, 예컨대, 항체 단편들은 인간의 것이다. 예를 들어, 본 발명에 따라 CD19에 특이적으로 결합하는, 예를 들면 인간 CD19에 특이적으로 결합하는 인간 항-CD19 항체가 제공된다.

[0159] [0172] 몇몇 구체예에서 인간 항-CD19 항체가 제공되며, 이 인간 항체는 생식세포(germline) 뉴클레오파이드 인간 중쇄 V 세그먼트에 의해 인코딩된 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열

동일성을 갖는 부분, 생식세포 뉴클레오파이드 인간 중쇄 D 세그먼트에 의해 인코딩된 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 부분, 및/또는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 중쇄 J 세그먼트에 의해 인코딩된 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 부분을 함유하는 VH 영역; 및/또는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 카파 또는 람다 사슬 V 세그먼트에 의해 인코딩된 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 부분, 또는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 카파 또는 람다 사슬 J 세그먼트에 의해 인코딩된 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 부분을 함유하는 VL 영역을 함유한다. 몇몇 구체예에서, VH 영역의 일부는 CDR-H1, CDR-H2 및/또는 CDR-H3에 대응한다. 몇몇 구체예에서, VH 영역의 일부는 골격 영역 1 (FR1), FR2, FR2 및/또는 FR4에 대응한다. 몇몇 구체예에서, VL 영역의 일부는 CDR-L1, CDR-L2 및/또는 CDR-L3에 대응한다. 몇몇 구체예에서, VL 영역의 일부는 FR1, FR2, FR2 및/또는 FR4에 대응한다.

[0160]

[0173] 몇몇 구체예에서, 인간 항체는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 중쇄 V 세그먼트에 의해 인코딩된 서열 내의 대응하는 CDR-H1 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CDR-H1을 함유한다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서 인간 항체는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 중쇄 V 세그먼트에 의해 인코딩된 서열 내 대응하는 CDR-H1 영역과 100% 동일하거나 1개, 2개 또는 3개 이하의 아미노산만이 차이가 나는 CDR-H1을 함유한다.

[0161]

[0174] 몇몇 구체예에서, 인간 항체는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 중쇄 V 세그먼트에 의해 인코딩된 서열 내의 대응하는 CDR-H2 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CDR-H2를 함유한다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서 인간 항체는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 중쇄 V 세그먼트에 의해 인코딩된 서열 내 대응하는 CDR-H2 영역과 100% 동일하거나 1개, 2개 또는 3개 이하의 아미노산만이 차이가 나는 CDR-H2를 함유한다.

[0162]

[0175] 몇몇 구체예에서, 인간 항체는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 중쇄 V 세그먼트, D 세그먼트 및 J 세그먼트에 의해 인코딩된 서열 내의 대응하는 CDR-H3 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CDR-H3을 함유한다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서 인간 항체는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 중쇄 V 세그먼트, D 세그먼트 및 J 세그먼트에 의해 인코딩된 서열 내 대응하는 CDR-H3 영역과 100% 동일하거나 1개, 2개 또는 3개 이하의 아미노산만이 차이가 나는 CDR-H3을 함유한다.

[0163]

[0176] 몇몇 구체예에서, 인간 항체는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 경쇄 V 세그먼트에 의해 인코딩된 서열 내의 대응하는 CDR-L1 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CDR-L1을 함유한다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서 인간 항체는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 경쇄 V 세그먼트에 의해 인코딩된 서열 내 대응하는 CDR-L1 영역과 100% 동일하거나 1개, 2개 또는 3개 이하의 아미노산만이 차이가 나는 CDR-L1을 함유한다.

[0164]

[0177] 몇몇 구체예에서, 인간 항체는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 경쇄 V 세그먼트에 의해 인코딩된 서열 내의 대응하는 CDR-L2 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CDR-L2를 함유한다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서 인간 항체는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 경쇄 V 세그먼트에 의해 인코딩된 서열 내 대응하는 CDR-L2 영역과 100% 동일하거나 1개, 2개 또는 3개 이하의 아미노산만이 차이가 나는 CDR-L2를 함유한다.

[0165]

[0178] 몇몇 구체예에서, 인간 항체는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 경쇄 V 세그먼트 및 J 세그먼트에 의해 인코딩된 서열 내의 대응하는 CDR-L3 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CDR-L3을 함유한다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서 인간 항체는 생식세포 뉴클레오파이드 인간 경쇄 V 세그먼트 및 J 세그먼트에 의해 인코딩된 서열 내 대응하는 CDR-L3 영역과 100% 동일하거나 1개, 2개 또는 3개 이하의 아미노산만이 차이가 나는 CDR-L3을 함유한다.

[0166]

[0179] 몇몇 구체예에서, 인간 항체는 인간 생식세포 유전자 세그먼트 서열을 함유하는 골격 영역을 함유한다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서, 인간 항체는 예컨대 FR1, FR2, FR3 및 FR4와 같은 그의 골격 영역이 인간 생식세포 항체 세그먼트, 예를 들면 V 및/또는 J 세그먼트에 의해 인코딩된 골격 영역과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 것인 VH 영역을 함유한다. 몇몇 구체예에서, 인간 항체는 예컨대 FR1, FR2, FR3 및 FR4와 같은 그의 골격 영역이 인간 생식세포 항체 세그먼트, 예를 들면 V 및/또는 세그먼트에 의해 인코딩된 골격 영역과 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 것인 VL 영역을 함유한다. 예를 들어, 이러한 몇 가지 구체예에서, V_H 및/또는 V_L 서열의 골격 서열은 인간 생식세포 항체 세그먼트에 의해 인코딩된 골격 영역과 비교할 때, 아미노산 차이가 10개 이하, 예를 들면, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2개

이하 또는 1개 아미노산 만큼만 차이난다.

[0167] [0180] The 항체, 예컨대, 항체 단편은 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부, 예를 들면 1 이상의 불변 영역 도메인을 함유할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 불변 영역들에는 경쇄 불변 영역 및/또는 중쇄 불변 영역 1 (CH1) 이 포함된다. 몇몇 구체예에서, 항체는 CH2 및/또는 CH3 도메인, 예를 들면 Fc 영역을 포함한다. 몇몇 구체예에서, Fc 영역은 인간 IgG, 예를 들면 IgG1 또는 IgG4의 Fc 영역이다.

[0168] [0181] 또한 항체 및/또는 부분, 예컨대 그의 사슬을 인코딩하는 핵산도 제공된다. 제공된 핵산에는 본 발명에 설명된 항-CD19 항체를 인코딩하는 것들이 있다. 핵산에는 예컨대 백본이 변형된 것들을 비롯하여, 자연발생적 및/또는 비-자연발생적인 뉴클레오타이드 및 염기를 포함하는 것들이 포함된다. "핵산 분자", "핵산" 및 "폴리뉴클레오타이드"라는 용어는 호환적으로 사용되며 뉴클레오타이드의 폴리머를 가리킨다. 이러한 뉴클레오타이드의 폴리머는 천연 및/또는 비-천연 뉴클레오타이드를 함유할 수 있고, 여기에는 DNA, RNA, 및 PNA가 포함되나 이에 한정되지 않는다. "핵산 서열"이라 함은 핵산 분자 또는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드의 선형 서열을 가리킨다. 예시적인 핵산 및 백터는 SEQ ID NOS: 1, 3, 5, 7, 9, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 86, 및 88에 제시된 서열을 갖는 것들, 및 그의 CDR-인코딩 부분들, 그리고 이들에 대해 적어도 약 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 갖는 것들이다. 핵산은 항체의 V_L을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 항체의 V_H를 포함하는 아미노산 서열 (예컨대 항체의 경쇄 또는 중쇄)을 인코딩할 수 있다.

[0169] [0182] 또한 핵산을 함유하는 백터, 예컨대 항체 생산을 위한 백터를 함유하는 숙주 세포도 제공된다. 또한, 항체의 제조방법도 제공된다. 또 다른 구체예에서, 이러한 핵산을 포함하는 1 이상의 백터 (예컨대, 밸현 백터)가 제공된다. 또 다른 구체예에서, 이러한 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 이러한 일 구체예에서, 숙주 세포는: (1) 항체의 V_L을 포함하는 아미노산 서열 및 항체의 V_H를 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산을 포함하는 백터, 또는 (2) 항체의 V_L을 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산을 포함하는 제1 백터 및 항체의 V_H를 포함하는 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산을 포함하는 제2 백터를 포함한다(예컨대, 형질전환됨). 몇몇 구체예에서, 항-CD19 항체의 제조방법이 제공되며, 여기서 상기 제조방법은 상기 제공된 바와 같은 항체를 인코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 항체 발현에 적합한 조건 하에 배양하고, 임의로 숙주 세포(또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 항체를 회수하는 것을 포함한다.

[0170] [0183] 또한 항-CD19 항체 (항원-결합 단편들을 포함)의 제조 방법도 제공된다. 항-CD19 항체의 재조합 생산을 위해, 예컨대 전술한 바와 같은 항체를 인코딩하는 핵산을 분리하고 이를 숙주 세포에서 추가 클로닝 및/또는 밸현시키기 위한 1 이상의 백터 내로 삽입시킬 수 있다. 이러한 핵산은 통상적인 방법(예컨대 항체의 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용하는 방법)을 이용함으로써 쉽게 분리 가능하며 시くん성 할 수 있다.

[0171] [0184] 원핵생물에 더해, 진핵생물 미생물, 예를 들면 사상 진균 또는 효모가 항체-인코딩 백터에 있어서 적합한 클로닝 또는 밸현 숙주이며 여기에는 인간 세포의 글리코실화 경로를 모방 또는 근사하도록 변형됨으로 해서 부분적으로 또는 완전히 인간 글리코실화 패턴으로 항체를 생산하는 진균 및 효모 균주들이 포함된다 [참조: Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004), 및 Li 외, Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)].

[0172] [0185] 폴리펩타이드 발현에 사용 가능한 예시적인 진핵 세포의 예로는 COS 세포, 예컨대 COS 7 세포; 293 세포, 예컨대 293-6E 세포; CHO 세포, 예컨대 CHO-S, DG44, Lec13 CHO 세포, 및 FUT8 CHO 세포; PER.C6[®] 세포; 및 NSO 세포를 들 수 있으나 이에 한정되지 않는다. 몇몇 구체예에서, 항체 중쇄 및/또는 경쇄는 효모에서 발현될 수 있다 [참조: 예컨대, 미국 공개 No. US 2006/0270045 A1]. 몇몇 구체예에서, 특정한 진핵 숙주 세포를, 중쇄 및/또는 경쇄에 대해 소망되는 번역 후 변형을 일으킬 수 있는 그의 능력에 기반하여 선택한다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서, CHO 세포는 293 세포에서 생산되는 동일한 폴리펩타이드에 비해 시알릴화 정도가 더 높은 폴리펩타이드를 생산한다.

[0173] [0186] 몇몇 구체예에서, 항체는 무세포 시스템에서 생산된다. 예시적인 무세포 시스템이 예컨대 다음 문헌에 설명되어 있다: 예컨대, Sitaraman 외, *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44 (2009); Spirin, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45 (2004); Endo 외, *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003).

[0174] [0187] 제공된 구체예에는 또한 항체 및 기타 결합 단백질의 발현 및 생산을 위한 백터 및 숙주 세포 및 기타 발현 시스템이 제공되며 여기에는, 진핵 및 원핵 숙주 세포, 예컨대 세균, 사상 진균 및 효모 뿐만 아니라, 인

간 세포와 같은 포유동물 세포, 그리고 무세포 발현 시스템이 포함된다.

[0175] 예시적 특성들

[0176] 몇몇 측면에서, 항원-결합 단편들을 비롯한, 제공된 항체는 1 이상의 특정한 기능적 특징들을 포함하는데, 예를 들면 결합 특성, 예컨대 특정 에피토프, 예컨대 다른 항체의 에피토프와 유사 또는 중복되는 에피토프에 대한 결합 특성, 다른 항체와의 결합 경쟁 능력, 및/또는 특정 결합 친화성이 그것이다.

[0177] [0189] 몇몇 구체예에서, 항체는 CD19 단백질에 특이적으로 결합한다. 본 발명의 구체예들의 몇몇 측면에서, CD19는 인간 CD19를 가리킨다. 일반적으로, 항체 또는 기타 결합 분자가 CD19에 결합하거나 또는 CD19에 특이적으로 결합한다는 관찰은 이것이 모든 종의 CD19에 결합한다는 것을 반드시 의미하지는 않는다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서, CD19에 대한 결합 특성, 예를 들면 그에 대하여 특이적으로 결합하는 능력 및/또는 그에 대한 결합을 두고 래퍼런스 항체와 결합하는 능력, 및/또는 특정한 친화성으로 결합한다던가 몇몇 예에서 특정 정도로 경쟁한다던가 하는 것은 인간 CD19 단백질과 관련한 능력을 말하는 것으로서, 인간 이외의 다른 종 예를 들어 원숭이 또는 마우스의 CD19의 경우에는 항체가 이러한 특성을 갖지 않을 수 있다.

[0178] [0190] 몇몇 구체예에서, 항원-결합 단편들을 비롯한 제공된 항체는 인간 CD19, 예컨대, 인간 CD19의 에피토프 또는 영역, 예를 들면 92(수탁번호 No. P15391)에 제시된 인간 CD19, 또는 대립유전자 변이체 또는 그의 스플라이는 변이체에 결합한다. 특정 구체예에서, 항-CD19 항체는 상이한 종들로부터의 CD19에서 보존되는 CD19의 에피토프에 결합한다. 몇몇 구체예에서, 항-CD19 항체는 상이한 종들 예를 들면 인간 및 *Macaca mulatta* (레수스 마카크 (레수스)) CD19로부터의 CD19에서는 보존되지 않거나 완전히 보존되는 것이 아닌 CD19의 에피토프에 결합한다.

[0179] [0191] 몇몇 구체예에서, 항체는 CD19의 세포외 도메인 내의 하나 이상의 아미노산을 함유하는 에피토프에 결합하거나 (또는 완전히 CD19의 세포외 도메인 내에 있음) 및/또는 CD19의 세포외 부분의 막-근위 영역 내의 하나 이상의 아미노산을 함유하는 에피토프에 결합한다 (또는 완전히 CD19의 세포외 부분의 막-근위 영역 내에 있음). 몇몇 구체예에서, 항체는 CD19의 Ig-유사 도메인 2 내의 1 이상의 아미노산을 함유하는 에피토프에 결합하거나 상기 도메인 내에 전적으로 포함되며 상기 Ig-유사 도메인 2는 CD19의 4번째 엑손에 의해 인코딩되는 부분, SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 176-277 위치에 대응하는 부분, 및/또는 CD19의 세포외 부분의 막-최근위 (membrane-proximal-most) 100, 90, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 44, 43, 43, 41, 또는 40 아미노산 부분에 결합한다. 몇몇 구체예에서, 이러한 부분 또는 도메인은 CD19에 대한 항체의 결합에 필요하다. 몇몇 구체예에서, 에피토프는 CD19의 두 번째 엑손에 의해 인코딩된 부분 및/또는 SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 20-117 위치에 대응하는 부분인 CD19의 Ig-유사 도메인 1 내, 또는 전적으로 내의 1 이상의 아미노산을 함유한다(또는 추가로 함유한다). 몇몇 구체예에서, 이러한 부분 또는 도메인은 CD19에 대한 항체의 결합에 필요하다. 몇몇 구체예에서, 항체는 이러한 부분의 서열을 포함하거나, 서열로 이루어지거나 또는 서열로 기본적으로 이루어지되, 전장 CD19의 전체 서열을 함유하지는 않는 웹타이드에 특이적으로 결합한다.

[0180] [0192] 몇몇 구체예에서, 에피토프는 SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 218-249 잔기에 대응하는 CD19의 부분, 예를 들면 SEQ ID NO: 143에 제시된 서열을 갖는 부분 내의 1 이상의 아미노산을 함유하거나 상기 부분 내에 들어있거나 또는 상기 부분을 포함한다.

[0181] [0193] 몇몇 구체예에서, 에피토프는 SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 다음 위치의 하기 아미노산에 대응하는 CD19의 1 이상의 위치에 대응하는 위치에서 아미노산을 포함한다: 위치 218의 히스티딘 (H), 위치 236의 알라닌 (A), 위치 242의 메티오닌 (M), 위치 243의 글루타메이트 (E), 위치 249의 프롤린 (P), 및/또는 위치 223 및 224의 라이신 (K) 및/또는 세린 (S). 몇몇 구체예에서, 이러한 1개 이상의 위치에서의 아미노산은 CD19에 대한 항체의 결합에 있어 중요하거나 필요하다. 몇몇 구체예에서, 이러한 1 이상의 위치의 에피토프 내 아미노산은 SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열 내의 대응하는 위치에서의 아미노산에 대응한다.

[0182] [0194] 몇몇 구체예에서, 에피토프는 SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 히스티딘 위치 218에 대응하는 CD19의 위치에서 아미노산(예를 들면 히스티딘)을 포함한다; 몇몇 구체예에서, 이러한 아미노산은 CD19에 대한 항체의 결합에 있어 중요하다.

[0183] [0195] 몇몇 구체예에서, 에피토프는 ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 알라닌 위치 236에 대응하는 CD19의 위치에서 아미노산(예를 들면 알라닌)을 포함한다: 몇몇 구체예에서, 이러한 아미노산은 CD19에 대한 항체의 결합에 있어 중요하다.

[0184] [0196] 몇몇 구체예에서, 에피토프는 ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 메티오닌 위치 242에 대응하는 CD19

의 위치에서 아미노산(예를 들면 메티오닌)을 포함한다: 몇몇 구체예에서, 이러한 아미노산은 CD19에 대한 항체의 결합에 있어 중요하다.

[0185] [0197] 몇몇 구체예에서, 에피토프는 ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 글루타메이트 위치 243에 대응하는 CD19의 위치에서 아미노산(예를 들면 글루타메이트)을 포함한다: 몇몇 구체예에서, 이러한 아미노산은 CD19에 대한 항체의 결합에 있어 중요하다.

[0186] [0198] 몇몇 구체예에서, 에피토프는 ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 프롤린 위치 249에 대응하는 CD19의 위치에서 아미노산(예를 들면 프롤린)을 포함한다: 몇몇 구체예에서, 이러한 아미노산은 CD19에 대한 항체의 결합에 있어 중요하다.

[0187] [0199] 몇몇 구체예에서, 에피토프는 ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 라이신 및/또는 세린 위치 223 및 224에 대응하는 CD19의 위치에서 아미노산(예를 들면 라이신 및/또는 세린)을 포함한다: 몇몇 구체예에서, 이러한 아미노산은 CD19에 대한 항체의 결합에 있어 중요하다.

[0188] [0200] 몇몇 구체예에서, 에피토프는 예를 들면 FMC63 또는 SJ25C1와 같은 레퍼런스 항체에 의해 특이적으로 결합되는 에피토프와 동일, 유사 또는 중복되거나 또는 1 이상의 동일한 아미노산을 함유한다. 몇몇 구체예에서, 상기 동일한 1 이상의 아미노산은 제공된 항체 및 레퍼런스 항체의 결합에 있어 중요하다.

[0189] [0201] 몇몇 구체예에서, 무관한, 비-CD19 단백질, 예를 들면 비-인간 CD19 또는 기타 비-CD19 단백질에 대한 항-CD19 항체의 결합 정도는 예컨대 라디오면역분석법(RIA)에 의해 측정시 인간 CD19에 대한 항체의 결합의 약 40% 보다 낮다. 몇몇 구체예에서, 제공된 항체에는 비-인간 CD19 또는 기타 비-CD19 단백질에 대한 결합이 인간 CD19에 대한 항체의 약 30% 또는 그 미만이거나, 약 20% 또는 그 미만이거나 또는 약 10% 또는 그 미만인 항체가 포함된다.

[0190] [0202] 몇몇 구체예에서, 항원-결합 단편들을 비롯하여 제공된 항체의 이러한 특성들은 또 다른 항체, 예컨대, 레퍼런스 항체에 대해 관찰된 특성과 관련하여 설명된다. 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체는 비-인간 항-CD19 항체, 예를 들면 쥐의 항체 또는 키메라 항체 또는 인간화 항-CD19 항체이다. 몇몇 측면에서, 레퍼런스 항체는 FMC63이라 명명된 항체 또는 SJ25C1라 명명된 항체 (참조: 예컨대, Zola H 외, *Immuno1 Cell Biol.* 1991 Dec; 69 (Pt 6):411-22; 미국특허 7,446,190), 및/또는 이로부터 유래된 단편 예를 들면 그의 scFv 단편, 및/또는 이러한 항체의 V_H 및 V_L 서열을 함유하는 항체 및/또는 이러한 항체의 중쇄 및 경쇄 CDRs이다.

[0191] [0203] 예를 들어, 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체는 SEQ ID NO: 39 또는 41에 제시된 서열을 함유하는 VH 영역을 갖거나 또는 이러한 서열 내의 CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3을 포함하고, 및/또는 SEQ ID NO: 40 또는 42에 제시된 서열을 함유하는 VL 영역을 갖거나 또는 이러한 서열 내의 CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3을 포함한다. 따라서, 몇몇 구체예에서, 항체는 FMC63 또는 SJ25C1 또는 그의 항원-결합 단편과 동일 또는 중복되는 CD19의 에피토프에 대한 결합에 대해 경쟁하거나 결합한다.

[0192] [0204] 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체는 본 명세서에 설명된 바와 같은 항체 또는 항체 부분에 존재하는 서열을 갖는다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체는 SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 또는 17 및/또는 SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17, 71, 90, 91, 68, 65, 64, 66, 70, 69, 또는 67 제시된 경쇄 가변(V_L) 영역 아미노산 서열을 갖거나, 및/또는 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 또는 62에 제시된 중쇄 가변(VL) 영역을 갖는다. 몇몇 구체예에서, 항체는 이러한 항체에 존재하는 중쇄 및/또는 경쇄 CDRs 1, 2, 및/또는 3을 갖는다. 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체는 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 87 또는 89에 제시된 아미노산 서열을 함유하는 scFv일 수 있다.

[0193] [0205] 몇몇 구체예에서, 항체는 그럼에도 불구하고 레퍼런스 항체 또는 항체, 예를 들면 FMC63 및 SJ25C1에 존재하는 CDRs와 구별되는 중쇄 및 경쇄 CDRs을 함유한다. 예를 들어, 제공된 항체들 중에는 레퍼런스 항체 또는 항체에 의해 결합된 것과 동일 또는 중복되는 CD19의 에피토프와 결합하거나 및/또는 결합을 두고 경쟁하면서도, 구별되는 CDRs 예컨대 구별되는 중쇄 및/또는 경쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 함유하는 항체가 있다. 몇몇 구체예에서, 제공된 항체는 예를 들어 SEQ ID NO:39에 제시된 VH 영역 및/또는 SEQ ID NO:40에 제시된 VL 영역에 존재하는, FMC63이라 명명된 항체 내에 존재하는 CDR과 구별되는 중쇄 및 경쇄 CDRs을 함유한다. 몇몇 구체예에서, 제공된 항체는 예를 들어 SEQ ID NO:41에 제시된 VH 영역 및/또는 SEQ ID NO:42에 제시된 VL 영역에 존재하는, SJ25C1이라 명명된 항체 내에 존재하는 CDR과 구별되는 중쇄 및 경쇄 CDRs을 함유한다.

[0194] [0206] 예를 들어, 몇몇 구체예에서, 항체는 예를 들어 레퍼런스 항체와 동일 또는 유사한 에피토프에 결합하는

항체인 레퍼런스 항체에 의해 결합된 CD19의 에피토프와 중복되는 에피토프에 특이적으로 결합한다. 몇몇 구체 예에서, 항체는 CD19에 대한 결합을 두고 레퍼런스 항체와 경쟁한다.

[0195] [0207] 몇몇 구체예에서, 항체는 예컨대 기술분야에 공지 및/또는 본 명세서에 설명된 특정한 세포와 같은 CD19-음성 세포에 비해 CD19-발현 세포에 대해 결합 선호성을 나타낸다. 몇몇 구체예에서, 결합 선호성을 비-발현, 세포와 비교할 때 CD19-발현에 대해 유의적으로 후려썬 더 큰 결합 정도가 측정되는 경우 관찰된다. 몇몇 구체예에서, 예를 들어 유세포분석법-기반 측정법에서 평균 형광 강도 및/또는 해리 상수 또는 EC50에 의해 측정되는 바와 같은, 검출된 결합도의 폴드 변화(fold change)는 비-CD19-발현 세포에 대한 경우와 비교시 CD19-발현 세포에 있어서 적어도 약 1.5, 2, 3, 4, 5, 6배 이상 및/또는 예컨대 레퍼런스 항체의 대응하는 형태와 같은, 레퍼런스 항체에 대해 관찰된 폴드 변화만큼 크거나, 대략 그것과 동일하거나, 적어도 그만큼 크거나 또는 적어도 대략 그만큼 크거나 또는 더 크다. 몇몇 경우에서, CD19 또는 CD19-발현 세포에 대하여 관찰된 총 결합도는 레퍼런스 항체에 대해 관찰된 것과 대략 같거나, 적어도 그 정도이거나 또는 더 크다. 제공된 여하한 구체 예에서, 결합 특성, 예를 들면 친화성 또는 경쟁 비교는 동일 또는 유사한 측정법에 의한 측정을 통해 이루어질 수 있다.

[0196] [0208] 만약 항체가 CD19에 대한 레퍼런스 항체의 결합을 경쟁적으로 억제하거나 및/또는 레퍼런스 항체가 CD19에 대한 항체의 결합을 경쟁적으로 억제한다면, 그 항체는 레퍼런스 항체와 "CD19에 대한 결합을 두고 경쟁하는 것이다. 만일 과량의 항체의 존재가 그의 항원에 대한 다른 항체의 결합을 검출가능하게 억제(차단)한다면, 그 항체는 상기 항원에 대한 레퍼런스 항체의 결합을 경쟁적으로 억제하는 것이다. 특정 억제도를 명시할 수 있다.

[0197] [0209] 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체의 양 또는 농도에 비해 제공된 항체를 예컨대 1-, 2-, 5-, 10-, 50- 또는 100배 과량으로 첨가하여, 레퍼런스 항체의 항원에 대한 결합을 억제한다 (또는 그 반대도 가능). 몇몇 구체 예에서, 결합의 억제는 적어도 50%까지이고, 몇몇 구체예에서는 적어도 75%, 90% 또는 99%이다. 몇몇 측면에서, 경쟁적 억제는 경쟁적 결합 분석에서 측정되는 바와 같다 (참조: 예컨대, Junghans 외, Cancer Res. 1990;50:1495-1502).

[0198] [0210] 몇몇 구체예에서, 레퍼런스 항체가 10 nM의 농도로 존재하는 경우, 제공된 항체는 약 100, 50, 40, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 또는 10 nM 또는 그 미만의 IC50 값 또는 약 9, 8, 7, 6, 또는 5 nM 또는 그 미만의 IC50 값으로, 레퍼런스 항체의 결합을 억제한다. 몇몇 구체예에서, 제공된 항체가 10 nM의 농도로 존재하는 경우, 레퍼런스 항체는 약 100, 50, 40, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 또는 10 nM, 그 미만 또는 약 9, 8, 7, 6, 또는 5 nM 또는 그 미만의 IC50 값으로, 제공된 항체의 결합을 억제한다.

[0199] [0211] 몇몇 구체예에서, 제공된 항체에 의한 레퍼런스 항체'의 결합의 경쟁적 억제(또는 그 반대)는 예컨대 비표지 레퍼런스 항체와 같은, 레퍼런스 항체 자신에 의한 레퍼런스 항체'의 결합의 경쟁적 억제와 동일하거나 대략 동일하거나 또는 적어도 동일한 정도이다. 몇몇 구체예에서, 제공된 항체는 인간 CD19에 대한 레퍼런스 항체의 결합, 예를 들면 FMC63 또는 SJ25C1의 결합을 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 억제한다. 경쟁적 억제 분석법은 공지이며 여기에는 ELISA-기반, 유세포-기반 분석법 및 RIA-기반 분석법이 포함된다. 몇몇 측면에서, 경쟁적 억제 분석법은 항체들 중 하나의 비표지 형태 과량을 병합시키고 검출가능한 마커로 표지된 다른 항체의 결합을 차단하는 그의 능력을 평가함으로써 수행되며, 표지 또는 마커를 검출함으로써, 그의 결합 및 감소를 평가할 수 있다.

[0200] [0212] 몇몇 구체예에서, 만일 하나의 항체의 결합을 감소 또는 제거하는 항원 내 모든 또는 본질적으로 모든 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합을 감소 또는 제거한다면, 이들 2개 항체는 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 것이다. 몇몇 구체예에서, 하나의 항체에 의하여, 항원에 대한 결합을 감소 또는 제거하는 항원 내 적어도 일부의 아미노산 돌연변이가 다른 항체에 의한 항원에 대한 결합을 감소 또는 억제할 경우, 이들 두 항체는 중복되는 에피토프에 특이적으로 결합하는 것이다.

[0201] [0213] 몇몇 구체예에서, 제공된 항체는 몇몇 공지 방법으로 측정되는 바와 같이, 적어도 소정의 친화성으로, CD19, 예를 들면 인간 CD19에 결합할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 친화성은 해리상수(dissociation constant: Kd)에 의해 나타내진다; 몇몇 구체예에서, 친화성은 EC50으로 나타내진다. 특정 구체예에서, CD19에 대한 항체의 결합 친화성 (EC50) 및/또는 해리 상수는 약 100 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1 nM 이하, 예를 들면 약 1 nM 내지 약 15 nM, 예컨대, 약 5 내지 약 10 nM 사이이다. 일 구체예에서, 무관한, 비-CD19 단백질에 대한 항-CD19 항체의 결합 정도는 예컨대 방사능면역분석법(RIA)로 측정시 CD19에 대한 항체의 결합의 약 10% 이하이다.

- [0202] [0214] 몇몇 측면에서, 친화성은 레퍼런스 항체, 예를 들면 쥐의 CD19 항체, 예를 들어 FMC63 또는 SJ25C1에 대한 친화성과 동일한 정도 또는 대략 동일한 정도 또는 실제로 동일한 정도이다. 몇몇 측면에서, 친화성은 레퍼런스 항체의 그것과 적어도 80, 85, 90, 95, 또는 99% 동일하다. 몇몇 구체예에서, 결합 친화성은 레퍼런스 항체의 대응하는 형태와 관련하여 비교된다.
- [0203] [0215] 몇몇 구체예에서, 항체의 친화성 예컨대, EC50 또는 Kd는 레퍼런스 항체, 예를 들면 레퍼런스 항체의 대응하는 형태의 친화성과 대략 동일하거나 더 낮은 친화성을 가지며, 예컨대 동일 또는 유사한 방식으로 측정시, 레퍼런스 항체의 EC50에 비해 약 1.5배 이하 또는 약 2배 이상 크지 않거나 또는 3배 이상 크지 않거나 및/또는 10배 이상 크지 않다.
- [0204] [0216] 본 발명에서 제공된 항-CD19 항체는 다양한 공기 분석법에 의해 그들의 물리/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대해 동정, 스크리닝 또는 특징지어질 수 있다. 일 측면에서, 항체를 예컨대 공기 방법 예를 들면 ELISA, 웨스턴 블로팅, 및/또는 유세포 분석법, 예컨대 세포-기반 결합 분석법에 의해 그의 항원 결합 활성을 대해 테스트한다. 예를 들어, 예컨대 CD19와 같은 표적 항원을 발현하는 세포에 대한 항체(예컨대 형광 마커에 컨쥬케이트되거나 태그됨)의 결합을 평가하고, 몇몇 경우 예컨대 CD19와 같은 표적 항원을 발현하지 않는 세포를 이용하여 그 결과를 비교한다. 결합 친화성은 Kd 또는 EC50로서 측정될 수도 있다.
- [0205] [0217] 본 발명에 설명된 여하한 항체와 결합하는 항체를 동정하기 위해 경쟁 분석법을 이용할 수 있다. 항체 및 레퍼런스 항체에 의해 결합된 에피토프를 매핑하기 위한 분석법 역시 이용가능하며 공기이다.
- [0206] 면역컨쥬케이트
- [0207] [0218] 몇몇 구체예에서, 항체는 면역컨쥬케이트 또는 그의 일부이다. 면역컨쥬케이트에서 항체는 비제한적인 예로서 세포독성 제제, 조영제, 검색 가능한 모이어티 멀티머화 도메인 또는 기타 이종 분자와 같은 1 이상의 이종 분자(들)과 컨쥬케이트되어 있다. 세포독성 제제의 비제한적인 예로는 방사능 동위원소 (예컨대, At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32, Pb212 및 Lu의 방사능 활성 동위원소); 화학요법제 (예컨대, 메토트렉세이트, 아드리아마이신, 빈카 알칼로이드(빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포시드), 독소루비신, 멜 팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 기타 인터클레이팅 제제); 성장억제제; 효소 및 그의 단편 예컨대 핵분해(nucleolytic) 효소; 항생제; 독소 예컨대 소분자 독소 또는 효소 활성 독소를 들 수 있다. 몇몇 구체예에서, 항체는 1 이상의 세포독성제제, 예를 들면 화학요법제 또는 약물, 성장억제제, 독소(예컨대 세균, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소 활성 독소, 단백질 독소, 또는 그의 단편들) 또는 방사능 동위원소와 컨쥬케이트된다.
- [0208] [0219] 면역컨쥬케이트의 예로는 항체가 1 이상의 약물과 컨쥬케이트되어 있는 항체-약물 컨쥬케이트 (ADCs)를 들 수 있는데, 이의 예로는 비제한적인 약물의 예로서 메이탄시노이드 (참조: 미국특허 Nos. 5,208,020, 5,416,064 및 유럽특허 EP 0 425 235 B1); 아우리스타틴 예를 들면 모노메틸아우리스타틴 약물 모이어티 DE 및 DF (MMAE 및 MMAF) (참조: 미국특허 Nos. 5,635,483 및 5,780,588, 및 7,498,298); 돌라스타틴; 칼리케아미신 또는 이들의 유도체 (참조: 미국특허 Nos. 5,712,374, 5,714,586, 5,739,116, 5,767,285, 5,770,701, 5,770,710, 5,773,001, 및 5,877,296; Hinman 외, *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993); 및 Lode 외, *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998)); 안트라사이클린 예를 들면 다우노마이신 또는 독소루비신 (참조: Kratz 외, *Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006); Jeffrey 외, *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006); Torgov 외, *Bioconj. Chem.* 16:717-721 (2005); Nagy 외, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000); Dubowchik 외, *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002); King 외, *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002); 및 미국특허 No. 6,630,579); 메토트렉세이트; 빈데신; 탁산 예를 들면 도세탁셀, 파클리탁셀, 라로탁셀, 테세탁셀 및 오르타탁셀; 트리코테센; 및 CC1065와 항체가 컨쥬케이트되어 있는 것을 들 수 있다.
- [0209] [0220] 또한 면역컨쥬케이트 중에는 항체가 효소적 활성 독성 또는 그의 단편, 예컨대 비제한적인 예로서 디프테리아 A 사슬, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편들, 외독소 A 사슬 (슈도모나스 에어루지노사 유래), 리신 A 사슬, 아브린 A 사슬, 모데신 A 사슬, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디(Aleurites fordii) 단백질, 디안틴 단백질, 피토로카 아메리카나(Phytolaca americana) 단백질 PAPI, PAPII, 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사포나리아 오피시날리스 억제제, 켈로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테센과 같은 효소적 활성 독소 또는 그의 단편과 컨쥬케이트되어 있는 것들이 포함된다.
- [0210] [0221] 또한 면역컨쥬케이트에는 항체가 방사능 원자에 컨쥬케이트되어 방사능 컨쥬케이트를 형성하는 것들도 포함된다. 예시적인 방사능 동위원소에는 At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² 및 Lu의 방

사능 동위원소가 포함된다.

[0211] [0222] 항체 및 세포독성 제제의 컨쥬게이트는 몇 가지 공자의 단백질 커플링제 예컨대 링커를 이용하여 만들 수 있다 (참조: Vitetta 외, *Science* 238:1098 (1987)), WO94/11026. 링커는 예를 들면 산-불안정 링커, 웹티다제-민감성 링커, 광불안정 링커, 디메틸 링커 및 디설파이드-함유 링커와 같이, 세포 내에서 세포독성 약물의 방출을 용이하게 하는 "절단가능한 링커"일 수 있다 (Chari 외, *Cancer Res.* 52:127-131 (1992); 미국특허 No. 5,208,020).

[0212] [0223] 컨쥬게이트들은 또한 단백질 예를 들면 Fc-융합 및 키메라 분자를 포함한다.

[0213] **다중특이 항체(Multispecific Antibodies)**

[0214] [0224] 특정 구체예에서, CD19-결합 분자, 예컨대, 항체는 다중특이적이다. 다중특이 결합 분자에는 다중특이 항체, 예컨대 이중특이 항체가 포함된다. 다중특이 결합 파트너, 예컨대 항체는 동일 또는 상이한 항원 들에 존재할 수 있는 적어도 2개의 상이한 위치에 대한 결합 특이성을 갖는다. 특정 구체예에서, 결합 특이성을 중 하나는 CD19에 대한 것이고 다른 하나는 또 다른 항원에 대한 것이다. 특정 구체예에서, 이중특이 항체는 CD19의 2 가지 상이한 에피토프들에 결합할 수 있다. 이중특이 항체는 또한 CD19를 발현하는 세포에 대해 세포독성 제제를 국소화시키는데 이용될 수도 있다. 이중특이 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로서 준비될 수 있다. 이중특이 항체들 중로는 다중특이 단일-사슬 항체, 예컨대, 다이아바디, 트리아바디, 및 테트라바디, 탄뎀(tandem) 디-scFvs, 및 탄뎀 트리-scFvs를 들 수 있다. 또한, 항체를 함유하는 다중특이 키메라 수용체, 예를 들면 다중특이 CARs도 예시될 수 있다.

[0215] [0225] 예시적인 부가적인 항원들로는 기타 B 세포 특이적인 항원 및 T 세포 상에 발현되는 항원을 들 수 있다. 예시적인 항원으로는 CD4, CD5, CD8, CD14, CD15, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD33, CD37, CD38, CD40, CD40L, CD46, CD52, CD54, CD74, CD80, CD126, CD138, B7, MUC-1, Ia, HM1.24, HLA-DR, 테나신, 혈관신생 인자, VEGF, PIGF, ED-B 피브로넥틴, 온코진, 온코진 생성물, CD66a-d, 괴사 항원, II, IL-2, T101, TAC, IL-6, TRAIL-R1 (DR4) 및 TRAIL-R2 (DR5)을 들 수 있다.

[0216] **변이체(Variants)**

[0217] [0226] 특정 구체예에서, 항체는 1 이상의 아미노산 변이, 예컨대, 본 발명에 설명된 항체 서열과 비교할 때 치환, 결실, 삽입 및/또는 돌연변이를 갖는다. 예시적인 변이에는 항체의 결합 친화성 및/또는 기타 생물학적 특성을 개선시키기 위해 설계된 것들이 포함된다. 항체의 아미노산 서열 변이는 그 항체를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열에 적절한 변형을 도입하거나, 또는 웨타이드 합성에 의해 준비될 수 있다. 이러한 변형에는 예를 들어 항체의 아미노산 서열 내 잔기들의 결실 및/또는 삽입 및/또는 치환이 포함된다. 최종 구조물이 예컨대 항원-결합과 같은 소망되는 특징을 계속 지니는 한, 최종 구조물을 얻기 위해 결실, 삽입 및 치환을 어느 조합으로든 가할 수 있다.

[0218] [0227] 특정 구체예에서, 항체는 본 발명에 설명된 항체 서열과 비교시 및/또는 천연 레퍼토리, 예컨대 인간 레퍼토리의 서열과 비교시 1 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 치환 돌연변이에 관심대상이 되는 부위는 CDRs 및 FRs을 포함한다. 관심대상 항체 내로 아미노산 치환을 도입하고 생성물을 소망되는 활성, 예컨대 보유/향상된 항원 결합, 감소된 면역원성, 향상된 반감기, 및/또는 향상된 이펙터 기능, 예를 들면 항체-의존성 세포독성 (ADCC) 또는 보체-의존성 세포독성(CDC)를 촉진하는 능력에 대해 스크리닝할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 변이 항체는 CD19에 대하여 유지 또는 향상된 결합을 나타낸다.

[0219] [0228] 몇몇 구체예에서, 친(親:parent) 항체 (예컨대 인간화 또는 인간 항체)의 CDR 내의 1 이상의 잔기들이 치환된다. 몇몇 구체예에서, 서열 또는 서열 내 위치를 생식세포 서열로, 예를 들면 생식세포(예컨대, 인간 생식세포)에서 발견되는 항체 서열로 복귀(revert)시키도록, 예를 들어 인간 대상자에게 투여하여, 면역원성 가능성을 감소시키도록 치환시킬 수 있다.

[0220] [0229] 몇몇 구체예에서는, CDR "핫스팟"에서, 체세포 성숙 프로세스 동안 높은 빈도로 돌연변이를 수행하는 코돈에 의해 인코딩된 잔기들 (참조: 예컨대, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)), 및/또는 항원과 접촉하는 잔기들을 변경시키고, 결과적인 변이체 V_H 또는 V_L 를 결합 친화성에 대해 테스트한다. 2차 라이브러리로부터 구축 및 재선택에 의한 친화성 성숙이 예컨대 문헌[Hoogenboom 외 *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien 외, ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))]에 설명되어 있다. 친화성 성숙의 몇몇 구체예에서는 다양한 방법 (예컨대 오류 발생이 쉬운 PCR, 사슬 셔플링, 또는 올리고뉴클레오타이드-지향된 돌연변

이)에 의해 성숙에 대해 선택된 가변 유전자 내로 다양성이 도입된다. 이어서 2차 라이브러리를 생성한다. 이어서 이 라이브러리를 소망되는 친화성을 갖는 항체 변이체를 동정하기 위해 스크리닝한다. 다양성을 도입하는 또 다른 방법은 CDR-지향된 접근법과 연관이 있는데 여기서는 몇 가지 CDR 잔기들(예컨대, 한 번에 4-6 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합과 연관이 있는 CDR 잔기들을 예컨대 알라닌 스캐닝 돌연변이 또는 모델링을 이용하여 특이적으로 동정할 수 있다. 특히 CDR-H3 및 CDR-L3이 종종 표적이 된다.

[0221] [0230] 특정 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실과 같은 변경이 항원에 대한 항체 결합능을 실질적으로 감소시키지 않는 한, 치환, 삽입 또는 결실이 1 이상의 CDRs 내에서 일어날 수 있다. 예를 들어, 결합 친화성을 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경(예컨대, 본 발명에서 보존적 치환)이 CDRs에서 행해질 수 있다. 이러한 변경은 예컨대 CDRs 내 잔기와 접촉하는 항원 외부에서 일어날 수 있다. 상기 제공된 변이체 V_H 및 V_L 서열의 특정 구체예에서 각각의 CDR은 변경되지 않거나 또는 2, 3 또는 4 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0222] [0231] 아미노산 서열 삽입에는 하나의 잔기로부터 백개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩타이드에 이르는 길이 범위의 아미노-말단 및/또는 카르복실-말단 융합파, 단일 또는 복수 아미노산 잔기의 서열내(intrasequence) 삽입도 포함된다. 말단 삽입 예에는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체가 포함된다. 항체 분자의 그 밖의 삽입 변이에는 항체의 N- 또는 C-말단을, 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩타이드나 효소에 융합시키는 것이 포함된다.

변형 (*Modifications*)

[0224] [0232] 특정 구체예에서, 예컨대 특정 세포주를 이용하여 글리코실화 자리에 부착된 올리고당(들)을 변형시킴으로써 및/또는 아미노산 서열을 변경시킴으로써 1 이상의 글리코실화 자리를 제거 또는 삽입하여, 항체가 글리코실화되는 정도를 증가 또는 감소시키도록 변경시킨다. 글리코실화 자리는 중쇄의 아스파라긴 297을 포함한다 (Kabat 넘버링에 따른 경우).

[0225] [0233] 예시적인 변형체, 변이체 및 세포주들이 예컨대 특허공개 Nos. US 2003/0157108, US 2004/0093621, US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki 외 J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki 외 Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004). Ripka 외 Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); US Pat Appl No US 2003/0157108 A1, Presta, L; 및 WO 2004/056312 A1, Yamane-Ohnuki 외 Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. 외, Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); 및 WO2003/085107); WO 2003/011878 (Jean-Mairet 외); 미국특허 No. 6,602,684 (Umana 외); 및 US 2005/0123546 (Umana 외); WO 1997/30087 (Patel 외); WO 1998/58964 (Raju, S.); 및 WO 1999/22764 (Raju, S.)에 설명되어 있다.

[0226] [0234] 변형된 항체들 중에는 Fc 영역에 1 이상의 아미노산 변형을 갖는 것들, 예컨대 1 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형(예컨대 치환)을 포함하는 불변 영역의 기타 부분(예컨대, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역) 또는 인간 Fc 영역 서열을 갖는 것들이 있다.

[0227] [0235] 이러한 변형은 예컨대 반감기 향상, 1 이상의 유형의 Fc 수용체에 대한 결합 변경, 및/또는 이펙터 기능 변경을 위해 행할 수 있다.

[0228] [0236] 또한 변이체에는, 시스테인 조작된 항체 예를 들면 "thioMabs" 및 그 밖의 시스테인 조작된 변이체, 예컨대 제제 및 링커-제제들의 컨쥬게이션에 사용하여, 면역컨쥬게이트를 생산하도록, 이용가능한 자리에서 반응성 티올기를 생성하기 위해, 항체의 1 이상의 잔기들이 시스테인 잔기로 치환되어 있는 변이체가 포함된다. 시스테인 조작된 항체는 예컨대 미국특허 Nos. 7,855,275 및 7,521,541에 설명되어 있다.

[0229] [0237] 몇몇 구체예에서, 수용성 폴리머를 비롯하여 부가적인 비단백질성 모이어티를 함유하도록 항체를 변형시킨다. 예시적인 폴리머의 예로는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 코폴리머, 카르복시메틸셀룰로스, 엑스트란, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1, 3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/무수 말레산 코폴리머, 폴리아미노산 (호모폴리머 또는 랜덤 코폴리머), 및 엑스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 호모폴리머, 폴리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 코-폴리머, 폴리옥시에틸화된 폴리올(예컨대, 글리세롤), 폴리비닐 알코올, 및 이의 조합을 들 수 있으나 이에 한정되지 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드는 그의 물에서의 안정성으로 인해 제조시 장점을 갖는다. 폴리머의 분자량은 어떠하든 무방하고 분자상일수도 또는 비분자상일 수도 있다. 항체에 결합된 폴리머의 수는 다양할 수 있으며, 두 개 이상의 폴리머가 결합되는 경우, 이들은 동일 또는 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로,

유도화에 사용된 폴리머의 갯수 및/또는 종류는 비제한적인 예로서 개선하고자 하는 항체의 특정 성질이나 기능, 항체 유도체가 소정 조건 하의 치료법에 사용될지 여부 등을 고려하여 결정될 수 있다.

B. 재조합 수용체

[0230] [0238] 제공된 CD19 결합 분자들에는 재조합 수용체, 예를 들면 항원 수용체 및 CD19에 특이적으로 결합하는 기타 키메라 수용체, 예를 들면 제공된 항-CD19 항체를 함유하는 수용체, 예컨대 항체 단편들이 포함된다. 항원 수용체에는 기능성 비-TCR 항원 수용체, 예를 들면 키메라 항원 수용체 (CARs)가 포함된다. 또한, 재조합 수용체를 발현하는 세포 및 입양 세포 치료법, 예를 들면 CD19 발현과 연관된 질병 및 장애의 치료에 있어서의 그의 용도도 제공된다.

[0232] [0239] CARs를 비롯한 예시적인 항원 수용체 및 조작 방법 및 이러한 수용체를 세포 내로 도입하는 방법이 예컨대 국제특허출원 공개번호 WO200014257, WO2013126726, WO2012/129514, WO2014031687, WO2013/166321, WO2013/071154, WO2013/123061 U.S. 특허출원 공개번호 US2002131960, US2013287748, US20130149337, 미국특허 Nos.: 6,451,995, 7,446,190, 8,252,592, 8,339,645, 8,398,282, 7,446,179, 6,410,319, 7,070,995, 7,265,209, 7,354,762, 7,446,191, 8,324,353, 및 8,479,118, 및 유럽특허출원 번호 EP2537416, 및/또는 문헌 [Sadelain 외, *Cancer Discov.* 2013 April; 3(4): 388-398; Davila 외 (2013) *PLoS ONE* 8(4): e61338; Turtle 외, *Curr. Opin. Immunol.*, 2012 October; 24(5): 633-39; Wu 외, *Cancer*, 2012 March 18(2): 160-75]에 설명되어 있다. 몇몇 측면에서, 항원 수용체는 미국특허 No.: 7,446,190에 설명된 바와 같은 CAR, 및 국제특허출원 공개 No.: WO/2014055668 A1에 설명된 것들을 포함한다. CAR의 예로는 전술한 공개문헌들, 예를 들면 WO2014031687, US 8,339,645, US 7,446,179, US 2013/0149337, 미국특허 No.: 7,446,190, 미국특허 No.: 8,389,282에 설명된 CAR, 및 항원-결합부, 예컨대, scFv가 예컨대 본 발명에 설명된 항체에 의해 대체되어 있는 것들을 들 수 있다.

[0233] [0240] 키메라 수용체에는 키메라 항원 수용체 (CARs)가 포함된다. 키메라 수용체, 예를 들면 CARs은 일반적으로 제공된 항-CD19 항체 중 하나를 포함하거나, 항-CD19 항체 중 하나이거나 또는 항-CD19 항체 중 하나로 이루어진, 세포외 항원 결합 도메인을 포함한다. 그러므로, 키메라 수용체, 예컨대, CARs은 일반적으로 그의 세포외 부분 내에 1 이상의 CD19-결합 분자, 예를 들면 1 이상의 항원-결합 단편, 도메인, 또는 일부, 또는 1 이상의 항체 가변 도메인, 및/또는 항체 분자, 예를 들면 본 발명에 개시된 것들을 포함한다. 몇몇 구체예에서, CAR은 항체 분자의 CD19-결합부(들), 예를 들면 항체의 가변 중쇄 (V_H) 영역 및/또는 가변 경쇄(V_L) 영역, 예컨대, scFv 항체 단편을 포함한다.

[0234] [0241] CD19-표적화 CARs은 예를 들어 문헌[Kochenderfer 외, 2013, *Nature Reviews Clinical Oncology*, 10, 267-276 (2013); Wang 외 (2012) *J. Immunother.* 35(9): 689-701; 및 Brentjens 외, *Sci Transl Med.* 2013 5(177), WO2014031687, US 8,339,645, US 7,446,179, US 2013/0149337, 미국특허 No.: 7,446,190, 및 미국특허 No.: 8,389,282]에 설명되어 있다.

[0235] [0242] 몇몇 구체예에서, 재조합 수용체, 예를 들면 CAR, 예를 들면 그의 부분은 스페이서를 추가로 포함하며, 스페이서는 면역글로불린 불변 영역 또는 그의 변이체 또는 변형된 버전, 예를 들면 힌지 영역, 예컨대, IgG4 힌지 영역, 및/또는 CH1/CL 및/또는 Fc 영역일 수 있거나 또는 적어도 이의 일부를 포함할 수 있다. 몇몇 측면에서, 불변 영역 부분은 예컨대, scFv과 같은 항원-인식 성분과 막판통 도메인 사이의 스페이서 영역 역할을 한다. 스페이서는 스페이서가 부재할 경우에 비해, 항원 결합에 이어 세포의 증가된 응답성을 제공하는 길이일 수 있다. 몇 가지 예에서, 스페이서의 길이는 12 또는 약 12 아미노산 또는 12개 이하의 아미노산일 수 있다. 예시적인 스페이서는 적어도 약 10 내지 229 아미노산, 약 10 내지 200 아미노산, 약 10 내지 175 아미노산, 약 10 내지 150 아미노산, 약 10 내지 125 아미노산, 약 10 내지 100 아미노산, 약 10 내지 75 아미노산, 약 10 내지 50 아미노산, 약 10 내지 40 아미노산, 약 10 내지 30 아미노산, 약 10 내지 20 아미노산, 또는 약 10 내지 15 아미노산, 및 상기 나열된 범위들의 양 종점의 숫자들 사이의 여하한 정수의 아미노산 길이일 수 있다. 몇몇 구체예에서, 스페이서 영역은 약 12개 이하의 아미노산 또는, 약 119개 이하의 아미노산 또는 약 229개 이하의 아미노산을 갖는다. 예시적인 스페이서는 IgG4 힌지 단독, CH2 및 CH3 도메인에 링크된 IgG4 힌지, 또는 CH3 도메인에 링크된 IgG4 힌지를 포함한다. 예시적인 스페이서는 비제한적인 예로서 문헌 [Hudecek 외 (2013) *Clin. Cancer Res.*, 19:3153, 국제특허출원공개 번호 WO2014031687, 미국특허 No. 8,822,647 또는 published app. No. US2014/0271635]에 설명된 것들을 포함한다.

[0236] 몇몇 구체예에서, 불변 영역 또는 부분은 인간 IgG, 예를 들면 IgG4 또는 IgG1의 것이다. 몇몇 구체예에서, 스페이서는 서열 ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO: 124에 제시됨)을 가지며 SEQ ID NO: 125에 제시된 서열에 의해

인코딩된다. 몇몇 구체예에서, 스페이서는 SEQ ID NO: 126에 제시된 서열을 갖는다. 몇몇 구체예에서, 스페이서는 SEQ ID NO: 127에 제시된 서열을 갖는다. 몇몇 구체예에서, 불변 영역 또는 부분은 IgD의 것이다. 몇몇 구체예에서, 스페이서는 SEQ ID NO: 128에 제시된 서열을 갖는다. 몇몇 구체예에서, 스페이서는 SEQ ID NOS: 124, 126, 127 또는 128 중 어느 하나에 제시된 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 갖는다.

[0237]

[0244] 항원 인식 도메인은 일반적으로 또 다른 세포 표면 수용체를 경유하여 CAR, 및/또는 시그널의 경우, 항원 수용체 복합체, 예를 들면 TCR 복합체를 통해 활성화를 모방하는 시그널링 성분과 같은 1 이상의 세포내 시그널링 성분에 링크된다. 그러므로 몇몇 구체예에서, CD19-특이적 결합 성분 (예컨대, 항체)은 1 이상의 막관통 및 세포내 시그널링 도메인에 링크되어 있다. 몇몇 구체예에서, 막관통 도메인은 세포외 도메인에 융합된다. 일구체예에서, 보통, 예컨대, CAR과 같이 수용체 내 도메인들 중 하나와 연관되어 있는 막관통 도메인이 이용된다. 몇몇 구체예에서는 수용체의 다른 멤버와의 상호반응을 초소화시키기 위해, 동일 또는 상이한 표면 막 단백질의 막관통 도메인에 이러한 도메인이 결합하는 것을 회피하도록, 막관통 도메인을 선택하거나 또는 아미노산 치환에 의해 변형시킨다.

[0238]

[0245] 몇몇 구체예에서 막관통 도메인은 천연 또는 합성 소스로부터 유도된다. 소스가 천연의 것일 경우, 도메인은 몇몇 측면에서 여하한 막-결합 또는 막관통 단백질로부터 유래된다. 막관통 영역은 T-세포 수용체의 alpha, 베타 또는 제타 사슬, CD28, CD3 업실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD 16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD 134, CD137, CD 154로부터 유래된 것을 포함하고 (즉 적어도 상기의 막관통 영역(들)을 포함함) 및/또는 막관통 영역은 예컨대 막관통의 실질적인 구조 일부를 유지하나 그의 특징을 유지하는, 그의 기능성 변이체를 함유한다. 몇몇 구체예에서, 막관통 도메인은 합성적인 것이다. 몇몇 측면에서, 합성 막관통 도메인은 예를 들면 류신 및 발린과 같은 소수성 잔기들을 주로 포함한다. 몇몇 측면에서, triplet of 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 삼량체가 합성 막관통 도메인의 각 말단에서 발견된다. 몇몇 구체예에서, 연결은 링커, 스페이서, 및/또는 막관통 도메인(들)에 의한다.

[0239]

[0246] 세포내 시그널링 도메인에는 천연 항원 수용체를 통해 시그널을 모방 또는 근사하는 것들, 공동자극 수용체와 조합된 수용체를 통해 시그널을 모방 또는 근사하는 것들, 및/또는 공동자극 수용체 단독을 통해 시그널을 모방 또는 근사하는 것들이 포함된다. 몇몇 구체예에서, 짧은 올리고펩타이드 또는 폴리펩타이드 링커, 예를 들어, 길이가 2 내지 10 아미노산인 링커, 예를 들면 글라이신들 및 세린들, 예컨대, 글라이신-세린 더블렛을 함유하는 것이 존재하며 CAR의 막관통 도메인과 세포질 시그널링 도메인 사이의 연결(linkage)를 형성한다.

[0240]

[0247] The 수용체, 예컨대, CAR은 일반적으로 적어도 1개의 세포내 시그널링 성분 또는 성분들을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 수용체는 예컨대, CD3 제타 사슬과 같이, T-세포 활성화 및 세포독성을 매개하는 TCR CD3 사슬과 같은 TCR 복합체의 세포내 성분을 포함한다. 그러므로, 몇몇 측면에서, CD19-결합 항체는 1 이상의 세포 시그널링 모듈에 링크된다. 몇몇 구체예에서, 세포 시그널링 모듈은 CD3 막관통 도메인, CD3 세포내 시그널링 도메인, 및/또는 other CD 막관통 도메인을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 수용체, 예컨대, CAR은, 1 이상의 부가적인 문자 예를 들면 Fc 수용체 γ , CD8, CD4, CD25, 또는 CD16의 부분을 추가로 포함한다. 예를 들어, 몇몇 측면에서, CAR은 CD3-제타 (CD3- ζ) 또는 Fc 수용체 γ 와 CD8, CD4, CD25 또는 CD16 사이에 키메라 문자를 포함한다.

[0241]

[0248] 몇몇 구체예에서, CAR의 접합(ligation)시, CAR의 세포질 도메인 또는 세포내 시그널링 도메인은 정상 이펙터 기능 또는 예컨대 CAR의 발현을 위해 조작된 T 세포와 같은 면역 세포 응답성 중 적어도 한 가지를 활성화시킨다. 예를 들어, 몇 가지 맥락에서, CAR은 시토카인 또는 다른 인자의 분비와 같은, T-헬퍼 활성 또는 세포독성 활성 등의 T 세포 기능을 유도한다. 몇몇 구체예에서, 예를 들어 만일 이것이 이펙터 기능 시그널을 형질도입할 경우 항원 수용체 성분 또는 공동자극 분자의 세포내 시그널링 도메인의 트렁케이트된 부분이 온전한 면역자극 사슬 대신 사용된다. 몇몇 구체예에서, 세포내 시그널링 도메인 또는 도메인들은 T 세포 수용체 (TCR)의 세포질 서열 및 몇몇 측면에서 자연적 관점에서 항원 수용체 결부 후 그러한 수용체와 협업하여 시그널 형질도입을 개시하도록 작용하는 공동-수용체의 서열, 및/또는 동일한 기능적 능력을 갖는 그러한 분자의 유도체 또는 변이체, 및/또는 여하한 합성 서열을 포함한다.

[0242]

[0249] 천연 TCR 관점에서, 완전한 활성화는 일반적으로 TCR을 통한 시그널링 뿐만 아니라, 공동자극 시그널 역시도 필요로 한다. 그러므로, 몇몇 구체예에서, 완전한 활성화를 촉진하기 위해, 2차 또는 공동-자극 시그널을 위한 성분 역시도 CAR에 포함된다. 다른 구체예에서, CAR은 공동자극 시그널을 위한 성분을 포함하지 않는다. 몇몇 측면에서, 부가적인 CAR이 동일한 세포에서 발현되어 2차 또는 공동자극 시그널을 발생시키기 위한 성분을

제공한다.

[0243] [0250] T 세포 활성화는 몇몇 측면에서 2가지 부류의 세포질 시그널링 서열에 의해 매개되는 것으로 설명된다: 즉 TCR을 통해 항원-의존성 1차 활성화를 개시하는 것들(1차 세포질 시그널링 서열), 및 항원-독립적 방식으로 작용하여 2차 또는 공동-자극 시그널을 제공하는 것들(2차 세포질 시그널링 서열)이 그것이다. 몇몇 측면에서, CAR은 이러한 시그널링 성분들 중 한 가지 또는 양자 모두를 포함한다.

[0244] [0251] 몇몇 측면에서, CAR은 TCR 복합체의 1차 활성화를 조절하는 1차 세포질 시그널링 서열을 포함한다. 자극적 방식으로 작용하는 1차 세포질 시그널링 서열은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAMs(immunoreceptor tyrosine-based activation motifs)이라 알려져 있는 시그널링 모티프를 함유할 수도 있다. ITAM 함유 1차 세포질 시그널링 서열의 예로는 TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD8, CD22, CD79a, CD79b, 및 CD66d로부터 유래한 것들을 들 수 있다. 몇몇 구체예에서, CAR 내 세포질 시그널링 분자(들)은 세포질 시그널링 도메인, 그의 일부, 또는 CD3 제타로부터 유래한 서열을 함유한다.

[0245] [0252] 몇몇 구체예에서, CAR은 시그널링 도메인 및/또는 공동자극 수용체, 예를 들면 CD28, 4-1BB, OX40, DAP10, 또는 ICOS, 또는 CD27의 막관통 부분,를 포함한다. 몇몇 측면에서, 동일한 CAR은 활성화 및 공동자극 성분들 두 가지 모두를 포함한다.

[0246] [0253] 몇몇 구체예에서, 활성화 도메인 (예컨대 CD3 제타)은 하나의 CAR에 포함된 반면 공동자극 성분 (예컨대 CD28 또는 4-1BB)은 다른 항원을 인식하는 다른 CAR에 의해 제공된다. 몇몇 구체예에서, CARs은 활성화 또는 자극 CARs, 공동자극 CARs을 포함하되, 두 가지 모두 동일 세포에서 발현되는 것들이다 (참조: WO2014/055668). 몇몇 측면에서, CD19-표적화 CAR은 자극 또는 활성화 CAR이고; 다른 측면에서는, 공동자극 CAR이다. 몇몇 구체예에서, 세포는 추가로 억제 CARs (iCARs, 참조: Fedorov 외, *Sci. Transl. Medicine*, 5(215) (December, 2013), 예를 들면 CD19 이외의 항원을 인식하는 CAR을 포함함으로 해서, CD19-표적화 CAR을 통해 전달된 활성화 시그널이, 억제 CAR과 그의 리간드와의 결합에 의해 감소 또는 억제되어 오프-표적 효과를 감소시키게 된다.

[0247] [0254] 몇몇 구체예에서, 재조합 수용체, 예를 들면 CAR의 세포내 시그널링 성분은 CD3 제타 세포내 도메인 및 공동자극 시그널링 영역을 포함한다. 특정 구체예에서, 세포내 시그널링 도메인은 CD28 막관통 및 CD3 (예컨대, CD3-제타) 세포내 도메인에 링크된 시그널링 도메인을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 세포내 시그널링 도메인은 CD3 제타 세포내 도메인에 링크된, 키메라 CD28 및/또는 CD137 (4-1BB, TNFRSF9) 공동-자극 도메인을 포함한다.

[0248] [0255] 몇몇 구체예에서, CAR은 1 이상, 예컨대 2 이상의 공동자극 도메인 및 활성화 도메인, 예컨대, 1차 활성화 도메인을 세포질 부분에 포함한다. 예시적인 CARs은 CD3-제타, CD28, 및 4-1BB의 세포내 성분을 포함한다.

[0249] [0256] 몇몇 구체예에서, CAR 또는 다른 항원 수용체는 수용체, 예를 들면 세포 표면 수용체의 트렁케이트된 버전, 예를 들면 트렁케이트된 EGFR (tEGFR)를 발현하기 위해 세포의 형질도입 또는 조작을 확인하는데 이용될 수 있는 마커, 예를 들면 세포 표면 마커를 추가로 포함한다. 몇몇 측면에서, 마커는 CD34, NGFR, 또는 표피 성장 인자 수용체 (예컨대, tEGFR) 또는 그의 기능성 변이체 전부 또는 일부(예컨대, 트렁케이트된 형태)를 포함한다. 몇몇 구체예에서, 마커를 인코딩하는 핵산은 링커 서열, 예를 들면 절단가능한 링커 서열, 예컨대, T2A를 인코딩하는 폴리뉴클레오파드에 작동적으로 연결된다. 예를 들어, 마커, 및 임의로 링커 서열은 공개특허 출원 No. WO2014031687에 개시된 것이면 어느 것이든 무방하다. 예를 들어, 마커는 링커 서열, 예를 들면 T2A 절단가능한 링커 서열에 임의로 링크된, 트렁케이트된 EGFR (tEGFR)일 수 있다. 트렁케이트된 EGFR (예컨대 tEGFR)에 대한 예시적인 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 138에 제시된 아미노산의 서열 또는 SEQ ID NO: 138에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 서열을 포함한다. 예시적인 T2A 링커 서열은 SEQ ID NO: 137에 제시된 아미노산의 서열 또는 SEQ ID NO: 137에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 서열을 포함한다.

[0250] [0257] 몇몇 구체예에서, 마커는 T 세포 상에서 자연적으로 발견되는 것이 아닌, 또는 T 세포의 표면 또는 그의 일부에서 자연적으로 발견되는 것이 아닌 문자, 예컨대, 세포 표면 단백질이다.

[0251] [0258] 몇몇 구체예에서, 문자는 비-자가 문자, 예컨대, 비-자가 단백질, 즉, 세포가 입양 전달될 숙주의 면역 시스템에 의해 "자가(self)"인 것으로 인식되지 않는 것들이다.

[0252] [0259] 몇몇 구체예에서, 마커는 치료 기능을 하지 않고 및/또는 유전자 조작을 위한 마커, 예컨대 성공적으로 조작된 세포를 선택하기 위한 마커로서 사용되는 것 이외에 다른 효과는 나타내지 않는다. 다른 구체예에서, 마커는 치료 문자이거나 또는 몇몇 소망되는 효과, 예를 들면 공동자극 또는 면역 체크포인트 문자와 같이 생체

내에서 마주치게될 세포에 대한 리간드일 수 있음으로 해서, 입양 전달 및 리간드와 조우시 세포의 반응을 향상 및/또는 감소시킬 수 있다.

[0253] [0260] 몇몇 경우에서, CARs은 1세대, 2세대 및/또는 3세대 CARs로 칭해진다. 몇몇 측면에서, 1세대 CAR은 항원 결합시 CD3-사슬 유도된 시그널만을 제공하는 것이고; 몇몇 측면에서, 2세대 CARs은 시그널 및 공동자극 시그널을 제공하는 것, 예를 들면 공동자극 수용체 예를 들면 CD28 또는 CD137로부터의 세포내 시그널링 도메인을 포함하는 것이며; 몇몇 측면에서, 3세대 CAR은 몇몇 측면에서 상이한 공동자극 수용체들의 복수개의 공동자극 도메인을 포함하는 것이다.

[0254] [0261] 몇몇 구체예에서, 키메라 항원 수용체는 본 발명에서 설명된 항체 또는 단편을 함유하는 세포외 부분을 포함한다. 몇몇 측면에서, 키메라 항원 수용체는 본 발명에서 설명된 항체 또는 단편을 함유하는 세포외 부분 및 세포내 시그널링 도메인을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 항체 또는 단편은 scFv을 포함하고 세포내 도메인은 ITAM을 포함한다. 몇몇 측면에서, 세포내 시그널링 도메인은 CD3-제타 (CD3 ζ) 사슬의 제타 사슬의 시그널링 도메인을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 키메라 항원 수용체는 세포외 도메인과 세포내 시그널링 도메인을 연결하는 막관통 도메인을 포함한다. 몇몇 측면에서, 막관통 도메인은 CD28의 막관통 부분을 포함한다. The 세포외 도메인과 막관통 도메인은 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 몇몇 구체예에서, 세포외 도메인과 막관통은 스페이서, 본 발명에 설명된 스페이서에 의해 연결된다. 몇몇 구체예에서, 수용체는 예를 들면 CD28 세포외 부분과 같이, 막관통 도메인이 유래된 분자의 세포외 부분을 함유한다. 몇몇 구체예에서, 키메라 항원 수용체는 T 세포 공동자극 분자 또는 그의 기능성 변이체로부터 유래된 세포내 도메인을 막관통 도메인과 세포내 시그널링 도메인 사이에 함유한다. 몇몇 측면에서, T 세포 공동자극 분자는 CD28 또는 41BB이다.

[0255] [0262] 예를 들어, 몇몇 구체예에서, CAR은 본 발명에서 제공된 것과 같은 항체, 예컨대, 항체 단편, CD28 또는 그의 기능성 변이체의 막관통 부분이거나 상기 부분을 포함하는 막관통 도메인, 및 CD28 또는 그의 기능성 변이체의 시그널링 부분 및 CD3 제타 또는 그의 기능성 변이체의 시그널링 부분을 포함하는 세포내 시그널링 도메인을 포함한다. 몇몇 구체예에서, CAR은 본 발명에서 제공된 것과 같은 항체, 예컨대, 항체 단편, 4-1BB 또는 그의 기능성 변이체의 막관통 부분이거나 상기 부분을 포함하는 막관통 도메인, 및 4-1BB 또는 그의 기능성 변이체의 시그널링 부분 및 CD3 제타 또는 그의 기능성 변이체의 시그널링 부분을 포함하는 세포내 시그널링 도메인을 포함한다. 이러한 몇 가지 구체예에서, 수용체는 추가로 Ig 분자, 예를 들면 인간 Ig 분자의 일부를 함유하는 스페이서, 예를 들면 Ig 헌지, 예컨대 IgG4 헌지, 예를 들면 헌지-온리(only) 스페이서를 추가로 포함한다.

[0256] [0263] 몇몇 구체예에서, 재조합 수용체, 예컨대, CAR의 막관통 도메인은, 인간 CD28 (예컨대 수탁번호 P01747.1) 또는 그의 변이체의 막관통 도메인, 예를 들면 SEQ ID NO: 129에 제시된 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 129에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 막관통 도메인이거나 이 막관통 도메인을 포함한다; 몇몇 구체예에서, 막관통-도메인은 SEQ ID NO: 130에 제시된 아미노산 서열 또는 상기 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.

[0257] [0264] 몇몇 구체예에서, 재조합 수용체, 예컨대 CAR의 세포내 시그널링 성분(들)은, 인간 CD28 또는 그의 기능성 변이체 또는 일부의 세포내 공동자극 시그널링 도메인, 예를 들면 천연 CD28 단백질의 187-187 위치에서 LL 이 GG로 치환된 도메인을 함유한다. 예를 들어, 세포내 시그널링 도메인은 SEQ ID NO:131 또는 132에 제시된 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:131 또는 132에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 세포내 도메인은 comprises 세포내 공동자극 시그널링 도메인 of 4-1BB (예컨대 (수탁번호 Q07011.1) 또는 그의 기능성 변이체 또는 일부의 세포내 공동자극 시그널링 도메인, 예를 들면 SEQ ID NO:133에 제시된 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 133에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.

[0258] [0265] 몇몇 구체예에서, 재조합 수용체, 예컨대 CAR의 세포내 시그널링 도메인은 미국특허 No.: 7,446,190 또는 미국특허 No. 8,911,993에 설명된 바와 같이 인간 CD3 제타 자극 시그널링 도메인 또는 그의 기능성 변이체, 예를 들면 인간 CD3 ζ (수탁번호: P20963.2) 또는 CD3 제타 시그널링 도메인의 이소폼 3의 112 AA 세포질 도메인을 포함한다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서, 세포내 시그널링 도메인은 아미노산 134, 135 또는 136의 서열 또는 SEQ ID NO:134, 135 또는 136에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.

[0259]

[0266] 몇몇 측면에서, 스페이서는 IgG의 힌지 영역만을, 예를 들면 IgG4 또는 IgG1의 힌지 만을, 예를 들면 SEQ ID NO:124에 제시된 힌지 온리 스페이서를 함유한다. 또 다른 구체예에서, 스페이서는 Ig 힌지, 예컨대, 임의로 CH2 및/또는 CH3 도메인에 연결된 IgG4-유도된 힌지이거나 이를 함유한다. 몇몇 구체예에서, 스페이서는 Ig 힌지, 예를 들면 SEQ ID NO:127에 제시된 바와 같이 CH2 및 CH3 도메인에 링크된 IgG4 힌지이다. 몇몇 구체예에서, 스페이서는 Ig 힌지, 예컨대, SEQ ID NO:126에 제시된 바와 같이 CH3 도메인에만 연결된 IgG4 힌지이다. 몇몇 구체예에서, 스페이서는 글라이신-세린이 풍부한 서열 또는 예컨대 공지의 유연한 링커와 같은 기타 유연한 링커이거나 이들을 포함한다.

[0260]

[0267] 예를 들어, 몇몇 구체예에서, CAR은 항-CD19 항체 예를 들면 항-CD19 항체 단편, 예를 들면 본 발명에 따라 제공된 인간 항-CD19 항체, 예컨대, 본 발명에 설명된 scFvs를 비롯한 단일-사슬 항체, 스페이서, 예를 들면 면역글로불린 분자의 일부, 예를 들면 중쇄 분자의 힌지 영역 및/또는 1 이상의 불변 영역을 함유하는 스페이서, 예를 들면 Ig-힌지 함유 스페이서, CD28-유도된 막관통 도메인, CD28-유도된 세포내 시그널링 도메인, 및 CD3 제타 시그널링 도메인의 전부 또는 일부를 함유하는 막관통 도메인을 포함한다. 몇몇 구체예에서, CAR은 항-CD19 항체 또는 단편, 예를 들면 본 발명에 설명된 scFvs를 포함한 여하한 인간 항-CD19 항체, 스페이서 예를 들면 여하한 Ig-힌지 함유 스페이서, CD28-유도된 막관통 도메인, 4-1BB-유도된 세포내 시그널링 도메인, 및 CD3 제타-유도된 시그널링 도메인을 포함한다.

[0261]

[0268] 몇몇 구체예에서, 이러한 CAR 구조물은 예를 들면 각각 SEQ ID NO:137 및/또는 138에 제시된 바와 같은 T2A 리보좀 스킵 요소 및/또는 tEGFR 서열 또는 SEQ ID NO:137 및/또는 138에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 예컨대, CAR의 하류에 포함한다.

[0262]

C. 조작된 세포

[0263]

[0269] 또한 본 발명에 따라, 세포, 세포 집단, 및 상기 세포, 예컨대 조작된 세포, 예컨대 조작된 항원 수용체, 예컨대 본 발명에 설명된 항-CD19 항체 또는 단편을 포함하는 세포외 도메인을 함유하는 조작된 항원 수용체를 함유하는 조작된 세포를 함유하는 조성물이 제공된다. 조성물에는 예를 들면 입양 세포 치료를 위하여 투여하기 위한 의약 조성물 및 제형이 포함된다. 또한 대상자, 예컨대 환자에게 세포 및 조성물을 투여하기 위한 치료 방법도 제공된다.

[0264]

[0270] 그러므로 본 발명에 따라 항체를 함유하는 재조합 수용체를 발현하는 유전자 조작된 세포, 예컨대 CARs를 함유하는 세포 역시도 제공된다. 세포는 일반적으로 진핵 세포, 예를 들면 포유동물 세포이고, 전형적으로 인간 세포이다. 몇몇 구체예에서, 세포는 혈액, 골수, 림프 또는 림프 기관으로부터 유래되며, 면역계의 세포, 예를 들면 선천 또는 후천 면역 세포, 예컨대, 골수 또는 림프 세포이고, 여기에는 림프구, 일반적으로 T 세포 및/또는 NK 세포가 포함된다. 그 밖의 예시적인 세포에는 줄기세포, 예를 들면 다능성(multipotent) 및 전능성(pluripotent) 세포, 유도된 다능성(iPSCs)가 포함된다. The 세포는 일반적으로 일차 세포, 예를 들면 대상자로부터 직접 분리되거나 및/또는 대상자로부터 분리되어 동결된 세포이다. 몇몇 구체예에서, 세포는 T 세포 또는 기타 세포 유형의 1 이상의 서브세트, 예를 들면 전체 T 세포 집단, CD4+ 세포, CD8+ 세포, 및 예를 들면 기능, 활성 상태, 성숙도, 분화 잠재능, 팽창, 재순환, 국소화 및/또는 지속능, 항원-특이성, 항원 수용체의 종류, 특정 장기 또는 분획 내의 존재여부, 마커 또는 시토카인 분비 프로파일, 및/또는 분화도에 의해 정의되는 바와 탁은 그의 서브집단을 포함한다. 치료될 대상자와 관련하여, 세포는 동종이계(allogeneic) 및/또는 자가(autologous)일 수 있다. 방법에는 기성의 상용(off-the-shelf) 방법이 포함된다. 몇몇 측면에서, 예를 들면 기성의 상용 기술에서, 세포는 전능성 및/또는 다능성, 예를 들면 줄기 세포, 예를 들면 유도된 전능성 줄기 세포(iPSCs)이다. 몇몇 구체예에서, 이 방법은 본 발명에 설명된 바와 같이 대상자로부터 세포를 분리, 이를 준비, 가공, 배양 및/또는 조작하고, 동결보전 전 또는 후에 이를 동일 환자에게 재도입하는 것을 포함한다.

[0265]

[0271] T 세포 및/또는 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포의 서브타입 및 서브집단에는 나이브 T (T_N) 세포, 이펙터 T 세포 (T_{EFF}), 기억 T 세포 및 이의 서브타입들, 예를 들면 줄기세포 기억 T (T_{SCM}), 중심 기억 T (T_{CM}), 이펙터 기억 T (T_{EM}), 또는 말단 분화된 이펙터 기억 T 세포, 종양-주입 림프구 (TIL), 미성숙 T 세포, 성숙 세포, 헬퍼 T 세포, 세포독성 T 세포, 점막-관련 불변 T (MAIT) 세포, 자연발생 및 적응 조절 T (Treg) 세포, 헬퍼 T 세포, 예를 들면 TH1 세포, TH2 세포, TH3 세포, TH17 세포, TH9 세포, TH22 세포, 소포성 헬퍼 T 세포, alpha/베타 T 세포, 및 엘타/감마 T 세포를 들 수 있다.

[0266]

[0272] 몇몇 구체예에서, 세포는 자연 살해(NK) 세포이다. 몇몇 구체예에서, 세포는 단핵구 또는 과립구, 예컨

대, 골수 세포, 대식세포, 호중구, 수지상 세포, 비만 세포, 호산구, 및/또는 호염기구이다.

[0267] [0273] 몇몇 구체예에서, 세포는 유전자 조작을 통해 도입된 1 이상의 핵산을 포함하며, 그에 따라 이러한 핵산의 재조합 또는 유전자 조작 산물을 발현한다. 몇몇 구체예에서, 핵산은 세포 또는 그 세포로부터 수득된 샘플 내에 보통은 존재하지 않는 이종의 것, 예를 들면 다른 생명체 또는 세포로부터 수득된 것이거나, 예를 들어 조작하고자 하는 세포 및/또는 그러한 세포가 유래된 생명체에서 보통 발견되지 않는 것일 수 있다. 몇몇 구체예에서, 핵산은 자연발생적인 것이 아니다. 예를 들면 핵산은 복수개의 상이한 세포 유형으로부터의 다양한 도메인들을 인코딩하는 핵산의 키메라 조합을 포함하는 것을 비롯하여, 자연에서 발견되지 않는 핵산이다.

[0268] 유전자 조작을 위한 벡터 및 방법

[0269] [0274] 본 발명에 따라, 또한 항체를 포함하는 수용체를 비롯하여 결합 분자를 발현하기 위한, 그리고 이러한 결합 분자를 발현하기 위하여 유전자 조작된 세포를 생산하기 위한 방법, 핵산, 조성물, 및 키트가 제공된다. 유전자 조작은 일반적으로 재조합 또는 조작된 성분을 인코딩하는 핵산을 예를 들면 레트로바이러스 형질도입(transduction), 형질감염(transfection) 또는 형질전환(transformation)에 의해 세포 내로 도입하는 것과 연관된다.

[0270] [0275] 몇몇 구체예에서, 유전자 전달은 예를 들면 먼저 세포를 시토카인 또는 활성화 마커의 발현에 의해 측정되는 바와 같은 증식, 생존 및/또는 활성화와 같은 반응을 유도하는 자극원과 조합한 다음 활성화된 세포를 형질도입하고 임상 응용에 충분한 숫자가 될 때까지 배양하여 증식시킴으로써 달성된다.

[0271] [0276] 몇몇 측면에서, 자극 인자(예를 들면 림포카인 또는 시토카인)의 과발현은 대상자에게 독성적일 수 있다. 그러므로, 몇 가지 측면에서, 조작된 세포는 예컨대 입양 면역요법에서 투여될 경우, 세포를 생체내 음성선택에 민감하게 만드는 유전자 세그먼트를 포함한다. 예를 들어 몇몇 측면에서, 세포는 이들이 투여될 환자의 생체내 조건의 변화에 따라 제거될 수 있도록 조작된다. 음성 선택가능한 표현형은 투여된 물질, 예를 들어 어떤 화합물에 민감성을 부여하는 유전자의 삽입 결과일 수 있다. 음성 선택성 유전자에는 간시클로비어 민감성을 부여하는 I형 단순포진 바이러스 티미딘 키나아제(HSV-I TK) 유전자 (Wigler 외, Cell II :223, 1977); 세포성 하이포잔틴 포스포리보실트랜스퍼라제(HPRT) 유전자, 세포성 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라제(APRT) 유전자, 세균성 시토신 테아미나제(Mullen 외, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89:33 (1992))가 포함된다.

[0272] [0277] 몇몇 측면에서, 세포는 추가로 시토카인 또는 기타 인자들의 발현을 촉진하도록 조작된다. 유전자 조작된 성분들, 예컨대 항원 수용체, 예컨대 CAR의 도입을 위한 다양한 방법이 잘 알려져 있으며, 본 발명의 방법 및 조성물에 이용될 수 있다. 예시적인 방법에는 수용체를 인코딩하는 핵산을 바이러스, 예컨대 레트로바이러스 또는 렌티바이러스를 경유하여 전달하는 것들, 형질도입, 트랜스포존 및 전기영동 등의 방법이 있다.

[0273] [0278] 몇몇 구체예에서, 재조합 핵산은 예컨대 시미안 바이러스 40(SV40), 아데노바이러스, 아데노-관련 바이러스(AAV)로부터 유래된 벡터와 같은 재조합 감염성 바이러스 입자들을 이용하여 세포 내로 도입된다. 몇몇 구체예에서, 재조합 핵산은 재조합 렌티바이러스 벡터 또는 레트로바이러스 벡터, 예를 들면 감마-레트로바이러스 벡터를 이용하여 T 세포 내로 전달된다 (참조: 예컨대, Koste 외 (2014) Gene Therapy 2014 Apr 3. doi: 10.1038/gt.2014.25; Carlens 외 (2000) Exp Hematol 28(10): 1137-46; Alonso-Camino 외 (2013) Mol Ther Nucl Acids 2, e93; Park 외, Trends Biotechnol. 2011 November 29(11): 550-557).

[0274] [0279] 몇몇 구체예에서, 레트로바이러스 벡터는 긴 말단 반복 서열(LTR), 예컨대, 멜로니 쥐 백혈병 바이러스(MoMLV)로부터 유래된 레트로바이러스 벡터, 골수증식 육종 바이러스(MPSV), 쥐의 배아 줄기세포 바이러스(MESV), 쥐의 줄기세포 바이러스(MSCV), 골수 포커스 형성 바이러스(SFFV), 또는 아데노-관련 바이러스(AAV)를 갖는다. 대부분의 레트로바이러스 벡터는 쥐의 레트로바이러스로부터 유래된 것이다. 몇몇 구체예에서, 레트로바이러스는 조류 또는 포유동물 세포 소스로부터 유래된 것들을 포함한다. 레트로바이러스는 일반적으로 양생(amphotropic)인데, 이는 이들이 인간을 비롯하여 몇몇 종의 숙주 세포를 감염시킬 수 있음을 의미한다. 일 구체예에서, 발현될 유전자는 레트로바이러스 gag, pol 및/또는 env 서열을 대체한다. 몇몇 예시적인 레트로바이러스 시스템이 설명된 바 있다(예컨대, 미국특허 Nos. 5,219,740; 6,207,453; 5,219,740; Miller 및 Rosman (1989) BioTechniques 7:980-990; Miller, A. D. (1990) Human Gene Therapy 1:5-14; Scarpa 외 (1991) Virology 180:849-852; Burns 외 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:8033-8037; 및 Boris-Lawrie 및 Temin (1993) Cur. Opin. Genet. Develop. 3:102-109 참조).

[0275] [0280] 렌티바이러스 형질도입 방법이 알려져 있다. 예시적인 방법은 예컨대 문헌 [Wang 외 (2012) J. Immunother. 35(9): 689-701; Cooper 외 (2003) Blood. 101:1637-1644; Verhoeyen 외 (2009) Methods Mol

Biol. 506: 97-114; 및 Cavalieri 외 (2003) *Blood.* 102(2): 497-505]에 설명되어 있다.

[0276] [0281] 몇몇 구체예에서, 재조합 핵산은 전기영동을 통해 T 세포에 전달된다 (참조: 예컨대, Chicaybam 외, (2013) *PLoS ONE* 8(3): e60298 및 Van Tede1oo 외 (2000) *Gene Therapy* 7(16): 1431-1437). 몇몇 구체예에서, 재조합 핵산은 전좌(transposition)을 통해 T 세포에 전달된다 (참조: 예컨대, Manuri 외 (2010) *Hum Gene Ther* 21(4): 427-437; Sharma 외 (2013) *Molec Ther Nucl Acids* 2, e74; 및 Huang 외 (2009) *Methods Mol Biol* 506: 115-126). 면역 세포에서 유전자 물질을 도입 및 발현하는 그 밖의 방법으로는 인산칼슘 형질도입 (예컨대, 문헌 *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York. N.Y.에 설명됨), 원형 질 융합, 양이온성 리포좀-매개된 형질감염; 텅스텐 입자-보조된 마이크로입자 폭발법 (Johnston, *Nature*, 346: 776-777 (1990)); 및 인산 스트론튬 DNA 공침법 (Brash 외, *Mol. Cell Biol.*, 7: 2031-2034 (1987))을 들 수 있다.

[0277] [0282] 재조합 산물을 인코딩하는 핵산의 전달을 위한 그 밖의 접근법 및 벡터는 예컨대 국제특허출원 공개 No.: WO2014055668, 및 미국특허 No. 7,446,190에 설명되어 있다.

[0278] [0283] 부가적인 핵산, 예컨대 도입을 위한 유전자들은 예를 들면 전달된 세포의 생존능 및/또는 기능을 촉진함으로써 치료 효능을 개선시키기 위한 것들; 예컨대 생체내 생존 또는 국소화를 평가하기 위해, 세포의 선택 및/또는 평가를 위한 유전자 마커를 제공하기 위한 유전자; 예컨대 생체내 음성 선택에 세포를 민감하게 만듦으로써 안전성을 향상시키기 위한 유전자들이다, 예컨대 문헌 [Lupton S. D. 외, *Mol. 및 Cell Biol.*, 11:6 (1991); 및 Riddell 외, *Human Gene Therapy* 3:319-338 (1992) 참조; 또한 음성 선택가능한 마커와 우점 양성 선택성 마커를 융합시킴으로써 유래된 이기능성 선택가능한 융합 유전자의 사용을 설명하는 PCT/US91/08442 및 PCT/US94/05601 by Lupton 외, 참조]. 예컨대 문헌 [Riddell 외, 미국특허 No. 6,040,177, 컬럼 14-17] 참조.

조작을 위한 세포 준비

[0281] [0284] 몇몇 구체예에서, 조작된 세포의 준비는 1 이상의 배양 및/또는 준비 단계를 포함한다. CD19-결합 분자, 예컨대, CAR의 도입을 위한 세포는 샘플, 예컨대 생물학적 샘플, 예컨대 대상자로부터 수득 또는 유래된 샘플로부터 분리될 수 있다. 몇몇 구체예에서, 세포가 분리되는 대상자는 세포 요법을 필요로 하는 질병 또는 병태에 걸린 대상자 또는 세포 요법이 투여될 대상자이다. 몇몇 구체예에서 대상자는 특정한 치료적 개재, 예를 들면 세포가 분리, 가공 및/또는 조작될 입양 세포 치료법을 필요로 하는 인간이다.

[0282] [0285] 따라서, 몇몇 구체예에서 세포는 일차 세포, 예컨대 일차 인간 세포이다. 샘플에는 대상자로부터 직접 채취된 조직, 유액(fluid), 및 기타 세포 뿐만 아니라 분리, 원심분리, 유전자 조작 (예컨대 바이러스 벡터를 이용한 형질도입), 세척, 및/또는 인큐베이션과 같은 한 가지 이상의 프로세싱 단계의 결과 얻어지는 샘플이 포함된다. 생물학적 샘플은 프로세싱되는 샘플 또는 생물학적 공급원으로부터 직접 얻어지는 샘플일 수 있다. 생물학적 샘플의 비제한적인 예로는 체액, 예컨대 혈액, 혈장, 혈청, 뇌척수액, 활액, 뇨 및 땀, 조직 및 장기 샘플 및 이들로부터 유래된 프로세싱된 샘플을 들 수 있다.

[0283] [0286] 몇몇 측면에서, 세포가 유래 또는 단리되는 샘플은 혈액 또는 혈액-유래된 샘플이거나 또는 성분채집술 또는 백혈구성분채집술 생성물로부터 유래된 것이다. 예시적인 샘플로는 전혈, 말초혈액단핵 세포(PBMCs), 백혈구, 골수, 흉선, 조직 생검, 종양, 백혈병, 림프종, 림프절, 장연관 림프조직, 점막연관 림프조직, 비장, 기타 림프조직, 간, 폐, 위, 소장, 결장, 신장, 췌장, 유방, 뼈, 전립선, 자궁경부, 고환, 난소, 편도, 또는 기타 장기, 및/또는 이들로부터 유래된 세포를 들 수 있다. 예컨대, 입양세포 치료와 같은 세포 치료 맥락에서 샘플에는 예컨대 자가 공급원 및 동종이계 공급원으로부터의 샘플이 포함된다.

[0284] [0287] 몇몇 구체예에서, 세포는 세포주, 예컨대, T 세포주로부터 유래된다. 몇몇 구체예에서 세포는 이종발생 (xenogeneic) 공급원, 예컨대 마우스, 래트, 비인간 영장류 및 돼지로부터 수득된다.

[0285] [0288] 몇몇 구체예에서, 세포 또는 세포 집단들의 단리는 하나 이상의 제조 및/또는 비-친화성 기반 세포 단리 단계를 포함한다. 몇 가지 예에서, 세포들은 예컨대 원치 않는 성분들을 제거하고, 원하는 성분들을 농축시키거나, 특정 시약에 민감한 세포들을 용해 또는 제거하기 위한 1종 이상의 시약의 존재 하에, 세척, 원심분리, 및/또는 인큐베이션된다. 몇 가지 예에서, 세포들은 밀도, 흡착 특성, 크기, 민감성 및/또는 특정 성분에 대한 내성과 같은 하나 이상의 성질에 기반하여 분리된다.

[0286] [0289] 몇 가지 예에서, 대상자의 순환 혈액으로부터 예컨대 성분채집술 또는 백혈구성분채집술에 의해 세포를 수득한다. 몇몇 측면에서 샘플은 림프구, 예컨대 T 세포, 단핵구, 과립구, B 그 밖에 유핵 백혈구 세포, 적혈구

세포, 및/또는 혈소판을 포함하며 몇몇 측면에서 적혈구 세포 및 혈소판 이외의 세포들을 함유한다.

[0287] [0290] 몇몇 구체예에서, 대상자로부터 수집된 혈액 세포들을 세척하여 예컨대 혈장 분획을 제거하고 후속 프로세싱 단계를 위하여 세포를 적절한 완충액 또는 배지에 넣는다. 몇몇 구체예에서, 세포들을 인산완충염수(PBS)로 세척한다. 몇몇 구체예에서, 세척용액은 칼슘 및/또는 마그네슘 및/또는 다수의 또는 모든 2가 양이온을 결여한다. 몇몇 측면에서, 세척 단계는 제조사 지침에 따라 반자동화식 "병류(flow-through)" 원심분리 (예컨대, Cobe 2991 세포 프로세서, Baxter)에 의해 달성된다. 몇몇 측면에서, 세척 단계는 제조사 지침에 따라 탄젠트 유동 여과(tangential flow filtration: TFF)에 의해 달성된다. 몇몇 구체예에서, 세포는 예컨대 $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ 가 없는 PBS와 같은 다양한 생체적합성 완충액에 재현탁된다. 특정 구체예에서, 혈액세포 샘플 성분들을 제거하고 세포들을 배양 배지에 직접 혼탁시킨다.

[0288] [0291] 몇몇 구체예에서, 본 발명의 방법은 적혈구 세포의 용해 및 Percoll 또는 Ficoll 구배를 통한 원심분리에 의해 말초혈액으로부터 백혈구 세포를 준비하는 것과 같은, 밀도-기반 세포 단리방법을 포함한다.

[0289] [0292] 몇몇 구체예에서, 단리 방법은 세포 내 하나 이상의 특이 분자, 예컨대 표면 마커, 예컨대 표면 단백질, 세포내 마커 또는 핵산의 발현 또는 존재여부에 기초하여 상이한 세포 유형을 분리하는 것을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 이러한 마커에 기반한 공지의 분리 방법들이 이용될 수 있다. 몇몇 구체예에서, 분리는 친화성- 또는 면역친화성-기반 분리이다. 예컨대, 몇몇 측면에서 단리는 세포 발현 또는 전형적으로 세포 표면 마커와 같은 하나 이상의 마커의 발현 수준에 기초하여 세포 및 세포 집단을 분리하는 것을 포함하며, 예컨대 이러한 마커에 특이적으로 결합하는 항체 또는 결합 파트너와 함께 인큐베이션한 다음, 일반적으로 세척 단계 및, 항체 또는 결합 파트너와 결합된 세포를 항체 또는 결합 파트너와 결합하지 않은 세포들로부터 분리함으로써 달성된다.

[0290] [0293] 이러한 분리 단계는 시약과 결합한 세포가 추가 사용을 위해 유지되는 양성 선택 및/또는 항체 또는 결합 파트너에 결합되지 않은 세포들이 유지되는 음성 선택에 기초할 수 있다. 몇 가지 예에서, 두 가지 분획 모두 추가 사용을 위해 유지된다. 몇몇 측면에서, 음성 선택은 소망되는 집단 이외의 세포에 의해 발현되는 마커에 기초하여 분리가 최선으로 수행되는 것인, 이종 집단 내의 세포 유형을 특이적으로 동정할 수 있는 항체가 없을 경우 특히 유용할 수 있다.

[0291] [0294] 분리에 의해 특정 마커를 발현하는 세포 특정 세포 집단 또는 세포가 반드시 100% 농축되거나 제거되는 것은 아니다. 예컨대, 마커를 발현하는 것과 같은 특정 유형의 세포에 대한 농축 또는 양성 선택은 그러한 세포의 갯수 또는 밸분율을 증가시키는 것을 가리키는 것이지 그 마커를 발현하지 않는 세포의 완전한 부재를 반드시 결과시키는 것은 아니다. 마찬가지로, 예컨대 마커를 발현하는 것처럼 어떤 특정한 유형의 세포의 음성 선택, 제거 또는 고갈은 이러한 세포의 갯수 또는 밸분율을 감소시키는 것을 가리키는 것일 뿐 이러한 모든 세포의 완전한 제거를 반드시 결과시키는 것은 아니다.

[0292] [0295] 몇 가지 예에서, 분리 단계를 복수 라운드로 수행하는데, 이 경우 어떤 한 단계로부터 양성 또는 음성 선택된 분획을 후속적인 양성 또는 음성 선택과 같은 또 다른 분리 단계로 처리한다. 몇 가지 예에서, 음성 선택에 표적화된 마커에 대해 각각 특이적인 복수개의 항체 또는 결합 파트너와 세포를 함께 인큐베이션시킴으로써, 단일 분리 단계에 의해 복수개의 마커를 동시에 발현하는 세포를 고갈시킬 수 있다. 마찬가지로, 다양한 세포 종류에서 발현되는 복수개의 항체 또는 결합 파트너와 세포를 함께 인큐베이션시킴으로써 복수개의 세포 종류들을 동시에 양성 선택할 수 있다.

[0293] [0296] 예컨대, 몇몇 측면에서, 예컨대, CD28^+ , CD62L^+ , CCR7^+ , CD27^+ , CD127^+ , CD4^+ , CD8^+ , CD45RA^+ , 및/또는 CD45RO^+ T 세포와 같은, 하나 이상의 표면 마커를 높은 수준으로 발현하거나 이에 대해 양성인 세포와 같은 T 세포의 특별한 하위집단이 양성 또는 음성 선택 기술에 의해 단리된다.

[0294] [0297] 예컨대, CD3^+ , CD28^+ T 세포는 CD3/CD28 컨쥬게이트된 자기 비드 (예컨대, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T Cell Expander)를 이용하여 양성 선택될 수 있다.

[0295] [0298] 몇몇 구체예에서, 단리는 양성 선택에 의한 특정 세포 집단에 대한 농축 또는 음성 선택에 의한 특정 세포 집단의 고갈에 의해 수행된다. 몇몇 구체예에서, 양성 또는 음성 선택은 각각 양성 또는 음성 선택된 세포 상에서 비교적 고수준 (마커^{하이})으로 또는 발현되는 (마커⁺) 하나 이상의 표면 마커에 특이적으로 결합하는 1종 이상의 항체 또는 기타 결합체와 세포를 함께 인큐베이션함으로써 달성된다.

[0296] [0299] 몇몇 구체예에서, T 세포는 비-T 세포, 예를 들면 B 세포, 단핵구, 또는 기타 백혈구 세포, 예를 들면

CD14 상에서 발현되는 마커의 음성 선택에 의해 PBMC 샘플로부터 분리된다. 몇몇 측면에서, CD4⁺ 또는 CD8⁺ 선택 단계를 이용하여 CD4⁺ 헬퍼 및 CD8⁺ 세포독성 T 세포를 분리한다. 이러한 CD4⁺ 및 CD8⁺ 집단은 1 이상의 나이브, 기억 및/또는 이펙터 T 세포 서브집단 상에서 상대적으로 더 높은 정도로 발현되거나 발현된 마커에 대해 양성 또는 음성 선택에 의해 서브집단으로 추가 소팅될 수 있다.

[0297] [0300] 몇몇 구체예에서, CD8⁺ 세포를 나이브 중심 기억, 이펙터 기억, 및/또는 중심 기억 줄기 세포에 대해, 예컨대 이들 각각의 하위집단과 연계된 표면 항원에 기초한 양성 또는 음성 선택에 의해, 추가로 농축 또는 고갈시킨다. 몇몇 구체예에서, 효능 증가를 위해, 예컨대 투여 후 장기간 생존, 증식 및/또는 이식을 위해 중심 기억 T (T_{CM}) 세포에 대한 농축이 수행되는데, 이는 몇몇 측면에서 이러한 하위집단들에서 특히 원기왕성하다. 참조 [Terakura et al. (2012) Blood.1:72-82; Wang et al. (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701]. 몇몇 구체예에서, T_{CM} -농축된 CD8⁺ T 세포와 CD4⁺ T 세포의 조합에 의해 효능이 추가로 향상된다.

[0298] [0301] 몇몇 구체예에서, 기억 T 세포는 CD8⁺ 말초 혈액 램프구의 CD62L⁺ 및 CD62L- 서브세트 양쪽 모두에 존재한다. PBMC는 예컨대 항-CD8 및 항-CD62L 항체를 이용함으로써, CD62L-CD8⁺ 및/또는 CD62L⁺CD8⁺ 분획을 농축 또는 고갈시킬 수 있다.

[0299] [0302] 몇몇 구체예에서, 중심 기억 T (T_{CM}) 세포의 농축은 CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3, CD27 및/또는 CD127의 양성 또는 높은 표면 발현에 기초한다; 몇몇 측면에서, 이것은 CD45RA 및/또는 그랜자임(granzyme) B를 발현 또는 고도로 발현하는 세포에 대한 음성 선택에 기반한다. 몇몇 측면에서, T_{CM} 세포가 농축된 CD8⁺ 집단의 단리는 CD4, CD14, CD45RA를 발현하는 세포의 고갈 및 CD62L를 발현하는 세포의 양성 선택 또는 농축에 의해 수행된다. 일 측면에서, 중심 기억 T (T_{CM}) 세포에 대한 농축은 CD14 및 CD45RA의 발현에 기초한 음성 선택 및 CD62L에 기초한 양성 선택 처리되는 CD4 발현에 기초하여 선택된 세포들의 음성 분획으로부터 출발하여 수행된다. 몇몇 측면에서 이러한 선택은 동시적으로 수행되며 또 다른 측면에서는 순서와 상관없이 순차적으로 수행된다. 몇몇 측면에서, CD8⁺ 세포 집단 또는 하위집단을 준비하는데 사용된 것과 동일한 CD4 발현-기반 선택 단계를, CD4⁺ 세포 집단 또는 하위집단을 생성하는데 이용함으로써, CD4-기반 분리로부터의 양성 및 음성 분획 양방 모두를 유지하여 후속 단계에서 이용할 수 있으며, 한 가지 이상의 추가적인 양성 또는 음성 선택 단계를 임의로 더 실시할 수 있다.

[0300] [0303] 특정 예에서, PBMCs 샘플 또는 기타 백혈구 세포 샘플을 CD4⁺ 세포 선택 처리하여, 음성 분획과 양성 분획 양자 모두를 유지시킨다. 이어서 음성 분획을 CD14 및 CD45RA 또는 CD19의 발현에 기반하여 음성 선택하고, 중심 기억 T 세포, 예컨대 CD62L 또는 CCR7에 특징적인 마커에 기초하여 양성 선택하되, 이 때 양성 선택과 음성 선택을 순서와 관계없이 수행한다.

[0301] [0304] 세포 표면 항원을 가는 세포 집단을 동정함으로써 CD4⁺ T 헬퍼 세포를 나이브, 중심 기억 및 이펙터 세포로 소팅한다. CD4⁺ 램프구는 표준 방법에 의해 수득 가능하다. 몇몇 구체예에서, 나이브 CD4⁺ T 램프구는 CD45RO⁻, CD45RA⁺, CD62L⁺, CD4⁺ T 세포이다. 몇몇 구체예에서, 중심 기억 CD4⁺ 세포는 CD62L⁺ 및 CD45RO⁺이다. 몇몇 구체예에서, 이펙터 CD4⁺ 세포는 CD62L⁻ 및 CD45RO⁻이다.

[0302] [0305] 일례에서, 음성 선택에 의해 CD4⁺ 세포를 농축하기 위해, 모노클로날 항체 카테일은 일반적으로 CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR, 및 CD8에 대한 항체를 포함한다. 몇몇 구체예에서, 항체 또는 결합 파트너는 고상지지체 또는 매트릭스, 예를 들면 자성 비드 또는 상자성 비드와 결합되어 양성 및/또는 음성 선택으로 세포를 분리시킬 수 있다. 예컨대, 몇몇 구체예에서, 세포 및 세포 집단은 면역자성(또는 친화자성) 분리 기술에 의해 분리 또는 단리된다 (문헌 Methods in Molecular Medicine, vol. 58: Metastasis Research Protocols, Vol. 2: Cell Behavior In Vitro and In Vivo, p 17-25 Edited by: S. A. Brooks 및 U. Schumacher " Humana Press Inc., Totowa, NJ에서 검토됨).

[0303] [0306] 몇몇 측면에서, 분리하고자 하는 세포의 샘플 또는 조성물은 자성 반응성 입자 또는 마이크로입자, 예컨대 상자성 비드 (예컨대 Dynalbeads 또는 MACS 비드)와 같이 자화가능하거나 또는 자성적으로 반응성인 소형 물

질과 함께 인큐베이션된다. 자성적으로 반응성인 물질, 예컨대, 입자는 일반적으로 분리하고자 하는, 예컨대 양성 또는 음성 선택이 요구되는 세포 또는 세포 집단 상에 존재하는 예컨대 표면 마커와 같은 분자에 특이적으로 결합하는 항체와 같은 결합 파트너에 일반적으로 직접 또는 간접적으로 결합된다.

[0304] [0307] 몇몇 구체예에서, 자성 입자 또는 비드는 항체 또는 기타 결합 파트너와 같은 특이적인 결합 멤버에 결합된 자성적으로 반응성인 물질을 포함한다. 이 분야에는 자성 분리방법에 사용되는 자성적으로 반응성인 많은 물질들이 알려져 있다. 적절한 자성 입자에는 Molday의 미국특허 No. 4,452,773, 및 유럽 특허 명세서 EP 452342 B에 설명된 것들이 포함되며, 이를 문한은 본 발명에 참조 통합되었다. 그 밖의 예로는 예컨대 Owen의 미국특허 No. 4,795,698, 및 Liberti 등의 미국특허 No. 5,200,084에 설명된 콜로이드 크기의 입자를 들 수 있다.

[0305] [0308] 인큐베이션은 일반적으로 항체 또는 결합 파트너 또는 문자, 이러한 항체 또는 결합 파트너에 특이적으로 결합하고 자성 입자 또는 비드에 결합된 예컨대 2차 항체 또는 기타 시약이 샘플 내 세포 상에 존재할 경우 세포 표면 문자에 특이적으로 결합하는 그러한 조건 하에서 수행된다.

[0306] [0309] 몇몇 측면에서, 샘플은 자기장에 놓이며, 자성적으로 반응성인 세포 또는 그에 결합된 자화가능한 입자들이 자석에 이끌려 비표지 세포로부터 분리된다. 양성 선택의 경우, 자석에 유인되는 세포들이 유지된다; 음성 선택의 경우, 유인되지 않는 세포(비표지 세포)가 유지된다. 몇몇 측면에서, 동일한 선택 단계 동안 양성 및 음성 선택의 조합을 수행하여, 양성 및 음성 분획을 유지하여 추가 분리 단계로 처리하거나 또는 추가 프로세싱한다.

[0307] [0310] 특정 구체예에서, 자성적으로 반응성인 입자들은 일차 항체 또는 기타 결합 파트너, 이차 항체, 렉틴, 효소, 또는 스트렙트아비딘에서 코팅된다. 특정 구체예에서, 자성 입자들은 하나 이상의 마커에 특이적인 일차 항체의 코팅을 통해 세포에 결합된다. 특정 구체예에서는 비드가 아닌 세포가 일차 항체 또는 결합 파트너로 표시된 다음, 세포-유형 특이적인 이차 항체- 또는 기타 결합 파트너(예컨대, 스트렙트아비딘)-코팅된 자성 입자가 첨가된다. 특정 구체예에서, 스트렙트아비딘-코팅된 자성 입자들은 바이오티널화된 일차 또는 이차 항체와 연계적으로 사용된다.

[0308] [0311] 몇몇 구체예에서, 자성적으로 반응성인 입자들은 후속적으로 인큐베이션, 배양 및/또는 조작될 세포에 부착된 채로 방치된다; 몇몇 측면에서, 이를 입자들은 환자에 대한 투여를 위해 세포에 부착된 채로 방치된다. 몇몇 구체예에서, 자화가능한 또는 자성적으로 반응성인 입자들이 세포로부터 제거된다. 세포로부터 자화가능한 입자를 제거하는 방법은 공지이며 여기에는 예컨대 경쟁적 비-표지 항체의 사용, 자화가능한 입자 또는 절단 가능한 링커에 컨쥬게이션된 항체의 사용, 등이 포함된다. 몇몇 구체예에서, 자화가능한 입자들은 생분해성이다.

[0309] [0312] 몇몇 구체예에서, 친화성-기반 선택은 자기-활성화 세포 소팅(MACS) (Miltenyi Biotech, Auburn, CA)을 경유한다. 자기 활성화 세포 소팅(MACS) 시스템은 그에 결합된 자화된 입자들을 갖는 세포의 고순도 선택이 가능하다. 특정 구체예에서, MACS은 비표적 종 또는 표적 종이 외부 자기장 인가 후에 순차적으로 용리되는 방식으로 작동한다. 즉, 자화된 입자에 부착된 세포들은 그 자리에 유지되는 반면 부착되지 않은 종들은 용리된다. 이어서, 이 1차 용리 단계가 종결된 후, 자기장에 포획된 종들 및 용리되지 않은 종들이 용리 및 회수 가능한 몇몇 방식으로 병출된다. 특정 구체예에서, 비-표적 세포가 표지되어 이질적인 세포 집단으로부터 고갈된다.

[0310] [0313] 특정 구체예에서, 단리 또는 분리는 당해 방법의 단리, 세포 준비, 분리, 가공, 인큐베이션, 배양 및/또는 제형화 단계를 1 이상 수행하는 시스템, 디바이스 또는 장치를 이용하여 수행된다. 몇몇 측면에서, 시스템은 예컨대 실수, 사용자 핸들링 및/또는 오염으로 최소화하기 위해 밀폐 또는 멸균 환경에서 이들 단계들을 각각 수행하는데 이용된다. 일례에서, 시스템은 국제특허출원, 공개번호 WO2009/072003, 또는 US 20110003380 A1에 설명된 바와 같은 시스템이다.

[0311] [0314] 몇몇 구체예에서, 시스템 또는 장치는 통합형 또는 자납식 시스템, 및/또는 자동화 또는 프로그램 방식으로, 단리, 가공, 조작 및 제형화 단계들 중 1 이상, 예컨대 모두를 수행한다. 몇몇 측면에서, 시스템 또는 장치는 사용자로 하여금 결과를 프로그램, 제어, 평가하거나 및/또는 가공, 단리, 조작 및 제형화 단계들의 다양한 측면을 조정할 수 있도록 해주는, 시스템 또는 장치와 교통하는 컴퓨터 프로그램 및/또는 컴퓨터를 포함한다.

[0312] [0315] 예컨대 밀폐 및 멸균 시스템에서 임상-규모 수준으로 세포를 자동화 분리하기 위해, 몇몇 측면에서, 분리 및/또는 기타 단계들은 CliniMACS 시스템을 이용하여 수행된다. 부품으로는 일체형 마이크로컴퓨터, 자성 분리 유닛, 연동 펌프, 다양한 펀치 밸브를 들 수 있다. 몇몇 측면에서 일체형 컴퓨터는 장비의 모든 부품들을 제

어하여 시스템으로 하여금 표준화된 시퀀스로 공정을 반복 수행하게 할 수 있다. 몇몇 측면에서 자성 분리 유닛은 이동 가능한 영구자석 및 선택 컬럼용 훌더를 포함한다. 연동 펌프는 투빙 세트를 통해 유속을 조절하고 펀치 벨브와 함께 시스템을 통한 완충액의 흐름과 세포의 지속적인 혼탁을 통제한다.

[0313] 몇몇 구체예에서, 자동화 분리, 예컨대 몇몇 측면에서 CliniMACS 시스템을 이용한 분리는 멀균된 비발열 성 용액에 공급되는 항체-커플링된 자화가능한 입자를 이용한다. 몇몇 구체예에서, 세포를 자성 입자로 표지한 후 세포들을 세척하여 과량의 입자를 제거한다. 이어서 세포 제조 백을 투빙 세트에 연결한 다음 이것을 완충액을 함유하는 백과 세포 수집 백에 연결한다. 투빙 세트는 예비-컬럼 및 분리 컬럼을 비롯하여, 미리-조립된 멀균 투빙으로 구성되며, 1회 사용만을 염두에 둔 것이다. 분리 프로그램 개시 후, 시스템은 세포 샘플을 분리 컬럼에 자동적으로 적용한다. 표지된 세포들은 컬럼 내에 유지되는 한편, 비표지 세포들은 일련의 세척 단계로부터 제거된다. 몇몇 구체예에서, 본 발명의 방법에 사용되기 위한 세포 집단은 표지되지 않으며 컬럼에 유지되지 않는다. 몇몇 구체예에서, 본 발명의 방법에 사용되기 위한 세포 집단은 표지되며 컬럼 내에 유지된다. 몇몇 구체예에서, 본 발명에 설명된 방법에 사용되기 위한 세포 집단은 자기장 제거 후 컬럼으로부터 용리되어, 세포 수집 백에 수집된다.

[0314] 특정 구체예에서, 분리 및/또는 기타 단계들은 CliniMACS Prodigy 시스템 (Miltenyi Biotec)을 이용하여 수행된다. CliniMACS Prodigy 시스템에는 몇몇 측면에서 자동화 세척 및 원심분리에 의한 세포의 분획화를 가능케 해주는 세포 가공 유닛이 구비되어 있다. CliniMACS Prodigy 시스템은 또한 소스 세포 산물의 현거시적인 층을 알아차림으로써 최적 분획화 종말점을 탐지하는 온보드 카메라 및 이미지 인식 소프트웨어를 포함할 수도 있다. 예를 들어, 말초 혈액을 적혈구, 백혈구 및 혈장 층 내로 자동 분리한다. CliniMACS Prodigy 시스템은 또한 예컨대 세포 분화 및 성장, 항원 로딩 및 장기간 세포 배양 등의 세포 배양 프로토콜을 달성하는 일체형 세포 배양 챔버를 포함할 수도 있다. 인풋 포트는 배지의 멀균 제거 및 재보충을 가능케하며 일체형 현미경을 이용하여 세포를 모니터링할 수 있다. 예컨대, Klebanoff et al. (2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660, Terakura et al. (2012) *Blood.* 1:72-82, 및 Wang et al. (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701 참조.

[0315] 몇몇 구체예에서, 복수개의 세포 표면 마커에 대해 염색된 세포를 유동 스트림에서 처리하는, 유세포분석법을 통해 본 발명에서 설명된 세포 집단을 수집 및 농축 (또는 고갈)시킨다. 몇몇 구체예에서, 예비 스캐일 (FACS)-소팅을 경유하여 본 발명에 설명된 세포 집단을 수집 및 농축한다. 특정 구체예에서는 FACS-기반 검출 시스템과 조합된 마이크로전기기계 시스템(MEMS)를 이용함으로써 본 발명에 설명된 세포 집단을 수집 및 농축 시킨다 (참조: 예컨대, WO 2010/033140, Cho 외 (2010) *Lab Chip* 10, 1567-1573; 및 Godin (2008) *J Biophoton.* 1(5):355-376). 양자 모두에 있어서, 세포를 복수개의 마커로 표지할 수 있으므로, 잘-장의된 T 세포 서브세트를 고순도로 단리해낼 수 있다.

[0316] 몇몇 구체예에서는, 양성 및/또는 음성 선택을 위한 분리를 용이화하기 위해 항체 또는 결합 파트너를 하나 이상의 검출 가능한 마커로 표지한다. 예컨대, 분리는 형광 표지된 항체에 대한 결합에 기초할 수 있다. 몇 가지 예에서, 1개 이상의 세포 표면 마커에 특이적인 항체 또는 기타 결합 파트너의 결합에 기초한 세포 분리를 유체 스트림에서, 예컨대, 예비 규모(FACS) 및/또는 미세전자기계 시스템(MEM) 칩을 비롯한, 형광-활성화 세포 소팅(FACS)에 의해, 유세포 검출 시스템과 조합하여 수행한다. 이러한 방법에 의해 복수 마커에 기초하여 양성 및 음성 선택을 동시에 수행할 수 있다.

[0317] 몇몇 구체예에서, 준비 방법은 세포를 단리, 인큐베이션 및/또는 조작하기 전 또는 후에 세포를 동결, 예컨대 동결보존하는 단계를 포함한다. 몇몇 구체예에서, 동결 및 후속되는 해동 단계는 세포 집단에서 과립구 및 어느 정도의 단핵구를 제거한다. 몇몇 구체예에서, 세포는 예컨대 혈장 및 혈소판 제거를 위한 세척 단계 후에 동결 용액 중에서 혼탁된다. 몇몇 측면에서, 다양한 공자의 동결 용액 및 변수들이 이용될 수 있다. 그 한 가지 예는 20% DMSO 및 8% 인간 혈청 알부민 (HSA)을 함유하는 PBS, 또는 기타 적절한 세포 동결 매질을 이용하는 것이다. 이어서 이를 매질과 1:1로 희석하여 DMSO 및 HSA의 최종 농도를 각각 10% 및 4%로 한다. 이어서 세포를 분당 1°C의 비율로 -80°C까지 동결시키고 증기상 액체질소 보관 탱크에서 보존한다.

[0318] 몇몇 구체예에서, 제공된 방법은 배양, 인큐베이션, 배양 및/또는 유전자 조작 단계를 포함한다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서, 고갈된 세포 집단 및 배양-개시 조성물을 인큐베이션 및/또는 조작하기 위한 방법이 제공된다.

[0319] 그러므로, 몇몇 구체예에서, 세포 집단은 배양-개시 조성물에서 인큐베이션된다. 인큐베이션 및/또는 조작은 배양 용기, 예를 들면, 세포를 배양 또는 재배하기 위한 유닛, 챔버, 웰, 컬럼, 투브, 투빙 세트, 벨브, 바이알, 배양 접시 또는 백에서 수행될 수 있다.

- [0320] [0323] 몇몇 구체예에서, 세포는 유전자 조작 전에 또는 그와 관련하여 인큐베이션 및/또는 배양된다. 인큐베이션 단계는 배양(culture), 배양(cultivation), 자극, 활성화, 및/또는 증식을 포함할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 조성물 또는 세포를 자극 조건 또는 자극 물질 존재 하에 인큐베이션한다. 이러한 조건은 항원 노출 모방, 및/또는 예를 들면 재조합 항원 수용체 도입과 같은 유전자 조작을 위한 세포 프라임을 위해, 집단에서 세포의 증식, 팽창, 활성화 및/또는 생존을 유도하도록 설계된 것들을 포함한다.
- [0321] [0324] 조건은 특정 배지, 온도, 산소 함량, 이산화탄소 함량, 시간, 물질, 예컨대 영양물질, 아미노산, 항생제, 이온, 및/또는 자극 인자, 예를 들면 시토카인, 케모카인, 항원, 결합 파트너, 융합 단백질, 재조합 가용성 수용체, 및 세포 활성화를 위해 설계된 기타 물질 중 1가지 이상을 포함할 수 있다.
- [0322] [0325] 몇몇 구체예에서, 자극 조건 또는 물질은 1 이상의 물질, 예컨대, TCR 복합체의 세포내 시그널링 도메인을 활성화시킬 수 있는 리간드를 포함한다. 몇몇 측면에서, 물질은 T 세포 내에서 TCR/CD3 세포내 시그널링을 촉발 또는 개시한다. 이러한 물질로는 항체, 예를 들면 TCR 성분 및/또는 공동자극 수용체에 특이적인 것들, 예컨대, 항-CD3, 항-CD28, 예를 들어, 비드와 같은 고상 지지체에 결합된 것, 및/또는 1 이상의 시토카인을 들 수 있다. 임의로, 증식 방법은 또한 배양 배지에 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체를 첨가하는 단계 (적어도 약 0.5 ng/ml의 농도로)를 추가로 포함할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 자극 물질은 IL-2 및/또는 IL-15을, 예를 들어, IL-2를 적어도 약 10 유닛/mL의 농도로 포함한다.
- [0323] [0326] 몇몇 측면에서, 인큐베이션은 Riddell 등의 미국특허 No. 6,040,177, Klebanoff et al. (2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660, Terakura et al. (2012) *Blood.* 117:72-82, 및/또는 Wang et al. (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701에 설명된 기술에 따라 수행된다.
- [0324] [0327] 몇몇 구체예에서, T 세포는 예컨대 비-분열성 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)와 같은 배양-개시 조성물을 피더 세포를 첨가함하고 (예컨대 결과적인 세포 집단이 증식시키고자 하는 초기 집단 중의 각각의 T 림프구에 대해 PBMC 피더 세포를 적어도 5, 10, 20, 또는 40배 또는 그 이상 함유하도록); 배양체를 인큐베이션 (예컨대 몇몇 T 세포들이 증식하는데 충분한 기간 동안) 함으로써 증식된다. 몇몇 측면에서, 비분열 피더 세포들은 감마선이 조사된 PBMC 피더 세포를 포함할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 세포 분열을 방지하기 위해 약 3000 내지 3600 rads 범위로 PBMC에 감마선을 조사한다. 몇몇 측면에서, T 세포 집단을 첨가하기에 앞서서, 배양 배지에 피더 세포를 첨가한다.
- [0325] [0328] 몇몇 구체예에서, 자극 조건은 인간 T 림프구의 성장에 적합한 온도예컨대, 적어도 약 25°C, 일반적으로 적어도 약 30도, 및 일반적으로 약 37°C를 포함한다. 필요에 따라, 인큐베이션은 피더 세포로서 비분열 EBV-형 질전환된 림프모구 세포(LCL)을 첨가하는 것을 더 포함할 수 있다. LCL에 약 6000 내지 10,000 rads 범위의 감마선을 조사할 수 있다. 몇몇 측면에서 LCL 피더 세포가 적절한 양, 예컨대 적어도 약 10:1의 초기 T 림프구에 대한 LCL 피더 세포 비율로서 제공된다.
- [0326] [0329] 구체예에서, 나이브 또는 항원 특이적인 T 림프구를 항원으로 자극함으로써 항원 특이적인 T 세포, 예컨대 항원 특이적인 CD4⁺ 및 CD8⁺ 수득할 수 있다. 예컨대, 감염된 대상자로부터 T 세포를 단리하고 시험관 내에서 상기 세포를 동일한 항원으로 자극시킴으로써, 시토메갈로바이러스 항원에 대한 항원-특이적인 T 세포주 또는 클론을 생성할 수 있다.
- [0327] **II. 조성물, 방법 및 용도**
- [0328] [0330] 또한 CD19 결합 분자 및 조작된 세포를 포함하는, 의약 조성물 및 제형과 같은 조성물, 및 예를 들어 CD19가 발현되는 질병, 병태 및 장애의 치료, 및/또는 검출, 진단 및 예후 방법에서 이들 분자 및 조성물을 이용하는 방법 및 용도가 제공된다.
- [0329] **A. 의약 조성물 및 제형(formulations)**
- [0330] [0331] 본 발명에 따라 CD19-결합 분자, 예컨대, 항체 또는 키메라 수용체, 및/또는 상기 분자를 발현하는 조작된 세포를 포함하는 의약 제형이 제공된다. 의약 조성물 및 제형은 임의로 1 이상의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 일반적으로 포함한다. 몇몇 구체예에서, 조성물을 적어도 1종의 부가적인 치료제를 포함한다.
- [0331] [0332] "의약 제형(pharmaceutical formulation)"이라는 용어는 그러한 형태에서, 그에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 유효하게끔 허용해주는 제제로서, 상기 제형이 투여될 대상자에게 허용불가능하게 독성인 부가적인 성분들을 전혀 함유하지 않는 제제를 가리킨다.

- [0332] [0333] "약학적으로 허용가능한 담체"라 함은 의약 조성물 내에서 활성 성분이 아니면서 대상자에게 비독성인 성분을 가리킨다. 약학적으로 허용가능한 담체의 비제한적인 예로는 완충제, 부형제, 안정화제 또는 보존제를 들 수 있다.
- [0333] [0334] 몇몇 측면에서, 담체의 선택은 부분적으로 특정한 세포, 결합 분자, 및/또는 항체, 및/또는 투여 방법에 따라 결정된다. 따라서, 적절한 제형이 다양하게 존재한다. 예를 들어, 의약 조성물은 보존제를 함유할 수 있다. 적절한 보존제로는 예컨대 메틸파라벤, 프로필파라벤, 소듐 벤조에이트, 및 염화 벤잘코늄을 들 수 있다. 몇몇 측면에서, 2종 이상의 보존제의 혼합물이 사용된다. 보존제 또는 그의 혼합물은 일반적으로 총 조성물 중 약 0.0001% 내지 약 2 중량%의 양으로 존재한다. 담체는 예컨대 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 설명되어 있다. 약학적으로 허용가능한 담체는 일반적으로 사용되는 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이며: 완충제 예컨대 포스페이트, 시트레이트 및 기타 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 비롯한 항산화제; 보존제(예를 들면 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드); 헥사메토늄 클로라이드; 벤잘코늄 클로라이드; 벤제토늄 클로라이드; 폐놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤 예를 들면 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥사놀; 3-펜타놀; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 잔기 미만) 폴리펩타이드; 단백질, 예를 들면 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 폴리머 예를 들면 폴리비닐피롤리돈; 아미노산 예를 들면 글라이신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 라이신; 단당류, 이당류 및 기타 탄수화물 예컨대 글루코스, 만노스 또는 텍스트린; 킬레이트화제 예를 들면 EDTA; 당 예를 들면 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 카운터-이온 예를 들면 소듐; 금속 복합체(예컨대 Zn-단백질 복합체); 및/또는 비-이온성 계면활성제 예를 들면 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)를 포함할 수 있으며 이들로 한정되지 않는다.
- [0334] [0335] 완충제는 몇몇 측면에서 조성물에 포함된다. 적절한 완충제의 예로는 시트르산, 소듐 시트레이트, 인산, 포타슘 포스페이트, 및 그 밖에 다양한 및 염을 들 수 있다. 몇몇 측면에서, 2종 이상의 완충제의 혼합물이 사용된다. 완충제 또는 그의 혼합물은 총 조성물에 대해 일반적으로 약 0.001% 내지 약 4 중량%의 양으로 존재한다. 투약가능한 의약 조성물의 제조 방법은 공지이다. 예시적인 방법은 예를 들면 문헌 [Remington: The Science 및 Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (May 1, 2005)]에 보다 자세히 설명되어 있다.
- [0335] [0336] 항체의 제형으로는 동결건조 제형 및 수용액을 들 수 있다.
- [0336] [0337] 제형 또는 조성물은 또한 결합 분자 또는 세포, 좋기로는 결합 분자 또는 세포에 상보적인 활성을 갖는 것들로 치료되는 특정 증상, 질병 또는 병태에 유용한 2종 이상의 활성 성분을 함유할 수 있으며, 여기서 각각의 활성은 서로 악영향을 미치지 않는 것이다. 이러한 활성 성분들은 목적하는 용도에 효과적인 양으로 조합하여 적절히 존재한다. 그러므로, 몇몇 구체예에서, 의약 조성물은 그 밖의 약학적 활성 물질 또는 약물, 예를 들면 화학치료제, 예컨대 아스파라기나제, 부술판, 카르보플라틴, 시스플라틴, 다우노루비신, 독소루비신, 플루오로우라실, 겨시타빈, 히드록시우레아, 토태세이트, 파클리탁셀, 리툭시맙, 빈블라스틴, 빙크리스틴 등을 추가로 포함한다. 몇몇 구체예에서, 세포 또는 항체는 염, 예컨대 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 투여된다. 약학적으로 허용가능한 적절한 산 부가염에는 무기산, 예를 들면 염산, 히드로브롬산, 인산, 메타인산, 질산 및 황산으로부터 유래된 것, 유기산, 예를 들면 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 말산, 락트산, 푸마르산, 벤조산, 글리콜산, 글루콘산, 숙신산 및 아릴술폰산, 예를 들어 p-톨루엔술폰산으로부터 유래된 것이 포함된다.
- [0337] [0338] 활성 성분들은 마이크로캡슐, 콜로이드상 약물 전달시스템(예를 들어, 리포좀, 알부민 마이크로스피아, 마이크로에멀젼, 나노-입자 및 나노캡슐) 또는 마크로에멀젼에 포집될 수 있다. 특정 구체예에서, 의약 조성물은 시클로덱스트린 봉입 복합체(inclusion compex)와 같은 봉입 복합체 또는 리포좀으로서 제형화된다. 리포좀은 숙주 세포(예컨대, T-세포 또는 NK 세포)를 특정 조직에 표적화시키는 기능을 할 수 있다. 리포좀을 제조하는 방법이 다수 알려져 있으며, 예컨대 문헌 [Szoka et al., Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 9: 467 (1980), 및 미국특허 4,235,871, 4,501,728, 4,837,028, 및 5,019,369]에 설명되어 있다.
- [0338] [0339] 몇몇 측면에서, 의약 조성물은 시간-방출형, 지연 방출 또는 서방형 전달 시스템을 이용할 수 있음으로 해서, 치료하고자 하는 부위의 감작화가 충분한 시간을 두고, 및 사전에 일어나도록 조성물이 전달된다. 많은 종류의 방출 전달 시스템이 이용가능하고 또 알려져 있다. 이러한 시스템은 조성물의 반복 투여를 회피시킬 수 있으므로, 대상자와 의사의 편의성을 제고해준다.
- [0339] [0340] 몇몇 구체예에서, 의약 조성물은 결합 분자 및/또는 세포를 질병 또는 병태를 치료 또는 예방하는데 효과적인 양, 예컨대 치료적 유효량 또는 예방적 유효량으로 포함한다. 몇몇 구체예에서 치료 또는 예방적 효능은

치료 대상자에 대한 주기적인 평가에 의해 모니터링된다. 병태에 따라 수일 또는 그 이상 반복 투여를 위해, 질병 증상의 소망되는 억제가 일어날 때까지 치료를 반복한다. 그러나, 다른 투여법도 유용할 수 있으며 찾아볼 수 있다. 소망되는 투여량은 조성물의 단일 볼러스(bolus) 투여, 조성물의 복수회 볼러스 투여 또는 조성물의 연속 주입 투여에 의해 전달될 수 있다.

[0340] [0341] 특정 구체예에서, 결합 분자를 함유하는 유전자 조작된 세포 측면에서, 대상자에게 약 100만 내지 1천억 세포, 예컨대, 백만 내지 500억 세포 (예컨대 약 5백만 세포, 약 2천5백만 세포, 약 5억 세포, 약 10억 세포, 약 50억 세포, 약 200억 세포, 약 300억 세포, 약 400억 세포, 또는 전술한 수치들 간의 여하한 범위), 예컨대 약 천만 내지 약 1천억 세포 (예컨대, 약 2천만 세포, 약 3천만 세포, 약 4천만 세포, 약 6천만 세포, 약 7천만 세포, 약 8천만 세포, 약 9천만 세포, 약 100억 세포, 약 250억 세포, 약 500억 세포, 약 750억 세포, 약 900억 세포 또는 전술한 수치들 간의 여하한 범위), 및 몇몇 경우 약 1억 세포 내지 약 500억 세포 (예컨대 약 1억 2천만 세포, 약 2억 5천만 세포, 약 3억 5천만 세포, 약 4억 5천만 세포, 약 6억 5천만 세포, 약 8억 세포, 약 9억 세포, 약 30억 세포, 약 300억 세포, 약 450억 세포) 또는 전술한 수치 범위 사이의 모든 값의 범위, 및/또는 대상자 체중 1 킬로그램 당 세포의 그러한 갯수로 투여된다.

[0341] [0342] 몇몇 구체예에서 세포 및 조성물은 표준 기술, 제형 및/또는 장치를 이용하여 투여된다. 조성물의 보관 및 투여를 위한 제형 및 장치, 예컨대 시린지 및 바이알이 제공된다. 세포의 투여는 동종 또는 이종일 수 있다. 예컨대, 한 대상자로부터 면역응답 세포 또는 전구세포(progenitors)를 수득하여 이를 동일 또는 상이한, 호환 가능한 대상자에게 투여할 수 있다. 말초혈액에서 유래하는 면역응답 세포 또는 그의 자손(예컨대 생체내, 생체외 또는 시험관내 유래됨)은 카테터 투여, 전신 주사, 국소 주사, 정맥 주사 또는 비경구 투여를 비롯한 국소화된 주사를 통해 투여될 수 있다. 치료 조성물(예컨대 유전자 변형된 면역응답 세포를 함유하는 의약 조성물)을 투여하는 경우, 일반적으로 주사가능한 단위 투여 제형(용액, 혼탁액, 에멀젼)으로서 제제화된다.

[0342] [0343] 몇몇 구체예에서 제형은 경구, 정맥내, 복강내, 피하, 폐, 경피, 근육내, 비강내, 협강내(buccal), 설하 또는 좌체 투여 경로로 투여된다. 몇몇 구체예에서, 세포 집단은 비경구 투여된다. 본 발명에서 "비경구"라는 용어는 정맥내, 근육내, 피하, 직장, 질내 및 복강내 투여를 포함한다. 몇몇 구체예에서, 세포 집단은 정맥내, 복강내 또는 피하 주사에 의한 말초 전신 전달을 이용하여 대상자에게 투여된다.

[0343] [0344] 몇몇 구체예에서, 조성물은 멸균 액상 제제, 예컨대 등장성 수용액, 혼탁액, 에멀젼, 분산액 또는 점성 조성물로서 제공되며, 이들은 몇몇 측면에서 선택된 pH로 완충될 수 있다. 액상 제제는 보통 젤, 기타 점성 조성물 및 고체 조성물에 비해 제조하기가 더 쉽다. 이에 더해, 액상 조성물은 특히 주사에 의해, 투여하기가 다소 더 간편하다. 다른 한편으로, 점성 조성물은 특정 조직과의 보다 장기간 접촉을 제공하기 위해 적절한 점도 범위를 갖도록 제제화될 수 있다. 액상 및 점성 조성물은 예컨대 물, 염수, 인산염 완충 염수, 폴리올(예컨대 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액상 폴리에틸렌 글리콜) 및 이들의 적절한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있는 담체를 포함할 수 있다.

[0344] [0345] 예컨대 적절한 담체, 희석제 또는 부형제, 예컨대 멸균수, 생리식염수, 글루코스, 텍스트로스 등과 혼합된 용매에 결합 분자를 혼입시킴으로써 주사가능한 멸균 용액을 제조할 수 있다. 조성물은 동결건조될 수도 있다. 투여 경로 및 소망되는 제제에 따라 조성물은 보조 물질, 예컨대 습윤제, 분산제 또는 유화제(예컨대 메틸셀룰로스), pH 완충제, 젤화제 또는 점도증강 첨가제, 방부제, 풍미제, 색소 등을 함유할 수 있다. 몇몇 측면에서 적절한 제제를 제조하기 위해, 표준 텍스트를 참조할 수 있다.

[0345] [0346] 항미생물 보존제, 항산화제, 킬레이팅제 및 완충제를 비롯하여, 조성물의 안정성과 멸균성을 향상시키는 다양한 첨가제가 첨가될 수 있다. 다양한 항균제 및 항진균제, 예컨대 파라벤, 클로로부탄올, 폐놀, 소르브산 등에 의하여 미생물의 작용을 방지할 수 있다. 예컨대 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴과 같은 흡수지연제를 이용함으로써 주사가능한 의약 형태를 장기간 흡수시킬 수 있다.

[0346] [0347] 지속-방출 제제를 제조할 수 있다. 지속-방출 제제의 적절한 예는 항체를 함유하는 고상 소수성 폴리머의 반투과성 매트릭스를 포함하며, 여기서 상기 매트릭스는 예컨대 필름 또는 마이크로캡슐과 같은 형상을 갖는 물품 형태이다.

[0347] [0348] 생체내 투여에 사용될 제형은 일반적으로 멸균된다. 멸균은 예컨대 멸균 여과막을 통해 여과함으로써 쉽게 달성가능하다.

B. 치료 및 예방 방법 및 용도

[0349] 또한 본 발명에 따라 CD19 결합 분자, 예컨대 항-CD19 항체, 예컨대, 항체 단편들, 및/또는 재조합 수용

체를 발현하는 조작된 세포의 이용 방법 및 사용이 제공된다. 이러한 방법 및 사용에는 치료방법 및 사용, 예를 들어, CD19 발현과 연관되거나 CD19를 발현하거나 및/또는 세포 또는 조작이 CD19를 발현하는 질병, 병태 또는 장애를 갖는 대상자에게 본 발명의 문자, 세포 또는 이들을 함유하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 문자, 세포, 및/또는 조성물은 질병 또는 장애를 치료하는데 효과적인 유효량으로 투여된다. 사용에는 이러한 방법 및 치료에 있어서 및 이러한 치료 방법을 수행하기 위한 의약의 제조에 있어서의 항체 및 세포의 사용이 포함된다. 몇몇 구체예에서, 이를 방법은 항체 또는 세포, 또는 이들을 포함하는 조성물을 상기 질병 또는 병태에 걸리거나 걸린 것으로 의심되는 대상자에게 투여함으로써 수행된다. 몇몇 구체예에서, 이를 방법은 그러므로 대상자에서 상기한 질병 또는 병태를 치료한다.

[0350] 본 발명에서 "치료" (및 그의 문법적 변형어들인 예컨대 "치료하다" 또는 "치료하는" 등의 표현)라 함은 질병이나 병태 또는 장애 또는 그와 관련된 증상, 유해 효과 또는 결과 또는 표현형의 완전한 또는 부분적 경감 또는 감소를 가리킨다. 치료의 소망되는 효과에는 질병의 발생의 예방 또는 재발 방지, 증상의 완화, 질병의 직접 또는 간접적인 병인학적 증상의 감소, 전이 예방, 질병 진행속도 저감, 질병 상태의 완화 또는 경감, 및 진정 또는 개선된 예후가 포함된다. 이 용어들은 질병의 완전한 치유 또는 여하한 증상 또는 모든 증상이나 결과의 효과(들)의 완전한 제거를 의미하는 것은 아니다.

[0351] 본 발명에서, "질병의 진행을 지연"한다는 의미는 질병(예를 들면 암)의 진행을 지연, 방해, 둔화, 지연, 안정화, 억제 및/또는 연기시킨다는 의미이다. 이러한 지연은 질병의 이력 및/또는 치료하고자 하는 개체에 따라 기간이 변화될 수 있다. 통상의 기술자에게 자명한 바와 같이, 충분하거나 유의적인 지연은 개체에서 질병을 진행시키지 않는다는 점에서 효과면에서 예방을 포함할 수 있다. 예를 들어, 말기암, 예를 들면 전이의 진행이 지연될 수 있다.

[0352] 본 발명에서 "예방"이라 함은 질병에 노출될 수 있으나 아직 질병에 걸린 것으로 진단되지는 않은 대상자에 있어서 질병의 발생 또는 재발과 관련하여 예방을 제공하는 것을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 제공된 문자 및 조성물은 질병의 진행을 지연시키거나 질병의 진행을 둔화시키는데 이용된다.

[0353] 본 발명에서 기능 또는 활성을 "억제"하는 것은 관심대상이니 병태 또는 변수를 제외하고 동일 병태에서 또는 다른 병태와 비교하여, 그 기능 또는 활성이 감소되는 것이다. 예를 들어, 종양 성장을 억제하는 항체 또는 조성물 또는 세포는 그 항체 또는 조성물 또는 세포 부재시의 종양의 성장 속도에 비해 종양의 성장 속도를 감소시킨다.

[0354] 어떤 물질 예컨대 의약 제형, 결합 문자, 항체, 또는 세포, 또는 조성물의 "유효량"은 투여 관점에서, 필요한 기간 동안 투여량/양에서, 원하는 결과, 예를 들면 치료 또는 예방 결과를 달성하는데 효과적인 양을 가리킨다.

[0355] 본 발명에서, 어떤 화합물 또는 조성물 또는 조합의 "치료적 유효량"이라 함은 이를테면 질병, 병태, 또는 장애의 치료와 같은 소망되는 치료적 결과를 달성하거나 및/또는 치료의 약동학적 또는 약력학적 효과를 달성하는 것을 가리키는데 효과적인 양을 가리킨다. 치료적 유효량은 예컨대 대상자의 질병 상태, 연령, 성별 및 체중, 그리고 투여되는 세포 집단들에 따라 달라질 수 있다. 몇몇 구체예에서, 제공된 방법은 유효량, 예컨대 치료적 유효량으로 문자, 세포, 및/또는 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

[0356] "예방적 유효량"이라 함은 소망되는 예방 결과를 달성하기 위해, 필요한 기간 동안 투여량에서, 효과적인 양을 가리킨다. 일반적으로, 그러나 반드시 필요하지는 않지만, 예방 투여량은 질병 발생 전 또는 발명 초기 단계에서 대상자에게 사용되므로, 예방학적 유효량은 치료적 유효량보다 적을 것이다.

[0357] 본 발명에서, "대상자"는 포유동물, 예를 들면 인간 또는 기타 동물이며 전형적으로는 인간이다. 질병 및 장애에는 B 세포 악성종양, 예를 들면 B 세포 백혈병 및 림프종, 예컨대 B 세포 만성 림프구성 백혈병(CLL), 급성 림프구성 백혈병 (ALL), 전립프구성 백혈병, 텔세포 백혈병, 공통 급성 림프구성 백혈병, 부재-급성 acute 림프모구 백혈병, 비-호지킨 림프종, 광범위 큰 B세포 림프종 (DLBCLs), 다발골수종, 소포 림프종, 비장, 변연부 림프종, 외투세포 림프종, 무통성 B 세포 림프종, 호지킨 림프종이 포함된다. 또한 질병 및 병태에는 자가면역 및 염증 질환, 예컨대 부적절하거나 증강된 B 세포 갯수 및/또는 활성화와 연관된 것들이 포함된다. 예시적인 질병 및 병태에는 다발골수종, 류마티스성 관절염 및 전신홍반루푸스 (SLE)가 포함된다.

[0358] 몇몇 구체예에서, 대상자는 예컨대, 또 다른 CD19-특이적 항체 및/또는 CD19-표적화 키메라 수용체를 발현하는 세포 및/또는 다른 치료법, 예컨대 화학요법, 방사능요법 및/또는 조혈 줄기세포 이식(HSCT), 예컨대 동종이계 HSCT 후에, 지속적 또는 재발된 질환을 갖는다. 몇몇 구체예에서, 대상자가 다른 CD19-표적화 치료법에

대해 내성적이 됨에도 불구하고, 치료법은 대상자를 효과적으로 치료한다. 몇몇 구체예에서, 대상자는 재발되지 않는 않았으나 재발 위험이 높은 것으로, 예를 들면 재발 위험이 높은 경우, 조성물 또는 화합물을 예방적으로, 예컨대 재발 가능성을 감소시키거나 재발을 방지하기 위한 양으로 투여한다.

[0359] 몇몇 구체예에서, 치료는 대상자에 의해 그 치료에 대한 면역반응을 유도하지 않고, 및/또는 질병 또는 병태의 효과적인 치료를 막는 정도로 반응을 유도하지 않는다. 몇몇 측면에서, 면역원성 정도 및/또는 그레프트 대 숙주 반응은 상이한 그러나 필적할만한 치료법에서 관찰된다. 예를 들어, 제공된 항-CD19 항체를 포함하여 CARs를 발현하는 세포를 이용하는 입양 세포 치료법의 경우, 면역원성 정도는 유사한 예컨대 중복되는 에피토프에 결합하는 상이한 항체 및/또는 CD19에 대한 결합을 두고 예를 들면 마우스 항체와 같은, 제조된 항체와 경쟁하는 상이한 항체를 포함하는 CAR에 비해 감소된다.

[0360] 몇몇 구체예에서, 본 발명의 방법은 입양 세포 치료법을 포함하며, 그에 따라, 제공된 항-CD19-함유 수용체(예컨대, CD19-표적화 CARs)를 발현하는 유전자 조작된 세포를 대상자에게 투여된다. 이러한 투여는 CD19-표적화 방식으로 세포의 활성화(예컨대 T 세포 활성화)를 촉진할 수 있음으로 해서, 질병 또는 장애의 세포가 파괴되도록 표적화시킨다.

[0361] 그러므로, 제공된 방법 및 사용은 입양 세포 치료법의 방법 및 사용을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 이 방법은 세포 또는 세포를 함유하는 조성물을 예를 들면 질병, 병태 또는 장애를 갖거나 가질 위험이 있거나 갖는 것으로 의심되는 대상자, 조직 또는 세포 등에게 투여하는 것을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 세포, 집단, 및 조성물은 예컨대, 입양 세포 치료법, 예를 들면 입양 T 세포 치료법을 통해, 특정 질병 또는 병태를 갖는 대상자에게 투여된다. 몇몇 구체예에서, 세포 또는 조성물은 대상자, 예를 들면 질병 또는 병태에 걸려있거나 걸릴 위험이 있는 대상자에게 투여된다. 몇몇 측면에서, 방법은 따라서 예컨대 CD19-발현 암에서 종양 부담을 감소시킴으로써, 질병 또는 병태의 1 이상의 증상을 예컨대 경감시키는 것과 같이 치료해준다.

[0362] 입양세포 치료를 위한 세포의 투여 방법은 공지이며 제공된 방법 및 조성물과 연계하여 이용될 수 있다. 예컨대, 입양 T 세포 치료방법은 Gruenberg 등의 미국 특허출원 공개 No. 2003/0170238; Rosenberg의 미국특허 No. 4,690,915; Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8(10):577-85)에 설명되어 있다. 예컨대, Themeli et al. (2013) Nat Biotechnol. 31(10): 928-933; Tsukahara et al. (2013) Biochem Biophys Res Commun 438(1): 84-9; Davila et al. (2013) PLoS ONE 8(4): e61338 참조.

[0363] 몇몇 구체예에서, 예컨대, 입양 세포 치료, 예컨대 입양 T 세포 치료와 같은 세포 치료는 자가 전달에 의해 수행되는데, 이 방식에서는 세포가 세포 치료를 받을 대상자로부터 단리 및/또는 달리 제조되거나, 또는 샘플이 유래하는 대상자로부터 제조된다. 따라서, 몇몇 측면에서, 치료를 필요로 하는 예컨대 환자와 같은 대상자로부터 세포가 유래되고 상기 세포는 단리 및 프로세싱 후에 동일한 대상자에게 투여된다.

[0364] 몇몇 구체예에서, 세포 치료, 예컨대, 예컨대 입양 세포 치료, 예컨대 입양 T 세포 치료는 동종이계 전달에 의해 수행되는데, 이 방식에서는 세포가 세포 치료를 받거나 궁극적으로 받게될 대상자가 아닌 다른 대상자, 예컨대 1차 대상자로부터 단리 및/또는 제조된다. 이러한 구체예에서, 세포는 상이한 대상자, 예컨대 동일한 종의 2차 대상자에게 투여된다. 몇몇 구체예에서, 1차 및 2차 대상자들은 유전적으로 동일하다. 몇몇 구체예에서, 1차 및 2차 대상자는 유전적으로 유사하다. 몇몇 구체예에서, 2차 대상자는 1차 대상자와 동일한 HLA 클래스 또는 수퍼타입을 발현한다.

[0365] 몇몇 구체예에서, 세포, 세포 집단, 또는 조성물이 투여되는 대상자는 인간과 같은 영장류이다. 몇몇 구체예에서, 영장류는 원숭이 또는 유인원이다. 대상자는 남성 또는 여성일 수 있고 유아, 소아, 청소년, 성인 및 노인 대상자를 비롯하여 연령 불문일 수 있다. 몇몇 구체예에서, 대상자는 설치류와 같은 비영장류 포유동물이다. 몇 가지 예에서, 환자 또는 대상자는 질병, 입양 세포 치료법, 및/또는 독성 경과 예컨대 시토카인 방출 증후군(CRS)를 평가하기 위한, 검정된 동물 모델이다.

[0366] The CD19-결합 분자, 예를 들면 항체 및 항체를 함유하는 키메라 수용체 및 이를 발현하는 세포를 적절한 수단, 예컨대 주사, 예컨대 정맥 주사, 망막하 주사, 유리체내 주사, 경중격 주사, 공막하 주사, 맥락막내 주사, 전방내 주사, subconjunctival 주사, subconjunctival 주사, 서브-Tenon 주사, 안구후 주사, 눈둘레 주사 또는 posterior juxtascleral 전달을 통해 투여할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 이들은 비경구, 폐내, 및 코 속으로, 그리고 필요한 경우 국소 치료, 병변내 투여에 의해 투여된다. 비경구 주입에는 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 또는 피하 투여가 포함된다. 투여량 및 투여는 부분적으로는 투여가 간단한지 또는 만성적인지에 따라 달라질 수 있다. 다양한 투여 스케줄이 이용가능하며 이의 비제한적인 예로는 다양한 시점에 걸쳐 단일 또는 복

수회 투여하는 것, 볼루스 투여, 및 펄스 주입하는 것들을 들 수 있다.

[0367] 질병의 예방 또는 치료를 위해, 결합 분자 또는 세포의 적절한 투여량은 치료하고자 하는 질병의 종류, 결합 분자의 종류, 질병의 위중도 및 경과, 결합 분자가 예방 목적을 위해서 아니면 치료 목적을 위해서 투여되는 것인지, 이전의 치료법, 환자의 임상 이력 및 결합 분자에 대한 반응 및 참여 의사의 재량에 따라 달라질 수 있다. 조성물 및 분자 및 세포는 몇몇 구체예에서 환자에게 한번에 또는 치료 시리즈에 걸쳐 적절히 투여된다.

[0368] 질병의 종류와 위중도에 따라, 항체의 투여량은 약 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 15 mg/kg (예컨대 0.1mg/kg-10mg/kg), 약 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 100 mg/kg 또는 그 이상, 약 0.05 mg/kg 내지 약 10 mg/kg , 0.5 mg/kg , 2.0 mg/kg , 4.0 mg/kg 또는 10 mg/kg 일 수 있다. 복수회 투여량을 간헐적으론, 예컨대 매주, 3주 마다 등의 방식으로 투여할 수 있다. 초기 높은 부하 투여량으로 투여한 다음 이보다 낮은 투여량으로 1회 이상 투여할 수 있다.

[0369] 특정 구체예에서, 결합 분자를 함유하는 유전자 조작된 세포 측면에서, 대상자에게 약 100만 내지 1천억 세포, 및/또는 체중 1 킬로그램 당 세포의 양, 예컨대, 백만 내지 500억 세포 (예컨대 약 5백만 세포, 약 2천5백만 세포, 약 5억 세포, 약 10억 세포, 약 50억 세포, 약 200억 세포, 약 300억 세포, 약 400억 세포, 또는 전술한 수치들 간의 여하한 범위), 예컨대 약 천만 내지 약 1천억 세포 (예컨대, 약 2천만 세포, 약 3천만 세포, 약 4천만 세포, 약 6천만 세포, 약 7천만 세포, 약 8천만 세포, 약 9천만 세포, 약 100억 세포, 약 250억 세포, 약 500억 세포, 약 750억 세포, 약 900억 세포 또는 전술한 수치들 간의 여하한 범위), 및 몇몇 경우 약 1억 세포 내지 약 500억 세포 (예컨대 약 1억 2천만 세포, 약 2억 5천만 세포, 약 3억 5천만 세포, 약 4억 5천만 세포, 약 6억 5천만 세포, 약 8억 세포, 약 9억 세포, 약 30억 세포, 약 300억 세포, 약 450억 세포) 또는 전술한 수치 범위 사이의 모든 값의 범위, 및/또는 체중 1 킬로그램 당 세포의 그러한 갯수로 투여된다.

[0370] 몇몇 구체예에서, 세포 또는 항체는 또 다른 치료적 개재, 예를 들면 또 다른 항체 또는 조작된 세포 또는 수용체 또는 제제, 예를 들면 세포독성 또는 치료제와 예컨대 동시, 순차 투여함으로서 조합 치료의 일부로서 투여된다.

[0371] 세포 또는 항체는 몇몇 구체예에서 1종 이상의 부가적인 치료제와 함께 또는 다른 치료적 개재와 함께 동시에 또는 순서 무관하게 순차적으로 공동 투여된다. 어떤 맥락에서, 세포는 그 세포 집단이 1종 이상의 부가적인 치료제의 효과를 증강시키도록 또는 부가적인 치료제가 세포 집단의 치료 효과를 증강시키도록, 상기 부가적인 치료와 시기적으로 충분히 가까운 시간 내에 공동 투여된다. 몇몇 구체예에서, 세포 또는 항체는 1종 이상의 부가적인 치료제의 투여 전에 투여된다. 몇몇 구체예에서, 세포 또는 항체는 1종 이상의 부가적인 치료제의 투여 후에 투여된다.

[0372] 일단 포유동물(예컨대 인간)에게 세포가 투여되면, 몇몇 측면에서 조작된 세포 집단의 생물학적 활성을 몇 가지 공지 방법에 의해 측정한다. 평가 파라미터에는 조작되거나 천연의 T 세포 또는 기타 면역 세포의 항원에 대한 특이적 결합이 포함된다 (영상화에 의해 생체내에서 또는 ELISA 또는 유세포분석법에 의해 생체외에서). 특정 구체예에서, 표적 세포를 파괴하는 조작된 세포의 능력은 기술분야의 적절한 공지 방법, 예컨대 문헌 [Kochenderfer et al., J. Immunotherapy, 32(7): 689-702 (2009), 및 Herman et al. J. Immunological Methods, 285(1): 25-40 (2004)]에 설명된 세포독성 분석법을 이용하여 측정된다. 특정 구체예에서, 세포의 생물학적 활성은 특정한 시토카인, 예컨대 CD 107a, IFN γ , IL-2, 및 TNF의 발현 및/또는 분비를 분석함으로써 측정된다. 몇몇 측면에서 생물학적 활성은 임상 결과, 예컨대 종양 부담 또는 로드의 감소를 평가함으로써 측정된다.

[0373] 특정 구체예에서, 조작된 세포는 그의 치료 또는 예방적 효능이 증가되도록, 여러 방식으로 변형된다. 예컨대, 집단에 의해 발현된 조작된 CAR 또는 TCR은 직접 또는 링커를 통해 간접적으로 표적화 부분에 컨쥬게이션될 수 있다. 화합물, 예컨대 CAR 또는 TCR을 표적화 부분에 컨쥬게이션시키는 것은 기술 분야에 공지이다. 예컨대, Wadwa et al., J. Drug Targeting 3: 1 1 1 (1995), 및 미국특허 5,087,616 참조.

C. 진단 및 검출 방법

[0374] 또한 검출, 예후, 진단, 단계 결정, 1 이상의 조직 또는 세포 종류에 대한 특정 치료방법의 결합 결정, 및/또는 예를 들면 CD19의 검출 및/또는 항체에 의해 인식된 그의 에피토프의 존재를 검출함으로써, 대상자에서 치료적 결정을 정보제공하기 위한 방법에 사용하기 위해, 제공된 결합 분자, 예컨대, 항체, 예컨대 항체 단편들, 및 이러한 항체를 하나 이상 함유하는 분자 (예를 들면 컨쥬게이트 및 복합체)를 사용하는 것을 포함하는 방법이 제공된다. 몇몇 구체예에서, 이러한 방법은 CD19-발현 질환 또는 병태와 결부되는 진단 및/또는 예후 방법이다. 몇몇 구체예에서, 이러한 방법은 생물학적 샘플을 인큐베이션 및/또는 항체로 프로빙 및/또는 항체를

대상자에게 투여하는 것을 포함한다. 특정 구체예에서, 생물학적 샘플에는 세포 또는 조직 또는 그의 일부, 예컨대 종양 또는 암 조직 또는 그의 생검 또는 섹션이 포함된다. 특정 구체예에서, 접촉은 샘플 내에 존재하는 CD19에 대한 항-CD19 항체의 결합을 허용하는 조건 하에서 일어난다. 몇몇 구체예에서, 이러한 방법은 샘플 내에서 항-CD19 항체와 CD19 사이에 복합체가 형성되었는지를 탐지하는 것, 예를 들면 이러한 결합의 존재 여부 또는 수준을 탐지하는 것을 추가로 포함한다. 이러한 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다. 일 구체예에서, 예컨대 CD19가 환자 선택을 위한 바이오마커인 경우 항-CD19 항체를 이용하여 항-CD19 항체 또는 조작된 항원 수용체를 이용한 치료법에 이용가능한 대상체를 선별한다.

[0376] 몇몇 구체예에서, 샘플, 예를 들면 세포, 조직 샘플, 용해물, 조성물, 또는 그로부터 유래된 기타 샘플들을 항-CD19 항체와 접촉시키고 항체와 샘플(예컨대, 샘플 중 CD19) 간의 복합체 형성 또는 결합을 탐지 또는 검출한다. 동일한 조직 유형의 레퍼런스 세포와 비교하여, 테스트 샘플 내에서 결합이 입증 또는 검출되면, 이것은 곧 관련된 질병 또는 병태가 존재함을 가리키는 것이거나 및/또는 항체(예컨대 항체 단편)을 함유하는 치료제가, 샘플이 유래된 조직 또는 세포 또는 그 밖의 생물학적 물질과 동일하거나 또는 동일한 유형인 조직 또는 세포에 특이적으로 결합할 것임을 의미하는 것이다. 몇몇 구체예에서, 샘플은 인간 조직으로부터 유래하며 예컨대 치료하고자 하는 질병 또는 병태를 갖는 대상자 및/또는 그러한 대상자와 동종의 대상자이지만 치료하고자 하는 질병 또는 병태는 갖지 않는 대상자로부터의 병에 걸린 조직 및/또는 정상 조직으로부터 유래할 수 있다. 몇몇 경우에서, 정상 조직 또는 세포는 치료하고자 하는 질병 또는 병태를 갖는 대상자로부터 유래하지만 질병에 걸린 세포 또는 조직 자체는 아닌 것, 예를 들면 주어진 대상자에 존재하는 암 이외의 동일 또는 상이한 장기로부터의 정상 조직일 수 있다.

[0377] [0376] Various 특이적인 항체-항원 결합을 검출하는데 있어서, 기술분야에 알려진 다양한 방법을 이용할 수 있다. 예시적인 면역분석법에는 형광분극면역분석법(FPIA), 형광면역분석법(FIA), 효소면역분석법(EIA), 혼탁억제면역분석법(NIA), 효소결합면역흡착분석법(ELISA), 및 방사능면역분석법(RIA)이 포함된다. 분석 장비에 이용 가능한 것으로 명시되거나 호환가능한 면역분석 공정으로 종종 알려진 방법의 다양한 사용 조건을 만족하도록, 표시자 부분 또는 표지 그룹을 대상자 항체에 부착시켜 선택할 수 있다. 예시적인 표지의 예로는 방사성핵종(예컨대 ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S , ^3H , 또는 ^{32}P 및/또는 크롬(^{51}Cr), 코발트(^{57}Co), 불소(^{18}F), gadolini(^{153}Gd , ^{159}Gd), 게르마늄(^{68}Ge), 홀뮴(^{166}Ho), 인듐(^{115}In , ^{113}In , ^{112}In , ^{111}In), 요오드(^{125}I , ^{123}I , ^{121}I), 란타늄(^{140}La), 루테늄(^{177}Lu), 망간(^{54}Mn), 몰리브덴(^{99}Mo), 팔라듐(^{103}Pd), 인(^{32}P), 프라세오디뮴(^{142}Pr), 프로메티움(^{149}Pm), 레늄(^{186}Re , ^{188}Re), 로듐(^{105}Rh), 루테튬(^{97}Ru), 사마륨(^{153}Sm), 스칸듐(^{47}Sc), 셀레늄(^{75}Se), (^{85}Sr), 황(^{35}S), 테크네슘(^{99}Tc), 탈륨(^{201}Ti), 주석(^{113}Sn , ^{117}Sn), 삼중수소(3H), 제논(^{133}Xe), 이테르븀(^{169}Yb , ^{175}Yb), 이테륨(^{90}Y), 효소(예컨대, 알칼라인 포스파타제, 호스래디쉬 페옥시다제, 루시페라제, 또는 β -갈اكت오시다제), 형광 모이어티 또는 단백질(예컨대, 플루오레신, 로다민, 피코에리트린, GFP, 또는 BFP), 또는 발광 모이어티(예컨대, Palo Alto, Calif.에 소재하는 Quantum Dot Corporation사가 공급하는 QdotTM 나노입자)를 들 수 있다. 상기한 다양한 면역분석법을 수행하는데 있어서 다양한 일반 기술이 알려져 있다.

[0378] [0377] 진단 목적을 위해, 비제한적인 예로서 기술분야에 알려진 방사능동위체, 형광 표지 및 다양한 효소 기질 표지로 항체를 표지시킬 수 있다. 항체에 표지를 컨쥬게이트하는 방법은 기술분야에 알려져 있다.

[0379] 몇몇 구체예에서는, 항체는 표지시킬 필요가 없고 그의 존재를 여하한 항체와 결합하는 표지된 항체를 이용하여 검출할 수 있다.

[0380] [0379] 본 발명에서 제공된 항체들은 여하한 공지 분석법, 예를 들면 경쟁적 결합 분석, 직접 및 간접 샌드위치 분석법, 및 면역침전분석법, Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, pp. 147-158 (CRC Press, Inc. 1987)에 사용될 수 있다.

[0380] 항체 및 폴리펩타이드는 또한 생체내 진단 분석법, 예를 들면 생체내 조영에 이용될 수도 있다. 일반적으로, 항체를 방사성 핵종(예를 들면 ^{111}In , ^{99}Tc , ^{14}C , ^{131}I , ^{125}I , 또는 ^3H)으로 표지시켜, 대상자에게 투여 후 관심대상 세포 또는 조직을 생체내에서 국소화시킬 수 있다.

[0381] 항체는 또한 예컨대 공지 기술을 이용하여 병리학에서 염색 시약으로서 이용될 수도 있다.

III. 제조 물품(Articles of Manufacture)

[0385]

[0382] 또한 제공된 결합 분자, 예컨대, 항체 및 CARs 및/또는 유전자 조작된 세포, 및/또는 조성물을 함유하는 제조 물품도 제공된다. 제조 물품에는 용기 및 용기 상에 또는 용기와 관련된 표지 또는 포장 삽입물이 포함될 수 있다. 적절한 용기의 예로는 보틀, 바이알, 시린지, IV 용액 백, 등을 들 수 있다. 용기는 다양한 재료 예컨대 유리 또는 플라스틱으로 형성될 수 있다. 몇몇 구체예에서 용기는 조성물 단독 또는 병태를 치료, 예방 및/또는 진단하는데 효과적인 다른 조성물과 조합하여 조성물을 수납한다. 몇몇 구체예에서, 용기는 멀균 접근 포트를 갖는다. 예시적인 용기에는 정맥 용액 백, 바이알이 포함되며, 여기에는 주사 바늘에 의해 관통될 수 있는 스토퍼가 구비된 것들이 포함된다. 표지 또는 포장 삽입물은 조성물이 CD19-발현 또는 CD19-관련 질병 또는 병태를 치료하는데 사용됨을 표시할 수 있다. 제조 물품은 (a) 그 안에 조성물을 함유하는 제1 용기 (여기서 상기 조성물은 항체 또는 조작된 항원 수용체를 포함함); 및 (b) 그 안에 조성물을 함유하는 제2 용기 (여기서 상기 조성물은 예컨대 세포독성 물질 또는 다른 치료제와 같은 추가 물질을 포함함)를 포함할 수 있다. 제조 물품은 또한 조성물이 특정 병태를 치료하는데 이용될 수 있음을 가리키는 포장 삽입물을 추가로 포함할 수 있다. 별법으로 또는 이에 더해, 제조 물품은 약학적으로 허용가능한 완충제를 포함하는 동일하거나 또 다른 용기를 추가로 포함할 수도 있다. 또한 이것은 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및/또는 시린지와 같은 다른 물질들을 더 포함할 수도 있다.

[0386]

[0383] 본 발명에서, 항체의 "대응하는 형태"라 함은 2가지 항체의 특성 또는 활성을 비교할 경우, 특성이 항체의 동일한 형태를 이용하여 비교됨을 의미한다. 예를 들어, 만일 어떤 항체가 제1 항체의 대응하는 형태의 활성에 비해 더 큰 활성을 갖는다고 언급할 경우, 이는 그 항체의 특정 형태, 예를 들면 scFv가 제1 항체의 scFv 형태에 비해 더 큰 활성을 가짐을 의미하는 것이다.

[0387]

[0384] 본 발명에서, 뉴클레오타이드 또는 아미노산 위치가 개시된 서열, 예를 들면 서열목록에 제시되어 있는 서열에서 뉴클레오타이드 또는 아미노산 위치에 "대응한다"라고 할 경우, 이것은 GAP 알고리듬과 같은 표준 정렬 알고리듬을 이용하여 동일성을 최대화하기 위해 개시된 서열들을 정렬하는 경우 동정된 뉴클레오타이드 또는 아미노산 위치를 가리킨다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서, 예를 들면 인간 CD19 단백질과 같은 CD19 단백질의 예시적인 대응하는 잔기들은 SEQ ID NO:92에 제시된 예시적인 Vpx 서열과 서열을 정렬함으로써 동정될 수 있다. 서열들을 정렬함으로서, 통상의 기술자는, 가이드로서 예컨대 보존된 및 동일한 아미노산 잔기를 이용하여, 대응하는 잔기를 동정할 수 있다. 일반적으로, 대응하는 위치를 동정하기 위해서, 최고의 오더 맷치(highest order match)가 달성되도록 아미노산 서열을 정렬한다 (참조: 예컨대 : Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., 및 Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; 및 Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. 및 Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; Carrillo 외 (1988) SIAM J Applied Math 48: 1073).

[0388]

[0385] "이펙터 기능"이라는 용어는 항체 이소타입에 따라 달라지는, 항체의 Fc 영역에 기여가능한 생물학적 활성을 의미한다. 항체 이펙터 기능의 예로는: C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성(CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개형 세포독성(ADCC); 포식작용; 세포 표면 수용체(예컨대 B 세포 수용체)의 하향조절; 및 B 세포 활성화를 들 수 있다.

[0389]

[0386] 본 발명에서 "Fc 영역"이라는 용어는 적어도 불변 영역의 일부를 함유하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는데 사용된다. 이 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 일 구체예에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226, 또는 Pro230으로부터, 중쇄의 카르복실-말단으로 연장된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 라이신 (Lys447)은 존재하거나 존재하지 않을 수 있다. 본 발명에서 달리 명시되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역에서의 아미노산 잔기 넘버링은 문헌 [Kabat 외, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991]에 설명된 바와 같은, EU 인덱스라고도 칭해지는 EU 넘버링 시스템을 따른다.

[0390]

[0387] "전장 항체," "온전한 항체," 및 "완전한 항체" 등의 용어는 본 발명에서 정의된 바와 같은 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖거나 천연 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖는 항체를 가리키는 것으로 호환적으로 사용된다.

[0391]

[0388] "단리된(isolated)" 항체라 함은 그의 천연 환경의 성분으로부터 분리된 것을 가리킨다. 몇몇 구체예에서, 항체는 예컨대 전기영동(예컨대, SDS-PAGE, 등전점 포커싱 (IEF), 모세관 전기영동) 또는 크로마토그래피법

(예컨대, 이온교환 또는 역상 HPLC)에 의해 결정되는 바와 같이 95% 초과 또는 99% 초과 순도로 정제된다. 항체 순도의 평가 방법에 관하여는 예컨대 문헌 [Flatman 외, J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)]을 참조할 수 있다.

[0392] [0389] "단리된" 핵산이라 함은 그의 천연 환경의 성분으로부터 분리된 것을 가리킨다. 단리된 핵산은 그 핵산 분자를 보통 함유하는 세포에 함유된 핵산 분자를 포함하지만, 핵산 분자는 그의 천연 염색체 위치와 다른 염색체 위치에 또는 염색체 밖에 존재한다.

[0393] [0390] "항-CD19 항체를 인코딩하는 단리된 핵산"이라 함은 단일 벡터 또는 별도 벡터 내의 이러한 핵산 분자(들)을 포함하여, 항체 중쇄 및 경쇄 (또는 그의 단편들)을 인코딩하는 1 이상의 핵산 분자, 및 숙주 세포 내의 1 이상의 위치에 존재하는 이러한 핵산 분자(들)을 가리킨다.

[0394] [0391] "숙주 세포," "숙주 세포주," 및 "숙주 세포 배양체"라는 용어는 호환적으로 사용되며 외인성 핵산이 도입된 세포를 가리키고, 여기에는 및 이러한 세포의 자손도 포함된다. 숙주 세포는 계대 횟수와 무관하게, 일차 형질전환 세포 및 그로부터 유래된 자손을 포함하여, "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"를 포함한다. 자손은 모세포의 핵산 함량과 완전히 핵산 함량이 동일하지 않을 수 있으며 돌연변이를 함유할 수 있다. 본래 형질전환된 세포에서 스크리닝 또는 선택된 것과 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이 자손들도 여기에 포함된다.

[0395] [0392] 본 발명에서, 아미노산 서열 (레페런스 폴리펩타이드 서열)과 관련하여 "퍼센트(%) 아미노산 서열 동일성" 및 "퍼센트 동일성"이라 함은, 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해, 그리고 서열 동일성의 일부로서 여하한 보존적 치환은 고려함이 없이, 서열을 정렬하고 필요한 경우 캡을 도입한 후, 레페런스 폴리펩타이드 서열 내의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열(예컨대, 주제의 항체 또는 단편) 내의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정할 목적의 정렬은 당업자에게 공지인 다양한 방법, 예를 들면 공중 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어를 이용하여 달성할 수 있다. 통상의 기술자라면 비교된 서열 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는데 필요한 여하한 알고리듬을 포함하여, 서열 정렬을 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있을 것이다.

[0396] [0393] 아미노산 치환은 폴리펩타이드 내 하나의 아미노산을 다른 아미노산으로 대체하는 것을 포함할 수 있다. 예시적인 치환을 표 1에 나타내었다. 아미노산 치환을 결합 분자, 예컨대 관심 대상 항체 내로 도입하고 그 생성물을 목적하는 활성, 예컨대 유지/향상된 항원 결합, 감소된 면역원성 또는 향상된 ADCC 또는 CDC에 대해 스크리닝할 수 있다.

[0397] [0394] 아미노산은 일반적으로 다음의 공통적인 측쇄 특성에 따라 그룹지울 수 있다:

[0398] (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0399] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0400] (3) 산성: Asp, Glu;

[0401] (4) 염기성: His, Lys, Arg;

[0402] (5) 사슬 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro;

[0403] (6) 방향성: Trp, Tyr, Phe.

[0404] [0395] 비보존적 아미노산 치환은 이를 클래스 중 하나의 멤버를 다른 클래스의 것으로 교환하는 것을 포함한다.

[0405] [0396] 본 발명에서 "벡터"라는 용어는 그것이 연결되는 다른 핵산을 증식시킬 수 있는 핵산 분자를 가리킨다. 이 용어는 자가-복제 핵산 구조로서의 벡터 뿐만 아니라 그것이 도입된 숙주 세포의 개념 내로 통합된 벡터도 포함한다. 어떤 벡터들은 이들이 작동적으로 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터는 본 발명에서 "발현 벡터"라 칭한다.

[0406] [0397] "포장 삽입물(package insert)"이라 함은 치료 제품의 이용과 관련한 지침, 용법, 용량, 투여, 조합 치료법, 사용금지 사유 및/또는 경고에 관한 정보를 함유하는, 치료 제품의 상업적 포장 내에 일상적으로 포함되는 지침서를 가리킨다.

[0407] [0398] 본 발명에서, 단수 형태인 "a," "an," 및 "the"는 문맥상 달리 명시되지 않는 한 복수 개념을 포함한다.

예컨대, "a" 또는 "an"은 "적어도 1개" 또는 "1개 이상"을 의미한다. 본 명세서에 설명된 여러 측면 및 변형예들은 "구성되는(consisting)" 및/또는 "본질적으로 구성되는(consisting essentially of)" 측면 및 변형예를 포함하는 것으로 이해된다.

[0408] [0399] 본 명세서 전반에 걸쳐, 청구 대상 발명의 다양한 측면이 범위 포맷으로서 표현되었다. 이러한 범위 포맷의 설명은 단지 편의성 및 간결성을 위한 것일 뿐 청구대상 발명의 범위를 경직적으로 한정하려는 것은 아니다. 따라서, 범위 설명은 가능한 모든 하위 범위 뿐만 아니라 그 범위 내에 속하는 개별적인 수치 값도 구체적으로 기재한 것으로 이해되어야 한다. 예컨대, 어떤 값의 범위가 제공된 경우, 그 범위의 상한과 하한 사이에 개재된 각각의 값들 및 명시된 범위 내의 달리 명시 또는 개재된 모든 값들 역시 청구대상발명에 포함되는 것으로 이해되어야 한다. 이러한 보다 작은 범위의 상한 및 하한은 그 작은 범위에 독립적으로 포함되는 것일 수 있고, 또한 청구대상발명의 범위 내에 포함되는 것이다. 명시된 범위가 이러한 한계의 일방 또는 양방 모두를 포함하는 경우, 이들 포함된 한계의 일방 또는 양방 모두를 제외한 범위 역시도 본 발명에 포함된다. 이것은 범위의 폭과 무관하게 적용된다.

[0409] [0400] 본 발명에서 "약"이라는 용어는 이 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 알려진 각각의 값에 대한 일반적인 오차 범위를 가리키는 것이다. 어떤 값 또는 파라미터에 대해 "약"이라는 표현이 사용될 경우 바로 그 값 또는 파라미터 자체에 지향된 구체예 역시도 포함(및 설명)하는 것이다. 예를 들어, "X에 관한"이라는 설명은 "X"의 설명도 포함한다.

[0410] [0401] 본 발명에서 조성물은 세포를 비롯하여 2 이상의 산물, 물질 또는 화합물의 여하한 혼합물을 가리킨다. 이것은 용액, 혼탁액, 액체, 분말, 페이스트, 수성 또는 비-수성이거나 또는 이들의 여하한 조합일 수 있다.

[0411] [0402] 본 발명에서, 세포 또는 세포 집단이 특정 마커에 대해 "양성"이라 함은 특정 마커 일반적으로 표면 마커가 그 세포 내 또는 세포 상에 검출가능하게 존재함을 가리키는 것이다. 표면 마커라 함은, 예를 들어 마커에 특이적으로 결합하는 항체로 염색하여 상기 항체를 검색함으로써, 유세포 분석에 의해 검출시 표면 발현 존재를 가리키는 것으로, 여기서 염색은 이소타입-맺치된 대조군을 이용하여 동일 공정을 수행하여 검출되는 염색보다 실질적으로 높은 수준에서 및/또는 그 마커에 대해 양성으로 알려진 세포의 그것과 실질적으로 유사한 수준에서 및/또는 그 마커에 대해 음성으로 알려진 세포의 그것보다 실질적으로 더 높은 수준에서 유세포 분석법으로 검출가능한 것이다.

[0412] [0403] 본 발명에서, 세포 또는 세포 집단이 특정 마커에 대해 "음성"이라 함은 특정 마커 일반적으로 표면 마커가 그 세포 내 또는 세포 상에 검출가능할 정도로 존재하지 않음을 가리키는 것이다. 표면 마커라 함은, 예를 들어 마커에 특이적으로 결합하는 항체로 염색하여 상기 항체를 검색함으로써, 유세포 분석에 의해 검출시 표면 발현의 부재를 가리키는 것으로, 여기서 염색은 이소타입-맺치된 대조군을 이용하여 동일 공정을 수행하여 검출되는 염색보다 실질적으로 높은 수준에서 및/또는 그 마커에 대해 양성으로 알려진 세포의 그것과 실질적으로 유사한 수준에서 유세포 분석법으로 검출가능한 것이다.

[0413] [0404] 달리 정의되지 않는 한, 본 발명에서 사용된 모든 기술 용어, 표기 및 기타 기술 및 과학 용어 또는 전문용어들은 본 발명이 속한 기술분야의 통상의 기술자들에 의해 공통적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는 것으로 의도된다. 몇몇 경우, 명료성 및/또는 용이한 참조를 위해 본 발명에 공통적으로 이해되는 의미를 갖는 용어를 정의하였으며, 이러한 정의를 본 발명에 포함시켰다 해서 곧 기술분야에서 일반적으로 이해되는 것 이외의 실질적으로 다른 것을 나타내는 것으로 이해되어서는 아니된다.

[0414] [0405] 특히 문헌, 과학 논문 및 데이터베이스를 비롯하여 본 출원 발명에서 언급된 모든 간행물은 그 내용 전체가 참조를 위해, 마치 개별적인 간행물 각각이 개별적으로 참조된 것처럼 본 발명에 통합되었다. 만일 본 발명에 제시된 정의가 특히, 출원, 공개된 출원 및 기타 참조 통합된 간행물에 제시된 정의와 반대의 의미를 갖거나 불일치할 경우, 본 발명에 제시된 정의가, 참조 병합된 문헌 상의 정의에 우선한다.

[0415] [0406] 본 명세서에서 사용된 섹션 제목들은 오직 정리 목적을 위한 것일 뿐 설명된 내용을 한정하는 것으로 이해되어서는 아니된다.

IV. 예시적 구체예

[0417] [0407] 본 발명에서 제공된 구체예들로는 다음을 들 수 있다:

1. 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로서, 상기 항체 또는 항원-결합 단편은 중쇄 가변(VL) 영역 및 경

쇄 가변(VL) 영역을 포함하고, 여기서:

- [0419] 상기 VH 영역은 SEQ ID NO: 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR-H3)을 포함하거나; 또는
- [0420] 상기 VH 영역은 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63 또는 62에 제시된 VH 영역 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 것인 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.
- [0421] 2. An 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로서:
- [0422] SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 또는 62에 제시된 VH 영역 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3 서열의 아미노산 서열을 각기 포함하는, CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3; 및/또는
- [0423] SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17, 71, 65, 64, 66, 70, 69, 67, 90 또는 91에 제시된 경쇄 가변(VL) 영역 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 서열의 아미노산 서열을 각기 포함하는, 경쇄 상보성 결정 영역 1, 2, 및 3 (CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3)
- [0424] 을 포함하는 것인 항체 또는 그의 항원-결합 단편.
- [0425] 3. 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로서:
- [0426] SEQ ID NO: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, SEQ ID NO: 81 또는 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 SEQ ID NO: 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3; 및/또는
- [0427] $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 111)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1 (여기서 X_1 은 T, Q, S, 또는 R; X_2 는 G 또는 A; X_3 은 I, T, D, 또는 S; X_4 는 S, R, T, 또는 Q; X_5 는 부재 또는 S; X_6 는 G, D, N, 또는 부재; X_7 은 부재, V, 또는 L; X_8 은 D, G, I, L, S, 또는 부재; X_9 은 S, G, A, I, R, 또는 부재; X_{10} 은 H, Y, F, S, 또는 N; X_{11} 은 R, N, D, H, 또는 Y; X_{12} 는 Y, F, D, 또는 W; X_{13} 은 V, A, 또는 L; 및 X_{14} 는 S, N, 또는 A임);
- [0428] $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 112)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 (여기서 X_1 은 D 또는 S; X_2 은 F, V, N, K, 또는 A; X_3 은 S, T, D, 또는 N; X_4 은 K, V, N, Q, 또는 R; X_5 은 R, V, 또는 L; X_6 은 P, K, A, 또는 E; 및 X_7 은 S, P, A, 또는 T임), 및
- [0429] $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 115)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3 (여기서 X_1 은 X; X_2 은 S, Q, A, 또는 T; X_3 은 Y, S, W, R; X_4 은 A, D, R, T, 또는 Y; X_5 은 X; X_6 은 X; X_7 은 S, P, L, Y, G; X_8 은 X 또는 부재; X_9 은 X 또는 부재; X_{10} 은 L 또는 부재; X_{11} 은 X; 및 X_{12} 은 V, T, 또는 L임)
- [0430] 을 포함하는 것인 항체 또는 그의 항원-결합 단편.
- [0431] 4. 구체예 3에 있어서:
- [0432] 상기 CDR-L1에서, X_3 은 I, T, 또는 S; X_4 은 S, T, 또는 Q; X_8 은 D, G, I, S, 또는 부재; X_9 은 S, G, I, 또는 부재; X_{10} 은 H, Y, S, 또는 N; X_{11} 은 R, N, D, 또는 H; X_{12} 은 Y 또는 D; 및 X_{13} 은 V 또는 L이고; 및/또는
- [0433] 상기 CDR-L2에서, X_1 은 D; X_4 은 K, V, N, Q, 또는 R; X_6 은 P, K, 또는 A; 및 X_7 은 S, A, 또는 T이며; 및/또는
- [0434] 상기 CDR-L3에서, X_1 은 S, G, T, A, Q, C, 또는 N; X_5 은 A, S, P, G, N, 또는 D; X_6 은 I, S, G, T, A, L, H, R, 또는 N; X_8 은 P, T, S, Q, M, R, N 또는 부재; X_9 은 S, L, N, A, M 또는 부재; 및 X_{11} 은 Y, W, F, V, A, 또는 L
- [0435] 인 것인 항체 또는 그의 항원-결합 단편.
- [0436] 5. 구체예 3 또는 구체예 4에 있어서, wherein, in 상기 CDR-L3에서, X_1 은 S, G, Q, 또는 N; X_2 은 S, Q, 또는 T; X_4 은 A, D, T, 또는 Y; X_5 은 A, S, 또는 G; 및 X_6 은 I, S, N, R, A, H, 또는 T인 것인 항체 또는 단편.
- [0437] 6. 구체예 1-5 중 어느 하나에 있어서:
- [0438] CDR-H2은 SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

- [0439] CDR-H2는 SEQ ID NO: 72 (GISWNNSGSIGYADSVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0440] 7. 구체예 1-6 중 어느 하나에 있어서, CDR-L1은 SEQ ID NO: 80, 77, 74, 73, 75, 79, 78, 76, 21, 25, 28, 또는 31에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0441] 8. 구체예 7에 있어서, 상기 CDR-L1은 SEQ ID NO: 80, 77, 74, 73, 78, 21, 또는 28에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0442] 9. 구체예 1-8 중 어느 하나에 있어서, CDR-L2는 SEQ ID NO: 100, 97, 94, 93, 95, 99, 98, 96, 22, 26, 29, 또는 32에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0443] 10. 구체예 9에 있어서, CDR-L2는 SEQ ID NO: 100, 97, 94, 93, 98, 22, 또는 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0444] 11. 구체예 1-10 중 어느 하나에 있어서, CDR-L3은 SEQ ID NO: 109, 106, 103, 101, 104, 108, 107, 105, 102, 23, 24, 27, 30, 또는 33에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0445] 12. 구체예 11에 있어서, CDR-L3은 SEQ ID NO: 109, 106, 103, 101, 107, 24 또는 30에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0446] 13. 구체예 1-12 중 어느 하나에 있어서:
- [0447] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 21, 22, 및 23의 서열을 포함하거나;
- [0448] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 21, 22, 및 24의 서열을 포함하거나;
- [0449] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 25, 26, 및 27의 서열을 포함하거나;
- [0450] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 28, 29, 및 30의 서열을 포함하거나;
- [0451] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 31, 32, 및 33의 서열을 포함하거나;
- [0452] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 80, 100, 및 109의 서열을 포함하거나;
- [0453] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 77, 97, 및 106의 서열을 포함하거나;
- [0454] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 74, 94, 및 103의 서열을 포함하거나;
- [0455] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 73, 93, 및 101의 서열을 포함하거나;
- [0456] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 75, 95, 및 104의 서열을 포함하거나;
- [0457] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 79, 99, 및 108의 서열을 포함하거나;
- [0458] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 78, 98, 및 107의 서열을 포함하거나;
- [0459] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 76, 96, 및 105의 서열을 포함하거나;
- [0460] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 73, 93, 및 102의 서열을 포함하거나; 또는
- [0461] CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID NOs: 77, 97, 및 106의 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0462] 14. 구체예 1-13 중 어느 하나에 있어서:
- [0463] CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 각각 SEQ ID NOs: 18, 81, 및 20의 서열을 포함하거나;
- [0464] CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 각각 SEQ ID NOs: 18, 19, 및 20의 서열을 포함하거나;
- [0465] CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 각각 SEQ ID NOs: 18, 82, 및 20의 서열을 포함하거나; 또는
- [0466] CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 각각 SEQ ID NOs: 18, 72, 및 20의 서열을 포함하는 것인 항체 또는 항원-결합 단편.
- [0467] 15. 구체예 1-14 중 어느 하나에 있어서:
- [0468] 항체 또는 단편의 VH 영역은 SEQ ID NO: 11, 12, 60, 61, 63, 또는 62의 아미노산 서열을 포함하거나; 및/또는
- [0469] 항체 또는 단편의 VL 영역은 SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17, 71, 90, 91, 68, 65, 64, 66, 70, 69, 또는 67의

아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.

[0470] 16. 구체예 15에 있어서:

항체 또는 단편의 VH 영역은 SEQ ID NO: 11, 60, 63, 또는 62의 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는

항체 또는 단편의 VL 영역은 SEQ ID NO: 14, 16, 71, 90, 65, 64, 또는 69의 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편

[0473] 17. 구체예 1-16 중 어느 하나에 있어서:

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 17의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 15의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 13의 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 14의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 16의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 63 및 71의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 62 및 68의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 65의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 60 및 64의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 61 및 66의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 63 및 70의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 62 및 69의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 67의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 12 및 91의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 63 및 90의 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.

[0489] 18. 구체예 17에 있어서:

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 14의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 16의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 63 및 71의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 11 및 65의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 60 및 64의 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 62 및 69의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

항체 또는 단편의 VH 및 VL 영역은 각각 SEQ ID NOs: 63 및 90의 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.

[0497] 19. 구체예 1-18 중 어느 하나에 있어서, 항체는 특이적으로 CD19에 결합하는 것인 항체 또는 단편.

[0498] 20. 구체예 19에 있어서, 항체는 FMC63 및 SJ25C1로 이루어진 군으로부터 선택된 레퍼런스 항-CD19 항체에 의해 특이적으로 결합된 에피토프와 동일 또는 중복된 CD19의 에피토프에 특이적으로 결합하는 것인 항체 또는 단편.

[0499] 21. 구체예 19에 있어서, 항체는 CD19에 대한 결합을 두고, FMC63 및 SJ25C1로 이루어진 군으로부터 선택된 항-CD19 항체와 경쟁하는 것인 항체 또는 단편.

[0500] 22. 레퍼런스 항체에 의해 특이적으로 결합된 에피토프와 동일 또는 중복된 CD19의 에피토프에 특이적으로 결

합하는 인간 항체 단편으로서, 여기서 레퍼런스 항체는 구체예 1-21 중 어느 하나의 항에 기재된 항체 또는 단편이거나 또는 FMC63 및 SJ25C1로 이루어진 군으로부터 선택된 항-CD19 항체이며, 상기 인간 항체 단편은 FMC63 및 SJ25C1에 존재하는 CDRs와 구별되는 중쇄 및 경쇄 CDRs을 포함하는 것인 인간 항체 단편.

- [0501] 23. 인간 CD19에 특이적으로 결합하고, CD19에 대한 결합을 두고 레퍼런스 항체와 경쟁하는 인간 항체 단편으로서, 여기서 레퍼런스 항체는 구체예 1-21 중 어느 하나의 항에 기재된 항체 또는 단편이거나 또는 FMC63 및 SJ25C1로 이루어진 군으로부터 선택된 항-CD19 항체이며, 상기 인간 항체 단편은 FMC63 및 SJ25C1에 존재하는 CDRs와 구별되는 중쇄 및 경쇄 CDRs을 포함하는 것인 인간 항체 단편.
- [0502] 24. 구체예 21 또는 23에 있어서, 레퍼런스 항체가 CD19에 대한 결합을 두고 그 자신과 경쟁하는 것과 적어도 동일한 정도로, 또는 레퍼런스 항체에 의한 경쟁 정도의 1.5배 이하 또는 2배 미만으로 CD19에 대한 결합을 두고 레퍼런스 항체와 경쟁하는 것인 항체 또는 단편.
- [0503] 25. 구체예 1-24 중 어느 하나에 있어서, CD19에 대한 항체의 결합 친화성은, FMC63 및 SJ25C1로 이루어진 군으로부터 선택된 레퍼런스 항체의 CD19에 대한 결합 친화성과 적어도 동일하게 높거나 실질적으로 동일하게 높은 것인 항체 또는 단편.
- [0504] 26. 구체예 25에 있어서, 결합 친화성 EC50이 레퍼런스 항체의 EC50에 비해 대략 동일하거나 더 낮거나 또는 레퍼런스 항체의 EC50에 비해 약 1.5배 이하, 또는 약 2배 이하 크거나, 3배 이하 크거나 및/또는 10배 이하 더 큰 것인 항체 또는 단편.
- [0505] 27. 구체예 1-26 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 단편은 인간인 것인 항체 또는 단편.
- [0506] 28. 구체예 1-27 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 단편은 재조합체인 것인 항체 또는 단편.
- [0507] 29. 구체예 1-28 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 단편은 모노클로날인 것인 항체 또는 단편.
- [0508] 30. 구체예 1-29 중 어느 하나에 있어서, 단일 사슬 단편인 것인 항체 또는 단편.
- [0509] 31. 구체예 1-30 중 어느 하나에 있어서, 유연한 면역글로불린 링커에 의해 연결된 항체 가변 영역들을 포함하는 단편인 것인 항체 또는 단편.
- [0510] 32. 구체예 30 또는 31에 있어서, 단편은 scFv를 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0511] 33. 구체예 32에 있어서, scFv는 SEQ ID NO: 34에 제시된 서열을 포함하는 링커를 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0512] 34. 구체예 32에 있어서, scFv는 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 87, 또는 89에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0513] 35. 구체예 1-34 중 어느 하나에 있어서, 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부를 추가로 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0514] 36. 구체예 35에 있어서, 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부는 Fc 영역을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0515] 37. 구체예 36에 있어서, Fc 영역은 인간 IgG의 Fc 영역인 것인 항체 또는 단편.
- [0516] 38. 구체예 1-37 중 어느 하나에 있어서, CD19는 인간 CD19인 것인 항체 또는 단편.
- [0517] 39. 구체예 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 단편을 포함하는 세포외 부분 및 세포내 시그널링 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR)
- [0518] 40. 구체예 38에 있어서, 항체 또는 단편은 scFv를 포함하고 세포내 시그널링 도메인은 ITAM을 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.
- [0519] 41. 구체예 39 또는 40에 있어서, 세포내 시그널링 도메인은 CD3-제타 (CD3 ζ) 사슬의 제타 사슬의 시그널링 도메인을 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.
- [0520] 42. 구체예 39-41 중 어느 하나에 있어서, 세포외 도메인과 세포내 시그널링 도메인을 연결하는 막관통 도메인을 추가로 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.
- [0521] 43. 구체예 42에 있어서, 막관통 도메인은 CD28의 막관통 부분을 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.
- [0522] 44. 구체예 39-43 중 어느 하나에 있어서, T 세포 공동자극 분자의 세포내 시그널링 도메인을 추가로 포함하는

것인 키메라 항원 수용체.

[0523] 45. 구체예 44에 있어서, T 세포 공동자극 분자는 CD28 및 41BB로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 키메라 항원 수용체.

[0524] 46. 구체예 39-45 중 어느 하나의 키메라 항원 수용체를 발현하는 조작된 세포.

[0525] 47. 구체예 46에 있어서 T 세포인 것인 조작된 세포.

[0526] 48. CD19와 연관된 질병 또는 장애에 걸린 대상자에게 구체예 46 또는 47의 세포를 투여하는 것을 포함하는, 치료 방법.

[0527] 49. CD19와 연관된 질병 또는 장애에 걸린 대상자에게 구체예 1-38 중 어느 하나의 항체를 투여하는 것을 포함하는, 치료 방법.

[0528] 50. 구체예 48 또는 49에 있어서, 질병 또는 장애는 B 세포 악성종양인 것인 방법.

[0529] 51. 구체예 50에 있어서, B 세포 악성종양은 B 세포 만성 림프구성 백혈병(CLL), 급성 림프구성 백혈병 (ALL), 전립프구성 백혈병, 텔세포 백혈병, 공통 급성 림프구성 백혈병, 부재-급성 림프모구 백혈병, 비-호지킨 림프종, 광범위 큰 B세포 림프종 (DLBCLs), 다발골수종, 소포 림프종, 비장, 변연부 림프종, 외투세포 림프종, 무통성 B 세포 림프종, 및 호지킨 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

[0530] 52. 구체예 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 단편 또는 구체예 39-45 중 어느 하나의 키메라 항원 수용체를 인코딩하는 핵산.

[0531] 53. 구체예 1-38 중 어느 하나의 항체 또는 단편 또는 구체예 39-45 중 어느 하나의 CAR, 또는 구체예 46 또는 47의 세포를 포함하는 조성물.

[0532] 54. CD19와 연관된 질병 또는 장애에 걸린 대상자에게 구체예 53의 조성물을 투여하는 것을 포함하는 치료 방법.

[0533] 55. 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로서:

[0534] SEQ ID NO: 11 또는 12에 제시된 중쇄 가변(VH) 영역 아미노산 서열에 함유된 CDR 1, 2, 및 3 서열의 아미노산 서열을 각각 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1, 2, 및 3 (CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3); 및

[0535] SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 또는 17에 제시된 경쇄 가변(VL) 영역 아미노산 서열에 함유된 CDR 1, 2, 및 3 서열의 아미노산 서열을 각각 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1, 2, 및 3 (CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3)

을 포함하는 것인 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

[0537] 56. 구체예 55에 있어서:

[0538] CDR-H1은 DYAMH (SEQ ID NO: 18)의 아미노산 서열을 포함하고;

[0539] CDR-H2는 아미노산 서열 GISWNSGRIGY (SEQ ID NO: 35)을 포함하며;

[0540] CDR-H3은 SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하고;

[0541] CDR-L1은 아미노산 서열 X₁GX₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃S (SEQ ID NO: 36) (여기서, X₁은 T, S, 또는 Q, X₃은 T, S, 또는 D, X₄은 T 또는 S, X₅은 부재 또는 S, X₆은 부재, D, 또는 N, X₇은 부재 또는 V, X₈은 부재, G, 또는 I, X₉은 부재, G, 또는 R, X₁₀은 S, Y, 또는 N, X₁₁은 D 또는 N, X₁₂은 D 또는 Y, X₁₃은 V 또는 A임)을 포함하고;

[0542] CDR-L2은 아미노산 서열 X₁X₂X₃X₄RPS (SEQ ID NO: 37)(여기서 X₁은 D 또는 S, X₂는 V, N, 또는 K, X₃은 S, N, 또는 D, 및 X₄는 K, Q, 또는 N임)을 포함하며; 및

[0543] CDR-L3은 아미노산 서열 X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂ (SEQ ID NO: 38) (여기서 X₁은 C, S, A, G, 또는 N, X₂는 S, A, 또는 T, X₃은 Y, W, 또는 R, X₄는 A 또는 D, X₅는 G, D, 또는 S, X₆는 R, S, 또는 N, X₇은 Y, L, 또는 G, X₈은 N 또는 S, X₉은 S 또는 부재, X₁₀은 V, A, 또는 N, X₁₁은 W 또는 부재, 및 X₁₂는 L 또는 V임)을 포함하는 것인 항체 또는 단편.

- [0544] 57. 구체예 56에 있어서: CDR-L1에서, X₁은 T 또는 S, X₃은 T 또는 S, X₁₁은 D 또는 N, 및 X₁₃은 V이고; CDR-L2에서, X₂는 V 또는 N 및 X₄는 K 또는 Q이며; 및/또는 CDR-L3에서, X₁은 C, S, A, 또는 G, X₃은 Y 또는 W, X₅는 G 또는 D, X₇은 Y 또는 L, X₁₀은 V 또는 A, 및 X₁₁은 부재하는 것인 항체 또는 단편.
- [0545] 58. 구체예 55-57 중 어느 하나에 있어서, CDR-H2는 SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0546] 59. 구체예 55-58 중 어느 하나에 있어서, CDR-L1은 SEQ ID NO: 21, 25, 28, 또는 31에 제시된 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0547] 60. 구체예 55-59 중 어느 하나에 있어서, CDR-L2는 SEQ ID NO: 22, 26, 29, 또는 32에 제시된 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0548] 61. 구체예 55-60 중 어느 하나에 있어서, CDR-L3은 SEQ ID NO: 23, 24, 27, 30, 또는 33에 제시된 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0549] 62. 구체예 55-61 중 어느 하나에 있어서:
- [0550] CDRL1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID Nos: 21, 22, 및 23의 서열을 포함하거나;
- [0551] CDRL1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID Nos: 21, 22, 및 24의 서열을 포함하거나;
- [0552] CDRL1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID Nos: 25, 26, 및 27의 서열을 포함하거나;
- [0553] CDRL1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID Nos: 28, 29, 및 30의 서열을 포함하거나; 또는
- [0554] CDRL1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 SEQ ID Nos: 31, 32, 및 33의 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0555] 63. 구체예 55-62 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 단편은:
- [0556] SEQ ID NO: 11 또는 12의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역; 및
- [0557] SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 또는 17의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역
- [0558] 을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0559] 64. 구체예 63에 있어서, VH 영역은 SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0560] 65. 구체예 63에 있어서, VH 영역은 SEQ ID NO: 12의 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0561] 66. 구체예 55-65 중 어느 하나에 있어서, 항체는 CD19에 특이적으로 결합하는 것인 항체 또는 단편.
- [0562] 67. 구체예 66에 있어서, 항체는 FMC63 및 SJ25C1으로 이루어진 군으로부터 선택된 레퍼런스 항-CD19 항체에 의해 특이적으로 결합된 에피토프와 동일 또는 중복된 CD19의 에피토프에 특이적으로 결합하는 것인 항체 또는 단편.
- [0563] 68. 구체예 66에 있어서, 항체는 CD19에 대한 결합을 두고, FMC63 및 SJ25C1으로 이루어진 군으로부터 선택된 항-CD19 항체와 경쟁하는 것인 항체 또는 단편.
- [0564] 69. 레퍼런스 항체에 의해 특이적으로 결합된 에피토프와 동일 또는 중복된 CD19의 에피토프에 특이적으로 결합하는 인간 항체 단편으로서, 여기서 레퍼런스 항체는 구체예 55-68 중 어느 하나의 항에 기재된 항체 또는 단편이거나 또는 FMC63 및 SJ25C1로 이루어진 군으로부터 선택된 항-CD19 항체이며, 상기 인간 항체 단편은 FMC63 및 SJ25C1에 존재하는 CDRs와 구별되는 중쇄 및 경쇄 CDRs을 포함하는 것인 인간 항체 단편.
- [0565] 70. 인간 CD19에 특이적으로 결합하고, CD19에 대한 결합을 두고 레퍼런스 항체와 경쟁하는 인간 항체 단편으로서, 여기서 레퍼런스 항체는 구체예 55-68 중 어느 하나의 항에 기재된 항체 또는 단편이거나 또는 FMC63 및 SJ25C1로 이루어진 군으로부터 선택된 항-CD19 항체이며, 상기 인간 항체 단편은 FMC63 및 SJ25C1에 존재하는 CDRs와 구별되는 중쇄 및 경쇄 CDRs을 포함하는 것인 인간 항체 단편.
- [0566] 71. 구체예 68 또는 70에 있어서, 레퍼런스 항체가 CD19에 대한 결합을 두고 그 자신과 경쟁하는 것과 적어도 동일한 정도로, 또는 레퍼런스 항체에 의한 경쟁 정도의 1.5배 이하 또는 2배 미만으로 CD19에 대한 결합을 두고 레퍼런스 항체와 경쟁하는 것인 항체.

- [0567] 72. 구체예 55-71 중 어느 하나에 있어서, CD19에 대한 항체의 결합 친화성은, FMC63 및 SJ25C1로 이루어진 군으로부터 선택된 레퍼런스 항체의 CD19에 대한 결합 친화성과 적어도 동일하게 높거나 실질적으로 동일하게 높은 것인 항체.
- [0568] 73. 구체예 72에 있어서, 결합 친화성 EC50이 레퍼런스 항체의 EC50에 비해 대략 동일하거나 더 낮거나 또는 레퍼런스 항체의 EC50에 비해 약 1.5배 이하, 또는 약 2배 이하 크거나, 3배 이하 크거나 및/또는 10배 이하 더 큰 것인 항체.
- [0569] 74. 구체예 55-73 중 어느 하나에 있어서, 항체는 인간인 것인 항체 또는 단편.
- [0570] 75. 구체예 55-74 중 어느 하나에 있어서, 항체는 재조합체인 것인 항체 또는 단편.
- [0571] 76. 구체예 55-75 중 어느 하나에 있어서, 모노클로날인 것인 항체 또는 단편.
- [0572] 77. 구체예 55-76 중 어느 하나에 있어서, 단일 사슬 단편인 것인 항체 또는 단편.
- [0573] 78. 구체예 55-77 중 어느 하나에 있어서, 유연한 면역글로불린 링커에 의해 연결된 항체 가변 영역들을 포함하는 단편인 것인 항체 또는 단편.
- [0574] 79. 구체예 77 또는 78에 있어서, 단편은 scFv를 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0575] 80. 구체예 79에 있어서, scFv는 SEQ ID NO: 34에 제시된 서열을 포함하는 링커를 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0576] 81. 구체예 80에 있어서, scFv는 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 또는 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0577] 82. 구체예 55-81 중 어느 하나에 있어서, 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부를 추가로 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0578] 83. 구체예 82에 있어서, 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부는 Fc 영역을 포함하는 것인 항체 또는 단편.
- [0579] 84. 구체예 83에 있어서, Fc 영역은 인간 IgG의 Fc 영역인 것인 항체 또는 단편.
- [0580] 85. 구체예 55-84 중 어느 하나에 있어서, CD19는 인간 CD19인 것인 항체 또는 단편.
- [0581] 86. 구체예 55-85 중 어느 하나의 항체 또는 단편을 포함하는 세포외 부분 및 세포내 시그널링 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체.
- [0582] 87. 구체예 86에 있어서, 항체 또는 단편은 scFv를 포함하고 세포내 시그널링 도메인은 ITAM을 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.
- [0583] 88. 구체예 87에 있어서, 세포내 시그널링 도메인은 CD3-제타 (CD3 ζ) 사슬의 제타 사슬의 시그널링 도메인을 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.
- [0584] 89. 구체예 86-88 중 어느 하나에 있어서, 세포외 도메인과 세포내 시그널링 도메인을 연결하는 막관통 도메인을 추가로 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.
- [0585] 90. 구체예 89에 있어서, 막관통 도메인은 CD28의 막관통 부분을 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.
- [0586] 91. 구체예 86-90 중 어느 하나에 있어서, T 세포 공동자극 분자의 세포내 시그널링 도메인을 추가로 포함하는 것인 키메라 항원 수용체.
- [0587] 92. 구체예 91에 있어서, T 세포 공동자극 분자는 CD28 및 41BB로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 키메라 항원 수용체.
- [0588] 93. 구체예 86-92 중 어느 하나의 키메라 항원 수용체를 발현하는 조작된 세포.
- [0589] 94. 구체예 93에 있어서, T 세포인 것인 조작된 세포.
- [0590] 95. CD19과 연관된 질병 또는 장애를 갖는 대상자에게 구체예 93 또는 94의 세포를 투여하는 것을 포함하는 치료 방법.
- [0591] 96. CD19과 연관된 질병 또는 장애를 갖는 대상자에게 구체예 55-85 ND 어느 하나의 항체를 투여하는 것을 포함

하는 치료 방법.

[0592] 97. 구체예 95 또는 96에 있어서, 질병 또는 장애는 B 세포 악성종양인 것인 방법.

[0593] 98. 구체예 97에 있어서, B 세포 악성종양은 B 세포 만성 림프구성 백혈병(CLL), 급성 림프구성 백혈병 (ALL), 전립프구성 백혈병, 텔세포 백혈병, 공통 급성 림프구성 백혈병, 부재-급성 림프모구 백혈병, 비-호지킨 림프종, 광범위 큰 B세포 림프종 (DLBCLs), 다발골수종, 소포 림프종, 비장, 변연부 림프종, 외투세포 림프종, 무통성 B 세포 림프종, 및 호지킨 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

[0594] 99. 구체예 55-85 중 어느 하나의 항체 또는 구체예 86-92 중 어느 하나의 키메라 수용체를 인코딩하는 핵산.

[0595] 100. 구체예 55-85 중 어느 하나의 항체, 구체예 86-92 중 어느 하나의 CAR 또는 구체예 93 또는 94의 세포를 포함하는 조성물.

[0596] 101. CD19와 연관된 질병 또는 장애를 갖는 대상자에게 구체예 100의 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 치료 방법.

[0597] 102. 항체 또는 단편이 CD19의 세포외 부분의 영역 내의 1 이상의 아미노산을 함유하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 것인, 구체예 1-38 또는 55-85 중 어느 하나의 항체 또는 단편, 구체예 39-45 또는 86-92 중 어느 하나의 CAR, 구체예 46, 47, 93, 및 94 중 어느 하나의 세포, 청구항 48-51, 54, 95-98, 및 101 중 어느 하나의 방법, 구체예 52 또는 99의 핵산, 또는 청구항 53 및 100 중 어느 하나의 조성물.

[0598] 103. 항체 또는 단편이 CD19의 세포외 부분의 영역 내에 있는 에피토프에 특이적으로 결합하는 것인, 구체예 1-38 또는 55-85 중 어느 하나의 항체 또는 단편, 구체예 39-45 또는 86-92 중 어느 하나의 CAR, 구체예 46, 47, 93, 및 94 중 어느 하나의 세포, 청구항 48-51, 54, 95-98, 및 101 중 어느 하나의 방법, 구체예 52 또는 99의 핵산, 또는 청구항 53 및 100 중 어느 하나의 조성물.

[0599] 103. 항체 또는 단편이 CD19의 세포외 부분의 영역으로 구성되거나 본질적으로 구성되는 폴리펩타이드, 또는 CD19의 세포외 부분의 영역을 포함하지만 CD19의 다른 부분은 전혀 또는 실질적으로 포함하지 않는 폴리펩타이드에 특이적으로 결합하는 것인, 구체예 1-38 또는 55-85 중 어느 하나의 항체 또는 단편, 구체예 39-45 또는 86-92 중 어느 하나의 CAR, 구체예 46, 47, 93, 및 94 중 어느 하나의 세포, 청구항 48-51, 54, 95-98, 및 101 중 어느 하나의 방법, 구체예 52 또는 99의 핵산, 또는 청구항 53 및 100 중 어느 하나의 조성물.

[0600] 104. 구체예 102-103 중 어느 하나에 있어서, CD19의 세포외 부분의 영역이 막-근위 영역인 것인, 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.

[0601] 105. 구체예 102-104 중 어느 하나에 있어서, CD19의 세포외 부분의 영역이 CD19의 4번째 엑손에 의해 코딩된 부분이거나 SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 위치 176-277에 대응하는 부분인 것인, 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산 또는 조성물.

[0602] 106. 구체예 102-105 중 어느 하나에 있어서, CD19의 세포외 부분의 영역이 CD19의 세포외 부분의 막-최근위 (membrane-proximal-most)의 100, 90, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 44, 43, 43, 41, 또는 40 아미노산 부분으로 구성되거나 이들을 포함하는 것인, 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.

[0603] 107. 구체예 102-106 중 어느 하나에 있어서, 세포외 부분의 영역은 CD19의 Ig-유사 도메인 1, CD19의 두 번째 엑손에 의해 인코딩된 부분 및/또는 SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 위치 20-117에 대응하는 부분으로 구성되거나 또는 포함하는 것인 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.

[0604] 108. 구체예 102-106 중 어느 하나에 있어서, 임의로 구체예 105-107 중 어느 하나에 설명된 세포외 영역의 일부 중 어느 하나인 것인 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.

[0605] 109. 항체 또는 단편이, SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 잔기 218-249에 대응하는 CD19의 일부 내의 1 이상의 아미노산을 함유하거나 상기 CD19의 일부 내에 있거나 또는 상기 CD19의 일부를 포함하는, CD19의 에피토프에 특이적으로 결합하는 것인, 구체예 1-38 또는 55-85 중 어느 하나의 항체 또는 단편, 구체예 39-45 또는 86-92 중 어느 하나의 CAR, 구체예 46, 47, 93, 및 94 중 어느 하나의 세포, 청구항 48-51, 54, 95-98, 및 101 중 어느 하나의 방법, 구체예 52 또는 99의 핵산, 또는 청구항 53 및 100 중 어느 하나의 조성물.

[0606] 110. 구체예 109에 있어서, 상기 부분은 SEQ ID에 제시된 서열을 포함하는 것인 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.

- [0607] 111. 항체 또는 단편이, SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 위치에 대응하는 위치에서, 히스티딘 (H) 위치 218, 알라닌 (A) 위치 236, 메티오닌 (M) 위치 242, 글루타메이트 (E) 위치 243, 프롤린 (P) 위치 249, 및/또는 라이신 (K) 및/또는 세린 (S) 위치 223 및 224, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산을 함유하는 CD19의 에피토프에 특이적으로 결합하는 것인, 구체예 1-38 또는 55-85 중 어느 하나의 항체 또는 단편, 구체예 39-45 또는 86-92 중 어느 하나의 CAR, 구체예 46, 47, 93, 및 94 중 어느 하나의 세포, 청구항 48-51, 54, 95-98, 및 101 중 어느 하나의 방법, 구체예 52 또는 99의 핵산, 또는 청구항 53 및 100 중 어느 하나의 조성물.
- [0608] 112. 히스티딘 (H) 위치 218, 알라닌 (A) 위치 236, 메티오닌 (M) 위치 242, 글루타메이트 (E) 위치 243, 프롤린 (P) 위치 249, 및/또는 라이신 (K) 및/또는 세린 (S) 위치 223 및 224, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산으로서, SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 위치에 대응하는 위치의 아미노산이 인간 CD19에 대한 항체의 결합에 필요하거나 상기 결합에 있어서 중요한 것인, 구체예 1-38 또는 55-85 중 어느 하나의 항체 또는 단편, 구체예 39-45 또는 86-92 중 어느 하나의 CAR, 구체예 46, 47, 93, 및 94 중 어느 하나의 세포, 청구항 48-51, 54, 95-98, 및 101 중 어느 하나의 방법, 구체예 52 또는 99의 핵산, 또는 청구항 53 및 100 중 어느 하나의 조성물.
- [0609] 113. 구체예 111 또는 112에 있어서, 아미노산은 SEQ ID NO: 92 내의 대응하는 위치에 존재하는 아미노산과 동일한 것인 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.
- [0610] 114. 구체예 111-113 중 어느 하나에 있어서, 아미노산은 인간 CD19의 히스티딘 위치 218에 대응하는 위치의 아미노산이거나 또는 상기 아미노산을 포함하되, 임의로 상기 위치의 아미노산은 히스티딘인 것인 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.
- [0611] 115. 구체예 111-114 중 어느 하나에 있어서, 아미노산은 인간 CD19 서열의 알라닌 위치 236에 대응하는 위치의 아미노산이거나 또는 상기 아미노산을 포함하되, 임의로 상기 위치의 아미노산은 알라닌인 것인 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.
- [0612] 116. 구체예 111-115 중 어느 하나에 있어서, 아미노산은 인간 CD19 서열의 메티오닌 위치 242에 대응하는 위치의 아미노산이거나 또는 상기 아미노산을 포함하되, 임의로 상기 위치의 아미노산은 메티오닌인 것인 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.
- [0613] 117. 구체예 111-116 중 어느 하나에 있어서, 아미노산은 인간 CD19 서열의 글루타메이트 위치 243에 대응하는 위치의 아미노산이거나 또는 상기 아미노산을 포함하되, 임의로 상기 위치의 아미노산은 글루타메이트인 것인 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.
- [0614] 118. 구체예 111-117 중 어느 하나에 있어서, 아미노산은 인간 CD19 서열의 프롤린 위치 249에 대응하는 위치의 아미노산이거나 또는 상기 아미노산을 포함하되, 임의로 상기 위치의 아미노산은 프롤린인 것인 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.
- [0615] 119. 구체예 111-118 중 어느 하나에 있어서, 아미노산은 인간 CD19의 위치 223 및 224의 라이신 및/또는 세린에 대응하는 위치 중 일방 또는 양방의 아미노산(들)이거나 상기 아미노산(들)을 포함하는 것인, 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.
- [0616] 120. 항체 또는 단편이 레퍼런스 항체에 의해 특이적으로 결합된 에피토프와 중복되거나 상기 에피토프와 동일하거나 또는 상기 에피토프를 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하고, 여기서 상기 중복 부분은 (a) SEQ ID NO: 143을 포함하거나, (b) SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 잔기 218-249에 대응하거나, 또는 (c) 인간 CD19의 엑손 4에 의해 인코딩된 영역에 대응하거나, 또는 (d) 인간 CD19의 75-most 또는 80-most 막 근위 잔기에 대응하는 부분 내에 존재하는, CD19의 일부를 포함하거나 또는 상기 일부 내에 존재하는 것인, 구체예 1-38 또는 55-85 중 어느 하나의 항체 또는 단편, 구체예 39-45 또는 86-92 중 어느 하나의 CAR, 구체예 46, 47, 93, 및 94 중 어느 하나의 세포, 청구항 48-51, 54, 95-98, 및 101 중 어느 하나의 방법, 구체예 52 또는 99의 핵산, 또는 청구항 53 및 100 중 어느 하나의 조성물.
- [0617] 121. 구체예 120에 있어서, 레퍼런스 항체는 FMC63이거나, 또는 레퍼런스 항체는 SJ25C1인 것인 항체, 단편, 세포, 방법, 핵산, 또는 조성물.
- [0618] V. 실시예
- [0619] [0408] 다음의 실시예들은 설명 목적만을 위해 포함된 것일 뿐 본 발명의 범위를 이에 한정하고자 하는 의도가

아니다.

[0620] 실시예 1: 항-CD19 항체의 생성 및 평가

[0622] [0409] 쥐의 항-CD19 레퍼런스 항체에 대하여 유사한 결합 특성을 갖는 CD19-발현 세포에 특이적으로 결합하거나 및/또는 쥐의 항-CD19 레퍼런스 항체와 결합에 대해 경쟁하는 예시적인 항-CD19 항체들을 제조 및 평가하였다.

[0623] 1A. 라이브러리 선택, 항체 생성

[0624] [0410] 무세포 시스템에 디스플레이된 dsDNA-인코딩된 인간 나이브 항체 라이브러리 상에서 일련의 선택 단계를 거쳐 예시적인 항-CD19 항체 (scFvs)를 생성하였다. 3가지 연속 라운드를 통해, 살아있는 세포에 대한 결합을 위해 V_H 라이브러리의 멤버들을 선택하여, 안정하게-형질감염된 CD19-발현 HEK293 세포 (그러나 모HEK293 세포는 아님) 및/또는 CD19를 발현하지 않는 CHOK1 세포에 특이적으로 결합하는 멤버들을 농축시켰다. 각 선택 라운드 말기에, (a) 표면 세포로부터 바인더를 회수하기 위한 표면 스트리핑, (b) 쥐의 항-CD19 항체, FMC63 IgG를 이용한 경쟁적 용리, 및 (c) 또 다른 쥐의 항-CD19 항체, SJ25C1를 이용한 경쟁적 용리 ((b) 및 (c)는 CD19에 대한 결합을 놓고 FMC63 및/또는 SJ25C1와 경쟁하는 바인더를 농축하기 위해 수행됨)에 의해, 3 가지 분리된 용리 풀을 생성하였다.

[0625] [0411] 이들 각각의 V_H 멤버와 나이브 인간 V_L 라이브러리를 V_H -(G4S)₃- V_L 포맷으로 셔플링시킴으로써, 3가지 선택 라운드 말기에, 이들 농축된 V_H 라이브러리를 scFv 라이브러리로 전환시켰다. 결과적인 scFv 라이브러리들을 4차 라운드로 처리하여 CD19-발현 HEK293 세포에는 특이적으로 결합하지만 모세포에는 특이적으로 결합하지 않는 멤버들을 통축하고 표면 스트리핑 처리하였다.

[0626] [0412] 다른 CD19-발현 세포 (CD19/ K562)와 결합하는 멤버들을 추가 농축하기 위해 5차 라운드를 실시하였다. 선택에 이어 (a) 표면 스트리핑, (b) FMC63 경쟁적 용리, 또는 (c) SJ25C1 경쟁적 용리 중 어느 하나를 이용하여 분리 용리 풀을 생성하였다. 6차 라운드에서는, 모세포(HEK293, twice, K562)에 결합하지 않은 멤버들에 대하여 음성 선택한 다음, CD19-발현 HEK293 세포와 결합한 멤버들을 양성선택하고, HEK293 세포 상에서 발현된 CD19 상의 C-말단 태그를 인식하는 항-Myc 항체를 이용하여 면역침전시킴으로써, 이들 3 가지 풀을 개별적으로 추가 농축하였다.

[0627] [0413] 한 가지 연구에서, 3가지 R6 scFv 결과 풀들 각각으로부터의 48가지 클론들을 정방향 및 역방향 프라이머를 이용하여 아미노산 서열 결정하였다. scFv 서열들 중 130은 전장 리딩을 나타내었다. 서열들 가운데 수렴 (convergence)이 관찰되었다. 130 scFv 서열들 중 18개의 복제물이 동정되었다(130개 클론들 중 46개를 나타냄). 이 연구에서, CDRs 1-3 및 FRs 1-3을 함유하는 하나의 V_H 부분 서열이 5가지 상이한 V_L 들과 쌍을 이룬, 2 가지 상이한 풀에서 14회 탐지되었다 (한 풀로부터 10 카피, 다른 풀로부터 4 카피). 다른 복제물들은 상이한 풀들에서 2 내지 5회 동정되었고; 나머지는 단일-카피 서열이었다. 또 다른 연구에서, 부가적인 CD19-결합 클론들이 동정 및 시퀀싱되었다. 상이한 V_L 서열과 함께 동일한 V_H 부분이 이들 가운데서 나타났다.

[0628] 1B. CD19-발현 세포에 대한 특이적 결합

[0629] [0414] CD19를 발현하지 않는 세포에 대한 결합과 비교하여, CD19-발현 세포 및 대조군 HEK293 세포에 대한 시퀀싱된 클론들의 결합을 시험관내 번역된 조질의 세포 용해물 또는 세균에 의해 생성된 상등액을 이용하여 유세포 분석법으로 평가하였다. 간단히 설명하면, 각 클론의 RNA를 노멀라이즈하고 C-말단 FLAG 태그를 이용하여 조질의 scFv로서 생체내 번역하였다. CD19-발현 HEK293 및 대조군 (모크(mock) 형질감염됨) HEK293 세포를 이 분석에 이용하였다. CD19 및 대조군 세포에 대한 개별적인 scFv들의 결합을 2차 항-FLAG-Alexa647 컨쥬게이트를 이용하여 측정하였다. 별법으로, scFv 결합 풀을 *E. coli* 발현 백터 내로 클로닝하고 HIS-태그된 scFvs로서 생성하여 이를 유세포 분석법에서 항-HIS-Alexa647 컨쥬게이트를 이용하여 검출하였다. 쥐의 항-CD19 항체 (FMC63 scFv 및 FMC63 IgG)를 양성 대조군으로서 이용하고; 대조군 scFv도 이용하였다. 평균 형광 강도 (MFI)를 유세포 분석법으로 평가하였다. 그 결과를 도 1A 및 1B에 나타내었는데, 동정된 클론이 CD19-발현 세포에 결합하는 것으로 입증되었다. 평가된 클론들 중에는 클론 5, 17, 18 (시험관내 번역된 용해물들을 이용하여 동정됨), 및 76 (세균 상등액을 이용하여 동정됨)을 비롯하여 scFvs이 있었고 이들은 CD19-음성 세포에 비해 CD19-발현 세포에 대해 명백한 결합 선호도를 나타내었다.

[0630] [0415] 도 1A 및 1B에 도시된 바와 같이, 몇몇 클론의 경우, 이 경우 평균형광 강도로 측정된 바에 따라, CD19-

발현 세포에 대해 검출된 결합 정도의 폴드 변화는 양성 대조군 레퍼런스 항체인, 쥐의 항-CD19 항체 FMC63 scFv 및/또는 FMC63 IgG에서 관찰된 폴드 변화보다 대략 더 크거나, 적어도 그만큼 크거나 또는 더 크다. 몇몇 경우, CD19-발현 세포에 대하여 관찰된 결합의 총 정도는 양성 대조군 레퍼런스 항체들 중 1가지 이상에 대하여 관찰된 것과 대략 동일하거나, 적어도 그만큼 크거나 또는 더 커다.

[0631]

[0416] 비-CD19-발현 세포 ("클론 18," "클론 17," "클론 5," 및 "클론 76")에 비해 CD19-발현 세포에 대해 명백한 결합 선호도를 나타낸 4종의 scFv 클론을 추가 분석하였다. 시퀀싱 결과 이들 클론들은 이들의 V_H 서열에서 공통적인 CDR 서열을 갖고, 상이한 V_L 서열 및 상이한 CDR-Ls을 갖는 것으로 나타났다. 이들 4가지 클론에 대해, 예시적인 scFv, V_H , V_L , 및 CDR (Kabat) 아미노산 서열을 포함하고 뉴클레오타이드 scFv 서열을 인코딩하는 서열들에 대으아는 서열 식별자(identifier)를 표 2에 나타내었다. Kabat 89에서 시스테인(C)를 세린(S)로 치환함으로써 클론 18의 생식세포 변이체 ("클론 18B"로 추정됨)를 생성하였다; 이 클론의 서열 역시 표 2에 나타내었다. 클론들 각각은 V_H 사슬 서열을 가졌다. 클론 18은 $V\lambda$ 2 서열로부터 유래된 경쇄 골격을 포함하였고 (클론 18B는 $V\lambda$ 2 생식세포 골격 서열을 가짐); 클론 17 및 76는 $V\lambda$ 1 서열을 가졌으며, 및 클론 5는 $V\lambda$ 3 서열을 포함하였다. 클론 18 및 17은 V_H - V_L 서플링 및 scFv을 포함하여, 복수개의 브랜치 및 라이브러리로부터 유래되었다. 클론 76은 V_H - V_L SJ25C1 경쟁적 용리 (라운드 6)으로부터 유래되었고; 클론 5는 was derived from V_H - V_L FMC63 경쟁적 용리 (라운드 6)으로부터 유래하였다.

표 2

표 2: 예시적인 클론의 서열 (SEQ ID NO.)					
클론 #	중쇄 가변 (V_H) 영역 (아미노산)	경쇄 가변 (V_L) 영역 (아미노산)	ScFv 서열 (아미노산, 뉴클레오타이드)	CDR-H (1, 2, 3) (Kabat) (아미노산)	CDR-L (1, 2, 3) (Kabat) (아미노산)
5	12	17	10	18, 19, 20	31, 32, 33
17	12	15	6	18, 19, 20	25, 26, 27
18	11	13	2	18, 19, 20	21, 22, 23
18B	11	14	4	18, 19, 20	21, 22, 24
76	11	16	8	18, 19, 20	28, 29, 30

[0632]

1C. 레퍼런스 항체에 대한 결합 친화성, 경쟁

[0633]

[0417] 클론 5, 17, 18, 18B, 및 76을 단일-단계 정제법으로 정제하고 SDS 겔을 이용하여 평가하였다. 예시적인 연구 결과로부터의 겔을 도 2에 도시하였다 (레인 1 및 2=클론 5, 비환원, 환원, 환원; 레인 3 및 4=클론 17, 비환원, 환원; 레인 5 및 6=클론 18, 비환원 및 환원; 레인 7 및 8=클론 76, 비환원 및 환원). 이 연구에서, 클론 5, 17, 18, 및 76의 등전점은 각각 5.36, 5.32, 7.11, 및 5.32인 것으로 측정되었다.

[0634]

[0418] 온도 상승시 스피로 오렌지 단백질을 분석하기 위해 BioTad CFX96 기기를 이용하여 응점(T_m)을 측정한 결과, 레퍼런스 항체 FMC63 scFv에서 관찰된 것과 유사한 T_m 값이 얻어졌다. 이 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

표 3: T_m 의 평가	
클론, 조건	T_m ($^{\circ}\text{C}$)
5, 이미다졸	53
5, pH 6	61
5, pH 7	57
5, pH 8	57
17	51
18	59
18B	59
FMC63 scFv	56

[0636]

[0419] 클론들을 적정하고, 양성 대조군으로서 레퍼런스 쥐 CD19 항체, FMC63 scFv를 이용하여, CD19-발현 K562 세포에 대한 이들의 결합 친화성(EC_{50})을 유세포 분석법으로 평가하였다. 클론 18에 대한 것과 상이한 다른 결합 친화성을 갖기 포함하고, 이들을 비교하는, 3 가지 개별 분석법으로부터의 결과를 도 3A-3C에 나타내었다.

[0638]

[0420] 이 분석의 결과를 도 3A에 도시하였으며, 클론 18, 클론 17, 이 연구에 의해 동정된 또 다른 클론(클론 192로 추정됨; 표 6의 서열 참조), 및 레퍼런스 항체 (FMC63 scFv)의 EC_{50} 값들은 각각 3.79 nM, 14.86 nM, 12.80 nM, 및 7.37 nM인 것으로 측정되었다. 이 분석의 결과를 도 3B에 도시하였고, 클론 18, 클론 18B, 및 클론 76의 EC_{50} 값은 각각 7.1 nM 및 9.3 nM, 및 7.9 nM으로 측정되었다. 이 분석의 결과를 도 3C에 도시하였고, 클론 18 및 클론 76의 EC_{50} 값은 각각 4.1 nM 및 8.8 nM인 것으로 측정되었다.

[0639]

[0421] 그러므로, 분석된 각각의 클론들은 레퍼런스 항체와 유사한 친화도, 예컨대, 레퍼런스의 그것과 대략 동일하거나 더 낮은 EC_{50} 을 갖거나, 또는 레퍼런스 항체의 EC_{50} 의 약 1.5배 이하, 또는 약 2배 이하 또는 약 3배 이하만큼 더 큰 값의 친화도로, CD19-발현 세포에 특이적으로 결합하였다.

[0640]

[0422] 또 다른 분석법에서, 클론 18, 5, 17, 동정된 다른 클론 (161, 170, 1 (참조: 표 6의 서열 정보)), 및 양성 대조군 레퍼런스 항체 FMC63 scFv (한 플레이트) 및 클론 18, 동정된 다른 클론(177, 184, 192, 198), 및 양성 대조군 레퍼런스 항체 FMC63 scFv (또 다른 플레이트)를 동일한 분석법으로 평가하였다. 그 결과를 도 4에 나타내었다. 상기 2 플레이트에 대해 관찰된 EC_{50} 값을 표 4A 및 4B에 나타내었다. 도시된 바와 같이, 클론들은 레퍼런스 항체의 결합 친화도와 필적할만한 결합 친화도를 갖는 것으로 관찰되었다.

표 4

표 4A					
	클론 18	클론 5	클론 17	예시적인 부가적 클론 (클론 161, 170, 1)	FMC63 scFv
$\text{EC}_{50}(\text{nM})$	4.79	15.84	8.32	52.26, 96.68, 213.80	5.06
표 4B					
	클론 18	예시적인 부가적 클론 (클론 177, 184, 192, 198)		FMC63 scFv	
$\text{EC}_{50}(\text{nM})$	3.11	53.33, 113.90, 12.02, 13.21		5.83	

[0641]

[0423] CD19-발현 세포에 대한 결합을 놓고 다양한 항체들이 벌이는 경쟁을 평가하기 위해 경쟁 결합 분석을 수

행하였다. 한 가지 분석법에서, Ramos 세포에 대한 0.5nM (~EC₅₀) FITC-표지된 SJ25C1의 결합을 캔쥬케이트되지 않은 경쟁자인 FMC63 IgG 또는 대조군 IgG를 다양한 농도로 존재시키거나 부재하에 평가하였다; 결합을 유세포 분석법 (평균 형광 강도)으로 평가하였다. 결과를 도 5A에 나타내었으며 이로부터, 이 연구에서 FMC63 IgG가 CD19에 대한 결합을 두고 SJ25C1 IgG1와 경쟁한 것으로 나타났고, 이는 SJ25C1 및 FMC63가 중복 에피토프, 예컨대, CD19의 공통 에피토프에 결합함을 시사하는 것이다. 또 다른 분석법에서, 클론 18 scFv, FMC63 scFv (양성 대조군) 및 대조군 scFv (음성 대조군)의 다양한 농도의 존재 (또는 부재) 하에 CD19-발현 세포를, 표지된 FMC63 IgG와 함께 인큐베이션하였다. 결과를 도 5B에 나타내었다. 도시된 바와 같이, 클론 18 scFv 및 FMC63 scFv 두 가지 모두 (그리나 음성 대조군 scFv은 아님), 유사한 IC₅₀ 값 (각각 24.0 nM 및 19.8 nM)을 나타내면서, CD19-발현 세포에 대한 결합을 두고 FMC63 IgG와 경쟁하는 것으로 관찰되었는데, 이는 클론 18이 FMC63에 의해 인식된 에피토프와 중복되는 CD19의 에피토프에 결합하여, 결합을 놓고 유사한 정도로 레퍼런스 항체와 경쟁함을 가리키는 것이다.

[0643] [0424] 또 다른 분석법에서, 10 nM (EC₅₀) Alexa647-표지된 FMC63 scFv를 CD19-발현 K562 세포와 함께 다양한 농도의 클론 18 scFv, 클론 18B scFv, 클론 17 scFv, 클론 76 scFv, 레퍼런스 항체 (FMC63 scFv) 존재 또는 부재 하에 그리고 음성 대조군 항체 (R12)와 함께 인큐베이션하였다. 결과를 도 6에 나타내었다. The 클론 및 레퍼런스 항체 (그러나 음성 대조군 항체는 아님)는 CD19에 대한 결합을 두고 FMC63 scFv와 경쟁하는 것으로 나타났고, 레퍼런스 항체에 의한 그 자신과의 경쟁은 테스트된 클론에서 관찰된 경쟁과 유사하였다.

[0644] [0425] 집합적으로, 몇몇 연구에서, 다음의 EC₅₀ (결합 친화성) 및 IC₅₀ (경쟁) 값들이 다양한 클론에 대해 관찰되었고 이를 표 5에 나타내었다. 표 5에 나타난 바와 같이, 동정된 인간 CD19 항체들 중에는 레퍼런스 항체 자신에 비해, CD19에 대하여 유사한 정도의 결합 친화성을 갖고, 쥐의 항-CD19 레퍼런스 항체에 대하여도 유사한 정도의 경쟁적 억제를 나타내는, 예를 들어 EC₅₀ 및/또는 IC₅₀이 대략 동일하거나, 1.5배, 2배, 또는 3배 미만 또는 이하로 더 큰 값을 나타내는 항체들이 있다.

표 5

표 5: 예시적인 결합 연구로부터의 데이터 요약		
클론/항체	EC ₅₀ (CD19-발현 세포) (nM)	IC ₅₀ (nM) (결합에 대한 FMC63과의 경쟁)
클론 18	4.1 ± .57 (n=7)	20.1 ± 9.8 (n=3)
클론 18B	5.4 ± 1.3 (n=5)	28 (n=1)
클론 76	8.04 ± 0.3	18.2 ± 1.5 (n=2)
클론 17	11.7 ± 1.9	35.4 ± 3.9 (n=2)
클론 5	15.8 (n=1)	50 (n=1)
FMC63	6.1 ± 1.2 (n=6)	20.5 ± 6.7 (n=3)

[0645]

1D. 크기 배제 크로마토그래피

[0646] [0426] 클론 18B의 생물물리학적 특성을 크기-배제 크로마토그래피를 통해 평가하였다. HiLoad 16/600 Superdex 200 컬럼을 보정하고 Bio-Rad 겔 여과 표준 150-1901 kDa을 주입하고 1.5 mL/min에서 분획을 수집하여 레퍼런스를 생성하였다. 770 ug의 클론 18B scFv을 컬럼 내로 주입하고 동일 조건 하에 분획을 수집하였다. 결과를 도 7에 나타내었다 (도 7A=표준; 도 7B=클론 18B). 클론 18B scFv의 결과는 단일 피크를 나타내었고, 최소한도로 큰 크기 응집이 관찰되었다.

실시예 2: 부가적인 항-CD19 항체의 생성 및 평가

[0647] [0427] 쥐의 항-CD19 레퍼런스 항체와 유사한 특성 (및또는 결합을 두고 경쟁하는)을 갖는 예시적인 항-CD19 항체들 (scFv 단편들)을 부가적으로 생성 및 평가하였다.

2A. 라이브러리 선택, 항체 생성

[0648] [0428] 부가적으로 예시적인 항-CD19 scFvs를 각각 모세포 시스템에서 디스플레이되는 dsDNA-인코딩된 인간 항체 라이브러리 상에서 일련의 선택 단계를 포함하는, 2 가지 상이한 선택적 접근법으로 생성하였다.

[0652]

[0429] 한 가지 접근법에서, ("클론 18 CDR3 그래프팅"으로 추정됨), 실시예 1에서 동정된 클론에 존재하는 중쇄 CDR3 (CDR-H3) 서열 (SEQ ID NO: 20, DQGYHYYDSAEHAFDI)을 인간 나이브 V_H 라이브러리 골격부 내로 접목시켰다(grafted). 결과적인 CDR3-그래프트된 V_H 라이브러리를 나이브 인간 V_L 라이브러리의 멤버들과 함께 셔플시켜 V_H -(G4S)3- V_L 포맷으로 scFv 라이브러리를 생성하였다. CD19-발현 HEK293 세포에 특이적으로 결합하지만 모세포에는 결합하지 않는 멤버들을 농축하기 위해, 결과적인 scFv 라이브러리를 3개의 선택 라운드로 처리한 다음, 표면 스트리핑 라운드(R1), 면역침전 및 라운드 2를 위한 오프-레이트(R2) 처리하였다.

[0653]

[0430] 또 다른 접근법에서 ("FMC63 가이드된 선택"으로 여겨짐), (a) 나이브 V_H 라이브러리의 멤버들을 FMC63의 VL 영역과 함께 셔플링하고 (b) 나이브 V_L 라이브러리의 멤버들을 FMC63의 VH 영역과 함께 셔플링함으로써, 2가지 초기 scFv 라이브러리를 각각 생성하였다. 각기 2개 및 3개 라운드 후, 모 FMC63 V_H 또는 V_L 의 가이드에 따라 CD19-결합을 위해 (a) 및 (b)로부터의 라이브러리 멤버들을 농축시키기 위해. 결합 분자들을 표면 스트리핑에 의해 CD19/HEK293 세포 (R1)로부터 용리하고 CD19/K562 세포로부터 FMC63 용리하였다 (R2 및 R3). (a)에서 선택된 V_H 서열을 (b)의 선택 결과 얻어진 V_L 서열과 함께 셔플링시켜 3번째 scFv 라이브러리를 생성하였다. CD19/HEK293 세포를 표면 스트리핑에 의해 (R1), 이어서 CD19/K562 세포를 FMC63 용리하여 (R2) 그리고 CD19/HEK293 세포를 면역침전시켜(R3) 3개의 추가적인 선택 라운드를 수행하였다. 선택된 scFv 클론의 CD19-발현 세포에 대한 결합을, 세균에 의해 생산된 상등액을 이용하여 유세포 분석법으로 분석하였다. 선택된 scFv 풀을 *E.coli* 발현 벡터 내로 클로닝하고 HIS-태그된 scFvs로서 생성하였다. CD19-형질감염된 HEK293 세포에 대한 개별적인 클론의 결합을 유세포 분석법에 의해 항-HIS-Alexa647 컨쥬게이트를 이용하여 검출하였다. 클론 18 또는 클론 18B를 양성 대조군으로서 사용하고, 다양한 음성 대조군을 함께 사용하였다. 그 결과를 도 8A-C에 나타내었다 (MFI=평균 형광 강도).

[0654]

[0431] 도 8D에 도시된 결과는 23개의 예시적인 히트(hits)에 의한 CD19-특이적 결합을 확인해준다 (도 8A-C에서 별표는, CDR3 그래프팅 접근을 통해 동정된 4 히트 및 FMC63-가이드된 선택을 통한 19를 나타냄). 실시예 1에 설명된 바와 같이 CD19-발현 K562 세포에 대한 시험관내-번역된 FLAG-태그된 scFvs의 결합을 대조군 (모크 형질감염됨) K562 세포에 대한 결합과 비교하여 유세포 분석법으로 평가하였다. 나타난 바와 같이, 이 클론은 CD19-발현 세포에 특이적으로 결합한다.

[0655]

[0432] 실시예 1 및 2의 선택 접근법으로 생성된 이들 및 부가적인 CD19-특이적 scFv 클론들을 추가 평가하였다. 시퀀싱 결과 실시예 1에서 설명된 scFvs에도 존재하는 공통의 CDR-H3 서열 (SEQ ID NO: 20)을 공유하고 다양한 여러가지 경쇄 서열을 갖는 CD19-특이적 결합 항체 (scFvs)가 나타났다. 부가적인 CD19-결합 scFvs의 다양한 서열에 상응하는, scFv, V_H , V_L , 및 CDR (Kabat) 아미노산 서열 (및 인코딩 scFv 뉴클레오타이드 서열)을 비롯한 서열 식별자들을 표 6에 나타내었다. CD19-특이적 scFv 클론들 중에는 몇 가지 상이한 경쇄 가변 및 CDR 서열을 갖는 것들이 있고, 이들 중 일부는 SEQ ID NO: 11에 존재하는 CDR-H1, CDR-H2, 및/또는 CDR-H3, SEQ ID Nos: 18, 19, 및/또는 20의 서열을 갖는 CDR-H1, CDR-H2, 및/또는 CDR-H3, 및/또는 18, 72, 및 20의 서열을 갖는 CDR-H1, CDR-H2, 및/또는 CDR-H3이 있다. 표 6에 수록된 각각의 클론들은 인간 V_H 3 골격으로부터 유래하였다 (클론이 유래한 카파 및 람다 유전자 V 세그먼트를 표시함).

표 6

표 6: 예시적인 클론 서열 (SEQ ID NO.)						
클론 #	증쇄 가변 (V _H) 영역 (아미노산)	증쇄 가변 (V _L) 영역 (아미노산)	ScFv 서열 (아미노산, 뉴클레오타이드)	CDR-H (1, 2, 3) (Kabat) (아미노산)	CDR-L (1, 2, 3) (Kabat) (아미노산)	증쇄 골격부의 유래
488	63	71	45, 44	18, 72, 20	80, 100, 109	Vκ3
1304	62	68	47, 46	18, 72, 20	77, 97, 106	Vκ1
285	11	65	49, 48	18, 19, 20	74, 94, 103	Vλ2
192B	60	64	51, 50	18, 19, 20	73, 93, 101	Vλ2
328	61	66	53, 52	18, 19, 20	75, 95, 104	Vλ2
227	63	70	55, 54	18, 72, 20	79, 99, 108	Vκ1
1300	62	69	57, 56	18, 72, 20	78, 98, 107	Vκ1
1	12	67	59, 58	18, 19, 20	76, 96, 105	Vλ1
192	12	91	87, 86	18, 19, 20	73, 93, 102	Vλ2
241	63	90	89, 88	18, 72, 20	77, 97, 106	Vκ1

[0656]

2B. 정제 및 평가

[0658]

[0433] 표 6에 수록되거나 및/또는 실시예 1에 설명된 클론들을 비롯한 전술한 클론들을 단일-단계 정제에 의해 정제하고 SVS 젤을 통해 정제를 평가하였다. 결과를 도 9에 나타내었다 (레인 1=MW 마커; 레인 2, 9, 및 10=클론 5 (1530, 2880, 1130 $\mu\text{g/mL}$); 레인 3=클론 18B (660 $\mu\text{g/mL}$); 레인 4, 11, 12, 및 13=클론 17 (300, 1060, 180, 1440 $\mu\text{g/mL}$); 레인 5=클론 192B (1580 $\mu\text{g/mL}$); 레인 6 및 14=클론 76 (1340, 3220 $\mu\text{g/mL}$); 레인 7=클론 835 (470 $\mu\text{g/mL}$); 레인 8=클론 488 (340 $\mu\text{g/mL}$)). 실시예 1에서 설명된 바와 같이 용점(T_m)을 측정하자, 실시예 1에서 레퍼런스 항체 및 클론에 대해 관찰된 것들과 유사한 T_m 값이 얻어졌다 (표 7).

표 7

표 7: T_m 의 평가	
클론	T_m ($^{\circ}\text{C}$)
5	58
18B	57
17	52
192B	64
76	51/59
488	63
285	68
227	60

[0659]

[0660]

[0434] 다양한 클론들을 적정하고 다양한 CD19-발현 세포들에 대한 이들의 결합 친화성 (EC50)을 유세포 분석법으로 평가하였다. FMC63 scFv 레퍼런스 항체를 양성 대조군으로서 이용하였다. 다양한 CD19-특이적 scFv 클론에 대한 결합 친화성을 평가하는 5가지 별도 분석으로부터의 결과를 도 10A-10E에 나타내었다. 도시된 바와 같이, 선택에 의해 다양한 결합 친화성 및 포화가능한 결합 활성 범위를 갖는 몇몇 CD19-특이적 scFv 클론들이 결과되었다.

[0661]

[0435] 실시예 1에 설명된 바와 같이 경쟁 결합 분석을 수행하여, CD19-발현 세포에 대한 결합을 두고 쥐의 레퍼런스 항체와 경쟁하는, 다양한 동정된 항체 (scFv 클론)의 능력을 평가하였다. 일례에서, CD19-발현 세포를, 다양한 경쇄 서열을 갖고 공통의 중쇄 CDR3을 공유하는, 표시된 scFv 클론의 다양한 농도의 존재 하에 10 nM 표지된 FMC63 scFv와 함께 인큐베이션시켰다 (또는 FMC63 scFv (양성 대조군)). 결과를 도 11에 도시하였으며, 상기 클론이 CD19-발현 세포에 대한 결합을 두고 FMC63 scFv와, 다양한 IC₅₀ 값으로 경쟁한다는 것이 입증되었다. 유사한 연구를 수행하여 실시예 1 및 2에 설명된 스크리닝 접근법에서 동정된 다른 클론들의 특징을 평가하였다. 다양한 CD19-결합 항체 (scFvs)에 대하여 관찰된 EC₅₀ (결합 친화성) 및 IC₅₀ (경쟁) 값들을 표 8에 나타내었다. 클론 79, 835, 184, 505, 506, 및 305에 대한 CDR-L3 서열을 각각 SEQ ID NOS: 116, 117, 118, 119, 120, 및 121에 나타내었다.

표 8

표 8: 다양한 결합 및 경쟁 분석 결과		
클론/항체	EC ₅₀ (CD19-발현 세포) (nM)	IC ₅₀ (nM) (결합에 대한 FMC63과의 경쟁)
클론 18B	4.9 ± 0.8 (n=7)	32.9± 3.2 (n=3)
클론 17	11.6 ± 1.1 (n=5)	35.4 ± 3.9 (n=2)
클론 76	7.0 ± 1.4 (n=5)	18.2 ± 1.5 (n=2)
클론 5	15.8 (n=1)	50 (n=1)
클론 192B	7.7 ± 1.4 (n=3)	15.7 ± 2.5 (n=3)
클론 488	2.9 ± 0.4 (n=4)	6.1 ± 0.7 (n=6)
클론 79	65.7 (n=1)	102.5 (n=1)
클론 835	71.8 (n=1)	>200
클론 184	113.9 (n=1)	N/A
클론 505	138.9 (n=1)	N/A
클론 506	179.3 (n=1)	N/A
클론 1	213.8 (n=1)	N/A
클론 241	5.2 ± 0.1 (n=2)	14.6 ± 2.7 (n=3)
1300	1.3 ± 0.1 (n=3)	3.9 ± 0.5 (n=2)
227	31.8 ± 5.3 (n=3)	56.1 ± 3.9 (n=2)
285	2.5 ± 0.5 (n=4)	9.4 ± 1.4 (n=3)
305	32.2 ± 6.9 (n=2)	> 500 (n=2)
328	10.9 ± 4.6 (n=4)	32.9 (n=1)
FMC63	6.0 ± 0.8 (n=9)	15.0 ± 2.8 (n=10)

[0662]

[0663]

[0436] 동정된 인간 CD19 항체들 (scFv 단편들) 중에서, 많은 것들이 쥐의 항-CD19 레퍼런스 항체, FMC63에 비해 CD19에 대해 유사하거나 더 큰 결합 친화성 (예컨대 유사하거나 더 낮은 EC₅₀ 값)을 나타내는 것으로 입증되었다. 또한 많은 항체들이 레퍼런스 항체가 그 자신과 경쟁하는 능력에 비교되는 바와 같이, CD19에 대한 결합을 두고, 쥐의 항-CD19 레퍼런스 항체와 유사하거나 더 큰 경쟁 정도로 (예컨대 유사하거나 더 낮은 IC₅₀ 값) 경쟁하는 것으로 입증되었다.

[0664]

[0437] 예를 들어, 클론들은 레퍼런스 항체들의 EC₅₀ 값보다 작거나, 대략 동일하거나 또는 약 1.5배, 2배 또는 3배 이하로 큰 EC₅₀ 값을 갖는 것으로 관찰되었다. 마찬가지로, 동정된 항-CD19 항체 (scFvs) 중 몇 가지는 FMC63 scFv에 대해 관찰된 IC₅₀ 값보다 낮은 IC₅₀ 값, FMC63에 대해 관찰된 것과 대략 동일한 IC₅₀ 값 또는 1.5배 또는 2배 또는 3배 이하로 큰 IC₅₀ 값 (예컨대 레퍼런스 항체에 의한 경쟁보다 1.5배, 또는 2배 또는 3배 이하로 낮은 경쟁 정도)으로 CD19-발현 세포에 대한 결합을 두고, 표시된 FMC63 scFv와 경쟁하는 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 이들 연구가 FMC63에 의해 특이적으로 결합된 에피토프와 중복된 CD19의 에피토프에 결합하는 항

체들을 복수개 동정하였음을 가리키는 것이다.

[0665] 실시예 3: CD19에 대한 키메라 항원 수용체(CARs)의 생성 및 이러한 CARs을 발현하는 세포의 조작

[0666] [0438] 실시예 1에 설명된 바와 같이 인간 항-CD19 scFv를 함유하는 항원-결합 영역을 갖는, 다양한 예시적인 키메라 항원 수용체 (CARs)를 생성하였다. 구체적으로, 다음의 클론으로부터 유래하고 표시된 서열 식별자에 제시된 아미노산 서열을 갖는, scFvs (VH-VL 포맷)을 갖는 CAR을 인코딩하는 핵산 분자들을 생성하였다: 클론 18 (SEQ ID NO:2), 클론 18B (SEQ ID NO:4), 클론 17 (SEQ ID NO:6), 클론 76 (SEQ ID NO: 8), 및 클론 5 (SEQ ID NO:10). 부가적으로, 각 클론에 있어서, 동일한 VH 및 VL 서열을 갖지만, 역방향(VL-VH)으로 존재하는 CAR을 인코딩하는 구조물들도 생성하였다. FMC63로부터 유래된 쥐의 항-CD19 scFv를 함유하는 CAR (VH-VL 배향)을 대조군으로서 사용하였다. 각각의 CAR은 Ig-유도된 스페이서; 인간 CD28-유도된 막관통 도메인; 인간 4-1BB-유도된 세포내 시그널링 도메인; 및 인간 CD3 제타-유도된 시그널링 도메인, 형질도입 마커로서 사용하기 위해, 자가-절단된 T2A 서열에 의해 CAR 서열로부터 분리된 트렁케이트된 EGFR (EGFRt) 서열을 추가로 포함하였다.

[0667] [0439] 다양한 CAR을 발현하는 일차 인간 T 세포 집단을 생성하였다. 각각의 CAR을 인코딩하는 핵산 분자를 렌티바이러스 벡터 내로 개별적으로 클로닝하고, 이를 이용하여, 건강한 도너로부터 수득된 인간 PMC 샘플로부터 단리된 집단에서 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 형질도입시켰다 (기본적으로 Yam 외 (2002) Mol. Ther. 5:479; WO2015/095895에 설명된 바와 같은 방법).

[0668] [0440] 형질도입 및 팽창 후, 유세포 분석법에 의해 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 표면 상의 EGFRt 형질도입 마커의 발현을 검정하기 위해 항-EGFR 항체로 염색하였다. 도 12A는 CD8+ 세포 중 다양한 CAR의 발현에 있어서 대표적인 결과를 제공한다; 유사한 결과가 CD4+ 세포에 대해서도 관찰되었다. CAR 단백질 발현을 항-CD247 (CD3 제타) 항체 (각각의 경우 CAR을 나타내는 대략 50 kD의 밴드 및 세포 내에 존재하는 내인성 CD3 제타 사슬을 나타내는 약 18 kDa의 밴드가 감지됨)를 이용한 웨스턴 블로팅에 의해 확인하였다 (도 12B). 그 결과 일차 T 세포 집단에서, 다양한 인간 scFv-함유 CAR 구조물 (VH-VL 및 VL-VH 배향을 포함) 및 대조군(쥐의, FMC63-유래된) CAR 구조물 각각에 있어서 필적할만한 정도의 형질도입 및 CAR 단백질 발현이 입증되었다. 형질도입 처리되지 않은 세포에서는 EGFRt 발현이 감지되지 않았다. 웨스턴 블로팅 결과는 VH-VL 배향에서 클론 76으로부터 유래된 CAR이 상이한 글리코실화 형태로 존재하였음을 확인해주었다.

[0669] [0441] 도 12A에 도시된 바와 같이, T 세포 집단은 항-EGFR 항체에 의한 염색, 유세포분석기 상에서의 소팅 및 CD19+ B-림프모구 세포주 (B-LCL)로부터의, 조사된 (8,000 rad) 세포의 존재하에서의 자극에 의해, 형질도입된 세포(유세포 분석법에 의해 확인된 바와 같이 100% EGFRt+ 이거나 이에 근사함)가 성공적으로 농축되었다 (기본적으로 Yam 외 (2002) Mol. Ther. 5:479; WO2015/095895에 설명된 바와 같음).

[0670] 실시예 4: 시험관내에서 항-CD19 키메라 항원 수용체 (CAR)을 발현하기 위해 조작된 T 세포의 이펙터 기능 평가

[0671] [0442] 실시예 3에서 설명된 바와 같이 제조된, 인간 항-CD19 scFvs를 함유하는 다양한 CARs를 발현하는 유전자 조작된 인간 T 세포 (either CD8+ 또는 CD4+)를 CD19-발현 세포와 공동 배양한 후 다양한 반응에 대하여 평가하였다.

A. 세포용해 활성(Cytolytic Activity)

[0673] [0443] CD19-발현 표적 세포를 다양한 CAR을 발현하는 CD8+ T 세포와 함께 인큐베이션한 다음 EGFRt 단독으로 (음성 대조군) 세포들을 개별적으로 형질도입하였다(음성 대조군). 인큐베이션 후, 표적 세포의 용해를 모니터링하였다. 구체적으로, CD19-형질도입된 K562 세포 (K562/CD19), Raji (CD19+ B 세포 림프종 line) 세포, 및 비-형질도입된 K562 대조군 세포 (음성 대조군) (도 13A) 및 일차 인간 만성 림프구성 백혈병 세포 (CLL; 도 13B)의 용해를 테스트하였다.

[0674] [0444] 표적 세포 (K562/CD19 Raji 비-형질도입된 K562 대조군 세포 또는 CLL)를 밤새 ^{51}Cr 로 표지시켰다. 표지된 세포들을 세척하고 이펙터 대 표적(E:T) 비율을 30:1로 하여 이펙터 T 세포(CAR-발현 및 음성 대조군 CD8+ 세포)와 함께 삼중으로 인큐베이션하였다. 자연발생적 용해를 측정하기 위해, 표적 세포들을 동 부피의 배지와 함께 그러나 이펙터 세포 없이 인큐베이션하고, 표적 세포를 세제와 함께 인큐베이션하여 표적 세포를 완전히 용해시킨 후 최대 용해를 구하였다. 4 시간 인큐베이션 후 γ -계수를 위해 상등액을 수확하였다. 실험 조건에서의 퍼센트 특이적 용해를 다음과 같이 계산하였다:

$$[(\text{실험적 방출} - \text{자연적 방출}) / (\text{최대 방출} - \text{자연적 방출})] \times 100.$$

[0676]

[0445] 결과를 도 13A 및 13B에 나타내었다. 도 13A에 도시된 바와 같이, 다양한 인간 항-CD19 scFv-함유 CAR을 발현하는 조작된 CD8+ T 세포들은 쥐의 항-CD19 (FMC63) scFv를 함유하는 CAR을 발현하는 세포와 필적할만한 정도로, CD19+ 세포에 대하여 항원-특이적 세포용해 활성을 나타내었다. 이 세포독성 활성은 CD19를 발현하지 않는 대조군 K562 세포에 대하여는 관찰되지 않았다. VH-VL 배향 (HL)으로 인간 scFvs를 갖는 CAR을 발현하는 세포에 대해 관찰된 세포용해 활성 정도는 쥐의 scFv-함유 CAR을 발현하는 세포에서 관찰된 것과 필적하거나 또는 더 큰 것으로 관찰되었다. VH-VL (HL) 배향으로, 주어진 인간 scFv를 갖는 CAR을 발현하는 세포에 있어서 관찰된 세포용해 활성 정도는 일반적으로 역 VL-VH 배향 (LH)으로, 대응하는 scFv를 갖는 CAR을 발현하는 세포에서 관찰된 것보다 일반적으로 더 크다. 도 13B에 도시된 바와 같이, 이 결과는 다양한 인간 항-CD19 scFv-함유 CARs (VH-VL 배향)을 발현하는 조작된 CD8+ 세포에 의한 일차 인간 CLL 세포에 대하여 항원-특이적 세포용해 활성도 입증하였다.

[0677]

B. 시토카인 분비

[0678]

[0446] CAR-발현 세포를 항원-발현 및 대조군 표적 세포와 함께 인큐베이션한 다음 시토카인 분비를 평가하였다. 형질도입된 CD8+ 및 CD4+ T 세포들을 이펙터 대 표적(E:T) 비율을 2:1로 하여 표적 세포(K562, K562/CD19, Raji)와 함RP 삼중으로 공동-배양하였다. 형질도입된 CD8+ 세포를 일차 인간 만성 램프구성 백혈병 세포 (CLL)와 공동-배양한 후 시토카인 분비를 마찬가지로 테스트하였다. 공동-배양된 세포들을 24 시간 인큐베이션한 다음, 멀티플렉스 시토카인 면역분석법 (Luminex[®])을 이용하여 IFN-γ (CD8+ 세포) 또는 IFN-γ, TNF-α, 또는 IL-2 (CD4+ 세포)에 대해 측정하기 위해 상등액을 수집하였다.

[0679]

[0447] CD8+ 세포에 대한 결과를 도 14A 및 14B에 도시하였다. 다양한 인간 항-CD19 scFv-함유 CARs를 발현하는 조작된 CD8+ T 세포들이 CD19+ 세포와 인큐베이션된 후, 쥐의 항-CD19 (FMC63) scFv를 함유하는 CAR을 발현하는 세포에서 관찰된 것과 필적할 정도로, IFN-γ을 항원-특이적 방식으로 분비하는 것으로 관찰되었다. 시토카인 분비는 CD19를 발현하지 않는 대조군 K562 세포 인큐베이션 후에는 관찰되지 않았다. VH-VL 배향의, 테스트된 인간 항-CD19 scFvs를 갖는 CAR을 발현하는 세포에서 관찰된 시토카인 분비 수준은 쥐의 항-CD19 scFv-함유 CAR을 발현하는 세포에 대하여 관찰된 것과 필적하거나 몇몇 경우 더 높았다. VH-VL으로, 주어진 인간 scFv를 갖는 CAR을 발현하는 세포에서 관찰된 IFN γ 분비는 일반적으로, 역(VL-VH) 배향으로 대응하는 scFv를 갖는 CAR을 발현하는 세포에서 관찰된 것보다 더 높다. 도 14B에 도시된 바와 같이, CLL 세포와의 공동 배양 후, 다양한 인간 항-CD19 scFv-함유 CARs (VH-VL 배향)을 발현하는 CD8+ 조작된 T 세포에 의한 항원-특이적 시토카인 분비 역시도 관찰되었다.

[0680]

[0448] CD4+ CAR-발현 T 세포에 대한 결과가 도 15에 도시되어 있다. 다양한 인간 항-CD19 scFv-함유 CARs (VH-VL 배향)을 발현하는 조작된 CD4+ T 세포들은, CD19+ 표적 세포와의 인큐베이션에 이어 항원-특이적 방식으로 시토카인을 분비하는 것으로 관찰되었는데, 그 수준은 쥐의-scFv (FMC63)-함유 CAR을 발현하는 세포에서 관찰된 것과 필적하거나 일반적으로 더 큰 수준이다. 시토카인 분비는 다음의 CD19-음성 대조군 세포에서는 관찰되지 않았다.

[0681]

C. T 세포 증식

[0682]

[0449] CD19-발현 표적 세포와의 인큐베이션 후 다양한 CAR-발현 T 세포의 증식을 유세포 분석법으로 평가하였다. CD8+ 또는 CD4+ CAR-발현 T 세포를 0.2 μM 카르복시플루오레신 숙신이미딜 에스테르(CFSE)로 표지시켰다. 세포들을 세척하고, 외인성 시토카인 부재 하에 혈청-함유 배지에서 표적 세포(K562, K562/CD19 또는 Raji)와 함께 삼중으로 72시간 동안 인큐베이션하였다. 유세포 분석법에 의해 평가되는 바와 같이, 살아있는 T 세포의 분열을 CFSE 회색에 의해 나타내었다.

[0683]

[0450] CD8+ CAR-발현 T 세포 및 CD4+ CAR-발현 T 세포에 대한 결과를 각각 도 16A 및 16B에 나타내었다. 도 16A에 도시된 바와 같이, 테스트된 인간 항-CD19 scFv-함유 구조물들 각각을 발현하는 CD8+ T 세포는 CD19-발현 K562/CD19 또는 Raji 표적 세포와의 공동-배양 후 증식하였으나, 일반적으로 K562 대조군 세포와의 공동 배양 후에는 그렇지 않았다. 테스트된 인간 항-CD19 scFv를 갖는 CAR을 발현하는 T 세포에 대하여 관찰된 증식 정도는 쥐의 항-CD19 scFv-함유 CAR을 발현하는 세포에 대해 관찰된 것과 필적하였다. VH-VL 배향에서 주어진 인간 scFv를 갖는 CAR을 발현하는 세포의 증식 정도는 역(VL-VH) 배향으로 대응하는 scFv를 갖는 CAR을 발현하는 세포에 대하여 관찰된 증식 정도보다 일반적으로 더 큰 것으로 관찰되었다.

[0684]

[0451] CAR-발현 T 세포의 항원-특이적 증식 역시도 CD4+ 세포에 대하여 관찰되었다. 도 16B에 도시된 바와 같이, 테스트된 인간 항-CD19 scFv-함유 CAR 구조물 각각을 발현하는 CD4+ T 세포들은 CD19-발현 K562/CD19 또는

Raji 표적 세포와의 공동-배양 후 증식되었다. 테스트된 인간 항-CD19 scFv를 갖는 CAR을 발현하는 CD4+ T 세포에 대하여 관찰된 증식 정도는 쥐의 항-CD19 scFv-함유 CAR를 발현하는 세포에 대하여 관찰된 것과 필적하였다.

실시예 5: 생체내 입양 전달 후 CAR-발현 T 세포의 항-종양 효과

[0685] [0452] 환자-유도된 이종이식(patient-derived xenograft: PDX) 종양 모델 동물 대상자에게 세포를 입양전달한 후 종양을 모니터링함으로써, CAR-발현하는 조작된 일차 인간 T 세포의 항-종양 효과를 평가하였다. 6주 내지 8 주령 암컷 NOD.Cg.Prkdc^{scid}IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) 마우스들에게 개똥벌레 루시페라제 (Raji-ffluc)에 의해 형질감염된 0.5×10^6 Raji 림프종 표적 세포를 정맥(i.v.) 주사하였다. 6일 동안 종양 접목(engraftment)이 일어나도록 하고 생체발광 이미징을 이용하여 검정하였다. 제7일에, 마우스들에게 실시예 3에서 설명된 다양한, 조작된 일차 인간 T 세포 (CD8+ 세포 단독 (도 17A) 또는 CD4+ 및 CD8+ 세포가 1:1 비율로 조합된 것 (도 17B))의 최적화 투여량 (이 연구에서 1×10^6 CAR-발현 T 세포)을 단일 정맥(i.v.) 주사하였다. 대조군으로서, 마우스들에게 EGFRt 단독 (음성 대조군)에 의해 형질되입된 세포들을 투여하였다. 항-종양 효과의 차이를 보다 잘 가시화 하기 위하여 최적화 투여량(sub-optimal dose)을 이용하였다.

[0687] [0453] 입양 전달된 CAR-발현 세포의 항-종양 효과를 제 6, 9, 13, 20 27 및 34일에 생물발광 이미징을 이용하여 모니터링하였다. 생물발광 이미징을 위해, 마우스들에게 PBS에 재현탁시킨 루시페라제 기질(CaliperLife Sciences, Hopkinton, MA) ($15 \mu\text{g/g}$ 체중)을 복강(i.p.) 주사하였다. WO2015/095895에 설명된 바와 같이 마우스들을 마취시키고 이미징하였다. 평균 래디언스($\text{p/s/cm}^2/\text{sr}$)를 구하였다.

[0688] [0454] 도 17A 및 17B에 도시된 바와 같이, 대조군 마우스 중의 종양들은 연구 기간 중 대조군 T 세포(CD8+ 세포 단독 (도 17A) 또는 EGFRt 단독에 의해 형질도입된 CD4+ 세포와 CD8+ 세포의 조합 (도 17B))의 입양 전달에 이어 계속 성장하였다. 대조군 마우스들에 비해, 다양한 테스트된 항-CD19 scFv-함유 CARs을 각각 발현하는 조작된 T 세포가 입양 전달 투여된 마우스들은 더 낮은 정도의 생물발광 시그널을 갖는 것으로 관찰되었는데, 이는 치료된 동물에 있어서 종양 크기가 감소되고 및/또는 종양 성장 정도가 더 낮음을 가리키는 것이다. 일반적으로 도 17A에 도시된 바와 같이, 테스트된 인간 항-CD19 scFv CARs 단독을 발현하는 CD8+ T 세포의 입양 전달은 마우스 항-CD19 scFv (FMC63)를 함유하는 CAR을 발현하는 세포의 입양 전달과 적어도 동일한 정도로 종양 크기의 필적할만한 감소를 일으킨다. 도 17B에 도시된 바와 같이, 테스트된 인간 항-CD19 CARs를 발현하는 CD8+ 세포와 CD4+ T 세포의 조합을 입양 전달하자 종양 크기가 경시적으로 감소하는 것으로 관찰되었다. 이러한 인간 항-CD19 CAR-발현 세포의 입양 전달 후 종양 크기(생물발광 시그널에 의해 표시되는 바와 같은)는 마우스-scFv-유도된 CAR-발현 세포의 입양 전달 후 검출된 것보다 비교적 낮은 것으로 관찰되었다.

실시예 6: 항-CD19 항체에 의해 인식된 인간 CD19 내의 영역의 동정

[0689] [0455] 실시예 1에 설명된 특정한 항-CD19 항체 (scFvs), 또는 쥐의 항-CD19 (FMC63) scFv를 함유하는 CARs을 다양한 CD19 분자에 대한 결합에 대하여 평가하였다. (a) 인간 CD19 (SEQ ID NO:92에 제시된 아미노산 서열을 가짐), (b) 마카카 물라타(*Macaca mulatta*)(레수스 마카크 (레수스)) CD19 (SEQ ID NO:139에 제시된 아미노산 서열을 가짐; 수탁번호 F7F486), 또는 (c) 도 18A에 도시된 서열을 갖는 막-근위 영역을 함유하는 3가지 상이한 인간/레수스 키메라 CD19 분자, V1, V2, 및 V3 중 하나를 발현하도록 K562 세포를 조작하였다. 도 18A에 도시된 영역과 별도로, 각 키메라 분자의 나머지 영역들은 레수스 CD19의 대응하는 영역들에 대한 서열이 동일하였다.

[0690] [0456] 키메라 CD19 V1: 도 18A에 V1으로 표시되어 있는 키메라 분자의 74-아미노산 막-근위 영역은 SEQ ID NO: 92에 제시된 서열을 갖는 인간 CD19 분자의 대응하는 영역 (잔기 218 내지 291)의 서열과 동일한, SEQ ID NO: 140에 제시된 아미노산 서열을 갖는다.

[0691] [0457] 키메라 CD19 V2: 도 18A에 V2로 표시되어 있는 키메라 CD19 분자의 75-아미노산 막-근위 영역은 SEQ ID NO: 141에 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 이 영역 내에서, 27-아미노산 막-근위 부분의 서열은 인간 CD19의 대응하는 부분 (잔기 265 내지 291)의 서열과 동일하였다. 도시된 영역의 나머지 부분들은 SEQ ID NO: 139에 제시된 레수스 CD19 서열의 대응하는 부분의 서열과 동일하였다. 이 나머지 부분에서 대응하는 인간 서열과 비교하여 치환 또는 삽입된 위치는 밑줄 표시되어 있다.

[0692] [0458] 키메라 CD19 V3: 도 18A에 V3로 표시되어 있는 키메라 CD19 분자의 74-아미노산 영역은 SEQ ID NO: 142에 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 이 도시된 영역에서, 47-아미노산 부분은 SEQ ID NO: 92에 제시된 인간 CD19 서열의 대응하는 위치 (잔기 218-264)의 서열과 동일하였다. 나머지 27-아미노산 막-근위 부분은 SEQ ID NO: 139에 제시된 레수스 CD19 서열의 대응하는 부분의 서열과 동일하였다. 이 나머지 27-아미노산 부분에서 대

응하는 인간 서열과 비교하여 치환된 위치에 밀줄 표시하였다.

- [0694] [0459] 다양한 인간 항-CD19 scFv-함유 CARs 또는 쥐의 항-CD19 scFv (FMC63)-함유 CAR을 발현하는 일차 인간 T 세포들을 실시예 3에서 설명된 바와 같이 생성하고 이펙터 대 표적(E:T) 비율을 2:1로 하여, 다양한 CD19 분자를 인코딩하는 핵산 분자로 형질감염시킨 K562 표적 세포와 함께 공동-배양하였다. 세포들을 24 시간 동안 인큐베이션하고 표적 세포의 표면 상의 대응하는 CD19 분자에 대한 항-CD19 scFv-함유 CARs에 의한 기능성 결합의 표시자로서, 시토카인 면역분석법을 이용하여, IFN- γ 의 측정을 위해 상등액을 수집하였다. 결과를 도 18B에 도시하였다.
- [0695] [0460] 테스트된 각각의 항-CD19 CARs은 인간 CD19 분자 (그에 대한 기능성 결합을 나타냄)를 발현하는 세포와의 공동 배양 후 검출가능한 시토카인 수준을 나타내었으나, 레수스 CD19를 발현하는 세포와의 공동-배양 후에는 그렇지 않았다. 테스트된 항-CD19 CARs 각각의 경우, V1 표시된 레수스/인간 키메라 분자 (전체 막-근위 74-아미노산 영역 인간-유래) 및 V3 (27-아미노산 막-근위 부분 레수스-유래)를 발현하는 세포들과의 공동-배양 후 검출가능한 분비 수준이 관찰되었으나, V2로 표시된 레수스/인간 키메라 분자 (27-아미노산 막-근위 부분 인간-유래)를 발현하는 세포들과의 공동 배양후에는 그렇지 않았다.
- [0696] [0461] 이러한 결과들은 인간 CD19 분자 (SEQ ID NO: 92의 잔기 218-249에 대응)의 32-아미노산 부분 (SEQ ID NO: 143 (HPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWWMETGLLLP)의 적어도 일부가, 테스트된 항-CD19 CARs 각각에 의한 CD19에 대한 기능성 결합에 있어서 중요함을 가리킨다. 구체적으로, V1 및 V3 각각은 이 32-아미노산 서열 (도 18A에서 굵은 문자로 표시됨)을 함유하는 반면, V2의 대응하는 부분은 SEQ ID NO: 144 (RPGPKSSLLSLELKDDRPDRDMWWVTGLLLT)에 제시된 33-잔기 아미노산 서열을 함유하였는데, 이 서열은 레수스 CD19 분자의 대응하는 부분과 서열이 동일하지만, 대응하는 인간 서열과 비교할 때 5개의 아미노산 치환을 함유하고 (SEQ ID NO: 92의 인간 CD19 서열의 위치 218, 236, 242, 243, 및 249에서) 및 1개의 삽입 (SEQ ID NO: 92의 인간 CD19 서열의 위치 223과 224 사이)을 포함한다 (도 18A에 각각 밀줄쳐짐). 따라서, 이 결과는 인간 서열 내의 이들 위치(들) (SEQ ID NO: 92의 위치 218, 236, 242, 243, 249 및/또는 223-224) 중 적어도 하나에 존재하는 아미노산(들)이, 각각의 테스트된 CAR이 인간 CD19에 특이적으로 결합하는 능력에 있어서 중요하다는 것을 가리키는 것이다. 따라서, 이러한 결과는 에피토프에 결합한, 테스트된 인간 scFv-함유 CARs 각각이 마우스 scFv, FMC63을 함유하는 CAR과 비교하여 유사 및/또는 중복 에피토프에 결합된다는 결론을 뒷받침하는 것이다.
- [0697] [0462] 본 발명은 예컨대 본 발명의 다양한 측면을 서술하기 위해 제공된 특정 구체예 범위로 한정되는 것으로 의도되어서는 아니된다. 본 발명의 명세서 기재 및 교시내용으로부터, 본 발명에 설명된 조성을 및 방법에 다양한 변형이 가능할 수 있음이 명백하다. 이러한 변형은 본 발명의 진정한 개시 범위와 정신을 벗어남이 없이 실시가능하며 본 발명의 범위에 속하는 것으로 의도된다.

[0698]

[0463] 서열

TABLE 9

SEQ ID NO.	서열	설명
1	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCTGTGCAAGCCTCTGGATTACCTTIGATGATTATGCCAT GCACTGGTCCGGCAAGCTCAGGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGGTA TTAGTTGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACCTCCCTGTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCAACATGCTTGTATCTGGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTTGAGGCGGTTCAAGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCGCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGTCC GGCTTCTCTGGACAATCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAACCACAGTGAT GATGTCTCTGGTACCAACAAACACCAGGAAAGCCCCCAACTTATGCT TTATGATGTCAGTAAGCGGCCCTCGGGTCCATCGCTCTCTGGCTC CAGGTCTGGCAGAGCGGCCCTCCCTGATCATCTGGCTCCAGACTGAGG ATGAGGCTGATTATTCTGTCATATGCAAGCCGATAACACTCTGTCC TTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTA	클론 18 scFv (nt)
2	EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYDSEAHAFDIWGQQGTVTVSSGGGGSGGGGSQQQSALTQPRSVSGFP GQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRPSGVPHRFSGRSGR AASLIISGLQTEDEADYFCSSYAGRYNSVLFGGGTKLTVL	클론 18 scFv (aa)
3	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCTGTGCAAGCCTCTGGATTACCTTIGATGATTATGCCAT GCACTGGTCCGGCAAGCTCAGGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGGTA TTAGTTGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACCTCCCTGTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCAACATGCTTGTATCTGGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTTGAGGCGGTTCAAGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCGCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGTCC GGCTTCTCTGGACAATCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAACCACAGTGAT GATGTCTCTGGTACCAACAAACACCAGGAAAGCCCCCAACTTATGCT TTATGATGTCAGTAAGCGGCCCTCGGGTCCATCGCTCTCTGGCTC CAGGTCTGGCAGAGCGGCCCTCCCTGATCATCTGGCTCCAGACTGAGG ATGAGGCTGATTATTCTGTCAGCTCATATGCAAGCCGATAACACTCTGTCC TTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTA	클론 18B scFv (nt)
4	EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYDSEAHAFDIWGQQGTVTVSSGGGGSGGGSGGGQSALTQPRSVSGFP GQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRPSGVPHRFSGRSGR AASLIISGLQTEDEADYFCSSYAGRYNSVLFGGGTKLTVL	클론 18B scFv (aa)

[0699]

5	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGT CCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTGATGATTATGCCAT GCACGGGGTCCGGCAAGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGGCTCAGGTA TTAGTIGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATCGGGACTCTGTAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCACATGCTTTGATATCTGGGCAAG GGACAATGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGAATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCGTGTCT GGGCTCTGGACAGTCGATCACCATCTCTGCACTGGAACCAAGCAGTGA CGTIGGGTATAACTATGCTCTGGTACAGCAGCTCCAGGAACGCC CCCAAACTCCTCATAGTATAATCAGCGGCCCTCAGGGATTCCCTGA CCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAAGCAGCCACCTGGGCATCACCG GACTCCAGACTGGGACGAGGGCATTATTACTGCGGAACATGGGATGGC AATCTGAGTGCTGTATCGCGGAGGGACCAAGGTGACCGTCTC	클론 17 scFv (nt)
6	EVQLVESGGGLVQPGRLSCLRAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWQGGTMVTVSSGGGGGGGGGGGGSQSLTQPASVSGS PGQSITFCITGTSVDVGGVNVWSYQQLPGTAPKLIIYSNNQRPSGVPDFSG SKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSVVFGGGIKLTVL	클론 17 scFv (aa)
7	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGT CCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTGATGATTATGCCAT GCACGGGGTCCGGCAAGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGGCTCAGGTA TTAGTIGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATCGGGACTCTGTAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCACATGCTTTGATATCTGGGCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGAATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGTGTCTGCCCTGACTCAGTGTCA ACATIGGGATAATTATGTTCTGGTACAGCAACTCCAGGAACAGCC CCCAAACTCCTCATTTATGACAATGATAAGCGACCCCTCAGGGATTCCCTGA CCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAAGCAGCCACCTGGGCATCACCG GACTCCAGACTGGGACGAGGGCATTATTACTGCGGAACATGGGATGGC AATCTGAGTGCTGTATCGCGGAGGGACCAAGGTGACCGTCTC	클론 76 scFv (nt)
8	EVQLVESGGGLVQPGRLSCLRAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWQGGTMVTVSSGGGGGGGGGGGGSQSLTQPASVSA PGQEVTSCEGSSSNIGNNYVSYQQLPGTAPKLIIYDNDKRPSGVPDFSGSK SGTSATLGITGLQTGDEADYYCGIWDGNLSAVFGGGIKVTVL	클론 76 scFv (aa)
9	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGT CCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTGATGATTATGCCAT GCACGGGGTCCGGCAAGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGGCTCAGGTA TTAGTIGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATCGGGACTCTGTAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG	클론 5 scFv (nt)

[0700]

	GGTATCATTACTATGATAGTGCGAACATGCTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAATGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGCGGTTCAAGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGTCCTATGAGCTGACTCAGGACCCGTGTGTCT GTGGCCTGGGACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAG AAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCTGTAC TTGTCATCTATGATAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGATT C TCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCAGCTCCTGACCACACTGGGCTCA GGCAGAAGATGAGGCTGACTACTGCAACTCCCGGACAGCAGTGGTA ACAATTGGGTGTTGGCGGAGGGACAAAGCTGACCGTCTTA	
10	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTSSGGGGSGGGSGGGSSYELTQDPAVSVA LGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYDKNNRPSGIPDRFSGSSS GNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNWNVFGGGTLTVL	클론 5 scFv (aa)
11	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTSS	VH (클론 18, 18B reversion, 76, 285) (aa)
12	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTSS	VH (클론 17, 5, 1, 192) (aa)
13	QSALTQPRSVSGFPQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRP SGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQTEDEADYFCSSYAGRYNSVLFGGGTKLTV L	VL 클론 18 (aa)
14	QSALTQPRSVSGFPQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRP SGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQTEDEADYFCSSYAGRYNSVLFGGGTKLTV L	VL, 클론 18B (aa)
15	QSALTQPASVSGSPGSITIFCTGTSSDVGYYNYSWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDFSGSKSGTSASLAISGLRSEADYYCAAWDDLSVVFGGGTKLTVL	VL, 클론 17 (aa)
16	QSVLTQPPSVAAPGQEVTISCSGSSSNIGNYYSWYQQLPGTAPKLLIYDNDKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDGNLSAVFGGGTKVTVL	VL, 클론 76 (aa)
17	SYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYDKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNWNVFGGGTLTVL	VL, 클론 5 (aa)
18	DYAMH	CDR-H1 (aa)
19	GISWNSGRIGYADSVKG	CDR-H2 (aa)
20	DQGYHYYDSAEHAFDI	CDR-H3 (aa)
21	TGTTSDDVS	클론 18, 18B CDR-L1 (aa)
22	DVSKRPS	클론 18, 18B CDR-L2 (aa)
23	CSYAGRYNSVL	클론 18 CDR-

[0701]

		L3 (aa)
24	SSYAGRYNSVL	클론 18B CDR-L3 (aa)
25	TGTSSDVGGYNVVS	클론 17 CDR- L1 (aa)
26	SNNQRPS	클론 17 CDR- L2 (aa)
27	AAWDDSLSVV	클론 17 CDR- L3 (aa)
28	SGSSSNIGNNYVS	클론 76 CDR- L1 (aa)
29	DNDKRPS	클론 76 CDR- L2 (aa)
30	GTWDGNLSAV	클론 76 CDR- L3 (aa)
31	QGDSDLRSYYAS	클론 5 CDR- L1 (aa)
32	DKNNRPS	클론 5 CDR- L2 (aa)
33	NSRDSSGNNWW	클론 5 CDR- L3 (aa)
34	GGGGSGGGGGGGGS	링커 (aa)
35	GISWNSGRIGY	CDR-H2
36	X ₁ GX ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ S X ₁ = T, S, 또는 Q; X ₃ = T, S, 또는 D; X ₄ = T 또는 S; X ₅ = 부재 또는 S; X ₆ = 부재, D, 또는 N; X ₇ = 부재 또는 V; X ₈ = 부재, G, 또는 I; X ₉ = 부재, G, 또는 R; X ₁₀ = S, Y, 또는 N; X ₁₁ = D 또는 N; X ₁₂ =D 또는 Y; X ₁₃ = V 또는 A	CDR-L1 컨센서스
37	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ RPS X ₁ = D 또는 S; X ₂ = V, N, 또는 K; X ₃ = S, N, 또는 D; X ₄ = K, Q, 또는 N	CDR-L2 컨센서스
38	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁ = C, S, A, G, 또는 N; X ₂ = S, A, 또는 T; X ₃ = Y, W, 또는 R; X ₄ = A 또는 D; X ₅ = G, D, 또는 S; X ₆ = R, S, 또는 N; X ₇ = Y, L, 또는 G; X ₈ = N 또는 S; X ₉ = S 또는 부재; X ₁₀ = V, A, 또는 N; X ₁₁ = W 또는 부재; X ₁₂ = L 또는 V.	CDR-L3
39	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIW GSETTYYNSALKSRLTIKDNKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGS YAMDYWGQGTSVTVSS	FMC63 VH
40	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLIIYHTSR LHSGVPSRFSGSGSIDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNILPYTFGGGTKEIT	FMC63VL
41	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQQGLEWIGQI YPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISS VVDFYFDYWGQGTVTSS	SJ25C1VH
42	DIELTQSPKFMSTSVDGRSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSAT YRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKL	SJ25C1 VL

	EI	
43	GSTSGSGKPGSSEGSTKG	링커
44	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGGGAGGCTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGAATAGTGGTAGCATAGGCTATCGGACTCTGTAAAGGGCCA TTCACCATCTCAGAGACAACGCCAAGAACCTCCGTATCGCAAATGAA CAGTCAGAGCTGAGGACACGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATGTGCCAACATGCTTTGATATCTGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGCTCCTAGGTGGAGGCCGTTCAGGCCAGGTGGC TCTGGCGGTGGGGATCGGAAATTGTTGACGCCAGTCTCAGGCCACCC GTCTTGTCTCAGGGAGACGCCACCCCTCTGAGGGCCAGTCAGA GTATAACCACACTTACGCTGGTACCAACAGAAACCTGCCAGGTCCC CGGCTCCTCATCTATGATGCCTCCAACAGGGCACTGGCATCCCAGCCAG GTTCAGTGGCAGTGGTCTGGGACAGACTCACTCTCACCATCAGCAGCC TAGAGCCTGAAGATTITGCAACTTACTACTGTCAACAGAGITACAGTCACC CTCGAATGTACACTTTGCCAGGGACCAACTGGATATCAAA	클론 488 scFv (nt)
45	EVQLVQSGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMSLRAEDTAVYYCARDQGY HYDSEAHAFDIWGGTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGSEIVLTQSPATLSSL PGETATLSCRASQSINHYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAUTGIPARFSGSGS GTDFTLISSLEPEDFATYYCQSYSHPRMYTFGQGTIKLDIK	클론 488 scFv (aa)
46	CAGATGCAGCTGGTGCAGTCGGGGAGGCTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGAATAGTGGTAGCATAGGCTATCGGACTCTGTAAAGGGCCA TTCACCATCTCAGAGACAACGCCAAGAACCTCCGTATCGCAAATGAA CAGTCAGAGCTGAGGACACGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATGTGCCAACATGCTTTGATATCTGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGCTCCTCAGGTGGAGGCCGTTCAGGCCAGGTGGC TCTGGCGGTGGGGATCGGCACTGGATGCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGAGGAGACAGTCACCGTCACCTGCCAGCGAGTCAGGA CATTAGCAACTATTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAAGGAAGAGCCCCA AGCTCTGATCTACCGATCCTAACATGTGAAAGCAGGGTCCCCATCAAGG TTCAGTGGGGTGGATCTGGACAGATTCTACCTCACCATCAGCAGTC CAACCTGAAGATTITGCAACTTACTACTGTCAACAGAGITACAGTACCCCT CAGGCGTACACTTTGCCAGGGACCAAGCTGGAGATCAAA	클론 1304 scFv (nt)
47	QMQLVQSGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG ISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMSLRAEDTAVYYCARDQGY HYDSEAHAFDIWGGTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGSEIVLTQSPSSLSAS VGDRVTVCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDASNVKAGVPSRFSGG GSGTDFLISSLQPEDFATYYCQSYSTPQAYTFGQGTLEIK	클론 1304 scFv (aa)
48	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGAATAGTGGTAGGATAGGCTATCGGACTCTGTAAAGGGCCA	클론 285 scFv (nt)

[0703]

	TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGCCGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCGAACATGCTTGTATATCTGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCTCAGGTGGAGGCCGTTAGGCCAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCGCCCTGACTCAGCCTGCCCTGCT GGGCTCCTGGACAGTCATCACCACCTCTGACTGAAACCAGCAGTGA CCTGGTGGTTACAAATTATGTCTCTGGTATCAACACGCCAGGAAAGC CCCCAAACTCATCATTATGATGTCAGTGTCCGCCCTCAGGGTTCTGA TCGCTCTCTGGTCCAAGTCTGGAACACGCCCTCCCTGACCACCTCTGG GCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTACTGCGGCTCATACAGCA GTAGCACTCTCTGGTGTCCGCCAGGGACCAAGCTCACCGTCCTA	
49	EVQLVESGGGLVQPGRLSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNLSRAEDTAVYYCARDQGY HYDSEAHAFDIWQGGTVVTVSSGGGSGGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS PGQSVTISCTGTSSDLGGYNVSYQHPGKAPKLIVDVTVRPSGVSDRFSGS SKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGIKLTVL	클론 285 scFv (aa)
50	CAGGTGCAGCTGGTGGAGCTGGGGAGGCTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCTGTGAGCCTGGATTACACCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAAGGCCCTGGAGTGGTCTCAGGTA TTAGTTGAATAGTGGTAGGATAGGCTATCGGACTCTGAAAGGGCCGA TTCACCATCTCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGCCGTGTTACTGTCAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCGAACATGCTTGTATATCTGGGCCAAG GGACAATGGTCACCGTCTCTCAGGTGGAGGCCGTTAGGCCAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGGTGTGCTGACTCAGCCTCGCTCAGTG CGGGTCTCTGGACAGTCAGTCACCATCTCTGACTGGAATCAGCAGTG GTGTTGATAGTCAGGTATGTCCTGGTACCAACACCACCCAGGCAA GCCCCAAACTCATGATTATGATTTAGTAAGCGGCCCTCAGGGTCCCT GATGTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGAACACGCCCTCCCTGACCACCTCT GGGCTCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTACTATTGCACTCATATGCA CATCTCCCATAATTATGTCCTGAACTGGGACCAAGCTCACCGTCCTA	클론 192B scFv (nt)
51	QVQLVESGGGLVQPGRLSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNLSRAEDTAVYYCARDQGY HYDSEAHAFDIWQGGTVVTVSSGGGSGGGGGSGGGGSQAVLTQPRSVSGS PGQSVTISCTGTSSDLGGYNVSYQHPGKAPKLIVDFSKRPSGVPDFSG SKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAIISPNVVFGTGKLTIVL	클론 192B scFv (aa)
52	CAGGTGCAGCTGGTGGAGCTGGGGAGGCTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCTGTGAGCCTGGATTACACCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAAGGCCCTGGAGTGGTCTCAGGTA TTAGTTGAATAGTGGTAGGATAGGCTATCGGACTCTGAAAGGGCCGA TTCACCATCTCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGCCGTGTTACTGTCAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCGAACATGCTTGTATATCTGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCTCAGGTGGAGGCCGTTAGGCCAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCGCCCTGACTCAGCCTGCCCTGCT GGGCTCCTGGACATTGATCACCACCTCTGACTGAAACCAGAAGTGA	클론 328 scFv (nt)

[0704]

	CGTCGGTGGTTTGATTATGTCCTCTGGTACCAAGCATAACCCAGGCAAAGC CCCCAAACTCATAATTATGATGTCACTAACGGGCCCTCAGGGGTCTCTAA TCGCTTCTCTGGCGCAAGTCTGGCATCACGGCTCCCTGACCATCTCTGG GCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCACCTCATATAGACCCG GTCCAACATTTGTCCTCGGCACCGGGACCAAGCTCACCGTCTA	
53	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWQGGTVVTVSSGGGSGGGGSGGGSQSALTQPASVSGS PGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWYQHNPKGAKPLIYDVTKRPSGVSNRFSG AKSGITASLTISGLQAEDEADYYCTSYRPGPTFVFGTGTKLTVL	클론 328 scFv (aa)
54	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTACACCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTGGAAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCCACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGCCGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCAGAACATGCTTGTATCTGGGCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCTCAGGTGGAGGCCGTTAGGCCAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGGACATCCAGTTGACCCAGTCTCCTCCACCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCACACTGCCAGTCAGAG TATTAGTAGGTGGTGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCA AGCTCTGATCTACGATGCATCCAATTGGAAACAGGGTCCCCTCAGG TTCAGTGGAAAGTGGATCTGGACAGATTACTTCACCACAGCAGCTG CAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAACAGTATGATAATCTCCCT CTCACTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA	클론 227 scFv (nt)
55	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWQGGTVVTVSSGGGSGGGGSGGGSDIQLTQSPSTLSAS VGDRVITCRASQSISRWLAWYQQKPGKAPKLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFITFISSLQPEDIATYYCQQYDNLPLTFGGGTKEIK	클론 227 scFv (aa)
56	CAGATGCAGCTGGTGCAGCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTACACCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTGGAAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCCACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGCCGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCAGAACATGCTTGTATCTGGGCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCTCAGGTGGAGGCCGTTAGGCCAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGATGACCCAGTCTCCTCCACCTG TCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCACACTGCCAGTCAGAG CATTAGTCACTACTTGGCTGGTATCAACAGAAACCAGGGAAAGCCCCA AGCTCTGATCTTGATGCCCTCCGTTGGCAAGTGGGTCCCCTCAAGGT TCAGTGGCAGTGGATCTGGACAGATTCACTTCACCACAGCAGTCTGC AACCTGAAGATTTCGCAACTACTGTCAACAGAGTACGGTCCCCCT ATGTTCACTTICGGCCCTGGGACCAGAGTGGATCTCAAA	클론 1300 scFv (nt)
57	QMQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG	클론 1300

[0705]

	ISWNNSGSIKYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGSAIRMTQSPSTLSAS VGDRVITCRASQSISHYLAWYQQKPGKAPKLIFDASRLASGVPSRFSGSGS GTDFTLTSSLQPEDFATYYCQQSYGAPMFTFGPGTRVDLK	scFv (aa)
58	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCTGTGAGCCTCTGGATTACACCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCCGCAAGCTCCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGCTCAGGTA TTAGTTGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCGA TTCACCACATCTCAGAGACAACGCCAAGAACCTCCCTGTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCAGCATGCTTGTATCTGGGGCCAAG GGACAAATGGTCACAGTCTCCTCAGGTGGAGGCCTCAGGCAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCGCCCTCGTGTCT GGGCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCTGCACTGGGACCAGCAGTGA CGTTGGTGTATAACTTTGTCCTCTGGTACCAAGCAGCTCCCAGGAACAGC CCCCAAATTCTCATTTATGACAATAAAACGACCCCCAGGGATTCCTG ACCGATICTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCCTGGGATCACC GGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGCAACATGGGATAG CGGCCTGAGTGTGTTATTGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTTA	클론 1 scFv (nt)
59	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPVASVSGS PGQTSITISCTGTSSDVAYNFVSWYQQLPGTAPKFLIYDNNKRPPGIPDRFSGS KSGTSATLGITGLQTGDEADYYCATWDGSLSAVVFGGGTLTVL	클론 1 scFv (aa)
60	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSS	VH 클론 192B (aa)
61	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS	VH 클론 328 (aa)
62	QMQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSG ISWNNSGSIKYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS	VH 클론 1304 클론 1300 (aa)
63	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS	VH 클론 227, 488, 241 (aa)
64	QAVLTQPRSVSGSPGQSNTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHPGKAPKLIIYDF SKRPSGVPDFSGSKSGNTASLTISGLQAEDeadYYCSSYAAISPNYVFGTGT KLTVL	VL 클론 192B (aa)
65	QSALTQPASVSGSPGQSNTISCTGTSSDLGGYNVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDeadYYCGSYTSSSTLLWVFGGGT KLTVL	VL 클론 285 (aa)
66	QSALTQPASVSGSPGHSNTISCTGTRSDVGGFDYVSWYQHNPKGKAPKLIIYDVT	VL

[0706]

	KRPGVSNRFSGAKSGITASLTISGLQAEDeadYYCTSYRPGPTFVFGTGTKLTVL	클론 328 (aa)
67	QSALTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSSDVAYNFWSWYQQLPGTAPKFLIYDN NKRPPGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCATWDSGLSAVVFGGGTKLTVL	VL 클론 1 (aa)
68	AIRMTQSPSSLASAVGDRVTVCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDAS NVKAGVPSRFSGGGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTIKLEIK	VL 클론 1304 (aa)
69	AIRMTQSPSTLSASVGDRVITCRASQSISHYLAWYQQKPGKAPKLLIFDASRL ASGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSYGAPMFTFGPGTRVDK	VL 클론 1300 (aa)
70	DIQLTQSPSTLSASVGDRVITCRASQSISRWLAWYQQKPGKAPKLLIYDASN LETGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDIATYYCQQYDNPLTFGGGIKVEIK	VL 클론 227 (aa)
71	EIVLTQSPATLSLSPGETATLSCRASQSINHYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSYSHPRMYTFGQGTKLIDIK	VL 클론 488 (aa)
72	GISWNSGSIGYADSVKG	CDR-H2 클론 1304 클론 1300 클론 227 클론 488 클론 241 (aa)
73	TGISSGVDSHRYVS	CDR-L1 클론 192B 클론 192 (aa)
74	TGTSSDLGGNYVS	CDR-L1 클론 285 (aa)
75	TGTRSDVGGFDYVS	CDR-L1 클론 328 (aa)
76	TGTSSDVGAYNFVS	CDR-L1 클론 1 (aa)
77	QASQDISNYLN	CDR-L1 클론 1304 클론 241 (aa)
78	RASQSISHYLA	CDR-L1 클론 1300

		(aa)
79	RASQSI SRWLA	CDR-L1 클론 227 (aa)
80	RASQSINHYLA	CDR-L1 클론 488 (aa)
81	GISWNSGRIG	CDR-H2
82	GISWNNGSIG	CDR-H2
83	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ X ₁ = T, Q, 또는 R; X ₂ = G 또는 A; X ₃ = I, T, 또는 S; X ₄ = S, R, 또는 Q; X ₅ = 부재 또는 S; X ₆ = 부재, D, 또는 G; X ₇ = 부재, V, 또는 L; X ₈ = D, G, 또는 S; X ₉ = S, G, A, 또는 I; X ₁₀ = H, Y, F, S, 또는 N; X ₁₁ = R, N, D, 또는 H; X ₁₂ = Y, F, 또는 W; X ₁₃ = V 또는 L; X ₁₄ = S, N, 또는 A	CDR-L1 컨센서스
84	DX ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₂ = F, V, N, 또는 A; X ₃ = S, T, 또는 N; X ₄ = K, V, N, 또는 R; X ₅ = R, V, 또는 L; X ₆ = P, K, A, 또는 E; X ₇ = S, P, A, 또는 T	CDR-L2 컨센서스
85	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ X ₁ = S, G, T, A, 또는 Q; X ₂ = S, T, 또는 Q; X ₃ = Y, W, 또는 S; X ₄ = A, T, R, D, 또는 Y; X ₅ = A, S, P, G, 또는 N; X ₆ = I, S, G, T, L, A, 또는 H; X ₇ = S, P, 또는 L; X ₈ = P, T, S, Q, M, R, 또는 부재; X ₉ = N, L, A, M, 또는 부재; X ₁₀ = L 또는 부재; X ₁₁ = Y, W, F, V, 또는 L; X ₁₂ = V 또는 T	CDR-L3 컨센서스
86	GAAGTGCAGCTGGAGTCTGGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTACACCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCAGGAAGGGCTGGAGTGGGCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAGGGCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACCTCCCTGTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTAATCATAGTATGCGCAACATGCTTGTATATCTGGGCAAG GGACAATGGTCACCGTCTCTCAGGTGGAGGCCTTCAGGCAGGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGGCTGTGCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGT CGGGCTCTCTGGACAGTCAGTCACCATCTCTGCAGTGAATCAGCAGTG GTGTGATAGTCATAGGTATGCTCTCTGGTACCAACACCACCCAGGCAAA GCCGCCAAACTCATGATTATGATTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCCT GATCGTTCTCTGGCTCCAAGTCIGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCT GGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTACTATTGCTGCTCATATGCAGC CATCTCCCATAATTATGCTCTCGAACCTGGGACCAAGCTGACCGTCCTA	클론 192 scFv (nt)
87	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEVVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTSSGGGGSGGGGSGGGGSQAVLTQPRSVSGS PGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHHPGKAPKLMIYDFSKRPSGVPDFSG SKSGNTASLTISGLQAEDAYYCCSYAAISPVYVFGTGKLTVL	클론 192 scFv (aa)
88	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTACACCTTGATGATTATGCCAT	클론 241 scFv (nt)

[0708]

	GCACGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAAGGCCCTGGAGTGGGCTCAGGTA TTAGTTGAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACCTCCGTATCTGCAAATGAA CAGTCAGAGCTGAGGACACGGCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCAGAACATGCTTTGATATCTGGGCGAAG GGACAGTGGTCACCGCTCAGGTGGAGGCGGTCAAGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCGTCACTTGCCAGGCAGTCAGGA CATTAGCAACTATTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAGAGCCCTA AGCTCTGATCTACGATGCATCCAATGTGAAAGCAGGGTCCCCTAAGG TTCAGTGGGGTGGATCTGGGACAGATTCACTCTACCACAGCAGTCAG CAACCTGAGATITGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTACAGTACCCCT CAGGCGTACACTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGATATCAA	
89	EVQLVQSGGLVQPGRLSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYDSEAHAFDIWQGGTVVTVSSGGGSGGGSGGGSAIRMTQSPSSLAS VGDRVTVCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDASNVKAGVPSRFSGG GSGIDFILTISLQPEDFATYYCQQSystPQAYTFGQGTKLIDIK	클론 241 scFv (aa)
90	AIRMTQSPSSLASVGDRVTVCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDAS NVKAGVPSRFSGGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSystPQAYTFGQGT KLIDIK	VL 클론 241 (aa)
91	QAVLTQPRSVSGSPGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHHPGKAPKLMFYDF SKRPSGPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDeadYYCCSYAAISPNEYVFGTGT KLTVL	VL 클론 192
92	MPPRLLFLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLCQLKGTSQDGPTQQLTW SRESPLKPFLKSLGLPGLGIHMPLAIWLIFINVSSQMGGFYLCPGPSEKA WQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCLKNRSSEGPPSGKLMSPKLY VWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNLQSQDLTMAPGSTLWLSGVPPDSVR GPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWMVMETGLLPRATAQDAGKY YCHRGNLTMFSHLETARPVLWHWLLRTGGWKVSATLAYLIFCLCSLVGIL HLQRALVLRRKRKRMIDPTRRFKVTPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGR AQRWAAGLGGTAPSYPGNPSSDVQADALGSRSPPGVGPEEEGEGYEEPSE EDSEFYENDSNLQDQLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDEEL TQPVARTMDFLSPHGSAWDPSREATLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQP GPNHEEDADSYENMDNPDPDAWGRRMGTWSTR	CD19 Accession No. P15391 Homo Sapiens
93	DFSKRPS	CDR-L2 클론 192B, 클론 192
94	DVTVRPS	CDR-L2 클론 285
95	DVTKRPS	CDR-L2 클론 328
96	DNNKRPP	CDR-L2

		클론 1
97	DASNVKA	CDR-L2 클론 1304 클론 241
98	DASRLAS	CDR-L2 클론 1300
99	DASNLET	CDR-L2 클론 227
100	DASNRAT	CDR-L2 클론 488
101	SSYAAISPNEYV	CDR-L3 클론 192B
102	CSYAAISPNEYV	CDR-L3 클론 192
103	GSYTSSSTLLWV	CDR-L3 클론 285
104	TSYRPGPTFV	CDR-L3 클론 328
105	ATWDSGLSAVV	CDR-L3 클론 1
106	QQSYSTPQAYT	CDR-L3 클론 1304 클론 241
107	QQSYGAPMFT	CDR-L3 클론 1300
108	QQYDNLPLT	CDR-L3 클론 227
109	QQSYSHPRMYT	CDR-L3 클론 488
110	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ X ₁ = T, Q, S, 또는 R; X ₂ = G 또는 A; X ₃ = I, T, D, 또는 S; X ₄ = S, R, T, 또는 Q; X ₅ = 부재 또는 S; X ₆ = 부재, D, D, 또는 G; X ₇ = 부재, V, 또는 L; X ₈ = X 또는 부재; X ₉ = X 또는 부재; X ₁₀ = X; X ₁₁ = X; X ₁₂ = Y, F, D, 또는 W;	CDR-L1 컨센서스

[0710]

	X ₁₃ = V, A, 또는 L; X ₁₄ = S, N, 또는 A	
111	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ X ₁ = T, Q, S, 또는 R; X ₂ = G 또는 A; X ₃ = I, T, D, 또는 S; X ₄ = S, R, T, 또는 Q; X ₅ = 부재 또는 S; X ₆ = G, D, N, 또는 부재; X ₇ = 부재, V, 또는 L; X ₈ = D, G, I, L, S, 또는 부재; X ₉ = S, G, A, I, R, 또는 부재; X ₁₀ = H, Y, F, S, 또는 N; X ₁₁ = R, N, D, H, 또는 Y; X ₁₂ = Y, F, D, 또는 W; X ₁₃ = V, A, 또는 L; X ₁₄ = S, N, 또는 A	CDR-L1 컨센서스
112	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₁ =D 또는 S; X ₂ =F, V, N, K, 또는 A; X ₃ =S, T, D, 또는 N; X ₄ =K, V, N, Q, 또는 R; X ₅ =R, V, 또는 L; X ₆ =P, K, A, 또는 E; X ₇ =S, P, A, 또는 T	CDR-L2 컨센서스
113	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁ = C, S, A, G, 또는 N; X ₂ = S, A, 또는 T; X ₃ = Y, W, 또는 R; X ₄ = A 또는 D; X ₅ = G, D, 또는 S; X ₆ = R, S, 또는 N; X ₇ = Y, L, 또는 G; X ₈ = N 또는 S; X ₉ = S, N, 또는 부재; X ₁₀ =부재; X ₁₁ =V, A, 또는 W; X ₁₂ = L 또는 V.	CDR-L3
114	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁ =S, G, T, A, Q, C, 또는 N; X ₂ =S, Q, A, 또는 T;	CDR-L3 컨센서스

[0711]

	X ₃ =Y, S, W, R; X ₄ =A, D, R, T, 또는 Y; X ₅ =A, S, P, G, N, 또는 D; X ₆ =I, S, G, T, A, L, H, R, N; X ₇ =S, P, L, Y, G; X ₈ =P, T, S, Q, M, R, N 또는 부재; X ₉ =S, L, N, A, M 또는 부재; X ₁₀ =L 또는 부재; X ₁₁ =Y, W, F, V, A, 또는 L; X ₁₂ =V, T, 또는 L	
115	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁ =X; X ₂ =S, Q, A, 또는 T; X ₃ =Y, S, W, R; X ₄ =A, D, R, T, 또는 Y; X ₅ =X X ₆ =X X ₇ =S, P, L, Y, G; X ₈ =X 또는 부재 X ₉ =X 또는 부재 X ₁₀ =L 또는 부재; X ₁₁ =X X ₁₂ =V, T, 또는 L	CDR-L3 컨센서스
116	GTWDISLRFGV	CDR-L3 클론 79
117	CSYEAPHTHYV	CDR-L3 클론 835
118	AAWDDSLNVV	CDR-L3 클론 184
119	CSYAGSYTVEV	CDR-L3 클론 505
120	CSFAGYYTYWL	CDR-L3 클론 506
121	SSXAGRKYV	CDR-L3 클론 305
122	GGGS	링커 artificial
123	GGGGS	링커 artificial
124	ESKYGPPCPPCP	spacer (IgG4hinge)

[0712]

		(aa) homo sapien
125	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCTTGCCCT	spacer (IgG4hinge) (nt) homo sapien
126	ESKYGPPCPPCPGQPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK	Hinge-CH3 spacer Homo sapien
127	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPKPKDILMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLGK	Hinge-CH2- CH3 spacer Homo sapien
128	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKEKEKEEE QEERETKTPECPSSHQPLGVYLLPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHL TWEVAGKVPTGGVEGLLERHSNGSQHSRLLTLPRSL WNAGTSVTCTLNHPSLPPQRQLMALREPAQQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWL LCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAP PSPQPATYTCVVSHEDSRILLNASRSLEVSYVTDH	IgD-hinge-Fc Homo sapien
129	FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (amino acids 153-179 of Accession No. P10747) Homo sapien
130	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKP FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (amino acids 114-179 of Accession No. P10747) Homo sapien Homo sapien
131	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS	CD28 (amino acids 180-220 of P10747) Homo sapien
132	RSKRSRGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS	CD28 (LL to GG) Homo sapien
133	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRPEEEEGGCEL	4-1BB (amino

[0713]

		acids 214-255 of Q07011.1) Homo sapien
134	RVKFSRSADAPAYQQQNQLYNELNLRREYDVLDRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYN ELQDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3 zeta Homo sapien
135	RVKFSRSAEPPAYQQQNQLYNELNLRREYDVLDRGRDPEMGGKPR KNPQEGLYN ELQDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3 zeta Homo sapien
136	RVKFSRSADAPAYKQQQNQLYNELNLRREYDVLDRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYN ELQDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3 zeta Homo sapien
137	LEGGGEGRGSLLTCGDEVENPGPR	T2A artificial
138	MLLLVTSLLCLELPHAFALLIPRKVCNGIGIGEFKDLSINATNIKHFKNCTSISG DLHILPVAFRGDSFTHTPLDPQELDILKTVEITGFLLIQAWPENRTDLHAFE NLEIIRGRITKQHGQFSLAVVSLNTSLGLRSLSKEISDGDIISGNKNLCYANTIN WKKLFGTSGQTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRN VSRGRECVDKCNLLEGEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNTCTGRGPNCIQ CAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGP GLEGCPTNGPKIPSIAUTGMVGALLLTVVALGIGLFM	eGFR artificial
139	MPPPCLLFFLLFLTPMEVRPQEPLVVVKVEEGDNAVLQCLEGTSQDGPTQQLVW CRDSPFEPFLNLSLGLPGMGLRMPGLGIWLLIFNVSNQTTGGFYLCQPGLPSEKA WQPGWTVSVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSGPGSSPSGKLNSSQLY VWAKDRPEMWEGEPCVCGPPRDSLNSQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVS RGPLSWTHVVRPKGPKSILLSLELKDDRPDRDMWVVTDTGLLTRATAQDAGK YYCHRGNWTKSFYLEITARPALWHWLLRIGGWKPAVTLTLYLFCLCSLVGI LQLQRALVLRRKRKRMTDPTRRFFKVTTPPGSGPQNYGNVLSLPTPTSGLG RAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQVDGAVGSRSPPGAGPEEEEGEGYEYPD SEEGSEFYENDSNFGQDQLSQDGSGYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDE ELTQPVARTMDFLSPHGSAWDPSREATLGSQSYEDMRGLLYAAPQLRTIRG QPGPNHEEDADSYENMDNPDPDPAWGGRGMRGTWSAR	Rhesus macaque CD19 Accession No. F7F486
140	HPKGPKSILLSLELKDDRPDRDMWVVTDTGLLTRATAQDAGKYYCHRGNL MSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWK	V1 chimeric/rhesus human corresponding to residues 218 to 291 of human CD19
141	RPKGPKSILLSLELKDDRPDRDMWVVTDTGLLTRATAQDAGKYYCHRGNL MSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWK	V2 chimeric/rhesus human corresponding to residues 218

[0714]

		to 291 of human CD19
142	HPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNWTKSFYLEITARPALWHWLRLIGGWK	V3 chimeric/rhesus human corresponding to residues 218 to 291 of human CD19
143	HPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLP	인공
144	RPKGPKSLLSLELKDDRPDRDMVVVTGLLT	인공
145	DQGXHXYDSAEHAFXI	CDR-H3 클론 305
146	QASQDISNYLN	CDR-L1 클론 255
147	TGTGRDIGAYDYVS	CDR-L1 클론 305
148	TETSSDLGGYNYVS	CDR-L1 클론 327
149	TGASTDVGGYNYVS	CDR-L1 클론 505
150	TGASSDVGGYDHVS	CDR-L1 클론 506
151	SGSSSNIGSNTVN	CDR-L1 클론 184
152	TGPISGVGDYTSVS	CDR-L1 클론 835
153	DNNKRPS	CDR-L2 클론 272
154	GVNKRPS	CDR-L2 클론 305
155	DVNKRPS	CDR-L2 클론 505
156	DNNKRPS	CDR-L2 클론 79
157	DVTQRPS	CDR-L2 클론 835
158	GTWDSSLNRDWV	CDR-L3 클론 272
159	CSYAGRYNSVP	CDR-L3 클론 508
160	TSGVGVG	CDR-H1 클론 1265

[0715]

161	LIYWDDD KRYSPSLKS	CDR-H2 클론 1265
162	IDYGSGSYS PRTSYYYYMSV	CDR-H3 클론 1265
163	RASQGISSYLN	CDR-L1 클론 1265
164	AASN LQS	CDR-L2 클론 1265
165	QQGDAFPLT	CDR-L3 클론 1265
166	QITLKESGPTLVKPTQLTL TCTSGFSLSTSGVG VGVG WIRQPPGK ALEWLALIY WDDDKRYSPSLKSRL TITKDT SKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCAHIDY GSG SYS PRTSYYYYMSVWGKGTTVTVSS	VH 클론 1265
167	QVQLVQSGGGV VQPGRS LRLSCA ASGFTFDDY AMHWVR QAPGKG LEWVSGI ISWN SGRIGY AD SVKG RFT ISRDNA KNSLYLQM NSLRAED TAVYYC ARDQGY HYYDSA EAHAFDIWGQGT VTVT VSS	VH 클론 213
168	EVQLVQSGGGV VQPGRS LRLSCA ASGFTFDDY AMHWVR QAPGKG LEWVSGI SWNS GRIGY AD SVKG RFT ISRDNA KNSLYLQM NSLRAED TAVYYC ARDQGY HYYDSA EAHAFDIWGQGT VTVT VSS	VH 클론 255
169	EVQLVQSGGGV VQPGRS LRLSCA ASGFTFDDY AMHWVR QAPGKG LEWVSGI SWNS GRIGY AD SVKG RFT ISRDNA KNSLFLQM NSLRAED TAVYYC ARDQGY HYYDSA EAHAFDIWGQGT VTVT VSS	VH 클론 272
170	QVQLVQSGGGV VQPGRS LRLSCA ASGFTFDDY AMHWVR QAPGKG LEWVSGI SWNS GRIGY AD SVKG RFT ISRDNA KNSLFLQM NSLRAED TAVYYC ARDQGY HYYDSA EAHAFDIWGQGT VTVT VSS	VH 클론 283
171	QVQLVQSGGGV VQPGRS LRLSCA ASGFTFDDY AMHWVR QAPGKG LEWVSGI SWNS GRIGY AD SVKG RFT ISRDNA KNSLFLQM NSLRAED TAVYYC ARDQGY HYYDSA EAHAFDIWGQGT VTVT VSS	VH 클론 302
172	QVQLVQSGGGV VQPGRS LRLSCA ASGFTFDDY AMHWVR QAPGKG LEWVSGI SWNS GRIGY AD SXGRXX ISRDNA KNSLFLQM NSLRAED TAVYYC AXDQGX HXYDSA EAHAFXI WGQGT VTVT VSS	VH 클론 305
173	EVQLVQSGGGV VQPGRS LRLSCA ASGFTFDDY AMHWVR QAPGKG LEWVSGI SWNS GRIGY AD SVKG RFT ISRDNA KNSLFLQM NSLRAED TAVYYC ARDQGY HYYDSA EAHAFDIWGQGT VTVT VSS	VH 클론 314
174	EVQLVQSGGGV VQPGRS LRLSCA ASGFTFDDY AMHWVR QAPGKG LEWVSGI SWNS GRIGY AD SVKG RFT ISRDNA KNSLFLQM NSLRAED TAVYYC ARDQGY HYYDSA EAHAFDIWGQGT VTVT VSS	VH 클론 379
175	EVQLVQSGGGV VQPGRS LRLSCA ASGFTFDDY AMHWVR QAPGKG LEWVSGI SWNS GRIGY AD SVKG RFT ISRDNA KNSLFLQM NSLRAED TAVYYC ARDQGY HYYDSA EAHAFDIWGQGT VTVT VSS	VH 클론 324
176	QVQLVQSGGGV VQPGRS LRLSCA ASGFTFDDY AMHWVR QAPGKG LEWVSGI SWNS GRIGY AD SVKG RFT ISRDNA XNSLFLQM NSLRAED TAVYYC ARDQGY HYYDSA EAHAFDIWGQGT VTVT VSS	VH 클론 327
177	QVQLVQSGGGV VQPGRS LRLSCA ASGFTFDDY AMHWVR QAPGKG LEWVSGI SWNS GRIGY AD SVKG RFT ISRDNA KNSLFLQM NSLRAED TAVYYC ARDQGY	VH 클론 336

[0716]

	HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS	
178	QVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRaedtavyyCardqgy HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS	VH 클론 440
179	QVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRaedtavyyCardqgy HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS	VH 클론 448
180	EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRaedtavyyCardqgy HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSS	VH 클론 505
181	EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRaedtavyyCardqgy HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSS	VH 클론 506
182	EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRaedtavyyCardqgy HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS	VH 클론 508
183	QVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRaedtavyyCardqgy HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSS	VH 클론 184
184	EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRaedtavyyCardqgy HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS	VH 클론 79
185	EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRakdtavyyCardqgy HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSS	VH 클론 835
186	AIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLNWYQQRAGKAPELLIYAASN QSGVPSRSFGSGSGTDFILTITSVQPEDFATYFCQQGDAPPLTFGPGTKV TIR	VL 클론 1265
187	EIVLTQSPATLSLSPGETATLSCRASQSINHYAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFLTISLEPEDFATYYCQQSYSHPRMYTFGQGT KLEIK	VL 클론 213
188	AIRMTQSPSSLASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDAS NVKAGVPSRSFGGGSGTDFILTISLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGT LDIK	VL 클론 255
189	QSVLTQPPSVSAAPGQKVITISCGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNN KRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLNRDWVFGGG TKLTVL	VL 클론 272
190	QSAALTQPAVGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDADEADYYCGSYSSSTLLWVFGGGT KLTVL	VL 클론 283
191	QSAALTQPAVGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDADEADYYCGSYSSSTLLWVFGGGT KLTVL	VL 클론 302
192	QSVLXXPXXASGSPGQSVTVSCTGTGRDIGAYDYVSWYQQHPGKAPKLLIY G VNKRPSGVPDFRGSKSDNTASLTVSGLQVEDEADYYCSSXAGRKYVFGTGX KVTVL	VL 클론 305
193	QSAALTQPAVGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT	VL

[0717]

	VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYSSSTLLWVFGGGT KLTVL	클론 314
194	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYSSSTLLWVFGGGT KLTVL	VL 클론 379
195	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYSSSTLLWVFGGGT KLTVL	VL 클론 324
196	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTETSSDLGGYNVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVXDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYSSSTLLWVFGGGT KLTVL	VL 클론 327
197	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYSSSTLLWVFGGGT KLTVL	VL 클론 336
198	QSALTQPASVSGSPGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWYQHNGPKAPKLIIYDVT KRPSGVSNRFSGAKSGITASLTISGLQAEDEADYYCTSYPGPTVFGTGTKL DIK	VL 클론 440
199	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYSSSTLLWVFGGGT KLDIK	VL 클론 448
200	QSVLTQPRSLSGSPGQSVTIACGTASTDVGGYNVSWYQQHPGKAPKLIIYD VNKRPSGVVPDRFSGSKSGNTAFLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSYTFEVFGG GTTKLTVL	VL 클론 505
201	QLVLTQPPSVSGSPGQSVTFSCGTASSDVGGYDHVSWYQHHPGKGPKLLIYD VSKRPSGVVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSFAGYYTYWLFGG GTTKVTVL	VL 클론 506
202	QSALTQPQRSVSGFPQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKR P SGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQTEDEADYFCCSYAGRYSVPFGGGTKLT L	VL 클론 508
203	SYVLTQPPSASGTPGQRVTISCGSSSNIGSNTVNWYQQFPGTAPKLLIYSNNQ RPSGVVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEAEEYCAAWDDSLNVV	VL 클론 184
204	QSVLTQPPSVSAAPGQKVITISCGSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNN KRPSGVIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEGDYYCGTWISLRFGVFGGGTK VTVL	VL 클론 79
205	QSVLTQPRSVSGSPGQSVTISCTGPISGVGDYTSVSWYQHYPGKTPKLIIYDVT QRPSGVPNRFSGSKSGNTASLTISGLQADDEADYYCCSYEAPTHTYVFGTGT LTVL	VL 클론 835
206	QITLKESGPTLVKPTQILTLCTFSGFSLSTSGVGVGWIRQPPGKALEWLALIY WDDDKRYSPSLKSRLITKDTSKNQVLTMTNMDPVTATYYCAHDYGSG SYSPRTSYYYYMSVVGKTTTVSSGGGGGGGGGGSAIQLTQSPSFLS ASVGDRVITCRASQGISSYLNWYQQRAGKAPPELLIYAASNLSQSGVPSRSGS GSGIDFTLTTSVQPEDFATYFCQQGDAFPLTFGPGTKVTIR	scFv 클론 1265
207	QVQLVQSGGGGVVQPGRLSLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG ISWNSGSIGYADSVKGRTFISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGGGGGGGSEIVLTQSPATLSSL PGETATLSCRASQSIHYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGS	scFv 클론 213

[0718]

	GTDFTLTISSEPEDFATYYCQQSYSHPRMYTFGQGTKLEIK	
208	EVQLVQSGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGGSAIRMTQSPSSLASAS VGDRVTCTQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLIIYDASNVKAGVPSRFSGG GSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTKLTKL	scFv 클론 255
209	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQVLTQPPSVSAA PGQKV TISCSSGSSNIGNNNYVSWYQQLPGTAPKLIIYDNNKRPSGIPDRFSGSK SGTSATLGTGLQTGDEADYYCGTWDSSLNRDWVFGGGTKLTVL	scFv 클론 272
210	QVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	scFv 클론 283
211	QVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	scFv 클론 302
212	QVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSFLQMNSLRAEDTAXYYCAXDQGX HXYDSAEHAFXIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQVLXXPXXASGS PGQSVTVSCTGTGRDIGAYDVYVSWYQHPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS GSKSDNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	scFv 클론 305
213	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	scFv 클론 314
214	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	scFv 클론 379
215	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	scFv 클론 324
216	QVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQALTQPASVSGS PGQSITISCTETSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVXDRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	scFv 클론 327

[0719]

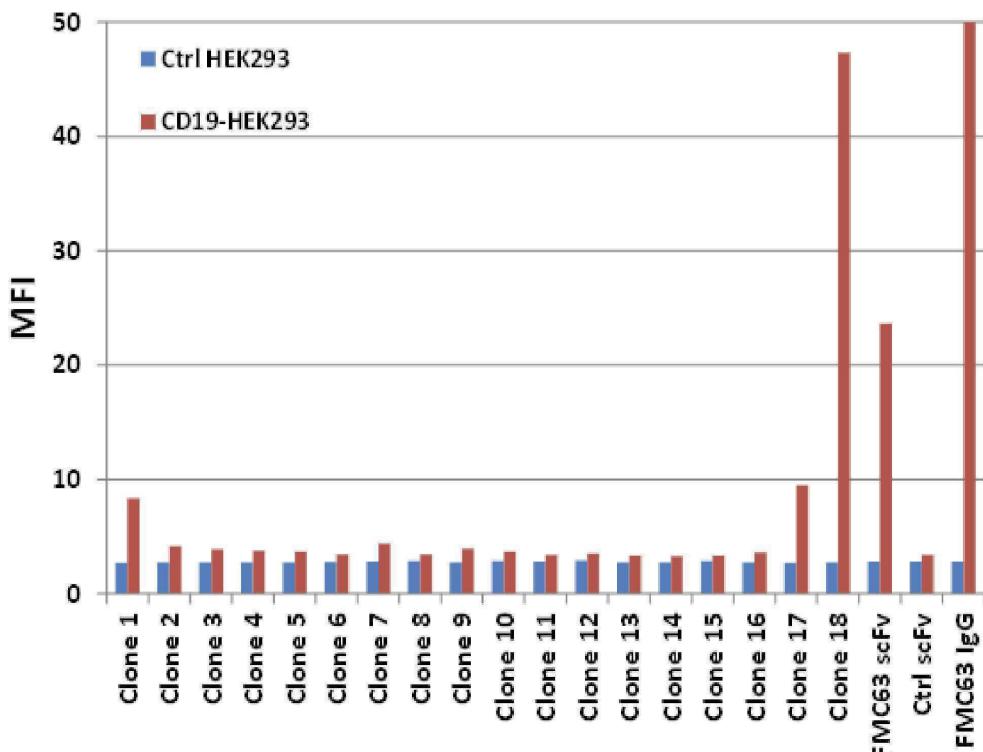
217	QVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGGGGGSQSALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	scFv 클론 336
218	QVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGGGGGSQSALTQPASVSGS PGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWYQHNPKGKAPKLIIYDVTKRPSGVSNRFSG AKSGITASLTISGLQAEDEADYYCTSYRPGPTFVFGTGTKLTVL	scFv 클론 440
219	QVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGGGGGSQSALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	scFv 클론 448
220	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSQSVLTQPRSLSGSPGQSVTIACTGASTDV GGYNYVSWYQQHPKGKAPKLMIYDVNKRPSGVPDFSGSKSGNTAFLTISGLQ AEDEADYYCCSYAGSYTFEVFGGGTKLTVL	scFv 클론 505
221	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGGSQLVTQPPSVSGS PGQSVTFCTGASSDVGGYDHVSWYQHHPKGPKLIIYDVSKRPSGVPDFRS GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSFAGYYTYWLFGGGTKLTVL	scFv 클론 506
222	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGGGGGSQSALTQPRSVSGFP GQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPKGKAPQLMLYDVSKRPSGVPHRFSGSRSGR AASLIISGLQTEDEADYFCCSYAGRYNSVPFGGGTKLTVL	scFv 클론 508
223	QVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGGGGSSYVLTQPPSASGT PGQRVTISCSGSSNIGNSNTVNWYQQFPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDFSGSK SGTSATLGIITGLQTGDEGDYYCGTWDISLRFGVFGGGTKLTVL	scFv 클론 184
224	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGGGGGSQSVLTQPPSVSAA PGQKVTCSCGSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSK SGTSATLGIITGLQTGDEGDYYCGTWDISLRFGVFGGGTKLTVL	scFv 클론 79
225	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFDDYAMHWVRRLAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAKDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGGGGGSQSVLTQPRSVSGS PGQSVTISCTGPISGVGDYTSWSWYQHYPGKTPKLIYDVTVRPSGVPNRFSGS KSGNTASLTISGLQADDEADYYCCSYEAPIHTYVFGTGTKLTVL	scFv 클론 835
226	X1X2X3X4X5X6X7X8X9X10X11X12 X13X14	CDR-L1

	X1=T, Q, R, 또는 S; X2=G, A, 또는 E; X3= I, T, S, D, A, 또는 P; X4= S, R, Q, G, 또는 I; X5= 부재, S, R, 또는 T; X6=G, D, N, 또는 부재; X7=V, L, 부재, 또는 I; X8=D, G, S, I, L, 또는 부재; X9=S, G, A, I, 부재, 또는 D; X10=H, Y, F, S, 또는 N; X11=R, N, D, H, Y, 또는 T; X12=Y, F, W, D, H, T, 또는 S; X13= V, A, 또는 L; X14= S, N, 또는 A	컨센서스
227	X1X2X3X4X5X6X7 X1=D, S, 또는 G; X2=F, V, N, K, 또는 A; X3=S, T, N, 또는 D; X4=K, V, N, R, 또는 Q; X5=R, V, 또는 L; X6=P, K, A, 또는 E; X7=S, P, A, 또는 T	CDR-L2 컨센서스
228	X1X2X3X4X5X6X7X8X9X10X11X12 X1=S, G, T, A, Q, C, 또는 N; X2=S, Q, A, 또는 T; X3=Y, S, W, 또는 R; X4=A, D, R, T, 또는 Y; X5=A, S, P, G, N, 또는 D; X6=I, S, G, T, A, L, H, R, 또는 N; X7=S, P, L, Y, 또는 G; X8=P, T, S, Q, M, R, 또는 N; X9=S, L, N, A, M, 부재, 또는 R; X10=L, 부재, 또는 D; X11=Y, W, F, V, A, 또는 L; X12=V, T, L, 또는 P	CDR-L3 컨센서스

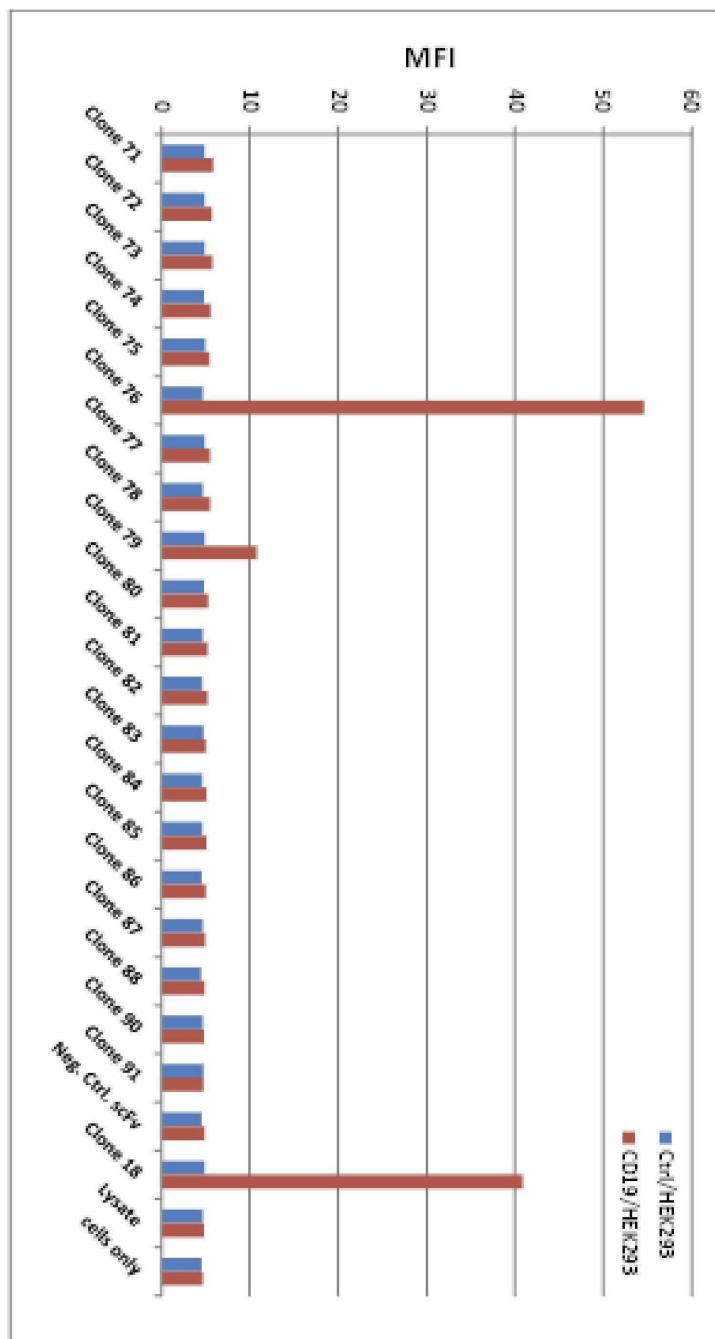
[0721]

도면

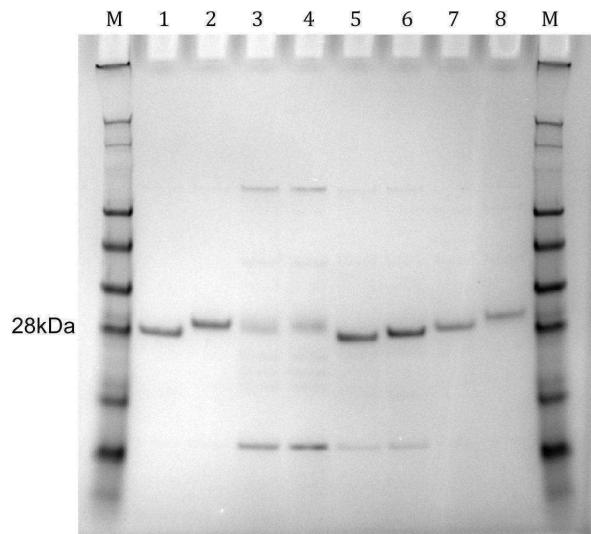
도면 1a



도면 1b

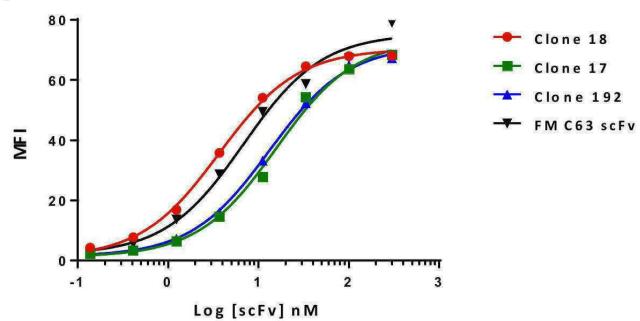


도면2

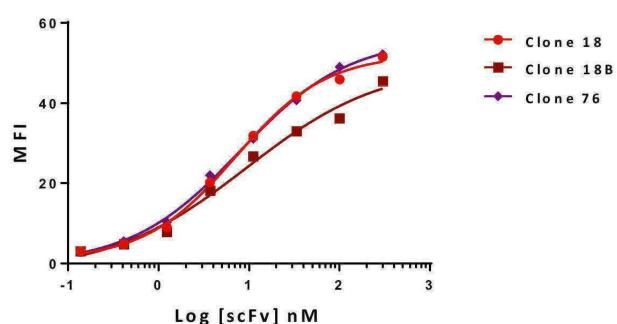


도면3

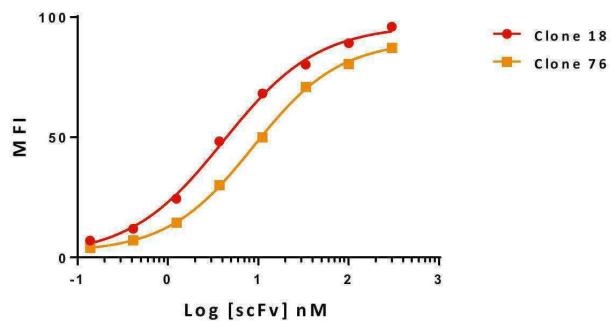
A.



B.

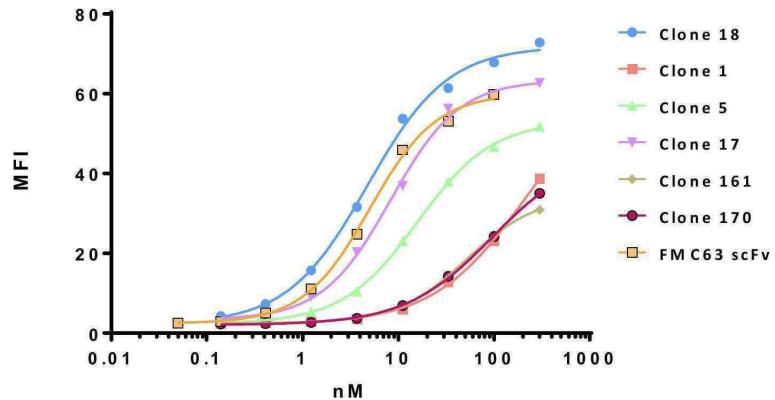


C.

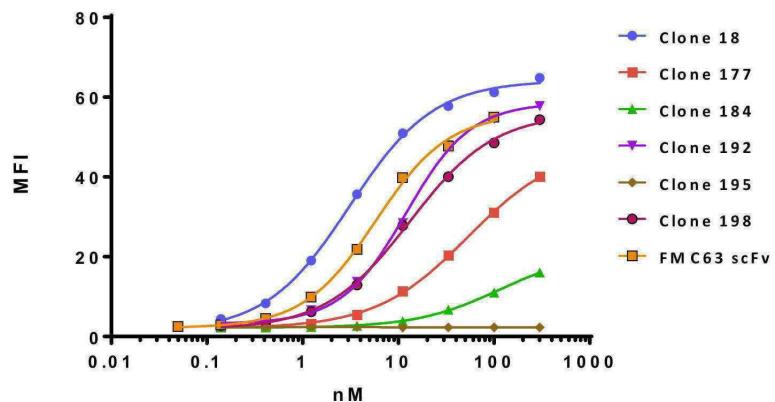


도면4

CD19 ScFv 적정_플레이트 1

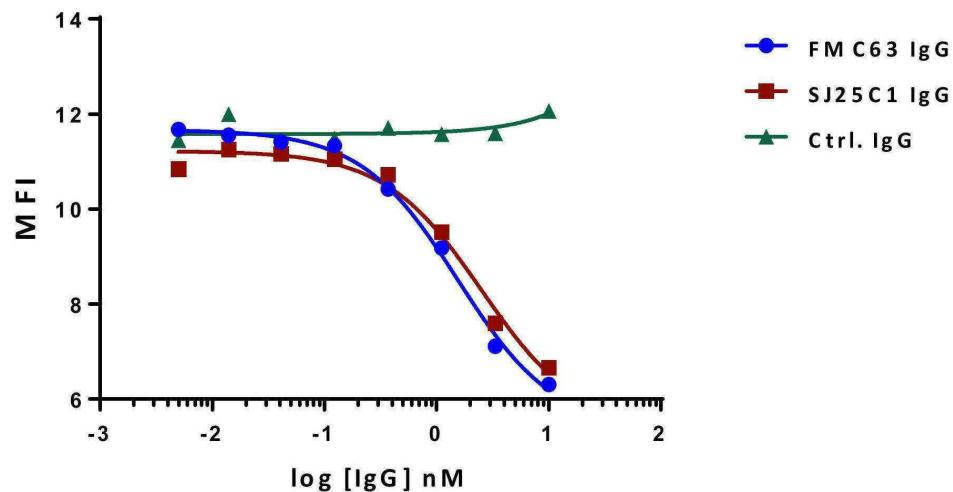


CD19 ScFv 적정_플레이트 2

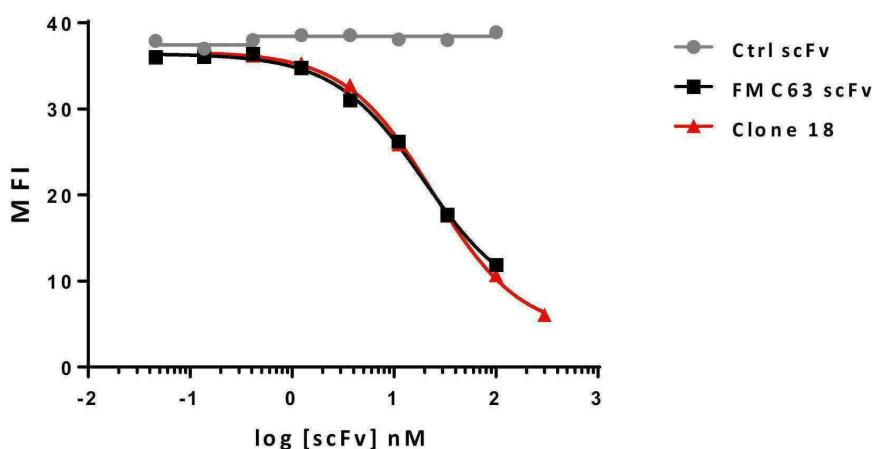


도면5

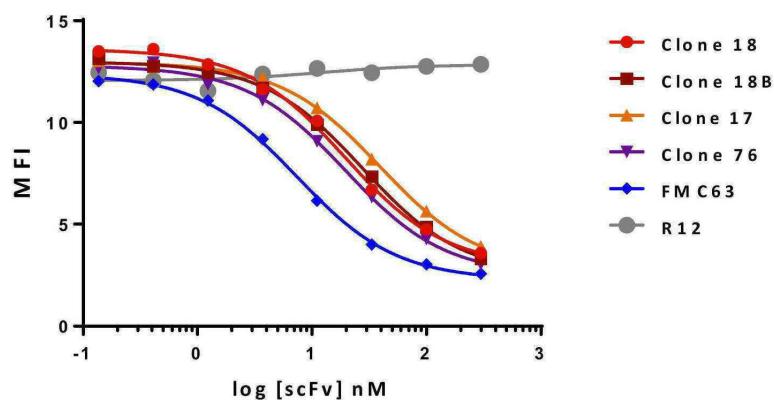
A.



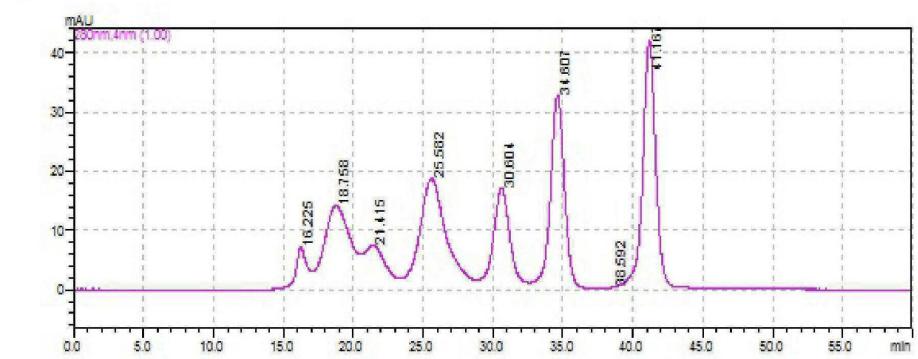
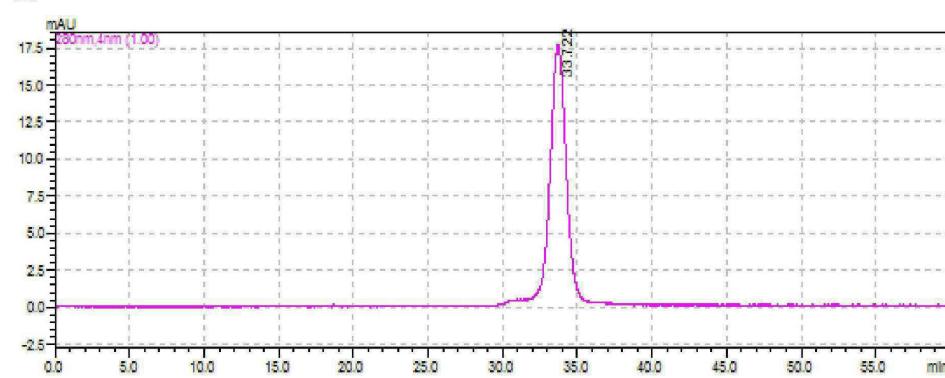
B



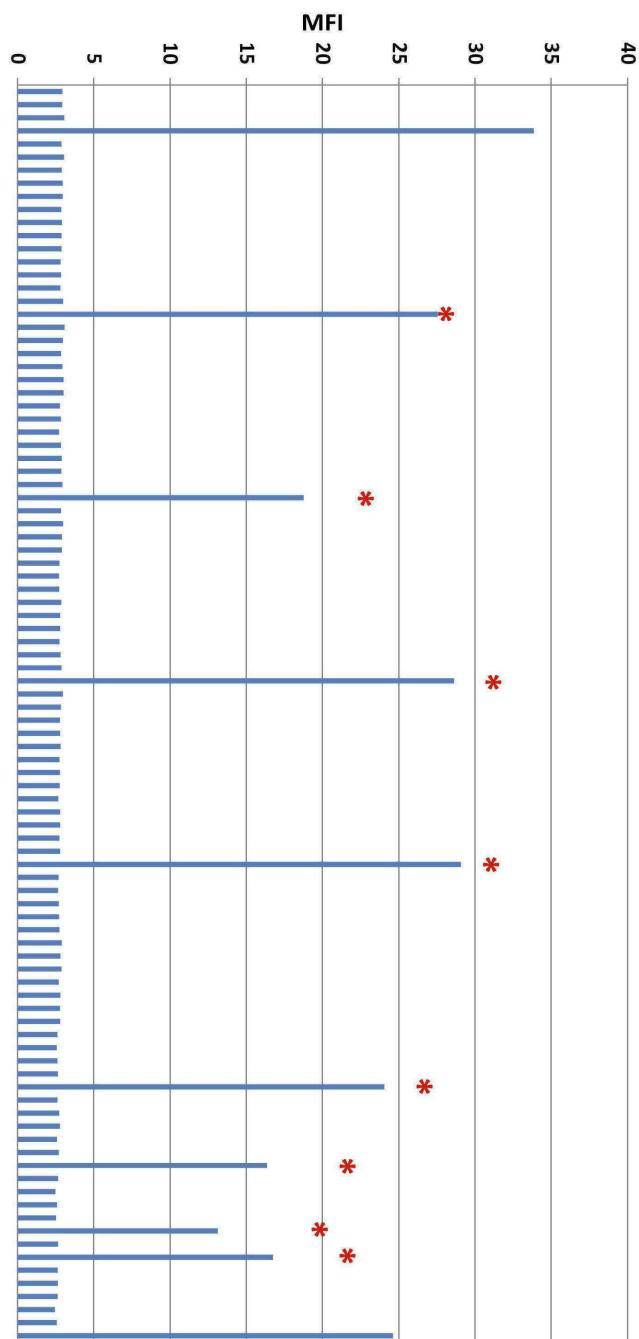
도면6



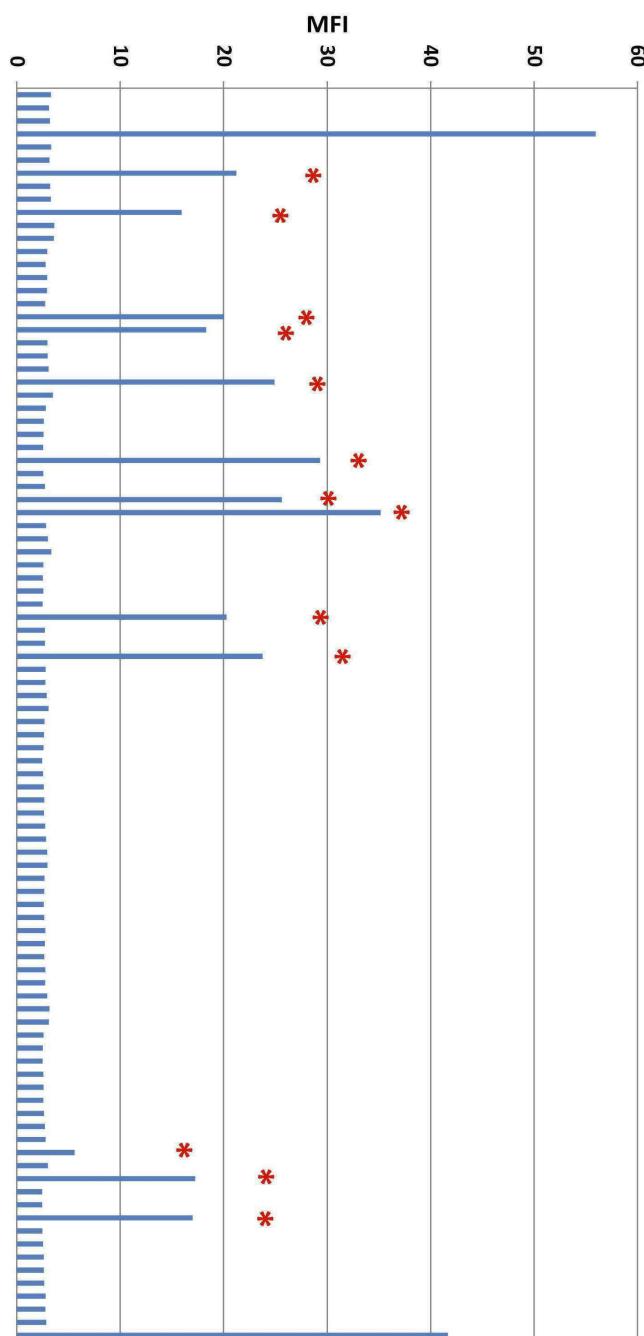
도면7

A.**B.**

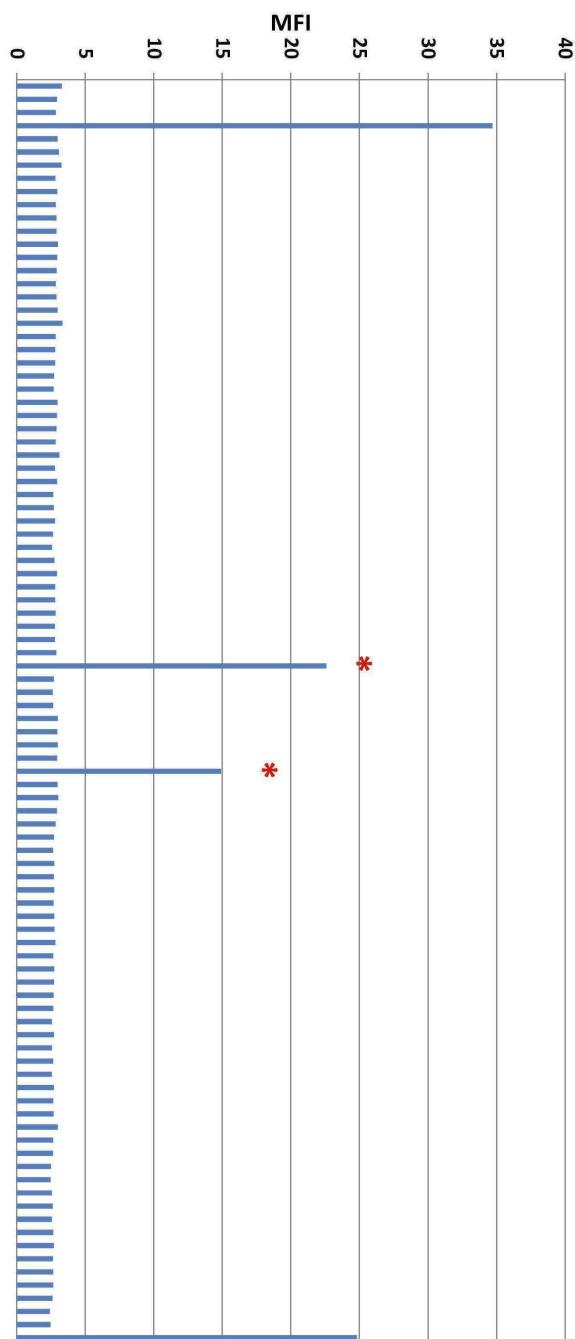
도면 8a



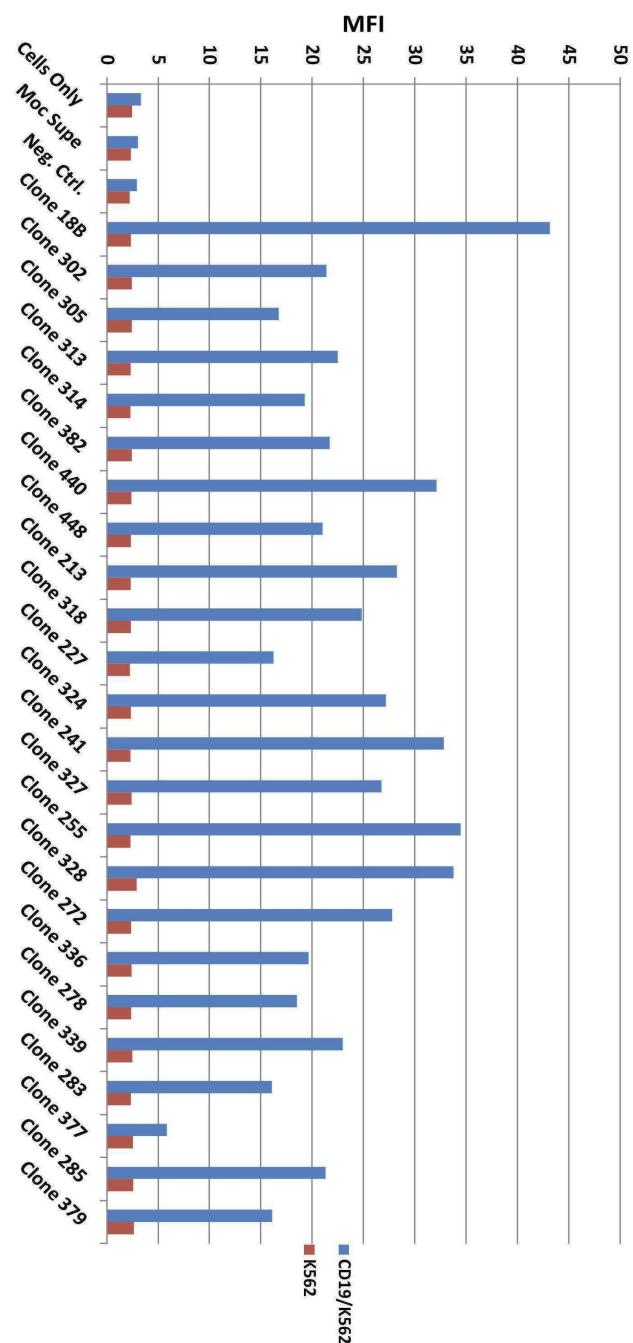
도면 8b



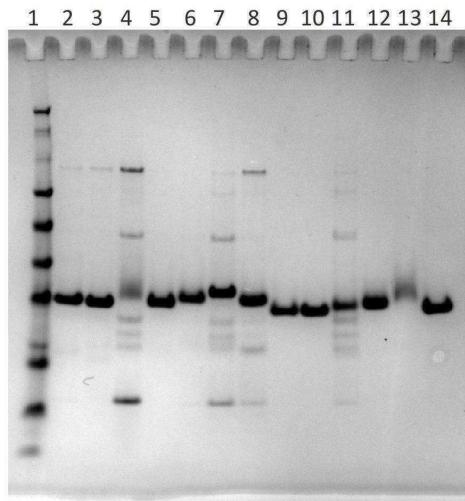
도면8c



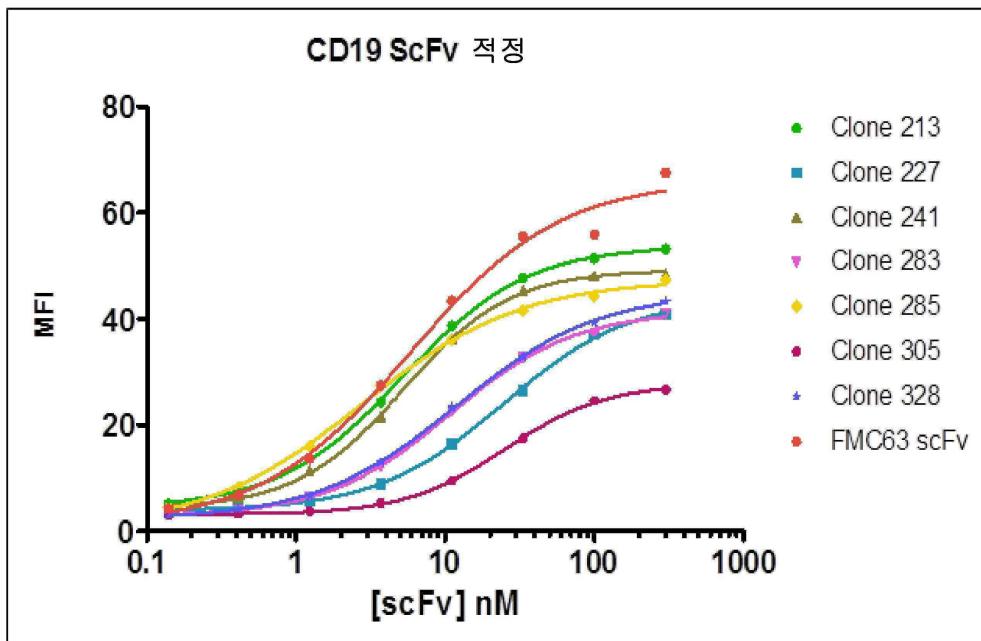
도면 8d



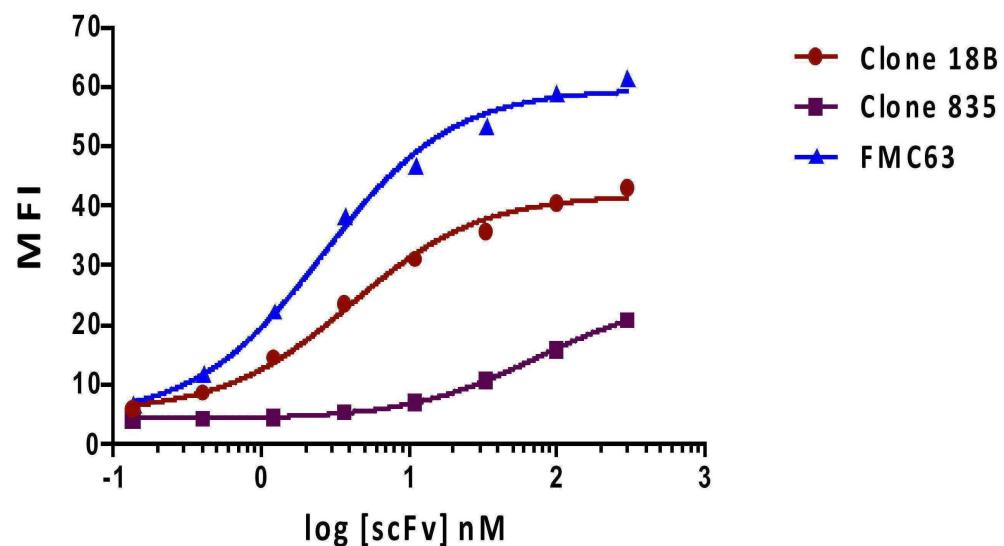
도면9



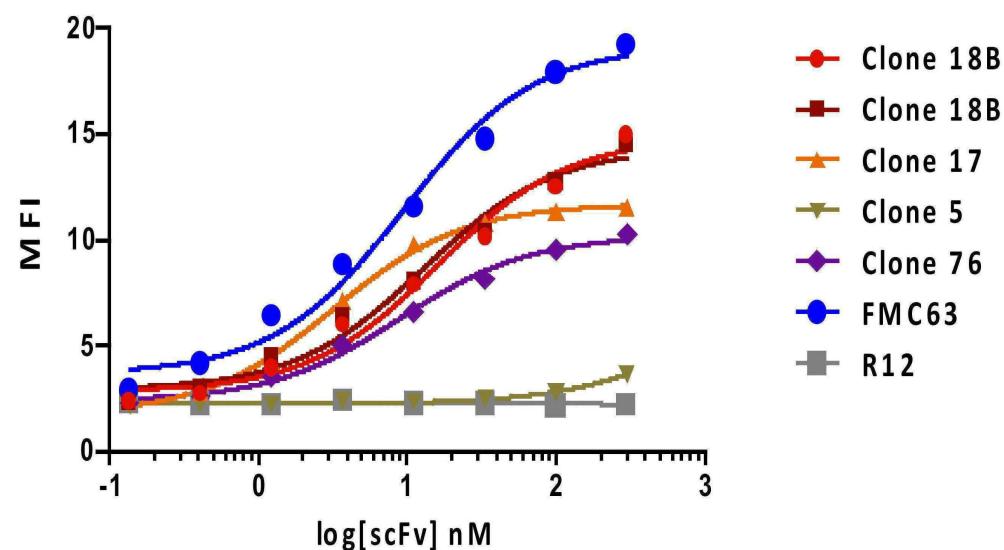
도면10a



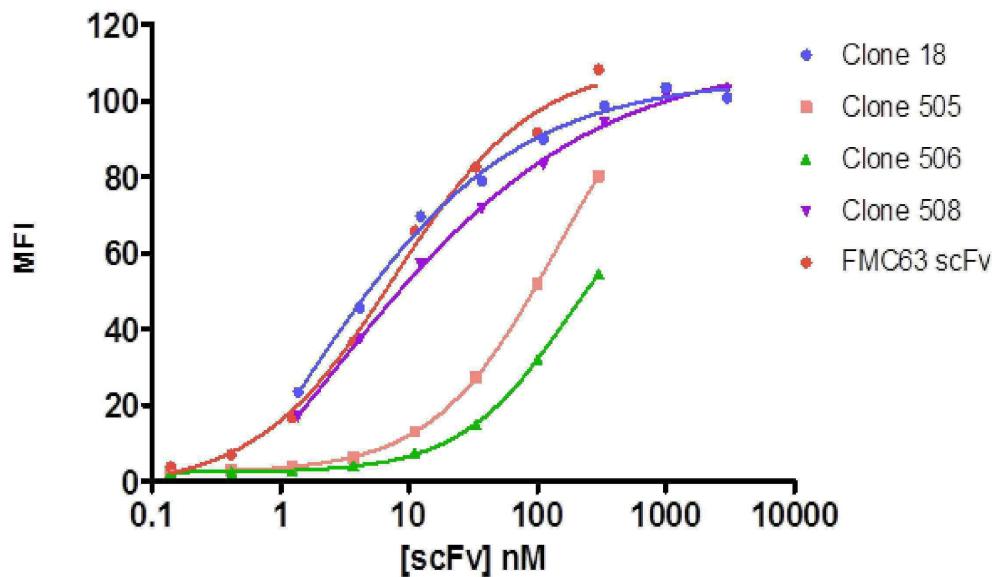
도면10b



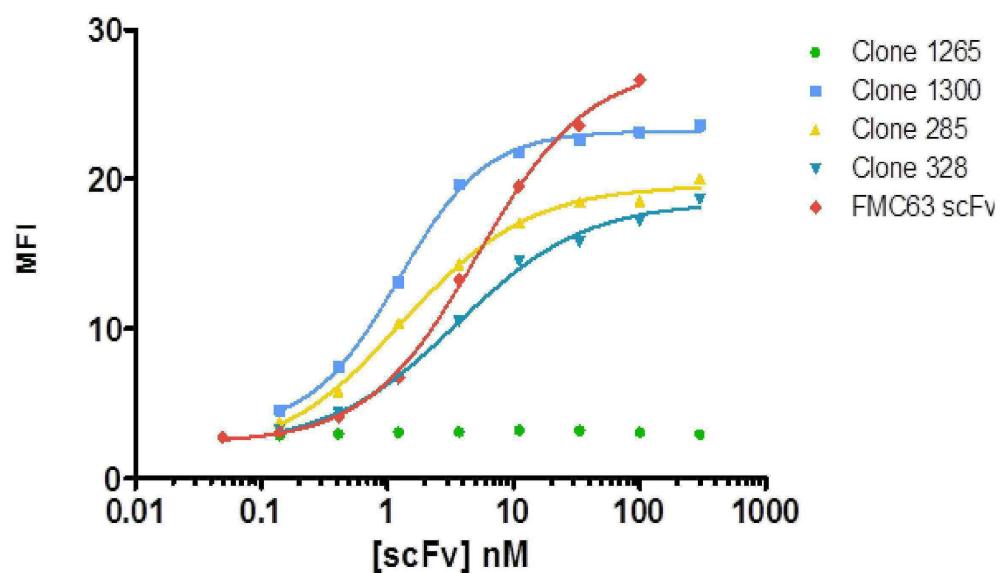
도면10c



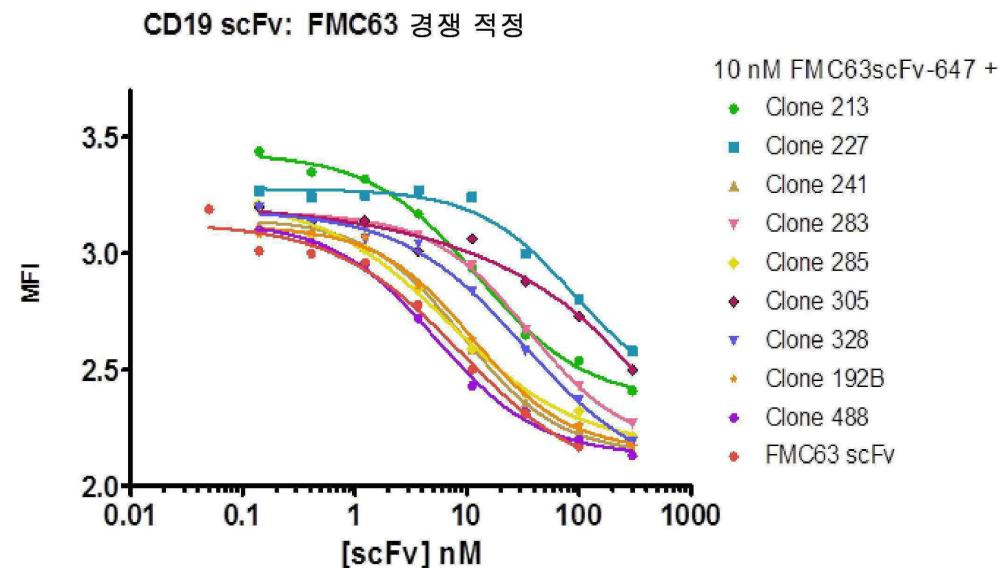
도면 10d



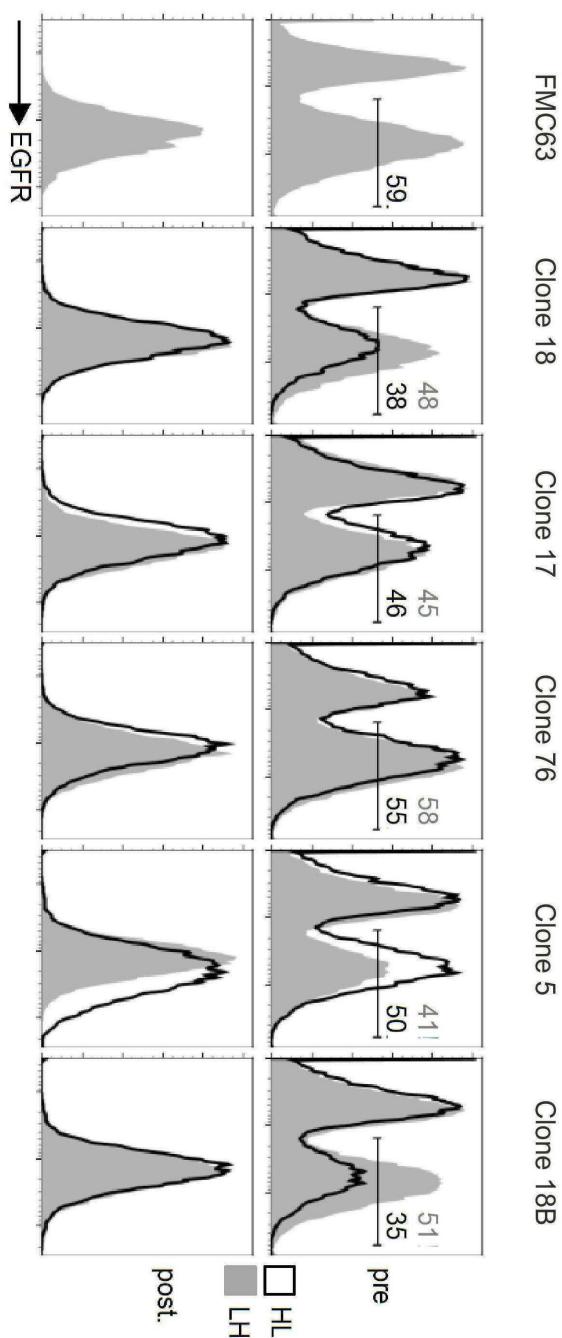
도면 10e



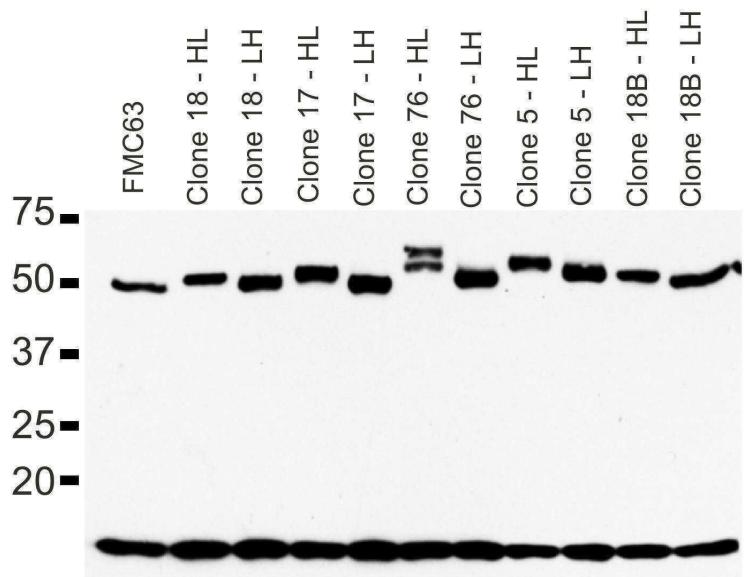
도면11



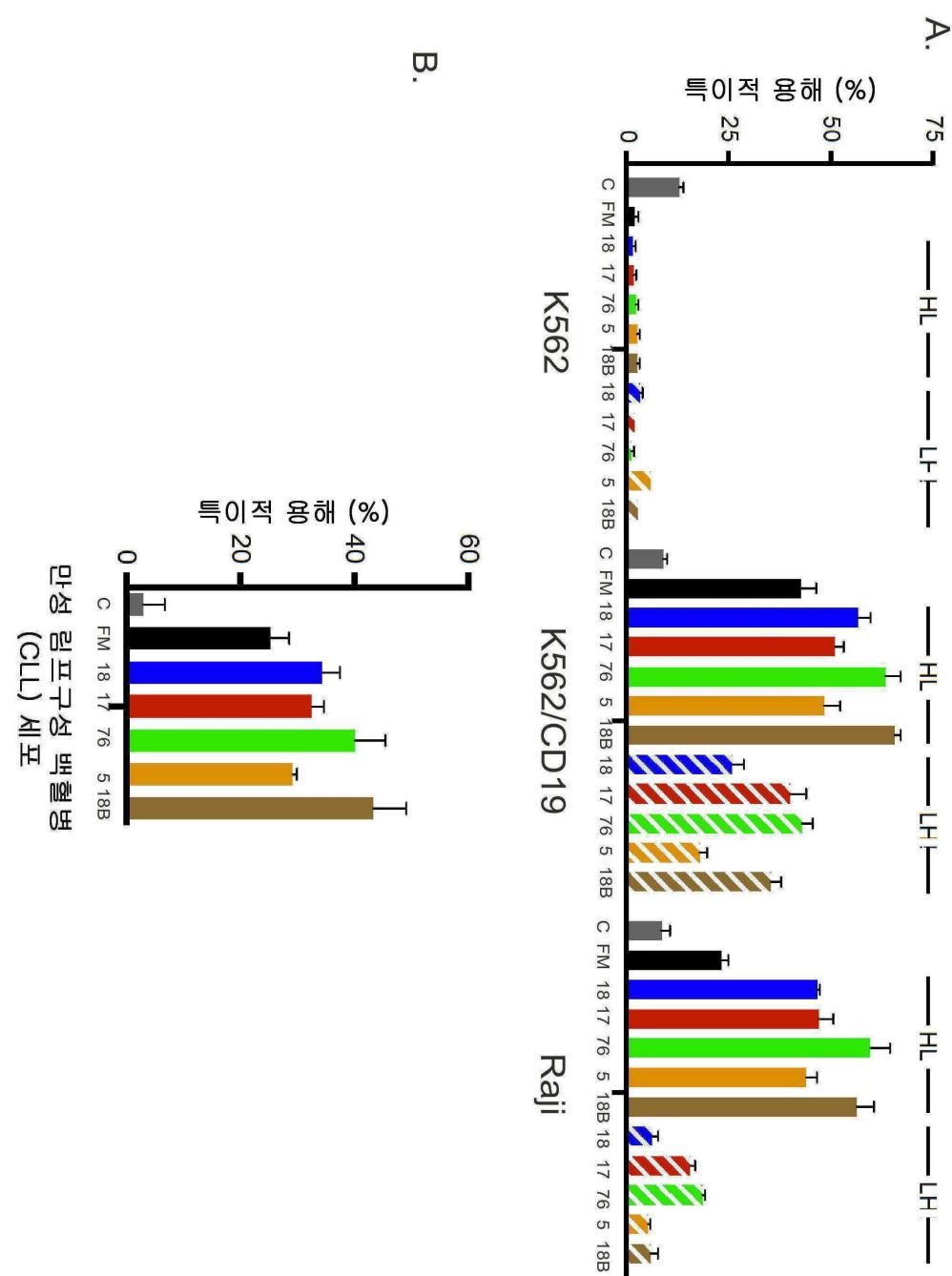
도면 12a



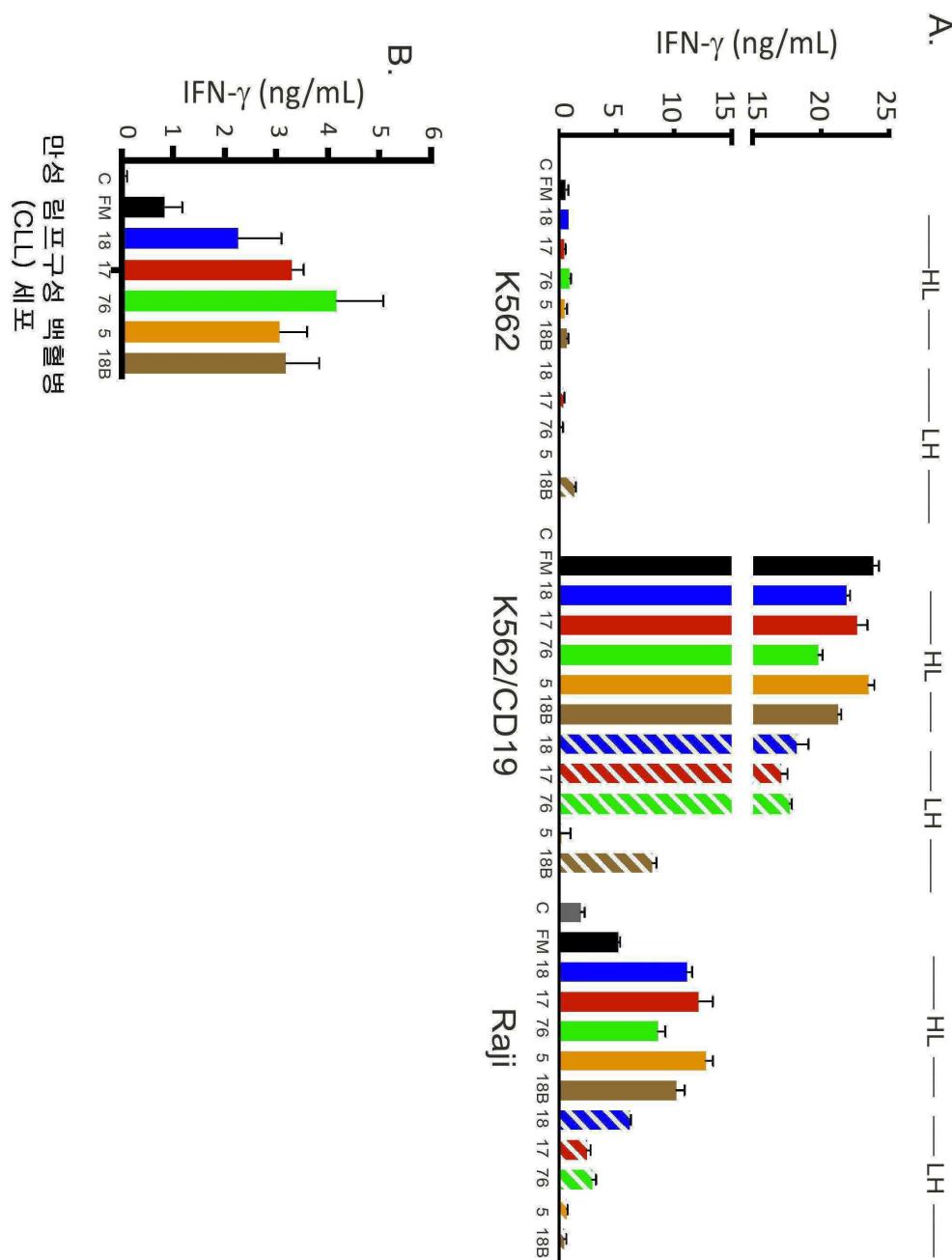
도면 12b



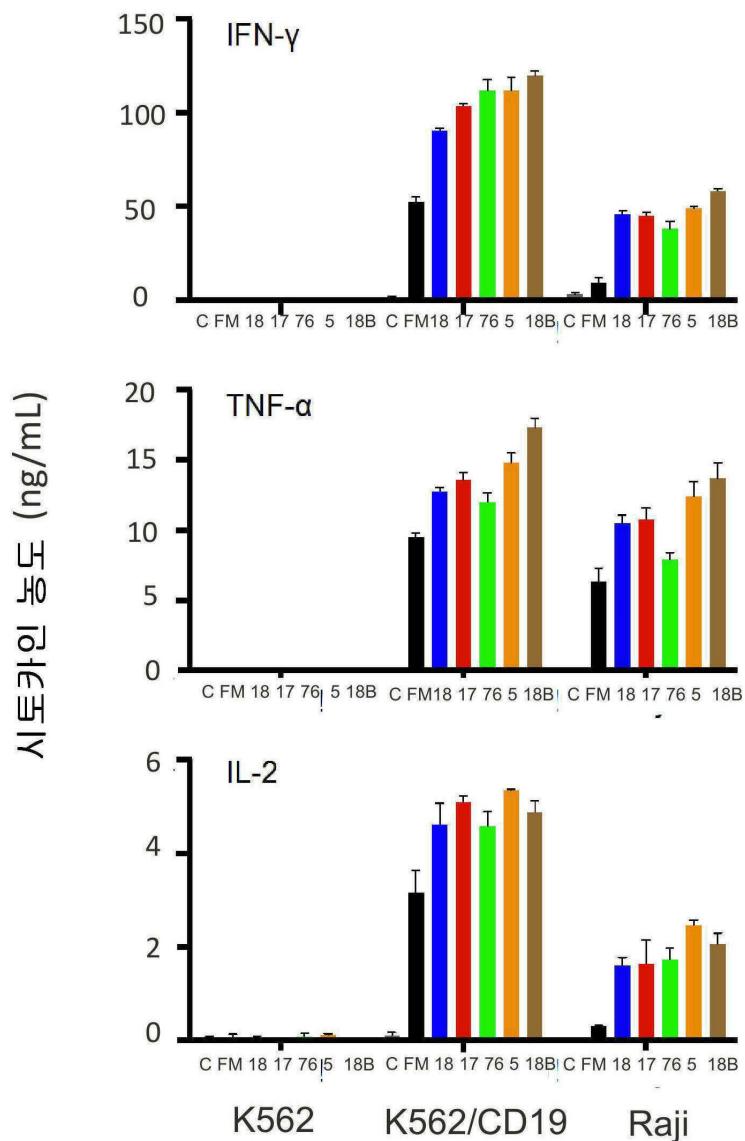
도면13



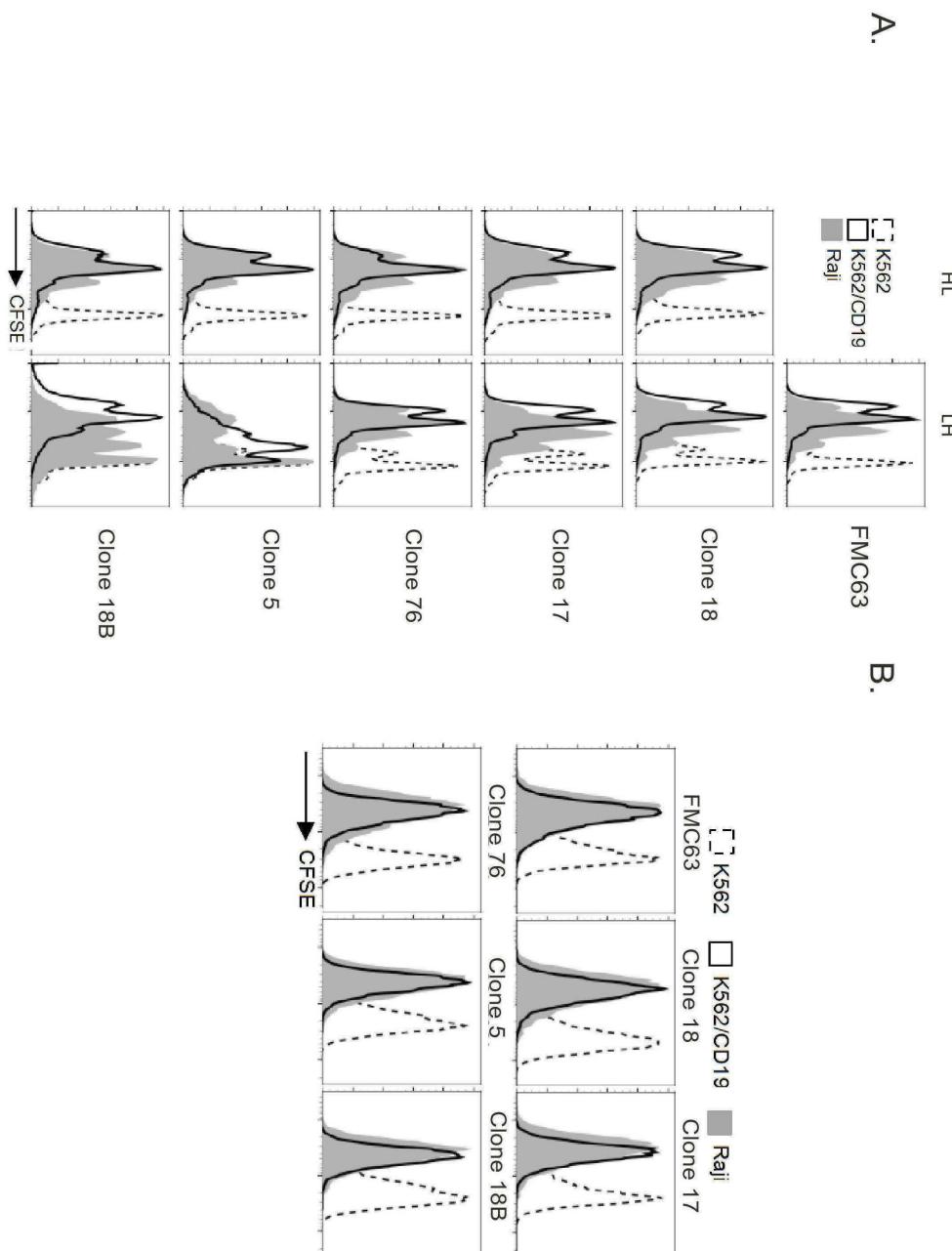
도면14



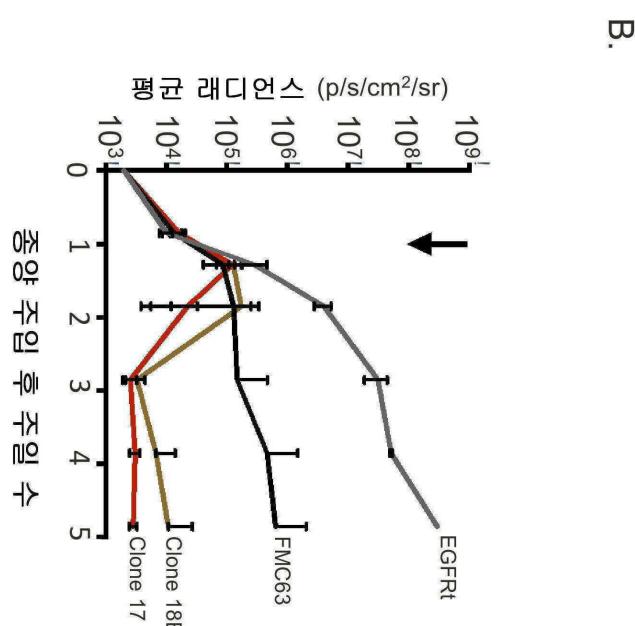
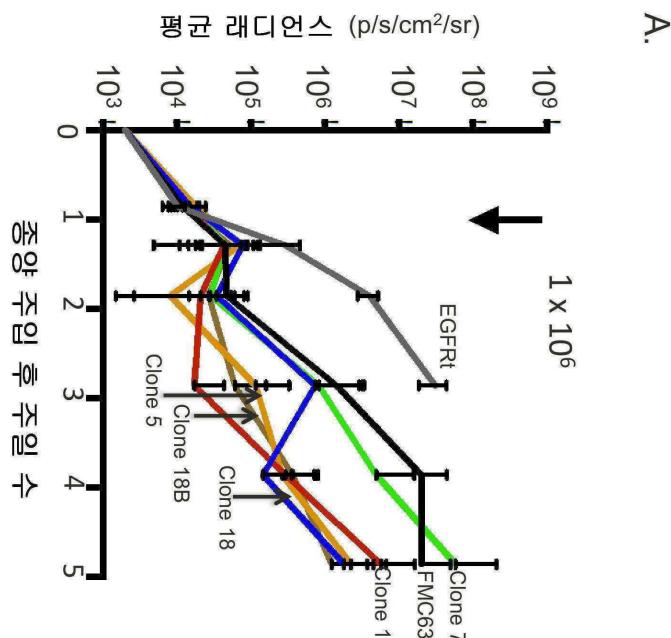
도면15



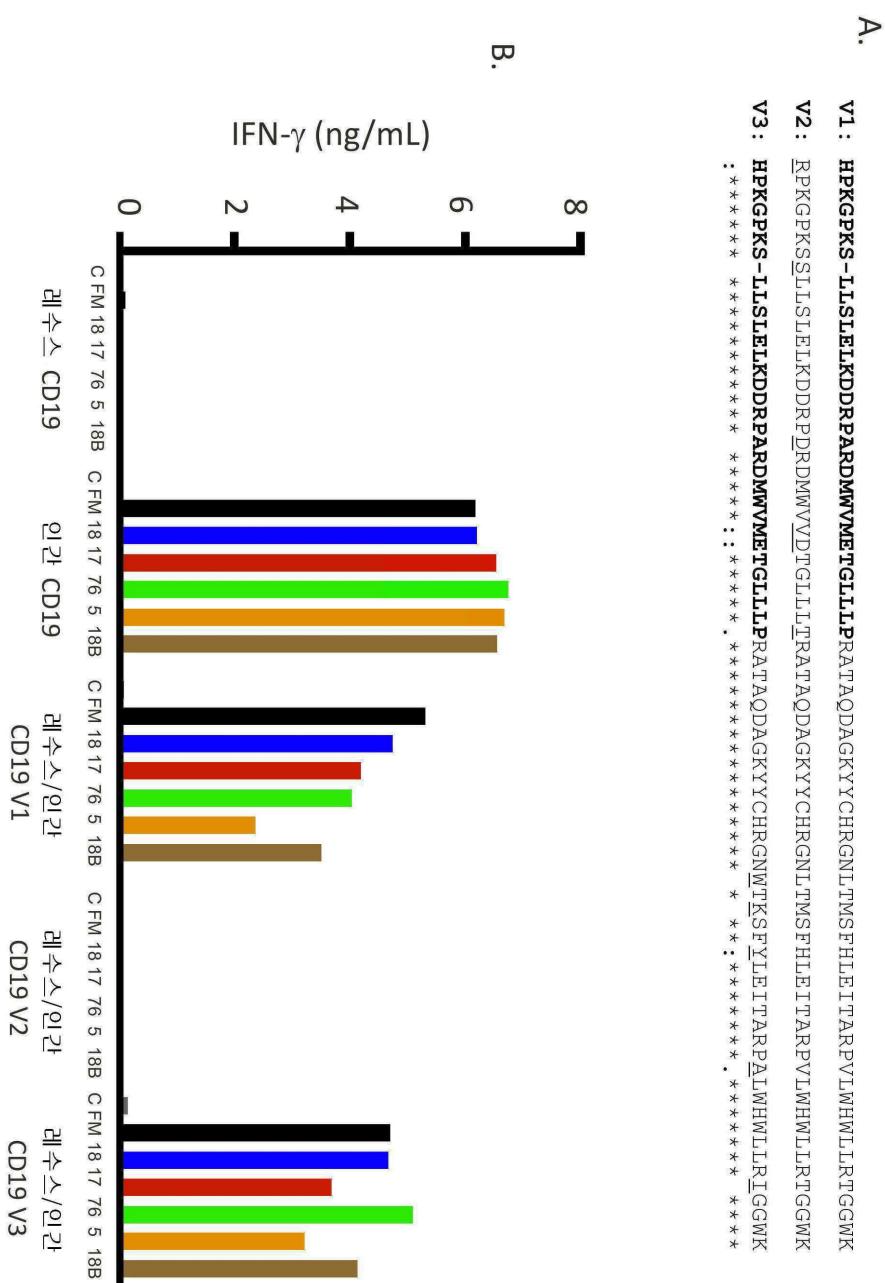
도면 16



도면17



도면18



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Juno Therapeutics, Inc.

CHEN, Yan

SHAMAH, Steve

PAZMANY, Csaba

DUTTA-SIMMONS, Jui

<120> ANTIBODIES AND CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS SPECIFIC FOR CD19

<130> 735042000740

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> US 62/043,273

<151> 2014-08-28

<150> US 62/078,942

<151> 2014-11-12

<160> 228

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 738

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<

223> Clone 18 scFv (nt)

<400> 1

gaagtgcagc tggtgaggc tgggggaggc ttggtagc ctggcaggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttgcatt gattatgccca tgcaactgggt ccggcaagct 120
 ccagggagg gcctggaggc ggtctcaggat attagttgaa atagttggat gataggctat 180
 gcggactctg taaaggcccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
 gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctggggcca agggacatg 360
 gtcaccgtct cctcagggtgg aggccgttca ggcggagggtg gctctggcgg tggcggatcg 420

cagtcgtccc tgactcagcc tcgctcagtg tccggcttc ctggacaatc agtcaccatc 480
 tcctgcactg gaaccaccag tggatgttc tcctggtacc aacaacaccc aggcaaagcc 540
 ccccaactta tgctttatga tgtcagtaag cggccctccg gggccctca tcgcttctct 600
 ggctccaggc ctggcagac ggcctccctg atcatctg ggctccagac tgaggatgag 660
 gctgattatt tctgctgctc atatgcaggc cgatacaact ctgtcccttt cggcggagg 720
 accaagctga ccgtccta 738

<210> 2

<211> 246

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 18 scFv (aa)

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu

130 135 140

Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Phe Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile

145 150 155 160

Ser Cys Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln His

165 170 175

Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Met Leu Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro

180 185 190

Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Arg Ala Ala

195 200 205

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

210 215 220

Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu Phe Gly Gly

225 230 235 240

Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 3

<211> 738

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 18B scFv (nt)

<400> 3

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtagacgc ctggcaggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttat gattatgccca tgcaactgggt ccggcaagct 120
 ccagggagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgaa atagttggat gataggctat 180
 gcgactctg taaaggccg attaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtt 240
 ctgcaaatacga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
 gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctggggcca agggacatgt 360
 gtcaccgtct cctcagggtgg aggcgggtca ggccggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420

cagtcgtccc tgactcagcc tcgctcagtg tccggcttc ctggacaatc agtaccatc 480
 tcctgcactg gaaccaccag tggatgtgtc tcctggtaacc aacaacaccc aggcaaagcc 540
 ccccaactta tgcttatga tgtcagtaag cggccctccg gggccctca tcgcttct 600
 ggctccaggt ctggcagacg ggcctccctg atcatctg ggctccagac tgaggatgag 660
 gctgattatt tctgcagctc atatgcagcc cgatacaact ctgtcccttt cggccggaggg 720
 accaagctga ccgtccta 738

<210> 4

<211> 246

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 18B scFv (aa)

<400> 4

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

1	5	10	15												
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asp	Tyr
20		25								30					
Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
35		40								45					
Ser	Gly	Ile	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Arg	Ile	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
50		55								60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Phe
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	Gln	Gly	Tyr	His	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Ala	Glu	His	Ala	Phe
100		105			110										
Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Val	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly
115		120			125										
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ser	Ala	Leu		
130		135			140										
Thr	Gln	Pro	Arg	Ser	Val	Ser	Gly	Phe	Pro	Gly	Gln	Ser	Val	Thr	Ile
145		150			155					160					
Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Thr	Ser	Asp	Asp	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	His
165		170			175										
Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Gln	Leu	Met	Leu	Tyr	Asp	Val	Ser	Lys	Arg	Pro
180		185			190										
Ser	Gly	Val	Pro	His	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Arg	Ser	Gly	Arg	Ala	Ala
195		200			205										
Ser	Leu	Ile	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln	Thr	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Phe
210		215			220										
Cys	Ser	Ser	Tyr	Ala	Gly	Arg	Tyr	Asn	Ser	Val	Leu	Phe	Gly	Gly	Gly
225		230			235					240					
Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu										
245															

<210> 5

<211> 750

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 17 scFv (nt)

<400> 5

gaagtgcagc tggtgagtc tggggaggc ttggtagacgc ctggcaggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccagggagg gccggagggt ggtctcaggat attagtggaa atagtggtag gataggctat 180
 gcggactctg taaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgaggc acggccgtgt attactgtgc gagagatcg 300
 gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctggggcca agggacaatg 360
 gtcaccgtct ctcagggtgg aggccgttca ggccggagggtg gctctggcgg tggccgatcg 420

cagtcgtcccc tgaactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 480
 ttctgcactg gaaccagcag tgacgttgtt ggttataact atgtctcctg gtaccacgc 540
 ctcccaggaa cggccccaa actcctcatc tatagtaata atcagggcc ctcaggggtc 600
 cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cagtgggtc 660
 cgggtccgagg atgaggctga ttattactgt gcagcatggg atgacagcct gagtggta 720
 ttcgcggag ggaccaagct gaccgtcctc 750

<210> 6

<211> 250

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 17 scFv (aa)

<400> 6

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Val Val

225 230 235 240

Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245 250

<210> 7

<211> 747

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 76 scFv (nt)

<400> 7

gaagtgcagc tggtgaggc tgggggaggc ttggtagc cttggcaggc cctgagactc 60
 tcctgtcgac ccctggatt cacctttagt gatataccca tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccagggagg gcctggaggc ggtctcaggat attagttgaa atagtggtag gataggctat 180
 gcggactctg taaaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
 gggatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctggggcca agggacagtg 360
 gtcaccgtct cctcagggtgg aggccgttca ggccggaggc gctctggcgg tggccgatcg 420

cagtcgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagga ggtcaccatc 480
 tcctgtctg gaaggcagtc caacattggg aataattatg tatttcgtta ccagcaactc 540
 ccaggaacag ccccaaact cctcatttat gacaatgata agcgaccctc agggattcct 600
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcagc tcagccaccc tggcatcac cgactccag 660
 actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatggatg gcaatctgag tgctgtattc 720
 ggcggaggga ccaagggtgac cgtccta 747

<210> 8

<211> 249

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 76 scFv (aa)

<400> 8

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
 100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu
 130 135 140

Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Glu Val Thr Ile
 145 150 155 160
 Ser Cys Ser Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp
 165 170 175

Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Asn
 180 185 190

Asp Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser
 195 200 205

Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu
 210 215 220

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Gly Asn Leu Ser Ala Val Phe
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 245

<210> 9

<211> 744

<212> DNA

<213

> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 5 scFv (nt)

<400> 9

gaagtgcagc tggtgaggc tggggaggc ttggtagc ctggcaggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttat gattatgcc tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccagggagg gcctggaggc ggtctcaggat attagttgaa atagtggtat gataggctat 180

gcggactctg taaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtt 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcg 300
 gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctgggccca agggacaatg 360
 gtcaccgtct cctcaggtgg aggccgtica ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420

tcctatgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tggcacagac agtcaggatc 480
 acatgccaag gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga 540
 cagggccctg tacttgtcat ctatgataaa aacaaccgc cctcaggat cccagaccga 600
 ttctctggct ccagctcagg aaacacagct tccttgacca tcactgggc tcaggcggaa 660
 gatgaggctg actactactg caactcccg gacagcagt gtaacaatig ggtttcggc 720
 ggagggacca agctgaccgt ccta 744

<210> 10

<211> 248

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 5 scFv (aa)

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115

120

125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu

130

135

140

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

145 150 155 160

Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln

165

170

175

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

180

185

190

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn

195

200

205

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

210

215

220

Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Asn Trp Val Phe Gly

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 11

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH

(clones 18, 18B reversion, 76, 285)

(aa)

<400> 11

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 12

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH (clones 17, 5, 1, 192)

(aa)

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 13

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 18 (aa)

<400> 13

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

1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser Trp

20 25 30

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

35 40 45

Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser

50 55 60

Gly Arg Ala Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 14

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL, Clone 18B

(aa)

<400> 14

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

1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser Trp

20 25 30

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

35 40 45

Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser

50 55 60

Gly Arg Ala Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 15

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL, Clone 17 (aa)

<400> 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Tyr Ser Asn Asn Gln 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 Ser Gly Leu

65	70	75	80
Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser			
85	90	95	
Leu Ser Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
100	105	110	
<210> 16			
<211> 109			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<220>			

<223> VL, Clone 76 (aa)			
<400> 16			
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln			
1	5	10	15
Glu Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn			
20	25	30	
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu			
35	40	45	
Ile Tyr Asp Asn Asp Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser			
50	55	60	

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

<210> 17			
<211> 108			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<220>			
<223> VL, Clone 5 (aa)			
<400> 17			

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Asp Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Asn

85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 18

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-H1 (aa)

<400> 18

Asp Tyr Ala Met His

1 5

<210> 19

<211> 17

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-H2 (aa)

<400> 19

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

1 5 10 15

Gly

<210> 20

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-H3 (aa)

<400> 20

Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 21

<211

> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clones 18, 18B CDR-L1 (aa)

<400> 21

Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser

1 5

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clones 18, 18B CDR-L2 (aa)

<400> 22

Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser

1 5
<210> 23
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> Clone 18 CDR-L3 (aa)
<400> 23
Cys Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu
1 5 10

<210> 24
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> Clone 18B CDR-L3 (aa)
<400> 24
Ser Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu
1 5 10
<210> 25
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> Clone 17 CDR-L1 (aa)
<400> 25
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10
<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> Clone 17 CDR-L2 (aa)

<400>

> 26

Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 27

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 17 CDR-L3 (aa)

<400> 27

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Val Val

1 5 10

<210> 28

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 76 CDR-L1 (aa)

<400> 28

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 76 CDR-L2 (aa)

<400> 29

Asp Asn Asp Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 30

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 76 CDR-L3 (aa)

<400> 30

Gly Thr Trp Asp Gly Asn Leu Ser Ala Val

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

<210> 31

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 5 CDR-L1 (aa)

<400> 31

Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser

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

<210> 32

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 5 CDR-L2 (aa)

<400> 32

Asp Lys Asn Asn Arg Pro Ser

1	5
---	---

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 5 CDR-L3 (aa)

<400> 33

Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Asn Trp Val

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

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> Linker (aa)

<400> 34

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-H2

<400> 35

Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr

1 5 10

<210> 36

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L1 consensus

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Thr, Ser or Gln

<220>

<221> VARIANT

<222>

> 3

<223> Xaa = Thr, Ser or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Thr or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = null or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = null, Asp or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = null or Val

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = null, Gly or Ile

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = null, Gly or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223>

Xaa = Ser, Tyr or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 11

<223> Xaa = Asp or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 12

<223> Xaa = Asp or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> 13

<223> Xaa = Val or Ala

<400> 36

Xaa Gly Xaa Ser

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

<210> 37

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L2 consensus

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Asp or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Val, Asn or Lys

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Ser, Asn or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Lys, Gln or Asn

<400> 37

Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Pro Ser

1	5
---	---

<210> 38

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L3

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Cys, Ser, Ala, Gly or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Ser, Ala or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Tyr, Trp or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Ala or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Gly, Asp or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Arg, Ser or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = Tyr, Leu or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = Asn or Ser

<220>

<221

> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = Ser or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = Val, Ala or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 11

<223> Xaa = Trp or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 12

<223> Xaa = Leu or Val

<400> 38

Xaa Xaa

1

5

10

<210> 39

<211> 120

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<223> FMC63 VH

<400> 39

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

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

50 55 60

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

65 70 75 80
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 40

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<223> FMC63VL

<400> 40

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 Lys Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105

<210> 41

<211> 122

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<223> SJ25C1VH

<400> 41

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 42

<211> 106

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<223> SJ25C1 VL

<400> 42

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

Lys Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Ser Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105

<210> 43

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> Linker

<400> 43

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 44

<211> 747

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 488 scFv (nt)

<400> 44

gaagtgcagc tggtgacgtc tgggggaggc ttggtaacagc ctggcaggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttat gattatgccca tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccagggagg gcctggagtg ggtctcaggat attagttgga atagtggtag cataggttat 180
 gcggactctg tgaaggcccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac accgcgtgtt attactgtgc gagagatcag 300
 gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctggggcca agggacagtg 360
 gtcaccgtct cctcagggtgg aggccgttca ggccggagggtg gctctggcgg tggccggatcg 420

gaaatttgtt tgacgcagtc tccagccacc ctgtttgtt ctccagggga gaccgcacc 480
 ctctcctgca gggccagtca gaggatataac cactacttag cctggtagcca acagaaacct 540
 ggccaggctc cccggctctt catctatgtat gcctccaaca gggccactgg catcccagcc 600
 aggttcagtg gcagtgggtc tggcacagac ttcaactctca ccatcagcag cctagagecct 660
 gaagattttcaactacta ctgtcaacag agttacagtc accctcgaat gtacactttt 720
 ggccaggggga ccaaactgga tatcaaa 747

<210> 45

<211> 249

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 488 scFv (aa)

<400> 45

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Glu Ile Val Leu

130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Thr Ala Thr

145 150 155 160

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn His Tyr Leu Ala Trp Tyr

165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser

180 185 190

Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly

195 200 205

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

210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser His Pro Arg Met Tyr Thr Phe

225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys

245

<210> 46

<211> 747

<212> DNA

<213>

> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 1304 scFv (nt)

<400> 46

cagatgcagc tggcagtc tggggaggc ttggcacgc ctggcaggc cctgagactc 60
 tcctgtcagc cctctggatt caccttgc gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccagggagg gcctggagt ggtctcaggat attagttgga atagtggtag cataggctat 180
 gcggactctg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
 gggatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctgggcca agggacagt 360
 gtcaccgtct cctcaggatgg aggccgttca ggccggagggtg gctctggcg tggccgtatcg 420

gccatccgga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttaggaga cagagtacc 480
 gtcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatcaa attggatca gcagaaacca 540
 ggaagagccc ctaagctcct gatctacgt gcatccaatg taaaaggcagg ggtcccatca 600
 agttcagtg ggggtggatc tggcacatg ttcaactca ccatcagcag tctgcaacct 660
 gaagatttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctcaggc gtacacttt 720
 ggccaggggca ccaagctgga gatcaaa 747

<210> 47

<211> 249

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 1304 scFv (aa)

<400> 47

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

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

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

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

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

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

Asn Val Lys Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Gly Ser Gly
 195 200 205
 Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
 210 215 220
 Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Ala Tyr Thr Phe
 225 230 235 240
 Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 245

<210> 48

<211> 756

<212> DNA

<213

> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 285 scFv (nt)

<400> 48

gaggtgcagc tggtgagtc tggggaggc ttggcacgc ctggcaggc cctgagactc 60

tcctgtcag cctctggatt caccttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccagggaaagg gcctggagt ggtctcagg attagttgga atagtggtag gataggctat 180
 gcggactctg taaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtt 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
 gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctgggcca agggacagt 360
 gtcacccgtct cctcagggtgg aggccgttca ggcggagggtg gctctggcgg tggcgatcg 420

cagtcgtccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 480
 tcctgcactg gaaccagcag tgaccttggt ggttacaatt atgtctcctg gtatcaacac 540
 cgcccaggca aagccccaa actcatcatt tatgtatgtca ctgttggcc ctcaggggtt 600
 tctgatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 660
 caggctgagg acgaggctga ttattactgc ggctcatata caagcagtag cactttttt 720
 tgggtgttcg gccggaggac caagctcacc gtccta 756

<210> 49

<211> 252

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 285 scFv (aa)

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100	105	110	
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly			
115	120	125	
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu			
130	135	140	
Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile			
145	150	155	160
Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser			
165	170	175	
Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp			
180	185	190	
Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys			
195	200	205	
Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp			
210	215	220	
Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu			
225	230	235	240
Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
245	250		
<210> 50			
<211			
> 753			
<212> DNA			
<213> Homo sapiens			
<220>			
<223> Clone 192B scFv (nt)			
<400> 50			
caggtgcgc tggtgaggc tgggggaggc ttggtagc ctggcaggc cctgagactc 60			
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt gattatgcc tgcactgggt ccggcaagct 120			
ccagggagg gcctggaggc ggtctcaggat attagttgaa atagtggtag gataggctat 180			
gcggactctg taaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240			
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcg 300			

gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctggggcca agggacaatg 360

gtcacccgtct cctcagggtgg aggccgttca ggccggagggtg gctctggcg 420
 caggctgtgc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtaccatc 480
 tcctgcactg gaatcagcag tggtgttgc agtcataggt atgtctcctg gtaccaacac 540
 cacccaggca aagccccaa actcatgatt tatgatttca gtaagccgc ctcagggc 600
 cctgatcggt tctctggc aacacggc ccctgaccat ctctggc 660
 caggctgagg atgaggctga ttactattgc agctcatatg cagccatctc ccctaattat 720
 gtcttcgaa ctggaccaa gtcacccgtc cta 753

<210> 51

<211> 251

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 192B scFv (aa)

<400> 51

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

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

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

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

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100	105	110
-----	-----	-----

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ala Val Leu

130 135 140

Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile

145 150 155 160

Ser Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His Arg Tyr Val Ser

165 170 175

Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp

180 185 190

Phe Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys

195 200 205

Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp

210 215 220

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Tyr

225 230 235 240

Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245 250

<210> 52

<211> 750

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 328 scFv (nt)

<400> 52

caggtgcagc tggtgaggc tgggggaggc ttggtagc ctggcaggc cctgagactc 60

tcctgtcag cctctggatt caccttgcatt gattatgcac tgcactgggt ccggcaagct 120

ccagggagg gcctggaggc ggtctcaggat attagttgaa atagtggtag gataggctat 180

gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240

ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300

ggtatcatt actatgatac tgccgaacat gctttgata tctggggcca agggacagt 360

gtcacccgtct cctcagggtgg aggccgttca ggcggagggtg gctctggcgg tggcgatcg 420

cagtcgtccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacattc gatcaccatc 480

tcctgcactg gaaccagaag tgacgtcggt ggtttgatt atgtctcctg gtaccacat 540

aaccaggca aagccccaa actcataatt tatgatgtca ctaagcgcc ctcagggtc 600
 tctaattcgct tctctggcgc caagtctggc atcacggcct ccctgaccat ctctgggctc 660
 caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcatata gaccggtcc aacatttgc 720
 ttcggcaccg ggaccaagct caccgtccta 750
 <210> 53

<211> 250

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Cys Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly Phe Asp Tyr Val Ser

165 170 175

Trp Tyr Gln His Asn Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245 250

<210> 54

<211> 741

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 227 scFv (nt)

<400> 54

gaagtgcagc tggtgccatc tgggggaggc ttggtagacgc ctggcaggc cctgagactc 60
 tcctgtcag cctctggatt cacctttagt gattatgccca tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccagggaaagg gcctggagtg ggtctcaggat attagttgga atagttggtag cataggctat 180
 gcggactctg tgaaggggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
 gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctggggcca agggacatgt 360

gtcacccgtct ctcagggtgg aggccgttca ggcggagggt gctctggcgg tggcgatcg 420
 gacatccagt tgaccccatc tccttccacc ctgtctgcat ctgttaggaga cagagtacc 480
 atcacttgcc gggccagtca gagtatttagt aggtggttgg cctggatca gcagaaaccca 540
 gggaaagccc ctaagctcct gatctacgt gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatcc 600
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat ttactttca ccatcagcag cctgcagcct 660
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tccctctcac tttcgccgga 720
 gggaccaagg tggagatcaa a 741

<210> 55

<211> 247

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 227 scFv (aa)

<400> 55

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp Leu Ala Trp Tyr

165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala
 210 215 220
 Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly
 225 230 235 240
 Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245

<210> 56

<211> 744

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 1300 scFv (nt)

<400> 56

cagatgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ttggcacgc ctggcaggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccagggaaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag cataggctat 180
 gcggactctg tgaagggccg attaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
 gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctggggcca agggacagt 360

gtcacccgtct cctcaggtgg aggccgttca ggcggagggtg gctctggcgg tggccgatcg 420
 gccatccgga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtacc 480
 atcaacttgcg gggccagtca gacattttact cactacttgg cctggtatca acagaaacca 540
 gggaaagccc ctaagctcct gatcttgat gcctccgtt tggcaagtgg ggtcccatca 600
 aggttcagtg gcagtggatc tggacagat ttcaactca ccatcagcag tctgcaacct 660
 gaagattttg cgacatacta ctgtcaacag agttacggtg cccctatgtt cacttgcgc 720
 cctgggacca gagtggatct caaa 744

<210> 57

<211> 248

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 1300 scFv (aa)

<400> 57

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ile Arg Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser His Tyr Leu Ala Trp Tyr

165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Phe Asp Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Gly Ala Pro Met Phe Thr Phe Gly

225 230 235 240

Pro Gly Thr Arg Val Asp Leu Lys

245

<210> 58

<211> 753

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 1 scFv (nt)

<400> 58

gaagtgcagc tggtgaggc tgggggagcc ttggtaacagc ctggcaggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttgcatt gattatgccca tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccagggaaagg gcctggagtg ggtctcaggat attagttgga atagttggtag gataggttat 180
 gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgtt attactgtgc gagagatcag 300
 gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctggggcca agggacaatg 360

gtcacagtct cctcagggtgg aggccgttca ggcggagggtg gctctggcgg tggcgatcg 420
 cagtcgtccc tgactcagcc cgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 480
 tcctgcactg ggaccagcag tgacgttggt gcttataact ttgtctcctg gtaccaggcag 540
 ctcccaggaa cagccccaa attcctcatt tatgacaata ataaacgacc cccagggatt 600
 cctgaccat tctctggctc caagtctggc acgtcagcca ccctggcat caccggactc 660
 cagactgggg acgaggccga ttattactgc gcaacatggg atagcggcct gagtgctgt 720
 gtattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 753

<210> 59

<211> 251

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 1 scFv (aa)

<400> 59

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr Asn Phe Val Ser

165 170 175

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

180 185 190

Asn Asn Lys Arg Pro Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245 250

<210> 60

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 192B (aa)

<400> 60

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 61

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 328 (aa)

<400> 61

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 62

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 1304 Clone 1300 (aa)

<400> 62

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 63

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clones 227, 488, 241 (aa)

<400> 63

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 64

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 192B (aa)

<400> 64

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

1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Ala Ile

85 90 95

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

100 105 110

<210> 65

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 285 (aa)

<400> 65

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser
 85 90 95

Ser Thr Leu Leu Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 66

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 328 (aa)

<400> 66

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly Phe
 20 25 30

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

35 40 45

Ile Ile Tyr Asp Val Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ala Lys Ser Gly Ile Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80

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

Pro Thr Phe Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 67

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 1 (aa)

<400> 67

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Phe

35 40 45

Leu Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Ser Gly

85 90 95

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

100 105 110

<210> 68

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 1304 (aa)

<400> 68

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 69

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 1300 (aa)

<400> 69

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Gly Ala Pro Met

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Val Asp Leu Lys

100 105

<210> 70

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 227 (aa)

<400> 70

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 71

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 488 (aa)

<400> 71

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

1 5 10 15

Glu Thr Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn His Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala 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 Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser His Pro Arg

85 90 95

Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys

100 105

<210> 72

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-H2 Clone 1304 Clone 1300 Clone 227 Clone 488 Clone 241 (aa)

<400> 72

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

1 5 10 15

Gly

<210> 73

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 192B Clone 192 (aa)

<400> 73

Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His Arg Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 74

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 285 (aa)

<400> 74

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser

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

<210> 75

<211> 14

<212>

PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 328 (aa)

<400> 75

Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly Phe Asp Tyr Val Ser

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

<210> 76

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 1 (aa)

<400> 76

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

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

<210> 77

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 1304 Clone 241 (aa)

<400> 77

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 78

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 1300 (aa)

<400> 78

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser His Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 79

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 227 (aa)

<400> 79

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 80

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 488 (aa)

<400> 80

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn His Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 81

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-H2

<400> 81

Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly

1 5 10

<210> 82

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-H2

<400> 82

Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly

1 5 10

<210> 83

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L1

Consensus

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Thr, Gln or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Gly or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Ile, Thr or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223>

Xaa = Ser, Arg or Gln

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = null or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = null, Asp or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = null, Val or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = Asp, Gly or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = Ser, Gly, Ala or Ile

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = His, Tyr, Phe, Ser or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222>

> 11

<223> Xaa = Arg, Asn, Asp or His

<220>

<221> VARIANT

<222> 12

<223> Xaa = Tyr, Phe or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> 13

<223> Xaa = Val or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 14

<223> Xaa = Ser, Asn or Ala

<400> 83

Xaa Xaa

1

5

10

<210> 84

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L2 Consensus

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Phe, Val, Asn or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Ser, Thr or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Lys, Val, Asn or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Arg, Val or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Pro, Lys, Ala or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = Ser, Pro, Ala or Thr

<400> 84

Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

<210> 85

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L3 Consensus

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Ser, Gly, Thr, Ala or Gln

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Ser, Thr or Gln

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Tyr, Trp or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Ala, Thr, Arg, Asp or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Ala, Ser, Pro, Gly or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Ile, Ser, Gly, Thr, Leu, Ala or His

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = Ser, Pro or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = Pro, Thr, Ser, Gln, Met, Arg or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = Asn, Leu, Ala, Met or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = Leu or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 11

<223> Xaa = Tyr, Trp, Phe, Val or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 12

<223> Xaa = Val or Thr

<400> 85

Xaa Xaa

1

5

10

<210> 86

<211> 753

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 192 scFv (nt)

<400> 86

gaagtgcagc tggtgagtc tggggaggc ttggtagc ctggcaggc cctgagactc 60

tcctgtcagc cctctggatt caccttgcatt gattatgcac tgactgggt ccggcaagct 120

ccagggagg gcctggagtg ggtctcaggat attagttgaa atagtggtag gataggctat 180

gcggactctg taaaaggcccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240

ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300

gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctggggcca agggacaatg 360
 gtcaccgtct cctcagggtgg aggccgttca ggcggagggtg gctctggcg ggccggatcg 420
 caggcgtgtgc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagt cgtcaccatc 480
 tcctgcactg gaatcagcag tggtgttgc agtcataggt atgtctcccg gtaccaacac 540
 cacccaggca aagccccaa actcatgatt tatgatttca gtaagggcc ctcaggggtc 600
 cctgatcggt tctctggctc caagtctggc aacacggct ccctgaccat ctctgggtc 660
 caggctgagg atgaggctga ttactattgc tgctcatatg cagccatctc ccctaattat 720

gtcttcggaa ctggaccaa gctgaccgtc cta 753

<210> 87

<211> 251

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 192 scFv (aa)

<400> 87

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

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

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

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

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100	105	110
-----	-----	-----

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Leu

130	135	140
Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile		
145	150	155
Ser Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His Arg Tyr Val Ser		
165	170	175

Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp		
180	185	190
Phe Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys		
195	200	205
Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp		
210	215	220
Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Tyr		
225	230	235
		240

Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245	250
-----	-----

<210> 88

<211> 747

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 241 scFv (nt)

<400> 88

```

gaagtgcagc tggcagtc tgggggaggc ttggtagc ctggcaggc cctgagactc 60
tcctgtcag cctctggatt caccttgcatt gattatgcac tgcaactgggt ccggcaagct 120
ccagggagg gcctggaggc ggtctcaggat attagttggaa atagtggttag cataggttat 180
gcggactctg tgaaggcccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300

```

```

gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gctttgata tctggggcca agggacagt 360
gtcacccgtct cctcagggtgg aggccgttca ggccggaggc gctctggcgg tggcggatcg 420
gccatccgga tgacccaggc tccatcctcc ctgtctgcatt ctgttaggaga cagagtacc 480
gtcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatcaa attggtatca gcagaaacca 540
gggagagccc ctaagctcct gatctacgt gcatccaatg tgaaaggcagg ggtcccatca 600

```

aggttcagt ggggtggatc tggacatcgat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 660
 gaagatttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctcaggc gtacacttt 720
 ggccagggga ccaagctgga tatcaa 747

<210> 89

<211> 249

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 241 scFv (aa)

<400> 89

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ile Arg Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Val Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr

165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser

180 185 190

Asn Val Lys Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Gly Ser Gly

195 200 205

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

210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Ala Tyr Thr Phe

225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys

245

<210> 90

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 241 (aa)

<400> 90

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 91

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 192

<400> 91

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

1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Ala Ile

85 90 95

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

100 105 110

<210> 92

<211> 556

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD19 Accession No. P15391

<400> 92

Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met

1 5 10 15

Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp

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

Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly
 275 280 285
 Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu
 290 295 300
 Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg
 305 310 315 320
 Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val
 325 330 335
 Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu
 340 345 350
 Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala
 355 360 365
 Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp
 370 375 380
 Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly
 385 390 395 400
 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu
 405 410 415
 Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu
 420 425 430
 Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly
 435 440 445
 Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu
 450 455 460
 Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser
 465 470 475 480
 Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly
 485 490 495
 Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln
 500 505 510
 Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala

515

520

525

Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp

530

535

540

Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg

545

550

555

<210> 93

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 192B, Clone 192

<400> 93

Asp Phe Ser Lys Arg Pro Ser

1

5

<210> 94

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 285

<400> 94

Asp Val Thr Val Arg Pro Ser

1

5

<210> 95

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 328

<400> 95

Asp Val Thr Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 96

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 1

<400> 96

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Pro

1 5

<210> 97

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 1304 Clone 241

<400> 97

Asp Ala Ser Asn Val Lys Ala

1 5

<210> 98

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 1300

<400> 98

Asp Ala Ser Arg Leu Ala Ser

1 5

<210> 99

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 227

<400> 99

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 100

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 488

<400> 100

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 101

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 192B

<400> 101

Ser Ser Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Tyr Val

1 5 10

<210> 102

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 192

<400> 102

Cys Ser Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Tyr Val

1 5 10

<210> 103

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 285

<400> 103

Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu Trp Val

1 5 10

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 328

<400> 104

Thr Ser Tyr Arg Pro Gly Pro Thr Phe Val

1 5 10

<210> 105

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 1

<400> 105

Ala Thr Trp Asp Ser Gly Leu Ser Ala Val Val

1 5 10

<210> 106

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 1304 Clone 241

<400> 106

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Ala Tyr Thr

1 5 10

<210> 107

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 1300

<400> 107

Gln Gln Ser Tyr Gly Ala Pro Met Phe Thr

1 5 10

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 227

<400> 108

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 109

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 488

<400> 109

Gln Gln Ser Tyr Ser His Pro Arg Met Tyr Thr

1 5 10

<210> 110

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L1 consensus

<220>

<

221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Thr, Gln, Ser or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Gly or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Ile, Thr, Asp or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Ser, Arg, Thr or Gln

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = null or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = null, Asp, Asn or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = null, Val or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = any amino acid or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = any amino acid or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 11

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 12

<223> Xaa = Tyr, Phe, Asp or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> 13

<223> Xaa = Val, Ala or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 14

<223> Xaa = Ser, Asn or Ala

<400> 110

Xaa Xaa

1 5 10

<210> 111

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L1 consensus

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Thr, Gln, Ser or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Gly or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Ile, Thr, Asp or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222>

> 4

<223> Xaa = Ser, Arg, Thr or Gln

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = null or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Gly, Asp, Asn or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = null, Val or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = Asp, Gly, Ile, Leu, Ser or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = Ser, Gly, Ala, Ile, Arg or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = His, Tyr, Phe, Ser or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 11

<223> Xaa = Arg, Asn, Asp, His or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> 12

<223> Xaa = Tyr, Phe, Asp or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> 13

<223> Xaa = Val, Ala, Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 14

<223> Xaa = Ser, Asn or Ala

<400> 111

Xaa Xaa

1 5 10

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223

> Synthetic

<220>

<223> CDR-L2

Consensus

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Asp or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Phe, Val, Asn, Lys or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Ser, Thr, Asp or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Lys, Val, Asn, Gln or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Arg, Val or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Pro, Lys, Ala or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = Ser, Pro, Ala or Thr

<400> 112

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 113

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L3

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Cys, Ser, Ala, Gly or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Ser, Ala or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Tyr, Trp or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Ala or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Gly, Asp or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Arg, Ser or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = Tyr, Leu or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = Asn or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = Ser, Asn or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = null

<220>

<221> VARIANT

<222> 11

<223> Xaa = Val, Ala or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> 12

<223> Xaa = Leu or Val

<400> 113

Xaa Xaa

1 5 10

<210> 114

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L3 consensus

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Ser, Gly, Thr, Ala, Gln, Cys or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Ser, Gln, Ala or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222>

> 3

<223> Xaa = Tyr, Ser, Trp or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Ala, Asp, Arg, Thr or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Ala, Ser, Pro, Gly, Asn or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Ile, Ser, Gly, Thr, Ala, Leu, His, Arg or
Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = Ser, Pro, Leu, Tyr or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = Pro, Thr, Ser, Gln, Met, Arg, Asn or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = Ser, Leu, Asn, Ala, Met or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = Leu or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 11

<223> Xaa = Tyr, Trp, Phe, Val, Ala or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 12

<223> Xaa = Val, Thr or Leu

<400> 114

Xaa Xaa

1

5

10

<210> 115

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L3 consensus

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Ser, Gln, Ala or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Tyr, Ser, Trp or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Ala, Asp, Arg, Thr or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = Ser, Pro, Leu, Tyr or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = any amino acid or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = any amino acid or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = Leu or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 11

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 12

<223> Xaa = Val, Thr or Leu

<400> 115

Xaa Xaa

1

5

10

<210> 116

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 79

<400> 116

Gly Thr Trp Asp Ile Ser Leu Arg Phe Gly Val

1

5

10

<210> 117

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 835

<400> 117

Cys Ser Tyr Glu Ala Pro Thr His Thr Tyr Val

1 5 10

<210> 118

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 184

<400> 118

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Val Val

1 5 10

<210> 119

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 505

<400> 119

Cys Ser Tyr Ala Gly Ser Tyr Thr Phe Glu Val

1 5 10

<210> 120

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 506

<400> 120

Cys Ser Phe Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Trp Leu

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

<210> 121

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 305

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = any amino acid

<400> 121

Ser Ser Xaa Ala Gly Arg Lys Tyr Val

1	5	
---	---	--

<210> 122

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> Linker

<400> 122

Gly Gly Gly Ser

1		
---	--	--

<210> 123

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> Linker

<

<400> 123

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 124

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> spacer (IgG4hinge) (aa)

<400> 124

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 125

<211> 36

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> spacer (IgG4hinge) (nt)

<400> 125

Gly Ala Ala Thr Cys Thr Ala Ala Gly Thr Ala Cys Gly Gly Ala Cys

1 5 10 15

Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Thr Thr Gly

20 25 30

Cys Cys Cys Thr

35

<210> 126

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Hinge-CH3 spacer

<400> 126

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gln Pro Arg

1 5 10 15

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

20 25 30

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

35 40 45

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

100 105 110

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

115

<210> 127

<211> 229

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Hinge-CH2-CH3 spacer

<400> 127

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 50 55 60
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 65 70 75 80
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 85 90 95
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 100 105 110
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 115 120 125
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 130 135 140
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 145 150 155 160
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 165 170 175
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 180 185 190
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 195 200 205
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 210 215 220
 Leu Ser Leu Gly Lys
 225
 <210>
 > 128
 <211> 282
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> IgD-hinge-Fc
 <400> 128
 Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr Ala

1	5	10	15
Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro Ala			
20	25	30	
Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Lys Lys Lys Glu Lys			
35	40	45	
Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro			
50	55	60	
Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala Val Gln			
65	70	75	80
Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val Gly			
85	90	95	
Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys Val			
100	105	110	
Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser Asn Gly			
115	120	125	
Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp Asn			
130	135	140	
Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro Pro			
145	150	155	160
Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val Lys			
165	170	175	
Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala Ser			
180	185	190	
Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu Leu			
195	200	205	
Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala Pro			
210	215	220	
Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp Ser			
225	230	235	240
Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr			
245	250	255	

Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg

260 265 270

Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His

275 280

<210> 129

<211> 27

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28 (amino acids 153-179 of Accession No. P10747)

<400> 129

Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu

1 5 10 15

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

20 25

<210> 130

<211> 66

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28 (amino acids 114-179 of Accession No. P10747)

<400> 130

Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn

1 5 10 15

Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu

20 25 30

Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly

35 40 45

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

50 55 60

Trp Val

65

<210> 131

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28 (amino acids 180-220 of P10747)

<400> 131

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 132

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28 (LL to GG)

<400> 132

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 133

<211> 42

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 4-1BB (amino acids 214-255 of Q07011.1)

<400> 133

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

1	5	10	15
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe			
20	25	30	
Pro Glu Glu Glu Gly Cys Glu Leu			
35	40		

<210> 134

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD3 zeta

<400> 134

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly

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

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

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

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Lys

35	40	45	
----	----	----	--

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

50	55	60	
----	----	----	--

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

65	70	75	80
----	----	----	----

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

85	90	95	
----	----	----	--

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

100	105	110	
-----	-----	-----	--

<210> 135

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD3 zeta

<400> 135

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Glu Pro Pro Ala Tyr Gln Gln Gly

1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Lys

35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

100 105 110

<210> 136

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD3 zeta

<400> 136

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly

1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Lys

35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 100 105 110

<210> 137

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> T2A

<400> 137

Leu Glu Gly Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp

1 5 10 15

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg

20

<210> 138

<211> 357

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> tEGFR

<400> 138

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro

1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ile Pro Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly

20 25 30

Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe

35 40 45

Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala

50	55	60
Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu		
65	70	75
Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile		
85	90	95
Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu		
100	105	110
Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala		
115	120	125
Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu		
130	135	140
Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr		
145	150	155
160		
Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys		
165	170	175
Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly		
180	185	190
Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu		
195	200	205
Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys		
210	215	220
Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu		
225	230	235
240		
Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met		
245	250	255
Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala		
260	265	270
His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val		
275	280	285
Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His		
290	295	300

Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro
 305 310 315 320
 Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala
 325 330 335
 Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly
 340 345 350

Ile Gly Leu Phe Met

355

<210> 139

<211> 557

<212> PRT

<213> Macaca mulatta

<220>

<223> Accession No. F7F486

<400> 139

Met Pro Pro Pro Cys Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met

1 5 10 15

Glu Val Arg Pro Gln Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp

20 25 30

Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Glu Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln

35 40 45

Gln Leu Val Trp Cys Arg Asp Ser Pro Phe Glu Pro Phe Leu Asn Leu

50 55 60

Ser Leu Gly Leu Pro Gly Met Gly Ile Arg Met Gly Pro Leu Gly Ile

65 70 75 80

Trp Leu Leu Ile Phe Asn Val Ser Asn Gln Thr Gly Phe Tyr Leu

85 90 95

Cys Gln Pro Gly Leu Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr

100 105 110

Val Ser Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp

115 120 125

Leu Gly Gly Leu Gly Cys Gly Leu Lys Asn Arg Ser Ser Glu Gly Pro

130	135	140
Ser Ser Pro Ser Gly Lys Leu Asn Ser Ser Gln Leu Tyr Val Trp Ala		
145	150	155
Lys Asp Arg Pro Glu Met Trp Glu Gly Glu Pro Val Cys Gly Pro Pro		
165	170	175
Arg Asp Ser Leu Asn Gln Ser Leu Ser Gln Asp Leu Thr Met Ala Pro		
180	185	190
Gly Ser Thr Leu Trp Leu Ser Cys Gly Val Pro Pro Asp Ser Val Ser		
195	200	205
Arg Gly Pro Leu Ser Trp Thr His Val Arg Pro Lys Gly Pro Lys Ser		
210	215	220
Ser Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Asp Arg Asp Met		
225	230	235
Trp Val Val Asp Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Ala Thr Ala Gln Asp		
245	250	255
Ala Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Trp Thr Lys Ser Phe Tyr		
260	265	270
Leu Glu Ile Thr Ala Arg Pro Ala Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Ile		
275	280	285
Gly Gly Trp Lys Val Pro Ala Val Thr Leu Thr Tyr Leu Ile Phe Cys		
290	295	300
Leu Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu Gln Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu		
305	310	315
Arg Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys		
325	330	335
Val Thr Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val		
340	345	350
Leu Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp		
355	360	365
Ala Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser		
370	375	380

Asp Val Gln Val Asp Gly Ala Val Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Ala
 385 390 395 400
 Gly Pro Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu
 405 410 415
 Glu Gly Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Phe Gly Gln Asp Gln
 420 425 430

Leu Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu
 435 440 445
 Gly Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn
 450 455 460
 Glu Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu
 465 470 475 480
 Ser Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu
 485 490 495

Gly Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Leu Leu Tyr Ala Ala Pro
 500 505 510
 Gln Leu Arg Thr Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp
 515 520 525
 Ala Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala
 530 535 540
 Trp Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Ala Arg
 545 550 555

<210>

140

<211> 74

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> V1 chimeric rhesus/human

<400> 140

His Pro Lys Gly Pro Lys Ser Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp

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

Leu Thr Met Ser Phe His Leu Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp
 50 55 60

His Trp Leu Leu Arg Thr Gly Gly Trp Lys
 65 70

<210> 141
 <211> 75
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> Synthetic
 <220>
 <223> V2 chimeric rhesus/human
 <400> 141

Arg Pro Lys Gly Pro Lys Ser Ser Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp
 1 5 10 15

Asp Arg Pro Asp Arg Asp Met Trp Val Val Asp Thr Gly Leu Leu Leu

20 25 30

Thr Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly
 35 40 45

Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu
 50 55 60

Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly Gly Trp Lys

65 70 75

<210> 142
 <211> 74
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> Synthetic

<220>

<223> V3 chimeric rhesus/human

<400> 142

His Pro Lys Gly Pro Lys Ser Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp

1 5 10 15

Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro

20 25 30

Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn

35 40 45

Trp Thr Lys Ser Phe Tyr Leu Glu Ile Thr Ala Arg Pro Ala Leu Trp

50 55 60

His Trp Leu Leu Arg Ile Gly Gly Trp Lys

65 70

<210> 143

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 143

His Pro Lys Gly Pro Lys Ser Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp

1 5 10 15

Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro

20 25 30

<210> 144

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 144

Arg Pro Lys Gly Pro Lys Ser Ser Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp
 1 5 10 15
 Asp Arg Pro Asp Arg Asp Met Trp Val Val Asp Thr Gly Leu Leu Leu
 20 25 30
 Thr

<210> 145

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-H3 clone 305

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 15

<223> Xaa = any amino acid

<400> 145

Asp Gln Gly Xaa His Xaa Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe Xaa Ile

1 5 10 15

<210> 146

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 255

<400> 146

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 147

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 305

<400> 147

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

1 5 10

<210> 148

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 327

<400> 148

Thr Glu Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 149

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<

>220>

<223> CDR-L1 Clone 505

<400> 149

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

1 5 10

<210> 150

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 506

<400> 150

Thr Gly Ala Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asp His Val Ser

1 5 10

<210> 151

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 184

<400> 151

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Asn

1 5 10

<210> 152

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 835

<400> 152

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

1 5 10

<210> 153

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 272

<400> 153

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 154

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

>

<223> CDR-L2 Clone 305

<400> 154

Gly Val Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 155

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 505

<400> 155

Asp Val Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 156

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 79

<400> 156

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 157

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 835

<400> 157

Asp Val Thr Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 158

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3

Clone 272

<400> 158

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Asn Arg Asp Trp Val

1 5 10

<210> 159

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 508

<400> 159

Cys Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Pro

1 5 10

<210> 160

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-H1 Clone 1265

<400> 160

Thr Ser Gly Val Gly Val Gly

1 5

<210> 161

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-H2 Clone 1265

<400> 161

Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 162

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-H3 Clone 1265

<400> 162

Ile Asp Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Ser Pro Arg Thr Ser Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Tyr Met Ser Val

20

<210> 163

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L1 Clone 1265

<400> 163

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

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

<210> 164

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L2 Clone 1265

<400> 164

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser

1	5	
---	---	--

<210> 165

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CDR-L3 Clone 1265

<400> 165

Gln Gln Gly Asp Ala Phe Pro Leu Thr

1	5	
---	---	--

<210> 166

<211> 130

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 1265

<400> 166

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala His Ile Asp Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Ser Pro Arg Thr Ser

100 105 110

Tyr Tyr Tyr Tyr Met Ser Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 167

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 213

<400> 167

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 168

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 255

<400> 168

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
 100 105 110
 Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 169

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 272

<400> 169

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

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

 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
 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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
 100 105 110
 Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

 115 120 125
 <210> 170
 <211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 283

<400> 170

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 171

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 302

<400> 171

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

1 5 10 15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100

105

110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115

120

125

<210> 172

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 305

<220>

<221> VARIANT

<222> 64

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 65

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 68

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 69

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 93

<223> Xaa = any amino acid

<220>

<221> VARIANT

<222> (98)...(0)

<223> Xaa = any amino acid

<400> 172

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Xaa

50 55 60

Xaa Gly Arg Xaa Xaa Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Xaa

<210> 173

<211> 125

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 314

<400> 173

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 174

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 379

<400> 174

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
 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 Gln Gly Tyr His Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
 100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 175

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 324

<400> 175

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 176

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 327

<220>

<221> VARIANT

<222> 76

<223> Xaa = any amino acid

<400> 176

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 177

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 336

<400> 177

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 178

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 440

<400> 178

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 179

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 448

<400> 179

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 180

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 505

<400> 180

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 181

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 506

<400> 181

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 182

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 508

<400> 182

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 183

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 184

<400> 183

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100	105	110
-----	-----	-----

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115	120	125
-----	-----	-----

<210> 184

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 79

<400> 184

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

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

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

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

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100	105	110
-----	-----	-----

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser

115	120	125
-----	-----	-----

<210> 185

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VH Clone 835

<400> 185

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 186

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 1265

<400> 186

Ala Ile Gln 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 Gly Ile Ser Ser Tyr

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

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

<210> 187

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 213

<400> 187

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

Glu Thr Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn His Tyr			
20	25	30	

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile			
35	40	45	

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala 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 Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser His Pro Arg			
85	90	95	

Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 188

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 255

<400> 188

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 189

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 272

<400> 189

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

1 5 10 15

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

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

Asn Arg Asp Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 190

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 283

<400> 190

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser
 85 90 95

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

100 105 110

<210> 191

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 302

<400> 191

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser

85 90 95

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

100 105 110

<210> 192

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 305

<220>

<221> VARIANT

<222> 5, 6, 8, 9, 93, 104

<223> Xaa = any amino acid

<400> 192

Gln Ser Val Leu Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Tyr Val Phe Gly Thr Gly Xaa Lys Val Thr Val Leu

100 105

<210> 193

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 314

<400> 193

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

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

<210> 194

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 379

<400> 194

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe

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

100 105 110

<210> 195

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 324

<400> 195

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser

85 90 95

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

100 105 110

<210> 196

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 327

<400> 196

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Xaa Asp Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser

85 90 95

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

100 105 110

<210> 197

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 336

<400> 197

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser

85 90 95

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

100 105 110

<210> 198

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 440

<400> 198

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly Phe

20 25 30

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

35 40 45

Ile Ile Tyr Asp Val Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Arg Pro Gly

85 90 95

Pro Thr Phe Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys

100 105 110

<210> 199

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 448

<400> 199

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr

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

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

<210> 200

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 505

<400> 200

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

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

Met Ile Tyr Asp Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

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

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

100 105 110

<210> 201

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 506

<400> 201

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

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

Ser Val Thr Phe Ser Cys Thr Gly Ala Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

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

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Phe Ala Gly Tyr

85	90	95
----	----	----

Tyr Thr Tyr Trp Leu Phe Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

100	105	110
-----	-----	-----

<210> 202

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 508

<400> 202

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

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser Trp

20 25 30

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

35 40 45

Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser

50 55 60

Gly Arg Ala Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 203

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 184

<400> 203

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu

85	90	95
----	----	----

Asn Val Val

<210> 204

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 79

<400> 204

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

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

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn

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

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

35	40	45
----	----	----

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

Thr Gly Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ile Ser Leu

85	90	95
----	----	----

Arg Phe Gly Val Phe Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

100	105	110
-----	-----	-----

<210> 205

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> VL Clone 835

<400> 205

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Glu Ala Pro

85 90 95

Thr His Thr Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 206

<211> 252

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 1265

<400> 206

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

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

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

 180 185 190
 Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
 195 200 205
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Val Gln
 210 215 220
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asp Ala Phe Pro
 225 230 235 240
 Leu Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Thr Ile Arg

 245 250
 <210> 207
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> scFv Clone 213

 <400> 207
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr			
20	25	30	
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe			
100	105	110	
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly			
115	120	125	
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu			
130	135	140	
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Thr Ala Thr			
145	150	155	160
Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn His Tyr Leu Ala Trp Tyr			
165	170	175	
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser			
180	185	190	
Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly			
195	200	205	
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala			
210	215	220	
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser His Pro Arg Met Tyr Thr Phe			
225	230	235	240
Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
245			

<210> 208

<211> 249

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 255

<400> 208

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ile Arg Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Val Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr

165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser

180 185 190

Asn Val Lys Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Gly Ser Gly
 195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
 210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Ala Tyr Thr Phe

225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
 245

<210> 209

<211> 251

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 272

<400> 209

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
 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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
 100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu
 130 135 140
 Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile
 145 150 155 160

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

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Asn Arg Asp Trp
 225 230 235 240
 Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 210

<211> 252

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 283

<400> 210

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
 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 Gln Gly Tyr His Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
 100 105 110
 Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
 130 135 140
 Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile
 145 150 155 160
 Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
 165 170 175
 Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp
 180 185 190
 Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys
 195 200 205
 Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp
 210 215 220
 Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu
 225 230 235 240
 Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250
 <210> 211
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> scFv Clone 302
 <400> 211

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

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

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

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

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100	105	110
-----	-----	-----

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu

130	135	140
-----	-----	-----

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

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys

195	200	205
-----	-----	-----

Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp

210	215	220
-----	-----	-----

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

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245 250

<210> 212

<211> 249

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 305

<220>

<221> VARIANT

<222> 64, 65, 68, 69, 93, 98, 102, 104, 113, 145, 146, 148, 149,

233, 244

<223> Xaa = any amino acid

<400> 212

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Xaa

50 55 60

Xaa Gly Arg Xaa Xaa Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Xaa Asp Gln Gly Xaa His Xaa Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Xaa Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Cys Thr Gly Thr Gly Arg Asp Ile Gly Ala Tyr Asp Tyr Val Ser
 165 170 175
 Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly
 180 185 190
 Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys
 195 200 205
 Ser Asp Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu Gln Val Glu Asp
 210 215 220
 Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Xaa Ala Gly Arg Lys Tyr Val Phe
 225 230 235 240
 Gly Thr Gly Xaa Lys Val Thr Val Leu
 245

<210> 213

<211> 252

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 314

<400> 213

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys

195 200 205

Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp

210 215 220

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

225 230 235 240

Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245 250

<210> 214

<211> 252

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 379

<400> 214

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys

195 200 205

Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp

210 215 220

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

225 230 235 240

Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245 250

<210> 215

<211> 252

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 324

<400> 215

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys

195 200 205

Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp

210 215 220

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

225 230 235 240

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245 250

<210> 216

<211> 252

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 327

<220>

<221> VARIANT

<222> 76, 201

<223> Xaa = any amino acid

<400> 216

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100	105	110	
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly			
115	120	125	
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu			
130	135	140	
Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile			
145	150	155	160
Ser Cys Thr Glu Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser			
165	170	175	
Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp			
180	185	190	
Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Xaa Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys			
195	200	205	
Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp			
210	215	220	
Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu			
225	230	235	240
Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
245	250		
<210> 217			
<211> 252			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<220>			
<223> scFv Clone 336			
<400> 217			
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr			
20	25	30	
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys

195 200 205

Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp

210 215 220

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

225 230 235 240

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245 250

<210> 218

<211> 250

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 440

<400> 218

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

1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr			
20	25	30	
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe			
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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe			
100	105	110	
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly			
115	120	125	
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu			
130	135	140	
Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly His Ser Ile Thr Ile			
145	150	155	160
Ser Cys Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly Phe Asp Tyr Val Ser			
165	170	175	
Trp Tyr Gln His Asn Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp			
180	185	190	
Val Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ala Lys			
195	200	205	
Ser Gly Ile Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp			
210	215	220	

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Arg Pro Gly Pro Thr Phe Val
 225 230 235 240

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
 245 250

<210> 219

<211> 252

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 448

<400> 219

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
 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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
 100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
 130 135 140

Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile
 145 150 155 160

Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
 165 170 175
 Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp
 180 185 190

Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys
 195 200 205
 Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp
 210 215 220
 Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu
 225 230 235 240
 Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
 245 250

<210> 220

<211

> 236

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 505

<400> 220

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
 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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gln Ser Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Glu Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

225 230 235

<210> 221

<211> 251

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 506

<400> 221

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Phe

145 150 155 160

Ser Cys Thr Gly Ala Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asp His Val Ser

165 170 175

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

180 185 190

Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys

195 200 205

Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp

210 215 220

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Phe Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Trp

225 230 235 240

Leu Phe Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

245 250

<210> 222

<211> 246

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 508

<400> 222

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu

130 135 140

Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Phe Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile

145 150 155 160

Ser Cys Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln His

165 170 175

Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Met Leu Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro

180 185 190

Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Arg Ala Ala

195 200 205

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

210 215 220

Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Pro Phe Gly Gly Gly

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 223

<211> 239

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 184

<400> 223

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

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

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

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

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

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 Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100	105	110
-----	-----	-----

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu

130	135	140
-----	-----	-----

Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Asn Trp

165	170	175
Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Asn		
180	185	190
Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser		
195	200	205
Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu		
210	215	220
Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Val Val		
225	230	235
<210> 224		
<211> 250		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<220>		
<223> scFv Clone 79		
<400> 224		
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
20	25	30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
100	105	110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115	120	125
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu		
130	135	140
Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile		
145	150	155
Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp		
165	170	175
Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Asn		
180	185	190
Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser		
195	200	205
Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu		
210	215	220
Gly Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ile Ser Leu Arg Phe Gly Val		
225	230	235
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu		
245	250	

<210> 225

<211> 251

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> scFv Clone 835

<400> 225

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

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

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile

145 150 155 160

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

165 170 175

Trp Tyr Gln His Tyr Pro Gly Lys Thr Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp

180 185 190

Val Thr Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys

195 200 205

Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Asp Asp

210 215 220

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Glu Ala Pro Thr His Thr Tyr

225 230 235 240

Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245 250

<210> 226

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L1 consensus

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Thr, Gln, Arg or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Gly, Ala or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Ile, Thr, Ser, Asp, Ala or Pro

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Ser, Arg, Gln, Thr, Gly or Ile

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = null, Ser, Arg or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Gly, Asp, Asn or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = Val, Leu, null or Ile

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = Asp, Gly, Ser, Ile, Leu or null

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = Ser, Gly, Ala, Ile, null or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = His, Tyr, Phe, Ser or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 11

<223> Xaa = Arg, Asn, Asp, His, Tyr or Thr

<220>

>

<221> VARIANT

<222> 12

<223> Xaa = Tyr, Phe, Trp, Asp, His, Thr or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> 13

<223> Xaa = Val, Ala or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 14

<223> Xaa = Ser, Asn or Ala

<400> 226

Xaa Xaa

1

5

10

<210> 227

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L2 consensus

<220>

<221>

VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Asp, Ser or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Phe, Val, Asn, Lys or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Ser, Thr, Asn or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Lys, Val, Asn, Arg or Gln

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Arg, Val or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Pro, Lys, Ala or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = Ser, Pro, Ala or Thr

<400> 227

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 228

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<223> CDR-L3 consensus

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = Ser, Gly, Thr, Ala, Gln, Cys or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 2

<223> Xaa = Ser, Gln, Ala or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> 3

<223> Xaa = Tyr, Ser, Trp or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> 4

<223> Xaa = Ala, Asp, Arg, Thr or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Ala, Ser, Pro, Gly, Asn or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> 6

<223> Xaa = Ile, Ser, Gly, Thr, Ala, Leu, His, Arg or
Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = Ser, Pro, Leu, Tyr or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = Pro, Thr, Ser, Gln, Met, Arg or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> 9

<223> Xaa = Ser, Leu, Asn, Ala, Met, null or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = Leu, null or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> 11

<223> Xaa = Tyr, Trp, Phe, Val, Ala, Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> 12

<223> Xaa = Val, Thr, Leu or Pro

<400> 228

Xaa Xaa

1

5

10