



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0142790
(43) 공개일자 2023년10월11일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/10 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/10 (2023.08)
A61P 31/14 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7030836
- (22) 출원일자(국제) 2022년02월04일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2023년09월08일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2022/015341
- (87) 국제공개번호 WO 2022/173670
국제공개일자 2022년08월18일
- (30) 우선권주장
63/147,419 2021년02월09일 미국(US)

- (71) 출원인
더 유나이티드 스테이츠 오브 어메리카, 애즈 리
프리젠티드 바이 더 세크러테리, 디파트먼트 오브
헬스 앤드 휴먼 서비스즈
미국, 메릴랜드 20892, 베서스다, 엠에스 7788,
스위트 700, 6701 록리지 드라이브, 내셔널 인스
티튜츠 오브 헬스, 오피스 오브 테크놀로지 트랜
스퍼
- (72) 발명자
페구, 아마렌드라
미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라
이브 빌딩 40 룸 4612B
로드레, 마리오
미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라
이브 빌딩 40 룸 2510
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
이원희

전체 청구항 수 : 총 32 항

(54) 발명의 명칭 코로나바이러스 스파이크 단백질(SPIKE PROTEIN)을 타겟팅하는 항체

(57) 요약

공개되는 것은 SARS-CoV-2와 같은 코로나바이러스 스파이크 단백질(coronavirus spike protein)에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체, 항원 결합 단편, 및 이중-특이 항체다. 또한 공개되는 것은 이 항체들을 SARS-CoV-2 감염과 같은, 코로나바이러스 감염을 억제하는데 사용하는 용도이다. 추가로, 공개되는 것은, 공개되는 항체를 사용하여 생물학적 샘플에서, SARS-CoV-2와 같은 코로나바이러스를 검출하는 방법이다.

대표도

Domain	Mutations	D614G	B.1.1.7.14 Var2	B.1.258.24 Var3	Ap.1 Var4	B.1.388 Var5	Var6	Var7	B.1.1.7 Var8	B.1.1.545 Var9	B.1.177.31 Var10	B.1.351 Var11	B.1.351 Var12
NTD	L18F/D80A/D215G/ΔL242-244												
	ΔH69-70						ΔH69-70	ΔH69-70	ΔH69-70				
	ΔY144								ΔY144				
	A222V		A222V										
RBD	R246I												
	K417N									K417N		K417N	K417N
	N439K			N439K									
	Y453F				Y453F								
S1-C4-term	E484K									E484K		E484K	E484K
	N501Y					N501Y		N501Y				N501Y	N501Y
	A570G							A570D					
	D614G	D614G	D614G	D614G	D614G	D614G	D614G	D614G	D614G	D614G	D614G	D614G	D614G
S2	P681H												
	T718I/S932A/D1118H								S2 x 3				A781V
	A781V												

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/56 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/90 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

장, 이

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 4606B

황, 피터 디.

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 4508

헨리, 에이미 랜지어

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 3606B

듀엑, 다니엘 세자르

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 3509

슈랍, 카임 아리에

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 2510

미사시, 존

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 2510

왕, 링수

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 460B

마스콜라, 존 알.

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 5512

설리번, 낸시 제이.

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 2509

저우, 퉁킹

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 4609B

스, 웨이

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 4606

양, 은성

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 4614B

메이슨, 로즈마리 다이애나

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 5606B

레저우드, 줄리 이.

미국, 메릴랜드 20892, 베서스다, 40 컨벤트 드라이브 빌딩 40 룸 5512

명세서

청구범위

청구항 1

SARS-CoV-1 및/또는 SARS-CoV-2에의 결합은 도 1D에서 보여준다.

분리된 단일클론 항체 또는 이의 항원결합 단편으로:

- a) 서열번호 1 및 5로서 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 중쇄 보완성 결정 부위 (heavy chain complementarity determining region, HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 경쇄 보완성 결정 부위 (light chain complementarity determining region, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 중쇄 가변 부위 (heavy chain variable region, V_H) 및 경쇄 가변 부위 (light chain variable region, V_L);
- b) 서열 번호 9 및 13으로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- c) 서열 번호 17 및 21로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- d) 서열 번호 25 및 29로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- e) 서열 번호 33 및 37로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- f) 서열 번호 41 및 45로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- g) 서열 번호 49 및 53으로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- h) 서열 번호 57 및 61로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- i) 서열 번호 65 및 69로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- j) 서열 번호 73 및 77로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- k) 서열 번호 81 및 85로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- l) 서열 번호 89 및 93으로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- m) 서열 번호 97 및 101로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;

n) 서열 번호 105 및 109로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L , 또는

o) 서열 번호 143 및 5로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L 를 포함하고,

및 상기 단일클론 항체는 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 SARS-CoV-2를 중화하는 것을 특징으로 하는, 단일클론 항체 및 이의 항원 결합 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기

a) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호 2, 3, 4, 6, 7, 및 8로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

b) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호 10, 11, 12, 14, 15, 및 16로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

c) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호 18, 19, 20, 22, 23, 및 24로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

d) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호 26, 27, 28, 30, 31, 및 32로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

e) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호 34, 35, 36, 38, 39, 및 40로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

f) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호, 42, 43, 44, 46, 47, 및 48로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

g) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호, 50, 51, 52, 54, 55, 및 55로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

h) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3은 서열 번호, 58, 59, 60, 62, 63, 및 64로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

i) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호 66, 67, 68, 70, 71, 및 72로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

j) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호, 74, 75, 76, 78, 79, 및 80으로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

k) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호 82, 83, 84, 86, 87, 및 88로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

l) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호 90, 91, 92, 94, 95, 및 96으로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

m) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호 98, 99, 100, 102, 103, 및 104로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고;

n) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호 106, 107, 108, 110, 111 및 112로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하고; 또는

o) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3은 서열 번호 2, 3, 58, 6, 7, 8로 제시된 아미노산 서열을 각각 포함하는 것을 특징으로 하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기

- a) V_H 및 V_L 은 서열 번호 1 및 5로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- b) V_H 및 V_L 은 서열 번호 9 및 13으로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- c) V_H 및 V_L 은 서열 번호 17 및 21로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- d) V_H 및 V_L 은 서열 번호 25 및 29로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- e) V_H 및 V_L 은 서열 번호 33 및 37로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- f) V_H 및 V_L 은 서열 번호 41 및 45로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- g) V_H 및 V_L 은 서열 번호 49 및 53으로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- h) V_H 및 V_L 은 서열 번호 57 및 61로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- i) V_H 및 V_L 은 서열 번호 65 및 69로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- j) V_H 및 V_L 은 서열 번호 73 및 77로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- k) V_H 및 V_L 은 서열 번호 81 및 85로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- l) V_H 및 V_L 은 서열 번호 89 및 93으로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- m) V_H 및 V_L 은 서열 번호 97 및 101로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고;
- n) V_H 및 V_L 은 서열 번호 105 및 109로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하고; 또는
- o) V_H 및 V_L 은 서열 번호 143 및 5로 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동성이 있는 아미노산 서열을 포함하는 것을, 특징으로 하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 4

선행 항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 프레임 워크 부위를 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 5

선행 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기

- a) V_H 및 V_L 은 서열 번호 1 및 5로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고;
- b) V_H 및 V_L 은 서열 번호 9 및 13으로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고;
- c) V_H 및 V_L 은 서열 번호 17 및 21로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고;
- d) V_H 및 V_L 은 서열 번호 25 및 29로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고
- e) V_H 및 V_L 은 서열 번호 33 및 37로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고;
- f) V_H 및 V_L 은 서열 번호 41 및 45로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고;
- g) V_H 및 V_L 은 서열 번호 49 및 53으로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고;
- h) V_H 및 V_L 은 서열 번호 57 및 61로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고;
- i) V_H 및 V_L 은 서열 번호 65 및 69로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고;
- j) V_H 및 V_L 은 서열 번호 73 및 77로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고;
- k) V_H 및 V_L 은 서열 번호 81 및 85로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고;
- l) V_H 및 V_L 은 서열 번호 89 및 83으로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고;
- m) V_H 및 V_L 은 서열 번호 97 및 101로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하고;
- n) V_H 및 V_L 은 서열 번호 105 및 109로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하^Å고; 또는
- o) V_H 및 V_L 은 서열 번호 143 및 5로 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것을, 특징으로 하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 6

선행 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 인간 고정 도메인을 포함하는 것을, 특징으로 하는, 항체.

청구항 7

선행 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 인간 항체인 것을, 특징으로 하는, 항체.

청구항 8

선행 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 IgA 인 것을, 특징으로 하는, 항체.

청구항 9

선행 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체의 반감기를 증가하는 수정을 포함하는 재조합 고정 도메인을 포함하는 것을, 특징으로 하는, 항체.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 수정은 신생아 Fc 수용체와의 결합을 증가시키는 것을, 특징으로 하는, 항체.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 코로나바이러스 스파이크 단백질의 N-말단에 특이적으로 결합하는 것을, 특징으로 하는, 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 코로나바이러스 스파이크 단백질의 수용체 결합 도메인 (receptor binding domain, RBD)에 특이적으로 결합하는 것을, 특징으로 하는, 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 SARS-CoV-1를 중화하는 것을, 특징으로 하는, 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 14

제1항 내지 제5항 또는 제11항 내지 제13항 중 어느 한 항의 항원 결합 단편.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 항원 결합 단편은 Fv, Fab, F(ab')₂, scFV 또는 scFV₂ 인 것을, 특징으로 하는, 항원 결합 단편.

청구항 16

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 검출 가능한 마커에 접합 된, 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원 결합 단편을 포함하는 이중특이적인 항체 (bispecific antibody).

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 이중특이적인 항체는 이중 가변 도메인 면역글로블린인 것을 특징으로 하는, 이중특이적인 항체.

청구항 19

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원 결합 단편을 암호화하는 분리된 핵산 분자, 항체의 V_H 또는 V_L, 항원 결합 단편, 또는 제18항의 이중 가변 도메인 면역글로블린.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 핵산 분자는 V_H 또는 V_L 를 암호화하는 cDNA인 것을 특징으로 하는, 핵산 분자.

청구항 21

제10항 또는 제20항에 있어서, 프로모터에 작동적으로 연결된, 핵산 분자,

청구항 22

제19항 내지 제21항 중 어느 한 항의 핵산 분자를 포함하는, 벡터.

청구항 23

제19항 내지 제22항 중 어느 한 항의 핵산 분자 또는 벡터를 포함하는, 숙주 세포.

청구항 24

선행 항 중 어느 한 항의 항체, 항원 결합 단편, 이중특이성 항체, 핵산 분자 또는 벡터의 주효량을 포함하는, SARS-CoV-1 또는 SARS-CoV-2를 억제하는 용도의 약제학적 조성물; 및 약제학적으로 허용 가능한 담체.

청구항 25

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항체, 항원 결합 단편을 암호화하는 핵산 분자 하나 또는 그 이상을 숙주 세포에서 발현하고; 및

항체 또는 항원 결합 단편의 정제를 포함하는 것을, 특징으로 하는, 방법.

청구항 26

개체로부터의 생물학적 샘플에서 코로나바이러스의 존재를 검출하는 방법으로서:

생물학적 샘플을 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원 결합 단편의 주효량을 면역 복합체를 형성하기에 충분한 컨디션 하에서 접촉시키고; 및

생물학적 샘플에서 면역 복합체 존재를 검출하는 것을 포함하고, 상기 생물학적 샘플에서 면역 복합체의 존재는 샘플에서 코로나바이러스의 존재를 제시하는 것을, 특징으로 하는, 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 생물학적 샘플에서 면역 복합체 존재를 검출하는 것은 개체가 ARS-CoV-2 감염을 가졌다는 것을 제시하는 것을, 특징으로 하는, 방법.

청구항 28

개체에서 코로나바이러스 감염을 억제하는 방법으로서, 1항 내지 제24항 중 어느 한 항의 항체, 항원 결합 단편, 핵산 분자, 벡터, 또는 약제학적 조성물의 주효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하고, 상기 개체는 코로나바이

러스 감염을 가졌거나 또는 감염 위험성이 있는 것을, 특징으로 하는, 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 코로나바이러스는 SARS-CoV-2인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 30

제1항 내지 제24항 중 어느 항의 항체, 항원 결합 단편, 핵산 분자, 벡터, 또는 약제학적 조성물을 개체에서 코로나바이러스 감염을 억제하거나 또는 생물학적 샘플에서 코로나바이러스의 존재를 검출하는 데 사용하는, 용도.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 코로나바이러스는 SARS-CoV-2인 것을 특징으로 하는, 용도.

청구항 32

제27항 또는 제29항 중 어느 한 항, 또는 제31항 있어서, 상기 SARS-CoV-2는 B.1.1.529 변이체인 것을, 특징으로 하는, 방법 또는 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 이 청구서는 여기 참고문헌으로 병합된, 2021년 2월9일에 청구된 미국 출원 번호 (U.S. Application No.) 63/147,419의 유익점을 청구한다.

[0002] 이는 코로나바이러스 스파이크 단백질 (coronavirus spike protein)에 특이적으로 결합하는 단일 클론 항체 및 항원 결합 단편, 및 개체에서 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) (SARS-CoV-2) 감염과 같은, 베타 코로나바이러스 감염을 억제하는 이들의 용도, 및 SARS-CoV-2와 같은 코로나바이러스를 검출하는 용도에 관련된다.

배경 기술

[0003] 2019년에, 바이러스 분류 국제 위원회 (International Committee on the Taxonomy of Viruses, ICTV)는 인간에게 병원성인 몇 가지 바이러스를 포함하는 코로나바이러스 아과 (subfamily) 오르소 코로나비리나에 (Orthocoronavirinae)를 서술한다. 가장 흔한 인간 코로나바이러스는 일반 감기 (common cold) 의 원인이 되고 및 알파-코로나바이러스 (alpha-coronaviruses) 229E 및 NL63, 및 베타-코로나바이러스 (beta-coronaviruses) OC43 및 HKU1을 포함한다. 일반 감기를 일으키는 코로나바이러스 이외에, 세 개의 베타-코로나바이러스가 인간에게 매우 병원성인 것이 알려졌다. 이 바이러스들은, 중동 호흡기 증후군 코로나바이러스 (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus), MERS), 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 1 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 1, SARS-CoV-1) 및 SARS-CoV-2는, 인간 환자에서 사망에 이르게 하는 심각한 증상을 생산할 수 있다.

[0004] 코로나바이러스의 유전체는 크고, 외피가 있고, 양성-센스, 단일-가닥 RNA이고 이의 유전체 길이는 종에 따라 다양하고 및 몇 가지 리딩 프레임 (reading frames)에서 암호화되는 다수의 구조적 및 비-구조적 단백질을 암호화한다. 스파이크 단백질 (Spike protein (S)) 은 바이러스 입자의 표면에서 발현되고 및 타겟 세포로의 진입 및 감염에 관여한다. 코로나바이러스의 전파는, 호흡성 비말 (respiratory droplets), 에어로졸 (aerosols), 대변-구강 및 비-생체 접촉물 (fecal-oral and fomite) 경로를 포함하는, 다수의 방법을 통해 일어날 수 있다.

[0005] 2019년 말에는, 새로운 코로나바이러스가 중국 우한 (Wuhan)에서 심각한 호흡기 장애 증후군의 원인으로 동정

되었다. 이 바이러스는 나중에 서열 분석 되었으며 및 SARS-CoV-1과 매우 비슷한 것으로 동정 되었으며 및 이 결과에 기반하여, 새로운 코로나바이러스는 SARS-CoV-2로 재명명 되었다. 배양 기간은 전형적으로 4 내지 14일 이지만 그러나 1일과 같이 짧을 수도 있다. 감염은 발열, 피곤함, 기침, 호흡 장애 및 설사로 특징지어진다. 환자의 서브세트는 상당한 호흡기 장애를 지니며, 입원 및 산소 공급을 필요로 한다. 이 환자들은 빨리 악화될 수 있고 및 중환자실 입원 및 삽관 (intubation)을 필요로 한다. 심각한 질환은 또한 다 기관기능 부전 (multi-organ failure), 혈액 응고 (blood clots) 및 분명한 전신성 염증 반응 증후군 (systemic inflammatory response syndrome)에서 비정상적인 것으로도 특징지어진다.

[0006] COVID-19 생존자에게서는, 체액성 및 세포성 면역력 둘 다 검출되나, 그러나, 이들의 보호에 대한 상대적인 기여는 알려지지 않는다. 체액성 면역성에는 회복한 환자의 혈청으로 바이러스 항원에의 결합 및 바이러스 입자의 중화에 대한 에세이를 사용하여 측정될 수 있는, 기억 면역글로블린 반응이 포함된다. 코로나바이러스에 결합에 대해 매우 강력하고 및 치료제로서 및 진단제로서 사용될 수 있는 항체의 필요성이 남아 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 코로나바이러스 스파이크 단백질 (coronavirus spike protein)에 특이적으로 결합하는 단일 클론 항체 및 항원 결합 단편, 및 개체에서 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) (SARS-CoV-2) 감염과 같은, 베타 코로나바이러스 감염을 억제하는 이들의 용도, 및 SARS-CoV-2 와 같은 코로나바이러스를 검출하는 용도에 관련된다.

과제의 해결 수단

[0008] 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 SARS-CoV-2를 중화하는 분리된 단일클론 항체 또는 항원 결합 단편이 공개된다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 다음 중 하나를 포함한다:

[0009] a) 서열번호 1 및 5로서 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 중쇄 보완성 결정 부위 (heavy chain complementarity determining region, HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 경쇄 보완성 결정 부위 (light chain complementarity determining region, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3를 포함하는 중쇄 가변 부위 (heavy chain variable region, V_H) 및 경쇄 가변 부위 (light chain variable region, V_L);

[0010] b) 서열 번호 9 및 13으로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;

[0011] c) 서열 번호 17 및 21로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;

[0012] d) 서열 번호 25 및 29로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;

[0013] e) 서열 번호 33 및 37로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;

[0014] f) 서열 번호 41 및 45로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;

[0015] g) 서열 번호 49 및 53으로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;

[0016] h) 서열 번호 57 및 61로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;

[0017] i) 서열 번호 65 및 69로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하

는 V_H 및 V_L :

- [0018] j) 서열 번호 73 및 77로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- [0019] k) 서열 번호 81 및 85로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- [0020] l) 서열 번호 89 및 93으로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- [0021] m) 서열 번호 97 및 101로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L ;
- [0022] n) 서열 번호 105 및 109로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L . 이 단일 클론 항체는 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하며 및 SARS-CoV-2를 중화한다; 또는
- [0023] o) 서열 번호 143 및 5로 각각 제시된 V_H 및 V_L 의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_H 및 V_L .
- [0024] 추가의 실시 예에서, 공개되는 것은 이 항체들 및/또는 항원 결합 단편 2개 또는 그 이상의 조합을 포함하는 다가-특이적인 항체이다.
- [0025] 좀 더의 실시 예에서, 개체에서 SARS-CoV-2 감염을 억제하는 방법이 공개된다.
- [0026] 추가의 실시 예에서, 생물학적 샘플에서 SARS-CoV-2를 검출하는 방법이 공개된다.
- [0027] 본 발명의 선행 및 다른 특징 및 장점은 수반되는 도면을 참조하여 진행되는 하기의 몇 몇의 실시 예의 상세한 서술로부터 좀 더 분명해질 것이다.

발명의 효과

- [0028] SARS-CoV-2와 같은 코로나바이러스 스파이크 단백질 (coronavirus spike protein) 에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체, 항원 결합 단편, 및 이중-특이 항체 및 이 항체들을 SARS-CoV-2 감염과 같은, 코로나바이러스 감염을 억제하는데 사용하는 용도를 제공한다. 추가로, 항체를 사용하여 생물학적 샘플에서, SARS-CoV-2와 같은 코로나바이러스를 검출하는 방법을 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0029] **도 1A-1E. 코로나바이러스 스파이크 단백질에 대한 항체의 결합 및 위형 바이러스 (pseudotyped virus) 중화.** (A) 결합 및 중화에 대하여 검사된 SARS CoV2 변이체. (B) SARS CoV2 스파이크 변이체에 대한 제시된 항체의 세포 표면 결합. 흰색은 D614G 변이체에 대비하여 결합에서 변화가 없음을 제시하고, 증가하는 붉은색은 항체의 이 변이체에 대한 증가하는 결합을 제시하고 및 증가하는 파란색은 항체의 이 변이체에 대한 감소하는 결합을 제시한다. (C) 우한 1 (Wuhan 1) (wt) 스파이크 (S) 또는 패널 A에 보여준 대로의 돌연변이를 지닌 제시된 SARS CoV2 변이체로 위형 렌티바이러스 (pseudotyped lentiviruses)의 중화. 중화는 세포에 첨가하기 전에 바이러스와 항체를 다양한 희석으로 배양하여 결정되었다. 억제적 농도 (inhibitory concentration) 50 (IC50) 및 80 (IC80)의 값을 생성하기 위하여 감염 %가 사용되었다. 이 값은 감염을 각각 50% 및 80% 감소시키기 위하여 요구되는 $\mu\text{g/mL}$ 항체의 양을 제시한다. (D) SARS CoV2 안정화된 2-프롤린 (SARS CoV2 stabilized 2-Proline, S2P)의 스파이크 단백질로부터의 단백질 도메인, N-말단 도메인 (N-terminal domain, NTD), 수용체 결합 도메인 (receptor binding domain, RBD) 및 S1 도메인 또는 SARS CoV S2P가 ELISA 플레이트에 코팅되었고 및 제시된 항체들이 그 활성에 대해 검사되었다. S2P, NTD, RBD 또는 S1 도메인에 대한 SARS-CoV-2 ELISA의 양성 활성도는 +로 표시되고, 활성도가 없는 것은 -로 표시되고 및 낮은 활성도는 +로 표시된다. 결과에 기반한 결합 도메인 분류는 "타겟 (target)" 으로 라벨 된 컬럼에 표시된다. ELISA에서 SARS CoV-1 (a.k.a., SARS1) 또는 SARS-CoV2 S2P에 결합을 보여준다. 활성도 수준은 각 항체에 대하여 -, +, ++, +++, ++++ 또는 +++++ 로 보여준다.

(E) 초기 변이체 중화 데이터, 추가의 중화 데이터는 도 28을 또한 참조.

도 2. A23-58.1에 대한 BLI에 의한 경쟁 그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서는 SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, 및 mAb114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을 표시한다. 검은색 박스는 경쟁 그룹 배정과 상관없으며 및 명확하게 하기 위하여 제거되었다.

도 3. A23-58.1 Fab 의 SARS-CoV-2 스파이크와의 복합체에서의 Cryo-EM 구조. 3 Fabs 가 스파이크 단백질의 RBD에 결합하는 것을 보여준다. 에피토프 (epitope)은 RBD의 정점에 잔기 417, 453, 455, 456, 473, 475-480, 483-488, 489 및 493와 함께 놓여 있어 항체 결합에 기여한다. 잔기 417 및 E484는 에피토프의 가장자리에 놓여 있고 및 항체 결합 표면의 ~8 %를 기여한다.

도 4A. A19-61.1에 대한 BLI에 의한 경쟁그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서는 SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, 및 mAb 114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을 표시한다.

도 4B. 음성 염색 EM (Negative Stain EM) 에 의한 에피토프 맵핑 (mapping).

도 5. A19-46.1에 대한 BLI에 의한 경쟁 그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, mAb114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을 표시한다. 검은색 박스는 경쟁 그룹 배정과 상관없으며 및 명확하게 하기 위하여 제거되었다.

도 6. A23-105.1에 대한 BLI에 의한 경쟁 그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서는 SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, 및 mAb114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을 표시한다. 검은색 박스는 경쟁 그룹 배정과 상관없으며 및 명확하게 하기 위하여 제거되었다.

도 7. A789-1.1에 대한 BLI에 의한 경쟁 그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서는 SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, 및 mAb114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을 표시한다. 검은색 박스는 경쟁 그룹 배정과 상관없으며 및 명확하게 하기 위하여 제거되었다.

도 8. A20-29.1에 대한 BLI에 의한 경쟁 그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, 및 mAb114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을 표시한다. 검은색 박스는 경쟁 그룹 배정과 상관없으며 및 명확하게 하기 위하여 제거되었다.

도 9. A19-30.1에 대한 BLI에 의한 경쟁 그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서는 SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, mAb114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을 표시한다. 검은색 박스는 경쟁 그룹 배정과 상관없으며 및 명확하게 하기 위하여 제거되었다.

도 10. A20-36.1 및 A20-9.1에 대한 BLI에 의한 경쟁 그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서는 SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, 및 mAb114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을 표시한다. 검은색 박스는 경쟁 그룹 배정과 상관없으며 및 명확하게 하기 위하여 제거되었다.

도 11. A23-97.1에 대한 BLI에 의한 경쟁 그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서는 SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, 및 mAb114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을 표시한다. 검은색 박스는 경쟁 그룹 배정과 상관없으며 및 명확하게 하기 위하여 제거되었다.

도 12. 23-113.1에 대한 BLI에 의한 경쟁 그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서는 SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, 및 mAb114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을

표시한다. 검은색 박스는 경쟁 그룹 배정과 상관없으며 및 명확하게 하기 위하여 제거되었다.

도 13. 23-80.1에 대한 BLI에 의한 경쟁 그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서는 SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, 및 mAb114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을 표시한다. 검은색 박스는 경쟁 그룹 배정과 상관없으며 및 명확하게 하기 위하여 제거되었다.

도 14. A19-82.1에 대한 BLI에 의한 경쟁 그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서는 SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, 및 mAb114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을 표시한다. 검은색 박스는 경쟁 그룹 배정과 상관없으며 및 명확하게 하기 위하여 제거되었다.

도 15. B1-182.1에 대한 BLI에 의한 경쟁 그룹 결정. 바이오센서에 첨가하는 순서는 SARS CoV2 S2P (항원), 경쟁자 (competitor) mAb, 피분석 (analyte) mAb, 및 mAb114 는 S2P에 결합하지 않는 아이소타입 (isotype) 대조군 mAb이다. 빨강색은 >80% 경쟁을 표시하고, 황색은 60-79.9% 경쟁 및 흰색은 <60% 또는 경쟁 없음을 표시한다. 검은색 박스는 경쟁 그룹 배정과 상관없으며 및 명확하게 하기 위하여 제거되었다.

도 16A-16H. 회복중인 SARS-CoV-2개체로부터 매우 강력한 항체의 동정 및 분류. (A) 22명의 회복중인 개체의 혈청으로부터 중화하는 (y-축 ID₅₀) 및 결합하는 항체 (x-축, S-2P ELISA AUC) 가 테스트 되었으며 및 WA-1에 대하여 높은 중화 및 결합 활성 둘 다를 가진 4명의 개체, A19, A20, A23 및 B1(채색된), 가 항체 분류를 위하여 선택되었다. (B) 4명의 회복중인 개체(A19, A20, A23 and B1) 에 대한 CD19+/CD20+/IgG+ 또는 IgA+ PBMCs 의 최종 유동세포 분석 분류 게이트 (flow cytometry sorting gate). 보여주는 것은 RBD-SD1 BV421, S1 BV786 및 S-2P APC 또는 A x647의 염색이다. 세포는 표시된 분류 게이트 (sorting gate) (분홍색) 를 사용하여 분류되었으며 및 RBD-SD1, S1 또는 S-2P 양성인 양성 세포의 퍼센트가 각 개체에서 보여준다. (C) 총 결합 에피토프 분포 (gross binding epitope distribution) 가 MSD-기반한 ELISA 테스트를 사용하여 RBD, NTD, S1, S-2P 또는 HexaPro에 대하여 결정되었다. S2 결합은 다른 항원에 결합함이 없이 S-2P 또는 HexaPro 결합에 의해 추론된다. 쉽게 가늠할 수 없는 에피토프는 혼합된 결합 프로파일을 보였다. 각 그룹 내에서 총 항체의 수 (즉, 200) 및 항체의 절대 수를 보여준다. (D) WA-1 스파이크 위형 렌티바이러스 (pseudotyped lentivirus)를 사용한 중화 커브 및 표시된 항체 (n=2-3) 의 중화능력을 검사하기 위한 생 바이러스 중화 에세이. (E) 항체 결합 타겟, 위형바이러스 및 생 바이러스 중화에 대한 IC₅₀ 및 표시된 항체에 대한 Fab: S-2P 결합 키네틱스 (n=2) 를 보여주는 표. (F) SPR-기반한 에피토프 비닝 (epitope binning) 실험. 경쟁자 항체 (competitor antibody) (y-축) 가 표시된 대로 분석 항체 (analyte antibody)(x-축)와 배양하기 전에 S-2P에 결합되고 및 퍼센트 경쟁 범위 빈(bin) 이 빨강색 (>=75%), 오렌지색 (60-75%) 또는 흰색 <60%) (n=2)으로서 보여준다. 음성 대조군 항체는 항-에볼라 (anti-Ebola) 당단백질 항체 mAb114 (37) 이다. (G) ACE2 결합의 경쟁. 표시된 항체(y-축)는 생물 층 간섭법 (biolayer interferometry) 을 사용했을 때 S-2P의 용해성 ACE2 단백질과의 결합에 경쟁하거나 ((왼쪽 컬럼, 퍼센트 경쟁 (>=75% 빨강색으로 표시, <60% 흰색으로 표시)) 또는 세포 표면 염색을 사용했을 때 S-2P의 세포 표면에 발현된 ACE2와의 결합에 경쟁한다 (오른쪽 컬럼, ng/ml에서 EC₅₀ 를 보여준다). (H) SARS-CoV-2 스파이크 및 Fab 복합체의 음성 염색 3D 재구성 (negative stain 3D reconstructions). A19-46.1 및 A19-61.1은 RBD 에 아래쪽 위치 (down position) 로 결합하고 반면에 A23-58.1 및 B1-182.1은 RBD에 위쪽 위치 (up position) 로 결합한다. 대표적인 부류는 2 Fabs의 결합으로 보이지만, 화확당량 1 내지 3에서 관찰된다.

도 17A-17D. 우러 변이 또는 관심 변이체의 항체 결합 및 중화. (A) 패널 B-C에서 검사된 10 변이체 각각의 WA-1에 대비한 도메인 및 돌연변이를 보여주는 표. (B) 스파이크 단백질 변이체가 HEK293T 세포의 표면에 발현되었으며 및 표시된 항체와의 결합이 유동 세포 분석으로 측정되었다. 데이터는 같은 항체의 D614G 모체 변이체에 대한 MFI 에 대하여 표준화한 평균 형광 강도 (Mean Fluorescence intensity, MFI)로서 보여준다. 퍼센트 변화는 빨강색 (증가된 결합, Max 500%) 으로부터 흰색(변화없음, 100%)으로의 색조 구배 (color gradient)로 표시된다. (C) (A) 에 보여준 10개 변이체에 대항하는 표시된 항체의 IC₅₀ 및 IC₈₀ 값. 범위는 흰색 (>10000 ng/mL), 옅은 파랑색 (1000-10000 ng/mL), 황색 (100-1000 ng/mL), 오렌지색 (50-100 ng/mL), 빨강색 (10-50 ng/mL), 밤색(maroon) (1-10 ng/mL) 및 보라색 purple (<1ng/mL)의 색조로 표시된다. (D) B.1.1.7, B.1.351, B.1.429, P.1 v2의 스파이크 당 단백질에 스파이크 단백질 변이체 돌연변이의 위치. P681 및 V1176은 구조에서 해결되지 않으며 및 그러므로 이들의 위치는 B.1.1.7 및 P. 1 v2에서 기록되지 않는다.

도 18A-18E. 항체 A23-58.1 및 B1-182.1의 결합의 구조적 기반 및 중화. (A) SARS-CoV-2 HexaPro 스파이크와의

복합체에서 A23-58 Fab 의 Cryo-EM 구조. 왼쪽에 전반적인 밀도 지도 (density map)가 프로토머 (protomer)의 회색 그림자로 보인다. RDB에 결합된 A23-58.1 Fab 중 하나가 보인다. 국소적인 개선 (local focused refinement) 후 RBD 및 A23-58의 구조가 오른쪽에 보인다. 중쇄 CDRs은 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3로 각각 동정된다. 경쇄 CDRs은 또한 CDR L1, CDR L2 및 CDR L3로 각각 동정된다. Cryo-EM 지도의 등고선 수준은 5.7 s이다. (B) B1-182.1 Fa의 SARS-CoV-2 HexaPro 스파이크와 복합체에서 Cryo-EM 구조. 전반적인 밀도 지도 (density map)가 표시된 프로토머와 함께 왼쪽에 보여준다. RDB에 결합된 B1-182.1 Fab 중 하나가 보인다. 국소적인 개선 (local focused refinement) 후 RBD 및 B1-182.1의 구조가 오른쪽에 보인다. 중쇄 CDRs은 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3로 각각 보여준다. 경쇄 CDRs은 또한 CDR L1, CDR L2 및 CDR L3로 각각 보여준다. Cryo-EM 지도의 등고선 수준은 4.0s이다. (C) A23-58.1 및 RBD 사이의 상호작용. 모든 CDRs는 RBD 결합에 관여하였다. A23-58.1의 에피토프는 밝은 초록색 표면에 보인다. 현재 순환되고 있는 SARS-CoV-2 변이체에서 RBD 돌연변이는 빨간색이다. K417 및 E484는 에피토프의 가장자리에 놓여있다. (D) 항체-RBD 접촉면에서 상호작용 상세도. RBD의 정점 (tip)이 CDRs에 의해 형성된 구멍(cavity)과 결합한다 (구멍의 아래로 보면서 보여준다). 방향족/소수성 잔기 사이의 상호작용은 구멍의 더 낮은 부분에서 우세하다. 구멍의 가장자리에서의 수소 결합은 점선으로 표시된다. RBD 잔기는 이탤릭 체로 라벨 되었다. (E) 같은 생식계열로부터의 A23-58.1, B1-182.1, S2E12 (PDB ID: 7K45) 및 COVOX253 (PDB ID: 7BEN)의 항원 항체 결합부위 (파라톱, paratopes). B1-182.1 (서열 번호 1 V_H, 서열번호 5, V_L), A23-58.1 (서열번호 25, V_H 및 서열 번호 29, V_L) S2E12 및 COVOX253 가 밀줄 친 변이체 잔기와 정렬되었다. A23-58.1, B1-182.1, S2E12 및 COVOX253의 파라톱(paratopes) 잔기가 강조되었다. IGHV1-58*01 V_H는 서열 번호 147, A23-58.1 V_H는 서열 번호 25; B1-182.1 V_H는 서열 번호 1; S2E1V_H는 서열 번호 148, COVOX253 V_H는 서열 번호 149; IGHV1-58*01 V_L은 서열 번호 150, A23-58.1 V_L는 서열 번호 29; B1-182.1 V_L는 서열 번호 5; S2E1V_L은 서열 번호 151, COVOX253 V_L은 서열 번호 152 이다.

도 19A-19E. A23-58.1 및 B1-182.1의 고유한 결합 방식이 VOCs에 중화될 수 있게 한다. (A) A23-58.1, B1-182.1 및 다른 항체들의 RBD에 (서열 번호 141) 에피토프 지도작성. 다른 RBD-타겟하는 항체에 대한 에피토프 잔기는 RBD 서열 아래에 *로 표시한다. (B) A23-58.1 및 B1-182.1의 결합 방식 비교. 분석은 Fab B1-182.1의 축은 A23-58.1의 축으로부터 6도 회전한다는 것을 제시한다 (왼쪽). 이 회전은 RBD에서 B1-182.1 에피토프를 약간 이동하게 하는 결과가 되며 이는 E484에의 접촉을 감소시킨다 (오른쪽). 관심 있는 RBD 돌연변이는 강조되며, B1-182.1의 에피토프 표면, ACE2-결합 부위의 경계 및 A23-58.1 에피토프를 보여준다. (C) A23-58.1, CB6 및 REGN10933의 결합 방식 비교. 명확히 하기 위하여, 하나의 Fab가 스파이크에 있는 RBD에 결합하는 것으로 보인다. 결합 부위의 RBD의 안장 (saddle)으로의 이동은 K417, E484 및 Y453을 CB6 (흑색 라인) 및 REGN10933 에피토프 (표면) 안에 둘러싸게 하며, 이는 이의 K417N, Y453F 및 E484K 돌연변이에 민감함을 설명한다. (D) A23-58.1 및 LY-CoV555의 결합 방식 비교. 하나의 Fab가 스파이크에 있는 RBD에 결합하는 것으로 보인다 (왼쪽). E484는 LY-CoV555 에피토프 안에 놓여 있으며(오른쪽, 위), E484K/Q 돌연변이는 RBD 및 CDR H2 및 CDR L3 사이의 결정적인 접촉을 폐기하며, 더욱이, E484K/Q 및 L452R은 LY-CoV555의 중쇄와 잠재적으로 충돌하게 하며, 이는 이의 E484K/Q 및 L452R 돌연변이에 민감함을 설명한다 (오른쪽, 아래). (E) IGHV1-58-유래한 항체는 돌연변이 민감점 (hotspot)에 최소 접촉을 가진 슈퍼사이트 (supersite)를 타겟한다. RBD에 있는 IGHV1-58-유래한 항체 (A23-58.1, B1-182.1, S2E12 및 COVOX253)에 의해 접촉되는 공통의 원자로 정의되는 슈퍼사이트를 보여준다. ACE2-결합 부위 경계, C102 (PDB ID 7K8M), C144 (PDB ID 7K90) 및 C135 (PDB ID 7K8Z)로 표시되는 클래스 I, II 및 III 항체의 에피토프를 보여준다.

도 20A-20B. 항체 A23-58.1 및 B1-182.1의 결정적인 결합 잔기 (A) 구조적 분석에 예측된 제시된 스파이크 단백질 돌연변이가 HEK293T 세포 표면에 발현되었으며 및 제시된 항체와의 결합은 유동 세포분석을 사용하여 측정되었다. 데이터는 같은 항체의 WA-1 모체 결합에 대한 MFI에 대해 표준화한 평균 형광 강도 (Mean Fluorescence intensity, MFI)로서 보여준다. 퍼센트 변화는 빨간색 (증가된 결합, Max 200%)으로부터 흰색 (변화없음, 100%)으로, 청색 (결합 없음, 0%)으로의 색조 구배 (color gradient)로 표시된다. (B) WA-1 및 9 스파이크 돌연변이에 대한 표시된 항체의 IC₅₀ 및 IC₈₀ 값. 범위는 흰색 (>10000 ng/mL), 옅은 파랑색 (1000-10000 ng/mL), 황색 (100-1000 ng/mL), 오렌지색 (50-100 ng/mL), 빨간색 (10-50 ng/mL), 밤색(maroon) (1-10 ng/mL) 및 보라색 purple (<1ng/mL)의 색조로 표시된다.

도 21A-21E. 이중 항체 조합을 사용한 회피 위험의 완화 (mitigation). (A) 이의 유전체가 SARS-CoV-2 WA-1를 발현하는 복제 능력있는 수포성 구내염 바이러스 (vesicular stomatitis virus, rcVSV)가 표시된 항체의 연속적인 희석액(serial dilutions)과 함께 배양되었으며 및 세포독성 효과 (cytopathic effect)(CPE)가 있는 웰들은

48-72 시간 후에 이어지는 다음 라운드 (round) (도 S8)로 전진 계대되었다 (passaged forward). 총 상등액 RNA는 수확되었고 및 아미노산 변화의 빈도를 결정하기 위하여 바이러스 유전체는 샷건 (shotgun) 서열분석이 되었다. 스파이크 단백질 아미노산/위치 변화 및 빈도가 로고 플롯 (logo plot)으로서 보여준다. 두 번의 독립적인 실험에서 관찰된 아미노산 변화는 청색 및 녹색 글자로 표시된다. (B) 구조 분석에 의해 예측된 (도 18A-18E) 또는 회피 분석 (도 21A)으로 관찰된 표시된 스파이크 단백질 돌연변이는 HEK293T 세포의 표면에 발현되고 및 표시된 항체에 결합은 유동세포분석을 사용하여 측정되었다. 데이터는 같은 항체의 WA-1 모체 결합에 대한 MFI에 대해 표준화한 평균 형광 강도 (Mean Fluorescence intensity, MFI)로서 보여준다. 퍼센트 변화는 회색 (증가된 결합, Max 200%) 으로부터 흰색 (변화없음, 100%) 으로, 회색 (결합 없음, 0%) 으로의 색조 구배 (color gradient)로 표시된다. (C) WA-1 및 구조 분석에 의해 예측된 (도 18A-18E) 또는 회피 분석 (도 21A)으로 관찰된 돌연변이에 대한 표시된 항체의 IC₅₀ 및 IC₈₀ 값. (D) 스파이크와 Fab B1-182.1 및 A19-46.1 (왼쪽) 또는 A19-61.1 (오른쪽)와의 삼중 복합체 (ternary complex) 의 음성 염색 3D 재구성. (E) rcVSV SARS-CoV-2가 증가하는 농도 (1.3e-4 내지 50mg/mL)의 단일 항체 (A19-46.1, A19-61.1 및 B1-182.1) 및 항체의 조합 (B1-182.1/A19-46.1 및 B1-182.1/A19-61.1) 과 함께 배양되었다. 매 3일 마다, 웰들은 CPE 에 대하여 평가되었고 및 >20% CPE를 가진 가장 높은 농도 웰은 신선한 세포 및 항체 함유하는 배지에 전진 계대 되었다. 보여주는 것은 선택된 각 차례에서 각 검사된 조건에 대한 >20% CPE를 가진 최대 농도이다. 일단 50mg/mL에 도달되면, 바이러스는 더는 전진 계대 되지 않으며 및 다음 라운드에서 최대 항체 농도에 도달했다는 것을 표시하기 위하여 점선이 사용된다.

도 22A-22E. SARS-CoV-2 B.1.1.529 ((오미크론(Omicron)) 스파이크의 Cryo-EM 구조. (A) . SARS-CoV-2 B.1.1.529 스파이크의 Cryo-EM 지도 3.29 Å 해상도에서 재구성 밀도 지도 (reconstruction density map) 가 측면 및 윗면 관점에서 보인다. Cryo-EM 지도의 등고선 수준은 4.0 s이다. (B) B.1.1.529 아미노산 치환은 프로토머-사이(inter-protomer)의 상호작용을 도입시켰다. 한 프로토머 (protomer) 의 치환이 구 (spheres) 로서 보여준다. B.1.1.529 치환에 의해 도입된 프로토머-사이(inter-protomer)의 상호작용은 측면에 줌-인 비유 (zoom-in view) 로 박스에 강조되었다. 돌연변이는 도메인 표면 (표면)의 퍼센트로서 또는 서열 (seq)의 퍼센트로서 서술된다. (C) 취약성의 NTD 슈퍼사이트는 백본 리본 (backbone ribbon)과 함께 반-투명 표면에 보여준다. 아미노산 치환, 삭제, 및 삽입을 보여준다. (D) 15 아미노산 치환은 RBD 가장자리에 모여 있으며, RBD 표면적의 16%를 변경하며 및 ACE2-결합 부위 (오른쪽)의 전자-양성성을 증가시킨다. 돌연 변이된 잔기는 막대기 (sticks) 로서 보여준다. 정전위 표면 (electrostatic potential surface) 에 ACE2-결합 부위도 또한 표시되었다. (E) Barnes Class I-IV 항체의 에피토프에서 B.1.1.529 RBD 치환의 지도작성. 치환의 위치를 표면에 보여준다. 이 부류에서 항체의 활성에 잠재적으로 영향을 줄 수 있는 것들의 이들의 잔기 숫자로 라벨 되었다. 클래스 1 공간은 CB6 및 B1-182.1의 에피토프에 의해 정의되고, 클래스 II 공간은 A19-46.1 및 LY-CoV555의 에피토프에 의해 정의되고, 클래스 III 공간은 A19-61.1, COV2-2130, LY-CoV1404 및 S309의 에피토프에 의해 정의되고, 클래스 IV 공간은 DH1407 및 S304의 에피토프에 의해 정의된다. 클래스 1 및 II 에피토프는 ACE2 결합 부위와 겹치며, 반면에 클래스 III 및 IV는 안 겹친다. 클래스 II 및 클래스 III 에피토프는 RBD가 위(up) 또는 아래 (down) 구조로 있을 때 WA-1에 결합하게 한다.

도 23A-23C. SARS-CoV-2 단일클론 항체 결합 및 중화. (A) 변이체에 존재하는 치환 위치가 빨강 점으로서 표시된 SARS-CoV-2 WA-1 스파이크 단백질(PDB: 6XM3)의 모델. 또한 주목되는 것은 돌연변이의 총 수 및 우려 스파이크 단백질의 변이체에서 수용체 결합 도메인 (receptor binding domain, RBD)의 수 및 위치이다. (B) 표시된 SARS-CoV-2 변이체로부터의 전장 스파이크 단백질이 일시적으로 형질 감염시킨 293T 세포의 표면에 발현되었고 및 표시된 단일클론 항체의 결합이 유동 세포 분석으로 평가되었다. 보여주는 것은 D614G 발현하는 세포에 결합된 같은 항체의 MFI 에 대비한 표시된 세포에 결합된 항체의 평균 형광 강도 (mean fluorescence intensity, MFI)이다. 이 데이터는 퍼센트로 표현된다. 보여주는 것은 대표적인 실험이다 (각 항체 당 n=2-3). (C) D614G, B.1.1.7, B.1.351, P.1, B.1.617.2 또는 B.1.1.52로부터의 SARS-CoV-2 스파이크 단백질로 위형화된 렌티바이러스가 표시되는 항체의 연속적인 희석액과 배양되었으며 및 IC₅₀ 및 IC₈₀ 가 결정되었다. S309는 293 flpin-TMPRSS2-ACE2 세포에서 검사되었으며 반면에 모든 다른 항체들은 293T-ACE2 세포에서 검사되었다. *n.d.= <80%에서 정제되는 불완전한 중화 때문에 측정되지 않았다.

도 24A-24D. 클래스 1 항체 중화의 기능적 및 구조적 기반 및 B.1.1.529 VOC에 대한 잔류하는 역가의 기전적인 기반. (A) D614G 또는 D614G로부터의 SARS-CoV-2 스파이크 단백질 플러스 B.1.1.529 스파이크 내에서 발견된 표시된 점 돌연변이 (point mutations)로 위형화된 렌티바이러스는 표시된 항체의 연속적인 희석액 (serial

dilution)과 배양시켰으며, 293T-ACE2 세포에 형질도입시키고 및 IC₅₀ 및 IC₈₀ 값이 결정되었다. S375F 및 G496S 바이러스는 얻을 수 없었으며 및 "검사-안됨" (not-tested, n.t.)으로서 보여준다. G496R는 구할 수 있으며 및 G496S로 치환되었다. (B) 클래스 I 항체 CB6의 에피토프에 B.1.1.529 아미노산 치환의 지도 작성. RBD-결합된 CB6는 B.1.1.529 스파이크 구조에 정박되었다 (docked). CB6 결합과 조화될 수 없는 B. 1.1.529 아미노산 치환이 동정 되었으며 및 라벨 되었다. K417N 돌연변이는 파라토프(paratrooper)의 중심에서 충돌의 원인이 되었다. B.1.1.529 RBD이 카툰에 보이고 아미노산 치환은 막대에 보인다. CB6은 153-156에 보여준 중쇄 및 경쇄와 각각 표면 표현 (surface representation)에서 보여진다. (C) RBD-결합된 VH1-58-유래한 클래스 I 항체 B1-182.1의 B.1.1.529 스파이크 구조에의 정박은 잠재적 입체 장애가 있는 4개의 치환을 동정하였다. B1-182는 중쇄 및 경쇄와 함께 표면 표현에서 보인다. VH1-58 항체의 결합에 영향을 줄 수 있는 B.1.1.529 아미노산 치환이 라벨 되었다. (D) VH1-58-유래한 항체에 의한 B.1.1.529 VOC의 효과적인 중화의 구조적 기반. S2E12, COV2-2196, A23-58.1 및 B1-182.1과 같은, VH1-58-유래한 항체가 높은 서열 상동성 (오른쪽, 위)을 공유한다 하더라도, B.1.1.529에 대한 이들의 중화 효능은 다양하다. 구조적 분석은 RBD, 중쇄 및 경쇄에 의해 형성된 경계면 구멍에 놓여 있는, CDR H3 잔기 100C는 B.1.1.529에 대한 이들의 효능 (potency)을 결정할 수 있음을 제시한다 (왼쪽). 이 잔기의 크기는 두 개-꼬리 $p=0.046$ 을 가진 효능과 관계된다 (오른쪽, 밑). 도 24D에서는, 서열 번호 153-156을 보여준다.

도 25A-25E. 클래스 II 항체 결합, 중화, 및 회피 (escape)의 기능적 및 구조적 기반. (A) D614G 또는 D614G로부터의 SARS-CoV-2 스파이크 단백질 플러스 B.1.1.529 스파이크 내에서 발견된 표시된 점 돌연변이 (point mutations)로 위형화 된 렌티바이러스는 표시된 항체의 연속적인 회색액과 배양시키고, 293T-ACE2 세포에 형질도입시키고 및 IC₅₀ 및 IC₈₀ 값이 결정되었다. S375F 및 G496S 바이러스는 얻을 수 없었으며 및 "검사-안됨"(not-tested, n.t.)으로서 보여준다. G496R는 구할 수 있으며 및 G496S로 치환되었다. (B) B.1.1.529 스파이크와 복합체로 있는 클래스 II 항체 A19-46.1 Fab의 Cryo-EM 구조. 전반적인 밀도 지도 (density map)를 프로토퍼 (protomer)와 함께 왼쪽에 보여준다. 위-구조 (up-conformation)로 RBD에 결합된 두 개의 A19-46.1 Fabs를 보여준다. 국소 초점 정제 (local focused refinement) 후 RBD 및 A19-46.1의 구조가 오른쪽에 카툰 표현으로 보여준다. 중쇄 CDRs (CDR H1, CDR H2 및 CDR H3)을 보여준다. 경쇄 CDRs (CDR L1, CDR L2 및 CDR L3, 각각)도 또한 보여준다. Cryo-EM 지도의 등고선 수준은 4.0s이다. (C) A19-46.1 및 RBD 사이의 상호작용. CDR H3 및 모든 경쇄 CDRs가 RBD 결합에 관여된다 (왼쪽). A19-46.1의 에피토프가 아미노산 치환과 함께 B.1.1.529 RBD 표면에 보인다. Ser446, A484 및 R493이 Fab A19-46.1의 에피토프의 가장자리에 놓여 있다 (오른쪽). RBD 잔기는 이탈릭체로 라벨 된다. (D) A19-46.1의 RBD 에의 결합은 ACE2 수용체의 결합을 방해한다. ACE2 및 A19-46.1은 카툰 표현으로 보여준다. (E) 항체 A19-46.1 및 LY-CoV555의 RBD에의 결합 방식 비교. 두 항체가 RBD의 비슷한 부위를 타겟으로 하지만, 다른 접근 각도가 LY-CoV555 CDR H3 및 B.1.1.529 돌연변이 Arg493 사이의 충돌의 원인이 된다 (왼쪽 및 삽입). A19-46.1의 결합에 관여하는 B.1.1.529 돌연변이들은 이의 에피토프의 가장자리에만 있으며 반면에 A19-46.1 Arg493 및 A484 둘 다는 LY-CoV555 에피토프의 중간에 위치하여 있다 (오른쪽). 다른 SARS-CoV-2 변이체에서 A19-46.1 및 LY-CoV555 결합을 녹아웃시키는 (knockout) Leu452에서 Arg 돌연변이는 파란색으로 색칠되어 있다.

도 26A-26G. 클래스 III 항체의 결합, 중화, 및 B.1.1.529 VOC에 대한 잔류하는 효능 (potency)의 기능적 및 구조적 기반. (A) D614G 또는 D614G로부터의 SARS-CoV-2 스파이크 단백질 플러스 B.1.1.529 스파이크 내에서 발견된 표시된 점 돌연변이 (point mutations)로 위형화된 렌티바이러스는 표시된 항체의 연속적인 회색액과 배양시키고 및 IC₅₀ 및 IC₈₀ 값이 결정되었다. A19-61.1 및 LY-COV1404는 293T-ACE2 세포에서 에세이 된 반면에 S309 및 CoV2-2130은 293 flpin-TMPRSS2-ACE2 세포에서 검사되었다. S375F 및 G496S 바이러스는 얻을 수 없었으며 및 "검사-안됨"(not-tested, n.t.)으로서 보여준다. G496R는 구할 수 있으며 및 G496S로 치환되었다. (B) 클래스 I 항체 B1-182.1 및 클래스 III 항체 A19-61.1과 복합체로 있는 SARS-CoV-2 WA-1 스파이크의 2.83 Å 해상도에서의 Cryo-EM 구조. 전반적인 밀도 지도 (density map)를 프로토퍼(protomer)와 함께 보여준다. 두 개의 RBDs는 각각 Fabs 둘 다에 결합하면서 위-구조 (up conformation)로 있으며, 및 하나의 RBD는 A19-61.1에 결합 되어 아래 위치 (down position)로 있다. RBD, B1-182.1 및 A19-61.1를 보여준다 (왼쪽). 국소 초점 개선 (local focused refinement) 후 Fabs 둘 다가 결합된 RBD의 구조는 오른쪽에 카툰 표현으로 보여준다. RBD는 초록색 카툰으로 보이고 및 항체 경쇄를 보여준다 (중앙). A19-61.1의 에피토프는 상호작용하는 라벨 된 CDRs과 함께 RBD의 표면으로서 보인다 (오른쪽). Cryo-EM 지도의 등고선 수준은 5.2 s이다. (C) B.1.1.529의 A19-61.1에의 저항의 구조적 기반. B.1.1.529 RBD에의 A19-61.1 에피토프의 지도작성은 G446S가 A19-61.1의 CDR H3와 충돌함을 제시하였다. RBD는 막대에 돌연변이 잔기와 함께 카툰으로 보여주며, A19-61.1의 에피토프는 표면에 보

여준다. (D) CoV2-2130B의 B.1.1.529 VOC에 대한 중화의 구조적 기반. CoV2-2130의 B.1.1.529 RBD에의 도킹(정박)(docking)은 CDR L2에 있는 Y50가 S446와 약간의 충돌을 제거하였다. RBD는 막대에 돌연변이 잔기와 함께 카툰으로 보여주며, CoV2-2130의 에피토프는 표면에 보여준다. (E) S309의 B.1.1.529 VOC에 대한 중화의 구조적 기반. S309 및 B.1.1.529 RBD의 도킹 된 복합체(docked complex)는 S371L/S373P/S375F를 보여준다. 루프, 변화된 구조, 및 S371L 돌연변이는 S309 에피토프에 인접해 있으며 반면에 G339D 돌연변이는 에피토프 안에 위치해 있다. D339 측쇄는 CDR H3 Y100와 충돌한다. B.1.1.529 RBD는 막대에 돌연변이 잔기와 함께 카툰으로 보여주며, WA-1 RBD는 회색 카툰으로 보여준다. (F) LY-CoV1404의 B.1.1.529 VOC에 대한 중화의 구조적 기반. LY-CoV1404의 B.1.1.529 RBD에의 도킹은 에피토프에 4개의 아미노산 치환을 동정하였고 G446S가 CDR H2 R60과 잠재적인 충돌의 원인이 됨을 동정하였다. 그러나 LY-CoV1404-결합된 및 결합 안 된 B.1.1.529 RBD 둘 다의 비교는 S446 루프가 유연성을 가져 LY-CoV1404를 결합하도록 한다는 것을 제시한다. LY-CoV1404 에피토프에 있는 B.1.1.529 잔기는 해당하는 WA-1 잔기와 함께 보여준다. CDR H3는 카툰 표현으로 보여준다. (G) B.1.1.529 RBD에의 클래스 III 항체의 에피토프 발자국(epitope footprints)의 덮어씌움. B.1.1.529 RBD 아미노산 치환 위치를 보여준다.

도 27A-27C. 항체의 조합을 사용한 SARS-CoV-2 B.1.1.529의 강력한 중화. (A) D614G 또는 D614G로부터의 SARS-CoV-2 스파이크 단백질 플러스 B.1.1.529 스파이크 내에서 발견된 표시된 점 돌연변이(point mutations)로 위형화된 렌티바이러스는 표시된 항체의 연속적인 희석액과 배양시키고 및 IC₅₀ 및 IC₈₀ 값이 결정되었다. S375F 및 G496S 바이러스는 얻을 수 없었으며 및 "검사-안됨"(not-tested, n.t.)으로서 보여준다. G496R는 구할 수 있으며 및 G496S로 치환되었다. (B) 각 표시된 각테일(x-축) 또는 이의 구성 항체에 대한 중화 IC₅₀ (ng/mL) 값. 첫 번째 항체에 대한 IC₅₀는 mAb1으로 목록화되고, 두 번째 항체는 mAb2 또는 각테일로서 목록화된다. (C) 항체 A19-46.1 및 B-182와 복합체로 있는 B.1.1.529의 3.86 Å 해상도에서의 Cryo-EM 구조. 전반적인 밀도 지도(density map)를 프로토포머(protomer)와 함께 왼쪽에서 보여준다(왼쪽). 모든 RBDs는 Fabs 둘 다에 결합하면서 위-구조(up conformation)로 있다(중앙). 하나의 Fab(B1-182.1과 같은)의 결합은 RBD를 위-구조로 유도하고 및 단지 위-구조 RBD만을 인식하는 다른 Fab(A19-46.1)의 결합을 잠재적으로 촉진시킨다(오른쪽). A19-46.1 및 B-182.1를 각각 보여준다. Cryo-EM 지도의 등고선 수준은 6.5 s이다.

도 28A-28B. 우한 1(Wuhan 1, wt) 스파이크(S) 또는 표시된 SARS-CoV-2 변이체를 가진 위형화 렌티바이러스(pseudotyped lentiviruses)의 중화. 중화는 세포에 첨가하기 전에 다양한 희석으로 바이러스와 항체를 배양하여 결정되었다. 감염 %는 억제 농도 50(IC₅₀) 및 80(IC₈₀)의 값을 생성하기 위하여 사용되었다. 이 값은 감염을 50% 및 80%로 각각 감소하는데 요구되는 항체의 µg/mL 양을 표시한다. (A) 단일 또는 돌연변이 조합을 함유하는 변이체에 대한 중화 IC50s 및 IC80s. (B) 변이체(VOCs/VOIs)에 대한 중화 IC50s 및 IC80s.

도 29A-29C. 실시예 30의 표. (A) B1-182.1 및 A23.58.1의 수율 및 침전. (B) B1-182.1_58CDRH3 중쇄/B1-182.1 경쇄 및 B1-182 중쇄/B1-182.1 경쇄_5Mut의 수율, 농도 및 침전 성질. (C) SARS-CoV-2로부터의 표시된 스파이크 단백질로 위형화 된 렌티바이러스의 B1-182.1_58CDRH3 중쇄/B1-182.1에 의한 중화(IC50, IC80, µg/ml로).

도 30. IV 경로로 5mg/kg으로 투여된 인간 FcRn 형질전환된 생쥐에서 SARS-CoV-2 항체의 혈청 수준.

[서열 목록]

핵산 및 아미노산 서열은, 37 C.F.R. 1.822에서 정의된 대로, 뉴클레오타이드 염기의 표준 글자 약어 및 아미노산의 세 글자 코드를 사용하여 보여준다. 각 핵산 서열의 단지 한 가닥만 보여주지만, 보여주는 어느 가닥에 참조하여 보완 가닥도 포함되는 것으로 이해된다. 서열 목록은 ASCII 텍스트파일(text file)[Sequence_Listing, February 2, 2022, 67.6 KB]로서 제출되었으며, 이는 여기에 참고 문헌으로 병합된다.

서열 번호 1은 B1-182.1 V_H의 아미노산 서열이다. 서열 번호 2, 3, 및 4는 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 5는 B1-182.1 V_L의 아미노산 서열이다. 서열 번호 6, 7, 및 8은 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 9는 A19-61.1 V_H의 아미노산 서열이다. 서열 번호 10, 11 및 12는 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 13 은 A19-61.1 V_L 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 14, 15, 및 16은 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 17 은 A19-46.1 V_H 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 18, 19 및 20은 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 21 은 A19-46.1 V_L 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 22, 23, 및 24는 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 25 는 A23-58.1 V_H 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 26, 27 및 28은 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 29 는 A23-58.1 V_L 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 30, 31, 및 32는 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 33 은 A20-29.1 V_H 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 34, 35 및 36은 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 37 은 A20-29.1 V_L 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 38, 39, 및 40은 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 41 은 A23-105.1 V_H 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 42, 43 및 44는 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 45 는 A23-105.1 V_L 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 46, 47 및 48은 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 49 는 A19-1.1 V_H 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 50, 51 및 52는 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 53 은 A19-1.1 V_L 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 54, 55 및 56은 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 57 은 A19-30.1 V_H 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 58, 59 및 60은 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 61 은 A19-30.1 V_L 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 62, 63 및 64는 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 65 는 A20-36.1 V_H 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 66, 67 및 68은 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 69 는 A20-36.1 V_L 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 70, 71 및 72는 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 73 은 A23-97.1 V_H 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 74, 75 및 76은 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 77 은 A23-97.1 V_L 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 78, 79 및 80은 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 81 은 A23-113.1 V_H 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 82, 83 및 84는 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 85 는 A23-113.1 V_L 의 아미노산 서열이다. 서열 번호 86, 87 및 88은 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 89 는 A23-80.1 V_H의 아미노산 서열이다. 서열 번 90, 91 및 92는 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 93 은 A23-80.1 V_L의 아미노산 서열이다. 서열 번호 94, 95 및 96은 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 97 은 A19-82.1 V_H의 아미노산 서열이다. 서열 번호 98, 99 및 100은 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 101 은 A19-82.1 V_L의 아미노산 서열이다. 서열 번호 102, 103 및 104는 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 105 는 A20-9.1 V_H의 아미노산 서열이다. 서열 번호 106, 107 및 108은 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열 번호 109 는 A20-9.1 V_L의 아미노산 서열이다. 서열 번호 110, 111 및 112는 각각 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3의 아미노산 서열이다.

서열번호 113-140 은 V_H 또는 V_L 을 암호화하는 핵산 서열이다.

서열번호 141은 도 19A에 있는 RBD의 서열이다.

서열번호 142는 IgA를 암호화하는 핵산 분자의 한 부분의 핵산 서열이다.

서열번호 143은 B1-182.1_58.1CDRH3 중쇄/B1-182.1 경쇄의 아미노산 서열이다.

서열 번호 2, 3, 및 28 은 각각 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3의 아미노산 서열이다.

서열번호 144 는 B1-182.1_58.1 중쇄/B1-182.1 경쇄_5Mut 체인의 아미노산 서열이다.

서열 번호 6, 145, 및 146 은 CDR 서열이다.

서열 번호 147 은 IGHV1-58*01 V_H 의 아미노산 서열이고,

서열 번호 148 은 S2E12V_H의 아미노산 서열이다.

서열 번호 149 는 COVOX253 V_H의 아미노산 서열이다.

서열 번호 150 은 IGHV1-58*01 V_L의 아미노산 서열이다.

서열 번호 151 은 S2E12V_L의 아미노산 서열이다.

서열 번호 152 는 COVOX253 V_L의 아미노산 서열이다.

서열 번호 153 은 A23-58.1 의 한 부분의 아미노산 서열이다.

서열 번호 154 는 B1-182.1 의 한 부분의 아미노산 서열이다.

서열 번호 155는 CoV2-2196 의 한 부분의 아미노산 서열이다.

서열 번호 156은 S2E12 의 한 부분의 아미노산 서열이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] SARS-CoV-2와 같은 코로나바이러스의 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체가 여기에 공개된다. 어떤 실시 예에서, 이 항체들은 코로나바이러스 감염을 억제하는데, 및 생물학적 샘플에서 코로나바이러스를 검출하는데 유용하다. 이 항체들은 강력한 중화 항체이며 및 SARS-CoV-2의 스파이크 당단백질에 있는 유일한 에피톱을 타겟한다.

[0031] 전 세계적인 유전체 서열분석은 전파력을 증가시키고 및 백신-유도된 및 치료 항체의 효능을 감소시키는 SARS-CoV-2 변이체의 발생을 밝혔다 (예를 들어, Wibmer et al., *Nat. Med.* **27**, 622-625 (2021); Wang et al.,

Nature. **593**, 130-135 (2021); Muik et al., *Science*. **371**, 1152-1153 (2021); Wang et al., *Nature*. **592**, 616-622 (2021) 참조)). 추가로, P.1 바이러스의 중화는 B.1.351에 의해 감염된 개체로부터 얻은 혈청을 사용하여 달성될 수 있으며 (Moyo-Gwete et al., *N. Engl. J. Med.* **2** (2021), doi:10.1056/NEJMc2104192), 이는 RBD에 있는 공유하는 에피토프 (즉, K417N, E484K, N501Y)이 교차-반응성을 중개함을 제시한다. B.1.351 및 P.1의 교차 반응성 기전은 3 RBD 돌연변이에 초점을 둘 것 같은 반면 WA-1 및 후반의 변이체 사이에서 광범위하게 중화하는 항체 반응의 기전은 잘 확립되지 않았다. 항체가 분리되고 및, 이것에만 제한되지 않으나, 매우 전과 가능한 변이체 B.1.1.7, B.1.351, B.1.617.2 및 B.1.1.529를 포함하는, 새로 생겨난 SARS-CoV-2 변이체를 커버하는 중화 폭이 정의된 것이 여기서 공개된다. 증가하는 효능 및 폭은 E484K/Q, L452R 및 VOC에서 저항의 주요 결정 인자인 다른 돌연변이 핫 스팟 (hotspot)으로부터 상쇄되는 RBD 정점 부위에서의 결합에 의해 중개 된다.

I. 용어의 요약

달리 주목되지 않는 한, 기술적 용어는 전통적인 사용법에 따라 사용된다. 분자 생물학의 많은 공통의 용어는 크랩 등에서 찾을 수 있다 (Krebs et al. (eds.), *Lewin's genes XII*, published by Jones & Bartlett Learning, 2017). 여기서 사용된 대로, 단수 형태 "a," "an," 및 "the," 는, 문맥에서 달리 명확하게 표시하지 않는 한, 단수는 물론 복수 둘 다를 의미한다. 예를 들어, "한 항원 (an antigen)" 이라는 용어는 단일 및 복수 항원을 포함하고 및 "적어도 하나의 항원 (at least one antigen)" 이라는 구절과 동등하다고 간주 된다. 여기서 사용된 대로, "포함하다(comprises)" 는 용어는 "포함하다(includes)" 를 의미한다. 핵산 또는 폴리펩티드에 주어지, 어떤 또는 모든 염기 크기 또는 아미노산 크기, 및 모든 분자량 또는 분자 질량 값은, 달리 표시되지 않는 한, 대략적이며, 및 서술 목적으로만 제공된다는 것이 추가로 이해된다. 여기서 서술된 것과 비슷하거나 또는 동등한 방법 및 재료가 사용될 수 있다고 하더라도, 특별한 적절한 방법 및 재료가 여기서 서술된다. 분쟁이 있을 경우에, 용어의 설명을 포함하는 현재의 명세서가 조절할 것이다. 추가로, 재료, 방법, 및 예시들은 실례를 보여주기 위한 뿐이며 및 제한하려는 의도는 아니다. 다양한 실시 예의 리비유를 촉진하기 위하여, 하기의 용어 설명이 제공된다:

약 (about): 문맥에서 달리 제시되지 않는 한, "약(about)"은 참조 값의 플러스 또는 마이너스 5%를 의미한다. 예를 들어, "약(about)" 100은 95 내지 105를 의미한다.

투여 (Administration): 공개되는 항체와 같은, 제제를 선택된 경로로 개체에게 도입하는 것. 투여는 국소적 또는 전신적일 수 있다. 예를 들어, 만약 선택된 경로가 정맥 내로 이면, 제제 (항체와 같은)는 개체의 혈관으로 조성물의 도입에 의해 투여된다. 투여의 예시적인 경로는, 이것에만 국한하지 않으나, 구강, 주사 ((피하 (subcutaneous), 근육 내 (intramuscular), 피부 내 (intradermal), 복강 내 (intraperitoneal), 및 정맥 내 (intravenous)와 같은)), 설하 (sublingual), 직장 (rectal), 피부 경유 (transdermal) (예를 들어, 국소적), 비강 내 (intranasal), 질 내 (vaginal), 및 흡입 (inhalation) 경로가 포함 된다.

아미노산 치환 (Amino acid substitution): 폴리펩티드에 있는 아미노산을 다른 아미노산으로 대체하는 것,

항체 및 항원 결합 단편: SARS-CoV-2로부터의 스파이크 단백질과 같은, 코로나 바이러스 스파이크 단백질과 같은 피분석물 (항원)에 특이적으로 결합하고 및 인식하는, 면역글로블린, 항원-결합 단편, 또는 이의 유도체. "항체 (antibody)" 라는 용어는 여기서는 가장 광범위한 의미에서 사용되며 및, 이것에만 국한하지 않으나, 이들이 바람직한 항원-결합 활성을 보이는 한, 단일클론 항체, 폴리클론 항체, 다가 특이 항체 (예를 들어, 2가 특이 항체), 및 항원 결합 단편을 포함하는, 다양한 항체 구조를 포함한다.

항체의 비 제한적인 예시에는, 예를 들어, 온전한 면역글로블린 및 변이체 및 항원에 대한 결합 친화력을 유지하고 있는 이의 단편 포함한다. 항원 결합 단편의 예시에는 이것에만 국한하지 않으나, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아비디(diabodies); 선상 항체(linear antibodies); 단일-체인 항체분자(single-chain antibody molecules) (예를 들어, scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다가 특이 항체(multispecific antibodies)를 포함한다. 항체 단편에는 전체 항체의 수정에 의해 생산되거나 또는 재조합 DNA 기술을 사용하여 새로이 합성된 항원 결합 단편을 포함한다 (예를 들어, Kontermann and Dübél (Eds.), *Antibody Engineering*, Vols. 1-2, 2nd ed., Springer-Verlag, 2010 참조).

항체는 키메라 항체(인간화된 쥐 항체와 같은)와 같은 유전적으로 조작된 (genetically engineered) 형태 및 이중 접합 된 항체 (heteroconjugate antibodies) (2중특이적인 항체와 같은)도 또한 포함한다.

항체는 하나 또는 그 이상의 결합 부위를 가질 수 있다. 만약 하나 이상의 결합 부위가 있으면, 결합 부위는 서

로 동등하거나 또는 다를 수 있다. 예를 들어, 자연적으로-존재하는 면역글로블린은 두 개의 동등한 결합 부위를 가지며, 단일-체인 항체 또는 Fab 단편은 하나의 결합 부위를 가지며, 반면에 이중특이적인 또는 두 기능적인 항체는 두 개의 다른 결합 부위를 갖는다.

[0041] 전형적으로, 자연적으로-존재하는 면역글로블린은 이 황화 결합으로 서로 연결된 중쇄 (H) 및 경쇄 (L) 를 가진다. 면역글로블린 유전자는 카파(kappa), 람다(lambda), 알파(alpha), 감마(gamma), 델타(delta), 입실론(epsilon) 및 뮤(mu) 고정 부위 유전자를 포함하는 물론, 무수히 많은 면역글로블린 가변 도메인 유전자도 포함한다. 두 타입의 경쇄, 람다 (lambda, λ) 및 카파 (kappa, κ)가 있다. 항체 분자의 기능적 활성을 결정하는 5 개의 주 중쇄 클래스 (또는 아이소타입) 가 있다: IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE.

[0042] 각 중쇄 및 경쇄는 고정 부위 (constant region) (또는 고정 도메인) 및 가변 부위 (variable region) (또는 가변 도메인)를 함유한다. 조합하여, 중쇄 및 경쇄 가변 부위는 항원에 특이적으로 결합한다.

[0043] " V_H " 또는 " VH "에 참조는, Fv, scFv, dsFv 또는 Fab와 같은, 항원 결합 단편의 그것을 포함하는, 항체 중쇄의 가변 부위를 의미한다. " V_L " 또는 " VL "에 참조는, Fv, scFv, dsFv 또는 Fab의 그것을 포함하는, 항체 경쇄의 가변 도메인을 의미한다.

[0044] V_H 및 V_L 는 "보완성 결정부위 (complementarity-determining regions)" 또는 "CDRs"라고도 또한 불리는 세 개의 고도 가변 부위 (hypervariable regions) 에 의해 중단된 "프레임워크(backend)" 부위를 함유한다. (예를 들어, Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th ed., NIH Publication No. 91-3242, Public Health Service, National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, 1991 참조). 다른 경쇄 또는 중쇄의 프레임워크 부위의 서열은 종(species) 내에서는 상대적으로 보존되어 있다. 구성 경쇄 및 중쇄의 혼합된 프레임워크 부위인, 항체의 프레임워크 부위는 CDRs 을 3차원 공간에 자리잡게 하고 및 정렬하도록 한다.

[0045] CDRs는 항원의 에피토프에 결합하는데 주로 책임이 있다. 주어진 CDRs의 아미노산 서열 경계는, 카벳 등(Kabat *et al.*) (*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th ed., NIH Publication No. 91-3242, Public Health Service, National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, 1991; "Kabat" numbering scheme), 알-라지카니 등(Al-Lazikani *et al.*), ("Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins," *J. Mol. Bio.*, 273(4):927-948, 1997; "Chothia" numbering scheme), 및 레프란 등(Lefranc *et al.*) ("IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," *Dev. Comp. Immunol.*, 27(1):55-77, 2003; "IMGT" numbering scheme) 에 의해 서술된 그런 것을 포함하는, 많은 잘-알려진 계획 어느 것을 사용하여 쉽게 결정될 수 있다. 각 체인의 CDRs 는 전형적으로 CDR1, CDR2, 및 CDR3 (N-말단에서부터 C-말단으로) 으로서 언급되고, 및 특정한 CDR이 위치해 있는 체인에 의해 전형적으로 또한 동정된다. 그러므로, V_H CDR3은 이것이 발견된 항체의 V_H 로부터의 CDR3이고, 반면에 V_L CDR1 은 이것이 발견된 항체의 V_L 로부터의 CDR1이다. 경쇄 CDRs는 때로는 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3로서 언급된다. 중쇄 CDRs는 때로는 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3로서 언급된다.

[0046] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 이중 고정 도메인 (heterologous constant domain) 을 포함한다. 예를 들어, 항체는 반감기를 증가시키기 위하여 하나 또는 그 이상의 수정 (" LS " 돌연변이와 같은)을 포함하는 고정 도메인과 같은, 자연적인 고정 도메인과는 다른 고정 도메인을 포함한다.

[0047] "단일클론 항체 (monoclonal antibody)" 는 상당히 균질한 항체 집단으로부터 얻은 항체이다, 즉, 집단에 포함되는 각 항체들은 동등하고 및/또는, 예를 들어, 자연적으로 일어나는 돌연변이를 함유하거나 또는 단일클론 항체 생산하는 동안에 일어나는 가능한 변이체 항체를 제외하고, 같은 에피토프에 결합하고, 그러한 변이체는 일반적으로 최소의 양으로 존재한다. 전형적으로 다른 결정인자 (에피토프) 에 대항하여 겨냥한 다른 항체를 포함하고 있는, 폴리클로날 항체 제조와는 반대로, 각 단일 클론 항체 제조의 단일 클론 항체는 항원의 단일 결정인자에 대항하여 겨냥한다. 그러므로, 수식어 "모노클로날 (monoclonal)"은 항체의 성질이 상당히 균질한 집단의 항체로부터 얻어졌다는 것을 제시하며, 및 어느 특정한 방법에 의한 항체 생산을 필요로 한다고 해석되어서는 안 된다. 예를 들어, 단일 클론 항체는, 이것에만 제한되지 않지만, 하이브리도마 방법(hybridoma method), 재조합 DNA 방법 (recombinant DNA methods), 파지-디스플레이방법(phage-display methods), 및 인간 면역글로블린 부위 모두 또는 일부를 함유하는 형질전환 동물을 사용하는 방법을 포함하는 다양한 기술에 의해 만들어질 수 있으며, 그러한 방법 및 단일클론 항체를 만드는 다른 예시적인 방법이 여기 서술된다. 어떤 예시에서 단일 클론

항체는 개체로부터 분리된다. 단일클론 항체는 항원 결합 또는 다른 면역글로블린 기능에는 상당히 효과가 없는 보존적인 아미노산 치환을 가질 수 있다 (예를 들어, Greenfield (Ed.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2014 참조)

[0048] "인간화 (humanized)" 항체 또는 항원 결합 단편에는 인간 프레임워크 부위 및 비-인간 (생쥐, 쥐, 또는 합성과 같은) 항체 또는 항원 결합 단편으로부터 하나 또는 그 이상의 CDRs를 포함한다. CDRs를 제공하는 비-인간 항체 또는 항원 결합 단편은 "공여자 (donor)"라는 용어이고, 및 프레임워크를 제공하는 인간 항체 또는 항원 결합 단편은 "수용자 (acceptor)"라는 용어다. 한 실시 예에서, 모든 CDRs는 인간화된 면역글로블린의 공여자 면역글로블린으로부터이다. 고정 부위 (constant region)는 존재할 필요는 없으나, 그러나 만약 존재하면, 이들은 적어도 약 85-90%와 같은, 95% 또는 그 이상 동일한 것과 같은, 인간 면역글로블린 고정 부위와 상당히 동일할 수 있다. 그러므로, 인간화된 항체 또는 항원 결합 단편의 모든 부분은, 가능한 CDRs를 제외하고, 자연적인 인간 항체 서열의 해당하는 부분과 상당히 동일하다.

[0049] "키메라 항체 (chimeric antibody)"는, 전형적으로 다른 종의, 두 개의 다른 항체로부터 유래한 서열을 포함하는 항체이다. 어떤 예시에서, 키메라 항체는 하나 또는 그 이상의 CDRs 및/또는 한 인간 항체로부터의 프레임워크 부위 및 CDRs 및/또는 다른 인간 항체로부터의 프레임워크 부위를 포함한다.

[0050] "전적으로 인간 항체 (fully human antibody) 또는 "인간 항체 (human antibody)"는 인간 유전체로부터의 (또는 유래한) 서열을 포함하고, 및 다른 종으로부터의 서열을 포함하지 않는 항체이다. 어떤 실시 예에서, 인간 항체는 인간 유전체로부터의 (또는 유래한) CDRs, 프레임워크 부위 (framework regions) 및 (만약 존재한다면) Fc 부위를 포함한다. 인간 항체는 인간 유전체로부터 유래한 서열에 기반하여 항체를 창조하는 기술을 사용하여, 예를 들어, 파지 디스플레이 (phage display)에 의해 또는 형질전환 동물을 사용하여, 동정 되고 및 분리될 수 있다 (예를 들어, Barbas et al. *Phage display: A Laboratory Manual*. 1st Ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2004. Print.; Lonberg, Nat. Biotech., 23: 1117-1125, 2005; Lonenberg, Curr. Opin. Immunol., 20:450-459, 2008 참조).

[0051] **SARS-CoV-2를 중화하는 항체 또는 항원 결합 단편:** SARS-CoV-2와 연관된 생물학적 기능을 억제하는 방식으로 감염을 억제하는 SARS-CoV-2 항원 (스파이크 단백질과 같은)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원결합 단편. 이 항체는 SARS-CoV-2의 활성을 중화할 수 있다. 예를 들어, SARS-CoV-2를 중화하는 항체 또는 항원결합 단편은 직접적으로 바이러스에 결합하고 및 세포 내로의 바이러스 유입을 제한하여 바이러스를 방해할 수 있다. 다른 한편으로, 항체는 예를 들어, 수용체를 사용하는 바이러스의 유입을 방해하여, 병원균의 수용체와의 부착-후 상호작용 하나 또는 그 이상을 방해할 수 있다. 어떤 예시에서, 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적인 항체는 SARS-CoV-2의 감염 타이터 (infectious titer)를 중화한다.

[0052] 어떤 실시 예에서, SARS-CoV-2에 특이적으로 결합하고 및 SARS-CoV-2를 중화하는 항체 또는 항원결합 단편은 대조군 항체 또는 항원 결합 단편에 비교하여 세포의 감염을, 예를 들어, 적어도 50% 억제한다.

[0053] "널리 중화하는 항체 (broadly neutralizing antibody)"는, 항원의 항원성 표면을 적어도 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 상동성을 공유하는 항원과 같은, 연관되는 항원에 결합하고 및 기능을 억제하는 항체이다. 바이러스와 같은, 병원균으로부터의 항원에 관하여, 항체는 병원균의 하나 이상이 클래스 및/또는 서브클래스로부터의 항원에 결합하고 및 기능을 억제할 수 있다. 예를 들어, 코로나바이러스에 관하여, 항체는 SARS-CoV-2를 포함하는 코로나바이러스로부터의 스파이크 단백질과 같은, 항원에 결합하고 및 기능을 억제할 수 있다.

[0054] **생물학적 샘플:** 개체로부터 얻은 샘플. 생물학적 샘플에는, 이것에만 국한하지 않으나, 세포, 조직, 및 혈액, 혈액 유래물 및 분획, (혈청과 같은), 뇌척수액과 같은, 신체적 액체(bodily fluids); 는 물론 바이옵시(biopsied) 또는 외과적으로 제거된 조직, 예를 들어, 고정되지 않은, 동결된 또는 포르말린 (formalin) 또는 파라핀 (paraffin)에 고정된 조직을 포함하는, 개체에서 질환 또는 감염을 검출하는데 유용한 모든 임상적 샘플을 포함한다. 특정한 예시에서, 생물학적 샘플은 SARS-CoV-2 감염을 가지거나 또는 가진 것으로 의심되는 개체로부터 얻어진다.

[0055] **이중특이 항체:** 두 개의 다른 항원 결합 도메인을 포함하는 재조합 분자이고 따라서 두 개의 다른 항원성 에피토프에 결합한다. 이중특이 항체에는 두 개의 다른 항원성 에피토프가 화학적으로 또는 유전적으로 연결된 분자를 포함한다. 항원 결합 도메인은 링커를 사용하여 연결될 수 있다. 항원 결합 도메인은 단일클론 항체, 항원-결합 단편(예를 들어, Fab, scFv), 또는 이의 조합일 수 있다. 이중특이 항체는 하나 또는 그 이상의 고정 도메인을

포함할 수 있으나, 그러나 고정 도메인을 필수적으로 포함하지는 않는다.

- [0056] **면역 복합체를 형성하기에 충분한 조건 (conditions sufficient to form an immune complex):** 항체 또는 항원 결합 단편이 다른 모든 에피톱에 상당히 결합하는 것보다 검출될 만하게 더 큰 정도로, 및/또는 이를 상당히 배제할 정도로 이의 동계의 에피톱에 결합하게 하는 조건. 면역 복합체를 형성하기에 충분한 조건은 결합 반응의 형식에 의존되며 및 전형적으로 면역에세이 프로토콜에서 사용되는 그런 것 또는 생체 내에서 마주치는 그런 조건이다. 면역에세이 형식 및 조건의 서술에는 그린 필드 (Greenfield (Ed.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2014) 참조. 이 방법에서 적용되는 조건은 살아있는 포유류 또는 포유류 세포 내에 있는 전형적인 조건에 (예를 들어, 온도, 삼투압, pH) 참조를 포함하는 "생리적 조건 (physiological conditions)" 이다. 어떤 기관은 극도의 조건에 있게 된다고 인식되지만, 기관 내 (intra-organismal) 및 세포 내 (intracellular) 환경은 정상적으로 대략 pH 7 (예를 들어, pH 6.0 내지 pH 8.0, 좀 더 전형적으로 pH 6.5 내지 pH 7.5)에 놓여 있으며, 주요 용매로서 물을 함유하고, 및 0° C 이상 및 50° C 이상의 온도에서 존재한다. 삼투압은 세포 생존력 및 증식을 지원하는 범위 내에 있다.
- [0057] 면역 복합체의 형성은 전통적인 방법, 예를 들어, 면역조직화학 (immunohistochemistry, IHC), 면역 침강 (immunoprecipitation, IP), 유동 세포분석(flow cytometry), 면역 형광 현미경법 (immunofluorescence microscopy), ELISA, 면역블롯팅(immunoblotting)((예를 들어, 웨스턴 블롯(Western blot)), 자기공명 이미징 (magnetic resonance imaging, MRI), 컴퓨터 단층 (CT) 촬영 ((computed tomography (CT) scans)), 방사선 촬영(radiography), 및 친화력크로마토그래피 (affinity chromatography) 를 통해 검출될 수 있다.
- [0058] **접합체 (conjugate):** 두 분자의 복합체는 서로 연결되어 있다, 예를 들어, 공유결합으로 서로 연결되었다. 한 실시 예에서, 항체는 주효 분자 (effector molecule) 에 연결된다; 예를 들어, SARS-CoV-2에 특이적으로 결합하는 항체는, 검출 가능한 라벨과 같은, 주효 분자에 공유적으로 결합 된다. 연결은 화학적 또는 재조합 방식에 의할 수 있다. 한 실시 예에서, 연결은 화학적이고, 여기서 항체 잔기 및 주효 분자 사이의 반응은 한 분자를 형성하기 위하여 두 분자 사이에 형성된 공유결합을 생산한다. 펩티드 링커 (peptide linker) (짧은 펩티드 서열) 가 항체 및 주효 세포 사이에서 선택적으로 포함될 수 있다. 접합체는, 항체 및 주효 분자와 같은 분리된 기능성을 가진 두 분자로부터 제조될 수 있기 때문에, 이들은 때로는 "키메라 분자 (chimeric molecules)"로서 도 또한 언급 된다.
- [0059] **보존성 변이체 (conservative variants):** "Conservative (보존적)" 아미노산 치환은, 타겟 단백질과 상호작용하는 단백질의 능력과 같은, 단백질의 기능에 상당한 영향을 주거나 또는 기능을 상당히 감소시키지 않는 그러한 치환이다. 예를 들어, SARS-CoV-2-특이적인 항체는 참조 항체 서열에 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 개까지 또는 10개까지 보존적 치환을 포함할 수 있으며 및 스파이크 단백질 결합의 결합 활성, 및/또는 SARS-CoV-2 중화 활성을 유지한다. 보존적 변이라는 용어는 치환되지 않은 모체 아미노산 대신 치환된 아미노산의 사용을 또한 포함한다.
- [0060] 암호화하는 서열에서 단일 아미노산 또는 작은 퍼센트의 아미노산 (예를 들어 5% 미만, 어떤 실시 예에서는 1% 미만) 을 변경, 삽입 또는 삭제하는 개별적인 치환, 삭제 또는 삽입은 보존적인 변이이며 여기서 이 변경은 아미노산을 화학적으로 비슷한 아미노산 으로 치환하는 결과가 된다.
- [0061] 다음의 6그룹이 서로 보존적인 치환으로 간주 되는 아미노산의 예시이다:
- [0062] 1) 알라닌(Alanin) (A), 세린(Serine) (S), 트레오닌(Threonine) (T);
- [0063] 2) 아스파르트릭 에시드(Aspartic acid) (D), 글루탐릭 에시드(Glutamic acid) (E);
- [0064] 3) 아스파라긴(Asparagine) (N), 글루타민(Glutamine) (Q);
- [0065] 4) 아르기닌(Arginine) (R), 라이신(Lysine) (K);
- [0066] 5)아이소루이신(Isoleucine) (I), 루이신(Leucine) (L), 메티오닌(Methionine) (M), 발린(Valine) (V); 및
- [0067] 6)페닐알라닌(Phenylalanine) (F), 타이로신(Tyrosine) (Y), 트립토판(Tryptophan) (W).
- [0068] 비-보존적인 치환은, 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 능력과 같은, 항체의 활성 또는 기능을 감소하는 그러한 것이다. 예를 들어, 만약 아미노산 잔기가 단백질의 기능에 필수적이면, 달리 보존적인 치환이라도 활성을 방해할 수 있다. 그러므로, 보존적인 치환은 관심 있는 단백질의 기본 기능을 변경하지 않는다.

- [0069] **접촉하는 (Contacting):** 직접적인 물리적 연관에 놓이게 하는 것; 고체 및 액체 형태를 포함하고, 이는 생체 내나 또는 시험관에서 일어날 수 있다. 접촉하는 것에는 한 분자 및 다른 분자 사이에 접촉을 포함한다, 예를 들어, 항원과 같은, 한 폴리펩티드의 표면에 아미노산이, 항체와 같은, 다른 폴리펩티드와 접촉한다. 접촉하는 것에는 예를 들어 항체를 세포와 직접 물리적인 연관관계에 놓이게 하여 세포에 접촉하게 하는 것을 또한 포함할 수 있다.
- [0070] **대조군 (Control):** 참조 표준. 어떤 실시 예에서, 대조군은 코로나바이러스에 감염되지 않은 건강한 환자로부터 얻은 샘플과 같은, 음성 대조군이다. 다른 실시 예에서, 대조군은, 코로나바이러스 감염으로 진단된 환자로부터 얻은 조직 샘플과 같은, 양성 대조군이다. 아직 다른 실시 예에서, 대조군은 역사적 대조군 또는 표준 참조 값 또는 값의 범위 (이전에 검사된 대조군 샘플과 같은, 알려진 예후 또는 결과를 가진 환자 그룹과 같은, 또는 기본 라인 또는 정상값을 대표하는 샘플의 그룹과 같은) 이다.
- [0071] 검사 샘플과 대조군 사이에 차이는 증가 할 수 있거나 또는 반대로 감소할 수 있다. 차이는 정성적 차이 또는 정량적 차이, 예를 들어 통계학적으로 유의성이 있는 차이일 수 있다. 어떤 예시에서, 차이는, 대조군에 상대적으로, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 적어도 약 300%, 적어도 약 350%, 적어도 약 400%, 적어도 약 500%와 같이, 적어도 5% 증가 또는 감소 된다.
- [0072] **코로나바이러스 (Coronavirus):** 중증 호흡기 질환을 일으키는 것으로 알려진 양성-센스, 단일-가닥 RNA 바이러스 계열. 코로나바이러스 계열로부터 인간을 감염하는 것으로 현재 알려진 바이러스는 알파코로나바이러스 (alphacoronavirus) 및 베타코로나바이러스 (betacoronavirus) 속 (genera) 으로부터 이다. 추가로, 감마 코로나바이러스 (gammacoronavirus) 및 델타 코로나바이러스 (deltacoronavirus) 속도 미래에는 인간을 감염시킬 수 있다고 믿어진다.
- [0073] 비-제한적인 베타 코로나바이러스의 예시에는 SARS-CoV-2, 중등 호흡기 증후군 코로나바이러스(Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV), 중증 급성호흡기 증후군 코로나바이러스 (Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus, SARS-CoV), 인간 코로나바이러스 HKU1 (Human coronavirus HKU1, HKU1-CoV), 인간 코로나바이러스 OC43 (Human coronavirus OC43, OC43-CoV), 쥐 간염 바이러스(Murine Hepatitis Virus, MHV-CoV), 박쥐 SARS- 유사 코로나바이러스 WIV1 (Bat SARS-like coronavirus WIV1, WIV1-CoV), 및 인간 코로나바이러스 HKU9 (Human coronavirus HKU9, HKU9-CoV) 가 포함된다. 비-제한적인 알파 코로나바이러스의 예시에는 인간 코로나바이러스 229E (human coronavirus 229E, 229E-CoV), 인간 코로나바이러스 NL63 (human coronavirus NL63, NL63-CoV), 돼지유행성 설사 바이러스(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV), 및 전염성 위장염 코로나바이러스(Transmissible gastroenteritis coronavirus, TGEV)가 포함된다. 비-제한적인 델타 코로나바이러스의 예시는 돼지 델타 코로나바이러스 (Swine Delta Coronavirus, SDCV)이다.
- [0074] 바이러스 유전체는 캡이 있고(capped), 폴리아데닐레이트되어 있고 (polyadenylated), 및 뉴클레오캡시드 (nucleocapsid) 단백질로 덮여 있다. 코로나바이러스 비리온(virion) 은 스파이크 (spike) (S) 단백질이라고 불리는 타입 I 융합 당단백질을 함유하는 바이러스 외피를 포함한다. 대부분의 코로나바이러스는 레플리카제 (replicase) 유전자를 가진 보통의 유전체 구조 (genome organization) 를 가진다.
- [0075] **디제너레이트 변이체 (Degenerate variant):** 본 공개의 문맥에서, "디제너레이트 변이체(degenerate variant)" 는 유전자 암호의 결과로서 디제너레이트된 (degenerate) 서열은 포함하는 폴리펩티드 (항체 중쇄 및 경쇄와 같은) 를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 (polynucleotide) 를 의미한다. 20개의 자연 아미노산이 있으며, 이의 대부분은 하나 이상의 코돈에 의해 지정된다. 그러므로, 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되는 펩티드의 아미노산 서열이 변경되지 않는 한 한 펩티드를 암호화하는 모든 디제너레이트 뉴클레오타이드 서열이 포함된다.
- [0076] **검출 가능한 마커 (Detectable marker):** 두 번째 분자의 검출을 촉진하기 위하여, 항체와 같은, 두 번째 분자에 직접적으로 또는 간접적으로 접합 되는 검출가능한 분자 (라벨로서도 또한 알려졌다). 예를 들어, 검출 가능한 마커는 ELISA, 분광 광도법(spectrophotometry), 유동 세포분석(flow cytometry), 현미경법(microscopy) 또는 진단적 이미징 기술(diagnostic imaging techniques) ((CT 촬영(CT scans), MRIs, 초음파(ultrasound), 광섬유 검사(fiberoptic examination), 및 복강경 검사 (laparoscopic examination)와 같은))에 의해 검출될 수 있는 능력이 있다. 검출 가능한 마커의 특이적인, 비-제한적인 예시에는 형광단 (fluorophores), 화학발광 제제 (chemiluminescent agents), 효소적 연결(enzymatic linkages), 방사성 활성 동위원소 (radioactive isotopes) 및 중금속(heavy metals) 또는 화합물(compounds) ((예를 들어MRI에 의한 검출을 위해 초 상자성 산화철 나노크리스탈 (super paramagnetic iron oxide nanocrystals for detection by MRI))이 포함된다. 다양한 목적을 위

해 적절한 검출 가능한 마커의 선택에서 검출 가능한 마커를 사용하는 방법 및 안내는 예를 들어 그린 및 샘브르크 (Green and Sambrook) (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 4th ed., New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012) 및 어수벨 등 ((Ausubel *et al.* (Eds.)) (*Current Protocols in Molecular Biology*, New York: John Wiley and Sons, including supplements, 2017) 에서 논의된다.

[0077] **검출하는 (Detecting):** 존재 (existence), 있음 (presence), 또는 어느것의 사실 (fact) 을 동정하는 것.

[0078] **이중 가변 도메인 면역글로블린 (Dual variable domain immunoglobulin):** 두 개의 중쇄 가변 도메인 및 두 개의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 이중-특이 항체. IgG와는 달리, 그러나, DVD-면역글로블린 분자의 중쇄 및 경쇄 둘 다는 존재하는 단일클론 항체 (monoclonal antibody) (mAb) 의 VH 및 VL의 N-말단에 링커 서열을 통해 연결된 추가의 가변 도메인 (variable domain, VD)을 함유한다. 그러므로, 중쇄 및 경쇄가 조합되었을 때, 결과로 얻어진 DVD-면역글로블린 분자는 4개의 항원 인식 부위를 함유한다, 여기 참고문헌으로 병합된, 자코브 등 (Jakob *et al.*, *Mabs* 5: 358-363, 2013) 참조, 계획도 및 공간-채움 도표 (space-filling diagrams)를 위해 자코브 등의 도 1 참조. DVD-Ig제 분자는 각 DFab에 두 개의 다른 항원에 동시에 결합하는 기능을 한다.

[0079] **주효량 (Effective amount):** 물질이 투여되는 개체에서 바람직한 효과를 달성하기에 충분한 특정 물질의 양. 예를 들어, 이는 SARS-CoV-2 감염과 같은, 코로나바이러스 감염을 억제하거나, 또는 그러한 감염의 외형 증상을 측정할만하게 변화시키는데 필요한 양이 될 수 있다.

[0080] 한 예시에서, 바람직한 반응은 SARS-CoV-2 감염을 억제 또는 감소 또는 예방하는 것이다. 이 방법이 효과적이기 위하여 SARS-CoV-2 감염이 완전히 제거되거나 또는 감소 되거나 또는 예방될 필요는 없다.

[0081] 어떤 실시 예에서, 코로나바이러스 스파이크 단백질에 결합하는 공개되는 항체 또는 항원 결합 단편의 주효량의 투여는, 적절한 대조군에 비교하여, SARS-CoV-2 감염을 바람직한 양으로, 예를 들어, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98, 적어도 100%까지도(검출가능한 감염의 제거 또는 예방) 감소 또는 억제 시킬 수 있다 (예를 들어, 세포의 감염으로, 코로나바이러스에 의해 감염된 개체의 수 또는 퍼센트로 또는 감염된 개체의 생존시간의 증가로, 또는 감염과 연관된 증상의 감소로 측정된 대로).

[0082] 감염을 억제하기 위하여 개체에게 투여되는 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편의 주효량은, 개체와 연관된 여러 인자, 예를 들어, 개체의 전반적인 건강 및/또는 체중에 따라 다양할 수 있다. 주효량은 용량을 다양하게 하고 및 예를 들어, 병원균 타이터 (pathogen titer) 의 감소와 같은, 결과로 얻어지는 반응을 측정하여 결정될 수 있다. 주효량은 다양한 시험관 내, 생체 내 또는 원위치 (*in situ*) 면역에세이또한 결정될 수 있다.

[0083] 주효량은 효과적인 반응에 도달하기 위하여 이전의 또는 이후의 투여와 조합으로 기여하는 부분적인 용량 (fractional dose)을 포함한다. 예를 들어, 제제의 주효량은 단일 용량으로, 또는 며칠 또는 몇 주 지속되는 치료 코스 동안 몇 개의 용량으로, 예를 들어, 매일 투여될 수 있다. 그러나, 주효량은 치료될 개체, 치료될 컨디션의 심각도 및 타입, 및 투여 방식에 따를 수 있다. 제제의 유닛 용량 형태는 주효량의 한 양으로, 또는 다수로, 예를 들어 바이알에 (예를 들어 구멍을 뚫을 수 있는 뚜껑을 가진), 또는 멸균된 성분이 있는 주사기에 포장될 수 있다.

[0084] **주효 분자 (Effector molecule):** 바람직한 효과; 예를 들어, 주효 분자가 타겟하는 세포에 바람직한 효과, 를 가지거나 또는 생산하려는 분자, 또는 검출 가능한 마커. 주효 분자는, 예를 들어, 폴리펩티드 및 작은 분자를 포함할 수 있다. 어떤 주효 분자는 하나 이상의 바람직한 효과를 가지거나 또는 생산할 수 있다.

[0085] **에피토프 (Epitope):** 항원성 결정인자. 이들은 특정한 면역 반응을 일으키는 것과 같은, 항원성이 있는 분자의 특정한 화학적 그룹 또는 펩티드 서열이며, 예를 들어, 에피토프는 B 및/또는 T 세포가 반응하는 항원의 부분이다. 항체는, 코로나바이러스 스파이크 단백질의 에피토프와 같은, 특정한 항원성 에피토프에 결합할 수 있다.

[0086] **발현 조절 서열 (Expression Control Sequences):** 작동적으로 연결되어 있는 이중 핵산 서열의 발현을 조절하는 핵산 서열. 발현조절 서열이 핵산 서열을 전사 및, 적절하게, 번역을 조정하고 및 조절할 때, 발현 조절 서열은 핵산 서열에 작동적으로 연결되어 있다. 그러므로, 발현조절 서열은 적절한 프로모터(promoters), 강화제 (enhancers), 전사 종결제(transcriptional terminators), 단백질-암호화하는 유전자 앞에 시작 코돈(start codon) (ATG), 인트론 (introns)을 위한 분열 신호 (splice signals), mRNA의 적절한 번역을 허락하는 그 유전자의 올바른 리딩 프레임 (reading frame) 유지, 및 종결 코돈 (stop codons)을 포함할 수 있다. "조절 서열

(control sequences)" 이라는 용어는, 최소로, 이의 존재가 발현에 영향을 줄 수 있는 성분을 포함하려는 의도이며, 및 또한 이의 존재가 유리한 추가의 성분, 예를 들어, 리더 서열 (leader sequences) 및 융합 파트너 서열 (fusion partner sequences) 을, 포함할 수 있다. 발현조절 서열은 프로모터를 포함할 수 있다.

[0087] **발현 벡터 (Expression vector):** 발현될 뉴클레오타이드 서열에 작동적으로 연결된 발현 조절 서열을 포함하는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터. 발현 벡터는 발현을 위한 충분한 cis-로 작용하는 요소 (cis-acting elements) 를 포함하고; 발현을 위한 다른 요소는 숙주 세포에 의해 또는 시험관 내 발현 시스템에서 제공될 수 있다. 발현 벡터의 비-제한적인 예시에는 코스미드(cosmids), 플라스미드(plasmids) ((예를 들어, 그 자체로 (naked) 또는 리포솜 (liposomes) 에 함유되어)) 및 재조합 폴리뉴클레오타이드가 병합된 바이러스 (viruses) ((예를 들어, 렌티바이러스 (lentiviruses), 레트로바이러스(retroviruses), 아데노바이러스 (adenoviruses), 및 아데노-연관된 바이러스 (adeno-associated viruses)) 가 포함된다.

[0088] 폴리뉴클레오타이드는 숙주에 삽입된 유전적 서열의 효과적인 전사를 촉진하는 프로모터 서열을 함유하는 발현 벡터에 삽입될 수 있다. 발현 벡터는 전형적으로 복제 기원 점, 프로모터는 물론 형질전환된 세포에서 표현형 선택을 하도록 하는 특정한 핵산 서열을 함유한다.

[0089] **Fc 부위 (Fc region):** 첫 번째 중쇄 고정 도메인을 제외한 항체의 고정 부위. Fc 부위는 일반적으로 IgA, IgD, 및 IgG의 마지막 두 개의 중쇄 고정 도메인, 및 IgE 및 IgM의 마지막 세 개의 중쇄 고정 도메인을 의미한다. Fc 부위는 또한 이 도메인들의 유연한 힌지 N-말단의 일부 또는 모두를 포함할 수 있다. IgA 및 IgM에서, Fc 부위는 추가부위 (tailpiece)를 포함하거나 또는 포함하지 않을 수 있고, 및 J 체인에 의해 결합 되거나 또는 결합 되지 않을 수 있다. IgG에서, Fc 부위는 면역글로블린 도메인 C γ 2 및 C γ 3 및 선택적으로 C γ 1 및 C γ 2 사이의 힌지의 더 낮은 부분을 포함하는 것으로 전형적으로 이해된다. Fc 부위의 경계는 다양할 수 있더라도, 인간 IgG 중쇄 Fc 부위는 C226 또는 P230 이후 잔기에서 Fc 카복시-말단 까지 포함하는 것으로 보통 정의되고, 여기서 번호매김은 EU 번호매김 시스템에 따른다. 잔기는 카뎀 위치(Kabat position)에 의해 동정 될 수 있다. IgA에서는, Fc 부위는 면역글로블린 도메인 Ca2 및 Ca3 및 선택적으로 Ca1 및 Ca2 사이의 힌지의 더 낮은 부분을 포함한다.

[0090] **이종적인 (Heterologous):** 다른 유전적 소스로부터 기원한. 발현되는 세포보다 다른 유전적 소스로부터 기원한 세포에 이종적인 핵산 분자. 한 특정한, 비-제한적인 예시에서, scFv와 같은, 단백질을 암호화하는 이종적인 핵산 분자는, 포유류 세포와 같은, 세포에서 발현된다. 세포 또는 개체에서 이종적인 핵산 분자를 도입하는 방법은 이 분야 기술에서 잘 알려져 있다, 예를 들어, 전기천공(electroporation), 리포펙션 (lipofection), 입자 총 가속(particle gun acceleration), 및 상동 재조합 (homologous recombination)을 포함하는, 핵산으로 형질 전환.

[0091] **숙주 세포 (Host cell):** 벡터가 전파될 수 있고 및 DNA가 발현될 수 있는 세포. 세포는 비 진핵세포 (prokaryotic) 또는 진핵세포 (eukaryotic) 일 수 있다. 이 용어는 또한 개체 숙주 세포의 어느 자손을 포함한다. 복제 동안에 일어나는 돌연변이가 있을 수 있기 때문에 모든 자손은 모체 세포와 동일하지 않을 수 있다는 것이 이해된다. 그러나, "숙주 세포 (host cell)" 라는 용어가 사용될 때 그러한 자손이 포함된다.

[0092] IgA: 알려진 면역글로블린 알파 유전자에 의해 상당히 암호화되는 항체 클래스에 속하는 폴리펩티드. 인간에서, 이 클래스 또는 이소 타입은 IgA₁ 및 IgA₂ 를 포함한다. IgA 항체는 단량체 (monomers), 우세하게 이량체 형태의 폴리머 (polymers) (pIgA로서 언급), 및 분비형 IgA (secretory IgA)로서 존재한다. 야생-형 IgA의 고정 체인은 추가 부위 (tail piece, tp)라고 불리는 C-말단에 18-아미노산 확장을 함유한다. 폴리머성 IgA는 추가 부위에 보전적인 시스템인 잔기를 통해 두 개의 단량체를 연결하는 J 체인이라고 불리는 15-kDa 펩티드를 가진 플라즈마 세포에 의해 분비된다.

[0093] IgG: 알려진 면역글로블린 감마 유전자에 의해 상당히 암호화되는 항체 클래스 또는 아이소타입에 속하는 폴리펩티드. 인간에서, 이 클래스는 IgG₁, IgG₂, IgG₃, 및 IgG₄를 포함한다.

[0094] **면역 복합체 (Immune complex):** 항체 또는 항원 결합 단편 (scFv와 같은)의 용해성 항원과의 결합은 면역복합체를 형성한다. 면역 복합체의 형성은 전통적인 방법, 예를 들어, 면역조직화학 (immunohistochemistry), 면역 침강(immunoprecipitation), 유동 세포분석(flow cytometry), 면역 형광 현미경법 (immunofluorescence microscopy), ELISA, 면역블롯팅(immunoblotting) ((예를 들어, 웨스턴 블롯 (Western blot)), 자기공명 이미징 (magnetic resonance imaging), 컴퓨터 단층 (CT) 촬영, 방사선 촬영(radiography), 및 친화력크로마토그래피 (affinity chromatography) 를 통해 검출될 수 있다.

- [0095] **질환을 억제하는 또는 치료하는 (Inhibiting or treating a disease):** 예를 들어, SARS-CoV-2 감염과 같은 질환에 대한 위험성이 있는 개체에서, 질환 또는 컨디션의 완전 전개를 억제하는 것. "치료(treatment)"는 질환의 징후 또는 증상 또는 병리학적 컨디션의 전개가 시작된 후에 이를 완화하는 치료적 중재를 의미한다. 질환 또는 병리학적 컨디션에 관하여, "완화하는 (ameliorating)"이라는 용어는 치료의 어느 관찰 가능한 유익한 효과를 의미한다. 질환의 억제는, 바이러스 감염의 위험을 예방 또는 감소하는 것과 같은, 질환의 위험을 예방 또는 감소하는 것을 포함할 수 있다. 유익한 효과는, 예를 들어, 감수성이 있는 개체에서 질환의 임상적 증상의 지연성, 질환의 임상 증상의 일부 또는 모든 심각성의 감소, 질환의 느린 진전, 바이러스 로드 (viral load)의 감소, 개체의 전반적인 건강 및 삶의 질 개선, 또는 특정한 질환에 특이한 다른 계수에 의해 증명될 수 있다. "예방적 (prophylactic)" 치료는 병리 전개 위험을 감소할 목적으로 질환의 징후를 보이지 않거나 단지 초기 징후만을 보이는 개체에게 투여하는 치료이다.
- [0096] "감소하는 (reduces)"이라는 용어는, 만약 질환 또는 컨디션이 제제의 투여 후에, 참조 제제에 비교하여, 정량적으로 약화되거나, 또는 제제 투여 후에 약화되면 이 제제는 질환 또는 컨디션을 감소시키는 것과 같이, 상대적 용어이다. 비슷하게, "예방(prevent)"라는 용어는, 질환 또는 컨디션의 적어도 하나의 특징이 제거되는 한, 제제가 질환 또는 컨디션을 완전히 제거한다는 것을 반드시 의미하지는 않는다. 그러므로, 감염을 감소 또는 예방하는 조성물은, 반드시 완전하게는 아니지만, 제제가 없을 때의 감염, 또는 참조 제제와의 비교에서, 예를 들어, 적어도 약 70%, 또는 적어도 80%, 또는 약 90%까지 와도 같이, 적어도 약 50%로 감염이 측정할만하게 약화되는 한, 그러한 감염을 제거할 수 있다.
- [0097] **분리된 (Isolated):** 그 성분이 자연적으로 존재하는 개체의 세포에 있는 다른 생물학적 성분, 즉, 다른 크로모솜 및 크로모솜 외 DNA, RNA, 및 단백질로부터 상당히 분리되고, 별도로 생산되고, 또는 이로부터 정제된 생물학적 성분 (핵산, 펩티드, 단백질 또는 단백질 복합체, 예를 들어 항체와 같은). 그러므로, 분리된 핵산, 펩티드 및 단백질은 표준 정제 방법에 의해 정제된 핵산 및 단백질을 포함한다. 이 용어는 숙주 세포에서 재조합 발현에 의해 제조된 핵산, 펩티드 및 단백질은 물론, 화학적으로 합성된 핵산도 또한 포함한다. 분리된 핵산, 펩티드 또는 단백질, 예를 들어 항체는 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 순수하다.
- [0098] **카벳 위치 (Kabat position):** 카벳 등 (Kabat *et al*)에 의해서 기술된 숫자 매김 관례를 따르는 아미노산 서열에서의 잔기 위치 (*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Edition, Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, NIH Publication No. 91-3242, 1991).
- [0099] **링커 (Linker):** 두 분자를 하나의 연속적인 분자로 연결하는데, 예를 들어, 검출가능한 마커를 항체에 연결하는데, 사용될 수 있는 이중 기능 분자. 펩티드 링커의 비-제한적인 예시에는 글라이신-세린 (glycine-serine) 링커가 포함된다.
- [0100] "접합하는(conjugating)," "연결하는(joining)," "결합하는(bonding)," 또는 "연결하는(linking)"이란 용어는 두 분자를 하나의 연속적인 분자로 만드는 것을 의미할 수 있다; 예를 들어 두 개의 펩티드를 하나의 연속적인 폴리펩티드로 연결하거나, 또는 주효 분자 또는 검출 가능한 마커 방사성 핵종 또는 다른 분자를, scFv와 같은, 폴리펩티드에 공유적으로 부착시키는 것. 연결은 화학적 또는 재조합 방식으로 될 수 있다. "화학적 방식 (chemical means)"은 두 분자 사이에 공유 결합이 형성되어 하나의 분자로 형성된 것과 같은 항체 잔기와 주효 분자 사이에 반응을 의미한다.
- [0101] **핵산 (Nucleic acid) (분자 또는 서열):** 제한 없이 cDNA, mRNA, 유전체 DNA (genomic DNA), 및 합성 (화학적으로 합성된 것과 같이) DNA 또는 RNA를 포함하는 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 폴리머 또는 이의 조합. 핵산은 이중 가닥 (double stranded, ds) 또는 단일 가닥(single stranded, ss) 일 수 있다. 단일 가닥인 곳에서, 핵산은 센스 가닥 (sense strand) 또는 안티센스 가닥 (antisense strand) 일 수 있다. 핵산은 자연 뉴클레오타이드 (A, T/U, C, 및 G와 같은)를 포함할 수 있으며, 및 라벨 된 뉴클레오타이드와 같은, 자연 뉴클레오타이드의 유사체를 포함할 수 있다.
- [0102] "cDNA"는, 단일 가닥 또는 이중 가닥 형태로 mRNA에 보완적인 또는 mRNA와 동일한 DNA를 의미한다.
- [0103] "암호화하는 (encoding)"은, 한정된 뉴클레오타이드의 서열 (즉, rRNA, tRNA 및 mRNA) 또는 한정된 아미노산 서열 및 이로부터의 결과의 생물학적 성질을 가진 생물학적 과정에서 다른 폴리머 및 거대분자의 합성을 위한 템플레이트로서 역할을 하기 위하여, 유전자, cDNA, 또는 mRNA와 같은 폴리뉴클레오타이드에서 뉴클레오타이드

의 특정한 서열의 내재하는 특성을 의미한다. 그러므로, 만약 이 유전자에 의해 생산되는 mRNA의 전사 및 번역이 세포 또는 다른 생물학적 시스템에서 단백질을 생산한다면 한 유전자는 단백질을 암호화한다. 유전자 또는 cDNA의 코딩 가닥 (coding strand), mRNA 서열과 동일하고 및 보통 서열 목록에서 제공되는 뉴클레오타이드 서열, 및 비-코딩 가닥 (non-coding strand), 전사의 템플레이트로서 사용되는, 둘 다는 단백질 또는 그 유전자 또는 cDNA의 다른 생산물을 암호화하는 것으로 언급될 수 있다. 달리 구체화하지 않는 한, "아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 (nucleotide sequence encoding an amino acid sequence)"은 서로 디제너레이트한 버전 (degenerate versions) 이고 및 같은 아미노산 서열을 암호화하는 모든 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 단백질 및 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 인트론을 포함할 수 있다.

[0104] **작동적으로 연결된 (Operably linked):** 첫 번째 핵산 서열이 두 번째 핵산 서열과 기능적 관계에 놓여있을 때, 첫 번째 핵산 서열은 두 번째 핵산 서열과 작동적으로 연결되어 있다. 예를 들어, 만약 프로모터가 코딩 서열의 전사 또는 발현에 영향을 준다면 CMV 프로모터와 같은, 프로모터는 코딩서열과 작동적으로 연결되어 있다. 일반적으로, 작동적으로 연결된 DNA 서열은 연속적이고 및 두 개의 단백질-코딩부위를 연결할 필요가 있는 곳에서는 같은 리딩 프레임 (same reading frame)으로 있다.

[0105] **약제학적으로 허용 가능한 담체 (Pharmaceutically acceptable carriers):** 유용한 약제학적으로 허용 가능한 담체는 전통적인 것이다. 레밍톤(*Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 22nd ed., London, UK: Pharmaceutical Press, 2013) 에서는 공개되는 제제의 약제학적 전달에 적절한 조성물 및 제형을 서술한다.

[0106] 일반적으로, 담체의 성질은 적용되는 특정한 투여 방식에 의존할 것이다. 예를 들어, 비 경구적 제형은 물, 생리 식염수, 균형된 염 용액, 수용성 덱스트로즈 (aqueous dextrose), 글리세롤 또는 이와 유사한 약제학적으로 및 생리적으로 허용 가능한 액체를 매체로서 포함하는 주사 가능한 액체를 보통 포함한다. 고체 조성물로서 (예를 들어, 분말, 알약, 타블렛, 또는 캡슐 형태), 전통적인 비-독성 고체 담체는, 예를 들어, 약제학적 등급의 만니톨 (mannitol), 락토즈(lactose), 전분(starch), 또는 마그네슘 스테아레이트(magnesium stearate) 를 포함할 수 있다. 생물학적으로 중성인 담체 이외에, 투여될 약제학적 조성물은, 습윤제 또는 유화제, 첨가된 방부제 (비-자연적인 방부제와 같은), 및 pH 버퍼링 제제 및 유사한 제제, 예를 들어, 소듐 아세테이트 (sodium acetate) 또는 소르비탄 모노라우레이트 (sorbitan monolaurate) 와 같은, 비-독성 보조 물질을 최소량 함유할 수 있다. 특별한 예시에서, 약제학적으로 허용 가능한 담체는 멸균되고 및 개체에게, 예를 들어, 주사로 비 경구적으로 투여하기에 적절하다. 어떤 실시 예에서, 활성 제제 및 약제학적으로 허용 가능한 담체는 알약과 같은 유닛 용량 형태로 또는 바이알에 선택된 양으로 제공된다. 유닛 용량 형태는 한 용량 또는 다수의 용량 (예를 들어, 계량된 용량의 제제가 선택적으로 제공될 수 있는 바이알에) 을 포함할 수 있다.

[0107] **폴리펩티드 (Polypeptide):** 모노머가 아마이드 결합 (amide bonds)을 통해 서로 연결된 아미노산 잔기인 폴리머. 아미노산이 알파-아미노산일 때, L-광학 이성질체 (optical isomer) 또는 D-광학 이성질체가 사용될 수 있으며, L-광학 이성질체가 바람직하다. 여기서 사용된 대로 "폴리펩티드(polypeptide)" 또는 "단백질 (protein)"이라는 용어는 어느 아미노산 서열을 포함하려는 의도이며 및 당단백질과 같은 수정된 서열을 포함한다. 폴리펩티드는 자연적으로 일어나는 단백질은 물론, 재조합적으로 또는 합성적으로 생산된 것 둘 다를 포함한다. 폴리펩티드는 아미노 말단 (N-말단) 및 카복시-말단 (carboxy-terminal end)을 갖는다. 어떤 실시 예에서, 폴리펩티드는 공개되는 항체 또는 이의 단편이다.

[0108] **정제된 (Purified):** 정제된이라는 용어는 절대적인 순도를 요구하는 것은 아니며; 오히려, 상대적인 용어로서 의도된다. 그러므로, 예를 들어, 정제된 펩티드 제제는 펩티드 또는 단백질 (항체와 같은) 이 세포 내에 자연적인 환경에 있는 펩티드 또는 단백질보다 좀 더 강화된 그런 것이다. 한 실시 예에서, 제제는 단백질 또는 펩티드가 제제의 총 펩티드 또는 단백질 함량의 적어도 50%를 대표하는 그런 것으로 정제된다.

[0109] **재조합 (Recombinant):** 재조합 핵산은 자연적으로 존재하지 않는 서열을 가진 것이거나 또는 아니면 분리되어 있는 두 개의 서열의 인공적인 조합에 의해 만들어진 서열을 가진 것이다. 이 인공적인 조합은 화학적 합성에 의해 달성될 수 있거나 또는, 좀 더 흔하게, 분리된 핵산 단편의, 예를 들어, 유전 공학 기술로, 인공적인 조합에 의해 달성될 수 있다. 재조합 단백질은 자연적으로 존재하지 않는 서열을 가진 것이거나 또는 아니면 분리되어 있는 두 개의 서열의 인공적인 조합에 의해 만들어진 서열을 가진 것이다. 몇 가지 실시 예에서, 재조합 단백질은, 박테리아 또는 진핵 세포와 같은, 숙주 세포에 도입된 이중 (예를 들어, 재조합) 핵산에 의해 암호화된다. 핵산은, 예를 들어, 도입된 핵산에 의해 암호화되는 단백질을 발현할 수 있는 신호를 가진 발현 벡터에 도입될 수 있거나 또는 핵산은 숙주 세포 크로모솜으로 병합될 수 있다.

[0110] **SARS-CoV-2:** 우한 코로나바이러스 (Wuhan coronavirus) 또는 2019 신규 코로나바이러스로서도 또한 알려진,

SARS-CoV-2는 중증 급성 호흡기 감염의 매우 치명적인 원인으로 드러난 베타코로나바이러스 속의 양성-센스, 단일-가닥 RNA 바이러스이다. 바이러스 유전체는 캡이 있고 (capped), 폴리아데닐레이트 되어 있고, 및 뉴클레오캡시드 (nucleocapsid) 단백질로 덮여 있다. SARS-CoV-2 비리온은 큰 스파이크 당단백질을 가진 바이러스 외피 (viral envelope)를 포함한다. SARS-CoV-2 유전체는, 대부분의 코로나바이러스와 같이, 리프리카제 유전자 (replicase gene)가 유전체의 5'-2/3에 포함되고, 및 구조적 유전자는 유전체의 3'-1/3에 포함되는 공통의 유전체 구조를 가지고 있다. SARS-CoV-2 유전체는 구조 단백질 유전자들 5' - 스파이크(spike) (S) - 외피(envelope) (E) - 막(membrane) (M) 및 뉴클레오캡시드 (nucleocapsid) (N) - 3' 순서의 표준 세트에 암호화한다. SARS-CoV-2 감염의 증상에는, 발열 및 마른기침 및 숨가쁨과 같은 호흡기 질병을 포함한다. 심각한 감염의 경우는 심각한 폐렴, 다-기관 부전, 및 사망으로 진전될 수 있다. 노출 시간으로부터 증상의 시작까지는 대략 2 내지 14일이다.

[0111] 바이러스 감염을 검출하는 표준 방법은 SARS-CoV-2 감염을 검출하기 위하여 사용될 수 있으며, 이것에만 국한하지 않으나, 환자 증상 및 배경의 평가 및 역 전사-중합효소 연쇄 반응 (reverse transcription-polymerase chain reaction) (rRT-PCR)과 같은 유전적 검사를 포함한다. 검사는 호흡기 또는 혈액 샘플과 같은 환자 샘플에서 행해질 수 있다.

[0112] 오미크론 변이체 (omicron variant)로서 또한 알려진, B.1.1.529는, 2021년에 11월 21일에 세계 보건 기구 (World Health Organization)에 처음 보고된 본래의 SARS-CoV-2의 변이체이다. 이 변이체는 본래의 SARS-CoV-2 균주에 비교하여 총 60 돌연변이를 가졌다, 특히 50 비유사 돌연변이 (nonsynonymous mutations), 8 유사 돌연변이 (synonymous mutations), 및 2 비-코딩 돌연변이 (non-coding mutations)가 있다. 이 돌연변이들의 2/3가 스파이크 단백질에 영향을 주고 (A67V, Δ 69-70, T95I, G142D, Δ 143-145, Δ 211, L212I, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493R, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K, 및 L981F), 또는 이의 대략 받은 수용체 결합 도메인 (319-541)에 위치해 있다.

[0113] **SARS 스파이크 (S) 단백질 ((SARS Spike (S) protein))**: 대략 크기가 SARS-CoV에서는 1256 아미노산, 및 SARS-CoV-2에서는 1273 아미노산의 전구체 단백질로서 처음에 합성되는 클래스 I 융합 당단백질. 각각의 전구체 S 폴리펩티드는 동중삼량체 (homotrimer)를 형성하고 및 골지체 (Golgi apparatus) 내에서 당화 (glycosylation)가 진행되는 물론 신호 펩티드 제거 과정도 진행되며, 및 세포 프로테아제 (protease)에 의하여 SARS-CoV에서는 대략 위치 679/680 사이, 및 SARS-CoV-2에서는 685/686 사이에서 쪼개져서, 분리된 S1 및 S2 폴리펩티드 체인이 생성되고, 이는 동중삼량체 (homotrimer) 내에서 S1/S2 프로토머(proromer)로서 연결된 채로 있으며 및 그러므로 이종이량체 (heterodimer)의 삼량체 (trimer)이다. S1 서브유닛 (subunit)은 바이러스 막에서 멀리 있으며 및 N-말단 도메인 (N-terminal domain, NTD) 및 숙주 수용체에 바이러스의 부착을 중개하는 것으로 믿어지는 수용체-결합 도메인 (receptor-binding domain, RBD)을 함유한다. S2 서브유닛은, 융합 펩티드, 두 개의 헵타드-반복 서열 (heptad-repeat sequences) (HR1 및 HR2) 및 융합 당단백질의 전형적인 중앙 헬릭스, 막 통과 도메인, 및 세포질 꼬리 도메인과 같은, 융합 단백질 시스템을 함유하는 것으로 믿어진다.

[0114] 공개되는 SARS-CoV-2 S 단백질 및 이의 단편에서 사용된 번호 매김은 SARS-CoV-2의 S 단백질에 상대적인 것이고, 이의 서열은 NCBI Ref. No. YP_009724390.1,로서 제출되었으며, 이는 그 전문이 여기에 참고 문헌으로 병합되었다.

[0115] **서열 상동성 (Sequence identity)**: 두 개 또는 그 이상의 핵산 서열 사이, 또는 두 개 또는 그 이상의 아미노산 서열 사이의 상동성은, 서열 사이의 퍼센트 상동성의 용어로 표현된다. 서열 상동성은 퍼센트 상동성의 용어로 측정될 수 있다; 퍼센트가 더 높을수록, 서열은 좀 더 상동성이 있다. 타겟 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 V_L 또는 V_H 의 동족체 (homolog) 및 변이체 (variant)는 전형적으로 적어도 약 75% 서열 상동성을, 예를 들어, 관심 있는 아미노산 서열과 전장 정렬에 대하여 세었을 때 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 상동성을 소유하는 특징이 있다.

[0116] 비교를 위하여 어느 적절한 방법이 서열 정렬에 사용될 수 있다. 비-제한적인 프로그램의 예시 및 정렬 알고리즘은 스미스 및 워터만 (Smith and Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2(4):482-489, 1981); 니들만 및 분쉬 (Needleman and Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48(3):443-453, 1970); 피어슨 및 리프만 (Pearson and Lipman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85(8):2444-2448, 1988); 히긴스 및 샵(Higgins and Sharp, *Gene*, 73(1):237-244, 1988); 히긴스 및 샵 (Higgins and Sharp, *Bioinformatics*, 5(2):151-3, 1989); 코르페트(Corpet, *Nucleic Acids Res.* 16(22):10881-10890, 1988); 후양 등 (Huang *et al. Bioinformatics*, 8(2):155-165, 1992); 및 피

어슨 (Pearson, *Methods Mol. Biol.* 24:307-331, 1994.), 에서 서술된다, 알트슐 등 (Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215(3):403-410, 1990),은 서열 정렬 방법 및 호모로지 계산에서의 상세한 고려 점을 제시한다. 서열 분석 프로그램 blastp, blastn, blastx, tblastn, 및 tblastx과 연결하여 사용을 위하여, NCBI 기본 국소 정렬 탐색 툴 (NCBI Basic Local Alignment Search Tool)(BLAST) ((Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215(3):403-410, 1990)) 이, 국가 생물 정보센터(National Center for Biological Information) 및 인터넷을 포함하는, 몇가지 소스로부터 구할 수 있다. Blastn은 핵산 서열을 비교하기 위하여 사용되고, 반면에 blastp는 아미노산 서열을 비교하기 위하여 사용된다. 추가적인 정보는 NCBI 웹사이트에서 발견할 수 있다.

[0117] 일반적으로, 일단 두 서열이 정렬되면, 동일한 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기가 두 서열에서 존재하는 위치의 수를 세어 일치하는 (매치하는) 수가 결정된다. 두 서열 사이의 퍼센트 서열 상동성은 일치하는 수를 동정된 서열에서 제시된 서열의 길이로 나누거나, 또는 분절된 길이 (articulated length) (동정된 서열에서 제시된 서열로부터 100 연속적인 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기와 같은) 로 나누고, 이어서 이 결과값에 100을 곱하여 결정된다.

[0118] **특이적으로 결합하는 (Specifically bind):** 항체 또는 항원 결합 단편을 언급할 때, 이질적인 집단의 단백질 및 다른 생물체제의 존재하에서 타겟 단백질의 존재를 결정하는 결합 반응을 의미한다. 그러므로, 지정된 컨디션 하에서, 항체는 특정한 타겟 단백질, 펩티드 또는 폴리사카라이드 (병원균의 표면에 존재하는 항원과 같은, 예를 들어, 코로나바이러스 스파이크 단백질) 에 선호적으로 결합하고 및 샘플 또는 개체에 존재하는 다른 단백질에는 의미 있는 양으로 결합하지 않는다. 스파이크 단백질에 관한 한, 에피토프는 SARS-CoV-2 스파이크 단백질에 존재할 수 있어, 항체는 두 타입 바이러스에 있는 스파이크 단백질에 결합하나, 다른 단백질에는 결합하지 않는다. 특이적인 결합은 표준 방법에 의해 결정될 수 있다. 특정한 면역반응성을 결정하기 위하여 사용될 수 있는 면역에세이 형식 (format) 및 조건의 서술에 대해서는 할로우 & 라인 참조 ((Harlow & Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Publications, New York (2013))).

[0119] 항체-항원 복합체에 관한 한, 항원 및 항체의 특이적인 결합은, 약 10^{-8} Molar, 10^{-9} , 또는 약 10^{-10} 몰 미만까지인 것과 같이, K_D 가 약 10^{-7} 몰(Molar) 미만이다. K_D 는, 폴리펩티드 리간드 상호작용 또는 항원 항체 상호작용과 같은, 주어진 상호 작용에서 해리 항수 (dissociation constant) 를 의미한다. 예를 들어, 항체 또는 항원 결합 단편 및 항원의 두 분자 상호작용에서 이는 복합체 농도로 나눈 두 분자 상호작용의 각각 성분의 농도를 의미한다.

[0120] 코로나바이러스 스파이크 단백질에의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체, SARS-CoV-2로부터의 스파이크 단백질의 NTD 또는 RBD와 같은, 바이러스, 스파이크 단백질이 부착하는 기질, 또는 생물학적 표본에 있는 단백질을 포함하는, 코로나바이러스 스파이크 단백질에 상당히 결합하는 항체. 이는, 물론, 어느 정도의 비-특이적인 상호작용이 항체 및 비-타겟 사이에 일어날 수 있다는 것이 인식된다. 전형적으로, 특이적인 결합은 항체와 다른 코로나바이러스 단백질(MERS) 사이, 또는 비-코로나바이러스 단백질로부터보다 항체 및 스파이크 단백질 사이에 좀 더 강한 연관 결과로 되게 한다. 특이적인 결합은 전형적으로 에피토프 또는 타겟 에피토프를 발현하는 세포 또는 조직을 포함하는 단백질에 결합된 항체의 양(유닛 시간당) 이 이 에피토프가 없는 단백질 또는 세포 또는 조직에 비교하여 5-배 이상, 10-배 이상, 또는 100-배 이상과 같은, 2-배 이상의 증가의 결과가 된다. 그러한 컨디션 하에서 단백질에 특이적인 결합은 특정한 단백질에 대한 특이성에 대해 선택된 항체를 요구한다. 항체 또는 특정한 단백질과 특이적으로 면역반응성이 있는 다른 리간드를 선택하는데 다양한 면역에세이 포맷이 적절하다. 예를 들어, 단백질과 특이적으로 면역 반응성인 단일클론 항체를 선택하기 위하여 고체-상 ELISA 면역에세이가 일상적으로 사용된다.

[0121] **개체 (subject):** 살아 있는 다-세포 척추 개체로, 인간 및 비-인간 영장류, 돼지, 낙타, 박쥐, 양, 소, 개, 고양이, 설치류, 및 이와 유사한 것과 같은, 비 인간 포유류를 포함하는 카테고리. 한 예시에서, 개체는 인간이다. 특정한 예시에서, 개체는 사람이다. 추가의 예시에서, SARS-CoV-2 감염을 억제할 필요가 있는 개체가 선택된다. 예를 들어, 개체는 감염되지 않았고 및 SARS-CoV-2 감염의 위험이 있거나 또는 감염되어 있고 및 치료를 필요로 한다.

[0122] **형질전환된 (Transformed):** 형질전환된 세포는 핵산 분자가 분자생물학 기술에 의해 도입된 세포이다. 여기서 사용된 대로, 형질전환된 및 이와 유사한 용어 ((예를 들어, 형질 전환 (transformation), 형질감염 (transfection), 형질도입(transduction) 등)) 는 핵산 분자가 그러한 세포로 도입될 수 있는, 바이러스 벡터로 형질도입, 플라스미드 벡터로 형질전환을 포함하는, 모든 기술을 포함한다.

[0123] **벡터 (Vector):** 관심 있는 단백질의 코딩 서열에 작동적으로 연결되고 및 코딩 서열을 발현할 수 있는 프로모터 (들)를 함유하고 있는 핵산 분자 (DNA 또는 RNA 분자와 같은)를 함유하는 개체. 비-제한적인 예시에는 그 자체 (naked) 또는 패키징된(packaged) (지질 및/또는 단백질) DNA, 그 자체 또는 패키징된 RNA, 복제-불능일 수도 있는 바이러스 또는 박테리아 또는 다른 미생물, 또는 복제-가능할 수도 있는 바이러스 또는 박테리아 또는 다른 미생물의 하위 성분을 포함한다. 벡터는 때로는 구조체 (construct)로서도 언급된다. 재조합 DNA 벡터는 재조합 DNA를 가진 벡터이다. 벡터는, 복제 기원 점과 같은, 숙주 세포에서 복제가 되도록 하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. 벡터는 또한 하나 또는 그 이상의 선택 가능한 마커 유전자 및 다른 유전적 요소를 포함할 수 있다. 바이러스 벡터는 하나 또는 그 이상의 바이러스로부터 유래한 적어도 어떤 핵산 서열 가진 재조합 핵산 벡터이다. 어떤 실시 예에서, 바이러스 벡터는 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화하는 공개되는 항체 또는 항원 결합 단편을 암호화하는 핵산 분자를 포함한다. 어떤 실시 예에서, 바이러스 벡터는 아데노-연관된 바이러스 (adeno-associated virus) (AAV)일 수 있다.

[0124] **~를 위한 충분한 컨디션 하에서 (Under conditions sufficient for):** 바람직한 활성을 허락하는 어느 환경을 서술하기 위하여 사용되는 구절.

[0125] II. 실시 예의 서술

[0126] 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 분리된 단일클론 항체 및 항원 결합 단편이 제공된다. 항체 및 항원 결합 단편은 전적으로 인간일 수 있다. 항체 및 항원 결합 단편은, SARS-CoV-2와 같은 코로나바이러스를 중화할 수 있다. 어떤 실시 예에서 공개되는 생체 내에서 코로나바이러스 감염을 억제할 수 있으며 및 SARS-CoV-2와 같은, 코로나바이러스로 감염되기 전, 또는 감염 후에 투여될 수 있다. 이들 항체의 가변 도메인을 포함하는 이중 특이적인 항체가 또한 제공된다. 추가로, 여기서 공개되는 것은 항체 및 항원 결합 단편 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물이다. 항체, 항원 결합 단편, 가변 도메인, 및 이들 핵산을 포함하는 발현 벡터(아데노-연관된 바이러스 (adeno-associated virus, AAV) 바이러스 벡터와 같은)를 암호화하는 핵산이 또한 제공된다. 항체, 항원 결합 단편, 핵산 분자, 숙주 세포, 및 조성물은 연구, 진단, 치료 및 예방적 목적을 위하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 공개되는 항체 및 항원 결합 단편은 코로나바이러스 감염을 가진 개체를 진단하는데 사용할 수 있거나 또는 개체에서 코로나바이러스 감염을 억제하기 위하여 투여될 수 있다. 하기에 목록화되어 있는 각 항체들의 결합 특징이 실시 예 부분 (Examples section)에서 또한 제공된다.

[0127] A. 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 단일 클론 항체 및 이의 항원 결합 단편

[0128] 하기의 단일클론 항체의 논의는 IMGT 번호 매김 계획도 (numbering scheme)에 참조하여(달리 문맥에서 제시하지 않는 한) CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3을 포함하는 중쇄 및/또는 경쇄 가변 도메인 (또는 이의 항원 결합 단편)을 포함하는 분리된 단일 클론 항체를 의미한다. 다양한 CDR 번호 매김 계획도 (Kabat, Chothia 또는 IMGT 번호 매김 계획도와 같은)가 CDR 위치를 결정하기 위하여 사용될 수 있다. IMGT 번호 매김 계획도에 따른 공개되는 단일클론 항체의 아미노산 서열 및 중쇄 및 경쇄의 CDRs 이 서열 목록에서 제공되나, 이들의 단지 예시적일 뿐이다.

[0129] 어떤 실시 예에서, 여기서 서술된 항체의 어느 하나의 중쇄 및 경쇄 CDRs를 포함하는 단일 클론 항체가 제공된다.

[0130] 어떤 실시 예에서, 여기서 서술된 항체의 어느 하나의 중쇄 및 경쇄 가변부위를 포함하는 단일 클론 항체가 제공된다.

표 1

B1-182.1 V _H			
V _H	서열 번호 1 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFTFTSSA	2
HCDR2	51-58	IVVGSNT	3
HCDR3	96-113	CAAPYCSGSGCFDGFDIW	4
B1-182.1 V _L			
V _L	서열 번호5 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호

LCDR1	27-33	QSVSSSY	6
LCDR2	51-53	GAS	7
LCDR3	89-99	CQQYGNPWF	8
A19-61.1 V _H			
V _H	서열 번호 9 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFTFSSYA	10
HCDR2	51-58	ISYDGSNQ	11
HCDR3	96-117	CARDLAIAGTWHYYNGMDVW	12
A19-61.1 V _L			
V _L	서열 번호 13 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	27-32	QGISSW	14
LCDR2	50-52	DAS	15
LCDR3	88-98	CQQAQSFPIF	16
A19-46.1 V _H			
V _H	서열 번호 17 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFTLSSYG	18
HCDR2	51-58	ISYDGSNK	19
HCDR3	96-116	CARGWAYWELLPDYYYGMDVW	20
A19-46.1 V _L			
V _L	서열 번호 21 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	26-34	SGSVSTAYF	22
LCDR2	53-54	GTN	23
LCDR3	90-101	CVLYMGRGIVVF	24
A23-58.1 V _H			
V _H	서열 번호 25 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFTFTSSA	26
HCDR2	51-58	IVVSGNT	27
HCDR3	96-113	CAAPNCSNVVCYDGFDIW	28
A23-58.1 V _L			
V _L	서열 번호 29 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	27-33	QSVSSSY	30
LCDR2	51-53	SAS	31
LCDR3	89-99	CQQYGTSPWF	32
A20-29.1 V _H			
V _H	서열 번호 33 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFTFDDYA	34
HCDR2	51-58	ISWNSGDI	35
HCDR3	96-114	CTKGWFGEFFGAGSICDYW	36
A20-29.1 V _L			
V _L	서열 번호 37 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	27-32	QSVSNN	38
LCDR2	50-52	GAS	39
LCDR3	88-97	CQQYNNWPLF	40
A23-105.1 V _H			

V _H	서열 번호 41 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFTFSNYA	42
HCDR2	51-58	ISYDGSNK	43
HCDR3	96-113	CARVGPYQYDSSAAFDIW	44
A23-105.1 V _L			
V _L	서열 번호 45 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	27-32	QSISSW	46
LCDR2	50-52	DAS	47
LCDR3	88-98	CQQYNSYSRTF	48
A19-1.1 V _H			
V _H	서열 번호 49 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFTFTNYA	50
HCDR2	51-58	ISNDGSDK	51
HCDR3	96-110	CARDPPQVHWSLDYW	52
A19-1.1 V _L			
V _H	서열 번호 53 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	26-34	SSDVGDYNY	54
LCDR2	52-54	DVS	55
LCDR3	90-101	CSSYAGNNNAVF	56
A19-30.1 V _H			
V _H	서열 번호 57 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFTFSNYG	58
HCDR2	51-58	ISYDGSNK	59
HCDR3	96-112	CAKESQFGELFEALDYW	60
A19-30.1 V _L			
V _L	서열 번호 61 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	26-31	ALPRKY	62
LCDR2	49-51	EDS	63
LCDR3	87-99	CYSTDSSGNHRVF	64
A20-36.1 V _H			
V _H	서열 번호 65 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFIFSSYG	66
HCDR2	51-58	IWHDESNK	67
HCDR3	96-113	CARDGYDFLTGayELDYW	68
A20-36.1 V _L			
V _L	서열 번호 69 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	26-31	ALPKQY	70
LCDR2	49-51	KDS	71
LCDR3	87-98	CQSADSSGTWVF	72
A23-97.1 V _H			
V _H	서열 번호 73 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-32	GFTFSSFG	74
HCDR2	51-57	IRYDGSNK	75
HCDR3	95-110	CAKTELYYDSSGPLGW	76

A23-97.1 V _L			
V _L	서열 번호77 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	26-31	QSITSW	78
LCDR2	49-51	DAS	79
LCDR3	87-98	CQQYNSYPWTF	80
A23-113.1 V _H			
V _H	서열 번호 81 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFTFSSYG	82
HCDR2	51-58	ISHDGSYK	83
HCDR3	96-110	CAKSYGYWMAYFDYW	84
A23-113.1 V _L			
V _L	서열 번호 85 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	27-32	QDISNY	86
LCDR2	50-52	AAS	87
LCDR3	88-98	CQKYNSPWHTF	88
A23-80.1 V _H			
V _H	서열 번호 89 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GYTFTSNG	90
HCDR2	51-58	ISTYNGDT	91
HCDR3	96-115	CARVGDAYCSGGSCYHFDYW	92
A23-80.1 V _L			
V _L	서열 번호 93 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	27-32	QSVSTN	94
LCDR2	50-52	GAS	95
LCDR3	88-100	CQQYDNWPPEFTF	96
A19-82.1 V _H			
V _H	서열 번호 97 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GLIFSTYD	98
HCDR2	51-58	ISYDGSYK	99
HCDR3	96-112	CAKGEGVAVAGTGKFDYW	100
A19-82.1 V _L			
V _L	서열 번호 101 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	26-31	NIGSKS	102
LCDR2	49-51	DDS	103
LCDR3	87-99	CQVWDGSGDPWVF	104
A20-9.1 V _H			
V _H	서열 번호 105 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFTFSSYG	106
HCDR2	51-58	ISYDGSNK	107
HCDR3	96-113	CAKDYWSVAAGTSWFDPW	108
A20-9.1 V _L			
V _L	서열 번호 109 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	26-31	ALPKQY	110
LCDR2	49-51	KDS	111

LCDR3	87-98	CQSADSSSGTWVF	112
B1-182.1_58.1CDR3 V _H			
V _H	서열 번호 143 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFTFTSSA	2
HCDR2	51-58	IVVGSGNT	3
HCDR3	96-113	CAAPNCSNVVCYDGFDIW	58
B1-182.1 VL (B1-182.1_58.1CDR3 V _H 와 쌍 이룸)			
V _L	서열 번호 5 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	27-33	QSVSSSY	6
LCDR2	51-53	GAS	7
LCDR3	89-99	CQQYGNPWF	8
B1-182.1 light_5 mut V _H			
V _H	서열 번호 1 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
HCDR1	26-33	GFTFTSSA	2
HCDR2	51-58	IVVGSGNT	3
HCDR3	96-113	CAAPYCSGGSCFDGFDIW	4
B1-182.1 light_5 mut V _L			
V _L	서열 번호 144 위치	CDR 단백질 서열	CDR 서열 번호
LCDR1	27-33	QSVSSSY	6
LCDR2	51-53	SAS	145
LCDR3	89-99	CQQYGTSPWF	146

- [0132] 표1-표 A 항체의 IMGT CDRs 및 서열 번호
- [0133] SARS-CoV-1 및/또는SARS-CoV-2에의 결합은 도 1D에서 보여준다.
- [0134] a 단일 클론 항체 B1-182.1
- [0135] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 B1-182.1 항체에 기반을 두거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.
- [0136] 단일클론 항체 B1-182.1은 SARS COV-2 스파이크 단백질의 수용체 결합 도메인 (receptor binding domain, RB D)에 있는 에피톱에 결합한다. 하기에 공개된 대로, B1-182.1 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단하여 감염을 예방하고 및 다른 항체에 비교하여 유일한 경쟁 프로파일을 가지고 있다. 이 항체는 SARS-CoV-2 위형 렌티바이러스 (pseudotyped lentivirus) 입자 및 나노록 생 바이러스 (Nanoluc live virus) 입자를 중화한다. 이는 선두적인 임상 후보자 LY-COV555 보다 3 내지 4배 더 강력하고 및 SARS COV-2 를 타겟하는 보고된 항체 중에서 가장 강력하다. LY-COV55 항체에 대한 정보는 존 등 (Jones et al., bioRxiv.2020 Oct 1;2020.09.30.318972 (revised October 9, 2020), preprint, PMID 33024963) 에서 제 공되며, pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33024963/를 통해 전자적으로 구할 수 있으며, 여기 참고문헌으로 병합되어 있고, 및 이 항체에 대한 임상적 데이터는 첸 등 (Chen et al., New Engl. J. Med. 384(3): 229-237, 2021) 에 서 구할 수 있고, 여기 참고문헌으로 병합되어 있으며, 또한 pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33113295/ 참조.
- [0137] 어떤 실시 예에서, B1-182.1은 하기의 변이체: D614G, N439K/D614G, Y543F/D614G, A222V/D614G, del69-70/D614G 및 N501/E484K/K417N/D614G 및 H69del-V70del-Y144del-N501Y-A570D-D614G-P681H-T716I-S982A-D1118H 에 아미노산 변화를 함유하는 B.1.1.7 (VOC 202012/01) 에 대한 높은 효능을 유지하고 있으며; 및 N501Y/D614G 에 대해 증가되는 효능을 가지고 있다. D614G 변이체는 유포되고 있는 우세한 변이체이다. E484K 변이체는 선도 적인 항체(예를 들어, LY-COV555, REGN-10989) 에 의해 중화되지 않거나 또는 효능이 상당히 손실됨(REGN-10933)을 보여준다. Y453F 변이체는 REGN-10933에 의해 중화되지 않는다. 어떤 실시 예에서, B1-182.1은 B.1.1.529 변이체에 결합한다.

- [0138] 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 B1-182.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3

(예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라) 를 각각 포함하는 V_H 및 V_L 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0139] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 1로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 5로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 1 및 5로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0140] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 2, 3, 및 4로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 을 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 6, 7, 및 8로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0141] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 2, 3, 및 4로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 서열 번호 6, 7, 및 8로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하며, 상기 V_H 는, 서열 번호 1과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 1과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은 서열 번호5와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 5와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0142] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 1로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 5로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 1 및 5로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0143] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.

[0144] *b. 단일클론 항체 A19-61.1*

[0145] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A19-61.1 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합 하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.

[0146] 단일클론 항체 A19-61.1은 SARS COV-2스파이크 단백질의 RBD에 있는 에피토프에 결합한다. 이 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단하여 감염을 예방하고 및 다른 항체에 비교하여 유일한 경쟁 프로파일을 가지고 있다. 이 항체는 위형 렌티바이러스 (pseudotyped lentivirus) 및 나노록 생 바이러스 (Nanoluc live virus) 입자를 중화한다. 나노록 생 바이러스 중화는 SARS COV-2를 타겟팅하는 보고된 항체 중 가장 강력하다.

[0147] 어떤 실시 예에서, 단일클론 항체 A19-61.1은 D614G 변이체에 대한 증가되는 효능을 가지고 있으며 및 변이체: N439K/D614G, Y543F/D614G, A222V/D614G, N501Y/D614G, del69-70/D614G 및N501/E484K/K417N/D614G 및 H69del-V70del-Y144del-N501Y-A570D-D614G-P681H-T716I-S982A-D1118H에서 아미노산 변화를 함유하고 있는 B.1.1.7 (VOC 202012/01) 에 대한 이 효능을 유지하고 있다.

- [0148] 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A19-61.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라) 를 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0149] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 9로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 13으로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 9 및 13으로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0150] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 10, 11, 및 12로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3를 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 14, 15, 및 16으로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0151] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 10, 11, 및 12로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3를 포함하는 V_H , 서열 번호 14, 15, 및 16으로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하며, 상기 V_H 는, 서열 번호 9와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 9와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은 서열 번호 13과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 13과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0152] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 9로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 13으로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 9 및 13으로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0153] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.
- [0154] c. 단일클론 항체 A19-46.1
- [0155] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A19-46.1 항체에 기반 하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합 하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.
- [0156] 단일클론 항체 A19-46.1 은 SARS COV-2 스파이크 단백질의 S1 도메인에 있는 에피토프에 결합한다. 이 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단하여 감염을 예방하고 및 다른 항체에 비교하여 유일한 경쟁 프로파일을 가지고 있다. 이 항체는 위형 렌티바이러스 (pseudotyped lentivirus) 및 나노룩 생 바이러스 (Nanoluc live virus) 입자를 중화한다. SARS CoV-2 나노룩 생 바이러스 중화는 SARS COV-2를 타겟팅 하는 보고된 항체 중 가장 강력하다.
- [0157] 어떤 실시 예에서, 단일클론 항체 A19-46.1은 D614G 변이체에 대한 증가되는 효능을 가지고 있으며 및 변이체: N439K/D614G, Y543F/D614G, A222V/D 614G, N501Y/D614G, del69-70/D614G 및 N501/E484K/K417N/D614G 및 H69del-V70del-Y144del-N501Y-A570D-D614G-P681H-T716I-S982A-D1118H에서 아미노산 변화를 함유하고 있는

B.1.1.7 (VOC 202012/01) 에 대한 이 효능을 유지하고 있다.

- [0158] 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A19-46.1항 체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMG1, Kabat 또는 Chothia 에 따라) 를 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0159] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 17로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 21로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 17 및 21로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0160] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 18, 19, 및 20으로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 22, 23, 및 24로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0161] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 18, 19, 및 20으로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 서열 번호 22, 23, 및 24로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하며, 상기 V_H 는, 서열 번호 17과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 17과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 21과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 21과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0162] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 17로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 21로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 17 및 21로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0163] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.
- [0164] *d. 단일클론 항체 A23-58.1*
- [0165] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A23-58.1항체에 기반 하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.
- [0166] 단일클론 항체 A23-58.1은 SARS COV-2 스파이크 단백질의 수용체 결합 도메인 (receptor binding domain, RBD)에 있는 에피토프에 결합한다. 이 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단하여 감염을 예방하고 및다른 항체에 비교하여 유일한 경쟁 프로파일을 가지고 있다. 이 항체는 SARS-CoV-2위형 렌티바이러스 (pseudotyped lentivirus) 입자에 대하여 강한 IC_{50} 및 IC_{80} 를 가지고 있다. 이 항체는 단일 클론 항체LY-COV555보다 3 내지 4-배 더 강력하다. SARS CoV-2 나노록 생 바이러스 중화는 SARS COV-2를 타겟팅하는 보고된 항체 중 가장 강력하다.

- [0167] 어떤 실시 예에서, 단일클론 항체 A23-58.1은 E484K/D614G 변이체에 대한 높은 효능이 약간 증가되고 및 D614G, N439K/D614G, Y543F/D614G, A222V/D614G, N501Y/D614G, del69-70/D614G 및 N501/E484K/K417N/D614G 및 H69del-V70del-Y144del-N501Y-A570D-D614G-P681H-T716I-S982A-D1118H에서 아미노산 변화를 함유하고 있는 B.1.1.7 (VOC 202012/01)에 대한 이 효능은 유지하고 있다.
- [0168] 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A23-58.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0169] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 25로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 29로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 25 및 29로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0170] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 26, 27, 및 28로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3를 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 30, 31, 및 32로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3를 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0171] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 26, 27, 및 28로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3를 포함하는 V_H , 서열 번호 30, 31, 및 32로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3를 포함하는 V_L 을 포함하며, 상기 V_H 는, 서열 번호 25와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 25와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 29와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 29와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0172] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 25로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 29로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 25 및 29로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0173] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.
- [0174] e. 단일클론 항체 A20-29.1
- [0175] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A20-29.1 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.
- [0176] 단일클론 항체 A20-29.1은 SARS COV-2 스파이크 단백질의 RBD 도메인에 있는 에피토프에 결합한다. A20-29.1은 본래의 SARS CoV-1 스파이크 단백질에 또한 결합할 수 있다. 이 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단하여 감염을 예방하고 및 다른 항체에 비교하여 유일한 경쟁 프로파일을 가지고 있다. 이 항체는 LY-COV555 경쟁 그룹에 있는 항체들과 경쟁하지 않기 때문에, 이 클래스의 항체들과 치료 콕테일

로 잠재적인 용도가 있다. 여기서 공개된 대로, 이 항체는 SARS-CoV-2 위형 렌티바이러스 (pseudotyped lentivirus) 입자를 중화한다.

- [0177] 어떤 실시 예에서, 단일클론 항체 A20-29.1은 D614G, N439K/D614G, E484K/D61G, Y543F/D614G, A222V/D614G, N501Y/D614G, del69-70/D614G 및 N501/E484K/K417N/D614G 변이체에 대해 비슷한 효능을 유지한다.
- [0178] 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A20-29.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0179] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 33으로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 37로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 33 및 37로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 및/또는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0180] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 34, 35 및 36으로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3를 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 38, 39, 및 40으로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0181] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 34, 35, 및 36으로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3를 포함하는 V_H , 서열 번호 38, 39, 및 40으로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하며, 상기 V_H 는, 서열 번호 33과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 33과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 37과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 37과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 및/또는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0182] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 33으로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 37로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 33 및 37로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 및/또는 SARS-CoV-1 일 수 있다.
- [0183] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.
- [0184] *f. 단일클론 항체 A23-105.1*
- [0185] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A23-105.1 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A23-105.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0186] 단일클론 항체 A23-105.1 은 SARS COV-2 스파이크 단백질의 RBD 도메인에 있는 에피토프에 결합한다. 이 항체는

바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단하여 감염을 예방하고 및 LY-COV555 처럼 비슷한 경쟁 프로파일을 공유한다. 단일클론 항체 A23-105.1 은 중화한다. A23-105.1에 의한 SARS COV-2나노록 생 바이러스 (Nanoluc live virus) 중화는 이것이 매우 강력하다는 것을 입증한다.

[0187] 어떤 실시 예에서, 단일클론 항체 A23-105.1은 D614G 변이체에 대하여 증가된 효능을 가지고 있으며 D614G, N439K/D614G, Y543F/D614G, A222V/D614G, N501Y/D614G 및 del69-70/D614G 변이체에 대하여 비슷한 효능을 유지하고 있다. LY-CoV555와 같이, 변이체 E484K/D614G 및 N501/E484K/K417N/D614G에 대하여 활성을 잃어버린다.

[0188] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 41로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 45로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 41 및 45로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일수 있다.

[0189] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 42, 43 및 44로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 46, 47, 및 48로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0190] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 42, 43, 및 44로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 서열 번호 46, 47, 및 48로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하며, 상기 V_H 는, 서열 번호 41과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 41과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 45와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 45와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일수 있다.

[0191] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 41로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 45로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 41 및 45로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일수 있다.

[0192] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.

[0193] *g. 단일클론 항체 A19-1.1*

[0194] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A19-1.1 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.

[0195] 단일클론 항체 A19-1.1은 S 본래의 SARS COV-1 스파이크 단백질에 결합한다. 이 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단하여 감염을 예방하고 및 LY-COV555처럼 비슷한 경쟁 프로파일을 공유한다.

[0196] 어떤 실시 예에서, 단일클론 항체 A19-1.1 은 D614G 변이체에 대하여 증가된 효능을 가지고 있으며 D614G, N439K/D614G, Y543F/D614G, A222V/D614G, N501Y/D614G 및 del69-70/D614G 변이체에 대하여 비슷한 효능을 유지

하고 있다. LY-CoV555와 같이, 변이체 E484K/D614G 및 N501/E484K/K417N/D614G에 대하여 활성을 잃어버린다.

- [0197] 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A19-1.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0198] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 49로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 53으로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 49 및 53으로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일수 있다.
- [0199] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 50, 51 및 52로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 54, 55, 및 56으로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0200] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 50, 51, 및 52로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 서열 번호 54, 55 및 55로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하며, 상기 V_H 는, 서열 번호 49와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 49와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 53과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 53과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일수 있다.
- [0201] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 49로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 53으로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 49 및 53으로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일수 있다.
- [0202] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.
- [0203] *h. 단일클론 항체 A19-30.1*
- [0204] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A19-30.1 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합 한다.
- [0205] 단일클론 항체 A19-30.1은 SARS COV-2 스파이크 단백질의 RBD 도메인에 있는 에피토프에 결합한다. 이 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단하여 감염을 예방하지 않는다. 이는 다른 항체와 비교하여 유일한 경쟁 프로파일을 가지고 있다. 이 항체가 LY-COV555 경쟁 그룹에 있는 항체와 경쟁하지 않으므로, LY-COV555 클래스에 있는 항체들과 치료 각테일로서 유용하다. 이는 SARS-CoV-2 위형 렌티바이러스 (pseudotyped lentivirus) 입자 중화에 의한 작용은 하지 않는다.
- [0206] 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A19-30.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3

(예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 항체-의존성 세포 독해작용 (antibody-dependent cellular cytotoxicity), 항체-의존성 식균작용 (antibody-dependent phagocytosis) 또는 세포 또는 바이러스 입자의 항체-의존성 보체사멸 (antibody-dependent complement killing) 과 같은 코로나바이러스 감염에 대한 비-중화적인 기전으로 작용한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0207] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 57로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 불활성화하거나 또는 감염된 세포를 죽인다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 61로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 불활성화하거나 또는 감염된 세포를 죽인다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 57 및 61로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 불활성화하거나 또는 감염된 세포를 죽인다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일 수 있다

[0208] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호58, 59 및 60으로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3를 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호62, 63, 및 64로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 불활성화하거나 또는 감염된 세포를 죽인다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0209] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호58, 59 및 60으로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3를 포함하는 V_H , 서열 번호62, 63 및 64로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하며, 상기 V_H 는, 서열 번호 57과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 57과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 61과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호61과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 불활성화하거나 또는 감염된 세포를 죽인다 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0210] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 57로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 61로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 57 및 61로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 불활성화하거나 또는 감염된 세포를 죽인다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0211] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.

[0212] *i. 단일클론 항체 A20-36.1*

[0213] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A20-36.1 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합 하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.

[0214] 단일클론 항체 A20-36.1 은 SARS CoV-2 스파이크 단백질의 S1 도메인의 SD2 부위에 결합한다. 단일클론 항체 A20-36.1 은 본래의 SARS CoV-1 스파이크 단백질에 또한 결합할 수 있다. 이 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단함으로써 감염을 예방하는 것은 아니다. 이는 유일한 경쟁 프로파일러 가지고 있다. 이 항체가 LY-COV555 경쟁 그룹에 있는 항체와 경쟁하지 않으므로, 이 클래스에 있는 항체들과 치료 각테일로서 유용하다. 이 단일클론 항체는 SARS-CoV-2위형 렌티바이러스 (pseudotyped lentivirus) 입자를 중화한다.

- [0215] 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A20-36.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0216] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 65로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 69로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 65 및 69로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0217] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 66, 67 및 68로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 70, 71, 및 72로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0218] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 66, 67 및 68로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 서열 번호 70, 71, 및 72로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 상기 V_H 는, 서열 번호 65와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 65와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 69와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 69와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0219] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 65로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 69로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 65 및 69로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0220] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.
- [0221] *j. 단일 클론 항체 A23-97.1*
- [0222] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A23-97.1 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.
- [0223] 단일클론 항체 A23-97.1 은 SARS COV-2 스파이크 단백질의 RBD 도메인에 있는 에피토프에 결합한다. 단일클론 항체 A23-97.1 은 본래의 SARS CoV-1 스파이크 단백질에 또한, 결합할 수 있다. 이 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단함으로써 감염을 예방하는 것은 아니다. 이는 다른 항체와 비교하여 유일한 경쟁 프로파일을 가지고 있다. 이 항체는 LY-COV555 경쟁 그룹에 있는 항체와 경쟁하지 않고 및 그 클래스에 있는 항체들과 치료 각테일로서 유용하다.
- [0224] 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A23-97.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스

파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.

[0225] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 73으로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 77로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 73 및 77로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.

[0226] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 74, 75 및 76으로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 78, 79, 및 80으로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.

[0227] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 74, 75 및 76으로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 서열 번호 78, 79, 및 80으로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 상기 V_H 는, 서열 번호 73과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 73과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 77과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 77과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.

[0228] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 73으로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 77로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 73 및 77로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.

[0229] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.

[0230] *k. 단일 클론 항체 A23-113.1*

[0231] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A23-113.1 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.

[0232] 단일클론 항체 A23-113.1은 SARS COV-2 스파이크 단백질의 RBD 도메인에 있는 에피토프에 결합한다. 단일클론 항체 A23-113.1은 본래의 SARS CoV-1 스파이크 단백질에 또한 결합할 수 있다. 이 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단함으로써 감염을 예방하고 및 A23-97.1와 비슷한 경쟁 프로파일을 공유한다.

[0233] 어떤 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A23-113.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.

[0234] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 81로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도

95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호85로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나 바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 81 및 85로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나 바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.

[0235] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호82, 83 및 84로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호86, 87 및 88로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나 바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.

[0236] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 82, 83 및 84로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 서열 번호86, 87 및 88로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 상기 V_H 는, 서열 번호 81과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 81과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 85와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호85와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.

[0237] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 81로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 85로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 81 및 85로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.

[0238] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.

[0239] 1. 단일클론 항체 A23-80.1

[0240] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A23-80.1 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나 바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.

[0241] 단일클론 항체 A23-80.1 은 SARS COV-2 스파이크 단백질의 RBD 도메인에 있는 에피토프에 결합한다. 이 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단함으로써 감염을 예방하는 것은 아니다. 이 항체는 다른 항체에 비교하여 유일한 경쟁 프로파일을 가지고 있다. 이는 SARS-CoV-2 위험 렌티바이러스 (pseudotyped lentivirus) 입자를 중화한다.

[0242] 어떤 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A23-80.1항 체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0243] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 89로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호93으로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도

도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 89 및 93으로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일 수 있다.

[0244] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 90, 91 및 92로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 94, 95 및 96으로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일 수 있다.

[0245] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 90, 91 및 92로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 서열 번호 94, 95 및 96으로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 상기 V_H 는, 서열 번호 89와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 89와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 93과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 93과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0246] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 89로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 93으로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 89 및 93으로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일 수 있다.

[0247] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 89로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 93으로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 89 및 93으로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일 수 있다.

[0248] *m. 단일클론 항체 A19-82.1*

[0249] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A19-82.1 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.

[0250] 단일클론 항체 A19-82.1은 SARS CoV-2 스파이크 단백질의 RBD 도메인에 있는 에피토프에 결합한다. 이 항체는 본래의 SARS CoV-1 스파이크 단백질에 또한 결합할 수 있다. 이 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단함으로써 감염을 예방하는 것은 아니다. 이 항체는 다른 항체에 비교하여 유일한 경쟁 프로파일을 가지고 있다. 이 항체가 LY-COV555 경쟁 그룹에 있는 항체와 경쟁하지 않으므로, 그 클래스에 있는 항체들과 치료 각테일로서 유용하다.

[0251] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A19-82.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.

- [0252] 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A19-82.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0253] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 97로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 101로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 97 및 101로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0254] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 98, 99 및 100으로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 102, 103 및 104로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0255] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 98, 99 및 100으로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 서열 번호 102, 103 및 104로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 상기 V_H 는, 서열 번호 97과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 97과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 101과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 101과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0256] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 97로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 101로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 97 및 101로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-1일 수 있다.
- [0257] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.
- [0258] *n. 단일클론 항체 A20-9.1*
- [0259] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A20-9.1 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.
- [0260] 단일클론 항체 A20-9.1은 SARS COV-2 스파이크 단백질의 S1 도메인의 SD2에 있는 에피토프에 결합한다. 이 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단함으로써 감염을 예방하는 것은 아니다. 이 항체는 다른 항체에 비교하여 유일한 경쟁 프로파일을 가지고 있다. 이 항체가 LY-COV555 경쟁 그룹에 있는 항체와 경쟁하지 않는다, 그 클래스에 있는 항체들과 치료 각테일로서 유용하다.
- [0261] 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 A20-9.1 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다

- [0262] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 105로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 109로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 105 및 109로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일 수 있다.
- [0263] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 106, 107 및 108로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 110, 111 및 112로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일 수 있다.
- [0264] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 106, 107 및 108로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 서열 번호 110, 111 및 112로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 상기 V_H 는, 서열 번호 105와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 105과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 109와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 109와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일 수 있다.
- [0265] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 105로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 109로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 105 및 109로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일 수 있다.
- [0266] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.
- [0267] *o. 단일클론 항체 B1-182.1_58CDRH3*
- [0268] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 B1-182.1_58CDRH3 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.
- [0269] 단일클론 항체 B1-182.1_58CDRH3 은 SARS COV-2 스파이크 단백질의 수용체 결합 도메인(receptor binding domain, RBD)에 있는 에피토프, B1-182.1과 같은 에피토프에 결합한다. 이 B1-182.1_58CDRH3 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단함으로써 감염을 예방한다. 이 항체는 SARS-CoV-2 위형 렌티바이러스 입자 (pseudotyped lentivirus particles)를 중화한다. 이는 선도적인 임상 후보, LY-COV555 보다 3 내지 4-배 더 강력하고 및 SARS COV-2를 타겟팅하는 보고된 항체 중에서 가장 강력하다.
- [0270] 어떤 실시 예에서, B1-182.1_58CDRH3 는 하기의 변이체에 대하여 높은 효능을 유지하고: D614G, N439K/D614G, Y543F/D614G, A222V/D614G, del169-70/D614G 및 N501Y/E484K/K417N/D614G 및 H69del-V70del-Y144del-N501Y-A570D-D614G-P681H-T716I-S982A-D1118H에 아미노산 변화를 함유하는 B.1.1.7 (VOC 202012/01); 및 N501Y/D614G 에 대하여 증가된 효능을 가지고 있다. D614G 변이체는 전파되고 있는 우세한 변이체이다. E484K 변이체는 선도하는 항체 (예를 들어, LY-COV555, REGN-10989) 에 의해 중화되지 않거나 또는 효능의 상당한 손실을 보여준다 (REGN-10933). Y453F 변이체는 REGN-10933에 의해 중화되지 않는다. 어떤 실시 예에서, B1-182.1_58CDRH3는 B.1.1.529 변이체에 결합한다.

- [0271] 어떤 예시에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 B1-182.1_58CDRH3 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0272] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 143으로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 5로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 143 및 5로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일 수 있다.
- [0273] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 2, 3, 및 58로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 을 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 6, 7, 및 8로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0274] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 2, 3, 및 58로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 V_H , 서열 번호 6, 7, 및 8로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 상기 V_H 는, 서열 번호 143과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 143과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 5와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 5와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0275] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 143으로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 5로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 143 및 5로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.
- [0276] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다.
- [0277] *p. 단일클론 항체 B1-182.1 heavy /B1-182.1 light_5Mut*
- [0278] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 B1-182.1 heavy /B1-182.1 light_5Mut 항체에 기반하거나 또는 이로부터 유래하며, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다.
- [0279] 단일클론 항체 B1-182.1 heavy /B1-182.1 light_5Mut 는 SARS COV-2 스파이크 단백질의 수용체 결합 도메인 (receptor binding domain, RBD)에 있는 에피토프에 결합한다. 하기에 공개된 대로, B1-182.1 heavy /B1-182.1 light_5Mut 항체는 바이러스가 ACE2 바이러스 수용체에 결합하는 것을 직접적으로 차단함으로써 감염을 예방하고 및 B1-182.1 및 A23-58.1과 유사한 경쟁 프로파일을 가지고 있다. 이 항체는 SARS-CoV-2 위형 렌티바이러스 입자 (pseudotyped lentivirus particles)를 중화한다. 이는 선도적인 임상 후보, LY-COV555 보다 3 내지 4배 더 강력하고 및 SARS COV-2를 타겟팅하는 보고된 항체 중에서 가장 강력하다.
- [0280] 어떤 실시 예에서, B1-182.1 heavy /B1-182.1 light_5Mut 는 하기의 변이체에 대하여 높은 효능을 유지하고:

D614G, N439K/D614G, Y543F/D614G, A222V/D614G, del69-70/D614G 및 N501/E484K/K417N/D614G 및 H69del-V70del-Y144del-N501Y-A570D-D614G-P681H-T716I-S982A-D1118H에 아미노산 변화를 함유하는 B.1.1.7 (VOC 202012/01); 및 N501Y/D614G에 대하여 증가된 효능을 가지고 있다. D614G 변이체는 전파되고 있는 우세한 변이체이다. E484K 변이체는 선도하는 항체 (예를 들어, LY-COV555, REGN-10989) 에 의해 중화되지 않거나 또는 효능의 상당한 손실을 보여준다 (REGN-10933). Y453F 변이체는 REGN-10933에 의해 중화되지 않는다. 어떤 실시 예에서, B1-182.1 heavy /B1-182.1 light_5Mut 는 B.1.1.529 변이체에 결합한다.

[0281] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 B1-182.1 heavy /B1-182.1 light_5Mut 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 (예를 들어, IMGT, Kabat 또는 Chothia 에 따라)을 각각 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0282] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 1로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 144로서 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 추가의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 1 및 144로서 각각 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% (적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%와 같은) 동일한 아미노산 서열을 독립적으로 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0283] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 2, 3, 및 4로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 을 포함하는 V_H , 및/또는 서열 번호 6, 145, 및 146으로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0284] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 2, 3, 및 4로서 각각 제시된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 을 포함하는 V_H , 서열 번호 6, 145, 및 146으로서 각각 제시된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 V_L 을 포함하고, 상기 V_H 는, 서열 번호 1과 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 1과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 상기 V_L 은, 서열 번호 144와 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 것과 같은, 서열 번호 144와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 및 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 이 실시 예에서, 서열 때문에 의한 변화는 CDRs 밖에서 동정 된다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2 일 수 있다.

[0285] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 1로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 를 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 좀 더의 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 144로서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 1 및 144로서 각각 제시된 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 V_L 을 포함하고, 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하고, 및 코로나바이러스를 중화한다. 코로나바이러스는 SARS-CoV-2일 수 있다.

[0286] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체는 바이러스 진입 및/또는 복제를 억제한다,

[0287] 1. 추가적인 항체

[0288] 어떤 실시 예에서, 관심 있는 에피토프에 결합하는 항체는 결합 에세이 (binding assay)에서 여기서 제공되는 항체와 교차-경쟁하는 (cross-compete) (예를 들어, 경쟁적으로 결합을 억제하는, 통계학적으로 의미 있는 방식으로) 이들의 능력에 기반하여 동정될 수 있다. 다른 실시 예에서, 관심 있는 에피토프에 결합하는 항체는 결합 에세이에서 여기서 제공되는 하나 또는 그 이상의 항체와 교차-경쟁하는 (cross-compete) (예를 들어, 경쟁적으로 결합

을 억제하는, 통계학적으로 의미 있는 방식으로) 이들의 능력에 기반하여 동정될 수 있다.

[0289] 공개되는 항체가 결합하는, 스파이크 단백질의 NTD 또는 RBD와 같은, 코로나바이러스 단백질의 스파이크에 있는 같은 에피토프에 결합하는 인간 항체는 어느 적절한 방법을 사용하여 생산될 수 있다. 그러한 항체들은, 예를 들어, 항원적 도전에 반응하여 온전한 인간 항체 또는 인간 가변 부위를 가진 온전한 항체를 생산하기 위하여 수정된 형질전환된 동물에 면역원을 투여하여 제조될 수 있다. 그러한 동물은 전형적으로 인간 면역글로블린 부위 모두 또는 일부를 함유하고, 이는 내부유래 면역글로블린 부위 (endogenous immunoglobulin loci) 를 대체하거나, 또는 이는 크로모솜외로 (extrachromosomally) 존재하거나 또는 그 동물의 크로모솜에 무작위로 병합된다. 그러한 형질전환 생쥐에서, 내부유래 면역글로블린 부위는 일반적으로 불활성화되었다. 형질전환 동물로부터 인간 항체를 얻는 방법의 리비유는 론베르그 ((Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)) 참조. 또한 예를 들어, XENOMOUSE® 기술을 서술하는 미국 특허 U.S. Pat. Nos. 6,075,181 및 6,150,584; HUMAB® 기술을 서술하는 미국 특허 U.S. Pat. No. 5,770,429; K-M MOUSE® 를 서술하는 미국 특허 U.S. Pat. No. 7,041,870, 및 VELOCIMOUSE® 기술을 서술하는, 미국특허 출원 발행 번호 (U.S. Patent Application Publication No.) US 2007/0061900 참조. 그러한 동물에 의해 생성된 온전한 항체로부터의 인간 가변 부위는 추가로, 예를 들어, 다른 인간 고정 부위와 조합에 의해 수정될 수 있다.

[0290] 같은 에피토프에 결합하는 추가의 인간 항체는 하이브리도마-기반한 (hybridoma-based) 방법에 의해 또한 만들어질 수 있다. 인간 단일클론 항체의 생산을 위한 인간 골수종 (myeloma) 및 생쥐-인간 헤테로마엘로마 (heteromyeloma) 세포 주가 서술되었다 ((예를 들어, Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner et al., *J. Immunol.*, 147: 86 (1991) 참조. 인간 B-세포 하이브리도마 기술 (hybridoma technology)을 통해 생성된 인간 항체도 또한 리 등 ((Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)) 에서 서술된다. 추가의 방법에는, 예를 들어, 미국 특허 U.S. Pat. No. 7,189,826 (하이브리도마 세포 주로부터 단일클론 인간 IgM 항체 생산을 서술) 및 니 ((Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006)) (인간-인간 하이브리도마를 서술)에서 서술된 것을 포함한다. 인간 하이브리도마 기술 ((트리오마 기술 (Trioma technology))이 볼머 및 브랜들레인 ((Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005)) 및 볼머 및 브랜들레인 ((Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3): 185-91 (2005)) 에서 또한 서술된다. 인간 항체는 인간-유래 파지디스플레이 라이브러리 (human-derived phage display libraries)로부터 선택된 Fv 클론 가변 도메인 서열을 분리시켜 또한 생성될 수 있다. 그러한 가변 도메인 서열은 그 후 바람직한 인간 고정 도메인과 조합될 수 있다.

[0291] 같은 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 및 항원 결합 단편은 바람직한 결합 특징을 갖는 항체를 위한 조합 라이브러리 (combinatorial libraries) 를 스크리닝하여 분리될 수 있다. 예를 들어, 파지 디스플레이 라이브러리 (phage display libraries)를 생성하고 및 그러한 라이브러리를 바람직한 결합 특징을 소유하고 있는 항체를 위하여 스크리닝한다. 그러한 방법은 예를 들어, 후겐보움 등 ((Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, N.J., 2001)) 에 리비유 되어있고 및 추가로, 예를 들어, 맥카퍼티 등 (McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991)); 마크스 등 ((Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992)); 마크스 및 브래드버리 ((Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, N.J., 2003)); 시드후 등 ((Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004)); 리 등 ((Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004)); 펠루우세 ((Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004)); 및 리 등 (Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 (2004))에서 서술되었다.

[0292] 특정 파지 디스플레이 방법 (phage display method) 에서, V_H 및 V_L 유전자의 레퍼토리(repertoires)는 중합효소 연쇄 반응 (polymerase chain reaction, PCR) 에 의해 별도로 클론 되고 및 파지 디스플레이에서 무작위로 재조합되고, 이는 그 후 윈터 등 ((Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994))에서 서술된 대로 항원-결합 파지 (antigen-binding phage) 에 대하여 스크린 될 수 있다. 파지는 전형적으로 항체 단편을, 단일-체인 Fv (scFv) 단편 ((single-chain Fv (scFv) fragments)) 으로서 또는 Fab 단편으로서 보여준다. 면역화된 소스로부터의 라이브러리는 하이브리도마 구축을 요구하지 않고 면역원에 대한 높은-친화력 항체를 제공한다. 다른 한편으로, 순수한 레퍼토리 (naive repertoire) 는 넓은 범위의 비-자기 (non-self) 및 또한 자기 항원 (self antigens)에 대한 단일 소스의 항체를 제공하기 위하여 그리피스 등에서 서술된 대로 면역화 없이 클론 (예를 들어, 인간으로부터) 될 수 있다((Griffiths et al., *EMBO J.* 12: 725-734 (1993)). 최종으로, 순수한 라이브러리 (naive libraries) 는 줄기세포로부터의 재정렬되지 않은 V-유전자 단편을 클로닝하고, 및 매우 가

변적인 CDR3 부위를 암호화하기 위하여 및 시험관에서 재정렬을 달성하기 위하여 무작위 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 사용하여 후계분 및 윈터((Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992))에서 서술된 대로, 합성적으로 만들어질 수 있다. 인간 항체 파지 라이브러리를 서술하는 특허 발행물 (Patent publications) 에는, 예를 들어: U.S. Pat. No. 5,750,373, 및 US Patent Publication Nos. 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, 및 2009/0002360가 포함된다. 바람직한 결합 특징을 가진 항체를 선택하기 위하여 하기 실시 예 부분에서 공개된 것과 비슷한, 경쟁적 결합 에세이 (Competitive binding assays)가 사용될 수 있다.

[0293] 2. 항체 및 항원 결합 단편의 추가적인 서술

[0294] 여기서 공개되는 항체 또는 항체의 항원 결합 단편은 인간 항체 또는 그의 단편일 수 있다. 키메라 항체도 또한 제공된다. 항체 또는 항원 결합 단편에는, (이것에만 국한하지 않으나) 다른 소스로부터의 인간 프레임워크 부위, 또는 최적화된 프레임워크 부위와 같은, 어느 적절한 프레임워크 부위가 포함될 수 있다. 다른 한편으로, 이것에만 국한하지 않으나 생쥐 또는 원숭이 프레임워크 와 같은, 이종의 프레임워크 부위가 항체의 중쇄 또는 경쇄에 포함될 수 있다.

[0295] 항체는 어느 아이소타입 (isotype) 일 수 있다. 항체는, 예를 들어, IgA, IgM 또는, IgG₁, IgG₂, IgG₃, 또는 IgG₄ 와 같은 IgG 항체가 될 수 있다. 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 항체의 클래스는 서로 전환될 수 있다. 한 관점에서, V_L 또는 V_H 를 암호화하는 핵산 분자는 이것이 경쇄 또는 중쇄의 고정 부위 각각을 암호화하는 핵산 서열 어느 것도 포함되지 않도록 분리된다. V_L 또는 V_H 를 암호화하는 핵산 분자는 그 후 다른 클래스의 면역글로블린 분자로부터의 C_L 또는 C_H 를 암호화하는 핵산 서열에 작동적으로 연결된다. 이는, 예를 들어, 벡터 또는 C_L 또는 C_H 체인을 포함하는 핵산 분자를 사용하여 달성될 수 있다. 예를 들어, 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 원래 IgG 는 IgA로 클래스 전환 (class switched)될 수 있다. 클래스 전환 (Class switching) 은 하나의 IgG 서브클래스를 다른 것으로, IgG₁ 로부터 IgG₂, IgG₃, 또는 IgG₄ 로와 같은 것으로, 전환하는데 사용될 수 있다.

[0296] 어떤 예시에서, 공개되는 항체는, 2량체 (dimers), 3량체 (trimers), 4량체 (tetramers), 5량체 (pentamers), 6량체 (hexamers), 7량체 (septamers), 8량체 (octomers) 및 등과 같은 항체의 올리고머 (oligomers)이다.

[0297] 항체 또는 항원 결합 단편은 유도체화 (derivatized) 되거나 또는 다른 분자 (다른 펩티드 또는 단백질과 같은) 에 연결될 수 있다. 일반적으로, 항체 또는 항원 결합 단편은 스파이크 단백질에의 결합이 유도체화 (derivatization) 또는 라벨링 (labeling) 에 의해 나쁘게 영향을 주지 않도록 유도체화 된다. 예를 들어, 항체 또는 항원 결합 단편은, 다른 항체 ((예를 들어, 이중-특이 항체 또는 디아바디 (diabody) 와 같은)), 검출 가능한 마커, 주효 분자, 또는 항체 또는 항체 부분을 다른 분자 ((스트렙타비딘 중심부위 (streptavidin core region) 또는 폴리히스티딘 태그 (polyhistidine tag)와 같은))와의 연결을 매개할 수 있는 단백질 또는 펩티드 와 같은 분자 개체 (molecular entities) 하나 또는 그 이상에 기능적으로 연결될 수 있다.

[0298] (a) 결합 친화력

[0299] 몇 가지 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 친화력이 (예를 들어, K_D 로 측정) 1.0 x 10⁻⁸ M 이내로, 5.0 x 10⁻⁸ M 이내로, 1.0 x 10⁻⁹ M 이내로, 5.0 x 10⁻⁹ M 이내로, 1.0 x 10⁻¹⁰ M 이내로, 5.0 x 10⁻¹⁰ M 이내로, 또는 1.0 x 10⁻¹¹ M 이내로 특이적으로 결합한다. K_D는, 예를 들어, 관심 있는 항체의 Fab 버전과 이의 항원으로 수행된 방사성 라벨 된 항원 결합 에세이 (radiolabeled antigen binding assay, RIA)로 측정될 수 있다. 한 에세이에서, Fab의 항원에 대한 용액 결합 친화력 (solution binding affinity) 이 라벨 되지 않은 항원의 적정 시리즈 (titration series)의 존재하에서 (¹²⁵I)-라벨 된 항원의 최소 농도와 Fab를 평형 시키고, 그 후 항-Fab 항체-코팅된 플레이트로 결합 된 항원을 캡처하여 측정된다 ((예를 들어, Chen *et al.*, *J. Mol. Biol.* 293(4):865-881, 1999) 참조). 에세이를 위한 조건을 확립하기 위하여, MICROTITER® 다수-웰 플레이트 (multi-well plates) (Thermo Scientific)가 50 mM 소듐 카보네이트 (sodium carbonate)(pH 9.6) 에 있는 5 μg/ml의 캡처링 항-Fab 항체 (Cappel Labs)로 하룻밤 동안 코팅되고, 및 이어서 PBS에 있는 2% (w/v) 소 혈청 알부민(bovine serum albumin)으로 실온에서 (약 23° C) 2 내지 5시간 동안 차단시킨다. 비-흡착 플레이트 (non-adsorbent plate) (NuncTM Catalog #269620) 에서, 100 μM 또는 26 pM

[¹²⁵I]-항원을 관심 있는 Fab의 시리즈 희석액과 혼합시킨다 ((예를 들어, 프레스타 등 (Presta *et al.*, *Cancer Res.* 57(20):4593-4599, 1997)에 있는 항-VEGF 항체, Fab-12의 평가와 일치하게)). 관심 있는 Fab는 그 후 랑뎀 동안 배양시킨다; 그러나, 배양은 평형에 도달되는 것을 확실히 하기 위하여 더 긴 기간 동안 (예를 들어, 약 65시간 동안) 계속될 수 있다. 그 이후에, 이 혼합물은 실온에서 배양을 위하여 캡처 플레이트 (capture plate)로 이전된다 (예를 들어, 1시간 동안). 그 후 용액은 제거되고 및 플레이트는 PBS에 있는 0.1% 폴리소르베이트 20 (polysorbate 20) (TWEEN-20®)으로 8번 세척시킨다. 플레이트가 건조되었을 때, 150 µl/웰의 신틸란트 (scintillant) (MicroScint™-20; PerkinElmer)가 첨가되고, 및 플레이트는 TOPCOUNT™ 감마 카운터 (gamma counter) (PerkinElmer)에서 10분 동안 카운트 된다. 최대 결합의 20% 미만 또는 20%와 동등한 값을 주는 각 Fab의 농도가 경쟁 결합 에세이 (competitive binding assays) 에서 사용되기 위하여 선택된다.

[0300]

다른 에세이에서, K_D 는 생물층 간섭법(Biolayer interferometry) (BLI)을 사용하는 표면 플라스몬 공명 에세이 (surface plasmon resonance assays) 를 사용하여 측정될 수 있다, 실시예 부분 참조. 다른 실시 예에서, K_D 는 비아코아-2000 (BIAcore®-2000) 또는 비아코아-3000 (BIAcore®-3000) (BIAcore, Inc., Piscataway, N.J.) 을 사용하여 25° C에서 고정된 항원 (immobilized antigen) CM5 칩을 ~10 반응 유닛 (response units, RU)으로 측정될 수 있다. 간략하게, 카복시메틸화 된 덱스트란 바이오센서 칩 (carboxymethylated dextran biosensor chips) (CM5, BIAcore®, Inc.) 이 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카보디이미드 하이드로클로라이드 ((N-ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide hydrochloride, EDC)) 및 N-하이드록시석신이미드 (N-hydroxysuccinimide, NHS)로 공급자의 안내서에 따라 활성화된다. 카플된 단백질의 대략 10 반응 유닛 (response units, RU)을 달성하기 위하여 흐름 속도 (flow rate) 5 l/분으로 주사되기 전에 항원을 10 mM 소듐 아세테이트 (sodium acetate), pH 4.8로, 5 µg/ml (~0.2 µM)로 희석시킨다. 항원의 주사 후에, 미반응된 그룹을 차단하기 위하여 1M 에탄올아민 (ethanolamine) 이 주사된다. 동역학(kinetics) 측정을 위하여, Fab 두-배 시리즈 희석액 (0.78 nM 에서 500 nM까지) 이 PBS에서 0.05% 폴리소르베이트 20 (polysorbate 20) (TWEEN-20™) 계면활성제 (surfactant) (PBST)와 함께 25° C에서 흐름 속도 대략 25 l/min으로 주사된다. 결합 속도 (Association rates, k_{on}) 및 해리 속도(dissociation rates, k_{off})가 단순한 1대1 랑뎀어 결합 모델 (Langmuir binding model) ((BIAcore® 평가 소프트웨어 버전 3.2 (Evaluation Software version 3.2))을 사용하여 동시에 결합 및 해리 센서 그램 (sensorgrams)에 맞추어 계산된다. 평형 해리 상수 (equilibrium dissociation constant, K_D)는 k_{off}/k_{on} 비율로서 계산된다. 예를 들어, 첸 등 (Chen *et al.*, *J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999)) 참조. 만약 on-속도 (on-rate)가 상기 표면 플라스몬 공명 에세이 (surface plasmon resonance assay) 로 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 를 초과하면, 그러면 on-속도는 형광 방출 효능 (fluorescence emission intensity) ((자극 (excitation)=295nm; 방출(emission)=340 nm, 16nm 주파수 폭(band-pass))의 증가 또는 감소를 25° C 에서 PBS pH 7.2에 있는 20 nM 항-항원 항체 (Fab 형태)를, 멈춤-흐름(stop-flow) 장치가 있는 분광계 (Aviv Instruments) 또는 교반되는 큐벳이 있는 8000-시리즈 SLM-AMINCO™ 분광계(spectrophotometer) (ThermoSpectronic)와 같은, 분광계에서 측정된 대로 증가하는 농도의 항원 존재하에서, 측정하는 형광 약화 (fluorescent quenching) 기술을 사용하여 결정될 수 있다. 친화력은 Carterra LSA를 사용하여 고속 대량 (high throughput) SPR을 사용하여 측정될 수 있다.

[0301]

(b) 다중특이성 (mutispecific)항체

[0302]

어떤 실시 예에서, 여기서 제공된 대로, 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편을 포함하는 이중-특이성 (bi-specific) 항체와 같은, 다중-특이성 (multi-specific) 항체가 제공된다. 어느 적절한 방법이 두 개 또는 그 이상의 항체, 같은 타입 또는 다른 타입의 항원결합 단편 (scFvs와 같은)의 교차연결과 같은, 다중-특이성 항체를 디자인하고 및 생산하는데 사용될 수 있다. 다중-특이성 항체를 만드는 예시적인 방법에는 PCT Pub. No. WO2013/163427에서 서술된 것이 포함되며, 이는 여기 그 전문이 참고문헌으로 병합되어 있다. 적절한 교차 링커의 비-제한적인 예시에는 적절한 스페이서 (spacer) ((m-말레이미도벤조일-N-하이드록시석신이미드 에스테르 (m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimide ester)에 의해 두 개의 뚜렷이 다른 반응 그룹이 분리되어 있는 헤테로이중기능 (heterobifunctional) 또는 호모이중기능 (homobifunctional) ((디석신이미딜 수버레이트 (disuccinimidyl suberate)와 같은)) 인 것을 포함한다.

[0303]

다중-특이성 항체는 여기서 제공되는 항체 또는 항원 결합 단편에 의해 코로나바이러스 스파이크 단백질에 결합하게 하는 어느 적절한 포맷 (format) 을 가질 수 있다. 이중 특이성 단일 체인 항체는 단일 핵산 분자에 의해 암호화될 수 있다. 이중 특이성 단일 체인 항체의 비-제한적인 예시는 물론, 그러한 항체를 구축하는 방법은 미

국 특허 U·S. Pat. Nos. 8,076,459, 8,017,748, 8,007,796, 7,919,089, 7,820,166, 7,635,472, 7,575,923, 7,435,549, 7,332,168, 7,323,440, 7,235,641, 7,229,760, 7,112,324, 6,723,538 에 제공된다. 이중 특이성 단일 체인 항체의 추가의 예시는 PCT 출원번호 (PCT application No.) WO 99/54440; Mack *et al.*, *J. Immunol.*, 158(8):3965-3970, 1997; Mack *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 92(15):7021-7025, 1995; Kufer *et al.*, *Cancer Immunol. Immunother.*, 45(3-4):193-197, 1997; Löffler *et al.*, *Blood*, 95(6):2098-2103, 2000; 및 Brühl *et al.*, *J. Immunol.*, 166(4):2420-2426, 2001에서 발견할 수 있다. 이중 특이성 Fab-scFv ("바이바디(bibody)") 분자의 생산은, 예를 들어, Schoonjans *et al.* (*J. Immunol.*, 165(12):7050-7057, 2000) 및 Willems *et al.* (*J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed Life Sci.* 786(1-2):161-176, 2003)에 서술되어 있다. 바이바디 (bibodies)를 위하여, scFv 분자는 VL-CL (L) 또는 VH-CH1 체인 중 하나에 융합 될 수 있다, 즉 바이바디를 생산하기 위하여 하나의 scFv가 Fab 체인의 C-말단에 융합될 수 있다.

[0304] 이중 가변 도메인 면역글로블린 (dual variable domain immunoglobulin) 또는 DVD-면역글로블린 분자로서 알려진 이중 특이성 4가 변이 면역글로블린이, 여기 참고문헌으로 병합된, 우등 (Wu *et al.*, *Mabs.* 2009;1:339-47, doi: 10.4161/mabs.1.4.8755)에서 공개된다. 또한 여기 참고문헌으로 병합된, Nat Biotechnol. 2007 Nov;25(11):1290-7. doi: 10.1038/nbt1345. Epub 2007 Oct 14., 또한 참조. DVD-면역글로블린 분자는 두 개의 중쇄 및 두 개의 경쇄를 포함한다. IgG와는 달리, 그러나, DVD-면역글로블린 분자의 중쇄 및 경쇄 둘 다는 존재하는 단일클론 항체 (monoclonal antibody, mAb)의 VH 및 VL의 N-말단에 링커 서열을 통해 연결된 추가의 가변 도메인 (variable domain, VD)을 함유한다. 그러므로, 중쇄 및 경쇄가 조합할 때, 결과로 얻어지는 DVD-면역글로블린 분자는 4개의 항원 인식 부위를 함유한다, 여기 참고 문헌으로 병합된, 자콥 등 (Jakob *et al.*, *Mabs* 5: 358-363, 2013) 참조, 도식적인 및 스페이스-필링 다이어그램 (space-filling diagrams) 은 자콥 등의 도면 1 참조. DVD-면역글로블린 분자는 각 D Fab에 있는 두 개의 다른 항원에 동시에 결합하는 기능을 한다.

[0305] 가장 가장자리 또는 N-말단 가변 도메인은 VD1이라고 불리고 및 가장 내부 가변 도메인은 VD2 라고 불린다; VD2 는 C- 말단 CH1 또는 CL에 인접한다. 자콥 등 *supra*, 에서 공개된 대로, DVD-면역글로블린 분자는 대량으로 제조되고 및 균질하게 정제될 수 있으며, 전통적인 IgG₁ 의 약리학적 성질과 비슷한 약리학적 성질을 가지며, 및 생체 내 효능을 보여준다. 공개되는 단일클론 항체 어느 것도 DVD-면역글로블린 포맷에 포함될 수 있다.

[0306] (c)항원 결합 단편

[0307] 중쇄 및 V_L 을 포함하고 및 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 Fab, F(ab')₂, 및 Fv 와 같은, 항원 결합 단편이 본 공개에 포함된다. 이들 항체 단편은 항원과 선택적으로 결합하는 능력을 유지하고 있으며 및 "항원-결합 (antigen-binding)" 단편이다. 그러한 단편의 비-제한적인 예시에는 다음이 포함된다:

[0308] (1) Fab, 항체 분자의 단일가 항원-결합 단편을 포함하는 단편으로, 전체 항체를 파파인 (papain) 효소로 소화시켜 온전한 경쇄 및 하나의 중쇄 일부분을 얻게 하여 생산될 수 있다;

[0309] (2) Fab', 항체 분자의 단편으로 전체 항체를 펩신 (pepsin)으로 처리하고, 이어서 환원시켜, 온전한 경쇄와 중쇄의 일부분을 생산하게 하여 얻어질 수 있다

[0310] (3) (Fab')₂, 전체 항체를 효소 펩신 (pepsin)으로 처리하고 이어지는 환원 없이 얻어질 수 있는 항체 분자의 단편; F(ab')₂ 는 두 개의 이 황화 결합 (disulfide bonds)에 의해 서로 붙어 있는 두 개의 Fab'의 이량체이다;

[0311] (4) Fv, 두 개의 체인으로서 발현되는 V_L 및 V_H 을 함유하는 유전적으로 제작된 단편; 및

[0312] (5) 단일 체인 항체 (scFv와 같은), 유전적으로 융합된 단일 체인 분자로서 적절한 폴리펩티드 링커에 의해 연결된 V_H 및 V_L 를 함유하는 유전적으로 제작된 분자로서 정의된다 (예를 들어, Ahmad *et al.*, *Clin. Dev. Immunol.*, 2012, doi:10.1155/2012/980250; Marbry and Snavely, *IDrugs*, 13(8):543-549, 2010 참조). scFv에서 V_H-도메인 및 V_L-도메인의 분자 내 방향은, 제공된 항체에 대해서는 결정적이지 않다 (예를 들어, 제공되는 다중특이 항체에 대하여). 그러므로, 두 개의 가능한 정렬을 가진 scFvs (V_H-도메인-링커 도메인-V_L-도메인; V_L-도메인-링커 도메인-V_H-도메인) 가 사용될 수 있다.

[0313] (6) 단일 체인 항체의 이량체 (scFV)₂, scFV의 이량체로서 정의된다. 이는 또한 "미니항체 (miniantibody)"라고도 불린다.

- [0314] 상기-논의된 항원 결합 단편을 생산하는 어느 적절한 방법이 사용될 수 있다. 비-제한적인 예시는 하로우 및 레인 (Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, 2nd, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 2013) 에서 제공된다.
- [0315] 항원 결합 단편은 항체의 단백질 분해 가수분해에 의해 또는 숙주 세포 (*E. coli* 세포에서처럼) 에서 단편을 암호화하는 DNA를 발현으로 제조될 수 있다. 항원 결합 단편은 또한 전체 항체를 전통적인 방법으로 펩신 (pepsin) 또는 파파인 (papain) 소화로 얻을 수 있다. 예를 들어, 항원 결합 단편은 항체를 펩신으로 효소적 절개 F(ab')₂ 로 표시되는 5S 단편을 제공하여 생산될 수 있다. 이 단편은 추가로 티올 환원 (thiol reducing) 하는 제제를 사용하고, 및 선택적으로 이 황화 링크의 개열 결과의 설프하이드릴 그룹에 대한 선택적인 차단 그룹을 사용하여 절개될 수 있어, 3.5S Fab' 단일가 단편이 생산될 수 있다.
- [0316] 중쇄의 분리로 단일가 (monovalent) 경쇄-중쇄 단편 형성, 이 단편의 추가 개열, 또는 다른 효소적, 화학적 또는 유전적 기술과 같은, 항체를 절개는 다른 방법이, 온전한 항체에 의해 인식되는 항원에 이 단편이 결합하는 한, 또한 사용될 수 있다.
- [0317] (d) 변이체
- [0318] 어떤 실시 예에서, 항체의 아미노산 서열 변이체 및 이중특이 항체가 여기서 제공된다. 예를 들어, 항체 또는 이중특이 항체의 결합 친화력 및/또는 다른 생물학적 성질을 개선하는 것은 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 항체 V_H 도메인 및/또는 V_L 도메인을 암호화하는 핵산 서열에 적절한 수정을 도입하거나, 또는 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있다. 그러한 수정에는, 예를 들어, 항체의 아미노산 서열 내에 잔기의 삭제, 및/또는 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 최종 구조체가 바람직한 성질, 예를 들어, 항원-결합, 을 제공한다면, 삭제, 삽입, 및 치환의 어느 조합은 최종 구조체에 도달하기 위하여 만들어 질 수 있다
- [0319] 어떤 실시 예에서, 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 가지고 있는 변이체가 제공된다. 치환적인 돌연변이 제조에 대한 흥미있는 부위에는 CDRs 및 프레임워크 부위가 포함된다. 아미노산 치환은 관심 있는 항체에 도입될 수 있으며 및 생산물은 바람직한 활성, 예를 들어, 유지된/개선된 항원결합, 감소된 면역원성, 또는 개선된 ADCC 또는CDCv에 대하여 스크린 된다.
- [0320] 변이체는 전형적으로 V_H 및 V_L 부위 사이에 올바른 접합 및 안정화에 필요한 아미노산 잔기를 유지하고 있으며, 및 분자의 낮은 pI 및 낮은 독성을 보존하기 위하여 잔기들의 전하 특징 (charge characteristics)을 유지할 것이다. 수율은 증가시키기 위하여 V_H 및 V_L 부위에 아미노산 치환이 만들어질 수 있다.
- [0321] 어떤 실시 예에서, 항체의 V_H는 서열 번호 1중 하나로서 제시된 아미노산 서열에 비교하여 10개까지(1까지, 2개까지, 3개까지, 4개까지, 5개까지, 6개까지, 7개까지, 8개까지, 또는 9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존적 아미노산 치환과 같은) 을 포함한다. 어떤 실시 예에서, 항체의 V_L은 서열 번호 5중 하나로서 제시된 아미노산 서열에 비교하여 10개까지(1까지, 2개까지, 3개까지, 4개까지, 5개까지, 6개까지, 7개까지, 8개까지, 또는 9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존적 아미노산 치환과 같은) 을 포함한다.
- [0322] 좀 더의 실시 예에서, 항체의 V_H는 서열 번호 9중 하나로서 제시된 아미노산 서열에 비교하여 10개까지(1까지, 2개까지, 3개까지, 4개까지, 5개까지, 6개까지, 7개까지, 8개까지, 또는 9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존적 아미노산 치환과 같은) 을 포함한다. 어떤 실시 예에서, 항체의 V_L은 서열 번호 13중 하나로서 제시된 아미노산 서열에 비교하여 10개까지(1까지, 2개까지, 3개까지, 4개까지, 5개까지, 6개까지, 7개까지, 8개까지, 또는 9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존적 아미노산 치환과 같은) 을 포함한다.
- [0323] 추가의 실시 예에서, 항체의 V_H는 서열 번호 17중 하나로서 제시된 아미노산 서열에 비교하여 10개까지(1까지, 2개까지, 3개까지, 4개까지, 5개까지, 6개까지, 7개까지, 8개까지, 또는 9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존적 아미노산 치환과 같은) 을 포함한다. 어떤 실시 예에서, 항체의 V_L은 서열 번호 21중 하나로서 제시된 아미노산 서열에 비교하여 10개까지(1까지, 2개까지, 3개까지, 4개까지, 5개까지, 6개까지, 7개까지, 8개까지, 또는 9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존적 아미노산 치환과 같은) 을 포함한다.
- [0324] 더 다른 실시 예에서, 항체의 V_H는 서열 번호 25중 하나로서 제시된 아미노산 서열에 비교하여 10개까지(1까지, 2개까지, 3개까지, 4개까지, 5개까지, 6개까지, 7개까지, 8개까지, 또는 9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존

9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존적 아미노산 치환과 같은) 을 포함한다.

[0333] 좀 더의 실시 예에서, 항체의 V_H 는 서열 번호 97중 하나로서 제시된 아미노산 서열에 비교하여 10개까지(1가지, 2개까지, 3개까지, 4개까지, 5개까지, 6개까지, 7개까지, 8개까지, 또는 9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존적 아미노산 치환과 같은) 을 포함한다. 어떤 실시 예에서, 항체의 V_L 은 서열 번호 101중 하나로서 제시된 아미노산 서열에 비교하여 10개까지(1가지, 2개까지, 3개까지, 4개까지, 5개까지, 6개까지, 7개까지, 8개까지, 또는 9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존적 아미노산 치환과 같은) 을 포함한다.

[0334] 좀 더의 실시 예에서, 항체의 V_H 는 서열 번호 105중 하나로서 제시된 아미노산 서열에 비교하여 10개까지(1가지, 2개까지, 3개까지, 4개까지, 5개까지, 6개까지, 7개까지, 8개까지, 또는 9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존적 아미노산 치환과 같은) 을 포함한다. 어떤 실시 예에서, 항체의 V_L 은 서열 번호 109중 하나로서 제시된 아미노산 서열에 비교하여 10개까지(1가지, 2개까지, 3개까지, 4개까지, 5개까지, 6개까지, 7개까지, 8개까지, 또는 9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존적 아미노산 치환과 같은) 을 포함한다.

[0335] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은, 알려진 프레임워크 부위에 비교하여, 또는 항체의 프레임워크 부위에 비교하여, 항체/이중특이 항체의 중쇄, 또는 항체/이중특이 항체의 경쇄, 또는 항체/이중특이 항체의 중쇄 및 경쇄의 프레임워크 부위에, 10개까지(1가지, 2개까지, 3개까지, 4개까지, 5개까지, 6개까지, 7개까지, 8개까지, 또는 9개까지와 같은) 아미노산 치환 (보존적 아미노산 치환과 같은) 을 포함할 수 있다.

[0336] 어떤 실시 예에서, 치환, 삽입, 또는 삭제는 그러한 변경이 항체가 항원에 결합하는 능력을 상당히 감소하지 않는 한 하나 또는 그 이상의 CDRs 내에서 일어날 수 있다. 예를 들어, 결합 친화력을 상당히 감소시키지 않는 보존적 변경 (예를 들어, 여기서 제공된 대로 보존적 치환) 이 CDRs 내에 만들어질 수 있다. 상기 제공된 변이체 V_H 및 V_L 서열의 어떤 실시 예에서, 각 CDR은 변경되지 않거나, 또는 하나, 두 개, 또는 세 개 이내의 아미노산 치환 함유한다. 상기 제공된 변이체 V_H 및 V_L 서열의 어떤 실시 예에서, 단지 프레임워크 잔기만 수정되고 그러므로 CDRs 는 변경되지 않는다.

[0337] 항체의 결합 친화력을 증가시키기 위하여, V_L 및 V_H 단편은, HCDR3 부위 또는 LCDR3 부위 내에서, 자연적인 면역 반응 동안 항체의 친화력 성숙에 책임있는 생체 내 체세포 돌연변이 과정과 유사한 과정과 같이, 무작위로 돌연변이 시킬 수 있다. 그러므로, 시험관 내 친화도 성숙은 HCDR3 또는 LCDR3에 각각 보완적인 PCR 프라이머를 사용하여, V_H 및 V_L 부위를 증폭시켜 달성될 수 있다. 이 과정에서, 프라이머는 특정 위치에 4개의 뉴클레오타이드의 무작위 혼합으로 "스파이크 되어(spiked)" 결과로 얻어진 PCR 생산물은 V_H 및/또는 V_L CDR3 부위에 무작위 돌연변이가 도입된 V_H 및 V_L 단편을 암호화한다. 이 무작위로 돌연변이 된 V_H 및 V_L 단편은 스파이크 단백질에 대한 결합 친화력을 결정하기 위하여 검사될 수 있다. 특별한 예시에서, V_H 아미노산 서열은 서열 번호 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 97, 또는 105 중 하나이다. 다른 예시에서, V_L 아미노산 서열은 서열 번호 5, 13, 21, 29, 37, 45, 53, 61, 69, 77, 85, 93, 101, 또는 109 중 각각 하나이다.

[0338] 어떤 실시 예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 항체 또는 항원 결합 단편이 당화되는 (glycosylated) 정도로 증가 또는 감소하기 위하여 변경된다. 당화 부위의 삽입 또는 삭제는 하나 또는 그 이상의 당화 부위가 생성 또는 제거되도록 아미노산 서열을 변경하여 편리하게 달성될 수 있다.

[0339] 항체가 Fc 부위를 포함하는 곳에서, 여기에 부착되는 탄수화물은 변경될 수 있다. 포유류 세포에서 생산되는 자연적인 항체는 전형적으로 Fc 부위의 CH_2 도메인의 Asn297에 N-연결에 의해 붙는 가지형 (branched), 바이안테너리 (biantennary) 올리고사카라이드 (oligosaccharide)를 포함한다. 예를 들어, 라이트 등(Wright *et al. Trends Biotechnol.* 15(1):26-32, 1997) 참조. 올리고사카라이드는 다양한 탄수화물을 포함할 수 있다, 예를 들어, 만노즈 (mannose), N-아세틸 글루코사민 (N-acetyl glucosamine, GlcNAc), 갈락토즈(galactose), 및 시알릭 에시드(sialic acid) 는 물론, 바이안테너리 올리고사카라이드 구조의 "스텝(stem)"에 있는 GlcNAc 에 붙는 후코스 (fucose). 어떤 실시 예에서, 항체에 있는 올리고사카라이드의 수정은 특정한 개선된 성질을 가진 항체 변이체를 생성하기 위하여 만들어질 수 있다.

[0340] 한 실시 예에서, Fc 부위에 붙은 (직접적으로 또는 간접적으로) 후코스가 부족한 탄수화물 구조를 가진 변이체가 제공된다. 예를 들어, 그러한 항체에서의 후코스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40% 일 수 있다. 후코스의 양은, 예를 들어, WO 2008/077546 에서 서술된 대로, MALDI-TOF 질량 분광계로

측정한 대로 Asn 297에 붙은 모든 당구조의 총량에 대비하여, Asn297에 있는 슈가 체인 (sugar chain) 내에 후코스의 평균량을 계산하여 결정된다. Asn297은 Fc 부위에 있는 대략 위치 297에 놓여 있는 아스파라긴 잔기를 의미한다; 그러나, Asn297 은 297 위치의 위쪽 또는 아래쪽 약 ± 3 아미노산에 놓여 있을 수도 있다, 즉, 항체 내 사소한 서열 변이 때문에, 위치 294 및 300 사이일 수 있다. 그러한 후코실화 변이체는 ADCC 기능을 개선시켰을 수도 있다. 예를 들어, US 특허 발행 번호(Patent Publication Nos.) US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd) 참조. "탈후코실화된 (defucosylated)" 또는 "후코스-결여된 (fucose-deficient)" 항체 변이체와 관련된 발행물의 예시에는: 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; WO 2002/031140; Okazaki *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 336(5):1239-1249, 2004; Yamane-Ohnuki *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.* 87(5):614-622, 2004이 포함된다. 탈후코실화된 항체 생산 능력이 있는 세포 주의 예시에는 단백질 후코실화가 결여된 Lec 13 CHO 세포 (Ripka *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.* 249(2):533-545, 1986; US Pat. Appl. No. US 2003/0157108 및 WO 2004/056312, 특히 실시예 11에서), 및 알파-1,6-후코실 트랜스페라제 (α -1,6-fucosyltransferase) 유전자, FUT8, 닉아웃 CHO 세포와 같은, 닉아웃 세포 주 (knockout cell lines) 가 포함된다 (예를 들어, Yamane-Ohnuki *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.*, 87(5): 614-622, 2004; Kanda *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688, 2006; 및 WO2003/085107 참조).

[0341] 항체 변이체는 추가로 이등분된 올리고사카라이드 (bisected oligosaccharides) 로 제공된다, 예를 들어, Fc 부위에 붙은 바이안테너리 올리고사카라이드가 GlcNAc에 의해 이등분된다. 그러한 항체 변이체는 후코실화를 감소시켰거나 및/또는 ADCC 기능을 개선시켰을 수 있다. 그러한 항체 변이체의 예시는 예를 들어, WO 2003/011878 (Jean-Mairet *et al.*); U.S. Pat. No. 6,602,684 (Umana *et al.*); 및 US 2005/0123546 (Umana *et al.*) 에 서술된다. Fc 부위에 붙은 올리고사카라이드에 있는 적어도 하나의 갈락토즈 (galactose) 잔기를 가진 항체 변이체가 또한 제공된다. 그러한 항체 변이체는 CDC 기능을 개선시켰을 수 있다. 그러한 항체 변이체가, 예를 들어, WO 1997/30087; WO 1998/58964; and WO 1999/22764에 서술된다.

[0342] 몇몇의 실시 예에서, 항체 또는 이중 특이 항체의 고정 부위는 항체의 생체 내 반감기를 최적화하기 위하여 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함한다. IgG Abs 의 혈청반감기는 신생아 Fc 수용체 (FcRn) 에 의해 조절된다. 그러므로, 몇몇의 실시 예에서, 항체는 FcRn에 결합을 증가하는 아미노산 치환을 포함한다. 그러한 치환의 비-제한적인 예시에는 IgG 고정 부위 T250Q 및 M428L (예를 들어, Hinton *et al.*, *J Immunol.*, 176(1):346-356, 2006 참조); M428L 및 N434S ("LS" 돌연변이, 예를 들어, Zalevsky, *et al.*, *Nature Biotechnol.*, 28(2):157-159, 2010 참조); N434A (예를 들어, Petkova *et al.*, *Int. Immunol.*, 18(12):1759-1769, 2006 참조); T307A, E380A, 및 N434A (예를 들어 Petkova *et al.*, *Int. Immunol.*, 18(12):1759-1769, 2006 참조); 및 M252Y, S254T, 및 T256E (예를 들어, Dall'Acqua *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 281(33):23514-23524, 2006 참조) 에 치환을 포함한다. 공개되는 항체 및 항원 결합 단편은 상기 목록 되어 있는 치환 어느 것을 포함하는 Fc 폴리펩티드에 연결되거나 이를 포함할 수 있다, 예를 들어, Fc 폴리펩티드는 EU 지수 번호 매김 시스템 (EU index numbering system) 에 따라 M428L 및 N434S 치환을 포함할 수 있다.

[0343] 어떤 실시 예에서, 여기서 제공된 항체 또는 이중특이 항체는 추가의 비단백질성인 잔기 (nonproteinaceous moieties)를 함유하도록 추가로 수정될 수 있다. 항체의 유도체화에 적절한 잔기에는 이것에만 제한하지 않으나 수용성 폴리머 (water soluble polymers) 를 포함한다. 수용성 폴리머의 비-제한적인 예시에는, 이것에만 제한하지 않으나, 폴리에틸렌 글라이콜 (polyethylene glycol, PEG), 에틸렌 글라이콜/프로필렌 글라이콜 코폴리머 (ethylene glycol/propylene glycol copolymer), 카복시메틸셀룰로오스 (carboxymethylcellulose), 덱스트란 (dextran), 폴리비닐 알코올 (polyvinyl alcohol), 폴리비닐 피롤리돈 (polyvinyl pyrrolidone), 폴리-1,3-디옥소란 (poly-1,3-dioxolane), 폴리-1,3,6-트리옥산 (poly-1,3,6-trioxane), 에틸렌/말레익 안하이드라이드 코폴리머 (ethylene/maleic anhydride copolymer), 폴리아미노에시드 (polyaminoacids) ((호모폴리머 (homopolymers) 또는 무작위 코폴리머 (random copolymers)), 및 덱스트란 (dextran) 또는 폴리(n-비닐피롤리돈) 폴리 에틸렌 글라이콜 ((poly(n-vinyl pyrrolidone)polyethylene glycol)), 프로프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 코-폴리머 (polypropylene oxide/ethylene oxide co-polymers), 폴리옥시에틸레이티드 폴리올 (polyoxyethylated polyols) ((예를 들어, 글리세롤 (glycerol)), 폴리비닐 알코올 (polyvinyl alcohol), 및 이의 혼합물을 포함한다. 폴리에틸렌 글라이콜 프로피온 알데하이드 (Polyethylene glycol propionaldehyde)는 물에서의 이의 안정성 때문에 제조하는데 장점을 가질 수 있다. 폴리머는 어느 분자량이 될 수 있으며, 및 가지형이거나 또는 가지형이 아닐 수 있다. 항체에 붙어 있는 폴리머의 수는 다양할 수 있으며, 및 만약 하나 이상의 폴리머가 붙으면, 이들은 같거나 또는 다른 분자가

될 수 있다. 일반적으로, 유도체화 하는데 사용되는 폴리머의 수 및/또는 타입은, 이것에만 제한하지 않으나, 개선될 항체의 특정한 성질 또는 기능, 항체 유도체가 일정한 컨디션 하에서 적용하는데 사용될 것인가, 등을 포함하는 고려에 기반하여 결정될 수 있다.

[0344] **B. 접합체 (Conjugate)**

[0345] 여기서 공개된 대로, 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 항원 결합 단편, 및 이중 특이 항체는, 주효 분자 (effector molecule) 또는 검출 가능한 마커 (detectable marker)와 같은, 제제에 접합될 수 있다. 공유적 및 비공유적 부착 수단 둘 다 사용될 수 있다. 독신 및 ¹²⁵I, ³²P, ¹⁴C, ³H 및 ³⁵S 및 다른 라벨 (labels) 과 같은 방사성 제제, 타겟 잔기, 효소 및 리간드, 등을 포함하는 (이것에만 국한하지 않으나), 다양한 주효 분자 및 검출 가능한 마커가 사용될 수 있다. 특정한 주효 분자 또는 검출 가능한 마커의 선택은 특정한 타겟 분자 또는 세포, 및 바람직한 생물학적 효과에 의존한다.

[0346] 검출 가능한 마커를 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체에 부착시키는 과정은 주효인자 (effector)의 화학적 구조에 따라 다양하다. 폴리펩티드는, 카복실 (-COOH), 유리 아민 (-NH₂) 또는 설프하이드릴 (sulfhydryl) (-SH) 과 같은, 다양한 기능 그룹을 함유하며, 이들은 폴리펩티드에 있는 적절한 기능 그룹과의 반응을 가능하게 하여 주효 분자 또는 검출 가능한 마커의 결합의 결과가 되게 한다. 다른 한편으로, 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중특이 항체는 추가의 반응성 기능그룹을 노출 또는 부착하기 위하여 유도체화 된다. 유도체화 (derivatization) 는 어느 적절한 링커 분자의 부착이 관여될 수 있다. 이 링커는 항체 또는 항원 결합 단편 및 주효 분자 또는 검출 가능한 마커 둘 다에 공유 결합을 형성할 수 있게 한다. 적절한 링커에는, 이것에만 제한하지 않으나, 직쇄 또는 가지형-체인 탄소 링커, 헤테로사이클릭 (heterocyclic) 탄소 링커, 또는 펩티드 링커가 포함된다. 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중특이 항체, 및 주효 분자 또는 검출 가능한 마커가 폴리펩티드인 곳에서, 링커는 구성하는 아미노산에 이들의 측쇄 (시스테인의 이 황화 연결을 통한 것과 같이) 또는 알과 카본을 통해, 또는 말단 아미노산의 아미노, 및/또는 카복실 그룹을 통해 연결될 수 있다.

[0347] 다양한 방사성 진단 화합물, 방사성 치료 화합물, 라벨 (효소 또는 형광 분자와 같은), 독신, 및 다른 제제를 항원에 부착시키는데 보고된 수많은 방법에 견주어, 주어진 제제를 항체 또는 항원 결합 단편 또는 이중특이 항체에 부착하는 적절한 방법은 결정될 수 있다.

[0348] 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체는 검출 가능한 마커와 접합될 수 있다; 예를 들어, ELISA, 분광분석법(spectrophotometry), 유동세포분석 (flow cytometry), 현미경(microscopy) 또는 진단 이미징 기술 (diagnostic imaging techniques)((CT, 컴퓨터 축 단층촬영(computed axial tomography, CAT), MRI, 자기공명 단층촬영(magnetic resonance tomography, MTR), 초음파(ultrasound), 광섬유 검사(fiberoptic examination), 및 복강경 검사(laparoscopic examination)와 같은)) 에 의해 검출될 수 있는 검출 가능한 마커. 검출 가능한 마커의 특정한 비-제한적인 예시에는 형광단(fluorophores), 화학발광 제제(chemiluminescent agents), 효소적 연결(enzymatic linkages), 방사성 동위원소(radioactive isotopes) 및 중금속 (heavy metals) 또는 화합물 ((예를 들어 MRI에 의한 검출을 위한 초상 자성 산화철 나노크리스털 (super paramagnetic iron oxide nanocrystals for detection by MRI))이 포함된다. 예를 들어, 유용한 검출 가능한 마커에는, 플루오레신 (fluorescein), 플루오레신 아이소티오시아네이트 (fluorescein isothiocyanate), 로다민(rhodamine), 5-디메틸아민-1-나프탈렌설폰일 클로라이드 (5-dimethylamine-1-naphthalenesulfonyl chloride), 파이코에리스린 (phycoerythrin), 란타나이드 포스포아 (lanthanide phosphors) 및 유사한 것을 포함하는 형광 화합물 (fluorescent compounds)을 포함한다. 루시페라아제 (luciferase), 초록 형광 단백질(green fluorescent protein, GFP), 및 황색 형광 단백질 (yellow fluorescent protein, YFP)과 같은, 생물 발광 마커도 또한 유용하다. 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체는, 호르스레디쉬 퍼옥시다제 (horseradish peroxidase), β-갈락토시다제 (β-galactosidase), 루시페라제(luciferase), 알카라인 포스파타제(alkaline phosphatase), 글루코오즈 옥시다아제(glucose oxidase) 및 이와 유사한 것과 같은, 검출하는데 유용한 효소와 또한 접합시킬 수 있다. 항체 또는 항원 결합 단편이 검출 가능한 효소와 접합될 때, 효소가 파악될 수 있는 반응 생성물을 생산하기 위하여 사용되는 추가의 제제를 첨가하여 검출될 수 있다. 예를 들어, 호르스레디쉬 퍼옥시다제 (horseradish peroxidase) 제제가 존재할 때, 하이드로겐 퍼옥사이드(hydrogen peroxide) 및 디아미노벤지딘 (diaminobenzidine) 의 첨가는 색 있는 반응 생성물을 초래하며, 이는 가시적으로 검출 가능하다. 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체는, 또한 바이오틴 (biotin)과 접합될 수 있으며, 및 아비딘 (avidin) 또는 스트렙타비딘(streptavidin)의 간접적 측정을 통하여 검출될 수 있다. 아비딘 그 자체가 효소 또는 형광 라벨과 접합할 수 있다는 것이 주목되어야 한다.

- [0349] 항체, 항원 결합 단편 또는 이중 특이 항체는, 가도리늄(gadolinium)과 같은, 상자성 제제 (paramagnetic agent) 와 접합시킬 수 있다. 초상 자성 산화철 (super paramagnetic iron oxide) 과 같은 상자성 제제가 또한 라벨로서 사용된다. 항체는 란타나이드 (lanthanides) ((유로피움(europium) 및 디스프로시움(dysprosium) 과 같은)), 및 망간(manganese)으로 접합 될 수 있다. 항체, 항원 결합 단편 또는 이중 특이 항체는 2차 리포터 ((루이신 지퍼 쌍 서열 (leucine zipper pair sequences), 2차 항체 결합 부위(binding sites for secondary antibodies), 메탈 결합 도메인, 에피토프 태그 (epitope tags)와 같은))에 의해 인식되는 미리 결정된 폴리펩티드 에피토프와 또한 라벨 될 수 있다
- [0350] 항체, 항원 결합 단편 또는 이중 특이 항체는, 예를 들어, 진단목적으로, 방사성 표지된 (radiolabel) 아미노 에시드와 또한 접합시킬 수 있다. 예를 들어, 방사성 표지는 방사선촬영(radiography), 발광 스펙트럼(emission spectra), 또는 다른 진단 기술로 코로나바이러스를 검출하기 위하여 사용될 수 있다. 폴리펩티드의 표지의 예시에는, 이것에만 국한하지 않으나, 하기의 방사성 동위원소가 포함된다: ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{90}Y , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I . 방사성 표지는, 예를 들어, 사진 필름 또는 섬광계수기 (scintillation counters)를 사용하여 검출될 수 있고, 형광 마커는 방출되는 빛을 검출하기 위하여 광검출기를 사용하여 검출될 수 있다. 효소적 표지는 효소에 기질을 제공하고 및 기질에 대한 효소의 작용에 의해 생산되는 반응 생성물을 검출하여 전형적으로 검출되고, 및 비색 표지(colorimetric labels)는 단순히 유색 표지 (colored label) 를 가시화하여 검출될 수 있다.
- [0351] 접합체에서 항체, 항원 결합 단편 또는 이중 특이 항체 당 검출 가능한 마커 잔기의 평균 수는, 예를 들어, 항체 또는 항원 결합 단편 당 1 내지 20 잔기의 범위일 수 있다. 어떤 실시 예에서, 접합체에서 항체 또는 항원 결합 단편 당 주효 분자 또는 검출 가능한 마커 잔기의 평균 수는 약 1 내지 약 2, 약 1 내지 약 3, 약 1 내지 약 8; 약 2 내지 약 6; 약 3 내지 약 5; 또는 약 3 내지 약 4의 범위이다. 접합체의 로딩 (loading) (예를 들어, 항체 당 주효 분자의 비율) 은 다음의 방법으로 조절될 수 있다, 예를 들어: (i) 주효 분자-링커 중간체의 또는 항체에 대비한 링커 제제의 몰수 과량 (molar excess) 의 제한, (ii) 접합 반응 또는 온도 제한, (iii) 시스테인 티올 수정 (cysteine thiol modification) 환원 컨디션 부분적 또는 제한, (iv) 시스테인 잔기의 수 및 위치가 링커-주효 분자 부착의 수 또는 위치가 조절되도록 시스테인 잔기가 수정되도록 항체의 아미노산 서열을 재조합 기술로 조작.
- [0352] **C. 폴리뉴클레오타이드 및 발현**
- [0353] 여기서 공개된 대로, 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 항원 결합 단편, 이중특이 항체, 및 접합체의 아미노산을 암호화하는 핵산 분자 (예를 들어, cDNA 또는 mRNA 와 같은 RNA 분자) 가 제공된다. 이들 분자를 암호화하는 핵산은 여기서 제공되는 아미노산 서열 (CDR 서열 및 V_H 및 V_L), 이 분야 기술에서 구할 수 있는 서열 (프레임워크 또는 고정 부위 서열), 및 유전적 코드를 사용하여 쉽게 생산될 수 있다. 몇몇 실시 예에서, 핵산 분자는 공개되는 항체 또는 항원 결합 단편의 V_H , V_L , 또는 V_H 및 V_L 둘 다 ((예를 들어 이중 시스트론 발현 벡터 (bicistronic expression vector)에서)) 를 암호화할 수 있다. 어떤 실시 예에서, 핵산 분자는 scFv를 암호화한다. 몇몇의 실시 예에서, 핵산 분자는 공개되는 항체 또는 항원 결합 단편을 생산하기 위하여 숙주 세포 (포유류 세포와 같은) 에서 발현될 수 있다. scFv를 암호화하는 핵산 분자가 제공된다.
- [0354] 서열에서는 다른 핵산이지만 같은 항체 서열을 암호화하거나, 또는 V_L 및/또는 V_H 핵산 서열을 포함하는 접합체 또는 융합 단백질을 암호화하는 핵산 서열과 같은, 기능적으로 동등한 다양한 핵산 서열을 구축하기 위하여 유전자 코드가 사용될 수 있다.
- [0355] 비-제한적인 예시에서, 분리된 핵산 분자는 A23-58.1, A19-61.1, A19-46.1, A23-105.1, A23-97.1, A19-82.1, A19-1.1, A23-113.1, A20-29.1, A19-30.1, A20-36.1, A20-9.1, A23-80.1 또는 B1-182.1 항체의 V_H 를 암호화한다. 예시적인 핵산 서열이 여기 제공된다. 다른 비-제한적인 예시에서, 핵산 분자는 23-58.1, A19-61.1, A19-46.1, A23-105.1, A23-97.1, A19-82.1, A19-1.1, A23-113.1, A20-29.1, A19-30.1, A20-36.1, A20-9.1, A23-80.1 또는 B1-182.1 단일클론 항체의 V_L 을 암호화한다. 추가의 비-제한적인 예시에서, 분리된 핵산 분자는, DVD-면역글로블린 형식에서와 같은 이중 특이성 항체를 암호화할 수 있다. 핵산은 또한 scFv를 암호화할 수 있다. 핵산은 또한 접합체를 암호화할 수 있다.
- [0356] 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체 및 접합체를 암호화하는 핵산 분자는, 예를 들어, 적절한 서열의 클로닝 또는 표준 방법에 의한 직접 화학적 합성을 포함하는, 어느 적절한 방법으로 제조될 수 있다. 화학적 합성은 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드를 생산한다. 이는 보완

적 서열 (complementary sequence) 로 혼성화로 또는 단일 가닥을 템플레이트로서 사용하여 DNA 폴리머라제로 중합으로 이중가닥 DNA로 전환시킬 수 있다.

- [0357] 예시적인 핵산은 클로닝 기술로 제조될 수 있다. 적절한 클로닝 및 서열 분석 기술의 예시는, 예를 들어, 그린 및 샘브록 (Green and Sambrook) (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 4th ed., New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012) 및 아수벨 등 (Ausubel *et al.*) (Eds.) (*Current Protocols in Molecular Biology*, New York: John Wiley and Sons, 부록에 포함) 에서 찾을 수 있다.
- [0358] 핵산은 증폭 방법에 의해 또한 제조될 수 있다. 증폭 방법에는 폴리머라제 중합 반응 (polymerase chain reaction, PCR), 리가제 중합반응 (ligase chain reaction, LCR), 전사-기반한 증폭 시스템 (transcription-based amplification system, TAS), 및 자가-지속 서열 복제 시스템 (self-sustained sequence replication system, SSR)이 포함된다.
- [0359] 핵산 분자는 박테리아, 식물, 이스트, 곤충 및 포유류 세포와 같은 재조합적으로 제작된 세포에서 발현될 수 있다. 항체, 항원 결합 단편, 및 접합체는 V_H 및/또는 V_L 을 포함하는 개별 단백질로서 (필요한 대로 주효 분자 또는 검출 가능한 마커에 연결되어) 발현될 수 있거나, 또는 융합 단백질로서 발현될 수 있다. 항체 및 항원 결합 단편을 발현하고 및 정제하는 어느 적절한 방법이 사용될 수 있다; 비-제한적인 예시가 알-루베아이 (Al-Rubeai (Ed.), *Antibody Expression and Production*, Dordrecht; New York: Springer, 2011))에서 제공된다. 면역어드헤신 (immunoadhesin)도 또한 발현될 수 있다. 그러므로, 어떤 예시에서, V_H 및 V_L , 및 면역어드헤신 을 암호화하는 핵산이 제공된다. 핵산 서열은 선택적으로 리더서열 (leader sequence)을 암호화 할 수 있다.
- [0360] scFv를 만들기 위하여 V_H - 및 V_L -암호화하는 DNA 단편은, 예를 들어, 아미노산 서열 (Gly₄-Ser)₃을 암호화하는, 유연한 링커를 암호화하는 다른 단편에 작동적으로 연결될 수 있어, V_L 및 V_H 도메인이 유연한 링커에 의해 연결되어 V_H 및 V_L 서열이 연속적인 단일 체인 단백질로서 발현될 수 있도록 한다 (예를 들어, Bird *et al.*, *Science*, 242(4877):423-426, 1988; Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 85(16):5879-5883, 1988; McCafferty *et al.*, *Nature*, 348:552-554, 1990; Kontermann and DÜbel (Eds.), *Antibody Engineering*, Vols. 1-2, 2nd ed., Springer-Verlag, 2010; Greenfield (Ed.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2014 참조). 선택적으로, 후린 개열부위 (furin cleavage site) 와 같은, 개열 부위가 링커에 포함될 수 있다.
- [0361] 단일 체인 (single chain) 항체는, 만일 단지 단일 V_H 및 V_L 가 사용된다면, 단일가 (monovalent) 일 수 있고, 두 개의 V_H 및 V_L 가 사용된다면, 2가, 또는 두 개 이상의 V_H 및 V_L 가 사용된다면, 다가일 수 있다. 코로나바이러스 스파이크 단백질 및 다른 항원에 특이적으로 결합하는 이중 특이성 또는 다가 항체가 생성될 수 있다. 암호화되는 V_H 및 V_L 는 선택적으로 V_H 및 V_L 도메인 사이에 후린 개열 부위 (furin cleavage site) 를 포함할 수 있다. 핵산 분자가 DVD-IgTM 형식에서 이중 특이 항체를 암호화할 때와 같이 링커가 또한 암호화될 수 있다.
- [0362] 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 또는 접합체를 암호화하는 하나 또는 그 이상의 DNA 서열은 적절한 숙주 세포에 DNA를 전달하여 시험관 내에서 발현시킬 수 있다. 세포는 비진핵 세포 또는 진핵세포일 수 있다. *E. coli*, 다른 박테리아 숙주, 이스트, 및 COS, CHO, HeLa 및 골수종 (myeloma) 세포 주와 같은 다양한 고등 진핵 세포를 포함하는 단백질 발현에 이용할 수 있는 수많은 발현 시스템이 공개되는 항체 및 항원 결합 단편을 발현하는데 사용될 수 있다. 외부 DNA가 숙주에서 계속적으로 유지됨을 의미하는, 안정적인 전달 방법이 사용될 수 있다.
- [0363] 여기서 서술된 항체, 항원 결합 단편, 및 이중 특이 항체(DVD-면역글로블린 항체와 같은)를 암호화하는 핵산의 발현은 DNA 또는 cDNA를 프로모터 (구성적인 또는 유도적인) 에 작동적으로 연결하고, 이어서 발현 카세트 (cassettes) 에 병합하여 달성될 수 있다. 프로모터는, 사이토메갈로바이러스 (cytomegalovirus) 프로모터를 포함하는 관심 있는 어느 프로모터일 수 있다. 선택적으로, 사이토메갈로바이러스 증강제와 같은, 증강제 (enhancer) 가 구조체에 포함된다. 카세트는 비진핵세포나 또는 진핵세포에서 복제 및 병합에 적절할 수 있다. 전형적인 발현 카세트는 단백질을 암호화하는 DNA의 발현을 조절하는데 유용한 특이적인 서열을 함유한다. 예를 들어, 발현 카세트는 적절한 프로모터, 증강제, 전사 및 번역 종결제, 시작 서열, 단백질-암호화하는 유전자 앞에 시작 코돈 (즉, ATG), 인트론을 위한 스플라이싱 신호(splicing signals), 그 유전자가 mRNA의 적절한 번역

을 허용하게 하는 올바른 리딩프레임의 유지를 위한 서열, 및 종결 코돈을 포함할 수 있다. 벡터는, 약물 저항성 (예를 들어, 앰피실린 또는 테트라사이클린 저항성) 을 암호화하는 마커와 같은, 선택 가능한 마커를 암호화할 수 있다.

[0364] 클론 된 유전자의 높은 수준의 발현을 얻기 위하여, 예를 들어, 전사를 지시하는 강한 프로모터, 번역 시작을 위한 리보솜 결합 부위(예를 들어, 내부 리보솜 결합 서열), 및 전사/번역 종결체를 함유하는 발현 카세트를 구성하는 것이 바람직하다. *E. coli*에서, 이는 T7, trp, lac, 또는 람다(lamda) 와 같은 프로모터, 리보솜 결합 부위, 및 바람직하게 전사 종결 신호를 포함할 수 있다. 진핵세포에서, 조절 서열은 프로모터 및/또는 예를 들어, 면역글로블린 유전자, HTML, SV40 또는 사이토메갈로바이러스로부터 유래된 증강제, 및 폴리아데닐레이션 (polyadenylation) 서열을 포함할 수 있으며, 및 추가로 스플라이스 공여자 (splice donor) 및/또는 수용자 서열 (예를 들어, CMV 및/또는 HTLV 스플라이스 수용자 및 공여자 서열)을 포함할 수 있다. 카세트는 *E. coli* 에서는 형질전환 또는 전기천공 및 포유류 세포에서는 칼슘 포스페이트 (calcium phosphate) 처리, 전기천공 또는 리포펙션 (lipofection)과 같은 어느 적절한 방법에 의해 선택된 숙주 세포로 전달될 수 있다. 카세트에 의한 세포 형질전환은 amp, gpt, neo 및 hyg 유전자와 같은, 카세트에 함유되어 있는 유전자에 의해 부여되는 항생제 저항성에 의해 선택될 수 있다.

[0365] 생물학적 활성을 감소시키지 않고 여기서 서술된 폴리펩티드를 암호화하는 핵산에 수정이 만들어질 수 있다. 어떤 수정은 클로닝, 발현, 또는 타겟팅 하는 분자의 융합 단백질에의 병합을 촉진하기 위하여 만들어질 수 있다. 그러한 수정에는, 예를 들어, 종결 코돈, 제한 부위 (restriction sites) 를 편리하게 위치하게 하기 위한 서열, 및 시작 부위를 제공하기 위하여 아미노 말단에 메티오닌 (methionine) 을 첨가하기 위한 서열, 또는 정제 단계를 도와주기 위한 추가의 아미노산 (폴리 His와같은) 을 포함한다.

[0366] 일단 발현되면, 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 및 접합체는, 암모늄 설페이트 침전(ammonium sulfate precipitation), 친화력 컬럼(affinity columns), 컬럼 크로마토그래피(column chromatography), 및 이와 유사한 것을 포함하는, 이 분야 기술에서의 표준 공정에 따라 정제될 수 있다 (일반적으로, Simpson *et al.* (Eds.), *Basic methods in Protein Purification and Analysis: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2009 참조). 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 및 접합체는 100% 순수할 필요는 없다. 일단 정제되면, 원하는 대로 부분적으로 또는 균질하게, 만약 예방적으로 사용될 것이라면, 폴리펩티드는 엔도톡신 (endotoxin) 이 상당히 없어야 한다.

[0367] 포유류 세포, 및 *E. coli* 와 같은 박테리아로부터 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 및 접합체의 발현 방법, 및/또는 적절한 활성 형태로의 재접힘은 서술되었으며 및 여기 공개되는 항체들에도 적용된다. 예를 들어, Greenfield (Ed.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2014, Simpson *et al.* (Eds.), *Basic methods in Protein Purification and Analysis: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2009, 및 Ward *et al.*, *Nature* 341(6242):544-546, 1989 참조.

[0368] D. 방법 및 조성물

[0369] 1. 코로나바이러스 감염 억제

[0370] 개체에서 SARS-CoV-2 감염과 같은, 코로나바이러스 감염을 억제하는 방법이 여기서 공개된다. 이 방법에는 개체에게 주효량 (즉, 개체에서 감염을 억제하기 위한 효과적인 양) 의 공개되는 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 또는 그러한 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체를 암호화하는 핵산을 코로나바이러스 감염 위험이 있는 개체 또는 코로나바이러스 감염을 가지고 있는 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 이 방법은 노출-전 또는 노출-후에 사용될 수 있다. 어떤 실시 예에서, 항체, 항원 결합 단편은, DVD-면역글로블린과 같은, 이중-특이적인 항체의 형태에서 사용될 수 있다. 항원 결합 단편은 scFv일 수 있다.

[0371] 방법이 효과적이기 위하여 감염이 완전히 제거되거나 또는 억제될 필요는 없다. 예를 들어, 이 방법은 감염을 바람직한 만큼, 예를 들어, 치치하지 않은 코로나바이러스 감염에 비교하여, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 100% (검출 가능한 코로나바이러스 감염의 제거 또는 예방) 감소시킬 수 있다. 어떤 실시 예에서, 개체는 또한 주효량의, 항-바이러스 제제와 같은, 추가 제제로 치료될 수 있다.

[0372] 어떤 실시 예에서, 개체에게 주효량의 공개되는 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 또는 핵산의 투여는 감염의 확립 및/또는 이어지는 질환 진행을 억제하며, 이는 개체에서 코로나바이러스 감염의 활성 또는 증상의 어

는 통계적으로 유의성 있는 감소를 포함할 수 있다.

- [0373] 개체에서 코로나바이러스 복제를 억제하는 방법이 여기서 공개된다. 이 방법에는 개체에게 주효량 (즉, 개체에서 복제를 억제하기 위한 효과적인 양) 의 공개되는 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 또는 그러한 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체를 암호화하는 핵산을 코로나바이러스 감염 위험이 있는 개체 또는 코로나바이러스 감염을 가지고 있는 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 이 방법은 노출-전 또는 노출-후에 사용될 수 있다.
- [0374] 개체에서 코로나바이러스 감염을 치료하는 방법이 공개된다. 개체에서 코로나바이러스 감염을 예방하는 방법이 공개된다. 이 방법들에는 하나 또는 그 이상의 공개되는 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산분자, 또는 그러한 분자를 포함하는 조성물을, 여기서 공개된 대로, 투여하는 것을 포함한다.
- [0375] 항체, 항원 결합 단편, 및 이중 특이 항체는 정맥 주입 (intravenous infusion) 으로 투여될 수 있다. 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체의 용량은 다양하다, 그러나, 일반적으로, 약 1mg/kg, 약 5mg/kg, 약 10mg/kg, 약 20mg/kg, 약 30mg/kg, 약 40mg/kg, 또는 약 50mg/kg 용량과 같은 약 0.5 mg/kg 내지 약 50mg/kg 사이의 범위이다. 어떤 실시 예에서, 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체의 용량은 약 1mg/kg, 약 2mg/kg, 약 3mg/kg, 약 4mg/kg, 또는 약 5mg/kg 용량과 같은, 약 0.5 mg/kg 내지 약 5mg/kg 사이의 범위이다. 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체는 의사에 의해 결정된 용법 스케줄 (dosing schedule) 에 따라 투여된다. 어떤 예에서, 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체는 매주, 매 2주마다, 매 3주마다 또는 매 4주마다 투여된다.
- [0376] 어떤 실시 예에서, 개체에서 감염을 억제하는 방법은 하나 또는 그 이상의 추가 제제를 개체에게 투여하는 것을 추가로 포함한다. 관심 있는 추가 제제에는, 이것에만 국한하지 않으나, 하이드록시클로로퀸 (hydroxychloroquine), 아르비돌 (arbidol), 렘데시비어 (remdesivir), 화비피라비어 (favipiravir), 바리시티닙 (baricitinib), 로피나비어/리토나비어 (lopinavir/ritonavir), 아연이온 (Zinc ions), 및 인터페론 베타-1b (interferon beta-1b) 와 같은 항바이러스 제제, 또는 이들의 조합이 포함된다.
- [0377] 어떤 실시 예에서, 이 방법은 여기서 공개된 대로 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 첫 번째 항체 및 코로나바이러스 단백질의 다른 에피토프와 같은 코로나바이러스 단백질에 또한 특이적으로 결합하는 두 번째 항체의 투여를 포함한다. 어떤 실시 예에서, 첫 번째 항체는 A23-58.1, A19-61.1, A19-46.1, A23-105.1, A23-97.1, A19-82.1, A19-1.1, A23-113.1, A20-29.1, A19-30.1, A20-36.1, A20-9.1, A23-80.1 또는 B1-182.1 중 하나이다. 좀 더의 실시 예에서, 첫 번째 항체는 A23-58.1, A19-61.1, A19-46.1, A23-105.1, A23-97.1, A19-82.1, A19-1.1, A23-113.1, A20-29.1, A19-30.1, A20-36.1, A20-9.1, A23-80.1, B1-182.1 또는 B1-182.1_58CDRH3 중 하나이고 및 두 번째 항체는 A23-58.1, A19-61.1, A19-46.1, A23-105.1, A23-97.1, A19-82.1, A19-1.1, A23-113.1, A20-29.1, A19-30.1, A20-36.1, A20-9.1, A23-80.1, B1-182.1, 또는 B1-182.1_58CDRH3 중 다른 하나이다. 어떤 실시 예에서, 하나의 항체는 스파이크 단백질의 한 에피토프에 결합하고, 및 다른 항체는 스파이크 단백질의 다른 에피토프에 결합한다. A23-58.1, A19-61.1, A19-46.1, A23-105.1, A23-97.1, A19-82.1, A19-1.1, A23-113.1, A20-29.1, A19-30.1, A20-36.1, A20-9.1, A23-80.1, B1-182.1, 또는 B1-182.1_58CDRH3의 한 개, 두 개, 세 개 또는 네 개, 다섯 개, 또는 여섯 개의 주효량이 개체에게 투여될 수 있다. LY-COV555, 또는 이 클래스의 항체의 주효량이 개체에게 투여될 수 있다. 좀 더의 실시 예에서, 첫 번째 항체는 B1-182.1이고 및 두 번째 항체는 A19-46.1이다. 추가의 실시 예에서, 첫 번째 항체는 B1-182.1이고 및 두 번째 항체는 A19-61.1이다. 좀 더의 실시 예에서, 첫 번째 항체는 B1-182.1_58CDRH3 이고 및 두 번째 항체는 A19-46.1이다. 좀 더의 실시 예에서, 첫 번째 항체는 B1-182.1_58CDRH3 이고 및 두 번째 항체는 A19-61.1이다. 추가의 실시 예에서, 두 개 이상의 항체가 개체에게 투여된다. 그러므로, 어떤 예에서, 3, 4, 또는 5 항체가 개체에게 투여된다,
- [0378] 어떤 실시 예에서, 개체에, 예를 들어 개체의 세포 내 기구를 사용하여 생체 내 항체 생산을 제공하기 위하여, 공개되는 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체를 암호화하는 DNA 또는 RNA가 투여된다. 핵산 투여의 어느 적절한 방법이 사용될 수 있다: 비-제한적인 예시가 미국 특허번호 (U.S. Patent No.) 5,643,578, 미국 특허번호 5,593,972 및 미국 특허번호 5,817,637 에 제공된다. 미국 특허번호 5,880,103은 단백질을 암호화하는 핵산을 개체에 전달하는 몇 가지 방법을 서술한다. 핵산을 투여하는 한 접근방법은, 포유류 발현 플라스미드와 같은, 플라스미드 DNA의 직접 투여이다. 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체를 암호화하는 핵산 서열은 발현을 증가하기 위하여 프로모터의 조절하에 놓이게 할 수 있다. 이 방법은 핵산의 리포좀적인 전달

(liposomal delivery) 을 포함한다. 그러한 방법은 항체, 또는 이의 항원 결합 단편의 생산에 적용될 수 있다. 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체 또는 항원 결합 단편은 pVRC8400 벡터를 사용하여 개체에서 발현된다 ((바로우치 등 (Barouch *et al.*, *J. Virol.*, 79(14), 8828-8834, 2005)에서 서술되고, 이는 여기 참고 문헌으로 병합되어 있다)).

[0379] 몇몇의 실시 예에서, 개체에 (코로나 바이러스 감염의 위험이 있는 개체 또는 코로나 바이러스 감염을 지닌 개체) 공개되는 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체를 암호화하는 하나 또는 그 이상의 핵산을 포함하는 AAV바이러스 벡터의 주효량을 투여할 수 있다. AAV바이러스 벡터는 공개되는 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체를 암호화하는 핵산 분자를 발현하도록 디자인되었으며, 및 주효량의 AAV 벡터의 개체에의 투여는 개체에서 주효량의 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체를 발현을 초래한다. 공개되는 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체를 개체에서 발현하기 위하여 사용되는 AAV 바이러스 벡터의 비-제한적인 예시는 존슨 등 (Johnson *et al.*, *Nat. Med.*, 15(8):901-906, 2009) 및 가드너 등 (Gardner *et al.*, *Nature*, 519(7541):87-91, 2015)에서 제공된 것을 포함하고, 이들 각각은 그 전문이 참고 문헌으로 여기 병합되어 있다.

[0380] 한 실시 예에서, 공개되는 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체를 암호화하는 핵산이 조직에 직접 도입된다. 예를 들어, 핵산이 금 미세구 (gold microspheres) 에 표준 방법으로 적재될 수 있고 및 바이오레드의 (Bio-Rad's) 헬리오스 유전자 총 (Helios™ Gene Gun)과 같은 장치로 피부에 도입된다. 핵산은, 강한 프로모터의 조절하에 있는 플라스미드로 구성된 "본래 (naked)" 상태일 수 있다.

[0381] 전형적으로, DNA는, 다른 부위로 직접적으로 주사될 수도 있으나, 근육으로 주사된다. 주사 용량은 보통 대략 0.5 mg/kg 내지 약 50mg/kg 이고, 전형적으로 약 0.005 mg/kg 내지 약 5 mg/kg이다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,589,466 참조).

[0382] 공개되는 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체 접합체, 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 조성물의 단일 또는 다수 투여는 환자에 의해 요구되는 대로 및 견딜만한 대로 용법 및 횟수에 의존하여 투여될 수 있다. 용량은 한번 투여될 수 있으나, 주기적으로 바람직한 결과가 달성될 때까지 또는 부작용이 치료의 중단을 보장할 때까지 적용될 수 있다. 일반적으로 용량은 환자에게 허용 가능하지 못할 독성을 생산함이 없이 코로나 바이러스 감염을 억제하기에 충분하다.

[0383] 세포 배양 에세이 및 동물 연구로부터 얻어진 데이터는 인간에서 사용을 위한 용량의 범위를 정하는데 사용될 수 있다. 용량은 보통 조금 또는 최소의 독성을 가진 ED₅₀를 포함하는 순환하는 농도의 범위 내에 놓여 있다. 용량은 적용되는 용량 형태 및 사용되는 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 다양할 수 있다. 주효 용량은 세포 배양 에세이 및 동물 연구로부터 결정될 수 있다.

[0384] 코로나바이러스 스파이크 단백질-특이 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체, 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산 분자, 또는 그러한 분자를 포함하는 조성물은, 예를 들어, 피하로, 정맥 내로, 동맥 내로, 복강 내로, 근육 내로, 피부 내로, 또는 척추강 내로 주사에 의한 것과 같이, 국소적 및 전신적인 투여를 포함하는, 다양한 방식으로 개체에게 투여될 수 있다. 한 실시 예에서, 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산 분자, 또는 그러한 분자를 포함하는 조성물은, 단일 피하, 정맥 내, 동맥 내, 복강 내, 근육 내, 피부 내 또는 척추강 내 주사로 하루 한번 투여된다. 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 접합체, 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산 분자, 또는 그러한 분자를 포함하는 조성물은, 질환 부위에 또는 그 근처에 직접 주사로 투여될 수 있다. 투여의 추가 방법은 삼투압 펌프 ((예를 들어, 알제트 펌프(Alzet pump)) 또는 미니-펌프 ((예를 들어, 알제트 미니-삼투압 펌프(Alzet mini-osmotic pump) 에 의하며, 이는 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 접합체, 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산 분자, 또는 그러한 분자를 포함하는 조성물을 미리-결정된 기간 동안에 조절되는, 연속적인 및/또는 지효성으로 전달되도록 한다. 삼투압 펌프 또는 미니 펌프는 피하로, 또는 타겟 부위 근처에 이식 (implant) 될 수 있다.

[0385] 2. 조성물 (composition)

[0386] 약제학적으로 허용 가능한 담체에 있는 여기서 공개된, 코로나바이러스 스파이크 단백질-특이 항체, 항원 결합 단편, 접합체 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산 분자 하나 또는 그 이상을 포함하는 조성물이 제공된다. 어떤 실시 예에서, 조성물은 여기서 공개되는 A23-58.1, A19-61.1, A19-46.1, A23-105.1, A23-97.1, A19-82.1, A19-1.1, A23-113.1, A20-29.1, A19-30.1, A20-36.1, A20-9.1, A23-80.1, B1-182.1, 또는 B1-182.1_58CDRH3 항체, 또는 이들의 항원 결합 부위를 포함한다. 어떤 실시 예에서, 조성물은 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 두 개, 세 개, 네 개, 또는 그 이상의 항체를 포함한다. 조성물은, 예를 들어, 예를 들어,

SARS-CoV-2 감염과 같은, 코로나바이러스 감염을 억제 또는 검출하는데 유용하다. 조성물은, 예를 들어, 예를 들어, SARS-CoV-1 감염과 같은, 코로나바이러스 감염을 억제 또는 검출하는데 유용하다.

[0387] 조성물은, 개체에 투여하기 위하여, 키트에서와 같은, 유닛용량 형태로 제조될 수 있다. 투여의 양 및 시간은 바람직한 목적을 달성하기 위하여 투여하는 의사의 재량에 따른다. 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 접합체, 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산 분자는 전신적 또는 국소적 투여를 위하여 제형화될 수 있다. 한 예시에서, 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 접합체, 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산 분자는, 정맥 내 투여와 같은, 비 경구 투여를 위하여 제형화될 수 있다.

[0388] 어떤 실시 예에서, 조성물에 있는 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 이의 접합체는 적어도 70% (적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%) 순수하다. 어떤 실시 예에서, 조성물은 10% 미만의 (5% 미만, 4%, 3% 미만, 2% 미만, 1% 미만, 0.5% 미만, 또는 더 미만과 같은) 다른 포유류 (예를 들어, 사람) 단백질과 같은 거대분자 오염물 (macromolecular contaminants) 을 함유한다.

[0389] 투여를 위한 조성물은, 수용성 담체와 같은, 약제학적으로 허용 가능한 담체에 용해된, 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 접합체, 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산 분자의 용액을 포함할 수 있다. 다양한 수용성 담체, 예를 들어, 버퍼 된 생리 식염수 및 이와 유사한 것이 사용될 수 있다. 이 용액들은 멸균되고 및 일반적으로 바람직하지 않은 물질이 없다. 이 조성물들은 적절한 기술에 의해 멸균화될 수 있다. 조성물은 pH 조절 및 버퍼 제제와 같은 생리적 조건에 가깝게 하기 위하여, 독성 조정 제제 및 이와 유사한 것을 필요한 대로 약제학적으로 허용 가능한 보조적인 물질을 함유할 수 있다, 예를 들어, 소듐 아세테이트 (sodium acetate), 소듐 클로라이드(sodium chloride), 포타슘 클로라이드(potassium chloride), 칼슘 클로라이드 (calcium chloride), 소듐 락테이트(sodium lactate) 및 이와 유사한 것. 이 제형에서 항체의 농도는 널리 다양할 수 있으며, 및 액체의 부피, 점성도, 체중 및 이와 유사한 것에 기반하여 투여의 특정한 방식 및 개체의 요구에 따라 일차적으로 선택될 것이다.

[0390] 정맥 내 투여를 위한 전형적인 조성물은 개체당 하루당 약 0.01 내지 약 30mg/kg의 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 또는 접합체를 포함한다(또는 항체 및 항원 결합 단편을 포함하는 접합체의 해당하는 용량). 어느 적절한 방법이 투여 가능한 조성물을 제조하기 위하여 사용될 수 있다; 비-제한적인 예시들이 레밍톤 (Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd ed., London, UK: Pharmaceutical Press, 2013.) 과 같은 발행물에서 제공된다. 어떤 실시 예에서, 조성물은 하나 또는 그 이상의 항체, 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체를, 농도 범위 약 0.1 mg/ml 내지 약 20mg/ml, 또는 약 0.5 mg/ml 내지 약 20mg/ml, 또는 약 1mg/ml 내지 약 20mg/ml, 또는 약 0.1 mg/ml 내지 약 10mg/ml, 또는 약 0.5 mg/ml 내지 약 10mg/ml, 또는 약 1mg/ml 내지 약 10mg/ml 에서 포함하는 액체 제형이 될 수 있다.

[0391] 항체, 이의 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산 분자는, 알려진 농도의 멸균된 용액으로도 또한 제공될 수 있지만, 동결 건조된 형태로 제공될 수 있으며 및 투여하기 전에 멸균 수로 재수화될 수 있다. 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체, 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 용액은, 그 후 0.9% 소듐 클로라이드 (sodium chloride, USP)를 함유하고 있는 주입 주머니 (infusion bag) 에 첨가될 수 있으며, 및 전형적으로 체중당 0.5 내지 15mg/kg의 용량에서 투여될 수 있다. 1997년 리툽시맵 (Rituximab)의 허가 이래 U.S 시장에서 팔린, 항체 약물의 투여에 상당한 경험이 이 분야 기술에서 구할 수 있다. 항체, 항원 결합 단편, 접합체, 또는 그러한 분자를 암호화하는 핵산 분자는 정맥주사로 푸시하거나 또는 한꺼번에 주는 것보다는, 느린 유입 (slow infusion) 으로 투여될 수 있다. 한 예시에서, 더 높은 로딩 용량 (loading dose)이 투여되고, 후속으로, 유지 용량이 낮은 수준으로 투여된다. 예를 들어, 4mg/kg의 시작 로딩 용량이 대략 90분의 기간에 걸쳐서 유입될 수 있으며, 이어서 만약 이전 용량이 잘 견디어 냈다면, 매주 유지 용량이 4-8 주 동안 2mg/kg 이 30분에 걸쳐 유입된다.

[0392] 방출-조절 (controlled-release) 비 경구 제형은 임플란트, 오일 성 주사로서, 또는 미립자 시스템 (particulate systems) 으로서 만들어질 수 있다. 단백질 전달 시스템의 전반적인 개요에 대하여, 반가 (Banga, Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing, and Delivery Systems, Lancaster, PA: Technomic Publishing Company, Inc., 1995) 참조. 미립자 시스템에는 미세구(microspheres), 극미립자 (microparticles), 미소캡슐(microcapsules), 나노캡슐(nanocapsules), 나노스피어(nanospheres), 및 나노입자 (nanoparticles)가 포함된다. 미소 캡슐에는 세포 독소 (cytotoxin) 또는 약물과 같은 활성 단백질 제제가 중심 핵심으로서 함유된다. 미세구에서, 활성 단백질 제제는 입자 전체에 분산된다. 약 1mm보다 더 작은 입자, 미세

구, 및 미소캡슐은 일반적으로 나노입자, 나노스피어, 및 나노캡슐로서 각각 의미한다. 모세혈관은 그 지름이 대략 5mm이어서 단지 나노입자 (nanoparticles) 만 정맥으로 투여된다. 극미립자 (microparticles) 는 전형적으로 그 지름이 대략 100mm이고 및 피하로 또는 근육 내로 투여된다. 예를 들어, 크루터(Kreuter, *Colloidal Drug Delivery Systems*, J. Kreuter (Ed.), New York, NY: Marcel Dekker, Inc., pp. 219-342, 1994); 및 티스 및 타비비(Tice and Tabibi, *Treatise on Controlled Drug Delivery: Fundamentals, Optimization, Applications*, A. Kydonieus (Ed.), New York, NY: Marcel Dekker, Inc., pp. 315-339, 1992) 참조.

[0393] 여기서 공개되는 조성물의 이온-방출 조절을 위해 폴리머가 사용될 수 있다. 조절되는 약물 전달을 위해 사용되게 디자인된, 분해 가능한 또는 분해 가능하지 않은 폴리머성 매트릭스 (polymeric matrix)와 같은, 어느 적절한 폴리머가 사용될 수 있다. 다른 한편으로, 하이드록시아파타이트 (hydroxyapatite) 가 단백질의 방출 조절을 위한 마이크로담체 (microcarrier)로서 사용되었다. 또 다른 관점에서, 리포솜이 방출 조절 (liposomes) 은 물론 지질-캡슐화된 약물 타겟을 위해 사용된다.

[0394] 3. 검출 및 진단 방법

[0395] 시험관 내 및 생체 내에서 코로나바이러스 스파이크 단백질의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 한 예시에서, 코로나바이러스 스파이크 단백질의 존재가 개체의 생물학적 샘플에서 검출되며 및 감염이 있는 개체를 동정하는데 사용될 수 있다. 샘플은, 이것에만 국한하지 않으나, 생체검사 (biopsies), 부검 (autopsy) 및 병리학적 표본 (pathology specimens) 으로부터의 조직을 포함하는 어느 샘플일 수 있다. 생물학적 샘플에는 조직 박편, 예를 들어, 조직학적 목적으로 얻은 동결 단면, 도 또한 포함한다. 생물학적 샘플에는 추가로, 혈액, 혈청, 혈장, 타액, 척수액 또는 뇨와 같은 체액이 포함된다. 검출하는 방법에는 세포 또는 샘플을 코로나바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 항원 결합 단편 또는 이중 특이 항체, 또는 이들의 접합체 (예를 들어, 검출 가능한 마커를 포함하는 접합체) 와 면역복합체가 형성되기에 충분한 컨디션 하에서 접촉시키고, 및 면역 복합체를 검출하는 것을 포함할 수 있다 (예를 들어, 항체 또는 항원 결합 단편에 접합 된 검출 가능한 마커의 검출에 의해).

[0396] 한 실시 예에서, 항체, 항원 결합 단편 또는 이중 특이 항체는 검출 가능한 마커와 직접적으로 라벨 시킬 수 있다. 다른 실시 예에서, 코로나바이러스 스파이크 단백질에 결합하는 항체 (또는 항원 결합 단편 또는 이중 특이 항체) (9일 차 항체)는 라벨 되지 않고 및 일차 항체에 결합할 수 있는 2차 항체 또는 다른 분자가 검출에 사용된다. 일차 항체의 특정한 종 및 클래스에 특이적으로 결합하는 2차 항체가 선택된다. 예를 들어, 만약 일차 항체가 인간 IgG 이면, 2차 항체는 항-인간-IgG 가 될 수 있다. 항체에 결합할 수 있는 다른 분자는, 제한 없이, 단백질 A (Protein A) 및 단백질 G (Protein G)이며, 이 둘 다는 상업적으로 구할 수 있다. 항체, 항원 결합 단편, 이중 특이 항체 또는 2차 항체를 위한 적절한 라벨(labels)은 알려지고 및 상기 서술되었으며, 및 다양한 효소, 보철 그룹(prosthetic groups), 형광재료(fluorescent materials), 발광 재료(luminescent materials), 자성 제제(magnetic agents) 및 방사성 재료(radioactive materials) 를 포함한다.

[0397] 어떤 실시 예에서, 공개되는 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 이중 특이 항체는 백신을 검사하기 위하여 사용된다. 예를 들어, 코로나바이러스 스파이크 단백질 또는 이의 단편을 포함하는 백신 조성물이 공개되는 항체의 에피토프를 포함하는 구조를 가지는지를 검사하기 위하여. 그러므로, 여기서 제공되는 것은 백신을 검사하기 위한 방법이며, 여기서 이 방법은, 코로나바이러스 스파이크 단백질 면역원과 같은, 백신을 함유하는 샘플을 공개되는 항체, 항원 결합 단편, 또는 2중특이 항체와, 면역 복합체를 형성하기에 충분한 컨디션 하에서, 접촉시키고, 및 면역 복합체를 검출하여, 샘플에서 관심 있는 에피토프를 포함하는 백신을 검출하는 것을 포함한다. 한 예시에서, 샘플에서 면역 복합체의 검출은, 면역원과 같은 백신 성분은 항체 또는 항원 결합 단편에 결합할 수 있는 구조를 가진다는 것을 제시한다.

[0398] 이 방법은 분리된 어떤 mAbs 는 SARS-CoV-1가 아닌 SARS-CoV-2에만 결합하므로 SARS-CoV-2를 구별하는 에세이의 사용을 포함할 수 있다 어떤 실시 예에서, 샘플이 SARS-CoV-1에 결합하는 항체에 결합하는 것과, 및 샘플이 SARS-CoV-2에만 결합하는 항체에 결합하는 것 사이의 비교가 되었다. 그러므로, 공개되는 방법은 샘플에서 SARS-CoV-1 및 SARS-CoV-2를 구별하기 위하여 사용될 수 있다.

[0399] 실시예(Examples)

[0400] 단일클론 항체 A23-58.1(A23-58.1), A19-61.1 (A19-61.1), A19-46.1 (A19-46.1), A23-105.1 (A23-105.1), A23-97.1 (A23-97.1), **A19-82.1** (A19-82.1), **A19-1.1** (A19-1.1), **A23-113.1** (A23-113.1), **A20-29.1** (A20-29.1), **A19-30.1** (A19-30.1), **A20-36.1** (A20-36.1), **A20-9.1** (A20-9.1), **A23-80.1** (A23-80.1) 및 **B1-182.1**

(B1-182.1)가 SARS CoV-2 감염 생존자의 말초 혈액 단핵구 세포로부터의 단일 기억 B 세포 (single memory B cells)에서 SARS CoV-2 스파이크 단백질 결합에 대하여 분류하여 분리되었ek

[0401] 이들 항체를 얻기 위하여, WA-1-감염 후 완화된 내지 중등 정도의 증상을 경험한 22명의 회복중인 개체로부터, 증상시작 후 25 및 55일 사이에 혈액이 얻어졌다. 4명의 개체, A19, A20, A23 및 B1, 은 WA-1 변이체에 대하여 높은 중화 및 결합 활성 둘 다를 가졌으며 (도 16A) 및 항체 분리 노력을 위하여 선택되었다. CD19+/CD20+/IgM-/IgA+ 또는 IgG+ B 세포가 안정적인 버전의 S (S-2P), 전장 S1 서브유닛, 또는 수용체 결합 도메인 플러스 S1의 서브도메인-1 부위 (RBD-SD1)에 대한 결합에 대해 분류되었다 (도 16B). 총, 우리는 889 B 세포를 분류하였고, 709 (80%)의 중쇄 및 경쇄 쌍 항체 서열을 회수하였으며 및 발현을 위해 200 항체가 선택되었다. 이 200 항체의 안정화된 스파이크, 전장 S1 서브유닛, RBD, 또는 NTD에의 결합을 측정하기 위하여 MSD 결합 에세이가 사용되었다. 모든 스파이크 도메인에 대하여 77 RBD 결합, 46 NTD 결합, S1가 아닌, S에 결합에 기반한 S2에 결합하는 것으로 추정된 58, 및 19 불확정 에피토프 에 결합 또는 MSD 결합 에세이에서 스파이크 인식 실패로 광범위한 반응이 있었다 (도 16C).

[0402] 단일 B-세포 서열을 동정하기 위하여 SMRTseq가 사용되었다. B 세포 수용체 서열 가변 중쇄 및 경쇄 서열이 합성되었고 및 인가 벡터에 클론 되었으며, 발현되었고 및 결합, 구조적 및 기능적 능력. 항체는 강력한 중화 항체이고 및 SARS CoV-2의 스파이크 당단백질에 있는 유일한 에피토프를 타겟으로 한다.

[0403] 실시예 1

[0404] SARS CoV2에 대한 항체의 시험관 내 및 생체 내 평가

[0405] **기능적 성질:** 코로나바이러스 표면 스파이크 단백질 (S) 과의 반응성을 포함하는, mAb의 시험관 내 기능성을 결정하기 위하여 mAbs의 S2P, HexaPro, S1, RBD 및/또는 NTD에의 결합이 ELISA, MSD 및 생물층 간섭계(biolayer interferometry, BLI)를 사용하여 검사 되었다.

[0406] **에피토프 맵핑 (Epitope Mapping):** mAb 결합 성질 및 S2P, HexaPro, S1, RBD 및/또는 NTD에의 에피토프를 결정하기 위하여 전반적인 맵핑이 ELISA, MSD에 의해서 및 다른 mABs 및 알려진 에피토프를 가진 ACE2와 BLI 경쟁을 사용하여 평가가 수행되었다.

[0407] **친화도 측정 (Affinity Measurements):** S2P에 대한 mAbs의 친화도가 mAbs에 대해 BLI를 사용하여 결정되었다.

[0408] **중화 (Neutralization):** mAb 에 의한 바이러스의 중화가 코로나바이러스 스파이크 단백질을 소유하고 있는 위험 렌티바이러스 입자 (pseudotyped lentivirus particles)를 사용하여 결정되었다. 바이러스에 의한 감염은 바이러스 유전체에 의해 암호화되는 루시페라제 리포터 유전자 (luciferase reporter gene)의 발현을 측정하여 결정된다.

[0409] **구조적 평가 (Structural evaluation):** 항체가 기능 하기 위하여 및 타겟 항원 단백질에 결합하기 위하여 요구되는 인식 방식 및 분자 상호작용을 결정하기 위하여 단일 입자 음성 염색 전자 현미경 클래스 평균(single particle negative stain electron microscopy class averages) 및/또는 CryoEM으로부터의 2D 및 3D 재구성 (reconstruction)이 사용되었다.

[0410] 실시예 2

[0411] 단일 세포 분류 (single cell sorting) 및 SMRTseq에 의한 코로나바이러스-특이 단일클론 항체의 선택

[0412] 가변 도메인이 하기에 논의된 단일클론 항체가 SARS CoV2 특이 기억 B 세포의 단일 세포 분류를 사용하여 분리되었다. 간단하게, 기억 B 세포 집단을 동정하기 위하여 말초 혈액 단핵구 세포가 유동 세포분석으로 염색되었다. 세포는 형광적으로 표지된 SARS CoV2 항원과 동시-염색되었다. 프로브 (probe)에는 RBD, NTD, S1 및 S2P가 포함되었다. 각 프로브에 결합하는 그들의 능력 및 각 프로브에 결합하는 상대적인 효능에 의하여 기억 B 세포를 표현형화 하도록 각 프로브는 유일한 형광색으로 표지되었다. RBD 또는 S2P 에 결합을 보이는 기억 B 세포는 96-웰 플레이트의 웰에 개별 세포로서 분류되었다. 이들 단일 세포는 이어서 SMRTseq 방법을 사용하여 면역 글로블린 중쇄 및 경쇄 서열 분석이 되도록 하였다

[0413] 실시예 3

[0414] A23-58.1(A23-58.1)

[0415] **FACS 프로브 (probe) 분류 (sorting) 및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정:**

[0416] A23-58.1은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상의 시작 후 48일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통해 분리된 단일클론 항체이다. A23-58.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 하기에 있다. A23-58.1의 항원 결합 부위를 암호화하는 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 카파 (kappa) 경쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론 되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 2

	V-유전자 계	D-유전자 계	J-유전자 계	동족체 (Isotype)
중쇄	IGHV1-58*01	Not called	IGHJ6*02	IGHG1*04
CAAATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGCCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGACCTCAGTGAAGGTC TCCTGCAAGGCTTCTGGATTACCTTTACTAGCTCTGCTGTGCAGTGGGTGCACAGGCTC GTGGACAACGCCTTGAGTGGATAGGATGGATCGTCTGGCAGTGGTAACACAAACTACG CACAGAAAGTTCCAGGAAAGAGTCACCATACCAGGGACATGTCCACAAGCACAGCCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCCGAGGACACGCGCGTGTATTACTGTGCGGCACCGAATT GTAGTAATGTTGTATGCTATGATGGTTTTGATATCTGGGGCCAAAGGACAATGGTCACCGT CTCTTCAG (서열 번호 113)				
QMQLVQSGPEVKKPGTSVKVSCKASGFTIFSSAVQWVRQARGORLEWIGWIVVGSNTNY AQKFQERVITITRDMSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAPNCNNVVCYDGFDFIWGQGTMTV SS (서열 번호 25)				
경쇄	IGKV3-20*01		IGKJ1*01	
GAAATTGTGTGACGCAGTCTCCAGGCACCCGTGCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCC TCTCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAAC CTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATAGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCAG ACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGC CTGAAGATTTTGCAGTGTATTTCTGTCAGCAGTATGGTACCTCACCGTGGACGTTCCGCCA AGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC (서열 번호 114)				
EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQKPGQAPRLLIYSASSRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQYGTSPWTFGQGTKVEIK (서열번호 29)				

[0417]

[0418] 표 2. A23-58.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 밑줄쳐졌다.

[0419] SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합:

[0420] 정제된 단일클론 항체 A23-58.1은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NT) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다. 결합은 ELISA 면역에세이를 사용하여 결정되었으며 및 A23-58.1은 SARS CoV2 S2P, S1 및 RBD에는 결합할 수 있으나 SARS CoV2 NTD 또는 SARS CoV1 S2P에는 결합하지 않음을 보였다 (도 1). 약간 감소된 결합을 가진, D614G/N439K를 제외하고, A23-58.1은 D614G, D614G/Y453F, D614G/501Y, D614G/de169-70, D614G/de169-70/N501Y, B.1.1.7, D614G/K471N, D614G/E484K, D614G/K417N/E484K/N501Y 및 B.1.351변이를 포함하는 검사된 모든 변이체에 결합을 유지하거나 또는 증가된 결합을 가졌다, 도 1 참조.

[0421] 에피토프 맵핑 (Epitope mapping):

[0422] A23-58.1가 이전에 발행된 항체와 본 발명 보고에서 발견된 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피토프가 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI)를 사용하여 결정되었다. 간략하게, 바이오 센서 (biosensors)가 정제된 SARS CoV2 S2P로 로딩 되었다 (loaded). 경쟁자 mAb (클래스 또는 총 에피토프를 결정하는 mAb)가 그 후 항원에 결합되게 하고 및 결합 정도가 기록되었다. 그 후 피분석물 mAb가 그 후 항원에 결합되게 하고 및 결합 정도가 기록되었다. 피분석물의 결합의 퍼센트 억제와 다음과 같이 계산된다:

$$\% \text{ 억제} = 100(1 - \frac{\text{경쟁자 존재하에서 피분석물 결합의 신호}}{\text{경쟁자 부재하에서 피분석물 결합의 신호}})$$

$$\text{경쟁자 부재하에서 피분석물 결합의 신호}$$

[0423]

[0424] A23-58.1 경쟁 프로파일이 도 2에 보여준다. A23-58.1이 LY-COV555에 비슷하게 경쟁하나, 이는 LY-COV555와 경쟁하는 A19-46.1, A19-61.1 및 A23-80.1과는 경쟁하지 않음을 보여준다. 비슷하게, A19-46.1, A19-61.1 및 A23-80.1 각각은 LY-COV555의 결합을 차단하지만, 그러나 A23-58.1의 결합은 차단하지 않는다. 종합하면, 이는

A23-58.1은 RBD 내에 차별이 있는 결합 방식 및 에피토프를 가짐을 제시한다. 도 2.

[0425] SARS CoV2 S2P 단백질에의 결합의 동역학 (kinetic):

[0426] BLI를 사용하여 A23-58.1로부터 생성된 Fab 단백질의 SARS CoV2 S2P에 대한 결합이 평가되었다. A23-58.1 Fab는 SARS CoV2 S2P에 대한 결합을 친화력 상수 (affinity constant) (KD) 7.3 nM, 초당 kon 7.13×10^5 및 몰 · 초 (Molar · second)당 koff 5.2×10^{-3} 을 보였다.

[0427] 중화 (Neutralization):

[0428] A23-58.1은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 1). A23-58.1은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC₅₀ (0.0025 µg/mL) 및 IC₈₀ (0.0107 µg/mL)의 중화력을 가진 것으로 발견되었다. 이는 선도하는 임상 후보 LY-COV555 (IC₅₀: 0.0071, IC₈₀: 0.0357 µg/mL) 보다 3 내지 4배 더 강력하다. SARS COV-2 나노록 생 바이러스 (Nanoluc live virus) 중화 IC₅₀ (0.0021 µg/mL) 및 IC₈₀ (0.0045 µg/mL) 는 SARS COV-2를 타겟하는 항체로 보고된 것중 가장 강력하다, 도 1 참조.

[0429] 위형 중화 에세이에서 자연적으로 존재하는 SARS COV-2 스파이크 변이체에 대한 추가의 검사에서 A23-58.1은 하기의 변이체 D614G, N439K/D614G, Y453F/D614G, A222V/D614G, N501Y/D614G, del69-70/D614G, N501Y/del69-70/D614G, N501Y/E484K/K417N/D614G 및 H69del-V70del-Y144del-N501Y-A570D-D614G-P681H-T716I-S982A-D1118H에 아미노산 변화를 함유하는 B.1.1.7 (VOC 202012/01)에 대하여 높은 효능 (IC₅₀: <0.0006-0.0058 ug/mL; IC₈₀: 0.0039-0.0183 µg/mL) 를 유지함을 보였다. REGN-10933은 Y453F/E614G, N501Y/E484K/K417N/D614G 및 B.1.351에 대하여 중화 능력을 상실한다 (>10 µg/mL). CB6는 N501Y/E484K/K417N/D614G 및 B.1.351 변이체에 대하여 중화 활성을 상실한다. 도 1 참조.

[0430] ACE2 수용체 차단:

[0431] SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이 취약성은 감염을 중화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 억제제는 에피토프 맵핑에서 사용된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. 간략하게, 바이오 센서 (biosensors) 가 정제된 SARS CoV2 S2P로 로딩 되었다 (loaded). 경쟁자 mAb (만약 mAb가 ACE2 결합을 차단한다면 이를 결정하기 위하여 평가되는 mAb) 가 그 후 항원에 결합되게 하고 및 결합 정도가 기록되었다. 용해성 ACE2 단백질이 그 후 항원에 결합되게 하고 및 결합 정도가 기록되었다. 피분석물의 결합의 퍼센트 억제가 다음과 같이 계산된다:

$$\% \text{ 억제} = 100 \left(1 - \frac{\text{경쟁자 존재하에서 ACE2 결합의 신호}}{\text{경쟁자 부재하에서 ACE2 결합의 신호}} \right)$$

[0432]

[0433] A23-58.1 ACE2 경쟁 프로파일은 도 2에 보여주고 및 A23-58.1은 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해한다는 것을 제시한다.

[0434] 전자 현미경 연구 (Electron microscopy studies):

[0435] Fab 단백질이 A23-58.1 IgG로부터 효소 소화에 의해 생성되었다. 과량의 Fab가 안정화된 6-프롤린 (S-6P)) 스파이크 단백질 엑토도메인 (ectodomain) 존재하에서 배양되었다((하세이 등 (Hseih et al, "Structure-based design of prefusion-stabilized SARS-CoV-2 Spikes," Science, 369(6510):1501-1505, 2020에서 서술되고, 여기 참고문헌으로 병합됨)). 복합체화된 재료는 그 후 극저온 전자 현미경 단일 입자 분석 (cryogenic electron microscopy single particle analysis)으로 분석되었다 (도 3).이 데이터는 A23-58.1은 RBD 도메인은 위에 위치 (up position) 로 하면서 스파이크에 S-6P 삼량체 당 3 Fabs 로 결합함을 제시한다.

[0436] 실시예 4

[0437] A19-61.1 (A19-61.1)

[0438] FACS 프로브 분류 (sorting) 및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정:

[0439] A19-61.1은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후 41일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 단일클론 항체이다. 유동세포분석 데이터가 항체임을 제시하였다. A19-61.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표 2에서 발견될 수 있다. A19-61.1의 항원 결합 부위를 암호화하는 표 2로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 카파 (kappa) 경쇄에 대한 인간 고정부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론 되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 3

	V-유전자 계	D-유전자 계	J-유전자 계	동족체 (Isotype)
중쇄	IGHV3-30-3*01, IGHV3-30*17	IGHD6-19*01	IGHJ6*02	IGHG3*04, IGHG2*06
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGCTTTCCACTGGGTCCGCCAAGCTC CGGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGCAATCAATACTACG CAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCGAAGAACACGCTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGACGACACGCGTGTGTATTACTGTGCGAGAGATCTGG CTATAGCAGTGGCTGGTACGTGGCACTATTATAACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA CCACGGTCACCGTCTCCTCAG (서열 번호 115)				
QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSSYAFHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNQYYA DSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRADDTAVYYCARDLAIAVAGTWHYNYGMDVWGQG TTVTVSS (서열 번호 9)				
경쇄	IGKV1D-12*02, IGKV1-12*02		IGKJ5*01	
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCAGTAGGAGACAGAGTCATCA TCACCTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTTCCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAG GGAAAGCCCTAAGGTCCTGATCTATGATGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAA GGTTTCAGGGCAGTGGATATGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTG AAGATTCTGCAACTACTATTGTCAACAGGCTAAAAGTTTTCCGATCACCTTCGGCCAAGG GACACGACTGGAGATTAAAC (서열 번호 116)				
DIQMTQSPSSVSASVGDRIIVITCRASQGISSWLAWYQQKPKAPKVLIIYDASSLQSGVPSRFSG SGYGTDFTLTISSLQPEDSATVYYCQQAQSFPIIFGQGRLEIK (서열 번호 13)				

[0440]

[0441] 표 3. A19-61.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 밑줄쳐졌다.

[0442] SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합: 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다 (도 1). 결합은 ELISA 면역에세이를 사용하여 결정되었으며 및 A19-61.1은 SARS CoV2 S2P, S1 및 RBD에는 결합할 수 있으나 SARS CoV2 NTD 또는 SARS CoV1 S2P에는 결합하지 않음을 보였다. 약간 감소된 결합을 가진, D614G/N439K를 제외하고, A19-61.1은 D614G, D614G/Y453F, D614G/501Y, D614G/del69-70, D614G/del69-70/N501Y, B.1.1.7, D614G/K471N, D614G/E484K, D614G/K417N/E484K/N501Y 및 B.1.351 변이체를 포함하는 검사된 모든 변이체에 결합을 유지하거나 또는 약간 증가된 결합을 가졌다, 도 1 참조.

[0443] 에피토프 맵핑 (Epitope mapping):

[0444] A19-61.1가 이전에 발행된 항체 및 여기서 공개되는 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피토프가 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었다. A19-61.1 경쟁 프로파일이 도 4에 보여준다. A19-61.1 결합은 S309 및 LY-COV555 결합을 차단하고 및 S309 및 LY-COV555 둘 다는 A19-61.1 결합을 차단한다. 그러나, 나머지 경쟁 프로파일은 이 두 항체와는 다르다. 예를 들어, A23-113.1 및 A19-46.1 및 A23-58.1과는 다른 경쟁이 있다 (하기 참조). 음성 EM (negative EM)은 이 항체는 RBD는 아래 위치 (down position)에서 에피토프는 스파이크 3-배 측에 가깝게 스파이크의 RBD에 결합함을 제시한다 (도 4B). 종합하면, 이는 A19-61.1은 RBD 내에 차별 있는 결합 방식 및 에피토프를 가짐을 제시한다.

[0445] SARS CoV2 S2P 단백질에의 결합의 동역학 (kinetic)

[0446] BLI를 사용하여 A19-61.1로부터 생성된 Fab 단백질의 SARS CoV2 S2P에 대한 결합이 평가되었다. Fab는 SARS CoV2 S2P에 대한 결합을 친화력 상수 (affinity constant) (KD), 2.33 nM, 초 당 kon 3.04×10^5 및 몰·초 (Molar·second) 당 koff 7.06×10^{-4} 를 보였다.

[0447]

중화

[0448]

A19-61.1은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 2 참조). A19-61.1은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC₅₀ (0.0709 µg/mL) 및 IC₈₀ (0.1633 µg/mL)의 중화력을 가진 것으로 발견되었다. 자연적으로 존재하는 SARS COV-2 스파이크 변이체에 대한 위형 중화 에세이에서의 추가의 검사에서 A19-61.1은 하기의 변이체 D614G, N439K/D614G, Y453F/D614G, A222V/D614G, N501Y/D614G, del69-70/D614G, N501Y/del69-70/D614G, E484K/D614G 및 N501Y/E484K/K417N/D614G, H69del-V70del-Y144del-N501Y-A570D-D614G-P681H-T716I-S982A-D1118H에 아미노산 변화를 함유하는 B.1.1.7 (VOC 202012/01) 및 B.1.351 변이체에 대해 높은 효능 (IC₅₀: 0.0020-0.0237 µg/mL; IC₈₀: 0.0131-0.0418 µg/mL) 를 유지함을 보였다. 이는 E484K/D614G, N501Y/E484K/K417N/D614G 및 B.1.351 변이체에 대한 중화 능력을 상실한 LY-CoV555 및 REGN-10989와는 반대이다. REGN-10933은 Y453F/E614G, N501Y/E484K/K417N/D614G 및 B.1.351에 대하여 중화 능력을 상실한다 (>10 µg/mL). CB6는 N501Y/E484K/K417N/D614G 및 B.1.351 변이체에 대하여 중화 활성을 상실한다. 도 1 참조. SARS COV-2 나노록생 바이러스 (Nanoluc livevirus) 중화 IC₅₀ (0.0022 µg/mL) 및 IC₈₀ (0.0134 µg/mL) 는 SARS COV-2를 타겟하는 항체로 보고된 것 중 가장 강력하다.

[0449]

ACE2 수용체 차단:

[0450]

SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이 취약성은 감염을 중화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 억제체는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. A19-61.1 ACE2 경쟁 프로파일은 도 4에 보여주고 및 A19-61.1는 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해한다는 것을 제시한다. 도 4.

[0451]

실시에 5

[0452]

A19-46.1 (A19-46.1)

[0453]

FACS 프로브 분류 (sorting) 및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정:

[0454]

A19-46.1은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후 41일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 단일클론 항체이다. A19-46.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표 3에서 발견될 수 있다. A19-46.1 항원 결합 부위를 암호화하는 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 람다 (lambda) 경쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론 되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 4

	V-유전자 계	D-유전자 계	J-유전자 계	동족체 (Isotype)
중쇄	IGHV3-30*03, IGHV3-30-5*01	지정되지 않음	IGHJ6*02	IGHG
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTC CAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGTAATAAATACTATG TAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC TGCAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGGGGTGGG CTTATTGGGAGCTACTCCCTGACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCA CGGTCACCGTCTCCTCAG (서열 번호 117)				
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFLSSYGMHWVRQAPGKLEWVAVISYDGSNKYY VDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWAYWELLPDYYYGMDVWGQG TTVTVSS (서열 번호 17)				
경쇄	IGLV8-61*01		IGLJ3*01, IGLJ2*01	
CAGACTGTGGTGACACAGGAGCCATCGTTCTCAGTGTCCCCTGGAGGGACAGTCACACTC ACTTGTGGCTTGAGCTCTGGCTCAGTCTCTACTGCTTACTTCCCAGCTGGTACCAGCAGA CCCCAGGCCAGGCTCCACGCACGCTCATCTACGGTACAAACACTCGCTCTTCTGGGGTCCC CGATCGCTTCTCTGGCTCCATCCTTGGGAACAAAGCTGCCCTACCATCACGGGGGCCAG GCAGACGATGAATCTGATTACTGTGTGCTGTATATGGGTAGAGGATTGTGGTATTTCG GCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAG (서열 번호 118)				
QTVVTQEPFSVSPGGTVTLTCLSGSVSTAYEFSWYQQTPGQAPRTLIYGINTRSSGVPDRF SGSILGNKAALTTTGAQADDESDDYVCVLYMGRGIVVFGGGTKLTVL (서열 번호 21)				

[0455]

- [0456] 표 4. SARS2. A789-d41-46.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 밑줄쳐졌다.
- [0457] SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합
- [0458] 정제된 단일클론 항체 A19-46.1 은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다 (도 1). 결합은 ELISA 면역에세이를 사용하여 결정되었으며 및 A19-46.1은 SARS CoV2 S2P, S1 및 RBD에 강하게 결합할 수 있으나 SARS CoV1 S2P에는 결합하지 않음을 보였다. 이는 SARS CoV2 NTD 에 또한 약하게 결합하였다, 도 1 참조. 약간 감소된 결합을 가진, D614G/N439K 및 D614G/E484K 를 제외하고, A19-46.1은 D614G, D614G/Y453F, D614G/501Y, D614G/del69-70, D614G/del69-70/N501Y, B.1.1.7, D614G/K471N, D614G/K417N/E484K/N501Y 및 B.1.351 변이체를 포함하는 검사된 모든 변이체에 결합을 유지하거나 또는 약간 증가된 결합을 가졌다, 도 1 참조.
- [0459] 에피토프 맵핑
- [0460] A19-46.1이 이전에 발행된 항체 및 본 발명 보고서에서 발견된 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피토프가 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었다.
- [0461] A19-46.1 경쟁 프로파일이 도 5에 보여준다.
- [0462] 비슷하게, A19-46.1, A19-61.1 및 A23-80.1 각각은 LY-CO 555의 결합을 차단하나 A23-58.1의 결합은 차단하지 않는다.
- [0463] 음성 EM은 이 항체는 RBD는 아래 위치 (down position)에서 RBD에 결합하나, 각도는 A19-61.1의 각도와 다르게 결합한다는 것을 제시한다 (도 4B). 종합하면, 이는 A19-46.1 은 RBD 내에 차별 있는 결합 방식 및 에피토프를 가짐을 제시한다.
- [0464] SARS CoV2 S2P 단백질에의 결합의 동역학 (kinetic)
- [0465] BLI를 사용하여 A19-46.1로부터 생성된 Fab 단백질의 SARS CoV2 S2P에 대한 결합이 평가되었다. A23-58.1 Fab 는 SARS CoV2 S2P에 대한 결합을 친화력 상수 (affinity constant) (KD), 3.58 nM, 초 당 k_{on} 3.79×10^5 및 몰 · 초 (Molar · second) 당 k_{off} 1.35×10^{-3} 을 보였다.
- [0466] 중화
- [0467] A19-46.1은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 1). A19-46.1은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC_{50} (0.0398 μ g/mL) 및 IC_{80} (0.1287 μ g/mL)의 중화력을 가진 것으로 발견되었다. 자연적으로 존재하는 SARS COV-2 스파이크 변이체에 대한 위형 중화 에세이에서의 추가의 검사에서 A19-46.1은 하기의 변이체 D614G, N439K/D614G, Y453F/D614G, A222V/D614G, N501Y/D614G, del69-70/D614G, N501Y/del69-70/D614G, E484K/D614G 및 N501Y/E484K/K417N/D614G 및 H69del-V70del-Y144del-N501Y-A570D-D614G-P681H-T716I-S982A-D1118H에 아미노산 변화를 함유하는 B.1.1.7 (VOC 202012/01) 에 대해 높은 효능 (IC_{50} : 0.0149-0.1265 μ g/mL; IC_{80} : 0.0435-0.9036 μ g/mL) 를 유지함을 보였다. 이는 E484K/D614G, N501Y/E484K/K417N/D614G 및 B.1.351 변이체에 대한 중화 능력을 상실한 (>10 μ g/mL) LY-CoV555 및 REGN-10989와는 반대이다. REGN-10933은 Y453F/E614G, N501Y/E484K/K417N/D614G 및 B.1.351에 대하여 중화 능력을 상실한다 (>10 μ g/mL). CB6는 N501Y/E484K/K417N/D614G 및 B.1.351 변이체에 대하여 중화 활성을 상실한다 (>10 μ g/mL). 도 1 참조. SARS COV-2 나노록 생 바이러스 (Nanoluc livevirus) 중화 IC_{50} (0.0048 μ g/mL) 및 IC_{80} (0.0535 μ g/mL) 는 SARS COV-2를 타겟하는 항체로 보고된 것 중 가장 강력하다.
- [0468] ACE2 수용체 차단
- [0469] SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이 취약성은 감염을 중화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질의 항체의 결합 때문에 ACE2 결합의 억제제는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. A19-46.1 ACE2 경

쟁 프로파일은 도 5에 보여주고 및 A19-46.1은 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해한다는 것을 제시한다.

실시예 6

4.5 A23-105.1 (A23-105.1

ACS 프로브 분류 (sorting) 및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정:

A23-105.1은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후 48일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 mAb이다. A23-105.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표 4에서 발견될 수 있다. A23-105.1 항원 결합 부위를 암호화하는 표4로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 카파(kappa) 경쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론 되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 5

	V-유전자 계	D-유전자 계	J-유전자 계	동족체(Isotype)
중쇄	IGHV3-30-3*01, IGHV3-30*04	불리지 않음	IGHV3-30-3*01, IGHV3-30*04	IGHGP*01, IGHG3*04, IGHG2*06
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAACATATGCTATCCACTGGGTCCGCCAGGCTC CAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGCAATAAATACTACG CAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC TGGAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGATATGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGTCGGTC CGTATCAGTATGATAGTAGTGCTGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGT CTCTTCAG (서열번호 119)				
QVQLVESGGGVVQPGSRSLRLSCAASGFTFSNYAIHWVVRQAPGKLEWVAVISYDGSNKYYA DSVKGRFTISRDNKNTLYEMNSLRAEDMAVYYCARVGPYQYDSSAAFDIWGQGTMTVVS S (서열번호 41)				
경쇄	IGKV1-5*01		IGKJ1*01	
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCA TCACCTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCCAG GGCAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGAAAGTGGGGTCCCATCAA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACCTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTG ATGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTATTCTCGAACGTTTCGGCCAAGG GACCAAGGTGGAATCAAAC (서열번호 120)				
DIQMTQSPSTLSASVGDRTTTCRASQSISSWLAWYQQKPGAPKLLIYDASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQOYNSYSRTIFGQGTKVEIK (서열번호 45)				

표 5. A23-105.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 밑줄쳐졌다.

SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합

정제된 단일클론 항체 A23-105.1은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다 (도 1). 결합은 ELISA 면역에세이를 사용하여 결정되었으며 및 A23-105.1은 SARS CoV2 S2P, S1 및 RBD에 결합할 수 있으나 SARS CoV2 NTD 또는 SARS CoV1 S2P에는 결합하지 않음을 보였다. 이는 유동 세포분석 프로브 염색과 일치하며 및 에피토프가 RBD 도메인에 존재한다는 것을 제시한다.

에피토프 맵핑

A23-105.1이 이전에 발현된 항체 및 본 발명 보고서에서 발견된 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피토프가 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었다.

A23-105.1 경쟁 프로파일이 도 6에 보여준다. A23-105.1가 LY-COV555에 비슷하게 경쟁하는 반면, 이는 A19-46.1, A19-61.1 및 A23-80.1과는 경쟁하지 않는다. 종합하면, 이는 A23-105.1은 RBD 내에 차별 있는 결합 방식 및 에피토프를 가짐을 제시한다.

SARS CoV2 S2P 단백질에의 결합의 동역학 (kinetic)

[0482] BLI를 사용하여 A23-105.1로부터 생성된 Fab 단백질의 SARS CoV2 S2P에 대한 결합이 평가되었다. A23-105.1 Fab 는 SARS CoV2 S2P 단백질에 대한 결합 친화력 상수 (affinity constant) (KD), 2.59 nM, 초 당 k_{on} 1.68 x 10⁵ 및 몰 · 초 (Molar · second) 당 k_{off} 4.36 x 10⁻⁴를 보였다.

[0483] 중화

[0484] A23-105.1은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 1). A23-105.1 은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC₅₀ (0.0889 µg/mL) 및 IC₈₀ (0.2277 µg/mL) 를 가진 것으로 발견되었다 (도 1). A23-105.1 에 의한 SARS COV-2 나노록 생 바이러스 (Nanoluc live virus) 중화는 IC₅₀ (0.0186 µg/mL) 및 IC₈₀ (0.06 µg/mL) 를 보이고 이는 매우 강력한 mAb임을 보여준다.

[0485] ACE2 수용체 차단

[0486] SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이 취약성은 감염을 중화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질에의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 억제는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. A23-105.1 ACE2 경쟁 프로파일은 도 6에 보여주고 및 A23-105.1 은 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해한다는 것을 제시한다.

[0487] 실시예 7

[0488] 4.6 A19-1.1 (A19-1.1)

[0489] A19-1.1은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후 41일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 mAb이다. A19-1.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표 5에서 발견될 수 있다. A19-1.1 항원 결합 부위를 암호화하는 표 5로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 람다 (lambda)경쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론 되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 6

	V-유전자 계	D- 유전자 계	J- 유전자 계	동족체(Isotype)
중쇄	IGHV3-30-3*01	지정되지않음	IGHJ5*02	IGHA1*01
CAGGTGTCAGTTGGTAGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCACTAATTATGCAATGCACTGGGTCCGCCAGGCTC CAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCAAATGATGGAAGCGATAAAATACTAC GCGGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAGCACGGTTTAT TTGCAAATGAGCAGCCTGAGACCTGAGGACACGGCTGTGTATTCTGTGCGAGAGATCCC CCCCAGGTTCACTGGTCCCTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAG (서열 번호 121)				
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIPTNYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISNDGSDKY ADSVKGRFTISRDNSTVYLQMSSLRPEDTAVYFCARDPPQVHWSLDYWGQGLTVTVSS (서열 번호 49)				
경쇄	IGLV2-8*01		IGLJ1*01	
CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTCCCTCCGCGTCCGGGTCTCCTGGACAGTCAGTCACCATCT CCTGCACTGGAACAGCAGTGACGTTGGTGATTATAACTATGTCTCCTGGTACCAACACCA CCCAGGCAAAGCCCCAACTCATAATTTATGACGTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCC TGATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCGACACGGCCTCCCTGACCGTCTCTGGGCTCCAG GCTGAGGATGAGGCTGATTACTGCAGCTCATATGCAGGCAACAACAATGCCGTCTTC GGAACCTGGGACCAAGGTCACCGTCCTAG (서열 번호 122)				
QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGDNVYVSWYQHHPGKAPKLIYDVSKRPSGVPDRF SGSKSGDTASLTVSGLQAEDEADYYCSSYAGNNNAVFGTGTKVTVL (서열 번호 53)				

[0490]

[0491] 표 6. A19-1.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 밑줄쳐졌다.

[0492] SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합

[0493] 정제된 단일클론 항체 A19-1.1은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다 (도 1). 결합은 ELISA 면역에세이를 사

용하여 결정되었으며 및 A19-1.1은 SARS CoV2 S2P, S1 및 RBD에 결합할 수 있으나 SARS CoV2 NTD 또는 SARS CoV1 S2P에는 결합하지 않음을 보였다. 이는 유동 세포분석 프로브 염색과 일치하며 및 에피톱이 S1도메인에 존재한다는 것을 제시한다.

[0494] 에피톱 맵핑

[0495] A19-1.1 이 이전에 발행된 항체 및 본 발명 보고서에서 발견된 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피톱이 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었다. A19-1.1 경쟁 프로파일이 도 7에 보여준다. A1. 종합하면, 이는 A19-1.1 은 RBD내에 차별있는 결합 방식 및 에피톱을 가지나, LY-COV555와 경쟁함을 제시한다.

[0496] 중화

[0497] A19-1.1 은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 1). A19-1.1 은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC₅₀ (0.1259 µg/mL) 및 IC₈₀ (0.5305 µg/mL) 를 가진 것으로 발견되었다.

[0498] ACE2 수용체 차단

[0499] SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이 취약성은 감염을 중화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 억제는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. A19-1.1 ACE2 경쟁 프로파일은 도 7에 보여주고 및 A19-1.1은 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해한다는 것을 제시한다.

[0500] 실시예 8

[0501] 4.7 A20-29.1 (A20-29.1)

[0502] FACS 프로브 분류 (sorting) 및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정

[0503] A20-29.1 은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후 50일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 mAb이다. 유동 세포분석 데이터가 이것이 항체임을 제시한다. A20-29.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표 6에서 발견될 수 있다. A20-29.1 항원 결합 부위를 암호화하는 표 6로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 카파 (kappa) 경쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론 되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 7

	V-유전자 계	D-유전자 계	J-유전자 계	동족체(Isotype)
중쇄	IGHV3-9*01	IGHD3-10*01	IGHJ4*02	IGHG1*01, IGHG3*04, IGHG2*06
GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGCAGCCTCTGGATTACGTTTATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAACCTC CAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTGACATAGACTATG CGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGTCCCTGTATC TGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTACAAAAGGGTGGT TCGGGGAGTTCTTCGGGGCCGGGTGATATGTGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCA CCGTCTCCTCAG (서열 번호 123)				
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQTPGKLEWVSGISWNSGDDIDYA DSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCTKGWFGFEFFGAGSICDYWGQGTLVTV SS (서열 번호 33)				
경쇄	IGKV3-15*01, IGKV3D-15*01		IGKJ1*01	
GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC CTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAACAACCTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCT GGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGGAGGCACTGGTATCCAGCCAA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTG AAGATTTTGAGTTTATTACTGTCAGCAGTATAATAACTGGCCGTGTTCGGCCAAGGGAC CAAGGTGGAAATCAAAC (서열 번호 124)				
EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSYNNLAWYQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSG SGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNNWPLFGQGTKVEIK (서열 번호 37)				

[0504]

- [0505] 표 7. A20-29.1유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 빨강색으로 밑줄 쳐졌다.
- [0506] SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합
- [0507] 정제된 단일클론 항체 A20-29.1 은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다 (도 1). 결합은 ELISA 면역에세이를 사용하여 결정되었으며 및 A20-29.1 은 SARS CoV2 S2P, S1 및RBD에 결합할 수 있으나 SARS CoV2 NTD 에는 결합하지 않음을 보였다. 이는 유동 세포분석 프로브 염색과 일치하며 및에피토프이 RBD 도메인에 존재한다는 것을 제시한다. 추가로, A20-29.1은 SARS CoV-1 S2P에 결합하며, 이는 교차 코로나바이러스 결합 활성을 제시한다.
- [0508] 에피토프 맵핑
- [0509] A20-29.1 이 이전에 발행된 항체 및 본 발명 보고서에서 발견된 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피토프이 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었다.
- [0510] A20-29.1 경쟁 프로파일이 도 8에 보여준다. A20-29.1, A19-46.1 및 A19-61.1의 음성 염색 EM (Negative stain EM) 은 이들 항체가 RBD는 아래 위치 (down position) 에서 스파이크의 RBD에 결합한다는 것을 확인하였다 (도 4B). A20-29.1은 A19-46.1 및 A19-61.1에 비교하여 RBD 도메인에의 접근에 뚜렷한 각도를 가진다. A20-29.1의 에피토프은 RBD의 밑 (base)에 위치하여 있으며 및 A19-46.1 및 A19-61.1의 에피토프은 스파이크의 3-배 측에 가까운 RBD 부위에 위치해 있다.
- [0511] 종합하면, 이는 A20-29.1은 RBD 내에 차별 있는 결합 방식 및 에피토프을 가진다는 것을 제시한다.
- [0512] SARS CoV2 S2P 단백질에의 결합의 동역학 (kinetic)
- [0513] BLI를 사용하여 A20-29.1로부터 생성된 Fab 단백질의 SARS CoV2 S2P에 대한 결합이 평가되었다. A20-29.1 Fab 는 SARS CoV2 S2P 단백질에 대한 결합을 친화력 상수 (affinity constant) (KD), 0.263 nM, 초 당 k_{on} 4.8×10^5 및 몰 · 초 (Molar · second) 당 k_{off} 1.26×10^{-4} 를 보였다.
- [0514] 중화
- [0515] A20-29.1 은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 1). A20-29.1 은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC_{50} (0.3483 μ g/mL) 및 IC_{80} (1.3556 μ g/mL) 을 가진 것으로 발견되었다. 자연적으로 존재하는 SARS COV-2 스파이크 변이체에 대한 위형 중화 에세이에서의 추가의 검사에서 A20-29.1은 하기의 변이체 D614G, N439K/D614G, Y453F/D614G, A222V/D614G, N501Y/D614G, del69-70/D614G, N501Y/del69-70/D614G, E484K/D614G 및 N501Y/E484K/K417N/D614G 에 대해 비슷한 효능 (IC_{50} : 0.1732-0.5792 μ g/mL; IC_{80} : 0.3443-1.1341 μ g/mL) 를 유지함을 보였다. 이는 E484K/D614G 및 N501Y/E484K/K417N/D614G 변이체에 대한 중화 능력을 상실한 (>10 μ g/mL) LY-CoV555, 및 REGN-10989 및 Y453F/E614G 변이체에 대해 중화 능력을 상실한 (>10 μ g/mL) REGN-10933, 및 N501Y/E484K/K417N/D614G변이체에 대한 중화 능력을 상실한 LY-CoV555, CB6, REGN-10989, REGN-10933 과는 반대이다.
- [0516] ACE2 수용체 차단
- [0517] SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이 취약성은 감염을 중화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질에의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 역제는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. A20-29.1 ACE2 경쟁 프로파일은 도 8에 보여주고 및 A20-29.1은 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해하지 않는다 것을 제시한다. LY-COV555 클래스에 있는 항체와의 경쟁력이 부족한 것과 더불어, 이는 A20-29.1은 LY-COV555 경쟁 클래스 내에 있는 항체들에 대한 비-경쟁적인 파트너로서 사용될 수 있는 매우 중화하는 항체임을 제시한다.
- [0518] 실시예 9
- [0519] 4.8 A19-30.1 (A19-30.1)

[0520] FACS 프로브 분류 (sorting) 및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정

[0521] A19-30.1은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후 41일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 mAb이다. 유동 세포분석 데이터가 이것이 항체임을 제시한다. A19-30.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표 7에서 발견될 수 있다. A19-30.1 항원 결합 부위를 암호화하는 표 7로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 람다 (lambda) 경쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 8

	V-유전자 계	D-유전자 계	J-유전자 계	동족체(Isotype)
중쇄	IGHV3-30-5*01, IGHV3-30*18	불리지 않음	IGHJ4*02	IGHGP*01,IGHG3*04,IGHG2*06
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCTGAGACTC TCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAACATATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTC CAGGCAAGGGGCTGGAGTGGCTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGTAATAAATACTATG CGGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTTTC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAAAGAGTCGC AATTCGGGGAGTTATTGGAAGCCTTAGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCT CCTCAG (서열 번호 125)				
QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWLVAVISYDGSNKYY ADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVVYCAKESQFGELFEALDYWGQGLTVTS S (서열 번호 57)				
경쇄	IGLV3-10*01		IGLJ3*02	
TCCTATGAGCTGACACAGCCACCCTCGGTGTCAGTGTCCCCAGGACAAACGGCCAGGATC ACCTGCTCTGGAGATGCATTGCCAAGAAAATATGCTTTTGGTACCAGCAGAAAGTCAGGC CAGGCCCTGTGCTGGTCATCTCTGAGGACAGCAAACGACCCTCCGGGATCCCTGAGAGA TTCTCTGGCTCCAGCTCAGGGACAATGGCCACCTTGACTATCAGTGGGGCCAGGTGGAG GATGAAGCTGACTACTACTGTTACTCAACAGACAGCAGTGGTAATCATAGGGTGTTCGGC GGAGGGACCAAACCTGACCGTCCTAG (서열 번호 126)				
SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDAALPRKYAFWYQKSGQAPVLVISEDSCRPSGIPERFSGSS SGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL (서열 번호 61)				

[0522]

[0523] 표 8. A19-30.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 빨강색으로 밑줄 치졌다.

[0524] SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합

[0525] 정제된 단일클론 항체 A19-30.1은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다 (도 1). 결합은 ELISA 면역에세이를 사용하여 결정되었으며 및 A19-30.1은 SARS CoV2 S2P, S1 및 RBD에 결합할 수 있으나 SARS CoV2 NTD 또는 SARS CoV1 S2P에는 결합하지 않음을 보였다. 이는 에피토프가 RBD 도메인에 존재한다는 것을 제시한다.

[0526] 에피토프 맵핑

[0527] A19-30.1이 이전에 발현된 항체 및 본 발명 보고서에서 발견된 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피토프가 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었다. A19-30.1 경쟁 프로파일은 도 9에 보여준다. 종합하면, 이는 A19-30.1은 RBD 내에 차별있는 결합 방식 및 에피토프를 가진다는 것을 제시한다.

[0528] SARS CoV2 S2P 단백질에의 결합의 동역학 (kinetic)

[0529] BLI를 사용하여 A19-30.1로부터 생성된 Fab 단백질의 SARS CoV2 S2P에 대한 결합이 평가되었다. A19-30.1 Fab는 SARS CoV2 S2P 단백질에 대한 결합을 친화력 상수 (affinity constant) (KD), 0.916 nM, 초 당 kon 7.62 x 10⁴ 및 몰 · 초 (Molar · second) 당 koff 6.95x 10⁻⁵를 보였다.

[0530] 중화

[0531] A19-30.1은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 1). A19-30.1은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 비-중화되는 것으로 발견되었다. 이는 감염된 세포를 죽이기 위하여 항체 Fc-의존적 기전에 의해 또는, 항체-의존적인 세포 세포독성, 항체-의존적인 식균작용 및/또는 항체-의존적인 보체-매개하는 살상으로 바이러스 입자를 용해하여 작용한다는 것을 제시한다.

[0532] ACE2 수용체 차단

[0533] SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이 취약성은 감염을 중화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질에의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 억제는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. A19-30.1 ACE2 경쟁 프로파일은 도 9에 보여주고, 및 A19-30.1은 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해하지 않는다 것을 제시한다. LY-COV555 클래스에 있는 항체와의 경쟁력이 부족한 것과 더불어, 이는 A19-30.1은 LY-COV555 경쟁 클래스 내에 있는 항체들에 대한 비-경쟁적인 파트너로서 사용될 수 있는 강력하게 중화하는 항체임을 제시한다.

[0534] 실시예 10

[0535] 4.9 A20-36.1 (A20-36.1

[0536] FACS 프로브 분류 (sorting) 및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정

[0537] A20-36.1은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후 50일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 mAb이다. A20-36.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표 8에서 발견될 수 있다. A20-36.1 항원 결합 부위를 암호화하는 표 8로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 람다 (lambda) 경쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론 되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 9

	V- 유전자 계		D- 유전자 계	J- 유전자 계		동족체 (Isotype)
중쇄	IGHV3-33*01		IGHD3-9*01	IGHJ4*02		IGHG1*04
		CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGT CCCTGAGACTCTCTGTGCAGCGTCTGGATTATCTTCAGTAGCTATGGC GTGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAG TTATATGGCATGATGAAAGTAATAAAGACTATGCAGACTCCGTGAAGGG CCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGGTGTATCTGCAAA TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTATGTATTATTGTGCGAGAGA TGGTTACGATTTTTTACTGGGGCTTACGAGCTTGACTACTGGGGCCAGG GAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG (서열 번호 127)				
		QVQLVESGGGVVQPRSLRLSCAASGFISSYGVHWVRQAPGKLEWVAV IWHDENKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRAEDTAMYYCARD GYDFLTGAYELDYWGQGLVTVSS (서열 번호 65)				
경쇄	IGLV3-25*02			IGLJ3*02		
		TCCTATGAGCTGACACAGCCACCCCTCGGTGTCTGAGTGTCCCGAGGACAGAC GGCCAGGATCACCTGCTCTGGAGATGCATTGCCAAAGCAATATGCTTATT GGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGGTGGTGATATATAAAGA CAGTGAGAGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAGCTCAG GGACAACAGTCACGTTGACCATCAGTGGAGTCCAGGCAGAAGATGAGGC TGACTATTACTGTCAATCAGCAGACAGCAGTGGCACTTGGGTGTTCCGGC GAGGGACCAAACTGACCGTCTCCTAG (서열 번호 128)				
		SYELTQPPSVSVSPQTARITCSGDALPKQYAYWYQKPGQAPVTVVYKDS ERPSGIPERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDDYCYQSADSSGIWVFGGGTK LTVL (서열 번호 69)				

[0538]

[0539] 표 9. A20-36.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 밑줄 치졌다.

[0540] SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합

[0541] 정제된 단일클론 항체 A20-36.1은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다 (도 1). 결합은 ELISA 면역에세이를

사용하여 결정되었으며 및 A20-36.1은 SARS CoV2 S2P 및 S1에 결합할 수 있으나 SARS CoV2 RBD 또는 NTD 에는 결합하지 않음을 보였다. S1에 대한 SD1 및 SD2 도메인을 보는 후속 맵핑 ELISA (Follow-up mapping ELISA) 는 이 항체가 S1의 SD2의 부위를 타겟한다는 것을 제시한다. 이 데이터는 유동 세포분석 프로브 염색과 일치한다. 추가로, 이 항체는 SARS CoV-1 S2P에 결합하는 것으로 보인다.

[0542] *에피토프 맵핑*

[0543] A20-36.1이 이전에 발행된 항체 및 본 발명 보고서에서 발견된 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피토프가 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었다. A20-36.1 경쟁 프로파일이 도 10에 보여준다. 종합하면, 이는 A20-36.1은 S1의 SD2 부위 내에 차별있는 결합 방식 및 에피토프를 가진다는 것을 제시한다.

[0544] *SARS CoV2 S2P 단백질에의 결합의 동역학 (kinetic)*

[0545] BLI를 사용하여 A20-36.1로부터 생성된 Fab 단백질의 SARS CoV2 S2P에 대한 결합이 평가되었다. Fab 는 SARS CoV2 S2P 단백질에 대한 결합을 친화력 상수 (affinity constant) (KD) 1.82nM, 초 당 k_{on} 5.99×10^5 및 몰 · 초 (Molar · second) 당 k_{off} 1.09×10^{-3} 를 보였다.

[0546] *중화*

[0547] A20-36.1은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (표 4.9.2-1 참조). A20-36.1은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC₅₀ (1.3851 μ g/mL) 및 IC₈₀ (3.7620 μ g/mL) 을 가진 것으로 발견되었다.

[0548] *ACE2 수용체 차단*

[0549] SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이 취약성은 감염을 중화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질에의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 역제는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. A20-36.1 ACE2 경쟁 프로파일은 도 10에 보여주고, 및 A20-36.1은 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해하지 않는다 것을 제시한다. LY-COV555 클래스에 있는 항체와의 경쟁력이 부족한 것과 더불어, 이는 A20-36.1은 LY-COV555 경쟁 클래스 내에 있는 항체들에 대한 비-경쟁적인 파트너로서 사용될 수 있는 중화하는 항체임을 제시한다.

[0550] *실시예 11*

[0551] **4.10 A23-97.1 (A23-97.1)**

[0552] *FACS 프로브 분류 (sorting) 및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정*

[0553] A23-97.1은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후 48일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 mAb이다. 유동 세포분석 데이터가 이것이 항체임을 제시한다. A23-97.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표 9에서 발견될 수 있다. A23-97.1 항원 결합 부위를 암호화하는 표 9로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 람다 (lambda) 경쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론 되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 10

	V- 유전자 계	D- 유전자 계	J- 유전자 계	동족체(Isotype)
중쇄	IGHV3-30-5*02, IGHV3-30*02	IGHD3-22*01	IGHJ4*02	IGHG
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAGCTTTGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTC CAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTATACGGTATGATGGAAGTAATAAACTACTATG CAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGAAGACAGAAC TATATTACTATGATAGTAGTGGCCATTGGGGTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTC CTCAG (서열 번호 129)				
QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMHVVRQAPGKGLEWVAFIRYDGSNKYY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKTELYYYDSSGLPLGWQGTLVTVS S (서열 번호 73)				
경쇄	IGKV1-5*01		IGKJ1*01	
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCA TCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTACTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAG GGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGAAAGTGGTGTCCCATCAAG GTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGA TGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTATCCGTGGACGTTCCGCCAAGGG ACCAAGGTGGAAATCAAAC (서열 번호 130)				
DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCRASQSITSLAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDFAITYYCQQYNSYPWTFGQGTKVEIK (서열 번호 77)				

[0554]

[0555] 표 10. A23-97.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 밑줄 치졌다.

[0556] SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합

[0557] 정제된 단일클론 항체 A23-97.1 은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다 (도 1). 결합은 ELISA 면역에세이를 사용하여 결정되었으며 및 A23-97.1 은 SARS CoV2 S2P, S1 및 RBD에 결합할 수 있으나 SARS CoV2 NTD 에는 결합하지 않음을 보였다. 이는 유동 세포분석 프로브 염색과 일치하며 및 에피토프가 RBD 도메인에 존재한다는 것을 제시한다. 추가로, 이는 SARS CoV-1 S2P에 결합하는 것으로 나타났다.

[0558] 에피토프 맵핑

[0559] A23-97.1이 이전에 발행된 항체 및 본 발명 보고서에서 발견된 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피토프가 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었다. A23-97.1 경쟁 프로파일도 도 11에 보여준다. 종합하면, 이는 A23-97.1은 이 보고서에 있는 다른 항체와는 비슷하지만 발행된 항체들로부터는 유일한 RBD내에 차별 있는 결합 방식 및 에피토프를 가진다는 것을 제시한다.

[0560] SARS CoV2 S2P 단백질에의 결합의 동역학 (kinetic)

[0561] LI를 사용하여 A23-97.1로부터 생성된 Fab 단백질의 SARS CoV2 S2P에 대한 결합이 평가되었다. A23-97.1 Fab는 SARS CoV2 S2P 단백질에 대한 결합을 친화력 상수 (affinity constant) (KD) 0.263 nM, 초 당 k_{on} 7.10×10^5 및 몰 · 초 (Molar · second) 당 k_{off} 1.87×10^{-4} 를 보였다.

[0562] 중화

[0563] A23-97.1은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 1). A23-97.1은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC_{50} (0.4842 μ g/mL) 및 IC_{80} (5.2782 μ g/mL) 을 가진 것으로 발견되었다.

[0564] ACE2 수용체 차단

[0565] SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이

취약성은 감염을 증화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질에의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 억제체는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. A23-97.1 ACE2 경쟁 프로파일은 도 11에 보여주고 및 A23-97.1은 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해하지 않는다 것을 제시한다. LY-COV555 클래스에 있는 항체와의 경쟁력이 부족한 것과 더불어, 이는 A23-97.1은 LY-COV555 경쟁 클래스 내에 있는 항체들에 대한 비-경쟁적인 파트너로서 사용될 수 있는 증화하는 항체임을 제시한다.

실시예 12

4.11 A23-113.1 (A23-113.1)

FACS 프로브 분류 (sorting) 및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정

A23-113.1은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후 48일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 mAb이다. 유동 세포분석 데이터가 이것이 항체임을 제시한다. A23-113.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표 10에서 발견될 수 있다. A23-113.1 항원 결합 부위를 암호화하는 표 10으로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 카파 (kappa) 경쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론 되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 11

	V- 유전자 계	D- 유전자 계	J- 유전자 계	동족체(Isotype)
중쇄	IGHV3-30*01, IGHV3-30*18	Not called	IGHJ4*02	IGHG1*01, IGHG3*04, IGHG2*06
CAGGTGCACCTGGAGGAGTCTGGGGGAGCCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCC CAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCACATGATGGAAGTTATAAGTACTATG CAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGGACACGCTCTATC TGCAAACGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTATGTATTACTGTGCGAAAAGCTATG GTTATTGGATGGCCTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAG (서열 번호 131)				
QVHLEESGGAVVQGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKLEWVAVISHDGSYKYY ADSVKGRFTISRDNKDTLYLQTNLSRAEDTAMYYCAKSYGYWMAYFDYWGQGTLLVTVSS (서열 번호 81)				
경쇄	IGKV1-27*01		IGKJ4*01	
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCTGCTGTCATCTGTAGGAGACAGAGTACCA TCACTTGCCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAG GGAAAGTTCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCACTTTGCAATCAGGGGTCCCATCTCG GTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCTACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCTGA AGATGTTGCAACTTATTACTGTCAAAAGTATAACAGTCCCTGGCACACTTTCGGCGGAGG GACCAAGGTGGAGATCAAAC (서열 번호 132)				
DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKLLIYAASSTLQSGVPSRFSG SGSGTDFLTITSLQPEDVATYYCQKYNSPWHITFGGGTKVEIK (서열 번호 85)				

표11. A23-113.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 밑줄 치졌다..

SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합

정제된 단일클론 항체 A23-113.1은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2 SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다 (도 1). 결합은 ELISA 면역에세이를 사용하여 결정되었으며 및 A23-113.1은 SARS CoV2 S2P, S1 및 RBD에 결합할 수 있으나 SARS CoV2 NTD 에는 결합하지 않음을 보였다. 이는 유동 세포분석 프로브 염색과 일치하며 및 에피토프가 RBD 도메인에 존재한다는 것을 제시한다. 추가로, A23-113.1은 SARS CoV-1 S2P에 결합하는 것으로 나타났다.

에피토프 맵핑

A23-113.1이 이전에 발현된 항체 및 본 발명 보고서에서 발견된 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여 총 에피토프가 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었다. A23-113.1 경쟁 프로파일이 도 12에 보여준다. 종합하면, 이는 A23-113.1은 이 보고서에 있는 다른 항체와는 비슷하지만 발현된 항체들로부터는 유일한 RBD 내에 차별있는 결합 방식 및 에피토프를 가진다는

것을 제시한다.

[0576] SARS CoV2 S2P 단백질에의 결합의 동역학 (kinetic)

[0577] BLI를 사용하여 A23-113.1로부터 생성된 Fab 단백질의 SARS CoV2 S2P에 대한 결합이 평가되었다. A23-113.1 Fab는 SARS CoV2 S2P 단백질에 대한 결합을 친화력 상수 (affinity constant) (KD) 1.61 nM, 초 당 k_{on} 8.676 $\times 10^5$ 및 몰 · 초 (Molar · second) 당 k_{off} 1.567 $\times 10^{-3}$ 을 보였다.

[0578] 중화

[0579] A23-113.1은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 1). A23-113.1은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC₅₀ (0.3927 μ g/mL) 및 I C₈₀ (7.8096 μ g/mL) 을 가진 것으로 발견되었다.

[0580] ACE2 수용체 차단

[0581] SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이 취약성은 감염을 중화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질에의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 억제체는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. A23-113.1 ACE2 경쟁 프로파일은 도 12에 보여 주고 및 A23-113.1은 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해하지 않는다는 것을 제시한다.

[0582] 실시예 13

[0583] 4.12 A23-80.1 (A23-80.1)

[0584] FACS 프로브 분류 (sorting) 및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정

[0585] A23-80.1은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후 48일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 mAb이다. 유동 세포분석 데이터가 이것이 항체임을 제시한다. A23-80.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표 11에서 발견될 수 있다. A23-80.1 항원 결합 부위를 암호화하는 표 11로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 카파 (kappa) 경쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론 되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 12

	V- 유전자 계	D- 유전자 계	J- 유전자 계	동족체(Isotype)
중쇄	IGHV1-18*01	IGHD2-15*01	IGHJ4*02	IGHG1*01, IGHG3*04, IGHG2*06
CAGGTTCAAGCTTCCGTTACACCTTTACCAGCAATGGAGTCACTGGGTGCGACAGGCCCTCTCTCCTGCAAGGCTTCCGTTACACCTTTACCAGCAATGGAGTCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGAGACACAACTATGCAGAAAGCTCCAGGGCAGAGTCTCCATGACCACAGACACATCCACGCGCACAGTTTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGCCCGTCTATTACTGTGCGAGGGTGGGGATGCATATTGTAAGTGGTGGTAGCTGCTATCACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCAACGCTCTCCTCAG (서열 번호 133)				
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFISNNGVTWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGDIN YAQKLQGRVSMITDTSTRIVYMELRSLRSDDTAVVYCARVGDAYCSGGSCYHFDYWGQG TLVTVSS (서열 번호 89)				
경쇄	IGKV3-15*01, IGKV3D-15*01		IGKJ3*01	
GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAAGGGCCAGTCAAGTGTAGCACCAACTAGCCTGGTACCAGCAGAAAGCCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCAGCCAGGTTCAAGTGGGCTGGGACAGAGTTCACCTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTGCACTTTATTACTGTGACAGTATGATACTGGCCTCCGGAATTCACTTTCGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAAC (서열 번호 134)				
EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSTINLAWYQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFALYYCQQYDNWPPEFTFGPGTKVDIK (서열 번호 93)				

[0586]

[0587] 표12. A23-80.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노

산 서열에서 꺾개 및 밀줄 처졌다.

[0588] SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합

[0589] 정제된 단일클론 항 A23-80.1 은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다 (도 1). 결합은 ELISA 면역에세이를 사용하여 결정되었으며 및 A23-80.1 은 SARS CoV2 S2P, S1 및 RBD에 결합할 수 있으나 SARS CoV2 NTD 또는 SARS CoV-1 S2P 에는 결합하지 않음을 보였다. 이는 유동 세포분석 프로브 염색과 일치하며 및 에피톱이 RBD 도메인에 존재한다는 것을 제시한다.

[0590] 에피톱 맵핑

[0591] A23-80.1 이 이전에 발행된 항체 및 여기서 공개되는 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피톱이 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었다. A23-80.1 경쟁 프로파일이 도 13에 보여준다. 종합하면, 데이터는 A23-80.1은 RBD 내에 차별 있는 결합 방식 및 에피톱을 가진다는 것을 제시한다.

[0592] SARS CoV2 S2P 단백질에의 결합의 동역학 (kinetic)

[0593] BLI를 사용하여 A23-80.1로부터 생성된 Fab 단백질의 SARS CoV2 S2P에 대한 결합이 평가되었다. A23-80.1 Fab는 SARS CoV2 S2P 단백질에 대한 결합을 친화력 상수 (affinity constant) (KD) 0.443 nM, 초 당 k_{on} 3.32×10^5 및 몰 · 초 (Molar · second) 당 k_{off} 는 1.47×10^{-4} 를 보였다.

[0594] 중화

[0595] A23-80.1 은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 1). A23-80.1은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC_{50} 0.3211 μ g/mL 을 가진 것으로 발견되었다.

[0596] ACE2 수용체 차단

[0597] SARS CoV1및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이 취약성은 감염을 중화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질에의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 억제제는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. A23-80.1 ACE2 경쟁 프로파일은 도 13에 보여주고 및 A23-80.1은 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해하지 않는다는 것을 제시한다.

[0598] 실시예 14

[0599] 4.13 A19-82.1 (A19-82.1)

[0600] FACS 프로브 분류 (sorting)및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정

[0601] A19-82.1 은 이의 가변도메인이SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후4 1일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 mAb이다. 유동 세포분석 데이터가 이것이 항체임을 제시한다. A19-82.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표12에서 발견될 수 있다. A19-82.1 항원 결합 부위를 암호화하는 표 12로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 람다(lambda) 경쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 13

	V- 유전자 계	D- 유전자 계	J- 유전자 계	동족체(Isotype)
중쇄	IGHV3-30-5*01, IGHV3-30*18	Not called	IGHJ4*02	IGHG*01, IGHG3*04, IGHG2*06
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGTAGTCTCTGGACTCATTTTCAGTACCTATGACATGCACTGGGTCCGCCAGGCTC CAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGTTACAAACACTATG CAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCAACATCTCCAGAGACAGTTCCAAGAACACGCTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGACCTGAAGACACGGCTGTCTATTACTGTGCGAAAGGGGAGG GAGTAGTGGCTGGTACGGGGAAGTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCT CCTCAG (서열 번호 135)				
QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCVVSGLIFSTYDMHWVRQAPGKLEWVAVISYDGSYKHY ADSVKGRFTISRDSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKGEVAVAGTGKFDYWGQGLTVTV SS (서열 번호 97)				
경쇄	IGLV3-21*02		IGLJ3*02	
TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTGCTAGTGGCCCCAGGACAGACGGCCAGGATT ACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGG CCAGGCCCCCTGTGCTGGTCTGCTATGATGATAGTGACCGGCCCTCAGGATCCCTGAGCG ATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGAACACGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTCGAGGCCGG GGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTGTGGGATGGTAGTGGTGATCCTTGGGTGTTTCGG CGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAG (서열 번호 136)				
SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNIGSKSVHWYQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDGSGDPWVFGGGTKLTVL (서열 번호 101)				

[0602]

[0603] 표13. 4.13.1-1 A19-82.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 밑줄 치졌다.

[0604] SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합

[0605] 정제된 단일클론 항체 A19-82.1은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다 (도 1). 결합은 ELISA 면역에세이를 사용하여 결정되었으며 및 A19-82.1은 SARS CoV2 S2P, S1 및 RBD에 결합할 수 있으나 SARS CoV2 NTD 에는 결합하지 않음을 보였다. 이는 유동 세포분석 프로브 염색과 일치하며 및 에피톱이 RBD 도메인에 존재한다는 것을 제시한다. 추가로, 이는 SARS CoV-1 S2P에 결합하는 것으로 나타났다.

[0606] 에피톱 맵핑

[0607] A19-82.1 이 이전에 발행된 항체 및 여기서 공개되는 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피톱이 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었다. A19-82.1경쟁 프로파일도 도 4에 보여준다. 종합하면, 데이터는 A19-82.1은 RBD내에 차별 있는 결합 방식 및 에피톱을 가진다는 것을 제시한다.

[0608] SARS CoV2 S2P 단백질에의 결합의 동역학 (kinetic)

[0609] BLI를 사용하여 A19-82.1로부터 생성된 Fab 단백질의 SARS CoV2 S2P에 대한 결합이 평가되었다. A19-82.1 Fab는 SARS CoV2 S2P 단백질에 대한 결합을 친화력 상수 (affinity constant) (KD) 5.21 nM, 초 당 kon 5.41 x 10⁵ 및 몰 · 초 (Molar · second) 당 koff 2.82 x 10⁻³ 을 보였다.

[0610] 중화

[0611] A19-82.1은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 1). A19-82.1은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC₅₀ (0.7203 µg/mL) 및 IC₈₀ (5.9260 µg/mL) 을 가진 것으로 발견되었다.

[0612] ACE2 수용체 차단

[0613] SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이

취약성은 감염을 중화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질에의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 억제체는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. A19-82.1 ACE2 경쟁 프로파일은 도 14에 보여주고 및 A19-82.1은 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해하지 않는다는 것을 제시한다. LY-COV555 클래스에 있는 항체와의 경쟁력이 부족한 것과 더불어, 이는 A19-82.1은 LY-COV555 경쟁 클래스 내에 있는 항체들에 대한 비-경쟁적인 파트너로서 사용될 수 있는 중화하는 항체임을 제시한다.

실시예 15

4.14 A20-9.1 (A20-9.1)

FACS 프로브 분류 (sorting) 및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정

A20-9.1은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후 50일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 mAb이다. 유동 세포분석 데이터가 이것이 항체임을 제시한다. A20-9.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표 13에서 발견될 수 있다. A20-9.1 항원 결합 부위를 암호화하는 표 13으로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 람다 (lambda) 경쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론 되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 14

	V-유전자 계	D-유전자 계	J-유전자 계	동족체 (Isotype)
중쇄	IGHV3-30*01, IGHV3-30*18	불리지 않음	IGHJ5*02	IGHG1*01, IGHG3*04, IGHG2*06
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTC CAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTTATATCATATGATGGAAAGTAATAAATACTATG CAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAACACTCTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGCGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAAAGATTATT GGTCAGTAGCAGCTGGTACTAGCTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCAGCG TCTCCTCAG (서열 번호 137)				
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVVYCAKDYWSVAAGTSWFDPPWGQGLVVS VSS (서열 번호 105)				
경쇄	IGLV3-25*02		IGLJ3*02	
TCCTATGAGCTGACACAGCCACCCTCGGTGTGTCAGTGTCCCGAGGACAGCGCCAGGATC ACCTGCTCTGGAGATGCATTGCCAAAGCAATATGCTTATTGGTACCAGCAGAAGCCAGGC CAGGCCCCCTGTGGTGGTGATATATAAAGACAGTGAGAGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGA TTCTCTGGCTCCAGCTCAGGGACAACAGTCACGTTGACCATCAGTGGAGTCCAGGCAGAA GACGAGGCTGACTATTACTGTCAATCAGCAGACAGCAGTGGTACTTGGGTGTTCCGCGGA GGGACCAAGCTGACCGTCCTAG (서열 번호 138)				
SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDAALPKQYAYWYQKPGQAPVVVIYKDSERPSGIPERFSGS SSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCQSAADSSGTWVFEFGGKLTIVL (서열 번호 109)				

표14. A20-9.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 밑줄 쳐졌다.

SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합

정제된 단일클론 항체 A20-9.1은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다 (도 1). 결합은 ELISA 면역에세이를 사용하여 결정되었으며 및 A20-9.1은 SARS CoV2 S2P 및 S1 결합할 수 있으나 SARS CoV2 RBD 또는 NTD에는 결합하지 않음을 보였다. S1에 대한 SD1 및 SD2 도메인을 보는 후속 맵핑 ELISA (Follow-up mapping ELISA)는 이 항체가 S1의 SD2의 부위를 타겟한다는 것을 제시한다. 이 데이터는 유동 세포분석 프로브 염색과 일치한다. 추가로, 이 항체는 SARS CoV-1 S2P에 결합할 수 없었다.

에피토프 맵핑

A20-9.1이 이전에 발행된 항체 및 여기서 공개되는 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피토프 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었다. A20-9.1 경쟁 프로파일이 도 10에 보여준다. 종합하면, 이는 A20-9.1은 RBD 내에 차별 있는 결합 방식 및

에피톱을 가진다는 것을 제시한다.

[0624] SARS CoV2 S2P 단백질에의 결합의 동역학 (kinetic)

[0625] BLI를 사용하여 A20-9.1로부터 생성된 Fab 단백질의 SARS CoV2 S2P에 대한 결합이 평가되었다. A20-9.1 Fab 는 SARS CoV2 S2P 단백질에 대한 결합을 친화력 상수 (affinity constant) (KD) 18.9 nM, 초 당 k_{on} 5.55×10^5 및 몰 · 초 (Molar · second) 당 k_{off} 1.05×10^{-2} 를 보였다.

[0626] 중화

[0627] A20-9.1은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 1). A20-9.1 은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC_{50} 1.2143 μ g/mL 을 가진 것으로 발견되었다.

[0628] ACE2 수용체 차단

[0629] SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이 취약성은 감염을 중화하는 몇 가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질에의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 억제는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. A20-9.1 ACE2 경쟁 프로파일은 도 10에 보여주고 및 A20-9.1은 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해하지 않는다 것을 제시한다. LY-COV555 클래스에 있는 항체와의 경쟁력이 부족한 것과 더불어, 이는 A20-9.1은 LY-COV555 경쟁 클래스 내에 있는 항체들에 대한 비-경쟁적인 파트너로서 사용될 수 있는 중화하는 항체임을 제시한다.

[0630] 실시예 16

[0631] 4.15 B1-182.1 (B1-182.1

[0632] FACS 프로브 분류 (sorting) 및 SMRTseq 서열 분석을 사용한 코로나바이러스 항체 동정

[0633] B1-182.1은 이의 가변도메인이 SARS CoV2 생존자로부터 증상 시작 후 48일에 얻은 단일 기억 B 세포로부터의 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 유전자의 페어링 (pairing)을 통하여 분리된 mAb이다. B1-182.1의 발현 버전의 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이 표14에서 발견될 수 있다. B1-182.1 항원 결합 부위를 암호화하는 표 14로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 면역글로블린 서열이 합성되었으며 및 IgG1 중쇄 및 카파 (kappa)경 쇄에 대한 인간 고정 부위를 함유하는 면역글로블린 발현 벡터에 클론 되었다. 이 벡터들이 표준 방법을 사용하여 정제된 항체를 발현하기 위하여 사용되었다.

표 15

	V-유전자 계	D-유전자 계	J-유전자 계	동족체 (Isotype)
중쇄	IGHV1-58*01	IGHD2-15*01	IGHJ3*02	IGHG3*04,IGHG2*06
CAAATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGCCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGACCTCAGTGAAGGTC TCCTGCAAGGCTTCTGGATTACCTTTACTAGCTCTGCTGTGCAGTGGGTGCGACAGGCTC GTGGACAACGCCTTGAGTGGATAGGATGGATCGTCGTTGGCAGTGGTAACACAAACTACG CACAGAAGTCCAGGAAAGAGTCAACATTACCAGGGACATGTCCACAAGCACAGCCTATA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGCCCTTACT GTAGTGGTGGTAGCTGCTTGTATGGTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGT CTCTTCAG (서열 번호 139)				
QMQLVQSGPEVKKPGTSVKVSKASGFI ~~FT~~ SSAVQWVRQARGQRLEWIGWIVVGS ~~GN~~ TINY AQKFQERVITIRDMSTSTAYMELSSLRSEDAVYYCAAPYCSGGSCFDGFDIWGQGTMTV SS (서열 번호 1)				
경쇄	IGKV3-20*01		IGKJ1*01	
GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCGTGCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCC TCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAAC CTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCTTCCAGA CAGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTACCATCAGCAGACTGGAGCC TGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGACAGTATGGTAACTACCCCTGGACGTTTCGGCCAA GGGACCAAGGTGGAAATCAGAC (서열 번호 140)				
EIVLTQSPGTL ~~SL~~ SPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGFPDRFS GSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYGN ~~SP~~ WTFGQGTKVEIR (서열 번호 5)				

[0634]

- [0635] . 표15. B1-182.1 유전자 계, 및 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. CDR1, CDR2 및 CDR3이 아미노산 서열에서 굵게 및 밑줄 치졌다.
- [0636] SARS-CoV-2 스파이크 단백질에의 결합
- [0637] 정제된 단일클론 항체 B1-182.1은 4개의 SARS CoV2 스파이크 유래한 단백질 항원 (S2P, S1, RBD 및 NTD) 및 S2P SARS CoV1 스파이크 단백질 항원에 결합하는 능력에 대하여 평가되었다. 결합은 ELISA 면역에세이를 사용하여 결정되었으며 및 B1-182.1은 SARS CoV2 S2P, S1 및 RBD에 결합할 수 있으나 SARS CoV2 NTD 또는 SARS CoV-1 S2P 에는 결합하지 않음을 보였다. 약간 감소된 결합을 가진, D614G/N439K를 제외하고, B1-182.1은 D614G, D614G/Y453F, D614G/501Y, D614G/del69-70, D614G/del69-70/N501Y, B.1.1.7, D614G/K471N, D614G/E484K, D614G/K417N/E484K/N501Y 및 B.1.351 변이체를 포함하는 검사된 모든 변이체에 대해 유지 또는 증가하는 결합을 가진다, 도 1 참조.
- [0638] 에피토프 맵핑
- [0639] B1-182.1이 이전에 발행된 항체 및 여기서 공개되는 항체와 어떻게 경쟁하는가를 평가하여, 총 에피토프가 결정될 수 있다. 경쟁 분류는 상기 서술된 생물층 간섭계 (Biolayer interferometry, BLI) 에세이를 사용하여 결정되었으며 B1-182.1 는, 상기 서술된, A23-58.1과 같은 경쟁 프로파일을 가졌으며 및 유일한 경쟁 그룹 내에 있음이 발견되었다.
- [0640] 중화
- [0641] B1-182.1은 위형 바이러스 유입 에세이 (pseudotyped virus entry assay) 에서 중화 활성에 대하여 검사되었다 (도 1). B1-182.1 은 SARS CoV2 위형 렌티바이러스 입자에 대해 중화 IC₅₀ (0.0034 µg/mL) 및 IC₈₀ (0.0088 µg/mL) 을 가진 것으로 발견되었다. 이는 LY-COV555 (IC₅₀: 0.0071, IC₈₀: 0.0357 µg/mL)보다 2 내지 3-배 더 강력하다. SARS COV-2 나노록 생 바이러스 중화 IC₅₀ (0.0022 µg/mL) 및 IC₈₀ (0.0054 µg/mL)는 SARS COV-2를 타겟팅하는 보고된 항체 중 가장 강력하다.
- [0642] 자연적으로 존재하는 SARS COV-2 스파이크 변이체에 대한 위형 중화 에세이에서의 추가의 검사에서 B1-182.1은 하기의 변이체 D614G, N439K/D614G, Y453F/D614G, A222V/D614G, N501Y/D614G, del69-70/D614G, N501Y/del69-70/D614G, E484K/D614G, N501Y/E484K/K417N/D614G 및 H69del-V70del-Y144del-N501Y-A570D-D614G-P681H-T716I-S982A-D1118H에 아미노산 변화를 함유하는 B.1.1.7 (VOC 202012/01) 에 대해 높은 효능(IC₅₀: <0.0006-0.0045 µg/mL; IC₈₀: <0.0006-0.0115 µg/mL) 를 유지함을 보였다. 이는 E484K/D614G, N501Y/E484K/K417N/D614G 및 B.1.351 변이체에 대한 중화 능력을 상실한 (>10 µg/mL) LY-CoV555, 및 REGN-10989와는 반대이다. REGN-10933 은 453F/E614G, N501Y/E484K/K417N/D614G 및 B.1.351에 대해 중화 능력 (>10 µg/mL)을 상실한다. CB6은 N501Y/E484K/K417N/D614G 및 B.1.351 변이체에 대해 중화 능력(> 10 µg/mL) 을 상실한다. 도 1 참조.
- [0643] ACE2 수용체 차단
- [0644] SARS CoV1 및 SARS CoV2 스파이크 단백질은 스파이크 단백질에 있는 수용체 결합 도메인을 통해 ACE2에 결합하여 발현하는 세포를 타겟한다. 바이러스 생활 주기에서 ACE2 결합이 중요한 요구사항이라는 것을 감안하면, 이 취약성은 감염을 중화하는 몇가지 클래스의 항체에 의해 이용된다. 스파이크 당단백질에의 항체의 결합 때문인 ACE2 결합의 억제제는 상기 서술된 BLI 경쟁 에세이의 수정된 버전을 사용하여 수행될 수 있다. B1-182.1 ACE2 경쟁 프로파일은 B1-182.1 이 ACE2가 S2P에 결합하는 것을 방해한다는 것을 제시한다.
- [0645] 실시예 16
- [0646] 추가의 성질 규명
- [0647] 축약된 이름이, 하기 표에 보여준 대로, 항체에 부여되었으며, 및 추가의 평가가 수행되었다. 왕 등 (Wang et al., Science, 373, eab1766, August 13, 2021, pages 1-14) 및 부록 재료가 여기 참고 문헌으로 병합되었다.
- [0648] WA-1 스파이크를 사용한 위형바이러스 중화 에세이는 4개의 RBD 타겟팅하는 항체, A19-46.1, A19-61.1, A23-58.1 및 B1-182.1 은 특히 강력했다 (IC₅₀ 2.5-70.9 ng/mL) (도 16D-16E). WA-1 생 바이러스 (WA-1 live virus) 중화는 ((Hou et al., Cell. 182, 429-446.e14 (2020)) 4개 모두의 항체에 의해 비슷하게 높은 강력한 중화를 나타냈다(IC₅₀ 2.1-4.8 ng/mL) (FIGS. 16D-16E). 4개 모두의 항체 Fab는 SARS-CoV-2 S-2P에 대해 나노

몰의 친화도 (nanomolar affinity) (즉, 2.3-7.3 nM) 를 보였으며, 이들의 강력한 중화와 일치한다 (도 16 E).

[0649] RBD 를 타겟팅 하는 항체는 S 결합에 대한 ACE2 타겟 세포 수용체 단백질과의 경쟁 및 S에 있는 세 개의 RBD의 위 (up) 또는 아래 (-down)상태의 인식에 기반하여 4가지 일반적인 클래스 (즉, 클래스 I-IV)로 분류할 수 있다 (Barnes et al., *Nature*. 588, 682-687 (2020)). LY-CoV555는 RBD에 위 및 아래 상태 둘 다에서 결합하고, ACE2 결합을 차단하고 및 클래스 II로 분류되는 치료 항체이다. 그러나 WA-1에 대하여 강력한 활성에도 불구하고, VOCs는 LY-CoV555에 저항성을 부여하는 돌연변이를 함유하는 것으로 보고되었으며 (Wang et al., *Nature*. 593, 130-135 (2021); Jones et al., *Sci. Transl. Med.* (2021), doi:10.1126/scitranslmed.abf1906; Chen et al., *N. Engl. J. Med.* 384, 229-237 (2021) 및 비슷하게 결합하는 항체. 그러므로 4개의 높은-효능의 항체에 의해 타겟되는 에피토프가 LY-CoV555와 다른지가 조사되었다. 이들 항체들의 결합 프로파일을 LY-CoV555와 비교하기 위하여 표면 플라즈몬 공명-기반한 (surface plasmon resonance-based, SPR) 경쟁 결합 에세이 (competition binding assay)가 사용되었다. LY-CoV555가 A19-46.1, A19-61.1, A23-58.1 및 B1-182.1과 경쟁을 하나 (및 역으로), 이들의 전반적인 경쟁 프로파일은 똑같지 않다. A23-58.1 및 B1-182.1은 비슷한 결합 프로파일을 보이고 및 A19-61.1 및 A19-46.1도 마찬가지로 SPR 에세이에서 공유하는 경쟁 프로파일을 보인다. 그러나, 후자 두 항체는 위 및 아래 위치에서 접근 가능하나 ACE2 결합과는 경쟁하지 않는 RBD에 있는 에피토프에 결합하는 클래스 III 항체 S309 (Barnes et al., *Nature*. 588, 682-687 (2020))와 A19-61.1 이 경쟁하기 때문에 서로 구별이 될 수 있다 (Pinto et al., *Nature*. 583, 290-295 (2020)) (도 16F).

[0650] 항체가 ACE2 결합을 차단하는지를 결정하기 위하여, 생물층 간섭계 (biolayer interferometry) ACE2-경쟁 및 세포 표면 결합 에세이가 사용되었으며 4개 항체 모두가 ACE2가 스파이크에 결합하는 것을 방해한다는 것을 보여준다 (도 16G). 이는 A19-46.1, A23-58.1 및 B1-182.1가 RBD와 ACE2와의 상호작용을 직접적으로 차단하여 감염을 중화하였음을 제시하고 및 클래스 I ((ACE2 차단, RBD 위 (up) 로만 결합)) 또는 II ((ACE2b 차단, RBD 위 (up) 또는 아래 (down)로 결합)) 항체로서 분류될 수 있다 (Barnes et al., *supra*). A19-61.1의 S309와의 경쟁 및 ACE2 결합은 이는 적어도 부분적으로 ACE2 결합 모티브의 밖에서 결합하지만 그러나 클래스 III 항체 REGN10987와 비슷하게 ACE2 결합을 입체적으로 차단할 수 있음을 제시한다. 이들 항체의 분류를 개선하기 위하여, 음성 염색 3D 재구성 (negative stain 3D reconstruction)이 수행되었으며, 및 A19-46.1 및 A19-61.1은 RBDs 모두가 아래 위치로 하여 서로 가깝게 결합하는 것이 발견되었으며 (도 16H), 이들이 각각 클래스 II 및 클래스 III 항체라는 것과 일치한다. 비슷하게, A23-58.1 및 B1-182.1은 RBD가 위 (up) 위치에 있을 때 겹치는 부위에 결합하였고, 이들이 클래스 I 항체라는 것을 제시한다.

[0651] 항체가 ACE2 결합을 차단하는지를 결정하기 위하여, 생물층 간섭계 (biolayer interferometry) ACE2-경쟁 및 세포 표면 결합 에세이가 사용되었으며 4개 항체 모두가 ACE2가 스파이크에 결합하는 것을 방해한다는 것을 보여준다 (도 16G). 이는 A19-46.1, A23-58.1 및 B1-182.1가 RBD와 ACE2와의 상호작용을 직접적으로 차단하여 감염을 중화하였음을 제시하고 및 클래스 I ((ACE2차단, RBD 위 (up) 로만 결합)) 또는 II ((ACE2차단, RBD 위 (up) 또는 아래 (down)로 결합)) 항체로서 분류될 수 있다 (Barnes et al., *supra*). A19-61.1의 S309와의 경쟁 및 ACE2 결합은 이는 적어도 부분적으로 ACE2결합 모티브의 밖에서 결합하지만 그러나 클래스 III 항체 REGN10987와 비슷하게 ACE2 결합을 입체적으로 차단할 수 있음을 제시한다. 이들 항체의 분류를 개선하기 위하여, 음성 염색 3D 재구성 (negative stain 3D reconstruction) 이 수행되었으며, 및 A19-46.1 및 A19-61.1은 RBDs 모두가 아래 위치로하여 서로 가깝게 결합하는 것이 발견되었으며 (도 16H), 이들이 각각 클래스 II 및 클래스 III 항체라는 것과 일치 한다. 비슷하게, A23-58.1 및 B1-182.1은 RBD가 위 (up) 위치에 있을 때 겹치는 부위에 결합하였고, 이들이 클래스 I 항체라는 것을 제시한다.

[0652] 실시예 17

[0653] 순환하는 변이체에 대한 항체 결합 및 중화

[0654] 각 공여자 개체는 조상적인 WA-1에 가까운 변이체로 감염되었기 때문에, 항체 활성은, 전 세계에 걸쳐서 우세한 변이체가 되어버린, D614G와 같은, 최근에 출현한 변이체에 대해 평가되었다 (Korber et al., *Cell*. 182, 812-827.e19 (2020)). LY-CoV555와 비슷하게, WA-1에 비교하여 D614G에 대해 중화 효능이 증가하였으며, 각 실험 항체의 IC₅₀ 및 IC₈₀ 는 WA-1에서 본 것보다 1.4 내지 6.3배 더 낮았다(IC₅₀ 0.8-20.3 ng/ml 및 IC₈₀ 2.6-43.5 ng/ml) (도 17A 및 17C).

[0655] 다음은, D614G 및 WA-1에 서브서열인 것으로 나타나고 및 우려 변이 또는 관심 변이체 (즉, B.1.1.7.14, B.1.258.24, Y453F/D614G, Ap.1, B.1.388, DH69-70/N501Y/D614G, K417N/D614G, B.1.1.345, B.1.77.31) --- (6-9, 22) 로 간주되지 않는 9개의 추가의 세포 표면 발현된 스파이크 변이체에 대해 항체 결합이 평가되었다. 실

험적 항체들이 임상적으로 사용되고 있는 4개의 항체(LY-CoV555, REGN10933, REGN10987 및 CB6, 및 LY-CoV016와 비교되었다. 모든 대조군 및 실험 항체는 B.1.258.24 (N439K/D614G)에 대해 미소한 감소를 (<2배) 보였다. 이럼에도 불구하고, 이들의 중화 능력은, 이전에 보고된 REGN10987 (2.00 mg/mL) (Thomson et al., *Cell*. 184, 1171-1187.e20 (2021))를 제외하고, 의미 있는 영향을 주지는 않았다. 실험 항체들 아무것도 결합에 있어서 큰 감소를 보이지는 않는 반면, LY-CoV555, CB6 (Shi et al., *Nature*. 584, 120-124 (2020)) 및 REGN10933 (Hansen et al., *Science*. 369, 1010-1014 (2020))는 하나 또는 그 이상의 변이체에 대하여 (즉, Y453F/D614G, K417N/D614G, B.1.1.345 또는 B.1.177.31) 세포-기반한 결합 에세이에서 각각 의미있는 (>10배) 결합의 결여를 보였다.

[0656] 각 항체가 같은 10개의 변이체 스파이크 단백질로 위형화된 (pseudotyped) 렌티바이러스 입자를 중화하는 능력에 대해 평가되었다. 발행된 데이터와 일치하게, REGN10933은 Y453F/D614G 또는 B.1.177.31 (K417N/E484K/N501Y/D614G) (12, 14, 26) 을 중화하지 않았다; CB6은 B.1.177.31을 중화하지 않았으며; 및 LY-CoV555 및 REGN10933 은 E484K을 함유하는 바이러스의 중화에 대해 의미 있게 효능의 감소를 보였다 ((28배에서 턴아웃(knock out) 까지)) (Wibmer et al., *Nat. Med.* 27, 622-625 (2021); Wang et al., *Nature*. 593, 130-135 (2021)). WA-1에 상대적으로, A23-58.1 IC₅₀ 중화는 DH69-70/N501Y/D614G (0.9 ng/mL)에 대하여 3배 낮았고(0.9 ng/mL), Ap.1 (<0.6 ng/mL)에 대하여 5배 낮았으며(<0.6 ng/mL) 및, 반면에 A23-58.1은 B.1.1.345에 대한 높은 효능 (potency)를 유지하였고, 중화는 4배 증가하였다 (10.2 ng/mL). B1-182.1에 의한 중화는 모든 변이체에 대해 높은-효능을 유지하였으며 (IC₅₀ <3.2 ng/mL) 및 검사된 10개 변이체중 6개에 대해 4배 이상의 개선된 효능을 보였다 (IC₅₀ <0.8 ng/mL). A19-61.1 변이체 중화는 WA-1보다 3 내지 6배 더 강력했다 (WA-1 IC₅₀ 70.9 ng/mL; 변이체 IC₅₀ 11.1-23.7 ng/mL). 최종으로, A19-46.1에 의한 중화는, 2 내지 3배 덜 활성인 IC₅₀ 값을 가졌지만 그래도 매우 강력한 B.1.1.345 및 B. 1.177.31을 제외하고, 모든 변이체에 대하여 WA-1과 비슷하였다 (B.1.1.345:95.0 ng/ml; B.1.177.31:61.8 ng/ml; WA-1:39.8ng/mL). 종합하면, 이들 데이터는 이들 새로이 동정 된 항체들이 10개 변이체 스파이크 단백질의 다양한 패널에 대한 높은 중화 효능을 유지하는 능력이 있음을 보여준다.

[0657] 실시예 18

[0658] 항체 결합 및 관심 및 우려 변이체의 중화

[0659] 중화는 13개의 순회하고 있는 관심/우려 변이체에 대하여 분석되었으며, B.1.1.7, B.1.351, B.1.427, B.1.429, B.1.526, P.1, P.2, B.1.617.1 를 B.1.617.2를 포함하는 이들 중 어떤 것은 높은-전파력을 가졌다 (Rambaut et al., 인터넷으로 구할 수 있음, virological.org/t/preliminary-genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-the-uk-defined-by-a-novel-set-of-spike-mutations/5631 Tegally et al. *Nature*. 592, 438-443 (2021);Hou et al., *Science*. 370, 1464-1468 (2020)) (도. 17A-17D). 발행된 데이터와 일치하게, 다음의 사실이 발견되었다: LY-CoV555, CB6, REGN10933 및 REGN10987 은 B.1.1.7 (IC₅₀ 0.1-40.1 ng/mL)에 대하여 높은 효능을 유지하였고 및 LY-CoV555 및 CB6은 B.1.351 v.1, B.1.351 v2, P.1 v1 또는 P.1. v2 변이체를 중화할 수 없었다 (IC₅₀ >10,000 ng/mL) (도 17A-17D) (Wibmer et al., *Nat. Med.* 27, 622-625 (2021); Wang et al., *Nature*. 593, 130-135 (2021); Baum et al., *Science*. 369, 1014-1018 (2020)); LY-CoV555는 B.1.526 v2, B.1.617.1 및 B.1.617.2를 중화할 수 없었다; CB6은 B.1.1.7+E484K 및 B. 1.429+E484K에 대하여 5 내지 27배 더 나쁜 활성을 보였으며 및 그러나 B.1.617.1 및 B. 1.617.2에 대한 활성은 남아 있었다; REGN10933은 E484에 돌연변이가 있는 변이체 (즉, B.1.1.7+E484K, B.1.429+E484K, B.1.526 v2, P.1 v1/v2 및 B. 1.617.1)에 대하여 9 내지 200배 중화 감소를 보였으며 및 E484에 돌연변이를 함유하지 않은 B.1.617.2에 대해 활성을 유지하였으며 (도17A-17D); REGN10987은 4배 감소된 활성을 보이는 B.1.617.2를 제외하고 각 VOC/VOIs에 대하여 약간 증가된 효능을 유지하거나 또는 가졌다 (도17A-17D). 비교로, A23-58.1, B1-182.1, A19-46.1 및 A19-61.1은 WA-1에 상대적으로 B.1.1.7 및 B.1.1.7+E484K에 대하여 비슷하거나 또는 개선된 효능 (IC₅₀ <0.6-11.5 ng/mL) 를 유지하였다 (도> 17A-17D). A19-46.1의 효능은 L452R (IC₅₀ >10,000 ng/mL)을 함유하는 것 (즉, B.1.427, B.1.429, B.1.429+E484K, B.1.617.1 및 B. 1.617.2) 을 제외하고 모든 변이체에 대해 WA-1에 상대적으로 2.5배 이내 또는 더 낮은 효능을 (IC₅₀ 11.5-101.4 ng/mL 대비 WA-1 39.8 ng/mL) 가졌다 (도 17A-17D). 추가의 분석에서 A23-58.1, B1-182.1 및 A19-61.1은, 최근에 동정 된 B.1.617.1 및 B. 1.617을 포함하는, 모든 VOC/VOIs (IC₅₀ <0.6-28.3 ng/mL)에 대하여 높은 효능을 유지함을 보였다 (도17A-17D). 이 결과 들

은 초기의 조상적인 SARS-CoV-2 바이러스로 감염된 개체로부터 분리되었음에도 불구하고, 이들 항체 각각은 VOCs에 대하여 매우 강력한 반응성을 가졌음을 제시한다.

[0660] 실시예 19

[0661] VH1-58 항체의 구조적 및 기능적 분석

[0662] 가장 강력한 항체 두 개, A23-58.1 및 B1-182.1은, 다른 공여자로부터 왔음에도 불구하고, 이들의 중쇄 및 경쇄에서 매우 비슷한 유전자 계 (gene family) 사용을 공유한다. 이 둘은 IGHV1-58 중쇄 및 IGKV3-20/IGKJ1 경쇄를 사용하고 및 비슷하게 낮은 수준의 SHM ($<0.7\%$)을 사용한다. 이 항체 유전자 계 조합(antibody gene family combination)은 다른 COVID-19 회복중인 개체에서 동정 되었으며 및 일반적인 클론형 (public clonotype)으로서 제안되었다 (Tortorici et al., *Science*. 370, 950-957 (2020); Robbiani et al., *Nature*. 584, 437-442 (2020); Zost et al., *Nature*. 584, 443-449 (2020); Dejnirattisai et al., *Cell*. 184, 2183-2200.e22 (2021)). 이 클래스의 항체 및 SARS-CoV-2 스파이크 사이의 상호작용에 대한 구조적 통찰력을 얻기 위하여, 안정화된 WA-1 S 에 결합된 Fab A23-58.1 구조에 대하여 3.39 Å 해상도로 및 안정화된 WA-1 S 에 결합된 Fab B1-182.1 구조에 대해 3.15 Å 해상도로 cryo-EM 재구성 (cryo-EM reconstructions)이 얻어졌다 (도 18A, 도 18B). 이는 항체들은 스파이크에 모든 RBD와 위 위치 (up position) 로 결합함을 보여주었으며, 음성 염색 결과를 확인하였다 (도 17H). 그러나, 구조적 다양성 때문에 RBD 및 ab 사이의 접점의 cryo-EM 재구성 밀도는 좋지 않았다.

[0663] 항체-항원 접점을 해결하기 위하여, 국소적인 개선이 (refinement) 이 수행 되었으며, 및 국소적 해상도는 A23-58.1 에서는 3.89 Å로 및 B1-182.1에서는 3.71 Å로 개선되었다. A23-58.1 및 B1-182.1 둘 다 RBD를 매우 비슷한 방식으로 인식하므로, RBD-A23-58.1 구조가 상세한 분석을 위하여 사용되었다. 항체 A23-58.1은 스파이크의 3-배 축을 직면하고 있는 RBD에 있는 에피토프에 결합하고 및 RBD-위 (up) 구조에서만 단지 접근 가능하다 (도 18A). 이 상호작용은 항체로부터 총 619 Å² 표면 면적 및 스파이크로부터 624 Å² 을 묻어버린다. A23-58.1 결합부위 (파라토프, paratope)는 중쇄 및 경쇄가 각각 74% 및 26%의 결합 표면 면적에 기여하면서 6개 모두의 보완성-결정부위 (complementarity-determining regions, CDR)를 구성한다 (도 18C 및 18E). 중쇄 파라토프의 48%인, 14-잔기-길이 CDR H3는, Pro95 및 Phe100F ((항체 잔기에서 카벳 숫자 메깅 계획도 Kabat numbering scheme))에서 구부러져 발-유사 루프 (foot-like loop) 를 형성하고 이는 아치 (arch)에 있는 Cys97 및 Cys100B 사이의 내부-루프 (intra-loop) 이 황화 결합에 의해 안정화된다. 글라이칸 (glycan)은 CDRH3 Asn96에서 관찰된다. CDRs는 길이 ~10 Å 및 지름 ~20 Å을 가진 계면 틈새 (interfacial crater) 를 입구에 형성한다. 틈새 내부에 있는 파라토프 잔기는 주로 방향족 또는 소수성이다. CDR H3 Pro95 Phe100F는 바닥에 선을 만들고, 및 CDR H1 Ala33, CDR H2 Trp50 및 Val52, 및 CDR H3 Val100A는 틈새의 중쇄 쪽에 선을 만든다 (도 18D 및 18E). 경쇄 측에서는, CDR L1 Tyr32 및 CDR L3 잔기 Tyr91 및 r96은 80%의 경쇄 결합 표면을 제공한다 (도 18 D 및 18E). 반대로, 틈새 가장자리의 파라토프 잔기는 주로 친수성이다, 예를 들어, RBD의 Ser477 및 Asn487과 수소 결합을 형성한 Asp100D. (도 18D).

[0664] A23-58.1 에피토프는 RBD 꼭대기(tip)에 있는 b5 및 b6 사이 잔기를 포함한다 (도 18D 및 도 19A). CDRs에 의해 형성된 틈새로 빠진 튀어나온 Phe486와 함께, 이들 잔기들은 Cys480 및 Cys488 사이의 내부-루프 (intra-loop) 이 황화 결합에 의해 안정화되는 후크-유사한 모티프 (hook-like motif)를 형성한다. Phe456, Tyr473, Phe486 및 Tyr489를 포함하는, 방향족 잔기들은 에피토프의 48% (299 Å²) 를 제공한다 (도 18D). 에피토프의 바깥 가장자리에 놓여 있는, Lys417 및 Glu484는 결합 표면의 3.7%만을 기여한다(도 18C). 전체적으로, cryo-EM 분석은 A23-58.1에 의한 E484K/Q 돌연변이의 강력한 중화에 대한 구조적 근거를 제공한다.

[0665] A23-58.1 및 B1-182.1의 결합 방식 및 서열은 이전에 보고된, S2E12 (Tortorici et al., *Science*. 370, 950-957 (2020)), COVOX 253 (Dejnirattisai et al., *Cell*. 184, 2183-2200.e22 (2021)) 및 CoV2-2196 (Dong et al., *bioRxiv Prepr. Serv. Biol.* (2021), doi:10.1101/2021.01.27.428529) 와 같은 IGHV1-58/IGKV3-20-유래된 항체의 그것과 매우 유사하며, 이는 이들은 같은 구조적 클래스의 멤버임을 확인해준다 (도 18E). 출현하는 VOCs를 중화하는데 왜 B1-182.1이 매우 효과적인가를 이해하기 위하여, 이의 결합 방식이 A23-58.1과 비교되었다. 분석은 B1-182.1은 Fab의 긴 축 (long axis)에 따라 A23-58.1의 그것으로부터 약 6도 회전되어 있다는 것이 제시하였다 (도 19B). 이 회전은 한편으로는 B1-182.1 CDR L1의 RBD의 변하지 않는 부위에의 접촉을 증가시켜 결합을 강화하며 (도 19B) 및 다른 한편으로는 A58.1 및 S2E12에서 주- (main-) 및 옆-체인(side-chain) 에 ~40 Å² 으로 접촉하는 것과 비교하여 Glu484에의 접촉을 6 Å²로 결정적으로 감소시키고 및 주-체인 (main-chain) 에만 접촉하게 한다 (도 19B). 전반적으로, 다양한 돌연 변이를 가지고 있는 RBD 부위에 대한 항체 인식

방식의 미세한 변경은 VOCs 중화에 대한 B1-182.1 및 A23-58.1의 유효성의 구조적 기반을 제공한다.

[0666] 어떻게 A23-58.1 및 B1-182.1이 바이러스 변이체에 대한 감소된 항체 효능의 원인이 되는 돌연변이를 극복하는가를 이해하기 위하여, CB6 (PDB ID 7C01) (Shi et al., *Nature*. 584, 120-124 (2020)), REGN10933 (PDB ID 6XDG) (Hansen et al., *Science*. 369, 1010-1014 (2020); Baum et al., *Science*. 370, 950-957 (2020)) 및 LY-CoV555 (PDB ID 7KMG) (Jones et al., *Sci. Transl. Med.* (2021), doi:10.1126/scitranslmed.abf1906)의 항체-RBD 복합체의 구조를 A23-58.1 구조가 RBD 부위 위에 있도록 겹치게 하였다. REGN10933 및 CB6 둘 다는 A23-58.1처럼 RBD의 같은 옆에 결합한다 (도 19C). 그러나, REGN10933 및 CB6의 결합 표면은 열린 RBD의 안장 쪽으로 기울었으며 및 Lys417, Tyr453, Glu484 및 Asn501 잔기를 포함한다(도 19C); 돌연변이 K417N 및 Y 453F는 그러므로 주요한 상호작용을 없애고 및 REGN10933 및 CB6 둘 다에 대한 중화의 손실을 초래할 수 있다 (도 17A-17D). 반대로, LY-CoV555는 Glu484 및 Lys452를 포함하는 에피토프와 함께 다른 각도로부터 RBD에 접근했다 (도 19D). 구조적 조사에서는 E484K/Q는 LY-CoV555의 CDR H2 Arg50 및 CDR L3 Arg96와의 주요 상호작용을 없앤다는 것을 제시한다. 추가로, E484K/Q (도 19D) 및 L452R 돌연변이는 둘 다는 LY-CoV555의 중쇄와 충돌의 원인이 되게 한다. 클래스 I, II 및 III 항체의 에피토프와 비교하였을 때(Dejnirattisai et al., *supra*), IGHV1-58-유래된 항체(A23-58.1, B1-182.1, S2E12 및 COVOX253)의 공통 접촉에 의해 정의된 슈퍼사이트(supersite)는 돌연변이 핫스팟(hotspot)에 있는 잔기들과 최소의 상호작용을 가진다 (도 19E). 이들 구조 데이터는 A23-58.1 및 B1-182.1의 결합 방식은 새로운 SARS-CoV-2 VOCs에 대하여 높은 유효성을 낼 수 있게 한다는 것을 제시한다.

[0667] 구조적 분석에 기반하여, 결합 및 중화에 대한 예상되는 접촉 잔기의 상대적인 기여 (도 19A)가 조사되었다. 세포 표면 발현된 스파이크의 A23-58.1 and B1-182.1에의 결합은 F486R, N487R, 및 Y489R에 의해 닉아웃(knocked out)되었으며(도 20A), 이들 돌연변이를 포함하는 스파이크로 위형화된 바이러스는 중화가 결여된 결과를 보였다 (도 20 B). 반면에, A19-46.1 및 A19-61.1의 결합 및 중화는 이들의 변화에 의하여 최소로 영향을 받았다(도 21B, 및 21C). CB6, LY-CoV555 및 REGN10933 결합 및 중화는 이 세 돌연변이에 의해 영향을 또한 받았다, 이는 이 잔기들은 A23-58.1 및 B1-182.1과 공유된 접촉(들)이 있다는 구조적 분석과 일치한다. 종합하면, 공유된 결합 및 중화의 결손은 호크-유사 모티프(hook-like motif) 및 CDR 틈새는 VH1-58 일반 클래스 내에서 항체의 결합에 결정적이라는 것을 제시한다.

[0668] 실시예 20

[0669] 회피 돌연변이 (escape mutations)의 생성 및 검사

[0670] 결정적인 접촉 잔기 및 감염 과정 동안에 생성될 수도 있는 회피 기전을 조사하기 위하여, 항체 선택 압력(antibody selection pressure)이 WA-1 SARS-CoV-2 스파이크를 발현하는 복제 능력있는 소낭성 구내염 바이러스(vesicular stomatitis virus, rcVSV) (rcVSV-SARS2) (Deterle et al., *Cell Host Microbe*. 28, 486-496.e6 (2020))에 적용되었으며 A23-58.1, B1-182.1, A19-46.1 또는 A19-61.1에 대하여 시험관 내에서 저항성을 부여하는 스파이크 돌연변이를 동정하였다. rcVSV-SARS2를 증가하는 농도의 항체로 배양시켰으며, 및 감염이 없는 대조군에 비교하여, >20% 세포변성 효과 (cytopathic effect, CPE)를 가진 항체의 가장 높은 농도로부터의 배양은 저항성을 유도하기 위한 2번째 라운드의 선택으로 더 진행되었다 (Baum et al., *Science*. 369, 1014-1018 (2020)). 중화하기 위하여 요구되는 더 높은 항체 농도로의 이동은 저항성 바이러스의 존재를 제시한다. 저항성을 유도하는 스파이크 돌연변이에 대한 통찰력을 얻기 위하여, 일루미나-기반한 (Illumina-based) 샷건 서열 분석 (shotgun sequencing)이 수행되었다. 5% 이상의 빈도로 존재하고 및 1 라운드에서부터 2라운드에 증가하는 변이체는 양성적으로 선택된 저항성 바이러스라고 간주된다. A19-46.1에서, 회피 돌연변이는 4개 부위: Y449S (빈도 15%), N450S (빈도 16%), N450Y (빈도 14%), L452R (빈도 83%) 및 F490V (빈도 58%)에서 생성되었다 (도 21A). 가장 우세한, L452R, 은 B.1.427, B.1.429, B.1.617.1 및 B.1.617.2가 A19-46.1에 대하여 저항성이 있다는 이전의 발견과 일치한다 (도 17A-17 D). 흥미롭게도, F490V는 중화를 닉아웃(knockout)시키지 않았으나, F490L은 닉아웃시켰으며, 이는 F490V는 회피가 일어나기 위하여 추가의 돌연변이를 요구할 수도 있다는 것을 제시한다 (도 21A-21C). Y449, N450 및 L452가 S494에 바로 인접해 있으므로, S494R이 결합 및 중화를 또한 교란하는지를 검사하였으며 (도 21A-21C) 및 이 돌연변이는 중화 회피를 중재한다는 것이 발견되었다. 동정된 각각의 잔기 위치가 결합 및/또는 중화에 의해 확인되었으며 및 RBD가 위(up) 또는 아래(down) 위치로 있을 때 접근 가능할 것으로 기대될 수 있으며, 및 몇 가지는 클래스 II RBD 항체들 (Barnes et al., *Nature*. 588, 682-687 (2020); Kappa et al., *Science*. 371, 823-829 (2021)) 및 REGN10933 (Hansen et al., *Science*. 369, 1010-1014 (2020); Barnes et al., *Cell*. 182, 828-842.e16 (2020))에 의해 공유된다.

- [0671] A19-61.1 존재하에서 세 개의 잔기가 양성적으로 선택되었다: K444E/T (빈도 7-93%), G446V (빈도 24%) 및 G593R (빈도 19%) (도 21A). A19-46.1에 의해 선택된 것과는 중복되지 않았다. G593R는 RBD 도메인 밖에 위치해 있고, 중화에 영향을 주지 않았으며 및 그러므로 위양성을 나타낼 수도 있다. 가장 높은 빈도 변화는 K444E로 반복 실험에서 57-93%의 서열을 나타냈다 (도 21A). 이 잔기는 REGN10987과 같은 클래스 III RBD 항체의 결합에 결정적이다 (Barnes et al., *Nature*. 588, 682-687 (2020); Hansen et al., *Science*. 369, 1010-1014 (2020); Baum et al., *Science*. 369, 1014-1018 (2020); Barnes et al., *Cell*. 182, 828-842.e16 (2020)). S494의 K444 및 G446에의 인접성 때문에, S494R은 회피 잠재력 (escape potential)에 대해 검사되었으며 및 A19-61.1 중화로부터 회피를 중재하는 것으로 보였다. 이 결과는 REGN10987 및 다른 클래스 III RBD 항체로부터 차별 있는 에피토프를 타겟팅하는 A19-61.1과 일치한다
- [0672] A23-58.1에 대하여, 단일 F486S 돌연변이 (빈도 91-98%)가 양성적으로 선택되었다. 비슷하게, B1-182.1 회피는 F486L (21%), N487D (100%) 및 Q493R (45%)에 의해 매개되었다. Q493R은, 결합에서 최소의 영향을 가졌으며 및 중화에 영향을 주지 않는 것으로 발견되었다 (도 21B, C). 그러나, F486, N487 및 Y489는 모두 이전의 구조적 분석과 일치하였다 (도 18D, 도 20A-21B, 도 21A-21E). F486은 RBD 후크 (hook)의 꼭대기에 위치해 있으며 및 방향족 측쇄가 우세하게 후크 및 틈새 경계면을 형성하는 항체 틈새 (crater)에 있는 결합 경계면에 접촉한다 (도 18D). 그러므로, 활성에서의 손실은 소수성 방향족 잔기 (페닐알라닌)가 작은 극성 측쇄 (세린)로의 대체를 통해 일어날 수 있다 (도 18D).
- [0673] 실시예 21
- [0674] 잠재적인 회피 위험 및 완화 (potential escape risk and mitigation)
- [0675] 시험관 내에서 유래한 저항성 변이체를 잠재적 임상 저항성과의 상관성을 조사하기 위하여, GISAID 서열 데이터베이스에 존재하는 회피 돌연변이를 함유하는 변이체의 상대적인 빈도를, 2021년 5월 7일자, 1,062,910 엔트리(entries)가 있는, COVID-19 바이러스 유전체 분석 파이프라인(COVID-19 Viral Genome Analysis Pipeline) (인터넷, cov.lanl.gov로 구할 수 있음) (Korber et al., *Cell*. 182, 812-827.e19 (2020))을 사용하여 조사하였다. A19-46.1 대한 회피 및 저항성을 매개하는 것으로 주목되는 잔기들 중 (즉, Y449S, N450S/Y, L452R, F490L/V 및 S494R)에, 단지 F490L (0.02%) 및 L452R (2.27%)만 0.01% 이상으로 존재하였다. A19-61.1 회피 돌연변이 (즉, K444E, G446V, S494R)에서는, 단지 G446V만 데이터베이스에서 >0.01% (0.03%)로 표시되었다. 최종으로, A23-58.1 및 B1-182.1에서 조상적인 WA-1 잔기 F486, N487 및 Y489가 서열의 >99.96%에서 나타났으며 및 단지 F486L은 데이터베이스에서 >0.01% (0.03%)로 표시되었다. 순환하는 바이러스에서 A19-61.1, A23-58.1 및 B1-182.1 회피 돌연변이의 상대적인 결여가 샘플링-부족 또는 선택 압력이 없음을 반영할 수 있지만, 이는 시험관 내 유래한 돌연변이는 바이러스에서 적용 비용을 요구할 수 있음을 또한 제시한다.
- [0676] 바이러스 유전체 서열 분석은 전과를 통해 퍼지는 것 이외에 추가하여, 신생 돌연변이의 수렴 선택 (convergent selection)이 일어날 수 있음을 제시하였다 ((Rambaut et al., 인터넷으로 구할 수 있음, virological.org/t/preliminary-genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-the-uk-defined-by-a-novel-set-of-spike-mutations/563Gary, Virological. *virological.org* (2021), (인터넷으로 구할 수 있음, virological.org/t/mutations-arising-in-sars-cov-2-spike-on-sustained-human-to-human-transmission-and-human-to-animal-passage/578); Tegally et al., *Nature*. 592, 438-443 (2021); Faria et al., (2021), 인터넷에서 구할 수 있음 virological.org/t/genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-manaus-preliminary-findings/586; Naveca et al., 2021, 인터넷으로 구할 수 있음, virological.org/t/phylogenetic-relationship-of-sars-cov-2-sequences-from-amazonas-with-emerging-brazilian-variants-harboring-mutations-e484k-and-n501y-in-the-spike-protein/585; Korber et al., *Cell*. 182, 812-827.e19(2020); Rappazzo et al., *Science*. 371, 823-829 (2021)). 그러므로, 효과적인 치료적 항체 접근 방법은 돌연변이의 영향을 완화하기 위하여 새로운 항체 또는 항체의 조합을 필요로 할 수 있다. 이들의 스파이크 인식의 보완성 방식 (complementary modes) 및 중화 활성의 폭에 기반하여, B1-182.1의 A19-46.1 또는 A19-61.1과의 조합은 각 항체 혼자에 비교하여 시험관 내 저항성 획득 비율을 감소시킬 수 있다. 경쟁 데이터와 일치하게 (도 16F), 음성 염색 EM 3D 재구성은 Fabs는 둘 다의 조합에서 스파이크를 RBDs와 위(up) 위치에서 동시에 결속할 수 있게 하였음을 보여준다 (도 21D). 관찰된 입자에서 스파이크당 B1-182.1의 3 Fabs 까지 및 A19-46.1 또는 A19-61.1의 3 Fabs 까지 결합이 관찰되었으며 (도 21D), 이는 스파이크에 있는 A19-46.1 및 A19-61.1의 에피토프는 RBD 위 (up) 및 아래 (down) 위치 둘 다에서 접근 가능함을 제시한다 (도 1H 및 도 21D). RBD-아래 클래스의 부재는 조합은 RBD-위(up) 결합을 위하여 B1-182.1 또는 A23-58.1의 필요로 하기 때문에

RBD-위 결속 ((즉, RBD 위(up) 대비 RBD 아래 (down))의 바람직한 방식을 유도하는 가능성을 제시한다.

[0677] 다음은, 항체의 증가 되는 농도의 존재하에서 여러 라운드 (multiple round)의 계대 배양 (passage)을 통해 rcVSV SARS-CoV-2-유도된 세포 변성 효과 (cytopathic effect, CPE)의 출현을 예방하기 위하여 각개별 항체 또는 조합의 능력이 평가되었다. 각 라운드에서, 적어도 20% CPE를 가지고 가장 높은 농도의 항체를 가진 웰이 다음 라운드로 계속 진행 (carried forward) 되었다. A19-61.1 또는 A785.46.1 단일 항체 처리는 50mg/mL 웰에서 3라운드 선택 후에 20% CPE 한계 (threshold)에 도달되었음이 발견되었다 (도 21). 비슷하게, B1-182.1 단일 항체 처리는 4라운드 후에 50mg/mL 웰에서 >20% CPE에 도달하였다 (도 21E). 반대로, 이중 처리 둘 다 (즉, B1-182.1/A19-46.1 또는 B1-182.1/A19-61.1)에서는 20% CPE 한계는 단지 0.08 mg/mL의 농도에서 달성되었으며 및 5라운드 계대 배양임에도 불구하고 더 높은 농도로 진전되지 않았다. (도 21E). 그러므로, 조합은 자연적인 변이체가 중화 활성의 완전히 손실을 초래할 위험성을 더 낮출 수 있으며 및 이들 항체들을 조합 치료로서 진전시키는 것을 제시한다.

[0678] 이 결과들은 VOC에 대하여 활성을 가진 매우 강력한 중화 항체들이 SARS-CoV-2의 조상격 변이체로 감염되었던 적어도 4명의 회복중인 개체 중 3명에서 존재한다는 것을 보여준다 (예를 들어, 도 16A-16H 참조). 더욱이, 구조적 분석, GSAID 유전체 데이터베이스에서 잠재적인 회피 변이체가 상대적으로 적음(paucity), 일반 클론형 (public clonotypes)의 동정(Tortorici et al., *Science*. 370, 950-957 (2020); Robbiani et al., *Nature*. 584, 437-442 (2020)) 및 각 개체가 완화된 및 중등 정도의 질환을 앓았다는 사실 모두는 이들 항체는 감염을 빠르게 조절할 수 있는 개체에서 생성되었고 및 질환 발생 과정 동안에 E484 회피 돌연변이의 생성 때문에 생성되었을 것은 아닐 것이라는 것을 제시한다. 종합하면, 이들 데이터는 스파이크 당단백질의 특이적인 RBD 부위 ((예를 들어, VH1-58 슈퍼사이트 (supersite))를 타겟팅 하는 항체들의 폭 및 효능을 증가시키는 면역 반응을 선택적으로 유도하기 위하여 사용될 수 있는 백신부스팅 용법의 타당성을 확립한다. 변이체 서열 분석 및 실험을 회피하기 위한 시험관 내 시간 둘 다는 이들 항체의 조합은 중화 활성의 손실에 대하여 더 낮은 위험성을 가질 수 있다고 제시하므로, 이들 항체는 현존하는 VOCs에 대한 폭 및 미래에 전개될 수 있는 VOCs에 대한 위험성의 완화 둘 다를 달성 하기 위한 잠재적인 수단을 대표한다.

[0679] 실시예 22

[0680] 추가의 재료 및 방법

[0681] SARS-CoV-2개체로부터 PBMCs 분리: 인간 회복중인 혈청 샘플이 이전에 완화된 내지 중등 정도의 SARS-CoV-2 감염을 가진 성인으로부터 증상 시작 후 25 내지 55일에서 얻어졌다. 전 혈액이 베큐테이너 튜브 (vacutainer tubes)에 수집되었으며, 이를 살살 뒤집어 세포를 다시 혼합하고 표준 Ficoll®-Hypaque 밀도 구배 원심 분리 (density gradient centrifugation) (Pharmacia; Uppsala, Sweden) 하여 PBMCs를 분리하였다. PBMCs는 10% 디메틸설폭사이드 (dimethylsulfoxide)를 함유하는 열-불활성화된 태아 소 혈청에서 Forma® CryoMed® 세포 동결기 (Marietta, OH)로 냉동시켰다. 세포는 -140°C 에 저장시켰다

[0682] 단백질의 발현 및 정제: 용해성 SARS-CoV-2 S-2P 단백질 발현을 위하여, 제조사의 안내를 따랐다. 간략하게, 플라스미드는 Expifectamine®를 사용하여 Expi293® 세포 (Life Technology, #A14635, A14527)로 형질감염시키고 및 배양은 형질 감염-후 16-24시간 강화되었다. 120 rpm, 37°C , 9% CO₂에서 4-5일 동안 배양 후, 상등액이 수집되었고, 원심분리를 거쳐 투명하게 하고, 및 1X PBS에 버퍼 교환되었다. 관심 있는 단백질은 그 후 스트렙탁틴 레진 (Streptactin resin) (Life science)을 사용한 친화력 크로마토그래피 (affinity chromatography)로 분리하고 이어서 Superose® 6 increase 10/300 컬럼 (GE healthcare)에서 크기 배제 크로마토그래피 (size exclusion chromatography)로 분리하였다.

[0683] 결합 에세이에서 사용된 바오티닐레이티드 (biotinylated) S-2P, NTD, RBD-SD1 및 Hexapod의 발현 및 정제는 이전에 서술된 대로 컬럼-내 바오티닐레이션 방법 (in-column biotinylation method)에 의해 생산되었다 (Zhou et al., *Cell Rep.* **33**, 108322 (2020)). 전장 SARS-CoV2 S 및 인간 ACE2 cDNA ORF 클론 벡터 (Sino Biological, Inc)를 템플레이트로 사용하여 S1 또는 ACE2 이량체 단백질을 생성하였다. S1 PCR 단편 (1~681a)은 XbaI 및 BamHI으로 소화시켰고 및 C-말단에 HRV3C-his (6X) 또는 Avi-HRV3C-his(6X) 태그 (tag)와 함께 VRC8400에 클론 시켰다. ACE2 PCR 단편은(1~740aa) XbaI 및 BamHI으로 소화시켰고 C-말단에 Avi-HRV3C-단일 체인 인간 Fc-his (6x) 태그 (tag)와 함께 VRC8400에 클론 시켰다. 모든 구조체는 서열분석으로 확인하였다. 단백질은 Expi293 세포에서 해당하는 유전자를 암호화하는 발현 벡터의 형질 감염에 의해 발현시켰다. 형질 감염된 세포는 셰이커 배양기에서 120 rpm, 37°C , 9% CO₂로 4-5일 동안 배양시켰다. 배양 상등액은 수집되었으며 및 여과되었고, 및 단백질은 Hispur Ni-NTA레진 (Thermo Scientific, #88221) 및 이어서 Hiload® 16/600

Superdex® 200 컬럼 (GE healthcare, Piscataway NJ)을 통해 제조사의 안내에 따라 정제되었다. 단백질 순도는 SDS-PAGE에 의해 확인되었다.

[0684] *프로브 접합 (Probe conjugation)*: SARS CoV-2 스파이크 삼량체(Spike trimer) (S-2P) 및 서브도메인 (NTD, RBD-SD1, S1)을 이전에 서술된 대로 293 Freestyle 세포에 일시적 형질 감염시켜 생산하였다 (Wrapp et al., *Science*, **367**, 1260-1263 (2020)). Avi-태그 된 S1은 BirA 바이오틴-단백질 리가제 반응 키트(BirA biotin-protein ligase reaction kit) (Avidity, #BirA500)를 사용하여 제조사의 안내에 따라 바이오틴화(biotinylated) 되었다. S-2P, RBD-SD1, 및 NTD 단백질은 이전에 서술된 대로 (Zhou et al., *Cell Rep.* **33**, 108322 (2020)) 컬럼-내 바이오틴화 방법(in-column biotinylation method)으로 생산되었다. 성공적인 바이오틴화는 생물층 간섭계 (Bio-Layer Interferometry)를 사용하여, 바이오틴화된 단백질이 스트렙타비딘(streptavidin) 센서에 결합하는 능력을 검사하여 확인되었다. 항원성의 유지는 바이오틴화된 단백질을 교차 반응성이 있는 SARS-CoV 및 SARS CoV-2 인간 단일클론 항체 패널에 대하여 검사하여 확인되었다. 바이오틴화된 프로브는 알로파이코시아닌 (allophycocyanin) (APC)-, Ax647, BV421-, BV786, BV711-, 또는 BV570-라벨 된 스트렙타비딘(streptavidin)을 사용하여 접합시켰다. 반응은 바이오틴화된 단백질에 스트렙타비딘 분자 비율 4:1에서 제조되었고, 단량체마다 라벨 되었다. 라벨 된 스트렙타비딘은 증가로 첨가되었으며 및 각 첨가 사이에 어두운 곳 4° C (돌리면서) 에서 20분 동안 두었다. 적정 타이타는 면역화된 생쥐의 비장 세포를 사용하여 결정되었고 및 SARS CoV-2 회복중인 인간 PBMC로 검증되었다.

[0685] *단일 B 세포 분류에 의한 항체 분리 및 서열 분석 (Isolation of and sequencing of antibodies by single B cell sorting)*: COVID-19 회복중인 4명의 공여자로부터의 냉동보존된 인간 PBMCs를 녹였고 및 생/사 고정 가능한 아파 죽은 세포 염색 키트(Live/DEAD Fixable Aqua Dead Cell Stain kit) (Cat# L34957, ThermoFisher)로 염색시켰다. 세척 후, 세포는 CD3 (cat # 317332, Biolegend), CD8 (cat # 301048, Biolegend), CD56 (cat # 318340, Biolegend), CD14 (cat # 301842, Bio legend), CD19 (Cat# IM2708U, Beckman Coulter), CD20 (cat # 302314, Biolegend), IgG (Cat# 555786, BD Biosciences), IgA (Cat# 130-114-001, Miltenyi), IgM (Cat# 561285, BD Biosciences)을 포함하는 항-인간 항체의 콕테일로 염색되었고 및 이어서 형광적으로 라벨 된 SARS-CoV-2 S-2P (APC 또는 Ax647), S1 (BV786 또는 BV570), RBD-SD1 (BV421) 및 NT (BV711 또는 BV421) 프로브로 염색시켰다. 항원-특이적인 기억 B 세포 (공여자 개체 A19, A20 및 A23에서 CD3-CD19+CD20+IgG+ 또는 IgGA+ 및 S-2P+ 및/또는 공여자 개체 B1에서 RBD+ S-2P+ 및/또는 NTD+) 는 FACSymphony® S6 (BD Sciences) 를 사용하여 1% 2-머캅토에탄올 (2-mercaptoethanol) (ThermoFisher Scientific)이 있는 Buffer TCL (Qiagen)로 분류시켰다. 핵산은 RNAClean 자석 비드 (RNAClean magnetic beads) (Beckman Coulter)를 사용하여 정제시켰고 이어서 주문된 어답터 서열에 연결된 올리고-dT (oligo-dT linked to a custom adapter sequence) 및 SMARTScribe® RT (Takara)를 사용한 템플레이트 스위칭을 사용하여 역 전사 (reverse transcription) 시켰다. PCR 증폭은 SeqAmp DNA 중합효소(Polymerase) (Takara)를 사용하여 수행되었다. 증폭된 cDNA 일부는 템플레이트 스위치 올리고 (template switch oligo)에 보완적인 전진 프라이머 (forward primers) 및 IgA (GAGGCTCAGCGGAAGACCTTGGGGCTGGTCGG, 서열 번호 142) IgG, Igκ, 및 Igλ (38) 고정 부위에 대항하는 역 프라이머 (reverse primers)를 사용하여 B 세포 수용체 서열 분석을 위하여 강화(enriched) 시켰다. 강화된 생산물은 유일한 이중 색인 (Unique Dual Indexes) (Illumina®) 이 있는 Nextera® XT DNA Library Kit를 사용하여 일루미나-레디 서열 분석 라이브러리(Illumina-ready sequencing libraries) 로 만들었다. Illumina®-레디 라이브러리 (Illumina®-ready libraries)는 쌍 말단 150 사이클 MiSeq 리드 (paired end 150 cycle MiSeq reads)로 서열 분석되었다. 결과로 얻어진 리드 (reads)는 사내 문서 (in-house script) 를 사용하여 탈 다중화 (demultiplexed) 시켰으며 및 V(D)J 서열은 BALDR를 사용하여 여과되지 않은 방식으로 조립시켰다. 빈약하거나 또는 불완전한 조립 또는 낮은 리드 지지를 가진 것들은 제거되었으며, 및 여과된 컨티그 (contigs)들은 단일 세포 방식 (single cell mode) 에서 SONAR v4.2로 재-해석 (re-annotated) 되었다. 최종 항체의 서브세트 (subset) 가 유전자 용도(gene usage), 체세포 고수위 돌연변이 수준(somatic hypermutation levels), CDRH3 길이(CDRH3 length), 수렴 적 재배열(convergent rearrangements) 및 유동 세포분석으로 제시되는 특이성 (specificity implied by flow cytometry) 을 포함하는 다수의 고려에 기반하여 합성을 위해 수동적으로 선택되었다.

[0686] *단일클론 항체의 합성, 클로닝 및 발현*: 우리의 데이터 세트 내 및 우리의 코호트에 있는 공여자들 중 수렴 재배열에 있는 확장된 클론 계통을 샘플 하기 위하여 합성을 위한 서열이 선택되었고 및 공중 문헌과 비교하였다. 추가로, 유동 데이터 (flow data)에 기반한 분명한 에피토프; V 유전자 용도 (V gene usage); 체세포 고수준 돌연변이 수준(somatic hypermutation levels); CDRH3 길이; 및 동족체 (isotype) 를 포함하는 몇 가지 차원과 함께 전체 데이터세트를 대표하도록 디자인된 다양한 서열이 합성되었다. 가변 중쇄 서열은 인간 코돈 최적화되었

고, 합성되었고 및 이전에 서술된 대로 (Moyo-Gwete et al., *N. Engl. J. Med.* 2 (2021), doi:10.1056/NEJMc2104192) HRV3C 프로테아제 부위를 (protease site) 함유하는 RC8400 (CMV/R발현 벡터)-기반한 IgG1 벡터(McLellan et al., *Nature*. 480, 336-43 (2011))에 클론 되었다. 비슷하게, 가변 람다 (lambda) 및 카파 (kappa) 경쇄 서열이 인간 코돈 최적화되었고, 합성되었고 및 CMV/R-기반한 람다 또는 카파 체인 발현 벡터에, 적절한 대로, 클론 되었다 (Genscript). 이전에 발행된 항체 벡터가 LY-COV555 (Barnes et al., *Nature*. 588, 682-687 (2020) 및 mAb114 (Misasi et al., *Science*. 351, 1343-6 (2016))를 위해 사용되었다. 항체들: REGN10933은 발행된 서열(25)로부터 생산되었으며 및 스크립스(Scripps)의 데빈 속(Devin Sok)으로부터 친절하게 제공받았다. 벡터를 구할 수 없는 항체를 위하여 (예를 들어 S309, CB6), 발행된 아미노산 서열이 합성에 사용되었으며 및 해당하는 pVRC8400 벡터(42,43)에 클론 되었다. 항체 발현을 위해, 동등한 양의 중쇄 및 경쇄 플라스미드 DNA가 Expi293 형질감염 시약 (Life Technology)으로 Expi293 세포 (Life Technology)에 형질감염 되었다. 형질감염된 세포는 웨이커 배양기에서 120 rpm, 37 ° C, 9% CO₂에서 4-5일 동안 배양시켰다. 배양상등액이 수집되었고 및 여과되었으며, mAb는 Protein A (GE Health Science) 컬럼에서 정제되었다. 각 항체는 IgG 용출 버퍼(elution buffer) (Pierce)로 용출시켰고 및 1/10 부피의 1M Tris-HCL pH 8.0으로 바로 중화시켰다. 항체들은 그 후 투석으로 PBS에서 적어도 2번 버퍼 교환되었다.

[0687] *ELISA 방법 서술*: 검사는 VRC-VIP SOP 5500 통합된 자동화 시스템에 자동화된 *ELISA (Automated ELISA on Integrated Automation System)*에서 상세히 서술된 대로 자동화된 ELISA 방법을 사용하여 수행되었다. 혈청/혈장에서 IgG 농도의 정량은 Beckman Biomek® 기반한 자동화 플랫폼으로 수행되었다. SARS-CoV-2 S-2P (VRC-SARS-CoV-2 S-2P (15-1208)-3C-His8-Strep2x2) 및 RBD (Ragon-SARS-CoV-2 S-RBD (319-529)-His8-SBP) 항원이 Immulon® 4HBX 평평한 바닥 플레이트에 하룻밤 16시간 동안 4°C에서 각각 2mg/mL 및 4mg/mL 농도로 코팅되었다. 단백질은 생산되었고 및 제공되었다. 항원 농도는 에세이 개발 및 항원 랫트 (antigen lot) 적정 동안에 정의되었다. 플레이트는 세척시켰고 및 실온에서 1시간 동안 차단시켰다 (3% 밀크 TPBS). 검사 샘플의 1:100 - 1:1638400의 범위를 커버하는 4-배 희석 시리즈의 복제 (8-희석 시리즈) (TPBS에 1% 밀크로 희석)가 실온에서 2시간 동안 배양되고 이어서 호스레디쉬 퍼옥시다제-라벨된 (Horseradish Peroxidase - labeled) 염소 항-인간 항체 검출 (1시간 실온) (Thermo Fisher Catalogue # A1881) 및 TMB 기질 첨가 (15분 실온; DAKO Catalogue # S1599) 되었다. 색조 전개는 황산 (sulfuric acid)의 첨가로 중지되었고 및 플레이트는 30분 이내에 450nm 650nm에서 몰레큘라 디바이스 파라다임 플레이트 리더(Molecular Devices Paradigm plate reader)로 읽었다. 각 플레이트는 음성 대조군 (에세이 희석액), 양성 대조군 (NHS에 스파이크된 SARS-CoV-2 S2-특이 단일 클론 항체 S-652-112 및/또는 COVID-19회복중인 혈청 풀)을 가지고 있다. 모든 대조군은 시간에 따라 유행 (trended) 되었다.

[0688] 가공되지 않은 OD 데이터로부터 종점 타이 터 희석 (Endpoint Titer dilution)은 플레이트 배경 OD+10 STDEV를 사용하여 검사 샘플의 비대칭 시그모이드 5-pl 커브 핏(asymmetric sigmoidal 5-pl curve fit)로 삽입되었다. 드문 경우에, 비대칭 시그모이드 5-pl 커브는 종점 타이 터에 삽입되지 않았으며, 시그모이드 4-pl 커브 (sigmoidal 4-pl curve)가 분석에 사용되었다. 커브 밀면적 (Area under the curve, AUC)은 플레이트 배경 OD + 10 STDEV에 의해 고정된 기본선 (baseline)으로 계산되었다. 데이터 분석은 마이크로소프트 엑셀 (Microsoft Excel) 및 그래패드 프리즘 버전 8.0 (GraphPad Prism Version 8.0)을 사용하여 수행되었다.

[0689] *MSD 결합 에세이를 사용한 주 결합 결정인자의 지정 (Assignment of major binding determinant using MSD binding assay)*: MSD 384-웰 스트렙타비딘-코팅된 플레이트 (streptavidin-coated plates)(MSD, cat# L21SA)가 MSD 5% Blocker A 용액 (MSD, cat# R93AA), 웰 당 35 μ L를 사용하여 차단되었다. 이 플레이트들은 그 후 실온에서 30분 내지 60분 동안 배양되었다. 플레이트는 1x 인산염 버퍼된 생리 식염수(Phosphate Buffered Saline) + 0.05% Tween® 20 (PBST)으로 Biotek® 405TS 자동화된 마이크로플레이트 세척기로 세척시켰다. 다섯 SARS CoV-2 캡처 항원이 사용되었다. 캡처된 항원은 VRC-생산된 S1, S-2P, S6P (Hexapro®), RBD, 및 NT로 구성된다. S1을 제외하고 모든 항원은 BirA (Avidity, cat # BirA500) AVI-태그 특이 바이오틀화물을 사용하여 제조사의 안내에 따라 AVI-태그 바이오틀화 (AVI-tag biotinylated) 되었다. S1을 위해, Invitrogen FluoReporter™ Mini-Biotin-XX Protein Labeling Kit (Thermo Fisher, cat # F6347)가 무작위 바이오틀화를 달성하기 위하여 사용되었다. 항원코팅 용액이 S1, S-2P, S6P, RBD, 및 NTD를 위해 최적 농도 각각 0.5, 0.25, 1, 0.5, 및 0.25 μ g/mL로 제조되었다. 이 용액들은 그 후 MSD 384-웰 플레이트에, 웰당 10 μ L를 사용하여 첨가되었다. 각 전체 항원세트는 실험적 SARS CoV-2 단일클론 항체 (mAbs) 하나의 플레이트를 하나의 희석으로 테스트하고자 한다. 일단 캡처 항원 용액이 첨가되면, 플레이트는 실온에서 1시간 동안 Heidolph® Titramax 1000 (Heidolph®, part # 544-12200-00) 진동 플레이트 웨이커(vibrational plate shaker)에서 1000 rpm으로

배양시켰다. 이 시간 동안, 실험적 SARS CoV-2 mAb 희석 플레이트가 제조되었다. 이 초기 플레이트를 사용하여, 3 희석 플레이트가 희석 인자 1:100, 1:1000, 및 1:10000에서 생성되었다. 희석은 1% 에세이 희석제 (assay diluent) (MSD 5% Blocker A 용액, PBST에 1:5로 희석)에서 수행되었다. 양성 대조군 mAbs S652-109 (SARS Cov-2 R DB 특이적) 및 S652-112 (SARS CoV-2 S1, S-2P, S6P, 및 NTD 특이적) 및 음성 대조군 mAb VRC01 (anti-HIV) 이 모든 희석 플레이트에 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 의 균일한 농도로 첨가되었다. 일단 mAb 희석 플레이트가 제조 되면, MSD 384-웰 플레이트는 상기처럼 세척되었다. 각 96-웰 희석 플레이트의 내용물이 MSD 384-웰 플레이트에 웰 당 10 μL 를 사용하여 첨가되었다. MSD 384-웰 플레이트는 그 후 실온에서 1시간 동안 진동 플레이트 셰이커에서 1000 rpm으로 배양시켰다. MSD 384-웰 플레이트는 상기와 같이 세척시켰고, 및 MSD Sulfo-Tag 라벨 된 염소 항-인간 2차 검출 항체 (MSD, cat# R32AJ) 용액이 플레이트에 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서, 웰당 10 μL 를 사용하여 첨가되었다. 플레이트는 다시 실온에서 1시간 동안 진동 플레이트 셰이커에서 1000 rpm으로 배양시켰다. MSD 1x Read Buffer T (MSD, cat# R92TC) 가, 웰당 35 μL 를 사용하여, MSD 384-웰 플레이트에 첨가되었다. MSD 384-웰 플레이트는 그 후 MSD Sector S 600 imager를 사용하여 읽었다. S-2P 또는 Hexapro 양성 항체의 총 결합 에 피톱이 하기의 그룹으로 지정되었다: RBD (즉, RBD+ 또는 RBD+/S1+ AND NTD-), NTD (즉, NTD+ 또는 NTD+/S1+ AND RBD-), S2 (즉, S1-, RBD- AND NTD-) 또는 미결정인자(indeterminant) (즉, 혼합된 양성). 어느 항원에도 결합하지 않는 항체는 "결합 없음(no binding)" 그룹으로 지정되었다.

[0690] 전장 S 구조체 (*Full-length S constructs*): SARS CoV-2 (GENBANK® ID: QHD43416.1, 2022년 1월 1일 부로 얻을 수 있음, 여기 참고문헌으로 병합됨)로부터의 전장 S를 암호화하는 cDNA가 합성되었으며, 포유류 발현 벡터 VRC8400 (Barouch et al., J. Virol. 79, 8828-8834 (2005); Cantanzaro et al., Vaccine. 25, 4085-92 (2007)) 에 클론 되었고 및 서열분석으로 확인되었다. D614G 아미노산 변화를 함유하는 S가 야생형 (wt) S 서열을 사용하여 생성되었다. S wt 또는 D614G로부터 S 유전자에 단일 또는 다수의 aa 변경을 함유하는 다른 변이체는 QuickChange® 라이트닝 다수 부위 지정 돌연변이 제조 키트(lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit) (cat # 210515, Agilent)를 사용하여 돌연변이체조로 만들어졌다. S 변이체, N439K, Y453F, A222V, E484K, K417N, S477N, N501Y, delH69/V70, N501Y-delH69/V70, N501Y-E484K-K417N, B.1.1.7 (H69del-V70del-Y144del-N501Y-A570D-P681H-T716I-S982A-D1118H), B.1.351.v1 (L18F-D80A-D215G-(L242-244)del-R246I-K417N-E484K-N501Y-A701V), B.1.351.v2 (L18F-D80A-D215G-(L242-244)del-K417N-E484K-N501Y-A701V), B.1.427 (L452R-D614G), B.1.429 (S13I-W152C-L452R-D614G), B.1.526.v2 (L5F-T95I-D253G-E484K-D614G-A701V), P.1.v1 (L18F-T20N-P26S-D138Y-R190S-K417T-E484K-N501Y-D614G-H655Y-T1027I), P.1.v2 (L18F-T20N-P26S-D138Y-R190S-K417T-E484K-N501Y-D614G-H655Y-T1027I-V7116F), P.2 (E484K-D614G-V7116F), B.1.617.1 (T95I-G412D-E154K-L452R-E484Q-D614G-P681R-Q1071H), B.1.617.2 (T19R-G142D-del156-157-R158G-L452R-T478K-D614G-P681R-D950N) 및 항체 회피 돌연변이, F486S, K444E, Y449S, N450S 및 F490V가 S D614G에 기반하여 생성되었으며 반면에 항체 접촉 잔기 돌연변이 F456R, A475R, T478I, F486R, Y489R, N487R, L452R, F490L, Q493R, S494R는 S wt에 기반하여 생성되었다. 이들 전장 S 플라스미드는 위형 바이러스 생산 및 세포 표면 결합 에세이를 위해 사용되었다.

[0691] 위형 바이러스 중화 에세이(*Pseudovirus neutralization assay*): S-함유하는 렌티바이러스성 위형바이러스가 패키징 플라스미드 pCMVdR8.2 (packaging plasmid pCMVdR8.2), 형질도입 플라스미드 pHR' CMV-Luc (transducing plasmid pHR' CMV-Luc), TMPRSS2 플라스미드 및 SARS CoV-2 변이체로부터의 S 플라스미드를 293T (ATCC) 세포에 Fugene® 6 형질감염 시약 (Promega, Madison, WI) (44-45) 을 사용하여 동시 형질 감염시켜 생산되었다. 293T-ACE2 세포는 96-웰 흰색/검은색 이소 플레이트 (Isoplates) (PerkinElmer, Waltham, MA)에 웰당 5,000 세포로 SARS CoV-2 위형바이러스 감염 전에 플레이트 되었다. mAb의 시리즈 희석액을 적정 된 위형바이러스와 혼합시켰고, 37° C에서 45분 동안 배양시켰으며, 및 293T-ACE2 세포에 삼중으로 첨가시켰다. 배양 2시간 (h) 후에, 웰은 150ml의 신선한 배지로 보충되었다. 세포는 72h 후에 용해시켰으며, 및 루시페라제 활성 (luciferase activity)이 Microbeta (Perkin Elmer)로 측정되었다. 퍼센트 중화 및 중화 IC₅₀s, IC₈₀s가 그래프패드 프리즘 8.0.2 (GraphPad Prism 8.0.2)를 사용하여 계산되었다. 혈청 중화 에세이는 입력 시작 시리즈 희석이 1:20인 모든 인간 혈청을 제외하고 상기대로 수행되었으며 및 중화는 바이러스 주입의 50% 억제 희석 (ID₅₀)으로서 정량화시켰다. 도 S3에 있는 위형바이러스 중화 에세이 다른 방법은 1세대 렌티바이러스 시스템 (1st generation lentivirus system) 을 사용하였으며 및 웹퍼 등 (*Nat. Med.* 27, 622-625 (2021))에서 처럼 수행되었다.

[0692] 세포 표면 결합: HEK293T 세포는 전장 SARS CoV-2 스파이크 변이체를 암호화하는 플라스미드로 lipofectamine® 3000 (L3000-001, ThermoFisher)를 사용하여 제조사의 프로토콜대로 일시적으로 형질감염시켰다. 40시간 후에,

세포는 수집되었고 및 단일클론 항체 (1 µg/ml) 로 30분 동안 배양시켰다. 항체로 배양 후에, 세포는 세척시켰고 및 알로파이토시아닌(allophycocyanin) 집합 된 항-인간 IgG (709-136-149, Jackson ImmunoResearch Laboratories) 와 또 다른 30분 동안 배양시켰다. 세포는 그 후 세척시켰고 및 1% 파라포름알데히드 (paraformaldehyde) (15712-S, Electron Microscopy Sciences)로 고정시켰다.

[0693] 표면 플라스몬 공명을 사용한 경쟁적 mAb 결합 에세이 (Competitive mAb binding assay using surface plasmon resonance): 단일클론 항체(mAb) 경쟁 에세이가 Biacore® 8K+ (Cytiva®) 표면 플라스몬 공명 스펙트로메터 (surface plasmon resonance spectrometer)에서 수행되었다. 항-히스티딘 IgG₁ (Anti-histidine IgG₁) 항체가 시리즈 S 센서 칩 CM5 (Series S Sensor Chip CM5) (Cytiva®)에 His 캡처 키트 (His capture kit) (Cytiva®) 를 사용하여, 제조사의 안내에 따라 고정화되었다. 1X PBS-P+ (Cytiva®)가 러닝 버퍼 (running buffer) 및 달 리 주목되지 않는 한, 희석제로서 사용되었다. 2 프롤린 안정화 돌연변이 K986P 및 V987P, (S-2P) (4) 를 함유 하는 8X His-태그된 SARS-CoV-2 스파이크 단백질이 활성 센서 표면에 캡처 되었다. "결쟁자 (ompetitor)" mAb 또는 음성 대조군 mAb114 (37) 이 먼저 활성 및 참조표면 둘 다에 주사되었으며, 이어서 "피분석물 (analyte)" mAb가 주사되었다 사이클사이, 센서 표면은 10mM 글라이신 (glycine), pH 1.5 (Cytiva®)으로 재생되었다.

[0694] 데이터 분석을 위하여, 센서그램 (sensorgrams)이, Biacore® 8K Insights Evaluation Software (Cytiva®)에 서 각 mAb 결합 상 (binding phase) 의 시작에서 시작하여 Y((반응 유닛(Response Units, RUs)) =0에 정렬되었 다. 참조-차감하고 (reference-subtracted), 상대적인 "피분석물 늦은 결합 (analyte binding late)" 보고 포 인트 (RUs 에서)가 각 mAb에 대한 퍼센트 경쟁을 결정하기 위하여 사용되었다. 각 mAb에 대한 최대 피분석물 결 합은 음성 대조군 mAb가 결쟁자 mAb로서 사용되었을 때 피분석물 결합 상 (analyte binding phase) 동안 RUs 의 변화로 먼저 정의되었다. 퍼센트 경쟁 (Percent competition, %C)은 다음의 공식을 사용하여 계산되었다: $\%C = 100 * [1 - ((S-2P-특이 mAb가 경쟁자로서 사용되었을 때 피분석물 mAb 결합 RUs) / (음성 대조군 mAb가 경쟁 자로서 사용되었을 때 최대 피분석물 결합 RUs))]$.

[0695] 생물층 간섭계를 사용한 경쟁자 ACE2 결합 에세이 (Competitive ACE2 binding assay using biolayer interferometry): 항체 교차-경쟁이 FFORTEBIO® Octet HTX 기기를 사용하여 생물층간섭계 (biolayer interferometry)에 기반하여 결정되었다. His1K 바이오센서(biosensors) (FORTEBIO®) 가 단 버퍼(Blocking Buffer) ((1% BSA (Sigma) + 0.01% Tween®-20 (Sigma) + 0.01% 소듐 아자이드(Sodium Azide) (Sigma) + PBS (Gibco), pH7.4))에서 >600s 동안 평형 시켰으며 his tagged S-2P 단백질이 (차단 버퍼에서 10 µg/mL) 1200s 동안 로드 (load)되었다. 로딩 후에, 센서는 경쟁자 mAbs (차단 버퍼에서 30 mg/mL) 또는 ACE2 (차단 버퍼에서 266 nM)로 1200s 동안 배양하기 전에 420s 동안 차단 버퍼에서 배양시켰다. 센서는 그 후 ACE2 (266 nM in Blocking Buffer) 로 1200s 동안 배양하기 전에 차단 버퍼에서 배양시켰다. ACE2 mAb의 경쟁자-결합된 S-2P에 의 결합에 대한 퍼센트 경쟁 (percent competition, PC)은 방정식: $PC = 100 - [(경쟁자mAb 존재하에서ACE2 결 합) / 경쟁자mAb 없이 ACE2 결합] * 100$ 를 사용하여 결정되었다. 모든 에세이는 이중 (duplicate)으로 및 1, 000 rpm으로 세트 된 교반으로 30° C에서 수행되었다.

[0696] 세포 표면 ACE2에의 S 단백질 결합의 억제: mAb IgG 및 Fab 시리즈 희석액이 사전-적정 된 바이오티닐화된 S-삼 량체 (S-2P)와 혼합시켰고, RT에서 30분 동안 배양시켰고 및 안정적으로 hACE2를 세포 표면에 발현하는 BHK21 세포에 첨가시켰다. 얼음에서 30분 배양시킨 후, 세포는 세척시켰고 및 BV421 집합 된 스트렙타비딘 (Streptavidin) (cat # 563259, BD Biosciences)으로 또 다른 30분 동안 배양시켰다. 세포는 그 후 세척시켰으 며 및 1% 파라포름 알데히드 (paraformaldehyde) (15712-S, Electron Microscopy Sciences) 로 고정시켰다. 샘플은 그 후 샘플은 그 후 BD LSRFortessa™ X-50 유동 세포분석기(flow cytometer) (BD biosciences)에 영입되 었으며 및 Flowjo® (BD biosciences)를 사용하여 분석되었다. 세포 표면에 대한 S 단백질 결합의 평균 형광 효 능 (Mean fluorescent intensity, MFI)는 100%로 셋업 되었다. mAb IgG 에 의한 세포 표면 ACE2에의 S 단백질 결합의 퍼센트 억제 및 EC50s는 GraphPad Prism 8.0.2를 사용하여 계산 되었다.

[0697] 생 바이러스 중화 에세이 Live virus neutralization assay: 시애틀 워싱턴 군주 (Seattle Washington strain)에 기반하여 전장 SARS CoV-2 바이러스가 나노루시페라제(nanoluciferase) (nLuc)를 발현하도록 디자인되었으 며 및 역 유전적 (reverse genetics)으로 및 이미 서술된 대로 회수되었다 (Hou et al., *Cell*. 182, 429-446.e14 (2020)). 바이러스 타이터는 Vero E6 USAMRIID 세포에서, ml 당 플라크 형성 유닛 (plaque forming units, PFU) 에 의해 정의된 대로, 6웰 플레이트 포맷에서 정확도를 위하여 4번의 생물학적 복제로 측정되었다. 96-웰 중화 에세이를 위하여, Vero E6 USAMRID 세포가 투명한 바닥 흑색 벽 플레이트에서 웰 당 20,000 세포로 하루 전에 플레이트 되었다. 세포는 에세이 하는 날에 융합을 확실히 하기 위하여 점검되었다. 시리즈로 희석된

mAb 가 희석된 바이러스와 동등한 부피로 혼합되었다. 항체-바이러스 및 바이러스-만 혼합물은 그 후 37°C 에서 5% CO₂ 로 1시간 동안 배양시켰다. 배양 후에, 시리즈로 희석된 mAb alc 바이러스 만의 대조군이 이중으로 세포에 75 PFU 에서 37°C 에서 % CO₂ 첨가되었다. 24시간 후에, 세포는 용해 시켰으며, 및 루시페라아제 활성이 Nano-Glo® Luciferase Assay System (Promega)로 제조사의 설명서에 따라 측정되었다. 발광은 Spectramax® M3 플레이트 리더(plate reader) (Molecular Devices, San Jose, CA)에 의해 측정되었다. 바이러스 중화 타이터는 바이러스 대조군 웰의 평균에 대비하여 RU 가 50% 감소된 샘플 희석으로 정의한다. 상기 서술된 생 바이러스 중화 에세이는 생물안전 3등급 (biosafety level 3, BSL-3) 시설에서 허가된 표준 작동 공정(standard operating procedures) 으로 수행되었다.

[0698] 단일클론 항체로부터 Fab 단편 생산: mAb-Fab를 생성하기 위하여, IgG를 HRV3C 프로테아제(protease) (EMD Millipore)와 10 mg IgG 당 100유닛의 비율로 HRV 3C 프로테아제 개열 버퍼(Protease Cleavage Buffer) (150mM NaCl, 50mM Tris-HCl, pH 7.5)에서 4° C 하룻밤 동안 배양시켰다. Fab는 Protein A 컬럼 (GE Health Science) 으로부터 흘러나오는 액 (flowthrough) 을 수집하여 정제하였고, 및 Fab 순도는 SDS-PAGE로 확인 되었다.

[0699] Fab의 결합 역동력 (binding kinetics) 결정: A23-58.1, B1-182.1, A19-46.1 및 A19-61.1 의 SARS CoV-2 S-2P 단백질에 대한 결합 역동력 (binding kinetics)을 측정하기 위하여 FORTEBIO® Octet® HTX 기기가 사용되었다. SA 바이오센서(biosensors) (fortE Bio®) 를 >600s 동안 차단 버퍼 (Blocking Buffer) ((1% BSA (Sigma) + 0.01% Tween-20 (Sigma) + 0.01% 소듐 아자이드(Sodium Azide) (Sigma) + PBS (Gibco), pH7.4))에서 평형시켰고 바이오티닐화된(biotinylated) S-2P 단백질 (차단 버퍼에서 1.5 mg/mL) 로 600s 동안 로딩(loading) 시켰다. 로딩 후에, 센서는 Fabs 결합 평가 전에 차단 버퍼로 420s 동안 배양시켰다. 차단버퍼에서 Fab의 결합 (association) 은 300s 동안 측정되었고 및 해리는 3,600s 까지측정되었다. 모든 에세이는 30 ° C에서 1,000 rpm으로 세트된 교반과 함께 수행되었다. 데이터 분석 및 커브 피팅 (curve fitting) 은 Octet® 분석 소프트웨어, 11-12 버전을 사용하여, 수행되었다. 실험 데이터는 1:1 결합 모델을 사용하여 조정 (fitted)되었다. 결합이 가역적이었다고 (전부 해리) 추정하는 완전한 데이터 세트의 전반적인 분석은 단일세트의 결합 파라미터가 각 실험에서 사용된 모든 농도에 대하여 동시에 얻어 질수 있게 하는 비선형 최소-스퀘어-피팅 (nonlinear least-squares fitting)을 사용하여 수행되었다.

[0700] 음성-염색 전자 현미경 (Negative-stain electron microscopy): 단백질 샘플은 150 mM NaCl로 보충된, 10 mM HEPES, pH 7.4로 대략 0.02 mg/ml의 농도로 희석시켰다. 4.8-μl 방울의 희석된 샘플을 새로이 글로우-방전된 (freshly glow-discharged) 카본-코팅된 (carbon-coated) 구리 그리드(copper grid) 에 15초(s) 동안 놓았다. 이 방울은 그 후 필터 페이퍼로 제거되고, 및 이 그리드 (grid)는 3방울의 같은 버퍼로 세척시켰다. 카본에 흡수된 단백질 분자는 연속적으로 세 방울의0.75% 우라닐 포르메이트(uranyl formate) 을 적용하여 음성적으로 염색되었으며, 및 그리드는 공기-건조되게 하였다. 데이터세트는200 kV에서 작동하고 및 세타 카메라(Ceta camera)가 장치된 Thermo Scientific Talos F200C 전파 전자 현미경 (transmission electron microscope) 을 사용하여 수집되었다. 정상 배율은, 픽셀 (pixel) 크기2.53 Å에 해당하는, 7,000x 이었고 및 비초점 (defocus)은 -1.2 μm에 세트되었다. 데이터는 EPU를 사용하여 자동적으로 수집되었다. 단일 입자 분석은 CryoSPARC™ 사용하여 수행되었다 (Punjani et al., Nat. Methods. 14, 290-296 (2017)).

[0701] Cryo-EM 표본 제조 및 데이터 수집 (Cryo-EM specimen preparation and data collection): 안정화된 SARS CoV-2 스파이크 HexaPro (Hsieh et al., Science. 369, 1501-1505 (2020) 가 Fab A23-58.1 또는 B1-182.1와 PBS에서 프 로모터 당 몰비1.2 fab로 혼합되게 하였다. 최종 스파이크 단백질 농도는 0.5 mg/ml이었다. n-도데실 β-D-말토즈 (n-Dodecyl β-D-maltoside, DDM) 세제가 유리화 (vitrification) 바로 전에0.005% 농도로 첨가되었다. Quantifoil R 2/2 금 그리드 가 표본 제조 바로 직전에 PELCO easiGlow™ 장치 (공기 압력:air pressure: 0.39 mBar, 전류: 20 mA, 지속기간: 30 s)에서 글로우 방전 (glow discharging) 되게 하였다. Cryo-EM그리드는 FEI Vitrobot® Mark IV plunger를 사용하여 하기의 세팅으로 제조되었다: 챔버 (chamber) 온도4° C, 챔버 습도 95%, 블롯팅(blotting) 힘 -5, 블롯팅 시간 3s, 및 방울 부피 2.7 μl. 데이터세트는 Gatan® Quantum GIF® 에너지 필터 ((슬릿 넓이 slit width): 20 eV)) 및 Gatan® K3 직접 전자 검출기 (direct electron detector)로 장치된 Thermo Scientific Titan Krios G3 전자 현미경에서 수집 되었다.

[0702] Cryo-EM 데이터 가공 및 모델 핏팅 (Cryo-EM data processing and model fitting): 동작교수정(Motion correction), CTF 추정(estimation), 입자 선택 및 추출(particle picking and extraction), 2D 분류, 초기 제

구성 (ab initio reconstruction), 균질적인 개선(homogeneous refinement), 이질적인 개선(heterogeneous refinement), 비-균일 개선(non-uniform refinement), 국소 개선 (local refinement) 및 국소 해상도추정 (local resolution estimation)을 포함하는, 데이터 가공 작업 흐름 (workflow) 은 cryoSPARC® 2.15 (Punjani et al., *Nat. Methods*. 14, 290-296 (2017)) 에 있는 C1 symmetry 에서 수행되었다. RBD-항체 접촉 면을 해결하기 위한 국소 개선 (local refinement) 에서, 입자를 추출하기 위하여 RBD-항체 부위가 없는 전체 스파이크-항체 복합체를 위한 마스크 (mask) 가 사용되었으며 및 RBD-항체 부위를 포함하는 마스크가 개선을 위하여 사용되었다. 전반적인 해상도는 국소 개선후, 각각 A23-58.1- 및 B1-182.1-결합된 스파이크의 맵에서 3.39 Å 및 3.15 Å RBD:항체 접촉면의 맵에서 3.89 Å 및 3.71 Å 이었다. SARS-CoV-2 스파이크가 pH 7.4 (PDB ID: 7KM S)에서 세개의 ACE2 분자와의 결합 좌표가 cryo-EM 맵의 핏팅을 위한 초기 모델로서 사용되었다. 반복적인 수동 모델 빌딩 (manual model building) 및 실제 공간 개선 (real space refinement) 은 Coot (Emsley et al., *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* 60, 2126-2132 (2004)) 및 Phenix® (Afonine et al., *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* 68, 3-367 (2012)), 에서 각각 수행 되었다. 각 반복 단계에서 기하학적구조를 입증하고 구조의 질을 검사하기 위하여 몰프로비티 (Molprobity) (Davis et al., *Nucleic Acids Res.* 32, 615-619 (2004)) 가 사용되었다. UCSF Chimera 및ChimeraX가 맵 핏팅 및조작을 위해 사용되었다 (Pettersen et al., *J. Comput. Chem.* 25, 1605-1612 (2004)).

[0703] 단일클론 항체를 사용한 rcVSV SARS CoV-2 바이러스 회피 변이체의 선택: 이의 자연당 단백질이 C-말단 부위에 21 아미노산 삭제체를 함유하는 우환-1 스파이크 단백질(rcVSV SARS CoV-2)로 대체된 복제 능력 있는 수포성 구내염 바이러스(vesicular stomatitis virus) (rcVSV) Dieterle et al., *Cell Host Microbe*. **28**, 486-496.e6 (2020)). 계대배양 7 바이러스 (Passage 7 virus)가 Vero 세포에 두 번 계대되어 폴리클로날 스톡 (polyclonal stock) 이 얻어졌다. 이 9번째 계대배양 (9th passage)으로부터의 단일 플라크 (single plaque)가 이중 플라크 (double plaque) 정제되었으며 및 단일클론 바이러스 집단을 생성하기 위하여 Vero 세포에서 확장되었다. 이 스톡에 대한 참조 유전체가 하기 서술된 대로 일루미나-기반한 서열분석(Illumina-based sequencing)을 사용하여 서열분석 되었다.

[0704] 바이러스 회피 변이체를 선택하기 위하여, 동등한 부피의 rcVSV SARS CoV-2의 클로날 집단을 10% FCS 및 글루타민 (Glutamine) 으로 보충된 DMEM에서 시리즈 희석 항체 (5-배)와 혼합시켜 바람직한 최종 항체 농도 (범위 5.1 e-6 내지 50 mg/ml 및 0 mg/ml)에서 MOI 0.1 - 0.001가 되도록 하였다. 바이러스: 항체 혼합물은 실온에서 1시간 동안 배양되었다. 배양 후에, 300 µl의 바이러스: 항체 혼합물이 12 웰 플레이트에 있는 1 x 10⁵ Vero E6 세포에 37°C, 5% CO₂에서 1시간 동안 첨가되었다. 플레이트는 건조를 방지하기 위하여 매 15분마다 회전시켰다. 흡수 후, 700 µl의 추가의 항체 혼합물이 각 웰에 그들의 해당하는 농도로 첨가되었다. 세포는 72시간 동안 37°C, 5% CO₂에서 배양되었다. 바이러스 복제는 세포변성 효과를 사용하여 모니터 되었으며 및 세포변성 효과가 있는 웰로부터 상등액이 수집되었다. 수집된 상등액은 3750rpm 에서 10분 동안 원심분리로 투명하게 하였다. 이어지는 선택 라운드에서, CPE >20% 상등액을 가진 가장 높은 농도의 항체를 가진 웰로부터의 투명해진 상등액은 희석되었고 초기 선택 라운드에서와같이 동등한 부피의 항체와 혼합되었다. 상등액의 감염, 모니터링 및 수집은 초기 라운드에서와 같이 수행되었다.

[0705] rcVSV SARS CoV2 상등액의 섀건 서열분석 (Shotgun sequencing of rcVSV SARS CoV2 supernatants): 총 RNA가 QIAmp® 바이러스 RNA 미니추출 키트 (Qiagen)를 사용하여 제조사의 추천된 프로토콜에 따라 투명하게 된 상등액으로부터 추출되었다. 정제된 RNA는 NEBNext® Ultra II RNA Library Prep을 사용하여 조각으로 만들었으며, 무작위 헥사머 (random hexamers)를 사용하여 역 전사시켰으며, 및 이전에 서술된 대로 이중-가닥 cDNA가 합성 (New England BioLabs)되었다 (Ssemwanga et al., *J. Infect. Dis.* 217, 1530-1534 (2018)). 이중-가닥 cDNA 는 자석 비드 (magnetic beads) (MagBio Genomics, Inc.®)를 사용하여 정제되었으며 및 바코드화된 Illumina®-ready libraries가 이어서 제조되었다 (New England BioLabs). 이 라이브러리는 쌍-말단 2x150 염기쌍 NextSeq 2000 리드 (paired-end 2x150 base pair NextSeq 2000 reads)로 서열분석 되었다.

[0706] rcVSV항체 유도된 복귀 돌연변이의 스파이크 SNP변이체 콜 (Spike SNP variant calls of rcVSV antibody induced revertants): 초기 서열분석 리드 (raw sequencing reads)는 역다중화 (demultiplexed) 되었고 및 트림 (trim)되어 어답터 서열 및 낮은 질 염기가 제거되었다. 이들은 그 후 참조 바이러스 유전체에 대항하여 Bowtie (v2.4.2)로 정렬되었다. 단일 뉴클레오타이드 다형성 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 이 유전체 분석 툴 키트(Genome Analysis Tool Kit) (GATK, v4.1.9.0) 로부터의 하플로타입콜러(HaplotypeCaller)

를 사용하여 콜 (call) 되었다. 하플로타입콜러(HaplotypeCaller) 계수, "-샘플-플로이드(-sample-ploidy)", 는 SNPs 를 동정하기 위하여 유병률 적어도 1% 와 함께 100으로 세트 되었다. 모든 샘플에서 SNPs는 그 후 집계 되고, 정보가 얻어지고 및 `사용자 정의 스크립트(custom scripts)를 사용하여 번역되었다. SNP 및 스파이크 단 백질에서 상관관계되는 아미노산 번역은 만약 이것이 0.1(10%) 보다 더 큰 빈도로 존재하면 양성으로 간주 되고 및 항체 선택 라운드 1에서부터 라운드 2에 증가하는 빈도로 보인다.

[0707] 다중 SAR2 변이체 결합 에세이 (*Multiplex SAR2 variant binding assay*): SARS Cov2 스파이크 (WA-1), SARS Cov2 RBD (WA-1), SARS Cov2 스파이크(B.1.351), SARS Cov2스�파이크 (B.1.1.7), SARS Cov2 스파이크 (P.1), SARS Cov2 RBD (B.1.351), SARS Cov2 RBD (B.1.1.7), SARS Cov2 RBD (P.1) 및 BSA로 미리 코팅된 다중화된 플레이트 (Multiplexed Plates) (96 웰) 는 제조사에 의해 공급되었다. 에세이 하는 날에, 플레이트는 MSD Blocker A (5% BSA)로 60분 동안 차단되었다. 차단 용액은 세척하여 없애버렸으며 및 검사 샘플은 달리 구체화 하지 않는 한 웰에 4 희석 (1:100, 1:500, 1:2500 및 1:10,000) 으로 적용되었으며 및 흔들면서 2시간 동안 배양되게 하였다. 플레이트는 세척시켰고 및 Sulfo-tag 라벨 된 항 IgG 항체가 웰에 적용되었으며 및 에세이 웰 내에서 복합체화된 코팅된 항원-샘플 항체와 연합되도록 하였다. 결합되지 않은 검출 항체를 제거하기 위하여 플레이트는 세척시켰다. ECL 기질은 함유하는 리드 용액 (read solution)이 웰에 적용되었으며, 및 플레이트는 MSD Sector 기기로 들여보냈다. 전류가 플레이트에 적용되었고 및 샘플 항체가 코팅된 항원과 라벨 된 리포터와 복합체를 이룬 웰 표면의 부위는 ECL 기질 존재하에 빛을 방출하였다. MSD Sector 기기는 방출된 빛의 양을 정량하였으며 및 이 ECL 유닛 반응을 각 샘플에 대한 결과 및 플레이트 표준으로 보고한다. ECL 반응의 크기는 검사 물에서 결합 항체의 정도와 직접 비례한다. 모든 계산은 Excel 및 그래프 패드 프리즘 소프트웨어(GraphPad Prism software, version 7.0) 내에서 수행되었다. 판독은 커브 아래 면적 (Area Under Curve, AUC)으로서 제공되었다.

[0708] 실시예 23

[0709] B.1.1.529 (오미크론, Omicron) 스파이크의 Cryo-EM

[0710] 스파이크에서 B.1.1.529 돌연변이의 영향에 대한 통찰을 제공하기 위하여, 생산된 두 개의 프롤린-안정화된 (S2P) (Wrapp et al., *Science*. 367, 1260-1263 (2020)) B.1.1.529 스파이크가 발현되었으며 및 생산되었고, 및 단일 입자 cryo-EM 데이터가 수집되어 3.29 Å 해상도에서 삼량체 외부도메인 (trimeric ectodomain) 의 구조가 얻어졌다 (도 22A), 또한 하기 표 참조.

[0711] 표- SARS COV-2 스파이크 및 항체 복합체의 Cryo-EM 데이터 수집, 개선, 및 확증 통계

표 16

	SARS-CoV-2 Omicron spike (EMD-25792) (PDB 7TB4)	SARS-CoV-2 Omicron spike in complex with A19-46.1 (EMD-25807) (PDB 7TCA)	SARS-CoV-2 Omicron spike in complex with A19-46.1 after local refinement (EMD-25806) (PDB 7TC9)	SARS-CoV-2 Omicron spike in complex with A19-46.1 and B1-182.1 (EMD-25808) (PDB 7TCC)	SARS-CoV-2 spike in complex with B1-182.1 and A19-61.1 (EMD-25794) (PDB 7TB8)	B1-182.1:A19-61.1:RBD complex after local refinement (EMD-25797) (PDB 7TBF)
배치 수검						
필터링						
Magnification	105,000	105,000	105,000	105,000	105,000	105,000
Voltage (kV)	300	300	300	300	300	300
Electron exposure (e ⁻ /Å ²)	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
Defocus range (μm)	-1.0 to -2.5 μm	-1.0 to -2.5 μm	-1.0 to -2.5 μm	-1.0 to -2.5 μm	-1.0 to -2.5 μm	-1.0 to -2.5 μm
Pixel size (Å)	0.835	0.835	0.835	0.835	0.873	0.873
Symmetry imposed	C1	C1	C1	C1	C1	C1
Final particle images (no.)	266434	79077	46244	358526		
Map resolution (Å)	3.29	3.85	3.08	3.86	2.83	3.10
FSC threshold	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
개선(Refinement)						
Initial model used (PDB code)	7MD0	7TB4	7TB4	7TB4	7MD0	7TB8
Model resolution (Å)	3.15	3.29	3.29	3.29	3.15	2.83
FSC threshold	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Map sharpening B factor (Å ²)	-130.7	-94.1	-282	-70.5	-61.8	-46.5
Model composition						
Non-hydrogen atoms	26899	33706	4298	37713	33230	6617
Protein residues	3329	4244	642	4749	4189	857
Ligands	59	56	1	57	43	2
B factors (Å²/mean)						
Protein	97.2	214.4	178.0	74.3	76.0	51.1
Ligand	97.4	151.5	154.5	170.39	60.0	52.0
R.m.s. deviations						
Bond lengths (Å)	0.005	0.002	0.003	0.006	0.003	0.007
Bond angles (°)	0.655	0.587	0.735	0.742	0.620	0.966
Validation						
MolProbity score	1.95	1.97	2.45	2.35	1.86	2.11
Clash score	7.9	9.7	24.4	18.8	7.3	8.3
Poor rotamers (%)	0.1	0.03	0	0.02	0	0
Ramachandran plot						
Favored (%)	91.2	92.6	89.3	88.9	92.8	85.0
Allowed	8.5	7.1	10.1	10.8	6.9	13.9
Disallowed	0.3	0.3	0.6	0.3	0.3	1.2

[0712]

[0713]

다른 D614G 함유하는 변이체와 같이, 가장 우세한 스파이크 구조는 단일-수용체 도메인-위 (single-receptor-binding domain (RBD)-up) 구조를 포함한다 (Yurkovetskiy et al., *Cell*, **183**, 739-751.e8 (2020)). 스파이크 유전자에 존재하는 B.1.1.529 돌연변이는 스파이크 외부도메인 (ectodomain) 에 2, 3, 및 1 아미노산의 3 삭제, 3 아미노산의 단일 삽입 및 30 아미노산 치환의 결과가 된다. 서열에서 ~3% 변이로부터 예상한 대로, B.1.1.529 스파이크 구조는 전반적으로 Ca-backbone RMSD 1.8Å (S2 부위 0.5 Å)으로 WA-1 구조와 극도로 비슷하다; 그러나 몇 군데에서 작은 구조 변화가 관찰되었다. 예를 들어, RBD S371L/S373P/S375F 치환은, Phe-Ph 상호작용에서 형성된 RBD-위 프로토머(up protomer) 에서 Phe375를 이웃하는 RBD-아래 프로토머(down protomer)에 Phe486로, 이들의 자리하고 있는 루프의 구조를 변경하였으며 (도 22B), 단일-RBD-위(up)구조를 안정화하는데 도움을 준다. 아미노산 변화는, RMSDs 가 낮게 남아있다 하더라도(NTD 및 RBD 에 대해 각각 0.6 Å 및 1.2 Å) 대부분의 중화가 일어나는, N-말단 도메인 (N-terminal domain, NTD) 및 RBD에서 더 밀집되어 있다. 주목할만하게, NTD 및 RBD 밖에 있는 서열에서 약 반의 B.1.1.529 변화가 새로운 상호작용, Tyr796 가 Asn709에 글라이신과 같은 소수성, 및 Lys547 및 Lys856 가 이웃하는 프로토머에서 HR1 SD1에 있는 잔기와 상호작용과 같은 정전기적, 둘다에 관여된다 (도 22B, 또한 하기 표 참조)

[0714]

B.1.1.29 돌연변이는 수소 결합 및 염 다리 (salt bridge) 유입시켰다

표 17

수소 결합			
##	Protomer 1	Dist. [Å]	Protomer 2
1	C:SER 982[OG]	2.51	B:LYS 547[NZ]
2	C:LYS 856[NZ]	2.60	B:THR 572[OG1]
3	B:LYS 764[NZ]	2.78	A:GLN 314[OE1]
4	B:LYS 856[NZ]	2.99	A:THR 572[OG1]
6	C:LYS 547[NZ]	3.89	A:ASN 978[OD1]
염 다리(Salt bridges)			
##	Protomer 1	Dist. [Å]	Protomer 2
1	B:LYS 856[NZ]	3.94	A:ASP 568[OD2]
2	C:ASP 571[OD2]	3.42	A:LYS 856[NZ]

[0715]

[0716]

이 강화된 프로토머 사이의 상호작용은 삼량체 안정성 유지하기 위한 필요성을 제시한다. 열시차 열량 분석법 (Differential scanning calorimetry)은 B.1.1.529 스파이크가 원래의 WA-1 균주와 비슷한 접힘 에너지 (folding energy) 를 가진다는 것을 제시한다.

[0717]

NTD 변화는 이 도메인에 용매 접근성 표면의 ~6%를 바꾸었으며, 몇몇개는 취약성의 NTD 슈퍼사이트 (supersite) 바로에 또는 가깝게 위치해 있으며(Cerutti et al., *Cell Host Microbe*. **29**, 1-15 (2021)), 여기서 이전의 변이체는 NTD 항체에 의한 중화를 상당히 감소시킨다. 다른 NTD 변화는 포켓에 가까우며, 빌리루빈 (bilirubin) 결합 부위라고 제안 되었으며(Ross et al., *Sci. Adv.* **7**, 1-15 (2021)), 이는 또한 항체에 결합한다 (Cerutti et al., *Cell Rep.* **37**, 109928 (2021)) (도. 22C).

[0718]

RBD 변화는 이 도메인에 용매 접근성 표면의 ~16%를 바꾸었으며 및 이도메인의 밖을 향한 면의 가장자리로 제한 하며 (도 22D), 삼량체 스파이크 정점 표면의 많은 부분을 커버한다. 몇 개의 아미노산 변경은 기본적인 치환과 관련되며, RBD 전자-양성화 (electro-positivity) 에 상당한 증가의 결과가 된다 (도 22). 전반적으로, RBD 변경은 ACE2 수용체 결합 표면 --(Lan et al., *Nature*. **581**, 215-220 (2020)) (도. 22D)은 물론 강력하게 중화하는 항체의 인지 부위에 가깝게 위치해 있다 (도 22 E) (Barnes et al., *Nature*. **588**, 682-687 (2020); Robbiani et al., *Nature*. **584**, 437-442 (2020); Wang et al., *Science* (80).**373**, 0-15 (2021)).

[0719]

실시예 24

[0720]

ACE2에의 변이체 결합의 기능적 평가

[0721]

병원균이 새로운 종 (species)을 감염할 때, 지속적인 전파는 복제, 면역-회피 및 전파를 최적화하는 적응을 초래한다. 인간에서 SARS-CoV-2의 효율적인 종 적응 및 전파에 대한 한 가설은 바이러스 스파이크가 숙주 수용체 단백질, ACE2에의 결합을 최적화하기 위하여 진화한다는 것이다. 이 가설의 첫 번째 테스트로서, 변이체 스파이크 단백질을 발현하는 세포에 인간 ACE2 의 결합을 평가하는 유동 세포분석 에세이가 사용되었다. 용해성 이량체 ACE2의 B.1.1.7 (Rambaut et al, 2020, 인터넷으로 구할 수 있음), virological.org/t/preliminary-genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-the-uk-defined-by-a-novel-set-of-spike-mutations/563), B.1.351 (Beta) (Tegally et al., *Nature*. **592**, 438-443 (2021), P.1 (Gamma) (Faria et al., 2021, 인터넷으로 구할 수 있음, virological.org/t/genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-manus-preliminary-findings/586; Naveca et al., 2021, 인터넷으로 구할 수 있음 at virological.org/t/phylogenetic-relationship-of-sars-cov-2-sequences-from-amazonas-with-emerging-brazilian-variants-harboring-mutations-e484k-and-n501y-in-the-spike-protein/585) 또는B.1.617.2 (Delta) (WHO, COVID-19 weekly epidemiological update. *World Heal. Organ.*, 1-23 (2021)) 스파이크에의 결합이 평가되었으며 및 조상적인 D614G 스파이크와 비교되었다. 2020년 12월 및2021년 1월에 처음 인식된 가장 초기 변이체, B.1.1.7, B.1.351 및 P.1는RBD 돌연변이 N501Y를 함유하고, 이는 ACE2 에의 결합을 증가시키는 것으로 제안되었다. Starr, et al., *Cell*. **182**, 1295-1310.e20 (2020)). 세포 표면 ACE2 의 B.1.1.7에의 결합 D614G의 124%이었고, 반면에 B.1.351, 및 P.1은 각각 69% 및 76%이었으며, 이들 변이체들은 ACE2 친화도를 상당히 증가시키지는 않았다. 다음에, 결합은 B.1.1.529 스파이크 단백질에 대해 평가되었으며 및 ACE2 결합은 D614G 변이체의200%인 것으로 관찰되었다.

[0722] 단일 세포-표면 결합은, 상기 주목된 대로 RBD의 증가된 전자-양성성 (electro-positivity)에 의해 영향을 받을 수도 있는 것과 같은, 다른 인자가 관여될 수 있기 때문 및 정식적인 역동력 측정을 세포-기반한 에세이를 사용하여 얻는 것은 도전적이기 때문에, ACE2 결합 친화도가 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance) 측정을 사용하여 용해성 이량체 인간 ACE2의 조상적인 WA-1 및 6 서브서열 변이체: D614G, B.1.351, P.1, B.1.617.2, B.1.1.7 및 B.1.1.529로부터 생성된 S2P 스파이크 삼량체에 대하여 추가로 조사되었다. 동일한 RBD 서열을 가진, WA-1 및 D 614G 둘 다는, 비슷한 친화도 (각각 $K_D = 1.1$ nM 및 0.73 nM)를 가졌다. 두 개의 RBD 돌연변이를 함유하는, B.1.617.2의 친화도는 D614G S2P 삼량체보다 ~3배 더 나뉘었다. N501Y 치환을 함유하는 B.1.1.7, B.1.351, P.1 및 B.1.1.529가 평가되었으며 및 친화도는 각각 0.59 nM, 1.7 nM, 0.85 nM 및 3.8 nM로 발견되었다. 종합적으로, 세포 표면 및 S2P 결합 결과는, 모든 스파이크가 아닌, 어떤 것에서 최소로 개선된 친화도를 보였으며, 및 SARS-CoV-2가 ACE2에 대하여 나노몰 친화도를 유지하는 반면에, 스파이크 변이체 진화는 주로 면역 압력에 의해 추진되는 것으로 제안된다.

[0723] 실시예 25

[0724] 개별 단일클론 항체에 의한 변이체 결합 및 중화

[0725] SARS CoV-2 변이체 아미노산 변경의 단일클론 항체의 결합 및 중화에 대한 영향을 정의하기 위하여, 스파이크 RBD를 타겟팅하는 17개 매우 강력한 항체가 (Barnes et al., *Nature*. **588**, 682-687 (2020); Robbiani et al., *Nature*. **584**, 437-442 (2020); , Ryu et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **578**, 91-96 (2021); Kim et al., *Nat. Commun.* **12**, 1-10 (2021).; Rappazzo et al., *Science*. **371**, 823-829 (2021); Wetendorf et al., LY-CoV1404 potently neutralizes SARS-CoV-2 variants (2021); Tortorici et al., *Science*. **370**, 950-957 (2020); Jones et al., *Sci. Transl. Med.* (2021), doi:10.1126/scitranslmed.abf1906.; Shi et al., *Nature*. **584**, 120-124 (2020); Hansen et al., *Science*. **369**, 1010-1014 (2020); Zoost et al., *Nature*. **584**, 443-449 (2020); Pinto et al., *Nature*. **583**, 290-295 (2020); Piccoli et al., *Cell*. **183**, 1024-1042.e21 (2020); Dejnirattisai et al., *bioRxiv*, in press, doi:10.1101/2021.12.03.471045; Greaney et al., *Nat. Commun.* **12** (2021), doi:10.1038/s41467-021-24435-8) : 현재 임상적 조사에 있거나 또는 미국 음식 및 약품 관리국 (Food and Drug Administration)에 의해 확장 사용 허가 (expanded use authorization, EUA) 하에 사용 허가된 13 항체를 포함하여, 발현되고 및 정제되었다. 모든 항체는 조상적인 D614G에 견줄만하게 B.1.1.7에 결합하고 및 중화하였고 및 단일 501Y 치환이 각 항체의 결합 에피토프의 밖에 있는 것과 일치한다 (도. 23A-23C). B.1.351 및 P1 변이체에 두 개 더 RBD 치환, K417N 및 E484K (Fig. 23A)의 추가는 두 개의 클래스 I 항체, CB6 및 REGN10933 및 두 개의 클래스 II 항체, LY-CoV555 및 C144 (Fig 23B)에 의한 결합을 제거하였다. CB6, LY-CoV555 및 C144에 의한 B.1.351 및 P1의 중화는 완전히 제거되었으며, 반면에 REGN1093는 B.1.351를 제거하였으며 및 P.1은 >250배 감소시켰다. 추가로, CT-P59의 B.1.351 및 P.1 변이체에 대한 결합은 최소로 변경되는 (69-79%) 반면에, 중화는 26-43배 (IC_{50} 65.8 및 39.6 ng/mL) 감소되었다 (도 23B, 23C). 나머지 항체들은 최소 결합 변경 및 중화 IC_{50} 에서 <3.6-1차이를 보였다. B.1.617.2에 대한 패널에서 항체의 평가는 A19-46.1 및 LY-CoV555를 제외한 모든 항체에 대한 결합에서 최소의 변경을 나타냈으며, 이는 D614G의 0%이었다 (도 23B). B.1.617.2 위형바이러스를 사용한 중화 에세이는 REGN10987 IC_{50} 는 D614G보다 22.7배 더 낮았으며 및 A19-46.1 및 LY-CoV555에 대한 중화 값은 각 >10,000 ng/mL이었다 (도 23C). 이들 데이터는 A19-46.1 및 LY-CoV555 둘 다 B.1.617.2에 존재하는 L452R 돌연변이에 민감하다는 것을 보여준 이전의 결과와 일치한다 (Wang et al., *Science* (80) **373**, 0-15 (2021)).

[0726] B.1.1.529에서, 세 개의 항체를 제외하고 모두는 D614G의 31% 미만의 결합을 보였다는 것이 주목되었다. 이는 COV2-2196, S2E12, B1-182.1 및 A23-58.1은 이들의 중쇄의 같은 VH1-58 유전자를 사용하고 및 RBD에서 비슷한 부위를 타겟한다 (즉, VH1-58 슈퍼사이트), 그러나 B.1.1.529 (즉, 4%, 5%, 8% 및 11%, 각각) 및 B.1.617.2 (즉, 66%, 67%, 77% 및 85%, 각각)에 대한 차별 나는 결합을 보인다는 것을 주목하는 것은 흥미롭다 (도 23B). 결합에서 절대적인 차이는 최소라 할지라도, 공동의 추세는 T478K 돌연변이에서 RBD tip 돌연변이가 어떻게 이들 항체 각각에 의해 받아들여지는가(accommodated)를 반영할 수 있다. 최종으로, LY-CoV1404는 B.1.1.529 스파이크에 61% 결합을 보였다. 종합하면, 세포 표면 결합은 A19-46.1 및 LY-CoV1404 둘 다는 B.1.1.529에 대하여 강력한 중화 활성을 유지하는 것 같은 반면, 우리의 패널에 있는 나머지 항체들은 감소된 중화 활성을 보일 수 있다는 것을 제시한다.

[0727] 같은 단일클론 항체 패널을 사용하여, B.1.1.529 변이체를 중화하는 각 항체의 능력이 추가로 에세이 되었다.

VH1-58 슈퍼사이트 (supersite) 항체(클래스 I) 는 다른 변이체에 대하여 높은 중화 활성을 보이는 반면에, 슈퍼사이트를 타겟팅하는 항체는 B.1.1.529 바이러스에 대하여 D614G 보가 40 내지 126-배 더 나쁘다 (IC_{50} 38-269 ng/mL) (도 23C). 추가로, 두 개의 다른 항체 CB6 (Class I) 및 ADG2 (Class I/IV) 는 심각하게 영향을 주는 것으로 보였다 ($IC_{50} >10,000$ ng/mL CB6 및 B.1.1.529에 대한 2037 ng/mL ADG2 대비 D614G 에 대한 31 및 50.5 ng/mL, 각각) (Fig. 23C). 클래스 II 항체 (즉, LY-CoV555, C144, A19-46.1)는 그 다음 분석되었으며 및 이들 중에, LY-CoV555 및 C144에 의한 중화는 완전히 제거되었다($IC_{50} >10,000$ ng/mL B.1.1.529 대비 3.6 및 5.1 ng/mL D614G, 각각) 는 것이 발견되었다. 반대로, A19-46.1 IC_{50} 중화는 B.1.1.529 에 대하여 223 ng/mL 대비 D614G 대하여 19.4 ng/mL이었고 (도 23 C) 및 이전에 보고된 WA-1 에 대한 IC_{50} (39.8 ng/mL)의 <6배이었다는 것이 발견되었다(Wang et al., *Science* (80) **373**, 0-15 (2021)). 클래스 III 항체 (즉, A19-61.1, REGN10987, COV2-2130, C135, LY-CoV1404)가 분석되었으며 및 A19-61.1, REGN10987 및 C135의 중화 활성은 완전히 제거되었으며 (D614G에 대하여 각각 $IC_{50} >10,000$ ng/mL B.1.1.529 대비 19.4, 20.0, 10.8 ng/mL), CoV2-2130은 1581-배 (IC_{50} 5850 ng/mL B.1.1.529 대비 3.7 ng/mL D614G) 및 S309는 ~8-배 감소되었다 (IC_{50} 281 ng/mL B.1.1.529 대비 36.1 ng/mL D614G)는 것이 주목되었다 (도 23C). 놀랍게도, 다른 모든 항체와는 반대로, B.1.1.529에 대한 LY-CoV1404의 중화는 D614G 에 대비하여 변경되지 않았다는 것이 발견되었다 (B.1.1.529에 대해 IC_{50} 5.1 ng/mL 대비 D614G에 대해 3ng/mL) (Fig 2C). 종합하면, 이들 데이터는 B.1.1.529에 존재하는 돌연변이는 항체에 대한 저항을 매개한다는 것을 보여준다.

[0728] 실시예 26

[0729] 클래스 I 항체 중화, 회피 및 유지되는 효능 (retained potency) 의 구조적 및 기능적 기반

[0730] B.1.1.529 중화 및 클래스 I 항체의 회피에 대한 기능적 기반을 결정하고 및 강력한 중화가 어떻게 유지될 수 있는지를 이해하고자 하였다. 클래스 I 항체, CB6, B1-182.1 및 S2E12,는 차별적인 B.1.1.529 중화로 분석되었다 (도 23C). CB6는 먼저 B.1.1.529의 RBD에 15 단일 아미노산 변경 중 13을 대표하는 단일 아미노산 치환 (즉, S375F 및 G496S을 제외한 모두) 또는 G496R 을 함유하는 바이러스 입자를 사용하여 분석되었다; 몇몇은 이들의 중화 IC_{50} 를 최소로 변경시키는 반면에, 오직 Y505H, S371L, Q493R 및K417N는, IC_{50} 각각 50, 212, 320, 및 $>10,000$ ng/mL로, 중화 >5-배 감소시켰다 (도 24 A). 이는 B.1.1.529는 다수의 돌연변이를 통해 CB6-유사 항체를 회피한다고 제시한다. RBD-결합된 Cd6의 B.1.1.529 구조에의 도킹 (docking)은 B.1.1.529 잔기 몇 개가 잠재적으로 CB6와 부딪힐 수 있다 (clash) 는 것을 나타낸다. 특히 K417N, Q493R 및Y505H는, 중화 데이터와 일치하게, CB6파라토프 (paratope)에 심각한 입체 장애의 원인이 되게 위치하였다 (도 24B). 매우 비슷한 아미노산 서열을 가졌으나, B.1.1.529 중화에서 ~6-배 차이를 보이는, 두 개의 VH1-58 슈퍼사이트 항체, B1-182.1 및 S2E12가 분석 되었다. 이 두 항체는 단일 RBD 돌연변이를 가진 모든 바이러스에 대하여, B1-182.1 및S2E12 에 대하여 각각 7 및5.4-배 중화 감소의 원인이 되는, Q493R에서 가장 큰 변경을 가지면서, 매우 강력하게 (<10.6 ng/mL IC_{50}) 남아 있었다 . 단일 돌연변이로부터 중화에서 이들 작은 차이는 B.1.1.529의 다중 돌연변이는 VH1-58 슈퍼사이트 항체 로부터 회피를 증가하기 위하여 조화되어 작용한다는 것을 제안한다. RBD-결합된 B1-182.1의 B.1.1.529 구조에의 도킹은 VH1-58-유래된 항체들의 에피토프는 Q493R, S477N, T478K 및E484A 에 국한한다는 것을 제시한다 (도 24C). R493가 엄지손가락처럼 항체의 한쪽에압력을 주면서, N477/K478는 중-경쇄 접촉 면에서 둘째 및 셋째 손가락처럼 항체의 다른쪽으로 짜여진다 (도 24C). 도킹 된 RBD-항체 복합체의 분석은 N477/K478는 CDR H3, CDR L1 및L2에 의해 형성된 연결부위에, CDR H3잔기100C (카벳 숫자메김)가 중심에 있는 부위에 약간 부딪히면서, 위치한다는 것을 보여준다 (도 24D). VH1-58-유래된 항체의 CDR H3 의 서열 정렬은 잔기 100C는 측쇄 크기가 다양하다는 것을 , A23-58.1에서 S2E12에 세린으로부터 타이로신으로, 제시한다. 분석은 100C의 크기는 중화 효능 IC_{80} ($p=0.046$) 와 역으로 상관된다는 것을 보여주며(도 24D, Fig. 23C), 이는 VH1-58 항체는 B.1.1.529 돌연변이에 의해서 부과된 회피를, N477/K478로부터의 부딪힘을 최소화하기 위하여 위치 100C 에 감소된 측쇄 크기를 통해, 경감할 수 있음을 제시한다.

[0731] 실시예 27

[0732] 클래스 I 항체 중화, 회피 및 유지되는 효능 (retained potency) 의 구조적 및 기능적 기반

[0733] B.1.1.529 중화의 기능적 기반 및 회피가 두 개의 클래스 II 항체, LY-CoV555 (Jones et al., *Sci. Transl. Med.* (2021), doi:10.1126/scitranslmed.abf1906) 및A19-46.1 (Wang et al., *supra*)에 대하여 결정되었고, 이

는 각각 B. 1.1.529 $IC_{50} > 10,000$ 및 223 ng/mL를 가진다(도 23C). B.1.1.529로부터 RBD에 각 단일 아미노산 변경의 영향을 평가함으로써, LY-CoV55에서, E484A 또는 Q493R는 LY-CoV555 중화의 완전 손실의 결과가 되었음이 ($IC_{50} > 10,000$ ng/mL) (도 25A) 발견되었고, 반면에, 이 같은 돌연변이는 A19-46.1에는 영향을 주지 않았다. A19-46.1에서는, 아무 개별 돌연변이도 B.1.1.529 에서의 주목된 수준까지 중화를 감소하지 않았다; S371L이 최고의 효과를 가졌고, B.1.1.529에 대하여 223 ng/mL 인것에 상대적으로 IC_{50} 를 72.3 ng/mL로 감소시켰다. 이에 대한 한 잠재적 설명은 375 및 486 사이의, Phe-Phe 상호작용이 세 개의 B.1.1.529 변경, S371L/S373P/S375F 의 문맥에서 일어난다는 것이다 (도 22B).

[0734] B.1.1.529의 A19-46.1중화의 구조적 기반을 이해하기 위하여, 우리는 Fab A19-46.1와 복합체를 이루고 있는 B.1.1.529 스파이크 cryo-EM 구조를 3.86

[0735] 해상도에서 얻었다 (도 25 B). 구조는 두 개의 Fabs는 RBD 에 각 스파이크에서 "위(up)" 구조 결합하고 세 번째 RBD는 아래 (down) 위치로 결합함을 나타냈다. 항체-RBD 부위의 집중된 국소 개선 (focused local refinement)은 항체-RBD 접촉면을 해결하였다 (도 25B). 이전의 맵핑 및 음성 염색 EM 데이터와 일치하게, A19-46.1은 일반적으로 클래스 II 항체에 의해서 타겟하는 RBD 부위에 각도가 대략 45도로 바이러스 막을 향하게 결합한다. 결합은 모든 경쇄 CDRs 및 중쇄의 단지 CDR H3만 관여되고 및 항체로부터 총 $805 \text{ \AA}^2$ CDR H3 접촉면이 묻혔다 (도 25C, 왼쪽). 경쇄가 RBD의 박갈 가장자리에 라칭(latching)으로 약 70 %의 결합 표면을 제공함에 따라, A19-46.1는 이의 17-잔기-길이 CDR H3를 사용하여 RBD 잔기 345-350 (도 25B, 오른쪽) 와 스와이 팔찌 (sway brace) 와 같이 평행 가닥 상호작용을 형성한다. RBD-결합된 ACE2의 A19-46.1-RBD 복합체에의 도킹(docking)은 결합된 항체는 입체적으로 ACE2 와 부딪히고 (도 25D), B.1.1.529.의 중화를 위한 struct sway brace ural 근거를 제공한다.

[0736] A19-46.1의 $686 \text{ \AA}^2$ 에피토프는 B.1.1.529에서 발견된 아미노산 변경이 없는 RBD 부위 내에 위치해 있다. RBD에서 변경된 15개 아미노산 중, 세 개의 잔기, S446, A484 및 R493 는, 이들의 측쇄가 결합 표면의 8%를 기여하면서 에피토프 가장자리에 위치한다. 클래스 II 항체와 같은 부위를 타겟하는, LY-CoV555는 B.1.1529에 대하여 활성을 완전히 손실하였다. LY-CoV555의 바이러스 회피에 대한 구조적 통찰력을 얻기 위하여, LY-CoV555-RBD 복합체가 1.1.529 RBD에 겹쳐졌다. LY-CoV555가 RBD에 A19-46.1의 그것과 비슷한 방향으로 접근하더라도(도 25E), 이의 에피토프는 RBD 가장자리까지 위로 움직이고 및 경계 내에 B.1.1.529 A변화, A484 및 R493를 포함한다 (도 25E). 겹쳐진 구조의 검사는 B.1.1.529 변경 R493은 LY-CoV555의 CDR H3과 입체적 부딪힘의 원인임을 제시하고, LY-CoV555 중화로부터의 B.1.1.529의 회피를 설명한다. 전반적으로, 에피토프의 위치 및 접근 각도는 A19-46.1가 효과적으로 B.1.1.529.를 중화하도록 한다.

[0737] 실시예 28

[0738] 클래스 III 항체 중화, 회피 및 유지되는 효능 (retained potency) 의 구조적 및 기능적 기반

[0739] 클래스 III 항체에 대한 B.1.1.529 중화 및 회피의 기능적 기반을 평가하고 및 어떻게 강력한 중화가 유지될 수 있는가를 이해하기 위하여, A19-61.1, COV2-2130, S309 및 LY-CoV1404 (도 26A)를 포함하는 차별 있는 효능을 가진 클래스 III 항체 패널이 조사되었다. RBD에 있는 15 돌연변이 각각의 영향력의 평가는 G446S 아미노산 변경은 A19-61.1 활성의 완전한 손실의 결과가 되었다 것을 보였다; 이 항체의 B.1.1.529에 대한 완전한 가능 상 실과 일치한다. S309에 대하여, S373P 및 G496R 는 중화에 작은 변경의 결과가 관찰되었다. 놀랍게도, S309가 B.1.1.529에 대하여 중등 정도의 중화 활성을 유지하는 반면, S371L 아미노산 변경은 S309 중화를 없앤다는 것이 발견되었다. 이는 S371L 과 B.1.1.529의 다른 돌연변이의 조합은 스파이크에 구조적인 변경의 결과가 될 수 있어 S309 가 S371L 변경을 부분적으로 극복하게 한다는 것을 제시한다. COV2-2130의 평가는 중화에서 의미있는 차이가 동정 되지 않았으며, 전 바이러스에 대하여 관찰된 중화 효능의 감소에는 검사되지 않은 돌연변이 또는 아미노산 변경의 조합의 역할이 제시된다. 최종으로, 검사된 모든 VOCs에 대항한 LY-CoV1404의 전반적인 높은 효능과 일치하게, 이 기능에 영향을 주는 아미노산 변경은 동정되지 않았다.

[0740] 클래스 III 항체의 중화 및 바이러스 회피의 구조적 기반을 이해하기 위하여, WA-1 S2P의 cryo-EM 구조가 Fab A19-61.1 (및 Fab B1-182.1 국소 개선의 해상도를 돕기 위해) 와 복합으로 $2.83 \text{ \AA}$ 해상도에서 결정되었다 (도 26 B). 구조는 두 개의 RBD 는 항체가 결합된 상태에서는 둘 다 위(up) 구조이고, 및 세 번째 RBD는 A19-61가 결합했을 때만 아래 (down) 위치임을 보였으며, 이는 A19-61.1는 RBD를 위 및 아래 구조 둘 다를 인식할 수 있음을 제시한다 (도 26B). RBD-Fab A19-61부위의 국소 개선 (local refinement) 은 A19-61.1는 중쇄로부터의

18-잔기 길이 CDRH3, 및 경쇄로부터의 모든 CDRs에 의해 제공된 상호작용과 함께 클래스 III 에피톱을 타겟함을 보였다 (도 26B). A19-61.1구조의 B.1.1.529 스파이크 구조에의 도킹 (Docking) 은 B.1.1.529 돌연변이S446, R493 및 S496은 A19-61.1를 방해함을 제시한다. 측쇄 상호작용의 분석은 CDR H3에 있는 Y111은 RBD에 있는 S446와 심각한 충돌을 야기하여 루프 유연성 (도26C)에 의해 해결되지 않음이 동정되었으며, G446S-함유하는 SARS-CoV-2 변이체에 대항하는A19-61.1중화의 손실을 설명한다.

[0741] 중화 에세이는COV2-2130, S309 및LY-CoV1404는 B.1.1.529.에 대항하는 중화 효능을 유지함을 제시한다. CoV2-2130의 도킹은 CoV2-2130은 주로 CDR L1 및 L2에 의해 매개되는 상호작용 및 R493 및 S496과의 밀접한 접촉을 피하면서 A19-61.1의 그것과 매우 비슷한 에피톱을 타겟함을 제시하였다. 그러나, CDR L2에 Y50의 꼭대기에 있는 OH 그룹은 RBD에 있는 S446와 사소한 충돌을 야기하며, CoV2-2130에 의한 중화의 부분적인 보존의 기반을 설명한다 (도 26D). 항체 S309는 B.1.1.529에 대항하여 CoV2-2130보다 더 높은 효능을보였다. S309 및RBD의 도킹 복합체는 G339D 돌연변이는 에피톱의 안쪽에 위치해 있으며 및 CDR H3 Y100와 충돌한다는 것을 보였다, 그러나 S309 및RBD 사이의 공간은 대체 타이로신 로타머 (alternate tyrosine rotamer) 를 수용할 수 있다. S371L/S373P/S375F 돌연변이는 이들의 거주하는 루프의 구조를 변경하였고 및 N343에 있는 글리칸 (glycan)을 S309 쪽으로 밀수 있어 결합을 감소할 수 있다 (도 26E). LY-CoV1404는 B.1.1.529 돌연변이에 의해 영향을 받지 않았다. LY-CoV1404의 B.1.1.529 RBD에의 도킹은 이의에피톱의 가장자리에 위치해 있는4개의 아미노산 치환을 동정하였다. 세 개의 잔기, K440, R498 및Y501, 는 LY-CoV1404와 단지 제한적인 측쇄 상호작용만 만든다. 4번째 잔기, G446S, 는 CDR H2 R60와 잠재적인 충돌을 야기하는 것 같다. 그러나, LY-CoV1404-결합된 및비-결합된 RBD 둘의 비교는 S446 가 거주하는 루프는 구조적 유연성을 가져 LY-CoV1404 결합을 하게 한다는 것을 제시한다 (도 26F). 전반적으로, 클래스 III 항체에 대한 에피톱은 가장자리가 몇몇 B.1.1.529 변경에 접촉하면서 주로 돌연변이-없는 RBD 표면에 위치해 있다 (도 26G). LY-CoV1404는 루프 이동성 이용 및 측쇄 상호작용을 최소화하면서 이의 에피톱 가장자리에 있는 4개 모두의 B.1.1.529 변경을 수용하여 높은 효능을 유지하였다.

[0742] 실시예 29

[0743] B1-182-1 및 A19-46.1의 조합에 의한 상승적 중화

[0744] B1-182.1 및 A19-46.1 또는 A19-61.1와의 조합은 시험관 내 바이러스 회피 에세이에서 돌연변이적 회피를 경감하였다; 상승적 중화의 가능성을 제시한다. 그러므로 두 항체 단독의 중화를 넘어 B1.1.529 중화 증가를 초래하는 항체 조합이 있다는 가설이 있다. 이 가설의 테스트로서, 임상적으로 사용된 각테일 및 다양한 조합의 B1-182.1, A19-46.1, A19-61.1, LY-CoV1404, ADG2 및 S309로 B.1.1.529 위험 바이러스의 중화가 측정되었다. 평가된 10개의 조합 중 단지 COV2-2196/COV2-2130, B1-182.1/A19-46.1 및 B1-182.1/S309 만 개별 항체성분에 비하여 주목할만한 개선된 효능을 가지고 B.1.1.529를 중화하였다 (즉, IC₅₀ 50.8, 28.3 및 58.1 ng/mL). (도 27A, 27 B). 이들 각각은 VH-158 슈퍼사이트 항체를 사용하였으며 및 구성 성분 항체에 비해 5 내지 115-배 개선을 보였으며 (도 27B), 이는 B.1.1.529에 대한 특정한 조합에 대해 가산적인 것보다 더한 효과가 있다는 것을 제시한다.

[0745] B1-182.1 및 A19-46.1 각테일에 의한 개선된 중화의 구조적 기반을 이해하기 위하여, B1-182.1 및 A19-46.1의 Fabs 과 복합체로 있는 B.1.1.529 S2P 스파이크의 cryo-EM 구조가 3.86 Å 해상도에서 결정되었다 (Fig. 27C). 일반적인 3D 재구조는 이들 두 항체의 조합에 의해 인식되는 스파이크는 두 Fabs가 각 RBD에 결합하면서 3-RBD-위(up) 구조로 (RBD중 하나에 있는 Fabs는 더 아래로 있음) 있다는 것을 보였다. 스파이크는3-RBD-up WA-1 구조 (PDB ID: 7KMS) 에 상대적으로1.6 Å RMSD 을 가진다. 전반적으로, 구조는 클래스 I 및II 항체 둘 다는 동시에 같은 RBDfmf 인식할 수 있었고, 및 상기 서술된 S2P-A19-46.1 구조에서 관찰된 삼량체 당 두 개 Fabs에 비교하여 조합은 전반적인 화학당량을 증가시킨다는 것을 보였다. 검사된 모든 항체에서, 모든 VH1-58-유래된 항체는 B.1.1.529에 대항하여 타당한 수준의 중화를 유지하였고, 반면에 다른 항체 클래스의 멤버들은 활성의 완전한 손실을 겪었다. VH1-58 항체는 이들의 에피톱에 B.1.1.529 변화에 영향을 주는 최소 멤버를 가지며 및 이 영향을 경감하는 수단을 진화할 수 있다. 이론에 역매임이 없이, 첫 번째 항체의 결합은 스파이크를RBD-up-구조로 유도하고 및두 번째 RBD-up의 구조를 선호하는 항체의 결합을 촉진하였으며, 이로써 개별 항체에 비교하여 각테일의 중화 효능을 상승적으로 증가시킨다는 것이 가능하다.

[0746] SARS-CoV2 우려 변이체는 바이러스 스파이크, 인간 ACE2 수용체 및 인간 면역시스템 사이에 주요 숙주-병원균 상호작용의 동시-진화의 창를 제공한다. RBD는 생존자 및 백신받은 개체 둘 다에서 중화 항체의 주 타겟이다. B.1.1.529 변이체 스파이크에 있는 37 돌연변이 중 15개 RBD 내에 거주하므로, RBD 변이가 진화하는 기전을 이

해하고, 진화에 어떤 제약이 존재하는지 및 이 이해를 효과적인 항체 치료 및 백신을 개발하고 유지하는 것으로 사용하기 위하여 취할 수 있는 접근 방법이 있는지에 대한 큰 요구가 있다.

[0747] 일련의 기능적 또는 구조적 연구가 B.1.1.529가 숙주 면역력에 의해 중화되는지 또는 숙주 면역으로부터 회피를 매개하는지의 기전을 정의하기 위하여 사용되었다. 우리의 분석을 기능적으로 테두리 짓기 위하여, 항체를 이들의 ACE2 에의 결합 부위에의 결합 및 RBD의 위치에 기반하여, 반즈 분류(Barnes classification)가 사용되었다. 클래스 I VH1-58 슈퍼사이트에 대한 발견은 B.1.1.529는 항체를 묶고 및 이의효능을 감소하는게 개별적으로는 해롭지 않은 일련의 돌연변이를 필요로 한다는 것을 보였다. 이 데이터는 VH1-58 항체는 이 핀칭(pinching) 효과의 유해한 영향을CDRH2 잔기 100C의 크기를 감소시켜 B.1.1.529돌연변이로부터 충돌을 피하게하여 경감할 수 있다고 제시 한다.

[0748] 클래스 II 항체 A19-46.1 에서, 접근 각도 및 긴-CDR H3 조합은 이것이 RBD의돌연변이-없는 면을 타겟하게 하고 및 B.1.1.529 RBD의 가장자리에서 돌연변이 접촉을 최소화한다. A19-46.1 결합은 RBD-up 구조를 필요로 하고, A19-46.1 에피토프로부터 멀리 떨어져 위치하고 있고 및 RBD 힌지 (hinge) 에 가깝게 있는, S371L 치환은, 부분적으로 A19-46.1의 중화를 감소한다는 것이 관찰되었다. RBD-위(up) 및 RBD-아래(down) 구조를 인식하는, A19-46.1 및LY-CoV555 에 의한 중화에S371L의 효과를 비교했을 때 (도 25), L371 (및 잠재적으로 P373/F375) 는 B.1.1.529에서 RBD-up 및-down 구조를 조절하는데 결정적이라는 것이 제한되었다. 이 개념은 클래스I 항체 (B1-182.1와 같이)와의 조합은 A19-46.1 중화를 상승적으로 강화한다는 발견을 지지한다 (도 27A)

[0749] 클래스 III 항체에서는, 단지 하나의 원형 (prototype) 항체만 B.1.1.529 중화의 완전한 손실을 보였다. 구조적 및 기능적 접근 방법을 사용하여 바이러스 회피가 G446 S 아미노산 변경에 의해 매개 되었다는 것이 결정되었다. 이 결과는 강력한 클래스 III 항체는 RBD에 있는 잔기 446을 은폐 (mask)하는 구조-기반한 백신 디자인을 통해 유도될 수 있다는 것을 제시한다. 추가로, 상당한 에피토프의 겹침을 가진 G446S 민감한 및 저항성인 항체의 존재는 G446S 치환을 가진 스파이크의 사용은 혈청-기반한 맵핑 에세이에서 클래스 III 면역반응의 질을 평가하는데 활용될수 있음이 제안 되었다(Ko et al., *PLOS Pathog.* **17**, e1009431 (2021)l Corbett et al., *Science* (80-.). **374**, 1343-1353 (2021))

[0750] 공개되는 분석은 S309 및 COV2-2196은 비슷한 정도로 중화한다는 것을 입증한다. 다른 항체와는 달리, 매우 강력한 LY-CoV1404는 B.1.1.529에 대해 중화 효능을 잃지 않는다. COV2-2196/COV2-2130, B1-182.1/A19-46.1 및 B1-182.1/S309를 포함하는, B.1.1.529에 대항하여 중화를 가산적으로 증가하는 것보다 더한 항체 조합이 동정되었다. 각 쌍은 RBD를 위(up) 위에서 결합하는 VH1-58 슈퍼사이트 항체를 함유한다. 이론에 결속됨이 없이, 이들 VH1-58 항체들과 up-RBD 구조에서 중화를 더 잘하는 쌍을 이론 항체는 전자에 의해 좀 더 나은 중화 기전을 제공할 수 있다. RBD-위(up) 프로토머(protomer)에서 S371L/S373P/S375F 변화는 RBD-아래(down)프로토머(protomer)에 프로토머 내 상호작용을 형성하고 및 B.1.1.529 스파이크를 단일-RBD 구조로 안정화한다. S371L 치환에 의해 영향을 받지 않는, VH1-58-유래한 B1-182.1 와 같은 RBD-up-선호하는 항체는, 상호작용을 효과적으로 깨뜨릴 수 있어 3-RBD-up 구조를 유도하고 및 그러므로 RBD-up 구조를 요구하는 다른 항체 (A19-46.1와 같은) 의 결합을 강화한다. 상호협동적으로 기능 하는 SARS-CoV-2단일클론 항체의 동정은 효능을 강화 및 회피의 위험성을 경감 둘 다를 하기 위하여 조합을 사용하는 개념을 지지한다.

[0751] 도 28은 추가의 중화 데이터를 보여준다.

[0752] 실시 예시 30

[0753] 추가의 항체

[0754] 항체 B1-182.1 및 A23-58.1은 SARS-CoV-2 변이체에 대항하여 넓은 중화 활성을 가진 강력한 항체이었다. B1-182.1 및 A23-58.1은 매우 유사한 서열을 가졌지만 중화 활성에서, B1-182.1가 A23-58.1에 비교하여 일반적으로 더 나은 중화 활성을 가지면서, 약간 차이를 가졌다. 그러나, 두 항체의 일시적 형질 감염 후에, A23-58.1이 더 높은 수율 (즉, 총 양) 및 농도의 더 높은 능력 (도 29A)을 가진 것이 주목되었다. 추가로, 항체 정제 동안에, B1-182.1은 대량으로 침전하고(도 29A), 반면에 A23-58.1은 침전하지 않는다. B1.182.1의 수율을 개선하고, B1.182.1가 농축되는 능력을 향상하고 및 B1-182.1 침전의 문제를 경감하기 위하여, A23-58.1의 특성이 B1-182.1의 변이인 항체를 디자인하도록 하였다. B1-182.1 변이인 항체는 SARS-CoV-2 변이체에 대항하여 모체 B1-182.1 항체에 비해 효능을 유지하거나 또는개선된 것으로 동정 되었다.

[0755] 이 변경이 중쇄, 경쇄 또는 둘 다에 초점을 두어야 하는지를 결정하기 위하여, 두 개의 변이체 항체가 디자인되었다: (1) B1-182.1의 CDRH3 부위가 A23-58.1로부터의 CDRH3 부위로 대체된 B1-182.1 (B1-182.1_58.1CDRH3

heavy/B1-182.1 light); (2) B1-182.1 중쇄와 B1-182.1 경쇄가 G50S, F58I, Y87F, N93T 및 R107K (Kabat 숫자 세기) 변경을 가진 (B1-182 heavy /B1-182.1 light_5Mut). 이들 서열은 아래에 보여준다:

표 18

이름	B1-182.1_58.1CDRH3 heavy/B1-182.1 light
중쇄	QMQLVQSGPEVKKPGTSLVKVSCASGFTFTSSAVQWVRQARGQRLEWIGWIVVSGSNTNYAQK FQERVTTIRDMSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAPNCSNVVCYDGFDIWGQGTMTVTVSS (서열 번호 143)
경쇄	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGFPDRFSGS GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGNSPWTFGQGTKVEIR (SEQ ID NO: 5)
변이체 이름	B1-182.1 heavy /B1-182.1 light_5Mut
중쇄	QMQLVQSGPEVKKPGTSLVKVSCASGFTFTSSAVQWVRQARGQRLEWIGWIVVSGSNTNYAQK FQERVTTIRDMSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAPYCSGGSCFDGFDIWGQGTMTVTVSS (서열 번호 NO: 1)
중쇄	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYSSASSRATGIPDRFSGSG SGTDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQYGTSPWTFGQGTKVEIK (서열 번호 144)

[0756]

[0757]

B1-182.1_58 CDRH3 heavy/B1-182.1 light는 개선된 수율, 농축 능력을 갖췄고, 및 침전하지 않았으며, 반면에 B1-182 heavy /B1-182.1 light_5Mut는 이들 특징을 가지지 않았다 (도 29B). 더욱이, B1-182.1_58 CDRH3 heavy/B1-182.1 light가 선택된 세트의 SARS-CoV-2 변이체를 중화하는 능력이 검사되었으며 및 B1-182.1_58CDRH3 heavy/B1-182.1 light는 B1-182.1과 유사한 중화 능력 및 범위를 가진 것이 보였다 (도 29C).

[0758]

실시예 31

[0759]

생체 내 약동역학 성질

[0760]

SARS-CoV-2 단일클론 항체, A23-58.1, B1-182.1, A19-61.1, A19-46.1 및 B1-182.1_58.1CDRH3 heavy/B1-182.1 light 가 인간 FcRn 형질 전환 생쥐에서 생체 내 약동역학 성질에 대해 평가되었다 (Avery et al., Mabs 8(6): 1064-78, 2016, doi: 10.1080/19420862.2016.1193660 참조). 각 항체는 5 mg/kg 용량으로 4-5 동물에 주입되었으며 및 혈청 샘플이 주사 후 0, 1, 2, 5, 7, 9, 14, 21 및 28일, 및 매주 마다 8주 동안 수집되었다. 혈청 mAb 수준이 SARS-CoV-2 S2P 단백질로 코팅된 ELISA 플레이트를 사용하여 정량되었다. 도 30은 각 항체 그룹에서 혈청 수준을 보여준다, 수준이 대부분의 동물에서 주입 후 56일까지 1 µg/mL이상으로 유지되었고, 56일째에 A23-58.1 및 A19-61.1에서와 비교하여 B1-182.1_58.1CDRH3 heavy/B1-182.1 light, A19-46.1 및 B1-182.1에서 약간 더 높은 수준이 관찰되었다.

[0761]

각 항체에 대한 생체 내 반감기는 윈논린 소프트웨어 패키지 (WinNonLin software package)에서 비-분획 화 모델 (non-compartment model)을 사용하여 계산되었으며 및 아래 표에 나타낸다. 평균 반감기는 A23-58.1, B1-182.1, A19-61.1, A19-46.1 및 B1-182.1_58.1CDRH3 heavy/B1-182.1 light 항체에 대하여 각각 13.1, 16.3, 13.5, 17.2 및 14.1일 것으로 계산되었다. 다른 항체들 사이에서 반감기의 유의성 있는 차이는 없었으며, 이는 이들 모두는 이 생쥐 모델에서 비교될만한 생체 내 약동역학 프로파일을 가지고 있음을 제시한다.

[0762]

인간 FcRn 형질전환 생쥐에서 SARS-CoV-2 항체의 생체 내 반감기

卣 19

항체	반감기 일 (SEM)
A23-58.1	13.1 (1.0)
B1-182.1	16.3 (1.1)
A19-61.1	13.5 (0.7)
A19-46.1	17.2 (1.0)
B1-182.1_58.1CDRH3 heavy/B1-182.1 light	14.1 (1.3)

[0763]

[0764]

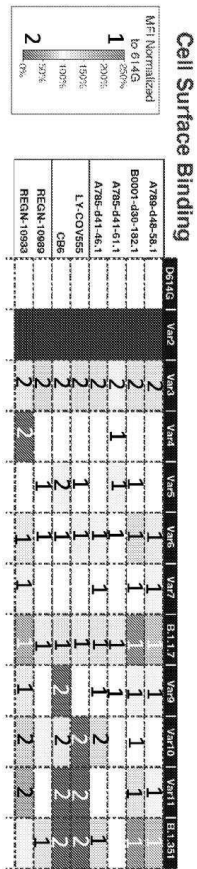
우리의 발명이 적용될 수 있는 많은 가능한 실시 예의 관점에서, 보여준 실시 예들은 단지 본 발명의 예시일뿐이며 및 본 발명의 범위를 제한하려는 것은 아니라는 것이 인식되어야 한다. 오히려, 본 발명의 범위는 하기의 청구항에서 정의된다. 그러므로 우리는 우리의 발명 모두는 이 청구항의 범위 및 정신 내에 있다는 것을 청구한다.

도면

도면 1a

[illegible]

도면1b



도면1c

Neutralization														
IC 50 (µg/mL)														
A23-84.1 B-1933 A18-41.1 A18-46.1 LY-COV555 CB6 REGN-10989 REGN-10933 REGN-10937	Within 1	D614G	Var2	Var3	Var4	Var5	Var6	Var7	B.1.1.7	Var8	B.1.1.9.5	B.1.1.7.3.1	B.1.351	
	0.0025	0.0019	0.0020	0.0031	0.0011	<0.006	0.0017	0.0009	<0.006	0.0102	0.0086	0.0130		
	0.0028	0.0028	0.0030	0.0037	0.0019	<0.006	0.0017	0.0099	<0.006	0.0102	0.0086	0.0130		
	0.0079	0.0128	0.0111	0.0237	0.0160	0.0223	0.0116	0.0123	0.0115	0.0105	0.0111	0.0090		
	0.0388	0.0033	0.0148	0.0257	0.0277	0.0166	0.0271	0.0115	0.0060	0.0618	0.1265			
	0.0071	0.0034	0.0036	0.0093	0.0159	0.0080	0.0032	0.0125	0.0041	>10	>10			
	0.0262	0.0310	0.0172	0.0079	0.0383	0.3432	0.0163	0.0628	0.0401	0.0619	>10			
	0.0043	0.0033	0.0027	0.0067	0.0036	<0.006	0.0021	0.0013	0.0001	>10	>10	>10		
	0.0077	0.0052	0.0057	0.0059	>10	0.0074	0.0043	0.0097	0.0099	0.0022	>10			
	IC 80 (µg/mL)													
Within 1	D614G	Var2	Var3	Var4	Var5	Var6	Var7	B.1.1.7	Var8	Var9	Var10	Var11	B.1.351	
A23-84.1	0.0107	0.0049	0.0039	0.0062	0.0079	0.0045	0.0053	0.0046	0.0059	0.0058	0.0059	0.0250	0.0163	0.1196
B-1933	0.0036	0.0036	0.0038	0.0042	0.0035	<0.006	0.0022	0.0038	0.0038	0.0038	0.0038	0.0038	0.0038	0.1196
A18-41.1	0.1633	0.0261	0.0196	0.0418	0.1332	0.1243	0.0292	0.0258	0.0084	0.0186	0.0265	0.0242	0.0131	0.9036
A18-46.1	0.1297	0.0435	0.0476	0.0636	0.0742	0.0628	0.0603	0.0528	0.0250	0.0159	0.0159	>10	>10	>10
LY-COV555	0.0387	0.0105	0.0146	0.0299	0.0495	0.0222	0.0121	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	>10	>10	>10
CB6	0.1159	0.0831	0.0631	0.0262	0.1602	0.3721	0.0087	0.2600	1.5123	>10	>10	>10	>10	>10
REGN-10989	0.0067	0.0056	0.0060	0.0110	0.0062	0.0033	0.0032	0.0026	0.0006	>10	>10	>10	>10	>10
REGN-10933	0.0211	0.0157	0.0129	0.0196	>10	0.0204	0.0150	0.0243	0.0233	0.7863	>10	>10	>10	>10
REGN-10937									0.2321					0.6448

도면 1d

Control mAbs		Experimental mAbs				Binding SARS-CoV-2 ELISA				Binding by ELISA	
						Name	Target	S-2P	S1	RBD	NTD
		SARS2-A23-d48-50.1	RBD	+	+	+	-	++++	-		
		SARS2-B1-d30-182.1	RBD	+	+	+	-	++++	-		
		SARS2-A19-d41-61.1	RBD	+	+	+	-	++++	-		
		SARS2-A19-d41-46.1	RBD	+	+	+	+	++++	-		
		SARS2-A23-d48-105.1	RBD	+	+	+	-	++++	-		
		SARS2-A19-d41-1.1	RBD	+	+	+	-	++++	-		
		SARS2-A20-d50-29.1	RBD	+	+	+	+	++++	+		
		SARS2-A20-d50-36.1	SD2	+	+	+	-	++++	++		
		SARS2-A20-d59-9.1	SD2	+	+	+	-	++++	-		
		SARS2-A19-d41-30.1	RBD	+	+	+	-	++++	-		
		SARS2-A23-d48-97.1	RBD	+	+	+	-	++++	++++		
		SARS2-A23-d48-113.1	RBD	+	+	+	-	++++	++++		
		SARS2-A23-d48-80.1	RBD	+	+	+	-	++++	-		
		SARS2-A19-d41-82.1	RBD	+	+	+	-	++++	++		
	LY-CoV555		RBD								
	LY-CoV016		RBD								
	REGN-10989		RBD								
	REGN-10933		RBD								
	REGN-10987										

도면 1e

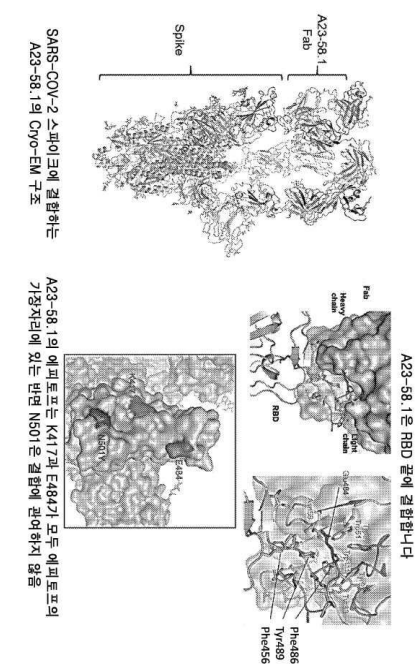
[illegible]

도면2

		Analyte							
		ACE 2	Ly55 5	A23- 58	P2B- 2F6	A19- 46	A19- 61	A23- 80	A23- 113
Competitor	ACE 2	1	1	1	1	1	1	3	3
	Ly55 5	1	1	1	1	1	1	1	3
	A23- 58	1	1	1	1	3	3	3	3
	P2B- 2F6	3	3	2	1	2	3	3	3
	A19- 46	1	1	3	1	1	1	1	1
	A19- 61	1	1	3	1	1	1	3	3
	A23- 80	3	2	3	1	1	3	1	1
mAb 114	3	3	3	3	3	3	3	3	

% Competition		
1	2	3
>75%	60-75%	<60%

도면3

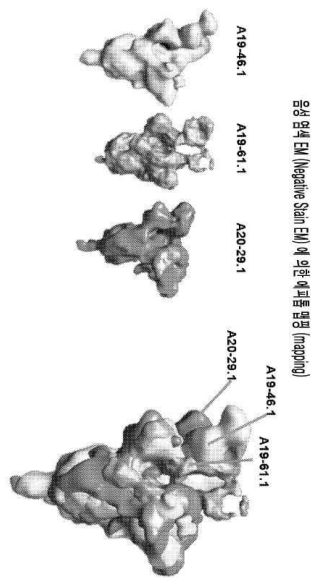


도면4a

		Analyte						
		ACE2	Ly555	A23-58	A19-46	A19-61	A23-113	S309
Competitor	ACE2	1	1	1	1	1	3	3
	Ly555	1	1	1	1	1	3	3
	A23-58	1	1	1	3	3	3	3
	A19-46	1	1	3	1	1	1	3
	A19-61	1	1	3	1	1	3	1
	A23-113	3	3	3	1	3	1	1
	S309	3	3	3	3	1	2	1
		mAb14	3	3	3	3	3	3

% Competition		
1	2	3
>75%	60-75%	<60%

도면4b

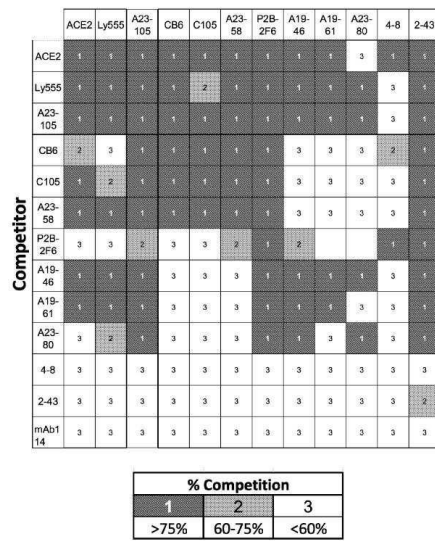


도면5

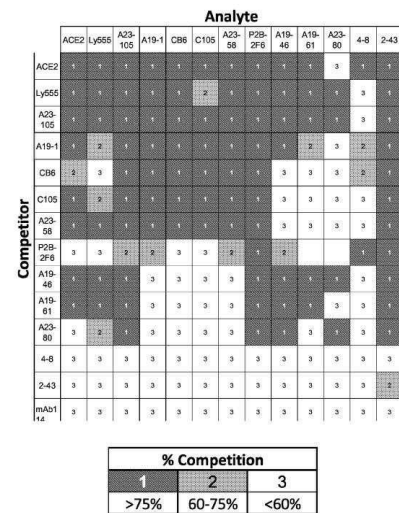
	Analyte										
	ACE2	Ly555	CB6	P2B-2F6	A19-46	A19-61	S652-109	A23-113	A23-80	2-43	
Competitor	ACE2	1	1	1	1	1	3	3	3	1	
	Ly555	1	1	1	1	1	3	3		1	1
	CB6	2	3	1	3	3	2	3	3	1	
	P2B-2F6	3	3	3	1	2	3	3	3	1	
	A19-46	1	1	3	1	1	1	1	1	1	
	A19-61	1	1	3	1	1	1	3	3	1	
	S652-109	3	3	2	3	2	3	2	2	2	2
	A23-113	3	3	3	3	1	3	1	1	1	3
	A23-80	3	2	3	1	1	3	1	1	1	1
	2-43	3	3	3	3	3	3	3	3	2	
	mAb14	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

% Competition		
1	2	3
>75%	60-75%	<60%

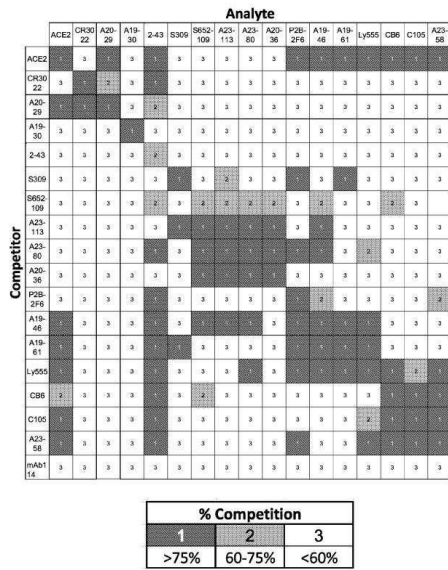
도면6



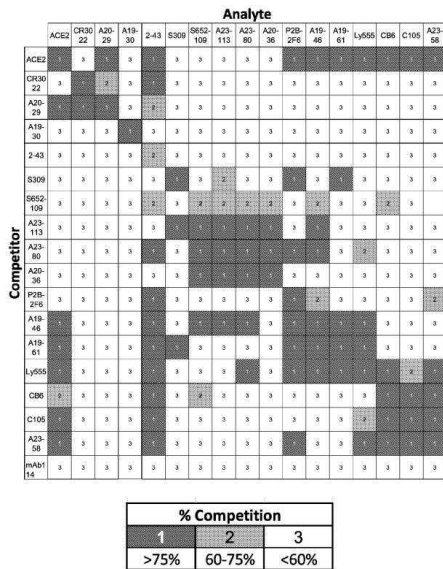
도면7



도면8



도면9



도면10

		Analyte										
		ACE2	S652-109	A23-113.1	A23-80.1	A20-36.1	A20-9.1	P2B-2F6	A19-46.1	S309	4-8	2-43
Competitor	ACE2	1	3	3	3	3	3	1	1	3	1	1
	S652-109	3	2	2	2	2	2	3	2	3	2	2
	A23-113.1	3	1	1	1	1	1	3	1	1	3	3
	A23-80.1	3	1	1	1	1	1	1	1	3	3	1
	A20-36.1	3	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3
	A20-9.1	3	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3
	P2B-2F6	3	3	3	3	3	1	1	2	3	1	1
	A19-46.1	1	1	1	1	3	3	1	1	3	3	1
	S309	3	3	2	3	3	3	1	3	1	3	3
	4-8	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
2-43	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	
mAb14	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	

% Competition		
1	2	3
>75%	60-75%	<60%

도면11

		Analyte														
		ACE2	4-8	2-43	A19-30	S309	S652-109	A23-113	A23-97	A23-82	A20-36	P2B-2F8	A19-46	Ly555	CB6	
Competitor	ACE2	1	1	1	3	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1	
	4-8	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	2-43	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	A19-30	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	S309	3	3	3	3	1	3	2	2	1	3	3	1	3	3	
	S652-109	3	2	2	3	3	2	2	3	3	2	2	3	2	3	
	A23-113	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	3	1	3	3	
	A23-97	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	3	1	3	
	A23-82	3	2	3	3	1	1	1	1	1	1	1	3	1	3	
	A23-80	3	3	1	3	3	1	1	1	1	1	1	1	2	3	
	A20-36	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	3	3	3	
	A20-9	3	3	3	3	3	1	1	1	2	1	1	3	3	3	
	P2B-2F8	3	1	1	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	
	A19-46	1	3	1	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	3	
	Ly555	1	3	1	3	3	3	3	3	3	1	3	1	1	1	
	CB6	2	2	1	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	1	
mAb14	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3		

% Competition		
1	2	3
>75%	60-75%	<60%

도면12

		Analyte														
		ACE2	4-8	2-43	A19-30	S309	S652-109	A23-113	A23-97	A23-82	A23-80	A20-36	P2B-2F6	A19-46	Ly555	CB6
Competitor	ACE2	1	1	1	3	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1
	4-8	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	2-43	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	A19-30	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	S309	3	3	3	3	1	3	2	2	1	3	3	1	3	3	3
	S652-109	3	2	2	3	3	2	2	3	3	2	2	3	2	3	2
	A23-113	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	3	1	3	3
	A23-97	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	3	1	3	3
	A23-82	3	2	3	3	1	1	1	1	1	1	1	3	1	3	3
	A23-80	3	3	1	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	2	3
	A20-36	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	3	3	3	3
	A20-9	3	3	3	3	3	1	1	1	2	1	1	3	3	3	3
	P2B-2F6	3	1	1	3	3	3	3	3	3	3	3	1	2	3	3
	A19-46	1	3	1	3	3	1	1	1	1	1	3	1	1	1	3
	Ly555	1	3	1	3	3	3	3	3	3	3	1	3	1	1	1
CB6	2	2	1	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	1	
mAb14	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	

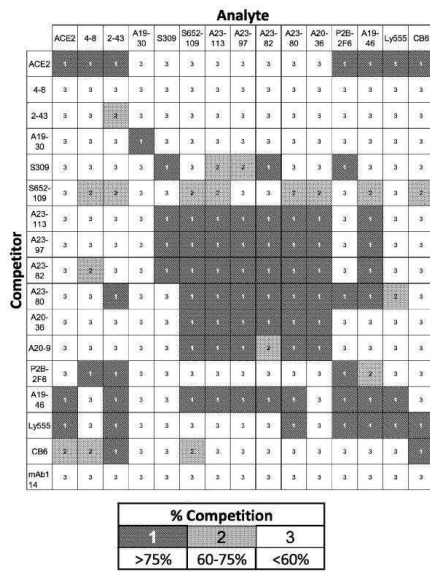
% Competition		
1	2	3
>75%	60-75%	<60%

도면13

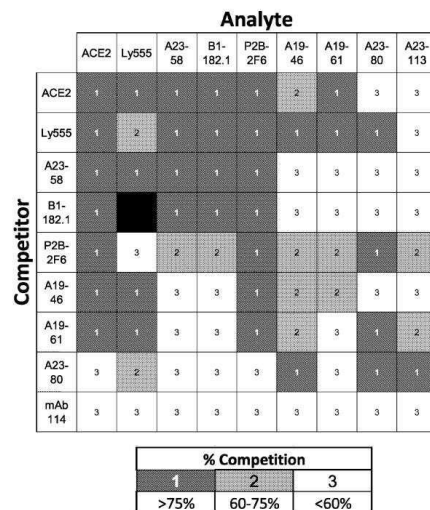
Analyte																
	ACE2	4-8	2-43	A19-30	S309	S652-109	A23-113	A23-97	A23-82	A23-80	A20-36	P2B-2F6	A19-46	Ly555	CB6	
Competitor	ACE2	1	1	1	3	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1	
	4-8	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	2-43	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	A19-30	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	S309	3	3	3	3	1	3	2	2	1	3	3	1	3	3	
	S652-109	3	2	2	3	3	2	2	3	3	2	2	3	2	3	
	A23-113	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	3	1	3	3	
	A23-97	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	3	1	3	3	
	A23-82	3	2	3	3	1	1	1	1	1	1	3	1	3	3	
	A23-80	3	3	1	3	3	1	1	1	1	1	1	1	2	3	
	A20-36	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	3	3	3	3	
	A20-9	3	3	3	3	3	1	1	1	2	1	1	3	3	3	
	P2B-2F6	3	1	1	3	3	3	3	3	3	3	1	2	3	3	
	A19-46	1	3	1	3	3	1	1	1	1	1	3	1	1	3	
	Ly555	1	3	1	3	3	3	3	3	3	3	1	3	1	1	
	CB6	2	2	1	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	
	mAb14	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	

% Competition		
1	2	3
>75%	60-75%	<60%

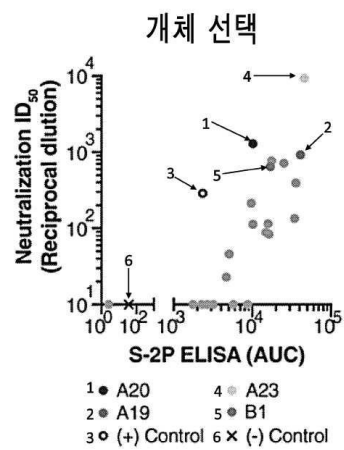
도면14



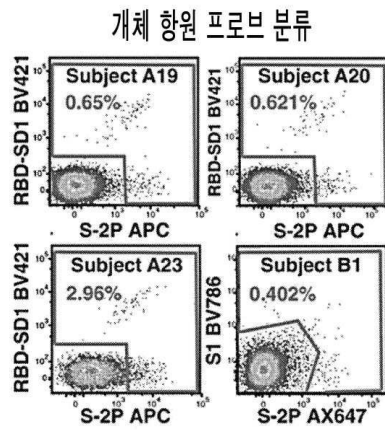
도면15



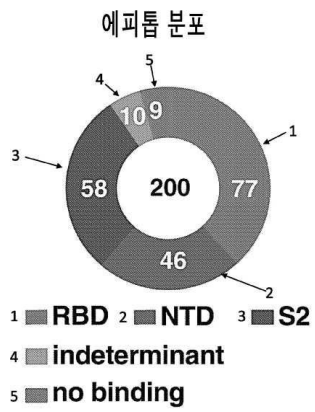
도면16a



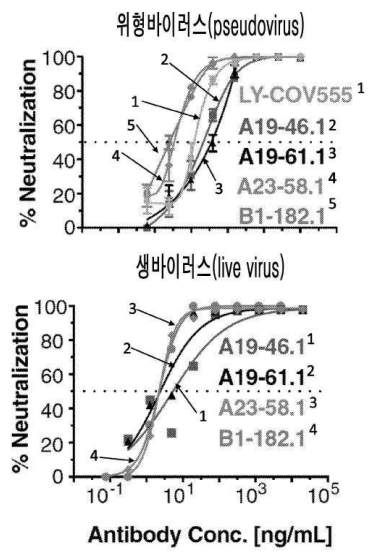
도면16b



도면16c



도면16d



도면16e

mAb	Target	Pseudovirus Neut.	Live Virus Neut.	S-2P binding kinetics
A19-46.1	RBD	39.8	4.8	3.58
A19-61.1	RBD	70.9	2.2	3.79 e5
A23-58.1	RBD	2.5	2.1	3.01 e5
B1-182.1	RBD	3.4	2.4	7.13 e5
				8.65 e5
				2.21 e-3

도면16f

Antibody competition

		Analyte					
		S309	A19-61.1	A19-46.1	LY-CoV 555	A23-58.1	B1-182.1
Competitor	S309	1	3	3	3	3	3
	A19-61.1	1	1	1	1	3	3
	A19-46.1	3	1	1	1	3	3
	LY-CoV 555	3	1	1	1	1	1
	A23-58.1	3	3	3	1	1	1
	B1-182.1	3	3	3	1	1	1
	neg. cont.	3	3	3	3	3	3

% Competition

1 >75% 2 60-75% 3 < 60%

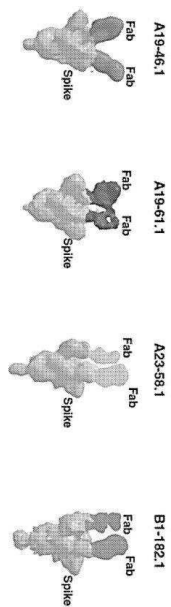
도면16g

ACE2 competition

	Octet Comp.	Spike:mAb Cellular ACE2 Blockade EC50 (ng/mL)
A19- 61.1	1	171
A19- 46.1	1	212
A23- 58.1	1	81
B1- 182.1	1	122
neg cont.	2	>10,000

% Competition
☒ >75% ☐ < 60%

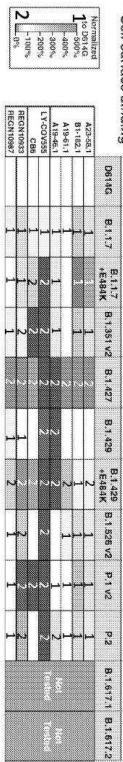
도면16h



도면17a

Domain1	MultiRegion	D914G	B.1.1.7	B.1.1.7 +E648K	B.1.1.7 B.1.351 v2	B.1.427	B.1.429	B.1.429 +E648K	B.1.429 B.1.528 v2	P.1 v2	P.2	B.1.617.1	B.1.617.2
NTD	T3953/14250-150-2576385												
	L1897250A/G150A/L213/348												
	L1897250A/G150A/L213/348												
	L1897250A/G150A/L213/348												
HBD	MultiRegion												
	L1897250A/G150A/L213/348												
	L1897250A/G150A/L213/348												
	L1897250A/G150A/L213/348												
H1-Codon	MultiRegion												
	L1897250A/G150A/L213/348												
	L1897250A/G150A/L213/348												
	L1897250A/G150A/L213/348												
H2	MultiRegion												
	L1897250A/G150A/L213/348												
	L1897250A/G150A/L213/348												
	L1897250A/G150A/L213/348												

도면17b

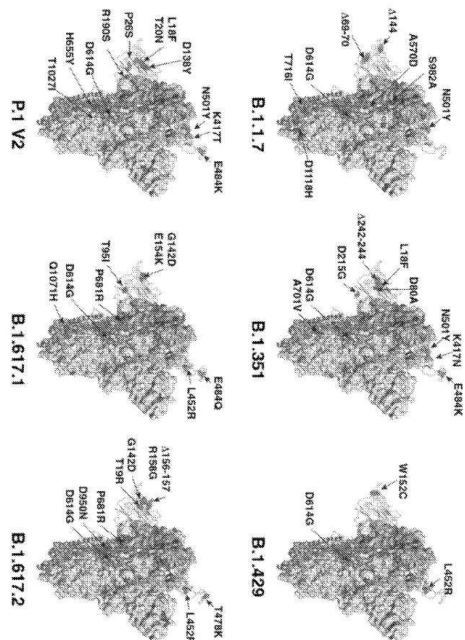


도면17c

[illegible]

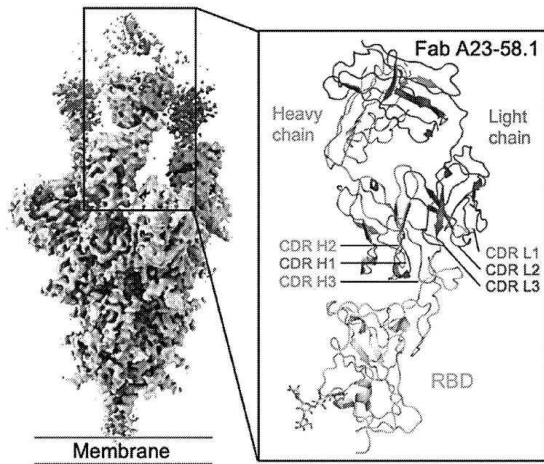
도면 17d

스파이크단백질에서의 VOC 돌연변이 매핑(mapping)



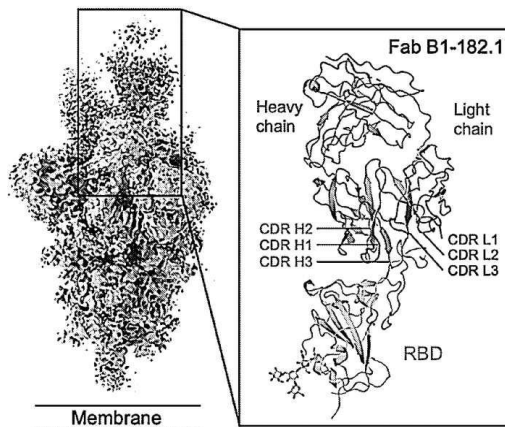
도면18a

A23-58.1과의 복합체에서 Cryo-EM의 스파이크 구조



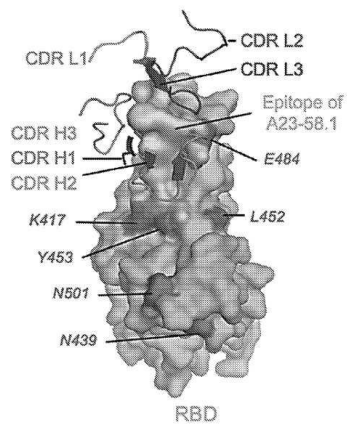
도면18b

B1-182.1과의 복합체에서 Cryo-EM의 스파이크 구조

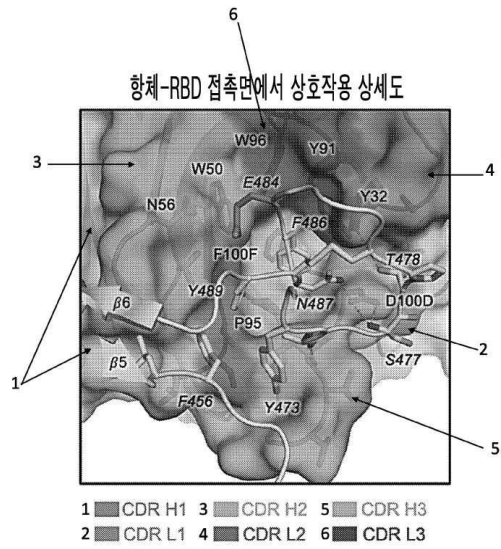


도면18c

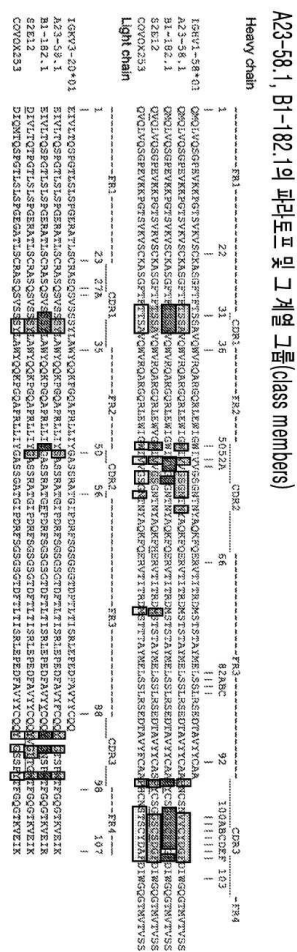
A23-58.1 및 RBD 사이의 상호작용



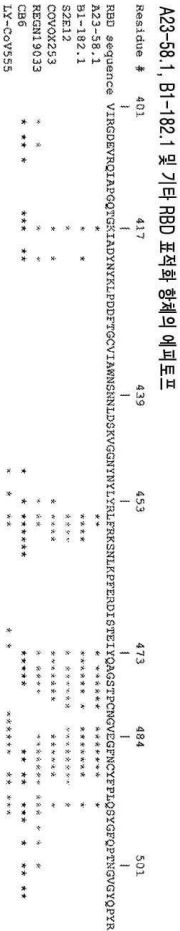
도면18d



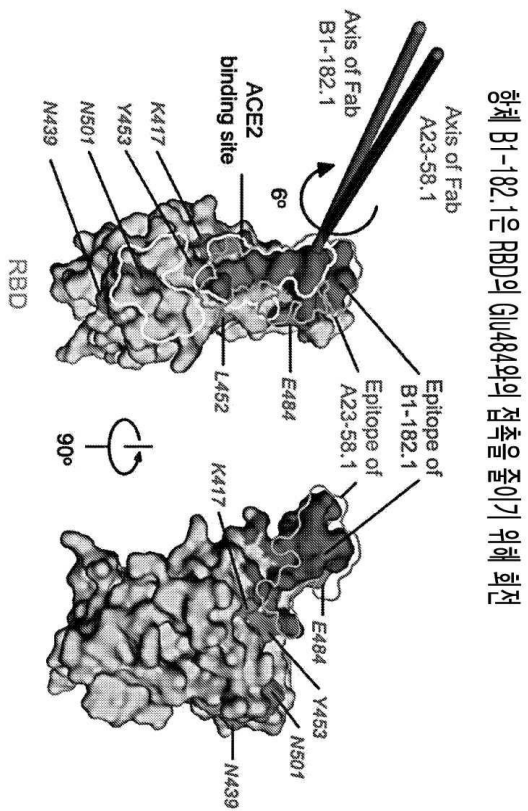
도면18e



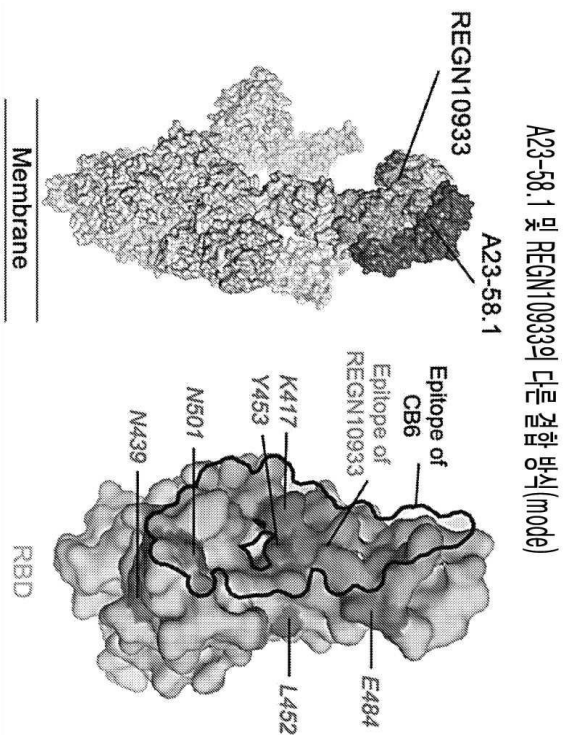
도면19a



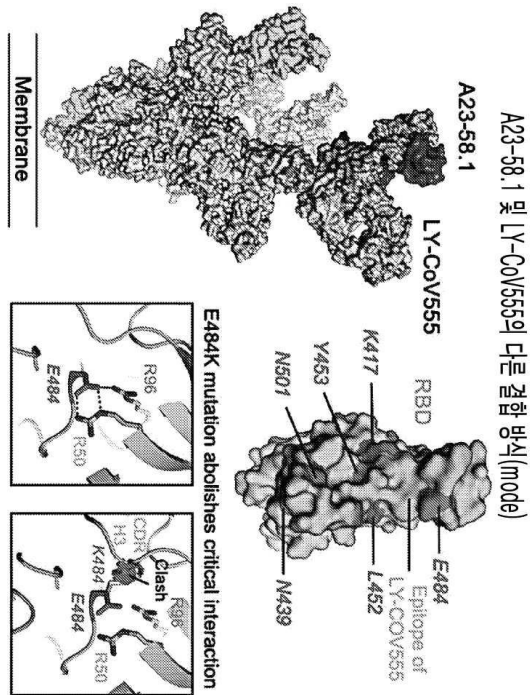
도면19b



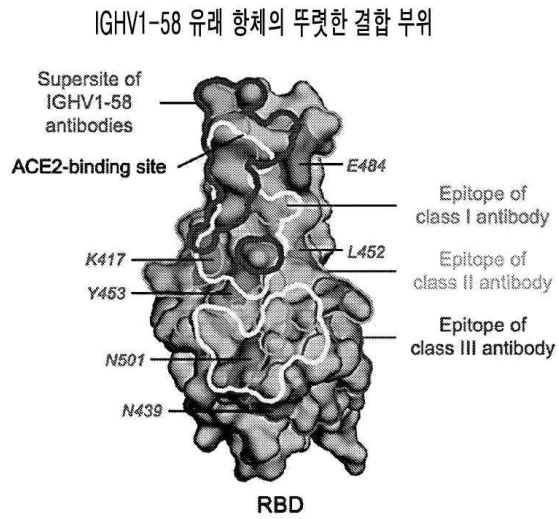
도면19c



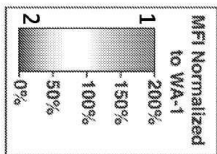
도면19d



도면19e



도면 20a

[illegible]

도면20b

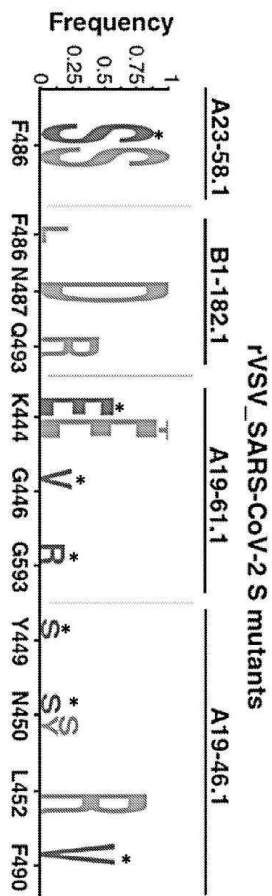
항체 중화에 대한 돌연변이의 영향

IC 80 (ng/mL)				IC 50 (ng/mL)			
A23-98.1	8.9	58.3	28.6	50.9	T4781	F486R	N487R
B1-182.1	7.8	25.6	26.1	42.0	> 10,000	> 10,000	> 10,000
LY-COV555	29.6	153.0	38.4	49.7	> 10,000	> 10,000	> 10,000
CB6	118.7	> 10,000	> 10,000	97.4	2268.5	> 10,000	> 10,000
REGN10933	32.4	55.4	1307.4	26.6	> 10,000	> 10,000	> 10,000
REGN10987	160.9	43.8	129.6	580.0	160.2	24.9	1171.9

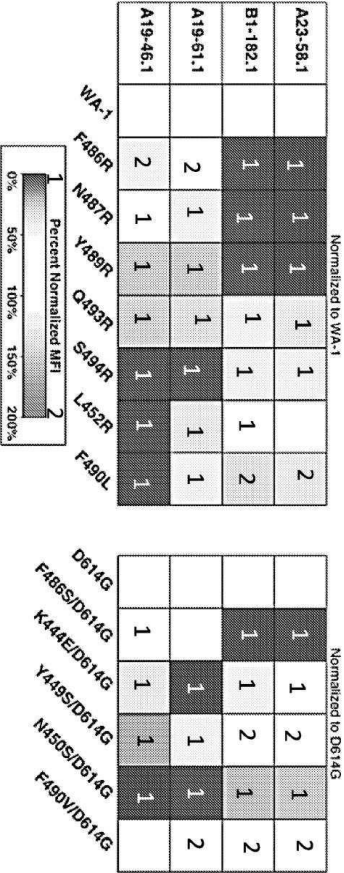
WA-1	F456R	A475R	T4781	F486R	N487R	L452R	F490L	S494R	D614/
A23-98.1	3.5	22.0	8.6	13.6	> 10,000	> 10,000	3.2	8.1	4.2
B1-182.1	1.5	7.2	8.0	8.1	> 10,000	> 10,000	1.6	2.7	2.0
LY-COV555	12.1	29.8	17.6	18.8	1181.0	6.3	> 10,000	> 10,000	> 10,000
CB6	28.6	> 10,000	> 10,000	21.3	488.2	> 10,000	17.5	117.4	86.4
REGN10933	6.1	23.1	341.5	7.4	> 10,000	> 10,000	6.8	28.9	6.0
REGN10987	42.7	23.9	23.1	60.9	18.8	3.5	215.4	57.7	227.0

WA-1	F456R	A475R	T4781	F486R	N487R	L452R	F490L	S494R	D614/
A23-98.1	8.9	58.3	28.6	50.9	> 10,000	> 10,000	7.0	15.3	17.1
B1-182.1	7.8	25.6	26.1	42.0	> 10,000	> 10,000	6.1	4.9	8.9
LY-COV555	29.6	153.0	38.4	49.7	> 10,000	> 10,000	107.4	> 10,000	> 10,000
CB6	118.7	> 10,000	> 10,000	97.4	2268.5	> 10,000	233.7	335.6	73.3
REGN10933	32.4	55.4	1307.4	26.6	> 10,000	> 10,000	22.5	60.9	23.5
REGN10987	160.9	43.8	129.6	580.0	160.2	24.9	1171.9	693.9	2308.5

도면21a



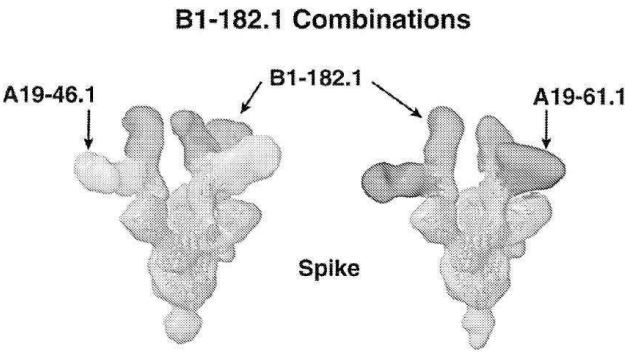
도면21b



도면21c

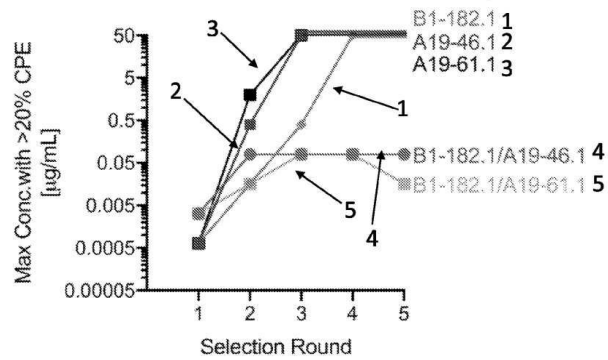
Neutralization											
IC50 (ng/mL)	WA-1	F456R	A475R	T478I	F486R	N487R	L452R	F490L	S494R		
	35.6	18.4	14.0	63.6	77.6	9.5	22.0	26.7	> 10,000		
	A19-61.1	21.3	43.8	14.3	60.1	27.9	11.5	> 10,000	> 10,000		
IC80 (ng/mL)	WA-1	F456R	A475R	T478I	F486R	N487R	L452R	F490L	S494R		
	115.2	104.1	94.5	190.5	208.7	33.5	36.8	52.7	> 10,000		
	A19-61.1	82.1	78.1	71.4	209.2	192.8	25.8	> 10,000	> 10,000		
IC50 (ng/mL)	D614G	F486S	K444E	Y449S	N450S	F490V	G593R				
	/D614G	/D614G	/D614G	/D614G	/D614G	/D614G	/D614G				
	2.4	> 10,000	2.8	3.9	1.4	2.8	4.1				
IC80 (ng/mL)	D614G	F486S	K444E	Y449S	N450S	F490V	G593R				
	/D614G	/D614G	/D614G	/D614G	/D614G	/D614G	/D614G				
	3.1	> 10,000	3.0	2.6	2.2	2.6	8.8				
IC50 (ng/mL)	B1-182.1	17.8	28.3	> 10,000	30.0	> 10,000	35.3	16.2			
	A19-61.1	23.5	31.3	93.8	1768.1	> 10,000	57.9	10.7			
	A19-46.1										
IC80 (ng/mL)	D614G	F486S	K444E	Y449S	N450S	F490V	G593R				
	/D614G	/D614G	/D614G	/D614G	/D614G	/D614G	/D614G				
	5.6	> 10,000	7.1	7.9	5.9	8.3	36.5				
IC50 (ng/mL)	A23-58.1	6.7	> 10,000	6.2	6.4	5.2	6.6	29.5			
	B1-182.1	27.1	82.9	> 10,000	99.2	> 10,000	65.1	197.2			
	A19-61.1	62.9	108.6	387.9	> 10,000	> 10,000	93.1	54.0			

도면21d



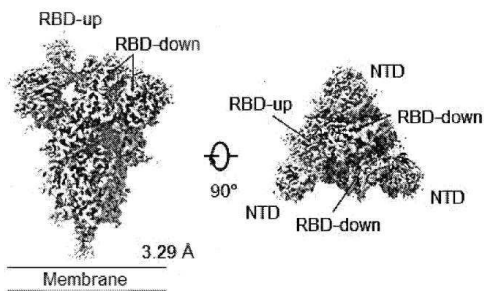
도면21e

시험관내 저항 획득 속도(Rate of in vitro resistance acquisition)



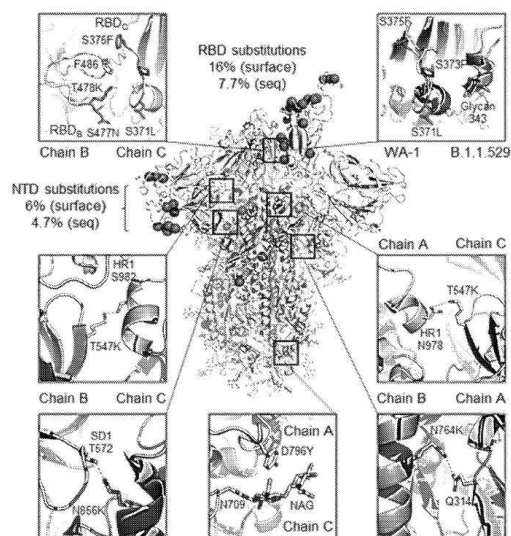
도면 22a

B.1.1.529 스파이크의 Cryo-EM 재구성

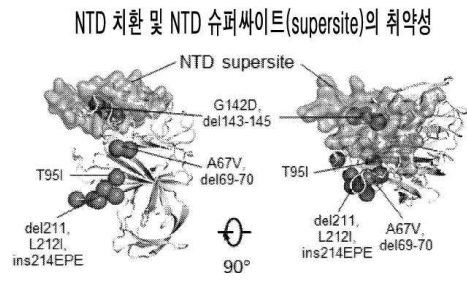


도면22b

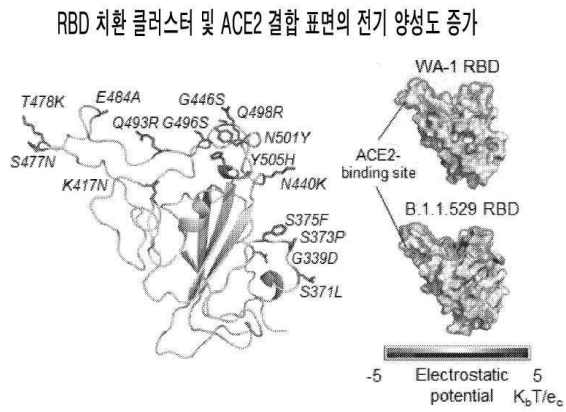
B.1.1.529 치환은 새로운 사슬 간 상호작용을 도입함



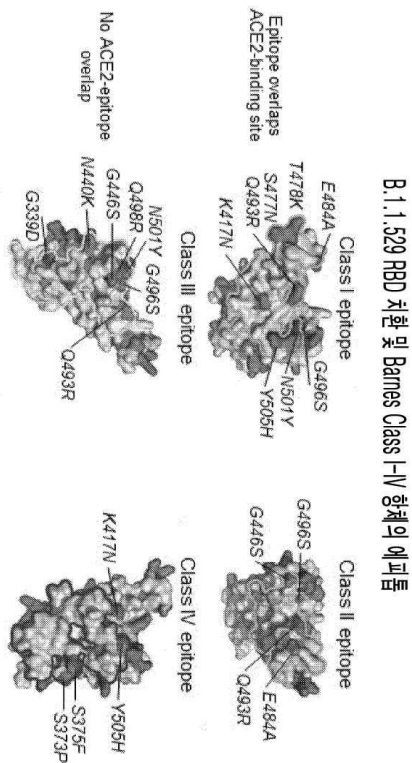
도면22c



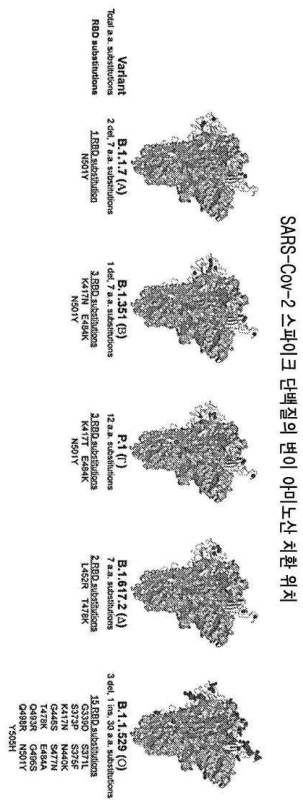
도면22d



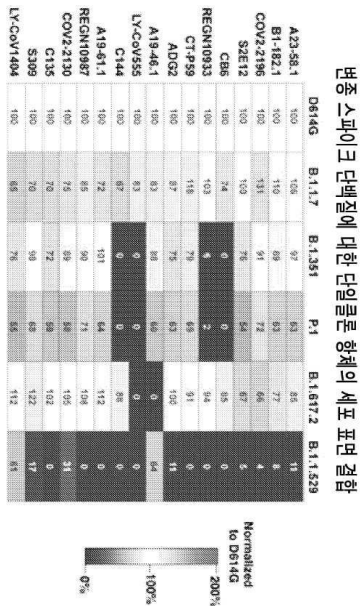
도면22e



도면23a



도면 23b



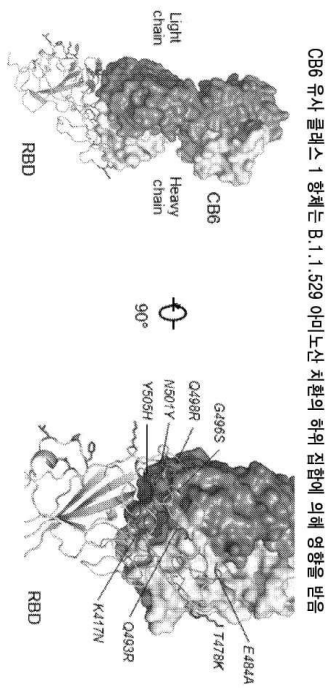
도면23c

단일항체의 위험화된 바이러스 중화(ng/ml)													
	Class	B1.1.6.5		B.1.1.7		B.1.351		P.1		B.1.617.2		B.1.1.529	
		IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀
A23-SB.1	I	1.3	4.5	2.1	4.7	4.7	33.6	1.6	5.7	1.6	3.5	231	1152
B1-182.1	I	0.9	2.4	1.7	5.9	2.8	4.3	<0.6	1.5	1.0	3.5	281	1307
CoV2-2196	I	2.3	2.2	2.7	5.4	3.8	19.6	1.8	7.5	1.4	4.5	269	900
SP212	I	1.4	2.9	6.5	23.3	2.3	4.1	<0.6	2.5	1.1	2.4	36.1	112
CB8		50.5	109.9	28.7	141	>10,000	>10,000	>10,000	>10,000	14.5	402	>10,000	>10,000
REGN1083	I	6.1	19.9	9.7	29.1	6.5	23.4	150.3	>10,000	3.0	402	>10,000	>10,000
CoV2-2196	I	6.3	4.9	4.7	19.1	6.5	23.4	150.3	>10,000	3.0	402	>10,000	>10,000
AD-48.1	II	5.1	14.3	4.7	11.3	6.7	15.7	6.7	15.4	7.6	22.3	>10,000	>10,000
LY-COV555	II	11.4	43.6	29.2	108	87	157	39.7	69.6	>10,000	>10,000	223	378
LY-COV555	II	3.6	10.4	7.7	21.9	21.9	>10,000	>10,000	>10,000	>10,000	>10,000	>10,000	>10,000
C144	III	5.1	9.8	5.7	29.4	10.8	19.8	>10,000	>10,000	4.9	28.8	>10,000	>10,000
AT19-81.1	III	7.7	26.1	31.3	49.4	10.8	105	6.5	53.6	45.5	40.5	5650	>10,000
REGN1087	III	26.8	412	13.8	72	28.4	125	14.1	18.7	27.3	27.3	>10,000	>10,000
CoV2-2130	III	3.7	11.3	4.3	13.3	5.4	13.3	14.7	11.5	23.2	70.5	>10,000	>10,000
CoV2-2130	III	19.8	64.3	13.1	19.1	21.3	70.2	14.7	11.5	23.2	70.5	>10,000	>10,000
CoV2-2130	III	35.7	103	30.5	194	82.7	97.4	41.2	359	44.2	113	281	1394
LY-COV1404	III	3.0	2.8	3.8	18.4	4.1	8.7	13.3	17.6	3.7	8.3	3.1	14.4

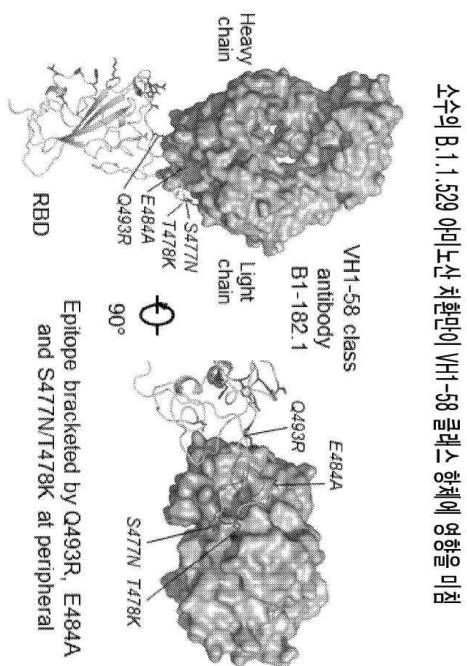
도면24a

RBD에서 단일 잔기 치환을 이용한 B.1.1.529와 B.1.182.1, SP212 및 CB8에 의한 위험화된 바이러스 중화(ng/ml)																							
IC ₅₀	B1-182.1	CoV2-2196		CB8		REGN1083		REGN1087		AT19-81.1		CoV2-2130		LY-COV555		C144		AD-48.1		LY-COV1404		LY-COV1404	
		IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀
1.3	1.3	2.4	4.5	2.1	4.7	4.7	33.6	1.6	5.7	1.6	3.5	231	1152	1.6	5.7	1.6	3.5	231	1152	1.6	5.7	1.6	3.5
0.9	0.9	2.4	4.5	2.1	4.7	4.7	33.6	1.6	5.7	1.6	3.5	231	1152	1.6	5.7	1.6	3.5	231	1152	1.6	5.7	1.6	3.5
2.3	2.3	2.2	2.7	5.4	23.3	2.3	4.1	<0.6	1.5	1.0	3.5	269	900	1.8	7.5	1.4	4.5	269	900	1.8	7.5	1.4	4.5
1.4	1.4	2.9	6.5	23.3	2.3	4.1	<0.6	2.5	1.1	2.4	36.1	112											
50.5	50.5	109.9	28.7	141	>10,000	>10,000	>10,000	>10,000	>10,000	14.5	402	>10,000	>10,000	6.1	19.9	9.7	29.1	6.5	23.4	150.3	>10,000	>10,000	>10,000
6.1	6.1	19.9	9.7	29.1	6.5	23.4	150.3	>10,000	>10,000	3.0	402	>10,000	>10,000	5.1	14.3	4.7	11.3	6.7	15.7	39.7	69.6	>10,000	>10,000
5.1	5.1	9.8	5.7	29.4	10.8	19.8	105	6.5	53.6	45.5	40.5	5650	>10,000	11.4	43.6	29.2	108	87	157	39.7	69.6	>10,000	>10,000
7.7	7.7	26.1	31.3	49.4	10.8	105	14.1	18.7	27.3	27.3	27.3	>10,000	>10,000	3.6	10.4	7.7	21.9	21.9	>10,000	>10,000	>10,000	>10,000	
26.8	26.8	412	13.8	72	28.4	125	14.1	18.7	27.3	27.3	27.3	>10,000	>10,000	19.8	64.3	13.1	19.1	21.3	70.2	14.7	11.5	23.2	70.5
3.7	3.7	11.3	4.3	13.3	5.4	13.3	14.1	18.7	27.3	27.3	27.3	>10,000	>10,000	3.6	10.4	7.7	21.9	21.9	>10,000	>10,000	>10,000	>10,000	
19.8	19.8	64.3	13.1	19.1	21.3	70.2	14.1	18.7	27.3	27.3	27.3	>10,000	>10,000	35.7	103	30.5	194	82.7	97.4	41.2	359	44.2	113
3.0	3.0	2.8	3.8	18.4	4.1	8.7	13.3	17.6	3.7	8.3	3.1	14.4											

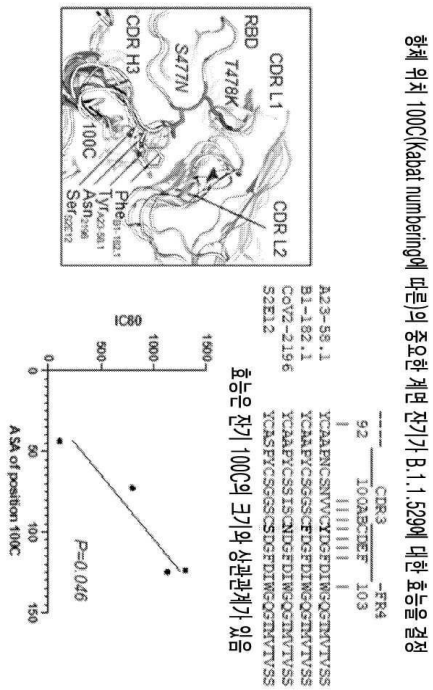
도면24b



도면24c



도면24d

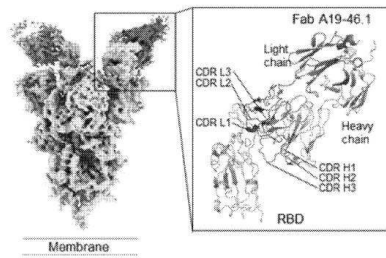


도면 25a

[illegible]

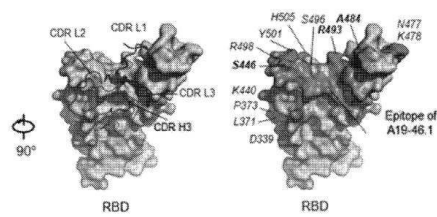
도면25b

Fab A19-46.1을 사용한 B.1.1.529 스파이크의 Cryo-EM 재구성



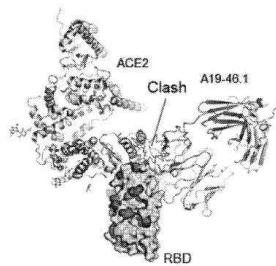
도면25c

A19-46.1과 B.1.1.529 RBD 간의 상호 작용



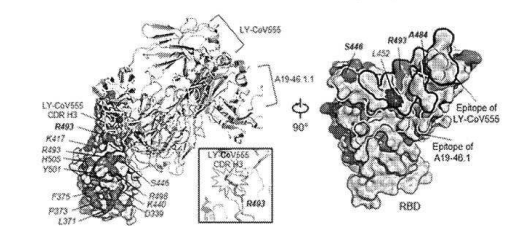
도면25d

중화 메커니즘



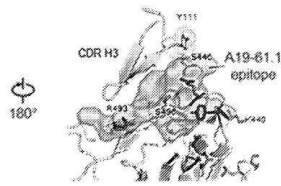
도면25e

A19-46.1 및 LY-CoV555의 다른 결합 방식(mode)



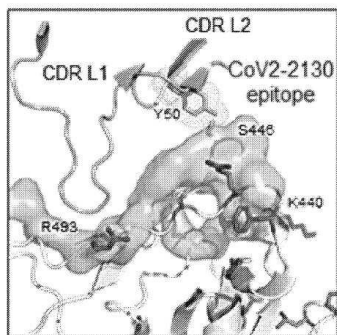
도면26c

B.1.1.529 G446S 치환은
A19-61.1의 CDR H3과 충돌함



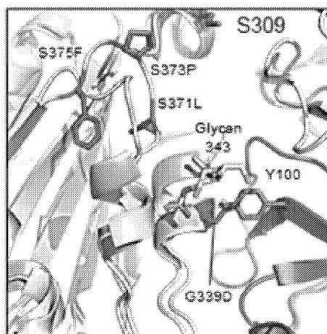
도면26d

CoV2-2130에는 작은 충돌이 있음



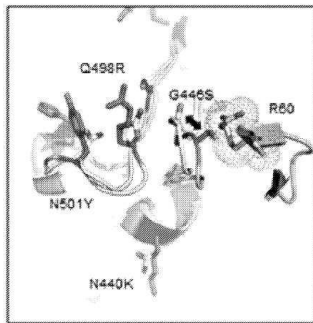
도면26e

S371L 치환은 S309 결합에 영향을 미침



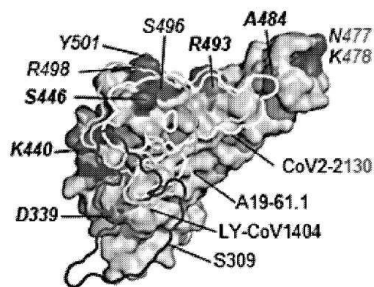
도면26f

LY-CoV1404 에피토프 가장자리에서만
돌연변이가 발생함



도면26g

클래스 III mAb의 주요 잔류물



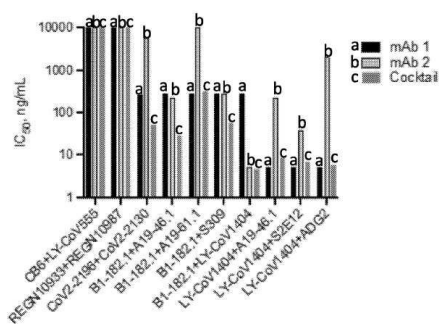
도면27a

항체 각데일에 의한 강력한 중화

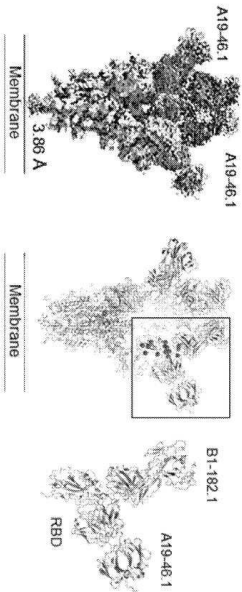
	Class	B.1.1.529	
		IC ₅₀	IC ₉₀
CB6/LY-CoV555	I/II	> 10,000	> 10,000
REGN10933/REGN10987	V/III	> 10,000	> 10,000
CoV2-2196/CoV2-2130	V/III	50.8	131
B1-182.1/A19-46.1	V/II	28.3	65.7
B1-182.1/A19-61.1	V/III	31.1	426
B1-182.1/S309	V/III	58.1	194
B1-182.1/LY-CoV1404	V/III	4.6	14.4
LY-CoV1404/A19-46.1	III/II	8.9	21.7
LY-CoV1404/S2E12	III/II	6.8	23.7
LY-CoV1404/ADG2	III/II-IV	5.8	19.2

도면27b

항체 중화 개선 평가



도면27c



A19-46.1 및 B1-182.1과 복합체를 이루는 B.1.1.529 스파이크의 Cryo-EM 구조는 2-RBD-up 형태를 나타내며, 두 형태는 모두 'up' RBD에 결합함

도면28a

IC50											
Name	Target	WT	D614G	D614G M439K	D614G Y453F	D614G A222V	D614G N501Y	D614G del- H69/V70	D614G N501Y del- H69/V70	D614G E484K K417N	D614G N501Y E484K K417N
A23-29.1	RBD	1.3556	0.5790	0.5838	0.6969	0.5876	0.8208	0.7795	1.1341	0.3443	0.7216
A23-105.1	RBD	0.2277	0.0624	0.0808	0.1238	0.0785	0.0930	0.0993	0.0914	>10	>10
A19-1.1	RBD	0.5305	0.3054	0.2274	0.8290	0.2133	0.2041	0.3572	0.9411	>10	>10
A23-97.1	RBD	>10	7.2026	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
A23-113.1	RBD	0.3991	0.0657	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
A19-82.1	RBD	>10	7.1534	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
A23-92.1	RBD	>10	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
A23-d50-36.1	SD1	3.7620	>50	36.2454	19.6744	33.1780	34.6749	33.2240	30.9203	48.3657	>50
A20d50-9.1	SD1	>10	>50	49.9895	>50	>50	>50	>50	53.8380	>50	>50

IC80											
A23-29.1	RBD	0.3483	0.2074	0.3272	0.2773	0.3166	0.2782	0.3158	0.5792	0.1722	0.4382
A23-105.1	RBD	0.0889	0.0270	0.0382	0.0464	0.0358	0.0461	0.0254	0.0419	>10	>10
A19-1.1	RBD	0.1259	0.0941	0.0400	0.2064	0.0472	0.1476	0.0961	0.1739	>10	>10
A23-97.1	RBD	6.1179	1.5634	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
A23-113.1	RBD	0.2528	0.0791	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
A23-80.1	RBD	9.5494	1.8772	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
A19-82.1	RBD	6.1235	3.4154	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
A23-d50-36.1	SD1	1.3851	33.7177	11.4064	2.9522	12.6652	6.3393	7.3918	5.3692	23.4809	4.1358
A20d50-9.1	SD1	1.2143	29.2632	13.5984	9.8977	40.6556	17.5467	20.1017	26.7291	>50	16.9818

도면 28b

[illegible]

도면 29a

Yield and precipitation for B1-182.1 and A23.58.1				
Ab name	Heavy chain	Light chain	Yield (mg/L)	Precipitation
A23-58.1	A23-58.1H	A23-58.1L	203.75	No
B1-182.1	B1-182.1H	B1-182.1L	92.36	Observed

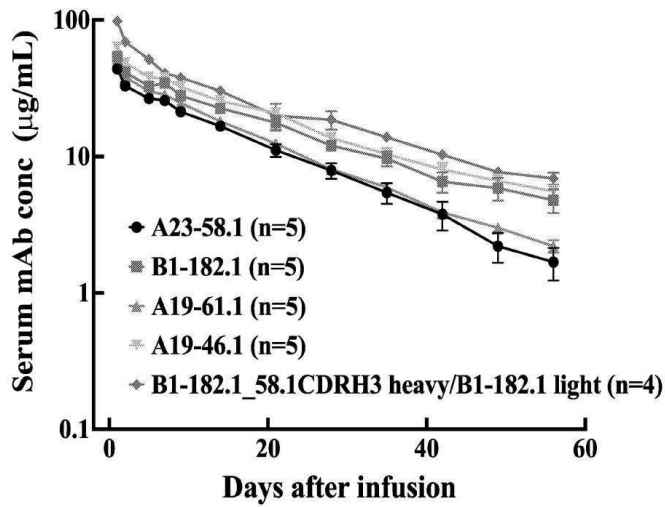
도면29b

Yield, concentration and precipitation properties for B1-182.1_58CDRH3 heavy/B1-182.1 light and B1-182 heavy/B1-182.1 light_5Mut				
Ab name	Heavy chain	Light chain	Yield (mg/L)	Precipitation
B1-182.1_58.1CDRH3 heavy/B1-182.1 light	A23-58.1H	B1-182.1L	226.86	No
B1-182.1 heavy/B1-182.1 light_5Mut	B1-182.1H	A23-58.1L	74.96	Observed

도면29c

Neutralization by B1-182.1_58CDRH3 heavy/B1-182.1 of lentiviruses pseudotyped with the indicated spike proteins from SARS-CoV-2 (IC50, IC80 at $\mu\text{g}/\text{ml}$)																							
Ab	IC50	IC80	B1-1.7	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2	B1-1.7.2
B1-182.1	0.0011	0.0036	0.0012	0.0037	0.0018	0.0064	0.0016	0.0106	0.0004	0.0004	0.0014	0.0004	0.0014	0.0004	0.0014	0.0004	0.0014	0.0004	0.0014	0.0004	0.0014	0.0004	0.0014
B1-182.1_58.1CDRH3 heavy/B1-182.1 light	0.0013	0.0039	0.0013	0.0039	0.0013	0.0039	0.0013	0.0039	0.0013	0.0039	0.0013	0.0039	0.0013	0.0039	0.0013	0.0039	0.0013	0.0039	0.0013	0.0039	0.0013	0.0039	0.0013
B1-182.1 light_5Mut	0.0013	0.0031	0.0016	0.0055	0.0015	0.0038	0.0031	0.0156	0.0013	0.0055	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

도면30



서열 목록

<110> THE UNITED STATES OF AMERICA, as represented by the
Secretary, Department of Health and Human Services

<120> ANTIBODIES TARGETING THE SPIKE PROTEIN OF CORONAVIRUSES

<130> 4239-105533-02

<150> 63/147,419

<151> 2021-02-09

<160> 156

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 123

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 1

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Ser

20 25 30

Ala Val Gln Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Val Val Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Met Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Ala Ala Pro Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Phe Asp Gly Phe Asp Ile
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 2
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 2

Gly Phe Thr Phe Thr Ser Ser Ala
 1 5

<210> 3
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 3

Ile Val Val Gly Ser Gly Asn Thr

1 5
 <210> 4
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 4

Cys Ala Ala Pro Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Phe Asp Gly Phe Asp
 1 5 10 15

Ile Trp

<210> 5
 <211> 108

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 5

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Phe Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Pro

85 90 95

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

100 105

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 6

Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr

1 5

<210> 7

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 7

Gly Ala Ser

1

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 8

Cys Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Pro Trp Thr Phe

1 5 10

<210> 9

<211> 127

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 9

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Leu Ala Ile Ala Val Ala Gly Thr Trp His Tyr Tyr Asn

100 105 110

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

115 120 125

<210> 10

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 10

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5
 <210> 11
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 11
 Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Gln
 1 5
 <210> 12
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 12
 Cys Ala Arg Asp Leu Ala Ile Ala Val Ala Gly Thr Trp His Tyr Tyr
 1 5 10 15
 Asn Gly Met Asp Val Trp
 20
 <210> 13
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 13
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys Ser Phe Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 14

Gln Gly Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 15

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 15

Asp Ala Ser

1

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 16

Cys Gln Gln Ala Lys Ser Phe Pro Ile Thr Phe

1 5 10

<210> 17

<211> 126

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

Ala Arg Gly Trp Ala Tyr Trp Glu Leu Leu Pro Asp Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 18
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 18

Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr Gly
 1 5
 <210> 19
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 19

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
 1 5

<210> 20
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 20

Cys Ala Arg Gly Trp Ala Tyr Trp Glu Leu Leu Pro Asp Tyr Tyr Tyr
 1 5 10 15

Gly Met Asp Val Trp

20

<210> 21

<211> 110

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 21

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

1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Ala

20

25

30

Tyr Phe Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Thr

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Gly Ile Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 22

Ser Gly Ser Val Ser Thr Ala Tyr Phe

1 5

<210> 23

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 23

Gly Thr Asn

1

<210> 24

<211> 12

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 24

Cys Val Leu Tyr Met Gly Arg Gly Ile Val Val Phe

1

5

10

<210> 25

<211> 123

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 25

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

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Ser

20

25

30

Ala Val Gln Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35

40

45

Gly Trp Ile Val Val Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

Gln Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Met Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Ala Pro Asn Cys Ser Asn Val Val Cys Tyr Asp Gly Phe Asp Ile

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 26

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 26

Gly Phe Thr Phe Thr Ser Ser Ala

1 5

<210> 27

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 27

Ile Val Val Gly Ser Gly Asn Thr

1 5

<210> 28

<211> 18

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 28

Cys Ala Ala Pro Asn Cys Ser Asn Val Val Cys Tyr Asp Gly Phe Asp

1 5 10 15

Ile Trp

<210> 29

<211> 108

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 29

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Ser Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

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

100 105

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 30

Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr

1 5

<210> 31

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 31

Ser Ala Ser

1

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 32

Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Trp Thr Phe

1 5 10

<210> 33

<211> 124

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 33

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 Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Asp Ile Asp 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 Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Lys Gly Trp Phe Gly Glu Phe Phe Gly Ala Gly Ser Ile Cys Asp

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 34

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 34

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala

1 5

<210> 35

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 35

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Asp Ile

1 5

<210> 36

<211> 19

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 36

Cys Thr Lys Gly Trp Phe Gly Glu Phe Phe Gly Ala Gly Ser Ile Cys

1 5 10 15

Asp Tyr Trp

<210> 37

<211> 106

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 37

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 38

<211> 6

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 38

Gln Ser Val Ser Asn Asn

1 5

<210> 39

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 39

Gly Ala Ser

1

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 40

Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Phe

1

5

10

<210> 41

<211> 123

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 41

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Ser Asn Tyr

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Arg Val Gly Pro Tyr Gln Tyr Asp Ser Ser Ala Ala Phe Asp Ile

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

	115	120
<210>	42	
<211>	8	
<212>	PRT	
<213>	homo sapiens	
<400>	42	
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala		
1	5	
<210>	43	
<211>	8	
<212>	PRT	
<213>	homo sapiens	
<400>	43	
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys		
1	5	
<210>	44	
<211>	18	
<212>	PRT	
<213>	homo sapiens	
<400>	44	
Cys Ala Arg Val Gly Pro Tyr Gln Tyr Asp Ser Ser Ala Ala Phe Asp		
1	5	10 15
Ile Trp		
<210>	45	
<211>	107	
<212>	PRT	
<213>	homo sapiens	
<400>	45	
Asp Ile Gln 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 Ser Trp		
	20	25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 46

<211> 6

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 46

Gln Ser Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 47

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 47

Asp Ala Ser

1

<210> 48

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 48

Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg Thr Phe

1 5 10

<210> 49

<211> 120

<212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 49
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Asn Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Pro Pro Gln Val His Trp Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 50
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 50

Gly Phe Thr Phe Thr Asn Tyr Ala
 1 5

<210> 51
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 51

Ile Ser Asn Asp Gly Ser Asp Lys
 1 5

<210> 52

<211> 15

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 52

Cys Ala Arg Asp Pro Pro Gln Val His Trp Ser Leu Asp Tyr Trp

1 5 10 15

<210> 53

<211> 110

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 53

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Asn Ala Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

100 105 110

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 54

Ser Ser Asp Val Gly Asp Tyr Asn Tyr

1 5

<210> 55

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 55

Asp Val Ser

1

<210> 56

<211> 12

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 56

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

1 5 10

<210> 57

<211> 122

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 57

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Ser Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 58

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 58

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly

1 5

<210> 59

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 59

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 60

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 60

Cys Ala Lys Glu Ser Gln Phe Gly Glu Leu Phe Glu Ala Leu Asp Tyr

1 5 10 15

Trp

<210> 61

<211> 108

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 61

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

1 5 10 15

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Tyr Ser Thr Asp Ser Ser Gly Asn His
 85 90 95
 Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 62
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 62

Ala Leu Pro Arg Lys Tyr
 1 5
 <210> 63
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 63

Glu Asp Ser
 1
 <210> 64
 <211> 13
 <212> PRT
 <213>

> homo sapiens
 <400> 64

Cys Tyr Ser Thr Asp Ser Ser Gly Asn His Arg Val Phe
 1 5 10

<210> 65
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 65
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp His Asp Glu Ser Asn Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Phe Leu Thr Gly Ala Tyr Glu Leu Asp Tyr
 100 105 110

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

<210> 66
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 66
 Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr Gly
 1 5
 <210> 67
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 67

Ile Trp His Asp Glu Ser Asn Lys

1 5

<210> 68

<211> 18

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 68

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

1 5 10 15

Tyr Trp

<210> 69

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 69

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Trp

85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 70

<211> 6

<212> PRT

<213

> homo sapiens

<400> 70

Ala Leu Pro Lys Gln Tyr

1 5

<210> 71

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 71

Lys Asp Ser

1

<210> 72

<211> 12

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 72

Cys Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Trp Val Phe

1 5 10

<210> 73

<211> 122

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 73

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 74

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly

1 5

<210> 75

<211> 8

<212

> PRT

<213> homo sapiens

<400> 75

Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 76

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 76

Cys Ala Lys Thr Glu Leu Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Pro Leu Gly

1 5 10 15

Trp

<210> 77

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 77

Asp Ile Gln 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 Thr Ser 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 Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 78

<211> 6

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 78

Gln Ser Ile Thr Ser Trp

1 5

<210> 79

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 79

Asp Ala Ser

1

<210> 80

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 80

Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp Thr Phe

1 5 10

<210> 81

<211> 120

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 81

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Ser His Asp Gly Ser Tyr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 82

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 82

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 83

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 83

Ile Ser His Asp Gly Ser Tyr Lys

1 5

<210> 84

<211> 15

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 84

Cys Ala Lys Ser Tyr Gly Tyr Trp Met Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp

1 5 10 15

<210> 85

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 85

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Pro Trp His

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 86

<211> 6

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 86

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 87

<211> 3

<212>

> PRT

<213> homo sapiens

<400> 87

Ala Ala Ser

1

<210> 88

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 88

Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Pro Trp His Thr Phe

1 5 10

<210> 89

<211> 125

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 89

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Val Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Thr Tyr Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

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

Ala Arg Val Gly Asp Ala Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Tyr His Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 90
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 90

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Asn Gly
 1 5
 <210> 91
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 91

Ile Ser Thr Tyr Asn Gly Asp Thr
 1 5
 <210> 92
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 92

Cys Ala Arg Val Gly Asp Ala Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Tyr His
 1 5 10 15
 Phe Asp Tyr Trp
 20
 <210> 93

<211> 109
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 93

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Trp Pro Pro

85 90 95

Glu Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 94

<211> 6

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 94

Gln Ser Val Ser Thr Asn

1 5

<210> 95

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 95

Gly Ala Ser

1

<210> 96

<211> 13
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 96

Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Trp Pro Pro Glu Phe Thr Phe
 1 5 10

<210> 97
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 97

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

50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Glu Gly Val Val Ala Gly Thr Gly Lys Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 98
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 98

Gly Leu Ile Phe Ser Thr Tyr Asp

1 5

<210> 99

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 99

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Tyr Lys

1 5

<210> 100

<211> 17

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 100

Cys Ala Lys Gly Glu Gly Val Val Ala Gly Thr Gly Lys Phe Asp Tyr

1 5 10 15

Trp

<210> 101

<211> 108

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 101

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Gly Ser Gly Asp Pro

85

90

95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100

105

<210> 102

<211> 6

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 102

Asn Ile Gly Ser Lys Ser

1

5

<210> 103

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 103

Asp Asp Ser

1

<210> 104

<211> 13

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 104

Cys Gln Val Trp Asp Gly Ser Gly Asp Pro Trp Val Phe

1

5

10

<210> 105

<211> 123

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 105

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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 Ser Ser Tyr

20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr 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 Lys Asp Tyr Trp Ser Val Ala Ala Gly Thr Ser Trp Phe Asp Pro
 100 105 110

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

<210> 106

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 106

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 107

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 107

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 108

<211> 18

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 108

Cys Ala Lys Asp Tyr Trp Ser Val Ala Ala Gly Thr Ser Trp Phe Asp

1 5 10 15
Pro Trp

<210> 109

<211> 107

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 109

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

1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ala Leu Pro Lys Gln Tyr Ala

20 25 30
Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Ile Tyr

35 40 45
Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60
Ser Ser Gly Thr Thr Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu

65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Trp

85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 110

<211> 6

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 110

Ala Leu Pro Lys Gln Tyr

1 5

<210> 111

<211> 3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 111

Lys Asp Ser

1

<210> 112

<211> 12

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 112

Cys Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Trp Val Phe

1

5

10

<210> 113

<211> 370

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 113

caaatgcagc tggatgcagtc tgggcctgag gtgaagaagc ctgggacctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg ctcttgatt cacccttact agctctgctg tgcagtgggt gcgacaggct 120

cgtggacaac gccttgagtg gataggatgg atcgctgttg gcagtggtaa cacaaactac 180

gcacagaagt tccaggaaag agtcaccatt accagggaca tgtccacaag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atccgaggac acggccgtgt attactgtgc ggcaccgaat 300

tgtagttaatg ttgtatgcta tgatggtttt gatatctggg gccaaaggac aatggtcacc 360

gtctcttcag 370

<210> 114

<211> 325

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 114

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccagget cctcatctat agtgcacca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgt tttctgtcag cagtatggta cctcaccgtg gacgttcggc 300

caagggacca aggtggaaat caaac	325
<210> 115	
<211> 382	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 115	
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt caccctcagt agctatgctt tccactgggt ccgccaagct	120
ccgggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagcaa tcaatactac	180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agctgacgac acggctgtgt attactgtgc gagagatctg	300
gctatagcag tggctggtag gtggcactat tataacggta tggacgtctg gggccaaggg	360
accacggtca ccgtctcctc ag	382
<210> 116	
<211> 322	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 116	
gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat cagtaggaga cagagtcac	60
atcacttgtc gggcgagtc gggatatctc agctggtag cctggtagc gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaaggctct gatctatgat gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180
aggttcagcg gcagtggata tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct	240
gaagattctg caacttacta ttgtcaacag gctaaaagtt ttccgatcac cttcggccaa	300
gggacacgac tggagattaa ac	322
<210> 117	
<211> 379	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 117	
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt caccctcagt agctatggca tgcaactgggt ccgccaggt	120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat	180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggtgg	300
gcttattggg agctactccc tgactactac tacggtatgg acgtctgggg ccaaggacc	360
acggtcaccg tctctcag	379
<210> 118	
<211> 331	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 118	
cagactgtgg tgacacagga gccatcgttc tcagtgtccc ctggaggac agtcacactc	60
acttgtggct tgagctctgg ctcagtctct actgcttact tccccagctg gtaccagcag	120
accccaggcc aggtccacg cacgtcatc tacggtacaa acactcgctc tctggggtc	180
cccgatcgt tctctggctc catccttggg aacaaagctg ccctcacat cacgggggcc	240
caggcagacg atgaatctga ttattactgt gtgctgtata tgggtagagg cattgtgta	300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta g	331
<210> 119	
<211> 370	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 119	
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt aactatgcta tccactgggt ccgccaggt	120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagcaa taaatactac	180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctggaaatga acagcctgag agctgaggat atggctgtgt attactgtgc gagagtcggt	300
ccgtatcagt atgatatag tagctgtttt gatatctggg gccaaaggac aatggtcacc	360
gtctcttcag	370
<210> 120	
<211> 322	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 120	

gacatccaga tgacccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgcc gggccagtc gagtattagt agctgggtgg cctggtatca gcagaaacca	120
gggcaagccc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca	180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca ccatcagcag cctgcagcct	240
gatgatattg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attctcgaa gttcgccaa	300
gggaccaagg tggaaatcaa ac	322
<210> 121	
<211> 361	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 121	
caggtgcagt tggtagagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt caccttact aattatgcaa tgcactgggt ccgccaggct	120
ccaggcaagg ggcctggagt ggtggcagtt atatcaaatg atggaagcga taaatactac	180
gcggactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagag cacggtttat	240
ttgcaaatga gcagcctgag acctgaggac acggctgtgt atttctgtgc gagagatccc	300
ccccagggtc actggctcct cgactactgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca	360
g	361
<210> 122	
<211> 331	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 122	
cagtctgcc tgactcagcc tccctccgcg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc	60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggg gattataact atgtctcctg gtaccaaac	120
caccaggca aagccccaa actcataatt tatgacgtca gtaagcggcc ctgaggggtc	180
cctgatcgt tctctggctc caagtctggc gacacggcct cctgaccgt ctctgggtc	240
caggtgagg atgaggtga ttattactgc agtcatatg caggcaacaa caatgccgtc	300
ttcggaactg ggaccaaggt caccgtccta g	331
<210> 123	
<211> 373	
<212> DNA	

<213> homo sapiens

<400> 123

gaagtgcagc tggatggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60

tctgtgcag cctctggatt cacgtttgat gattatgcc tgcactgggt cgggcaaact 120

ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggga catagactat 180

gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag aactgaggac acggccttgt attactgtac aaaaggtgg 300

ttcggggagt tcttcggggc cgggtcgata tgtgactact ggggccaggg aaccctggtc 360

accgtctcct cag 373

<210> 124

<211> 319

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 124

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccaggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc aacaacttag cctggtacca gcagaaacct 120

ggccaggctc ccaggtcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttactctca ccatcagcag cctgcagtct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggccgttgtt cggccaaggg 300

accaaggtgg aaatcaaac 319

<210> 125

<211> 367

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 125

caggtgcagc tggatggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tctgtgcag cctctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg gctggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180

gcggactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggcttgtt attactgtgc gaaagagtcg 300

caattcgggg agttattcga agccttagac tactggggcc aggggaaccct ggtcacgctc 360

tcctcag	367
<210> 126	
<211> 325	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 126	
tcctatgagc tgacacagcc accctcgggtg tcagtgtccc caggacaaac ggccaggatc	60
acctgtcttg gagatgcatt gccaaagaaa tatgcttttt ggtaccagca gaagtcaggc	120
caggcccctg tgctgggtcat ctctgaggac agcaaagcag cctccgggat ccctgagaga	180
ttctctgggt ccagctcagg gacaatggcc accttgacta tcagtggggc ccaggtggag	240
gatgaagctg actactactg ttactcaaca gacagcagtg gtaatcatag ggtgttcggc	300
ggagggacca aactgaccgt cctag	325
<210> 127	
<211> 370	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 127	
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cgcttggtatt catcttcagt agctatggcg tgcactgggt ccgccaggct	120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggcatg atgaaagtaa taaagactat	180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgggtgat	240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctatgt attattgtgc gagagatggt	300
tacgattttt tgactggggc ttacgagctt gactactggg gccagggaac cctggtcacc	360
gtctcctcag	370
<210> 128	
<211> 322	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 128	
tcctatgagc tgacacagcc accctcgggtg tcagtgtccc caggacagac ggccaggatc	60
acctgtcttg gagatgcatt gccaaagcaa tatgcttatt ggtaccagca gaagccaggc	120
caggcccctg tgggtggtgat atataaagac agtgagaggc cctcagggat ccctgagcga	180

ttctctggct ccagctcagg gacaacagtc acgttgacca tcagtggagt ccaggcagaa	240
gatgaggctg actattactg tcaatcagca gacagcagtg gcacttgggt gttcggcgga	300
gggaccaaac tgaccgtcct ag	322
<210> 129	
<211> 367	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 129	
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cgctcggatt caccttcagt agctttggca tgcactgggt ccgccaggct	120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactat	180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca attccaagaa cgcgtgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attattgtgc gaagacagaa	300
ctatattact atgatagtag tggccattg gggtggggcc agggaaccct ggtcaccgtc	360
tcctcag	367
<210> 130	
<211> 322	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 130	
gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgcc gggccagtc gagtattact agctggttgg cctggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg tgtcccatca	180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct	240
gatgatattg caacttatta ctgccaacag tataatagtt atccgtggac gttcggccaa	300
gggaccaagg tggaaatcaa ac	322
<210> 131	
<211> 361	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 131	
caggtgcacc tggaggagtc tgggggagcc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc	60

tcctgtgcag ccctcggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt cgcaggcc	120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcacatg atggaagta taagtactat	180
gcagactccg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca attccaagga cacgctctat	240
ctgcaaacga acagcctgag agctgaggac acggctatgt attactgtgc gaaaagctat	300
ggttattgga tggcctactt tgaactactg ggccaggga ccctgggtcac cgtctcctca	360
g	361
<210> 132	
<211> 322	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 132	
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgcc ggccgagtc ggacattagc aattatttag cctgggtatca gcagaaacca	120
gggaaagtcc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct	180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct	240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtc cctggcacac ttccggcgga	300
gggaccaagg tggagatcaa ac	322
<210> 133	
<211> 376	
<212> DNA	
<213> homo sapiens	
<400> 133	
caggttcagc tgggtcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60
tcctgcaagg ctcccggtta cactttacc agcaatggag tcacctgggt gcgacaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcactt acaatggaga cacaaactat	180
gcacagaagc tccagggcag agtctccatg accacagaca catccacgcg cacagtttac	240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtct attactgtgc gaggggtggg	300
gatgcatatt gtagtgggtg tagctgctat cactttgact actggggcca gggaaccctg	360
gtcacctctt cctcag	376
<210> 134	
<211> 328	
<212> DNA	

<213> homo sapiens
 <400> 134
 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccaggga aagagccacc 60

 ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc accaacttag cctggtacca gcagaagcct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatccagcc 180
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
 gaagattttg cactttatta ctgtcagcag tatgataact ggcctccgga attcatttc 300
 ggccctggga ccaaagtga tatcaaac 328

 <210> 135
 <211> 367
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 135
 caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

 tcctgtgtag tcctggact catcttcagt acctatgaca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtta caaacactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca gttccaagaa cacgtgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag acctgaagac acggctgtct attactgtgc gaaaggggag 300
 ggagtagtgg ctggtacggg gaagtttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
 tcctcag 367

 <210> 136
 <211> 325
 <212> DNA

 <213> homo sapiens
 <400> 136
 tcctatgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggacagac ggccaggatt 60
 acctgtgggg gaaacaacat tgggaagtaa agtgtgact ggtaccagca gaagccaggc 120
 caggccctg tgetggtcgt ctatgatgat agtgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
 ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc acctgacca tcagcagggt cgaggccggg 240
 gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatggtagtg gtgaccttg ggtgttcggc 300
 ggagggacca agctgaccgt cctag 325

<210> 137
 <211> 370
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 137

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag ccctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt cgcagggt 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cactctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgcg agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagattat 300
 tggtcagtag cagctggtag tagctgggtc gacccctggg gccagggaac cctggtcagc 360

gtctcctcag 370

<210> 138
 <211> 322
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 138

tcctatgagc tgacacagcc accctcgggtg tcagtgtccc caggacagac ggccaggatc 60
 acctgtctg gagatgcatt gccaaagcaa tatgcttatt ggtaccagca gaagccaggc 120
 caggcccctg tgggtggatg atataaagac agtgagaggc cctcagggat ccctgagcga 180
 ttctctggct ccagctcagg gacaacagtc acgttgacca tcagtggagt ccaggcagaa 240
 gacgaggctg actattactg tcaatcagca gacagcagtg gtacttgggt gttcggcgga 300

gggaccaagc tgaccgtcct ag 322

<210> 139
 <211> 370
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 139

caaatgcagc tgggtgcagtc tgggcctgag gtgaagaagc ctgggacctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg ctcttgatt cacctttact agctctctg tgcagtgggt gcgacaggct 120
 cgtggacaac gccttgagtg gataggatgg atcgctgttg gcagtggtaa cacaaactac 180
 gcacagaagt tccaggaaag agtcaccatt accagggaca tgtccacaag cacagcctat 240

atggagctga gcagcctgag atccgaggac acggccgtgt attactgtgc ggccccttac 300

tgtagtggtg gtagctgctt tgatggtttt gatatctggg gccaaaggac aatggtcacc 360

gtctcttcag 370

<210> 140

<211> 325

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 140

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggt cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggttccca 180

gacaggttca gtggcagtg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagtatggta actcaccctg gacgttcggc 300

caagggaacca aggtggaaat cagac 325

<210> 141

<211> 109

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 141

Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly

1 5 10 15

Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys

20 25 30

Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn

35 40 45

Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe

50 55 60

Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys

65 70 75 80

Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly

85 90 95

Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg

100 105

<210> 142

<211> 33

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 142

gaggctcagc gggaagacct tggggctggt cgg 33

<210> 143

<211> 122

<212> PRT

<213> artificial sequence

<400> 143

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Ser

20 25 30

Ala Val Gln Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Val Val Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Met Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ala Pro Asn Cys Ser Asn Val Val Cys Tyr Asp Gly Phe Asp Ile

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser

115 120

<210> 144

<211> 108

<212> PRT

<213> artificial sequence

<400> 144

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Ser Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 145

<211> 3

<212> PRT

<213> artificial sequence

<400> 145

Ser Ala Ser

1

<210> 146

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequence

<400> 146

Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Trp Thr Phe

1 5 10

<210> 147

<211> 98

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 147

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Ser

20 25 30

Ala Val Gln Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Val Val Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Met Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ala

<210> 148

<211> 123

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 148

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Val Gln Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Ile Val Val Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

His Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Met Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Pro Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Ser Asp Gly Phe Asp Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 149

<211> 123

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 149

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Thr Ser
20 25 30

Ala Val Gln Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Val Val Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Met Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ala Pro His Cys Asn Ser Thr Ser Cys Tyr Asp Ala Phe Asp Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 150

<400> 150

000

<210> 151

<211> 109

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 151

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Val Gly Leu Thr

85 90 95

Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 152

<211> 108

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 152

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

1 5 10 15

Glu Gly Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Gly Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 153

<211> 29

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 153

Tyr Cys Ala Ala Pro Asn Cys Ser Asn Val Val Cys Tyr Asp Gly Phe

1

5

10

15

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

20

25

<210> 154

<211> 29

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 154

Tyr Cys Ala Ala Pro Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Phe Asp Gly Phe

1

5

10

15

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

20

25

<210> 155

<211> 29

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 155

Tyr Cys Ala Ala Pro Tyr Cys Ser Ser Ile Ser Cys Asn Asp Gly Phe

1

5

10

15

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

20

25

<210> 156

<211> 29

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 156

Tyr Cys Ala Ser Pro Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Ser Asp Gly Phe

1 5 10 15

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

20 25