



등록특허 10-2687512



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년07월22일

(11) 등록번호 10-2687512

(24) 등록일자 2024년07월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/18 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/18 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-7026545

(22) 출원일자(국제) 2018년02월08일

심사청구일자 2021년02월08일

(85) 번역문제출일자 2019년09월09일

(65) 공개번호 10-2019-0117009

(43) 공개일자 2019년10월15일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2018/053232

(87) 국제공개번호 WO 2018/146230

국제공개일자 2018년08월16일

(30) 우선권주장

1702091.8 2017년02월08일 영국(GB)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020110099014 A

KR1020140005838 A

(73) 특허권자

메드어넥스 리미티드

영국, 에든버러 이에이치3 9큐에이,
파운틴브리지, 1 로크린 스퀘어

(72) 발명자

헤이스, 헨리 찰스 윌슨

영국, 에든버러 이에이치9 1피엘, 테크큐브 3.5,
1 서머홀 플레이스, 메드어넥스 리미티드

우드, 크리스토퍼 배리

영국, 에든버러 이에이치9 1피엘, 테크큐브 3.5,
1 서머홀 플레이스, 메드어넥스 리미티드

플래타우, 티나 캐롤라인

영국, 에든버러 이에이치9 1피엘, 테크큐브 3.5,
1 서머홀 플레이스, 메드어넥스 리미티드

(74) 대리인

이명진

전체 청구항 수 : 총 26 항

심사관 : 정지혜

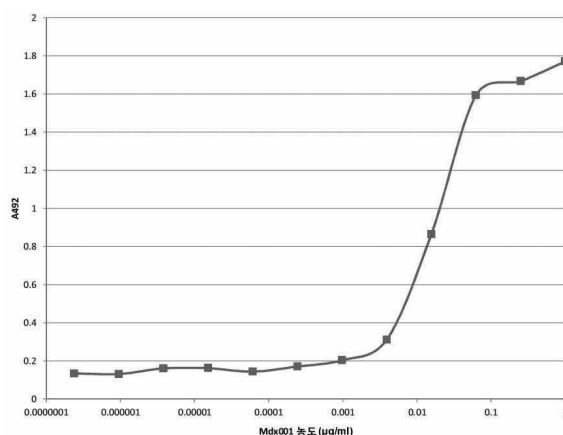
(54) 발명의 명칭 항 인간 아넥신 A1 항체

(57) 요약

본 발명은 인간 Anx-A1을 결합하고 상보성-결정 영역 (CDR) VLCDR1, VLCDR2, VLCDR3, VHCDR1, VHCDR2 및 VHCDR3을 포함하는 단리된 특이적 결합 분자에 관한 것으로, 여기서 상기 CDR 각각은 아래와 같은 아미노산 서열을 갖는다:

(뒷면에 계속)

대표도



VLCDR1은 서열번호: 1, 36 또는 37에 제시된 서열을 가지고;

VLCDR2는 서열번호: 2에 제시된 서열을 가지고;

VLCDR3은 서열번호: 3에 제시된 서열을 가지고;

VHCDR1은 서열번호: 4에 제시된 서열을 가지고;

VHCDR2는 서열번호: 5에 제시된 서열을 가지고; 그리고

VHCDR3은 서열번호: 6에 제시된 서열을 갖거나; 또는, 각각의 서열에 대해, 거기에 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열.

개시된 특이적 결합 분자는 치료적으로 유용하고, 특히 자가면역 질환 예컨대 류마티스성 관절염 및 전신 홍반성 낭창을 포함한 T-세포 매개된 질환, 강박 장애 (OCD), 및 OCD-관련된 질환, 예컨대 불안 장애에 대한 치료법에 사용될 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61P 25/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

A61P 43/00 (2018.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

인간 Anx-A1에 결합하는 단리된 특이적 결합 분자로서, 상보성-결정 영역 (CDR) VLCDR1, VLCDR2, VLCDR3, VHCDR1, VHCDR2 및 VHCDR3을 포함하고, 상기 CDR 각각은 아래와 같은 아미노산 서열을 갖는, 특이적 결합 분자:

VLCDR1은 서열번호: 1, 36 또는 37에 제시된 서열, 또는 VLCDR1이 서열번호: 1에 제시된 서열을 가지지 않는다는 전제 하에, 아미노산 잔기 9 및 11 중 하나 또는 둘 다에 보존적 아미노산 치환을 포함하는, 이의 변형된 버전을 가지고;

VLCDR2는 서열번호: 2에 제시된 서열을 가지고;

VLCDR3은 서열번호: 3에 제시된 서열을 가지고;

VHCDR1은 서열번호: 4에 제시된 서열을 가지고;

VHCDR2는 서열번호: 5에 제시된 서열을 가지고; 그리고

VHCDR3은 서열번호: 6에 제시된 서열을 가지는 아미노산 서열.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

VLCDR1은 서열번호: 36에 제시된 서열을 가지고;

VLCDR2는 서열번호: 2에 제시된 서열을 가지고;

VLCDR3은 서열번호: 3에 제시된 서열을 가지고;

VHCDR1은 서열번호: 4에 제시된 서열을 가지고;

VHCDR2는 서열번호: 5에 제시된 서열을 가지고; 그리고

VHCDR3은 서열번호: 6에 제시된 서열을 가지는, 특이적 결합 분자.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

VLCDR1은 서열번호: 37에 제시된 서열을 가지고;

VLCDR2는 서열번호: 2에 제시된 서열을 가지고;

VLCDR3은 서열번호: 3에 제시된 서열을 가지고;

VHCDR1은 서열번호: 4에 제시된 서열을 가지고;

VHCDR2는 서열번호: 5에 제시된 서열을 가지고; 그리고

VHCDR3은 서열번호: 6에 제시된 서열을 가지는, 특이적 결합 분자.

청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 특이적 결합 분자는:

- (i) 항체 또는 이의 단편이고/이거나;
- (ii) 인간 Anx-A1에 20 nM 미만의 K_d 로 결합하는 것인, 특이적 결합 분자.

청구항 5

청구항 4에 있어서,

상기 항체 또는 이의 단편은 인간화된, 특이적 결합 분자.

청구항 6

청구항 4에 있어서, 상기 특이적 결합 분자가 항체일 때, 항체는 단클론성 항체이거나, 또는 상기 특이적 결합 분자가 항체의 단편일 때, 상기 단편은 Fab 또는 $F(ab')_2$ 항체 단편, 또는 scFv 분자인, 특이적 결합 분자.

청구항 7

청구항 6에 있어서,

상기 항체 또는 이의 단편은 하기를 포함하는, 특이적 결합 분자:

- (i) 서열번호: 32, 34 또는 48-51에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 및
- (ii) 서열번호: 33 또는 35에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역.

청구항 8

청구항 7에 있어서,

상기 항체 또는 이의 단편은 하기를 포함하는, 특이적 결합 분자:

- (i) 서열번호: 40, 42, 44-47, 54 또는 75-79에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및
- (ii) 서열번호: 41, 43, 55 또는 80에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄.

청구항 9

청구항 8에 있어서,

상기 단클론성 항체는 하기를 포함하는, 특이적 결합 분자:

- (i) 서열번호: 40에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및 서열번호: 41에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 또는
- (ii) 서열번호: 42에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및 서열번호: 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄.

청구항 10

청구항 8에 있어서,

상기 단클론성 항체는 하기를 포함하는, 특이적 결합 분자:

- (i) 서열번호: 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및 서열번호: 41에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 또는
- (ii) 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및 서열번호: 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄.

청구항 11

청구항 8에 있어서,

상기 단클론성 항체는 하기를 포함하는, 특이적 결합 분자:

- (i) 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및 서열번호: 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 또는
- (ii) 서열번호: 78에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및 서열번호: 80에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄.

청구항 12

청구항 1의 특이적 결합 분자를 함유하는 시험관내 사용을 위한 조제품(preparation)으로서, 인간 Anx-A1에 결합하는 조제품 내 특이적 결합 분자 중 적어도 90%가 20 nM 미만의 K_d 로 결합하는, 조제품.

청구항 13

청구항 1에서 정의된 특이적 결합 분자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자.

청구항 14

청구항 13에 있어서,

상기 뉴클레오타이드 서열은 하기를 포함하는, 핵산 분자:

VLCDR1을 인코딩하는 서열번호: 20, 65, 66 또는 85-88에 제시된 뉴클레오타이드 서열;

VLCDR2를 인코딩하는 서열번호: 21 또는 67에 제시된 뉴클레오타이드 서열;

VLCDR3을 인코딩하는 서열번호: 22, 68 또는 69에 제시된 뉴클레오타이드 서열;

VHCDR1을 인코딩하는 서열번호: 23, 70 또는 71에 제시된 뉴클레오타이드 서열;

VHCDR2를 인코딩하는 서열번호: 24 또는 72에 제시된 뉴클레오타이드 서열; 및

VHCDR3을 인코딩하는 서열번호: 25, 73 또는 74에 제시된 뉴클레오타이드 서열; 또는, 각각의 서열에 대해, 거기로 퇴화하거나 또는 거기에 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열.

청구항 15

청구항 13의 핵산 분자를 포함하는 작제물.

청구항 16

청구항 13의 핵산 분자 또는 상기 핵산 분자를 포함하는 작제물을 포함하는 벡터.

청구항 17

청구항 13의 핵산 분자, 청구항 15의 작제물 또는 청구항 16의 벡터를 포함하는 인간 내의 세포를 제외한 숙주 세포.

청구항 18

- i) 청구항 13에서 정의된 핵산 분자, 청구항 15에서 정의된 작제물 또는 청구항 16에서 정의된 벡터를 숙주 세포 안으로 도입하는 단계;
- ii) 특이적 결합 분자가 생산되도록 핵산 분자를 발현시키는 단계; 및
- iii) 특이적 결합 분자를 수집하는 단계를 포함하는, 청구항 1에서 정의된 특이적 결합 분자를 제조하는 방법.

청구항 19

청구항 18에 있어서,
상기 특이적 결합 분자는 정제에 의해 수집되는 것인, 방법.

청구항 20

청구항 18에서 정의된 방법에 의해 수득가능한 특이적 결합 분자.

청구항 21

- i) 청구항 1 내지 11 중 어느 한 항에서 정의된 특이적 결합 분자,
- ii) 인간 Anx-A1에 결합하는 조제품 내 특이적 결합 분자 중 적어도 90%가 20 nM 미만의 K_d 로 결합하는, 청구항 1의 특이적 결합 분자를 함유하는 조제품, 또는
- iii) i)에서 정의된 특이적 결합 분자 또는 ii)에서 정의된 조제품 및 하나 이상의 약제학적으로 허용 가능한 희석제, 캐리어 또는 부형제를 포함하는 조성물을 포함하는, 자가면역 질환, 죽상경화증, 강박 장애 (OCD) 또는 불안 장애 치료용 약제학적 조성물.

청구항 22

청구항 21에 있어서,
상기 특이적 결합 분자는 하기를 포함하는 항체 또는 이의 단편인, 약제학적 조성물:

- (i) 서열번호: 32, 34 또는 48-51에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 및
- (ii) 서열번호: 33 또는 35에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서

열을 포함하는 중쇄 가변 영역.

청구항 23

청구항 21에 있어서,

적어도 하나의 제2의 치료적 활성제를 더 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 24

청구항 21에 있어서,

상기 항체 또는 이의 단편은 하기를 포함하는 것인, 약제학적 조성물:

(i) 서열번호: 32, 34 또는 48-51에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 및

(ii) 서열번호: 33 또는 35에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역.

청구항 25

청구항 21에 있어서,

상기 자가면역 질환은 류마티스성 관절염, 다발성 경화증, 전신 홍반성 낭창, 애디슨병, 그레이브스병, 경피증, 다발근육증, 당뇨병, 자가면역 포도막망막염, 궤양성 대장염, 심상성천포창, 염증성 장질환, 자가면역 갑상선염, 포도막염, 베체트 병, 쇼그렌 증후군 또는 건선인, 약제학적 조성물.

청구항 26

청구항 21에 있어서,

상기 불안 장애는 외상후 스트레스 장애, 사회적 불안 장애, 일반화된 불안 장애, 공황 장애 또는 공황 발작인, 약제학적 조성물.

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 인간 아넥신 A1 (Anx-A1)에 결합하는 특이적 결합 분자, 특히 단클론성 항체와 이의 단편, 및 특정 질환의 치료에서 이의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 본 발명의 특이적 결합 분자를 인코딩하는 핵산 분자 및 그와 같은 것과 본 특이적 결합 분자를 포함하는 조제품 및 조성물로 확장한다.

배경 기술

[0002] Anx-A1은 최근에 수많은 연구 그룹에 의해 선천성 및 적응성 면역계 둘 모두의 다양한 세포 유형에서 항상성 역할을 하는 것으로 밝혀졌다. 예를 들어, Anx-A1은 선천성 면역계 예컨대 중성구 및 대식세포의 세포에 대해 항상성 제어를 발휘하고, 또한 T-세포 수용체 (TCR) 신호전달의 강도를 조절함으로써 T-세포에서 역할을 수행하는 것으로 밝혀졌다 (D'Acquisto 등, Blood 109: 1095-1102, 2007).

[0003] 높은 수준의 Anx-A1은 T-세포 활성화에 대한 역치를 낮추고 T_H1 및 T_H17 세포로 CD4+ T-세포의 분화를 촉진한다. 그에 반해서, Anx-A1-결핍 마우스의 T-세포는 손상된 활성화와 T_H2 세포로 증가된 분화를 나타내는 것으로 밝혀졌다 (D'Acquisto 등, Eur. J. Immunol. 37: 3131-3142, 2007). 이들 발견은 특이적 결합 분자, 예컨대 항체를 사용한 Anx-A1의 표적화에 기반한, 수많은 질환, 특히 T-세포 매개된 질환에 대한 치료의 개발로 이어졌다 (예를 들어, WO 2010/064012, WO 2011/154705 및 WO 2013/088111 참고). 이런 식으로 Anx-A1을 표적 화합에 의해, T-세포 활성화의 수준이 감소되어 과잉T-세포 활성을 특징으로 하는 질환, 특히 자가면역 질환의 증상을 완화시킨다.

[0004] 4가지 인간 Anx-A1 전사 변이체가 알려져 있다: ANXA1-002, ANXA1-003, ANXA1-004 및 ANXA1-006으로, 이들은 Anx-A1 유전자의 대안적인 스플라이싱에 의해 수득된다. ANXA1-002 및 ANXA1-003은 Anx-A1의 전장 버전을 인코딩한다; 대안적인 스플라이싱에 기인하여 ANXA1-002 및 ANXA1-003 mRNA 전사체는 상이한 길이를 갖지만, 각각 (서열번호: 10 및 11)에 의해 동일한 단백질이 인코딩된다. ANXA1-004 (서열번호: 12) 및 ANXA1-006 (서열번호: 13)에 의해 인코딩된 단백질은 전장 Anx-A1의 단편에 상응한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 발명자들은 고친화도로 인간 Anx-A1에 결합하고, 따라서 T-세포 활성화를 구체적으로 억제할 수 있는 단클론성 항체를 확인하였다. 유익하게는, 본 항체는 임의의 부정적인 세포독성 효과를 야기함이 없이 T-세포 활성화를 억제할 수 있다. 본 항체는 T-세포 매개된 질환 예컨대 자가면역 질환 및 이식편대숙주 질환, 강박 장애 (OCD) 및 OCD-관련된 질환을 포함한 수많은 병태의 치료에 사용될 수 있다.

과제의 해결 수단

[0006] 숙련가에게 알려진 바와 같이, 항체는 2개 중쇄 및 2개 경쇄의: 4개 폴리펩타이드 사슬을 포함하는 단백질이다. 전형적으로, 중쇄는 서로에 대해서 동일하고 그리고 경쇄는 서로에 대해서 동일하다. 경쇄는 중쇄보다 더 짧다 (그리고 따라서 더 가볍다). 중쇄는 N-말단에서 가변성 (V_H)도메인이 위치되고, 이어서 3개 또는 4개 불변 도메인 (각각, N-말단으로부터 C-말단까지 C_H1 , C_H2 , C_H3 및, 존재하는 경우, C_H4)이 이어지는: 4개 또는 5개 도메인을 포함한다. 경쇄는 2개 도메인을 포함한다: N-말단에서 가변 (V_L) 도메인이 위치되고 C-말단에서 불변 (C_L) 도메인이 위치된다. 중쇄에서 비구조적인 힌지 영역은 C_H1 과 C_H2 도메인 사이에 위치된다. 항체의 2개의 중쇄는

한지 영역에 존재하는 시스테인 잔기 사이에 형성된 디설파이드 결합에 의해 연결되고, 각각의 중쇄는 각각 C_H1 및 C_L 도메인에 존재하는 시스테인 잔기 사이의 디설파이드 결합에 의해 일 경쇄에 연결된다.

- [0007] 포유동물에서 람다 (λ) 및 카파 (κ)로 알려진 경쇄의 2개 유형이 생산된다. 카파 경쇄의 경우, 가변 및 불변 도메인은 각각 V_K 및 C_K 도메인으로 지칭된다. 경쇄가 λ 또는 κ 경쇄인지 여부는 그것의 불변 영역에 의해 결정된다: λ 및 κ 경쇄의 불변 영역은 상이하지만, 임의의 주어진 종에서 동일한 유형의 모든 경쇄에서 동일하다.
- [0008] 중쇄의 불변 영역은 종에서 임의의 주어진 아이소타입의 모든 항체에서 동일하지만, 아이소타입 간에 상이하다 (항체 아이소타입의 예는 부류 IgG, IgE, IgM, IgA 및 IgD이다; 또한 수많은 항체 하위 유형이 있고, 예를 들어: IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4인 4가지 하위 유형의 IgG 항체가 있다). 항체의 특이성은 그것의 가변 영역의 서열에 의해 결정된다. 가변 영역의 서열은 임의의 개체에서 동일한 유형의 항체 간에 다양하다. 특히, 항체의 경쇄 및 중쇄 둘 모두는 3가지 초가변성 상보성-결정 영역 (CDR)을 포함한다. 한 쌍의 경쇄 및 중쇄에서, 2개 사슬의 CDR이 항원-결합 부위를 형성한다. CDR 서열은 항체의 특이성을 결정한다.
- [0009] 중쇄의 3가지 CDR은 N-말단으로부터 C-말단까지 VHCDR1, VHCDR2 및 VHCDR3으로 알려져 있고, 경쇄의 CDR은 N-말단으로부터 C-말단까지 VLCDR1, VLCDR2 및 VLCDR3으로 알려져 있다.
- [0010] WO 2011/154705에서, 고친화도로 Anx-A1을 결합하는 것으로 주장된 단클론성 항체가 개시되었다. 항체는 인간 Anx-A1 동형체 ANXA1-003으로 유전자적으로 면역화된 마우스로부터 쥐와 세포를 사용하여 쥐와 하이브리도마 (즉 쥐와 B-세포로부터 생성된 하이브리도마)로부터 생산되었다. 항체는 VJ-4B6으로 알려졌다. VJ-4B6은 아이소타입 IgG2b의 항체이다. 본 항체는 수탁번호 10060301로 유럽 세포 배양물 컬렉션 (ECACC)에 기탁된 하이브리도마에 의해 생산된다. VJ-4B6은 하기 CDR 서열을 갖는 것으로 정의되었다: VHCDR1 - GYTFTNYWIG (서열번호: 4; VHCDR2 - DIYPGGDYTNNEKFKG (서열번호: 5); VHCDR3 - WGLGYFDY (서열번호: 14); VLCDR1 - KASENVVTYVS (서열번호: 7); VLCDR2 - GASNRYT (서열번호: 8); 및 VLCDR3 - GQGYSPYT (서열번호: 9).
- [0011] 본 발명의 발명자들은 의약에 사용하기 위해 의도된 개시된 VJ-4B6 항체의 인간화된 버전을 합성했다. 인간화된 VJ-4B6 항체는 시험관내 인간 Anx-A1에 결합하지 못했다. 본 발명자들은 하이브리도마에 의해 생산된 항체를 재-검사하였고, 그리고 하이브리도마에 의해 생산된 소량 성분으로, 제2 경쇄를 확인했다. 이 경쇄의 서열이나 Anx-A1 결합 항체에서 그것의 존재 어느 것도 하이브리도마가 먼저 특징화되었을 때 확인되지 않았다.
- [0012] 제2 경쇄는 하기 서열을 갖는 CDR을 갖는다: VLCDR1 - RSSQSLNSNGKTYLN (서열번호: 1); VLCDR2 - GVSNRFS (서열번호: 2); 및 VLCDR3 - LQVTHVPYT (서열번호: 3). 이 제2 경쇄의 완전한 서열은 서열번호: 15에 제시되어 있다.
- [0013] 추가로, ECACC 10060301이 단지 단일 중쇄를 생성하는 것으로 확인된, 반면 본 중쇄의 재-분석은 VHCDR3이 사실상 서열 ARWGLGYFDY (서열번호: 6)를 갖는다는 것을 나타냈다. 하이브리도마 ECACC 10060301에 의해 생산된 중쇄의 완전한 서열은 서열번호: 16에 제시되어 있다.
- [0014] 경쇄가 서열번호: 15의 서열을 가지고 (즉 VLCDR1-3이 각각 서열번호: 1-3의 서열을 가짐) 중쇄가 서열번호: 16의 서열을 가지는 (즉 VHCDR1-3이 각각 서열번호: 4-6의 서열을 가짐) 쥐와 항체가 합성되었다. 또한, 아이소타입 IgG2b의 이 쥐와 항체는 Mdx001로 명명되었고, 고친화도로 인간 Anx-A1에 결합하는 것으로 밝혀졌다 (본 명세서에 제공된 실시예 참고). 본 항체는 이전에 알려지지 않은 서열 및 의약에서 다양한 유용성을 갖는다. 본 항체는 인간 Anx-A1에 결합하는 특히 높은 친화도를 가져, 이것이 의약에서 특히 유용하고, 그리고 이전에 개시되었던 Anx-A1에 결합하는 항체 또는 다른 특이적 결합 분자에 비해 우월하게 한다.
- [0015] Mdx001 항체의 인간화된 버전이 생성되었다. 특히 MDX-L1H4 및 MDX-L2H2를 제공하는 항체의 2가지 인간화된 버전이 생성되었다. 이들 가변 영역의 서열은 서열번호 32 및 33 (MDX-L1H4의 경쇄 및 중쇄 가변 영역) 및 서열번호 34 및 35 (MDX-L2H2의 경쇄 및 중쇄 가변 영역)로 제공된다. 이들 서열에서 CDR은 Mdx001에 대해 상기 서열에서 제시된 바와 같다.
- [0016] Mdx001의 인간화된 버전의 VLCDR1 서열의 변형은 향상된 항체를 생성하는 것으로 밝혀졌다. 서열번호: 1 (상기에 상세한 바와 같이 Mdx001 VLCDR1의 서열임)의 위치 11에서 글리신 잔기의 치환은 항체 안정성 및 기능을 증진시킨다. 이론에 의한 구속됨 없이 이것은 CDR의 번역후 변형에 대한 부위를 제거함에 의해 달성되는 것으로 여겨진다. 구체적으로, 이 글리신 잔기의 치환은 단백질로부터 탈아미드화 부위를 제거하는 것으로 여겨진다. 서열번호: 1에 제시된 VLCDR1 서열은 서열 모티프 Ser-Asn-Gly를 포함한다. 이 서열 모티프는 Asn 잔기의 탈아미드화와 연관되어, 항체 안정성 및 표적 결합에 영향을 줄 수 있는, 아스파르트산 또는 이소아스파르트산으로

아스파라긴 잔기의 전환을 유발시킨다. Ser-Asn-Gly 모티프 내의 잔기 중 임의의 하나의 치환은 탈아미드화 부위를 제거하는 것으로 여겨진다.

- [0017] 놀랍게도, 발명자들은 (상기- 기재된 탈아미드화 부위 내에 위치한 글리신 잔기인) 위치 11에서의 글리신이 알라닌에 대해 치환되고, 천연의 Mdx001 항체에 비하여 그것의 표적 (Anx-A1)에 대해 향상된 결합을 나타내는 항체를 확인하였다. 알라닌에 대해 위치 11에서의 글리신의 치환을 포함하는 VLCDR1은 아미노산 서열 RSSQSLENSNAKTYLN (고딕체인 잔기는 상기 언급된 치환에 의해 도입된 알라닌임)을 갖는다. 이 아미노산 서열은 서열번호: 36으로 제시되고 VLCDR1 변이체 1로 지칭된다. 또한, 트레오닌에 대해 세린의 치환에 의한, 위치 9에서 변형된 VLCDR1을 포함하는 인간화된 항체가 또한 Mdx001에 비하여 Anx-A1의 향상된 결합을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 트레오닌에 대해 위치 9에서 세린의 치환을 포함하는 VLCDR1은 아미노산 서열 RSSQSLENTNGKTYLN (고딕체인 잔기는 상기 언급된 치환에 의해 도입된 트레오닌임)을 갖는다. 이 아미노산 서열은 서열번호: 37로 제시되고 VLCDR1 변이체 2로 지칭된다.
- [0018] VLCDR1 변이체 1을 갖는 인간화된 항체 MDX-L1H4의 변형된 버전은 MDX-L1M2H4로 지칭되고; 상응하여 VLCDR1 변이체 1을 갖는 인간화된 항체 MDX-L2H2의 변형된 버전은 MDX-L2M2H2로 지칭된다. VLCDR1 변이체 2를 갖는 인간화된 항체 MDX-L1H4의 변형된 버전은 MDX-L1M3H4로 지칭되고; 상응하여 VLCDR1 변이체 2를 갖는 인간화된 항체 MDX-L2H2의 변형된 버전은 MDX-L2M3H2로 지칭된다.
- [0019] 따라서, 제1 구현예에서, 본 발명은 인간 Anx-A1을 결합하는 단리된 특이적 결합 분자를 제공하고, 상기 특이적 결합 분자는 CDR들 VLCDR1, VLCDR2, VLCDR3, VHCDR1, VHCDR2 및 VHCDR3을 포함하고, 여기서 각각의 상기 CDR들은 아래와 같은 아미노산 서열을 갖는다:
- [0020] VLCDR1은 서열번호: 1 (RSSQSLENSNGKTYLN) 또는 서열번호: 36 (RSSQSLENSNAKTYLN) 또는 서열번호: 37 (RSSQSLENTNGKTYLN)에 제시된 서열을 가지고;
- [0021] VLCDR2는 서열번호: 2 (GVSNRFS)에 제시된 서열을 가지고;
- [0022] VLCDR3은 서열번호: 3 (LQVTHVPYT)에 제시된 서열을 가지고;
- [0023] VHCDR1은 서열번호: 4 (GYTFTNYWIG)에 제시된 서열을 가지고;
- [0024] VHCDR2는 서열번호: 5 (DIYPGGDYTNNEKFKG)에 제시된 서열을 가지고; 그리고
- [0025] VHCDR3은 서열번호: 6 (ARWGLGYFDY)에 제시된 서열을 갖거나; 또는, 각각의 서열에 대해, 거기에 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열. 바람직하게는 상기 서열 동일성은 적어도 90% 또는 95%이다.
- [0026] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 본 발명의 특이적 결합 분자를 함유하는 조제품을 제공하고, 여기서 인간 Anx-A1에 결합하는 조제품 내 특이적 결합 분자의 적어도 90%가 20 nM 미만, 바람직하게는 15 nM 또는 10 nM 미만의 K_d 로 결합한다.
- [0027] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 본 발명의 특이적 결합 분자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 제공한다. 본 발명의 핵산 분자를 포함하는 작제물은 또한 본 발명의 핵산 분자 또는 작제물을 포함하는 벡터로서 제공된다. 본 발명은 또한 본 발명의 핵산 분자, 작제물 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0028] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 본 발명의 특이적 결합 분자를 제조하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0029] i) 본 발명의 핵산 분자, 작제물 또는 벡터를 숙주 세포 안으로 도입하는 단계;
- [0030] ii) 특이적 결합 분자가 생산되도록 핵산 분자를 발현시키는 단계; 및
- [0031] iii) 바람직하게는 정제에 의해, 특이적 결합 분자를 수집하는 단계.
- [0032] 본 발명의 특이적 결합 분자 및 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 희석제, 캐리어 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물이 또한 본 발명에 의해 제공된다. 본 발명의 이 방법에 의해 수득될 수 있는 특이적 결합 분자가 또한 제공된다.
- [0033] 본 발명의 또 다른 구현예는 치료법에서 사용하기 위한 본 발명의 특이적 결합 분자이다. 본 발명은 또한 치료법에서 사용하기 위한 본 발명의 조제품 또는 약제학적 조성물을 제공한다. 특정 구현예에서, 치료법에서 사용

하기 위한 본 발명의 특이적 결합 분자, 조제품 또는 약제학적 조성물은 T-세포 매개된 질환, 강박 장애 (OCD) 또는 OCD-관련된 질환의 치료에 사용하기 위한 것이다.

[0034] 유사하게, 본 발명은 또한 T-세포 매개된 질환, OCD 또는 OCD-관련된 질환의 치료에 사용하기 위한 약제의 제조에 본 발명의 특이적 결합 분자 또는 조제품의 사용을 제공한다.

[0035] 본 발명은 또한 그것을 필요로 하는 대상체에게 본 발명의 특이적 결합 분자, 조제품 또는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, T-세포 매개된 질환, OCD 또는 OCD-관련된 질환에 대한 치료 방법을 제공한다.

[0036] 상기에서 언급된 바와 같이, 본 발명은 인간 Anx-A1에 결합하는 단리된 특이적 결합 분자를 제공한다. "특이적 결합 분자"는 특정 분자 파트너, 이 경우에 인간 Anx-A1에 특이적으로 결합하는 분자이다. 인간 Anx-A1에 특이적으로 결합하는 분자는 이것이 (예를 들어 실시예에서 기재된 바와 같은 친화도로) 다른 분자, 또는 적어도 대부분의 다른 분자에 결합하는 것보다 더 높은 친화도로 인간 Anx-A1에 결합하는 분자이다. 따라서, 예를 들어, 인간 Anx-A1에 결합하는 특이적 결합 분자가 인간 세포의 용해물과 접촉되는 경우, 특이적 결합 분자는 Anx-A1에 주로 결합할 것이다. 특히, 특이적 결합 분자는 상기 인간 Anx-A1 상에 존재하는 서열 또는 배치형태, 바람직하게는 다른 분자 상에는 존재하지 않는 독특한 서열 또는 배치형태에 결합한다. 특이적 결합 분자가 항체인 경우 서열 또는 배치형태는 특이적 결합 분자가 결합하는 에피토프이다. 특이적 결합 분자는 반드시 인간 Anx-A1에만 결합하지 않는다: 본 특이적 결합 분자는 특정 다른 미정의된 표적 분자와 교차-반응할 수 있거나, 또는 다수의 분자의 혼합물 (예컨대 세포 용해물 또는 그와 같은 것)과 접촉될 때 비-특이적 결합의 수준을 나타낼 수 있다. 무관하게, 본 발명의 특이적 결합 분자는 Anx-A1에 대해 특이성을 나타낸다. 숙련가는 당 업계에서의 표준기술, 예를 들어 ELISA, 웨스턴-블랏, 표면 플라즈몬 공명 (SPR), 등을 사용하여 특이적 결합 분자가 Anx-A1에 대해 특이성을 나타내는지 여부를 쉽게 확인할 수 있을 것이다.

[0037] 본 명세서에서 언급된 바와 같이, "인간 Anx-1에 결합하는" 분자는 위에서 기재된 바와 같이 인간 Anx-1 분자에 대해 특이성을 나타낸다. 상기에서 나타낸 바와 같이, 인간 Anx-A1의 4가지 인간 동형체가 있다. 본 발명의 특이적 결합 분자는 그것의 서열이 서열번호: 11 (및 서열번호: 10)로 제시된 전장 AnxA1 (즉 ANXA1-002 또는 ANXA1-003 전사체에 의해 인코딩된 Anx-A1)에 결합한다. (ANXA1-002 및 ANXA1-003 전사체에 의해 인코딩된 바와 같은) 전장 Anx-A1은 346 아미노산 단백질이다. 항체 Mdx-001은 ANXA1-002 및 ANXA1-003 전사체에 의해 인코딩된 바와 같은 전장 Anx-A1 단백질에 대해 상승된다. 따라서 본 특이적 결합 분자는 전장 인간 Anx-A1에 결합한다. 본 특이적 결합 분자는 또한 ANXA1-002 또는 ANXA1-003 전사체에 의해 인코딩된 바와 같은 전장 Anx-A1의 특정 단편, 일부분 또는 변이체, 예컨대 ANXA1-004 및 ANXA1-006 전사체에 의해 인코딩된 단편 또는 본 명세서에 기재된 항체가 결합하는 에피토프를 함유하는 전장 Anx-A1의 단편에 결합할 수 있다.

[0038] 본 특이적 결합 분자는 당해 분야에 알려진 임의의 방법에 의해 합성될 수 있다. 특히, 본 특이적 결합 분자는 단백질 발현 시스템, 예컨대 원핵 (예를 들어 박테리아) 세포 또는 진핵 (예를 들어 효모, 진균, 곤충 또는 포유동물) 세포를 사용한 세포 발현 시스템을 사용하여 합성될 수 있다. 특이적 결합 분자의 생산에 사용될 수 있는 세포는 이하에 추가로 논의된다. 대안적인 단백질 발현 시스템은 특이적 결합 분자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이 mRNA 안으로 전사되고, 상기 mRNA는 *시험관내*에서 단백질로 번역되는 무세포, *시험관내* 발현 시스템이다. 무세포 발현 시스템 키트가 널리 이용가능하고, 예를 들어 ThermoFisher Scientific (USA)으로부터 구매될 수 있다. 대안적으로, 특이적 결합 분자는 비-생물학적 시스템에서 화학적으로 합성될 수 있다. 본 발명의 특이적 결합 분자를 형성할 수 있거나 그 안에 포함될 수 있는 폴리펩타이드를 생성하기 위해 액체상 합성 또는 고체상 합성이 사용될 수 있다. 숙련가는 당 업계에서 일반적인 적절한 방법론을 사용하여 특이적 결합 분자를 쉽게 생산할 수 있다. 특히, 본 특이적 결합 분자는 포유동물 세포, 예컨대 CHO 세포에서 재조합으로 발현될 수 있다.

[0039] 지시된 바와 같이, 본 발명의 특이적 결합 분자는 "단리된"다. (대안적인 구현예에서 본 특이적 결합 분자는 단리되지 않는다.) 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "단리된"은 특이적 결합 분자가 이것이 제공되어 진 임의의 용액 또는 그와 같은 것의 일차 성분 (즉 다수 성분)이라는 것을 의미한다. 특히, 만일 특이적 결합 분자가 혼합물 또는 혼합된 용액에 초기에 생산된다면, 특이적 결합 분자의 단리는 이것이 이들로부터 분리 또는 정제되었다는 것을 의미한다. 따라서, 예를 들어, 특이적 결합 분자가 폴리펩타이드이고, 상기 폴리펩타이드가 상기에서 논의된 바와 같은 단백질 발현 시스템을 사용하여 생산되었다면, 본 특이적 결합 분자는 이것이 존재하는 용액 또는 조성물에서, 바람직하게는 용액 또는 조성물에서 다수의 폴리펩타이드를 구성하는, 대부분의 풍부한 폴리펩타이드가 되도록 그리고 천연의 생산 배지에 존재하는 다른 폴리펩타이드 및 생체 분자에 비하여 풍부하게 되도록 단리된다. 특히, 본 발명의 특이적 결합 분자는 이것이 용액 또는 조성물에서 우세한 (다수) 특이적 결합

분자가 되도록 단리된다. 바람직한 특징에 있어서, 특이적 결합 분자는 용액 또는 조성물에서 다른 성분, 특히 다른 폴리펩타이드 성분의 존재에 비교하여 평가될 때 적어도 60, 70, 80, 90, 95 또는 99% w/w의 순도로 용액 또는 조성물에 존재한다.

- [0040] 특이적 결합 분자가, 예를 들어 단백질 발현 시스템에서 생산된 단백질인 경우, 특이적 결합 분자의 용액은 본 발명의 특이적 결합 분자가 우세하고 따라서 단리되는지 여부를 확인하기 위해 정량적 프로테오믹스에 의해 분석될 수 있다. 예를 들어, 2D 겔 전기영동 및/또는 질량 분광분석법이 사용될 수 있다. 이러한 단리된 분자는 본 명세서에서 이후에 기재된 바와 같은 조제품 또는 조성물에 존재할 수 있다.
- [0041] 본 발명의 특이적 결합 분자는 당 업계에서 알려진 임의의 기술을 사용하여 단리될 수 있다. 예를 들어, 특이적 결합 분자가 폴리펩타이드인 경우, 이것은 적절한 결합 파트너를 사용하여 친화성 크로마토그래피에 의해 분자의 단리가 가능하도록 친화도 태그 예컨대 폴리히스티딘 태그, 스트랩 태그, FLAG 태그, 및 HA 태그 또는 그와 같은 것으로 생산될 수 있고, 예를 들어 폴리히스티딘 태그를 담지하는 분자는 Ni^{2+} 이온을 사용하여 정제될 수 있다. 특이적 결합 분자가 항체인 구현예에서, 본 특이적 결합 분자는 하나 이상의 항체-결합 단백질, 예컨대 단백질 G, 단백질 A, 단백질 A/G 또는 단백질 L을 사용한 친화성 크로마토그래피를 사용하여 단리될 수 있다. 대안적으로, 특이적 결합 분자는 예를 들어 크기-배제 크로마토그래피 또는 이온교환 크로마토그래피에 의해 단리될 수 있다. 반대로, 화학적 합성에 의해 (즉 비-생물학적 방법에 의해) 생산된 특이적 결합 분자는 단리된 형태로 생산될 것 같다. 따라서, 만일 본 발명의 특이적 결합 분자가 단리된 분자를 생산하는 방식으로 합성되는 경우, 이것이 단리되는 것으로 간주되는 특이적 정제 또는 단리 단계는 필요하지 않다.
- [0042] 본 발명의 특이적 결합 분자는 6개 CDR 서열인, VLCDR1, VLCDR2, VLCDR3, VHCDR1, VHCDR2 및 VHCDR3을 포함하고, 여기서 각각의 상기 CDR들은 아래와 같은 아미노산 서열을 갖는다:
- [0043] VLCDR1은 서열번호: 1, 36 또는 37에 제시된 서열을 가지고;
- [0044] VLCDR2는 서열번호: 2에 제시된 서열을 가지고;
- [0045] VLCDR3은 서열번호: 3에 제시된 서열을 가지고;
- [0046] VHCDR1은 서열번호: 4에 제시된 서열을 가지고;
- [0047] VHCDR2는 서열번호: 5에 제시된 서열을 가지고; 그리고
- [0048] VHCDR3은 서열번호: 6에 제시된 서열을 갖거나; 또는, 각각의 서열에 대해, 거기에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열.
- [0049] "또는, 각각의 서열에 대해, 거기에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열"은 각각의 상기 CDR들이 관련된 서열번호에서 명시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 가질 수 있다는 것을 의미한다. 따라서 VLCDR1은 서열번호: 1, 36 또는 37에서 제시된 서열, 또는 서열번호: 1, 36 또는 37에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 가진다; VLCDR2는 서열번호: 2에 제시된 서열, 또는 서열번호: 2에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 가진다; VLCDR3은 서열번호: 3에 제시된 서열, 또는 서열번호: 3에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 가진다; VHCDR1은 서열번호: 4에 제시된 서열, 또는 서열번호: 4에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 가진다; VHCDR2는 서열번호: 5에 제시된 서열, 또는 서열번호: 5에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 가진다; 그리고 VHCDR3은 서열번호: 6에 제시된 서열, 또는 서열번호: 6에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 가진다.
- [0050] 본 발명의 바람직한 구현예에서, VLCDR1은 서열번호: 1, 36 또는 37에서 제시된 서열을 가지고 (본 명세서에서 의미하는 것으로 구성됨), VLCDR2는 서열번호: 2에서 제시된 서열을 가지고, VLCDR3은 서열번호: 3에서 제시된 서열을 가지고, VHCDR1은 서열번호: 4에서 제시된 서열을 가지고, VHCDR2는 서열번호: 5에서 제시된 서열을 가지고; 그리고 VHCDR3은 서열번호: 6에서 제시된 서열을 가진다. 결합 분자에 사용된 서열은 본 명세서에서 기재된 서열을 포함할 수 있다.
- [0051] 지시된 바와 같이, 본 발명의 특이적 결합 분자는 폴리펩타이드 서열로 구성된 6개 CDR들을 포함한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "단백질" 및 "폴리펩타이드"는 교환가능하고, 그리고 각각은 하나 이상의 펩타이드 결합에 의해 연결된 2 또는 그 초과 아미노산의 서열을 지칭한다. 따라서, 특이적 결합 분자는 폴리펩타이드일 수 있다. 대안적으로, 특이적 결합 분자는 CDR 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리펩타이드를 포함할 수

있다. 바람직하게는, 본 발명의 특이적 결합 분자는 항체 또는 항체 단편이다.

[0052] 본 발명의 특정 구현예에서, 상기 CDR 서열의 조합된 서열은 서열번호: 1-6 또는 서열번호: 36 및 2-6 또는 서열번호: 37 및 2-6에 제시된 아미노산 서열의 조합된 서열에 적어도 85%, 90% 또는 95% (예를 들어 적어도 97 또는 98%) 서열 동일성을 갖는다. "CDR 서열의 조합된 서열" (또는 CDR의 조합된 서열)은 서열이 (관심 있는 분자에서는 이들이 개재하는 서열로 나타날지라도) 말단간에 조립될 때 형성된 서열을 의미한다. 환언하면, CDR 서열의 조합된 서열은 CDR 서열이 상기 열거된 순서로 함께 연결될 때 (즉 VLCDR1-VLCDR2-VLCDR3-VHCDR1-VHCDR2-VHCDR3) 수득된 아미노산 서열이고, 따라서 조합된 서열은 그것의 N-말단에 VLCDR1의 N-말단 아미노산을 가지고; VLCDR1의 C-말단은 VLCDR2의 N-말단에 직접적으로 연결되고; VLCDR2의 C-말단은 VLCDR3의 N-말단에 직접적으로 연결되고; VLCDR3의 C-말단은 VHCDR1의 N-말단에 직접적으로 연결되고; VHCDR2의 C-말단은 VHCDR3의 N-말단에 직접적으로 연결되고; 그리고 VHCDR3의 C-말단 아미노산은 조합된 서열의 C-말단을 형성한다. 본 명세서에서 "직접적으로 연결된"은 특정 CDR 서열의 N-말단 아미노산이 (서열 동일성 평가의 목적에 대해) 개재하는 아미노산 없이 이전의 CDR 서열의 C-말단 아미노산에 바로 옆에 배치된다는 것을 의미한다.

[0053] 서열번호: 1-6에 제시된 아미노산 서열의 조합된 서열은 상기 단락에서 기재된 과정에 의해 형성되는데, 즉 조합된 서열은 그것의 N-말단에 서열번호: 1의 N-말단 아미노산을 가지고; 서열번호: 1의 C-말단 아미노산은 서열번호: 2의 N-말단 아미노산 서열에 직접적으로 연결되고; 서열번호: 2의 C-말단 아미노산은 서열번호: 3의 N-말단 아미노산에 직접적으로 연결되고; 서열번호: 3의 C-말단 아미노산은 서열번호: 4의 N-말단 아미노산에 직접적으로 연결되고; 서열번호: 4의 C-말단 아미노산은 서열번호: 5의 N-말단 아미노산에 직접적으로 연결되고; 서열번호: 5의 C-말단 아미노산은 서열번호: 6의 N-말단 아미노산에 직접적으로 연결되고; 그리고 서열번호: 6의 C-말단 아미노산은 조합된 서열의 C-말단을 형성한다. 서열번호: 1-6에 제시된 아미노산 서열의 조합된 서열은 서열번호: 17에 그 자체로 제시된다.

[0054] 서열번호: 36 (또는 37) 및 2-6에서 제시된 아미노산 서열의 조합된 서열은, 서열번호: 1이 서열번호: 36 (또는 37)으로 대체된 것을 제외하고, 동등한 과정에 의해 형성된다. 서열번호: 36 및 2-6 (및 37 및 2-6)에 제시된 아미노산 서열의 조합된 서열은 서열번호: 38 (또는 39)에 제시되어 있다.

[0055] 특이적 결합 분자의 CDR이 서열번호: 1 (또는 36 또는 37) 및 2-6의 아미노산 서열에 100% 미만 서열 동일성을 갖는 본 발명의 구현예들에서, 본 CDR 서열은 서열번호: 1 (또는 36 또는 37) 및 2-6의 서열에서 적절한 수의 아미노산의 치환, 첨가 또는 결실에 의해 변경될 수 있다. 본 발명의 또 다른 구현예에서, 각각의 CDR 서열은 서열번호: 1 (또는 36 또는 37) 및 2-6에 비하여 최대 2개 아미노산의 치환, 첨가 또는 결실에 의해 변형될 수 있지만, 단, 수득한 CDR 서열은 상기에서 제시된 바와 같이 서열번호: 1 (또는 36 또는 37) 및 2-6에 적어도 85% 또는 90% 서열 동일성을 가진다. "치환, 첨가 또는 결실"에는 치환, 첨가 및 결실의 조합이 포함된다. 따라서, 특히, VLCDR1은 1 또는 2개 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 서열번호: 1 (또는 36 또는 37)의 서열을 가질 수 있고; VLCDR2는 1개 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 서열번호: 2의 서열을 가질 수 있고; VLCDR3은 1개 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 서열번호: 3의 서열을 가질 수 있고; VHCDR1은 1개 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 서열번호: 4의 서열을 가질 수 있고; VHCDR2는 1 또는 2개 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 서열번호: 5의 서열을 가질 수 있고; 그리고 VHCDR3은 1개 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 서열번호: 6의 서열을 가질 수 있다. 바람직하게는 서열번호: 1, 36 또는 37의 상기 1 또는 2개 아미노산 치환은 그 서열에서 위치 9 및/또는 11에 있다.

[0056] CDR 서열이 특정 아미노산 잔기의 치환에 의해 변형될 때, 본 치환은 보존적 아미노산 치환일 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "보존적 아미노산 치환"은 하나의 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 또 다른 아미노산 잔기로 대체되는 아미노산 치환을 지칭한다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산은 유사한 특성을 갖는 경향이 있고, 따라서 폴리펩타이드의 구조 또는 기능에 대해 중요한 아미노산의 보존적 치환은 동일한 위치에서 비-보존적 아미노산 치환보다 덜 폴리펩타이드 구조/기능에 영향을 주는 것으로 기대될 수 있다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 계열은 염기성 측쇄 (예를 들어 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예를 들어 아스파르트산, 글루탐산), 무전하 극성 측쇄 (예를 들어 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신), 무극성 측쇄 (예를 들어 글리신, 시스테인, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판) 및 방향족 측쇄 (예를 들어 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 포함하여, 당 업계에서 정의되어 있다. 따라서 보존적 아미노산 치환은 특정 아미노산 잔기가 동일한 계열에서 상이한 아미노산에 대해 치환된 치환인 것으로 간주될 수 있다. 그러나, CDR 잔기의 치환은, 하나의 아미노산이 상이한 계열에 속하는 측쇄를 갖는 또 다른 것에 대해 치환된, 동등하게 비-보존적 치환일 수 있다.

- [0057] 본 발명의 범위에서 아미노산 치환 또는 첨가는 유전자 암호에 의해 인코딩된 단백질을 구성하는 아미노산, 유전자 암호에 의해 인코딩되지 않은 단백질을 구성하는 아미노산, 또는 비-단백질을 구성하는 아미노산을 사용하여 이루어질 수 있다. 바람직하게는 임의의 아미노산 치환 또는 첨가는 단백질을 구성하는 아미노산을 사용하여 이루어진다. CDR의 서열을 구성하는 아미노산은 자연적으로 발생하지 않지만, 자연적으로 발생하는 아미노산의 변형인 아미노산을 포함할 수 있다. 이들 비-자연 발생 아미노산이 서열을 변형하지 않고 특이성에 영향을 주지 않으면, 이들은 서열 동일성을 감소함에 없이 본 명세서에서 기재된 CDR을 생성하기 위해 사용될 수 있고, 즉 본 CDR의 아미노산을 제공하는 것으로 간주된다. 예를 들어, 아미노산의 유도체 예컨대 메틸화된 아미노산이 사용될 수 있다. 일 양태에서, 본 발명의 특이적 결합 분자는 천연 분자가 아니고, 즉 자연에서 발견된 분자가 아니다.
- [0058] 서열번호: 1-6, 36 및 37에 제시된 CDR의 아미노산 서열에 대한 변형은 임의의 적합한 기술, 예컨대 인코딩 DNA 서열의 부위 지향적 돌연변이 유발 또는 고체 상태 합성을 사용하여 이루어질 수 있다.
- [0059] 본 발명의 특이적 결합 분자는 상기-기재된 CDR을 포함한다. 추가로, 이러한 분자는 CDR의 적절한 제시를 허용하는 링커 모이어티 또는 프레임워크 서열을 함유할 수 있다. 추가의 특성, 예를 들어 위에서 기재된 것들과 같은 CDR을 함유하는 분자의 단리 또는 확인을 허용하는 펩타이드 서열을 편리하게 부여할 수 있는 추가의 서열이 또한 존재할 수 있다. 그와 같은 경우에 융합 단백질이 생성될 수 있다.
- [0060] 상기에서 언급된 바와 같이, 본 발명의 특이적 결합 분자의 CDR은 상기에 제시된 바와 같은 서열번호: 1 (또는 36 또는 37) 및 2-6에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다. 서열 동일성은 임의의 편리한 방법에 의해 평가될 수 있다. 그러나, 서열 간에 서열 동일성의 정도를 결정하기 위해, 서열의 쌍별 또는 다중 정렬을 만드는 컴퓨터 프로그램이 유용하고, 임의의 다른 적절한 프로그램이 사용될 수 있지만, 예를 들어 EMBOSS 니들 또는 EMBOSS 신장구 (양자 [Rice, P. 등, *Trends Genet.*, 16, (6) pp 276-277, 2000] 참고)가 쌍별 서열 정렬에 대해 사용될 수 있는 반면 Clustal Omega (Sievers F 등, *Mol. Syst. Biol.* 7:539, 2011) 또는 MUSCLE (Edgar, R.C., *Nucleic Acids Res.* 32(5):1792-1797, 2004)이 다중 서열 정렬에 대해 사용될 수 있다. 정렬이 쌍별이든 또는 다중이든 간에, 이것은 국소적으로 보다는 전반적으로 (즉 참조 서열의 전체에 걸쳐) 수행되어야 한다.
- [0061] 서열 정렬 및 % 동일성 계산은 예를 들어 표준 Clustal Omega 파라미터: 매트릭스 Gonnet, 갭 개구 페널티 6, 갭 연장 페널티 1을 사용하여 결정될 수 있다. 대안적으로 표준 EMBOSS 니들 파라미터: 매트릭스 BLOSUM62, 갭 개구 페널티 10, 갭 연장 페널티 0.5가 사용될 수 있다. 임의의 다른 적합한 파라미터가 대안적으로 사용될 수 있다.
- [0062] 상이한 방법에 의해 수득된 서열 동일성 값 사이에 분쟁이 있는 본원의 목적상, 디폴트 파라미터를 갖는 EMBOSS 니들을 사용하여 전반적인 쌍별 정렬에 의해 수득된 값이 유효한 것으로 간주되어야 한다.
- [0063] 상기에서 언급된 바와 같이, 본 발명의 특이적 결합 분자는 바람직하게는 항체 또는 항체 단편이다. "항체"는 위에서 기재된 특징을 갖는 면역글로불린이다. CDR을 보유하지만, 이후에서 논의된 바와 같은 상이한 프레임워크로 제시되고, 동일한 방식으로 기능하는, 즉 항원에 대한 특이성을 보유하는 자연 발생 항체의 변이체가 또한 본 발명에 의해 고려된다. 따라서 항체는 자연 발생 도메인이 부분적으로 또는 전체적으로, 동일한 방식으로 기능하는 천연 또는 비-천연 등가물 또는 동족체로 대체된, 기능적 등가물 또는 동족체를 포함한다.
- [0064] 본 발명의 특이적 결합 분자가 항체일 때, 이것은 바람직하게는 단클론성 항체이다. "단클론성 항체"는 단일 항체 종으로 구성되는 항체 제제를 의미하고, 즉 제제 내의 모든 항체는 동일한 CDR을 포함하여 동일한 아미노산 서열을 가지고, 따라서 동일한 효과로 그것의 표적 항원 ("표적 항원"은 특정 항체에 의해 결합된 에피토프를 함유하는 항원을 의미하고, 즉 항-Anx-A1 항체의 표적 항원은 Anx-A1임) 상의 동일한 에피토프에 결합한다. 환언하면, 본 발명의 항체는 바람직하게는 항체의 다클론성 혼합물의 일부가 아니다.
- [0065] 상기에 기재된 바와 같이, 항체에 있어서, CDR 서열은 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인에 위치된다. CDR 서열은 폴리펩타이드 프레임워크 내에 자리하며, 이는 CDR을 항원 결합을 위해 적절하게 위치시킨다. 따라서 가변 도메인의 나머지 (즉 CDR 중 임의의 하나의 일부를 형성하지 않는 가변 도메인 서열의 일부)는 프레임워크 영역을 구성한다. 성숙한 가변 도메인의 N-말단은 프레임워크 영역 1 (FR1)을 형성하고; CDR1과 CDR2 사이의 폴리펩타이드 서열은 FR2를 형성하고; CDR2와 CDR3 사이의 폴리펩타이드 서열은 FR3을 형성하고; 그리고 불변 도메인에 CDR3을 연결하는 폴리펩타이드 서열은 FR4를 형성한다. 본 발명의 항체에 있어서 가변 영역 프레임워크 영역은 항체가 그것의 CDR을 통해 인간 Anx-A1에 결합하도록 임의의 적절한 아미노산 서열을 가질 수 있다. 불변 영역은 임의의 포유동물 (바람직하게는 인간) 항체 아이소타입의 불변 영역일 수 있다.

- [0066] 본 발명의 특정 구현예들에서 특이적 결합 분자는 다중-특이적, 예를 들어 이중 특이적 단클론성 항체일 수 있다. 다중-특이적 결합 분자는 적어도 2개의 상이한 분자 결합 파트너에 결합하는, 예를 들어 2개 또는 그 초과 상이한 항원 또는 에피토프에 결합하는 영역 또는 도메인 (항원-결합 영역)을 함유한다. 이중 특이적 항체의 경우에 있어서, 항체는 상기에 기재된 바와 같은 형성에서 2개의 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 단, 2개 중쇄 및 2개 경쇄의 가변 도메인 각각은 상이하고, 따라서 2개의 상이한 항원-결합 영역을 형성한다. 본 발명의 다중-특이적 (예를 들어 이중 특이적) 결합 분자, 예를 들어 단클론성 항체에 있어서, 항원-결합 영역 중 하나는 본 명세서에서 정의된 바와 같은 본 발명의 특이적 결합 분자의 CDR 서열을 가지고, 따라서 Anx-A1를 결합한다. 본 발명의 다중-특이적 결합 분자의 다른 항원-결합 영역(들)은 본 발명의 CDR에 의해 형성된 항원-결합 영역에 상이하고, 예를 들어 본 발명의 특이적 결합 분자에 대해 본 명세서에서 정의된 것들에 상이한 서열을 갖는 CDR을 가진다. 예를 들어, 이중 특이적 항체에서, 특이적 결합 분자의 추가의 (예를 들어 제2) 항원-결합 영역(들)은 또한, 그러나 (본 발명의 특이적 결합 분자의 CDR을 갖는) Anx-A1에 결합하는 제1 항원-결합 영역에 대한 상이한 에피토프에서 Anx-A1을 결합할 수 있다. 대안적으로, 추가의 (예를 들어 제2) 항원-결합 영역(들)은 Anx-A1이 아닌 추가의 (예를 들어 제2), 상이한 항원(들)을 결합할 수 있다. 대안적인 구현예에서, 예를 들어 항체에서 특이적 결합 분자에서의 2개 또는 그 초과 항원-결합 영역 각각은 동일한 항원에 결합할 수 있고, 즉 다가 (예를 들어 2가) 분자를 제공할 수 있다.
- [0067] 본 특이적 결합 분자는 인간 Anx-A1를 결합할 수 있는 항체 단편 또는 합성 작제물일 수 있다. 항체 단편은 문헌 [Rodrigo 등, *Antibodies*, Vol. 4(3), p. 259-277, 2015]에 논의되어 있다. 본 발명의 항체 단편은 바람직하게는 단클론성이다 (즉 이들은 항체 단편의 다클론성 혼합물의 일부가 아니다). 항체 단편은, 예를 들어, Fab, F(ab')₂, Fab' 및 Fv 단편을 포함한다. Fab 단편은 문헌 [Roitt et al., *Immunology* second edition (1989), Churchill Livingstone, London]에 논의되어 있다. Fab 단편은 항체의 항원-결합 도메인을 구성하고, 즉 개체 항체는, 그 각각이 경쇄와 중쇄의 그것의 연합된 N-말단 부분을 구성하는, 2개의 Fab 단편을 함유하는 것으로 나타날 수 있다. 따라서 Fab 단편은 전체 경쇄와 이것이 결합되는 중쇄의 V_H 및 C_H1 도메인을 함유한다. Fab 단편은 파파인으로 항체를 단리함에 의해 수득될 수 있다.
- [0068] F(ab')₂ 단편은 항체의 2개의 Fab 단편, 플러스 2개의 중쇄를 함께 연결하는 디설파이드 결합을 포함한 무거운 도메인의 힌지 영역으로 구성된다. 환언하면, F(ab')₂ 단편은 2개의 공유적으로 연결된 Fab 단편으로 보여질 수 있다. F(ab')₂ 단편은 펩신으로 항체를 단리함에 의해 수득될 수 있다. F(ab')₂ 단편의 환원은 다른 분자에 대한 단편의 콘주게이션에 유용할 수 있는 추가의 설프하이드릴 기를 함유하는 Fab 단편으로 관찰될 수 있는 2개의 Fab' 단편을 생성한다.
- [0069] Fv 단편은 경쇄 및 중쇄의 단지 가변 도메인으로 구성된다. 이들은 공유결합되지 않고 단지 약하게 비-공유 상호작용에 의해 함께 유지된다. Fv 단편은 단일 사슬 Fv (scFv) 분자로 알려진 합성 작제물을 생산하도록 변형될 수 있다. 그와 같은 변형은 단일 폴리펩타이드가 V_H 및 V_L 도메인 둘 모두를 포함하는 융합 단백질을 생산하도록 항체 유전자를 조작함에 의해 전형적으로 재조합으로 수행된다. scFv 단편은 일반적으로, 분자의 안정성에 기여하는, V_H 및 V_L 영역을 공유적으로 연결하는 펩타이드 링커를 포함한다. 링커는 1 내지 20 아미노산, 예컨대, 예를 들어 1, 2, 3 또는 4 아미노산, 5, 10 또는 15 아미노산, 또는 편리하기로는 1 내지 20의 범위에서의 다른 중간 수의 아미노산을 포함할 수 있다. 펩타이드 링커는 임의의 일반적으로 편리한 아미노산 잔기, 예컨대 글리신 및/또는 세린으로부터 형성될 수 있다. 적합한 링커의 일 예는 Gly₄Ser이다. 이러한 링커의 다량체, 예컨대 예를 들어 이량체, 삼량체, 사량체 또는 오량체, 예를 들어 (Gly₄Ser)₂, (Gly₄Ser)₃, (Gly₄Ser)₄ 또는 (Gly₄Ser)₅가 사용될 수 있다. 그러나, 링커가 존재하는 것이 필수적인 것은 아니고, V_L 도메인은 펩타이드 결합에 의해 V_H 도메인에 연결될 수 있다. scFv는 본 명세서에서 항체 단편으로 정의된다.
- [0070] 본 특이적 결합 분자는 scFv의 유사체일 수 있다. 예를 들어, scFv는 다른 특이적 결합 분자 (예를 들어 (예를 들어 인간 프레임워크를 갖는) 다른 scFv, Fab 항체 단편 및 키메라 IgG 항체)에 연결될 수 있다. scFv는 다중-특이적 결합 단백질, 예를 들어 이량체, 삼량체 또는 사량체인 다량체를 형성하기 위해 다른 scFv에 연결될 수 있다. 이중 특이적 scFv는 때때로 디아바디, 트리아바디와 같은 삼중-특이적 scFv 및 테트라바디와 같은 테트라-특이적 scFv로 지칭된다. 다른 구현예에서 본 발명의 scFv는 다른, 동일한 scFv 분자에 결합될 수 있고, 따라서 모노-특이적인 다량체를 형성하지만 다가, 예를 들어 2가 이량체 또는 3가 삼량체가 형성될 수 있다.
- [0071] 사용될 수 있는 합성 작제물은 CDR 펩타이드를 포함한다. 이들은 항원-결합 결정인자를 포함하는 합성 펩타이드

이다. 펩타이드 모방체가 또한 사용될 수 있다. 이들 분자는 일반적으로 CDR 루프의 구조를 모방하고 항원-상호 작용 측쇄를 포함하는 형태적으로-제한된 유기 고리이다.

[0072] 상기에서 언급된 바와 같이, 본 발명의 특이적 결합 분자의 CDR 서열이 기초되어 지는 서열번호: 1-6의 CDR 서열은 초기에 젓과 항체 Mdx001에서 확인되었다. 언급된 바와 같이, Mdx001 경쇄는 서열번호: 15의 서열을 가지고 Mdx001 중쇄는 서열번호: 16의 서열을 갖는다 (신호 서열을 포함하는 양 사례에서, 이것은 각각 서열번호: 15의 제1 20개 아미노산 및 서열번호: 16의 제1 19개 아미노산에 상응한다). Mdx001의 경쇄 및 중쇄 가변 도메인은 각각 서열번호: 18 및 19에서 제시된 서열을 갖는다. 본 발명의 특정 구현예들에서, 특이적 결합 분자는, 신호 서열을 포함할 수 있거나 배제할 수 있는, 각각 서열번호: 15 및 16의 서열을 포함하거나 갖는 (구성되는) 경쇄 및 중쇄를 포함하는 항체일 수 있고, 예를 들어 본 발명의 특이적 결합 분자는 Mdx001 항체, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일성을 갖는 (그러나 CDR에 대해 85% 서열 동일성 요건을 만족하는) 서열일 수 있다. 본 발명의 다른 구현예들에서, 특이적 결합 분자는 신호 서열을 포함할 수 있거나 배제할 수 있는, 각각 서열번호: 15 및 16의 서열을 포함하거나 갖는 경쇄 및 중쇄를 포함하는 항체로부터 수득된 항체 단편일 수 있고, 예를 들어 이것은 그러한 항체의 항원-결합 영역을 포함하는 Fab 또는 그러한 항체의 경쇄 및 중쇄의 가변 영역을 포함하는, 예를 들어 각각 서열번호: 18 및 19의 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일성을 갖는 (그러나 CDR에 대해 85% 서열 동일성 요건을 만족하는) 서열을 포함하거나 갖는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하는 scFv일 수 있다. 이러한 서열을 갖는 항체 또는 항체 단편은 젓과 서열을 함유한다. 그러나, 바람직하게는, 본 발명의 항체 또는 항체 단편은 그것이 인간에서 치료적 용도에 대해 보다 적합하게 되도록 변형된다.

[0073] 본 발명의 항체 또는 항체 단편은 인간/마우스 키메라 항체일 수 있거나, 또는 바람직하게는 인간화될 수 있다. 이것은 특히 단클론성 항체 및 항체 단편에 대한 경우이다. 분자가 인간 치료제로 사용되어 지는 경우 인간화된 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이 바람직하다. 젓과 항체로 인간의 치료적 처치는 수많은 이유, 예를 들어 항체의 짧은 *생체내* 반감기; 인간 면역효과기 세포상의 Fc 수용체에 의한 젓과 중쇄 불변 영역의 낮은 인식에 기인한, 마우스 중쇄 불변 영역에 의해 매개된 약한 효과기 기능; 항체에 대한 환자 민감화, 및 인간 항-마우스 항체 (HAMA) 반응의 생성; 및 치료적 효능의 손실을 초래하는 HAMA에 의한 마우스 항체의 중성화 때문에 효과가 없을 수 있다.

[0074] 키메라 항체는 하나의 종으로부터 유래된 가변 영역 및 또 다른 것으로부터 유래된 불변 영역을 갖는 항체이다. 따라서 본 발명의 항체 또는 항체 단편은 젓과 가변 도메인 및 인간 불변 도메인을 포함하는 키메라 항체 또는 키메라 항체 단편일 수 있다. 젓과 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 18에 제시된 서열을 갖는 Mdx001 경쇄 가변 도메인일 수 있다. 대안적으로, 젓과 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 18에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 갖는 서열일 수 있고, 여기서 CDR 서열 VLCDR1-3은 각각 서열번호: 1-3에 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다. 젓과 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 19에 제시된 서열을 갖는 Mdx001 중쇄 가변 도메인일 수 있다. 대안적으로, 젓과 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 19에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 갖는 서열일 수 있고, 여기서 CDR 서열 VHCDR1-3은 각각 서열번호: 4-6에 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다.

[0075] 상기에 상세한 바와 같이, 항체의 아이소타입은 그것의 중쇄 불변 영역의 서열에 의해 정의된다. 본 발명의 키메라 항체는 임의의 인간 항체 아이소타입, 및 각각의 아이소타입 내의 임의의 하위-부류의 불변 영역을 가질 수 있다. 예를 들어, 키메라 항체는, 비록 바람직하게는 본 발명의 항체는 IgG 아이소타입의 것이지만, IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM 항체의 Fc 영역을 가질 수 있다 (즉 키메라 항체는 각각 중쇄 α , δ , ϵ , γ 또는 μ 의 불변 도메인을 포함할 수 있다). 따라서 본 발명의 키메라 항체는 임의의 아이소타입의 것일 수 있다. 키메라 항체의 경쇄는 κ 또는 λ 경쇄 중 어느 하나일 수 있고, 즉 이것은 인간 λ 경쇄 또는 인간 κ 경쇄의 불변 영역을 포함할 수 있다. 상응하여, 키메라 항체 단편은 불변 도메인을 포함하는 항체 단편 (예를 들어 Fab, Fab' 또는 $F(ab')_2$ 단편)이다. 본 발명의 키메라 항체 단편의 불변 도메인은 상기에 기재된 바와 같이 키메라 단클론성 항체에 대한 것일 수 있다.

[0076] 키메라 항체는 임의의 적합한 기술, 예를 들어, 젓과 가변 도메인의 DNA 서열이 키메라 항체를 인코딩하도록 인간 불변 도메인(들)의 DNA 서열에 융합되는, 재조합 DNA 기술을 사용하여 생성될 수 있다. 키메라 항체 단편은 이러한 폴리펩타이드를 인코딩하는 DNA 서열을 생성하도록 재조합 DNA 기술을 사용하거나, 또는 상기에 기재된 바와 같은 원하는 단편을 생성하도록 본 발명의 키메라 항체를 가공함에 의해 수득될 수 있다. 키메라 항체는

인간 치료법에 컷과 항체를 사용하는 것과 연관된 짧은 생체내 반감기 및 약한 효과기 기능의 문제를 극복하는 것으로 기대될 수 있고, 그리고 환자 민감화 및 HAMA가 발생하는 개연성을 줄일 수 있다. 그러나, 환자 민감화 및 HAMA는 가변 도메인에 컷과 서열의 존재에 기인하여, 키메라 항체가 인간 환자에게 투여될 때 여전히 발생할 수 있다.

[0077] 바람직하게는 본 발명의 항체 또는 항체 단편은 따라서 완전하게 인간화된다. 인간화된 항체는, 인간 불변 도메인으로 대체된 항체 사슬의 불변 도메인이 있을 뿐만 아니라, 가변 영역의 아미노산 서열이, 바람직하게는, 항체에 비-인간 서열만이 CDR 서열이 되도록, 특히 외래 (예를 들어 컷과) 프레임워크 서열을 인간 프레임워크 서열로 대체하도록 변형된, 또 다른 중, 예를 들어 마우스로부터 유래된 항체이다. 인간화된 항체는 환자 민감화 및 HAMA가 발생하는 개연성을 회피하거나 최소화하는 것을 포함하여, 인간에서 비-인간 항체의 치료적 용도와 연관된 모든 문제를 극복할 수 있다.

[0078] 항체 인간화는, 비록 당 업계에서의 임의의 다른 기술이 사용될 수 있지만, CDR 이식으로 알려진 과정에 의해 일반적으로 수행된다. 항체 이식은 R. Kontermann 및 S. Dubel에 의해 편집된, 문헌 [Williams, D.G. 등, Antibody Engineering Vol. 1, Chapter 21, pp. 319-339]에 잘 기재되어 있다. 이 공정에서, 상기에 기재된 바와 같이 키메라 항체가 먼저 생성된다. 외래, 예를 들어 컷과, 가변 도메인의 후속적인 인간화는 가장 적절한 인간 가변 영역의 FR 내에 각각의 면역글로불린 사슬로부터의 컷과 CDR을 삽입하는 것을 포함한다. 이것은 알려진 인간 가변 도메인의 데이터베이스 (예를 들어 IMGT 또는 Kabat)로 컷과 가변 도메인을 정렬함에 의해 수행된다. 적절한 인간 프레임워크 영역은 최상의 정렬된 가변 도메인, 예를 들어 인간과 컷과 프레임워크 영역 사이의 높은 서열 동일성을 갖는 도메인, 동일한 길이의 CDR을 함유하는 도메인, (상동성 모델링에 기반하여) 가장 유사한 구조를 갖는 도메인, 등으로부터 확인된다. 컷과 CDR 서열은 그런 다음 재조합 DNA 기술을 사용하여 적절한 위치에서 리드 인간 프레임워크 서열 안으로 이식되고, 인간화된 항체는 그 다음 생산되고 그리고 표적 항원에 대한 결합에 대해 시험되었다. 항체 인간화의 과정은 추가의 지시 없이 본 기술을 수행할 수 있는 숙련된 개인에게 알려져 있고 이해된다. 항체 인간화 서비스는 또한 수많은 상업적 회사, 예를 들어 GenScript (미국/중국) 또는 MRC Technology (영국)에 의해 제공된다. 인간화된 항체 단편은 상기에 기재된 바와 같은 인간화된 항체로부터 쉽게 수득될 수 있다.

[0079] 따라서 본 발명의 항체 또는 항체 단편은 임의의 종으로부터 유래될 수 있고, 예를 들어, 이것은 컷과 항체 또는 항체 단편일 수 있다. 그러나, 항체 또는 항체 단편은 키메라 항체 또는 항체 단편인 것, 즉 단지 항체 또는 항체 단편의 가변 도메인만 비-인간이고, 불변 도메인 모두는 인간인 것이 바람직하다. 최적으로, 본 발명의 항체 또는 항체 단편은 인간화된 항체 또는 항체 단편이다.

[0080] Mdx001의 인간화된 버전, 즉 위에서 기재된 바와 같은 MDX-L1H4 및 MDX-L2H2가 발명자들에 의해 개발되었다. VLCDR1이 서열번호: 36 (변이체 1) 또는 37 (변이체 2)에서 제시된 바와 같은 서열을 갖는 바람직한 변이체가 또한 제공된다. 상기에 상세한 바와 같이, 본 발명의 항체는 서열번호: 36 또는 37에 제시된 아미노산 서열 (또는 거기에 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열)을 갖는 VLCDR1을 포함할 수 있고, 이러한 항체는 향상된 안정성을 가지고, 그리고 서열번호: 1의 VLCDR1을 포함하는 동등한 항체보다 더 높은 친화도로 Anx-A1을 결합할 수 있다. 따라서 이들 변형된 VLCDR1 서열을 포함하는 항체는 서열번호: 1의 VLCDR1을 포함하는 동등한 항체에 비하여 개선된 기능성을 갖는다. 이들 인간화된 항체는, 상기에 기재된 바와 같이 MDX-L1M2H4, MDX-L1M3H4, MDX-L2M2H2 및 MDX-L2M3H2로 명명되었다. MDX-L1H4 및 MDX-L2H2는 IgG 아이소타입, 구체적으로 하위-부류 IgG1의 것이다. 이들은 인간화되기 때문에, 이들은 보다 안전하게 그리고 Mdx001이 나타낼 수 있는 것보다 적은 부작용으로 인간 환자에게 투여될 수 있다.

[0081] 상기에 상세한 바와 같이, 항체의 CDR은 그것의 결합 특이성, 즉 이것이 결합하는 표적(들) 및 이것이 그것의 표적(들)과 결합하는 친화도를 결정한다. 항체의 CDR 서열의 변경은 그것의 표적에 대한 항체의 결합을 손상 또는 폐지할 수 있다. 예상외로, 서열번호: 36 또는 37의 서열을 갖는 VLCDR1을 포함하는 Mdx001의 인간화된 버전은 Mdx001에 비하여 Anx-A1에 대한 개선된 친화도를 갖는다. 하기 실시예에서 실증된 바와 같이, MDX-L1M2H4 및 MDX-L2M2H2 각각은 Mdx001에 비하여 Anx-A1 결합에 대해 개선된 K_D 값을 가져 (사실상 MDX-L1M2H4는 Mdx001의 것 절반 미만의 Anx-A1에 대한 K_D 값을 가짐), 이들은 Mdx001이 결합하는 것보다 더 높은 친화도로 Anx-A1을 결합한다는 것을 의미한다 (사실상 MDX-L1M2H4는 Mdx001의 친화도 2배 이상으로 Anx-A1을 결합함). 표적 친화도에서의 이 개선은 Mdx001에 비한 MDX-L1H4 및 MDX-L2H2의 변이체에 대한 치료 잠재성에서의 개선에 상응한다.

[0082] 따라서 특정 구현예에서, 본 발명은 서열번호: 36 또는 37에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VLCDR1, 및 각각 서열번호: 2-6에서 제시된 아미노산 서열을 갖는 VLCDR2-3 및 VHCDR1-3을 포함하는 인간화된 항체 또는 이의 단

편을 제공한다.

- [0083] MDX-L1H4는 서열번호: 40에 제시된 아미노산 서열을 갖는 인간화된 경쇄 및 서열번호: 41에 제시된 아미노산 서열을 갖는 인간화된 중쇄를 포함한다. MDX-L2H2는 서열번호: 42에 제시된 아미노산 서열을 갖는 인간화된 경쇄 및 서열번호: 43에 제시된 아미노산 서열을 갖는 인간화된 중쇄를 포함한다. 숙련가에게 알려진 바와 같이, 항체 사슬은 자연에서 신호 서열을 가지고 생산된다. 항체 신호 서열은 가변 영역에 대한 N-말단인, 경쇄 및 중쇄의 N-말단에 위치한 아미노산 서열이다. 신호 서열은 이들이 생산된 세포로부터 방출을 위해 항체 사슬로 향한다. 서열번호: 40-43의 아미노산 서열 각각은 신호 서열을 포함한다. MDX-L1H4 및 MDX-L2H2 둘 모두의 경쇄의 신호 서열은 서열번호: 52에 제시되어 있고, 이것은 서열번호: 40 및 서열번호: 42의 제1 20개 아미노산에 상응한다; MDX-L1H4 및 MDX-L2H2 둘 모두의 중쇄의 신호 서열은 서열번호: 53에 제시되어 있고, 이것은 서열번호: 41 및 서열번호: 43의 제1 19개 아미노산에 상응한다.
- [0084] MDX-L1M2H4의 경쇄는 서열번호: 44에 제시된 아미노산 서열을 가지고, MDX-L1M3H4의 경쇄는 서열번호: 46에 제시된 아미노산 서열을 가진다. MDX-L1M2H4 및 MDX-L1M3H4의 중쇄는 MDX-L1H4에 비하여 변경되고, 즉 MDX-L1M2H4 및 MDX-L1M3H4 둘 모두는 서열번호: 41에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄를 포함한다. MDX-L1M2H4의 경쇄의 가변 영역은 서열번호: 48에 제시된 아미노산 서열을 가지고, MDX-L1M3H4의 가변 영역은 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열을 가진다.
- [0085] MDX-L2M2H2의 경쇄는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열을 가지고, MDX-L2M3H2의 경쇄는 서열번호: 47에 제시된 아미노산 서열을 가진다. MDX-L2M2H2 및 MDX-L2M3H2의 중쇄는 MDX-L2H2에 비하여 변경되고, 즉 MDX-L2M2H2 및 MDX-L2M3H2 둘 모두는 서열번호: 43에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄를 포함한다. MDX-L2M2H2의 경쇄의 가변 영역은 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열을 가지고, MDX-L2M3H2의 가변 영역은 서열번호: 51에 제시된 아미노산 서열을 가진다.
- [0086] 숙련된 개인에게 또한 알려진 바와 같이, 신호 서열은 이것이 합성된 세포로부터 단백질의 방출에 의해 항체 사슬로부터 절단된다. 신호 서열의 절단은 항체 사슬의 성숙으로 지칭될 수 있다; 이들이 만들어진 세포로부터 방출되어 진 기능적, 순환하는 항체는 신호 서열을 결하는 성숙한 중쇄 및 경쇄를 포함한다. 성숙한 MDX-L1H4 경쇄는 서열번호: 75에 제시된 아미노산 서열을 가지고, 성숙한 MDX-L1M2H4 경쇄는 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열을 가지고, 성숙한 MDX-L1M3H4 경쇄는 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열을 가지고 그리고 성숙한 MDX-L1H4 중쇄는 서열번호: 55에 제시된 아미노산 서열을 가진다 (이것은 모든 변이체 및 모 MDX-L1H4 서열에서 동일하다).
- [0087] 성숙한 MDX-L2H2 경쇄는 서열번호: 77에 제시된 아미노산 서열을 가지고, 성숙한 MDX-L2M2H2 경쇄는 서열번호: 78에 제시된 아미노산 서열을 가지고, 성숙한 MDX-L2M3H2 경쇄는 서열번호: 79에 제시된 아미노산 서열을 가지고 그리고 성숙한 MDX-L2H2 중쇄는 서열번호: 80에 제시된 아미노산 서열을 가진다 (이것은 모든 변이체 및 모 MDX-L2H2 서열에서 동일하다).
- [0088] 본 발명의 특정 구현예에서, 특이적 결합 분자는 하기를 포함한다:
- [0089] (i) 서열번호: 32, 34 또는 48-51에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 가지고 그리고 CDR 서열 VLCDR1-3이 각각 서열번호: 1, 36 또는 37 및 2-3에 적어도 85% 서열 동일성을 가지는 그것의 변이체를 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 가변 영역; 및
- [0090] (ii) 서열번호: 33 또는 35에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 가지고 그리고 CDR 서열 VHCDR1-3이 각각 서열번호: 4-6에 적어도 85% 서열 동일성을 가지는 그것의 변이체를 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄 가변 영역. 그와 같은 특이적 결합 분자는 항체 (특히 단클론성 항체)일 수 있거나, 또는 예를 들어, 상기에 논의된 바와 같은 항체 단편, 예를 들어 Fab, F(ab')₂, Fab', Fv 또는 scFv일 수 있다.
- [0091] 특이적 결합 분자는 MDX-L1H4 또는 MDX-L2H2 또는 이들의 변이체의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 인간화된 단클론성 항체일 수 있다. 항체에서, 경쇄 및 중쇄는 신호 서열을 포함할 수 있거나 배제할 수 있다. 본 특이적 결합 분자는 따라서 하기를 포함할 수 있다:
- [0092] (i) 서열번호: 40, 42, 44-47, 54 또는 75-79에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 가지고 그리고 CDR 서열 VLCDR1-3이 각각 서열번호:

1, 36 또는 37 및 2-3에 적어도 85% 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄; 및

[0093] (ii) 서열번호: 41, 43, 55 또는 80에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 가지고 그리고 CDR 서열 VHCDR1-3이 각각 서열번호: 4-6에 적어도 85% 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄.

[0094] 바람직한 구현예에서 특이적 결합 분자는 하기를 포함한다:

[0095] (i) 서열번호: 40, 44, 46, 54, 75 또는 76에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 가지고 그리고 CDR 서열 VLCDR1-3이 각각 서열번호: 1, 36 또는 37 및 2-3에 적어도 85% 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄; 및

[0096] (ii) 서열번호: 41 또는 55에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 가지고 그리고 CDR 서열 VHCDR1-3이 각각 서열번호: 4-6에 적어도 85% 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄.

[0097] 또 다른 바람직한 구현예에서, 특이적 결합 분자는 하기를 포함한다:

[0098] (i) 서열번호: 42, 45, 47 또는 77-79에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 가지고 그리고 CDR 서열 VLCDR1-3이 각각 서열번호: 1, 36 또는 37 및 2-3에 적어도 85% 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄; 및

[0099] (ii) 서열번호: 43 또는 80에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 가지고 그리고 CDR 서열 VHCDR1-3이 각각 서열번호: 4-6에 적어도 85% 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄.

[0100] 또 다른 바람직한 구현예에서, 특이적 결합 분자는 하기를 포함한다:

[0101] (i) 서열번호: 54, 75 또는 76에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 가지고 그리고 CDR 서열 VLCDR1-3이 각각 서열번호: 1, 36 또는 37 및 2-3에 적어도 85% 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄; 및

[0102] (ii) 서열번호: 55에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 가지고 그리고 CDR 서열 VHCDR1-3이 각각 서열번호: 4-6에 적어도 85% 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄.

[0103] 또 다른 바람직한 구현예에서, 특이적 결합 분자는 하기를 포함한다:

[0104] (i) 서열번호: 77-79에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 가지고 그리고 CDR 서열 VLCDR1-3이 각각 서열번호: 1, 36 또는 37 및 2-3에 적어도 85% 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄; 및

[0105] (ii) 서열번호: 80에 제시된 아미노산 서열, 또는 거기에 적어도 70% (바람직하게는 적어도 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 서열 동일성을 가지고 그리고 CDR 서열 VHCDR1-3이 각각 서열번호: 4-6에 적어도 85% 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄.

[0106] 특정 구현예에서, 특이적 결합 분자는 서열번호: 40에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 및 서열번호: 41에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄를 포함하는 항체이다.

[0107] 또 다른 구현예에서, 특이적 결합 분자는 서열번호: 42에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 및 서열번호: 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄를 포함하는 항체이다.

[0108] 또 다른 구현예에서, 특이적 결합 분자는 서열번호: 44에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 및 서열번호: 41에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄를 포함하는 항체이다.

[0109] 또 다른 구현예에서, 특이적 결합 분자는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 및 서열번호: 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄를 포함하는 항체이다.

다.

- [0110] 또 다른 구현예에서, 특이적 결합 분자는 서열번호: 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 및 서열번호: 41에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄를 포함하는 항체이다.
- [0111] 또 다른 구현예에서, 특이적 결합 분자는 서열번호: 47에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 및 서열번호: 43에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄를 포함하는 항체이다.
- [0112] 또 다른 구현예에서, 특이적 결합 분자는 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 및 서열번호: 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄를 포함하는 항체이다.
- [0113] 또 다른 구현예에서, 특이적 결합 분자는 서열번호: 75에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 및 서열번호: 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄를 포함하는 항체이다.
- [0114] 또 다른 구현예에서, 특이적 결합 분자는 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 및 서열번호: 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄를 포함하는 항체이다.
- [0115] 또 다른 구현예에서, 특이적 결합 분자는 서열번호: 77에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 및 서열번호: 80에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄를 포함하는 항체이다.
- [0116] 또 다른 구현예에서, 특이적 결합 분자는 서열번호: 78에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 및 서열번호: 80에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄를 포함하는 항체이다.
- [0117] 또 다른 구현예에서, 특이적 결합 분자는 서열번호: 79에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 경쇄 및 서열번호: 80에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 구성되는 중쇄를 포함하는 항체이다.
- [0118] 본 발명의 특이적 결합 분자는 바람직하게는 고친화도로 Anx-A1을 결합한다. 숙련가에게 알려진 바와 같이, 그것의 리간드 (또는 결합 파트너)에 대한 결합 분자의 친화도, 예컨대 그것의 표적 항원에 대한 항체의 친화도는 결합 분자와 리간드의 복합체에 대한 해리 상수 (K_d)에 의해 정량적으로 정의될 수 있다. 특이적 결합 분자, 예를 들어 항체의 K_d 값은 결합 분자 해리 속도 (즉 이것이 그것의 리간드로부터 얼마나 빠르게 해리하는가) 대 결합 분자 결합 속도 (즉 이것이 그것의 리간드를 얼마나 빠르게 결합하는가)의 비에 상응한다. 보다 낮은 K_d 값은 그것의 리간드에 대한 결합 분자의 더 높은 결합 친화도에 상응한다. 바람직하게는, 본 발명의 특이적 결합 분자는 20 nM 미만, 바람직하게는 15 nM 또는 10 nM 미만의 K_d 로 Anx-A1을 결합한다. 본 명세서에서 Anx-A1은 Anx-A1의 임의의 인간 동형체를 의미한다. 특히, 이것은 동형체 ANXA1-003을 지칭할 수 있다.
- [0119] 바람직하게는, 본 발명의 임의의 특이적 결합 분자는 20 nM 미만, 바람직하게는 15 nM 또는 10 nM 미만의 K_d 로 Anx-A1을 결합한다. 이것은 특히 본 발명의 특이적 결합 분자가 항체인 경우이다. 그러나, 만일 본 발명의 특이적 결합 분자가 항체 단편, 예를 들어 scFv인 경우, 일부 구현예에서 이것은 이보다 약간 더 낮은 친화도로 Anx-A1을 결합할 수 있고, 즉 그것의 Anx-A1을 결합하는 K_d 는 10 nM, 15 nM 또는 20 nM보다 더 높을 수 있고, 예를 들어 40 nM 미만이지만, 바람직하게는 20 nM 미만일 수 있다.
- [0120] Anx-A1에 대한 특이적 결합 분자의 결합의 K_d 는 바람직하게는, Ca^{2+} 이온이 적어도 1 mM의 농도로 존재하고, 선택적으로 HEPES가 10-20 mM의 농도로 존재하고, 그리고 pH가 7 내지 8, 바람직하게는 7.2 내지 7.5 사이를 포함하는 생리적 수준인 조건을 의미하는 항체 Mdx001에 대한 최적으로 확인된 결합 조건하에서 측정된다. NaCl은, 예를 들어 100-250 mM의 농도로 존재할 수 있고, 그리고 저농도의 세제, 예를 들어 폴리소르베이트 20이 또한 존재할 수 있다. 그와 같은 저농도는 예를 들어 0.01 내지 0.5% v/v일 수 있다. 편리하게는 실시예에서 기재된 바와 같은 방법이 사용될 수 있다. 대안적으로, 인간 Anx-A1에 대해 본 발명의 특이적 결합 분자의 결합

을 증진하는 것으로 확인된 임의의 다른 조건이 사용될 수 있다.

- [0121] 특이적 결합 분자와 그것의 리간드 사이의 상호작용의 K_d 가 계산될 수 있는 수많은 방법이 당 업계에서 잘 알려져 있다. 알려진 기술은 SPR (예를 들어, Biacore) 및 분극화-조절된 경사-입사 반사율 차이 (OI-RD)를 포함한다.
- [0122] 그것의 리간드에 대한 고친화도를 갖는 특이적 결합 분자는, 일반적으로, 그것의 리간드에 대한 고친화도를 갖는 특이적 결합 분자가 동일한 리간드에 대해 보다 낮은 친화도를 갖는 특이적 결합 분자보다 특정 효과를 달성하기 위해 더 적게 요구되기 때문에, 본 발명에서 유리하다. 예를 들어, 만일 특이적 결합 분자가 치료 용도인 경우, 동일한 리간드에 대해 보다 낮은 친화도를 갖는 특이적 결합 분자보다 그것의 리간드에 대한 고친화도를 갖는 특이적 결합 분자의 보다 낮은 투약량이 요구될 것이라는 것이 기대될 수 있다. 이것은 더 적은 또는 더 작은 용량의 특이적 결합 분자, 예를 들어 항체를 요구할 수 있는 환자에게 유리할 수 있고, 또한 치료를 위해 보다 적은 특이적 결합 분자가 필요할 수 있기 때문에 보다 경제적인 것이다.
- [0123] 본 발명은 또한 상기에 기재된 특이적 결합 분자를 포함하는 조제품을 제공한다. 인간 Anx-A1에 결합하는 조제품에서 특이적 결합 분자의 적어도 90%는 20 nM 미만, 바람직하게는 15 nM 또는 10 nM 미만의 K_d 로 결합한다. 결합 분자의 K_d 가 측정될 수 있는 기술, 및 K_d 가 측정될 수 있는 조건은 상기에 기재되어 있다. 대안적인 구현예에서, 인간 Anx-A1에 결합하는 조제품에서 특이적 결합 분자의 적어도 90%가 위에서 기재된 바와 같은 CDR을 가지고, 그리고 바람직하게는 각각의 분자 (예를 들어 항체)에 CDR의 2개 복제를 함유하는 본 발명의 특이적 결합 분자를 포함하는 조제품이 제공된다. 또 추가의 구현예에서 특이적 결합 분자가 항체 또는 이의 단편이고, 상기 조제품에서 항체 또는 단편의 적어도 90%가 본 발명의 상기 항체 또는 단편 (즉 위에서 기재된 바와 같은 CDR을 함유하고, 바람직하게는 위에서 기재된 CDR의 2개의 복제를 함유함)인 본 발명의 특이적 결합 분자를 포함하는 조제품이 제공된다. 본 발명에 따른 추가의 바람직한 조제품은 본 발명의 항체 단편, 단클론성 항체 또는 그것의 단편, 키메라 항체 또는 그것의 단편, 또는 인간화된 항체 또는 그것의 단편을 포함한다.
- [0124] 본 명세서에서 사용된 바와 같이 용어 "조제품"은 적어도 본 발명의 단리된 특이적 결합 분자를 함유하는 생성물 (예를 들어, 용액 또는 조성물)을 의미한다. 조제품은 특이적 결합 분자가 안정적으로 저장될 수 있는 형태, 즉 특이적 결합 분자가 분해되지 않거나 또는 변성되지 않거나, 또는 그것의 구조 또는 활성을 상실하지 않는 형태로 구성되어야 한다. 항체가 저장될 수 있는 적당한 조건은 숙련자에게 잘 알려져 있다. 본 발명의 조제품은 액상 제제 (즉, 용액), 예컨대 수성 조제품 (즉, 물로 구성된 용액) 또는 용매, 예컨대 하나 이상의 유기 용매로 구성되거나 또는 주로 용매로 구성된 조제품일 수 있다. 이러한 용매는 극성 또는 무극성일 수 있다. 대안적으로, 조제품은 동결 건조된 분말 같은 분말일 수 있거나, 또는 특이적 결합 분자의 저장을 위한 임의의 다른 적합한 형태로 될 수 있다. 이들 선택은 또한 본 발명의 조성물에 적용한다.
- [0125] 인간 Anx-A1에 결합하는 조제품에서 특이적 결합 분자의 적어도 90%는 20 nM 미만, 바람직하게는 15 nM 또는 10 nM 미만의 K_d 로 결합한다. 바람직하게는 인간 Anx-A1에 결합하는 조제품에서 특이적 결합 분자의 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%가 20 nM, 15 nM 또는 10 nM 미만의 K_d 로 결합한다. 이 구현예에서 특이적 결합 분자는 위에서 기재된 정의를 갖지만 반드시 본 발명의 특이적 결합 분자는 아니고, 즉 인간 Anx-A1에 결합하는 모든 특이적 결합 분자가 적어도 90%가 요구된 K_d 를 갖는지 결정하기 위해 평가된다. 바람직하게는 평가되는 특이적 결합 분자는 항체 또는 그것의 단편이다. 인간 Anx-A1은 Anx-A1의 임의의 인간 동형체를 의미한다. 특히, 이것은 동형체 ANXA1-003을 지칭할 수 있다. 숙련가는 그것의 리간드에 대한 특이적 결합 분자의 결합의 K_d 를 계산할 수 있다. 본 발명의 특이적 결합 분자의 K_d 가 계산될 수 있는 조건, 및 이것이 달성될 수 있는 방법은 상기에 언급되어 있다. 90%는 90% w/w가 아닌, Anx-A1를 결합하는 특이적 결합 분자의 수의 90% (즉 Anx-A1 10개 특이적 결합 분자 중의 9개)를 의미한다. 지적된 바와 같이, Anx-A1을 결합하는 특이적 결합 분자의 적어도 90%는 20 nM 미만, 바람직하게는 15 nM 또는 10 nM 미만의 K_d 로 결합한다. 이것은 조제품이 다른 항원을 결합하는 특이적 결합 분자의 임의의 농도를 함유하는 것을 배제하지 않는다. 따라서 이것은 인간 Anx-A1에 결합하는 분자가 아주 균일하고, 즉, 유사한 기능성을 갖는 조제품을 제공한다.
- [0126] 본 발명의 조제품 (및 조성물)은 특이적 결합 분자 예컨대 항체 또는 항체 단편의 저장에 유리할 수 있는 첨가제를 함유할 수 있다. 예를 들어, 만일 조제품이 액체인 경우, 조제품은 유익하게는 고농도의 냉동보호제, 예컨대 글리세롤 또는 에틸렌 글리콜, 예를 들어 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40% 또는 적어도 50% 글리세롤 또는 에틸렌 글리콜을 포함할 수 있다. 냉동보호제는 조제품이 저온에서 동결하는 것을 방지하여,

저장 동안 특이적 결합 분자를 얼음 손상으로부터 보호한다. 농축된 수크로스 (예를 들어 적어도 250 mM, 적어도 500 mM, 적어도 750 mM 또는 적어도 1 M 수크로스)가 유익하게는 액상 제제 내에 포함될 수 있다. 액상 제제는 또한 하나 이상의 산화 방지제, 예를 들어 β -머캅토에탄올 또는 디티오프레이톨, 하나 이상의 금속 킬레이트제, 예를 들어 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA), 및 하나 이상의 운반 단백질, 특히 소과 혈청 알부민 (BSA)을 포함할 수 있다. 액상 조제품은 바람직하게는 최대 1% BSA, 예를 들어 0.1-0.5% BSA를 포함한다. 본 발명의 조제품은 5-8, 예를 들어 6-8, 7-8 또는 7-7.5의 pH일 수 있다. pH는 조제품에 완충액, 예를 들어 트리스 (즉, 트리스(하이드록시메틸)아미노메탄), HEPES 또는 MOPS의 첨가에 의해 유지될 수 있다. 예를 들어, 조제품은 5-50 mM HEPES, 예를 들어 10-20 mM HEPES를 함유할 수 있다. 본 발명의 동결건조된 조제품 (또는 조성물)은 하나 이상의 안정제, 예컨대 폴리올, 예를 들어 글리세롤 또는 소르비톨, 및/또는 당, 예를 들어 수크로스, 트레할로스 또는 만니톨을 함유할 수 있다. 조제품은 또한 이하에서 기재된 조성물에 대해 기술된 바와 같은 추가의 성분을 함유할 수 있다.

- [0127] 본 발명은 또한 본 발명의 특이적 결합 분자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 제공한다. 따라서 본 발명은 상기에서 정의된 바와 같은 CDR 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 제공하고, 즉, 본 발명의 핵산 분자는 하기를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다:
- [0128] 서열번호: 1, 36 또는 37에 제시된 아미노산 서열 또는 거기에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 VLCDR1;
- [0129] 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열 또는 거기에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 VLCDR2;
- [0130] 서열번호: 3에 제시된 아미노산 서열 또는 거기에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 VLCDR3;
- [0131] 서열번호: 4에 제시된 아미노산 서열 또는 거기에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 VHCDR1;
- [0132] 서열번호: 5에 제시된 아미노산 서열 또는 거기에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 VHCDR2; 및
- [0133] 서열번호: 6에 제시된 아미노산 서열 또는 거기에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 VHCDR3.
- [0134] 뉴클레오타이드 서열 VLCDR1은 서열번호: 20, 85 또는 86에 제시된 뉴클레오타이드 서열 (각각은 서열번호: 1을 인코딩함), 서열번호: 20, 85 또는 86로 뉴클레오타이드 서열 퇴화물 또는 서열번호: 20, 85 또는 86에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 가질 수 있다. 서열번호: 20은 Mdx001의 VLCDR1 DNA 서열이고, 서열번호: 85는 MDX-L1H4의 VLCDR1 DNA 서열이고 그리고 서열번호: 86은 MDX-L2H2의 VLCDR1 DNA 서열이다.
- [0135] 대안적으로 뉴클레오타이드서열 VLCDR1은 서열번호: 65 또는 서열번호: 66에 제시된 뉴클레오타이드 서열 (각각은 서열번호: 36을 인코딩함), 서열번호: 65 또는 66으로 뉴클레오타이드 서열 퇴화물 또는 서열번호: 65 또는 66에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 가질 수 있다. 서열번호: 65는 MDX-L1M2H4의 VLCDR1 DNA 서열이고 서열번호: 66은 MDX-L2M2H2의 VLCDR1 DNA 서열이다.
- [0136] 대안적으로 뉴클레오타이드 서열 VLCDR1은 서열번호: 87 또는 88에 제시된 뉴클레오타이드 서열 (각각은 서열번호: 37을 인코딩함), 서열번호: 87 또는 88로 뉴클레오타이드 서열 퇴화물 또는 서열번호: 87 또는 88에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 가질 수 있다. 서열번호: 87은 MDX-L1M3H4의 VLCDR1 DNA 서열이고 서열번호: 88은 MDX-L2M3H2의 VLCDR1 DNA 서열이다.
- [0137] 뉴클레오타이드 서열 VLCDR2는 서열번호: 21 또는 67에 제시된 뉴클레오타이드 서열, 서열번호: 21 또는 67로 뉴클레오타이드 서열 퇴화물 또는 서열번호: 21 또는 67에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 가질 수 있다. 서열번호: 21은 Mdx001의 VLCDR2 DNA 서열이고; 서열번호: 67은 MDX-L1H4 및 MDX-L2H2 (MDX-L1H4 및 MDX-L2H2MDX-L1M2H4, MDX-L1M3H4, MDX-L2M2H2 및 MDX-L2M3H2의 변이체를 포함함)의 VLCDR2 DNA 서열이다.
- [0138] 뉴클레오타이드 서열 VLCDR3은 서열번호: 22, 68 또는 69에 제시된 뉴클레오타이드 서열, 서열번호: 22, 68 또는 69로 뉴클레오타이드 서열 퇴화물 또는 서열번호: 22, 68 또는 69에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성

을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 가질 수 있다. 서열번호: 22는 Mdx001의 VLCDR3 DNA 서열이고; 서열번호: 68은 MDX-L1H4 (그것의 변이체 MDX-L1M2H4 및 MDX-L1M3H4를 포함함)의 VLCDR3 DNA 서열이고; 서열번호: 69는 MDX-L2H2 (그것의 변이체 MDX-L2M2H2 및 MDX-L2M3H2를 포함함)의 VLCDR3 DNA 서열이다.

[0139] 뉴클레오타이드 서열 VHCDR1은 서열번호: 23, 70 또는 71에 제시된 뉴클레오타이드 서열, 서열번호: 23, 70 또는 71로 뉴클레오타이드 서열 퇴화물 또는 서열번호: 23, 70 또는 71에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 가질 수 있다. 서열번호: 23은 Mdx001의 VHCDR1 DNA 서열이고; 서열번호: 70은 MDX-L1H4 (그것의 변이체 MDX-L1M2H4 및 MDX-L1M3H4를 포함함)의 VHCDR1 DNA 서열이고; 서열번호: 71은 MDX-L2H2 (그것의 변이체 MDX-L2M2H2 및 MDX-L2M3H2를 포함함)의 VHCDR1 DNA 서열이다.

[0140] 뉴클레오타이드 서열 VHCDR2는 서열번호: 24 또는 72에 제시된 뉴클레오타이드 서열, 서열번호: 24 또는 72로 뉴클레오타이드 서열 퇴화물 또는 서열번호: 24 또는 72에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 가질 수 있다. 서열번호: 24는 Mdx001의 VHCDR2 DNA 서열이고; 서열번호: 72는 MDX-L1H4 및 MDX-L2H2 (그것의 변이체 MDX-L1M2H4, MDX-L1M3H4, MDX-L2M2H2 및 MDX-L2M3H2를 포함함)의 VHCDR2 DNA 서열이다.

[0141] 뉴클레오타이드 서열 VHCDR3은 서열번호: 25, 73 또는 74에 제시된 뉴클레오타이드 서열, 서열번호: 25, 73 또는 74로 뉴클레오타이드 서열 퇴화물 또는 서열번호: 25, 73 또는 74에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 가질 수 있다. 서열번호: 25는 Mdx001의 VHCDR3 DNA 서열이고; 서열번호: 73은 MDX-L1H4 (그것의 변이체 MDX-L1M2H4 및 MDX-L1M3H4를 포함함)의 VHCDR3 DNA 서열이고; 서열번호: 74는 MDX-L2H2 (그것의 변이체 MDX-L2M2H2 및 MDX-L2M3H2를 포함함)의 VHCDR3 DNA 서열이다. (바람직한 뉴클레오타이드 서열과 관련한 바람직한 양태에서, 뉴클레오타이드 서열은 서열번호: 20-25 또는 65-74에 적어도 96, 97, 98 또는 99% 서열 동일성을 가질 수 있다.)

[0142] 유전자 암호의 축퇴의 결과로서 임의의 주어진 아미노산 서열, 예컨대 본 명세서에서 기재된 바와 같은 CDR을 인코딩할 수 있는 많은 뉴클레오타이드 서열이 있다는 것이 당해 분야의 숙련가에 의해 인정될 것이다. 뉴클레오타이드 서열을 퇴화하는 것은, 구체적으로 위치 1에서 시작하는 참조 뉴클레오타이드 서열의 열린 해독틀 (즉, 인코딩 서열의 코돈 1이 참조 뉴클레오타이드 서열의 위치 1-3에 상응함)에서, 동일한 단백질 (또는 단백질 서열)을 인코딩하는 2개 (또는 그 초과) 뉴클레오타이드 서열을 의미한다. 따라서, 예를 들어, 뉴클레오타이드 서열이 서열번호 20으로 퇴화하는 것은 서열번호 20에는 상이하지만, 유전자 암호의 축퇴에 기인하여, 서열번호 20과 동일한 단백질 서열, 즉 서열번호 1의 CDR 아미노산 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.

[0143] 각각의 CDR에 대한 서열은 본 발명의 핵산 분자에 제공된다. 이들 서열은 바람직하게는 그 사이에 적절한 링커 서열이 제공되어, 발현될 때 이들이 표적 에피토프를 결합하도록 CDR의 제시를 위한 적절한 프레임워크를 제공한다. 중쇄 및 경쇄에 대한 CDR은 발현시에 이들이 상이한 폴리펩타이드 상에 발현되도록 제시될 수 있다. 본 발명의 일부 구현예들에서 중쇄 및 경쇄에 대한 CDR은 별개의 핵산 분자 상에 제공될 수 있다. 그와 같은 한 쌍의 분자는 본 발명의 추가 양태를 형성한다. 이하에서 기재된 작제물, 벡터 및 숙주 세포는 모든 CDR을 포함하는 단일 핵산 분자 또는, 별도로 중쇄 및 경쇄에 대한 CDR을 포함하는, 2개의 별개의 핵산 분자를 합체 또는 포함할 수 있다.

[0144] 본 발명의 특이적 결합 분자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 바람직하게는 항체 또는 이의 단편을 인코딩할 수 있다. 그와 같은 항체 또는 이의 단편은 상기 항체 또는 항체 단편의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인을 포함한다. 이 구현예에서, 뉴클레오타이드 서열은 바람직하게는 Mdx001 (또는 MDX-L1H4 또는 MDX-L2H2 또는 그것의 변이체) 항체의 가변 도메인의 서열을 인코딩하고, 즉 본 발명의 핵산 분자는 바람직하게는 서열번호: 18 (또는 32, 34, 48, 49, 50 또는 51)의 서열, 또는 거기에 적어도 70%, 80%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인, 및 서열번호: 19 (또는 33 또는 35)의 서열, 또는 거기에 적어도 70%, 80%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0145] 본 발명의 핵산 분자는 단리된 핵산 분자일 수 있고 추가로, DNA 또는 RNA, 또는 DNA 또는 RNA의 화학적 유도체를 포함할 수 있다. 용어 "핵산 분자"는 구체적으로 DNA 및 RNA의 단일 및 이중 가닥 형태를 포함한다.

[0146] 본 발명의 특이적 결합 분자를 인코딩하는 핵산 분자를 제조하는 방법은 당해 분야에서 잘 알려져 있고, 예를 들어 종래의 증합효소 연쇄 반응 (PCR) 클로닝 기술이 사용되어 본 발명의 핵산 분자를 구축할 수 있다. 본 발명의 특이적 결합 분자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 특정 유형 또는 기원의 세포에서 발현을 위해 코돈

-최적화될 수 있고, 예를 들어 서열은 CHO 세포에서 발현을 위해 햄스터-최적화될 수 있다.

[0147] 본 발명의 특정 구현예들에서 본 발명의 핵산 분자는 따라서 Mdx001의 경쇄 및 중쇄의 가변 도메인을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 특히, 뉴클레오타이드 서열은 햄스터 세포, 구체적으로 CHO 세포에서 발현을 위해 코돈-최적화될 수 있다. 이 구현예에서, 경쇄 가변 도메인의 뉴클레오타이드 서열은 서열번호: 28일 수 있고 중쇄 가변 도메인의 뉴클레오타이드 서열은 서열번호: 29 또는 거기에 적어도 70%, 80%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 서열일 수 있다. 대안적인 구현예에서 완전한 경쇄 및 완전한 중쇄 뉴클레오타이드 서열은 코돈-최적화될 수 있고, 예를 들어 경쇄 및 중쇄는, 신호 서열을 인코딩하는 서열을 포함하거나 배제할 수 있는, 각각 서열번호: 30 및 서열번호: 31에 제시된 뉴클레오타이드 서열, 또는 거기에 적어도 70%, 80%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 서열을 가지거나 포함할 수 있다.

[0148] 본 발명의 또 다른 바람직한 구현예에서, 본 발명의 특이적 결합 분자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 MDX-L1H4, MDX-L2H2 또는 그것의 변이체 MDX-L1M2H4, MDX-L1M3H4, MDX-L2M2H2 또는 MDX-L2M3H2의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 항체 또는 이의 단편, 또는 이들의 가변 영역 또는 CDR을 인코딩한다. MDX-L1H4의 경쇄는 서열번호: 81에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고, MDX-L1M2H4의 경쇄는 서열번호: 57에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고, 그리고 MDX-L1M3H4의 경쇄는 서열번호: 89에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고; MDX-L1H4 (그것의 변이체 MDX-L1M2H4 및 MDX-L1M3H4를 포함함)의 중쇄는 서열번호: 58에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된다. MDX-L1H4 경쇄의 가변 영역은 서열번호: 82에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고, MDX-L1M2H4 경쇄의 가변 영역은 서열번호: 59에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고, 그리고 MDX-L1M3H4 경쇄의 가변 영역은 서열번호: 90에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고; MDX-L1H4 중쇄의 가변 영역은 서열번호: 60에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된다.

[0149] MDX-L2H2의 경쇄는 서열번호: 83에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고, MDX-L2M2H2의 경쇄는 서열번호: 61에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고, 그리고 MDX-L2M3H2의 경쇄는 서열번호: 91에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고; MDX-L2H2 (그것의 변이체 MDX-L2M2H2 및 MDX-L2M3H2를 포함함)의 중쇄는 서열번호: 62에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된다. MDX-L2H2 경쇄의 가변 영역은 서열번호: 84에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고, MDX-L2M2H2 경쇄의 가변 영역은 서열번호: 63에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고, 그리고 MDX-L2M3H2 경쇄의 가변 영역은 서열번호: 92에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고; MDX-L2H2 중쇄의 가변 영역은 서열번호: 64에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된다.

[0150] 따라서 본 발명의 핵산 분자는 MDX-L1H4 또는 MDX-L2H2 또는 그것의 변이체 MDX-L1M2H4, MDX-L1M3H4, MDX-L2M2H2 또는 MDX-L2M3H2, 또는 그것의 변이체의 경쇄 가변 영역을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 및 MDX-L1H4 또는 MDX-L2H2, 또는 그것의 변이체의 중쇄 가변 영역을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. MDX-L1H4 또는 MDX-L2H2 또는 그것의 변이체 MDX-L1M2H4, MDX-L1M3H4, MDX-L2M2H2 또는 MDX-L2M3H2 (또는 그것의 변이체)의 경쇄 가변 영역을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 서열번호: 59, 63, 82, 84, 90 또는 92에 제시된 뉴클레오타이드 서열, 서열번호: 59, 63, 82, 84, 90 또는 92로 퇴화한 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호: 59, 63, 82, 84, 90 또는 92에 적어도 70%, 80%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있거나 이로 구성될 수 있다. MDX-L1H4 또는 MDX-L2H2 (또는 그것의 변이체)의 중쇄 가변 영역을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 서열번호: 60 또는 64에 제시된 뉴클레오타이드 서열, 서열번호: 60 또는 64로 퇴화한 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호: 60 또는 64에 적어도 70%, 80%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있거나 이로 구성될 수 있다.

[0151] 대안적으로, 본 발명의 핵산 분자는 MDX-L1H4 또는 MDX-L2H2, 또는 그것의 변이체 MDX-L1M2H4, MDX-L1M3H4, MDX-L2M2H2 또는 MDX-L2M3H2, 또는 그것의 변이체의 경쇄를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열, 및 MDX-L1H4 또는 MDX-L2H2, 또는 그것의 변이체의 중쇄를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. MDX-L1H4 또는 MDX-L2H2, 또는 그것의 변이체 MDX-L1M2H4, MDX-L1M3H4, MDX-L2M2H2 또는 MDX-L2M3H2 (또는 그것의 변이체)의 경쇄를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 서열번호: 57, 61, 81, 83, 89 또는 91에 제시된 뉴클레오타이드 서열, 서열번호: 57, 61, 81, 83, 89 또는 91로 퇴화한 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호: 57, 61, 81, 83, 89 또는 91에 적어도 70%, 80%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있거나 이로 구성될 수 있다. MDX-L1H4 또는 MDX-L2H2 (또는 그것의 변이체)의 중쇄를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 서열번호: 58 또는 62에 제시된 뉴클레오타이드 서열, 서열번호: 58 또는 62로 퇴화한 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호: 58 또는 62에 적어도 70%, 80%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함

할 수 있거나 이로 구성될 수 있다.

- [0152] 추가의 대안에 있어서, 본 발명의 핵산 분자는 인간 Anx-A1을 결합하고 MDX-L1H4, MDX-L2H2 또는 그것의 변이체 MDX-L1M2H4, MDX-L1M3H4, MDX-L2M2H2 또는 MDX-L2M3H2, 또는 그것의 변이체 (위에서 기재된 바와 같음)의 CDR 서열을 갖는 특이적 결합 분자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 본 핵산 분자는 VLCDR1에 대한 (즉, 인코딩하는) 서열번호: 20, 65, 66 또는 85-88, VLCDR2에 대한 서열번호: 21 또는 67, VLCDR3에 대한 서열번호: 22, 68 또는 69, VHCDR1에 대한 서열번호: 23, 70 또는 71, VHCDR2에 대한 서열번호: 24 또는 72 및 VHCDR3에 대한 서열번호: 25, 73 또는 74에 제시된 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호: 20, 65, 66, 85-88, 21, 67, 22, 68, 69, 23, 70, 71, 24, 72, 25, 73 또는 74, 각각으로 퇴화된 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호: 20, 65, 66, 85-88, 21, 67, 22, 68, 69, 23, 70, 71, 24, 72, 25, 73 또는 74, 각각에 적어도 85%, 90% 또는 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 바람직하게는 본 발명의 상기 구현예에서 뉴클레오타이드 서열은 Mdx001, MDX-L1H4, MDX-L1M2H4, MDX-L1M3H4, MDX-L2H2, MDX-L2M2H2 또는 MDX-L2M3H2 (및 그것의 퇴화물 및 서열 동일성 관련된 서열)의 것들, 예를 들어 MDX-L1M2H4에 대한 서열번호: 65, 67, 68, 70, 72 및 73이다.
- [0153] 본 발명은 본 발명의 핵산 분자를 포함하는 작제물을 추가로 제공한다. 작제물은 편리하게 본 발명의 핵산 분자를 포함하는 제조합 작제물이다. 본 작제물에 있어서, 본 발명의 핵산 분자는 제한 부위 (즉, 하나 이상의 제한 효소에 의해 인식된 뉴클레오타이드 서열)에 의해 측정될 수 있어 본 발명의 핵산 분자의 용이한 클로닝을 가능하게 한다. 본 발명의 작제물에 있어서 본 발명의 특이적 결합 분자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 편리하게, 핵산 분자에 대해 이중성, 즉, 비-자연일 수 있는 발현 조절 서열에 상기 작제물 내에서 작동가능하게 연결될 수 있다. 이러한 발현 조절 서열은 전형적으로 프로모터이지만, 특이적 결합 분자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 대안적으로 또는 추가로 다른 발현 조절 서열 예컨대 종결자 서열, 오퍼레이터 서열, 향상제 서열 또는 그와 같은 것에 작동가능하게 연결될 수 있다. 따라서, 작제물은 자연 또는 비-자연 프로모터를 포함할 수 있다.
- [0154] 용어 "작동가능하게 연결된"은 하나의 기능이 다른 것에 의해 영향을 받도록 단일 핵산 단편 상에 2개 또는 그 초과 핵산 분자의 회합을 지칭한다. 예를 들어, 프로모터는 이것이 그 코딩 서열의 발현에 영향을 미칠 수 있을 때 (즉, 코딩 서열이 프로모터의 전사 조절하에 있을 때) 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 코딩 서열은 센스 또는 안티센스 배향으로 조절 서열에 작동가능하게 연결될 수 있다.
- [0155] 용어 "발현 조절 서열"은 코딩 서열의 업스트림 (5' 비-코딩 서열), 그 안에, 또는 다운스트림 (3' 비-코딩 서열) 위치한 뉴클레오타이드 서열을 지칭하고, 그리고 이것은 연관된 코딩 서열의 전사, RNA 처리 또는 안정성, 또는 번역에 영향을 미친다. 발현 조절 서열은 프로모터, 오퍼레이터, 향상제, 번역 선도 서열, TATA 박스, B 인식 요소 및 그와 같은 것을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "프로모터"는 코딩 서열 또는 RNA의 발현을 조절할 수 있는 뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 적합한 그 예는 이하에서 제공된다. 일반적으로, 코딩 서열은 프로모터 서열에 대해 3'에 위치한다. 프로모터는 전체적으로 자연 유전자로부터 유래될 수 있거나, 또는 자연에서 발견된 상이한 프로모터로부터 유래된 상이한 요소로 구성될 수 있거나, 또는 더욱이 합성 뉴클레오타이드 분절을 포함할 수 있다. 대개의 경우 조절 서열의 정확한 경계가 완전히 정의되지 않았기 때문에, 상이한 길이의 핵산 단편이 동일한 조절 활성을 가질 수 있다는 것이 추가로 인식된다.
- [0156] 본 발명의 작제물을 제조하는 방법은 당해 분야에서 잘 알려져 있고, 예를 들어 종래의 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 클로닝 기술이 사용되어, 알려진 방법을 사용하여 적합한 작제물 (예를 들어 발현 조절 서열을 함유함) 안으로 삽입될 수 있는 본 발명의 핵산 분자를 구축할 수 있다.
- [0157] 본 발명은 본 발명의 핵산 분자 또는 작제물을 포함하는 벡터를 추가로 제공한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이 용어 "벡터"는 본 발명의 핵산 분자 또는 작제물이 그 안으로 도입될 수 있어 (예를 들어 공유적으로 삽입될 수 있어) 특이적 결합 분자 또는 이를 인코딩하는 mRNA가 발현될 수 있고 및/또는 본 발명의 핵산 분자/작제물이 클로닝될 수 있는 비히클을 지칭한다. 벡터는 따라서 클로닝 벡터 또는 발현 벡터일 수 있다.
- [0158] 본 발명의 핵산 분자 또는 작제물은 당해 분야에서 알려진 임의의 적합한 방법을 사용하여 벡터 안으로 삽입될 수 있고, 예를 들어, 비제한적으로, 벡터 및 핵산 분자는 적절한 제한 효소를 사용하여 단리될 수 있고 그 다음 매칭하는 점성 말단을 갖는 핵산 분자와 결합될 수 있거나, 또는 적절하기로는 단리된 핵산 분자가 몽툰한-종료된 클로닝을 사용하여 단리된 벡터 안으로 결합될 수 있다.
- [0159] 벡터는 박테리아 또는 원핵 벡터일 수 있거나, 또는 진핵 벡터, 특히 포유동물 벡터일 수 있다. 본 발명의 핵산

분자 또는 작제물은 범용 클로닝 벡터, 특히 박테리아 클로닝 벡터, 예를 들어 *에스캐리치아 콜라이* 클로닝 벡터에서 생산될 수 있거나 또는 그 안으로 도입될 수 있다. 이러한 벡터의 예는 pUC19, pBR322, pBluescript 벡터 (Stratagene Inc.) 및 Invitrogen Inc.로부터의 pCR TOPO[®], 예를 들어 pCR2.1-TOPO를 포함한다.

- [0160] 본 발명의 핵산 분자 또는 작제물은 본 발명의 특이적 결합 분자의 발현을 위한 발현 벡터, 특히 포유동물 발현 벡터 안으로 하위-클로닝될 수 있다. 발현 벡터는 다양한 발현 조절 서열을 함유할 수 있다. 전사 및 번역을 결정하는 조절 서열에 부가하여, 벡터는 예를 들어 벡터 복제, 선별 마커 등을 포함하여 다른 기능을 제공하는 추가의 핵산 서열을 함유할 수 있다.
- [0161] 발현 벡터는 그것의 각각의 숙주 세포에서 효율적인 유전자 전사 및 번역을 위해 필요한 5' 업스트림 및 3' 다운스트림 조절 인자 예컨대 프로모터 서열, 예를 들어 사이토메갈로바이러스 (CMV), PGK 또는 EF1a 프로모터, 특히 인간 CMV (HCMV) 프로모터, 리보솜 인식 및 결합 TATA 박스, 번역 개시 부위에 코작 서열, 및 3' UTR AATAAA 전사 종결 서열을 가져야 한다. 다른 프로모터는 구성적 유인원 바이러스 40 (SV40) 초기 프로모터, 마우스 유선 종양 바이러스 (MMTV)프로모터, HIV LTR 프로모터, MoMuLV 프로모터, 조류 백혈병 바이러스 프로모터, EBV 즉각적인 초기 프로모터, 및 루 육종 바이러스 프로모터를 포함한다. 비제한적으로 액틴 프로모터, 미오신 프로모터, 헤모글로빈 프로모터, 및 크레아틴 키나제 프로모터를 비롯한, 인간 유전자 프로모터가 또한 사용될 수 있다. 특정 구현예에서 유도성 프로모터가 사용될 수 있다. 이들은 핵산 분자의 발현을 개시 또는 정지로 전환할 수 있는 분자 스위치를 제공한다. 유도성 프로모터의 예는, 비제한적으로, 메탈로티오닌 프로모터, 글루코코르티코이드 프로모터, 프로게스테론 프로모터, 또는 테트라사이클린 프로모터를 포함한다.
- [0162] 또한, 발현 벡터는 항상제 서열로 기능할 수 있는 5' 및 3' 미번역된 조절 서열, 및/또는 핵산 분자의 효율적인 전사를 촉진 또는 증진할 수 있는 종결자 서열을 함유할 수 있다.
- [0163] 벡터의 예는 플라스미드, 자율적으로 복제하는 서열, 및 치환가능 요소이다. 추가의 예시적인 벡터는, 비제한적으로, 파아지미드, 코스미드, 인공 염색체 예컨대 효모 인공 염색체 (YAC), 박테리아 인공 염색체 (BAC), 또는 PI-유래된 인공 염색체 (PAC), 박테리오파지 예컨대 람다 파아지 또는 M13 파아지, 및 동물 바이러스를 포함한다. 벡터로서 유용한 동물 바이러스의 카테고리의 예는, 비제한적으로, 레트로바이러스 (렌티바이러스를 포함함), 아데노바이러스, 아데노-연관된 바이러스, 헤르페스바이러스 (예를 들어 단순포진 바이러스), 포스바이러스, 배콜로바이러스, 파필로마바이러스, 및 파포마바이러스 (예를 들어 SV40)를 포함한다.
- [0164] 특히 바람직한 발현 벡터는 포유동물 세포에서 키메라 또는 재형상화된 인간 경쇄 및 중쇄를 발현하도록 구체적으로 설계된, 문헌 [Kettleborough 등 (Protein Eng, Vol. 4(7):773-783, 1991)]에 개시된 것들이다. 이들 벡터는 전사를 위한 인간 사이토메갈로바이러스 (HCMV) 항상제 및 프로모터, 적절한 인간 경쇄 또는 중쇄 불변 영역, 전환된 세포의 선택을 위한 유전자 예컨대 네오마이신 내성 (neo), 및 숙주 세포에서 DNA 복제를 위한 복제의 SV40 기원을 함유한다.
- [0165] 본 방법은 본 발명의 핵산 분자, 작제물 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 추가로 제공한다. 숙주 세포는 원핵 (예를 들어 박테리아) 또는 진핵 (예를 들어 포유동물) 세포일 수 있다. 원핵 세포는 특히 본 발명의 핵산 분자, 작제물 또는 벡터에 대한 클로닝 숙주로서 사용될 수 있다. 클로닝 숙주로서 사용하기에 적합한 원핵 세포는 비제한적으로, 진정박테리아, 예컨대 그램-음성 또는 그램-양성 유기체, 예를 들어, 엔테로박테리아세아에 예컨대 *에스캐리치아*, 특히 *E. 콜리*, 및 *바실러스* 예컨대 *B. 서브틸리스*를 포함한다. 클로닝 숙주는 대안적으로 진핵 세포 예컨대 진균 세포, 예를 들어 *피치아파스토리스*, 또는 효모 세포, 또는 더욱이 더 높은 진핵 세포 예컨대 포유동물 세포일 수 있다.
- [0166] 본 발명의 숙주 세포는 대안적으로 생산 숙주, 즉 본 발명의 특이적 결합 분자를 발현하고 생산하기 위해 사용된 세포일 수 있다. 생산 숙주 세포는 상기에서 정의된 바와 같이, 원핵 세포일 수 있지만, 바람직하게는 진핵 세포이다. 생산 숙주는 진균 세포, 예컨대 *피치아파스토리스* 또는 효모 세포일 수 있지만, 바람직하게는 포유동물 세포, 특히 설치류 세포, 인간 세포 또는 대안적인 영장류의 세포이다.
- [0167] 본 발명에 따른 생산 숙주를 구성할 수 있는 세포의 특정 예는, 임의의 적합한 세포 유형 또는 계열이 사용될 수 있지만, Cos 세포, 예컨대 COS-7 세포, HEK293 세포, CHO 세포를 포함한다.
- [0168] 본 발명의 핵산 분자, 작제물 또는 벡터는 숙주 세포 염색체 안으로 통합될 수 있거나 또는 추가의-염색체로 유지될 수 있다. 본 핵산 분자, 작제물 또는 벡터는 당해 분야에 알려진 임의의 방법에 의해 숙주 세포 안으로 도입될 수 있다. 이러한 방법은, 특히, 원핵 세포 형질전환의 경우, 형질도입 및 콘주게이션을 포함한다. 형질전환은 DNA의 직접적인 흡수에 의해 능숙한 박테리움의 유전적 변이를 지칭한다. 형질도입은 관심 있는 DNA를 도

입하기 위해 박테리오파아지를 사용한 박테리움의 감염을 지칭한다. 콘주게이션은 직접 접촉에서 박테리아 세포 사이에 유전 물질의 직접적인 전달을 지칭한다.

[0169] 진핵 세포의 경우, 핵산 분자, 작제물 및 벡터는 형질감염 또는 형질도입에 의해 도입될 수 있다. 형질감염은 비제한적으로 인산칼슘-DNA 공동침전, DEAE-텍스트란-매개된 형질감염, 폴리브렌-매개된 형질감염, 전기천공, 미세주입, 리포솜융합, 리포펙션, 원형질융합, 레트로바이러스 감염, 및 바이오리스틱을 비롯하여 당 업계에서 알려진 다양한 수단에 의해 달성될 수 있다. 형질도입은 형질감염보다는 바이러스성 감염의 수단에 의한 바이러스 또는 레트로바이러스 벡터를 사용한 유전자(들)의 전달을 지칭한다. 특정 구현예에서, 레트로바이러스 벡터는 세포와 접촉 이전에 바이러스 입자 또는 비리온 안으로 벡터를 패키징함에 의해 형질도입된다. 숙련가는 숙주 세포 안으로 이러한 유전 물질을 도입하기에 적절한 방법을 잘 알고 있다.

[0170] 본 발명은 또한 하기 단계를 포함하는 본 명세서에서 정의된 바와 같은 특이적 결합 분자를 제조하는 방법을 제공한다:

[0171] i) 본 발명의 핵산 분자, 작제물 또는 벡터를 숙주 세포 안으로 도입하는 단계;

[0172] ii) 특이적 결합 분자가 생산되도록 핵산 분자를 발현시키는 단계; 및

[0173] iii) 특이적 결합 분자를, 바람직하게는 정제에 의해 수집하는 단계.

[0174] 본 방법에서 사용된 숙주 세포는 본 발명에 의해 제공된 숙주세포와 관련하여 상기에 기재된 바와 같다. 숙주 세포 안으로 본 발명의 핵산 분자, 작제물 또는 벡터를 도입하는 방법은 상기에 기재된 바와 같다. 유익하게는, 본 발명의 핵산 분자, 작제물 또는 벡터는 이것이 도입되는 숙주 세포가 선택될 수 있도록 선별 마커를 포함한다. 선별 마커의 예는 항생제 내성 유전자, 예컨대 암피실린 내성 유전자 (예를 들어 β -락타마제), 카나마이신 내성 유전자 또는 클로르암페니콜 내성 유전자 (예를 들어 클로르암페니콜 아세틸 전달효소)를 포함한다. 포유 동물 숙주 세포에 사용하기에 특히 적합한 선별 마커는 하이그로마이신 B에 내성을 부여하는 하이그로마이신-B 인산전달효소 유전자 (hph), 항생제 G418에 대한 내성을 코딩하는 Tn5로부터 아미노 글리코사이드 인산전달효소 유전자 (neo 또는 aph), 디하이드로폴레이트 환원효소 (DHFR) 유전자, 아데노신 데아미나제 유전자 (ADA), 및 다중-약물 내성 (MDR) 유전자를 포함한다.

[0175] 핵산 분자, 작제물 또는 벡터가 도입되는 세포는 그런 다음, 적절하기로는, 예를 들어 선별 마커가 내성을 부여하는 화합물에 노출에 의해 쉽게 선택될 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서 DHFR 유전자를 결하는 CHO 세포는 DHFR 유전자를 담지하는 본 발명의 벡터로 형질감염 또는 형질도입되어, 세포에서 DHFR 기능을 회복한다. 형질감염된 세포는 그 다음, DHFR이 합성을 위해 요구된, 티미딘을 결하는 배지에서 배양에 의해 선택된다.

[0176] 본 발명의 핵산 분자의 "발현"은 본 발명의 특이적 결합 분자를 인코딩하는, 핵산 분자 내의 유전자, 즉 뉴클레오타이드 서열이 전사되고 번역되어서 본 발명의 특이적 결합 분자를 생산한다는 것을 의미한다. 본 발명의 특이적 결합 분자를 생산하기 위한, 핵산 분자의 발현은 유전자의 발현을 구동하기 위해 사용된 프로모터에 의존하여 구성적 또는 유도성일 수 있다. 비록 발현 조건이 최적화되는 것이 필요할 수 있지만, 숙주 세포에서 유전자를 발현하는 것은 숙련가에게 간단하다. 이것은 숙련가의 능력 내에 있다.

[0177] 생산 숙주에 의해 생산된 특이적 결합 분자는 마지막으로 수집된다. 이 방법에 의해 생산된 특이적 결합 분자의 "수집"은 단순히 이것이 생산 숙주 세포로부터 분리된다는 것을 의미한다. 수집은, 비록 바람직하게는 특이적 결합 분자가 정제에 의해 분리되지만, 특이적 결합 분자의 단리를 반드시 수반하지는 않는다. 특이적 결합 분자는 이것이 숙주 세포로부터 분리되도록 생산될 수 있고, 예를 들어 특이적 결합 분자는 신호 서열을 가지고 생산될 수 있다. 특이적 결합 분자가 숙주 세포에 의해 분리되는 경우, 가장 단순하게 배양물 상청액을 분리함에 의해, 예를 들어 배양물의 원심분리에 의해 간단히 수집될 수 있다. 특이적 결합 분자는 따라서 이것이 생산 숙주 세포로부터 분리됨에 따라 수집될 수 있다. 항체 중쇄 및 경쇄는 N-말단 신호 서열로 천연적으로 인코딩되고, 따라서 이들을 생산하는 세포로부터 분리된다. 바람직하게는, 본 발명의 특이적 결합 분자는 이것이 숙주 세포로부터 분리되도록 생산되고, 예를 들어 이것은 신호 서열을 가지고 생산될 수 있다 (그리고 따라서 본 발명의 핵산 분자는 신호 서열을 갖는 특이적 결합 분자를 인코딩할 수 있다). 관련된 막 (박테리아에서 세포 표면 막, 진핵생물에서 ER 막)을 가로질러 폴리펩타이드 사슬의 전좌에 의해, 신호 서열이 절단되어, 성숙한 폴리펩타이드 서열을 생성한다. 신호 서열을 갖는 및 갖지 않는 특이적 결합 분자가 본 발명의 범위에 속한다.

[0178] 본 발명의 특이적 결합 분자가 숙주 세포로부터 이것이 분리되도록 생산되지 않는 경우, 특이적 결합 분자는 본 분자를 생산한 숙주 세포를 수확하고 용해함에 의해 수집될 수 있다. 당업계에서 숙련된 개인은 이 과정을 쉽게

수행할 수 있다. 숙주 세포는 원심분리에 의해 수확될 수 있고, 그리고 예를 들어 초음파처리, 프렌치 프레스, 단백질 추출 시약 (예를 들어 BugBuster®, EMD Millipore (USA))을 사용한 화학적 용해, 또는 예를 들어 AbCam (UK) 또는 Sigma-Aldrich (USA))에 의해 생산된 것과 같은 포유동물 세포 용해 키트에 의해 용해될 수 있다.

[0179] 본 발명의 특이적 결합 분자는 바람직하게는 그런 다음 정제된다. 특이적 결합 분자의 정제 방법은 이전에 기재되어 있다. 정제는 바람직하게는, 용액 또는 조성물 (용매를 배제함)에 존재하는 다른 성분에 비하여 w/w 기반으로 평가될 때 특이적 결합 분자가 적어도 50% (예를 들어 60, 70, 80, 90, 95%) 순수하게 되도록 달성된다.

[0180] 상기 방법에 의해 수득될 수 있는 특이적 결합 분자는 본 발명의 범위에 속한다 (즉, 특이적 방법이 사용되지 않더라도 그러한 방법을 사용할 때 얻어진 분자의 특성을 가짐). 본 발명은 또한 그 방법을 사용함에 의해 수득된 특이적 결합 분자로 확장된다. 이러한 특이적 결합 분자는 상기에 기재된 본 발명에 의해 제공되는 특이적 결합 분자의 특성을 갖는다. 상기 방법에 의해 얻어질 수 있는 특이적 결합 분자는 폴리펩타이드, 바람직하게는 항체 또는 항체의 단편이다.

[0181] 본 발명은 추가로 본 명세서에서 개시된 바와 같은 특이적 결합 분자 또는 조제품, 및 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 희석제, 캐리어 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은 약제학적 기술에서 공지된 기술 및 절차에 따라 임의의 편리한 방식으로 제형화될 수 있다. 특이적 결합 분자는 약제학적으로 허용가능한 염의 형태로 제시될 수 있으며, 그와 같은 경우에 조성물은 그에 따라 제조된다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이 "약제학적으로 허용가능한"은 조성물의 다른 성분과 양립가능할 뿐만 아니라 수령체에 생리적으로 허용가능한 성분을 지칭한다. 조성물 및 캐리어 또는 부형제 물질의 성질, 투약량 등은 선택 및 원하는 투여 경로, 치료의 목적 등에 따라 일상적인 방식으로 선택될 수 있다. 투약량은 마찬가지로 일상적인 방식으로 결정될 수 있고, 분자의 성질, 치료의 목적, 환자의 연령, 투여 방식 등에 의존할 수 있다.

[0182] 약제학적 조성물은 임의의 적당한 수단에 의해 대상체에게 투여를 위해 제조될 수 있다. 이러한 투여는 예를 들어 경구, 직장, 비강, 국소, 질 또는 비경구일 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이 경구 투여는 불 및 설하 투여를 포함한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이 국소 투여는 경피 투여를 포함한다. 본 명세서에서 정의된 바와 같이 비경구 투여는 피하, 근육내, 정맥내, 복강내 및 진피내 투여를 포함한다.

[0183] 본 명세서에서 개시된 바와 같은 약제학적 조성물은 액체 용액 또는 시럽, 고체 조성물 예컨대 분말, 과립, 정제 또는 캡슐, 크림, 연고 및 당 업계에서 통상적으로 사용된 임의의 다른 스타일의 조성물을 포함한다. 이러한 조성물에 사용하기에 적합한 약제학적으로 허용가능한 희석제, 캐리어 및 부형제는 당해 기술에 공지되어 있다.

[0184] 예를 들어, 적합한 부형제는 락토스, 옥수수 전분 또는 이의 유도체, 스테아르산 또는 이의 염, 식물성 오일, 왁스, 지방 및 폴리올을 포함한다. 적합한 캐리어 또는 희석제는 카복시메틸셀룰로스 (CMC), 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스 (HPMC), 텍스트로스, 트레할로스, 리포솜, 폴리비닐알코올, 약품 등급 전분, 만니톨, 락토스, 스테아르산 마그네슘, 나트륨 사카린, 활석, 셀룰로스, 글루코스, 수크로스 (및 다른 당류), 탄산 마그네슘, 젤라틴, 오일, 알코올, 세제 및 유화제 예컨대 폴리소르베이트를 포함한다. 안정제, 습윤제, 유화제, 감미제 등이 또한 사용될 수 있다.

[0185] 액체 약제학적 조성물은, 이들이 용액, 현탁액 또는 다른 유사 형태이든 간에, 하기 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 멸균 희석제 예컨대 주사용 물, 염수 용액, 바람직하게는 생리적 용액, 링거액, 등장성 염화나트륨, 용매 또는 분산매로 작용할 수 있는 고정유 예컨대 합성 모노- 또는 디글리세라이드, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 다른 용매; 항균제 예컨대 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤; 산화 방지제 예컨대 아스코르브산 또는 아황산수소나트륨; 킬레이트제 예컨대 EDTA; 완충액 예컨대 아세트이트, 시트레이트 또는 포스페이트 및 긴장성의 조정용 제제 예컨대 염화나트륨 또는 텍스트로스. 비경구 조제품은 유리 또는 플라스틱제 앰플, 일회용 주사기 또는 다중 용량 바이알에 봉입될 수 있다. 주사가능 약제학적 조성물은 바람직하게는 멸균이다.

[0186] 본 발명의 약제학적 조성물은 치료되는 (또는 예방되는) 질환에 대해 적절한 방식으로 투여될 수 있다. 투여의 양 및 빈도는, 비록 적절한 투약량이 임상 시험에 의해 결정될 수 있지만, 환자의 병태, 및 환자의 질환의 유형 및 중증도와 같은 인자에 의해 결정될 것이다. 편리하게 본 발명의 특이적 결합 분자는 매일, 매주 또는 매월 용량으로, 또는 중간 빈도 용량으로 대상체에게 제공될 수 있고, 예를 들어 용량은 매 2, 3, 4, 5 또는 6일 마다, 매 2, 3, 4, 5 또는 6주 마다, 매 2, 3, 4, 5 또는 6개월 마다, 연간 또는 2년간으로 제공될 수 있다. 용량은 10 ng/kg 내지 100 mg/kg, 예를 들어, 1 µg/kg 내지 10 mg/kg 체중, 예를 들어 10 µg/kg 내지 1 mg/kg 의 양으로 제공될 수 있다. 숙련된 임상가는 모든 관련된 인자, 예를 들어 연령, 키, 체중, 치료될 병태 및 그

것의 중증도에 기반하여 환자에 대한 적절한 용량을 계산할 수 있을 것이다.

- [0187] 본 발명의 약제학적 조성물은 적어도 하나의 제2의 치료적으로 활성제를 추가로 포함할 수 있고, 즉 본 조성물은 본 발명의 특이적 결합 분자 및 또 다른 치료제 둘 모두를 포함할 수 있다. 제2의 치료적으로 활성제는 예를 들어 약물 분자, 제2의 특이적 결합 분자 (즉 인간 Anx-A1이 아닌 리간드를 결합하는 특이적 결합 분자) 또는 그와 같은 것일 수 있다. 제2의 치료적으로 활성제는 본 발명의 특이적 결합 분자가 대상체에게 투여되어 치료 동안 병태의 치료를 위한 제2 제제일 수 있고, 즉 조성물 내 본 발명의 특이적 결합 분자 및 제2 치료제 둘 모두는 동일한 병 또는 병태를 치료하기 위한 것이다.
- [0188] 제2 치료제는, 특히, 항-염증성 또는 면역조절 약물 또는 분자일 수 있다. 면역조절 약물은 특히 면역억제제이다. 그와 같은 약물은 스테로이드, 예컨대 글루코코르티코이드 예를 들어 프레드니손, 프레드니솔론, 메틸프레드니솔론, 코르티손, 하이드로코르티손, 베타메타손, 텍사메타손 또는 트리암시놀론; 비-스테로이드 항-염증성 약물 (NSAID) 예를 들어 아스피린, 이부프로펜, 셀레콕싯 또는 나프록센; 또는 항-염증성 펩타이드 예컨대 면역선택적 항-염증성 유도제 (ImSAID)를 포함한다.
- [0189] 치료법에 사용하기 위한 본 명세서에서 정의된 바와 같은 특이적 결합 분자, 조제품 또는 약제학적 조성물이 또한 제공된다. 치료법은 대상체의 치료를 의미한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이 "치료법"은 임의의 의료 병태의 치료를 의미한다. 그와 같은 치료는 예방적 (즉, 방지적), 치료적 (또는 치료인 것으로 의도된 치료), 또는 완화적 (즉, 병태의 증상을 단순히 제한, 완화 또는 개선하기 위해 설계된 치료)일 수 있다. 본 명세서에서 정의된 바와 같이, 대상체는 임의의 포유동물, 예를 들어 농장 동물 예컨대 소, 말, 양, 돼지 또는 염소, 애완동물 예컨대 토끼, 고양이 또는 개, 또는 영장류 예컨대 원숭이, 침팬지, 고릴라 또는 인간을 지칭한다. 가장 바람직하게는 대상체는 인간이다.
- [0190] 본 발명은 추가로 T-세포-매개된 질환, 강박 장애 (OCD) 또는 OCD-관련된 질환의 치료에 사용하기 위한 본 명세서에서 정의된 바와 같은 특이적 결합 분자, 조제품 또는 약제학적 조성물을 제공한다. Anx-A1에 대해 특이적인 항체가 OCD (W02013/088111, 본 명세서에 참고로 편입됨) 및 T-세포-매개된 질환 (W02010/064012 및 W02011/154705, 둘 모두 본 명세서에 참고로 편입됨)을 치료하는데 유용한 것으로 밝혀졌고, 따라서 아넥신-A1에 대해 유사하게 특이적인 본 명세서에서 기재된 특이적 결합 분자가 이들 목적에 대해 사용될 수 있다.
- [0191] 유사하게, 본 발명은 그것을 필요로 하는 대상체에게 본 명세서에서 정의된 바와 같은 특이적 결합 분자, 조제품 또는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하는, T-세포-매개된 질환, OCD 또는 OCD-관련된 질환에 대한 치료 방법을 제공한다. 대안적으로, 본 발명은 또한 대상체에서 T-세포-매개된 질환, OCD 또는 OCD-관련된 질환의 치료에 사용하기 위한 약제의 제조에서 본 명세서에서 정의된 바와 같은 특이적 결합 분자 또는 조제품의 용도를 제공한다.
- [0192] 바람직하게는, 본 발명의 특이적 결합 분자, 조제품 또는 약제학적 조성물은 그것을 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량으로 투여된다. "치료적 유효량"은 대상체의 병태에 대해 이점을 나타내기에 충분한 양을 의미한다. 양이 대상체의 병태에 대해 이점을 나타내기에 충분한지 여부는 대상체 자신 또는 의사/수의사에 의해 결정될 수 있다.
- [0193] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 "T-세포-매개된 질환"은 T-세포가 질환 또는 병태의 발병 또는 전개에서 역할을 하는 임의의 질환 또는 병태를 의미한다. T-세포 매개된 질환은 전형적으로 비정상적인 T-세포 활성화에 의해 야기되고, 따라서 본 발명의 특이적 결합 분자, 조제품 또는 약제학적 조성물을 사용함으로써 달성되는 바와 같이, Anx-A1의 활성을 차단함으로써 치료될 수 있다.
- [0194] T-세포-매개된 질환은 특히, 비제한적이지만, 자가면역 질환, 이식편대숙주 질환, 이식거부, 죽상경화증, 유산 및 HIV/AIDS를 포함한다. 본 발명에 따라 치료될 수 있는 특정 자가면역 질환은 류마티스성 관절염, 다발성 경화증, 전신 홍반성 낭창, 애디슨병, 그레이브스병, 경피증, 다발근육증, 당뇨병, 자가면역 포도막망막염, 췌양성 대장염, 심상성천포창, 염증성 장질환, 자가면역 갑상선염, 포도막염, 베체트 병, 쇼그렌 증후군 및 건선을 포함한다.
- [0195] 본 발명에 따라 치료될 수 있는 T-세포-매개된 질환은 유산을 포함한다. 조절되지 않는 T_H1 T-세포 반응은 일부 유산에 연루되는 것으로 알려져 있고, 반면에 T_H2 T-세포 반응을 증가시키는 것을 임신에 유리하다. 따라서, 유산은 Anx-A1를 결합함에 의해 T_H1 반응을 약화시키고 T_H2 반응을 향상시키는 본 발명의 특이적 결합 분자로 임신한 여성의 예방적 치료에 의해 예방될 수 있다.

- [0196] 본 발명에 따라 치료될 수 있는 T-세포-매개된 질환은 또한 죽상경화증을 포함한다. 염증은 관상 동맥 질환 및 다른 죽상경화증의 징후에서 중요한 역할을 한다. 면역 세포는 초기 죽상경화성 병변을 지배하고, 면역 세포에 의해 생성된 효과기 분자는 병변의 진행을 가속화시킨다. 따라서, 대상체에게 본 발명의 특이적 결합 분자의 투여에 의해 달성되는 면역 세포 반응의 약화는 죽상경화증을 완화시키거나 지연시킬 수 있다.
- [0197] 본 발명이 치료에 특히 유용한 T-세포 매개된 질환은 류마티스성 관절염 (RA), 다발성 경화증 (MS) 및 전신 낭창 홍반 (SLE)을 포함한다.
- [0198] 전술한 바와 같이, Anx-A1을 결합하는 특이적 결합 분자는 또한 OCD 및 OCD-관련된 질환의 치료에 효과적인 것으로 밝혀졌다 (WO 2013/088111). 본 발명의 특이적 결합 분자는 따라서 이러한 병태를 치료하기 위해 사용될 수 있다.
- [0199] 본 발명을 사용하여 치료될 수 있는 OCD에 관련된 질환은 발모벽, 충동통제장애, 투렛 증후군, 아스퍼거 증후군, 식욕부진, 게걸증, 우울증, 공황 장애, 공황 발작, 양극성 장애, 건강 염려증, 외상후 스트레스 장애, 사회적 불안 장애, 정신 분열증, 주의력결핍 과잉 행동장애 또는 신체 이형장애를 포함한다. 바람직한 구현예에서, 본 발명을 사용하여 치료되는 OCD에 관련된 질환은 불안 장애이다. 불안 장애는 일반화된 불안 장애, 사회적 불안 장애, 공황 장애, 공황 발작 및 외상후 스트레스 장애를 포함하고, 이들 각각은 본 발명을 사용하여 치료될 수 있다.
- [0200] 본원에 인용된 모든 문서는 이로써 전체적으로 참고로 본 명세서에 편입된다.

[0201] 본 발명은 하기 비-제한적인 실시예를 참고로 추가로 이해될 수 있다.

서열 정의

서열번호:	설명	유형	공급원
1	Mdx001 VLCDR1	단백질	무스 무스쿨러스
2	Mdx001 VLCDR2	단백질	무스 무스쿨러스
3	Mdx001 VLCDR3	단백질	무스 무스쿨러스
4	Mdx001 VHCDR1	단백질	무스 무스쿨러스
5	Mdx001 VHCDR2	단백질	무스 무스쿨러스
6	Mdx001 VHCDR3	단백질	무스 무스쿨러스
7	VJ-4B6 VLCDR1	단백질	무스 무스쿨러스
8	VJ-4B6 VLCDR2	단백질	무스 무스쿨러스
9	VJ-4B6 VLCDR3	단백질	무스 무스쿨러스
10& 11	ANXA1-002 및 ANXA1-003 전사체에 의해 인코딩된 바와 같은, 전장 인간 Anx-A1	단백질	호모사피엔스
12	인간 Anx-A1 단편 (ANXA1-004 전사체에 의해 인코딩됨)	단백질	호모사피엔스
13	인간 Anx-A1 단편 (ANXA1-006 전사체에 의해 인코딩됨)	단백질	호모사피엔스
14	VJ-4B6 VHCDR3	단백질	무스 무스쿨러스
15	Mdx001 경쇄	단백질	무스 무스쿨러스
16	Mdx001 중쇄	단백질	무스 무스쿨러스
17	Mdx001 CDR 조합됨	단백질	인공 서열
18	Mdx001 경쇄 가변 영역	단백질	무스 무스쿨러스
19	Mdx001 중쇄 가변 영역	단백질	무스 무스쿨러스
20	Mdx001 VLCDR1 (코돈-최적화됨)	DNA	인공 서열
21	Mdx001 VLCDR2 (코돈-최적화됨)	DNA	인공 서열
22	Mdx001 VLCDR3 (코돈-최적화됨)	DNA	인공 서열
23	Mdx001 VHCDR1 (코돈-최적화됨)	DNA	인공 서열
24	Mdx001 VHCDR2 (코돈-최적화됨)	DNA	인공 서열
25	Mdx001 VHCDR3 (코돈-최적화됨)	DNA	인공 서열
26	Mdx001 경쇄 가변 영역	DNA	무스 무스쿨러스
27	Mdx001 중쇄 가변 영역	DNA	무스 무스쿨러스
28	Mdx001 경쇄 가변 영역 (코돈-최적화됨)	DNA	인공 서열
29	Mdx001 중쇄 가변 영역 (코돈-최적화됨)	DNA	인공 서열
30	Mdx001 경쇄 (코돈-최적화됨)	DNA	인공 서열
31	Mdx001 중쇄 (코돈-최적화됨)	DNA	인공 서열

[0202]

32	MDX-L1H4 경쇄 가변 영역	단백질	인공 서열
33	MDX-L1H4 중쇄 가변 영역	단백질	인공 서열
34	MDX-L2H2 경쇄 가변 영역	단백질	인공 서열
35	MDX-L2H2 중쇄 가변 영역	단백질	인공 서열
36	MDX-L1M2H4/MDX-L2M2H2 VLCDR1	단백질	인공 서열
37	MDX-L1M3H4/MDX-L2M3H2 VLCDR1	단백질	인공 서열
38	MDX-L1M2H4/MDX-L2M2H2 CDR 조합됨	단백질	인공 서열
39	MDX-L1M3H4/MDX-L2M3H2 CDR 조합됨	단백질	인공 서열
40	MDX-L1H4 경쇄	단백질	인공 서열
41	MDX-L1H4 중쇄	단백질	인공 서열
42	MDX-L2H2 경쇄	단백질	인공 서열
43	MDX-L2H2 중쇄	단백질	인공 서열
44	MDX-L1M2H4 경쇄	단백질	인공 서열
45	MDX-L2M2H2 경쇄	단백질	인공 서열
46	MDX-L1M3H4 경쇄	단백질	인공 서열
47	MDX-L2M3H2 경쇄	단백질	인공 서열
48	MDX-L1M2H4 경쇄 가변 영역	단백질	인공 서열
49	MDX-L1M3H4 경쇄 가변 영역	단백질	인공 서열
50	MDX-L2M2H2 경쇄 가변 영역	단백질	인공 서열
51	MDX-L2M3H2 경쇄 가변 영역	단백질	인공 서열
52	MDX-L1H4/MDX-L2H2 경쇄 신호 서열	단백질	인공 서열
53	MDX-L1H4/MDX-L2H2 중쇄 신호 서열	단백질	인공 서열
54	MDX-L1M2H4 성숙한 경쇄	단백질	인공 서열
55	MDX-L1H4 성숙한 중쇄	단백질	인공 서열
56	LC1(mod1)HC4/LC2(mod1)HC2 VLCDR1	단백질	인공 서열
57	MDX-L1M2H4 경쇄	DNA	인공 서열
58	MDX-L1H4 중쇄	DNA	인공 서열
59	MDX-L1M2H4 경쇄 가변 영역	DNA	인공 서열
60	MDX-L1H4 중쇄 가변 영역	DNA	인공 서열
61	MDX-L2M2H2 경쇄	DNA	인공 서열
62	MDX-L2H2 중쇄	DNA	인공 서열
63	MDX-L2M2H2 경쇄 가변 영역	DNA	인공 서열
64	MDX-L2H2 중쇄 가변 영역	DNA	인공 서열
65	MDX-L1M2H4 VLCDR1	DNA	인공 서열
66	MDX-L2M2H2 VLCDR1	DNA	인공 서열

[0203]

67	MDX-L1H4/MDX-L2H2 VLCDR2	DNA	인공 서열
68	MDX-L1H4 VLCDR3	DNA	인공 서열
69	MDX-L2H2 VLCDR3	DNA	인공 서열
70	MDX-L1H4 VHCDR1	DNA	인공 서열
71	MDX-L2H2 VHCDR1	DNA	인공 서열
72	MDX-L1H4/MDX-L2H2 VHCDR2	DNA	인공 서열
73	MDX-L1H4 VHCDR3	DNA	인공 서열
74	MDX-L2H2 VHCDR3	DNA	인공 서열
75	MDX-L1H4 성숙한 경쇄	단백질	인공 서열
76	MDX-L1M3H4 성숙한 경쇄	단백질	인공 서열
77	MDX-L2H2 성숙한 경쇄	단백질	인공 서열
78	MDX-L2M2H2 성숙한 경쇄	단백질	인공 서열
79	MDX-L2M3H2 성숙한 경쇄	단백질	인공 서열
80	MDX-L2H2 성숙한 중쇄	단백질	인공 서열
81	MDX-L1H4 경쇄	DNA	인공 서열
82	MDX-L1H4 경쇄 가변 영역	DNA	인공 서열
83	MDX-L2H2 경쇄	DNA	인공 서열
84	MDX-L2H2 경쇄 가변 영역	DNA	인공 서열
85	MDX-L1H4 VLCDR1	DNA	인공 서열
86	MDX-L2H2 VLCDR1	DNA	인공 서열
87	MDX-L1M3H4 VLCDR1	DNA	인공 서열
88	MDX-L2M3H2 VLCDR1	DNA	인공 서열
89	MDX-L1M3H4 경쇄	DNA	인공 서열
90	MDX-L1M3H4 경쇄 가변 영역	DNA	인공 서열
91	MDX-L2M3H2 경쇄	DNA	인공 서열
92	MDX-L2M3H2 경쇄 가변 영역	DNA	인공 서열

[0204]

도면의 간단한 설명

[0205]

도 1은 Anx-A1에 대한 Mdx001의 결합을 입증하는 ELISA 검정의 결과를 도시한다. A492 값은 이차 항체에 접합된 HRP에 의한 OPD 열화에 비례하고 따라서 Mdx001 결합을 나타낸다.

도 2는 Anx-A1에 대한 Mdx001의 결합의 Biacore 분석의 결과를 도시한다. 부분 A, B 및 C 각각은 별개의 검정 결과를 나타낸다. 검정 1 (부분 A)은 9.43 nM의 K_D 를 나타내고; 검정 2 (부분 B)는 9.58 nM의 K_D 를 나타내고; 검정 3 (부분 C)은 6.46 nM의 K_D 를 나타낸다.

도 3은 MDX-L1H4 및 MDX-L2H2, 및 MDX-L1H4와 MDX-L2H2로부터 생성된 변이체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 도시한다. 서열은 단일 글자의 아미노산 코드로 제시되어 있다. CDR 서열은 고딕으로 되어 있다. 변이체 서열 (MDX-L1H4 및 MDX-L2H2에 비교함)에서 아미노산 치환이 강조되어 있다.

도 4는 Anx-A1에 대한 항체 MDX-L1H4 및 그것의 변이체 (A) 및 MDX-L2H2 및 그것의 변이체 (B)의 결합을 입증하는 ELISA 검정의 결과를 도시한다. 도 1에서와 같이, A492 값은 이차 항체에 접합된 HRP에 의한 OPD 열화에 비례하고 따라서 Anx-A1에 대한 항체 결합을 나타낸다.

도 5는 Anx-A1에 대한 MDX-L1M2H4 및 MDX-L2M2H2의 결합의 Biacore 분석의 결과를 도시한다. 부분 A-C 각각은 Anx-A1에 결합하는 MDX-L1M2H4에 대한 별개의 검정 결과를 나타내고; 부분 D-F 각각은 Anx-A1에 결합하는 MDX-L2M2H2에 대한 별개의 검정 결과를 나타낸다. MDX-L1M2H4에 대해, 검정 1 (부분 A)은 3.96 nM의 K_D 를 나타내고; 검정 2 (부분 B)는 3.94 nM의 K_D 를 나타내고; 검정 3 (부분 C)은 4.04 nM의 K_D 를 나타낸다. MDX-L2M2H2에 대해 검정 1 (부분 D)은 4.44 nM의 K_D 를 나타내고; 검정 2 (부분 E)는 4.37 nM의 K_D 를 나타내고; 검정 3 (부분 F)은 5.17 nM의 K_D 를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0206] 실시예
- [0207] 실시예 1: 하이브리도마 ECACC 10060301에 의해 생산된 Anx-A1-결합 항체의 서열분석
- [0208] mRNA는 하이브리도마 ECACC 10060301로부터 추출되었다. 추출된 mRNA는 역전사 프로토콜을 사용하여 cDNA 안으로 전사되었다. cDNA는 전매 프라이머를 사용하여, Aldevron (USA)에 의한 표준 염료-종결자 모세관 서열분석으로 서열분석되었다.
- [0209] 사이클 서열분석은 Life Technologies®에 의해 제공된 표준 프로토콜 하에서 BigDye® 종결자 v3.1 사이클 서열분석 키트를 사용하여 수행되었다. 모든 데이터는 3730xl DNA 분석기 시스템과 3730xl DNA 분석기에 의해 생산된 데이터를 수집하기 위해 그리고 3730xl DNA 분석기의 작동을 위해 Life Technologies®에 의해 제공된 통일된 데이터 수집 소프트웨어를 사용하여 수집되었다.
- [0210] 서열 어셈블리는 CodonCode Aligner (CodonCode Corporation, USA)를 사용하여 수행되었다. 혼합된 베이스 콜은 상기 혼합된 베이스 콜에 가장 보편적인 베이스 콜을 자동으로 할당함에 의해 해결된다. 유병률은 베이스 콜의 빈도와 베이스 콜의 개별 품질 둘 모두에 의해 결정된다.
- [0211] cDNA 서열분석에 의해 수득된 경쇄 및 중쇄 가변 영역의 서열은 각각 서열번호: 26 및 27에 제시되어 있다.
- [0212] 서열번호: 26 및 27에 제시된 서열은 알려진 생식계열의 데이터베이스에 대해 실행되었고, 항체에 대한 생식계열이 확인되었다. 이것은 경쇄에 대해 수득된 서열이 절단되었고 그것의 N-말단에 5개 아미노산이 누락됨을 나타냈다. 확인된 생식계열 서열에 기반하여 융합 항체 (UK)에 의해 완전한 서열이 재구성되었고 CHO 세포에서의 발현에 대해 코돈-최적화되었다. 코돈-최적화된 가변 도메인은 서열번호: 28 (경쇄) 및 29 (중쇄)에 제시된 서열을 갖는다.
- [0213] 실시예 2: Anx-A1-결합 Mdx001 항체의 생산
- [0214] 코돈-최적화된 서열은 표준 재조합 기술을 사용하여 벡터 pD2610-v13 (ATUM, USA) 안으로 클로닝되고 ExpichO 세포 (Thermo Fisher Scientific, USA) 안으로 형질감염되었다. 200 mL의 배양물이 생성되었다. 항체 (Mdx001)는 단백질 A 친화도 칼럼을 사용하여 세포 상청액으로부터 회수되었고 인산염 버퍼 배지 안으로 용출되었다.
- [0215] 실시예 3: Mdx001은 Anx-A1을 결합한다
- [0216] Anx-A1에 결합하는 Mdx001은 ELISA에 의해 확인되었고, 표준 ELISA 기술을 사용하여 The Antibody Company (UK)가 수행했다. ELISA 플레이트는 4°C에서 밤새 25 µg/ml Anx-A1 및 코팅 완충액 (45 mM Na₂CO₃, 1 mM CaCl₂로 보충된 pH 9.6)으로 코팅되었다. (Ca²⁺은 Anx-A1에 결합하는 Mdx001에 대해 필요한 것으로 밝혀졌고, 그래서 모든 결합 실험은 1 mM CaCl₂의 존재에서 수행되었다.)
- [0217] 플레이트는 그 다음 차단 완충액(1 mM CaCl₂, 10 mM HEPES, 2% w/v BSA)으로 실온에서 1시간 동안 차단되었다. 일차 항체 (Mdx001)가 그런 다음 플레이트에 적용되었다. 항체는 1 µg/ml의 농도에서 시작하여 2.38×10^{-7} µg/ml의 농도에서 종료하는, 플레이트를 가로질러 이루어진 4-배 희석에 반복하여 적용되었다. 항체는 0.1 BSA로 보충된 세정 완충액 (10mM HEPES, 150mM NaCl, 0.05% (v/v) TWEEN-20 및 1mM CaCl₂)에서 희석되었다. 일차 항체는 플레이트에 1시간 동안 실온에서 적용되었고, 플레이트는 그런 다음 세정 완충액으로 세정되었다.
- [0218] 검출 항체가 그런 다음 적용되었다. 검출을 위해 홀스래디쉬 페록시다아제 (HRP)-접합된 염소 항-마우스 항체 (Sigma-Aldrich, A2554)가 1:1000의 희석으로 사용되었다. 이것은 ELISA 플레이트에 1시간 동안 실온에서 적용되었다. ELISA 플레이트는 그런 다음 세정 완충액으로 다시 세정되었다.
- [0219] 비색 기질 OPD (o-페닐렌디아민디하이드로클로라이드, Sigma-Aldrich P4664)이 그런 다음 플레이트에 적용되었다. OPD 용액은 제조자의 지침에 따라 포스페이트-시트레이트 완충액, pH 5에서 0.4 mg/ml OPD 용액을 생성하도록 제조되었다. 40 µl의 30% H₂O₂가 사용하기 직전 100 ml OPD 용액당 첨가되었다. 100 µl의 수득한 OPD 용액이 그런 다음 플레이트의 각 웰에 첨가되었다

[0220] 플레이트는 실온에서 암실에서 20분 동안 인큐베이션되고, 그 후 50 μ l의 3M H₂SO₄가 첨가되어 반응이 정지되었다. H₂SO₄ 첨가 직후 플레이트의 흡광도가 492 nm에서 판독되었다 (492 nm에서의 흡광도는 A492로 약칭됨). Mdx001은 Anx-A1에 잘 결합하는 것으로 밝혀졌다. 결과는 표 1 및 도 1에 도시되어 있다. Mdx001은 가장 최고 희석을 제외하고 플레이트를 가로질러 결합하는 것으로 밝혀졌다. 항-Anx-A1 항체의 최고 희석에서도, 공시험 값과 최고 항체 희석 값 사이에서 보이는 흡광도에서의 차이로 일부 결합이 분명하다. (공시험 웰들은 코팅 완충액 중 25 μ g/ml Anx-A1로 코팅되었고 일차 항체가 첨가되지 않은 것을 제외하고는 실험 웰들과 동일하게 처리되었다.) 결합은 0.0625 μ g/ml 일차 항체 (Mdx001) 아래로 빠르게 하락한다. 결합은 일차 항체 농도가 3.9×10^{-3} μ g/ml 아래에서 안정기인 것으로 보인다.

Mdx001 농도 (μ g/ml)	A492
1	1.772
0.25	1.66765
0.0625	1.59375
0.015625	0.8651
0.003906	0.31225
0.000977	0.20415
0.000244	0.17125
6.1×10^{-5}	0.14415
1.53×10^{-5}	0.16205
3.81×10^{-6}	0.1608
9.54×10^{-7}	0.1316
2.38×10^{-7}	0.1345

[0221]

[0222] 실시예 4: 아넥신-A1에 결합하는 Mdx001의 Biacore 분석

[0223] Biacore 분석은 독일 소재 튀빙겐 대학교, NMI에서 수행되었다. 표준 Biacore 절차가 상기에 기재된 바와 같이 CHO 세포에서 발현된 정제된 Mdx001을 분석하기 위해 사용되었다.

[0224] 사용된 작동 완충액은 아래와 같았다: HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, CaCl₂ 1 mM, Tween 20 0.05% v/v, pH 7.4. 완충액은 0.22 μ M 필터를 사용하여 여과되었고 15분 동안 초음파처리에 의해 탈가스되었다.

[0225] Mdx001 항체는 염소 항-마우스 IgG를 통해 칩 상에 고정되었다. 리간드 (Anx-A1)은 작동 완충액에서 고정된 항체 위로 통과되었다. Anx-A1은 5, 10, 20, 40 또는 80 nM의 농도로 사용되었다. 각각의 실험에서, 총 150 μ l Anx-A1-함유 작동 완충액이 30 μ l/분의 유량으로 항체 위로 통과되었다.

[0226] 재생은 재생 완충액, 10 mM 글리신-HCl, pH 2를 사용하여 수행되었다. 칩을 재생시키기 위해, 70 μ l 재생 완충액이 10 μ l/분의 속도로 칩 위로 통과되었다.

[0227] 실험은 3중으로 수행되었다. 3 실험 각각의 결과는 도 2에 도시되어 있다. 3 실험은 9.43 nM, 9.58 nM 및 6.46 nM로, 평균 8.49 nM의 Anx-A1에 대한 Mdx001의 결합에 대한 K_D 값을 제공하였다.

[0228] 실시예 5 - Mdx001의 인간화

[0229] Mdx001은 알려진 인간 프레임워크 영역 서열의 항체구조 및 데이터베이스 분석과 결합된 표준 CDR 이식 기술을 사용하여 인간화되었다. 사용된 모든 프레임워크 영역 서열은 인간으로부터 단리된 성숙한 IgG로부터 유래되었고 그래서 비-면역원성이고 CDR 루프의 정식 구조를 유지할 것으로 기대된다.

[0230] 인간화 과정은 위에서 제시된 바와 같은 서열을 갖는 2개 항체, MDX-L1H4 및 MDX-L2H2를 생성했다.

[0231] 실시예 6 - Anx-A1에 대한 Mdx002의 결합

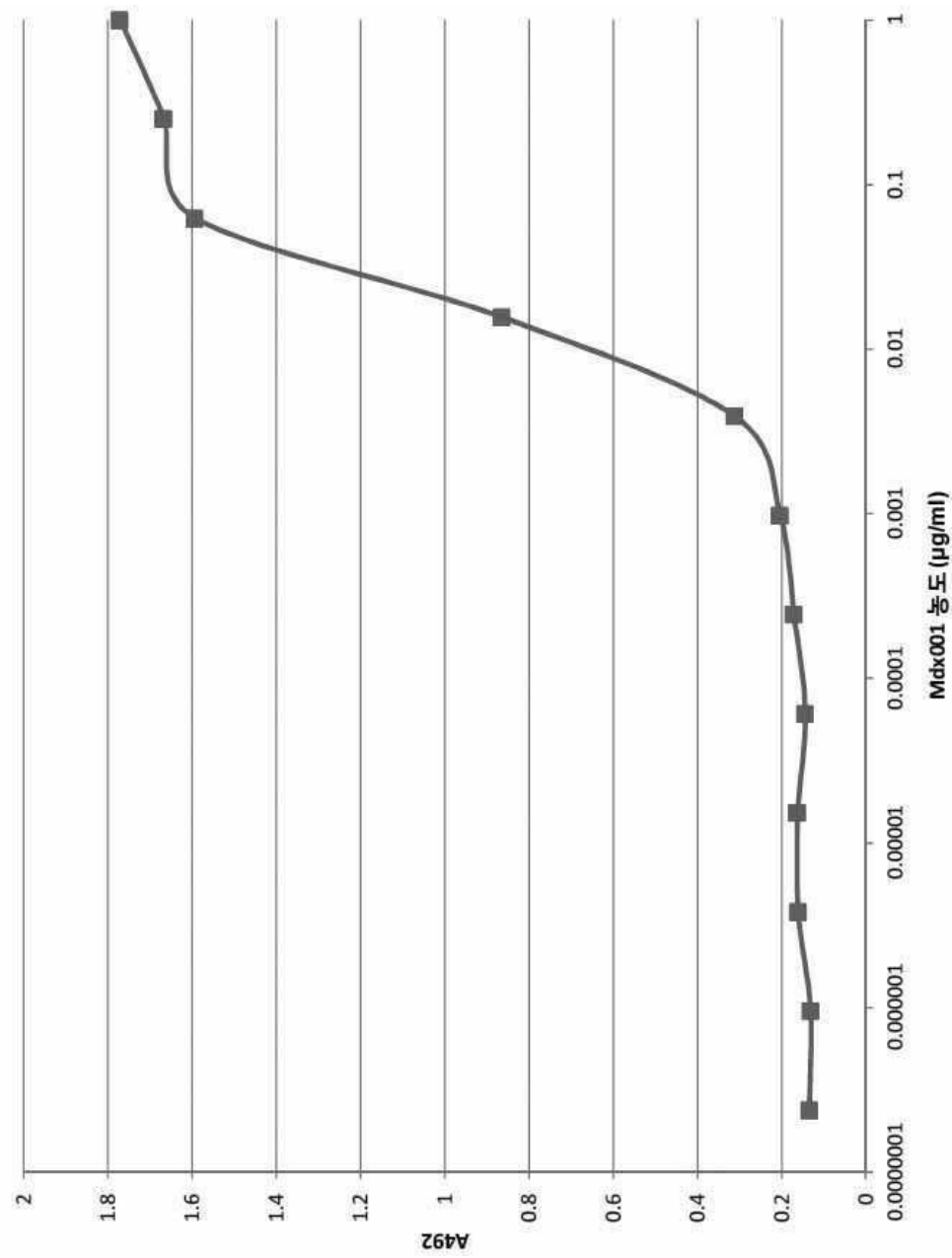
[0232] 인간화된 항체는 표준 생체정보 도구를 사용하여, 가능한 변형 후 변형의 부위를 확인하기 위해 분석되었다. 탈아미드화는 항체에서의 주요한 열화 경로이고 따라서 인간화된 서열은 탈아미드화 모티프 Ser-Asn-Gly, Glu-Asn-Asn, Leu-Asn-Gly 및 Leu-Asn-Asn에 대해 검사되었다. 서열 Ser-Asn-Gly을 갖는 탈아미드화 모티프가 MDX-L1H4/MDX-L2H2의 VLCDR1에서 확인되었다. 이 서열 모티프를 제거하기 위해 변형이 MDX-L1H4 및 MDX-L2H2에 대해 이루어졌다. 변형된 VLCDR1 서열을 포함하는 인간화된 항체가 기능적 변형된 VLCDR1 서열을 확인하기 위해

생성되었다.

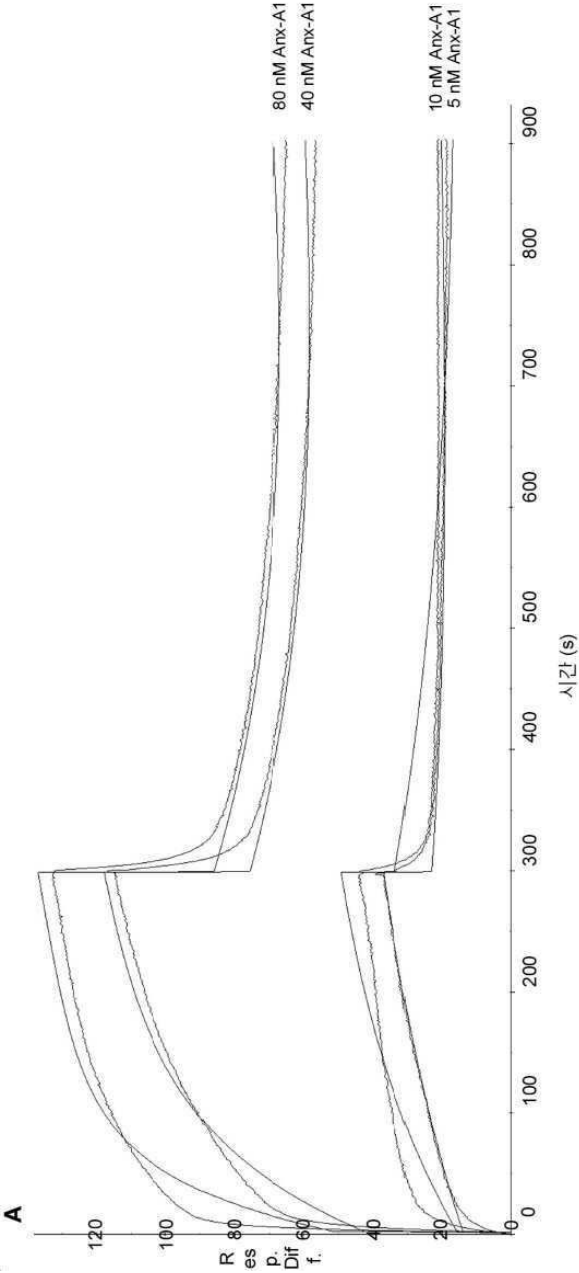
- [0233] 각각의 인간화된 항체에 대한 3개 변이체가 생성되었다. 도 3은 MDX-L1H4 및 MDX-L2H2로부터 생성된 변이체에 대한 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 도시한다.
- [0234] 제1의 변형된 항체인, 변이체 1 (즉 MDX-L1M2H4)은 서열번호: 36에 제시된 아미노산 서열, 즉 알라닌 잔기에 대한 위치 11에서 글리신 잔기의 치환을 갖는 VLCDR1을 포함했다. 제2의 변형된 항체인, 변이체 2 (즉 MDX-L1M3H4)는 서열번호: 37에 제시된 아미노산 서열, 즉 트레오닌 잔기에 대한 위치 9에서 세린 잔기의 치환을 갖는 VLCDR1을 포함했다. 제3의 변형된 항체인, 변이체 3 (LC1(mod1)HC4로 주석을 댄)은 변형된 Mdx001 VLCDR1 서열을 포함했고, 여기서 위치 10에서의 아스파라긴 잔기는 아스파르트산 잔기에 대해 치환되었다. LC1(mod1)HC4 VLCDR1 서열은 서열번호: 56에 제시된다.
- [0235] MDX-L2H2로부터의 변이체는 이들이 VLCDR1에서 동일한 변형을 포함하는 한 MDX-L1H4로부터의 것과 관련된다. 이들은 변이체 1 (MDX-L2M2H2), 변이체 2 (MDX-L2M3H2) 및 변이체 3 (LC2(mod1)HC2)으로 지칭된다.
- [0236] 항체 둘 모두는 실시예 5에 기재된 바와 같이 인간화된 가변 및 불변 도메인을 함유했다. CDR 서열은 MDX-L1H4 및 MDX-L2H2에 비교하여 달리 변경되지 않았고, 상기-기재된 VLCDR1 변형을 제외하고 그것의 모체 서열에 동일하였다.
- [0237] Anx-A1에 대한 변형된 인간화된 항체의 결합은 실시예 3에 기재된 것과 동일한 방법을 사용하여 ELISA에 의해 초기에 시험되었다. 이 ELISA의 결과는 도 4에 제시되어 있다. 대조군으로, MDX-L1H4 및 MDX-L2H2가 사용되었다. 도 4A에서 볼 수 있듯이, MDX-L1M2H4 (LC1(mod2)HC4) 및 MDX-L1M3H4 (LC1(mod3)HC4) (및 MDX-L2M2H2(LC2(mod2)HC2) 및 MDX-L2M3H2(LC2(mod3)HC2), 도 4B)는 MDX-L1H4 (또는 MDX-L2H2)에 비교가능하게 Anx-A1를 결합했지만, Anx-A1에 대한 LC1(mod1)HC4 (및 LC2(mod1)HC2)의 결합은 대조군보다 상당히 약했다. 이것은 아스파르트산에 대해 Mdx001 VLCDR1에서 아스파라긴 10의 치환은 Anx-A1에 대한 항체의 결합에 부정적으로 영향을 주었다는 것은 실증했다. 그러나, 동일한 CDR 서열에서 알라닌에 대한 글리신 11 또는 세린에 대한 트레오닌 9의 치환은 결합에 대해 부정적으로 영향을 미치지 않았다.
- [0238] ELISA 결과에 비추어, LC1(mod1)HC4 및 LC2(mod1)HC2 항체는 폐기되었다. 변형된 VLCDR1 서열로 항체의 최상의 결합을 실증한 LC1(mod2)HC4 및 LC2(mod2)HC2 항체는 추가의 분석을 위해 진행되었다. Anx-A1에 대한 LC1(mod2)HC4 및 LC2(mod2)HC2의 결합은 실시예 4에 기재된 것과 동일한 방법을 사용하여, Biacore에 의해 정량화되었다. 실시예 4에서와 같이, Biacore 실험은 3중으로 수행되었다. 3 실험 각각의 결과는 도 5에 제시되어 있다. 도시된 바와 같이, LC1(mod2)HC4의 경우 3 실험은 3.96 nM, 3.94 nM 및 4.04 nM로, 평균 3.98 nM의 K_D 값을 제공했다. 이것은 Anx-A1 결합에 대해 3.98 nM의 K_D 를 갖는 LC1(mod2)HC4가 Anx-A1 결합에 대해 8.49 nM의 K_D 를 갖는 Mdx001보다 상당히 더 높은 친화도로 Anx-A1을 결합한다는 것을 실증했다. LC1(mod2)HC4는 명칭 MDX-L1M2H4가 주어졌다. LC2(mod2)HC2의 경우 3 실험은 4.44 nM, 4.37 nM 및 5.17 nM로, 평균 4.66 nM의 K_D 값을 제공했다. 이것은 Anx-A1 결합에 대해 4.66 nM의 K_D 를 갖는 LC2(mod2)HC2가 Anx-A1 결합에 대해 8.49 nM의 K_D 를 갖는 Mdx001보다 상당히 더 높은 친화도로 Anx-A1을 또한 결합한다는 것을 실증했다. LC2(mod2)HC2는 명칭 MDX-L2M2H2가 주어졌다.

도면

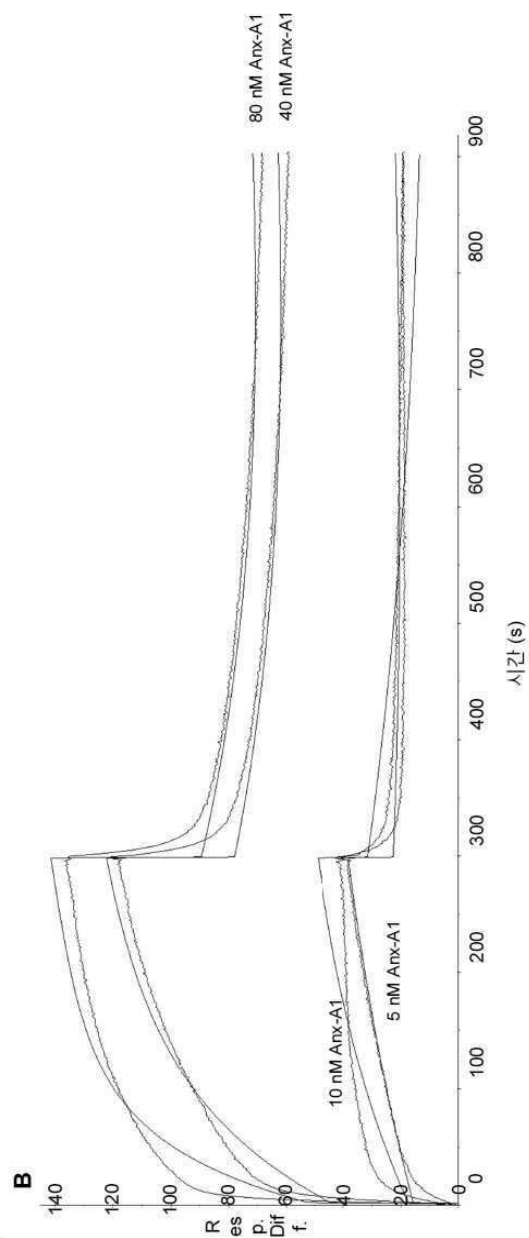
도면1



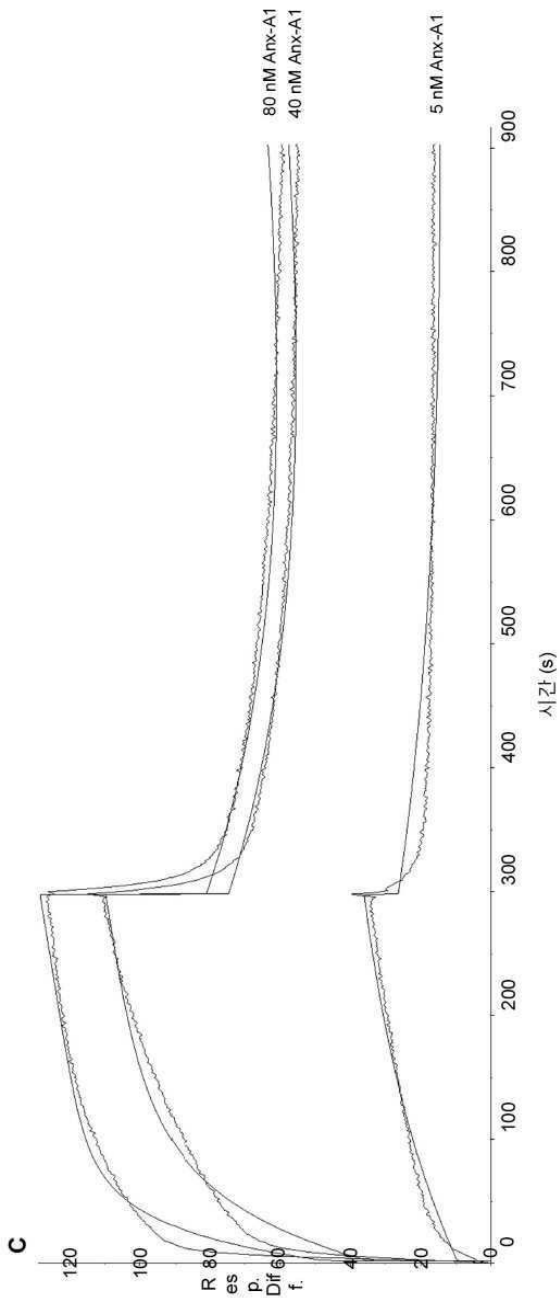
도면2a



도면2b



도면2c



도면3

MDX-L1H4

천연

> 경쇄

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLNSNGKTYLNWFQQRPGQSPRRLIYG
VSNRFSGVDPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYFCLQVTHVPYTFGQGTKLEIK

> 중쇄

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFITNYWIGWVRQAPGGLEWVGDIYP
GGDYITNYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYYCARWGLGYFDYW
GQGTMTVSS

변이체 1

> 경쇄

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLNSNAKTYLNWFQQRPGQSPRRLIYG
VSNRFSGVDPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYFCLQVTHVPYTFGQGTKLEIK

> 중쇄

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFITNYWIGWVRQAPGGLEWVGDIYP
GGDYITNYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYYCARWGLGYFDYW
GQGTMTVSS

(계속)

MDX-L2H2

천연

> 경쇄

DIVMTQTPLSLVTPGQPASISCRSSQSLNSNGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYGV
SNRFSGVDPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYFCLQVTHVPYTFGQGTKVEIK

> 중쇄

QVQLVQSGPEVKKPGESLKISCKGSGYTFITNYWIGWVRQAPGKGLEWMGDIYP
GGDYITNYNEKFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAIYYCARWGLGYFDYW
GRGTLVTSS

변이체 1

> 경쇄

DIVMTQTPLSLVTPGQPASISCRSSQSLNSNAKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYGV
SNRFSGVDPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYFCLQVTHVPYTFGQGTKVEIK

> 중쇄

QVQLVQSGPEVKKPGESLKISCKGSGYTFITNYWIGWVRQAPGKGLEWMGDIYP
GGDYITNYNEKFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAIYYCARWGLGYFDYW
GRGTLVTSS

변이체 2

> 경쇄

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLNTNGKTYLNWFQQRPGQSPRRLIYG
VSNRFSGVDPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYFCLQVTHVPYTFGQGTKLEIK

> 중쇄

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFITNYWIGWVRQAPGGLEWVGDIYP
GGDYITNYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYYCARWGLGYFDYW
GQGTMTVSS

변이체 3 (빈약한 기능성)

> 경쇄

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLNSDGKTYLNWFQQRPGQSPRRLIYG
VSNRFSGVDPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYFCLQVTHVPYTFGQGTKLEIK

> 중쇄

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFITNYWIGWVRQAPGGLEWVGDIYP
GGDYITNYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYYCARWGLGYFDYW
GQGTMTVSS

변이체 2

> 경쇄

DIVMTQTPLSLVTPGQPASISCRSSQSLNTNGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYGV
SNRFSGVDPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYFCLQVTHVPYTFGQGTKVEIK

> 중쇄

QVQLVQSGPEVKKPGESLKISCKGSGYTFITNYWIGWVRQAPGKGLEWMGDIYP
GGDYITNYNEKFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAIYYCARWGLGYFDYW
GRGTLVTSS

변이체 3 (빈약한 기능성)

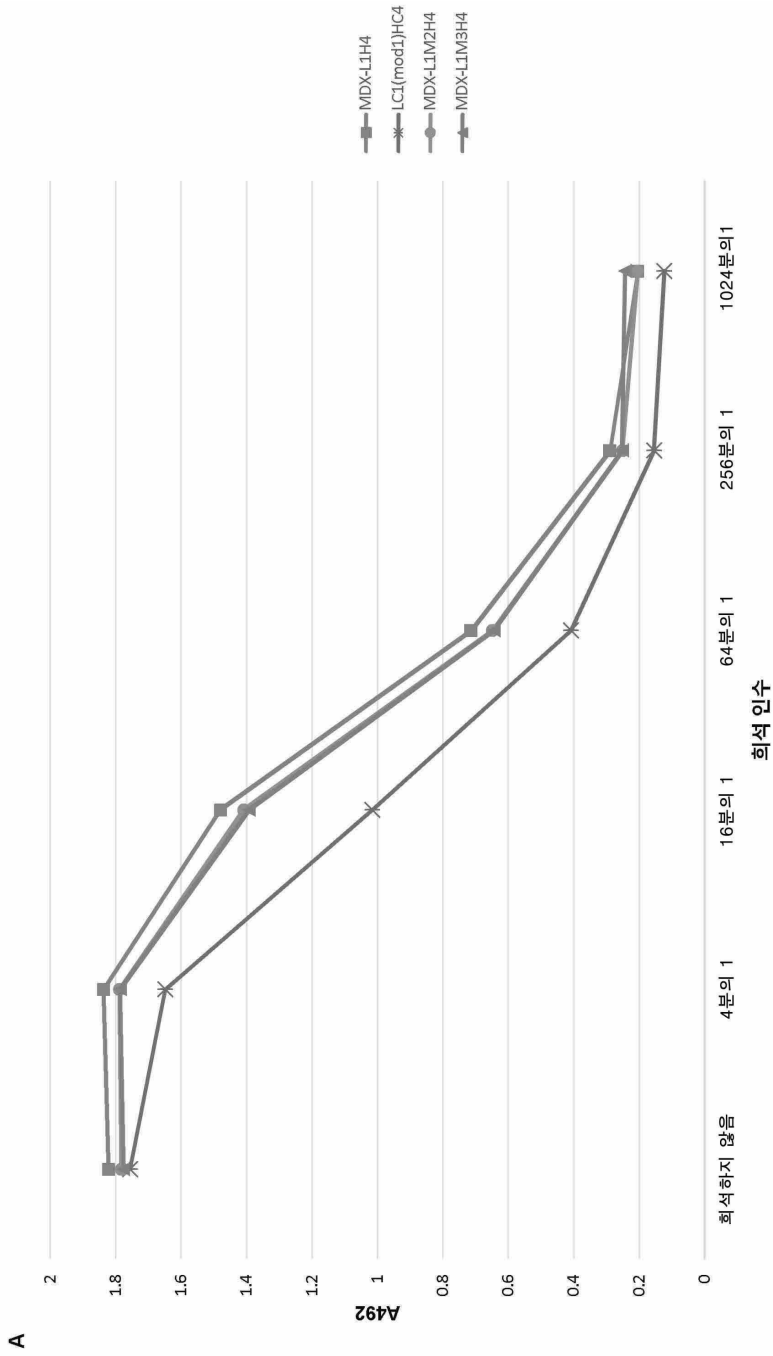
> 경쇄

DIVMTQTPLSLVTPGQPASISCRSSQSLNSDGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYGV
SNRFSGVDPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYFCLQVTHVPYTFGQGTKVEIK

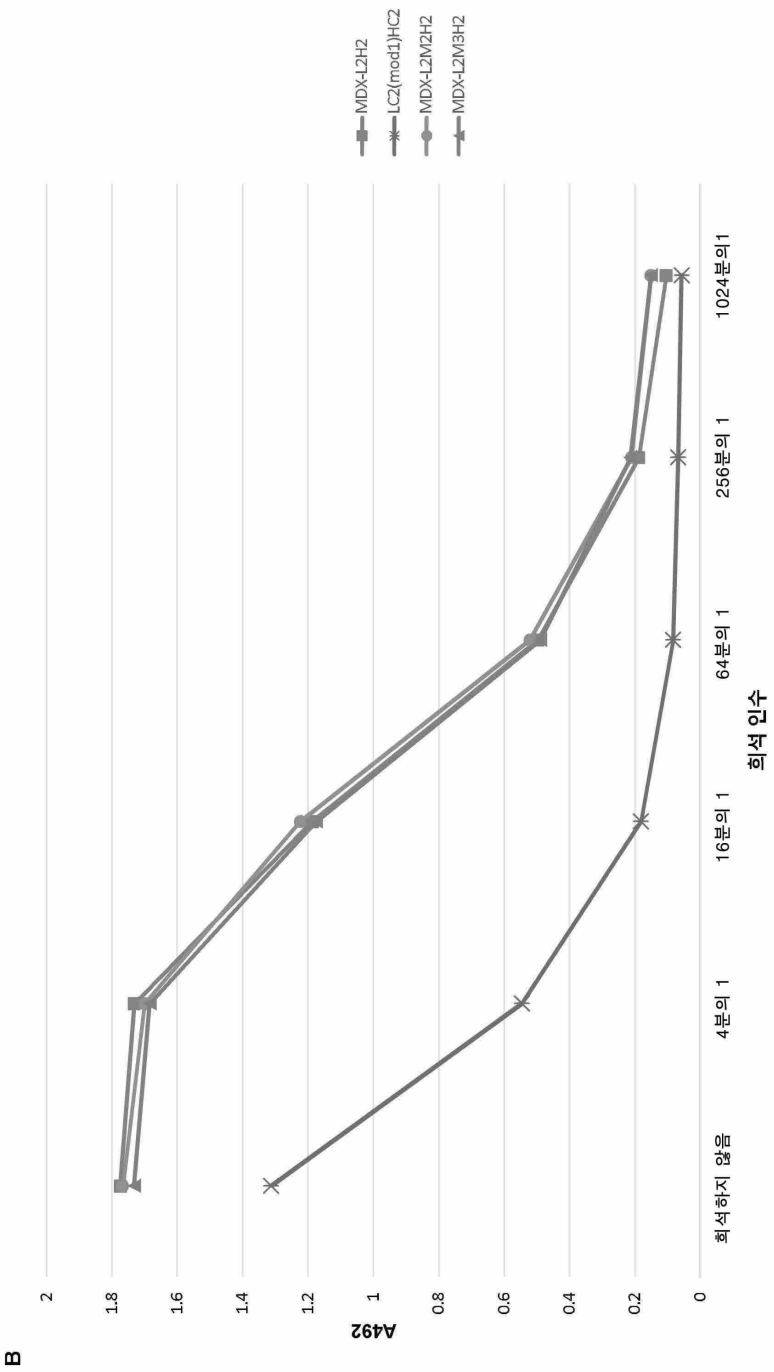
> 중쇄

QVQLVQSGPEVKKPGESLKISCKGSGYTFITNYWIGWVRQAPGKGLEWMGDIYP
GGDYITNYNEKFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAIYYCARWGLGYFDYW
GRGTLVTSS

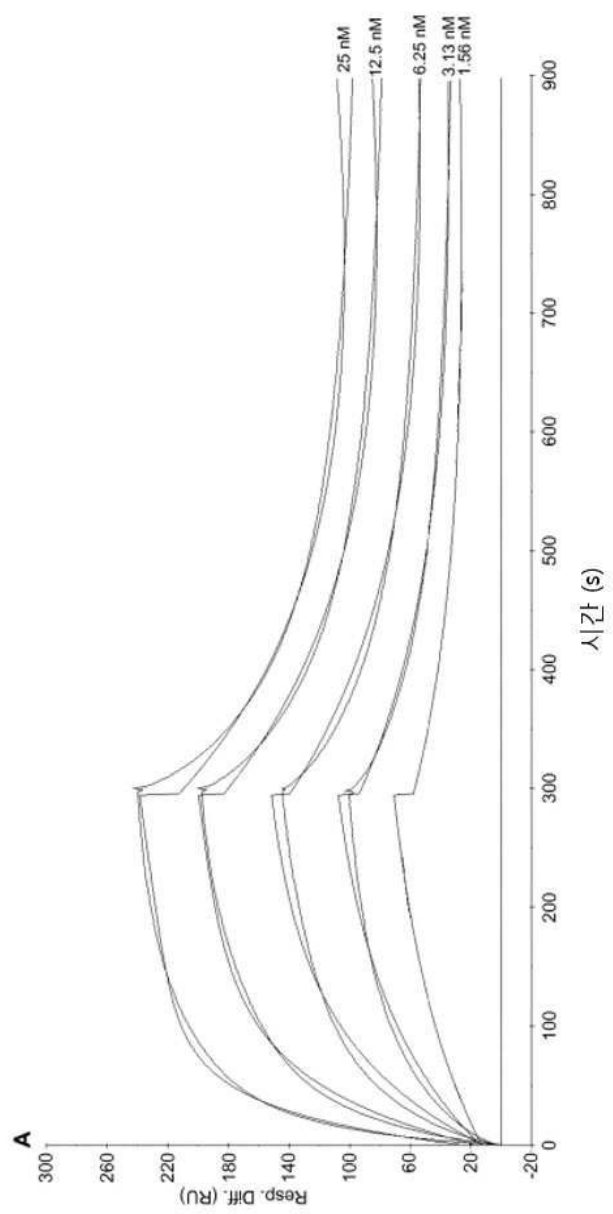
도면4a



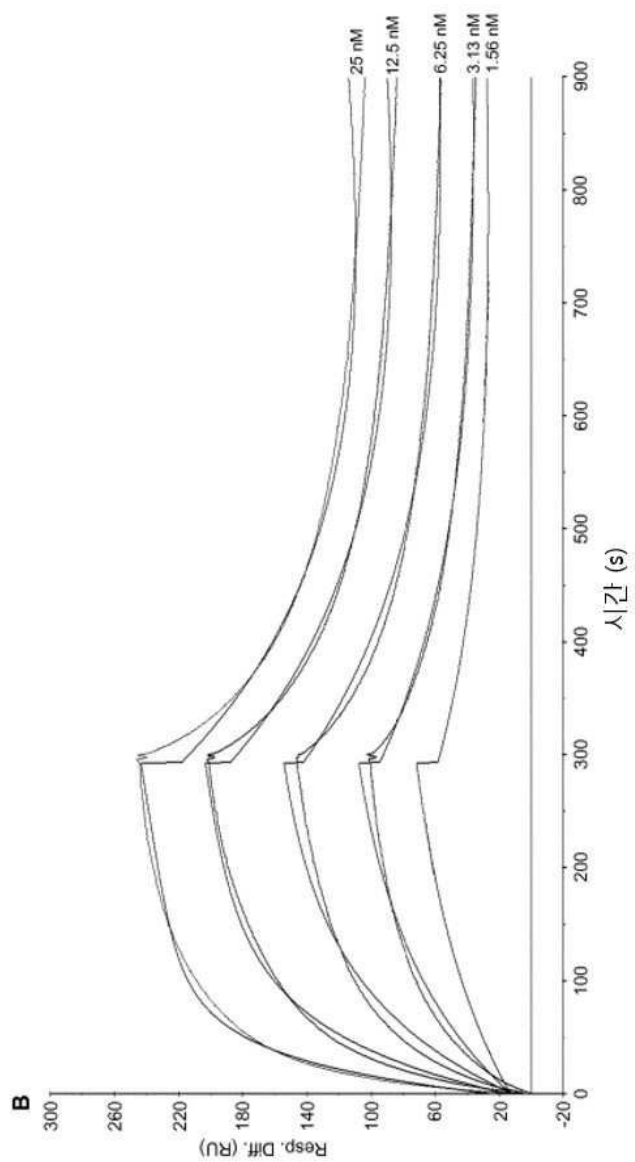
도면4b



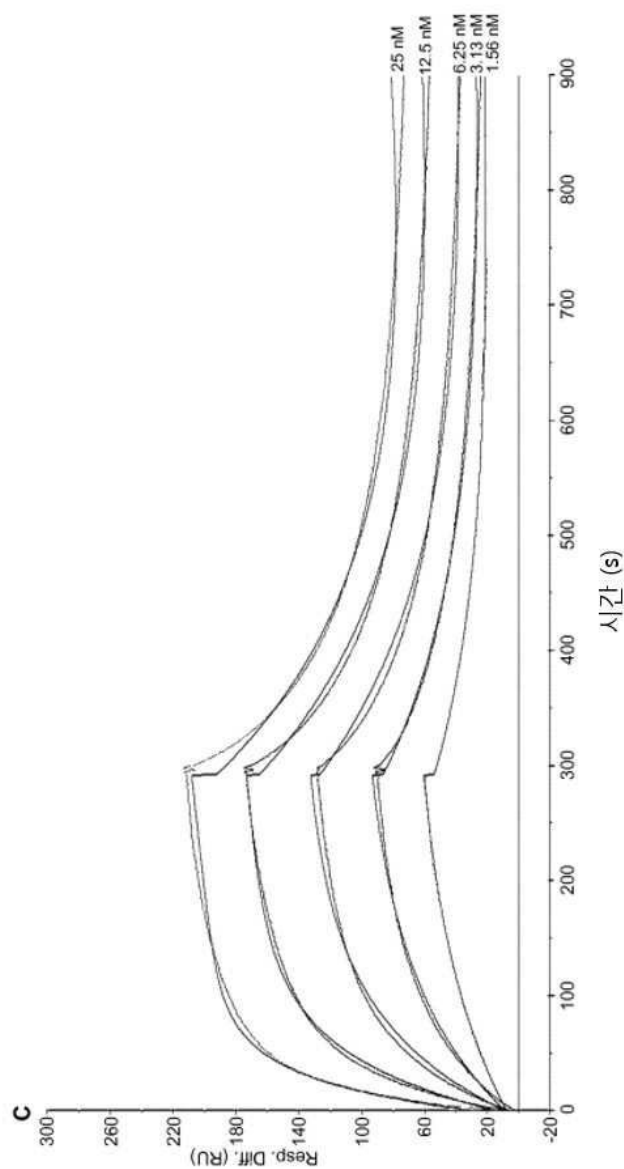
도면5a



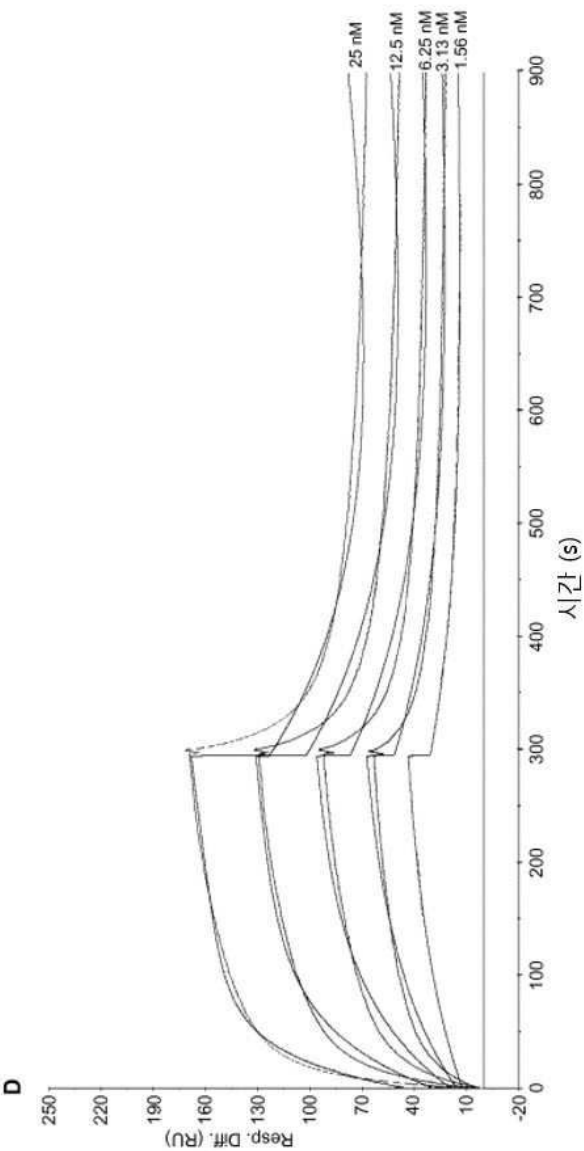
도면5b



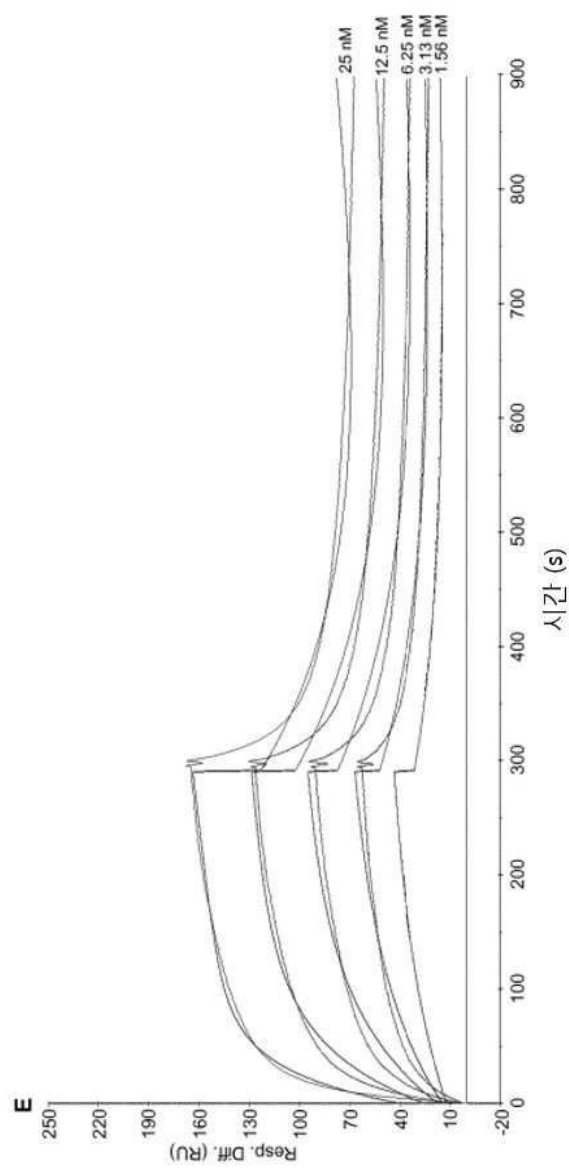
도면5c



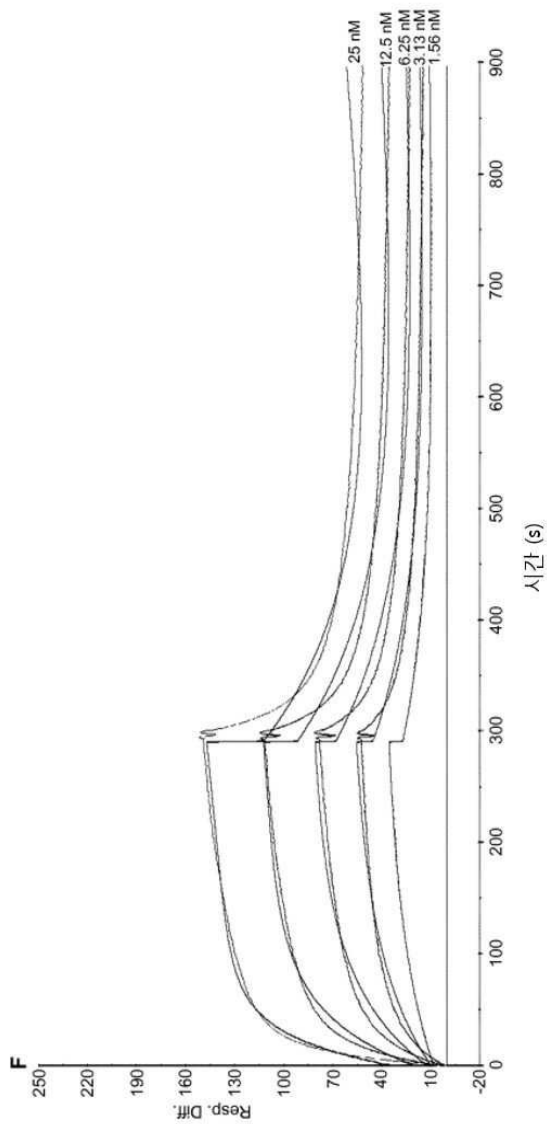
도면5d



도면5e



도면5f



서열 목록

- <110> Medannex Ltd.
- <120> ANTI HUMAN ANNEXIN A1 ANTIBODY
- <130> MPI19-029
- <150> GB 1702091.8
- <151> 2017-02-08
- <160> 92
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 16
- <212> PRT
- <213> Mus musculus

<400> 1
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10 15

<210> 2
 <211> 7
 <212> PRT

<213> Mus musculus
 <400> 2

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser
 1 5

<210> 3
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 3

Leu Gln Val Thr His Val Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 4
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 4

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Gly
 1 5 10

<210> 5
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 5

Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Asp Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 6
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 6

Ala Arg Trp Gly Leu Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 7
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 7

Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Thr Tyr Val Ser
 1 5 10

<210> 8
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 8

Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
 1 5

<210> 9
 <211> 9

<212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 9

Gly Gln Gly Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 10
 <211> 346
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 10

Met Ala Met Val Ser Glu Phe Leu Lys Gln Ala Trp Phe Ile Glu Asn

1 5 10 15
 Glu Glu Gln Glu Tyr Val Gln Thr Val Lys Ser Ser Lys Gly Gly Pro
 20 25 30
 Gly Ser Ala Val Ser Pro Tyr Pro Thr Phe Asn Pro Ser Ser Asp Val

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

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

 180 185 190
 Gly Val Asn Glu Asp Leu Ala Asp Ser Asp Ala Arg Ala Leu Tyr Glu
 195 200 205
 Ala Gly Glu Arg Arg Lys Gly Thr Asp Val Asn Val Phe Asn Thr Ile
 210 215 220
 Leu Thr Thr Arg Ser Tyr Pro Gln Leu Arg Arg Val Phe Gln Lys Tyr
 225 230 235 240
 Thr Lys Tyr Ser Lys His Asp Met Asn Lys Val Leu Asp Leu Glu Leu
 245 250 255

Lys Gly Asp Ile Glu Lys Cys Leu Thr Ala Ile Val Lys Cys Ala Thr
 260 265 270
 Ser Lys Pro Ala Phe Phe Ala Glu Lys Leu His Gln Ala Met Lys Gly
 275 280 285
 Val Gly Thr Arg His Lys Ala Leu Ile Arg Ile Met Val Ser Arg Ser
 290 295 300
 Glu Ile Asp Met Asn Asp Ile Lys Ala Phe Tyr Gln Lys Met Tyr Gly
 305 310 315 320
 Ile Ser Leu Cys Gln Ala Ile Leu Asp Glu Thr Lys Gly Asp Tyr Glu
 325 330 335
 Lys Ile Leu Val Ala Leu Cys Gly Gly Asn
 340 345
 <210> 11
 <211> 346
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 11
 Met Ala Met Val Ser Glu Phe Leu Lys Gln Ala Trp Phe Ile Glu Asn
 1 5 10 15
 Glu Glu Gln Glu Tyr Val Gln Thr Val Lys Ser Ser Lys Gly Gly Pro
 20 25 30
 Gly Ser Ala Val Ser Pro Tyr Pro Thr Phe Asn Pro Ser Ser Asp Val
 35 40 45
 Ala Ala Leu His Lys Ala Ile Met Val Lys Gly Val Asp Glu Ala Thr
 50 55 60
 Ile Ile Asp Ile Leu Thr Lys Arg Asn Asn Ala Gln Arg Gln Gln Ile
 65 70 75 80
 Lys Ala Ala Tyr Leu Gln Glu Thr Gly Lys Pro Leu Asp Glu Thr Leu
 85 90 95
 Lys Lys Ala Leu Thr Gly His Leu Glu Glu Val Val Leu Ala Leu Leu
 100 105 110
 Lys Thr Pro Ala Gln Phe Asp Ala Asp Glu Leu Arg Ala Ala Met Lys

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

 180 185 190
 Gly Val Asn Glu Asp Leu Ala Asp Ser Asp Ala Arg Ala Leu Tyr Glu
 195 200 205
 Ala Gly Glu Arg Arg Lys Gly Thr Asp Val Asn Val Phe Asn Thr Ile
 210 215 220
 Leu Thr Thr Arg Ser Tyr Pro Gln Leu Arg Arg Val Phe Gln Lys Tyr
 225 230 235 240
 Thr Lys Tyr Ser Lys His Asp Met Asn Lys Val Leu Asp Leu Glu Leu
 245 250 255

 Lys Gly Asp Ile Glu Lys Cys Leu Thr Ala Ile Val Lys Cys Ala Thr
 260 265 270
 Ser Lys Pro Ala Phe Phe Ala Glu Lys Leu His Gln Ala Met Lys Gly
 275 280 285
 Val Gly Thr Arg His Lys Ala Leu Ile Arg Ile Met Val Ser Arg Ser
 290 295 300
 Glu Ile Asp Met Asn Asp Ile Lys Ala Phe Tyr Gln Lys Met Tyr Gly
 305 310 315 320
 Ile Ser Leu Cys Gln Ala Ile Leu Asp Glu Thr Lys Gly Asp Tyr Glu

 325 330 335
 Lys Ile Leu Val Ala Leu Cys Gly Gly Asn
 340 345
 <210> 12
 <211> 204
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Asn Leu Ile Leu Arg Tyr Thr Phe Ser Lys Met Ala Met Val Ser

1 5 10 15

Glu Phe Leu Lys Gln Ala Trp Phe Ile Glu Asn Glu Glu Gln Glu Tyr

20 25 30

Val Gln Thr Val Lys Ser Ser Lys Gly Gly Pro Gly Ser Ala Val Ser

35 40 45

Pro Tyr Pro Thr Phe Asn Pro Ser Ser Asp Val Ala Ala Leu His Lys

50 55 60

Ala Ile Met Val Lys Gly Val Asp Glu Ala Thr Ile Ile Asp Ile Leu

65 70 75 80

Thr Lys Arg Asn Asn Ala Gln Arg Gln Gln Ile Lys Ala Ala Tyr Leu

85 90 95

Gln Glu Thr Gly Lys Pro Leu Asp Glu Thr Leu Lys Lys Ala Leu Thr

100 105 110

Gly His Leu Glu Glu Val Val Leu Ala Leu Leu Lys Thr Pro Ala Gln

115 120 125

Phe Asp Ala Asp Glu Leu Arg Ala Ala Met Lys Gly Leu Gly Thr Asp

130 135 140

Glu Asp Thr Leu Ile Glu Ile Leu Ala Ser Arg Thr Asn Lys Glu Ile

145 150 155 160

Arg Asp Ile Asn Arg Val Tyr Arg Glu Glu Leu Lys Arg Asp Leu Ala

165 170 175

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

180 185 190

Ser Leu Ala Lys Gly Asp Arg Ser Glu Asp Phe Gly

195 200

<210> 13

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Met Ala Met Val Ser Glu Phe Leu Lys Gln Ala Trp Phe Ile Glu Asn

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ala Leu His Lys Ala Ile Met Val Lys Gly Val Asp Glu Ala Thr

50 55 60

Ile Ile Asp Ile Leu Thr Lys Arg Asn Asn Ala Gln Arg Gln Gln Ile

65 70 75 80

Lys Ala Ala Tyr Leu Gln Glu Thr Gly Lys Pro Leu Asp Glu Thr Leu

85 90 95

Lys Lys Ala Leu Thr Gly His Leu Glu Glu Val Val Leu Ala Leu Leu

100 105 110

Lys Thr Pro

115

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 14

Trp Gly Leu Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 15

<211> 239

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 15

Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln

1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Ala Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro

	20						25						30					
Val	Ser	Leu	Gly	Asp	Gln	Val	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser			
35				40				45										
Leu	Glu	Asn	Ser	Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys			
50				55				60										
Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Gly	Val	Ser	Asn	Arg	Phe			
65				70				75				80						
Ser	Gly	Val	Leu	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe			
85				90				95										
Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Phe			
100				105				110										
Cys	Leu	Gln	Val	Thr	His	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys			
115				120				125										
Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Ala	Asp	Ala	Ala	Pro	Thr	Val	Ser	Ile	Phe	Pro			
130				135				140										
Pro	Ser	Ser	Glu	Gln	Leu	Thr	Ser	Gly	Gly	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Phe			
145				150				155				160						
Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Lys	Asp	Ile	Asn	Val	Lys	Trp	Lys	Ile	Asp			
165				170				175										
Gly	Ser	Glu	Arg	Gln	Asn	Gly	Val	Leu	Asn	Ser	Trp	Thr	Asp	Gln	Asp			
180				185				190										
Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Met	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Lys			
195				200				205										
Asp	Glu	Tyr	Glu	Arg	His	Asn	Ser	Tyr	Thr	Cys	Glu	Ala	Thr	His	Lys			
210				215				220										
Thr	Ser	Thr	Ser	Pro	Ile	Val	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Asn	Glu	Cys				
225				230				235										
<210>	16																	
<211>	473																	
<212>	PRT																	
<213>	Mus musculus																	

<400> 16

Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Thr Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35 40 45

Thr Asn Tyr Trp Ile Gly Trp Ala Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Asp Tyr Thr Asn Tyr Asn

65 70 75 80

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Leu Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

115 120 125

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

130 135 140

Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val

145 150 155 160

Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Ser Val Thr Val

165 170 175

Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Ser Val His Thr Phe Pro Ala

180 185 190

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

195 200 205

Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Ser Val Ala His Pro

210 215 220

Ala Ser Ser Thr Thr Val Asp Lys Lys Leu Glu Pro Ser Gly Pro Ile

225 230 235 240

Ser Thr Ile Asn Pro Cys Pro Pro Cys Lys Glu Cys His Lys Cys Pro

245 250 255
Ala Pro Asn Leu Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asn
260 265 270
Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val

275 280 285
Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe
290 295 300
Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu
305 310 315 320
Asp Tyr Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Gln His
325 330 335
Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys
340 345 350

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

420 425 430
Tyr Ser Lys Leu Asn Met Lys Thr Ser Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser
435 440 445
Phe Ser Cys Asn Val Arg His Glu Gly Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys
450 455 460
Lys Thr Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 17
<211> 70
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Combined sequence of Mdx001 CDRs

<400> 17

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

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

<210> 18

<211> 112

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 18

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

<210> 19
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 19

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

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

Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Trp Gly Leu Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ile
 100 105 110
 Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115

<210> 20
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Mdx001 VLCDR1 Sequence Codon-Optimised for Expression in Hamster
 <400> 20

cgggtcaagcc agagcttgga gaactcgaat ggaaagacct acctcaat 48

<210> 21
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Mdx001 VLCDR2 Sequence Codon-Optimised for Expression in Hamster
 <400> 21
 ggggtgtcga acagatttc c 21
 <210> 22
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Mdx001 VLCDR3 Sequence Codon-Optimised for Expression in Hamster
 <400> 22
 cttcaggtca cccatgtgcc gtacacc 27
 <210> 23
 <211>
 > 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Mdx001 VHCDR1 Sequence Codon-Optimised for Expression in Hamster
 <400> 23
 ggctacacct tcaccaacta ctggatcggc 30
 <210> 24
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Mdx001 VLCDR2 Sequence Codon-Optimised for Expression in Hamster
 <400> 24
 gacatctatc cgggtggaga ctacaccaac tacaacgaaa agttcaaggg a 51
 <210> 25
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Mdx001 VHCDR3 Sequence Codon-Optimised for Expression in Hamster
 <400> 25
 gcccggtggg gacttgggta ctacttcgac tac 33
 <210> 26
 <211> 321

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 26

cagactccac tctccctgcc tgtcagtcct ggagatcaag tctccatctc ttgcaggctc 60

agtcagagcc ttgaaaacag taatggaaaa acctatttga actggtacct ccagaaacca 120

ggccagtctc cacagctcct gatctacggg gtticcaacc gattttctgg ggtcctagac 180

aggttcagtg gtagtggatc agggacagat ttcacactga aaatcagcag agtggaggct 240

gaggatttgg gagtttattt ctgcctccaa gttacacatg tcccgtacac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggaaataaa a 321

<210> 27

<211> 357

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 27

ccaggctccag ctgcagcagt ctggacctga actggtcagg cctgggactt cagtgaagat 60

gtcctgcaag gcttctggat acaccttcac taactactgg ataggttggg caaagcagag 120

gcctggacat ggccctgagt ggattggaga tatttacct ggaggtgatt atactaacta 180

caatgagaag ttcaaggga aggccacact gactgcagac aaatcctcca gcacagccta 240

catgcagttc agcagcctga catctgagga ctctgccatc tattattgtg caagatgggg 300

gttaggatac tactttgact actggggcca aggcatact ctacagctc cctcagc 357

<210> 28

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mdx001 Light Chain Variable Region Codon-Optimised for Expression
in Hamster

<400> 28

gacgtgtga tgacceagac tcctctgtcc ctgcccgtgt ccttggggga ccaagtctcc 60

atctcctgcc ggtaagcca gagcttggag aactcgaatg gaaagaccta cctcaattgg 120

tacctccaga agccggggca gtccccccaa ctctgatct acggggtgtc gaacagattt 180

tccggagtgc tggatcggtt ctggggctcc ggaagcggca ccgacttcac tctgaaaatt 240

agccgcgtgg aagccgagga cttgggcgtg tatttctgcc ttcaggtcac ccatgtgccg 300

tacaccttcg gtggcggcac aaagctggaa atcaag 336

<210> 29

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mdx001 Heavy Chain Variable Region Codon-Optimised for Expression
in Hamster

<400> 29

caagtgcagc tgcagcagtc cggcccccga ctcgtgcggc caggcacctc cgtgaagatg 60

tcttgcaaag cgtccggcta caccitcacc aactactgga tcggctgggc aaagcagagg 120

cccggacatg gcctcgaatg gattggcgac atctatccgg gtggagacta caccaactac 180

aacgaaaagt tcaagggaaa ggccaccctg accgctgata agtccagctc caccgcatac 240

atgcagttct cgtcactgac tagcgaagat tccgcgatct actactgcgc ccggtgggga 300

cttggttact acttcgacta ctggggacag ggaattacc tgaccgtgtc cagc 354

<210> 30

<211> 717

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mdx001 Light Chain Codon-Optimised for Expression in Hamster

<400> 30

atggtgtcat ctgcacaatt tctgggactt cttctgtgt gttccaagg aaccgctgt 60

gacgtgtga tgaccagac tctctgtcc ctgccgtgt ccctggggga ccaagtctcc 120

atctctgcc ggtaagcca gagcttggag aactcgaatg gaaagaccta cctcaattgg 180

tacctcaga agccggggca gtcccccaa ctctgatct acggggtgtc gaacagattt 240

tccggagtgc tggatcggtt ctggggctcc ggaagcggca ccgacttcac tctgaaaatt 300

agccgcgtgg aagccgagga cttgggcgtg tatttctgcc ttcaggtcac ccatgtgccg 360

tacaccttcg gtggcggcac aaagctggaa atcaagaggg cggacgcggc ccctaccgtg 420

tcaattttcc caccgagctc cgaacagctc accagcggcg gtgcctcggc cgtgtgcttc 480

ctcaacaact tctatccaaa agacattaac gtcaagtga agatcgatgg atcggagaga 540

cagaacggag tgctgaacag ctggactgat caggactcca aggattcgac ctactccatg 600

agctccactc tgacctgac caaggacgaa tacgagcggc acaattccta cacttgcgaa 660

gccaccaca agacctcaac gtccccatc gtgaagtct tcaaccgcaa cgagtgc 717

<210> 31
 <211> 1422
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Mdx001 Heavy Chain Codon-Optimised for Expression in Hamster

<400> 31
 atgggatgga ctctcgtgtt cttttttctc ctctctgtca ctgccggggt gcattcgcaa 60
 gtgcagctgc agcagtcggg ccccgaaactc gtgcggccag gcacctccgt gaagatgtcc 120
 tgcaaagcgt ccggctacac cttcaccaac tactggatcg gctgggcaaa gcagaggccc 180
 ggacatggcc tcgaatggat tggcgacatc tatccgggtg gagactacac caactacaac 240
 gaaaagtcca agggaaaggc caccctgacc gctgataagt ccagctccac cgcatacatg 300
 cagttctcgt cactgactag cgaagattcc gcgatctact actgcgcccg gtggggactt 360
 ggttactact tcgactactg gggacaggga attaccctga ccgtgtccag cgccaagact 420

 acgccgccgt ccgtctaccc ttggccccc gggtgcggcg acaccaccgg ctggtcagtg 480
 actctgggct gcctcgtgaa ggggtacttc cccgagtcgg tcaccgtcac ttggaacagc 540
 ggcagccttt cgtcctcggc ccacaccttc cccgctctgc tgcaaagcgg tctgtacacc 600
 atgtcctcat ccgtgaccgt gccctcctcc acttggccga gccagaccgt gacttgctcc 660
 gtggcccacc cggcgtcctc gaccaccgtg gacaagaagc tggagccgtc aggtccaatc 720
 tccaccatca atccctgccc gccttgtaaa gagtgccaca agtgccctgc ccccaatctg 780
 gagggaggac cttcgggtgtt cattttccct ccgaatatca aggacgtgtt gatgatctcc 840

 ctgaccccca aggtcacatg cgttggtcgtc gacgtgtccg aggacgatcc ggacgtgcag 900
 attagctggt tcgtgaacaa cgtggaagtg cacctgcgc agacccaaac ccatcgggag 960
 gactataact ccactatccg cgtcgtgtca aactgcca tccagcacca ggactggatg 1020
 agcggaaagg aattcaagtg taaagtcaac aacaaggatc tgccaagccc tatcgagcgc 1080
 accattagca agatcaaggg actcgtgcgc gccccacaag tgtacattct cccctccg 1140
 gcggaacagc tgagcagaaa ggatgtgtcg ctgacgtgtt tggcgtggg attcaacccc 1200
 ggggatattt ccgtggaatg gacttcgaac gggcacaccg aagagaacta caaggacacc 1260

 gcccctgtgc tggacagcga cggatcatac ttcattctatt cgaagctgaa catgaaaact 1320
 tccaaatggg aaaagaccga ctctgtttcc tgtaacgtgc gccacgaagg actcaagaac 1380
 tactacctga agaaaaactat ctctcgggtcc ccggggaagt ga 1422
 <210> 32

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanised Light Chain Variable Region L1

<400> 32

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser

20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 33

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanised Heavy Chain Variable Region H4

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

100 105 110
 Met Val Thr Val Ser Ser

115
 <210> 34
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Humanised Light Chain Variable Region L2
 <400> 34

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

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

<210> 35
 <211> 118
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanised Heavy Chain Variable Region H2

<400> 35

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Trp Gly Leu Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 36

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VLCDR1 Variant 1

<400> 36

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser Asn Ala Lys Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 37

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VLCDR1 Variant 2

<400> 37

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 38

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Combined Sequence of CDRs of MDX-L1M2H4 & MDX-L2M2H2

<400> 38

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser Asn Ala Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly

35 40 45

Asp Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Ala Arg Trp Gly Leu
50 55 60

Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr

65 70

<210> 39

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Combined Sequence of CDRs of MDX-L1M3H4 & MDX-L2M3H2

<400> 39

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly

35 40 45

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

50 55 60

Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr

65 70

<210> 40

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1H4 Light Chain

<400> 40

Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln

1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe

100 105 110

Cys Leu Gln Val Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys

115 120 125

Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro

130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu

145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp

165 170 175

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

180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
 195 200 205
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
 210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 41

<211> 467

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1H4 Heavy Chain

<400> 41

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

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30

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

35 40 45

Thr Asn Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Asp Tyr Thr Asn Tyr Asn
 65 70 75 80

Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
 85 90 95

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

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

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 145 150 155 160

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

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

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
340 345 350

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

405 410 415
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460
Pro Gly Lys
465

<210> 42
<211> 239
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> MDX-L2H2 Light Chain
<400> 42

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

50 55 60
Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gly Val Ser Asn Arg Phe
65 70 75 80
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
100 105 110
Cys Leu Gln Val Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
115 120 125

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

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

195 200 205
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
 210 215 220
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230 235

<210> 43

<211> 467

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2H2 Heavy Chain

<400> 43

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

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

20 25 30

Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe

35 40 45

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

50 55 60

Glu Trp Met Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Asp Tyr Thr Asn Tyr Asn

65 70 75 80

Glu Lys Phe Lys Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser

85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Ile

100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Leu Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
 115 120 125
 Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 130 135 140
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 145 150 155 160

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

 225 230 235 240
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 245 250 255
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 275 280 285
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 290 295 300

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

355 360 365
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

370 375 380
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys

465

<210> 44

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1M2H4 Light Chain

<400> 44

Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln

1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

85 90 95
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe

100 105 110
Cys Leu Gln Val Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys

115 120 125
Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro

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

145 150 155 160
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp

165 170 175
Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp

180 185 190
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys

195 200 205
Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln

210 215 220
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230 235
<210> 45
<211> 239

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> MDX-L2M2H2 Light Chain
<400> 45

Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Gln
1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Glu Asn Ser Asn Ala Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys

50

55

60

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

65

70

75

80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

85

90

95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr

100

105

110

Cys Leu Gln Val Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys

115

120

125

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

130

135

140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu

145

150

155

160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp

165

170

175

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

180

185

190

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

195

200

205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln

210

215

220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225

230

235

<210> 46

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1M3H4 Light Chain

<400> 46

Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln

1	5	10	15
Gly Thr Arg Cys Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro			
	20	25	30
Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser			
	35	40	45
Leu Glu Asn Thr Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg			
	50	55	60
Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Gly Val Ser Asn Arg Phe			
65	70	75	80
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe			
	85	90	95
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe			
	100	105	110
Cys Leu Gln Val Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys			
	115	120	125
Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro			
	130	135	140
Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu			
145	150	155	160
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp			
	165	170	175
Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp			
	180	185	190
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys			
	195	200	205
Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln			
210	215	220	
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
225	230	235	
<210>	47		
<211>	239		

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2M3H2 Light Chain

<400> 47

Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Gln

1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser

20 25 30

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

35 40 45

Leu Glu Asn Thr Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr

100 105 110

Cys Leu Gln Val Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys

115 120 125

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

130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu

145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln

210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230 235

<210> 48

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1M2H4 Light Chain Variable Region

<400> 48

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser

20 25 30

Asn Ala Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 49

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1M3H4 Light Chain Variable Region

<400> 49

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr

20 25 30

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

85 90 95
 Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 50
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L2M2H2 Light Chain Variable Region
 <400> 50

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser

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

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 51
 <211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2M3H2 Light Chain Variable Region

<400> 51

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 52

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Signal Sequence of Humanised Light Chains

<400> 52

Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln

1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys

20

<210> 53

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Signal Sequence of Humanised Heavy Chains

<400> 53

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

<210> 54

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1M2H4 Mature Light Chain

<400> 54

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

Asn Ala Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val
 85 90 95

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

100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

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

165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 55
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L1H4 Mature Heavy Chain
 <400> 55
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

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

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

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

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

 435 440 445
 <210> 56
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VLCDR1 "mod1"
 <400> 56

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10 15

<210> 57
 <211> 720
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L1M2H4 Light Chain
 <400> 57

atggtgtcat ccgtcaatt tctcggttg cttctcctgt gttccaagg caccgctgc 60
 gacgtggtca tgaccagag ccactgagc cttcgggtca cttgggaca gcccgctca 120

atttcattgcc ggtccagcca gtccctggag aactccaacg ccaagacct tctgaactgg 180
 ttccagcagc gccctggaca gtcccgagg cgctgatct acggcgtcag caacaggttc 240
 tcgggcgtgc cggacagatt ctccggctcc ggaagcggaa ctgacttcac cctgaaaatc 300
 tcaagagtgg aagccgagga cgtgggcgtg tacttctgcc tccaagtcac gcacgtgccg 360
 tacactttcg gacaaggagc taagctggag atcaagcgga ccgtggcggc cccctctgtg 420
 ttcatitttc ctccctcgga cgaacagctg aagtcgggaa cagcctccgt cgtgtgcctg 480
 ctcaacaact tctacccccg ggaagcgaag gtccagtga aagtgataa cgcactccaa 540

tcggggaact ccaggaatc cgtgactgag caggactcga aggattccac ttactccctg 600
 tcgtccacc tgactctgag caagccgac tacgagaagc ataaggtcta cgctgcgaa 660

gtgacccacc aggtctgag ctccctgtg accaagagct ttaatcgggg cgaatgtga 720

720

<210> 58

<211> 1404

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1H4 Heavy Chain

<400> 58

atgggatgga ctctcgtgtt cttttttctc ctctctgtca ctgccggggt gcattcgcaa 60

gtccagctgg tgcagtcggg agcagagggtg aaaaagcccg gatcgtcagt gaaggtcagc 120

tgcaaagcct cgggatacac ttccaccaac tactggattg gatgggtcag acaggccccc 180

ggccaaggac tggagtgggt cggcgacatc tacctgggg gcgactatac caactacaac 240

gaaaagtcca agggacgcgt gacaattacc gccgataaga gcaccagcac tgcctacatg 300

gagcttagct cattgcggtc cgaggatacc gctgtgtact actgtgcgcg gtggggcctt 360

ggttactact tcgactactg gggacagggt accatggtca cgggtgcctc cgcgtccacc 420

aagggtccct ccgtgttccc tctcgcgcg tctcaaagt ctacctcgg tggaactgcc 480

gcgctcggtt gtctcgtgaa ggactacttc ccggagcctg tgactgtctc ctggaactcc 540

ggggccctca ccagcggagt gcacactttc cccgcctgac tgcaatctc cggcctgtac 600

agcctgtcct ccgtcgtgac tgtgcctagc tcttcctgg gaaccagac ctacatctgc 660

aacgtgaacc acaagccctc caacaccaag gtcgacaaga aggtcgaacc gaagtctgac 720

gacaagactc atacgtgccc tccttgcccg gccccggaac tgctgggagg cccatccgtg 780

ttctgttcc caccgaagcc taaggatacc ctgatgatca gcagaacacc ggaagtgacc 840

tgtgtggtgg tggacgtcag ccacgaagat cccgaggtca agttcaattg gtacgtggac 900

ggggtggagg tgcacaacgc aaagaccaag ccccgaggagg aacagtacaa ctccacctat 960

cgcgtgggtg cgggtgtgac ggtgtgtcac caggactggt tgaacggaaa ggagtataag 1020

tgcaaagtgt cgaacaaggc cctgcccgt cctatcgaaa agaccatctc caaggccaag 1080

ggccagccgc gggaacccca ggtctacact ctcccaccga gccgcgacga actgactaag 1140

aatcaagtgt cgtgacttg cctcgtcaag ggtttctacc cgtccgacat cggcgtggaa 1200

tgggagagca acggccagcc ggaaaacaac tacaagacca cccctcccgt gctggattcc 1260

gacgggtcct tcttctgtga ctcaaaactg accgtggata agtccagatg gcagcagggc 1320

aatgtctttt catgctccgt gatgcacgag gctctgcata accactacac ccagaagtcg 1380

ctgtccctgt ccccgaggaa gtga 1404

<210> 59

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1M2H4 Light Chain Variable Region

<400> 59

gacgtggtca tgaccagag ccactgagc ctccggtca cttgggaca gcccgcctca 60

atttcatgcc ggtccagcca gtccctggag aactccaacg ccaagaccta tctgaactgg 120

ttccagcagc gccctggaca gtccccgagg cgcctgatct acggcgtcag caacaggttc 180

tcgggcgtgc cggacagatt ctccggtcc ggaagcggaa ctgacttcac cctgaaaatc 240

tcaagagtgg aagccgagga cgtgggcgtg tacttctgcc tccaagtcac gcacgtgccg 300

tacactttcg gacaaggac taagctggag atcaag 336

<210> 60

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1H4 Heavy Chain Variable Region

<400> 60

caagtccagc tggatgcagc gggagcagag gtgaaaaagc ccggtatcgc agtgaaggtc 60

agctgcaaag cctcgggata cactttcacc aactactgga ttggatgggt cagacaggcc 120

cccggccaag gactggagtg ggtcggcgac atctaccctg ggggcgacta taccaactac 180

aacgaaaagt tcaaggagcg cgtgacaatt accgccgata agagcaccag cactgcctac 240

atggagctta gtcattgcg gtccgaggat accgtgtgt actactgtgc gcggtggggc 300

cttggttact acttcgacta ctggggacag ggtacatgg tcacggtgac ctcc 354

<210> 61

<211> 720

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2M2H2 Ligh Chain

<400> 61

atggtgtcat ccgtcaatt tctcggtttg cttctcctgt gtttccaagg caccgcgtgc 60

gacatcgtca tgacccagac cccattgagc ctttccgtca cgccgggaca gcccgcctcc 120
 atttcctgcc gctcaagcca gtccctggag aactcaaacg ccaagaccta cctgaattgg 180
 tatctgcaga agcctggaca gagccccgag ctgctgatct acggcgtcag caacaggttc 240
 tcgggcgtgc cggacagatt ctccggctcc ggaagcggaa ctgacttcac cctgaaaatc 300
 tcacgcgtgg aagccgagga cgtgggcgtg tactactgcc tccaagtcac ccacgtgccg 360
 tacactttcg gacaagggac taaggtcgag atcaagcgga ccgtggcggc cccctctgtg 420
 ttcatTTTTc ctccctcgga cgaacagctg aagtcgggaa cagcctccgt cgtgtgcctg 480

ctcaacaact tctacccccg ggaagcgaag gtccagtggg aagtggataa cgcactccaa 540
 tcggggaact cccaggaatc cgtgactgag caggactcga aggattccac ttactccctg 600
 tcgtccacc tgactctgag caaggccgac tacgagaagc ataaggtcta cgcctgcgaa 660
 gtgacccacc aggtctgag ctccctctg accaagagct ttaatcgggg cgaatgttga 720
 720

<210> 62

<211> 1404

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2H2 Heavy Chain

<400>

62

atgggatgga ctctcgtgtt cttttttctc ctctctgtca ctgccggggt gcattcgcaa 60
 gtccagctgg tgcagtcggg accagaggtg aaaaagcccg gagagtcact taagatcagc 120
 tgcaaaggct cgggatacac ttccaccaac tactggattg gttgggtcag acaggccccc 180
 ggcaaaggac tggagtggat gggcgacatc taccttgggg gcgactatac caactacaac 240
 gaaaagtcca aggagacaagt gacaatttcg gccgataaga gcattagcac tgcatacctt 300
 cagtggagct cattgaaggc ctccgatacc gctatctact actgtgcgcg gtggggcctg 360
 ggatactact tcgactactg gggaaggggt accttggtca cgggtgtctc cgcgtccacc 420

aagggtccct ccgtgttccc tctcgcgccg tctcaaatg ctacctccgg tggaactgcc 480
 gcgctcggtt gtctcgtgaa ggactacttc ccggagcctg tgactgtctc ctggaactcc 540
 ggggccctca ccagcggagt gcacactttc cccgccgtgc tgcaatctc cggcctgtac 600
 agcctgtcct ccgtcgtgac tgtgcctagc tctccctgg gaaccagac ctacatctgc 660
 aacgtgaacc acaagccctc caacaccaag gtcgacaaga aggtcgaacc gaagtcgtgc 720
 gacaagactc atacgtgccc tccttgcccc gccccggaac tgctgggagg cccatccgtg 780

ttcctgttcc cacccaagcc taaggatacc ctgatgatca gcagaacacc ggaagtgacc	840
tgtgtggtgg tggacgtcag ccacgaagat cccgaggtca agttcaattg gtacgtggac	900
ggggtggagg tgcacaacgc aaagaccaag ccccgaggagg aacagtacaa ctccacctat	960
cgcgtggtgt cggtgctgac ggtgctgcac caggactggt tgaacggaaa ggagtataag	1020
tgcaaagtgt cgaacaaggc cctgcccgct cctatcgaaa agaccatctc caaggccaag	1080
ggccagccgc gggaacccca ggtctacact ctcccaccga gccgcgacga actgactaag	1140
aatcaagtgt cgctgacttg cctcgtcaag ggcttctacc cgtccgacat cgccgtggaa	1200
tgggagagca acggccagcc ggaaaacaac tacaagacca cccctcccgt gctggattcc	1260
gacgggtcct tcttctgtga ctcaaaactg accgtggata agtccagatg gcagcagggc	1320
aatgtctttt catgctccgt gatgcacgag gctctgcata accactacac ccagaagtcg	1380
ctgtccctgt ccccgaggaa gtga	1404
<210> 63	
<211> 336	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> MDX-L2M2H2 Light Chain Variable Region	
<400> 63	
gacatcgtca tgaccagac cccattgagc ctttccgtca cgccgggaca gcccgcctcc	60
atttcctgcc gctcaagcca gtccctggag aactcaaagc ccaagaccta cctgaattgg	120
tatctgcaga agccttgaca gagcccgag ctgctgatct acggcgtcag caacaggttc	180
tcgggcgtgc cggacagatt ctccggctcc ggaagcggaa ctgacttcac cctgaaaatc	240
tcacgcgtgg aagccgagga cgtgggcgtg tactactgcc tccaagtcac ccacgtgccg	300
tacactttcg gacaaggagc taaggtcgag atcaag	336
<210> 64	
<211> 354	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> MDX-L2H2 Heavy Chain Variable Region	
<400> 64	
caagtccagc tggatgcagtc gggaccagag gtgaaaaagc ccggagagtc acttaagatc	60
agctgcaaag gctcgggata cactttcacc aactactgga ttggttgggt cagacaggcc	120

cccggcaaag gactggagtg gatgggcgac atctaccctg ggggcgacta taccaactac 180
 aacgaaaagt tcaaggga agtgacaatt tcggccgata agagcattag cactgcatac 240
 cttcagtgga gctcattgaa ggccctccgat accgctatct actactgtgc gcggtggggc 300
 ctgggatact acttcgacta ctggggaagg ggtaccttgg tcacggtgtc ctcc 354
 <210> 65
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L1M2H4 VLCDR1
 <400> 65

 cggtccagcc agtccctgga gaactccaac gccaagacct atctgaac 48
 <210> 66
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L2M2H2 VLCDR1
 <400> 66

 cgctcaagcc agtccctgga gaactcaaac gccaagacct acctgaat 48
 <210> 67
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L1H4 & MDX-L2H2 VLCDR2
 <400> 67

 ggcgtcagca acaggttctc g 21
 <210> 68
 <211> 27

 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L1H4 VLCDR3
 <400> 68

 ctccaagtca cgcacgtgcc gtacact 27
 <210> 69

<211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L2H2 VLCDR3
 <400> 69
 ctccaagtca cccacgtgcc gtacact 27
 <210> 70
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L1H4 VHCDR1
 <400> 70
 ggatacactt tcaccaacta ctggattgga 30

 <210> 71
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L2H2 VHCDR1
 <400> 71
 ggatacactt tcaccaacta ctggattggt 30
 <210> 72
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L1H4 & MDX-L2H2 VHCDR2
 <400> 72
 gacatctacc ctgggggcga ctataccaac tacaacgaaa agttcaaggg a 51
 <210> 73
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L1H4 VHCDR3

 <400> 73

gcgcggtggg gccttggta ctacttcgac tac 33

<210> 74

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2H2 VHCDR3

<400> 74

gcgcggtggg gcctgggata ctacttcgac tac 33

<210> 75

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1H4 Mature Light Chain

<400> 75

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser

20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 76
 <211> 219
 <212> PRT
 <213>
 Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L1M3H4 Mature Light Chain
 <400> 76
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr
 20 25 30
 Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val
 85 90 95
 Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 77

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2H2 Mature Light Chain

<400> 77

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

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

<210> 78

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2M2H2 Mature Light Chain

<400> 78

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Val
 85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 79

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2M3H2 Mature Light Chain

<400> 79

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Val
85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 80

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2H2 Mature Heavy Chain

<400> 80

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Asp Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys	Gly	Gln	Val	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Lys	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Trp	Gly	Leu	Gly	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Arg	Gly	Thr
				100				105					110		
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
		115					120					125			
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
	130					135					140				
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
145				150						155					160
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
				165					170					175	
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
		180						185					190		
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
		195					200					205			
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
	210					215					220				
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
225				230					235						240
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
				245					250					255	
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
		260						265				270			
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
		275					280				285				
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
	290					295					300				
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 81

<211> 720

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1H4 Light Chain

<400> 81

atgggtgcat ccgetcaatt tctcggtttg cttctctgt gtttccaagg caccgcgtgc 60

gacgtgggtca tgaccagag cccactgagc cttccgggtca ccttgggaca gcccgcctca 120

atttcatgcc ggtccagcca gtccctggag aactccaacg gaaagaccta tctgaactgg 180

ttccagcagc gccctggaca gtccccgagg cgctgatct acggcgctcag caacaggttc 240

tcgggcgctgc cggacagatt ctccggetcc ggaagcggaa ctgacttcac cctgaaaatc 300

tcaagagtgg aagccgagga cgtgggcgtg tactactgcc tccaagtcac gcacgtgccg 360

tacactttcgc gacaagggac taagctggag atcaagcgga ccgtggcggc cccctctgtg 420

ttcattttcc ctccctcgga cgaacagctg aagtcgggaa cagcctccgt cgtgtgcctg 480

ctcaacaact tctacccccg ggaagcgaag gtccagtga aagtggataa cgcactccaa 540
tcggggaact ccaggaatc cgtgactgag caggactcga aggattccac ttactccctg 600
tcgtccacc tgactctgag caaggccgac tacgagaagc ataaggtcta cgctgcgaa 660
gtgaccacc aggtctgag ctccctgtg accaagagct ttaatcgagg cgaatgtga 720
720

<210> 82

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1H4 Light Chain Variable Region

<400> 82

gacgtggtca tgaccagag cccactgagc ctccggtca ccttgggaca gcccgcctca 60
atttcagtc ggtccagcca gtccctggag aactccaacg gaaagaccta tctgaactgg 120
ttccagcagc gccctggaca gtcccgagg cgctgatct acggcgtcag caacaggttc 180
tcgggcgtgc cggacagatt ctccggtcc ggaagcggaa ctgacttcac cctgaaaatc 240
tcaagagtgg aagccgagga cgtgggcgtg tactactgcc tccaagtcac gcacgtgccg 300

tacactttcg gacaaggagc taagctggag atcaag 336

<210> 83

<211> 720

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2H2 Light Chain

<400> 83

atggtgtcat ccgtcaatt tctcggttg ctctctctgt gttccaagg caccgctgc 60
gacatcgtea tgaccagac ccattgagc ctctccgta cgcgggaca gcccgcctcc 120
atttctgcc gtcaagcca gtccctggag aactcaaacg gaaagaccta cctgaattgg 180
tatctgcaga agcctggaca gagcccgag ctgctgatct acggcgtcag caacaggttc 240

tcgggcgtgc cggacagatt ctccggtcc ggaagcggaa ctgacttcac cctgaaaatc 300
tcacgcgtgg aagccgagga cgtgggcgtg tactactgcc tccaagtcac ccacgtgccg 360
tacactttcg gacaaggagc taagtcgag atcaagcgga ccgtggcggc cccctctgtg 420
ttcattttcc ctccctcgga cgaacagctg aagtcgggaa cagctccgt cgtgtgcctg 480
ctcaacaact tctacccccg ggaagcgaag gtccagtga aagtggataa cgcactccaa 540

tcggggaact cccaggaatc cgtgactgag caggactcga aggattccac ttactccctg 600
tcgtccacc tgactctgag caaggccgac tacgagaagc ataaggtcta cgctgcgaa 660

gtgaccacc aggtctgag ctcccctgtg accaagagct ttaatcggg cgaatgtga 720
720

<210> 84

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2H2 Ligh Chain Variable Region

<400> 84

gacatcgta tgaccagac cccattgagc ctttcgtca cgccgggaca gccgcctcc 60
atttcctgcc gctcaagcca gtccctggag aactcaaagc gaaagaccta cctgaattgg 120
tatctgcaga agcctggaca gagcccgag ctgctgatct acggcgtcag caacaggttc 180

tcgggcgtgc cggacagatt ctccggctcc ggaagcggaa ctgacttcac cctgaaaatc 240
tcacgcgtgg aagccgagga cgtgggcgtg tactactgcc tccaagtcac ccacgtgccg 300
tacactttcg gacaaggac taaggtcgag atcaag 336

<210> 85

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1H4 VLCDR1

<400> 85

cgtccagcc agtccctgga gaactccaac ggaaagacct atctgaac 48

<210> 86

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> MDX-L2H2 VLCDR1

<400> 86

cgctcaagcc agtccctgga gaactcaaac ggaaagacct acctgaat 48

<210> 87

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1M3H4 VLCDR1

<400> 87

cgggtccagcc agtccctgga gaacaccaac ggaaagacct atctgaac 48

<210> 88

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2M3H2 VLCDR1

<400> 88

cgctcaagcc agtccctgga gaacaccaac ggaaagacct acctgaat 48

<210> 89

<211> 720

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L1M3H4 Light Chain

<400> 89

atggtgtcat ccgtcaatt tctcggtttg cttctcctgt gtttccaagg caccgcctgc 60

gacgtggtca tgaccagag cccactgagc cttccggtca ccttgggaca gcccgcctca 120

atttcattgcc ggtccagcca gtccctggag aacaccaacg gaaagacct tctgaactgg 180

ttccagcagc gccctggaca gtccccgagg cgctgatct acggcgtcag caacaggttc 240

tcgggcgtgc cggacagatt ctccggctcc ggaagcggaa ctgacttcac cctgaaaatc 300

tcaagagtgg aagccgagga cgtgggcgtg tacttctgcc tccaagtcac gcacgtgccg 360

tacactttcg gacaaggagc taagctggag atcaagcgga ccgtggcggc cccctctgtg 420

ttcattttcc ctccctcgga cgaacagctg aagtcgggaa cagcctccgt cgtgtgcctg 480

ctcaacaact tctaccccc ggaagcgaag gtccagtga aagtggataa cgcactccaa 540

tcggggaact ccaggaatc cgtgactgag caggactcga aggattccac ttactccctg 600

tcgtccacc tgactctgag caagccgac tacgagaagc ataaggtcta cgcctgcgaa 660

gtgaccacc aggtcttgag ctccccctgtg accaagagct ttaatcgggg cgaatgttga 720

720

<210> 90

<211> 336
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L1M3H4 Light Chain Variable Region
 <400> 90
 gacgtggtca tgaccagag ccactgagc ctccggtca cttgggaca gccgcctca 60
 atttcatgcc ggiccagcca gtccctggag aacaccaacg gaaagaccta tctgaactgg 120
 ttccagcagc gccctggaca gtccccgagg cgctgatct acggcgtcag caacaggttc 180
 tcgggcgtgc cggacagatt ctccggctcc ggaagcggaa ctgacttcac cctgaaaatc 240
 tcaagagtgg aagccgagga cgtgggcgtg tacttctgcc tccaagtcac gcacgtgccg 300
 tacactttcg gacaaggagc taagctggag atcaag 336
 <210> 91
 <211> 720
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MDX-L2M3H2 Light Chain
 <400> 91
 atggtgtcat ccgtcaatt tctcggttg ctctctctgt gttccaagg caccgcgtgc 60
 gacatcgtca tgaccagac ccattgagc ctctccgtca cgccgggaca gccgcctcc 120
 atttctgcc gctcaagcca gtccctggag aacaccaacg gaaagaccta cctgaattgg 180
 tatctgcaga agcctggaca gagccgcag ctgctgatct acggcgtcag caacaggttc 240
 tcgggcgtgc cggacagatt ctccggctcc ggaagcggaa ctgacttcac cctgaaaatc 300
 tcacgcgtgg aagccgagga cgtgggcgtg tactactgcc tccaagtcac ccacgtgccg 360
 tacactttcg gacaaggagc taagtcgag atcaagcgga ccgtggcggc cccctctgtg 420
 ttcatatttc ctccctcgga cgaacagctg aagtcgggaa cagcctccgt cgtgtgcctg 480
 ctcaacaact tctaccccg ggaagcgaag gtccagtga aagtgataa cgcactcaa 540
 tcggggaact ccaggaatc cgtgactgag caggactga aggattccac ttactcctg 600
 tcgtccacce tgactctgag caaggccgac tacgagaagc ataaggtcta cgcctgcgaa 660
 gtgaccacc aggtctgag ctccctgtg accaagagct ttaatcgggg cgaatgttga 720
 720
 <210> 92
 <211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MDX-L2M3H2 Light Chain Variable Region

<400> 92

gacatcgtca tgaccagac cccattgagc ctttcgtca cgccgggaca gcccgcctcc 60

atttcctgcc gctcaagcca gtccctggag aacaccaacg gaaagaccta cctgaattgg 120

tatctgcaga agcctggaca gagcccgag ctgctgatct acggcgtcag caacaggttc 180

tcgggcgtgc cggacagatt ctccggctcc ggaagcggaa ctgacttcac cctgaaaatc 240

tcacgcgtgg aagccgagga cgtgggcgtg tactactgcc tccaagtcac ccacgtgccg 300

tacactttcg gacaaggac taaggtcgag atcaag 336