



공개특허 10-2020-0063153



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0063153
(43) 공개일자 2020년06월04일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7009687
- (22) 출원일자(국제) 2018년10월09일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년04월02일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2018/077514
- (87) 국제공개번호 WO 2019/072870
국제공개일자 2019년04월18일
- (30) 우선권주장
17195780.6 2017년10월10일
유럽특허청(EPO)(EP)
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인
누맙 세러퓨틱스 아게
스위스 8820 베덴스빌 아인자들러스트라쎄 34
- (72) 발명자
군데 테
스위스 쥬리히 8005 투비넨스트라쎄 33
브록 마티아스
스위스 애쉬 8904 펠트스트라쎄 46
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인아이엠

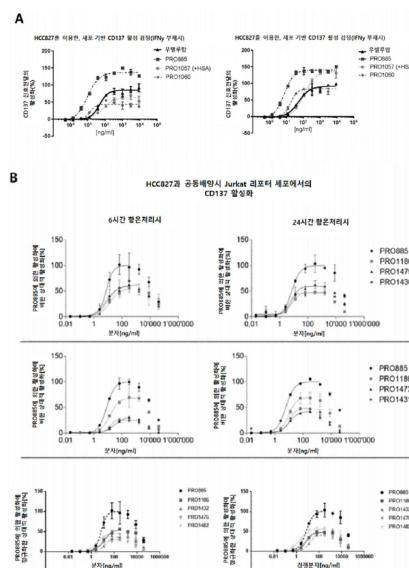
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 CD137을 표적화하는 항체 및 이의 사용 방법

(57) 요 약

본 발명은, 일반적으로 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리 항체, 이의 약학 조성물 및 사용 방법, 상기 항체를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산, 상기 핵산을 포함하는 벡터, 상기 핵산 또는 상기 벡터를 포함하는 숙주 세포, 그리고 상기 항체를 제조하는 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도11



(52) CPC특허분류

C07K 2317/33 (2013.01)

C07K 2317/34 (2013.01)

C07K 2317/75 (2013.01)

(72) 발명자

해스 크리스티안

스위스 쥬리히 8045 위에틀리베르크스트라쎄 304

시모낭 알렉산더

프랑스 로제나우 68128 5 루 드 라루

(30) 우선권주장

18167092.8 2018년04월12일

유럽특허청(EPO)(EP)

18180815.5 2018년06월29일

유럽특허청(EPO)(EP)

명세서

청구범위

청구항 1

인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지고, 서열 번호 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2, HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각을 포함하는 단리 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체는 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하되, 단 상기 VH는 VH3 또는 VH4이거나, 바람직하게 VH3인 항체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하되, 단 상기 VL은 상기 VL 틀 FR1, FR2 및 FR3, 구체적으로 $V_{\kappa}1$ 또는 $V_{\kappa}3$ FR1 ~ FR3, 바람직하게 $V_{\kappa}1$ FR1 ~ FR3와, V_{κ} FR4, 구체적으로 $V_{\kappa}1$ FR4, $V_{\kappa}3$ FR4 및 V_{λ} FR4이되, 구체적으로 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하는 V_{λ} FR4, 바람직하게 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것에 제시된 바와 같은 V_{λ} FR4, 바람직하게 서열 번호 62 또는 63에 제시된 바와 같은 V_{λ} FR4, 더욱 바람직하게 서열 번호 62에 제시된 바와 같은 V_{λ} FR4로부터 선택되는 틀 FR4를 포함하는 항체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 14, 15, 16 및 17로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 14 및 17로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 더욱 바람직하게 서열 번호 17의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역과; 서열 번호 27, 28, 29 및 30으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 27 및 30으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 더욱 바람직하게 서열 번호 30의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 항체는 (a) 서열 번호 14의 VH 서열 및 서열 번호 27의 VL 서열; (b) 서열 번호 15의 VH 서열 및 서열 번호 28의 VL 서열; (c) 서열 번호 16의 VH 서열 및 서열 번호 29의 VL 서열; 또는 (d) 서열 번호 17의 VH 서열 및 서열 번호 30의 VL 서열을 포함하는 항체.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는

(i) 구체적으로 표면플라스몬공명법(SPR)에 의해 측정된 바에 따르면 해리 상수(KD) 10 nM 미만, 구체적으로 5 nM 미만, 구체적으로 1 nM 미만으로 인간 CD137과 결합하고[단 상기 항체는 구체적으로 scFv임];

(ii) SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 K_{off} 속도 10^{-3} s^{-1} 이하, 또는 10^{-4} s^{-1} 이하, 또는 10^{-5} s^{-1} 이하로 인간 CD137과 결합하며[단 상기 항체는 scFv임];

(iii) SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 K_{on} 속도 적어도 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상으로 인간 CD137과 결합하며[단 상기 항체는 구체적으로 scFv임];

(iv) 마카카 파스큘라리스(사이노몰거스) CD137과 교차 반응성으로서, 구체적으로 SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 KD 15 nM 미만, 구체적으로 10 nM 미만, 구체적으로 5 nM 미만으로 사이노몰거스 PDL1과 결합하며/결합하거나[단 상기 항체는, 구체적으로 scFv임];

(v) 구체적으로 SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 인간 CD40 및/또는 인간 OX40과 결합하지 않는 항체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는

(i) scFv 포맷일 때, 시차주사형광측정법(differential scanning fluorimetry)에 의해 확정된 용융 온도(T_m)가 적어도 50°C, 바람직하게 적어도 55°C, 더욱 바람직하게 적어도 60°C이고[단 상기 항체는 구체적으로 50 mM 인산염-시트르산염 완충제(pH 6.4, 150 mM NaCl 포함) 중에 제제화됨];

(ii) scFv 포맷일 때, 적어도 2주 동안, 구체적으로 적어도 4주 동안 4°C에서 보관하였을 때 단량체 함량 감소율이 5% 미만, 예컨대 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 바람직하게 1% 미만이며/미만이거나[단 이때 본 발명의 항체의 출발 농도는 10 mg/ml이고, 항체는 구체적으로 50 mM 인산염-시트르산염 완충제(pH 6.4, 150 mM NaCl 포함) 중에 제제화됨];

(iii) scFv 포맷일 때, 적어도 2주 동안, 구체적으로 적어도 4주 동안 40°C에서 보관하였을 때 단량체 함량 감소율이 5% 미만, 예컨대 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 바람직하게 1% 미만인[단 이때 본 발명의 항체의 출발 농도는 10 mg/ml이고, 항체는 구체적으로 50 mM 인산염-시트르산염 완충제(pH 6.4, 150 mM NaCl 포함) 중에 제제화됨]

항체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리 항체는 모노클로날 항체, 키메라 항체, Fab, Fv, scFv, dsFv, scAb, STAB, 그리고 대안적 스캐폴드를 기반으로 하는 결합 도메인, 예컨대 안키린 기반 도메인, 파이노머, 아비머, 안티칼린, 피브로넥틴, 및 항체의 불변 영역으로 구축될 결합 부위들(예컨대 F-star의 Modular AntibodyTechnology™)(이에 한정되는 것은 아님)로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 바람직하게는 Fv 또는 scFv인 항체.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 scFv는 서열 번호 32, 서열 번호 33, 서열 번호 34 및 서열 번호 35로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 32 및 서열 번호 35로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 더욱 바람직하게 서열 번호 35의 아미노산 서열을 가지는 항체.

청구항 10

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 다중 특이적 분자이고, 구체적으로 상기 다중 특이적 분자는 적어도 제2의 기능성 분자를 포함하는 항체.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 의한 항체와, 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 12

의약으로서 사용하기 위한, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 의한 항체 또는 제11항에 의한 조성물.

청구항 13

암 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 의한 항체 또는 제11항에 의한 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 의한 항체를 암호화하는 핵산.

청구항 15

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 의한 항체를 제조하는 방법으로서, 이 방법은 제1항 내지 제8항에 의한 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리 항체와, 이의 약학 조성물 및 사용 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 항체를 암호화하는 핵산, 상기 핵산을 포함하는 벡터, 상기 핵산 또는 상기 벡터를 포함하는 숙주 세포, 그리고 상기 항체의 제조 방법에 관한 것이기도 하다.

배경 기술

[0002] 종양괴사인자 수용체 상과(TNFRSF)는, 세포외 도메인에 있는 시스테인 풍부 유사반복부(cysteine-rich pseudorepeat)를 통해 종양괴사인자(TNF)와 결합하는 능력에 의해 특징지어지는 수용체의 단백질 상과이다 (Locksley et al., 2001, *Cell*. 104: 487-501). 현재까지 27개의 TNF과 일원이 동정되었다. TNFRSF 일원 및 이의 리간드는 대부분 면역세포상에서 발현되고, 이것들은 T 세포 매개 반응에 있어 면역조정자로서의 역할을 한다. TNFRSF 일원은 수지세포 생존 및 T 세포의 점화능 향상, 최적 효과기 T 세포의 생성, 최적 항체 반응 및 염증반응 증폭의 역할도 담당하고 있다.

[0003] CD137(4-1BB, TNF-수용체 상과 9, TNFRSF9)은 TNFR 상과의 표면 당단백질이다. 이는 유도성 공자극 T 세포 수용체이다. 이 CD137의 발현은 활성화에 의존적이고, 활성화 NK 세포 및 NKT 세포, 조절 T 세포, 수지세포(DC), 예컨대 여포 DC, 자극된 비만세포, 분화중인 골수세포, 단핵구, 호중구, 호산구(Wang et al., *Immunol Rev.* 229(1): 192-215 (2009)) 및 활성화된 B 세포(Zhang et al., *J Immunol.* 184(2):787-795 (2010))를 비롯한 면역세포의 광범위한 하위세트를 포함한다. 뿐 아니라 CD137 발현은 또한 종양 혈관조직(Broil K et al., *Am J ClinPathol.* 115(4):543-549 (2001); Seaman et al., *Cancer Cell* 11(6):539-554 (2007)) 및 죽상경화증의 내피(Olofsson et al., *Circulation* 117(10): 1292-1301 (2008))에서도 입증된 바 있다.

[0004] CD137-리간드(CD137L, 4-1BBL 또는 tnfsf9), 즉 TNF과의 분자는 CD137이라 공지된 세포내 천연 리간드이다 (Alderson, M. R., et al., *Eur. J. Immunol.* 24:2219-2227 (1994); Pollok K., et al., *Eur. J. Immunol.* 24:367-374 (1994); Goodwin, R. G., et al., *Eur. J. Immunol.* 23: 2631-2641 (1993)). CD137에 대한 리간드는 동종 삼량체를 형성하는데, CD137을 통한 신호전달은 삼량체화된 리간드에 의해 가교되어 세포 표면에 결찰된 분자로부터 진행된다(Won, E. Y., et al., *J. Biol. Chem.* 285: 9202-9210 (2010)). CD137의 고차원적 클러스터형성(clustering)이 신호전달을 매개하는데 필요하다고 제안되었다. CD137은 자체의 세포질쪽 미부에서 어댑터인 TRAF-2 및 TRAF-1과 결합하여 공면역침전을 일으키는데, 이는 T 세포에서 CD137 활성화가 일어날 때 향상된다 (Saoulli, K., et al., *J. Exp. Med.* 187: 1849-1862 (1998); Sabbagh, L., et al., *J. Immunol.* 180: 8093-8101 (2008)). CD137에 의한 TRAF-1 및 TRAF-2의 보충은 NFkB의 하류 활성화와, 미토ژ 활성화 단백질(MAP) 키나아제 캐스케이드(ERK, JNK, 및 p38 MAP 키나아제 포함)를 조래한다. NFkB 활성화는 Bf1-1 및 Bc1-XL, Bc1-2과의 전-생존(pro-survival) 일원의 상향조절을 유도한다. 전 세포자살 단백질 Bim은 TRAF-1 및 ERK 의존적 방식으로 하향 조절된다(Sabbagh et al., *J Immunol.* 180(12):8093-8101 (2008)). CD137의 주요 작용은 2개 이상의 TRAF-2 분자를 서로 간에 가까운 분자 근위에 배치하는 것이라고 제안된 바 있다(Sanchez-Paulete, A. R., et al., *Eur. J. Immunology* 46(3): 513-522 (2016)). 이러한 사실을 기반으로 하였을 때, CD137 신호전달을 구동하는 주요 요인은 원형질막의 마이크로패치(micropatch) 내 TRAF-2 조립형 CD137 단의 상대적 밀도라는 가설이 세워졌다(Sanchez-Paulete, A. R., et al., *Eur. J. Immunology* 46(3): 513-522 (2016)). 전반적으로 CD137 신호전달은 다양체화에 의해 조장되고, 가교 CD137 분자는 CD137 공자극 활성에서 핵심적인 요인임이 제안되었다.

[0005] CD137은 T 세포를 공자극하여, 효과기 기능, 예컨대 확립된 종양의 소거, 1차 CD8⁺ T 세포 반응의 확대, 그리고 항원 특이적 CD8⁺ T 세포 기억 풀의 향상, 인터페론-감마(IFN- γ) 합성의 유도를 수행하게 만든다. CD8⁺ T 세포 기능 및 생존에 있어 CD137 자극의 중요 역할은, CD137/CD137L 기능의 조작을 통한 종양 치료에 잠재적으로 이용될 수 있었다. 사실상, 마우스를 대상으로 행해졌던 생체내 효능 연구는, 항 CD137 항체 치료가 다발성 종양 모델에 있어 종양의 퇴행을 유도하였음을 입증하였다. 예를 들어 효현적 항 마우스 CD137 항체는 저 면역원성 종양 모델 Ag104에서 P815 비만세포종이라는 종양에 대항하는 면역 반응을 유도하는 것으로 입증되었다(I.

Melero et al., Nat. Med., 3(6):682-5 (1997)). 몇몇 연구를 통하여 예방 및 치료를 위한 상황에서 단일요법 및 조합 요법 둘 다에 대한 CD137 효현제 mAb의 효능과, 항 종양 방어적 T 세포 기억 반응이 보고된 바 있다 (Lynch et al., Immunol Rev. 222:277-286 (2008)). CD137 효현제는 또한 다양한 자가면역성 모델에서 자가면역반응을 억제한다(Vinay et al., J Mol Med 84(9):726-736 (2006)).

[0006] CD137에 대항하는 여러가지의 항체가 이미 공지되어 있으며(예를 들어 WO 00/29445 및 WO 2004/010947 참조), 적어도 2개의 항 CD137 항체, 즉 우렐루맙(Bristol-Myers Squibb), 전체적으로 인간화된 IgG4 mAb 및 우토밀루맙(PF-05082566, Pfizer), 전체적으로 인간의 것인 IgG2 mAb(Chester C., et al., Cancer Immunol Immunother Oct;65(10):1243-8 (2016))가 현재 임상중에 있다. CD137에 대해 효현하는 치료적 항체의 사용이 매우 전도유망한 치료 전략이긴 하지만, 이 전략은 항 CD137 효현제 항체의 작은 효능, 큰 독성 및 부작용과 같은 난관이 따른다. CD137 효현제 항체는 면역계와 장기 기능의 변경을 유도하고, 이로 말미암아 독성 위험을 증가시키는 것으로 보였다. 종양 비 보유 마우스 및 종양 보유 마우스에 있어 CD137 효현제 항체가 고용량으로 사용되면, T 세포의 간으로의 침습이 유도되고, 그에 따라 간에 염증이 발생하면서 아스파르트산염 아미노기전이효소 및 알라닌 아미노기전이효소가 증가하는 것으로 보고된 바 있다(Niu L, et al. J Immunol 178(7):4194-4213 (2007); Dubrot J, et al., Int J Cancer 128(1):105-118 (2011)). 인간에 있어 CD137 효현제 항체의 치료적 사용에 대한 초기 임상 연구는 또한 간 효소의 증가와 간염 발생의 증가를 입증하였다(Sznol M., et al., J Clin Oncol 26(11S):3007 (2008); Ascierto PA, et al., Semin Oncol 37(5):508-516 (2010); Chester C., et al., Cancer Immunol Immunother Oct;65(10):1243-8 (2016)). 기 치료된 III기/IV기 흑색종을 대상으로 하는 Bristol-Myers Squibb(BMS)의 제II기 항 CD137 연구에서 잠재적으로 치명적인 간염이 관찰되었다(국립임상시험(National Clinical Trial; NCT) 00612664). 이 연구와, 다른 연구 몇 가지(NCT00803374, NCT00309023, NCT00461110, NCT00351325)가 부작용으로 말미암아 종료되었다(Chester C., et al., Cancer Immunol Immunother Oct;65(10):1243-8 (2016)). 이러한 부작용은 아마도 T 세포의 전신 과자극으로 말미암을 가능성이 크다.

[0007] 따라서 당 분야에서는, 효능이 더 크고, 일반적인 항 종식 약물이 가지는 고유의 부작용을 유발시키지 않는(구체적으로 현재 사용되고 있는 CD137 항체의 독성에 비해 더 작은 독성을 보이는), 개선된 치료적 항 인간 CD137 항체를 제조하는 것이 필요한 설정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은, 인간 CD137 단백질에 특이적으로 결합하고, 요법에 사용되기 유리한 특성들, 예컨대 더 큰 친화성, 개선된 효능, 더 작은 독성 및 개선된 생물물리학적 특성, 예컨대 가용성, 개발가능성(developability) 및 안정성을 가지는 항체를 제공하는 것이다. 구체적으로 결합시 CD137 신호전달을 직접적으로 초래하지 않고, 다른 세포 표면 분자와 독립적으로 CD137 신호전달을 달성하는, CD137 항체는 아직 발견되지 않았다.

과제의 해결 수단

[0009] 일 양태에서, 본 발명은 신규 CD137 항체에 관한 것이다.

[0010] 일 양태에서, 본 발명은 본 발명의 단리 항체와 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0011] 다른 양태에서, 본 발명은 의약으로서 사용하기 위한 본 발명의 항체 또는 본 발명의 조성물에 관한 것이다.

[0012] 일 양태에서, 본 발명은 암 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항체 또는 본 발명의 조성물에 관한 것이다.

[0013] 일 양태에서, 본 발명은 암 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하기 위한 의약을 제조함에 있어 본 발명의 항체 또는 본 발명의 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0014] 다른 양태에서, 본 발명은, 본 발명의 항체 또는 본 발명의 조성물 치료적 유효량만큼을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 암 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0015] 또다른 양태에서, 본 발명은, 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산에 관한 것이다. 추가의 양태에서, 본 발명은 상기 핵산을 포함하는 벡터에 관한 것이다. 추가의 양태에서, 본 발명은 상기 핵산 또는 상기 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다.

- [0016] 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 핵산 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 본 발명의 항체를 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0017] 하기 항목들에 요약되어 있는 본 발명의 양태들, 유리한 특징들과 바람직한 구현예들은 각각 단독일 때 또는 조합될 때 본 발명의 과제를 해결하는데 더욱 기여한다:
1. 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 단리 항체로서, (a) 서열 번호 1, 4, 5, 8 및 11 중 임의의 하나로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 1의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 중쇄 가변 영역 CDR1; (b) 서열 번호 2, 6, 9 및 12 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 중쇄 가변 영역 CDR2; (c) 서열 번호 3, 7, 10, 및 13 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 중쇄 가변 영역 CDR3; (d) 서열 번호 18, 21 및 24 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 경쇄 가변 영역 CDR1; (e) 서열 번호 19, 22 및 25 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 19의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (f) 서열 번호 20, 23 및 26 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 20의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 경쇄 가변 영역 CDR3
- [0019] 을 포함하는 단리 항체.
- [0020] 2. 항목 1의 항체로서, 항체는 (a) 서열 번호 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (b) 서열 번호 4, 6 및 7의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 21, 22 및 23의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (c) 서열 번호 5, 6 및 7의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 21, 22 및 23의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (d) 서열 번호 8, 9 및 10의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; 또는 (e) 서열 번호 11, 12 및 13의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 24, 25 및 26의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각
- [0021] 을 포함하는 항체
- [0022] 3. 항목 1의 항체로서, (a) 서열 번호 1의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 HCDR1; (b) 서열 번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 HCDR2; (c) 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 HCDR3; (d) 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 LCDR1; (e) 서열 번호 19의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 LCDR2; 및 (f) 서열 번호 20의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 LCDR3
- [0023] 를 포함하는 항체.
- [0024] 4. 항목 1의 항체로서, (a) 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 HCDR1; (b) 서열 번호 6의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 HCDR2; (c) 서열 번호 7의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 HCDR3; (d) 서열 번호 21의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 LCDR1; (e) 서열 번호 22의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 LCDR2; 및 (f) 서열 번호 23의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 LCDR3
- [0025] 를 포함하는 항체.
- [0026] 5. 상기 항목들 중 임의의 하나의 항체로서, 항체는 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하되, 단 상기 VH는 VH3 또는 VH4, 바람직하게 VH3인 항체.
- [0027] 6. 상기 항목들 중 임의의 하나의 항체로서, 항체는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하되, 단 상기 VL은 V_κ 틀 FR1, FR2 및 FR3, 구체적으로 V_κ 1 또는 V_κ 3 FR1 ~ FR3, 바람직하게 V_κ 1 FR1 ~ FR3와, V_κ FR4, 구체적으로 V_κ 1 FR4, V_κ 3 FR4 및 V_λ FR4이되, 구체적으로 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하는 V_λ FR4, 바람직하게 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것에 제시된 바와 같은 V_λ FR4, 바람직하게 서열 번호 62 또는 63에 제시된 바와 같은 V_λ FR4, 더욱 바람직하게 서열 번호 62에 제시된 바와 같은 V_λ FR4로부터 선택되는 틀 FR4를 포함하는 항체.

- [0028] 7. 상기 항목들 중 임의의 하나의 항체로서, 항체는 서열 번호 14, 15, 16 및 17로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 14 및 17로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 더욱 바람직하게 서열 번호 17의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역과; 서열 번호 27, 28, 29 및 30으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 27 및 30으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 더욱 바람직하게 서열 번호 30의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역
- [0029] 을 포함하는 항체.
- [0030] 8. 상기 항목들 중 임의의 하나의 항체로서, 항체는 서열 번호 14, 15, 16 및 17 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 14 및 17 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 더욱 바람직하게 서열 번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역과; 서열 번호 27, 28, 29 및 30 중 임의의 것으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 27 및 30 중 임의의 것으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 더욱 바람직하게 서열 번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역
- [0031] 을 포함하는 항체.
- [0032] 9. 상기 항목들 중 임의의 하나의 항체로서, 항체는 (a) 아미노산 서열인 서열 번호 14와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 아미노산 서열인 서열 번호 27과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL; (b) 아미노산 서열인 서열 번호 15와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 아미노산 서열인 서열 번호 28과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL; (c) 아미노산 서열인 서열 번호 16과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 아미노산 서열인 서열 번호 29와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는 (d) 아미노산 서열인 서열 번호 17과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 아미노산 서열인 서열 번호 30과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL
- [0033] 을 포함하는 항체.
- [0034] 10. 상기 항목들 중 임의의 하나의 항체로서, 항체는 (a) 서열 번호 14의 VH 서열 및 서열 번호 27의 VL 서열; (b) 서열 번호 15의 VH 서열 및 서열 번호 28의 VL 서열; (c) 서열 번호 16의 VH 서열 및 서열 번호 29의 VL 서열; 또는 (d) 서열 번호 17의 VH 서열 및 서열 번호 30의 VL 서열
- [0035] 을 포함하는 항체
- [0036] 11. 상기 항목들 중 임의의 것의 항체로서, 상기 항체는
- [0037] a) 구체적으로 표면플라스몬공명법(SPR)에 의해 측정된 바에 따르면 해리 상수(KD) 10 nM 미만, 구체적으로 5 nM 미만, 구체적으로 1 nM 미만으로 인간 CD137과 결합하고[단 상기 항체는 구체적으로 scFv(1가 친화성)임];
- [0038] b) SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 K_{off} 속도 10^{-3} s^{-1} 이하, 또는 10^{-4} s^{-1} 이하, 또는 10^{-5} s^{-1} 이하로 인간 CD137과 결합하며[단 상기 항체는 scFv임];
- [0039] c) SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 K_{on} 속도 적어도 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상으로 인간 CD137과 결합하고/결합하거나[단 상기 항체는 구체적으로 scFv임];
- [0040] d) 마카카 파스큘라리스(*Macaca fascicularis*)(사이노몰거스(*Cynomolgus*)) CD137과 교차 반응성으로서, 구체적으로 SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 KD 15 nM 미만, 구체적으로 10 nM 미만, 구체적으로 5 nM 미만으로 사이노몰거스 PDL1과 결합하며/결합하거나[단 상기 항체는, 구체적으로 scFv임];
- [0041] e) 구체적으로 SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 인간 CD40 및/또는 인간 OX40과 결합하지 않는
- [0042] 항체.
- [0043] 12. 상기 항목들 중 임의의 하나의 항체로서, 상기 항체는 KD 5 nM 미만으로 인간 CD137과 결합하는 항체.
- [0044] 13. 상기 항목들 중 임의의 것의 항체로서, 상기 항체는
- [0045] a) scFv 포맷일 때, 시차주사형광측정법(differential scanning fluorimetry)에 의해 확정된 용융 온도(T_m)가 적어도 50°C, 바람직하게 적어도 55°C, 더욱 바람직하게 적어도 60°C이고[단 상기 항체는 구체적으로 50 mM 인

산염-시트르산염 완충제(pH 6.4, 150 mM NaCl 포함) 중에 제제화됨];

- [0046] b) scFv 포맷일 때, 적어도 2주 동안, 구체적으로 적어도 4주 동안 4°C에서 보관하였을 때 단량체 함량 감소율이 5% 미만, 예컨대 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 바람직하게 1% 미만이며/미만이거나[단 이때 본 발명의 항체의 출발 농도는 10 mg/ml이고, 항체는 구체적으로 50 mM 인산염-시트르산염 완충제(pH 6.4, 150 mM NaCl 포함) 중에 제제화됨];
- [0047] c) scFv 포맷일 때, 적어도 2주 동안, 구체적으로 적어도 4주 동안 40°C에서 보관하였을 때 단량체 함량 감소율이 5% 미만, 예컨대 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 바람직하게 1% 미만인[단 이때 본 발명의 항체의 출발 농도는 10 mg/ml이고, 항체는 구체적으로 50 mM 인산염-시트르산염 완충제(pH 6.4, 150 mM NaCl 포함) 중에 제제화됨]
- [0048] 항체.
- [0049] 14. 상기 항목들 중 임의의 것의 단리 항체로서, 단리 항체는 모노클로날 항체, 키메라 항체, Fab, Fv, scFv, dsFv, scAb, STAB, 그리고 대안적 스캐폴드를 기반으로 하는 결합 도메인, 예컨대 안키린 기반 도메인, 파이노머, 아비머, 안티칼린, 피브로넥틴, 및 항체의 불변 영역으로 구축될 결합 부위들(예컨대 F-star의 Modular AntibodyTechnology™)(이에 한정되는 것은 아님)로 이루어진 군으로부터 선택되는 항체.
- [0050] 15. 상기 항목들 중 임의의 하나의 항체로서, 항체는 단일 사슬 가변 단편(scFv)인 항체.
- [0051] 16. 항목 15의 항체로서, 상기 scFv는 서열 번호 32, 서열 번호 33, 서열 번호 34 및 서열 번호 35로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 32 및 서열 번호 35로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 더욱 바람직하게 서열 번호 35의 아미노산 서열을 가지는 항체.
- [0052] 17. 항목 14의 단리 항체로서, 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택되는 IgG이고, 바람직하게는 IgG4인 항체.
- [0053] 18. 상기 항목들 중 임의의 것의 단리 항체로서, 상기 항체는 키메라 또는 인간화된 것인 항체.
- [0054] 19. 항목 1 내지 18 중 임의의 하나의 항체에 대한 에피토프와 본질적으로 동일한 에피토프에 결합하는 단리 항체
- [0055] 20. 상기 항목들 중 임의의 하나의 항체로서, 다중 특이적 분자, 구체적으로 적어도 제2의 기능성 분자를 가지는 다중 특이적 분자인 항체.
- [0056] 21. 항목 20의 항체로서, 상기 항체는 단일 사슬 다이아바디(scDb), 텐덤 scDb(Tandab), 선형 이량체 scDb(LD-scDb), 환형 이량체 scDb(CD-scDb), 2중 특이적 T 세포 접유체(engager)(BiTE; 텐덤 디-scFv), 텐덤 트리-scFv, 트리바디(Fab-(scFv)2) 또는 바이바디(Fab-(scFv)1), Fab, Fab-Fv2, Morrison(IgG CH₃-scFv 융합체(Morrison L) 또는 IgG CL-scFv 융합체(Morrison H)), 트리아바디, scDb-scFv, 2중 특이적 Fab2, 디-미니항체, 테트라바디, scFv-Fc-scFv 융합체, scFv-HSA-scFv 융합체, 디-다이아바디, DVD-Ig, CVD, IgG-scFab, scFab-dsscFv, Fv2-Fc, IgG-scFv 융합체, 예컨대 bsAb(경쇄의 C-말단에 결합된 scFv), Bs1Ab(경쇄의 N-말단에 결합된 scFv), Bs2Ab(중쇄의 N-말단에 결합된 scFv), Bs3Ab(중쇄의 C-말단에 결합된 scFv), Ts1Ab(중쇄 및 경쇄 둘 다의 N-말단에 결합된 scFv), Ts2Ab(중쇄의 C-말단에 결합된 dsscFv), 헤테로이량체 Fc 도메인을 기반으로 한 2중 특이적 항체, 예컨대 납-인투-홀(Knob-into-Hole) 항체(KiHs); Fv, scFv, scDb, 텐덤-디-scFv, 텐덤 트리-scFv, Fab-(scFv)2, Fab-(scFv)1, Fab, Fab-Fv2, 헤테로이량체 Fc 도메인 또는 기타 임의의 헤�테로이량체화 도메인의 사슬 중 어느 하나의 N-말단 및/또는 C-말단에 융합된 CVD, MATCH 및 듀오바디(DuoBody)로 이루어진 군으로부터 선택되는 포맷을 가지는 항체
- [0057] 22. 항목 1 내지 21 중 임의의 하나의 항체와 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물
- [0058] 23. 의약으로서 사용하기 위한 항목 1 내지 21 중 임의의 하나의 항체, 또는 항목 22의 조성물.
- [0059] 24. 암 치료를 필요로 하는 대상체에서 암의 치료에 사용하기 위한 항목 1 내지 21 중 임의의 하나의 항체, 또는 항목 22의 조성물.
- [0060] 25. 암 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하기 위한, 항목 1 내지 21 중 임의의 하나의 항체, 또는 항목 22의 조성물의 용도.
- [0061] 26. 암 치료를 필요로 하는 대상체의 암을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어 항목 1 내지 21 중 임의의 하나의

항체, 또는 항목 22의 조성물의 용도.

[0062] 27. 항목 1 내지 21 중 임의의 하나의 항체, 또는 항목 22의 조성물 치료적 유효량만큼을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 암 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법.

[0063] 28. 항목 1 내지 21의 항체를 암호화하는 핵산.

[0064] 29. 항목 28의 핵산을 포함하는 벡터.

[0065] 30. 항목 28의 핵산 또는 항목 29의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

[0066] 31. 항목 28의 핵산 또는 항목 29의 벡터를 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 항목 1 내지 21 중 임의의 하나의 항체를 제조하는 방법.

[0067] 32. 항목 1 내지 21 중 임의의 하나의 항체, 또는 항목 22의 조성물을 포함하는 키트.

도면의 간단한 설명

도 1: 경쟁 ELISA에서 CD137과 CDL137의 결합 억제는 일어나지 않았다. CD137L과 CD137의 결합을 평가하는 경쟁적 ELISA에서 측정된 흡광도는, PR0885(A) 또는 PR0951(B) 각각의 농도 증가에 따른 함수로서 표시된다. 억제성 항체인 염소 항 인간 CD137이 비교 기준으로서 사용되었다.

도 2: PR0885 및 PR0951과, 우렐루맙 및 우토밀루맙의 에피토프 비닝(epitope binning)에 대한 열 지도(heatmap). 부동화된 문자(가로)에 대한 피분석 문자(세로)의 이론상 Rmax에 대해 정규화된 결합 수준(퍼센트; %). 결합하지 않는다는 것(진회색)은 에피토프가 동일함을 의미하고, 밝은 회색은 제2 문자(피분석물)가 결합할 수 있으며, 부동화된 문자에 대한 에피토프와는 상이한, 또 다른 에피토프를 가짐을 의미한다.

도 3: PR0885의 에피토프 비닝 센서그램. PR0885는 센서 칩상에 부동화되었으며, CD137이 제1 단계에서 PR0885에 의해 포착된 후(좌측 참조)에는, 상이한 항체 4가지가 주입되었다(우측 참조). PR0951뿐 아니라 경쟁분자는 포착된 CD137에 결합할 수 있었던 반면에, PR0885 주입시에는 그 어떠한 결합도 보이지 않았다.

도 4: PR0951의 에피토프 비닝 센서그램. PR0951은 센서 칩상에 부동화되었으며, CD137이 제1 단계에서 PR0951에 의해 포착된 후(좌측 참조)에는, 상이한 항체 4가지가 주입되었다(우측 참조). PR0885뿐 아니라 우렐루맙은 포착된 CD137에 결합할 수 있었던 반면에, 우토밀루맙과 PR0951 주입시에는 추가의 결합을 보이지 않았다.

도 5: NFkB-루시퍼라아제 리포터 유전자 검정에서 평가된, PR0885 및 PR0951에 의한 CD137의 활성화. PDL1 발현 세포가 존재할 때, PR0885 및 PR0951은 Jurkat 세포에서 CD137 신호전달을 활성화하였던 반면에, CHO 야생형 세포를 대상으로 시험이 이루어졌을 때에는 활성화가 관찰되지 않았다. 우렐루맙은 PDL1 발현과는 독립적으로 CD137 신호전달을 활성화하였다. 발광도는 Jurkat 리포터 세포를 첨가한지 6시간 후에 판독되었고, 데이터는 S자형 4PL 피트를 이용하여 피팅(fitting)되었다(GraphPad Prism).

도 6: NFkB-루시퍼라아제 리포터 유전자 검정에서, PDL1 및 CD137에 대한 친화성이 상이한 scDb에 의한 CD137의 활성화. PDL1 발현 CHO 세포가 존재할 때, scDb 모두는 Jurkat 세포에서 CD137 신호전달을 활성화하였던 반면에, CHO 야생형 세포를 대상으로 시험이 이루어졌을 때에는 활성화가 관찰되지 않았다. 우렐루맙은 PDL1 발현과는 독립적으로 CD137 신호전달을 활성화하였다. 발광도는 Jurkat 리포터 세포를 첨가한지 6시간 후에 판독되었고, 데이터는 S자형 4PL 피트를 이용하여 피팅되었다(GraphPad Prism).

도 7: NFkB-루시퍼라아제 리포터 유전자 검정에서, PDL1 및 CD137에 대한 친화성이 상이한 scDb에 의한 CD137의 활성화. PDL1 발현 HCC827 세포가 존재할 때, scDb 모두는 Jurkat 세포에서 CD137 신호전달을 활성화하였다. 우렐루맙은 CD137 신호전달의 상대적 활성화를 평가하는데 있어 기준 문자로서 사용되었다. CD137 및 PDL1에 대한 친화성이 증가함에 따라 효능은 약간 증가하였다. 고 농도일 때(종 모양 곡선) CD137에 대한 친화성이 증가함과 아울러 신호 감소는 더욱 두드러졌던 반면에, PDL1에 대한 친화성 증가는 이러한 효과에 기여하지 않았다. 발광도는 Jurkat 리포터 세포를 첨가한지 6시간 후에 판독되었고, 데이터는 S자형 4PL 피트를 이용하여 피팅되었다(GraphPad Prism).

도 8: NFkB-루시퍼라아제 리포터 유전자 검정에서, PDL1 및 CD137에 대한 친화성이 상이한 scDb에 의한 CD137의 활성화. 10 ng/ml의 IFNy로 24시간 동안 자극된 PDL1 발현 HCC827 세포가 존재할 때, STR 이식 scDb는 Jurkat 세포에서 CD137 신호전달을 활성화하였다. 우렐루맙은 CD137 신호전달의 상대적 활성화를 평가하는데 있어 기준 문자로서 사용되었다. CD137 및 PDL1에 대한 친화성이 증가함에 따라 효능은 약간 증가하였다. 고 농도일 때(종

모양 곡선) CD137에 대한 친화성이 증가함과 아울러 신호 감소는 더욱 두드러졌던 반면에, PDL1에 대한 친화성 증가는 이러한 효과에 기여하지 않았다. 발광도는 Jurkat 리포터 세포를 첨가한지 6시간 후에 판독되었고, 데이터는 S자형 4PL 피트를 이용하여 피팅되었다(GraphPad Prism).

도 9: NFkB-루시페라아제 리포터 유전자 검정에서, 6시간 후 혈청중 반감기가 연장된 분자에 의한 CD137의 활성화. PDL1 발현 CHO 세포가 존재할 때, 반감기가 긴 분자는 Jurkat 세포에서 CD137 신호전달을 활성화하였던 반면에, CHO 야생형 세포가 시험될 때 활성화는 관찰되지 않았다. 우렐루맙은 PDL1 발현과는 독립적으로 CD137의 신호전달을 활성화하였다. 흥미롭게도, 두 표적에 대한 친화성이 유사하였음에도 불구하고, PRO1057은 PRO1058보다 훨씬 더 큰 최대 신호를 보였다. 뿐 아니라, 1가 scDb-scFv PRO1057은 각각의 2가 Morrison 포맷 PRO1060보다 더 강력한 활성화를 보였다. 발광도는 Jurkat 리포터 세포를 첨가한지 6시간 후에 판독되었고, 데이터는 S자형 4PL 피트를 이용하여 피팅되었다(GraphPad Prism).

도 10: NFkB-루시페라아제 리포터 유전자 검정에서, 24시간 후 혈청중 반감기가 연장된 분자에 의한 CD137의 활성화. PDL1 발현 CHO 세포가 존재할 때, 반감기가 긴 분자는 Jurkat 세포에서 CD137 신호전달을 활성화하였던 반면에, CHO 야생형 세포가 시험될 때 활성화는 관찰되지 않았다. 우렐루맙은 PDL1 발현과는 독립적으로 CD137의 신호전달을 활성화하였다. 흥미롭게도, 두 표적에 대한 친화성이 유사하였음에도 불구하고, PRO1057은 PRO1058보다 훨씬 더 큰 최대 신호를 보였으며, 이 신호는 24시간 후 scDb Pro885의 활성화에서도 넘어섰다. 뿐 아니라, 1가 scDb-scFv PRO1057은 각각의 2가 Morrison 포맷 PRO1060보다 훨씬 더 강력한 활성화를 보였다. 발광도는 Jurkat 리포터 세포를 첨가한지 24시간 후에 판독되었고, 데이터는 S자형 4PL 피트를 이용하여 피팅되었다(GraphPad Prism).

도 11: (A) 24시간 후 반감기가 연장된 분자에 의한 CD137의 활성화. 24시간 동안 10 ng/ml의 IFNy로 자극되었거나 자극되지 않은 HCC827 세포가 존재할 때, 반감기가 긴 분자는 Jurkat 세포에서 CD137의 신호전달을 활성화하였다. 우렐루맙은 CD137 신호전달의 상대적 활성화를 평가하는데 있어 기준 분자로서 사용되었다. 1가 scDb-scFv PRO1057은 각각의 2가 Morrison 포맷 PRO1060보다 더 강력한 최대 활성화를 보였다. 발광도는 Jurkat 리포터 세포를 첨가한지 24시간 후에 판독되었고, 데이터는 S자형 4PL 피트를 이용하여 피팅되었다(GraphPad Prism). (B) 3종 특이적 scDb-scFv 분자인 PRO1430, PRO1431, PRO1432, PRO1473, PRO1476, PRO1479 및 PRO1482는, IFNy(10 ng/ml) 자극 HCC827의 존재 하에 CD137 활성화 검정에서 시험되었다(6시간 및 24시간). 이 실험에서 PRO885는 CD137 신호전달의 상대적 활성화를 평가하는데 있어 기준 분자로서 사용되었다. 3종 특이적 scDb-scFv 분자 PRO1186은 자체의 활성화와 기타 scDb-scFv 분자의 활성을 비교하기 위해 각각의 평판마다 취하여졌다. Jurkat 리포터 세포 첨가후 6시간 또는 24시간에 발광도가 판독되었으며, RLU 값의 증가만을 수반하는 시험대상 분자의 농도는 S자형 4PL 피트를 이용하여 피팅되었다(GraphPad Prism).

도 12: 생체외 T 세포 활성화. PDL1 및 CD137의, PRO885에 의한 공자극적 점유를 보여주는데, 이러한 점유는 백그라운드 IL-2 수준을 명백히 넘는 IL-2 생산을 유도하였다. CHO-A2 세포는 PDL1을 발현하는 유전자이식 CHO 세포이다.

도 13: 생체외 T 세포 활성화 검정. PBMC는 10 ng/ml SEA로 자극된 후, scFv PRO997 또는 scDb PRO885의 연속 희석액으로 96시간 동안 처리되었다. T 세포의 활성화는 수집된 상청액 중 IL-2의 ELISA에 의한 정량으로 평가되었다. PRO885 및 PRO997 처리는 눈에 띌 정도의 IL-2 분비를 초래하였다. PRO997은 아벨루맙 효능보다 더 큰 효능을 보였다. PRO885는 아벨루맙과 비교되었을 때 훨씬 증가한 효과 크기(effect size)를 보였다. 데이터는 S자형 4PL 피트를 이용하여 피팅되었다(GraphPad Prism).

도 14: 인간 HCC827 NSCLC 이종이식편에 있어 항 CD137(PR01138 또는 우렐루맙) 요법의 항 종양 활성(면역결핍 NOG 마우스 변종과 동종이계 인간 말초혈액단핵세포(hPMC) 사용). 마우스는 당일, 3일차, 7일차 및 10일차에 항 CD137(PR01138 또는 우렐루맙) 또는 비이를 복막내 처리에 의해 시험되었다. 종양 부피는 마우스를 죽일 때 까지(17일차 또는 18일차) 매주 2회 측정되었다. 종양 부피는 처리 개시시의 종양 부피에 대해 정규화된다(상대적 종양 부피). (A) 공여개체 2개로부터 유래한 PBMC로 재구성된 마우스의 평균 상대적 종양 부피($n =$ 군당 마우스 8마리). 점선은 처리 시간을 나타낸다. (B) 공여개체 B로부터 유래한 PBMC로 재구성된 마우스의 평균 상대적 종양 부피($n =$ 군당 마우스 4마리). (C) 공여개체 2개로부터 유래한 PBMC로 재구성된 마우스의 개별 상대적 종양 부피. 각각의 기호는 동일 처리군에 속하는 개별 동물을 나타낸다. (D) 공여개체 B로부터 유래한 PBMC로 재구성된 마우스의 개별 상대적 종양 부피. 각각의 기호는 동일 처리군에 속하는 개별 동물을 나타낸다.

도 15: 항 CD137(PR01138 또는 우렐루맙) 또는 비이를 대조군 처리시 hPMC 치환 NOG 마우스의 HCC827 이종이식시 체중. 체중은, 마우스를 죽일 때까지(17일차 또는 18일차) 매주 2회씩 측정되었다. 체중은 처리 개시시의

체중에 대해 정규화되었다(상대적 체중).

도 16: 인간 제대혈 유래 CD34+ 조혈줄기세포(UCB HSC)가 이식된 NOG 마우스에 있어 항 CD137 항체인 PRO1138(서열 번호 88 및 89)과 항 PDL1 항체 PRO1196(서열 번호 154 및 155) 조합의 항 종양 효능 평가. PRO1138과 PRO1196의 조합(각각 0.1 mg)의 항 종양 활성을 비이를 처리, 팔리비주맙(0.1 mg), 항 PDL1 IgG1(0.1 mg; PRO1196 또는 아벨루맙), 항 CD137 IgG4(0.1 mg; 우렐루맙) 처리시의 항 종양 활성과 비교되었다. 당일, 5일차, 10일차, 15일차 및 20일차에 마우스가 처리되었다(점선). 종양 생장 및 체중은 매주 2회씩 기록되었다. 종양 부피는 처리 개시시의 종양 부피에 대해 정규화되었다(상대적 종양 부피).

도 17: 항 CD137 항체 PRO1138과 항 PDL1 항체 PRO1196의 조합 요법 이후 24일 경과시 인간 제대혈 유래 CD34+ 조혈줄기세포(UCB HSC)가 이식된 NOG 마우스에 있어 상대적 항 종양 효능 평가. 종양 생장은 매주 2회씩 기록되었다. 종양 부피는 처리 개시시의 종양 부피에 대해 정규화되었다(상대적 종양 부피, RTV). 통계치 모두는 GraphPad Prism 6 버전을 이용하여 산정되었다. 통계적 유의미성은 Bonferroni 교정을 적용하는 일원 ANOVA 검정을 이용하여 확정되었다. 그래프는 95% CI(신뢰도 구간)일 때의 평균을 보여준다.

도 18: 인간 제대혈 유래 CD34+ 조혈줄기세포(UCB HSC)가 이식된 NOG 마우스에 있어 항 PDL1 항체 PRO1196과 항 CD137 항체 PRO1138의 조합 요법에 대한 반응 분석(24일차). 종양 부피는 처리 개시시의 종양 부피에 대해 정규화되었다(상대적 종양 부피, RTV).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0069]

본 발명은 인간 CD137 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 약학 조성물, 이러한 항체와 조성물의 제조 방법 및 사용 방법을 제공한다.

[0070]

달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명에 속하는 분야의 당 업자에 의해 통상 이해되는 의미와 동일한 의미를 가진다.

[0071]

"~를 포함하는(comprising)" 및 "~를 포함하는(including)"과 같은 용어들은, 달리 명시되지 않는 한 본원에서 자체에 제약을 두지 않고 비제한적 의미로 사용된다. 이처럼 비제한적 의미로 사용되는 것과 관련하였을 때, "~를 포함하는(comprising)"이란 용어는 이보다 더 협소한 범위를 나타내는 용어 "~로 이루어진(consisting of)"을 포함한다.

[0072]

본 발명을 기술하는 내용(특히 하기 특허청구의 범위의 청구항들의 내용) 중 "하나의" 및 "한" 및 "본", 그리고 이와 유사한 용어는, 본원에 달리 명시되어 있거나 내용에 의해 명백하게 모순되지 않는 한, 단수의 것과 복수의 것 둘 다를 아우르는 것으로 해석되어야 할 것이다. 예를 들어 "하나의 세포"란 용어는, 세포들의 혼합물을 비롯한 복수의 세포를 포함한다. 복수의 형태가 화합물 및 염 등에 대해 사용되는 경우, 이는 단일 화합물 또는 염 등을 의미하기도 한다.

[0073]

제1 양태에서, 본 발명은 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 항체에 관한 것이다.

[0074]

본원에 사용된 바와 같은 "항체"등의 용어는 전항체 또는 이의 단일 사슬; 및 임의의 항원 결합 단편(즉 "항원 결합부") 또는 이의 단일 사슬; 및 항체 CDR, VH 영역들 또는 VL 영역들을 포함하는 분자(예컨대 다중 특이적 항체(이에 한정되는 것은 아님)를 포함한다. 자연 발생 "전항체"는 적어도 2개의 중(H) 쇄 및 2개의 경(L) 쇄가 이황화 결합에 의해 상호 연결되어 포함되어 있는 당단백질이다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 VH로서 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성되어 있다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, 즉 CH1, CH2 및 CH3로 구성되어 있다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 VL로서 약칭됨)과 경쇄 불변 영역으로 구성되어 있다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인, 즉 CL로 구성되어 있다. VH 영역 및 VL 영역은 추가로, 틀 영역(FR)이라 칭하여지는 더욱 잘 보존된 영역들 사이에 배치된, 상보성 결정 영역(CDR)이라 칭하여지는 초가변 영역으로 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 하기 순서로 배열된 CDR 3개와 FR 4개로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역들은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역글로불린과, 숙주 조직 또는 인자, 예컨대 면역계의 다양한 세포(예컨대 효과기 세포) 및 고전적 보체계의 제1 성분(Clq)의 결합을 매개할 수 있다.

[0075]

본원에 사용된 바와 같은 "항원 결합 단편", "이의 항원 결합 단편" 및 "항원 결합부"등의 용어는, 주어진 항원(예컨대 CD137)과 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 비변형 전항체의 단편 1개 이상을 지칭한다. 항체의 항원 결합 기능은 비변형 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다. 항체의 "항원 결합부"란 용어에 포함되는 결합 단편의 예들로서는, VL, VH, CL 및 CH1 도메인들로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; 2개의 Fab 단편이 경첩 영역에

서 이황화 가교에 의해 연결되어 포함되어 있는 2가 단편인 F(ab)2 단편; VH 및 CH1 도메인들로 이루어진 Fd 단편; 항체의 단일 팔(arm)의 VL 및 VH 도메인들로 이루어진 Fv 단편; 및 대안적 스캐폴드를 기반으로 하는 결합 도메인, 예컨대 안키린 기반 도메인, 파이노머, 아비머, 안티칼린, 피브로넥틴, 및 항체의 불변 영역으로 구축 될 결합 부위들(예컨대 F-star의 Modular AntibodyTechnology™)(이에 한정되는 것은 아님)을 포함한다.

[0076] "상보성 결정 영역"("CDR")이란 용어는, Kabat 외 다수에 의해 기술된 체계(1991)("Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD) ("Kabat" 번호매김 체계), Al-Lazikani 외 다수에 의해 기술된 체계(1997)(JMB 273, 927-948) ("Chothia" 번호 매김 체계) 및 ImMunoGenTics(IMGT) 번호매김 체계(Lefranc, M.-P., The Immunologist, 7, 132-136 (1999); Lefranc, M.-P 외 다수(Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003))("IMGT" 번호매김 체계) 및 문헌[Honegger & Pluckthun, J. Mol. Biol. 309 (2001) 657-670]에 기술된 번호매김 체계("AHO" 번호매김 체계)를 비롯한 다수의 널리 공지된 체계 중 임의의 것이 사용되어 경계가 결정되는 아미노산 서열이다. 예를 들어 고전적인 포맷의 경우 Kabat 체계하에서 중쇄 가변 도메인(VH) 중의 CDR 아미노산 잔기들은 31번 ~ 35번(HCDR1), 50번 ~ 65번(HCDR2) 및 95번 ~ 102번(HCDR3)과 같이 번호가 매겨지고; 경쇄 가변 도메인(VL) 중의 CDR 아미노산 잔기들은 24번 ~ 34번(LCDR1), 50번 ~ 56번(LCDR2), 그리고 89번 ~ 97번(LCDR3)과 같이 번호가 매겨진다. Chothia 체계 하에서 VH 중의 CDR 아미노산은 26번 ~ 32번(HCDR1), 52번 ~ 56번(HCDR2) 및 95번 ~ 102번(HCDR3)과 같이 번호가 매겨지고; VL 중의 아미노산 잔기들은 24번 ~ 34번(LCDR1), 50번 ~ 56번(LCDR2) 및 89번 ~ 97번(LCDR3)과 같이 번호가 매겨진다. Kabat 체계 및 Chothia 체계 둘 다에 의한 CDR 정의들을 조합하였을 때, 인간 VH 중의 CDR은 26번 ~ 35번(HCDR1), 50번 ~ 65번(HCDR2) 및 95번 ~ 102번(HCDR3) 아미노산 잔기들로 이루어지고, 인간 VL 중의 CDR은 24번 ~ 34번(LCDR1), 50번 ~ 56번(LCDR2) 및 89번 ~ 97번(LCDR3) 아미노산 잔기들로 이루어진다. IMGT 체계 하에서 VH 중의 CDR 아미노산 잔기들은 대략 26번 ~ 35번(HCDR1), 51번 ~ 57번(HCDR2) 및 93번 ~ 102번(HCDR3)으로 번호가 매겨지고, VL 중의 CDR 아미노산 잔기들은 대략 27번 ~ 32번(LCDR1), 50번 ~ 52번(LCDR2) 및 89번 ~ 97번(LCDR3)으로 번호가 매겨진다("Kabat" 체계에 따른 번호매김). IMGT 체계 하에 항체의 CDR들은 IMGT/DomainGap Align이라는 프로그램을 사용하여 결정될 수 있다. 본 발명의 내용에서는 특별히 달리 언급되지 않는 한, Honegger 및 Pluckthun에 의해 제안된 번호매김 체계("AHO")가 사용된다(Honegger & Pluckthun, J. Mol. Biol. 309 (2001) 657-670). 또한 하기 잔기들이 AHO 번호매김에 따라 CDR로서 정의된다: LCDR1(CDR-L1라고도 지칭됨): L24 ~ L42; LCDR2(CDR-L2라고도 지칭됨): L58 ~ L72; LCDR3(CDR-L3라고도 지칭됨): L107 ~ L138; HCDR1(CDR-H1라고도 지칭됨): H27 ~ H42; HCDR2(CDR-H2라고도 지칭됨): H57 ~ H76; HCDR3(CDR-H3라고도 지칭됨): H108 ~ H138. 명료함을 도모하기 위해, Honegger 및 Pluckthun에 따른 번호매김 체계는 자연 발생 항체의 상이한 VH 및 VL 하위 과, 구체적으로 CDR에서 발견되는 길이의 다양성을 고려하고, 서열들에 캡을 제공한다. 그러므로 주어진 항체에서 보통 1번 ~ 149번 위치 모두인 것은 아닌 가변 도메인은 아미노산 잔기에 의해 점유될 것이다.

[0077] 항원 결합부는 또한 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 다이아바디, 트리아바디, scDb-scFv, v-NAR 및 bis-scFv에 통합될 수 있다(예컨대 문헌(Hollinger and Hudson, 2005, Nature Biotechnology 23:1126-1136) 참조). 항체의 항원 결합부는 제III형 피브로넥틴(Fn3)과 같은 폴리펩티드를 기반으로 하는 스캐폴드에 이식(grafting)될 수 있다(피브로넥틴 폴리펩티드 모노바디가 기술되어 있는 미국 특허 제6,703,199호 참조). 항원 결합부는 상보성 경쇄 폴리펩티드와 함께 항원 결합 영역 쌍을 형성하는, 텐덤 Fv 분절(VH-CH1-VH-CH1)의 쌍을 포함하는 단일 사슬 분자에 통합될 수 있다(Zapata et al., 1995 단백질 Eng. 8 (10): 1057-1062; 및 미국 특허 제5,641,870호).

[0078] 본원에 사용된 바와 같은 "결합 특이성"이란 용어는, 개별 항체 결합 부위가 하나의 항원 결정기와 반응하되, 상이한 항원 결정기와는 반응하지 않는 능력을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이 "에 특이적으로 결합하다" 또는 "에 특이적인"이란 용어는 측정 가능하거나 재현 가능한 상호작용, 예컨대 생체 분자를 비롯한 분자의 이 종 집단이 존재할 때 표적이 존재함을 나타내는, 표적과 항체 사이의 결합을 지칭한다. 예를 들어 표적(에피토 프일 수 있음)과 특이적으로 결합하는 항체는, 더욱 큰 친화성, 결합력으로 더욱 용이하게, 그리고/또는 다른 표적과 결합하는 기간 보다 더 오랜 기간 해당 표적과 결합하는 항체이다. 이것이 가장 일반적인 형태를 가질 때(그리고 한정된 기준이 언급되지 않을 때) "특이적 결합"이란, 항체가, 예를 들어 당 분야에 공지된 특이성 검정 방법에 따라 확정되는 바와 같이, 관심 표적과 무관 분자를 구별할 수 있는 능력을 지칭한다. 이러한 방법으로서는 웨스턴 블러팅(Western blotting), ELISA, RIA, ECL, IRMA, SPR(표면플라스몬공명법) 검사 및 웨이퍼 스캔을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 예를 들어 표준 ELISA 검정이 수행될 수 있다. 점수매김(scoring)은 표준 발색법(예컨대 서양고추냉이 과산화물과 2차 항체, 그리고 테트라메틸벤지딘과 과산화수소)에

의해 수행될 수 있다. 임의의 웨일에서의 반응은, 예컨대 450 nm에서의 광학 밀도에 의해 점수가 매겨진다. 통상의 백그라운드(= 음성 반응)는 약 0.1 OD일 수 있고, 통상의 양성 반응은 약 1 OD일 수 있다. 이는, 양의 점수와 음의 점수 사이의 비가 10배 이상일 수 있음을 의미한다. 추가의 예에서, SPR 검정이 수행될 수 있는데, 이때 백그라운드와 신호 간 적어도 10배, 바람직하게는 적어도 100배 차이가 있음을 특이적 결합이 이루어졌음을 나타낸다. 통상적으로 결합 특이성의 확정은 단일 기준 분자를 사용하여 수행되는 것이 아니라, 약 3개 내지 약 5개의 무관한 분자, 예컨대 분유 또는 트랜스페린 등으로 이루어진 세트를 사용하여 수행된다. 본 발명의 항체는 인간 CD137에 대해 결합 특이성을 가진다. 구체적 구현예에서, 본 발명의 항체는, 구체적으로 SPR에 의해 확정되는 바에 따르면, 인간 CD137에 대해 결합 특이성을 가지지만, 인간 CD40과는 결합하지 않고/않거나 인간 OX40과 결합하지 않는다.

[0079] 적합하게 본 발명의 항체는 단리 항체이다. 본원에 사용된 바와 같은 "단리 항체"란 용어는 상이한 항원 특이성을 가지는 기타 항체로부터 실질적으로 분리되어 있는 항체를 지칭한다(예컨대 CD137과 특이적으로 결합하는 단리 항체는 실질적으로 CD137 이외의 항원과 특이적으로 결합하는 항체로부터 실질적으로 분리되어 있음). 그러나 CD137과 특이적으로 결합하는 단리 항체는 다른 항원, 예컨대 다른 종으로부터 유래한 CD137 분자에 대해 교차 반응성을 가질 수 있다. 그러므로 일 구현예에서, 본 발명의 항체는 인간 CD137 및 마카카 파스콜라리스(사이노몰거스 원숭이 또는 "사이노몰거스"라고도 공지됨) CD137에 대한 결합 특이성을 가진다. 게다가 단리 항체는 기타 세포성 물질 및/또는 화학물질로부터 실질적으로 분리되어 있을 수 있다.

[0080] 적합하게 본 발명의 항체는 모노클로날 항체이다. 본원에 사용되는 바와 같은 "모노클로날 항체" 또는 "모노클로날 항체 조성물"이란 용어는, 아미노산 서열이 동일한 유전자 공급원의 아미노산 서열과 실질적으로 동일하거나 이러한 공급원으로부터 유래하는 항체를 지칭한다. 모노클로날 항체 조성물은 특정의 에피토프에 결합 특이성 및 친화성을 보이거나, 특히 에피토프에 결합 특이성 및 친화성을 보인다.

[0081] 본 발명의 항체는 키메라 및 인간화된 것을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0082] "키메라 항체"란 용어는, (a) 불변 영역 또는 이의 일부가 변경, 치환 또는 교체되어, 항원 결합 부위(가변 영역)가 상이하거나 변경된 군의 불변 영역, 효과기 기능을 보이는 불변 영역 및/또는 종들의 불변 영역과 결합되거나, 또는 키메라 항체에 새로운 특성들을 부여하는 완전히 상이한 분자, 예컨대 효소, 독소, 호르몬, 생장 인자, 약물 등과 결합되었거나; 또는 (b) 가변 영역 또는 이의 일부가, 상이하거나 변경된 항원 특이성을 가지는 가변 영역으로 변경, 치환 또는 교체된 항체 분자이다. 예를 들어 마우스 항체는 이의 불변 영역을 인간 면역글로불린 유래 불변 영역으로 치환함으로써 변형될 수 있다. 인간 불변 영역으로 치환됨으로 말미암아, 키메라 항체는 항원을 인지함에 있어서 특이성을 보유할 수 있는 동시에, 인간에서의 항원성은 원래 마우스 항체와 비교되었을 때 감소한다.

[0083] 본원에 사용된 바와 같은 "인간화" 항체는 비인간 항체의 반응성을 보유하되, 인간에서의 면역원성을 작은 항체이다. 이는, 예를 들어 비인간 CDR 영역은 유지시키면서, 항체의 나머지 부분들은 인간에 있어 대응 부분(즉 불변 영역과, 가변 영역의 틀 부분)으로 치환하여 달성될 수 있다. 추가의 틀 영역 변형은 인간 틀 서열뿐만 아니라 다른 포유류 종의 생식계열로부터 유래하는 CDR 서열 내에서 이루어질 수 있다. 본 발명의 인간화 항체는 인간 서열에 의해 암호화되지 않는 아미노산 잔기(예컨대 무작위 또는 부위 특이적 돌연변이유발법에 의해 시험관내 도입된 돌연변이, 또는 체세포 돌연변이에 의해 생체내 도입된 돌연변이, 또는 안정성을 촉진하거나 제조를 용이하게 만들기 위한 보존적 치환에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 예를 들어 문헌[Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855, 1984; Morrison and Oi, Adv. Immunol., 44:65-92, 1988; Verhoeyen et al., Science, 239: 1534-1536, 1988; Padlan, Molec. Immun., 28:489-498, 1991; 및 Padlan, Molec. Immun., 31: 169-217, 1994]을 참조한다. 항체 공학 기법의 다른 예로서는 미국 특허 제5,766,886호에 개시된 Xoma 기법을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0084] 본원에 사용된 바와 같은 "재조합 인간화 항체"란 용어는, 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 인간 항체 모두, 예컨대 인간화 항체를 발현하도록 형질전환된 숙주 세포, 예컨대 트랜스펙토마(transfectoma)로부터 단리된 항체, 그리고 인간 면역글로불린 유전자 서열 전부 또는 일부를 다른 DNA 서열에 스팲라이싱(splicing)하는 것을 수반하는 임의의 기타 방법에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리 항체를 포함한다.

[0085] 적합하게 본 발명의 항체는 인간화된 것이다. 적합하게 본 발명의 항체는 인간화된 것으로서, 토끼 유래 CDR들을 포함한다.

[0086] "CD137"이란 용어는, 구체적으로 UniProt ID 번호 Q07011인(본원에서는 서열 번호 61에 해당함) 인간 CD137을

지칭한다. 적합하게 본 발명의 항체는 CD137, 구체적으로 UniProt ID 번호 Q07011(본원에서는 서열 번호 61에 해당함)에 보인 바와 같은 인간 CD137을 표적화한다. 적합하게, 본 발명의 항체는 인간 및 사이노몰거스(마카카파스클라리스) CD137을 표적화한다. 본 발명의 항체는 CD137과 특이적으로 결합한다. 구체적으로 본 발명의 항체는, 구체적으로 SPR에 의해 측정되는 바와 같이 인간 OX40 및/또는 인간 CD40과 결합하지 않는다. 바람직하게 본 발명의 항체는 CD137/CD137L 상호작용을 차단하지 않는다.

[0087] 적합하게 본 발명의 항체는 CD137 효현제이다. "활성화제" 또는 "활성화 항체" 또는 "효현제" 또는 "효현제 항체"는 그것과 결합하는 항원에 의해 신호전달을 향상시키거나 개시하는 것이다. 본 발명의 내용 중 "CD137 효현제"란 용어는, CD137-항원 결합 단편의 클러스터 형성시 CD137 신호전달을 활성화할 수 있는 본 발명의 항체를 포함하는데, 예컨대 상기 CD137-항원 결합 단편중 적어도 2개의 결합은 결합한 CD137 분자의 다양체화 및 이의 활성화를 허용한다. 몇몇 구현예에서, 효현제 항체는 천연 리간드가 존재하지 않을 때에도 신호전달을 활성화한다.

[0088] 본 발명의 항체로서는 실시예에 기술된 바를 비롯하여 본원에 기술된 바와 같이 단리된 인간화 모노클로날 항체를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이러한 항 인간 CD137 항체의 예로서는 자체의 서열들이 표 1에 나열된 항체가 있다. 본원에 기술된 항체의 제조 및 특성규명에 관한 추가의 상세한 설명은 실시예에 제공되어 있다.

[0089] 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 단리 항체는 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는데, 단 (a) 상기 VH는 3개의 상보성 결정 영역 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3를 이 순서로 포함하고, (b) 상기 VL은 3개의 상보성 결정 영역 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 이 순서로 포함한다

[0090] 본 발명은 CD137 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하는데, 상기 항체는 표 1에 나열된 VH CDR 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 가지는 VH CDR을 포함한다. 구체적으로 본 발명은 CD137 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하는데, 상기 항체는 표 1에 나열된 VH CDR 중 임의의 것의 아미노산 서열을 가지는 VH CDR을 1개, 2개, 3개 또는 그 이상 포함한다.

[0091] 본 발명은 또한 CD137 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하는데, 단 상기 항체는 표 1에 나열된 VL CDR 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 가지는 VL CDR을 포함한다. 구체적으로 본 발명은 CD137 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하는데, 상기 항체는 표 1에 나열된 VL CDR 중 임의의 것의 아미노산 서열을 가지는 VL CDR을 1개, 2개, 3개 또는 그 이상 포함한다.

[0092] 본 발명의 기타 항체는, 돌연변이되었지만 CD137과 특이적으로 결합하고, CDR 영역이 표 1에 기술된 서열에 서사된 CDR 영역과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산을 포함한다. 일 양태에서, 본 발명의 기타 항체는 CD137과 특이적으로 결합하는 돌연변이 아미노산 서열을 포함하는데, 단 표 1에 기술된 서열에 서사된 CDR 영역과 비교되었을 때, CDR 영역에서 1개 이하, 2개 이하, 3개 이하, 4개 이하 또는 5개 이하의 아미노산이 돌연변이되었다.

[0093] 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열에 관한 내용중 "동일한" 또는 "동일성"이란 용어는, 서열 또는 종속서열 2개 이상이 동일한 경우를 지칭한다. 핵산, 펩티드, 폴리펩티드 또는 항체 서열과 관련하여 "서열 동일성 퍼센트(%)" 및 "상동성"은, 필요에 따라 최대의 서열 동일성을 달성하기 위해 서열들을 정렬하고 캡을 도입한 후, 서열 동일성의 일환으로서 어떠한 보존적 치환도 고려하지 않았을 때 특정 핵산, 펩티드 또는 폴리펩티드 서열 중 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기와 동일한, 후보 서열 중 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 아미노산 서열 동일성% 확정을 목표로 하는 정렬은 당 업자의 능력안에 있는 다양한 방법, 예컨대 공중이 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2 또는 ALIGN 소프트웨어로 달성될 수 있다. 당 업자들은 정렬결과를 측정하기에 적당한 매개변수, 예컨대 비교되는 서열의 전체 길이에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는데 필요한 임의의 알고리즘을 확정할 수 있다.

[0094] 서열 비교를 위해, 통상 하나의 서열은 시험 서열이 비교되는 기준 서열로서의 역할을 한다. 서열 비교 알고리즘이 사용될 때, 시험 서열 및 기준 서열은 컴퓨터에 입력되고, 필요에 따라 종속 서열 좌표가 지정되며, 서열 알고리즘 프로그램 매개변수가 지정된다. 디폴트 프로그램 매개변수가 사용될 수 있거나, 또는 대안적 매개변수가 지정될 수 있다. 그 다음, 서열 비교 알고리즘은 기준 서열을 기준으로 프로그램 매개변수에 입각하여 시험 서열에 대한 서열 동일성을 산정한다.

[0095] 서열 동일성%와 서열 유사성%를 확정하기에 적합한 알고리즘 2가지 예로서는 BLAST 알고리즘 및 BLAST 2.0 알고리즘이 있는데, 이 알고리즘들은 각각 문헌[Altschul et al., Nucl. Acids Res. 25:3389-3402, 1977] 및 문헌

[Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990]에 기술되어 있다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 국립생물정보센터를 통해 공중이 이용 가능하다.

[0096] 아미노산 서열 2개 사이의 동일성%는 또한, PAM120 가중 잔기표, 캡 길이 패널티 12 및 캡 패널티 4를 적용하는 ALIGN 프로그램(2.0 버전)에 통합된 E. Meyers 및 W. Miller의 알고리즘(Comput. Appl. Biosci., 4: 11-17, 1988)을 이용하여 확정될 수 있다. 또한, 아미노산 서열 2개 사이의 동일성%는, Blossom 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스 중 어느 하나와, 캡 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4, 그리고 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 적용하여 GCG 소프트웨어 팩키지 내 GAP 프로그램(www.gcg.com으로부터 입수 가능함)에 통합된 Needleman 및 Wunsch 알고리즘(J. Mol. Biol. 48:444-453, 1970)을 이용하여 확정될 수 있다.

[0097] "아미노산"이란 용어는, 자연 발생 및 합성 아미노산뿐만 아니라 자연 발생 아미노산의 작용 방식과 유사한 방식으로 작용을 하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모의체를 지칭한다. 자연 발생 아미노산은 유전자 코드에 의해 암호화된 것들뿐만 아니라, 사후에 변형된 아미노산, 예컨대 하이드록시프롤린, 감마-카복시글루타메이트 및 O-포스포세린이다. "폴리펩티드" 및 "단백질"이란 용어는 본원에서 아미노산 잔기들로 이루어진 중합체를 지칭하는 것으로서 호환되어 사용되고 있다. 이 용어는 1개 이상의 아미노산 잔기가 대응하는 자연 발생 아미노산의 화학적 인공 모의체인 아미노산 중합체에 적용될 뿐만 아니라 자연 발생 아미노산 중합체 및 비 자연 발생 아미노산 중합체에도 적용된다. 달리 명시되지 않는 한, 특정의 폴리펩티드 서열은 또한 명백하게 이 서열의 보존적으로 변형된 변이체도 포함한다.

[0098] 본 발명은 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 단리 항체로서, (a) 서열 번호 1, 4, 5, 8, 11, 39, 42 및 45 중 임의의 하나로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 1의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 중쇄 가변 영역 CDR1(HCDR1); (b) 서열 번호 2, 6, 9, 12, 40, 43 및 46 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 중쇄 가변 영역 CDR2(HCDR2); (c) 서열 번호 3, 7, 10, 13, 41, 44 및 47 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 중쇄 가변 영역 CDR3(HCDR3); (d) 서열 번호 18, 21, 24, 49, 52 및 55 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 경쇄 가변 영역 CDR1(LCDR1); (e) 서열 번호 19, 22, 25, 50, 53 및 56 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 19의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 경쇄 가변 영역 CDR2(LCDR2); 및 (f) 서열 번호 20, 23, 26, 51, 54 및 57 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 20의 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 경쇄 가변 영역 CDR3(LCDR3)을 포함하는 단리 항체를 제공하되, 단 이 항체는 인간 CD137에 특이적으로 결합한다. 적합하게, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 단리 항체는 (a) 서열 번호 1, 4, 5, 8, 11, 39, 42 및 45 중 임의의 하나, 바람직하게 서열 번호 1에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 중쇄 가변 영역 CDR1; (b) 서열 번호 2, 6, 9, 12, 40, 43 및 46 중 임의의 것, 바람직하게 서열 번호 2에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 중쇄 가변 영역 CDR2; (c) 서열 번호 3, 7, 10, 13, 41, 44 및 47 중 임의의 것, 바람직하게 서열 번호 3에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 중쇄 가변 영역 CDR3; (d) 서열 번호 18, 21, 24, 49, 52 및 55 중 임의의 것, 바람직하게 서열 번호 18에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 경쇄 가변 영역 CDR1; (e) 서열 번호 19, 22, 25, 50, 53 및 56 중 임의의 것, 바람직하게 서열 번호 19에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (f) 서열 번호 20, 23, 26, 51, 54 및 57 중 임의의 것, 바람직하게 서열 번호 20에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다.

[0099] 일 구현예에서, 인간 CD137에 대하여 결합 특이성을 가지는 본 발명의 항체는 (a) 서열 번호 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (b) 서열 번호 4, 6 및 7의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 21, 22 및 23의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (c) 서열 번호 5, 6 및 7의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 21, 22 및 23의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (d) 서열 번호 8, 9 및 10의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (e) 서열 번호 11, 12 및 13의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 24, 25 및 26의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (f) 서열 번호 36, 37 및 38의 HCDR1,

HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 49, 50 및 51의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (g) 서열 번호 39, 40 및 41의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 52, 53 및 54의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (h) 서열 번호 42, 43 및 44의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 49, 50 및 51의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (i) 서열 번호 45, 46 및 47의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 55, 56 및 57의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각을 포함한다. 바람직한 구현예에서, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 항체는 서열 번호 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각을 포함한다.

[0100] 적합하게 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 항체는 (a) 서열 번호 1, 2 및 3에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (b) 서열 번호 4, 6 및 7에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 21, 22 및 23에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (c) 서열 번호 5, 6 및 7에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 21, 22 및 23에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (d) 서열 번호 8, 9 및 10에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (e) 서열 번호 11, 12 및 13에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 24, 25 및 26에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (f) 서열 번호 36, 37 및 38에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 49, 50 및 51에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (g) 서열 번호 39, 40 및 41에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 52, 53 및 54에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (h) 서열 번호 42, 43 및 44에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 49, 50 및 51에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (i) 서열 번호 45, 46 및 47에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 55, 56 및 57에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각을 포함한다. 바람직한 구현예에서, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 항체는 서열 번호 1, 2 및 3에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 HCDR1; (b) 서열 번호 2에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 HCDR2; (c) 서열 번호 3에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 HCDR3; (d) 서열 번호 18에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 LCDR1; (e) 서열 번호 19에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 LCDR2; 및 (f) 서열 번호 20에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보

80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 LCDR1; (e) 서열 번호 53에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 LCDR2; 및 (f) 서열 번호 54에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하거나, 바람직하게 이것으로 이루어진 LCDR3을 포함한다.

[0105] 추가의 구현예에서, 본 발명은 CD137(예컨대 인간 CD137 단백질)과 특이적으로 결합하는 단리 항체를 제공하는데, 단 상기 항체는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함한다. 본 발명의 내용 중 "VH"(가변 중쇄), "VL"(가변 경쇄), "V_K" 및 "V_λ"란 용어는, 서열 동일성 및 상동성에 따라서 분류되는 항체 중쇄 서열 및 항체 경쇄 서열의 과들을 지칭한다. 예컨대 상동성 검색 매트릭스, 예컨대 BLOSUM(Henikoff, S. & Henikoff, J. G., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 (1992) 10915-10919)을 사용하여 서열 상동성을 확정하기 위한 방법과, 상동성에 따라서 서열을 분류하기 위한 방법은 당 업자에게 널리 공지되어 있다. VH의 경우 상이한 하위 과 V_K 및 V_λ는, 예컨대 VH1A, VH1B 및 VH2 ~ VH6인 VH, V_K1 ~ V_K4인 V_K, 그리고 V_λ1 ~ V_λ3인 V_λ로 구분한 문헌[Knappik et al., J. Mol. Biol. 296 (2000) 57-86]에 보인 바와 같이 식별될 수 있다. 항체 V_K 사슬, V_λ 사슬 및 VH 사슬은 생식계열 _K 사슬 V 및 J 분절, 생식계열 _λ 사슬 V 및 J 분절, 그리고 중쇄 V, D 및 J 분절 각각의 생체 내 무작위 재배열의 결과이다. 주어진 항체 가변 사슬이 어느 하위 과에 속하는지는, 대응하는 V 분절, 구체적으로 틀 영역 FR1 ~ FR3에 의해 결정된다. 그러므로 본 출원에서 오로지 특정의 틀 영역 HFR1 ~ HFR3 세트에 의해서만 특징지어지는 임의의 VH 서열은 임의의 HFR4 서열, 예컨대 중쇄 생식계열 J 분절 중 하나로부터 취하여진 HFR4 서열, 또는 재배열된 VH 서열로부터 취하여진 HFR4 서열과 합하여질 수 있다.

[0106] 적합하게 본 발명은 CD137(예컨대 인간 CD137 단백질)에 특이적으로 결합하는 단리 항체를 제공하는데, 다만 상기 항체는 VH4 또는 VH3 도메인, 바람직하게 VH4 도메인, 더욱 바람직하게 VH3 도메인을 포함한다.

[0107] VH3 과에 속하는 VH의 구체적인 예는 서열 번호 17로 표시된다. 구체적으로 서열 번호 17로부터 취하여진 틀 영역 FR1 ~ FR4는 VH3 과에 속한다(표 1의 보통의 글씨체로 표시된 영역). 본원에 사용된 바와 같이, 적합하게는 VH3 과에 속하는 VH는 서열 번호 17의 FR1 ~ FR4에 대하여 적어도 85%, 바람직하게는 적어도 90%, 더욱 바람직하게는 적어도 95%의 서열 동일성을 보이는 FR1 ~ FR4를 포함하는 VH이다.

[0108] VH4 과에 속하는 VH의 구체적인 예는 서열 번호 14로 표시된다. 구체적으로 서열 번호 14로부터 취하여진 틀 영역 FR1 ~ FR4는 VH4 과에 속한다(표 1의 보통의 글씨체로 표시된 영역). 본원에 사용된 바와 같이, 적합하게는 VH4 과에 속하는 VH는 서열 번호 14의 FR1 ~ FR4에 대하여 적어도 85%, 바람직하게는 적어도 90%, 더욱 바람직하게는 적어도 95%의 서열 동일성을 보이는 FR1 ~ FR4를 포함하는 VH이다.

[0109] VH 서열의 대안적 예들은 문헌[Knappik et al., J. Mol. Biol. 296 (2000) 57-86]에서 살펴볼 수 있다.

[0110] 적합하게 본 발명은 CD137(예컨대 인간 CD137 단백질)에 특이적으로 결합하는 단리 항체를 제공하는데, 상기 항체는 V_K 틀 FR1, FR2 및 FR3, 구체적으로 V_K1 또는 V_K3 틀, 바람직하게 V_K1 틀 FR1 ~ 3, 및 V_K FR4, 구체적으로 V_K1 FR4, V_K3 FR4 및 V_λ FR4로부터 선택되는 틀 FR4를 포함한다. 적합한 V_K1 틀 FR1 ~ 3은 서열 번호 27에 제시되어 있다(표 1에 FR 영역들은 일반 글씨체로 표시됨). 적합한 V_K1 틀 FR1 ~ 3은 서열 번호 27로부터 취하여진 FR1 ~ 3에 대응하는 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90% 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함한다(표 1에 FR 영역들은 일반 글씨체로 표시됨).

[0111] V_K1 서열의 대안적 예와, V_K2, V_K3 또는 V_K4 서열의 대안적 예는 문헌[Knappik et al., J. Mol. Biol. 296 (2000) 57-86]에서 살펴볼 수 있다.

[0112] 적합한 V_λ FR4는 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68에 제시된 바와 같다. 바람직한 구현예에서, V_λ FR4는 서열 번호 62 또는 63에 제시된 바와 같고, 더욱 바람직하게 V_λ FR4는 서열 번호 62에 제시된 바와 같다. 일 구현예에서, 본 발명은 CD137(예컨대 인간 CD137 단백질)에 특이적으로 결합하는 단리 항체를 제공하는데, 단 상기 항체는 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 62 또는 63의 아미노산 서열, 더욱 바람직하게 서열 번호 62의 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하는 V_λ FR4를 포함한다.

[0113] 일 구현예에서, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 항체는

[0114] (i) a. 서열 번호 1, 2, 및 3의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 18, 19, 및 20의 LCDR1,

LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; 또는

[0115] b. 서열 번호 36, 37, 및 38의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 49, 50, 및 51의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각

[0116] (ii) VH3 또는 VH4 도메인 틀 서열 FR1 ~ FR4, 바람직하게 VH3 도메인 틀 서열 FR1 ~ FR4; 및

[0117] (iii) V_k 틀 FR1, FR2 및 FR3, 구체적으로 $V_k 1$ 또는 $V_k 3$ FR1 ~ FR3, 바람직하게 $V_k 1$ FR1 ~ FR3, 및 V_k FR4, 구체적으로 $V_k 1$ FR4, $V_k 3$ FR4, 및 V_λ FR4, 구체적으로 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하는 V_λ FR4, 더욱 구체적으로 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_λ FR4, 바람직하게 서열 번호 62 아미노산 서열을 포함하는 V_λ FR4로부터 선택되는 틀 FR4을 포함하는 VL 틀을 포함하는 VL 도메인

[0118] 을 포함한다.

[0119] 그러므로 일 구현예에서, 본 발명은

[0120] (i) a. 서열 번호 4, 6, 및 7의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 21, 22, 및 23의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; 또는

[0121] b. 서열 번호 5, 6, 및 7의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 21, 22, 및 23의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각; 또는

[0122] c. 서열 번호 39, 40, 및 41의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 52, 53, 및 54의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각

[0123] (ii) VH3 또는 VH4 도메인 틀 서열 FR1 ~ FR4, 바람직하게 VH4 도메인 틀 서열 FR1 ~ FR4, 더욱 바람직하게 VH3 도메인 틀 서열 FR1 ~ FR4; 및

[0124] (iii) V_k 틀 FR1, FR2 및 FR3, 구체적으로 $V_k 1$ 또는 $V_k 3$ FR1 ~ FR3, 바람직하게 $V_k 1$ FR1 ~ FR3, 및 V_k FR4, 구체적으로 $V_k 1$ FR4, $V_k 3$ FR4, 및 V_λ FR4, 구체적으로 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하는 V_λ FR4, 바람직하게 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68에 제시된 바와 같은 V_λ FR4, 더욱 바람직하게 서열 번호 62에 제시된 바와 같은 V_λ FR4로부터 선택되는 틀 FR4을 포함하는 VL 틀을 포함하는 VL 도메인

[0125] 을 포함하는, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 항체를 제공한다.

[0126] 그러므로 일 구현예에서, 본 발명은 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지고,

[0127] (i) CDR 도메인, 즉 CDR1, CDR2 및 CDR3;

[0128] (ii) 인간 V_k 틀 영역 FR1 ~ FR3, 구체적으로 인간 $V_k 1$ 틀 영역 FR1 ~ FR3; 및

[0129] (iii) (a) FR4에 대한 인간 V_λ 생식계열 서열, 구체적으로 목록 서열 번호 62 ~ 68로부터 선택되거나, 바람직하게 서열 번호 62인 V_λ 생식계열 서열; 및 (b) 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되거나, 바람직하게 서열 번호 62인 아미노산 서열을 포함하는 FR4에 대해 가장 가까운 인간 V_λ 생식계열 서열에 비하여 1개 또는 2개의 돌연변이, 구체적으로 1개의 돌연변이를 가지는 V_λ 기반 서열로부터 선택되는 FR4

[0130] 를 포함하는 VL 을 포함하는 항체를 제공한다.

[0131] 바람직한 구현예에서, 본 발명은

[0132] (i) a. 서열 번호 4, 6, 및 7의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 21, 22, 및 23의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각;

[0133] b. 서열 번호 5, 6, 및 7의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 21, 22, 및 23의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각; 또는

[0134] c. 서열 번호 39, 40, 및 41의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 52, 53, 및 54의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각

[0135] (ii) VH4 도메인 틀 서열; 및

- [0136] (iii) $V\kappa 1$ 를 $FR1$, $FR2$ 및 $FR3$, 및 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하는 $V\lambda$ $FR4$, 구체적으로 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68, 바람직하게 서열 번호 62에 제시된 바와 같은 $V\lambda$ $FR4$ 를 포함하는 VL 를 포함하는 VL 도메인
- [0137] 을 포함하는, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 항체를 제공한다.
- [0138] 더욱 바람직한 구현예에서, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 항체는
- [0139] (i) 서열 번호 1, 2, 및 3의 $HCDR1$, $HCDR2$ 및 $HCDR3$ 서열 각각, 및 서열 번호 18, 19, 및 20의 $LCDR1$, $LCDR2$ 및 $LCDR3$ 서열 각각;
- [0140] (ii) $VH3$ 도메인 를 서열; 및
- [0141] (iii) $V\kappa 1$ 를 $FR1$, $FR2$ 및 $FR3$, 및 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하는 $V\lambda$ $FR4$, 구체적으로 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68, 바람직하게 서열 번호 62에 제시된 바와 같은 $V\lambda$ $FR4$ 를 포함하는 VL 를 포함하는 VL 도메인
- [0142] 을 포함한다.
- [0143] 본 발명은 CD137(예컨대 인간 CD137 단백질)에 특이적으로 결합하는 단리 항체를 제공하는데, 단 상기 항체는 표 1에 나열된 VH 도메인을 포함한다.
- [0144] 본 발명은 또한 CD137에 특이적으로 결합하는 단리 항체를 제공하는데, 단 상기 항체는 표 1에 나열된 VH 아미노산 서열을 포함하고, 를 서열(예컨대 CDR이 아닌 서열) 내 약 10개 이하의 아미노산이 돌연변이되었다(돌연변이는 부가, 치환 또는 결실로서 다양하되, 이에 한정되는 것은 아님).
- [0145] 본 발명은 CD137에 특이적으로 결합하는 단리 항체를 제공하는데, 단 상기 항체는 표 1에 나열된 VH 아미노산 서열을 포함하고, 를 서열(예컨대 CDR이 아닌 서열) 내 약 20개 이하의 아미노산이 돌연변이되었다(돌연변이는 부가, 치환 또는 결실로서 다양하되, 이에 한정되는 것은 아님).
- [0146] 본 발명의 기타 항체는 돌연변이된 아미노산을 포함하되, CD137에 특이적으로 결합하고, VH 영역은 표 1에 기술된 서열에 서사된 VH 영역과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 보인다.
- [0147] 본 발명은 CD137 단백질에 특이적으로 결합하는 단리 항체를 제공하는데, 상기 항체는 표 1에 나열된 VL 도메인을 포함한다.
- [0148] 본 발명은 또한 CD137에 특이적으로 결합하는 단리 항체를 제공하는데, 상기 항체는 표 1에 나열된 VL 아미노산 서열을 포함하고, 를 서열(예컨대 CDR이 아닌 서열)에 약 10개 이하의 아미노산이 돌연변이되었다(돌연변이는 부가, 치환 또는 결실로서 다양하되, 이에 한정되는 것은 아님).
- [0149] 본 발명은 또한 CD137에 특이적으로 결합하는 단리 항체를 제공하는데, 상기 항체는 표 1에 나열된 VL 아미노산 서열을 포함하고, 를 서열(예컨대 CDR이 아닌 서열)에 약 20개 이하의 아미노산이 돌연변이되었다(돌연변이는 부가, 치환 또는 결실로서 다양하되, 이에 한정되는 것은 아님).
- [0150] 본 발명의 기타 항체는 돌연변이된 아미노산을 포함하되, CD137에 특이적으로 결합하고, VL 영역은 표 1에 기술된 서열에 서사된 VL 영역과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 보인다.
- [0151] 본 발명은 또한 CD137에 특이적으로 결합하는 단리 항체를 제공하는데, 상기 항체는 서열 번호 14, 15, 16, 17 및 48로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 17의 아미노산 서열과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역과; 서열 번호 27, 28, 29, 30 및 58로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 30의 아미노산 서열과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0152] 일 구현예에서, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 항체는 서열 번호 14, 15, 16, 17 및 48 중

임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열 번호 27, 28, 29, 30 및 58 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0153] 일 구현예에서, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 항체는

(a) 서열 번호 4, 6, 및 7의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 21, 22 및 23의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 14와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 27과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열;

(b) 서열 번호 4, 6, 및 7의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 21, 22 및 23의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 15와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 28과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열;

(c) 서열 번호 5, 6, 및 7의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 21, 22, 및 23의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 16과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 29와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열; 또는

(d) 서열 번호 39, 40 및 41의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 52, 53 및 54의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 48과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 58과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열

을 포함한다.

[0159] 일 구현예에서, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 항체는

(a) 서열 번호 1, 2, 및 3의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 아미노산 서열인 서열 번호 14와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VH 서열, 및 아미노산 서열인 서열 번호 27과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VL 서열;

(b) 서열 번호 1, 2, 및 3의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 아미노산 서열인 서열 번호 15와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VH 서열, 및 아미노산 서열인 서열 번호 28과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VL 서열;

(c) 서열 번호 1, 2, 및 3의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 아미노산 서열인 서열 번호 16과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VH 서열, 및 아미노산 서열인 서열 번호 29와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VL 서열;

(d) 서열 번호 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 아미노산 서열인 서열 번호 17과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VH 서열, 및 아미노산 서열인 서열 번호 30과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VL 서열[바람직하게 상기 VH는 G51C 돌연변이(AHo 번호매김)를 포함하고, 상기 VL은 T141C 돌연변이(AHo 번호매김)를 포함함]; 또는

(e) 서열 번호 36, 37 및 38의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 49, 50 및 51의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 아미노산 서열인 서열 번호 48과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VH 서열, 및 아미노산 서열인 서열 번호 58과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%,

91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VL 서열

[0165] 을 포함한다.

[0166] 바람직한 구현예에서, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 항체는 서열 번호 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 아미노산 서열인 서열 번호 17과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VH 서열, 및 아미노산 서열인 서열 번호 30과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VL 서열을 포함하는데, 바람직하게 상기 VH는 G51C 돌연변이(AHo 번호매김)를 포함하고, 상기 VL은 T141C 돌연변이(AHo 번호매김)를 포함한다. 적합하게 상기 본 발명의 항체는 돌연변이되어, 틀 영역 내에 인공 도메인간 이황화 가교를 형성하고, 구체적으로 시스테인 쌍은 상기 VH 상 Gly51(AHo 번호매김)을 치환하고, 상기 VL 상 Thr141(AHo 번호매김)을 치환한다. 놀랍게도, 이처럼 도메인간 이황화 가교를 포함하는 본 발명의 항체는 열 안정성이 유의미하게 증가되었음이 발견되었다.

[0167] 이황화 가교("S-S 가교" 또는 "diS")와 관련하여 "인공"이란 용어는, S-S 가교가 야생형 항체에 의해 자연적으로 형성되지 않고, 모 분자의 조작된 돌연변이체에 의해 형성되는 경우를 의미하는데, 단 이 경우 적어도 하나의 외래 아미노산이 이황화 결합에 기여한다. 인공 이황화 가교의 부위 유도성 조작은, 원산 면역글로불린 또는 모듈 항체, 예컨대 W02009/000006A1에 기술된 것에서 자연적으로 일어날 수 있는 것과는 명백히 구별되는데, 그 이유는 인공 이황화 가교의 가교 잔교(bridge pier) 부위들 중 적어도 한 군데가 통상 야생형 항체의 Cys 잔기들의 위치와 떨어져 위치하여, 틀 영역 내에 대안적이거나 추가적인 이황화 가교가 제공되기 때문이다. 본 발명의 인공 이황화 가교는 항체 도메인 내에서 조작될 수 있어서("도메인내 가교") 베타 시트 구조를 안정화할 것 이거나, 도메인을 가교시키거나("도메인간 가교") 또는 도메인 사슬을 가교시킴으로써("사슬간 가교"), 본 발명에 따른 다중 특이적 항체의 구조를 속박하여 잠재적 결합 파트너와의 상호작용을 지지한다.

[0168] 추가의 구현예에서, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 단리 항체는 (a) 서열 번호 14의 VH 서열 및 서열 번호 27의 VL 서열; (b) 서열 번호 15의 VH 서열 및 서열 번호 28의 VL 서열; (c) 서열 번호 16의 VH 서열 및 서열 번호 29의 VL 서열; (d) 서열 번호 17의 VH 서열 및 서열 번호 30의 VL 서열; 또는 (e) 서열 번호 48의 VH 서열 및 서열 번호 58의 VL 서열을 포함한다. 바람직한 구현예에서, 인간 CD137에 대한 결합 특이성을 가지는 본 발명의 단리 항체는 서열 번호 17의 VH 서열 및 서열 번호 30의 VL 서열을 포함한다.

[0169] 일 구현예에서, CD137에 특이적으로 결합하는 항체는 표 1에 기술된 항체이다. 일 구현예에서, CD137에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 32, 서열 번호 33, 서열 번호 34, 서열 번호 35 또는 서열 번호 60에 제시된 바와 같다. 일 구현예에서, CD137에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 34에 제시된 바와 같다. 일 구현예에서, CD137에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 32 또는 서열 번호 35에 제시된 바와 같다. 바람직한 구현예에서, CD137에 특이적으로 결합하는 항체는 서열 번호 35에 제시된 바와 같다.

[0170] 본 발명의 기타 항체는 아미노산 또는 이 아미노산을 암호화하는 핵산이 돌연변이되었지만, 표 1에 기술된 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%의 동일성을 보이는 것들을 포함한다. 일 구현예에서, 이는 돌연변이 아미노산 서열을 포함하는데, 단 가변 영역 중 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하의 아미노산이, 표 1에 기술된 서열에 서사된 가변 영역의 아미노산과 비교되었을 때 돌연변이되었으되, 실질적으로 동일한 치료 활성을 보유하고 있다. 본원에 사용된 바와 같은 "실질적으로 동일한 활성"이란 용어는, 모 항체, 예컨대 본 발명의 항체, 구체적으로 표 1에 기술된 본 발명의 항체에 대해 측정되었을 때, 그 활성이 이러한 항체 활성의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 심지어 적어도 100% 또는 적어도 110%, 또는 적어도 120%, 또는 적어도 130%, 또는 적어도 140%, 또는 적어도 150%, 또는 적어도 160%, 또는 적어도 170%, 또는 적어도 180%, 또는 적어도 190%, 예컨대 200% 이하인 것과 같이 실질적으로 동일한 것으로 나타나는 경우를 지칭한다.

[0171] 만일 이러한 항체 각각이 CD137에 결합할 수 있고, 항원 결합 특이성이 주로 CDR1, 2 및 3 영역에 의해 제공된다면, VH CDR1, 2 및 3 서열 및 VL CDR1, 2 및 3 서열은 "혼합(mixing) 및 매칭(matching)"될 수 있다(즉, 비록 각각의 항체는 기타 본 발명의 CD137 결합 분자를 생성하기 위해 VH CDR1, 2 및 3 및 VL CDR1, 2 및 3을 함유하여야 하지만, 상이한 항체로부터 유래한 CDR들은 혼합 및 매칭될 수 있다). 이처럼 "혼합 및 매칭"된 CD137 결합 항체는 당 분야에 공지된 결합 검정과 실시예에 기술된 방법(예컨대 ELISA)을 사용하여 시험될 수 있다. VH CDR 서열이 혼합 및 매칭될 때, 특정의 VH 서열로부터 유래한 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 서열은 구조적으로 유사한 CDR 서열(들)로 치환되어야 한다. 이와 유사하게, VL CDR 서열이 혼합 및 매칭될 때, 특정의 VL 서열로부터 유래한 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 서열은 구조적으로 유사한 CDR 서열(들)로 치환되어야 한다. 본 발명의

모노클로날 항체에 대해 본원에 보인 CDR 서열로부터 유래한 구조적으로 유사한 서열로 1개 이상의 VH 및/또는 VL CDR 영역 서열을 돌연변이시킴으로써 신규 VH 및 VL 서열이 생성될 수 있음은 당업자가 용이하게 인식할 것이다.

[0172] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 표 1에 기술된 서열에 상동성인 아미노산 서열을 포함하는 항체를 제공하는데, 단 이 항체는 CD137과 결합하고, 표 1에 기술된 항체들의 원하는 기능상 특성을 보유한다.

[0173] 예를 들어 본 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리 모노클로날 항체를 제공하는데, 단 이 중쇄 가변 영역은 서열 번호 14, 15, 16, 17 및 48로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 17의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 이 경쇄 가변 영역은 서열 번호 27, 28, 29, 30 및 58로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 30의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하며; 항체는 인간 CD137 단백질에 특이적으로 결합한다.

[0174] 일 구현예에서, VH 및/또는 VL 아미노산 서열은 표 1에 제시된 서열과 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일할 수 있다. 일 구현예에서, VH 및/또는 VL 아미노산 서열은 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하의 아미노산 위치에 아미노산 치환이 일어났다는 점을 제외하고는 동일할 수 있다.

[0175] 일 구현예에서, 본 발명의 항체는 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역과, CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 가지는데, 이러한 CDR 서열들 중 1개 이상은 본원에 기술된 항체를 기반으로한 특정의 아미노산 서열 또는 이의 보존적 변형을 가지고, 항체는 본 발명의 CD137 결합 항체의 원하던 기능상 특성을 보유한다.

[0176] "보존적으로 변형된 변이체" 또는 "보존적 변이체"란 용어는 아미노산 서열과 핵산 서열 둘 다에 적용된다. 특정의 핵산 서열에 관할 때, 보존적으로 변형된 변이체란, 동일하거나 본질적으로 동일한 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 지칭하거나, 또는 핵산이 아미노산 서열을 암호화하지 않는 경우에는 본질적으로 동일한 서열을 지칭한다. 유전자 코드의 축퇴성으로 말미암아 기능상 동일한 핵산 다수가 임의의 주어진 단백질을 암호화한다. 예를 들어 코돈 GCA, GCC, GCG 및 GCU는 모두 아미노산 알라닌을 암호화한다. 그러므로 알라닌이 코돈에 의해 특정되는 모든 위치에서 이 코돈은, 암호화된 폴리펩티드를 변경시키지 않고, 기술된 대응 코돈들 중 임의의 것으로 변경될 수 있다. 이러한 핵산 변이는 보존적으로 변형되는 변이의 일종인 "침묵 변이"이다. 어떤 폴리펩티드를 암호화하는 본원의 모든 핵산 서열은 또한 핵산에 일어날 수 있는 모든 침묵 변형을 기술하기도 한다. 당업자는 핵산 내에 있는 각각의 코돈(보통 메티오닌의 유일한 코돈인 AUG와, 보통 트립토판의 유일한 코돈인 TGG는 제외)이 변형되어, 기능상 동일한 문자가 수득될 수 있음을 인지할 것이다. 그러므로 어떤 폴리펩티드를 암호화하는 핵산에 일어나는 침묵 변이 각각은 기술된 각각의 서열 내에 내포되어 있다.

[0177] 폴리펩티드 서열에 있어서 "보존적으로 변형된 변이체" 또는 "보존적 변이체"는 어떤 아미노산의 화학적으로 유사한 아미노산으로의 치환을 일으키는, 폴리펩티드 서열에 대한 각각의 치환, 결실 또는 부가를 포함한다. 기능상 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표는 당 분야에 널리 공지되어 있다. 이처럼 보존적으로 변형된 변이체는 본 발명의 대립형질, 종간 상동체 및 다형성 변이체에 부가적이고, 이것들을 배제하지 않는다. 하기 8개의 군은 서로 간에 보존적 치환인 아미노산들을 함유한다: 1) 알라닌(A), 글리신(G); 2) 아스파르트산(D), 글루탐산(E); 3) 아스파라긴(N), 글루타민(Q); 4) 아르기닌(R), 리신(K); 5) 이소루신(I), 루신(L), 메티오닌(M), 발린(V); 6) 페닐알라닌(F), 티로신(Y), 트립토판(W); 7) 세린(S), 트레오닌(T); 그리고 8) 시스테인(C), 메티오닌(M)(예컨대 문헌(Creighton, Proteins (1984)) 참조). 일 구현예에서, "보존적 서열 변형"이란 용어는, 어떤 아미노산 서열을 함유하는 항체의 결합 특징에 유의미한 영향을 미치지 않거나, 이를 유의미하게 변경하지 않는 아미노산 변형을 지칭하는데 사용된다.

[0178] 그러므로 본 발명은 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역과, CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하거나, 이것으로 이루어진 단리 모노클로날 항체를 제공하는데; 단

[0179] 중쇄 가변 영역 CDR1은 서열 번호 1, 4, 5, 8, 11, 36, 39, 42 및 45 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 1의 아미노산 서열 또는 이것들의 보존적 변이체를 포함하거나, 바람직하게는 이것으로 이루어지고; 중쇄 가변 영역 CDR2는 서열 번호 2, 6, 9, 12, 37, 40, 43 및 46 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 2의 아미노산 서열, 또는 이것들의 보존적 변이체를 포함하거나, 바람직하게는 이것으로 이루어지며; 중쇄 가변 영역 CDR3은 서열 번호 3, 7, 10, 13, 38, 41, 44 및 47 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 3의 아미노산 서열, 또는 이것들의 보존적 변이체를

포함하거나, 바람직하게는 이것으로 이루어지고;

- [0180] 경쇄 가변 영역 CDR1은 서열 번호 18, 21, 24, 49, 52 및 55 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 18의 아미노산 서열, 또는 이것들의 보존적 변이체를 포함하거나, 바람직하게는 이것으로 이루어지고; 경쇄 가변 영역 CDR2는 서열 번호 19, 22, 25, 50, 53 및 56 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 19의 아미노산 서열, 또는 이것들의 보존적 변이체를 포함하거나, 바람직하게는 이것으로 이루어지며; 경쇄 가변 영역 CDR3은 서열 번호 20, 23, 26, 51, 54 및 57 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 20의 아미노산 서열, 또는 이것들의 보존적 변이체를 포함하거나, 바람직하게는 이것으로 이루어지고; 항체는 CD137에 특이적으로 결합하고, 추가의 가교가 있거나 또는 없을 때 CD137 신호전달을 활성화할 수 있다.
- [0181] 일 구현예에서, 본 발명의 항체는 포유류 세포내 발현에 대해 최적화되도록 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 가지는데, 이 경우 이러한 서열들 중 1개 이상은 본원에 기술된 항체를 기반으로 한 지정 아미노산 서열 또는 이의 보존적 변형을 가지고, 이 항체는 본 발명의 CD137 결합 항체의 원하던 기능상 특성들을 보유한다. 그러므로 본 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리 모노클로날 항체로서, 포유류 세포에서의 발현에 최적화된 항체를 제공하는데; 중쇄 가변 영역은 서열 번호 14, 15, 16, 17 및 48 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 17의 아미노산 서열과 이의 보존적 변형을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열 번호 27, 28, 29, 30 및 58 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 30의 아미노산 서열과 이의 보존적 변형을 포함하며; 항체는 CD137에 특이적으로 결합하고, 추가의 가교가 있거나 또는 없을 때 CD137 신호전달을 활성화할 수 있다.
- [0182] 일 구현예에서, 본 발명의 항체는 포유류 세포에서의 발현에 대해 최적화되도록 전장 중쇄 서열과 전장 경쇄 서열을 가지는데, 이러한 서열들 중 1개 이상은 본원에 기술된 항체를 기반으로 한 지정 아미노산 서열 또는 이의 보존적 변형을 가지고, 항체는 본 발명의 CD137 결합 항체의 원하던 기능상 특성들을 보유한다.
- [0183] 본원에 사용된 바와 같은 "최적화된"이란 용어는, 뉴클레오티드 서열이 변경되어, 생산 세포 또는 유기체, 일반적으로는 진핵생물 세포, 예컨대 피치아(*Pichia*) 세포, 중국 햄스터 난소 세포(CHO) 또는 인간 세포에서 바람직한 코돈을 이용하여 아미노산 서열을 암호하게 됨을 의미한다. 최적화된 뉴클레오티드 서열은 원래 출발 뉴클레오티드 서열("모" 서열이라고도 공지됨)에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 전부 또는 가능한한 많이 보유하도록 조작된다. 본원에 있어 최적화된 서열은 포유류 세포에서 바람직한 코돈을 가지도록 조작되었다. 그러나 이러한 서열의 다른 진핵생물 세포 또는 원핵생물 세포 내 최적화된 발현도 또한 본원에서 상상된다. 최적화된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열도 또한 최적화되었다고 지칭된다.
- [0184] 가변 영역 변형의 또 다른 유형은 VH 및/또는 VL CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 영역 내 아미노산 잔기를 돌연변이시켜, 관심 항체의 결합 특성(예컨대 친화성) 1가지 이상을 개선하는 것이다("친화성 성숙"이라 공지됨). 돌연변이(들)를 도입하기 위해 부위 유도성 돌연변이유발 또는 PCR 매개 돌연변이유발이 수행될 수 있으며, 항체 결합 또는 기타 관심이 있는 기능상의 특성에 대한 영향력이, 본원에 기술되어 있고 실시예에 제공된 시험관내 또는 생체내 검정에서 평가될 수 있다. (상기 논의된 바와 같은) 보존적 변형이 도입될 수 있다. 돌연변이는 아미노산 치환, 부가 또는 결실일 수 있다. 더욱이 통상적으로는 CDR 영역내 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하의 잔기가 변경된다.
- [0185] "친화성 성숙된(affinity-matured)" 항체는 가변 도메인 1개 이상에 1회 이상의 변경이 발생하여, 항원에 대한 항체의 친화성이, 이러한 변경(들)이 발생하지 않은 모 항체의 항원에 대한 친화성과 비교되었을 때 개선된 항체이다. 일 구현예에서, 친화성 성숙 항체는 표적 항원에 대해 나노몰 또는 심지어 피코몰의 친화성을 가진다. 친화성 성숙된 항체는 당 분야에 공지된 방법에 의해 제조된다. 예를 들어 문헌[Marks et al, Bio/Technology 10:779-783 (1992)]에는 VH-도메인 및 VL-도메인 셔플링(shuffling)에 의한 친화성 성숙이 기술되어 있다. 초가변 영역("HVR") 및/또는 틀 잔기의 무작위 돌연변이유발은, 예를 들어 문헌[Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al. Gene 169:147-155 (1995); Jackson et al, J. Immunol. 154(7):3310- 9 (1995); 및 Hawkins et al, J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)]에 기술되어 있다.
- [0186] 일 구현예에서, 본 발명의 "친화성 성숙된" 항체는 I44V; F89V; Y105F 돌연변이, 구체적으로 서열 번호 15에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VH4와; A51P 돌연변이, 구체적으로 서열 번호 28에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0187] 다른 구현예에서, 본 발명의 "친화성 성숙된" 항체는 V25A; I44V; V82K; F89V; Y105F 돌연변이, 구체적으로 서

열 번호 16에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VH4와; I2L; A51P 돌연변이, 구체적으로 서열 번호 29에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0188] 본 발명의 항체는 또한 변형 항체를 조작하기 위해 출발 물질로서 본원에 보인 VH 및/또는 VL 서열들 중 1개 이상을 가지는 항체를 사용하여 제조될 수 있는데, 단 이 변형 항체는 출발 항체의 특성과는 달리 변경된 특성을 가질 수 있다. 항체는 가변 영역(즉 VH 및/또는 VL) 1개 또는 둘 다의 내부, 예를 들어 1개 이상의 CDR 영역 및/또는 1개 이상의 틀 영역 내부에 있는 잔기 1개 이상을 변형시킴으로써 조작될 수 있다. 추가로, 또는 대안적으로 항체는, 예를 들어 항체의 효과기 기능(들)을 변경하기 위해 불변 영역(들) 내부에 있는 잔기들을 변형시켜 조작될 수 있다.

[0189] 수행될 수 있는 가변 영역 조작의 한 유형은 CDR 이식이다. 주로 항체는 6개의 중쇄 및 경쇄 상보성 결정 영역(CDR)에 위치하는 아미노산 잔기들을 통해 표적 항원과 상호작용한다. 이러한 이유로 말미암아, 개별 항체들간 CDR 외부 아미노산 서열보다는 CDR 내부 아미노산 서열이 더욱 가변적이다. CDR 서열은 대부분의 항체-항원 상호작용에 관여하므로, 상이한 특성을 가지는 상이한 항체로부터 유래한 틀 서열상에 이식된, 특정의 자연 발생 항체로부터 유래한 CDR 서열을 포함하는 발현 벡터를 구성함으로써 특정의 자연 발생 항체의 특성을 모의하는 재조합 항체를 발현시키는 것이 가능하다[예컨대 문헌(Riechmann, L. et al., 1998 Nature 332:323-327; Jones, P. et al., 1986 Nature 321:522- 525; Queen, C. et al., 1989 Proc. Natl. Acad. U.S.A. 86: 10029-10033; 미국 특허 제5,225,539호(Winter), 및 미국 특허 제5,530,101호; 동 제5,585,089호; 동 제5,693,762호 및 동 제6,180,370호(Queen et al.))을 참조한다].

[0190] 이러한 틀 서열은 생식계열 항체 유전자 서열 또는 재배열된 항체 서열을 포함하는 간행된 참고문헌 또는 공공의 DNA 데이터베이스로부터 입수될 수 있다. 예를 들어 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자에 대한 생식계열 DNA 서열은 "VBase" 인간 생식계열 서열 데이터베이스(인터넷 사이트 www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase에서 입수 가능함)에서뿐 아니라, 문헌[Kabat, E. A., et al., 1991 Sequences of proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson, I. M., et al., 1992 J. fol. Biol. 227:776-798; 및 Cox, J. P. L. et al., 1994 Eur. J Immunol. 24:827-836]에서도 살펴볼 수 있는데; 단 이것들 각각의 내용은 본원에 참조로 명백하게 인용되어 있다. 예를 들어 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자에 대한 생식계열 DNA 서열과 재배열된 항체 서열은 "IMGT" 데이터베이스(인터넷 사이트 www.imgt.org에서 입수 가능; Lefranc, M.P. et al., 1999 Nucleic Acids Res. 27:209-212 참조(이것들 각각의 내용은 본원에 참조로 명백하게 인용됨))에서 살펴볼 수 있다.

[0191] 본 발명의 항체에 사용하기 위한 틀 서열의 예는 본 발명의 선택된 항체에 의해 사용되는 틀 서열과 구조상 유사한 틀 서열, 예컨대 본 발명의 모노클로날 항체에 의해 사용되는 공통 서열 및/또는 틀 서열이다. VH CDR1, 2 및 3 서열, 및 VL CDR1, 2 및 3 서열은 틀 서열의 기원이 되는 생식 계열 면역글로불린 유전자에서 발견되는 서열과 동일한 서열을 가지는 틀 영역에 이식될 수 있거나, 또는 CDR 서열은 생식계열 서열에 비하여 돌연변이를 1개 이상 함유하는 틀 영역에 이식될 수 있다. 예를 들어 임의의 경우 틀 영역 내 잔기들을 돌연변이시켜, 항체의 항원 결합능을 유지시키거나 향상시키는 것이 유리할 수 있음이 확인되었다(예를 들어 미국 특허 제5,530,101호; 동 제5,585,089호; 동 제5,693,762호 및 동 제6,180,370호(Queen의 다수) 참조).

[0192] 생성되는 폴리펩티드가 CD137에 특이적으로 결합하는 결합 영역 적어도 1개를 포함하는 한, 매우 다양한 항체/면역글로불린 틀 또는 스캐폴드가 사용될 수 있다. 이러한 틀 또는 스캐폴드는 인간 면역글로불린, 이의 항원 결합 단편의 주요 이디오타입(idiotype) 5개를 포함하고, 다른 동물종의 면역글로불린, 바람직하게 인간화된 양태들을 가지는 면역글로불린을 포함한다.

[0193] 일 양태에서, 본 발명은 자체에 본 발명의 CDR들이 이식될 수 있는 비 면역글로불린 스캐폴드를 사용하여 비 면역글로불린 기반 항체를 생성하는 방법에 관한 것이다. 공지되었거나 미래의 비 면역글로불린 틀 및 스캐폴드가 특이적인 결합 영역을 포함하는 한, 이것들이 사용될 수 있다. 공지된 비 면역글로불린 틀 또는 스캐폴드는 피브로넥틴(Compound Therapeutics, Inc., Waltham, Mass.), 안키린(Molecular Partners AG, Zurich, Switzerland), 리포칼린(Pieris Proteolab AG, Freising, Germany), 소형 조절성 면역약제(immunopharmaceutical)(Trubion Pharmaceuticals Inc., Seattle, Wash.), 맥시바디(Avidia, Inc., Mountain View, Calif), 단백질 A(Affibody AG, Sweden) 및 아필린(감마-크리스탈린 또는 유비퀴틴)(Scil proteins GmbH, Halle, Germany)을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0194] 적합하게 본 발명의 항체는 CD137에 특이적으로 결합하고, 하기 매개변수들 중 1개 이상에 의해 특징지어진다:

- [0195] (i) 구체적으로 표면플라스몬공명법(SPR)에 의해 측정된 바에 따르면 해리 상수(KD) 50 nM 미만, 구체적으로 10 nM 미만, 구체적으로 5 nM 미만, 구체적으로 1 nM 미만, 구체적으로 500 pM 미만, 더욱 구체적으로 100 pM 미만, 더욱 구체적으로 50 pM 미만으로 인간 CD137과 결합하고[단 구체적으로 상기 항체는 scFv임];
- [0196] (ii) SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 K_{off} 속도 10^{-3} s^{-1} 이하, 또는 10^{-4} s^{-1} 이하, 또는 10^{-5} s^{-1} 이하로 인간 CD137과 결합하며;
- [0197] (iii) SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 K_{on} 속도 적어도 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상으로 인간 CD137과 결합하고;
- [0198] (iv) 선택적으로 우렐루맙 및/또는 우톨리무맙과 교차 경쟁하지 않으며;
- [0199] (v) 마카카 패스큘라리스(사이노몰거스) CD137과 교차 반응성으로서, 구체적으로 SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 KD 15 nM 미만, 구체적으로 10 nM 미만, 구체적으로 5 nM 미만으로 사이노몰거스 PDL1과 결합하며/결합하거나[단 상기 항체는 scFv임];
- [0200] (vi) 구체적으로 SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 인간 CD40 및/또는 인간 OX40과 결합하지 않으며;
- [0201] (vii) 구체적으로 경쟁 ELISA 검정에 의해 측정되었을 때, 선택적으로는 인간 CD137과 이의 리간드인 CD137L 사이의 상호작용을 억제하지 않음.
- [0202] 본원에 사용된 바와 같은 "친화성"이란 용어는, 단일 항원성 부위에서의 항체와 항원간 상호작용의 세기를 지칭한다. 각각의 항원성 부위내에서 항체 "팔"의 가변 영역은 약한 비공유성 외력을 통해 다양한 부위에서 항원과 상호작용하고; 그 상호작용이 클수록 친화성도 더 크다.
- [0203] "결합 친화성"이란, 일반적으로 분자(예컨대 항체)의 단일 결합 부위와 이의 결합 파트너(예컨대 항원)간 비 공유 상호작용을 모두 합하였을 때의 세기를 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 바와 같은 "결합 친화성", "에 결합한다", "에 결합하다" 또는 "에 결합하는"이란, 결합 쌍의 일원들(예컨대 항체 단편과 항원)간 1:1 상호작용을 반영하는 고유의 결합 친화성을 지칭한다. 분자 X와, 이의 파트너인 Y의 친화성은, 일반적으로 해리 상수(K_D)로 표시될 수 있다. 친화성은 당 분야에 공지된 통상의 방법, 예컨대 본원에 기술된 방법들로 측정될 수 있다. 저 친화성 항체는, 일반적으로 천천히 항원과 결합하고, 쉽게 항원과 해리되는 경향이 있는 반면, 고 친화성 항체는, 일반적으로 항원과 더 빨리 결합하고, 결합된 채 더 오래 유지되는 경향이 있다. 결합 친화성을 측정하는 방법 다수가 당 분야에 공지되어 있는데, 이 방법들 중 임의의 방법이 본 발명을 위해 사용될 수 있다. 결합 친화성, 즉 결합 세기를 측정하기 위한 방법으로서, 특정의 예시적 및 모범적 구현예가 이하에 기술되어 있다.
- [0204] 본원에 사용된 바와 같은 " $K_{결합}$ ", " K_a " 또는 " K_{on} "이란 용어는, 특정의 항체-항원 상호작용에서의 결합 속도를 지칭하도록 의도되는 반면, 본원에 사용된 바와 같은 " $K_{해리}$ ", " K_d " 또는 " K_{off} "란 용어는, 특정의 항체-항원 상호작용에서의 해리 속도를 지칭하도록 의도된다. 일 구현예에서, 본원에 사용된 바와 같은 "KD"란 용어는, K_d 대 K_a 의 비(즉 K_d/K_a)로부터 구하여진 해리 상수를 지칭하도록 의도되고, 몰 농도(M)로서 표현된다. 일 구현예에서, 본 발명에 따른 "KD" 또는 "KD 값" 또는 " K_D " 또는 " K_D 값"은 MASS-1 SPR 기기(Sierra Sensors)를 사용하는 표면 플라스몬공명검정에 의해 측정된다. 친화성을 측정하기 위해 토끼 IgG Fc 영역에 특이적인 항체 (Bethyl Laboratories, Cat. No. A120-111A)는 표준 아민 커플링 방법을 이용하여 센서 칩(SPR-2 Affinity Sensor, High Capacity Amine, Sierra Sensors) 상에 부동화된다. B 세포 상청액 중 토끼 모노클로날 항체는 부동화된 항 토끼 IgG 항체에 의해 포착된다. B 세포 상청액 중 최저 IgG 농도는 충분한 포착을 허용하여야 한다. 모노클로날 항체를 포착한 후, 인간 CD137 ECDPeprotech, cat.310-15-1MG)는 유동 세포에 3분 동안 90 nM의 농도로 주입되고, 센서 칩상에 포착된 IgG로부터의 단백질 해리는 5분 동안 그 진행이 허용된다. 매 주입 주기 이후에 표면은 10 mM 글리신-HCl 2회 주입으로 재생된다. 겉보기 해리 속도 상수(k_d) 및 겉보기 결합 속도 상수(k_a)와, 겉보기 해리 평형 상수(KD)는 1:1 랑무르(Langmuir) 결합 모델을 이용하여 MASS-1 분석 소프트웨어 (Analyzer, Sierra Sensors)로 산정되고, 피팅의 품질은 상대적 χ^2 (즉 피분석물의 외삽된 최고 결합 수준에 대해 정규화된 χ^2)를 기반으로 모니터링되는데, 여기서 상대적 χ^2 는 곡선 피팅의 품질에 대한 척도이다. χ^2 에 대한 값이 작으면, 1:1 랑무르 결합 모델에 더욱 정확하게 피팅된다. 만일 리간드 결합에 대한 반응 단

위(response unit; RU)가 항체 포착에 대한 RU의 적어도 2%라면, 결과는 유효한 것으로 여겨진다. 리간드 결합에 대한 RU가 항체 포착에 대한 RU의 2% 미만인 시료는 포착된 항체에 대한 CD137의 특이적 결합을 보이지 않는 것으로 간주된다. 평형 해리 상수(K_D)는 비 k_{off}/k_{on} 으로서 산정된다. 예컨대 문헌[Chen et al, J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)]을 참조한다.

[0205] 적합하게 본 발명의 항체의 CD137에 대한 친화성은, CD137의 CD137L에 대한 친화성과 거의 동일하거나 더 클 수 있다. 적합하게 CD137에 대한 본 발명의 항체의 친화성은 우렐루맙의 CD137에 대한 친화성과 거의 동일하거나 더 클 수 있다. CD137 항체의 더 큰 친화성은 특히 적합하게 이용될 수 있는데, 단 상기 항체는 CD137에 대해 1 가이다. 항체의 결합 친화성은, 예를 들어 해리 상수(K_D)에 의해 확정될 수 있다. 더 큰 친화성은 더 작은 K_D 로 표시되는 반면에, 더 약한 친화성은 더 큰 K_D 로 표시된다.

[0206] 그러므로 적합한 구현예에서, 본 발명의 항체의 K_D 는, 구체적으로 SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 5 pM ~ 50,000 pM, 5 pM ~ 40,000 pM, 5 pM ~ 30,000 pM, 5 pM ~ 20,000 pM, 5 pM ~ 10,000 pM, 5 pM ~ 5,000 pM, 5 pM ~ 2,500 pM, 5 pM ~ 1,000 pM, 5 pM ~ 750 pM, 5 pM ~ 500 pM, 5 pM ~ 250 pM, 5 pM ~ 100 pM, 5 pM ~ 75 pM, 5 pM ~ 50 pM, 5 pM ~ 30 pM일 수 있다. 추가의 구현예에서, 본 발명의 항체는, 구체적으로 SPR에 의해 측정되는 바에 따르면 인간 CD137과 K_D 10 nM 내지 10 pM, 바람직하게 10 nM 내지 0.1 nM, 더욱 바람직하게 5 nM 내지 1 nM로 결합한다.

[0207] 적합한 구현예에서, 본 발명의 항체의 K_D 는, 구체적으로 SPR에 의해 측정되었을 때, 약 50 nM 미만, 약 45 nM 미만, 약 40 nM 미만, 약 35 nM 미만, 약 30 nM 미만, 약 25 nM 미만, 약 20 nM 미만, 약 15 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 9 nM 미만, 약 8 nM 미만, 약 7 nM 미만, 약 6 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 4 nM 미만, 약 3 nM 미만, 약 2 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 0.5 nM 미만, 약 0.25 nM 미만, 또는 0.1 nM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 약 20 pM 미만일 수 있다. 적합하게 본 발명의 항체의 K_D 는, 구체적으로 SPR에 의해 측정되었을 때 10 nM 미만이다. 바람직하게 본 발명의 항체는, 구체적으로 SPR에 의해 측정되었을 때 인간 CD137과 K_D 5 nM 미만으로 결합한다. 적합하게 본 발명의 항체의 K_D 는, 구체적으로 SPR에 의해 측정되었을 때 1 nM 미만이다. 적합하게 본 발명의 항체의 K_D 는, 구체적으로 SPR에 의해 측정되었을 때 50 pM 미만이다.

[0208] 적합하게 본 발명의 항체는 표면 플라스몬공명법(SPR)에 의해 측정되었을 때 인간 CD137과 적어도 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $10^7 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 적어도 $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상의 K_{on} 속도로 결합한다. 적합하게 본 발명의 항체는 SPR에 의해 측정되었을 때 K_{on} 속도가 적어도 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상, 구체적으로 적어도 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 이상이다

[0209] 적합하게 본 발명의 항체는 표면 플라스몬공명법(SPR)에 의해 측정되었을 때 인간 CD137과 10^{-3} s^{-1} 이하, $3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 이하, $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 이하, 10^{-4} s^{-1} 이하, $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 이하, 10^{-5} s^{-1} 이하, $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 이하, 10^{-6} s^{-1} 이하, 또는 10^{-7} s^{-1} 이하의 K_{off} 속도로 결합한다. 적합하게 본 발명의 항체의 K_{off} 속도는 SPR에 의해 측정되었을 때 10^{-4} s^{-1} 이하, 구체적으로 10^{-5} s^{-1} 이하이다.

[0210] 적합하게 본 발명의 항체는 유리한 생물물리적 특성을 가진다.

[0211] 적합하게 본 발명의 항체는 scFv 포맷일 때, 시차주사형광측정법에 의해 확정된 용융 온도(T_m)가 적어도 50°C, 바람직하게 적어도 55°C, 더욱 바람직하게 적어도 60°C이고, 상기 항체는 구체적으로 50 mM 인산염-시트르산염 완충제(pH 6.4, 150 mM NaCl 포함) 중에 제제화된다. DSF는 이미 기술되어 있다(Egan, et al., MAbs, 9(1) (2017), 68-84; Niesen, et al., Nature Protocols, 2(9) (2007) 2212-2221). scFv 구조체의 열 언폴딩(thermal unfolding)에 대한 전이의 중간점은 형광 염료인 SYPRO® 오렌지를 사용하여 시차주사형광측정법에 의해 확정된다(Wong & Raleigh, Protein Science 25 (2016) 1834-1840 참조). 인산염-시트르산염 완충제(pH 6.4) 중 시료는 최종 단백질 농도가 50 $\mu\text{g/mL}$ 이고, 총 부피 100 μl 중 5x SYPRO® 오렌지 최종 농도만큼을 함유하도록 제조된다. 제조된 시료 25 마이크로리터만큼이 백색의 벽으로 둘려있는 AB 유전자 PCR 평판에 3회 첨가된다. 이 검정은 열 순환기로서 사용되는 qPCR 기계 안에서 수행되고, 형광 발광은 소프트웨어의 맞춤 염료 보정 루틴에 따라서 검출된다. 검정 시료가 담긴 PCR 평판 온도는 1°C씩 승온하여 25°C에서 96°C까지 상승되고, 매 승온 시마다 30초씩 휴지기를 둔다. 총 검정 시간은 약 2시간이다. T_m 은 곡선의 변곡점을 산정하기 위한 산술적

2차도함수법을 이용하여 소프트웨어 GraphPad Prism에 의해 산정된다. 보고된 T_m 은 3회 측정값의 평균이다.

[0212] 적합하게 본 발명의 항체는 scFv 포맷일 때, 적어도 2주 동안, 구체적으로 적어도 4주 동안 4°C에 보관된 후의 단량체 함량 감소율이 5% 미만, 예컨대 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 바람직하게 1% 미만이되, 단 이때 본 발명의 항체의 출발 농도는 10 mg/ml이고, 구체적으로 본 발명의 항체는 50 mM 인산염-시트르산염 완충제(pH 6.4, 150 mM NaCl 포함) 중에 제제화된다. 적합하게 본 발명의 항체는 scFv 포맷일 때, 적어도 2주 동안, 구체적으로 적어도 4주 동안 4°C에 보관된 후의 단량체 함량 감소율이 5% 미만, 예컨대 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 바람직하게 1% 미만이되, 단 이때 본 발명의 항체의 출발 농도는 10 mg/ml이고, 구체적으로 본 발명의 항체는 50 mM 인산염-시트르산염 완충제(pH 6.4, 150 mM NaCl 포함) 중에 제제화된다. 단량체 함량 감소율은 SE-HPLC 크로마토그램의 곡선화 면적 산정에 의하여 확정되는 바와 같다. SE-HPLC는 USP의 챕터 621에 개략적으로 기술된 바와 같이 고체 정지상 및 액체 이동상을 기반으로 하는 분리 기술이다. 이 방법은 소수성 정지상과 수성 이동상을 이용하여 분자들을 자체의 크기와 형상을 바탕으로 분리한다. 분자의 분리는 특정 컬럼의 허공부피(void volume; V_0)와 총 투과 부피(total permeation volume; VT) 사이에 일어난다. SE-HPLC에 의한 측정은 자동 시료 주입장치 및 UV 검출기(검출 파장 280 nm로 설정)가 장착된 Chromaster HPLC 시스템(Hitachi High-Technologies Corporation)에서 수행된다. 장비는 얻어지는 크로마토그램의 분석을 지원해주기도 하는 소프트웨어 EZChrom Elite(Agilent Technologies, Version 3.3.2 SP2)로 제어된다. 단백질 시료는 원심분리에 의해 청정화되고, 주입되기 전 자동시료추출기 안에 담긴다(온도 4°C ~ 6°C로 유지). scFv 시료를 분석하기 위해 컬럼 Shodex KW403-4F(Showa Denko Inc., #F6989202)가 사용되는데, 이 경우 표준화된 완충 염 이동상(50 mM 인산나트륨 pH6.5, 300 mM 염화나트륨)이 0.35 mL/분의 권장 유속으로 흐른다. 1회 주입당 표적 시료량은 5 μ g이었다. 시료는 280 nm의 파장에서 UV 검출기로 검출되고, 데이터는 적합한 소프트웨어 슈트로 기록되었다. 구하여진 크로마토그램은 V_0 ~ VT 의 범위에서 분석되고, 이로써 매트릭스 결합 피크(용리 시간: 10분 초과)가 배제된다.

[0213] 일 구현예에서, 본 발명의 항체는 우렐루맙과 결합에 대해 교차 경쟁하지 않는다. 본 발명은 우렐루맙에 대한 에피토프와 상이한 에피토프와 결합하는 항체를 제공한다. BMS-663513이라고도 청하여지는 우렐루맙은 전체가 인간화된 IgG4 mAb(Bristol-Myers Squibb 사)로서, 본 출원에 전체가 참조로 인용되어 있는 WO 2004/010947, 미국 특허 제6,887,673호 및 미국 특허 제7,214,493호에 기술되어 있다.

[0214] 일 구현예에서, 본 발명의 항체는 우토밀루맙과 결합에 대해 교차 경쟁하지 않는다. 본 발명은 우토밀루맙에 대한 에피토프와 상이한 에피토프와 결합하는 항체를 제공한다. PF-05082566이라고도 청하여지는 우토밀루맙은 전체가 인간의 것인 IgG2 mAb(Pfizer 사)로서, 본 출원에 전체가 참조로 인용되어 있는 WO 2012/032433 및 미국 특허 제8,821,867호에 기술되어 있다.

[0215] 추가의 구현예에서, 본 발명의 항체는 우렐루맙 및 우토밀루맙과 결합에 대해 교차 경쟁하지 않는다. 본 발명은 우렐루맙 및 우토밀루맙에 대한 에피토프와 상이한 에피토프와 결합하는 항체를 제공한다.

[0216] 본원에 사용된 바와 같은 "인지하다"란 용어는, 항체가 자신의 입체적 에피토프를 찾아서 이것과 상호작용(예컨대 결합)하는 경우를 지칭한다.

[0217] "경쟁하다" 또는 "교차 경쟁하다(cross-compete)" 및 관련 용어들은 항체가, 표준 경쟁 결합 검정에서 다른 항체 또는 결합 제제와 CD137의 결합을 방해하는 능력을 의미하는 것으로서 호환되어 본원에서 사용된다.

[0218] 항체 또는 기타 결합 제제가, 다른 항체 또는 결합 분자와 CD137의 결합을 방해할 수 있는 능력 또는 정도와, 항체가 본 발명에 따라서 교차 경쟁한다고 일컬어질 수 있는지 여부는, 표준 경쟁 결합 검정을 사용하여 확정될 수 있다. 특히 적합한 정량적 교차 경쟁 검정 한 가지는, 표지화된(예컨대 His 태강, 바이오텐화 또는 방사능 표지화된) 항체 또는 이의 단편과, 다른 항체 또는 그의 단편 사이의 경쟁, 즉 이것들과 표적의 결합의 관점에서의 경쟁을 측정하기 위해 FACS-기반 또는 AlphaScreen-기반 접근법을 사용한다. 일반적으로 교차 경쟁 항체 또는 이의 단편은, 예를 들어 교차 경쟁 검정에서 표적과 결합하여, 검정 동안에 제2의 항체 또는 그의 단편이 존재할 때, 본 발명에 따른 폴리펩티드 또는 면역글로불린 단일 가변 도메인의 기록된 치환률이, (예컨대 FACS 기반 경쟁 검정에서) 소정량으로 존재하는 시험 대상 잠재적 교차 차단성 항체 또는 이의 단편에 의한 이론상 최대 치환률(예컨대 교차 차단되어야 하는 냉각(예컨대 비표지화) 항체 또는 이의 단편에 의한 치환률)의 100% 이하가 되는 항체 또는 이의 단편이다. 바람직하게 교차 경쟁 항체 또는 이의 단편은 10% 내지 100%, 더욱 바람직하게 50% 내지 100%의 기록된 치환률을 보인다.

[0219] "에피토프"란 용어는, 항체와 특이적으로 결합할 수 있는 단백질 결정기를 의미한다. 에피토프는 보통 화학적으

로 활성인 표면 분자군, 예컨대 아미노산 또는 당 측쇄로 이루어져있으며, 일반적으로 특이적인 3차원 구조적 특징뿐 아니라, 특이적인 전하 특징도 가진다. "입체" 에피토프와 "선형" 에피토프는, 이 입체 에피토프는 변성 용매가 존재할 때 소실되고, 선형 에피토프는 소실되지 않는다는 점에서 구별된다.

[0220] 본원에 사용된 바와 같은 "입체 에피토프"란 용어는, 폴리펩티드 사슬이 폴딩(folding)되어 원산 단백질을 형성 할 때 표면에 함께 존재하게 되고, Fab 결합으로 말미암아 유의미하게 감소한 HD 교환율을 보이는 항원의 아미노산 잔기들을 지칭한다. 입체 에피토프는 기능적 에피토프를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0221] "선형 에피토프"란 용어는, 단백질과 상호작용 분자(예컨대 항체) 사이의 상호작용 점 모두가 단백질의 1차 아미노산 서열을 따라서 직선으로(연속적으로) 존재하는 에피토프를 지칭한다.

[0222] 본 발명의 항체는 우렐루맙 또는 우토밀루맙과 CD137 단백질의 결합을 억제하지 않는데, 이 점은 본 발명의 항체가 우렐루맙 또는 우토밀루맙과 CD137과의 결합에 대해 경쟁할 수 없고; 이러한 항체는 비제한적 이론에 따라 CD137상 우렐루맙 또는 우토밀루맙에 대한 에피토프와 상이한(예컨대 구조적으로 상이하거나 공간상 멀리 떨어져 있는) 에피토프에 결합할 수 있음을 입증한다.

[0223] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 CD137 결합 항체에 대한 에피토프와 동일한 에피토프와 결합하는 항체를 제공한다. 그러므로 추가의 항체는, CD137 결합 검정에 있어 이 항체가 본 발명의 다른 항체와 교차 경쟁하는 능력(예컨대 통계학적으로 유의미한 방식으로 본 발명의 다른 항체의 결합을 경쟁적으로 억제하는 능력)을 기반으로 동정될 수 있다.

[0224] 적합하게 본 발명의 단리 항체는 모노클로날 항체, 키메라 항체, IgG 항체, Fab, Fv, scFv, dsFv, scAb, STAB, 그리고 대안적 스캐폴드를 기반으로 한 결합 도메인, 예컨대 안카린 기반 도메인, 파이노미, 아비미, 안티칼린, 피브로넥틴, 및 항체의 불변 영역으로 구축될 결합 부위들(예컨대 F-star의 Modular AntibodyTechnology™)(이에 한정되는 것은 아님)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0225] 적합하게, 본 발명의 단리 항체는 Fv이다. 적합하게 본 발명의 단리 항체는 scFv 항체 단편이다. "단일 사슬 Fv" 또는 "scFv" 또는 "sFv" 항체 단편은 항체의 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는데, 단 이들 도메인은 하나의 폴리펩티드 사슬 내에 존재한다. 일반적으로 Fv 폴리펩티드는 VH 도메인 및 VL 도메인 사이에, scFv가 표적 결합에 원하는 구조를 형성하도록 만들 수 있는 폴리펩티드 링커를 추가로 포함한다. "단일 사슬 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는데, 단 이들 도메인은 단일 폴리펩티드 사슬 내에 존재한다. 일반적으로 scFv 폴리펩티드는 VH 도메인 및 VL 도메인 사이에, sFv가 항원 결합에 원하는 구조를 형성하도록 만들 수 있는 폴리펩티드 링커를 추가로 포함한다(예컨대 문현(Pluckthun, The pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, 1994, pp. 269-315) 참조). 구체적 구현예에서, 상기 기능성 단편은 서열 번호 31에 따르는 링커를 포함하는 scFv 포맷이다. 추가의 구현예에서, 본 발명의 단리 항체는 서열 번호 27, 서열 번호 33, 서열 번호 34, 서열 번호 35 또는 서열 번호 60, 바람직하게 서열 번호 35에 보인 바와 같은 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 일 구현예에서, 본 발명의 단리 항체는 서열 번호 33에 보인 바와 같은 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 일 구현예에서, 본 발명의 단리 항체는 서열 번호 34에 보인 바와 같은 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 바람직한 구현예에서, 본 발명의 단리 항체는 서열 번호 35에 보인 바와 같은 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다.

[0226] 적합하게 본 발명의 단리 항체는 IgG 항체 단편이다. "이소타입"이란 용어는, 중쇄 불변 영역 유전자에 의해 제공되는 항체 군(예컨대 IgM, IgE, IgG, 예컨대 IgG1 또는 IgG4)을 지칭한다. 이소타입은 또한 이러한 군들 중 하나의 변형된 것도 포함하는데, 이 경우 변형은 Fc 기능을 좁아 이루어지고, 그 결과, 예컨대 Fc 수용체에의 결합 또는 효과기 기능이 향상되거나 감소된다. 일 구현예에서, 본 발명의 단리 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택되는 IgG, 바람직하게는 IgG4이다. 적합하게 본 발명의 단리 항체는 서열 번호 4, 6 및 7의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 21, 22 및 23의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 14와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 그리고 서열 번호 27과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열을 포함하는 IgG4이다. 더욱 구체적인 구현예에서, 본 발명의 항체는 서열 번호 4, 6 및 7의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 21, 22 및 23의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 89와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 서열, 그리고 서열 번호 88과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한

아미노산 서열을 포함하는 경쇄 서열을 포함하는 IgG4이다. 적합하게 본 발명의 단리 항체는 서열 번호 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 14와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 그리고 서열 번호 27과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열을 포함하는 IgG4이다. 더욱 구체적인 구현예에서, 본 발명의 항체는 서열 번호 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 89와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 서열, 그리고 서열 번호 88과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 서열을 포함하는 IgG4이다. 또 다른 구체적인 구현예에서, 본 발명의 단리 항체는 서열 번호 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 17과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 그리고 서열 번호 30과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열을 포함하는 IgG4이다.

[0227]

또다른 구체적인 구현예에서, 본 발명의 단리 항체는 다중 특이적 분자, 구체적으로 적어도 제2의 기능성 분자를 가지는 다중 특이적 분자, 예컨대 2중 특이적 분자, 3중 특이적 분자, 4중 특이적 분자, 5중 특이적 분자 또는 6중 특이적 분자이다.

[0228]

본원에 사용된 바와 같은 "다중 특이적 분자" 또는 "다중 특이적 항체"란 용어는, 적어도 2개 이상의 상이한 표적(예컨대 CD137, 및 CD137과 상이한 또다른 표적) 상에 존재하는 상이한 에피토프 2개 이상과 결합하거나, 또는 동일한 표적의 상이한 에피토프 2개 이상과 결합하는 항체를 지칭한다. "다중 특이적 분자"란 용어는 2중 특이적, 3중 특이적, 4중 특이적, 5중 특이적 및 6중 특이적 항체를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은 "2중 특이적 항체"란 용어는, 상이한 표적 2개에 존재하는 상이한 에피토프 2개 또는 동일 표적에 존재하는 상이한 에피토프 2개와 결합하는 항체를 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같은 "3중 특이적 항체"란 용어는, 상이한 표적 3개에 존재하는 상이한 에피토프 3개 또는 동일 표적에 존재하는 상이한 에피토프 3개와 결합하는 항체를 지칭한다.

[0229]

본 발명의 항체는 다른 기능성 분자, 예컨대 다른 펩티드 또는 단백질(예컨대 다른 항체 또는 수용체의 리간드)에 결합하거나 유도체화될 수 있어서, 적어도 2개의 결합 부위 및/또는 상이한 표적 분자와 결합하는 다중 특이적 분자로 생성될 수 있다. 본 발명의 항체는 사실상 1개를 초과하는 기타 기능성 분자와 결합 또는 유도체화될 수 있어서, 2개를 초과하는 상이한 결합 부위 및/또는 표적 분자와 결합하는 다중 특이적 분자로 생성될 수 있다. 본 발명의 다중 특이적 분자를 생성하기 위해 본 발명의 항체는 (예컨대 화학적 커플링(chemical coupling), 유전자 융합 또는 비공유 결합 등에 의해) 1개 이상의 기타 결합 분자, 예컨대 다른 항체, 항체 단편, 펩티드 또는 결합 모의체에 기능상 연결될 수 있고, 그 결과 다중 특이적 분자가 얻어진다.

[0230]

그러므로 본 발명은 적어도 1개의 CD137에 대한 제1 결합 특이성 및 제2의 표적 에피토프에 대한 제2 결합 특이성을 포함하는 다중 특이적 분자를 포함한다. 예를 들어 제2의 표적 에피토프는 CD137과 상이한 다른 표적 분자 상에 존재한다.

[0231]

2가 CD137 항체는 일반적으로 외인성 클러스터형성이 일어나지 않을 때 신호전달을 유도하는 능력이 약한 것으로 보였다. 이에 대해 예시하는 것으로서, 항 CD137 항체인 우토밀루맙은 항 인간 F(ab')2 2차 항체와 가교될 때 또는 조직 배양 플라스틱에 부동화될 때 단지 CD137 신호전달을 활성화할 수 있을 뿐이다(Fisher et al., *Cancer Immunol Immunother* 61:1721-1733 (2012)). TNFRSF의 또 다른 일원인, CD40에 대한 설치류 효현 항체(TNFRSF5)에 관한 연구는, 외인성 클러스터형성은 Fc γ -수용체와의 상호작용을 통해 부분적으로 탈성될 수 있음을 시사하였다(Li F, Ravetch JV, *Science* 333(6045):1030-10 (2011); White AL, et al., *J Immunol* 187(4):1754-1763 (2011)). 그러나 Fc γ -수용체와의 상호작용은 효과기 기작을 통해 CD137 발현 세포를 감소시킬 수 있다. 그러므로 현재 사용되고 있는 2가 항체로서, CD137을 표적화하는 2가 항체는 무효한 효현체이거나 CD137 양성 세포의 감소를 유도한다. 적합하게, 다중 특이적 항체의 제2 결합 특이성은 본 발명의 CD137 결합 항체의 추가적 가교를 제공할 수 있다. 그러므로 본 발명은 적어도 1개의 CD137에 대한 제1 결합 특이성 및 제2 표적 에피토프에 대한 제2 결합 특이성을 포함하는 다중 특이적 분자를 포함한다. 예를 들어 제2의 표적 에피토프는 제1 표적 에피토프와 상이한, CD137의 다른 에피토프이다. 다중 특이적 분자는 제1 및 제2 표적 에피토프

이외에도 제3의 결합 특이성을 추가로 포함할 수 있다.

- [0232] 추가의 구현예에서, 본 발명은 CD137 특이성에 대해 1가, 2가 또는 다가, 바람직하게는 1가인 다중 특이적 분자를 포함한다.
- [0233] 본 발명의 다른 구체적 구현예에서, 본 발명의 단리 항체는 CD137 특이성에 대해 1가이거나 또는 다가인 문자, 예컨대 2가, 3가, 4가, 5가, 6가인 문자이다.
- [0234] 본원에 사용된 바와 같은 "1가 문자" 또는 "1가 항체"란 용어는, 표적 문자, 예컨대 CD137에 존재하는 단일 에피토프와 결합하는 항체를 지칭한다.
- [0235] "다가 항체"란 용어는, 1가를 초과하는 가 수(valency)를 가지는 단일 결합 분자를 지칭하는데, 여기서 "가 수"는 동일한 표적 문자상 에피토프와 결합하는 항원 결합단의 수로서 기술된다. 그러므로 단일 결합 문자는 1개를 초과하는 표적 문자 또는 다수 개의 에피토프 복사체를 함유하는 표적 문자상 1개를 초과하는 결합 부위와 결합할 수 있다. 다가 항체의 예로서는 2가 항체, 3가 항체, 4가 항체 및 5가 항체 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본원에 사용된 바와 같은 "2가 항체"란 용어는, 각각 동일한 에피토프와 결합하는 항원 결합단을 2개 가지는 항체를 지칭한다.
- [0236] 적합하게, 본 발명의 단리 항체는 다중 특이적 문자, 예컨대 2중 특이적 문자, 및/또는 다가 문자, 예컨대 CD137 특이성에 대해 1가인 문자, CD137 특이성에 대해 2가인 문자인데, 이는 당 분야에 공지된 것으로서, 임의의 적합한 다중 특이적 포맷, 예컨대 2중 특이적 포맷으로부터 선택되는 항체 포맷, 예컨대 단일 사슬 다이아바디(scDb), 텐덤 scDb(Tandab), 선형 이량체 scDb(LD-scDb), 원형 이량체 scDb(CD-scDb), 2중 특이적 T 세포 점유체(Bispecific T-cell Engager; BiTE; 텐덤 디-scFv), 텐덤 트리-scFv, 트리바디(Fab-(scFv)2), 바이바디(Fab-(scFv)1), Fab, Fab-Fv2, Morrison(IgG CH₃-scFv 융합체(Morrison L) 또는 IgG CL-scFv 융합체(Morrison H)), 트리아바디, scDb-scFv, 2중 특이적 Fab2, 디-미니항체, 테트라바디, scFv-Fc-scFv 융합체, scFv-HSA-scFv 융합체, 디-다이아바디, DVD-Ig, COVD, IgG-scFab, scFab-dsscFv, Fv2-Fc, IgG-scFv 융합체, 예컨대 bsAb(경쇄의 C 말단에 결합된 scFv), Bs1Ab(경쇄의 N 말단에 결합된 scFv), Bs2Ab(중쇄의 N 말단에 결합된 scFv), Bs3Ab(중쇄의 C 말단에 결합된 scFv), Ts1Ab(경쇄와 중쇄 둘 다의 N 말단에 결합된 scFv), Ts2Ab(중쇄의 C 말단에 결합된 dsscFv), 헤테로이량체 Fc 도메인을 기반으로 하는 2중 특이적 항체, 예컨대 납-인투-홀(Knob-into-Hole) 항체(KiHs)(KiH 기법에 의해 제조된 2중 특이적 IgG); Fv, scFv, scDb, 텐덤 디-scFv, 텐덤 트리-scFv, Fab-(scFv)2, Fab-(scFv)1, Fab, Fab-Fv2, 헤테로이량체 Fc 도메인 또는 기타 임의의 헤테로이량체 도메인의 사슬 중 어느 하나의 N-말단 및/또는 C-말단에 융합된 COVD, MATCH(WO2016/0202457에 기술; Egan T., et al., mAbs 9 (2017) 68-84에 기술됨) 그리고 듀오바디(DuoBody)(듀오바디 기법에 의해 제조된 2중 특이적 IgG)(mAbs. 2017 Feb/Mar;9(2):182-212. doi: 10.1080/19420862.2016.1268307)를 기반으로 하는 포맷(이에 한정되는 것은 아님)이다.
- [0237] "다이아바디"란 용어는 항원 결합 부위를 2개 가지는 항체 단편을 지칭하는데, 이 단편은 동일 폴리펩티드 사슬 내 VL과 결합된 VH(VH-VL)를 포함한다. 지나치게 짧아서 동일 사슬상 도메인 2개 사이의 쌍 형성을 허용하지 않는 링커가 사용되면, 이들 도메인은 다른 사슬의 상보성 도메인과 강제로 쌍을 형성하게 되고, 이로써 2개의 항원 결합 부위가 생성된다. 구체적 구현예에서, 상기 폴리펩티드 링커는, 4개(4)의 글리신 아미노산 잔기 및 1개(1)의 세린 아미노산 잔기의 단위 1개 또는 2개를 포함한다[(GGGGS)_n로서, 단 n=1 또는 2, 바람직하게는 1임]. 다이아바디는 2가 또는 2중 특이적일 수 있다. 다이아바디는, 예컨대 문헌[EP404097, WO1993/01161, Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003), 및 Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)]에 더욱 자세히 기술되어 있다. 트리아바디 및 테트라바디도 또한 문헌[Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)]에 기술되어 있다.
- [0238] 2중 특이적 scDb, 구체적으로 2중 특이적 단량체 scDb는, 구체적으로 링커 L1, L2 및 L3에 의해 VHA-L1-VLB-L2-VHB-L3-VLA, VHA-L1-VHB-L2-VLB-L3-VLA, VLA-L1-VLB-L2-VHB-L3-VHA, VLA-L1-VHB-L2-VLB-L3-VHA, VHB-L1-VLA-L2-VHA-L3-VLB, VHB-L1-VHA-L2-VLA-L3-VLB, VLB-L1-VLA-L2-VHA-L3-VHB 또는 VLB-L1-VHA-L2-VLA-L3-VHB와 같은 순서로 결합되어 있는, 2개의 가변 중쇄 도메인(VH) 또는 이의 단편과, 2개의 가변 경쇄 도메인(VL) 또는 이의 단편을 포함하되, 단 상기 VLA 도메인 및 VHA 도메인은 함께 제1 항원에 대한 항원 결합 부위를 형성하고, 상기 VLB 및 VHB는 함께 제2 항원에 대한 항원 결합 부위를 형성한다.
- [0239] 링커 L1은, 구체적으로 2개 ~ 10개 아미노산, 더욱 구체적으로 3개 ~ 7개 아미노산, 그리고 가장 구체적으로 5개 아미노산으로 이루어진 펩티드이고, 링커 L3은 1개 ~ 10개 아미노산, 더욱 구체적으로 2개 ~ 7개 아미노산,

그리고 가장 구체적으로 5개 아미노산으로 이루어진 펩티드이다. 구체적 구현예에서, 링커 L1 및/또는 L3는 4개(4)의 글리신 아미노산 잔기 및 1개(1)의 세린 아미노산 잔기의 단위 1개 또는 2개를 포함한다[(GGGGS)_n [식 중, n=1 또는 2이고, 바람직하게 n=1임]].

[0240] 중간 링커인 L2는, 구체적으로 10개 ~ 40개 아미노산, 더욱 구체적으로 15개 ~ 30개 아미노산, 그리고 가장 구체적으로 20개 ~ 25개 아미노산으로 이루어진 펩티드이다. 구체적 구현예에서, 상기 링커 L2는 4개(4)의 글리신 아미노산 잔기 및 1개(1)의 세린 아미노산 잔기의 단위 1개 이상을 포함한다[(GGGGS)_n [식 중, n=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고, 바람직하게 n=4임]].

[0241] 본 발명의 일 구현예에서, 단리 항체는 scDb-scFv 포맷일 때 다중 특이적 및/또는 다가인 항체이다. "scDb-scFv"란 용어는, 단일 사슬 Fv(scFv) 단편이 가요성 Gly-Ser 링커에 의해 단일 사슬 다이아바디(scDb)에 융합된 항체 포맷을 지칭한다. 일 구현예에서, 상기 가요성 Gly-Ser 링커는 2개 ~ 40개의 아미노산, 예컨대 2개 ~ 35개, 2개 ~ 30개, 2개 ~ 25개, 2개 ~ 20개, 2개 ~ 15개, 2개 ~ 10개의 아미노산, 구체적으로 10개의 아미노산으로 이루어진 펩티드이다. 구체적 구현예에서, 상기 링커는 4개(4)의 글리신 아미노산 잔기 및 1개(1)의 세린 아미노산 잔기의 단위를 1개 이상 포함한다[(GGGGS)_n [식 중, n=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고, 바람직하게 n=2임]].

[0242] 본 발명의 일 구현예에서, 단리 항체는 문헌[WO2016/0202457; Egan T., et al., mAbs 9 (2017) 68-84]에 기술된 MATCH 포맷의 다중 특이적 및/또는 다가 항체이다.

[0243] 본 발명의 다중 특이적 및/또는 다가 분자는 당 분야에 공지된 임의의 편리한 항체 제조 방법을 사용하여 제조될 수 있다[예컨대 2중 특이적 구조체의 제조에 관한 문헌(Fischer, N. & Leger, O., Pathobiology 74 (2007) 3-14); 2중 특이적 다이아바디 및 텐덤 scFv에 관한 문헌(Hornig, N. & Farber-Schwarz, A., Methods Mol. Biol. 907 (2012) 713-727, 및 WO 99/57150) 참조]. 본 발명의 2중 특이적 구조체를 제조하는데 적합한 방법의 구체 예로서는, 여타의 것들 중 Genmab 기법(Labrijn et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 110 (2013) 5145-5150 참조) 및 Merus 기법(de Kruif et al., Biotechnol. Bioeng. 106 (2010) 741-750 참조)을 추가로 포함한다. 기능성 항체 Fc 부분을 포함하는 2중 특이적 항체를 제조하기 위한 방법도 또한 당 분야에 공지되어 있다[예컨대 문헌(Zhu et al., Cancer Lett. 86 (1994) 127-134; 및 Suresh et al., Methods Enzymol. 121 (1986) 210-228) 참조].

[0244] 본 발명의 다중 특이적 분자 및 다가 분자에 사용될 수 있는 기타 항체는 마우스, 키메라 및 인간화 모노클로날 항체이다.

[0245] 본 발명의 다중 특이적 분자는 당 분야에 공지된 방법을 이용하여 구성 결합 특이성을 접합함으로써 제조될 수 있다. 예를 들어 2중 특이적 분자의 각각의 결합 특이성을 별도로 생성된 다음, 서로 접합될 수 있다. 결합 특이성이 단백질 또는 펩티드일 때, 다양한 커플링제 또는 가교제가 공유 접합을 위해 사용될 수 있다. 가교제의 예로서는 단백질 A, 카보디이미드, N-숙신이미딜-5-아세틸-티오아세트산염(SATA), 5,5'-디티오비스(2-니트로벤조산)(DNTB), o-페닐렌말레이이미드(oPDM), N-숙신이미딜-3-(2-파리딜디티오)프로피온산염(SPDP) 및 설포숙신이미딜 4-(N-말레이이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실산염(설포-SMCC)을 포함한다[예를 들어 문헌(Karpovsky et al., 1984 J. Exp. Med. 160: 1686; Liu, M A et al., 1985 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648)을 참조한다]. 기타 방법으로서는 문헌[Paulus, 1985 Behring Ins. Mitt. No. 78, 118-132; Brennan et al., 1985 Science 229:81-83] 및 문헌[Glennie et al., 1987 J. Immunol. 139: 2367-2375]에 기술된 방법을 포함한다. 접합제는 SATA 및 설포-SMCC인데, 이것들 둘 다는 Pierce Chemical Co.(Rockford, Ill.)로부터 입수 가능하다.

[0246] 결합 특이성이 항체일 때, 이는 중쇄 2개의 C-말단 경첩 영역의 설프히드릴 결합에 의해 접합될 수 있다. 구체적 구현예에서, 경첩 영역은 접합 전 흘수 개(예컨대 1개)의 설프히드릴 잔기를 함유하도록 변형된다.

[0247] 대안적으로 2개 이상의 결합 특이성은 동일 벡터에서 암호화되어, 동일 숙주 세포에서 발현 및 조립될 수 있다. 이 방법은 2중 특이적 분자가 mAb X mAb, mAb X Fab, Fab X F(ab')2 또는 리간드 X Fab 융합 단백질일 때 특히 유용하다. 본 발명의 다중 특이적 분자는 1개의 단일 사슬 항체 및 결합 결정기를 포함하는 단일 사슬 분자, 또는 결합 결정기 2개를 포함하는 단일 사슬 다중 특이적 분자일 수 있다. 다중 특이적 분자는 단일 사슬 분자 적어도 2개를 포함할 수 있다. 다중 특이적 분자를 제조하기 위한 방법은, 예를 들어 미국 특허 제5,260,203호; 미국 특허 제5,455,030호; 미국 특허 제4,881,175호; 미국 특허 제5,132,405호; 미국 특허 제5,091,513호; 미국 특허 제5,476,786호; 미국 특허 제5,013,653호; 미국 특허 제5,258,498호; 및 미국 특허 제5,482,858호에

기술되어 있다.

- [0248] 2종 특이적 분자와 이의 특이적 표적의 결합은, 예를 들어 효소결합면역흡착검정(ELISA), 방사성면역검정(REA), FACS 분석, 바이오검정(예컨대 생장 억제) 또는 웨스턴블럿검정(Western Blot assay)에 의해 확인될 수 있다. 이 검정들 각각은, 일반적으로 관심 복합체에 특이적인 표지화된 시약(예컨대 항체)를 사용하여 특히 관심있는 단백질-항체 복합체의 준부를 확인한다.
- [0249] 추가의 양태에서, 본 발명은 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산을 제공한다. 본 발명은 또한 CD137 단백질에 특이적으로 결합하는 항체의 CDR, VH, VL, 전장 중쇄 및 전장 경쇄를 암호화하는 핵산 서열을 제공한다. 이러한 핵산 서열은 포유류 세포에서의 발현에 대해 최적화될 수 있다.
- [0250] "핵산"이란 용어는 본원에서 "폴리뉴클레오티드(들)"란 용어와 호환되어 사용되고 있으며, 1개 이상의 데옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드와 이것들의 중합체(단일 가닥 형태 또는 이중 가닥 형태)를 지칭한다. 이 용어는 공지의 뉴클레오티드 유사체 또는 변형된 백본(backbone) 잔기 또는 결합을 함유하는 핵산을 포함하는데, 이것들은 합성, 자연발생 및 비 자연발생되는 것이고, 기준 핵산의 결합 특성과 유사한 결합 특성을 가지며, 기준 뉴클레오티드의 대사 방식과 유사한 방식으로 대사된다. 이러한 유사체의 예들로서는 포스포로티오에이트, 포스포라미데이트, 메틸 포스포네이트, 키랄-메틸 포스포레이트, 2-0-메틸 리보뉴클레오티드, 웨პ티드-핵산(PNA)을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 달리 명시되지 않는 한, 특정의 핵산 서열은 또한 암목적으로(예컨대 축퇴성 코돈 치환으로 인한) 자체의 보존적 변형 변이체와 상보성 서열을 포함할뿐만 아니라, 명백하게 명시된 서열을 포함하기도 한다. 특히 이하에 기술된 바와 같이, 축퇴성 코돈 치환은 1개 이상의 선택 코돈(또는 모든 코돈)의 세 번째 위치가 혼합 염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환된 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다(Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081, 1991; Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608, 1985; 및 Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98, 1994).
- [0251] 본 발명은 전술된 CD137 결합 항체 사슬의 분절 또는 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는, 실질적으로 정제된 핵산 분자를 제공한다. 핵산이 적당한 발현 벡터로부터 발현될 때, 이 핵산 분자에 의해 암호화된 폴리펩티드는 CD137 항원 결합 능을 보일 수 있다.
- [0252] 본 발명에서는 또한 표 1에 제시된 CD137 결합 항체의 중쇄 또는 경쇄로부터 유래하는 CDR 영역 적어도 1개, 보통은 CDR 영역 3개 모두를 암호화하는 폴리뉴클레오티드도 제공된다. 기타 폴리뉴클레오티드 몇몇은 표 1에 제시된 CD137 결합 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 영역 서열 모두 또는 실질적으로 모두를 암호화한다. 암호의 축퇴성으로 말미암아, 다양한 핵산 서열은 면역글로불린 아미노산 서열 각각을 암호화할 것이다.
- [0253] 폴리뉴클레오티드 서열은 CD137 결합 항체 또는 이의 결합 단편을 암호화하는 기준 서열(예컨대 이하 실시예에 기술된 서열)의 신규 고체상 DNA 합성 또는 PCR 돌연변이유발에 의해 제조될 수 있다. 핵산의 직접적인 화학 합성은 당 분야에 공지된 방법, 예컨대 문헌[Narang et al., 1979, Meth. Enzymol.68:90]의 포스포트리에스테르 방법; 문헌[Brown et al., Meth. Enzymol.68: 109, 1979]의 포스포디에스테르 방법; 문헌[Beaucage et al., Tetra.Lett., 22: 1859, 1981]의 디에틸포스포라미데이트 방법; 및 미국 특허 제4,458,066호의 고체 지지체 방법에 의해 달성될 수 있다. PCR에 의해 폴리뉴클레오티드 서열에 돌연변이를 도입하는 것은, 예컨대 문헌[PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification, H. A. Erlich (Ed.), Freeman Press, NY, N.Y., 1992; PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Innis et al. (Ed.), Academic Press, San Diego, Calif, 1990; Mattila et al., Nucleic Acids Res. 19:967, 1991; 및 Eckert et al., PCR Methods and Applications 1:17, 1991]에 기술된 바와 같이 수행될 수 있다.
- [0254] 본 발명에서는 또한 전술된 CD137 결합 항체를 제조하기 위한 발현 벡터 및 숙주 세포도 제공된다.
- [0255] "벡터"란 용어는, 결합된 다른 폴리뉴클레오티드를 운반할 수 있는 폴리뉴클레오티드 분자를 지칭하도록 의도된다. 벡터의 한 가지 유형으로서는 "플라스미드"가 있는데, 이는 내부에 추가의 DNA 분절이 결찰될 수 있는 환형 이중 가닥 DNA 루프라고 지칭된다. 벡터의 또 다른 유형으로서는 추가의 DNA 분절이 바이러스 게놈 안에 들어가 결찰될 수 있는 바이러스 벡터가 있다. 임의의 벡터는 이 벡터가 도입되는 숙주 세포내에서 자율 복제가 가능하다(예컨대 세균 복제 기원을 가지는 세균 벡터 및 에피좀 포유류 벡터). 기타 벡터(예컨대 비 에피좀 포유류 벡터)가 숙주 세포에 도입될 때, 이 벡터는 숙주 세포 게놈에 통합될 수 있으며, 이로써 숙주 게놈과 함께 복제된다.
- [0256] 게다가 임의의 벡터는 작동 가능하도록 결합된 유전자들의 발현을 유도할 수 있다. 이러한 벡터는 본원에서 "재조합 발현 벡터"(또는 간단하게 "발현 벡터")라 지칭된다. 일반적으로 재조합 DNA 기술에 사용되는 발현 벡터는

종종 플라스미드의 형태를 가진다. 본 명세서에 있어서, "플라스미드"와 "벡터"는 호환되어 사용될 수 있는데, 그 이유는 플라스미드가 가장 일반적으로 사용되는 벡터의 형태이기 때문이다. 그러나 본 발명은 이처럼 동일한 기능을 보이는 다른 형태의 발현 벡터, 예컨대 바이러스 벡터(예컨대 복제 결합 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노 연관 바이러스)를 포함하도록 의도된다.

[0257] "작동 가능하도록 결합된"이란 용어는, 2개 이상의 폴리뉴클레오티드(예컨대 DNA) 분절간 기능상 관계를 지칭한다. 통상적으로 이는, 전사된 서열에 대한 전사 조절 서열의 기능상 관계를 지칭한다. 예를 들어 프로모터 또는 인핸서 서열은, 만일 이것이 적당한 숙주 세포 또는 기타 발현계에 있는 암호화 서열의 전사를 자극하거나 조정한다면, 암호화 서열과 작동 가능하도록 결합되어 있는 것이다. 일반적으로 전사된 서열과 작동 가능하도록 결합되어 있는 프로모터 전사 조절 서열은 전사된 서열에 대해 물리적으로 연속적인데, 즉 이 프로모터 전사 조절 서열은 시스 작동성(cis-acting)이다. 그러나 몇몇 전사 조절 서열, 예컨대 인핸서는, 이것의 전사 향상 대상인 암호화 서열에 물리적으로 연속적이어야 한다거나, 가까이에 위치하여야 한다거나 할 필요가 없다.

[0258] CD137 결합 항체 사슬 또는 결합 단편을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 발현시키기 위해서는 다양한 발현 벡터가 사용될 수 있다. 바이러스 기반 발현 벡터 및 비 바이러스 발현 벡터 둘 다가 포유류 숙주 세포 내에서 항체를 생산하는데 사용될 수 있다. 비 바이러스 벡터 및 계로서는 통상 단백질 또는 RNA를 발현시키기 위한 발현 카세트를 가지는 플라스미드, 에피좀 벡터, 그리고 인간 인공 염색체를 포함한다(예컨대 문헌(Harrington et al., Nat Genet. 15:345, 1997)을 참조한다). 예를 들어 포유류(예컨대 인간) 세포에서 CD137 결합 폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드의 발현에 유용한 비 바이러스 벡터로서는 pThioHis A, B 및 C, pcDNA3.1/His, pEBVHis A, B 및 C(Invitrogen, San Diego, Calif.), MPS V 벡터와, 기타 단백질을 발현시키기 위한 것으로서 당 분야에 공지된 다수의 기타 벡터를 포함한다. 유용한 바이러스 벡터로서는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노 연관 바이러스, 헤르페스 바이러스를 기반으로 한 벡터, SV40, 인간유두종바이러스, HBP 앱스타인 바 바이러스를 기반으로 한 벡터, 백시니아 바이러스 벡터 및 셈리키 포레스트 바이러스(Semliki Forest virus; SFV)를 포함한다. 문헌[Brent et al., supra; Smith, Annu. Rev. Microbiol. 49:807, 1995; 및 Rosenfeld et al., Cell 68: 143, 1992]을 참조한다.

[0259] 발현 벡터의 선택은, 벡터가 발현되도록 의도된 숙주 세포에 의존적이다. 통상적으로 발현 벡터는 CD137 결합 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드에 작동 가능하도록 결합된 프로모터와 기타 조절 서열(예컨대 인핸서)을 함유한다. 일 구현예에서, 유도성 프로모터는, 유도 조건하에 있을 때를 제외하고, 삽입된 서열의 발현을 막기 위해 사용된다. 유도성 프로모터로서는, 예컨대 아라비노스, lacZ, 메탈로티오네인 프로모터 또는 열 충격 프로모터를 포함한다. 형질전환된 유기체의 배양액은, 발현 생성물이 숙주 세포에 의해 더 잘 관용되는 암호화 서열 군집의 편향(biasing) 없이 비유도성 조건하에서 증폭될 수 있다. 프로모터에 더하여 기타 조절 요소들도 또한 CD137 결합 항체의 효율적인 발현에 필요할 수 있거나, 요망될 수 있다. 이러한 요소는 통상 ATG 개시 코돈 및 인접 리보좀 결합 부위 또는 기타 서열을 포함한다. 뿐만 아니라 발현 효율은 세포계에서 사용되기 적당한 인핸서를 포함시킴으로써 향상될 수 있다[예를 들어 문헌(Scharf et al., Results Probl. Cell Differ. 20: 125, 1994; 및 Bittner et al., Meth. Enzymol. 153:516, 1987)을 참조한다]. 예를 들어 SV40 인핸서 또는 CMV 인핸서는 포유류 숙주 세포 내에서 발현을 증가시키는데 사용될 수 있다.

[0260] 발현 벡터는 또한 분비 신호 서열 위치를 제공하여, 삽입된 CD137 결합 항체 서열에 의해 암호화되는 폴리펩티드를 가지는 융합 단백질을 생성할 수도 있다. 더 빈번하게, 삽입된 CD137 결합 항체 서열은 벡터에 포함되기 전 신호 서열에 결합된다. CD137 결합 항체 경쇄 및 중쇄 가변 도메인을 암호화하는 서열을 수용하는데 사용될 벡터는 또한 종종 불변 영역 또는 이의 일부를 암호화하기도 한다. 이러한 벡터는 가변 영역이 불변 영역을 가지는 융합 단백질로서 발현되는 것을 허용하고, 이를 통하여 비변형 항체 및 이의 항원 결합 단편의 생성이 유도된다. 통상적으로 이러한 불변 영역은 인간의 것이다.

[0261] "재조합 숙주 세포"(또는 간단히 "숙주 세포")란 용어는, 내부에 재조합 발현 벡터가 도입된 세포를 지칭한다. 이러한 용어는 특정의 대상 세포뿐만 아니라, 이러한 세포의 자손까지라도 지칭하도록 의도됨이 이해되어야 할 것이다. 돌연변이 또는 환경의 영향 중 어느 하나로 말미암은 임의의 변형은 후세대에서 일어날 수 있으므로, 이러한 후손은 실상 모 세포와 동일할 수는 없지만, 본원에 사용된 바와 같은 "숙주 세포"란 용어의 범위 안에는 여전히 포함된다.

[0262] CD137 결합 항체 사슬을 보유하면서 이를 발현하기 위한 숙주 세포는 원핵생물 또는 진핵생물 중 어느 하나일 수 있다. 이.콜라이(*E. coli*)는 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 클로닝과 발현에 유용한 원핵생물 숙주 중 하나이다. 사용하기 적합한 기타 미생물 숙주로서는 간균류, 예컨대 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*) 및 기

타 장내세균, 예컨대 살모넬라(*Salmonella*), 세라티아(*Serratia*) 및 다양한 슈도모나스(*Pseudomonas*) 종을 포함한다. 이러한 원핵생물 숙주에 있어, 통상 숙주 세포와 양립 가능한 발현 제어 서열(예컨대 복제 기원)을 함유하는 발현 벡터가 제조될 수도 있다. 더욱이 널리 공지된 다수의 프로모터, 예컨대 락토스 프로모터계, 트립토판(*trp*) 프로모터계, 베타-락타마아제 프로모터계 또는 파아지 람다로부터 유래하는 프로모터계 임의의 수만큼이 존재할 것이다. 프로모터는 통상 선택적으로 작동인자 서열과 함께 발현을 제어하고, 전사와 번역을 개시 및 종결하기 위해 리보솜 결합 부위 서열 등을 가진다. 본 발명의 CD137 결합 폴리펩티드를 발현시키기 위해 기타 미생물, 예컨대 효모도 또한 사용될 수 있다. 바콜로바이러스 벡터와 함께 곤충 세포도 또한 사용될 수 있다.

[0263] 일 구현예에서, 본 발명의 CD137 결합 폴리펩티드를 발현 및 생산하는데 포유류 숙주 세포가 사용된다. 예를 들어 이 포유류 숙주 세포는 내인성 면역글로불린 유전자를 발현하는 하이브리도마 세포주 또는 외인성 발현 벡터를 보유하는 포유류 세포주 중 어느 하나일 수 있다. 이 포유류 숙주 세포는 임의의 정상 유한증식성 동물 세포 또는 인간 세포, 또는 정상이거나 비정상인 무한증식성 동물 세포 또는 인간 세포를 포함한다. 예를 들어 비변형 면역글로불린을 분비할 수 있는 숙주 세포주로서 적합한 것 다수(예컨대 CHO 세포주, 다양한 Cos 세포주, HeLa 세포, 골수종 세포주, 형질전환된 B 세포 및 하이브리도마)가 개발되었다. 폴리펩티드를 발현시키기 위해 포유류 조직 세포 배양액을 사용하는 것은, 일반적으로 문헌, 예컨대 문헌[*Winnacker, FROM GENES TO CLONES, VCH Publishers, N.Y., N.Y., 1987*]에 논의되어 있다. 포유류 숙주 세포용 발현 벡터는 발현 제어 서열, 예컨대 복제 기원, 프로모터 및 인핸서[예를 들어 문헌(*Queen, et al., Immunol. Rev. 89:49-68, 1986* 참조)], 그리고 필요한 가공 정보 부위, 예컨대 리보솜 결합 부위, RNA 스플라이싱 부위, 폴리아데닐화 부위, 그리고 전사 종결인자 서열을 포함할 수 있다. 이러한 발현 벡터는, 보통 포유류 유전자 또는 포유류 바이러스로부터 유래한 프로모터를 함유한다. 적합한 프로모터는 구성적, 세포 유형 특이적, 단계 특이적 및/또는 변조 가능한 것이거나, 조절 가능한 것일 수 있다. 유용한 프로모터로서는, 메탈로티오네인 프로모터, 구성적 아데노바이러스 주요 후기 프로모터(major late promoter), 텍사메타손 유도성 MMTV 프로모터, SV40 프로모터, MRP polIII 프로모터, 구성적 MPS V 프로모터, 테트라사이클린 유도성 CMV 프로모터(예컨대 인간 즉시 초기(immediate-early) CMV 프로모터), 구성적 CMV 프로모터, 그리고 당 분야에 공지된 프로모터-인핸서 조합을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0264] 관심 폴리뉴클레오티드 서열을 함유하는 발현 벡터를 도입하기 위한 방법은 세포성 숙주의 유형에 따라서 달라진다. 예를 들어 염화칼슘 형질감염은 보통 원핵생물 세포에 사용되는 반면, 인산칼슘 처리 또는 전기천공법은 기타 세포성 숙주에 사용될 수 있다, [일반적으로 문헌(*Sambrook, et al. 상동*)을 참조한다]. 기타 방법으로서는, 예컨대 전기천공법, 인산칼슘 처리, 리포좀 매개 형질전환법, 주입법 및 미세주입법, 탄도 방법(ballistic method), 바이로좀(virosome), 면역리포좀, 다가 양이온:핵산 접합체, 나출 DNA, 인공 비리온, 헤르페스 바이러스 구조 단백질 VP22에의 융합(*Elliot & O'Hare, Cell 88:223, 1997*), 제제에 의해 향상되는 DNA의 흡수, 그리고 생체외 형질도입을 포함한다. 재조합 단백질의 장기 고수율 생산을 위해, 안정적인 발현이 종종 요망될 것이다. 예를 들어 CD137 결합 항체 사슬 또는 결합 단편을 안정적으로 발현하는 세포주는 바이러스 복제 기원 또는 내인성 발현 요소 및 선택 마커 유전자를 함유하는 본 발명의 발현 벡터를 사용하여 제조될 수 있다. 벡터 도입 후 세포는 선택적 배지에 대해 스위칭(switching)되기 전, 농축 배지 중에서 1일 ~ 2일 동안 생장하도록 허용될 수 있다. 선택 마커의 목적은 선택에 대한 내성을 부여하는 것으로서, 이 마커의 존재는 도입된 서열을 선택 배지에서 성공적으로 발현하는 세포의 생장을 허용한다. 내성으로서, 안정적으로 형질감염된 세포는 세포 유형에 적당한 조직 배양 기술을 이용하여 증식될 수 있다. 그러므로 본 발명은 본 발명의 항체를 제조하는 방법을 제공하는데, 이 경우 상기 방법은 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산 또는 벡터를 포함, 구체적으로 발현하는 숙주 세포를 배양함으로써, 상기 본 발명의 항체 또는 이의 단편이 발현되도록 만드는 단계를 포함한다.

[0265] 추가의 양태에서, 본 발명은 본 발명의 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 조성물을 향상 또는 안정화하거나, 조성물의 제조를 가속화한다. 약학적으로 허용 가능한 담체로서는 생리적으로 양립 가능한 용매, 분산 매질, 코팅, 항균제 및 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제 등을 포함한다.

[0266] 본 발명의 약학 조성물은 당 분야에 공지된 다양한 방법에 의해 투여될 수 있다. 투여 경로 및/또는 방식은 원하는 결과에 따라서 달라진다. 투여는 정맥내, 근육내, 복막내 또는 피하 투여될 수 있거나, 표적 부위에 가까운 부위에서 투여가 이루어질 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 (예컨대 주사 또는 주입에 의한) 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 척추 또는 표피 투여에 적합하여야 할 것이다. 투여 경로에 따라서, 활성 화합물, 즉 항체 및 다중특이적 분자가 재료에 코팅될 수 있고, 이로써 화합물을 비활성화할 수 있는

산의 작용 및 기타 자연 조건으로부터 보호될 수 있다.

[0267] 본 발명의 약학 조성물은 널리 공지되어 있고, 당 분야에서 일상적으로 행하여지는 방법에 따라 제조될 수 있다. 예컨대 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Mack Publishing Co., 20th ed., 2000; 및 Sustained 및 Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978]을 참조한다. 약학 조성물은, 바람직하게 GMP 조건 하에서 제조될 수 있다. 통상적으로 CD137 결합 항체 치료적 유효 용량 또는 유효 용량만큼이 본 발명의 약학 조성물에 사용된다. CD137 결합 항체는 당 업자들에게 공지된 종래의 방법에 의해 약학적으로 허용 가능한 투여형으로 제제화된다. 투여 계획은 최적의 원하던 반응(예컨대 치료 반응)이 제공되도록 조정된다. 예를 들어 단일 볼루스 투여가 수행될 수 있거나, 수회 분할 용량만큼이 경시적으로 투여될 수 있으며, 용량은 치료 상황의 응급도에 의해 의해 알려지는 바와 비례하여 감소 또는 증가할 수 있다. 투여의 용이함과 투여량의 균일성을 도모하기 위해 비경구 조성물을 투여 단위형으로 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본원에 사용된 바와 같은 투여 단위형이란, 치료될 대상체에 맞춘, 단위 투여형과 같이 물리적으로 별개인 단위들을 지칭하는데; 이 경우 각각의 단위에는 원하던 치료 효과가 발휘되도록 산정된 소정량만큼의 활성 화합물이, 필요한 약학 담체와 함께 담겨있다.

[0268] 본 발명의 약학 조성물 중 활성 성분의 실제 투여량 수준은, 환자에게 독성을 미치지 않고, 특정 환자, 조성물 및 투여 방식에 대해 원하는 치료 반응을 달성하는데 유효한 활성 성분 양만큼을 수득하기 위해 변경될 수 있다. 선택된 투여량 수준은 다양한 약동학적 인자, 예컨대 본 발명에서 사용된 특정 조성물, 또는 이의 에스테르, 염 또는 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정 화합물의 배출 속도, 치료 기간, 사용된 특정 조성물과 함께 사용되는 기타 약물, 화합물 및/또는 재료, 치료중인 환자의 나이, 성별, 체중, 상태, 전반적인 건강상태 및 지금까지의 병력, 그리고 이와 유사한 인자들에 의존적이다.

[0269] 항체는 보통 다수의 때에 투여된다. 단일 투여간 간격은 1주일, 1개월 또는 1년일 수 있다. 간격은 또한 환자에 있어 CD137 결합 항체의 혈중 수준을 측정함으로써 알려지는 바와 같이 불규칙적일 수도 있다. 대안적으로 항체는 투여 횟수가 감소되어야 하는 경우 지연 방출 제제로서 투여될 수 있다. 투여량과 투여횟수는 환자에 있어 항체의 반감기에 따라 달라진다. 일반적으로 인간화된 항체는 키메라 항체 및 비 인간 항체의 반감기보다 더 긴 반감기를 보인다. 투여량과 투여 횟수는 치료가 예방적인 것인지 또는 치료적인 것인지에 따라서 달라질 수 있다. 예방적 적용의 경우, 비교적 적은 투여량이 비교적 빈번하지 않은 간격을 두고 오랜 기간에 걸쳐 투여된다. 일부 환자들은 자신의 납은 생애 동안 계속해서 치료를 받기도 한다. 치료적 적용의 경우, 비교적 많은 투여량이 비교적 짧은 간격을 두고 투여되는데, 이는 종종 질환의 진행이 느려지거나 종결될 때까지 이루어져야 하고, 바람직하게는 환자가 부분적으로나 완전하게 경감된 질환의 증상을 보일 때까지 이루어져야 한다. 그 다음, 환자는 예방적 계획에 따라 치료될 수 있다.

[0270] 일 양태에서, 본 발명은 본원에 정의된 바와 같이 본 발명의 항 CD137과, 1가지 이상의 추가 치료제, 예컨대 1가지 이상의 항암제, 세포독성 또는 세포증식억제성 제제, 호르몬 치료제, 백신 및/또는 기타 면역요법제를 포함하는 약학 조합(pharmaceutical combination)을 제공한다. 적합하게 본 발명의 항 CD137 항체는 PD-1, PDL1, PDL2, CTLA-4, TIM-3, LAG-3, CEACAM(예컨대 CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, TGFR 베타, 그리고IDO(인돌아민-2,3 디옥시게나아제)로부터 선택되는 억제성 분자(또는 면역 관문 분자)의 억제제와 함께 사용될 수 있다. 억제성 분자의 억제는 DNA, RNA 또는 단백질 수준에서의 억제에 의해 수행될 수 있다.

[0271] 놀랍게도, 본 발명의 항 CD137 항체는 PDL1 억제제와 함께 사용될 때 강력하고 유리한 상승 상호작용과 개선된 항증식 활성을 보임이 확인되었다. 따라서 본 발명은 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항 CD137 항체와 PDL1 억제제를 포함하는 약학 조합으로서, 구체적으로 증식성 질환의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 약학 조합을 제공한다. 본 발명은 또한 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항 CD137 항체와 PDL1 억제제를 포함하는 약학 조합으로서, 구체적으로 증식성 질환의 치료 또는 예방에서 동시에, 별도로, 또는 순차적으로 사용하기 위한 약학 조합에 관한 것이다.

[0272] "조합" 또는 "약학 조합"이란 용어는, 조합 투여를 위한 성분들로 이루어진 키트, 비 고정 조합(non-fixed combination) 또는 하나의 투여 단위형인 고정 조합(fixed combination) 중 하나를 지칭하는 것으로서 본원에 정의되어 있는데, 단 이 경우 치료제, 예컨대 본 발명의 항 CD137 항체와 PDL1 억제제는 함께 투여될 수 있거나, 동시에 되 독립적으로 투여될 수 있거나, 아니면 조합 파트너들이 협동적 효과, 예컨대 상승 효과를 보이는 것을 허용하는 시간 간격을 두고 별도로 투여될 수 있다.

[0273] "고정 조합"이란 용어는, 치료제, 예컨대 본 발명의 항 CD137 항체와 PDL1 억제제가 단일 실체 또는 투여형의

형태로 환자에 동시에 투여되는 경우를 의미한다.

[0274] "비 고정 조합"이란 용어는, 치료제, 예컨대 본 발명의 항 CD137 항체와 PDL1 억제제가 별도의 실체 또는 투여형으로서 특정의 시간적 제약을 두지 않고 동시에, 겹하여, 또는 순차적으로 환자에 투여되는 경우를 의미하는데, 단 이와 같은 투여는 치료적 유효 수준을 제공받을 필요가 있는 대상체, 예컨대 포유류 또는 인간의 체내에서 2가지 치료제의 치료적 유효 수준을 제공한다.

[0275] "PDL1"이란 용어는, 구체적으로 UniProt ID 번호 Q9NZQ7인 인간 PDL1을 지칭한다.

[0276] "차단제" 또는 "억제제" 또는 "길항제"란 용어는, 이것이 결합하는 표적 분자의 생물 활성을 억제 또는 감소시키는 제제를 지칭한다. 몇몇 구현예에서, 억제제는 표적 분자의 생물 활성을 실질적으로나 완전히 억제한다. 적합한 PDL1 억제제는 PDL1의 이의 결합 파트너와의 결합능을 표적화, 감소 및 억제함으로써, PDL1 기능을 방해한다. 구체적으로 적합한 PDL1 억제제는 PDL1과 PD-1의 상호작용을 차단한다. 몇몇 구현예에서, 적합한 PDL1 억제제는 PDL1과, PD-1 및 B7-1의 상호작용을 차단한다. 적합하게 본 발명의 약학 조합에 사용된 적합한 PDL1 억제제는 항 PDL1 항체이다.

[0277] 본원에 사용된 바와 같은 "상승 효과"란 용어는, 2가지 치료제, 예컨대 (a) 본 발명의 항 CD137 항체와 (b) PDL1 억제제의 작용으로서, 이것들 각각의 치료제가 투여될 때 발휘되는 효과들을 단순히 합하였을 때보다 더 큰 효과, 예컨대 증식성 질환, 구체적으로 암의 유증상 진행 또는 이의 증상의 지연과 같은 효과를 발휘할 때의 작용을 지칭한다. 상승 효과는, 예를 들어 Sigmoid-Emax 등식(Holford, N. H. G. and Scheiner, L. B., Clin. Pharmacokinet. 6: 429-453 (1981)), Loewe 합 공식(Loewe, S. and Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114: 313-326 (1926)) 및 중앙값-효과 등식(Chou, T. C. and Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55 (1984))과 같은 적합한 방법을 이용하여 산정될 수 있다. 상기 언급된 각각의 등식은, 약물 조합의 효과를 평가하는 것을 돋는 대응 그래프를 얻기 위해 실험 데이터에 적용될 수 있다. 상기 언급된 등식들과 연관된 대응 그래프로서는 농도-효과 곡선, 이소볼로그램(isobogram) 곡선 및 조합 지수 곡선(combination index curve) 각각이 있다. 상승작용은 당 업자에게 공지된 방법에 따른 조합의 상승작용 점수를 산정함으로써 추가로 보일 수 있다.

[0278] 본원에 사용된 바와 같은 "조합 투여"란 용어는, 선택된 치료제의 단일 환자에의 투여를 포함하도록 정의되고, 이는 치료제들이 반드시 동일한 시간에 동일한 경로로 투여될 필요는 없는 치료 계획을 포함하도록 의도된다.

[0279] "조합 제조물(combined preparation)"이란 용어는, 상기 정의된 바와 같이 치료제 (a) 및 (b)가 독립적으로 투여될 수 있거나, 또는 상이한 고정 조합을 이용하여 투여될 수 있되, 단 치료제 (a) 및 (b)가 동시 또는 상이한 시점에 투여되는 양이 구별된다는 의미에서, 특히 "성분(part)들로 이루어진 키트"를 지칭하도록 본원에 정의된다. 그 다음, 성분들로 이루어진 키트의 성분들은, 성분들로 이루어진 키트의 임의의 성분에 대해, 예컨대 동시 또는 연대기적으로 시차를 두고(즉 상이한 시점에, 그리고 동일하거나 상이한 시간 간격으로) 투여될 수 있다. 조합 제조물로서 투여될 치료제 (a)의 총량 대 치료제 (b)의 총량의 비는, 예컨대 치료될 환자 소집단의 필요 또는 단일 환자의 필요에 대처하도록 가변적일 수 있다.

[0280] 본원에 사용된 바와 같은 "연합적으로 치료 활성인" 또는 "연합 치료 효과"란 용어는, 치료제들이 온혈 동물, 특히 인간에서 치치될 때 선호되는 시간 간격에 따라 (연대기적으로 시차를 두는 방식, 특히 순서 특이적 방식으로) 치료제들이 별도로 제공될 수 있으며, 이 경우 유리한(바람직하게는 상승적) 상호작용(연합 치료 효과)을 여전히 보임을 의미한다. 그러한 경우에 해당하는지 여부는 여타의 것들 중에서 적어도 임의의 시간 간격 동안에 처치될 인간의 혈액 중에 치료제 둘다가 존재하는지를 보여주는, 혈액 중 수준을 추적함으로써 확정될 수 있다.

[0281] 본 발명의 약학 조합은, 구체적으로 증식성 질환의 치료 또는 예방에 사용할 항체로서, 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항 CD137 항체를 포함한다. 바람직한 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 본 발명의 항체를 포함하는데, 상기 항체는 서열 번호 4, 6 및 7의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 21, 22 및 23의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 14와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 그리고 서열 번호 27과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열을 포함하는 IgG4이다. 더욱 구체적인 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 본 발명의 항체를 포함하는데, 상기 항체는 서열 번호 4, 6 및 7의 HCDR1, HCDR2

및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 21, 22 및 23의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 89와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 서열, 그리고 서열 번호 88과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 서열을 포함하는 IgG4이다. 바람직한 다른 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 본 발명의 항체를 포함하는데, 상기 항체는 서열 번호 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 17과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 그리고 서열 번호 30과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열을 포함하는 IgG4이다. 일 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 본 발명의 항체를 포함하는데, 상기 항체는 서열 번호 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 18, 19 및 20의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 89와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 서열, 그리고 서열 번호 88과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하거나, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 서열을 포함하는 IgG4이다.

[0282] 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 추가로 포함한다. 일 구현예에서, 상기 PDL1 억제제는 항 PDL1 항체이다. 본 발명의 조합에 사용하기 적합한 PDL1 억제제로서는

[0283] (i) 아벨루맙(MSB0010718C; 인간 IgG1 항 PDL1 모노클로날 항체; Merck-Serono; 본 출원에 전체가 참조로서 인용되어 있는 WO2013/079174에 기술됨);

[0284] (ii) 아테졸리주맙(MPDL3280A, RG7446; 인간 IgG 항 PDL1 모노클로날 항체; Hoffmann-La Roche);

[0285] (iii) MDX-1105(BMS-936559; 인간 IgG4 항 PDL1 모노클로날 항체; Bristol-Myers Squibb; 본 출원에 전체가 참조로서 인용되어 있는 WO2007/005874에 기술됨);

[0286] (iv) 더발루맙(MEDI4736; 인간화 IgG1 항 PDL1 모노클로날 항체; AstraZeneca; 본 출원에 전체가 참조로서 인용되어 있는 WO2011/066389 및 US2013/034559에 기술됨);

[0287] (v) KN035(항 PDL1 모노클로날 항체; 3D Medicines);

[0288] (vi) LY3300054(항 PDL1 모노클로날 항체; Eli Lilly); 및

[0289] (vii) YW243.55.S70(본 출원에 전체가 참조로서 인용되어 있는 WO2010/077634 및 미국 특허 제8,217,149호에 기술됨)

[0290] 를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0291] 본 발명의 조합에 사용하기 바람직한 PDL1 억제제는 (a) 서열 번호 90, 91 및 92의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 106, 107 및 108의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (b) 서열 번호 93, 95 및 96의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 109, 110 및 111의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (c) 서열 번호 94, 95 및 96의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 109, 110 및 111의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (d) 서열 번호 121, 122 및 123의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 137, 138 및 139의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (e) 서열 번호 124, 126 및 127의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 140, 141 및 142의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; 또는 (f) 서열 번호 125, 126 및 127의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 140, 141 및 142의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각을 포함하는 항 PDL1 항체를 포함한다. 일 구현예에서, 본 발명의 조합에 사용하기 위한 PDL1 억제제는 (a) 서열 번호 90, 91 및 92에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 106, 107 및 108에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (b) 서열 번호 93, 95 및 96에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 109, 110 및 111에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (c) 서열 번호 94, 95 및 96에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 109, 110 및 111에

대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (d) 서열 번호 121, 122 및 123에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 137, 138 및 139에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; (e) 서열 번호 124, 126 및 127에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 140, 141 및 142에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각; 또는 (f) 서열 번호 125, 126 및 127에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 140, 141 및 142에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 보이는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각을 포함하는 항 PDL1 항체이다.

[0292] 일 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는

[0293] (i) a. 서열 번호 93, 95 및 96의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 109, 110 및 111의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각;

[0294] b. 서열 번호 124, 126 및 127의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 140, 141 및 142의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각; 또는

[0295] c. 서열 번호 125, 126 및 127의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 140, 141 및 142의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각

[0296] 인 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열

[0297] (ii) VH3 또는 VH4 도메인 틀 서열 FR1 ~ FR4, 바람직하게 VH4 도메인 틀 서열 FR1 ~ FR4; 및

[0298] (iii) V_K 틀 FR1, FR2 및 FR3, 구체적으로 V_{K1} 또는 V_{K3} FR1 ~ FR3, 바람직하게 V_{K1} FR1 ~ FR3, 및 V_K FR4, 구체적으로 V_{K1} FR4, V_{K3} FR4, 및 V_λ FR4, 구체적으로 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하는 V_λ FR4로부터 선택되는 틀 FR4을 포함하는 VL 틀을 포함하는 VL 도메인[단 바람직하게 V_λ FR4는 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68에 제시된 바와 같고, 더욱 바람직하게 V_λ FR4는 서열 번호 62에 제시된 바와 같음]

[0299] 을 포함하는 항 PDL1 항체이다.

[0300] 다른 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는

[0301] (i) 서열 번호 94, 95 및 96의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 109, 110 및 111의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각;

[0302] (ii) VH1A, VH1B, VH3 또는 VH4 도메인 틀 서열, 바람직하게 VH1A 또는 VH1B 도메인 틀 서열; 및

[0303] (iii) V_K 틀 FR1, FR2 및 FR3, 구체적으로 V_{K1} 또는 V_{K3} FR1 ~ FR3, 바람직하게 V_{K1} FR1 ~ FR3, 및 V_K FR4, 구체적으로 V_{K1} FR4, V_{K3} FR4, 및 V_λ FR4, 구체적으로 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하는 V_λ FR4로부터 선택되는 틀 FR4을 포함하는 VL 틀을 포함하는 VL 도메인[단 바람직하게 V_λ FR4는 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, 더욱 바람직하게 V_λ FR4는 서열 번호 62에 제시된 바와 같음]

[0304] 을 포함하는 항 PDL1 항체이다.

[0305] 일 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는

[0306] (i) 서열 번호 90, 91 및 92의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 106, 107 및 108의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각;

[0307] (ii) VH3 또는 VH4 도메인 틀 서열 FR1 ~ FR4, 바람직하게 VH3 도메인 틀 서열 FR1 ~ FR4; 및

[0308] (iii) V_K 틀 FR1, FR2 및 FR3, 구체적으로 V_{K1} 또는 V_{K3} FR1 ~ FR3, 바람직하게 V_{K1} FR1 ~ FR3, 및 V_K FR4, 구체적으로 V_{K1} FR4, V_{K3} FR4, 및 V_λ FR4, 구체적으로 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로

부터 선택되는 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하는 VL FR4로부터 선택되는 VL FR4을 포함하는 VL 틀을 포함하는 VL 도메인[단 바람직하게 VL FR4는 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68에 제시된 바와 같고, 더욱 바람직하게 VL FR4는 서열 번호 62에 제시된 바와 같음]

[0309] 을 포함하는 항 PDL1 항체이다.

[0310] 다른 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는

[0311] (i) 서열 번호 121, 122 및 123의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 137, 138 및 139의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각;

[0312] (ii) VH3 또는 VH4 도메인 틀 서열 FR1 ~ FR4, 바람직하게 VH4 도메인 틀 서열 FR1 ~ FR4; 및

[0313] (iii) VK 틀 FR1, FR2 및 FR3, 구체적으로 VK1 또는 VK3 FR1 ~ FR3, 바람직하게 VK1 FR1 ~ FR3, 및 VK⁴ FR4, 구체적으로 VK1 FR4, VK3 FR4, 및 VL FR4, 구체적으로 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%의 동일성을 보이는 아미노산 서열을 포함하는 VL FR4로부터 선택되는 VL 틀을 포함하는 VL 도메인[단 바람직하게 VL FR4는 서열 번호 62 ~ 서열 번호 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, 더욱 바람직하게 VL FR4는 서열 번호 62에 제시된 바와 같음]

[0314] 을 포함하는 항 PDL1 항체이다.

[0315] 일 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는

[0316] (i) CDR 도메인인 CDR1, CDR2 및 CDR3;

[0317] (ii) 인간 VK 틀 영역 FR1 ~ FR3, 구체적으로 인간 VK1 틀 영역 FR1 ~ FR3; 및

[0318] (iii) (a) FR4에 대한 인간 VL 생식계열 서열, 구체적으로 목록 서열 번호 62 ~ 68로부터 선택되거나, 바람직하게 서열 번호 62인 VL 생식계열 서열; 및 (b) 서열 번호 62 ~ 68 중 임의의 것으로부터 선택되는 아미노산 서열, 바람직하게 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하는 FR4에 대해 가장 가까운 인간 VL 생식계열 서열에 비해 돌연변이를 1개 또는 2개, 구체적으로 1개 가지는 VL 기반 서열로부터 선택되는 FR4

[0319] 를 포함하는 항 PDL1 항체이다.

[0320] 일 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는

[0321] (a) 서열 번호 90, 91 및 92의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 106, 107 및 108의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 103과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 115와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열;

[0322] (b) 서열 번호 90, 91 및 92의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 106, 107 및 108의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 105와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 116과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열;

[0323] (c) 서열 번호 93, 94 및 95의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 109, 110 및 111의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 103과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 115와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열;

[0324] (d) 서열 번호 94, 95 및 96의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 16, 21 및 22의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 104와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 115와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한

아미노산 서열을 포함하는 VL 서열;

[0325] (e) 서열 번호 121, 122 및 123의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 137, 138 및 139의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 135와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 147과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열;

[0326] (f) 서열 번호 121, 122 및 123의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 137, 138 및 139의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 136과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 146과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열;

[0327] (g) 서열 번호 124, 126 및 127의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 140, 141 및 142의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 134와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 146과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열; 또는

[0328] (h) 서열 번호 125, 126 및 127의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 140, 141 및 142의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 135와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 147과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열

[0329] 을 포함하는 항 PDL1 항체이다.

[0330] 일 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는

[0331] (a) 서열 번호 103의 VH 서열 및 서열 번호 115의 VL 서열;

[0332] (b) 서열 번호 105의 VH 서열 및 서열 번호 116의 VL 서열;

[0333] (c) 서열 번호 103의 VH 서열 및 서열 번호 115의 VL 서열;

[0334] (d) 서열 번호 104의 VH 서열 및 서열 번호 115의 VL 서열;

[0335] (e) 서열 번호 135의 VH 서열 및 서열 번호 147의 VL 서열;

[0336] (f) 서열 번호 136의 VH 서열 및 서열 번호 146의 VL 서열;

[0337] (g) 서열 번호 134의 VH 서열 및 서열 번호 146의 VL 서열; 또는

[0338] (h) 서열 번호 146의 VH 서열 및 서열 번호 147의 VL 서열

[0339] 을 포함하는 항 PDL1 항체이다.

[0340] 바람직한 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는 서열 번호 121, 122 및 123의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 137, 138 및 139의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각과; (i) 서열 번호 135와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열과, 서열 번호 147과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열; 또는 (ii) 서열 번호 136과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 146과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열을 포함하는 항 PDL1 IgG1 항체이다.

[0341] 바람직한 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는 서열 번호 93, 95 및 96의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 109, 110 및 111의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 103과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게

적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 115와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열을 포함하는 항 PDL1 IgG1 항체이다. 더욱 구체적인 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는 서열 번호 93, 95 및 96의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 109, 110 및 111의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 155와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 서열, 및 서열 번호 154와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열을 포함하는 항 PDL1 IgG1 항체이다.

[0342] 다른 구체적인 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는 서열 번호 121, 122 및 123의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열 각각, 및 서열 번호 137, 138 및 139의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열 각각과; (i) 서열 번호 135와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열과, 서열 번호 147과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열; 또는 (ii) 서열 번호 136과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열, 및 서열 번호 146과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열을 포함하는 항 PDL1 IgG1 항체이다.

[0343] 다른 구체적인 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는 서열 번호 124, 126 및 127의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 140, 141 및 142의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 134와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 서열과, 서열 번호 146과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 서열을 포함하는 항 PDL1 IgG1 항체이다. 더욱 구체적인 구현예에서, 본 발명의 약학 조합은 PDL1 억제제를 포함하는데, 상기 PDL1 억제제는 서열 번호 124, 126 및 127의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 서열 각각과, 서열 번호 126, 127 및 142의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 서열 각각, 서열 번호 153과 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 서열과, 서열 번호 152와 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%, 바람직하게 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 서열을 포함하는 항 PDL1 IgG1 항체이다.

[0344] 이하, (a) 본원에 정의된 바와 같은 본 발명의 항 CD137 항체와, (b) 본원에 정의된 바와 같은 PDL1 억제제를 포함하는 약학 조합은 "본 발명의 조합"이라 지칭될 것이다.

[0345] 증식성 질환의 성질은 다원적이다. 임의의 상황에서 작용 기작이 상이한 치료제들이 조합될 수 있다. 그러나 작용 방식이 상이한 치료제들의 임의의 조합을 단지 고려해보았을 때, 반드시 유리한 효과들이 조합되어 발휘되는 것은 아니다. 본 발명의 조합의 투여는 각각의 단일 요법이 행하여졌을 때에 비하여 개선된 항종양 활성을 보이고, 증식성 질환, 구체적으로 암의 치료에 대해 유효할 수 있음이 확인되었다. 본 발명에 있어서, 본 발명의 조합의 투여는 각각의 단일 요법이 행하여졌을 때에 비하여 더욱 유리한 효과, 예컨대 상승적 또는 개선된 항증식 효과, 예컨대 증식성 질환 또는 이의 증상의 진행 지연 또는 억제뿐 아니라, 또 다른 유리한 효과, 예컨대 부작용 감소, 예컨대 삶의 질 개선 또는, 예컨대 사망률 감소를 달성할 것으로 기대된다.

[0346] 본 발명의 조합은 증식성 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 이러한 증식성 질환의 예방 또는 치료에 특히 유용하다. 본 발명의 조합 중 치료제들은 이의 투여를 필요로 하는 대상체에 별도로, 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 바람직하게 이러한 치료제들은, 조합될 때 유리한 효과를 제공하는 치료적 유효 투여량으로 투여된다. 그러므로 본 발명의 일 구현예에서, 본 발명의 조합은 증식성 질환, 구체적으로 암의 치료 또는 예방을 위해 사용된다.

[0347] 일 양태에서, 본 발명은 의약으로 사용하기 위한 본 발명의 항체 또는 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 조합에 관한 것이다.

[0348] 일 양태에서, 본 발명은 증식성 질환, 구체적으로 암 치료를 필요로 하는 대상체에서 증식성 질환, 구체적으로 암을 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항체 또는 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 조합에 관한 것이다.

[0349] 다른 양태에서, 본 발명은 증식성 질환, 구체적으로 암 치료를 필요로 하는 대상체에서 증식성 질환, 구체적으

로 암을 치료함에 있어 본 발명의 항체 또는 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 조합의 용도에 관한 것이다.

[0350] 추가의 양태에서, 본 발명은 증식성 질환, 구체적으로 암 치료를 필요로 하는 대상체에서 증식성 질환, 구체적으로 암을 치료하기 위한 의약을 제조함에 있어 본 발명의 항체 또는 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 조합의 용도에 관한 것이다.

[0351] 일 양태에서, 본 발명은 증식성 질환, 구체적으로 암 치료를 필요로 하는 대상체에서 증식성 질환, 구체적으로 암을 치료하는 방법으로서, 대상체에 본 발명의 항체 또는 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 조합 치료적 유효량만큼을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0352] "대상체"란 용어는 인간 및 비인간 동물을 포함한다. 비인간 동물은 모든 척추동물, 예컨대 포유류 및 비포유류, 예컨대 비인간 영장류, 양, 개, 소, 닭, 양서류 및 파충류를 포함한다. 명시된 경우를 제외하고, "환자" 또는 "대상체"란 용어들은 본원에서 호환되어 사용된다.

[0353] 본원에 사용된 바와 같은 "치료", "치료하는 것", "치료하다", "치료된" 등과 같은 용어는, 원하는 약리학적 및 /또는 생리적 효과를 수득하는 것을 지칭한다. 이 효과는 어떤 질환 및/또는 해당 질환으로 인할 수 있는 부작용을 부분적으로나 완전히 치유하거나, 해당 질환의 진행을 지연시킨다는 관점에서 치료적일 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 "치료"는, 포유류, 예컨대 인간에서 어떤 질환에 대한 임의의 치료를 포괄하며, (a) 해당 질환을 억제하는 것, 즉 이 질환의 발현을 중단시키는 것; 그리고 (b) 해당 질환을 완화시키는 것, 즉 이 질환의 퇴행을 유발시키는 것을 포함한다.

[0354] "치료적 유효량" 또는 "효과적 양"이란 용어들은, 어떤 질환을 치료하기 위해 포유류 또는 기타 대상체에 투여될 때 해당 질환의 이와 같은 치료를 달성하기 충분한, 어떤 제제의 양을 지칭한다. "치료적 유효량"은 제제, 질환 및 이의 심각성, 치료받을 대상체의 나이, 체중 등에 따라서 달라질 것이다.

[0355] 일 구현예에서, 증식성 질환은 암이다. "암"이란 용어는 급속하고 제어가 불가능한 비정상 세포의 생장으로 특징지어지는 질환을 지칭한다. 암 세포는 국소적으로, 또는 혈류 및 림프계를 통해서 몸의 다른 부분으로 퍼져나갈 수 있다. "종양" 및 "암"이란 용어는 본원에서 호환되어 사용되고 있는데, 예컨대 상기 두 용어는 고형 및 액체형, 예컨대 화산성 또는 순환성 종양을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은 "암" 또는 "종양"이란 용어는 전악성뿐만 아니라, 악성인 암과 종양을 포함한다. "암"이란 용어는 본원에서 광범위한 종양, 예컨대 모든 고형 악성종양 및 혈액학적 악성종양을 의미하는 것으로서 사용된다. 이러한 종양의 예로서는 양성 또는 특히 악성인 종양, 고형 종양, 뇌암, 신장암, 간암, 부신암, 방광암, 유방암, 위암(예컨대 위 종양), 식도암, 난소암, 자궁경부암, 결장암, 직장암, 전립선암, 췌장암, 폐암(예컨대 비소세포 폐암 및 소세포 폐암), 질암, 갑상선암, 흑색종(예컨대 절제불가능 또는 전이성 흑색종), 신세포 암종, 육종, 교모세포종, 다발성 골수종 또는 위장관암, 특히 결장 암종 또는 결장직장 선암종, 두경부 종양, 자궁내막암, 코든 증후군(Cowden syndrome), 레미떼-듀클로병(Lhermitte-Duclos disease), 바나얀-조나나 증후군(Bannayan-Zonana syndrome), 전립선 비대증, 신생물, 특히 상피 조직 특성 신생물, 바람직하게 유방암종 또는 편평세포암종, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병(예컨대 필라델피아 염색체 양성 만성 골수성 백혈병), 급성 림프아구성 백혈병(예컨대 필라델피아 염색체 양성 급성 림프아구성 백혈병), 비호지킨 림프종, 형질세포골수종, 호지킨 림프종, 백혈병 및 이것들의 임의의 조합을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직한 구현예에서, 암은 폐암, 바람직하게는 비소세포 폐암(NSCLC)이다. 다른 구현예에서, 상기 암은 결장직장암이다.

[0356] 본 발명의 항체 또는 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 조합은 고형 종양의 생장을 억제할뿐더러, 액체형 종양의 생장도 억제한다. 추가의 구현예에서, 증식성 질환은 고형 종양이다. "고형 종양"이란 용어는, 특히 유방암, 난소암, 결장암, 직장암, 전립선암, 위암(특히 위의 암), 자궁경부암, 폐암(예컨대 비 소세포 폐암 및 소 세포 폐암), 그리고 두경부의 종양을 의미한다. 또한 종양의 유형과 적용된 구체적 조합에 따라서, 종양 부피의 감소가 달성될 수 있다. 본 발명이 항체 또는 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 조합은 또한 암이 발병한 대상체에서 종양의 전이적 전파와 생장, 또는 소전이의 발현을 예방하도록 맞추어진다.

[0357] "예방하다" 또는 "예방하는 것"이란 용어는, 질환의 발현 또는 질환의 임의의 2차적 영향을 완전히 억제하는 것을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같은 "예방하다" 또는 "예방하는 것"이란 용어는, 어떤 질환에 대한 소인이 있을 수 있되, 해당 질환이 발생하였다는 진단은 아직 받지 못한 개체에서 질환 또는 병태의 발생을 예방하는 것을 아우른다.

[0358] 일 양태에서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 본 발명의 약학 조성물 또는 본 발명이 조합을 포함하는 키트에 관한 것이다. 이 키트는 1개 이상의 다른 요소, 예컨대 사용 지침; 기타 시약, 예컨대 표지, 치료제, 또는 항체

의 표지 또는 치료제에 대한 캔들레이트화 또는 커플링에 유용한 제제, 또는 방사선 방호 조성물; 투여될 항체 분자를 제조하기 위한 디바이스 또는 기타 재료; 약학적으로 허용 가능한 담체; 그리고 대상체에의 투여를 위한 디바이스 또는 기타 재료를 포함할 수 있다. 구체적 구현예에서, 키트는 본 발명의 항체를 약학적 유효량만큼 포함한다. 추가의 구현예에서, 키트는 동결건조된 형태를 가지는 본 발명의 항체 약학적 유효량만큼과 희석제, 그리고 선택적으로는 사용 지침을 포함한다. 상기 키트는 재구성(reconstitution)을 위한 필터 바늘 및 주사를 위한 바늘을 추가로 포함할 수 있다.

표 1

| 본 발명의 CD137 항체 및(CDR 단기들은 같은 이름으로 표시됨) | | | |
|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------|---------------------|----|
| 시열 번호 | Ab 형식 | Ab 형식 | 시열 |
| 38-02-A04 | | | |
| 시열번호 1 | HCDR1 (H27-H42; AHO 번호매김) | GFHSNSYVIC | |
| 시열번호 2 | HCDR2 (H57-H76; AHO 번호매김) | CTFVSSDSTYYANWAKG | |
| 시열번호 3 | HCDR3 (H108-H136; AHO 번호매김) | RHPSDAVYGYANNL | |
| 시열번호 4 | HCDR1 (AHO 정의) (38-02-A04 sc01) (38-02-A04 sc05 IF) | VSGFESNSYWW | |
| 시열번호 5 | HCDR1 (AHO 정의) (38-02-A04 sc06 전정) | ASGFESNSYWW | |
| 시열번호 6 | HCDR2 (AHO 정의) | TFVGSSTDSTYYANWAKGR | |
| 시열번호 7 | HCDR3 (AHO 정의) | HPSDAVYGYANN | |
| 시열번호 8 | HCDR1 (Kabat 정의) | NSYVIC | |
| 시열번호 9 | HCDR2 (Kabat 정의) | CTFVGSSTDSTYYANWAKG | |
| 시열번호 10 | HCDR3 (Kabat 정의) | HPSDAVYGYANNL | |

| | | |
|---------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 서열번호 11 | HCDR1 (Chothia 정의) | GFSFSNSY |
| 서열번호 12 | HCDR2 (Chothia 정의) | VGSSD |
| 서열번호 13 | HCDR3 (Chothia 정의) | PSDAV'GYANN |
| 서열번호 14 | VH (VH4)038-02-A04 sc01) | QWQLOESQPGLVKPETLSLICKVSGFSFSNSYWCWIRQPPGKGLEWIGCTFPGSSDSTYANW AKGRVTISVDSKKNQFSLKSSVTAADTAVYVYCARHPSDAV'PGYANNLWGQTLTVSS |
| 서열번호 15 | VH (VH4)038-02-A04 sc05 1F) 돌연변이 VH: I44W; F89Y; Y105F. | QWQLOESQPGLVKPETLSLICKVSGFSFSNSYWCWIRQPPGKGLEWIGCTFPGSSDSTYANW W4AKGRVTISVDSKSKNQVSLKSSVTAADTAVYVFCARHPSDAV'PGYANNLWGQGTLYTVSS |
| 서열번호 16 | VH (VH4)038-02-A04 sc06 친정) 돌연변이 VH: V25A; I44V; V82K; F89Y; Y105F | QWQLOESQPGLVKPETLSLICKVSGFSFSNSYWCWIRQPPGKGLEWIGCTFPGSSDSTYANW W4AKGRVTISKDSKSKNQVSLKSSVTAADTAVYVFCARHPSDAV'PGYANNLWGQGTLYTVSS |
| 서열번호 17 | VH (VH3)038-02-A04 sc13) 돌연변이 VH: G51C (Aho 번호해석) | EWQLYVESGGGLYQPGGSLRLSCAASGEFNSNSYWCWIRQAPGKCLEWIGCTFPGSSDSTYANW W4AKGRFTISRDNSKNTVYQMNLSRAEDTAVYVYCARHPSDAV'PGYANNLWGQGTLYTVSS |
| 서열번호 18 | LCDR1 (L24-L42; Aho 번호해석) (Kabat 정의) | QASQSIRNNVLA |
| 서열번호 19 | LCDR2 | RASTLAS |

| | | |
|---------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | (L58-L72; AHc 번호매김) (Kabat 정의) | |
| 서열번호 20 | LCDR3 (L107-L138; AHc 번호매김) (Kabat 정의) | QSSYGNYYGD |
| 서열번호 21 | LCDR1 (AHc 정의) | ASQSINNV |
| 서열번호 22 | LCDR2 (AHc 정의) | RASTLASGVPSR |
| 서열번호 23 | LCDR3 (AHc 정의) | SYGNYG |
| 서열번호 24 | LCDR1 (Chothia 정의) | SQSINNV |
| 서열번호 25 | LCDR2 (Chothia 정의) | R.A.S |
| 서열번호 26 | LCDR3 (Chothia 정의) | SYGNYG |
| 서열번호 27 | VL (Vk1-sk17)(38-02-A04 sc01) | DIQMTQSPSLSASVGDRVITTCQ4SQSINNVLA WYQQKPGKPPKL IYRASTL4SGVPSRFSGG SG1IDFTLTISSLQPEDFATYYCQSSYGN YGDFTGIGKVTVLG |
| 서열번호 28 | VL (Vk1-sk17) (38-02-A04 sc05 (F)) 풀번01 VL : A51P | DIQMTQSPSLSASVGDRVITTCQ4SQSINNVLA WYQQKPGKPPKL IYRASTL4SGVPSRFSGG SG1IDFTLTISSLQPEDFATYYCQSSYGN YGDFTGIGKVTVLG |
| 서열번호 29 | VL (Vk1-sk17) (38-02-A04 sc06 전송) 풀번01 VL : 121, A51P | DIQMTQSPSLSASVGDRVITTCQ4SQSINNVLA WYQQKPGKPPKL IYRASTL4SGVPSRFSGG GSGTDFITLTISSLQPEDFATYYCQSSYGN YGDFTGIGKVTVLG |
| 서열번호 30 | VL (Vk1-sk17) | DIQMTQSPSLSASVGDRVITTCQ4SQSINNVLA WYQQKPGKPPKL IYRASTL4SGVPSRFSGG |

| | | | |
|---------|-------|-----------------------|--|
| | | (H57-H76; AHo 번호매김) | |
| 서열번호 38 | HCDR3 | REASSSSGYGMGYFDL | |
| | | (H108-H136; AHo 번호매김) | |
| 서열번호 39 | HCDR1 | VSGFSFNNNDYD | |
| | | (AHo 경의) | |
| 서열번호 40 | HCDR2 | IDTGDGTYASWAKGR | |
| | | (AHo 경의) | |
| 서열번호 41 | HCDR3 | EAASSSSGYGMGYFD | |
| | | (AHo 경의) | |
| 서열번호 42 | HCDR1 | NDYIDMC | |
| | | (Kabat 경의) | |
| 서열번호 43 | HCDR2 | CIDTGDGTYASWAKG | |
| | | (Kabat 경의) | |
| 서열번호 44 | HCDR3 | EAASSSSGYGMGYFDL | |
| | | (Kabat 경의) | |
| 서열번호 45 | HCDR1 | GESFNNNDY | |
| | | (Chothria 경의) | |
| 서열번호 46 | HCDR2 | TGDG | |
| | | (Chothria 경의) | |
| 서열번호 47 | HCDR3 | AASSSSGYGMGYFD | |

| | | | |
|---------|----------------------------------------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 서열번호 48 | VH (VHA) | (Chothia 정의) | QVQLOESGPGLVKPSETLSSLCKVSGFSSFNNDYD MCWIRQPPGKGLEWIGCIDEYGDGSTYASW AKGRVTTSVDSKKNQFSKLKSSVTAADTAVYYCAREAASSSGYGMGYFDLWGQGLNNTVSS |
| 서열번호 49 | LCDR1 (L24-L12; AHO 변호매김) (Kabat 정의) | | QSSQSVYDNNWLA |
| 서열번호 50 | LCDR2 (L58-L72; AHO 변호매김) (Kabat 정의) | RASNLAS | |
| 서열번호 51 | LCDR3 (L107-L138; AHO 변호매김) (Kabat 정의) | | QGTYLSNWWYWA |
| 서열번호 52 | LCDR1 (AHO 정의) | | SSQSVYDNNW |
| 서열번호 53 | LCDR2 (AHO 정의) | | RASNLASGVPSR |
| 서열번호 54 | LCDR3 (AHO 정의) | | TYLSSNWWYWW |
| 서열번호 55 | LCDR1 (Chothia 정의) | | SQSSVYDNNW |

[0365]

표 2

| 본 발명과 관련된 기타 서열 | | | |
|-----------------|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 서열 식별번호 | Ab 형식 | Ab 형식 | 서열 |
| 서열번호 61 | 인간 CD137 | MGNSCYNIVATLLVLNPFERTSLQDPCSNCPAGTFCDNRRNQICSPCPPNFSAGGQRTCDICR QCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEDQCKQGQELTKKGCKDOCFTG1NDQK RGICRPWTNCSDGCKSVLYNCTKERDVYCCGSPADLSPGASVTPAPAREPGHISPOUSFELALTS TALLFLUFFLTLRFSTVVKRGRKCKLLYFKQPFMRPVQTITQEEEDGCSRFPPEEEGGCEL | |
| 서열번호 62 | V λ 생식계열 기반 FR4 (Sk17) | FGTGTKVTVLG | |
| 서열번호 63 | V λ 생식계열 기반 FR4 (Sk12) | FGGGTAKTVLG | |
| 서열번호 64 | V λ 생식계열 기반 FR4 | FGGGTQLIILG | |
| 서열번호 65 | V λ 생식계열 기반 FR4 | FGEGETLTVLG | |
| 서열번호 66 | V λ 생식계열 기반 FR4 | FGSGTAKTVLG | |
| 서열번호 67 | V λ 생식계열 기반 FR4 | FGGGTQLTVLG | |
| 서열번호 68 | V λ 생식계열 기반 FR4 | FGGGTQLTALG | |

표 3

| 본 발명의 권리 조합하는 표지의 4 | | | | |
|---------------------------------------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 시열 식별번호 | Ab 표지 | 시열 번호 | 시열 번호 | |
| PRO95 (38-02-A04 sc01 sc0b-i/33-03-G02 sc01 scDb-a) | scDb | DIOMTOSPSSLASAVYGDRTITCOASOSINDYLAWYQQPKGAKPLIYKASTLASGVPSRSGS GSGTIDFPLITSSLOPEDFATYCOQGYIITDIDNFGITKVTVLGGGSQVQLQESGPGLVQP. SETLSLICKVSGFSFSNSYWCWIROPPGKGLEWIGCTEVGSDDSTYANWAKGRVTISVDSKKN QVSUKLSSVTAADTAYYYCARHPSDAVYGANNLWGQGTLYVSSGGGGSGGGGGGG GGGSIQMTQSPSSLSASAVYCDRVTITCOASOSININVLAWSQQPKGAKPLIYRASTLASGVPSR SGSGCSTDFTLTISLQPEDFATYCYCQSSYGVNYGDFGTCGKVTVLGGGGGSQVQLQESGPGLV PSETSLSLICKVSGFSFSSCYDMDCWIROPPGKGLEWIGCWAQSVDTYYASWAKGRVTISVDSK NQFSLKLSSVTAADTAYYYCARDAFDNLWGQGTLYVSS | DIOMTOSPSSLASAVYGDRTITCOASOSINDYLAWYQQPKGAKPLIYKASTLASGVPSRSGS GSGTIDFPLITSSLOPEDFATYCOQGYIITDIDNFGITKVTVLGGGSQVQLQESGPGLVQP. GGSRUSCAA&SCFSFNNDYDMCWCWROAPGKGLEWIGCUDTGDTGDTYYASWAKGRVTISRDN NTVYLOMNSLREAEDTAYYYCARAEESSGYCIMCYFDLNWLAWYQQPKGAKPLIYRASNL GSGGGCSIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSYIYDNWLAWYQQPKGAKPLIYRASNL SGVPERFSCSGSGTDEFTLSSILSLICKVSGFSFSQYDMDCWIROPPGKGLEWIGCWAQSVDTYYASWAK LQESGPGLVKEPSETLSLICKVSGFSFSQYDMDCWIROPPGKGLEWIGCWAQSVDTYYASWAK RVTISVDSKKNQFSLKLSSVTAADTAYYYCARDAFDNLWGQGTLYVSS | DIOMTOSPSSLASAVYGDRTITCOASOSINDYLAWYQQPKGAKPLIYKASTLASGVPSRSGS GSGTIDFPLITSSLOPEDFATYCOQGYIITDIDNFGITKVTVLGGGSQVQLQESGPGLVQP. SETLSLICKVSGFSFSNSYWCWIROPPGKGLEWIGCTEVGSDDSTYANWAKGRVTISVDSKKN QVSUKLSSVTAADTAYYYCARHPSDAVYGANNLWGQGTLYVSSGGGGSGGGGGGG GGGSIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCOASOSININVLAWSQQPKGAKPLIYRASTLASGVPSR |
| PRO1123(38-02-A04 sc05 IF sc0b-i/33-03-G02 sc01 scDb-a) | scDb | | | |
| 시열번호 70 | scDb | | | |
| PRO1123(38-02-A04 sc05 IF sc0b-i/33-03_G02 sc01 scDb-a) | scDb | | | |
| 시열번호 71 | scDb | | | |

| | | |
|-----------------------------------------------------------|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | SGSGSGTDFLTISLQPEDATYYCQSSYYGNYGDFGTOKTVTUVGGGGSQVQLOESGPGLVK PSETLSLCKTCKSGFSESSGYDMCWROPPKGLEWIGCYVAGSVDTITYA SWAKGRVTISVDSK NQPSLKLSSVTAADTAVYYCARKDAYSDAFNLWGQTLTVSS |
| PRO1124(38-02-A04 sc06 238 scDb-ii/33_03_G02 sc01 scDb-0) | scDb | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQISINDYLAWYQQPKPKAPKLILYKASTLASGVPSRFSGS GSQGTDFTLTISLQPEDATYYCQGYIIIDINVFGTGKTVTUVGGGGSQVQLOESGPGLVKP SETLSLICKKASGFSFSNSYWCWROPPKGLEWIGCYVAGSVDTITYA SWAKGRVTISVDSK NQPSLKLSSVTAADTAVYYCARKDAYSDAFNLWGQTLTVSS |
| PRO1125(38-02-A04 sc01 scDb-ii/33_03_G02 sc02 IF scDb-0) | scDb | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQISINDYLAWYQQPKPKAPKLILYKASTLASGVPSRFSGS GSQGTDFTLTISLQPEDATYYCQGYIIIDINVFGTGKTVTUVGGGGSQVQLOESGPGLVKP SETLSLICKKASGFSFSNSYWCWROPPKGLEWIGCYVAGSVDTITYA SWAKGRVTISVDSK NQPSLKLSSVTAADTAVYYCARKDAYSDAFNLWGQTLTVSS |
| PRO1126(38-02-A04 sc01 scDb-ii/33_03_G02 sc03 전28 scDb-0) | scDb | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQISINDYLAWYQQPKPKAPKLILYKASTLASGVPSRFSGS GSQGTDFTLTISLQPEDATYYCQGYIIIDINVFGTGKTVTUVGGGGSQVQLOESGPGLVKP SETLSLICKKASGFSFSNSYWCWROPPKGLEWIGCYVAGSVDTITYA SWAKGRVTISVDSK NQPSLKLSSVTAADTAVYYCARKDAYSDAFNLWGQTLTVSS |
| PRO1127(38-02-A04 sc01 scDb-ii/33_03_G02 sc04 전28 scDb-0) | scDb | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQISINDYLAWYQQPKPKAPKLILYKASTLASGVPSRFSGS GSQGTDFTLTISLQPEDATYYCQGYIIIDINVFGTGKTVTUVGGGGSQVQLOESGPGLVKP SETLSLICKKASGFSFSNSYWCWROPPKGLEWIGCYVAGSVDTITYA SWAKGRVTISVDSK NQPSLKLSSVTAADTAVYYCARKDAYSDAFNLWGQTLTVSS |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PRO1134(38-02-A04 sc01 scDb-1/33_03_G02 sc07 GL_VH3 scDb-a) | YSLKLSSVTAADTAZYFCARKDAYSDAFNLWGQGTLYVSS |
| 시열번호 75 scDb | DIQMTQSPSLSASVGDAVITTCQASQNSINDYLAWYQQPKSPKLIIYKASTLASGVPSRSGS GSGTDFLTISLQPEDEFATYCCQGYIITIDNFGTGTKVTVLQGGGGSQVQLOQESCPGVLKP SETLSLICKVSGFSFNSYWCIRQPPGKLEWIGCTFVGSSDSTYANWAKGRVTISVDSKNN QPSLKLSSVTAADTAZYFCARKHDSDAVYGYANNLWQGQTLTVTWSGGGSGGGSGGGSG GGGSQMTQSPSLSASVGDRTITTCQASQNSINNLAWYQQPKAPKLIIYRASTLASGVPSR SCSGSGTIDFTLISLQPEDEFATYCCQSSYGNYGYDGTGTVLQGGGGSQVQLOQESCPGVLKP PGSSLRSLSCAASGFSSGTYDMCWYRQAPKGLEWIGCVVAGSDITYASWAKGRFTISDN SKNTVYQMSLRAEDTATYCAKRDAYSDAFNWLWGTLYVSS |
| PRO963 (= PRO1051) (38_02_A04 sc01 scDb-1/33-03-G02 sc01 scDb-a/9-01-H04-sc03 scFv) | DIQMTQSPSLSASVGDRTITTCQASQNSINDYLAWYQQPKAPKLIIYKASTLASGVPSRSGS GSGTDFLTISLQPEDEFATYCCQGYIITIDNFGTGTKVTVLQGGGGSQVQLOQESCPGVLKP SETLSLICKVSGFSFNSYWCIRQPPGKLEWIGCTFVGSSDSTYANWAKGRVTISVDSKNN QPSLKLSSVTAADTAZYFCARKHDSDAVYGYANNLWQGQTLTVTWSGGGSGGGSGGGSG GGGSQMTQSPSLSASVGDRTITTCQASQNSINNLAWYQQPKAPKLIIYRASTLASGVPSR SCSGSGTIDFTLISLQPEDEFATYCCQSSYGNYGYDGTGTVLQGGGGSQVQLOQESCPGVLKP PSETLSLICKVSGFSFSSGTYDMCWYRQAPKGLEWIGCVVAGSDITYASWAKGRVTISDN QPSLKLSSVTAADTAZYFCARKDAYSDAENLWQGQTLTVTWSGGGSGGGSGSQMTQSPSSL SASVGDRTITTCQSSSYSNINQLSWYQOKPGQPKLIIYDASDLASCVPSRSGSGSGTDFLT SSLQPEDEFATYCCAGFSSSDTAFGGGTKLTVLGGGSGGGSGGGSGSEVQLVES GGGLVQPGCSI.RLSCAASGFLSSNAMGWVROQPKGLEVIGISWGGFTYASWAKGRFTISR DNSKNTVYLOMSLRAEDTATYCARDRHGGDSSGAFLWQGTLYVSS |
| PRO966 (= PRO1052) (38_27_C05 sc01 scDb-1/33-03-G02 sc01 scDb-a/9-01-H04-sc03 scFv) | DIQMTQSPSLSASVGDRTITTCQASQNSINDYLAWYQQPKAPKLIIYKASTLASGVPSRSGS GSGTDFLTISLQPEDEFATYCCQGYIITIDNFGTGTKVTVLQGGGGSQVQLOQESCPGVLKP SETLSLICKVSGFSFENDYDMCWYRQPPKGLEWIGCTDGTGSDSTYASWAKGRVTISVDSKNN QPSLKLSSVTAADTAZYFCAREASSCYGMCVFLWQGTLYVSSGGGGSGGGSG GGGSQMTQSPSLSASVGDRTITTCQSSQSYDNWNLAWYQKPGKAPKLIIYRASNLSAG |
| 시열번호 77 scDb-scFv | |

| | | |
|--|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | <p>PRO1057 (38_02_A04 sc01 scDb-i/33-03-G02 sc01 scDb-o/mxr HSA (23-13-A01-sc03, sc17sh41)</p> <p>시열번호 78 scDb-scFv</p> <p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAOSINNDYLAWYQQKPGKAPLILYKASTLASGVPSRFSGS SETLSLICKVSQFSEFNTDIDNVRGTFKTVLQGGGGSSQVQLESECPGLVKP QFSLKLSSVTAADIAVYYCARKDAYSDFNLWQGGTLYTWSGGGGSGGGGG GGGSQIMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAOSINNDYLAWYQQKPGKAPLILYRASTLASGVPSRF VPSRFSGSOSGTDFTLTISSLOPEDFATYYCQGGTYLSSNWTWAFGTGKTVLQGGGGSSQVQLE</p> |
| | | <p>PRO1058 (38_27_C05 sc01 scDb-i/33-03-G02 sc01 scDb-o/mxr HSA (23-13-A01-sc03, sc17sh41)</p> <p>시열번호 79 scDb-scFv</p> <p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAOSINNDYLAWYQQKPGKAPLILYKASTLASGVPSRFSGS GSCTDFLTISSLOPEDFATYYCQGGTYLSSNWTWAFGTGKTVLQGGGGSSQVQLESECPGLVKP SETLSLICKVSQFSEFNTDIDNVRGTFKTVLQGGGGSSQVQLESECPGLVKP QFSLKLSSVTAADIAVYYCAREASASSGYCMGYFDLWQGTLYTWSGGGGSGGGGG GGGSQIMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAOSINNDYLAWYQQKPGKAPLILYRASTLASGVPSRFSGSOSGTDFTLTISSLOPEDFATYYCQGGTYLSSNWTWAFGTGKTVLQGGGGSSQVQLE</p> |

| | | |
|---------|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 서열번호 83 | Morrison-H 종쇄 | QVQLQESQPGLVKPSLTLTSLCKVSGFSESSGYDMCWIRQPPGKGLEWIGCVVAGSVUDITYYASW AKGRVITISVDSKKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARKDAYSDAFLNWLWQGQTLTVSSASTKGPSV FPLAPSKSTSGGTIAALGCLVKDYPPEPVTVSNNSGALTSGVH1TPAVLQSSGLYSLSSVWTVPS SLGTOTYICVNHHKPSNTKVDKREPKSCDKTHICPPCPAPEAAAGPSVFLPPKPKDFTLMSIRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVVDGVEVHNAKTKPREEQNTYRVSLVLTBLHQDWLNGK EYKCKVSNKALGAPEKTIKAKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGYFVPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPLVLDSDGSFFLTSKLVQDLSRWWQGQNVFSCSYVMHEALHNHYTQKSLSLSPG KGEGGSGGGGGSGTQMTQSPSSLSASVGDRTTICQASQSNINWLAQYQKQPKGKAPKLITYRASL ASGVPSRFSGSGSGTDFLTLSLQEDFATYYCOSSYGNYGFDTGTTKVTYLGEGGSGGGGGS GGGGGGGGSGSQVQLOQESGPGLVKPSEITSLICKVSGPSFSNSYWCWIRQPPGKLEWIGC1FV GSSDSTYYANWAKGRVTTISVDSKKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARHPSDAVYCYANNLWGQ TLTVSS |
| 서열번호 84 | Morrison-L 경쇄 | PRO1061 (33-03-G02 sc01 IgG1 LC, 38_27_C05 sc01 scFv) 조합, PDL1/CD137(scFv) 혼합 Morrison DQMTQSPSSLSASVGDRTTICQASQSNINDLAWYQKPGKAPKLITYKASTLGSVPSRFSGS GSGTDFLTLSLQEDFATYYCQCGVHTIDNVTGTTGKVTWLGTVAPSVFIFPSDEQLKSGT ASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSNQESVTEQDSKQDSTYSLSLSTLTSKADYERHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECCGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GTGTVLTVLGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG YWCWIRQPPGKGLEWIGCTFVGSSDSTYYANWAKGRVTVSDSKNQFSLKLSVTAADTAWY YCARHPSDAVYCYANNLWGQQTLTWTVSS |
| 서열번호 85 | Morrison-L 종쇄 | QVQLQESQPGLVKPSLTLTSLCKVSGFSESSGYDMCWIRQPPGKGLEWIGCVVAGSVUDITYASW AKGRVITISVDSKKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARKDAYSDAFLNWLWQGQTLTVSSASTKGPSV FPLAPSKSTSGGTIAALGCLVKDYPPEPVTVSNNSGALTSGVH1TPAVLQSSGLYSLSSVWTVPS SLGTOTYICVNHHKPSNTKVDKREPKSCDKTHICPPCPAPEAAAGPSVFLPPKPKDFTLMSIRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVVDGVEVHNAKTKPREEQNTYRVSLVLTBLHQDWLNGK EYKCKVSNKALGAPEKTIKAKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGYFVPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPLVLDSDGSFFLTSKLVQDLSRWWQGQNVFSCSYVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K |
| | | PRO1062 (33-03-G02 sc01 IgG1 HC, 38_27_C05 sc01 scFv) 조합, PDL1/CD137(scFv) 혼합 Morrison |

| | | |
|-------------------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 서열번호 86 | Morrison-H 경화 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASOSINIDYLAWYQKPGKAPKLLIYKASTLASGVPSRFGSGS GSGTDFTLTISLQPELFATYCCQGYIITMDMVFGTGTIVLGTVAAPSVFIPPSDEQLKSGT ASVYCLLNNFYPREAKYQWKVDNALQGSNSQESVTEQDSKDSKDTYSSLSSTLTLSKADYEKEHKKY ACEVTHQGLSSPVTKSFRGEC |
| 서열번호 87 | Morrison-H 중화 | QWLOQESGPGLYKPKSETLSLICKVSGFSESGYDMCWIRQPPGKGLEWIGCWNAGSVDDITYYASW AKGRFTYSDSSKKNOPSLKLSSVTAADTAYYICARKDAYSDAFLNLWGQGTLTYVSSASTKGPSV FPLAPFSKSTSOGTAALGCLVKKDGFPEPVTSWNSGALTSPVQHPPAVLQFSSVYISSLSSVTVPS SLGTTQTYCINVNHKPSNTKWKDRVKPSCDKTHCPCPAPEAAGGSPVFLQPPKPKDTLMSIT PEVTCVYVWDWSHEDPEVKFWYVTDGVWEMHNAKTKPREFEQNSTYRVSVSLITYLHQDWLNGK EVYCKVSVNKAALGAPIEKTSIAKGQPREPVYVTLPSREEMTKNQVSLETCLVKGFYPSDIAVEWE SNICOPENNYKUTPPVILDOSPEFELYSKLUTWDKSRWQQNGNWFCSVIMHEALHNHYTCKSLSISSPC KGCGGGSGGGGSQOMTQSPSILASVGDRVTITCQASOSINNVLAWSYQKPGKAPKLLIYRASTL ASGVPSPRTSGSGSGTDFLITSSLQPELDFATYCCQSYGNYGDFGTGKTVTLGGGGGGGGGS GGGGGGGGGGQVQIQLQESGPGLVKPSETLSLICKVSGFSESGYDMCWIRQPPGKGLEWIGCWN GSSDSTYVANWAKORYTISVDSKKNQFSLKLSSVTAADTAVYTCARHPSDAVYGAANNLWQGQ TLTVSS |
| PRO1138 (3B-02-A04 sc01 IgG4) | | |
| 서열번호 88 | 경화 IgG | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASOSINNVLAWSYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFGSGS GSGTDFTLTISLQPELFATYCCQSYGNYGDFGTGKTVTLGTVAAPSVFIPPSDEQLKSGTAS VVCULLNNFYPREAKYQWKVDNALQGSNSQESVTEQDSKDSKDTYSSLSSTLTLSKADYEKEHKKYAC EVTHQGLSSPVTKSFRGEC |
| 서열번호 89 | 중화 IgG | QWLOQESGPGLYKPKSETLSLICKVSGFSESGYDMCWIRQPPGKGLEWIGCWNAGSVDDITYYASW AKGRFTYSDSSKKNOPSLKLSSVTAADTAYYICARKDAYSDAFLNLWGQGTLTYVSSASTKG PSWFLAPCSRTSESTSEAAALGCLVKKDGFPEPVTSWNSGALTSPVQHPPAVLQFSSVYISSLSSVTVPS PSSLGTTQTYCINVNHKPSNTKWKDRVKPSCDKTHCPCPAPEAAGGSPVFLQPPKPKDTLMSIT PEVTCVYVWDWQEDPEVQFNVWYVTDGVWEMHNAKTKPREFEQNSTYRVSVSLITYLHQDWLNGK EVYCKVSVNKGLLPSIETSKIAKGQPREPVYTLPSQEMTKNQVSLETCLVKGFYPSDIAVEWE NQOPENNYKUTPPVILDSOGSTFLYSLRUTWDRSRWQEGNVFCSVIMHEALHNHYTCKSLSISSPC |

| | |
|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQVNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGOREPQVYTLPSRDELTKNQWSLICLUVKGFTYPSDIAEVES NGOPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNWFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG K |
|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

[0374]

본 발명의 억제 조성에 적합한 PD1 항체의 예(CDR 전기들은 같은 이전체로 표시됨)

| 서열 번호 | Ab 형식 | 시열 |
|------------------|-------------------------------------------|-------------------|
| 37-20-B03 | | |
| 서열번호 90 | HCDR1 (H27-H42; AHO 번호매김) | GFSFNSDYWY |
| 서열번호 91 | HCDR2 (H57-H76; AHO 번호매김) | SIYGGSGNTQYASWAQG |
| 서열번호 92 | HCDR3 (H108-H138; AHO 번호매김) | RGYVVDYGGATDL |
| 서열번호 93 | HCDR1 (AHO 정의) (37-20-B03sc-01) | VSGFNSFNSDYW |
| 서열번호 94 | HCDR1 (AHO 정의) (37-20-B03sc-02) | ASGFNSFNSDYW |
| 서열번호 95 | HCDR2 (AHO 정의) | IVGGSGNTQYASWAQGR |
| 서열번호 96 | HCDR3 (AHO 정의) | GYVVDYGGATD |
| 서열번호 97 | HCDR1 (Kabat 정의) | SDYWY |
| 서열번호 98 | HCDR2 (Kabat 정의) | SIYGGSGNTQYASWAQG |

| | | |
|----------|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 시밀번호 99 | HCDR3 (Kabat 정의) | GYVYDGGATDL |
| 시밀번호 100 | HCDR1 (Chothia 정의) | GPFNSNDY |
| 시밀번호 101 | HCDR2 (Chothia 정의) | GGSSG |
| 시밀번호 102 | HCDR3 (Chothia 정의) | YVDYGGATDL |
| 시밀번호 103 | VH (VH4) (37-20-B03sc01) | QVQLQESGPGLVKPSETLSTICKVSGFNSNDYWWFWRQPPGKLEWVIGSYGGSSGNTQFASW AQQGRNTISVDESSKKNQFSLKLSSVTAADIAVYYCARGYVYDGGATDLWGQGTIVTVSS |
| 시밀번호 104 | VH (VH1) (37-20-B03sc02) | QVQLWQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNSNDYWWFWRQAPGCGLEWMCSIYGSSGNTQY ASWAQGRNTMTRDTISIAYMELSLURSEDTAVYYCARGYVYDGGATDLWGQGTIVTVSS |
| 시밀번호 105 | VH (VH3) (37-20-B03 sc09.1) 출연번호: G56A: Y105F | EVQLVESGGGLVQPGQSLRLSCAASGFNSNDYWWFWRQAPGKGLEWLASTYGGSSGNTQFAS WAGQGRFTISDRNSKNTVYLOMNSLRAEDTAVYFCARGYVYDGGATDLWGQGTIVTVSS |
| 시밀번호 106 | LCDR1 (L24-L42; AHo 번호매김) (Kabat 정의) | QASQSGTLYA |
| 시밀번호 107 | LCDR2 (L58-L72; AHo 번호매김) (Kabat 정의) | RAFILAS |

| | | |
|----------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 시열번호 108 | LCDR3 (L107~L138; AHO 변호매김) (Kabat 정의) | QSNFYSDSTTIGPNA |
| 시열번호 109 | LCDR1 (AHO 정의) | ASQSIGTY |
| 시열번호 110 | LCDR2 (AHO 정의) | RAFLASCVPSR |
| 시열번호 111 | LCDR3 (AHO 정의) | NFYSDDSTTIGPN |
| 시열번호 112 | LCDR1 (Chothia 정의) | SQSIGTY |
| 시열번호 113 | LCDR2 (Chothia 정의) | RAF |
| 시열번호 114 | LCDR3 (Chothia 정의) | NFYSDDSTTIGPN |
| 시열번호 115 | VL (V11-sk17) (37~20~B03sc01) (37~20~B03sc02) | DIQMTOQSPSLASASVGDRTVTTICQASQSIGTYLAWYQQKPGKAPKLLIYRAFILASGVPSRFSGSG SGTDTFTLTISLQPEDFATYYCQSNFYSDDSTTIGPNMAFGTGTKVTVLG |
| 시열번호 116 | VL (V11-sk17) (37~20~B03 sc08, 1) 동연번01: S9A: A51P | DIQMTOQSPSLASASVGDRTVTTICQASQSIGTYLAWYQQKPGKPPKLIIYRAFILASGVPSRFSGSG SGTDTFTLTISLQPEDFATYYCQSNFYSDDSTTIGPNMAFGTGTKVTVLG |
| 시열번호 117 | 링카 | GGGGSGGGGGSGGGGSGGGGS |
| 시열번호 118 | scFv (VL-링카-VH) | DIQMTOQSPSLASASVGDRTVTTICQASQSIGTYLAWYQQKPGKAPKLLIYRAFILASGVPSRFSGSG |

| | | |
|----------|------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 서열번호 126 | [33-03-G02 sc18] HCDR2 (AHo 정의) | VVAGSVVITYASWAKGR |
| 서열번호 127 | HCDR3 (AHo 정의) | KDAYSDAFN |
| 서열번호 128 | HCDR1 (Kabat 정의) | SGYDMC |
| 서열번호 129 | HCDR2 (Kabat 정의) | CVVAGSVVITYASWAKG |
| 서열번호 130 | HCDR3 (Kabat 정의) | KDAYSDAFNL |
| 서열번호 131 | HCDR1 (Chothia 정의) | GFSFSSCY |
| 서열번호 132 | HCDR2 (Chothia 정의) | AGSVD |
| 서열번호 133 | HCDR3 (Chothia 정의) | DAYSDAFN |
| 서열번호 134 | VH (VH4) (33-03-G02 sc01) | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCKVSGFSESSGYDYM CWIRQPPGKCLEWIGCIVVAGSVVITYASW AKGRVITISVDSKKNQFLKLSSTVTAADIAVYYCARKDAYSDFM WQCGTLVTVSS |
| 서열번호 135 | VH (VH4) | QSQLQESGPGLVKPSETLSLTCKASGFSESSGYDYM CWVROPPGKGLEWIACPVAGSVVITYASW |

| | | |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | (133-03 -G02 sc03 전장) (돌연변이: V2S; V25A; 144V; G56A; V82K; F89W; Y105F) | AKGRTITISKDSSKKNQVSLKLSSVTAADTAVYFCARKDAYSDAFAFNWLWGQGTLYTVSS |
| 서열번호 136 | VH (VH4) (133-03 -G02 sc18) 돌연변이 VH: V25A; 144; G56A; V82K; F89W (Aho 번호 해석) | QVOLOQESGPGLVKPSETLSLTCKASGSFESSGIDMCWVROPPGKGLEWLACTVAGSVTDITIAS WAAGRTITISKDSSKKNQVSLKLSSVTAADTAVYFCARKDAYSDAFAFNWLWGQGTLYTVSS |
| 서열번호 137 | LCDR1 (L24-L42; Aho 번호해석) (Kabat 정의) | QASQSINDYLA |
| 서열번호 138 | LCDR2 (L58-L72; Aho 번호해석) (Kabat 정의) | KASTLAS |
| 서열번호 139 | LCDR3 (L107-L138; Aho 번호해석) (Kabat 정의) | QQGYUTIDDNV |
| 서열번호 140 | LCDR1 (Aho 정의) | ASQSINDY |
| 서열번호 141 | LCDR2 (Aho 정의) | KASTLASGVPSPR |

| | | |
|----------|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 서열번호 142 | LCDR3 (Aho 정의) | GYLTIDN |
| 서열번호 143 | LCDR1 (Chothia 정의) | SQSINDY |
| 서열번호 144 | LCDR2 (Chothia 정의) | KAS |
| 서열번호 145 | LCDR3 (Chothia 정의) | GYLTIDN |
| 서열번호 146 | VL (V1- sc17) (33_03_G02 sc01) (33_03_G02 sc18) | DIQMTQSPSSULASVGDRTITCQASQSINDYLAWYQQKPGKSPKLIVKASTL4SGVPSRFSQSG SGTDFLTISLQPEDFATYYCQQGWTIDNPFGTGTVTVLG |
| 서열번호 147 | VL (V1- sc17) (33_03_G02 sc03 전체) (돌연변이 VL: 12F, M4L: A51P) | DFQLTQSPSSULASVGDRTITCQ4ASQSINDYLAWYQQKPGKSPKLIVKASTL4SGVPSRFSQSG SGTDFLTISLQPEDFATYYCQQGWTIDNPFGTGTVTVLG |
| 서열번호 148 | 링커 | GGGCGGGGGGGGGGGGG |
| 서열번호 149 | scFv (VL-링커-VH) (33_03_G02 sc01) | DIQMTQSPSSULASVGDRTITCQASQSINDYLAWYQQKPGKSPKLIVKASTL4SGVPSRFSQSG SGTDFLTISLQPEDFATYYCQQGWTIDNPFGTGTVTVLG QYOLQESGPGLVKPSETLSLICKVSGPXFNSYDmCWIROPPGKGLEWIGCPFAAG3V4DITYTA5W AKGRVNTISVDSKKNQFSKLSSVTAADTAVVYCARKDASD4FNZWGQGTLTVVSS |
| 서열번호 150 | scFv (VL-링커-VH) | DFQLTQSPSSULASVGDRTITCQ4ASQSINDYLAWYQQKPGKSPKLIVKASTL4SGVPSRFSQSG SGTDFLTISLQPEDFATYYCQQGWTIDNPFGTGTVTVLG |

| | | |
|------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | (33-03-G02 sc03 전정) | QSQLQESGPGLVKPSETLSLTCASQFESSGYDWCWVQPPGKGLEWIACVAGSYDITYASW AKGRVITISKDSKKNQSLKLSSVTAADTAVYFCARAKDAYSDAFTWQGQTLTVYSS |
| 서열번호 151 | scFv (VL-필기-VH) (33-03-G02 sc18) | DIOMTOSPSSLASASVGDRTTICQASGSYNDYLAWYQQKPGKAKPLLIYKASTL48GVPSRFSGSG SGTIDFTLTISSLOPEDIATYTCQGWHITDIDNPFGTGKTVTLGGGGSGGGSGGGSGCGS QVQLOQESGPGLVKPSETLSLTCASQFESSGYDWCWVROPPGKGLEWIACVAGSYDITYASW WAKGRVITISKDSKKNQVSLLKSSVTAADTAVYFCARAKDAYSDAFTWQGQTLTVYSS |
| PRO1137(33-03-G02-sc01 IgG1) | | |
| 서열번호 152 | 정체 IgG | DIOMTOSPSSLASASVGDRTTICQASGSYNDYLAWYQQKPGKAKPLLIYKASTL48GVPSRFSGSG GSGIDFTLTISSLOPEDIATYTCQGWHITDIDNPFGTGKTVTLGGGGSGGGSGGGSGCGS ASVYCLLNNFYPREAKKQWKKVDNALQSONSQEVSITEQDSKDSYSSSLSTLTSKADYEVKHY ACEVTHQGLSSPVTKSFRNGEC |
| 서열번호 153 | 증체 IgG | QVQLOQESGPGLVKPSETLSLTCASQFESSGYDWCWIROPPGKGLEWIGCYWAGSYDITYASW AKGRVITISVDSKKNQSLKLSSVTAADTAVYFCARAKDAYSDAFTWQGQTLTVYSSASTKGPV FPLAPSSKSTSGTAAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGYLSVSSVTPSS SLGTTOTYICNWNHHPSENTKYDKEKVEPKSCDKTHICPPCPAPELLGGPSVFLPPKPKDTLMSRTP EVTCVWVDSHEDEPEVKFNWYVIGDEVHNAKTPKPREEQYNTSYRNWSVLTWHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGOPREPOVYTLPSRDELTKNQVSUTCLVKGKGPDSIAWEWESEN GOPENNYKTTPPWLDSDGSFLYSLKLIYDKSRWQGNGVFSCEVMHELNHYTQKSLSLSPGK PRO1196(37-20-B03 sc01 IgG1) |
| 서열번호 154 | 정체 IgG | DIOMTOSPSSLASASVGDRTTICQASGSYNDYLAWYQQKPGKAKPLLIYRafilASGVPSRFSGSG SGTIDFTLTISSLOPEDIATYTCQSNFYSDSSTIGPNAFGIGTKVTVLGTVAAPSVIIPPSDEQIKS GTASWVCLLNNFYPREAKKQWKKVDNALQSGNSOESVTEQDSKDSYSSSLTTSKADYEVKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFRNGEC |
| 서열번호 155 | 증체 IgG | QVQLOQESGPGLVKPSETLSLTCASQFESSGYDWCWIROPPGKGLEWIGCYWAGSYDITYASW AKGRVITISVDSKKNQSLKLSSVTAADTAVYFCARAKDAYSDAFTWQGQTLTVYSSASTKGPV FPLAPSSKSTSGTAAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGYLSVSSVTPSS SSLGQTQTYICNWNHHPSENTKVDEKWEPKSCDKTHICPPCPAPELLGGPSVFLPPKPKDTLMSRTP |

[0382]

본 출원의 텍스트 전반에 걸쳐, 명세서 텍스트(예컨대 표 1~ 표 3)와 서열 목록 사이의 불일치가 존재하면, 명세서 텍스트가 우선되어야 할 것이다.

[0384]

명확함을 구현하기 위해 별도의 구현예들의 내용에 기술된 본 발명의 임의의 특징들은 또한 하나의 구현예와 조합하여 제공될 수 있음이 인식된다. 거꾸로 말하면, 간략함을 도모하기 위하여 하나의 구현예의 내용에 기술된 본 발명의 다양한 특징은 또한 별도로 제공될 수 있거나 임의의 적합한 하위 조합을 통해 제공될 수 있다. 본 발명에 관한 구현예들의 모든 조합들은, 특히 본 발명에 의해 포함되고, 마치 각각의 조합과 모든 조합들이 개별적으로나 명백하게 개시되어 있는 것처럼 본원에 개시되어 있다. 더욱이 다양한 구현예 및 이를 이루는 요소의 모든 하위 조합도 또한 본 발명에 의해 특별히 포함되고, 마치 각각의 하위 조합과 모든 하위 조합이 개별적으로나 명백하게 개시되어 있는 것처럼 본원에 개시되어 있다.

[0385]

본 발명은 본원에 기술된 구체적 구현예들이 이루는 범위에 제한되지 않을 것이다. 실제로 본원에 기술된 변형 이외의 본 발명의 다양한 변형은 전술된 발명의 설명을 통해 당 업자들에게 명료해질 것이다. 이러한 변형은 첨부된 특허 청구의 범위 안에 속하도록 의도된다.

[0386]

본원에 인용된 모든 특허, 특허출원, 간행물, 시험 방법, 문헌 및 기타 자료들은 각각의 특허법하에서 허용될 수 있는 정도로 본원에 참조로 인용되어 있다.

[0387] 하기 실시예들은 전술된 본 발명을 설명하는 것이지, 본 발명의 범위를 어떤 방식으로든 제한하고자 하는 것은 아니다. 당 업자에게 공지되어 있는, 보통 말하는 그런 시험 모델로서 기타의 것도 또한 청구된 발명의 유리한 효과를 확정할 수 있다.

[0388] **실시예**

[0389] **인간 CD137에 대항하여 유도된 신규 항체**

[0390] **실시예 1: 인간 CD137에 대항하여 유도된 토끼 항체의 생성**

[0391] 재조합 생산하여 정제한 인간의 CD137 세포외 도메인(Peprotech, cat.310-15-1MG)으로 토끼를 면역화하였다. 면역화 과정 중 항원에 대항하는 체액성 면역 반응의 세기를, 폴리클로날 형청중 항체와 항원의 측정 가능한 결합을 여전히 보였던 각각의 토끼 혈청에 대한 최고 희석률(역가)을 확정함으로써 정량적으로 평가하였다. 면역화한 항원(재조합 인간 CD137 ECD)에 대항하는 혈청중 항체의 역가를 효소결합 면역흡착검정(ELISA)을 이용하여 평가하였다. 면역화한 토끼 모두는 매우 높은 역가, 즉 적어도 1:702'175의 혈청중 희석률을 보였다. 1차 항원 주입 전 동일한 토끼로부터 채취한 혈청은 백그라운드 대조군으로 사용하였다.

[0392] **실시예 2: 히트의 동정 및 선택**

[0393] 히트의 동정 절차의 일환으로, 고 친화성 CD137 ECD 결합 B 세포를 특이적으로 검출하고 이의 단리를 허용하는 유세포분석법 기반 분류 과정을 진행하였다. CD137 결합 B 세포를 동정하기 위해 CD137 ECD를 형광염료인 R-피코에리트린(R-PE)으로 표지화하였다. 표지화된 CD137상 항 CD137 항체의 결합 부위뿐 아니라 CD137L 결합 부위는 부피가 큰 R-PE 표지에 의해 잠재적으로 차단될 수 있었으므로, 에프토프의 접근가능성을 유세포분석법으로 확인하였다. 인간 IgG1, 우렐루맙, 토끼 폴리클로날 항 인간 CD137 또는 염소 폴리클로날 항 인간 CD137의 Fc부에 융합된 CD137L ECD를 단백질 G 비드상에 포착하고 나서, R-PE 표지화 CD137의 결합을 유세포분석법에 의해 확인하였다. 형광 세기는 비드상에 부동화한 CD137들과 결합한 표지화 CD137의 양에 비례하였다. CD137과, CD137L 및 항 CD137 항체의 결합이 확인되었는데, 이때 RPE 표지화 CD137과 인플릭시맙의 결합은 검출되지 않았다.

[0394] **스크리닝:**

[0395] 고처리량 배양의 규모는 개별 토끼 항체의 정제를 허용하지 않았으므로, 스크리닝 단계 중 얻어진 결과들은, 항체 분비 세포(ASC)의 배양 상청액 유래 미정제 항체로 수행된 검정을 기반으로 한 것이었다. 이러한 상청액은 항체 다수의 서로에 대한 순위 매김을 허용하였으나, 결합 친화성을 제외한 절대 값을 제공하지는 못하였다. 적어도 4주 동안의 과정에서, 개별적으로 배양한 클론 모두로부터 상청액을 수집하였다. 배양 기간의 막바지에 각각의 세포 배양 상청액 중 토끼 모노클로날 항체를 대상으로 고 처리량 ELISA를 수행하여, 재조합 인간 CD137 ECD와의 결합에 대해 특성규명하였다. CD137 결합 상청액을 대상으로 인간 CD137 및 사이노몰거스 CD137에 대한 결합 역학에 대해 추가로 특성규명하였다. 뿐만 아니라, 경쟁 ELISA에 의해 CD137L 뿐 아니라 우렐루맙에 대한 CD137 상호작용의 중화 잠재성을 확정하였다. 안정적으로 형질도입된 Jurkat 세포상에 발현된 막성 CD137과의 결합도 또한 평가하였다. 상청액 중 마우스 CD137 결합 잠재성을 직접 ELISA에 의해 분석하였으며, 오로지 양성인 상청액에 대해서만 결합 역학을 확정하였다.

[0396] **직접 ELISA**

[0397] 4°C에서 밤새도록 250 ng/ml의 인간 CD137(Peprotech, cat.310-15-1MG)을 함유하는 PBS 50 μ l를 첨가하여 ELISA 평판을 코팅하였다. 다음 날, 평판에 세척 완충제(PBS, 0.005% Tween 20 포함) 웨딩 300 μ l를 범람(overflow) 방식으로 흘려 평판을 3회 세척하였으며, RT에서 1시간 동안 차단 완충제(PBS, 1% BSA, 0.2% Tween 20) 270 μ l를 각각의 웰에 첨가하였다. 그 다음, 세척 완충제 300 μ l를 범람 방식으로 흘려 평판을 3회 세척 하였으며, 각각의 상청액 50 μ l씩을 첨가한 후, 평판을 RT에서 1.5시간 동안 항온처리하면서, 가만히 진탕을 수행하였다. 세척 완충제 300 μ l를 범람 방식으로 흘려 평판을 3회 세척한 후, 차단 완충제 중 1:5,000 희석한 HRP 커플링 염소 항 토끼 IgG 항체 50 μ l를 각각의 웰에 첨가하였다. RT 및 뉴테이팅 막서에서 1시간 동안 항온처리한 후, 웨딩 300 μ l의 세척 완충제를 범람 방식으로 흘려 평판을 세척한 후, TMB(3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘) 50 μ l를 첨가하였다. 5분 ~ 10분 동안 진행한 후, 여기에 웨딩 1M HCl 50 μ l씩을 첨가하여 효소 반응을 중단시켰고, 기준 파장을 690 nm로 삼아 450 nm에서 평판을 판독하였다.

[0398] ***hCD137에의 친화성(SPR에 의한 분석)***

[0399] 인간 CD137에 대한 항체의 결합 친화성을, MASS-1 SPR 기기(Sierra Sensors)를 사용하는 SPR에 의해 측정하였

다. 친화성 스크리닝을 위해 표준적 아민 커플링 방법을 이용하여 토끼 IgG의 Fc 영역에 특이적인 항체(Bethyl Laboratories, Cat. No. A120-111A)를 센서 칩(MASS-1 Affinity Sensor, High Capacity Amine, Sierra Sensors)에 부동화시켰다. 부동화한 항 토끼 IgG 항체로써 B 세포 상청액 중 토끼 모노클로날 항체를 포착하였다. B 세포 상청액 중 최저 IgG 농도는 충분한 포착을 허용하는데 필요하였다. 모노클로날 항체를 포착한 다음, 인간 CD137 ECD(Peprotech, cat. 310-15-1MG)를 3분 동안 유세포에 주입하였으며(농도 90 nM), 센서 칩상에 포착된 IgG로부터의 단백질 해리를 5분 동안 진행시켰다. 매 주입 주기 후, 10 mM 글리신-HCl을 2회 주입하여 표면을 재생하였다. 겉보기 해리 속도 상수(k_d) 및 겉보기 결합 속도 상수(k_a), 그리고 겉보기 해리 평형 상수(K_D)를, 1:1 랑비르 결합 모델을 이용하여 MASS-1 분석 소프트웨어(Analyzer, Sierra Sensors)로 산정하였으며, 피팅의 품질은 상대적 Chi²(즉 피분석물의 외삽된 최고 결합 수준에 대해 정규화된 Chi²)를 기반으로 모니터링하였는데, 여기서 상대적 Chi²는 곡선 피팅의 품질에 대한 척도이다. Chi²에 대한 값이 작으면, 1:1 랑비르 결합 모델에 더욱 정확하게 피팅된다. 히트의 대부분에 있어서 상대적 Chi² 값은 15% 이하였다. 만일 리간드 결합에 대한 반응 단위(RU)가 항체 포착에 대한 RU의 적어도 2%라면, 결과를 유효한 것으로 여겼다. 리간드 결합에 대한 RU가 항체 포착에 대한 RU의 2% 미만인 시료는 포착된 항체에 대한 CD137의 특이적 결합을 보이지 않는 것으로 간주하였다.

CD137/CD137L 경쟁 ELISA

[0400] CD137/CD137L 경쟁 ELISA

[0401] 4°C에서 밤새도록 50 ng/ml의 CD137 Fc 키메라(R&D Systems, cat. 838-4B-100)를 함유하는 PBS 50 μl를 첨가하여 ELISA 평판을 코팅하였다. 다음 날, 평판에 세척 완충제(PBS, 0.005% Tween 20) 450 μl를 웨일 범람 방식으로 흘려 평판을 3회 세척하였으며, RT에서 1시간 동안 뉴테이팅 믹서에서 차단 완충제(PBS, 1% BSA 및 0.2% Tween 20 포함) 300 μl를 각각의 웰에 첨가하였다. 그 다음, 양성 대조군(중화 염소 항 CD137 항체)을 100%의 음성 상청액(분류번호 38) 중에 희석한 다음, 결합 평판의 대응하는 웰들에 중화 항체 50 μl를 첨가하였다. 또한 양성 히트 상청액 50 μl를 결합 평판에 옮긴 후, RT에서 1시간 동안 진탕 항온처리하였다. 그 다음, 세척 완충제 450 μl를 웨일 범람 방식으로 흘려 ELISA 평판을 3회 세척하였으며, 차단 완충제 중 희석한 20 ng/ml의 바이오틴화 재조합 인간 CD137 리간드(Acro Biosystems, cat. 41L-H5257) 50 μl를 웰에 첨가하였다. RT에서 1시간 동안 진탕 항온처리한 다음, 세척 완충제 450 μl를 웨일 범람 방식으로 흘려 ELISA 평판을 3회 세척하였다. 이후 차단 완충제 중 희석한 10 ng/ml의 스트렙타비딘-폴리HRP 50 μl를, ELISA 평판의 각각의 웰에 첨가하였다. RT에서 1시간 동안 항온 처리한 후, 평판을 세척 완충제 450 μl로 3회 세척한 다음, TMB 50 μl를 첨가하여 5분 ~ 10분 동안 전개시켰다. 마지막으로 여기에 1M HCl 50 μl를 첨가하여 효소 반응을 중단시켰고, 기준 파장을 690 nm로 삼아 450 nm에서 평판을 판독하였다.

종간(사이노) 특이성(SPR에 의한 분석)

[0402] 사이노몰거스 CD137에 대한 결합 역학도 또한, 인간 CD137에 대한 결합에 관하여 기술한 바와 동일하되, 다만 인간 CD137 ECD를 사이노몰거스 원숭이 CD137 ECD(Acro Biosystems, cat. 41B-C52H4)로 바꾼 SPR 환경을 적용하여 확정하였다.

우렐루맙 경쟁 ELISA

[0403] 4°C에서 밤새도록 2 μg/ml 우렐루맙(Evitria 제조, Schlieren, Switzerland) 함유 PBS 50 μl를 첨가하여 ELISA 평판을 코팅하였다. 다음 날, 세척 완충제 (PBS, 0.005% Tween 20) 450 μl를 웨일 범람 방식으로 흘려 평판을 3회 세척하였으며, 차단 완충제(1% BSA 및 0.2 Tween 20 포함 PBS) 300 μl를 뉴테이팅 믹서 및 RT에서 1시간 동안 각각의 웰에 첨가하였다. 그 다음, 우렐루맙을 분류번호 38의 음성 상청액(95%)에 희석한 다음, 스파이킹(spiking)하고, 5% 바이오틴화 CD137 ECD(Peprotech, cat. 310-15-1MG) 7.5 ng/ml와 함께 1시간 동안 예비 항온처리하고 나서, 결합 평판의 대응하는 웰들에 첨가하였다. 또한 양성 히트 상청액 55 μl도 또한 스파이킹한 다음, 5% 바이오틴화 CD137 ECD 7.5 ng/ml와 함께 1시간 동안 예비 항온처리한 후, 결합 평판으로 옮기고, RT에서 1시간 동안 진탕 항온처리하였다. 그 다음, 세척 완충제 450 μl를 웨일 범람 방식으로 흘려 ELISA 평판을 3회 세척하였다. 그 다음, 차단 완충제 중 희석한 10 ng/ml 스트렙타비딘-폴리HRP 50 μl를 ELISA 평판의 각각의 웰에 첨가하였다. RT에서 1시간 동안 항온 처리한 다음, 평판을 세척 완충제 450 μl로 3회 세척한 후, 여기에 50 μl TMB를 첨가하고서 5분 ~ 10분 동안 전개시켰다. 마지막으로 여기에 1M HCl 50 μl를 첨가하여 효소 반응을 중단시켰고, 기준 파장을 690 nm로 삼아 450 nm에서 평판을 판독하였다.

FC에 의한 세포 기반 결합 검정: 인간 CD137

[0407]

방법: Jurkat 야생형(CD137을 발현하지 않는 대조군 세포) 및 Jurkat CD137 세포(클론 C6, 1)를 수집한 다음, 세포 수를 확정하였다. 세포 혼탁액을 400xg에서 5분 동안 원심분리한 다음, PBS-EB(1x DPBS, 2% BCS H.I., 2 mM EDTA) 중에 회색한 세포 혼탁액(40,000개 세포) 40 μ l를 비 결합 평판의 지정한 웰에 첨가하였다. 분류번호 38의 양성 히트로부터 유래한 상청액을 평판 레이아웃에 따라 96웰 평판에 바로 옮겼다. 양성 대조군 시료(우렐루맙)를 PBS-EB에 희석하고 나서, 평판에 옮겼는데, 이때 최종 시료는 분류번호 38의 음성 상청액(95%)이었다. 4°C에서 1시간 동안 항온처리한 다음, PBS-EB 100 μ l를 사용하여 평판을 3회 세척하였다. 그 다음, 세포 펠릿을, 농도 2 μ g/ml의 2차 항체 용액 50 μ l로 재현탁하고 나서(B 세포 클론: AF647로 표지화한 염소 항 토키 IgG; 우렐루맙: PE로 표지화한 염소 항 인간 IgG), 4°C에서 1시간 동안 항온처리하였다. 그 다음, PBS-EB 100 μ l를 사용하여 세포를 다시 3회 세척하였다. 그 다음, 세포 펠릿을 PBS-EB 50 μ l으로 재현탁한 후, NovoCyte 2060 유세포분석 디바이스로 분석하였다. 각각의 시료에 대해 20,000회 이벤트(event)에 대한 PE 및 AF647의 형광 세기를 기록하였으며, 형광 세기의 기하 평균 MFI를 산정하였다. 데이터를 우선 비특이적 항체 결합(블랭크 및 Jurkat 야생형 세포 결합)에 대해 보정하였으며, 이후 우렐루맙에 대해 얻어진 결합 수준에 대해 정규화하였다.

[0408]

직접 ELISA 마우스 CD137

[0409]

250 ng/ml 마우스 CD137(AcroBiosystem, cat. 41B-M52H7) 함유 PBS 50 μ l를 4°C에서 밤새도록 첨가하여 ELISA 평판을 코팅하였다. 다음 날, 세척 완충제(PBS, 0.005% Tween 20) 300 μ l를 웰당 범람 방식으로 흘려 평판을 3회 세척하였으며, 차단 완충제(PBS, 1% BSA, 0.2% Tween 20) 270 μ l를 각각의 웰에 1시간 동안 RT에서 첨가하되, 단 진탕은 수행하지 않았다. 그 다음, 세척 완충제 300 μ l를 범람 방식으로 흘려 평판을 3회 세척하였으며, 각각의 상청액 50 μ l씩을 여기에 첨가한 후, 평판을 RT에서 1.5시간 동안 항온처리하되, 단 이때 가만히 진탕을 진행시켰다. 세척 완충제 300 μ l를 흘려 범람 방식으로 3회 세척한 다음, 차단 완충제 중 1:5,000 회색한 HRP-커플링 염소 항 토키 IgG 항체 50 μ l를 각각의 웰에 첨가하였다. 뉴테이팅 믹서상 RT에서 1시간 동안 항온처리한 후, 세척 완충제 300 μ l를 웰당 범람 방식으로 흘려 평판을 3회 세척한 후, 여기에 TMB 50 μ l를 첨가하였다. 5분 ~ 10분 동안 진행한 후, 여기에 웰당 1M HC1 50 μ l씩을 첨가하여 효소 반응을 중단시켰고, 기준 파장을 690 nm로 삼아 450 nm에서 평판을 판독하였다. 본 검정에서 85개 B 세포 클론으로부터 유래한 상청액에서는 명백히 백그라운드보다 더 큰 신호가 발생하였다(> 0.1 OD).

[0410]

종간(마우스) 특이성(SPR에 의한 분석)

[0411]

마우스의 CD137에 대한 결합 역학도 또한, 인간 CD137에 대한 결합에 관하여 기술한 바와 동일하되, 다만 인간 CD137 ECD를 마우스 CD137 ECD(Acro Biosystems, cat. 41B-M52H7)로 바꾼 환경을 적용하여 확정하였다.

[0412]

스크리닝 히트의 선택

[0413]

B 세포 상청액 중 최종 클론의 모노콜로날 항체의 약리학적 특성을 표 4에 제시하였다. 다음 단계에서, 선택한 클론들(38-02-A04 및 38-27-C05)을 RNA 단리 및 RT-PCR을 위해 사용하여, 토키 항체 경쇄 및 중쇄 가변 영역들의 서열을 증폭하였다.

[0414]

실시예 3: 인간화를 위한 클론의 선택

[0415]

히트 스크리닝 동안에 얻어진 데이터를 기반으로, VH4 또는 VH3 기반 틀에 CDR을 이식함으로써 마우스 교차 반응성 CD137 결합체 2개, 즉 38-02-A04 및 38-27-C05를 인간화한 다음, 항 PDL1 도메인과 함께 scDb 포맷에 심었다. 뿐 아니라, 선택한 클론의 CDR 영역들도 VH3 기반 틀에 이식하여 scFv 포맷으로 만들었다. 최고의 친화성과 효능을 달성하기 위하여, 인간 CD137에 최대 친화성을 보였던 클론 1개(scDb, 즉 38-02-A04)에 대해 2개의 상이한 구조적 이식편(STR 및 IF 이식)으로 추가의 최적화를 수행하였다.

[0416]

다음과 같은 클론 38-02-A04에 대한 이식 변이체를 만들었는데: CDR 이식편 - 인간 틀 상에의 토키 CDR 이식; IF 이식 - CDR 이식 + 모든 토키 VL/VH 계면 잔기의 이식; 전체 이식 - CDR 이식 + AHo 인간화 프로토콜에 따른 틀 잔기(항원 계면(AIF) 잔기((AHo에 따르면) 항원과 잠재적으로 접촉하는 토키 잔기)는, 돌연변이 총 횟수를 줄이기 위해 계면 형성시의 용매 접근성이 20% 초과하여 변경된 잔기(토키 틀 잔기)에 제한적이었다). 변이체 38-02-A04 sc09 및 38-02-A04 sc13은 둘 다 VH3 기반 틀상의 CDR 이식편으로서, 38-02-A04 sc13은 VH에 G51C 돌연변이(AHo 번호매김)를, 그리고 VL 사슬에 T141C 돌연변이(AHo 번호매김)를 포함하여, 틀 영역 내에 인공 도메인간 이황화 가교 형성을 유도하였다. 놀랍게도, 도메인간 이황화 가교를 포함하는 38-02-A04 sc13은 열 안정성이 유의미하게 증가하였음이 확인되었다.

[0417] (이하 표 5에 명시된 바와 같이) 작은 규모로 밤새도록 유도성 발현을 진행하여 이.콜라이에서 단백질의 불용성 봉입체로서의 이종 발현을 수행하였다. 균질화한 세포 펠릿으로부터 원심분리 프로토콜(세포 파편 및 기타 숙주 세포 불순물 제거를 위한 세척 단계 수 회 포함)에 따라 봉입체를 단리하였다. 정제한 봉입체를 변성 완충제 중에서 가용화하였으며, 원래대로 폴딩된 단량체 scFv가 밀리그램 단위의 양만큼 생성되는, 규모를 바꾸어도 난조가 생기지 않는(scalable) 리폴딩 프로토콜에 의해 scFv를 리폴딩하였다. 이 시점에서, 표준화한 프로토콜을 이용하여 scFv를 정제하였다. 리폴딩 후 생성물을 친화성 크로마토그래피에 의해 포착하여, 정제 scFv를 수득하였다. 표 5는 scFv 분자의 제조를 요약한 것이다. CHOgro 일시 형질감염 키트(Mirus)를 사용하여 포유류 구조체 발현을 CHO-S 세포에서 수행하였다. 37°C에서 발현을 5일 ~ 7일 동안 진행시킨 후 원심분리에 의해 배양액을 수집하였으며(세포 생존률: < 70%), 청정화한 배양 상청액으로부터, 단백질 L 친화성 크로마토그래피 후, 필요하다면 크기별 배제 크로마토그래피에 의한 폴리싱(polishing)에 의해 단백질을 정제하였다. 제조된 재료의 품질 관리를 위해 표준 분석 방법, 예컨대 SE-HPLC, UV280 및 SDS-PAGE를 사용하였다.

[0418] 실시예 4: 인간화된 scFv의 약동학적 특성규명

[0419] 4.1 인간 CD137에 대한 친화성

[0420] 인간 CD137에 대한 인간화 scFv의 친화성을 SPR 분석에 의해 T200 디바이스(Biacore, GE Healthcare) 상에서 확정하였다. 이 실험에서, Fc 태깅한 인간 CD137(R&D Systems, cat. 838-4B-100)을 인간 항체 포착 키트(GE healthcare)(cat. BR-1008-39)를 이용하여 포착하였다. 매 피분석물 주입 주기 이후, 항 인간 Fc 특이적 IgG를 재생하고 나서, 새로운 항원을 포착시켰다. 포착한 CD137에 대한 용량 반응 다 주기 역학 검정을 이용하여 scFv를 피분석물로서 주입하였는데, 이때 전개 완충제중에 희석한 피분석물의 농도는 0.19 nM ~ 45 nM였다(3배 희석 단계). 결합 시간 및 해리 시간을 각각 300초 및 720초로 설정하였다. 얻어진 센서그램을 1:1 결합 모델을 사용하여 피팅하였다. 표 6에 데이터를 보였다.

[0421] 4.2 중간 교차 반응성(사이노몰거스 원숭이 및 마우스 CD137에의 결합)(SPR에 의한 분석)

[0422] 인간 CD137에 대한 결합을 측정하는데 사용되었던 검정과 유사한 검정에서 사이노몰거스 원숭이 Fc 태깅한 CD137(R&D Systems, cat. 9324-4B-100)로써 사이노몰거스 CD137에 대한 교차 반응성을 측정하였다. 표 7은 시험대상 scFv 모두에 대해 얻어진 친화성을 요약한 것이다.

[0423] 동계 마우스 암 모델에서 항체를 시험하는데에는 마우스 CD137에 대한 교차 반응성이 필요하였기 때문에, 직접 인간화를 위한 클론 선택을 기반으로 생성된 scFv를, 마우스 CD137에의 결합에 대해 시험하였다. 인간 CD137에의 결합을 측정하는데 사용된 검정과 유사한 검정에서, 마우스 Fc 태깅 마우스 CD137(R&D Systems, cat. 937-4B-050)로써 마우스 CD137에 대한 교차 반응성을 측정하였다. 표 8은 시험대상 scFv 모두에 대해 얻어진 친화성을 요약한 것이다.

[0424] 4.3 CD137/CD137L 상호작용의 중화(경쟁 ELISA에 의한 분석)

[0425] 항 인간 CD137 scFv가 CD137과 CD137L의 결합을 방해하지 않았음을 보여주기 위해, 경쟁 ELISA를 이용하였다. 시판중인 억제 폴리클로날 항 CD137 염소 항체(Anti-bodies online, Cat# ABIN636609)를 기준 항체로 사용하였다. 실험 환경과 관련하여, 50 ng/ml의 인간 CD137(Fc 태깅, R&D Systems, cat. 838-4B-100)을 밤새도록 ELISA 평판에 코팅한 다음, scFv의 3배 연속 희석 단계(시작 농도: 50 μg/ml)의 희석액을 ELISA 평판에 첨가하였다. 이후 바이오틴화 CD137L(회사 자체 바이오틴화한 CD137L, AcroBiosystem, cat. 41L-H5257)을 첨가하고 나서, 이에 결합한 리간드를 스트렙타비딘-HRP를 첨가하여 검출하였다. 마지막으로 HRP 기질 TMB를 첨가하였다. 5분 동안 전개시킨 후, 1 M HCl 용액으로 반응을 중단시켰다. 기준 파장을 690 nm로 삼아 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 데이터를 표 9에 제시하였다. 38-02-A04를 기반으로 하는 scFv는 CD137/CD137L 상호작용을 차단하지 않았다.

[0426] 4.4 인간 CD137 발현 세포에의 결합(유세포분석에 의한 분석)

[0427] 인간 CD137 발현 세포에 대한 결합 효능 친화성도 또한, 선택한 scFv에 대해 확정하였다. CD137 발현 Jurkat 세포(또는 기준 세포주 Jurkat NFAT) 50,000개를, 둥근 바닥 비 조직 배양액 처리 96웰 평판에 분배하였다. 세포를 100 μl PBS로 원심분리(400 x g, 5분)에 의해 2회 세척하였다. 시험대상 scFv의 염색 완충제(PBS, 2% BCS 열 비활성화, 2 mM EDTA) 중에 제조한 5배 연속 희석 단계 희석액 100 μl 및 대조군 IgG 우렐루맙 100 μl 중에 세포를 재현탁하였는데, 이때의 농도 범위는 10,000 ng/ml ~ 0.64 ng/ml였다(scFv: 381.19 nM ~ 0.02 nM). 뉴테이팅 믹서상에서 1시간 동안 항온처리(4°C)한 다음, 염색 완충제 100 μl로 세포를 3회 세척하였으며, 원심

분리 단계를 수행하였다(5분, 400 x g). 그 다음, scFv로 처리한 세포를, 0.5 μ g/ml APC 표지화 단백질-L 함유 염색 완충제 100 μ l 중에 재현탁한 다음, 우렐루맙(인간 IgG4)으로 처리한 세포를 2 μ g/ml 염소 항 인간 IgG(APC 표지화) 함유 염색 완충제 100 μ l 중에 재현탁하였다. 평판을 뉴테이팅 딕서상에서 1시간 동안 항온처리(4°C)한 다음, 염색 완충제 100 μ l로 3회 세척한 후, 염색 완충제 중에 재현탁하여 최종 부피 50 μ l로 만들었다. 마지막으로, 웰당 20,000회 이벤트 APC 신호를, Novocyte 유세포분석 시스템(ACEA Bioscience)을 사용하는 유세포분석법으로 분석하였다. 각각의 평판상에서의 개별 EC₅₀ 값을, 각각의 평판마다 취한 기준 분자 우렐루맙의 EC₅₀에 대해 보정하였다(상대적 EC₅₀: EC₅₀, 우렐루맙/EC₅₀, 시험 scFv).

[0428] 표 10에 요약되어 있는 바와 같이, 38-02-A04 클론을 기반으로 하는 scFv의 경우 CD137 발현 세포에의 결합을 확인할 수 있었다.

4.5 CD137에 대한 선택성 대 CD40 및 OX40에 대한 선택성(SPR에 의한 분석)

[0429] 사이노몰거스 원숭이 CD137에 대한 교차 반응성에 더하여, 항 인간 CD137 scFv의 (TNFR 상과의 다른 일원들, 예컨대 CD40 및 OX40이 아닌) 인간 CD137에 대한 결합 선택성이 요망되었다. 따라서 선택한 scFv와 인간 CD40 및 OX40의 결합을 시험하였다. scFv와, 인간 Fc 태깅 CD40(AcroBiosystems, cat. CD0-H5253) 및 인간 Fc-태깅 OX40(Acro-Biosystems, cat. OX0-H5255)의 결합을, T200 디바이스(Biacore, GE Healthcare) 상 SPR 분석으로 확정하였다. 이 실험에서, Human Antibody Capture 키트(GE healthcare사)(cat. BR-1008-39)를 사용하여 Fc 태깅 CD40 및 OX40을 포착하였다. 매 피분석물 주입 주기 이후, 항 인간 Fc 특이적 IgG를 재생하고 나서, 새로운 항원을 포착시켰다. 전개 완충제중에 희석한 고농도 피분석물(180 nM)을 사용하여 scFv를 피분석물로서 주입하였다. 결합 시간 및 해리 시간을 각각 300초 및 720초로 설정하였다. 얻어진 센서그램을 1:1 결합 모델을 사용하여 피팅하였다. 표 11에 요약된 바와 같이, 38-02-A04 클론을 기반으로 한 scFv에 대한, 인간 Fc 태깅 CD40 또는 인간 Fc 태깅 OX40의 결합은 관찰되지 않았다.

표 4

| 글로벌ID | 인간CD137에 대한 친화성(SPR) | | |
|-----------|---------------------------------------------|-----------------------------|--------------|---------------------------------------------|-----------------------------|--------------|---------------------------------------------|-----------------------------|--------------|---------------------------------------------|-----------------------------|--------------|
| | k_a [M ⁻¹ s ⁻¹] | k_d [s ⁻¹] | K_0 [M] | k_a [M ⁻¹ s ⁻¹] | k_d [s ⁻¹] | K_0 [M] | k_a [M ⁻¹ s ⁻¹] | k_d [s ⁻¹] | K_0 [M] | k_a [M ⁻¹ s ⁻¹] | k_d [s ⁻¹] | K_0 [M] |
| 38-02-A04 | 4.38E-05 | 1.00E-06 | 2.29E-12 | 1.26E-05 | 1.00E-05 | 7.54E-12 | 3.46 | 8.85E-04 | 1.00E-06 | 1.13E-11 | 0.30 | 17.02 |
| 38-27-C05 | 5.36E-05 | 2.88E-04 | 4.80E-10 | 2.58E-05 | 1.96E-04 | 8.20E-10 | 1.72 | 1.08E-05 | 2.43E-04 | 2.25E-09 | 0.21 | 3.22 |
| | | | | | | | | | | | | 87.44 |

표 5

| 출판 ID | 단백질 ID | 044 전략 | 발현 부피 [mL] | 발현 계 | 단백질L 후 단백질 양 [mg] | 단백질L 후 수득량 [mg/L] | | 최종 수득량 [mg] | 발현액에 따른 1L당 수득량 [mg/L] | 순도 SE-HPLC [단백질 %] |
|----------------|---------|--------------------------------|---------------|------|-------------------------|-------------------------|-------------|-------------------|------------------------------|-------------------------|
| | | | | | | SEC (Yield/Normal) | 수득량 [mg] | | | |
| 38-02-A04-sc01 | PRO1180 | CDR | 12.00 | BL21 | 8.2 | 6.8 | 0.1 | 0.0 | 90.0 | |
| 38-02-A04-sc05 | PRO1181 | IF | 12.00 | BL21 | 9.3 | 7.8 | 4.7 | 3.9 | 88.0 | |
| 38-02-A04-sc06 | PRO1182 | 전체 | 12.00 | BL21 | 19.8 | 16.5 | 5.6 | 4.7 | 95.0 | |
| 38-02-A04-sc09 | PRO1348 | CDR | 200 | CHO | 16.6 | 83.1 | N | 8.0 | 97.0 | |
| 38-02-A04-sc13 | PRO1352 | ID dS 및 CDR | 200 | CHO | 12.2 | 61.0 | Y | 3.9 | 99.1 | |
| 38-27-C05-sc03 | PRO1038 | CDR, FTO, <small>호르몬01</small> | 12.00 | BL21 | 30.7 | 6.1 | Y | 12.1 | 10.1 | 98.8 |

표 6

| 클론ID | 단백질ID | 율 | 이식 전략 | 인간CD137에 대한 친화성(SPR) | | | 이론상 Rmax에 정규화된 결합수준 |
|----------------|---------|---------|-----------|---------------------------|--------------------|---------------|---------------------------|
| | | | | k_a [$M^{-1} s^{-1}$] | k_d [s^{-1}] | K_D [M] | |
| 38-02-A04-sc01 | PRO1180 | VH4 | CDR | 3.50E+05 | 4.80E-04 | 1.37E-09 | 133.1% |
| 38-02-A04-sc05 | PRO1181 | VH4 | IF | 1.44E+05 | 2.58E-05 | 1.79E-11 | 85% |
| 38-02-A04-sc06 | PRO1182 | VH4 | 전체 | 7.40E+05 | 1.80E-04 | 2.44E-10 | 80.4% |
| 38-02-A04 sc09 | PRO1348 | VH3 | CDR | 7.01E+05 | 1.03E-03 | 1.47E-09 | 83.5% |
| 38-02-A04 sc13 | PRO1352 | VH3 | diS 및 CDR | 4.85E+03 | 2.97E-09 | 64.7% | |
| 38-27-C05-sc03 | PRO1038 | VH3 FTO | CDR | 1.63E+06 | | | |

표 7

사이노몰거스 원숭이 CD137에 대한 scFv의 친화성

| 사이노몰거스 원숭이 CD137에 대한 친화성(SPR) | | | | | | | |
|-------------------------------|---------|---------|-----------|---------------------------|--------------------|-----------|---------------------------|
| 클론ID | 단백질ID | 클론ID | 이식 전략 | k_a [$M^{-1} s^{-1}$] | k_d [s^{-1}] | K_D [M] | 이론상 R_{max} 에 정규화된 결합수준 |
| 38-02-A04-sc01 | PRO1180 | VH4 | CDR | | 발현되지 않음 | | |
| 38-02-A04-sc05 | PRO1181 | VH4 | IF | 3.88E+05 | 5.30E-04 | 1.36E-09 | 112.5% |
| 38-02-A04-sc06 | PRO1182 | VH4 | 전체 | 1.29E+06 | 1.83E-05 | 1.42E-11 | 79.9% |
| 38-02-A04 sc09 | PRO1348 | VH3 | CDR | | 측정되지 않음 | | |
| 38-02-A04 sc13 | PRO1352 | VH3 | CDR 및 diS | 6.95E+05 | 1.02E-03 | 1.47E-09 | 85.2% |
| 38-27-C05-sc03 | PRO1038 | VH3 FTO | CDR | 1.20E+06 | 7.31E-03 | 6.07E-09 | 69.2% |

[0434]

표 8

마우스 CD137에 대한 scFv의 친화성

| 마우스 CD137에 대한 친화성(SPR) | | | | | | | |
|------------------------|---------|---------|-----------|---------------------------|--------------------|-----------|---------------------------|
| 클론ID | 단백질ID | 클론ID | 이식 전략 | k_a [$M^{-1} s^{-1}$] | k_d [s^{-1}] | K_D [M] | 이론상 R_{max} 에 정규화된 결합수준 |
| 38-02-A04-sc01 | PRO1180 | VH4 | CDR | | 발현되지 않음 | | |
| 38-02-A04-sc05 | PRO1181 | VH4 | IF | | 측정되지 않음 | | |
| 38-02-A04-sc06 | PRO1182 | VH4 | 전체 | | 측정되지 않음 | | |
| 38-02-A04 sc09 | PRO1348 | VH3 | CDR | | 측정되지 않음 | | |
| 38-02-A04 sc13 | PRO1352 | VH3 | CDR 및 diS | | 결합하지 않음 | | 7.5% |
| 38-27-C05-sc03 | PRO1038 | VH3 FTO | CDR | 4.05E+04 | 1.12E-03 | 2.76E-08 | 12.9% |

[0435]

표 9

CD137과 CD137L 사이의 상호작용을 억제하는 scFv의 효능

| CD137/CD137L 경쟁 ELISA에서의 효능 | | | | | | | |
|-----------------------------|---------|------|-----------|-------------------|------------------------------------------------------|---------------------------|--|
| 클론ID | 단백질ID | 클론ID | 이식 전략 | IC_{50} [ng/ml] | 상대적 IC_{50} (IC_{50} , 기준분자 / $IC_{50, scFv}$) | 최대 활성화 (기준분자에 대하여 상대적(%)) | |
| 38-02-A04-sc13 | PRO1352 | VH3 | CDR 및 diS | | 억제하지 않음 | | |

[0436]

표 10

시험대상 scFv의 세포성 CD137에 대한 결합 친화성 요약

| 세포성CD137에 대한 결합 | | | | | | |
|-----------------|---------|------|-----------|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 클론ID | 단백질ID | 클론ID | 이식 전략 | EC ₅₀ [ng/ml] | rel. EC ₅₀ (EC ₅₀ , 우렐루맙 / EC ₅₀ , scFv) | (우렐루맙에 비한) 최대 결합율 |
| 38-02-A04-sc13 | PRO1352 | VH3 | CDR 및 diS | 1096 | 0.057 | 10% |

[0437]

표 11

인간 CD40 및 OX40에 대한 결합에 관하여 시험한 scFv(SPR에 의한 분석)

| 클론ID | 단백질ID | 클론ID | 인간CD40에 대한 친화성 (SPR) | | | 인간 OX40에 대한 친화성 (SPR) | | | |
|--------------------|-------------|------|---------------------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|--|
| | | | k _a [M ⁻¹ s ⁻¹] | k _d [s ⁻¹] | K _D [M ⁻¹] 이론상 Rmax에 정규화된 결합수준 | k _a [M ⁻¹ s ⁻¹] | k _d [s ⁻¹] | K _D [M ⁻¹] 이론상 Rmax에 정규화된 결합수준 | |
| 38-02-A04- sc13 | PRO13 52 | VH3 | CDR 및 diS | 결합하지 않음 | | | 결합하지 않음 | | |

[0438]

실시예 5: 인간화 scFv의 생물물리학적 특성규명

- [0440] 선택한 분자를 더 큰 규모(발현 부피 0.2 L ~ 1.2 L)로 제조하여, 정제후 원심분리 농축관을 사용하여 10 mg/mL 초과하도록 농축하였다(표 14).
- [0441] scFv를 대상으로 안정성 연구, 예전대 4주간 안정성 연구를 수행하였는데, 이때 scFv를 수성 완충제(150mM NaCl 포함 50mM 인산염-시트르산염 완충제, pH6.4) 중에 제제화(10 mg/ml)한 다음, -80°C 미만, 4°C 및 40°C의 온도에서 4주 동안 보관하여 두었다. 최저한도에서, 1주 경과후, 2주 경과후, 그리고 각 연구의 막바지에 SE-HPLC 피크 면적을 통합함으로써 제제증 단량체 및 올리고머 분율을 평가하였다. 분자 몇몇에 대해서는 추가의 시점을 기록하였다. 표 15는 본 연구의 7일차에서의 측정치와, 28일차에 얻은 종말점 측정치를 비교한 것이다.
- [0442] 이에 더하여, scFv 분자의 동결-해동(F/T) 주기에 관한 양립가능성(콜로이드 안정성)을 평가하였다. F/T 안정성 평가를 위해 동일한 분석 방법과 매개변수(단량체 함량% 및 단량체 소실%)를 보관 안정성 연구(SE-HPLC, SDS-PAGE)에 대해 적용하여, 분자의 품질을 5회의 F/T 주기에 걸쳐 모니터링하였다. 표 16은, 5회 반복 진행된 F/T 주기에 걸친 단량체 함량% 경과를 제시한다. F/T 주기의 반복 진행 후 분자들 중 그 어느 것도 단량체 함량이 4% 초과하여 감소하지 않았다.
- [0443] 형광 염료인 SYPRO 오렌지를 사용하여 분자의 열 언풀딩을 평가하였다. 유관한 부형제 조건 중 시료를 제조하였으며, qPCR 기계에서 검정을 수행하였다. 형광 발광은 소프트웨어의 맞춤 염료 보정 루틴에 따라서 검출하였다. 시험 시료가 담긴 PCR 평판 온도는 1°C씩 승온시켜 25°C에서 96°C까지 상승시켰다. 언풀딩 전이의 중간 온도 (T_m)는 곡선의 변곡점을 산정하기 위한 산술적 2차도함수법을 이용하여 소프트웨어 GraphPad Prism에 의해 산정하였다. 보고된 T_m은 3회 측정치의 평균이다. 도 17은, 제네릭 완충제(generic buffer)(인산염-시트르산염 완충제, pH 6.4, 150 mM NaCl 포함) 중에 제제화한 분자의 용융 온도를 보여준다.
- [0444] 선택한 분자 상위권의 것들을 대상으로 단기 pH 스트레스 안정성 연구를 수행하였는데, 여기서 scFv 분자는 수성 (인산염-시트르산염) 완충제 세트 중 1 mg/ml로 제제화되었다(이 때의 pH 값: 3.5 ~ 7.5). 2주 동안 40°C에서 각각의 완충제에 보관한 후 단량체 함량(%) 및 단량체 소실율(%)을 분석하였다(데이터는 보이지 않음). 본

연구가 진행되는 도중의 단량체 함량, 단량체 소실율, 농도 및 농도 감소율에 관하여 표로 요약한 것을 표 18에 제시하였다.

표 12

| 글론 ID | 단백질 ID | 이식전략 | 발현 부피 [mL] | 발현계 | 단백질 L후 단백질의 양 | SEC 수행여부 (Y예; N아니오) | 최종 수득량 [mg] | 발현시 L당 수득량 [mg] | 순도 SE- HPLC [mg/L] | 10mg/mL 일 때 단량체 함량 [%] | 10mg/mL 로 축소시 단량체 소실 [%] |
|----------------|---------|------|---------------|------|------------------|------------------------------|-------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| | | | | | | | | | | | |
| 38-02-A04-sc05 | PRO1181 | IF | 1200 | BL21 | 9.3 | 7.8 | Y | 4.7 | 3.9 | 88 | 77.8 |
| 38-02-A04-sc06 | PRO1182 | 전체 | 1200 | BL21 | 19.8 | 16.5 | Y | 5.6 | 4.7 | 95 | 72.9 |
| 38-02-A04-sc09 | PRO1348 | CDR | 200 | CHO | 16.6 | 83.1 | N | 8 | 39.8 | 97 | 94.3 |
| 38-02-A04-sc13 | PRO1352 | CDR | 200 | CHO | 12.2 | 61 | Y | 3.9 | 19.3 | 99.1 | 99.0 |
| | | | | | | | | | | | 0.1 |

[0445]

표 13

| 클론ID | 단백질ID | 온도 [°C] | 초기 단량체 혈량 [%] | 단량체 혈량 [%] | | 단량체 혈량 감소율 [%] | | 단백질 농도 [mg/ml] | | 단백질 혈량 감소율 [%] | |
|----------------|---------|---------|---------------|------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|-------|
| | | | | 당일 | 7일차 | 28일차 | 7일차 | 28일차 | 당일 | 7일차 | 28일차 |
| 38-02-A04-sc05 | PRO1181 | -80 | 77.8 | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA |
| | | 40 | 77.8 | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA |
| 38-02-A04-sc06 | PRO1182 | -80 | 72.9 | 72.9 | 72.8 | 72.9 | 0.1 | 0.0 | 20.6 | 21.0 | 24.8 |
| | | 40 | 72.9 | 72.9 | 72.8 | 73.5 | 0.1 | -0.8 | 20.6 | 20.7 | 19.9 |
| 38-02-A04-sc09 | PRO1348 | -80 | 94.3 | 93.2 | 91.2 | 91.2 | 1.1 | 1.1 | 20.6 | 20.5 | 20.7 |
| | | 40 | 94.3 | 94.3 | 94.6 | 83.4 | 10.3 | 3.3 | 10.0 | 11.0 | 11.2 |
| 38-02-A04-sc13 | PRO1352 | -80 | 99.0 | 99.0 | 99.1 | 99.1 | 0.0 | -0.1 | 10.0 | 11.2 | -10.3 |
| | | 40 | 99.0 | 99.0 | 99.1 | 99.1 | -0.1 | -0.1 | 11.4 | 11.8 | -11.8 |
| | | 40 | 99.0 | 99.1 | 99.0 | 99.0 | -0.1 | 0.0 | 11.4 | 12.5 | -12.9 |

[0446]

표 14

28일 시간 경과에 따른 F/T 안정성 평가

| 클론ID | PRO ID | F/T-1* | F/T-2* |
|----------------|---------|--------|--------|
| 38-02-A04-sc13 | PRO1352 | 0.0 | 0.1 |

* F/T 시 단량체 소실율(%)

[0447]

표 15

scFv 도메인의 시차주사형광측정법 결과

| 클론ID | 단백질ID | 이식전략 | Tm [°C] |
|----------------|---------|--------------|---------|
| 38-02-A04-sc09 | PRO1348 | CDR | 61.1 |
| 38-02-A04-sc13 | PRO1352 | CDR 및 ID diS | 55.2 |

[0448]

표 16

표로 작성한 pH 안정성 평가의 요약

| 클론ID | 단백질 ID | 온도 | 최종완충제 | 단량체 함량 | | | 단량체 소실 | | | 단백질 농도 | | | 함량 감소율 | |
|----------------|---------|------|--------|--------|------|------|--------|------|-----|---------|------|-------|--------|--|
| | | | | [%] | | | [%] | | | [mg/mL] | | | [%] | |
| | | | | 당일 | 7일차 | 14일차 | 7일차 | 14일차 | 당일 | 7일차 | 14일차 | 7일차 | 14일차 | |
| 38-02-A04-sc13 | PRO1352 | 4°C | pH 3.5 | 98.2 | 98.4 | 98.2 | 0.2 | -0.2 | 1.1 | 1.0 | 1.1 | -3.3 | 3.0 | |
| | | | pH 4.5 | 98.2 | 98.4 | 98.3 | 0.2 | -0.2 | 0.9 | 1.0 | 1.0 | 10.1 | -0.5 | |
| | | | pH 5.5 | 98.1 | 98.4 | 98.2 | 0.4 | -0.2 | 1.0 | 1.0 | 1.1 | -0.6 | 9.5 | |
| | | | pH 6.5 | NA | 98.0 | 98.1 | NA | 0.1 | 1.0 | 0.8 | 1.0 | -14.1 | 26.5 | |
| | | | pH 7.5 | NA | 98.0 | 98.2 | NA | 0.2 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.1 | 6.7 | |
| | | 40°C | pH 3.5 | 98.2 | 98.0 | 98.2 | -0.2 | 0.2 | 1.1 | 1.1 | 1.1 | 6.5 | -6.6 | |
| | | | pH 4.5 | 98.2 | 98.0 | 98.1 | 1.1 | 0.1 | 0.9 | 1.1 | 1.0 | 18.4 | -4.1 | |
| | | | pH 5.5 | 98.1 | 98.0 | 98.1 | 1.3 | 0.1 | 1.0 | 1.0 | 1.1 | 3.6 | 3.3 | |
| | | | pH 6.5 | NA | 98.0 | 98.2 | 1.4 | 0.2 | 1.0 | 1.0 | 1.1 | 6.7 | 2.8 | |
| | | | pH 7.5 | NA | 98.0 | 98.1 | 1.4 | 0.1 | 1.0 | 1.0 | 1.1 | 4.1 | 6.3 | |

[0449]

본 발명의 항체를 포함하는 다중 특이적 분자

[0450]

본 발명의 항체를 포함하는 예시적 다중 특이적 분자는 표 3에 포함되어 있다.

[0451]

실시예 6: PDL1, CD137, HSA 및 MSA에 대한 친화성

[0452]

방법

[0453]

Biacore T200 디바이스(GE Healthcare)를 사용하는 SPR 측정에 의해 상이한 종의 PDL1에 대한 친화성을 확정하였다. 아민 커플링에 의해 센서 칩(CM5 센서 칩, GE Healthcare) 상에 인간 IgG의 Fc 영역에 특이적인 항체를 부동화하였다. Fc 함유 Morrison 포맷을 제외하고 모든 포맷에 대해, 상이한 종으로부터 유래하는 PDL1-Fc 키메라 단백질을 부동화 항체에 의해 포착하였다. PDL1에 특이적인 분자의 3배 연속 희석액(0.12 nM ~ 90 nM)을 3분 동안 유동 세포에 주입하고, 10분 동안 해리 여부를 모니터링하였다. 매 주입 주기 후, 3 M MgCl₂ 용액을 1회 주입하여 표면을 재생시켰다. 겉보기 해리 속도 상수(kd) 및 겉보기 결합 속도 상수(ka)와, 겉보기 해리 평형 상수(KD)를 1:1 랑비르 결합 모델을 이용하여 산정하였다. 상이한 종으로부터 유래한 CD137-Fc 키메라 단백질을 부동화한 항체로 포착하였다는 점을 제외하고, PDL1에 대한 조건과 동일한 조건을 적용하여 상이한 종의 CD137에 대한 친화성을 확정하였다.

[0454]

Fc 함유 포맷을 인간 IgG의 Fc 영역에 특이적인 항체로 직접 포착하였다. PDL1 세포외 도메인 또는 CD137 세포외 도메인의 2배 연속 희석액(90 nM ~ 0.35 nM)을, 바이오센서 칩상에 포착된 IgG와의 결합에 대해 시험하였다. 매 주입 주기 후, 3 M MgCl₂ 용액을 1회 주입하여 표면을 재생시켰다.

[0455]

Biacore T200 디바이스(GE Healthcare)를 사용하는 SPR 측정에 의해 상이한 종의 혈청 알부민(SA)에 대한 분자의 친화성을 확정하였다. 아민 커플링 화학을 이용하여 SA를 CM5 센서 칩(GE Healthcare)에 직접 커플링시켰다. 재생 스카우팅(regeneration scouting) 및 표면 성능 시험을 수행하여 최고의 검정 조건을 확인한 후, 용량 반응을 측정하였으며, 이때 얻어진 결합 곡선을 이중 참조하였으며(공 기준 채널(empty reference channel) 및 제로 피분석물 주입), 1:1 랑비르 모델을 이용하여 피팅함으로써 역학적 매개변수를 검색하였다. 1 X PBS-Tween

완충제(pH 5.5)에서 검정을 진행하였다.

[0457] 결과:

클론 38-02-A04 및 38-27-C05로부터 기원하는 CD137 특이적 인간화 구조체 2개의 CDR 이식편에 대한 결합 역학 측정치는 (표 17의 PRO885 및 PRO951의 경우에 비교하여) 거의 동일한 친화성을 보여주었다, 클론 38-02-04의 경우, 기술된 구조적 잔기로서, 틀 영역에 이식된 구조적 잔기는 (표 17의 PRO885 및 PRO1124의 경우에 비교하여) 200배를 초과하는 친화성의 개선을 초래하였다. 이에 더하여 클론 38-02-04로부터 기원하는 구조체의 경우, 마우스 CD137과 결합하는 것으로 관찰되었지만, 이때 친화성은 훨씬 더 작았다.

표 17

| PRO ID | 클론 ID PDL1 | 클론 ID CD137 | 클론 ID SA | 표면 | 인간 PDL1에 대한 친화성 | | 시트로要学会 PDL1에 대한 친화성 | | 인간 CD137에 대한 친화성 | | |
|---------|---------------------|------------------|----------------|------------|---------------------------|--------------------|---------------------------|--------------------|---------------------------|--------------------|----------|
| | | | | | k_a ($M^{-1} s^{-1}$) | k_d (s^{-1}) | k_a ($M^{-1} s^{-1}$) | k_d (s^{-1}) | k_a ($M^{-1} s^{-1}$) | k_d (s^{-1}) | |
| PRO885 | 33-03-602-CDR | 38-02-A04-CDR | NA | scDb | 2.1E+06 | 1.4E+04 | 6.5E+11 | ND | ND | 2.4E+05 | 7.5E+04 |
| FRC951 | 33-03-602-CDR | 38-27-C05-CDR | NA | scDb | 2.2E+06 | 1.5E+04 | 7.0E+11 | ND | ND | 1.5E+06 | 6.3E+03 |
| PRO1123 | 33-03-602-CDR | 38-02-A04-IF | NA | scDb | 2.3E+06 | 1.7E+04 | 7.5E+11 | ND | ND | 2.1E+05 | 4.2E+09 |
| PRO1124 | 33-03-602-CDR | 38-02-A04-STR | NA | scDb | 3.1E+06 | 2.0E+04 | 6.7E+11 | ND | ND | 6.8E+05 | <1.0E+05 |
| PRO1125 | 33-03-602-IF | 38-02-A04-CDR | NA | scDb | 1.7E+06 | 1.1E+04 | 6.7E+11 | ND | ND | 2.0E+05 | 7.5E+04 |
| PRO1126 | 33-03-602-STR | 38-02-A04-CDR | NA | scDb | 2.8E+06 | 1.0E+05 | 3.5E+12 | ND | ND | 2.1E+05 | 7.5E+04 |
| PRO1134 | 33-03-602-STR2, V43 | 38-02-A04-CDR | NA | scDb | 2.8E+06 | 7.5E+05 | 2.8E+11 | ND | ND | 2.5E+05 | 8.4E+04 |
| PRO953 | 33-03-602-CDR | 38-02-A04-CDR | 19-01-H04-STR | scDb-sFcV | 2.0E+06 | 1.3E+06 | 6.6E+11 | ND | ND | 2.0E+05 | 6.2E+04 |
| PRO956 | 33-03-602-CDR | 38-27-C05-CDR | 19-01-H04-STR | scDb-sFcV | 1.6E+06 | 1.4E+04 | 8.3E+11 | ND | ND | 1.0E+06 | 2.2E+03 |
| PRO1057 | 33-03-602-CDR | 38-02-A04-CDR | 23-13-A01-STR | scDb-sFcV | 1.6E+06 | 1.7E+04 | 1.1E+10 | ND | ND | 1.4E+05 | 7.0E+04 |
| PRO1058 | 33-03-602-CDR | 38-27-C05-CDR | 23-13-A01-STR | scDb-sFcV | 1.2E+06 | 1.9E+04 | 1.6E+10 | ND | ND | 1.7E+06 | 2.1E+03 |
| PRO1059 | 33-03-602-CDR | 38-02-A04-CDR | NA | MonRison-L | 1.2E+06 | 6.5E+05 | 5.6E+11 | ND | ND | 1.8E+05 | 4.2E+04 |
| PRO1060 | 33-03-602-CDR | 38-02-A04-CDR | NA | MonRison-H | 1.3E+06 | 4.5E+05 | 3.6E+11 | ND | ND | 3.0E+05 | 3.9E+04 |
| PRO1061 | 33-03-602-CDR | 38-27-C05-CDR | NA | MonRison-L | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| PRO1062 | 33-03-602-CDR | 38-27-C05-CDR | NA | MonRison-H | 1.3E+06 | 5.0E+05 | 3.8E+11 | ND | ND | 2.8E+05 | 3.7E+04 |
| PRO997 | 37-20-803-CDR | NA | NA | scFv | 5.9E+06 | <1.0E+05 | 1.7E+12 | 6.0E+06 | <1.0E+05 | <1.67E+12 | NA |
| PRO1013 | 37-20-803-CDR, VHL | NA | NA | scFv | 6.0E+06 | 2.7E+04 | 4.5E+11 | 5.9E+06 | 3.2E+04 | 5.3E+11 | NA |
| PRO830 | 33-03-602-CDR | NA | NA | scFv | 2.1E+06 | 1.6E+04 | 7.6E+11 | 2.2E+06 | 2.0E+04 | 9.4E+11 | NA |
| PRO1186 | 37-20-803 sc01 | 33-02-A04 sc01 | 23-13-A01 sc03 | scDb-sFcV | 6.2E+06 | 2.3E+05 | 3.7E+12 | TBD | TBD | 1.9E+05 | 5.0E+04 |
| PRO1430 | 37-20-803 sc01 | 38-02-A04 sc013 | 19-01-H04 sc03 | scDb-sFcV | 5.3E+06 | 2.4E+05 | 4.5E+12 | TBD | TBD | 4.6E+05 | 7.1E+04 |
| PRO1479 | 37-20-803 sc03.1 | 38-02-A04 sc03.1 | 19-01-H04 sc03 | scDb-sFcV | 4.2E+06 | 3.9E+05 | 9.2E+12 | TBD | TBD | 3.3E+05 | 5.4E+04 |
| PRO1482 | 37-20-803 sc03.1 | 38-02-A04 sc03.1 | 19-01-H04 sc03 | scDb-sFcV | 3.4E+06 | 3.3E+05 | 9.8E+12 | TBD | TBD | 3.2E+05 | 3.6E+04 |
| PRO1431 | 33-03-602 sc18 | 38-02-A04 sc13 | 19-01-H04 sc03 | scDb-sFcV | 3.3E+06 | 4.5E+05 | 1.4E+11 | ND | ND | 4.5E+05 | 7.5E+04 |
| PRO1473 | 33-03-602 sc03 | 38-02-A04 sc03 | 19-01-H04 sc03 | scDb-sFcV | 3.6E+06 | 2.9E+05 | 8.2E+12 | ND | ND | 3.1E+05 | 6.0E+04 |
| PRO1476 | 33-03-602 sc03 | 38-02-A04 sc03 | 19-01-H04 sc03 | scDb-sFcV | 3.4E+06 | 3.1E+05 | 9.0E+12 | ND | ND | 3.5E+05 | 3.7E+04 |
| PRO1432 | 33-03-602 sc18 | 38-02-A04 sc03 | 19-01-H04 sc03 | scDb-sFcV | 4.2E+06 | 4.4E+05 | 1.1E+11 | ND | ND | 6.0E+05 | 4.5E+04 |

NA: 적용 불가 TBD: 확정 대상일 NB: 유의미한 결합은 없거나 약함 ND: 혁명되지 않음

상이한 종으로부터 유래한 출청 알부민, CD137 및 PDL1에 대한, 상이한 포맷들의 친화성
사이노풀거스 CD137에 대한 친화성 마우스 CD137에 대한 친화성 인간 SA에 대한 친화성 마우스 SA에 대한 친화성

| PRO ID | $k_a (M^{-1} s^{-1})$ | | $k_d (s^{-1})$ | | $k_a (M^{-1} s^{-1})$ | | $k_d (s^{-1})$ | | $k_a (M^{-1} s^{-1})$ | | $k_d (s^{-1})$ | | $k_a (M^{-1} s^{-1})$ | | $k_d (s^{-1})$ | | $k_a (M^{-1} s^{-1})$ | | $k_d (s^{-1})$ | | $k_a (M)$ | | $k_d (M)$ | |
|---------|-----------------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|----------------|-----------------------|----------------|-----------------------|----------------|-----------------------|----------------|-----------------------|----------------|-----------------------|----------------|-----------------------|-----------|-----------------------|----------------|-----------|-----------|-----------|--|
| | $k_a (M^{-1} s^{-1})$ | $k_d (s^{-1})$ | $k_a (M)$ | $k_d (s^{-1})$ | $k_a (M^{-1} s^{-1})$ | $k_d (s^{-1})$ | $k_a (M)$ | $k_d (M)$ | $k_a (M^{-1} s^{-1})$ | $k_d (s^{-1})$ | $k_a (M)$ | $k_d (M)$ | | |
| PRO885 | 3.4E+05 | 7.0E-04 | 2.1E-09 | 2.9E+05 | 1.8E+01 | 6.0E-07 | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| PRO951 | 1.5E+06 | 1.0E-02 | 6.9E-09 | NB | NB | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| PRO1123 | 2.6E+05 | 3.3E-04 | 1.3E-09 | 6.5E+04 | 2.7E+02 | 4.1E-07 | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| PRO1124 | 5.6E+05 | 3.3E-04 | 5.9E-10 | 2.0E+05 | 2.2E+03 | 1.1E-08 | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| PRO1125 | ND | ND | ND | 5.4E+05 | 2.7E+01 | 5.1E-07 | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| PRO1126 | ND | ND | ND | NB | NB | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| PRO1134 | ND | ND | ND | 4.5E+05 | 1.9E+01 | 4.2E-07 | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| PRO963 | ND | ND | ND | NB | NB | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| PRO966 | ND | ND | ND | 5.1E+03 | 1.0E+03 | 2.0E-07 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO1057 | 1.6E+05 | 7.9E-04 | 4.8E-09 | 6.9E+04 | 8.5E+02 | 1.2E-06 | 2.4E+05 | 6.7E+04 | 2.8E+09 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO1058 | ND | ND | ND | 1.1E+06 | 7.5E+04 | 7.0E-10 | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| PRO1059 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO1060 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO1061 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO1062 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO997 | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| PRO1013 | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| PRO830 | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | | |
| PRO1186 | TBD | TBD | TBD | TBD | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO1430 | TBD | TBD | TBD | TBD | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO1479 | TBD | TBD | TBD | TBD | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO1482 | TBD | TBD | TBD | TBD | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO1431 | TBD | TBD | TBD | TBD | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO1473 | TBD | TBD | TBD | TBD | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO1476 | TBD | TBD | TBD | TBD | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |
| PRO1432 | TBD | TBD | TBD | TBD | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | |

[0460]

실시예 7: 인간화 항 CD137 도메인은 CD137을 억제하지 않고, CD137를 중화하지 않는다

[0462]

PRO885가 CD137 리간드(CD137L)와 CD137의 결합을 방해하지 않음을 보이기 위해 경쟁적 ELISA를 이용하였다. 시판중인 억제 폴리클로날 항 CD137 염소 항체(Antibodies online, Cat# ABIN636609)를 기준으로 사용하였다. 요약하면, CD137을 밤새도록 ELISA 평판에 코팅한 후, PRO885의 연속 희석액을 이 ELISA 평판에 첨가하였다. 그 다음, 바이오틴화 CD137L을 첨가하고, 스트렙타비딘-HRP로써 결합한 리간드를 검출하였다. 마지막으로, HRP 기질 TMB를 첨가하였다. 5분 동안 전개시킨 후, 1 M HCl 용액으로 반응을 종료시켰다. 690 nm를 기준 파장으로 삼아 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0463]

클론 38-02-A04에서 기원한 CD137 도메인 함유 PRO885에 대한 역가 곡선을 도 1a에 보였으며, 클론 38-27-C05에서 기원한 CD137 도메인 함유 PRO951에 대한 역가 곡선을 도 1b에 보였다. 기준 항체는 CD137L과 CD137의 결합을 완전히 막았던 반면에, PRO885 및 PRO951은 CD137L과 CD137의 결합을 유의미하게 억제하지 않았으므로, 비 중화성(non-neutralizing)이라 정의하였다.

[0464]

실시예 8: 우렐루맙 및 우톨리무맙에 대한 38-02-A04 및 38-27-C05의 에피토프 비닝

[0465]

MASS-1 디바이스(Sierra Sensors)를 사용하는 SPR 에피토프 비닝 검정에서 단백질 PRO885(38-02-A04 CDR 이식 편 함유 scDb), PRO951(38-27-C05 CDR 이식편 함유 scDb), 우렐루맙(BMS) 및 우토밀루맙(Pfizer)의, CD137상에피토프와의 결합을 비교하였다. 분자들이, 다른 분자들과 CD137의 결합을 차단하는지 여부를 관찰하기 위해 샌드위치 환경을 선택하였다. 따라서 PRO885 및 PRO951을 고용량 아민 센서 칩(HCA, Sierra Sensors)에 부동화

하였다. 그 다음, 항원 CD137 90 nM을 scDb에 포착하고 나서 바로 제2의 항체(PR0885, PR0951, 우렐루맙 및 우톨리무맙) 22.5 nM을 주입하였다. 각각의 단백질상 CD137의 포착 수준과, 제2의 결합제 반응 수준을 확정하였다(반응 단위(response units; RU)). 연루 단백질의 분자량 및 포착 수준에 의존적인 이론상 최대 반응(R_{max})을 산정함으로써, 포착 항원상 단백질의 상대적 결합 수준(%)을 확정하였다. 만일 분자가 CD137상 중첩 또는 유사 에피토프들과 결합하였다면, 포착된 CD137에 대해 주입된 항체의 결합은 관찰되지 않아야 한다. 결과적으로 항체의 결합이 관찰되면, 두 항체 쌍은 비 중첩성 에피토프와 결합하는 것이다.

[0466] PR0885가 센서 칩에 부동화되었을 때, 항체인 PR0951, 우렐루맙 및 우토밀루맙 3개 모두는 PR0885에 의해 포착된 CD137과의 결합을 보였다. 예상대로 대조군으로 사용되었던 PR0885에 대해서는 결합이 관찰되지 않았다(도 2 및 도 3). PR0951이 센서 칩에 부동화되었을 때, 우렐루맙과 PR0885는 결합을 보였던 반면에, 대조군으로 사용되었던 PR0951과 우토밀루맙은 유의미한 결합을 전혀 보이지 않았다(도 2 및 도 3). 이러한 결과는, 클론 38-02-A04 유래 PR0885가, 38-27-C05 유래 PR0951, 우톨리무맙 및 우렐루맙에 대한 에피토프와 상이한, CD137상 에피토프와 결합함을 보여준다. 이와는 대조적으로 PR0951은 우톨리무맙에 대한 에피토프와 중첩하되, 우렐루맙과 PR0885에 대한 에피토프와는 중첩하지 않는 에피토프와 결합하였다.

[0467] **실시예 9: CD137을 발현하는, 유전자이식 NFkB Jurkat 리포터 세포주의 세포 기반 검정을 이용한, 항-PDL1xCD137 분자의 CD137 효현 효과의 평가**

[0468] 본 검정에서 Jurkat 세포내 CD137의 신호전달 활성화를 평가하였다. Jurkat 리포터 세포주에서 CD137 유도성 NFkB 활성화에 의해 구동되는 루시피라아제 발현을 측정함으로써 CD137 신호전달의 활성을 보고하였다. 루시피라아제 발현은 CD137의 활성과 직접적으로 상관된다. 더욱이 신호 경로의 활성화에 필요한 CD137의 클러스터형성은, Jurkat 세포와 PDL1 발현 세포주 사이의 추후 면역학적 시냅스 생성을 통해 촉진된다. 그러므로 PDL1 발현은 리포터 세포주상 CD137의 활성화 및 클러스터형성에 필요하다.

[0469] 10 ng/ml IFNy로 24시간 동안 자극하여 PDL1 발현을 증가시켰거나, 자극하지 않은 PDL1 발현 CHO 세포(클론 A2) 및 HCC827 세포를, 월당 25,000개 세포가 되도록 96웰 배양 평판에 접종하였다. 음성 대조군으로서 PDL1을 발현하지 않는 CHO 야생형 세포를 동일한 세포 밀도로 접종하였다. 그 다음, 항 PDL1xCD137 분자뿐 아니라, 경쟁분자인 우렐루맙의 연속 희석액을 제조하여 세포에 첨가하였다. 그 다음, Jurkat 리포터 세포를 25 mg/ml의 HSA 함유 또는 비함유 검정 배지 중에 마련한 다음, 이를 세포 밀도가 월당 40,000개 세포가 되도록 첨가하였다. 루시피라아제 시약을 첨가하여 루시피라아제 발현을 검출하였으며, Jurkat 세포 첨가 6시간 및 24시간 경과후 그 결과를 발광도 판독기로 판독하였다. 시험 시료의 상대적 발광 단위(RLU)를 우렐루맙에 대해 측정한 RLU에 정규화하거나(도 11의 A), PR0885에 대해 측정한 RLU에 정규화하여(도 11의 B), CD137 신호전달의 상대적 활성화 값을 구하여 데이터를 분석하였다.

결과

[0471] I. CHO-PDL1 세포를 사용한, PR0885 및 PR0951의 시험

[0472] 도 5에 보인 바와 같이, PR0885 및 PR0951은 PDL1 발현 CHO 세포 존재시 우렐루맙보다 CD137 신호전달을 더 효율적으로 활성화하였다. PR0885는 최대 효능과, 가장 큰 활성화 신호를 보였다 (PR0885, EC₅₀ = 11.72 ng/ml, PR0951: EC₅₀ = 33.68 ng/ml; 우렐루맙: EC₅₀ = 79.11 ng/ml, 표 18). PDL1이 존재하지 않을 때 PR0885는 PR0951이든 그 어느 것도 리포터 세포에서 CD137을 활성화하지 못했던 반면에, 우렐루맙은 PDL1과는 독립적으로 CD137 신호전달 활성화를 보였다.

표 18

항PDL1xCD137 분자에 대한 EC₅₀ 값(CHO-PDL1 세포 사용)

| | 우렐루맙 | PRO885 | PRO951 |
|--------------------------|---------|--------|--------|
| 최저 | -0.4628 | -8.1 | -4.066 |
| 최고 | 101.5 | 491.2 | 411.4 |
| EC ₅₀ (ng/ml) | 79.11 | 11.72 | 33.68 |
| R 제곱 | 0.995 | 0.9922 | 0.9899 |

[0473]

II. STR-이식 scDb의 CHO-PDL1 세포를 이용한 시험

도 6과 표 21에 보인 바와 같이, 항 PDL1xCD137 scDb 분자는 우렐루맙보다 CD137의 신호전달을 더 효율적으로 자극하였다. 우렐루맙과는 대조적으로, PDL1 발현 표적 세포가 존재할 때 자극 효과는 오로지 scDb에 대해서만 보였다. scDb 모두는 PDL1을 높은 수준으로 발현하는 CHO 세포가 존재할 때 NFkB 리포터 유전자 활성화를 자극하는 효능을 동일하게 보였다. 그 다음, PDL1을 더 적은 양만큼 발현하는 세포가 존재할 때 동일한 분자를 시험하였다.

III. STR-이식 scDb의 HCC827 세포를 이용한 시험(IFNy 부재시):

도 7과 표 20에 보인 바와같이, 항 PDL1xCD137 scDb 분자는 우렐루맙보다 CD137의 신호전달을 더 효율적으로 자극하였다. CD137 도메인(38-02-A04, PRO1120 및 PRO1124의 STR 이식편)과의 친화성이 개선된 scDb는, CDR 이식 CD137 도메인에 비하여 CD137 활성화에 있어 개선된 효능을 보였다(예를 들어 PRO885, EC₅₀ = 13.02 ng/ml, PRO1124: EC₅₀ = 5.62 ng/ml, 표 22). 특히 PDL1 도메인의 STR 이식(PRO1126)에서 발견되는 바와 같이, 모 분자인 PRO885에 비해 PDL1에 대한 친화성이 증가함에 따라 효능 증가도 또한 초래되었다(PRO885, EC₅₀ = 13.02 ng/ml, PRO1126: EC₅₀ = 6.97 ng/ml, 표 20). 고농도일 때 STR 이식 scDb는 활성화 신호가 감소하는 경향을 보였다. 이는, STR 이식 CD137 도메인을 가지는 분자들(PRO1120 및 PRO1126)의 경우 더욱 두드러졌다. 흥미롭게도, PDL1 도메인의 STR 이식편이 CD137의 CDR 이식편과 합하여졌을 때, 고농도일 때의 신호 감소는 (PRO885 및 PRO1124의 경우와는 달리) 관찰되지 않았다(도 7). 따라서 CD137 및 PDL1에 대한 친화성 증가와 함께 더 옥 두드러졌던 반면, PDL1에 대한 친화성 증가는 이러한 효과에 기여하지 않았다. 따라서 각각의 도메인의 절대적 친화성보다는 오히려 CD137에 대한 친화성 및 PDL1에 대한 친화성 사이의 비가, 최대 활성의 농도 윈도우 (concentration window) 확장에 중요한 듯 보였다.

| PRO 번호 | 인간 CD137에 대한 친화성:SPR 데이터 | | | | 마우스 CD137에 대한 친화성: SPR 데이터 | | | | 인간 PD-L1에 대한 친화성:SPR 데이터 | | |
|-------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------|--------------------|---------------|----------------------------|--------------------|---------------|---------------------------|--------------------------|---------------|--------------------------------|
| | 단백질에 대한 설명 | k_a [$M^{-1} s^{-1}$] | k_d [s^{-1}] | K_0 [M] | k_a [$M^{-1} s^{-1}$] | k_d [s^{-1}] | K_0 [M] | k_a [$M^{-1} s^{-1}$] | k_d [s^{-1}] | K_0 [M] | 이론상 R_{max} 에 정규화한 결합 수준 [%] |
| PRO1118 scDb-β33_02_G02 sc01 scDb-o | 38-02-A04 sc01 sc01 scDb-o | 7.23E-04 | 2.63E-09 | 79.8 | 8.29E+04 | 2.27E-04 | 2,73E-09 | 11.5 | 1.34E+06 | <1.00E-05 | <7.46E-12 |
| PRO1119 scDb-β33_02_G02 sc01 scDb-o | 38-02-A04 sc05 IF sc01 scDb-o | 2.76E-04 | 7.24E-10 | 79.1 | 1.40E-05 | 2.48E-02 | 1.77E-07 | 81.0 | 1.50E+06 | <1.00E-05 | <6.67E-12 |
| PRO1120 scDb-β33_02_G02 sc01 scDb-o | 38-02-A04 sc06 전체 sc01 scDb-o | < 1.00E-05 | 5.78E+05 | 74.7 | 2.12E+05 | 3.25E-03 | 1.54E-08 | 87.5 | 1.27E+06 | <1.00E-05 | <7.87E-12 |

[0478]

IV. STR 이식 scDb의 HCC827 세포를 사용한 시험(IFN γ 존재시):

[0479]

IFNy에 의한 HCC827 자극은 scDb 분자의 효능을 변화시키지 않고 활성화 신호의 증가를 유도하였다. 특히 시험 대상 scDb가 고농도일 때 신호 감소는 이러한 조건에서 덜 명확하였는데, 이는 PDL1 발현과의 상관성을 암시한다(도 8 및 표 21).

[0480]

V. 반감기가 긴 분자의 CHO-PDL1 세포를 사용한 시험:

[0481]

도 11과 도 12, 그리고 표 22와 표 23에 보인 바와 같이, 시험대상 분자, 즉 반감기가 긴 항 PDL1xCD137 분자는 CD137 신호전달을 우렐루맙이 그려하였던 것과 동일한 정도로 자극하였다. Morrison 포맷(PRO1060, PRO1062)을 scDb-scFv 포맷(PRO1057, PRO1058)과 비교하였을 때 차이가 있었다. Morrison 포맷은 더 큰 효능을 보였던 반면에, scDb-scFv를 시험하였을 때 최대 활성화 신호는 실질적으로 증가하였다. 특히 24시간 항온처리 후 PRO1057은 눈에 띄게 큰 활성화 신호를 보였다. 시험대상 분자로서, 반감기가 긴 분자 모두는, 오로지 PDL1 발

현 세포가 존재할 때에만 CD137 신호전달을 활성화하였다. 흥미롭게도, 두 표적에 대한 친화성은 유사하였지만, PRO1057은 PRO1058보다 훨씬 더 큰 최대 신호를 보였다. 게다가 1가 scDb-scFv PRO1057은 각각의 2가 Morrison 포맷인 PRO1060보다 더 강력한 활성화를 보였다.

[0483] VI. 반감기가 긴 분자의 HCC827 세포를 사용한 시험(IFNy 부재시 및 존재시):

도 11 및 표 24에 보인 바와 같이, 시험대상 분자로서 반감기가 긴 항 PDL1xCD137 분자는 소량의 PDL1을 발현하는 세포가 존재할 때 우렐루맙이 그려하였던 것과 동일한 정도로 CD137 신호전달을 자극하였다. 시험대상 분자의 최대 활성화는 표적 세포가 IFNy에 의해 자극되었을 때 더욱 증가하였는데, 이는 CD137 활성화와 표적 세포상 PDL1 발현 수준이 직접 상관되어 있음을 암시한다. 이미 앞서 진술한 바와 같이, PRO1057은 Morrison 포맷과 비교하였을 때 더 높은 리포터 유전자 활성화 수준을 보였다.

[0485] PDL1 x CD137 다중 특이적 구조체에 의한 NFkB 리포터 유전자 활성화 데이터를 표 26과 표 27에 요약하였다.

[0486] 실시예 10: 세포 기반 검정에서, 수반성 PDL1 차단 및 CD137 자극의 T 세포 자극 효과에 대한 평가(PDL1 발현 유전자이식 CHO 세포 및 인간 PBMC 사용)

[0487] PDL1 발현 CHO-A2 세포를 상이한 밀도 3가지(즉 항 인간 CD3 항체로 예비 코팅한 96웰 배양 평판상 웰당 50,000개 ~ 200,000개 세포)가 되도록 접종하였다. 평판을 37°C 및 5% CO₂에서 밤새도록 항온처리하였다. 다음 날, 말초혈액단핵세포(PBMC)를 밀도구배원심분리에 의해 새로 마련한 인간 전혈로부터 단리하였다. 96웰 평판의 웰당 100,000개의 PBMC를 첨가한 후, 여기에 항 PDL1xCD137 scDb PRO0885를, 500 ng/ml, 50 ng/ml 및 5 ng/ml의 농도로 첨가하였다. 항온처리 76시간 후, 세포 상청액을 수집하였다. 키트 지침에 따라 IL-2 인간 ELISA MAX 검정법(BioLegend)을 이용하여 배양 상청액 중 인간 인터루킨-2(IL-2) 수준을 정량하였다. IL-2 농도를 IL-2 표준 곡선으로부터 내삽하고 나서, 역산정하였으며, EC₅₀ 값 산정을 위해 PRO0885 농도에 대한 그래프를 작성하였다.

[0488] 도 12에 보인 바와 같이, PD-1/PDL1 상호작용의 수반성 차단, 그리고 2중 특이적 분자인 PRO0885 첨가에 의한 CD137 자극 이후 T 세포에 의해 IL-2가 분비되었다. 분비된 IL-2의 수준은, 항 CD3 항체 및 CHO-A2 세포 밀도 증가, 그리고 PRO0885 농도 증가와 동반하여 증가하였다. 항 CD3 항체가 존재하지 않을 때, IL-2 수준은 기저 IL-2 분비량과 거의 동일하였다. PRO0885는 단지 항 CD3 항체에 의해 공자극된 T 세포를 활성화하였을 뿐이었다. 이러한 발견은, PRO0885가 단지 활성화 T 세포를 자극함을 증명하는 것이고, 생체내 PRO0885는 종양 특이적 T 세포를 특이적으로 자극하였음을 암시한다.

| 항PDL1xCD137 분자에 대한 EC ₅₀ 및(CHO-PDL1 세포 사용) | | | | | | | | | |
|-------------------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|------------------|---------|---------|---------|--------|
| | 우생화학 | PRO0865 | PRO1118 | PRO1119 | 우생화학 | PRO0865 | PRO1120 | PRO1123 | 우생화학 |
| 화학 | -0.5169 | -6.408 | -2.387 | 2.039 | 0.5292 | 6.497 | -1.816 | -11.51 | 2.552 |
| 화학 | 98.98 | 249.1 | 245.3 | 238.9 | -0.6273 | 222.1 | 219.2 | 263.8 | -2.922 |
| EC50 (ng/ml) | 79.47 | 51.135 | 4.596 | 4.22 | 100 | 4.356 | 100 | 228.6 | 242.1 |
| EC50 (ng/ml) | 0.9637 | 0.9708 | 0.9761 | 0.9726 | EC50 (ng/ml) | 4.688 | 5.753 | 6.289 | 5.5937 |
| R ² 값 | | | | | R ² 값 | 0.963 | 0.9568 | 0.979 | 0.9467 |

| | 우울증 | PRO0895 | PRO1118 | PRO1119 | 우울증 | PRO0895 | PRO1120 | PRO1123 | 우울증 | PRO0895 | PRO1124 | PRO1126 |
|------------------|--------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|
| 총지 | -2.035 | -0.5477 | -0.3866 | 0.1789 | -1.986 | -0.2298 | 0.0807 | -0.0367 | -1.384 | -0.3237 | -1.084 | -8.28 |
| 총고 | 100 | 96.45 | 81.98 | 74.91 | 98.96 | 111.1 | 126.5 | 123.2 | 118.7 | 118.7 | 113.2 | 135.1 |
| EC50 (ng/ml) | 212.5 | 11.5 | 8.559 | 5.045 | 108.9 | 13.96 | 6.885 | 16.12 | 111.7 | 13.02 | 5.616 | 6.986 |
| R ² 값 | 0.9815 | 0.9852 | 0.985 | 0.9725 | 0.9895 | 0.9759 | 0.9809 | 0.96 | 0.9841 | 0.9818 | 0.9875 | 0.9877 |

| 항PDL1xCD137 항체에 대한 EC ₅₀ 및 (HCC827 세포 사용, IFN γ 부여) | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 총지 | PRO0895 | PRO1118 | PRO1119 | PRO0895 | PRO1118 | PRO1119 | PRO0895 | PRO1120 | PRO1123 | PRO0895 | PRO1124 | PRO1126 |
| 총고 | -0.5477 | -0.3866 | 0.1789 | -0.2298 | 0.0807 | -0.0367 | -1.384 | -0.3237 | -1.084 | -8.28 | | |
| EC50 (ng/ml) | 96.45 | 81.98 | 74.91 | 98.96 | 111.1 | 126.5 | 123.2 | 123.2 | 118.7 | 118.7 | 113.2 | 135.1 |
| R ² 값 | 0.9815 | 0.9852 | 0.985 | 0.9725 | 0.9895 | 0.9759 | 0.9809 | 0.96 | 0.9841 | 0.9818 | 0.9875 | 0.9877 |

| | 우편부함 | PRO0985 | PRO1119 | PRO1118 | PRO0985 | PRO1201 | PRO1223 | 우편부함 | PRO0985 | PRO1124 | PRO1126 |
|------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|
| 최저 | -1.208 | -1.446 | 0.1389 | 0.1389 | -1.006 | -2.023 | -3.594 | -1.26 | -0.7258 | 1.572 | -1.581 |
| 최고 | 100 | 167.4 | 146.5 | 139.9 | 99.98 | 134.2 | 117.3 | 154.4 | 165.8 | 188.5 | 207.7 |
| EC50(ng/ml) | 114.2 | 9.266 | 7.565 | 4.855 | 144.8 | 8.883 | 5.15 | 11.87 | 9.229 | 4.833 | 5.48 |
| R ² 값 | 0.9839 | 0.9803 | 0.9896 | 0.9767 | 0.9811 | 0.9755 | 0.9854 | 0.9883 | 0.9876 | 0.9806 | 0.9825 |

STR 01식된 scDb에 대한 EC₅₀ 값 (IFN_γ로 자극한 HCC827 세포 사용)

| | 우편부함 | PRO0985 | PRO1119 | PRO1118 | PRO0985 | PRO1201 | PRO1223 | 우편부함 | PRO0985 | PRO1124 | PRO1126 |
|------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|
| 최저 | -1.208 | -1.446 | 0.1389 | 0.1389 | -1.006 | -2.023 | -3.594 | -1.26 | -0.7258 | 1.572 | -1.581 |
| 최고 | 100 | 167.4 | 146.5 | 139.9 | 99.98 | 134.2 | 117.3 | 154.4 | 165.8 | 188.5 | 207.7 |
| EC50(ng/ml) | 114.2 | 9.266 | 7.565 | 4.855 | 144.8 | 8.883 | 5.15 | 11.87 | 9.229 | 4.833 | 5.48 |
| R ² 값 | 0.9839 | 0.9803 | 0.9896 | 0.9767 | 0.9811 | 0.9755 | 0.9854 | 0.9883 | 0.9876 | 0.9806 | 0.9825 |

| 번갈기 가 긴 분자에 대한 EC ₅₀ 값 (PDL 1 발현 CHO 세포 사용; 6시간) | | 우발주입 | | 우발주입 + HSA | | PRO885 + HSA | | PRO1057 + HSA | |
|-------------------------------------------------------------|----------|--------|--------|------------|---------|--------------|--------|---------------|---------|
| 체적 | 우발주입 | 체적 | 우발주입 | 체적 | 우발주입 | 체적 | 우발주입 | 체적 | |
| 체적 | -0.03762 | 6.019 | PRO885 | PRO1060 | PRO1062 | -0.8837 | 6.69 | -7.71 | -0.5382 |
| 최고 | 99.96 | 337.5 | -5.304 | -1.947 | -1.947 | 106.3 | 492.8 | 462.9 | 40.06 |
| EC50 (nM/ml) | 56.45 | 7.843 | 220.4 | 199.1 | 52.16 | 77.72 | 7.916 | 111.5 | 70.93 |
| R제곱 | 0.9948 | 0.9474 | 0.9874 | 0.993 | 0.9957 | 0.9457 | 0.9943 | 0.6132 | |

[0492]

표 23

| 반감기가 긴 분자에 대한 EC ₅₀ 값 (PDL1 발현 CHO 세포 사용; 24시간) | | | | | |
|------------------------------------------------------------|--------|---------|---------|---------|---------------|
| | 우렬투입 | PRO0885 | PRO1060 | PRO1062 | PRO1058 + HSA |
| 체적 | 0.2207 | -11.83 | -5.151 | -3.914 | -7.71 |
| 최고 | 88.59 | 196.1 | 141.1 | 130.5 | 744.9 |
| EC50 (ng/ml) | 46.63 | 13.75 | 80.85 | 86.87 | 20.53 |
| R제곱 | 0.9739 | 0.9859 | 0.991 | 0.9737 | 0.9893 |
| | | | | | 0.9812 |
| | | | | | 0.9855 |
| | | | | | 0.6294 |

[0493]

| | | HCC827 (IFNy 처리한) HCC827 (IFNy 처리하지 않은) | | | |
|------------------|---------|--------------------------------------------|----------------|---------|----------------|
| | | PRO0885 | PRO1057 (+HSA) | PRO1060 | PRO1057 (+HSA) |
| 최저 | -0.7119 | -5.806 | 0.08644 | -0.6993 | -2.649 |
| 최고 | 85.16 | 136.6 | 63.18 | 43.56 | 91.62 |
| EC50 (ng/ml) | 47.43 | 9.518 | 76.61 | 13.57 | 52.77 |
| R ² 값 | 0.975 | 0.9838 | 0.9478 | 0.9255 | 0.9743 |
| | | | | | 0.9901 |
| | | | | | 0.9911 |
| | | | | | 0.972 |

| | | HCC827 (IFNy 처리한) HCC827 (IFNy 처리하지 않은) | | | |
|------------------|---------|--------------------------------------------|---------|---------|---------|
| | | PRO0885 | PRO0885 | PRO1060 | PRO1060 |
| 최저 | -0.7119 | -5.806 | 0.08644 | -0.6993 | -2.649 |
| 최고 | 85.16 | 136.6 | 63.18 | 43.56 | 91.62 |
| EC50 (ng/ml) | 47.43 | 9.518 | 76.61 | 13.57 | 52.77 |
| R ² 값 | 0.975 | 0.9838 | 0.9478 | 0.9255 | 0.9743 |
| | | | | | 0.9901 |
| | | | | | 0.9911 |
| | | | | | 0.972 |

표 25

| 총 CD3 양체 ($\mu\text{g/ml}$) | 2 | 1 | | | |
|----------------------------------|--------|---------|---------|--------|---------|
| CHO-A1 세포/㎖ | 50,000 | 100,000 | 200,000 | 50,000 | 100,000 |
| EC ₅₀ (ng/ml) | 52.01 | 41.85 | 30.05 | 12.85 | 86.22 |

PRO885로 처리시 T 세포에 의한 IL-2 분비의 유도

[0495]

PDL1xCD137 다종 특이적 구조체에 의한 NFκB 리포터 유전자 활성화

| PR0 ID | 클론 ID-CD137 | 클론 ID-CD37 | 클론 ID-S4 | 클론 ID-S4a | 표면 | IC ₅₀ [ng/ml] ^a | 표면 IC ₅₀ (%) | NF-κB 리포터 유전자의 활성화 (ICHO-PD-L1) | | NF-κB 리포터 유전자의 활성화 (HEK293T-IFNg) | | NF-κB 리포터 유전자의 활성화 (HEK293T-IFNg) | |
|---------|---------------|----------------|----------------|-------------|--------|---------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------|-------------------------|
| | | | | | | | | IC ₅₀ [ng/ml] ^b | 표면 IC ₅₀ (%) | IC ₅₀ [ng/ml] ^b | 표면 IC ₅₀ (%) | IC ₅₀ [ng/ml] ^b | 표면 IC ₅₀ (%) |
| PR09851 | 38-03-G02 CDR | 38-02-A04 CDR | NA | scDb | 11.72 | 6.75 | 459.42 | 8.42 | 111.05 | 8.88 | 16.30 | 134.20 | no |
| PR09852 | 38-03-G02 CDR | 38-27-C05 CDR | NA | s scDb-scFv | 33.68 | 2.35 | 431.70 | no | ND | ND | ND | ND | no |
| PR01123 | 38-03-G02 CDR | 38-02-A04 IF | NA | s scDb-scFv | 5.75 | 18.11 | 219.20 | no | 15.12 | 5.82 | 123.30 | 11.87 | 112.20 |
| PR01124 | 38-03-G02 CDR | 38-02-A04 STR | NA | s scDb-scFv | 3.68 | 42.50 | 238.60 | no | 5.62 | 19.89 | 113.20 | 4.83 | 22.59 |
| PR01126 | 38-03-G02 STR | 38-02-A04 CDR | NA | s scDb-scFv | 6.00 | 14.45 | 242.10 | no | 6.97 | 16.04 | 135.10 | 5.48 | 19.74 |
| PR09853 | 38-03-G02 CDR | 38-02-A04 CDR | 19-01-H04 STR | scDb-scFv | MD | ND | 368.67 | yes, 24h | ND | ND | ND | ND | no |
| PR01057 | 38-03-G02 CDR | 38-02-A04 CDR | 23-13-A01 STR | scDb-scFv | 752.40 | 0.10 | 662.79 | yes, 24h | 76.61 | 0.62 | 68.99 | 115.00 | yes, 24h |
| PR01058 | 38-03-G02 CDR | 38-27-C05 CDR | 23-13-A01 STR | scDb-scFv | 121.40 | 0.64 | 36.23 | yes, 24h | MD | MD | MD | MD | no |
| PR01059 | 38-03-G02 CDR | 38-02-A04 CDR | NA | Morrison-L | 269.10 | 0.69 | 189.09 | no, 24h | ND | ND | ND | ND | no |
| PR01060 | 38-03-G02 CDR | 38-02-A04 CDR | NA | Morrison-H | 80.85 | 0.36 | 144.13 | no, 24h | 13.57 | 3.50 | 54.94 | 17.51 | 57.54 |
| PR01061 | 38-03-G02 CDR | 38-27-C05 CDR | NA | Morrison-L | ND | ND | ND | MD | MD | MD | MD | MD | no |
| PR01062 | 38-03-G02 CDR | 38-27-C05 CDR | NA | Morrison-H | 86.87 | 0.54 | 133.52 | no, 24h | MD | MD | MD | MD | no |
| PR01186 | 37-20-B23-K01 | 38-02-A04 S02J | 23-13-A01 S02J | scDb-scFv | 50.96 | 0.97 | 152.06 | yes, 24h | ND | ND | ND | ND | yes, 24h |

NA: 제조 불가
ND: 측정 안됨
no: 부정
yes: 허가

^a: IC₅₀ [우울증] [ng/ml]/IC₅₀ [4T1a] [ng/ml]

^b: IC₅₀ [우울증] [ng/ml]/IC₅₀ [4T1a] [ng/ml]

표 27

| PRO ID | 클론 ID PD-L1 | 클론 ID CD137 | 클론 ID SA | 표면 | 시험 (h) | IC ₅₀ (ng/ml) | 대 IC ₅₀ (%) | 최대 활성화 (%) | NF-kB 리포터 유전자의 활성화 (HCC827+IFNg) | |
|---------|----------------|-----------------|----------------|-----------|--------|--------------------------|------------------------|------------|-------------------------------------|------------------------|
| | | | | | | | | | IC ₅₀ (ng/ml) | 대 IC ₅₀ (%) |
| PRO1430 | 37-20-B03 sc01 | 38-02-A04 sc013 | 19-01-H04 sc03 | scDb-scFv | 6 | 9.80 | 1.31 | 110.1 | yes | yes |
| PRO1479 | 37-20-B03 sc09 | 38-02-A04 sc013 | 19-01-H04 sc03 | scDb-scFv | 24 | 4.42 | 1.51 | 98.6 | yes | yes |
| PRO1482 | 37-20-B03 sc09 | 38-02-A04 sc013 | 19-01-H04 sc03 | scDb-scFv | 6 | 7.38 | 1.74 | 108.2 | yes | yes |
| PRO1431 | 33-03-G02 sc18 | 38-02-A04 sc013 | 19-01-H04 sc03 | scDb-scFv | 24 | 7.61 | 0.87 | 118.6 | yes | yes |
| PRO1473 | 33-03-G02 sc03 | 38-02-A04 sc013 | 19-01-H04 sc03 | scDb-scFv | 6 | 20.05 | 0.55 | 108.6 | yes | yes |
| PRO1476 | 33-03-G02 sc03 | 38-02-A04 sc013 | 19-01-H04 sc03 | scDb-scFv | 24 | 7.24 | 1.23 | 92.7 | yes | yes |
| PRO1432 | 33-03-G02 sc18 | 38-02-A04 sc013 | 19-01-H04 sc03 | scDb-scFv | 6 | 21.02 | 0.68 | 55.3 | yes | yes |

NO: 농도 높기

ND: 확정 안됨

a. $\frac{[C_{50} - \text{대} C_{50}]}{[C_{50} - \text{대} C_{50} + 1]} \times 100$ (%)

PDL1xCD137 다중 특이적 구조체에 의한 NF-kB 리포터 유전자 활성화

[0497]

[0498] 실시예 11: 세포 기반 검정에서 수반성 PDL1 차단 및 CD137 자극의 차단 효과에 대한 평가(초항원 SEA로 자극한 인간 PBMC 사용)

[0499] 이 실험에서 CD137의 효현작용 및 PD-1/PDL1 억제의 상승 효과를 평가하였다. 본 검정은 초항원 스타필로코커스 장내독소 A(SEA)로 자극한 말초혈액단핵세포(PBMC)를 사용하여, 항원 제시 세포(APC) 및 T 세포 각각에서의 PDL1 발현과 T 세포에서의 CD137 발현을 유도하였다. 항 PDL1xCD137 분자를 적용하여 T 세포 조절 신호전달 경로 2가지, 즉 억제 PD-1/PDL1 경로의 억제, 그리고 2중 특이적 항 PDL1xCD137 분자(PR0885)에 의해 매개되는 면역학적 시냅스 형성을 통한 CD137 경로의 활성화를, 수반하여 표적화하였다. 인터루킨-2(IL-2)의 분비에 의해 T 세포의 활성화를 평가하여, 벤치마킹 기준 항체 아벨루맙에 의해 매개되는 PDL1 억제에 의해 매개되는 효과와 비교하였다. 이에 더하여, 동일한 실험 조건에서 항 PDL1 scFv인 PR0997을 시험하여, 아벨루맙과 비교하였다.

[0500]

새로 마련한 인간의 전혈로부터 밀도 구배 원심분리에 의해 말초혈액단핵세포(PBMC)를 단리하였다. 그 다음, 항 CD56 항체 및 MACS 세포 분리 키트(Miltenyi Biotec)를 사용하여 PBMC를 NK 세포에 대해 고갈시켰다. 이후

PBMC를 웨당 100,000개씩 96웰 평판에 첨가하고 나서, 여기에 SEA를 농도 10 ng/ml로 함유하는 검정 완충제 중 PRO885, PRO997 및 아벨루맙의 연속 희석액을 첨가하였다. 37°C 및 5% CO₂에서 96시간 동안 항온처리한 다음, 세포의 상청액을 수집하여, 배양 상청액 중 인간 인터루킨-2(IL-2) 수준을, 키트 지침에 따라 IL-2 인간 ELISA MAX 검정(BioLegend)을 이용하여 정량하였다. IL-2 농도를, IL-2 표준 곡선으로부터 내삽하여 역산정하고, 아벨루맙 및 PRO885 농도에 대해 그래프를 작성하여 EC₅₀ 값을 산정하였다.

[0501] 도 13에 보인 바와 같이, 2종 특이적 분자인 PRO885를 첨가하여 CD137 자극 및 PD-1/PDL1 상호작용의 수반적 차단을 수행한 후 T 세포에 의해 IL-2를 분비시켰다. 아벨루맙의 경우와 비교하였을 때, PRO885는 더 큰 T 세포 활성화와 더 우수한 효능을 보였다(PRO885, EC₅₀ = 39.92 ng/ml; 아벨루맙, EC₅₀ = 69.89 ng/ml; 표 31). 이러한 관찰 결과는, 2종 특이적 항 PDL1xCD137 scDb PRO885가, 아벨루맙에 의한 순수한 PDL1 차단보다 더욱 강력하게 T 세포 자극을 유도할 수 있음을 입증해준다. 게다가, 고 친화성 항 PDL1 scFv PRO997은 T 세포 자극에 있어 아벨루맙보다 그 효능이 더 큰 것으로 확인되었다(PRO997, EC₅₀ = 40.86 ng/ml; 아벨루맙, EC₅₀ = 90.18 ng/ml, 표 28).

표 28

PBMC 검정에 있어 PRO885 및 PRO997에 대한 EC₅₀ 값(SEA 자극 이용)

| | 아벨루맙 | PRO885 | | 아벨루맙 | PRO997 |
|--------------------|--------|--------|--------------------|--------|--------|
| 최저 | 2479 | 7463 | 최저 | 2117 | 3226 |
| 최고 | 8687 | 20663 | 최고 | 8588 | 9480 |
| EC50(ng/ml) | 69.89 | 39.92 | EC50(ng/ml) | 90.18 | 40.86 |
| R 제곱 | 0.8589 | 0.9052 | R 제곱 | 0.8783 | 0.867 |

[0502]

[0503] 실시예 12: 인간 세포주 유래 폐암 이종이식편 모델 HCC827에 있어 항 CD137 항체의 항 종양 효능 평가

[0504] 항 CD137 항체 PRO1138의 항 종양 활성을, 면역결핍 NOG 마우스 변종(Taconic) 및 동종이계 인간 말초혈액단핵세포를 이용하여 인간 HCC827 NSCLC 이종이식편에서 평가하였다. 이식한 인간 T 림프구는 외래 주조직접합성(MHC) I군 항원 및 II군 항원과 마우스 세포로부터 유래한 기타 항원에 대해 이종 반응성(xeno-reactivity)을 보였다. 결과적으로 T 림프구는 상이한 장기에서 염증 침습을 일으켰으며, 이로 말미암아 수 주후 동물은 폐사하였다(이 과정은 이종이식편 대 속주병(xGVHD)이라 공지됨). 면역조절성 항체, 예컨대 항 PDL1 및 항 CD137 처리는 xGVHD를 악화시키는 것으로 보였다(Sanmamed MF et al. "Nivolumab and urelumab enhance antitumor activity of human T lymphocytes engrafted in Rag2^{-/-}IL2R_g null immunodeficient mice." Cancer Res 2015;75(17):3466-3478).

[0505] 연구 조건 및 처리 계획:

[0506] 암컷 NOG 마우스에 5x10⁶개 HCC827 세포를 단독 주입하였다. PBS 중 50% 세포 혼탁액과 50% 매트리겔의 혼합물 중 세포를, 총 주입 부피 100 μl가 되도록 주입하였다. 종양 세포를 NOG 마우스에 주입하여 종양 이식을 성공적으로 수행하고 나서(종양값 군에 속하는 종양의 부피 80 mm³ ~ 100 mm³), 마우스를 5x10⁶개의 인간 PBMC로 교체하였다(정맥 주입). 무작위화 당일에 각 군에 속하는 마우스 4마리를 공여개체 A의 PBMC로 재구성하였고, 다른 마우스 4마리는 공여개체 B의 PBMC로 재구성하였다. PBMC를 주입한 지 1시간 ~ 2시간 후 처리를 개시하였으며, 하기와 같이 진행하였다.

| 군 ID | 화합물 | 1일 총 용량 [mg] | 투여일(일) | 투여경로 | 마우스수(마리) |
|------|---------|--------------|----------|------|----------|
| 1 | 비이클 | na | 0,3,7,10 | 복막내 | 8 |
| 2 | 우렐루맙 | 0.2 | 0,3,7,10 | 복막내 | 8 |
| 3 | PRO1138 | 0.2 | 0,3,7,10 | 복막내 | 8 |

[0507]

[0508] 체중 측정과, 캘리퍼에 의한 종양 부피 측정을 매주 2회 수행하였다. 연구 결과에 따라 지정 시점에 동물을 죽였다.

[0509] 1마리를 제외한 모든 동물을 "동일한" 시점(17일차 및 18일차)에 죽였다. 이종이식편 대 숙주병(xGVHD)의 발생으로 말미암아, 동물 1마리는 이미 14일차에 죽었다. 용량을 이유로 1일차에 각 군의 절반에 대한 시료 수집 및 처리를 수행하였고, 다음 날에는 각 군의 나머지 절반에 대한 시료 수집 및 처리를 수행하였다. 상이한 공여개체 2개로부터 유래한 PBMC로 재구성한 동물을 시료채취 코호트 2개에 균등하게 할당하였다.

[0510]

결과

[0511] 면역결핍 NOG 마우스 변종 및 동종이계 인간 말초혈액단핵세포(hPBMC)를 이용하여 종양 부피를 측정함으로써 인간 HCC827 NSCLC 이종이식편에 있어 항 CD137 IgG4(PRO1138 또는 우렐루맙)의 항 종양 활성을 평가하였다(도 14). 마우스를 죽일 때까지(17일차 및 18일차) 종양 부피를 매주 2회씩 측정하였다. 종양 부피를, 처리 개시시의 종양 부피에 대해 정규화하였다(상대적 종양 부피). 도 14에 보인 바와 같이, PRO1138 모노클로날 항체(항 CD137 IgG4) 처리는 비이클 처리 대조군에서 비하여 감소한 종양 생장을 보였다. 특히 PRO1138 처리는 체중 중앙값의 감소를 유도하지 않았는데, 이는 분자가 시험된 용량 수준에서 잘 관용됨을 암시하는 헌편, 우렐루맙 처리는 처리 개시후 17일차에 체중 중앙값의 감소를 유도하였다(도 15).

[0512] 실시예 13: 인간 제대혈 유래 CD34+ 조혈줄기세포(UCB HSC)가 이식된 NOG 마우스에 있어 항 CD137 항체와 항 PDL1 항체의 조합 요법의 항 종양 효능 평가

[0513] 인간 HCC827 NSCLC 이종이식편에서 인간 제대혈 유래 CD34+ 조혈줄기세포(UCB HSC)가 이식된 NOG 마우스 변종을 사용하여 본 발명의 항 CD137 IgG4(PRO1138, 서열 번호 88 및 89)와 항 PDL1 IgG1(PRO1196, 서열 번호 154 및 155)의 조합 요법의 항 종양 활성을 평가하였다

[0514]

연구 조건 및 처리 계획

[0515] 인간 제대혈 유래 CD34+ 조혈줄기세포(UCB HSC)가 이식된 암컷 NOG 마우스에 HCC827 NSCLC 세포를 피하 주입하였다. 마우스에 5×10^6 개 HCC827 세포를 단독 주입하였다. 세포에 PBS 중 50% 세포 혼탁액 및 50% 매트리겔의 혼합물(총 주입 부피 100 μ l)을 주입하였다. 종양 세포를 NOG 마우스에 주입하여 종양 이식을 성공적으로 마친 후(종양 군 종양 부피 $80 \text{ mm}^3 \sim 100 \text{ mm}^3$), 마우스(n=10)를 치료군들에 무작위로 할당하였다.

| 군 ID | 화합물 | 1일 총용량 [mg] | 투여일(일) | 투여경로 | 마우스수(마리) |
|------|----------------------------------------------------|-------------|--------------|------|----------|
| 1 | 비이클(팔리비주맙) | 0.1 mg | 0,5,10,15,20 | 복막내 | 10 |
| 2 | 항 PDL1 IgG1 (PRO1196) | 0.1 mg | 0,5,10,15,20 | 복막내 | 10 |
| 3 | 아벨루맙 | 0.1 mg | 0,5,10,15,20 | 복막내 | 10 |
| 4 | 우렐루맙 | 0.1 mg | 0,5,10,15,20 | 복막내 | 10 |
| 8 | 항 PDL1 IgG1 (PRO1196) 및 항 CD137 IgG4 (PRO1138)의 조합 | 각각 0.1 mg | 0,5,10,15,20 | 복막내 | 10 |

[0516]

[0517] 체중 측정과, 캘리퍼에 의한 종양 부피 측정을 매주 2회 수행하였다.

[0518] 결과

[0519] 본 발명의 항 CD137 항체와 PDL1 억제제의 조합(PR01138과 PR01196의 조합)에 관한 항 종양 활성을, 종양 부피를 측정함으로써 평가하였다(도 16 ~ 도 18). 마우스를 죽일 때까지(25일차, 29일차 및 30일차) 종양 부피를 매주 2회씩 측정하였다. 종양 부피를, 처리 개시시의 종양 부피에 대해 정규화하였다(상대적 종양 부피, RTV). 도 16 ~ 도 18에 보인 바와 같이, PR01138과 PR01196의 조합은 상승 효과와 종양 생장의 명백한 안정화를 달성하였다. 조합 요법은 단독 제제 요법보다 더욱 강력한 종양 생장 감소를 달성하였다. 모든 통계는 GraphPad Prism 6 버전을 이용하여 산정하였다. 통계적 유의미성은 Bonferroni 보정을 적용하는 일원 ANOVA 검정을 이용하여 확정하였다. 그래프는 95% CI(신뢰 구간)인 평균을 보였다.

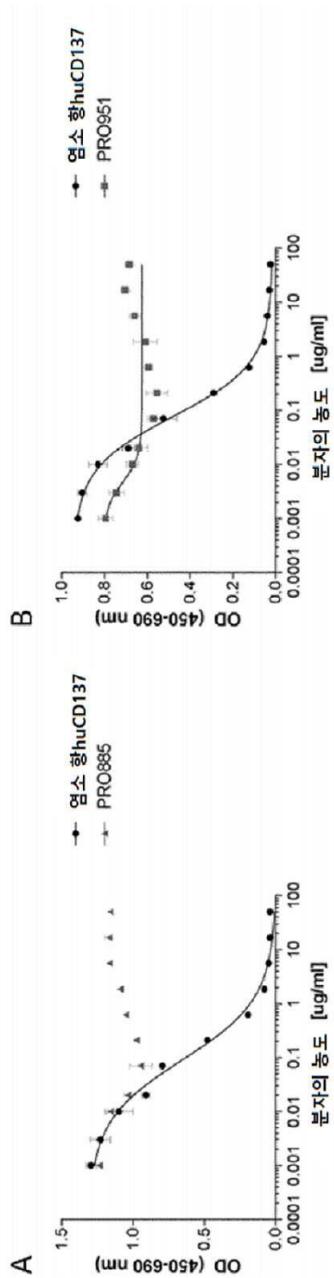
[0520] 실시예 14: 동계 MC38 결장암 모델에 있어 PDL1 차단 및 CD137의 수반성 국소 자극에 대한 항 종양 효능 평가

[0521] 추가로, 비변형 면역계를 가지는 동계 C57BL/6 마우스의 MC38 결장 암종 모델에서 본 발명의 다중 특이적 항체의 항 종양 활성을 시험하였다. 이 모델은 CD137 효현제 및 PD-1/PDL1 길항제가 조합 처리될 때 항 종양 활성이 향상됨을 보여주기 위하여 다른 연구자들에 의해 사용되어 왔다(Chen S et al. "Combination of 4-1BB agonist and PD-1 antagonist promotes antitumor effector/memory CD8 T cells in a poorly immunogenic tumor model". *Cancer Immunol Res* 2014;3(2):149-160 및 Rodriguez-Ruiz ME et al. "Abscopal effects of radiotherapy are enhanced by combined immunostimulatory mAbs and are dependent on CD8 T cells and crosspriming" *Cancer Res* 2016;76(20):5994-6005).

[0522] 본 발명의 다중 특이적 항체의 항 CD137 도메인과 항 PDL1 도메인 둘 다는 마우스 PDL1에 대해 교차 반응성이 아니었으므로, 조작된 인간 CD137 녹-인(knock-in) 모델(CrownBio에 의해 확립됨)을 사용하였다. 이 모델에서, 마우스 CD137의 세포외 및 경막 도메인을 C57BL/6 마우스 백그라운드에서 CRISPR/Cas9 계를 사용하여 인간 CD137의 각 서열로 치환하였다. 뿐 아니라, CMV 프로모터의 제어 하에 있으면서 마우스 PDL1 대신 인간 PDL1을 발현하는 변형 MC38 종양 세포주를 사용하였다. 종양 부피에 대한 본 발명의 다중 특이적 항체의 효과를, ND02의 PDL1 특이적 가변 도메인과 동일한 PDL1 특이적 가변 도메인을 함유하는 인간화 IgG1과, 동일한 CD137 특이적 가변 도메인을 가지는 인간화 IgG4의 조합 처리시 효과와 비교하였다. 국소화 항 종양 면역 반응에 대한 추가 증거를 제공하기 위해, 종양 침습성 림프구, 예컨대 CD8+, CD4+ 및 조절 T 세포의 출현빈도를 유세포분석법으로 분석하였다. 항 CD137/항 PDL1 처리 후 면역계의 전신 조정을 탐구하기 위해, 간과 비장에서의 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포 출현빈도를 유세포분석법과, 가능하게는 면역조직화학적방법으로 분석하였다. 게다가 정량적 ELISA 방법을 사용하여 IFN γ 의 전신 수준을 분석할 수 있었다. 항 CD137/항 PDL1 조합 요법의 안전성 프로필을 추가로 특성규명하기 위해, (임상에서 항 CD137 요법에서 관찰되는) 간 독성과 주로 연관된 임상화학병리학적 매개변수, 예컨대 알라닌 아미노기전이효소, 글루탐산염 탈수소효소 및 아스파르트산염 아미노기전이효소의 증가한 수준을 평가할 수 있었다.

도면

도면 1

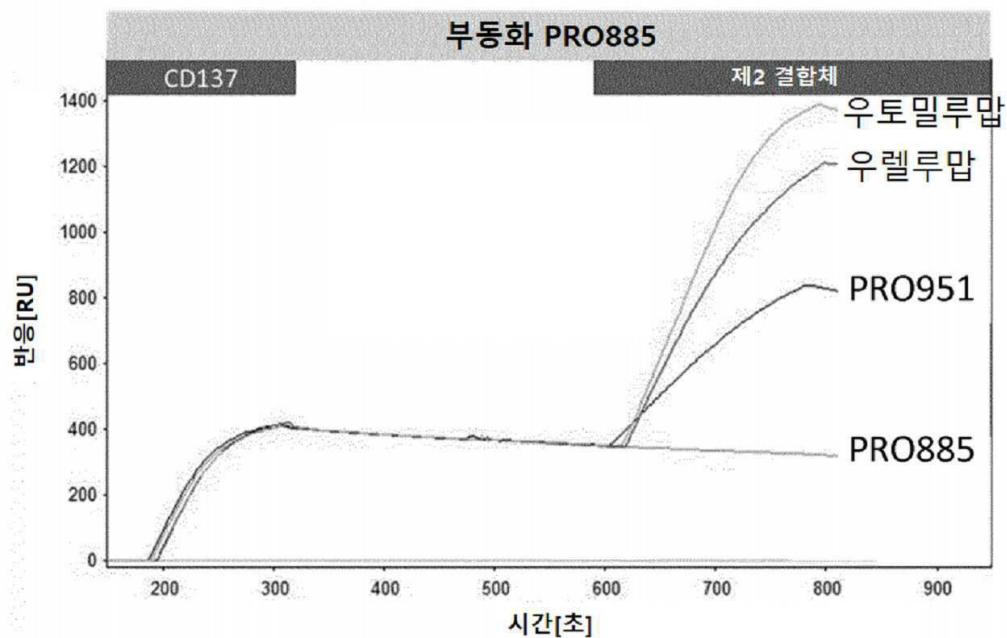


도면2

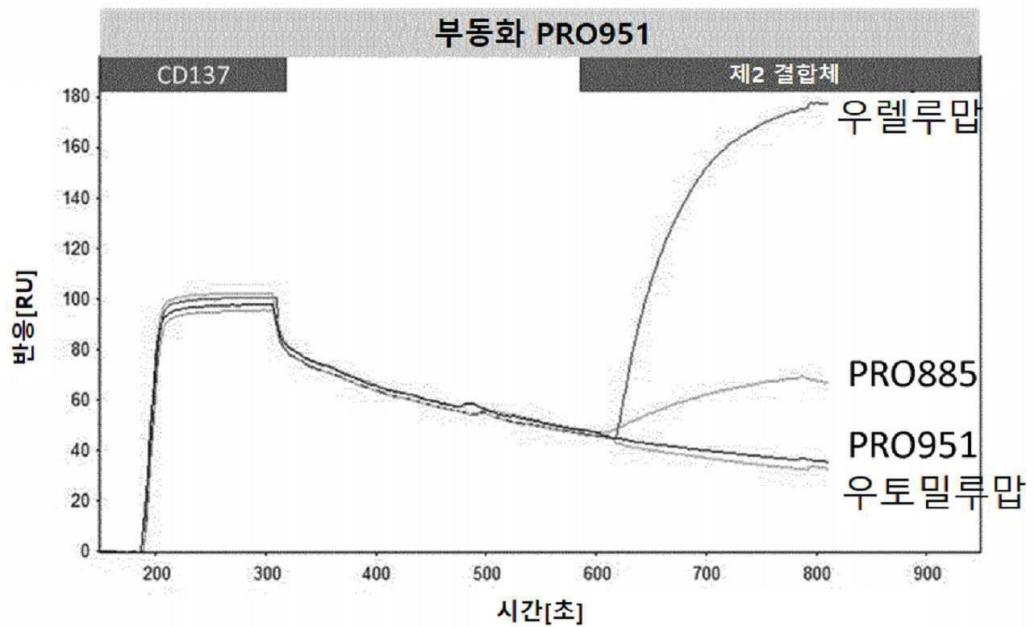
| 열 지도 | 우렐루맙 | 우토밀루맙 | PRO885 | PRO951 |
|--------|------|-------|--------|--------|
| PRO885 | 29% | 35% | 0% | 48% |
| PRO951 | 34% | 0% | 22% | 0% |

이론상 Rmax에 대해 정규화된 결합 수준[%]

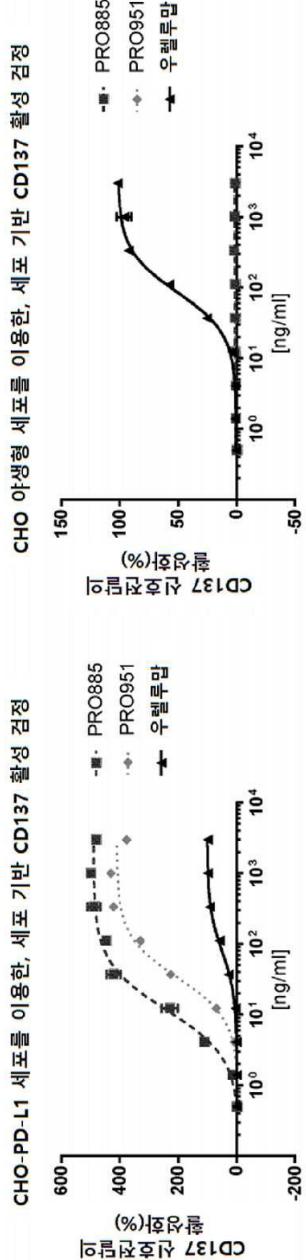
도면3



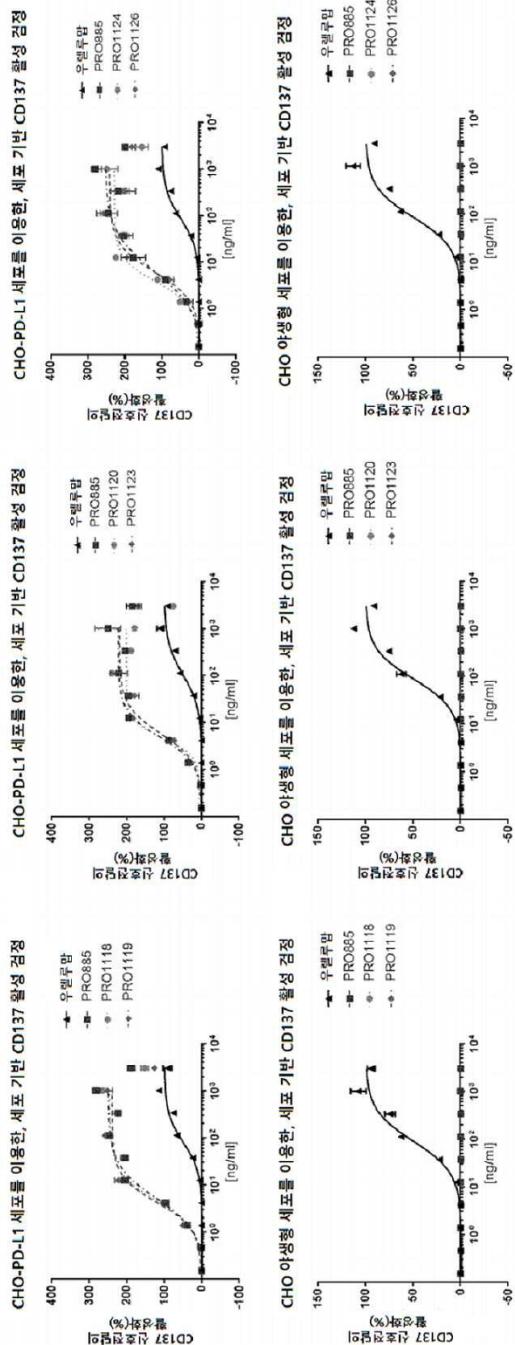
도면4



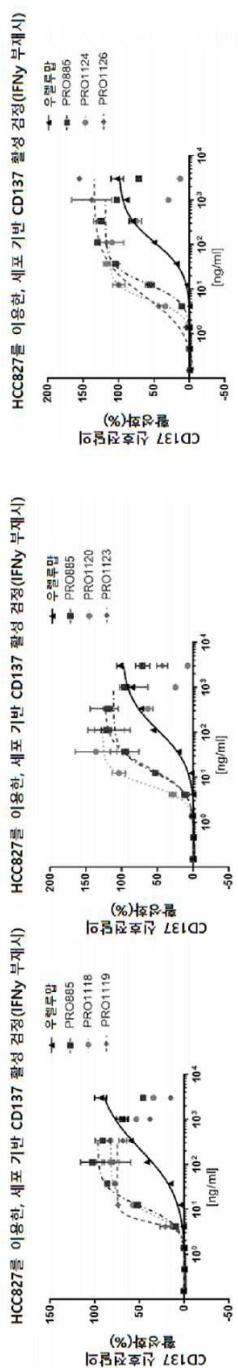
도면5



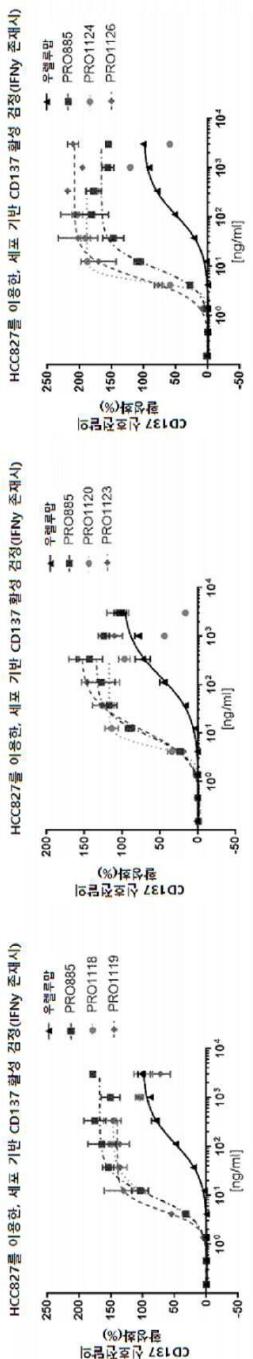
도면6



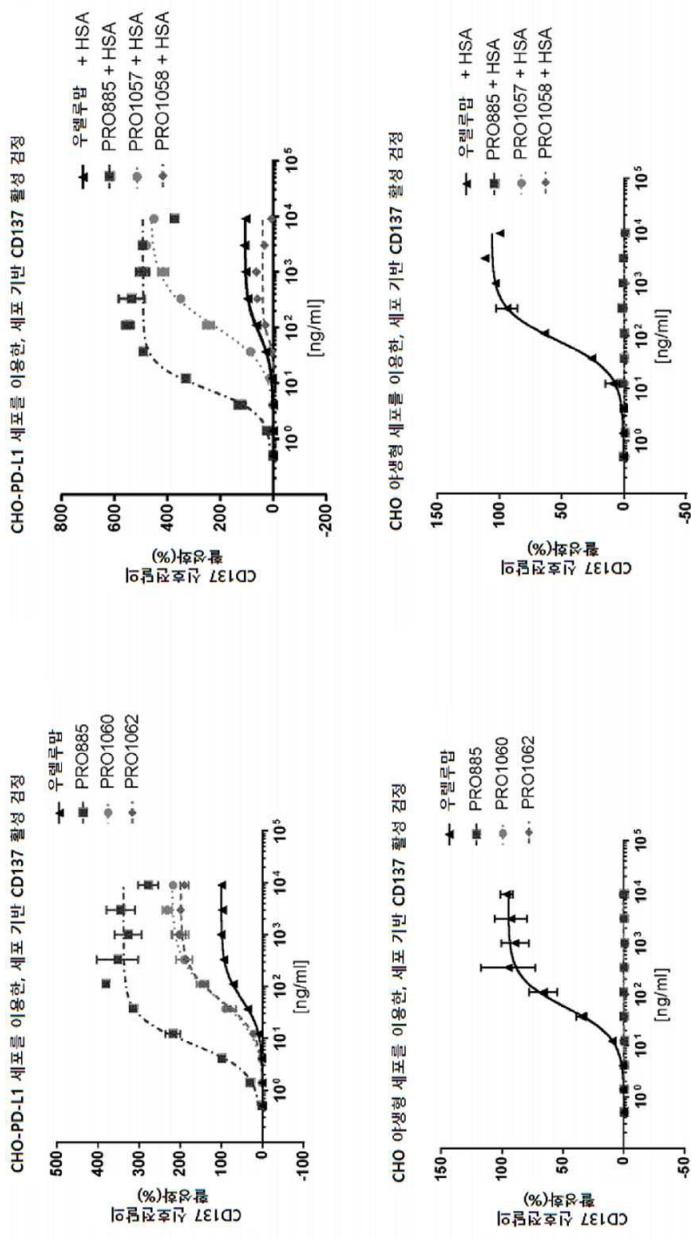
도면7



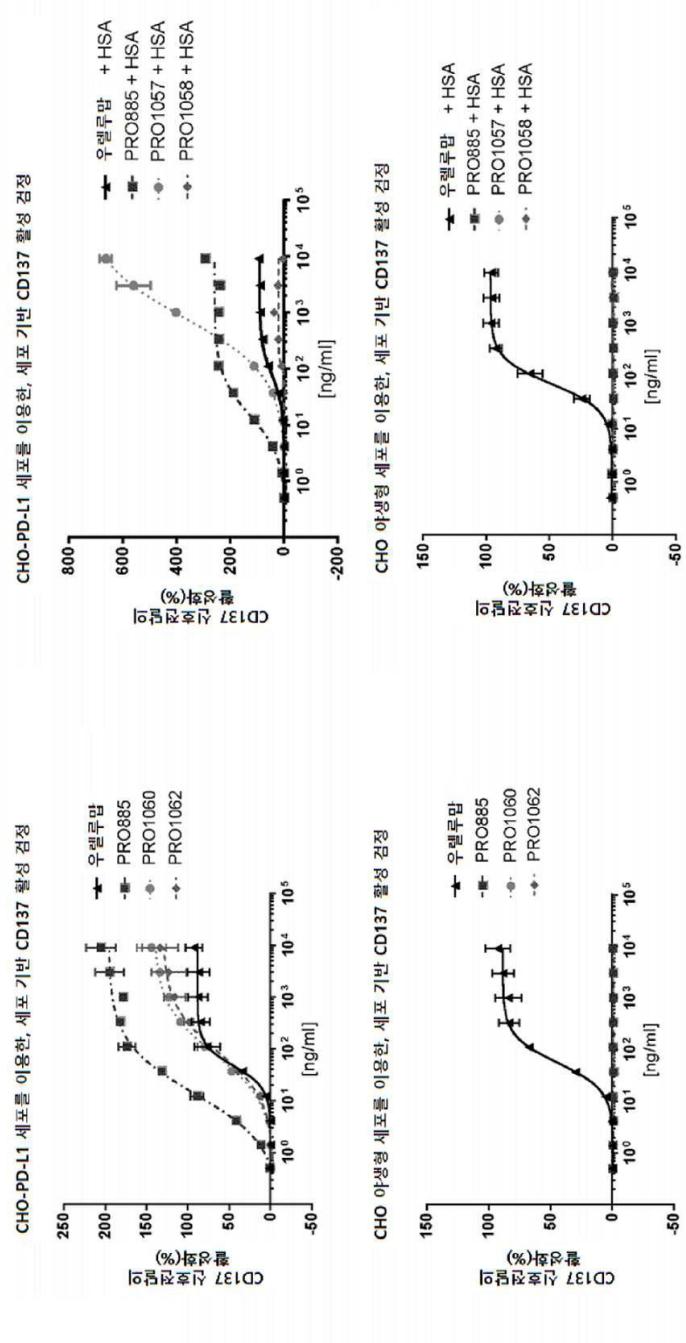
도면8



도면9

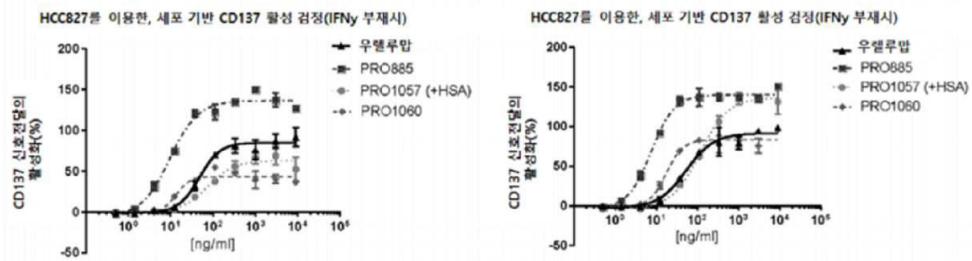


도면10



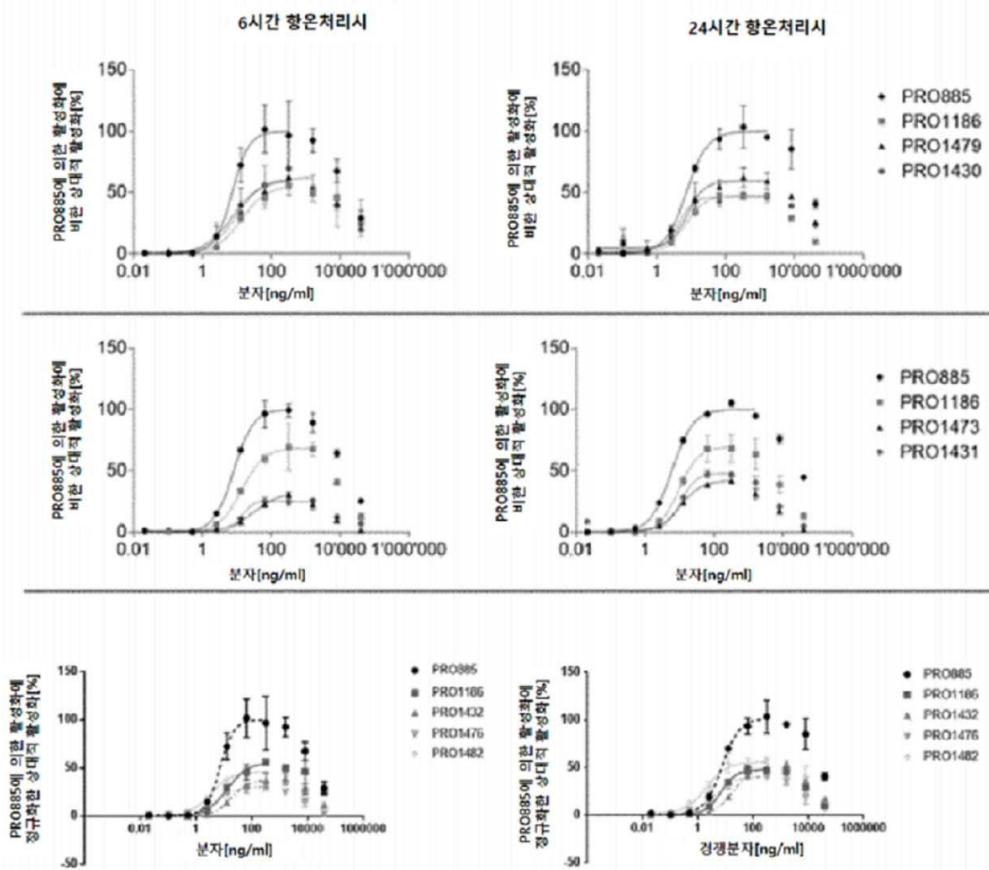
도면11

A

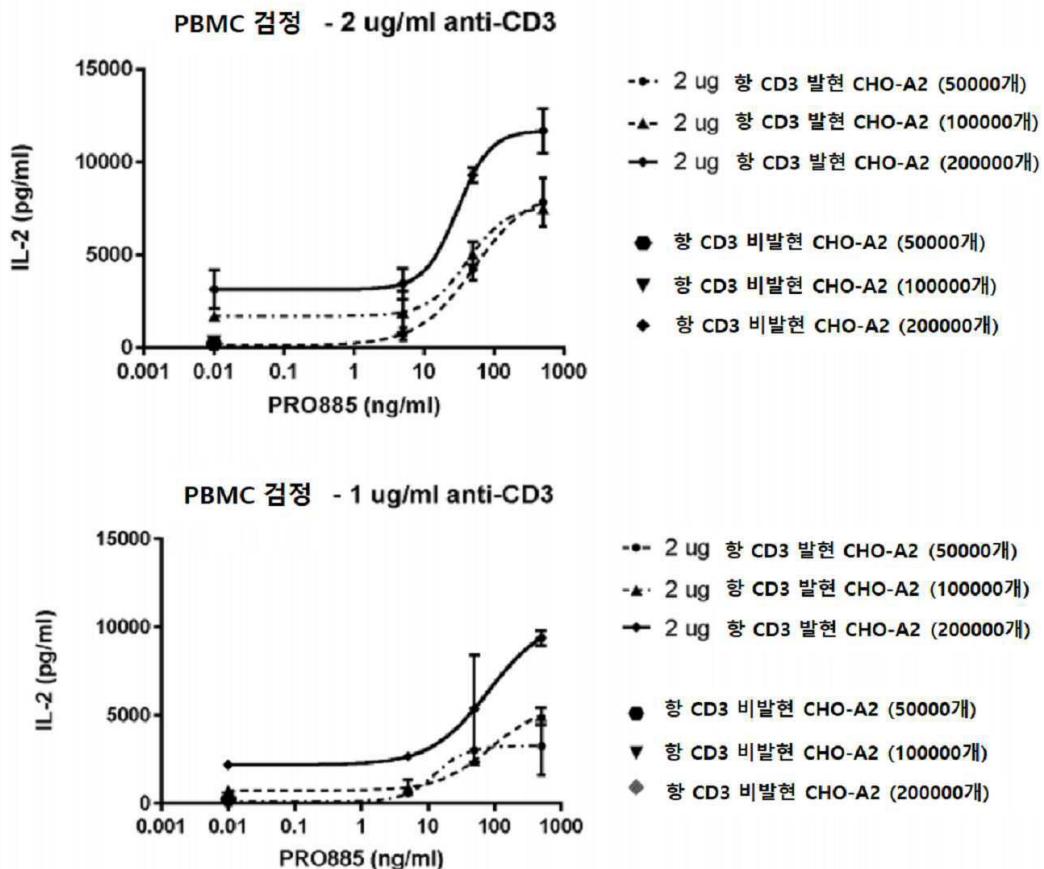


B

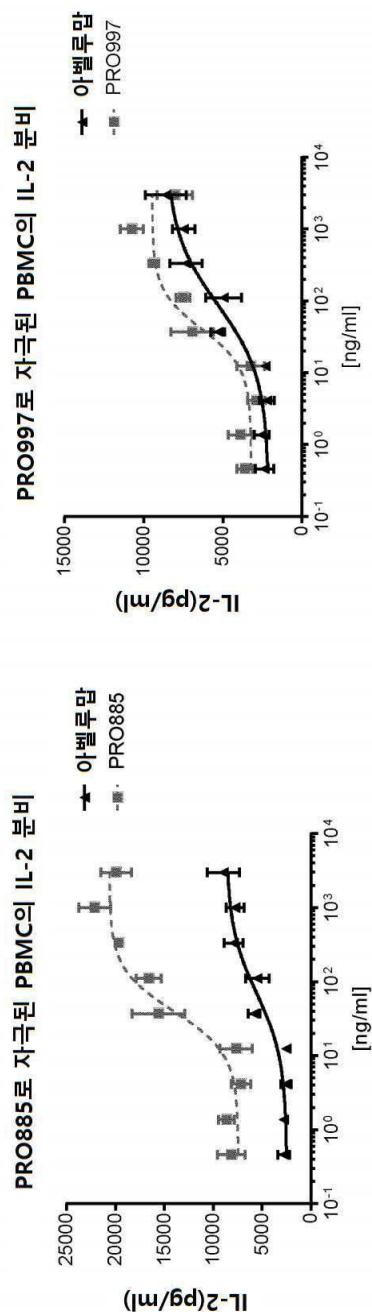
HCC827과 공동배양시 Jurkat 리포터 세포에서의 CD137 활성화



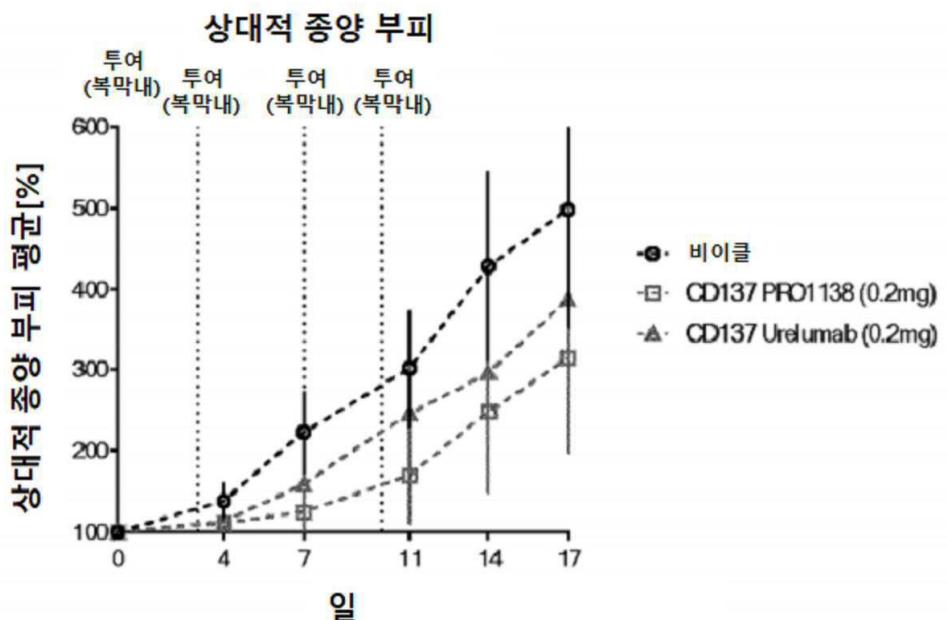
도면12



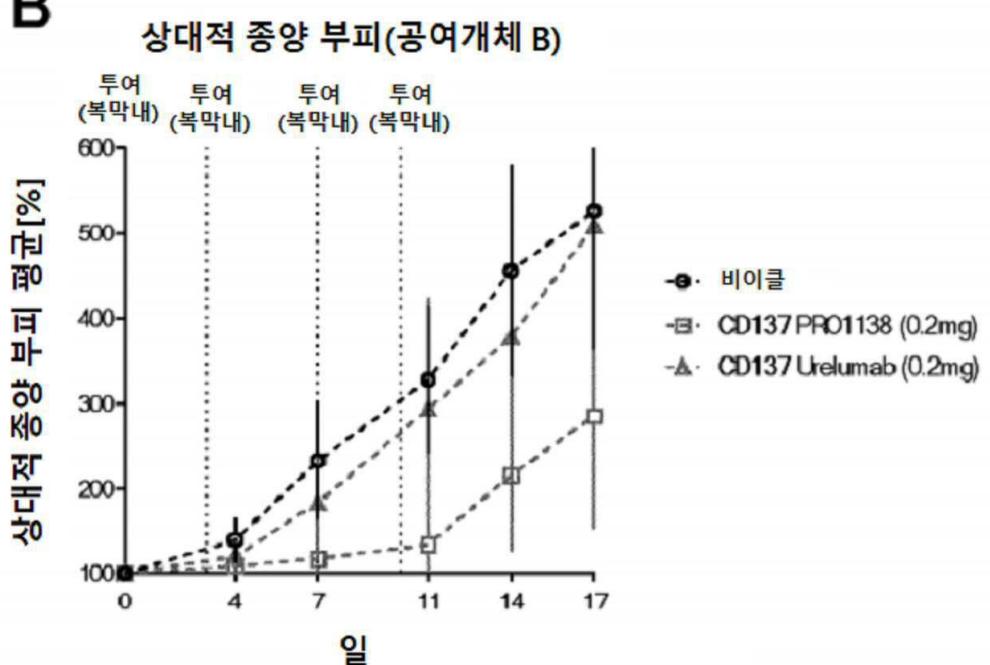
도면13



도면14a

A

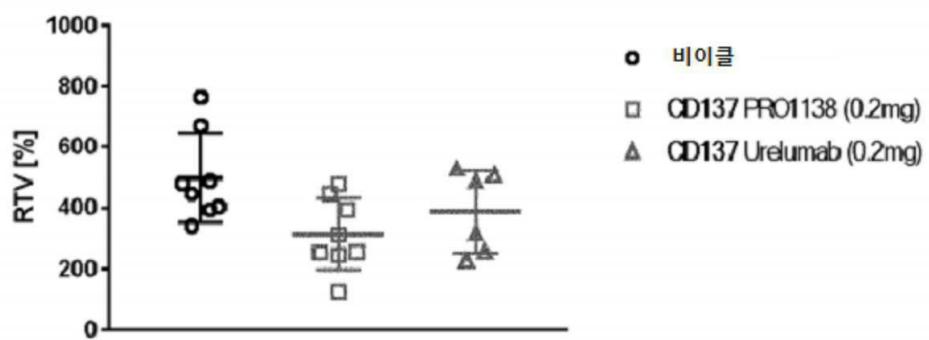
도면14b

B

도면14c

C

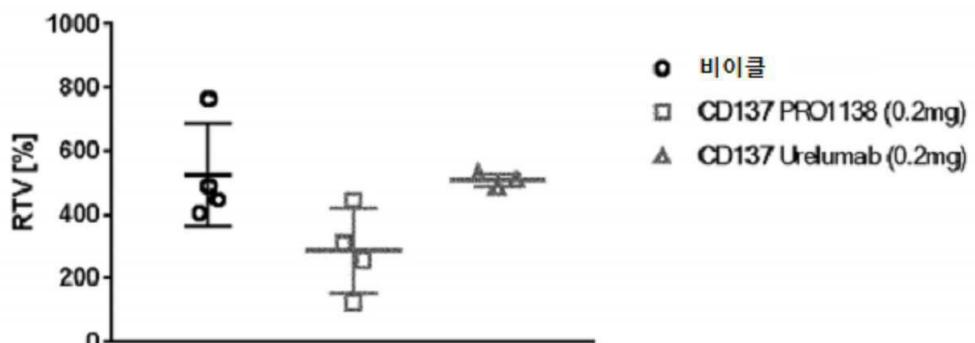
17일차일 때 RTV: 종양 부피 분포



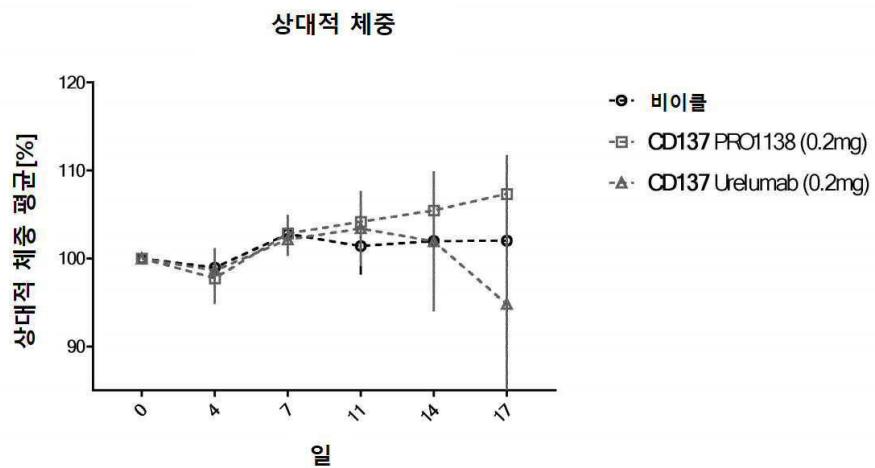
도면14d

D

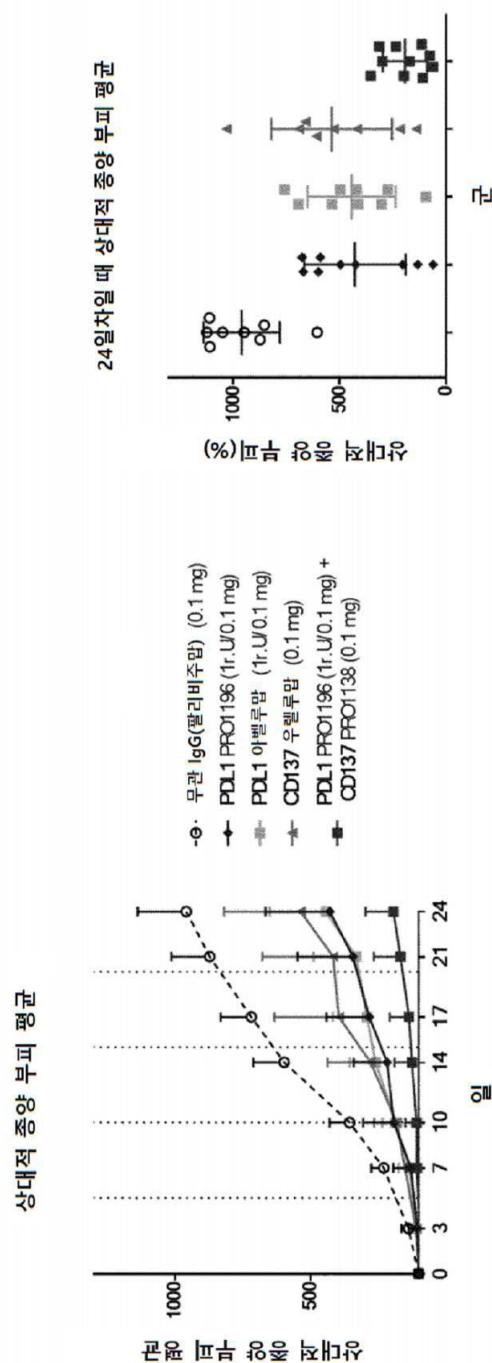
17일차일 때 RTV: 종양 부피 분포(공여개체 B)



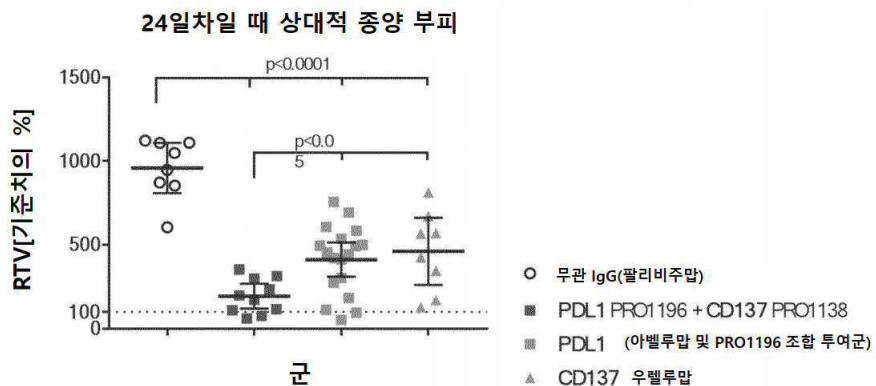
도면15



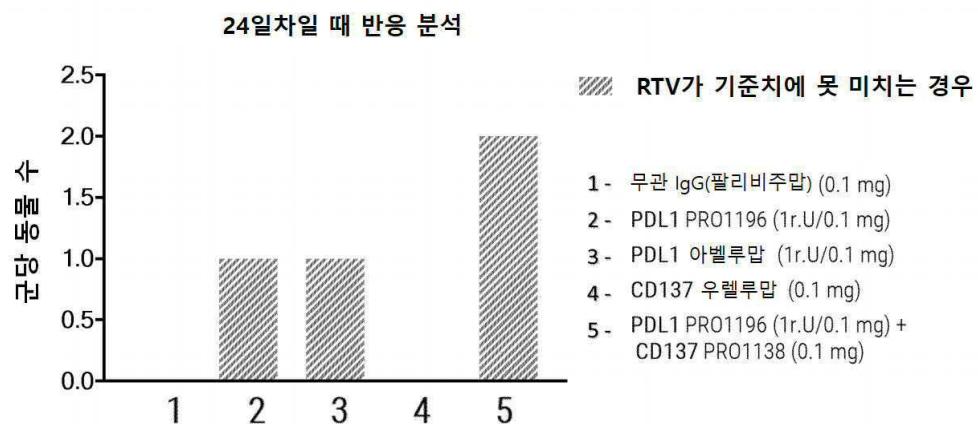
도면16



도면17



도면18



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Numab Innovation AG

<120> ANTIBODIES TARGETING CD137 AND METHODS OF USE THEREOF

<130> 115269P877PC

<140> PCT/EP2018/077514

<141> 2018-10-09

<150> EP17195780.6

<151> 2017-10-10

<150> EP18167092.8

<151> 2018-04-12

<150> EP18180815.5

<151> 2018-06-29

<160> 155

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 1

Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys

1 5 10

<210> 2

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 2

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

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 3

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 3

Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn Leu

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 4

Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Tyr Trp

1 5 10

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400>

> 5

Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Tyr Trp

1 5 10

<210> 6

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 6

Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys

1 5 10 15

Gly Arg

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 7

His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn

1 5 10

<210> 8

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 8

Asn Ser Tyr Trp Ile Cys

1 5

<210> 9

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 9

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

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 10

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 10

His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn Leu

1 5 10

<210> 11

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 11

Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Tyr

1 5

<210> 12

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 12

Val Gly Ser Ser Asp

1 5

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 13

Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn

1 5 10

<210> 14

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 14

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn

100 105 110

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

115 120

<210> 15

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120

<210> 16

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 16

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120

<210> 17

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400>

17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp

35 40 45

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

| | | |
|------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 50 | 55 | 60 |
| Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser | | |
| 115 | 120 | |
| <210> 18 | | |
| < | | |
| 211> 11 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | |
| <400> 18 | | |
| Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val Leu Ala | | |
| 1 | 5 | 10 |
| <210> 19 | | |
| <211> 7 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | |
| <400> 19 | | |
| Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser | | |
| 1 | 5 | |
| <210> 20 | | |
| <211> 9 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220> | | |
| ><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | |
| <400> 20 | | |
| Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly Asp | | |

1 5

<210> 21

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 21

Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val

1 5

<210> 22

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 22

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

1 5 10

<210> 23

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 23

Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly

1 5

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 24

Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val

1 5

<210> 25

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 25

Arg Ala Ser

1

<210> 26

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 26

Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly

1 5

<210> 27

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

| | | |
|------------------------------------------------------------------------|-----|----|
| 85 | 90 | 95 |
| Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly | | |
| 100 | 105 | |
| <210> 28 | | |
| <211> 108 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | |
| <400> | | |
| 28 | | |
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly | | |
| 1 | 5 | 10 |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val | | |
| 20 | 25 | 30 |
| Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly | | |
| 100 | 105 | |
| <210> 29 | | |
| <211> 108 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | |
| <400> | | |
| 29 | | |
| Asp Leu Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly | | |
| 1 | 5 | 10 |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val | | |

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

100 105

<210> 30

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400>

30

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

100 105

<210> 31

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 31

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 32

<211> 252

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 32

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

| | | | |
|------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 130 | 135 | 140 | |
| Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser | | | |
| 145 | 150 | 155 | 160 |
| Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp | | | |
| 165 | 170 | 175 | |
| Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn | | | |
| 180 | 185 | 190 | |
| Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln | | | |
| 195 | 200 | 205 | |
| Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr | | | |
| 210 | 215 | 220 | |
| Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn | | | |
| 225 | 230 | 235 | 240 |
| Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser | | | |
| 245 | 250 | | |
| <210> 33 | | | |
| <211> 252 | | | |
| <212> PRT | | | |
| <213> Artificial Sequence | | | |
| <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | | |
| <400> 33 | | | |
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly | | | |
| 1 | 5 | 10 | 15 |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val | | | |
| 20 | 25 | 30 | |
| Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile | | | |
| 35 | 40 | 45 | |
| Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly | | | |
| 50 | 55 | 60 | |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro | | | |
| 65 | 70 | 75 | 80 |

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

85 90 95

Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

165 170 175

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

180 185 190

Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250

<210> 34

<211> 252

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 34

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

165 170 175

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

180 185 190

Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn Gln

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250

<210> 35

<211

> 252

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 35

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 225 | 230 | 235 | 240 |
|-----|-----|-----|-----|

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

| | |
|-----|-----|
| 245 | 250 |
|-----|-----|

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 36

Gly Phe Ser Phe Asn Asn Asp Tyr Asp Met Cys

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

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 37

Cys Ile Asp Thr Gly Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

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

Gly

<210> 38

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 38

Arg Glu Ala Ala Ser Ser Gly Tyr Gly Met Gly Tyr Phe Asp Leu

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

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 39

Val Ser Gly Phe Ser Phe Asn Asn Asp Tyr Asp

1 5 10

<210> 40

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 40

Ile Asp Thr Gly Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

Arg

<210> 41

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 41

Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr Gly Met Gly Tyr Phe Asp

1 5 10

<210> 42

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 42

Asn Asp Tyr Asp Met Cys

1 5

<210> 43

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 43

Cys Ile Asp Thr Gly Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 44

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 44

Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr Gly Met Gly Tyr Phe Asp Leu

1 5 10 15

<210> 45

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 45

Gly Phe Ser Phe Asn Asn Asp Tyr

1 5

<210> 46

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 46

Thr Gly Asp Gly

1

<210> 47

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 47

Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr Gly Met Gly Tyr Phe Asp

1 5 10

<210> 48

<211> 125

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 48

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Asn Asn Asp

20 25 30

Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Cys Ile Asp Thr Gly Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp

50 55 60

Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr Gly Met Gly Tyr Phe

100 105 110

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

115 120 125

<210> 49

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 49

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn Asn Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 50

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400>

50

Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser

1 5 10

<210> 51

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 51

Gln Gly Thr Tyr Leu Ser Ser Asn Trp Tyr Trp Ala

1 5 10

<210> 52

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 52

Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn Asn Trp

1 5 10

<210> 53

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 53

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

1 5 10

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 54

Thr Tyr Leu Ser Ser Asn Trp Tyr Trp

1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 55

Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn Asn Trp

1 5

<210> 56

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 56

Arg Ala Ser

1

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 57

Thr Tyr Leu Ser Ser Asn Trp Tyr Trp

1 5

<210> 58

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 58

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly

<210> 59

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 59

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 60

<211> 258

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 60

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Phe Asn Asn Asp Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly

165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Ile Asp Thr Gly Asp Gly Ser Thr

180 185 190

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

<210> 61
 <211> 255
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 61

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

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

Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln
 115 120 125
 Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys

| | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 130 | 135 | 140 |
| Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu | | |
| | | |
| 180 | 185 | 190 |
| Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Leu Thr Leu | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu | | |
| | | |
| 245 | 250 | 255 |
| <210> 62 | | |
| <211> 11 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Homo sapiens | | |
| <400> 62 | | |
| Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly | | |
| 1 | 5 | 10 |
| <210> 63 | | |
| <211> 11 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Homo sapiens | | |
| <400> 63 | | |
| Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly | | |
| 1 | 5 | 10 |
| <210> 64 | | |
| <211> 11 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Homo sapiens | | |

<400> 64

Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Ile Ile Leu Gly
1 5 10

<210> 65

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

Phe Gly Glu Gly Thr Glu Leu Thr Val Leu Gly
1 5 10

<210> 66

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

1 5 10

<210> 67

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly

1 5 10

<210> 68

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Ala Leu Gly

1 5 10

<210> 69

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 69

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys

145 150 155 160

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly

| | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 210 | 215 | 220 |
| Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys | | |
| 405 | 410 | 415 |
| Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr | | |
| 420 | 425 | 430 |
| Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp | | |
| 450 | 455 | 460 |

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe
 465 470 475 480

Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 485 490

<210> 70

<211> 499

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 70

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp
 85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly
 100 105 110

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val
 115 120 125

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser
 130 135 140

Phe Asn Asn Asp Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 145 150 155 160

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

| | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 165 | 170 | 175 |
| Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser | | |
| 180 | 185 | 190 |
| Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr Gly | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Met Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Val Tyr Asp Asn Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Thr Tyr Leu Ser Ser Asn Trp Tyr Trp Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile | | |
| 405 | 410 | 415 |

Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala
 420 425 430
 Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val
 435 440 445
 Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser
 450 455 460
 Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp
 465 470 475 480
 Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 485 490 495
 Val Ser Ser

<210> 71
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof
 <400> 71
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp
 85 90 95
 Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly
 100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val
 115 120 125
 Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser
 130 135 140
 Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys

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

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

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

 340 345 350
 Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly

| | | | |
|------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 355 | 360 | 365 | |
| Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val | | | |
| 370 | 375 | 380 | |
| Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser | | | |
| 385 | 390 | 395 | 400 |
| Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys | | | |
| | | | |
| 405 | 410 | 415 | |
| Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr | | | |
| 420 | 425 | 430 | |
| Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser | | | |
| 435 | 440 | 445 | |
| Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp | | | |
| 450 | 455 | 460 | |
| Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe | | | |
| | | | |
| 465 | 470 | 475 | 480 |
| Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser | | | |
| 485 | 490 | | |
| <210> 72 | | | |
| <211> 493 | | | |
| <212> PRT | | | |
| <213> Artificial Sequence | | | |
| <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | | |
| <400> 72 | | | |
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly | | | |
| 1 | 5 | 10 | 15 |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr | | | |
| | | | |
| 20 | 25 | 30 | |
| Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile | | | |
| 35 | 40 | 45 | |
| Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly | | | |
| 50 | 55 | 60 | |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro | | | |

| | | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 65 | 70 | 75 | 80 |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp | | | |
| | | | |
| 85 | 90 | 95 | |
| Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly | | | |
| 100 | 105 | 110 | |
| Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val | | | |
| 115 | 120 | 125 | |
| Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser | | | |
| 130 | 135 | 140 | |
| Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys | | | |
| | | | |
| 145 | 150 | 155 | 160 |
| Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr | | | |
| 165 | 170 | 175 | |
| Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser | | | |
| 180 | 185 | 190 | |
| Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp | | | |
| 195 | 200 | 205 | |
| Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly | | | |
| | | | |
| 210 | 215 | 220 | |
| Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser | | | |
| 225 | 230 | 235 | 240 |
| Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly | | | |
| 245 | 250 | 255 | |
| Gly Gly Gly Ser Leu Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala | | | |
| 260 | 265 | 270 | |
| Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile | | | |
| | | | |
| 275 | 280 | 285 | |
| Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys | | | |
| 290 | 295 | 300 | |
| Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg | | | |
| 305 | 310 | 315 | 320 |

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys

405 410 415

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe

465 470 475 480

Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

485 490

<210> 73

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 73

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

1 5 10 15

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

| | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 20 | 25 | 30 |
| Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp | | |
| | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys | | |
| | | |
| 145 | 150 | 155 |
| 160 | | |
| Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser | | |
| 180 | 185 | 190 |
| Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly | | |
| | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser | | |
| 225 | 230 | 235 |
| 240 | | |
| Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala | | |
| 260 | 265 | 270 |

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

275 280 285

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

290 295 300

Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg

305 310 315 320

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys

405 410 415

Gly Leu Glu Trp Ile Ala Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe

465 470 475 480

Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

485 490

<210> 74

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 74

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys

145 150 155 160

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly

210 215 220

Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
 245 250 255
 Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
 260 265 270
 Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile
 275 280 285
 Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
 290 295 300
 Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg
 305 310 315 320
 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
 325 330 335
 Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly
 340 345 350
 Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly
 355 360 365
 Gly Gly Gly Ser Gln Ser Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val
 370 375 380
 Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser
 385 390 395 400
 Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys
 405 410 415
 Gly Leu Glu Trp Ile Ala Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr
 420 425 430
 Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser
 435 440 445
 Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
 450 455 460
 Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe

465 470 475 480

Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

485 490

<210> 75

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 75

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

1 5 10 15

Asp Ala Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys

145 150 155 160

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr

165 170 175

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

| | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 180 | 185 | 190 |
| Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly | | |
| | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile | | |
| | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly | | |
| | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys | | |
| | | |
| 405 | 410 | 415 |
| Gly Leu Glu Trp Val Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr | | |
| 420 | 425 | 430 |

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

435 440 445

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

450 455 460

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe

465 470 475 480

Asn Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

485 490

<210> 76

<211> 755

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 76

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys

145 150 155 160

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg

305 310 315 320

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

| | | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 385 | 390 | 395 | 400 |
| Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys | | | |
| | | | |
| 405 | 410 | 415 | |
| Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr | | | |
| 420 | 425 | 430 | |
| Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser | | | |
| 435 | 440 | 445 | |
| Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp | | | |
| 450 | 455 | 460 | |
| Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe | | | |
| | | | |
| 465 | 470 | 475 | 480 |
| Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly | | | |
| 485 | 490 | 495 | |
| Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser | | | |
| 500 | 505 | 510 | |
| Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser | | | |
| 515 | 520 | 525 | |
| Glu Ser Val Tyr Ser Asn Asn Gln Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro | | | |
| | | | |
| 530 | 535 | 540 | |
| Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asp Leu Ala Ser | | | |
| 545 | 550 | 555 | 560 |
| Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr | | | |
| 565 | 570 | 575 | |
| Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys | | | |
| 580 | 585 | 590 | |
| Ala Gly Gly Phe Ser Ser Ser Asp Thr Ala Phe Gly Gly Thr | | | |
| | | | |
| 595 | 600 | 605 | |
| Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser | | | |
| 610 | 615 | 620 | |
| Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu | | | |
| 625 | 630 | 635 | 640 |

Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys

645 650 655

Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Asn Ala Met Gly Trp Val Arg

660 665 670

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

675 680 685

Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser

690 695 700

Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg

705 710 715 720

Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Arg His Gly Gly

725 730 735

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

740 745 750

Val Ser Ser

755

<210> 77

<211> 761

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 77

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

| | | | |
|----|----|----|----|
| 65 | 70 | 75 | 80 |
|----|----|----|----|

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

| | | |
|----|----|----|
| 85 | 90 | 95 |
|----|----|----|

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly

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

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

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

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

| | | |
|-----|-----|-----|
| 130 | 135 | 140 |
|-----|-----|-----|

Phe Asn Asn Asp Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 145 | 150 | 155 | 160 |
|-----|-----|-----|-----|

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

| | | |
|-----|-----|-----|
| 165 | 170 | 175 |
|-----|-----|-----|

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

| | | |
|-----|-----|-----|
| 180 | 185 | 190 |
|-----|-----|-----|

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

| | | |
|-----|-----|-----|
| 195 | 200 | 205 |
|-----|-----|-----|

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr Gly

| | | |
|-----|-----|-----|
| 210 | 215 | 220 |
|-----|-----|-----|

Met Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 225 | 230 | 235 | 240 |
|-----|-----|-----|-----|

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

| | | |
|-----|-----|-----|
| 245 | 250 | 255 |
|-----|-----|-----|

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

| | | |
|-----|-----|-----|
| 260 | 265 | 270 |
|-----|-----|-----|

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

| | | |
|-----|-----|-----|
| 275 | 280 | 285 |
|-----|-----|-----|

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

| | | |
|-----|-----|-----|
| 290 | 295 | 300 |
|-----|-----|-----|

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 305 | 310 | 315 | 320 |
|-----|-----|-----|-----|

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

325 330 335

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

340 345 350

Thr Tyr Leu Ser Ser Asn Trp Tyr Trp Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys

355 360 365

Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met

500 505 510

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

515 520 525

Ile Thr Cys Gln Ser Ser Glu Ser Val Tyr Ser Asn Asn Gln Leu Ser

530 535 540

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

545 550 555 560

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

| | | |
|------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 565 | 570 | 575 |
| Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp | | |
| 580 | 585 | 590 |
| Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Phe Ser Ser Ser Asp Thr | | |
| 595 | 600 | 605 |
| Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly | | |
| 610 | 615 | 620 |
| Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser | | |
| 625 | 630 | 635 |
| Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly | | |
| 645 | 650 | 655 |
| Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Asn | | |
| 660 | 665 | 670 |
| Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile | | |
| 675 | 680 | 685 |
| Gly Ile Ile Ser Val Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys | | |
| 690 | 695 | 700 |
| Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu | | |
| 705 | 710 | 715 |
| Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala | | |
| 725 | 730 | 735 |
| Arg Asp Arg His Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu Trp Gly | | |
| 740 | 745 | 750 |
| Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser | | |
| 755 | 760 | |
| <210> 78 | | |
| <211> 753 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | |
| <400> 78 | | |

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys

145 150 155 160

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

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

| | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 245 | 250 | 255 |
| Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala | | |
| | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser | | |
| | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser | | |
| | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys | | |
| 405 | 410 | 415 |
| Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr | | |
| 420 | 425 | 430 |
| Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp | | |
| | | |
| 450 | 455 | 460 |
| Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe | | |
| 465 | 470 | 475 |
| Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly | | |
| 485 | 490 | 495 |

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln

660 665 670

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Cys Val Phe Thr Gly Asp

675 680 685

Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser

690 695 700

Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg

705 710 715 720

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

725 730 735

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

740 745 750

Ser

<210> 79

<211> 759

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 79

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Phe Asn Asn Asp Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys

145 150 155 160

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

165 170 175

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

| | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 180 | 185 | 190 |
| Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr | | |
| | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr Gly | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Met Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser | | |
| | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Val Tyr Asp Asn Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr | | |
| | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Thr Tyr Leu Ser Ser Asn Trp Tyr Trp Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys | | |
| | | |
| 385 | 390 | 395 |
| 400 | | |
| Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile | | |
| 405 | 410 | 415 |
| Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala | | |
| 420 | 425 | 430 |

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Val Val Met

500 505 510

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

515 520 525

Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ile Ile Ser Ser Arg Ser Ala Trp Tyr

530 535 540

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

545 550 555 560

Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly

565 570 575

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

580 585 590

Thr Tyr Tyr Cys Gln Cys Thr Tyr Ile Asp Ser Asn Phe Gly Ala Phe

595 600 605

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

610 615 620

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

Cys Val Phe Thr Gly Asp Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

690 695 700

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

705 710 715 720

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

725 730 735

Arg Pro Val Ser Val Tyr Tyr Gly Met Asp Leu Trp Gly Gln Gly

740 745 750

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

755

<210> 80

<211> 478

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 80

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Ser Gly Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser
 370 375 380

Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 385 390 395 400

Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr
 405 410 415

Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys
 420 425 430

Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala
 435 440 445

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala
 450 455 460

Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 465 470 475

<210> 81

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 81

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly
 20 25 30

Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser
 50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln
 65 70 75 80

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

| | | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 85 | 90 | 95 | |
| Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly | | | |
| 100 | 105 | 110 | |
| Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser | | | |
| 115 | 120 | 125 | |
| Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala | | | |
| 130 | 135 | 140 | |
| Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val | | | |
| 145 | 150 | 155 | 160 |
| Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala | | | |
| 165 | 170 | 175 | |
| Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val | | | |
| 180 | 185 | 190 | |
| Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His | | | |
| 195 | 200 | 205 | |
| Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys | | | |
| 210 | 215 | 220 | |
| Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly | | | |
| 225 | 230 | 235 | 240 |
| Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met | | | |
| 245 | 250 | 255 | |
| Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His | | | |
| 260 | 265 | 270 | |
| Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val | | | |
| 275 | 280 | 285 | |
| His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr | | | |
| 290 | 295 | 300 | |
| Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly | | | |
| 305 | 310 | 315 | 320 |
| Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile | | | |
| 325 | 330 | 335 | |

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 82

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 82

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

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

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
 195 200 205
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 83
 <211> 712
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof
 <400> 83

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

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

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

305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

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

 465 470 475 480
 Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr
 485 490 495
 Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser
 500 505 510
 Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 515 520 525
 Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala

 530 535 540
 Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr
 545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys

610 615 620

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr

625 630 635 640

Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

705 710

<210> 84

<211> 478

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 84

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Ser Gly Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

| | | | |
|------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 290 | 295 | 300 | |
| Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn | | | |
| 305 | 310 | 315 | 320 |
| Tyr Gly Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly | | | |
| 325 | 330 | 335 | |
| Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly | | | |
| 340 | 345 | 350 | |
| Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro | | | |
| 355 | 360 | 365 | |
| Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser | | | |
| 370 | 375 | 380 | |
| Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu | | | |
| 385 | 390 | 395 | 400 |
| Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr | | | |
| 405 | 410 | 415 | |
| Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys | | | |
| 420 | 425 | 430 | |
| Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala | | | |
| 435 | 440 | 445 | |
| Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala | | | |
| 450 | 455 | 460 | |
| Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser | | | |
| 465 | 470 | 475 | |
| <210> 85 | | | |
| <211> 451 | | | |
| <212> PRT | | | |
| <213> Artificial Sequence | | | |
| <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | | |
| <400> 85 | | | |
| Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu | | | |
| 1 | 5 | 10 | 15 |

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

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

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

 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 86

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 86

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 87

<211> 712

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 87

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

| | | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 225 | 230 | 235 | 240 |
| Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met | | | |
| 245 | 250 | 255 | |
| Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His | | | |
| 260 | 265 | 270 | |
| Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val | | | |
| 275 | 280 | 285 | |
| His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr | | | |
| 290 | 295 | 300 | |
| Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly | | | |
| 305 | 310 | 315 | 320 |
| Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile | | | |
| 325 | 330 | 335 | |
| Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val | | | |
| 340 | 345 | 350 | |
| Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser | | | |
| 355 | 360 | 365 | |
| Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu | | | |
| 370 | 375 | 380 | |
| Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro | | | |
| 385 | 390 | 395 | 400 |
| Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val | | | |
| 405 | 410 | 415 | |
| Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met | | | |
| 420 | 425 | 430 | |
| His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser | | | |
| 435 | 440 | 445 | |
| Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ile Gln Met | | | |
| 450 | 455 | 460 | |
| Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr | | | |
| 465 | 470 | 475 | 480 |

Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr
 485 490 495
 Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser
 500 505 510
 Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 515 520 525
 Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
 530 535 540
 Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr
 545 550 555 560
 Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 565 570 575
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
 580 585 590
 Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu
 595 600 605
 Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys
 610 615 620
 Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr
 625 630 635 640
 Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
 645 650 655
 Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
 660 665 670
 Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 675 680 685
 His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln
 690 695 700
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 705 710
 <210> 88
 <211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 88

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Thr Val Ala Ala

100 105 110

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

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 89

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 89

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn

100 105 110

Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val

180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn

195

200

205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser

210

215

220

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly

225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

245

250

255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln

260

265

270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275

280

285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr

290

295

300

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

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile

325

330

335

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

340

345

350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

355

360

365

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

370

375

380

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

385 390 395 400

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

405

410

415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420

425

430

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

435

440

445

Leu Gly Lys

450

<210> 90

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 90

Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp Ile Tyr

1 5 10

<210> 91

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 91

Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala

1 5 10 15

Gln Gly

<210> 92

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 92

Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp Leu

1 5 10

<210> 93

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 93

Val Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp

1 5 10

<210> 94

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 94

Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp

1 5 10

<210> 95

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 95

Ile Tyr Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala Gln

1 5 10 15

Gly Arg

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 96

Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp

1 5 10

<210> 97

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 97

Ser Asp Tyr Trp Ile Tyr

1 5

<210> 98

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 98

Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala

1 5 10 15

Gln Gly

<210> 99

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 99

Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp Leu

1 5 10

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 100

Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr

1 5

<210> 101

<211> 5

<

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 101

Gly Gly Ser Ser Gly

1 5

<210> 102

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 102

Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp

1 5

<210> 103

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 103

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser

50 55 60

Trp Ala Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp Leu Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 104

<211> 122

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 104

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

Met Gly Ser Ile Tyr Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp Leu Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 105

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 105

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ile Ala Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 106

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 106

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 107

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 107

Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser

1 5

<210> 108

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 108

Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala

1 5 10 15

<210> 109

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 109

Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr

1 5

<210> 110

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 110

Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg

1 5 10

<210> 111

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 111

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

1 5 10

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 112

Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr

1 5

<210> 113

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 113

Arg Ala Phe

1

<210> 114

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 114

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

1 5 10

<210> 115

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 115

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser
 85 90 95

Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val
 100 105 110

Leu Gly

<210> 116

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 116

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser
 85 90 95

Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val
 100 105 110

Leu Gly

<210> 117

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 117

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 118

<211> 256

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 118

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val

100 105 110

Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp Ile Tyr Trp Ile Arg Gln Pro Pro

165 170 175

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Gly Ser Ser Gly

180 185 190

Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Val

195 200 205

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

210 215 220

Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly

225 230 235 240

Gly Ala Thr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

245 250 255

<210> 119

<211> 256

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 119

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val

100 105 110

Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly

145 150 155 160

Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro

165 170 175

Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly

180 185 190

Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg

195 200 205

Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser

210 215 220

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly

225 230 235 240

Gly Ala Thr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

245 250 255

<210> 120

<211> 256

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 120

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

1 5 10 15

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

| | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 20 | 25 | 30 |
| Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Tyr Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro | | |
| 65 | 70 | 75 |
| 80 | | |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly | | |
| 145 | 150 | 155 |
| 160 | | |
| Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly | | |
| 180 | 185 | 190 |
| Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly | | |
| 225 | 230 | 235 |
| 240 | | |
| Gly Ala Thr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser | | |
| 245 | 250 | 255 |
| <210> 121 | | |
| <211> 11 | | |
| <212> PRT | | |

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 121

Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys

1 5 10

<210> 122

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 122

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

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 123

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 123

Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu

1 5 10

<210> 124

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 124

Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Asp

1 5 10

<210> 125

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 125

Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Gly Tyr Asp

1 5 10

<210> 126

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 126

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

1 5 10 15

Gly Arg

<210> 127

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 127

Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn

1 5

<210> 128

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 128

Ser Gly Tyr Asp Met Cys

1 5

<210> 129

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 129

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

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 130

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 130

Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu

1 5 10

<210> 131

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 131

Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly Tyr

1 5

<210> 132

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 132

Ala Gly Ser Val Asp

1 5

<210> 133

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 133

Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn

1 5

<210> 134

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 134

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 135

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 135

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 136

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 136

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

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

| | | |
|------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 100 | 105 | 110 |
| Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser | | |
| 115 | 120 | |
| <210> 137 | | |
| <211> 11 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | |
| <400> 137 | | |
| Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr Leu Ala | | |
| 1 | 5 | 10 |
| <210> 138 | | |
| <211> 7 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | |

| | | |
|------------------------------------------------------------------------|---|--|
| <400> 138 | | |
| Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser | | |
| 1 | 5 | |
| <210> 139 | | |
| <211> 12 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | |
| <400> 139 | | |

Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp Ile Asp Asn Val

1 5 10

<210> 140

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 140

Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr

1 5

<210> 141

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 141

Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg

1 5 10

<210> 142

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 142

Gly Tyr Ile Ile Thr Asp Ile Asp Asn

1 5

<210> 143

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 143

Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr

1 5

<210> 144

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 144

Lys Ala Ser

1

<210> 145

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 145

Gly Tyr Ile Ile Thr Asp Ile Asp Asn

1 5

<210> 146

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 146

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 147

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 147

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 148

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 148

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 149

<211> 252

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 149

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn

225 230 235 240

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

245 250

<210> 150

<

211> 252

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 150

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe

145 150 155 160

Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr

210 215 220

Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn

225 230 235 240

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

245 250

<210> 151

<211> 252

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 151

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp

85 90 95

Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140
Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe
145 150 155 160

Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly

165 170 175

Leu Glu Trp Ile Ala Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr
180 185 190

Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser
195 200 205

Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr
210 215 220

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn
225 230 235 240

Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 152

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 152

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

1 5 10 15

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

| | | |
|------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 20 | 25 | 30 |
| Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro | | |
| 65 | 70 | 75 |
| 80 | | |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp | | |
| 85 | 90 | 95 |
| Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Thr | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly | | |
| 145 | 150 | 155 |
| 160 | | |
| Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr | | |
| 165 | 170 | 175 |
| Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His | | |
| 180 | 185 | 190 |
| Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys | | |
| 210 | 215 | |
| <210> 153 | | |
| <211> 451 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> Artificial Sequence | | |
| <220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof | | |
| <400> 153 | | |
| Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu | | |

| | | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
| Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly | | | |
| 20 | 25 | 30 | |
| Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp | | | |
| 35 | 40 | 45 | |
| Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser | | | |
| 50 | 55 | 60 | |
| Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln | | | |
| 65 | 70 | 75 | 80 |
| Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr | | | |
| 85 | 90 | 95 | |
| Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly | | | |
| 100 | 105 | 110 | |
| Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser | | | |
| 115 | 120 | 125 | |
| Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala | | | |
| 130 | 135 | 140 | |
| Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val | | | |
| 145 | 150 | 155 | 160 |
| Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala | | | |
| 165 | 170 | 175 | |
| Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val | | | |
| 180 | 185 | 190 | |
| Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His | | | |
| 195 | 200 | 205 | |
| Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys | | | |
| 210 | 215 | 220 | |
| Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly | | | |
| 225 | 230 | 235 | 240 |
| Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met | | | |
| 245 | 250 | 255 | |

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

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 154

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 154

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

<210> 155

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence of recombinant antibody or functional part thereof

<400> 155

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser

50 55 60

Trp Ala Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp Leu Trp

100 105 110

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

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

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

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

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