



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0169942
(43) 공개일자 2023년12월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2827 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7030580
- (22) 출원일자(국제) 2022년02월09일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2023년09월07일
- (86) 국제출원번호 PCT/CN2022/075599
- (87) 국제공개번호 WO 2022/171108
국제공개일자 2022년08월18일
- (30) 우선권주장
202110183554.X 2021년02월10일 중국(CN)

- (71) 출원인
상하이 제민케어 파마슈티칼 컴퍼니 리미티드
중국 상하이 201203 푸둥 뉴 에어리어, 파일럿 프리 트레이드 존, 하레이 로드 넘버 1118
지양시 제민케어 그룹 컴퍼니 리미티드
중국 지양시 330000 난창 하이-테크 인더스트리스 디벨롭먼트 존 야오후 노스 애비뉴 넘버 3333
- (72) 발명자
왕 종다
중국, 상하이 201203, 푸둥 뉴 에어리어, 파일럿 프리 트레이드 존, 넘버1118 하레이 로드
송 지안치우
중국, 상하이 201203, 푸둥 뉴 에어리어, 파일럿 프리 트레이드 존, 넘버1118 하레이 로드
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인한얼

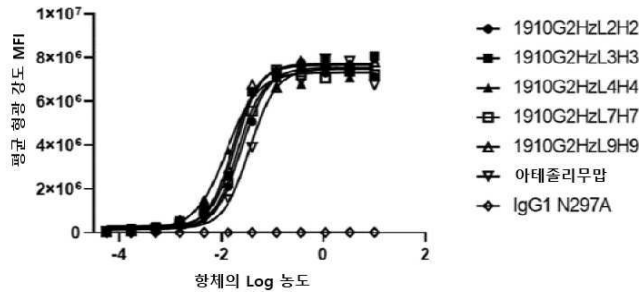
전체 청구항 수 : 총 66 항

(54) 발명의 명칭 항-PD-L1 항체 및 이의 용도

(57) 요약

PD-L1 단백질에 결합할 수 있고, PD-1 단백질과 PD-L1 단백질의 결합을 차단할 수 있고/있거나 면역 세포를 자극하여 사이토카인을 분비할 수 있는 단리된 항원 결합 단백질이 제공된다. 약물의 제조에서 단리된 항원 결합 단백질의 용도도 또한 제공된다.

대표도 - 도1



μg/mL	1910G2HzL2H2	1910G2HzL3H3	1910G2HzL4H4	1910G2HzL7H7	1910G2HzL9H9	아테졸리무맙	IgG1 N297A
EC50	0.02547	0.01965	0.01280	0.02165	0.01707	0.03687	NA

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/21 (2013.01)

C07K 2317/565 (2013.01)

C07K 2317/567 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

리우 시아오우

중국, 상하이 201203, 푸둥 뉴 에어리어, 파일럿
프리 트레이드 존, 넘버1118 하레이 로드

카오 시아오단

중국, 상하이 201203, 푸둥 뉴 에어리어, 파일럿
프리 트레이드 존, 넘버1118 하레이 로드

뎡 수준

중국, 상하이 201203, 푸둥 뉴 에어리어, 파일럿
프리 트레이드 존, 넘버1118 하레이 로드

판 종중

중국, 상하이 201203, 푸둥 뉴 에어리어, 파일럿
프리 트레이드 존, 넘버1118 하레이 로드

왕 수에핑

중국, 상하이 201203, 푸둥 뉴 에어리어, 파일럿
프리 트레이드 존, 넘버1118 하레이 로드

명세서

청구범위

청구항 1

다음 특성 중 하나 이상을 갖는 단리된 항원 결합 단백질:

- (1) 1×10^9 M 이하의 K_D 값으로 영장류로부터 유래된 PD-L1 단백질에 결합할 수 있음;
- (2) PD-1 단백질에 대한 PD-L1 단백질의 결합을 차단할 수 있음; 및
- (3) 면역 세포에서 사이토카인의 분비를 자극할 수 있음.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 영장류가 인간 및/또는 원숭이를 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 항원 결합 단편이 Fab, Fab', F(ab)₂, Fv 단편, F(ab')₂, scFv, di-scFv, VHH 및/또는 dAb를 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, 상기 항체가 모노클로날 항체(monoclonal antibody), 키메라 항체(chimeric antibody), 인간화 항체(humanized antibody) 및 완전 인간 항체(fully human antibody)로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 PD-L1 단백질에 대한 결합에 대해 참조 항체와 경쟁하고, 상기 참조 항체가 중쇄 가변 영역 VH 및 경쇄 가변 영역 VL을 포함하고, 상기 참조 항체의 VH가 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하고, 상기 참조 항체의 VL이 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하고, 상기 참조 항체의 HCDR1이 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 참조 항체의 HCDR2가 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 참조 항체의 HCDR3이 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 참조 항체의 LCDR1이 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 참조 항체의 LCDR2가 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 참조 항체의 LCDR3이 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 HCDR3을 포함하고, 상기 HCDR3이 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 HCDR2를 포함하고, 상기 HCDR2가 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 HCDR1을 포함하고, 상기 HCDR1이 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하고, 상기 HCDR1이 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2가 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HCDR3이 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 중쇄 가변 영역 VH를 포함하고, 상기 VH가 프레임워크 영역 (framework region) H-FR1을 포함하며, 상기 H-FR1의 C-말단이 HCDR1의 N-말단에 직접 또는 간접적으로 연결되고, 상기 H-FR1이 서열번호 50에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 H-FR1이 서열번호 7 또는 서열번호 8 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 13

제11항 또는 제12항에 있어서, 상기 VH가 프레임워크 영역 H-FR2를 포함하고, 상기 H-FR2가 HCDR1과 HCDR2 사이에 위치되며, 상기 H-FR2가 서열번호 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 H-FR2가 서열번호 9 내지 11 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 15

제11항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 VH가 프레임워크 영역 H-FR3을 포함하고, 상기 H-FR3이 HCDR2와 HCDR3 사이에 위치되며, 상기 H-FR3이 서열번호 52에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 H-FR3이 서열번호 12 내지 17 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 17

제11항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 VH가 프레임워크 영역 H-FR4를 포함하고, 상기 H-FR4의 N-말단이 HCDR3의 C-말단에 연결되며, 상기 H-FR4가 서열번호 53에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 H-FR4가 서열번호 18 또는 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, H-FR1, H-FR2, H-FR3 및 H-FR4를 포함하며, 상기 H-FR1이 서열번호 7 또는 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 H-FR2가 서열번호 9 내지 11 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 H-FR3이 서열번호 12 내지 17 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 H-FR4가 서열번호 18 또는 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, H-FR1, H-FR2, H-FR3 및 H-FR4를 포함하며, 상기 H-FR1, H-FR2,

H-FR3 및 H-FR4가 다음과 같은 아미노산 서열의 그룹 중 어느 하나로부터 선택되는, 단리된 항원 결합 단백질:

- (1) H-FR1: 서열번호 7, H-FR2: 서열번호 9, H-FR3: 서열번호 12 및 H-FR4: 서열번호 18;
- (2) H-FR1: 서열번호 8, H-FR2: 서열번호 10, H-FR3: 서열번호 13 및 H-FR4: 서열번호 19;
- (3) H-FR1: 서열번호 8, H-FR2: 서열번호 11, H-FR3: 서열번호 14 및 H-FR4: 서열번호 18;
- (4) H-FR1: 서열번호 8, H-FR2: 서열번호 10, H-FR3: 서열번호 15 및 H-FR4: 서열번호 19;
- (5) H-FR1: 서열번호 8, H-FR2: 서열번호 10, H-FR3: 서열번호 16 및 H-FR4: 서열번호 19; 및
- (6) H-FR1: 서열번호 8, H-FR2: 서열번호 11, H-FR3: 서열번호 17 및 H-FR4: 서열번호 19.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 중쇄 가변 영역 VH를 포함하고, 상기 VH가 서열번호 54에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 VH가 서열번호 20 내지 25 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 중쇄 불변 영역을 포함하며, 상기 중쇄 불변 영역이 인간 IgG 불변 영역으로부터 유래되는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 중쇄 불변 영역이 인간 IgG1 불변 영역으로부터 유래되고, 상기 인간 IgG1 불변 영역이 서열번호 41에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 항체 중쇄 HC를 포함하고, 상기 HC가 서열번호 42 내지 46 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 LCDR3을 포함하고, 상기 LCDR3이 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 LCDR2를 포함하고, 상기 LCDR2가 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 LCDR1을 포함하고, 상기 LCDR1이 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하고, 상기 LCDR1이 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2가 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, 상기 LCDR3이 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 경쇄 가변 영역 VL을 포함하고, 상기 VL이 프레임워크 영역 L-

FR1을 포함하며, 상기 L-FR1의 C-말단이 LCDR1의 N-말단에 직접 또는 간접적으로 연결되고, 상기 L-FR1이 서열 번호 55에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 L-FR1이 서열번호 26 또는 27에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 32

제30항 또는 제31항에 있어서, 상기 VL이 프레임워크 영역 L-FR2를 포함하고, 상기 L-FR2가 LCDR1과 LCDR2 사이에 위치되며, 상기 L-FR2가 서열번호 56에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 L-FR2가 서열번호 28 또는 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 34

제30항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 VL이 프레임워크 영역 L-FR3을 포함하고, 상기 L-FR3이 LCDR2와 LCDR3 사이에 위치되며, 상기 L-FR3이 서열번호 57에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 L-FR3이 서열번호 30 내지 33 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 36

제30항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 VL이 프레임워크 영역 L-FR4를 포함하고, 상기 L-FR4의 N-말단이 LCDR3의 C-말단에 연결되며, 상기 L-FR4가 서열번호 58에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 L-FR4가 서열번호 34 또는 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, L-FR1, L-FR2, L-FR3 및 L-FR4를 포함하며, 상기 L-FR1이 서열번호 26 또는 27에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 L-FR2가 서열번호 28 또는 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 L-FR3이 서열번호 30 내지 33 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 L-FR4가 서열번호 34 또는 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, L-FR1, L-FR2, L-FR3 및 L-FR4를 포함하며, 상기 L-FR1, L-FR2, L-FR3 및 L-FR4가 다음과 같은 아미노산 서열의 그룹 중 어느 하나로부터 선택되는, 단리된 항원 결합 단백질:

- (1) L-FR1: 서열번호 26, L-FR2: 서열번호 28, L-FR3: 서열번호 30 및 L-FR4: 서열번호 34;
- (2) L-FR1: 서열번호 27, L-FR2: 서열번호 29, L-FR3: 서열번호 31 및 L-FR4: 서열번호 35;
- (3) L-FR1: 서열번호 27, L-FR2: 서열번호 29, L-FR3: 서열번호 32 및 L-FR4: 서열번호 35; 및
- (4) L-FR1: 서열번호 27, L-FR2: 서열번호 29, L-FR3: 서열번호 33 및 L-FR4: 서열번호 35.

청구항 40

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 경쇄 가변 영역 VL을 포함하고, 상기 VL이 서열번호 59에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 VL이 서열번호 36 내지 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 항체 경쇄 불변 영역을 포함하고, 상기 항체 경쇄 불변 영역이 서열번호 40에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항원 결합 단백질이 항체 경쇄 LC를 포함하고, 상기 LC가 서열번호 47 내지 49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 단리된 항원 결합 단백질을 포함하는 폴리펩티드.

청구항 45

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 단리된 항원 결합 단백질 또는 제44항의 폴리펩티드를 포함하는 면역접합체 (immunoconjugate).

청구항 46

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 단리된 항원 결합 단백질을 인코딩(encoding)하는 단리된 핵산 분자(들).

청구항 47

제46항에 따른 핵산 분자를 포함하는 벡터(vector).

청구항 48

제46항에 따른 핵산 분자 또는 제47항에 따른 벡터를 포함하는 세포.

청구항 49

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 단리된 항원 결합 단백질이 발현될 수 있는 조건하에서 제48항에 따른 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 단리된 항원 결합 단백질을 제조하기 위한 방법.

청구항 50

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 단리된 항원 결합 단백질, 제46항의 핵산 분자, 제47항의 벡터 및/또는 제48항의 세포, 및 임의로 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 51

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 단리된 항원 결합 단백질, 제44항의 폴리펩티드, 제45항의 면역접합체, 제46항의 핵산 분자, 제47항의 벡터, 제48항의 세포 및/또는 제50항의 약제학적 조성물의 용도로서, 의약이 종양을 예방, 완화 및/또는 치료하기 위한 것인, 용도.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 종양이 PD-1 또는 PD-L1의 발현이 높은 종양을 포함하는, 용도.

청구항 53

제51항 또는 제52항에 있어서, 상기 종양이 고형 종양(solid tumor)을 포함하는, 용도.

청구항 54

제51항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양이 유방암(breast cancer), 폐암(lung cancer), 위암(gastric cancer) 및 요로상피 암종(urothelial carcinoma)을 포함하는, 용도.

청구항 55

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 단리된 항원 결합 단백질을 이를 필요로 하는 대상체(subject)에게 투여하는 단계를 포함하는, 종양을 예방, 완화 또는 치료하기 위한 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 종양이 PD-1 또는 PD-L1의 발현이 높은 종양, 제44항의 폴리펩티드, 제45항의 면역접합체, 제46항의 핵산 분자, 제47항의 벡터, 제48항의 세포 및/또는 제50항의 약제학적 조성물을 포함하는, 방법.

청구항 57

제55항 또는 제56항에 있어서, 상기 종양이 고형 종양을 포함하는, 방법.

청구항 58

제55항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양이 유방암, 폐암, 위암 및 요로상피 암종을 포함하는, 방법.

청구항 59

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 종양을 예방, 완화 또는 치료하는 데 사용하기 위한, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 60

제59항, 제44항, 제45항, 제46항, 제47항, 제48항 및/또는 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양이 PD-1 또는 PD-L1의 발현이 높은 종양을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질, 폴리펩티드, 면역접합체, 핵산 분자, 벡터, 세포 및/또는 약제학적 조성물.

청구항 61

제59항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양이 고형 종양을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 62

제59항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양이 유방암, 폐암, 위암 및 요로상피 암종을 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질.

청구항 63

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 단리된 항원 결합 단백질, 제44항의 폴리펩티드, 제45항의 면역접합체, 제46항의 핵산 분자, 제47항의 벡터, 제48항의 세포 및/또는 제50항의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, PD-L1 단백질에 대한 PD-1 단백질의 결합을 억제하기 위한 방법.

청구항 64

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 단리된 항원 결합 단백질, 제44항의 폴리펩티드, 제45항의 면역접합체, 제46항의 핵산 분자, 제47항의 벡터, 제48항의 세포 및/또는 제50항의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 면역 세포에서 사이토카인의 분비를 자극하는 방법.

청구항 65

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 단리된 항원 결합 단백질 및/또는 제44항의 폴리펩티드를 투여하는 단계를

포함하는, PD-L1 단백질의 존재 및/또는 함량을 검출하기 위한 방법.

청구항 66

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항의 단리된 항원 결합 단백질, 제44항의 폴리펩티드, 제45항의 면역접합체, 제46항의 핵산 분자, 제47항의 벡터, 제48항의 세포 및/또는 제50항의 약제학적 조성물을 포함하는 키트(kit).

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 생물 의학 분야, 특히 항-PD-L1 항체 및 의학의 제조에서의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 악성 종양(Malignant tumor)은 현재 전 세계적으로 인간의 건강을 심각하게 위협하는 질환이며, 인간의 사망을 유발하는 질환의 주요 유형이다. 중국 인구의 고령화로 인해 암 발병률이 증가하고 있으며, 효과적인 치료 약물이 시급히 개발되어야 하며, 그 중 면역 체크포인트 약물의 개발은 최근 몇 년 동안 연구 핫스팟(research hotspot)이 되었다.

[0003] PD-1 또는 PD-L1 면역 요법의 메커니즘은 PD-1 또는 PD-L1에 대한 특정 모노클로날 항체(monoclonal antibody)를 설계하고, PD-1 및 PD-L1의 인식을 방지하고, T 세포의 정상적인 기능을 회복하여 T 세포가 종양 세포를 효과적으로 사멸시킬 수 있도록 하는 것이다. 현재 두르발루맵 및 아테졸리주맵과 같은 이 신호 전달 경로에 대한 많은 치료용 항체가 개발되었다. 그러나, 치료 동안, 낮은 반응률(low response rate) 및 민감한 약물 내성(susceptible drug resistance)과 같은 현상이 광범위하게 존재한다. 따라서, 안정한 구조, 우수한 치료 효과를 갖고 대규모 산업 생산에 적합한 항종양 PD-L1 항체가 절실히 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 출원은 다음 특성 중 하나 이상을 갖는 단리된 항원 결합 단백질을 제공한다: (1) 1×10^9 M 이하의 K_D 값으로 영장류로부터 유래된 PD-L1 단백질에 결합할 수 있음; (2) PD-1 단백질에 대한 PD-L1 단백질의 결합을 차단할 수 있음; 및 (3) 면역 세포에서 사이토카인의 분비를 자극할 수 있음.

과제의 해결 수단

[0005] 일부 구현예에서, 영장류는 인간 및/또는 원숭이를 포함한다.

[0006] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0007] 일부 구현예에서, 항원 결합 단편은 Fab, Fab', F(ab)₂, Fv 단편, F(ab')₂, scFv, di-scFv, VHH 및/또는 dAb를 포함한다.

[0008] 일부 구현예에서, 항체는 모노클로날 항체, 키메라 항체(chimeric antibody), 인간화 항체(humanized antibody) 및 완전 인간 항체(fully human antibody)로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0009] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 PD-L1 단백질에 대한 결합에 대해 참조 항체와 경쟁하며, 여기서 참조 항체는 중쇄 가변 영역 VH 및 경쇄 가변 영역 VL을 포함하고, 참조 항체의 VH는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하고, 참조 항체의 VL은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하고, 참조 항체의 HCDR1은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 참조 항체의 HCDR2는 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 참조 항체의 HCDR3은 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 참조 항체의 LCDR1은 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 참조 항체의 LCDR2는 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 참조 항체의 LCDR3은 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0010] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR3을 포함하고, HCDR3은 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

- [0011] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR2를 포함하고, HCDR2는 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0012] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR1을 포함하고, HCDR1은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0013] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하며, 여기서 HCDR1은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, HCDR3은 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0014] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 가변 영역 VH를 포함하며, 여기서 VH는 프레임워크 영역 (framework region) H-FR1을 포함하고, H-FR1의 C-말단은 HCDR1의 N-말단에 직접 또는 간접적으로 연결되고, H-FR1은 서열번호 50에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0015] 일부 구현예에서, H-FR1은 서열번호 7 또는 8 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0016] 일부 구현예에서, VH는 프레임워크 영역 H-FR2를 포함하고, H-FR2는 HCDR1과 HCDR2 사이에 위치되며, H-FR2는 서열번호 51에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0017] 일부 구현예에서, H-FR2는 서열번호 9 내지 11 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0018] 일부 구현예에서, VH는 프레임워크 영역 H-FR3을 포함하고, H-FR3은 HCDR2와 HCDR3 사이에 위치되며, H-FR3은 서열번호 52에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0019] 일부 구현예에서, H-FR3은 서열번호 12 내지 17 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0020] 일부 구현예에서, VH는 프레임워크 영역 H-FR4를 포함하고, H-FR4의 N-말단은 HCDR3의 C-말단에 연결되며, H-FR4는 서열번호 53에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0021] 일부 구현예에서, H-FR4는 서열번호 18 또는 19에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0022] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 H-FR1, H-FR2, H-FR3 및 H-FR4를 포함하며, 여기서 H-FR1은 서열번호 7 또는 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, H-FR2는 서열번호 9 내지 11 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, H-FR3은 서열번호 12 내지 17 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, H-FR4는 서열번호 18 또는 19에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0023] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 H-FR1, H-FR2, H-FR3 및 H-FR4를 포함하며, H-FR1, H-FR2, H-FR3 및 H-FR4는 다음과 같은 아미노산 서열의 그룹 중 어느 하나로부터 선택된다:
- [0024] (1) H-FR1: 서열번호 7, H-FR2: 서열번호 9, H-FR3: 서열번호 12 및 H-FR4: 서열번호 18;
- [0025] (2) H-FR1: 서열번호 8, H-FR2: 서열번호 10, H-FR3: 서열번호 13 및 H-FR4: 서열번호 19;
- [0026] (3) H-FR1: 서열번호 8, H-FR2: 서열번호 11, H-FR3: 서열번호 14 및 H-FR4: 서열번호 18;
- [0027] (4) H-FR1: 서열번호 8, H-FR2: 서열번호 10, H-FR3: 서열번호 15 및 H-FR4: 서열번호 19;
- [0028] (5) H-FR1: 서열번호 8, H-FR2: 서열번호 10, H-FR3: 서열번호 16 및 H-FR4: 서열번호 19; 및
- [0029] (6) H-FR1: 서열번호 8, H-FR2: 서열번호 11, H-FR3: 서열번호 17 및 H-FR4: 서열번호 19.
- [0030] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 가변 영역 VH를 포함하며, VH는 서열번호 54에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0031] 일부 구현예에서, VH는 서열번호 20 내지 25 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0032] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 불변 영역을 포함하며, 중쇄 불변 영역은 인간 IgG 불변 영역으로부터 유래된다.
- [0033] 일부 구현예에서, 중쇄 불변 영역은 인간 IgG1 불변 영역으로부터 유래되고, 인간 IgG1 불변 영역은 서열번호 41에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0034] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 항체 중쇄 HC를 포함하고, HC는 서열번호 42 내지 46 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

- [0035] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR3을 포함하고, LCDR3은 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0036] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR2를 포함하고, LCDR2는 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0037] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR1을 포함하고, LCDR1은 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0038] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하며, 여기서 LCDR1은 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0039] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 경쇄 가변 영역 VL을 포함하며, 여기서 VL은 프레임워크 영역 L-FR1을 포함하고, L-FR1의 C-말단은 LCDR1의 N-말단에 직접 또는 간접적으로 연결되며, L-FR1은 서열번호 55에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0040] 일부 구현예에서, L-FR1은 서열번호 26 또는 27에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0041] 일부 구현예에서, VL은 프레임워크 영역 L-FR2를 포함하고, L-FR2는 LCDR1과 LCDR2 사이에 위치되며, L-FR2는 서열번호 56에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0042] 일부 구현예에서, L-FR2는 서열번호 28 또는 29에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0043] 일부 구현예에서, VL은 프레임워크 영역 L-FR3을 포함하고, L-FR3은 LCDR2와 LCDR3 사이에 위치되며, L-FR3은 서열번호 57에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0044] 일부 구현예에서, L-FR3은 서열번호 30 내지 33 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0045] 일부 구현예에서, VL은 프레임워크 영역 L-FR4를 포함하고, L-FR4의 N-말단은 LCDR3의 C-말단에 연결되며, L-FR4는 서열번호 58에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0046] 일부 구현예에서, L-FR4는 서열번호 34 또는 35에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0047] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 L-FR1, L-FR2, L-FR3 및 L-FR4를 포함하며, 여기서 L-FR1은 서열번호 26 또는 27에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, L-FR2는 서열번호 28 또는 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, L-FR3은 서열번호 30 내지 33 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, L-FR4는 서열번호 34 또는 35에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0048] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 L-FR1, L-FR2, L-FR3 및 L-FR4를 포함하며, L-FR1, L-FR2, L-FR3 및 L-FR4는 다음과 같은 아미노산 서열의 그룹 중 어느 하나로부터 선택된다:
- [0049] (1) L-FR1: 서열번호 26, L-FR2: 서열번호 28, L-FR3: 서열번호 30 및 L-FR4: 서열번호 34;
- [0050] (2) L-FR1: 서열번호 27, L-FR2: 서열번호 29, L-FR3: 서열번호 31 및 L-FR4: 서열번호 35;
- [0051] (3) L-FR1: 서열번호 27, L-FR2: 서열번호 29, L-FR3: 서열번호 32 및 L-FR4: 서열번호 35; 및
- [0052] (4) L-FR1: 서열번호 27, L-FR2: 서열번호 29, L-FR3: 서열번호 33 및 L-FR4: 서열번호 35.
- [0053] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 경쇄 가변 영역 VL을 포함하고, VL은 서열번호 59에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0054] 일부 구현예에서, VL은 서열번호 36 내지 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0055] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 항체 경쇄 불변 영역을 포함하고, 항체 경쇄 불변 영역은 서열번호 40에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0056] 일부 구현예에서, 단리된 항원 결합 단백질은 항체 경쇄 LC를 포함하며, LC는 서열번호 47 내지 49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0057] 또 다른 양태에서, 본 출원은 단리된 항원 결합 단백질을 포함하는 폴리펩티드를 제공한다.
- [0058] 또 다른 양태에서, 본 출원은 단리된 항원 결합 단백질 또는 폴리펩티드를 포함하는 면역접합체

(immunoconjugate)를 제공한다.

- [0059] 또 다른 양태에서, 본 출원은 단리된 항원 결합 단백질을 인코딩(encoding)하는 단리된 핵산 분자(들)를 제공한다.
- [0060] 또 다른 양태에서, 본 출원은 핵산 분자를 포함하는 벡터(vector)를 제공한다.
- [0061] 또 다른 양태에서, 본 출원은 핵산 분자 또는 벡터를 포함하는 세포를 제공한다.
- [0062] 또 다른 양태에서, 본 출원은 단리된 항원 결합 단백질이 발현될 수 있는 조건하에서 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 단리된 항원 결합 단백질을 제조하기 위한 방법을 제공한다.
- [0063] 또 다른 양태에서, 본 출원은 단리된 항원 결합 단백질, 핵산 분자, 벡터 및/또는 세포, 및 임의로 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0064] 또 다른 양태에서, 본 출원은 종양을 예방, 완화 및/또는 치료하기 위한 의약의 제조에서 단리된 항원 결합 단백질, 핵산 분자, 벡터, 세포 및/또는 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0065] 또 다른 양태에서, 본 출원은 단리된 항원 결합 단백질 및/또는 폴리펩티드를 이를 필요로 하는 대상체(subject)에게 투여하는 단계를 포함하는, 종양을 예방, 완화 또는 치료하기 위한 방법을 제공한다.
- [0066] 또 다른 양태에서, 본 출원은 종양을 예방, 완화 또는 치료하는 데 사용하기 위한 단리된 항원 결합 단백질을 제공한다.
- [0067] 일부 구현예에서, 종양은 PD-1 또는 PD-L1의 높은 발현을 갖는 종양을 포함한다.
- [0068] 일부 구현예에서, 종양은 고형 종양(solid tumor)을 포함한다.
- [0069] 일부 구현예에서, 종양은 유방암(breast cancer), 폐암(lung cancer), 위암(gastric cancer) 및 요로상피 암종(urothelial carcinoma)을 포함한다.
- [0070] 또 다른 양태에서, 본 출원은 단리된 항원 결합 단백질 및/또는 폴리펩티드를 투여하는 단계를 포함하는, PD-L1 단백질에 대한 PD-1 단백질의 결합을 억제하기 위한 방법을 제공한다.
- [0071] 또 다른 양태에서, 본 출원은 단리된 항원 결합 단백질 및/또는 폴리펩티드를 투여하는 단계를 포함하는, 면역 세포에서 사이토카인의 분비를 자극하기 위한 방법을 제공한다.
- [0072] 또 다른 양태에서, 본 출원은 단리된 항원 결합 단백질 및/또는 폴리펩티드를 투여하는 단계를 포함하는, PD-L1 단백질의 존재 및/또는 함량을 검출하기 위한 방법을 제공한다.
- [0073] 또 다른 양태에서, 본 출원은 단리된 항원 결합 단백질, 폴리펩티드, 면역접합체, 핵산 분자, 벡터, 세포 및/또는 약제학적 조성물을 포함하는 키트(kit)를 제공한다.
- [0074] 본 발명의 다른 양태 및 장점은 다음의 상세한 설명으로부터 당업자에게 용이하게 명백해질 것이다. 다음 상세한 설명에서, 본 발명의 예시적인 구현예만이 도시되고 기재된다. 당업자에 의해 인식되는 바와 같이, 본 출원의 내용은 당업자가 본 출원이 관련된 본 출원의 정신 및 범위에서 벗어나지 않고 개시된 특정 구현예를 수정할 수 있도록 한다. 따라서, 본 출원의 도면 및 명세서의 설명은 단지 예시적일 뿐 제한적이지는 않다.

도면의 간단한 설명

- [0075] 본 출원이 관련된 본 출원의 구체적인 특징은 첨부된 청구범위에 제시되어 있다. 본 출원이 관련된 본 출원의 특징 및 장점은 아래에 상세히 기재된 예시적인 구현예 및 도면을 참조함으로써 더 잘 이해될 것이다. 첨부된 도면의 간단한 설명은 다음과 같다:
 - 도 1은 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질이 HEK293 세포 상의 인간 PD-L1 단백질에 결합한다는 것을 보여준다.
 - 도 2는 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질이 CHOK1 세포 상의 원숭이 PD-L1 단백질에 결합한다는 것을 보여준다.
 - 도 3은 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질이 HEK293 세포 상의 인간 PD-L1 단백질에 대한 인간 PD-1의 결합을 차단한다는 것을 보여준다.

도 4는 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질이 CHOK1 세포 상의 원숭이 PD-L1 단백질에 대한 인간 PD-1의 결합을 차단한다는 것을 보여준다.

도 5는 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질이 면역 세포를 자극하여 사이토카인 IL-2를 분비한다는 것을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0076] 본 출원의 구현예는 이하에서 구체적인 실시예에 의해 기재될 것이며, 당업자는 본 명세서의 개시내용으로부터 본 출원의 다른 장점 및 효과를 쉽게 이해할 수 있다.

[0077] 용어 정의

[0078] 본 출원에서, 용어 "PD-1"은 일반적으로 "프로그램된 사멸 1 수용체"를 지칭하며, 이는 또한 "프로그램된 사멸 1", "CD279", "분화 클러스터 279", "PD1", "PDCD1" 또는 "CD297"로도 불린다. PD-1 단백질은 일반적으로 세포의 IgV 도메인, 막관통 도메인 및 세포내 꼬리를 포함한다. PD-1은 일반적으로 T 세포, B 세포, 자연 살해 T 세포, 활성화된 단핵구 및 수지상 세포(DC) 상에서 발견된다. PD-1은 그의 리간드 PD-L1 및 PD-L2에 결합할 수 있다. 용어 "PD-1"은 포유동물, 예를 들어, 영장류(예: 인간 또는 원숭이) 및 설치류(예: 마우스 또는 래트)를 포함한 임의의 척추동물로부터 유래된 임의의 천연 PD-1 또는 변형된 PD-1을 포함한다. 상기 용어는 "전장", 처리되지 않은 PD-1 및 세포에서 처리함으로써 생성된 임의 형태의 PD-1을 포함한다. PD-1은 막관통 단백질 또는 가용성 단백질로 존재할 수 있다. "PD-1"은 완전한 PD-1 및 이의 단편뿐만 아니라 PD-1의 기능적 변이체, 동형, 상동체, 유도체 및 유사체, 및 PD-1과 함께 적어도 하나의 공통 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. PD-1 서열은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 예시적인 전장 인간 PD-1 단백질 서열은 NCBI 수탁 번호 NP_005009.2에 의해 발견될 수 있으며, 예시적인 전장 시노몰구스 원숭이 PD-1 단백질 서열은 NCBI 수탁 번호 NP_001271065 또는 Uniprot 수탁 번호 BOLAJ3에 의해 발견될 수 있다.

[0079] 본 출원에서, 용어 "PD-L1"은 일반적으로 프로그램된 사멸 리간드 1 단백질을 지칭한다. PD-L1은 또한 분화 클러스터 274(CD274) 또는 B7 상동체 1(B7-H1)로 불리며, (인간) CD274 유전자에 의해 인코딩된 단백질이다. PD-L1은 그의 수용체, 예를 들어, 프로그램된 사멸 1(PD-1)에 결합할 수 있다. PD-L1 및 PD-1의 복합체화는 T 세포 증식을 억제하고 사이토카인 IL-2 및 IFN- γ 를 생산함으로써 면역 억제 역할을 한다. 용어 "PD-L1"은 포유동물, 예를 들어, 영장류(예: 인간 또는 원숭이) 및 설치류(예: 마우스 또는 래트)를 포함한 임의의 척추동물로부터 유래된 임의의 천연 PD-L1 또는 변형된 PD-1을 포함한다. 상기 용어는 "전장", 처리되지 않은 PD-L1과 세포에서 처리함으로써 생성된 임의 형태의 PD-L1을 포함한다. PD-L1은 막관통 단백질 또는 가용성 단백질로 존재할 수 있다. 상기 용어는 또한 PD-L1의 천연 변이체, 예를 들어, 스플라이싱 변이체 또는 대립 유전자 변이체를 포함한다. PD-L1의 기본 구조는 세포의 Ig-유사 V 도메인 및 Ig-유사 C2 도메인, 막관통 도메인 및 세포질 도메인의 네 가지 도메인을 포함한다. PD-L1 서열은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 인간 PD-L1 유전자(게놈 DNA 서열 포함)에 대한 정보는 NCBI 유전자 ID No.29126에 의해 발견될 수 있다. 예시적인 전장 인간 PD-L1 단백질의 아미노산 서열은 NCBI 수탁 번호 NP_054862 또는 UniProt 수탁 번호 Q9NZQ7에 의해 발견될 수 있다.

[0080] 본 출원에서, 용어 "항원 결합 단백질"은 일반적으로 항원에 결합하는 부분, 및 임의로 항원에 결합하는 부분이 항원에 대한 항원 결합 단백질의 결합을 촉진하는 형태를 갖도록 하는 스키펴드 또는 골격 부분 일부를 함유하는 단백질을 지칭한다. 항원 결합 단백질은 전형적으로 항체 경쇄 가변 영역(VL), 항체 중쇄 가변 영역(VH) 또는 이들 둘 모두, 및 이들의 기능적 단편을 포함할 수 있다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호 작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항원 결합 단백질의 예는, 그들이 필요한 항원 결합 활성을 나타내는 한, 항체, 항원 결합 단편, 면역접합체, 다중특이적 항체(예: 이중특이적 항체), 항체 단편, 항체 유도체, 항체 유사체 또는 융합 단백질 등을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0081] 본 출원에서, 용어 "항체"는 일반적으로 특정된 단백질 또는 펩티드 또는 이의 단편에 반응성인 면역글로불린을 지칭한다. 항체는 IgG, IgA, IgM, IgD 및 IgE를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 임의의 부류로부터의 항체, 및 임의의 하위부류(예: IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4)로부터의 항체일 수 있다. 항체는, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4로부터 선택된 중쇄 불변 영역을 포함할 수 있다. 항체는 또한, 예를 들어, 카파(κ) 또는 람다(λ)로부터 선택된 경쇄를 포함할 수 있다. 본 출원의 항체는 임의의 종으로부터 유래될 수 있다.

[0082] 본 출원에서, 용어 "항원 결합 단편"은 일반적으로 항원과 상호 작용하고 항체에 대한 항체 특이성 (specificity) 및 친화성(affinity)을 제공하는 아미노산 잔기를 함유하는 항체 분자의 일부를 지칭한다. 항원

결합 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab)2, Fv 단편, F(ab')₂, scFv, di-scFv 및/또는 dAb를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 본 출원에서, 용어 "Fab"는 일반적으로 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함하는 단편을 지칭하며, 또한 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인(CH1)을 함유하고; 용어 "Fab"는 일반적으로 중쇄의 CH1 도메인의 카르복실 말단에 소량의 잔기(항체 힌지 영역의 하나 이상의 시스테인을 포함)를 첨가함으로써 Fab과 상이한 단편을 지칭하며; 용어 "F(ab')₂"는 일반적으로 힌지 영역 상의 이황화 브릿지로 연결된 두 개의 Fab 단편의 항체 단편을 함유하는 Fab'의 이량체를 지칭한다. 용어 "Fv"는 일반적으로 완전한 항원 인식 및 결합 부위를 함유하는 가장 작은 항체 단편을 지칭한다. 일부 구현예에서, 단편은 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역을 밀접하게 비공유 결합으로 갖는 이량체로 구성될 수 있으며; 용어 "dsFv"는 일반적으로 이황화 안정화 Fv 단편을 지칭하며, 여기서 단일 경쇄 가변 영역과 단일 중쇄 가변 영역 사이의 결합은 이황화 결합이다. 용어 "dAb 단편"은 일반적으로 VH 도메인으로 구성된 항체 단편을 지칭한다. 본 출원에서, 용어 "scFv"는 일반적으로 가요성 펩티드 링커를 통해 항체의 중쇄 가변 도메인과 경쇄 가변 도메인의 공유 연결 및 쌍에 의해 형성된 1가 분자를 지칭하며; 이러한 scFv 분자는 일반적인 구조: NH₂-VL-링커-VH-COOH 또는 NH₂-VH-링커-VL-COOH를 포함할 수 있다.

[0083] 본 출원에서, 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 일반적으로 항원에 대한 항체의 결합에 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 본 출원에서, 용어 "가변"은 일반적으로 항체의 가변 도메인 서열의 일부 부분이 강하게 변화하여 그들의 특이적 항원에 대한 다양한 특이적 항체의 결합 및 특이성을 형성한다는 것을 의미한다. 가변성(variability)은 항체의 전체 가변 영역에 불균일하게 분포되어 있다. 그것은 주로 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역에 세 개의 세그먼트에 존재하며, 이는 각각 상보성 결정 영역(complementarity determining region; CDR) 또는 고가변 영역(high variable region; HVR), 즉 LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 및 HCDR3이라 불린다. 가변 도메인의 보다 매우 보수적인 부분은 프레임워크 영역(framework region; FR)이라 불린다. 천연 중쇄와 경쇄의 가변 도메인은 각각 4개의 FR 영역(H-FR1, H-FR2, H-FR3, H-FR4, L-FR1, L-FR2, L-FR3, L-FR4)을 포함하고, 그들 대부분은 β-폴딩 배열을 가지며 3개의 CDR 구조 루프 영역으로 연결된다. 각 쇠 내의 CDR은 FR 영역을 통해 함께 가깝고, 다른 쇠의 CDR과 함께 항체의 항원 결합 부위를 형성한다.

[0084] 이 분야에서, 항체의 가변 영역 또는 항체의 CDR은 다양한 방법, 예를 들어, 서열 가변성에 기초한 카바트(Kabat) 넘버링 방식 및 정의 규칙(참조: Kabat *et al.*, *protein sequence in immunology*, 5th Edition, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland (1991)), 구조 루프 영역의 위치에 기초한 초티아(Chothia) 넘버링 방식 및 정의 규칙(참조: A1- Lazikani *et al.*, *J Mol Biol* 273:927-48,1997), 문헌(efranc *et al.*)에 의한 생식계열 V 유전자의 아미노산 서열 정렬에 기초한 IMGT 넘버링 방식 및 정의 규칙, 및 오네게르(Honneger)의 넘버링 방식(AHo's), 마틴(Martin) 넘버링 방식, 겔판드(Gelfand) 넘버링 방식 등에 의해 넘버링될 수 있다. 문헌(Mathieu Dondelinger *et al.*, *Understanding the Significance and Implications of Antibody Numbering and Antigen-Binding Surface/Residue Definition*, *Front. Immunol.*, 16 October 2018)을 참조한다.

[0085] 본 출원에서, 용어 "모노클로날 항체"는 일반적으로 기본적으로 균일한 항체의 그룹으로부터 수득된 항체, 즉 그룹을 구성하는 각 항체는 극소량으로 존재할 수 있는 가능한 천연 돌연변이 및/또는 번역 후 변형(예: 이성체화, 아미드화)을 제외하고는 동일하다. 모노클로날 항체는 단일 항원 부위에 대해 매우 특이적이다.

[0086] 본 출원에서, 용어 "키메라 항체"는 일반적으로 가변 영역이 한 종에서 유래되고 불변 영역이 다른 종에서 유래되는 항체를 지칭한다. 일반적으로, 가변 영역은 실험 동물, 예를 들어, 설치류의 항체("모 항체")로부터 유래되고, 불변 영역은 인간 항체로부터 유래되어 수득된 키메라 항체는 모(예: 마우스 유래) 항체와 비교하여 인간 개체에서 불리한 면역 반응을 유발할 가능성이 적다.

[0087] 본 출원에서, 용어 "인간화 항체"는 일반적으로 비인간 항체(예: 마우스 항체)의 CDR 영역 이외의 아미노산의 일부 또는 전부가 인간 면역글로불린으로부터 유래된 상응하는 아미노산에 의해 대체되는 항체를 지칭한다. CDR 영역에서 아미노산의 첨가, 결실, 삽입, 치환 또는 변형은 또한 항체가 특정 항원에 결합하는 능력을 그대로 유지하는 한 허용될 수 있다. 인간화 항체는 임의로 인간 면역글로불린의 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 인간화 항체는 원래의 항체와 유사한 항원 특이성을 보유한다. 비인간(예: 무린) 항체의 "인간화" 형태는 최소한 비인간 면역글로불린의 서열로부터 유래된 키메라 항체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 인간 면역글로불린(수용체 항체)의 CDR 영역의 잔기는 목적하는 특성, 친화성 및/또는 능력을 갖는 비인간 종(공여체 항체)(예: 마우스, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류)의 CDR 영역의 잔기로 대체될 수 있다. 일부 경우에, 인간 면역글로불린의 FR 영역 중 잔기는 상응하는 비인간 잔기로 대체될 수 있다. 또한, 인간화 항체는 수령인 항체 또는

공여체 항체에 존재하지 않는 아미노산 변형을 포함할 수 있다.

- [0088] 본 출원에서, 용어 "완전 인간 항체"는 일반적으로 모든 부분(항체의 가변 영역 및 불변 영역 포함)이 인간 기원의 유전자에 의해 인코딩되는 항체를 지칭한다. 이 분야에서 완전 인간 항체를 수득하는 방법은 파지 디스플레이 기술, 유전자 도입 마우스 기술, 리보솜 디스플레이 기술 및 RNA-폴리펩티드 기술을 포함할 수 있다.
- [0089] 본 출원에서, 용어 "결합", "특이적 결합" 또는 "~에 특이적"은 일반적으로 생물학적 분자를 포함한 이질적인 분자 집단의 존재하에 표적의 존재를 결정할 수 있는 항원과 항체의 결합과 같은 측정 가능하고 재현 가능한 상호 작용을 지칭한다. 예를 들어, 항체는 그의 항원 결합 도메인을 통해 에피토프에 결합하며, 이 결합은 항원 결합 도메인과 에피토프 사이에 일부 상보성을 필요로 한다. 예를 들어, 표적(에피토프일 수 있음)에 특이적으로 결합하는 항체는 다른 표적에 대한 항체의 결합보다 더 큰 친화성, 결합 친화성, 및 더 쉽고/쉽거나 더 긴 지속 기간으로 이 표적에 결합하는 항체이다. 항체는 무작위 비관련 에피토프에 대한 항체의 결합보다 그의 항원 결합 도메인을 통해 에피토프에 결합할 가능성이 더 높을 때 항원에 "특이적으로 결합"하는 것으로 칭명된다.
- [0090] 본 출원에서, 용어 "KD" 및 " K_D "는 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 일반적으로 평형 해리 상수(equilibrium dissociation constant)를 지칭하며, "KD"는 해리 속도 상수(dissociation rate constant)(k_{dis} , "오프 속도(k_{off})" 또는 "kd"로 공지되기도 함) 대 결합 속도 상수(association rate constant)(k_{on} , "결합 속도(k_{on})" 또는 "ka"로 공지되기도 함)의 비율이다. 결합 속도 상수(k_{on}), 해리 속도 상수(k_{dis}) 및 평형 해리 상수(KD)는 항원에 대한 항원 결합 단백질(예: 항체)의 결합 친화성을 표현하는 데 사용될 수 있다. 생물층 간섭측정법(Bi-layer interferometry; BLI), 방사면역검정(Radioimmunoassay; RIA), 평형 투석(Equilibrium Dialysis), 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance; SPR), 형광 공명 에너지 전달(Fluorescence Resonance Energy Transfer; FRET), 공동 면역 침전(co-immunoprecipitation; Co-IP) 및 단백질 칩 기술(protein Chip Technology)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 결합 및 해리 속도 상수를 결정하기 위한 방법이 당업계에 익히 공지되어 있다. 상이한 조건하(예: 염 농도 및 pH)에 측정될 경우, 특정 단백질-단백질 상호 작용의 측정된 친화성은 상이할 수 있다.
- [0091] 본 출원에서, 용어 "영장류"는 일반적으로 원숭이 및 유인원 종을 지칭하며, 원숭이 종, 예를 들어, 마카카(*Macaca*)의 원숭이(예: 시노몰구스(*cynomolgus*)(마카카 파시쿨라리스(*Macaca fascicularis*)) 및/또는 레서스 원숭이(rhesus monkey)(마카카 몰라타(*Macaca mulatta*))) 및 비비(baboon)(파피오 우르시누스(*Papio ursinus*)) 뿐만 아니라 마모셋(marmoset)(칼리트릭스(*Callithrix*)의 종), 다람쥐 원숭이(squirrel monkey)(사이미리(*Saimiri*)의 종), 및 타마린(tamarin)(사귀누스(*Saguinus*)의 종) 및 유인원 종, 예를 들어, 침팬지(판 트로글로디테스(*Pan troglodytes*))를 포함하고, 호모 사피엔스(*Homo sapiens*)를 또한 포함한다.
- [0092] 본 출원에서, 용어 "폴리펩티드" 또는 "단백질"은 상호 교환적으로 사용되며, 일반적으로 아미노산 잔기의 중합체를 지칭한다. 상기 용어는 또한 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 천연 아미노산의 유사체 또는 모방체인 아미노산 중합체뿐만 아니라 천연 아미노산 중합체에도 적용된다. 상기 용어는, 예를 들어, 당단백질을 형성하기 위해 당 잔기를 첨가하거나 인산화의 변형에 의해 변형된 아미노산 중합체도 또한 포함할 수 있다. 폴리펩티드 및 단백질은 천연 및 비재조합 세포 또는 유전자 조작된 또는 재조합 세포에 의해 생산될 수 있으며, 천연 단백질의 아미노산 서열을 갖는 분자 또는 천연 서열의 하나 이상의 아미노산의 결실, 추가 및/또는 치환을 갖는 분자를 포함할 수 있다. 용어 "폴리펩티드" 및 "단백질"은 특히 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질의 서열의 하나 이상의 아미노산의 결실, 추가 및/또는 치환을 포함한다.
- [0093] 본 출원에서, 용어 "상동체"는 일반적으로 야생형 아미노산 서열 및 야생형 뉴클레오티드 서열과 특정 상동성을 갖는 아미노산 서열 또는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 용어 "상동성"은 서열 "동일성"과 동일할 수 있다. 상동성 서열은 대상체 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 99.1%, 99.2%, 99.3%, 99.4%, 99.5%, 99.6%, 99.7%, 99.8% 또는 99.9% 동일할 수 있는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 전형적으로, 상동체는 대상체 아미노산 서열과 동일한 활성 부위 등을 포함할 것이다. 상동성은 유사성(즉, 유사한 화학적 특성/기능을 갖는 아미노산 잔기)의 관점에서 고려될 수 있거나, 서열 동일성의 관점에서 표현될 수 있다. 본 출원에서, 언급된 아미노산 서열 또는 뉴클레오티드 서열의 언급된 서열번호 중 어느 하나에서 백분율 동일성을 갖는 서열은 언급된 서열번호의 전체 길이에 걸쳐 백분율 동일성을 갖는 서열을 지칭한다.
- [0094] 본 출원에서, 용어 "단리된"은 일반적으로 그들의 천연 환경과 일반적으로 연관되거나 상호 작용하는 성분이 실질적으로 없는 생물학적 물질(예: 바이러스, 핵산 또는 단백질)을 지칭한다. 단리된 생물학적 물질은 임의로 그

의 자연 환경에서 발견되지 않는 추가 물질(예: 핵산 또는 단백질)을 포함한다. 본 출원에서, 단백질의 경우, "단리(isolation)"는 일반적으로 분자가 자연적으로 존재하는 것으로 밝혀진 전체 유기체로부터 분자가 단리되고 분리되거나, 기본적으로 동일한 유형의 다른 생체 거대 분자가 없음을 의미한다. 핵산 분자가 언급되는 경우, 핵산 분자에 자연적으로 결합하는 서열로부터 완전히 또는 부분적으로 분리되어 있거나, 핵산은 그에 결합하는 이중 서열을 갖거나, 핵산은 염색체로부터 분리된다.

[0095] 본 출원에서, 용어 "면역접합체(immunoconjugate)"는 일반적으로 항원 결합 단백질과 소분자 활성제, 예를 들어, 화학 요법제, 독소, 면역 요법제, 이미징 프로브 또는 형광 프로브일 수 있는 다른 활성제의 연결에 의해 형성된 물질을 지칭한다.

[0096] 본 출원에서, 용어 "핵산" 분자는 일반적으로 뉴클레오타이드, 데옥시뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드의 임의의 길이의 단리된 형태 또는 그의 자연 환경으로부터 단리되거나 인공적으로 합성된 그의 유사체를 지칭한다.

[0097] 본 출원에서, 용어 "백터"는 일반적으로 적절한 숙주에서 자가 복제할 수 있는 핵산 분자를 지칭하며, 이는 삽입된 핵산 분자를 숙주 세포내로 및/또는 세포 사이로 전달한다. 백터는 세포에 DNA 또는 RNA를 삽입하는 데 주로 사용되는 백터, DNA 또는 RNA를 복제하는 데 주로 사용되는 백터 및 DNA 또는 RNA의 전사 및/또는 번역의 발현에 주로 사용되는 백터를 포함할 수 있다. 백터는 또한 복수의 상기 기능을 갖는 백터를 포함한다. 백터는 적절한 숙주 세포에 도입될 때 폴리펩티드로 전사되고 번역될 수 있는 폴리뉴클레오타이드일 수 있다. 일반적으로, 백터는 백터를 포함하는 적합한 숙주 세포를 배양함으로써 목적하는 발현 생성물을 생산할 수 있다.

[0098] 본 출원에서, 용어 "세포"는 일반적으로 본 출원에 기재된 핵산 분자를 포함하는 플라스미드 또는 백터를 포함할 수 있거나 이미 포함했거나, 또는 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질을 발현할 수 있는 개별 세포, 세포주 또는 세포 배양물을 지칭한다. 세포는 단일 숙주 세포의 자손을 포함할 수 있다. 자연적, 예기치 않은 또는 의도적인 돌연변이로 인해, 자손 세포는 형태 또는 게놈이 원래의 모세포와 정확히 동일하지 않을 수 있지만, 그들은 본 출원에 기재된 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 발현할 수 있다. 세포는 본 출원에 기재된 백터를 사용하여 시험관내에서 세포를 형질감염시킴으로써 획득될 수 있다. 세포는 원핵 세포(예: 에شري키아 콜리(*Escherichia coli*) 또는 진핵 세포(예: 효모 세포, 예를 들어, COS 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, HeLa 세포, HEK293 세포, COS-1 세포, NS0 세포 또는 골수종 세포)일 수 있다. 일부 경우에, 세포는 포유류 세포일 수 있다. 예를 들어, 포유류 세포는 CHO-K1 세포일 수 있다.

[0099] 본 출원에서, 용어 "약제학적 조성물"은 일반적으로 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이도록 하는 형태로 존재하며, 상기 조성물이 투여될 대상체에게 허용할 수 없는 독성을 갖는 추가 성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다.

[0100] 본 출원에서, 용어 "치료"는 일반적으로 치료될 개체의 자연적인 과정을 변화시키려는 욕구를 지칭하며, 예방 및 치료를 달성하기 위한 임상적 개입 또는 임상적 병변의 과정일 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발 방지, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적 또는 간접적 병리학적 결과의 약화, 전이 방지, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 개선 또는 완화, 및 예후의 완화 또는 개선을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 경우에, 본 출원의 항원 결합 단백질(예: 항-PD-L1 항체)은 질환 발생을 지연시키거나 질환 진행을 늦추는 데 사용될 수 있다.

[0101] 본 출원에서, 용어 "투여"는 일반적으로 특정 투여량의 화합물(예: 항암 치료제) 또는 약제학적 조성물(예: 항암 치료제를 포함하는 약제학적 조성물)을 대상체(예: 환자)에게 투여하는 방법을 지칭한다. 투여는 비경구, 폐내 및 비강내 투여 및 (국소 치료를 위해 필요한 경우) 병변내 투여를 포함한 임의의 적절한 수단에 의해 수행될 수 있다. 비경구 주입은, 예를 들어, 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다.

[0102] 본 출원에서, 용어 "종양"은 일반적으로 임의의 신생물 세포(악성 또는 양성) 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직의 성장 및 증식을 지칭한다. 본 출원에서, 종양은 세포 및 조직에서 PD-1 또는 PD-L1의 발현이 높은 종양일 수 있다. 종양은 고형 종양 및/또는 비고형 종양(예: 혈종(hematoma), 림프종(lymphoma))을 포함할 수 있다.

[0103] 본 출원에서, 용어 "사이"는 일반적으로 아미노산 단편의 C-말단이 제1 아미노산 단편의 N-말단에 직접 또는 간접적으로 연결되고, 그의 N-말단이 제2 아미노산 단편의 C-말단에 직접 또는 간접적으로 연결된다는 것을 의미한다. 예를 들어, 경쇄에서, L-FR2의 N-말단은 LCDR1의 C-말단에 직접 또는 간접적으로 연결되고, L-FR2의 C-말단은 LCDR2의 N-말단에 직접 또는 간접적으로 연결된다. 또 다른 예로, L-FR3의 N-말단은 LCDR2의 C-말단에 직접 또는 간접적으로 연결되고, L-FR3의 C-말단은 LCDR3의 N-말단에 직접 또는 간접적으로 연결된다. 예를 들어, 중쇄에서, H-FR2의 N-말단은 HCDR1의 C-말단에 직접 또는 간접적으로 연결되고, H-FR2의 C-말단은 HCDR2의 N-말

단에 직접 또는 간접적으로 연결된다. 또 다른 예로서, H-FR3의 N-말단은 HCDR2의 C-말단에 직접 또는 간접적으로 연결되고, H-FR3의 C-말단은 HCDR3의 N-말단에 직접 또는 간접적으로 연결된다. 본 출원에서, "제1 아미노산 단편" 및 "제2 아미노산 단편"은 동일하거나 상이한 아미노산 단편 중 어느 하나 일 수 있다.

[0104] 본 출원에서, 용어 "포함한다(includes)/포함하다(include)"는 일반적으로 포함하는(comprising), 포괄적인(inclusive), 함유하는(containing) 또는 포함하는(encompassing)의 의미를 지칭한다. 일부 경우에, 그것은 또한 "이다(is)" 및 "~로 이루어지다(consist of)"의 의미를 나타낸다.

[0105] 본 출원에서, 용어 "약"은 일반적으로 특정된 값의 0.5% 내지 10% 위 또는 아래 범위의 변화, 예를 들어, 특정된 값의 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%, 3.5%, 4%, 4.5%, 5%, 5.5%, 6%, 6.5%, 7%, 7.5%, 8%, 8.5%, 9%, 9.5% 또는 10% 위 또는 아래 범위의 변화를 지칭한다.

[0106] **본 출원의 상세한 설명**

[0107] 항원 결합 단백질

[0108] 하나의 양태에서, 본 출원은 1×10^{-9} M 이하의 KD 값으로 영장류(예: 인간 또는 원숭이)로부터 유래된 PD-L1에 결합할 수 있는 단리된 항원 결합 단백질을 제공한다. PD-L1에 대한 영장류 PD-L1 항원-결합 단백질의 결합 친화성은 당업계에 공지된 임의의 방법으로 결정될 수 있다. 일부 경우에, 결합 친화성은 표면 플라즈몬 공명 (SPR), 효소 결합 면역 흡착 검정(ELISA), 결합 항원 침전법, 평형 투석 방법 및 생체층 간섭(BLI)에 의해 결정될 수 있다. 일부 경우에, PD-L1에 대한 PD-L1 항원 결합 단백질의 결합 친화성 및 KD 값은 생체층 간섭(BLI)에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, ForteBio 옥텟 분자 상호작용 분석기를 사용하여 항원과 항체 사이의 결합 동역학을 분석할 수 있다.

[0109] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 1×10^{-9} M 이하의 KD 값으로 영장류로부터 유래된 PD-L1에 결합할 수 있다. 예를 들어, KD 값은, 예를 들어, ForteBio 옥텟 분자 상호작용 분석기를 사용하여 검출된, 인간으로부터 유래된 PD-L1에 결합하는 약 1×10^{-9} M 이하, 약 9×10^{-10} M 이하, 약 8×10^{-10} M 이하, 약 7×10^{-10} M 이하, 약 6×10^{-10} M 이하, 약 5×10^{-10} M 이하, 약 4×10^{-10} M 이하, 약 3×10^{-10} M 이하, 약 2×10^{-10} M 이하 및 약 1×10^{-10} M 이하의 값일 수 있다.

[0110] 다른 경우에, PD-L1에 대한 본 출원에 기재된 PD-L1 항원 결합 단백질의 결합 활성은 유세포 분석법 또는 효소 결합 면역 흡착 검정에 의해 검출될 수 있다.

[0111] 예를 들어, FACS 시험에서, 인간 PD-L1을 안정적으로 발현하는 숙주 세포(예: HEK293 세포)가 사용되며, PD-L1에 결합하는 PD-L1 항원 결합 단백질의 EC50 값은 약 0.0001 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 100 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 예를 들어, 약 0.001 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 10 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 약 0.001 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 5 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 약 0.001 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 1 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 약 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 약 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 또는 약 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 사이이다.

[0112] 예를 들어, FACS 시험에서, 원숭이 PD-L1을 안정적으로 발현하는 숙주 세포(예: CHOK1 세포)가 사용되며, PD-L1에 결합하는 PD-L1 항원 결합 단백질의 EC50 값은 약 0.0001 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 100 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 예를 들어, 약 0.001 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 10 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 약 0.001 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 5 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 약 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 1 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 약 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 및 약 0.03 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 사이이다.

[0113] 또 다른 양태에서, 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질은 PD-L1에 대한 PD-1의 결합을 차단할 수 있다. 일부 경우에, PD-L1에 대한 PD-1의 결합의 항원 결합 단백질에 의한 차단은 유세포 분석기 FACS 또는 효소 결합 면역 흡착 검정(ELISA)에 의해 결정될 수 있다.

[0114] 예를 들어, 인간 PD-L1을 안정적으로 발현하는 숙주 세포(예: HEK293 세포)를 먼저 표지되지 않은 항원 결합 단백질의 감소량과 함께 배양한 다음, 비오틴 표지 PD-1 단백질과 함께 배양한다. 그런 다음, 세포는 FACS를 사용하여 분석하여 항원 결합 단백질이 PD-L1에 대한 PD-1의 결합을 차단한다는 것을 확인했다. 예를 들어, 약 0.001 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 10 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 약 0.001 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 5 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 약 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 1 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 약 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 사이, 및 약 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 사이이다.

[0115] 예를 들어, 원숭이 PD-L1을 안정적으로 발현하는 숙주 세포(예: CHOK1 세포)는 먼저 표지되지 않은 항원 결합 단백질의 감소량과 함께 배양한 다음, 비오틴 표지 PD-1 단백질과 함께 배양한다. 그런 다음, 세포는 FACS를 사

용하여 분석하여 항원 결합 단백질이 PD-L1에 대한 PD-1의 결합을 차단한다는 것을 확인했다. 예를 들어, 약 0.001 µg/mL 내지 약 10 µg/mL, 약 0.001 µg/mL 내지 약 5 µg/mL, 약 0.01 µg/mL 내지 약 1 µg/mL, 및 약 0.1 µg/mL 내지 약 0.7 µg/mL 사이이다.

- [0116] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 가변 영역 VH로부터의 CDR3을 포함할 수 있고, VH는 서열번호 54에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0117] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR3을 포함할 수 있고, HCDR3은 서열번호 20 내지 25 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR3을 포함할 수 있다. 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR3을 포함할 수 있고, HCDR3은 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0118] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 가변 영역 VH로부터의 CDR2를 포함할 수 있고, VH는 서열번호 54에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0119] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR2를 포함할 수 있고, HCDR2는 서열번호 20 내지 25 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR2를 포함할 수 있다. 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR2를 포함할 수 있고, HCDR2는 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0120] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 가변 영역 VH로부터의 CDR1을 포함할 수 있고, VH는 서열번호 54에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0121] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR1을 포함할 수 있고, HCDR1은 서열번호 20 내지 25 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR1을 포함할 수 있다. 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR1을 포함할 수 있고, HCDR1은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0122] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함할 수 있고, HCDR1은 서열번호 54에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR1을 포함할 수 있고, HCDR2는 서열번호 54에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR2를 포함할 수 있고, HCDR3은 서열번호 54에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0123] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함할 수 있고, HCDR1은 서열번호 20 내지 25 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR1을 포함할 수 있고, HCDR2는 서열번호 20 내지 25 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR2를 포함할 수 있고, HCDR3은 서열번호 20 내지 25 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0124] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR1을 포함할 수 있고, 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR2를 포함할 수 있으며, 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0125] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 서열번호 21에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR1을 포함할 수 있고, 서열번호 21에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR2를 포함할 수 있으며, 서열번호 21에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0126] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 서열번호 22에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR1을 포함할 수 있고, 서열번호 22에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR2를 포함할 수 있으며, 서열번호 22에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0127] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 서열번호 23에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR1을 포함할 수 있고, 서열번호 23에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR2를 포함할 수 있으며, 서열번호 23에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0128] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR1을 포함할 수 있고, 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR2를 포함할 수 있으며, 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0129] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 서열번호 25에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR1을 포함할 수 있고, 서열번호 25에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR2를 포함할 수 있으며, 서열번호 25에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VH의 CDR3을 포함할 수 있다.

- [0130] 예를 들어, 본 출원에 기재된 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함할 수 있으며, HCDR1은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, HCDR2는 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있으며, HCDR3은 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0131] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 H-FR1을 포함할 수 있고, H-FR1은 서열번호 50에 제시된 아미노산 서열: EVQLVESGGGLVQPGX₁₆SLX₁₉LSCX₂₃AS(서열번호 50)을 포함할 수 있고, 여기서 X₁₆은 G 또는 R이고, X₁₉는 K 또는 R이고, X₂₃은 A 또는 V이다. 예를 들어, 그것은 초티아(Chothia) 규칙에 따라 나눌 수 있다
- [0132] 일부 경우에, 서열번호 7에 제시된 아미노산 서열과 비교하여, H-FR1은 X₁₆, X₁₉ 및/또는 X₂₃에서의 아미노산 치환으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 위치에 적어도 아미노산 치환을 포함할 수 있다.
- [0133] 예를 들어, H-FR1은 서열번호 7 또는 8에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0134] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 H-FR2를 포함할 수 있고, H-FR2는 서열번호 51에 제시된 아미노산 서열: WMX₃WX₅RQAPGKGLEWVASI(서열번호 51)을 포함할 수 있으며, 여기서 X₃은 S 또는 T이고, X₅는 I 또는 V이다. 예를 들어, 그것은 초티아 규칙에 따라 나눌 수 있다.
- [0135] 일부 경우에, 서열번호 9에 제시된 아미노산 서열과 비교하여, H-FR2는 X₃ 및/또는 X₅에서의 아미노산 치환으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 위치에 적어도 아미노산 치환을 포함할 수 있다.
- [0136] 예를 들어, H-FR2는 서열번호 9 내지 11 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0137] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 H-FR3을 포함할 수 있고, H-FR3은 서열번호 52에 제시된 아미노산 서열: TYYX₄DSVKGRFTISRDX₁₇X₁₈KX₂₀X₂₁LYLQMNLSRX₃₁EDTAX₃₆YYCSR(서열번호 52)을 포함할 수 있고, 여기서 X₄는 A, P 또는 V이고, X₁₇은 D 또는 N이고, X₁₈은 A 또는 S이고, X₂₀은 N 또는 S이고, X₂₁은 S 또는 T이고, X₃₁은 A 또는 S이고, X₃₆은 T 또는 V이다. 예를 들어, 그것은 초티아 규칙에 따라 나눌 수 있다.
- [0138] 일부 경우에, 서열번호 12에 제시된 아미노산 서열과 비교하여, H-FR3은 X₄, X₁₇, X₁₈, X₂₀, X₂₁, X₃₁ 및/또는 X₃₆에서의 아미노산 치환으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 위치에 적어도 아미노산 치환을 포함할 수 있다.
- [0139] 예를 들어, H-FR3은 서열번호 12 내지 17 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0140] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 H-FR4를 포함할 수 있고, H-FR4는 서열번호 53에 제시된 아미노산 서열: WGQGX₅X₆VTVSS(서열번호 53)을 포함할 수 있고, 여기서 X₅는 T 또는 V이고, X₆은 L 또는 M이다. 예를 들어, 그것은 초티아 규칙에 따라 나눌 수 있다.
- [0141] 일부 경우에, 서열번호 18에 제시된 아미노산 서열과 비교하여, H-FR4는 X₆ 및/또는 X₅에 적어도 아미노산 치환을 포함할 수 있다.
- [0142] 예를 들어, H-FR4는 서열번호 18 또는 19에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0143] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 가변 영역 VH를 포함할 수 있고, VH는 서열번호 54에 제시된 아미노산 서열: EVQLVESGGGLVQPGX₁₆SLX₁₉LSCX₂₃ASGFTFSNFWMX₃₅WX₃₇RQAPGKGLEWVASITHSGGITYYX₆₁DSVKGRFTISRDX₇₄X₇₅KX₇₇X₇₈LYLQMNLSRX₈₈EDTAX₉₃YYCSRDPTEAPFDYWGQGX₁₁₂X₁₁₃VTVSS(서열번호 54)을 포함할 수 있고, 여기서 X₁₆은 G 또는 R이고, X₁₉는 K 또는 R이고, X₂₃은 A 또는 V이고, X₃₅는 S 또는 T이고, X₃₇은 I 또는 V이고, X₆₁은 A, P 또는 V이고, X₇₄는 D 또는 N이고, X₇₅는 A 또는 S이고, X₇₇은 N 또는 S이고, X₇₈은 S 또는 T이고, X₈₈은 A 또는 S이고, X₉₃은 T 또는 V이고, X₁₁₂는 T 또는 V이고, X₁₁₃은 L 또는 M이다. 예를 들어, 그것은 초티아 규칙에 따라 나눌 수 있다.
- [0144] 일부 경우에, 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열과 비교하여, VH는 X₁₆, X₁₉, X₂₃, X₃₅, X₃₇, X₆₁, X₇₄, X₇₅, X₇₇, X₇₈, X₈₈, X₉₃, X₁₁₂ 및/또는 X₁₁₃에서의 아미노산 치환으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 위치에 적어도 아미노산 치환을 포함할 수 있다.
- [0145] 예를 들어, VH는 서열번호 20 내지 25 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

- [0146] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 경쇄 가변 영역 VL로부터의 CDR3을 포함할 수 있고, VL은 서열번호 59에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0147] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR3을 포함할 수 있고, LCDR3은 서열번호 36 내지 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR3을 포함할 수 있다. 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR3을 포함할 수 있고, LCDR3은 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0148] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 경쇄 가변 영역 VL로부터의 CDR2를 포함할 수 있고, VL은 서열번호 59에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0149] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR2를 포함할 수 있고, LCDR2는 서열번호 36 내지 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR2를 포함할 수 있다. 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR2를 포함할 수 있고, LCDR2는 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0150] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 경쇄 가변 영역 VL로부터의 CDR1을 포함할 수 있고, VL은 서열번호 59에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0151] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR1을 포함할 수 있고, LCDR1은 서열번호 36 내지 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR1을 포함할 수 있다. 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR1을 포함할 수 있고, LCDR1은 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0152] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함할 수 있고, LCDR1은 서열번호 59에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR1을 포함할 수 있고, LCDR2는 서열번호 59에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR2를 포함할 수 있고, LCDR3은 서열번호 59에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0153] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함할 수 있고, LCDR1은 서열번호 36 내지 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR1을 포함할 수 있고, LCDR2는 서열번호 36 내지 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR2를 포함할 수 있고, LCDR3은 서열번호 36 내지 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0154] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 서열번호 36에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR1을 포함할 수 있고, 서열번호 36에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR2를 포함할 수 있으며, 서열번호 36에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0155] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 서열번호 37에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR1을 포함할 수 있고, 서열번호 37에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR2를 포함할 수 있으며, 서열번호 37에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0156] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 서열번호 38에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR1을 포함할 수 있고, 서열번호 38에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR2를 포함할 수 있으며, 서열번호 38에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0157] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 서열번호 39에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR1을 포함할 수 있고, 서열번호 39에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR2를 포함할 수 있고, 서열번호 38에 제시된 아미노산 서열을 갖는 VL의 CDR3을 포함할 수 있다.
- [0158] 예를 들어, 본 출원에 기재된 단리된 항원 결합 단백질은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함할 수 있으며, LCDR1은 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, LCDR2는 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있으며, LCDR3은 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0159] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 L-FR1을 포함할 수 있고, L-FR1은 서열번호 55에 제시된 아미노산 서열: DIQMTQSPX₉SLSASX₁₅GDX₁₈VTITC(서열번호 55)을 포함할 수 있으며, 여기서 X₉는 P 또는 S이고, X₁₅는 L 또는 V이고, X₁₈은 Q 또는 R이다. 예를 들어, 그것은 초티아 규칙에 따라 나눌 수 있다.
- [0160] 일부 경우에, 서열번호 26에 제시된 아미노산 서열과 비교하여, L-FR1은 X₉, X₁₅ 및/또는 X₁₈에서의 아미노산 치환으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 위치에 적어도 아미노산 치환을 포함할 수 있다.

- [0161] 예를 들어, L-FR1은 서열번호 26 또는 27에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0162] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 L-FR2를 포함할 수 있고, L-FR2는 서열번호 56에 제시된 아미노산 서열: WYQKPKGKAPX₁₁QLIR(서열번호 56)을 포함할 수 있으며, 여기서 X₁₁은 K 또는 R이다. 예를 들어, 그것은 초티아 규칙에 따라 나눌 수 있다.
- [0163] 일부 경우에, 서열번호 28에 제시된 아미노산 서열과 비교하여, H-FR2는 X₁₁에서의 아미노산 치환으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 위치에 적어도 아미노산 치환을 포함할 수 있다.
- [0164] 예를 들어, L-FR2는 서열번호 28 또는 29에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0165] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 L-FR3을 포함할 수 있고, L-FR3은 서열번호 57에 제시된 아미노산 서열: GX₂PSRFGSGSGKDX₁₅X₁₆FX₁₈ISX₂₁X₂₂X₂₃X₂₄EDIAX₂₉YYC(서열번호 57)을 포함할 수 있고, 여기서 X₂는 T 또는 V이고, X₁₅는 F 또는 Y이고, X₁₆은 S 또는 T이고, X₁₈은 S 또는 T이고, X₂₁은 N 또는 S이고, X₂₂는 L 또는 V이고, X₂₃은 E 또는 Q이고, X₂₄는 P 또는 S이고, X₂₉는 S 또는 T이다. 예를 들어, 그것은 초티아 규칙에 따라 나눌 수 있다.
- [0166] 일부 경우에, 서열번호 30에 제시된 아미노산 서열과 비교하여, L-FR3은 X₂, X₁₅, X₁₆, X₁₈, X₂₁, X₂₂, X₂₃, X₂₄ 및/또는 X₂₉에서의 아미노산 치환으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 위치에 적어도 아미노산 치환을 포함할 수 있다.
- [0167] 예를 들어, L-FR3은 서열번호 30 내지 33 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0168] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 L-FR4를 포함할 수 있고, L-FR4는 서열번호 58에 제시된 아미노산 서열: FGX₃GTKLEX₉K(서열번호 58)을 포함할 수 있고, 여기서 X₃은 A 또는 Q이고, X₉는 I 또는 L이다. 예를 들어, 그것은 초티아 규칙에 따라 나눌 수 있다.
- [0169] 일부 경우에, 서열번호 34에 제시된 아미노산 서열과 비교하여, L-FR4는 X₃ 및/또는 X₉에서의 아미노산 치환으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 위치에 적어도 아미노산 치환을 포함할 수 있다.
- [0170] 예를 들어, L-FR4는 서열번호 34 또는 35에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0171] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 경쇄 가변 영역 VL을 포함할 수 있고, VL은 서열번호 59에 제시된 아미노산 서열: DIQMTQSPX₉SLSASX₁₅GDX₁₈VTITCQASQNINNYIAWYQQKPKGKAPX₄₅QLIRYTSSTLVSGX₅₈PSRFGSGSGKDX₇₁X₇₂FX₇₄ISX₇₇X₇₈X₇₉X₈₀EDIAX₈₅Y YCLQYDNPNTFGX₁₀₀GTKLEX₁₀₆K(서열번호 59)을 포함할 수 있고, 여기서 X₉는 P 또는 S이고, X₁₅는 L 또는 V이고, X₁₈은 Q 또는 R이고, X₄₅는 K 또는 R이고, X₅₈은 T 또는 V이고, X₇₁은 F 또는 Y이고, X₇₂는 S 또는 T이고, X₇₄는 T 또는 S이고, X₇₇은 N 또는 S이고, X₇₈은 L 또는 V이고, X₇₉는 E 또는 Q이고, X₈₀은 P 또는 S이고, X₈₅는 S 또는 T이고, X₁₀₀은 A 또는 Q이고, X₁₀₆은 L 또는 I이다. 예를 들어, 그것은 초티아 규칙에 따라 나눌 수 있다.
- [0172] 일부 경우에, 서열번호 36에 제시된 아미노산 서열과 비교하여, VL은 적어도 X₉, X₁₅, X₁₈, X₄₅, X₅₈, X₇₁, X₇₂, X₇₄, X₇₇, X₇₈, X₇₉, X₈₀, X₈₅, X₁₀₀ 및/또는 X₁₀₆으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 위치에 적어도 아미노산 치환을 포함할 수 있다.
- [0173] 예를 들어, VL은 서열번호 36 내지 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0174] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함할 수 있고, HCDR1은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, HCDR2는 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, HCDR3은 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, LCDR1은 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, LCDR2는 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, LCDR3은 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0175] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 VH 및 VL을 포함할 수 있고, VH는 서열번호 54에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, VL은 서열번호 59에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0176] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 VH 및 VL을 포함할 수 있고, VH는 서열번호 20 내지 25 중 어느 하나

에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, VL은 서열번호 36 내지 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

- [0177] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 VH 및 VL을 포함할 수 있고, VH는 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, VL은 서열번호 36에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0178] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 VH 및 VL을 포함할 수 있고, VH는 서열번호 21에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, VL은 서열번호 37에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0179] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 VH 및 VL을 포함할 수 있고, VH는 서열번호 22에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, VL은 서열번호 38에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0180] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 VH 및 VL을 포함할 수 있고, VH는 서열번호 23에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, VL은 서열번호 37에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0181] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 VH 및 VL을 포함할 수 있고, VH는 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, VL은 서열번호 37에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0182] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 VH 및 VL을 포함할 수 있고, VH는 서열번호 25에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, VL은 서열번호 39에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0183] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 불변 영역을 포함할 수 있으며, 이는 IgG로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 중쇄 불변 영역은 인간 IgG로부터 유래될 수 있다. 중쇄 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 중쇄 불변 영역은 인간 IgG1로부터 유래될 수 있다. 천연 인간 IgG1과 비교하여, 중쇄 불변 영역은 아미노산 돌연변이될 수 있다. 예를 들어, 중쇄 불변 영역은 IgG1에 대해 N297A 아미노산 점 돌연변이를 수행함으로써 획득될 수 있다. 예를 들어, 중쇄 불변 영역은 서열번호 41에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0184] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄를 포함할 수 있고, 중쇄는 서열번호 42 내지 46 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0185] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있고, 경쇄 불변 영역은 경쇄 λ 및 경쇄 κ 로부터 유도될 수 있다. 예를 들어, 경쇄 불변 영역은 서열번호 40에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0186] 본 출원에서, 단리된 항원 결합 단백질은 경쇄를 포함할 수 있고, 경쇄는 서열번호 47 내지 49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0187] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 및 경쇄를 포함할 수 있고, 중쇄는 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, 경쇄는 서열번호 47에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0188] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 및 경쇄를 포함할 수 있고, 중쇄는 서열번호 43에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, 경쇄는 서열번호 48에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0189] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 및 경쇄를 포함할 수 있고, 중쇄는 서열번호 44에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, 경쇄는 서열번호 47에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0190] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 및 경쇄를 포함할 수 있고, 중쇄는 서열번호 45에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, 경쇄는 서열번호 47에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0191] 예를 들어, 단리된 항원 결합 단백질은 중쇄 및 경쇄를 포함할 수 있고, 중쇄는 서열번호 46에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있고, 경쇄는 서열번호 49에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0192] 본 출원에서, 항원 결합 단백질의 각 중쇄 또는 경쇄의 아미노산 서열의 일부는 특정 종의 항체에서 상응하는 아미노산 서열과 상동성이거나 특정 범주에 속한다. 예를 들어, 경쇄 및 중쇄의 가변 영역 및 불변 부분은 모두 한 동물 종(예: 인간)의 항체의 가변 영역 및 불변 영역으로부터 유래된다. 본 출원에서, 상동체는 단백질 및/또는 폴리펩티드의 아미노산 서열(예: PD-L1 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편)과 적어도 약 85%(예: 적어도 약 85%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99% 이상) 동일성을 갖는 단백질 및/또는 폴리펩티드일 수 있다.
- [0193] 본 출원에서, 상동성은 일반적으로 둘 이상의 서열 사이의 유사성(similarity), 유사성(likeness) 또는 연관성

(association)을 지칭한다. 서열 상동성의 백분율을 결정하기 위한 정렬은 공개적으로 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예를 들어, BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign(DNASTAR) 소프트웨어를 사용하여 당업계에 공지된 다양한 방법으로 실현될 수 있다. 당업자는 비교되는 전장 서열 내에서 또는 표적 서열 영역 내에서 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여 정렬 서열에 대한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 상동성은 또한 다음 방법에 의해 결정될 수 있다: FASTA 및 BLAST. FASTA 알고리즘의 설명을 위해, 문헌(W. R. Pearson and D. J. Lipman, "Improved Tools for Biological Sequence Comparison", Proc. Natl. Acad. Sci., 85:2444-2448, 1988; and D. J. Lipman and W. R. Pearson, "Rapid and sensitive protein similarity searches", Science, 227:1435-1441, 1989. Descriptions of BLAST algorithm may be found in S. Altschul, W. Gish, W. Miller, E. W. Myers and D. Lipman, "Basic Local Alignment Search Tool", Journal of Molecular Biology, 215:403-410, 1990)을 참조한다.

[0194] 시험 방법

[0195] 본 출원에 기재된 PD-1 항원 결합 단백질의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성은 당업계에 공지된 다양한 검정에 의해 식별, 스크리닝 또는 특성화될 수 있다.

[0196] 하나의 양태에서, 예를 들어, 본 출원의 항원 결합 단백질의 항원 결합 활성은 공지된 방법, 예를 들어, 효소 결합 면역 흡착 검정(ELISA), 웨스턴 블롯(예: 단백질 블롯), 유세포 분석법(예: FACS), 면역 조직 화학, 면역 형광 등에 의해 시험될 수 있다.

[0197] 핵산, 벡터, 숙주 세포 및 제조 방법

[0198] 또 다른 양태에서, 본 출원은 또한 하나 이상의 단리된 핵산 분자를 제공한다. 하나 이상의 핵산 분자는 본원에 기재된 항원 결합 단백질을 인코딩할 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 핵산 분자 중의 각 핵산 분자는 완전한 항원 결합 단백질을 인코딩할 수 있거나, 이의 일부(예: HCDR1-3, LCDR1-3, VL, VH, 경쇄 또는 중쇄 중 하나 이상)를 인코딩할 수 있다.

[0199] 본 출원에 기재된 핵산 분자는 단리될 수 있다. 예를 들어, 그것은 다음 방법에 의해 생산되거나 합성될 수 있다: (i) 시험관내 증폭, 예를 들어, 중합효소 연쇄 반응(PCR) 증폭, (ii) 클로닝 및 재조합, (iii) 정제, 예를 들어, 효소 소화 및 겔 전기 영동에 의한 분획화 또는 (iv) 합성, 예를 들어, 화학적 합성. 일부 구현예에서, 단리된 핵산은 재조합 DNA 기술에 의해 제조된 핵산 분자이다.

[0200] 본 출원에서, 항체 및 이의 항원 결합 단편을 인코딩하는 핵산은 합성 올리고뉴클레오타이드를 사용한 제한 단편 조작 또는 중첩 연장 PCR을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 당업계에 공지된 다양한 방법으로 제조될 수 있다.

[0201] 또 다른 양태에서, 본 출원은 본원에 기재된 하나 이상의 핵산 분자를 포함하는 하나 이상의 벡터를 제공한다. 각 벡터는 하나 이상의 핵산 분자를 포함할 수 있다. 또한, 벡터는 적절한 숙주 세포에서 그리고 적절한 조건하에 벡터의 선택을 허용하는 마커 유전자와 같은 다른 유전자를 또한 포함할 수 있다. 또한, 벡터는 적절한 숙주에서 코딩 영역이 올바르게 발현되도록 하는 발현 제어 요소를 또한 포함할 수 있다. 예를 들어, 벡터는 발현 벡터이다.

[0202] 또 다른 양태에서, 본 출원은 숙주 세포를 제공하며, 숙주 세포는 본원에 기재된 하나 이상의 핵산 분자 및/또는 하나 이상의 벡터를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 각각의 또는 모든 숙주 세포는 본원에 기재된 하나 이상의 핵산 분자 또는 벡터를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 각각의 또는 모든 숙주 세포는 본원에 기재된 복수의(예: 2개 이상) 또는 다양한(예: 2개 이상의 종류) 핵산 분자 또는 벡터를 포함할 수 있다.

[0203] 또 다른 양태에서, 본 출원은 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제조하기 위한 방법을 제공한다. 상기 방법은 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 발현되는 조건하에서 본 출원에 기재된 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 적절한 배양 배지, 적절한 온도 및 배양 시간 등과 함께, 이러한 방법은 당업자에게 공지되어 있다.

[0204] 약제학적 조성물, 방법 및 용도

[0205] 또 다른 양태에서, 본 출원은 약제학적 조성물을 제공한다. 약제학적 조성물은 본원에 기재된 항원 결합 단백질, 폴리펩티드, 핵산 분자, 벡터, 숙주 세포, 및 임의로 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 보조제는 채택된 용량 및 농도에서 수령인에게 독성이 없으며, 본 출원의 약제학적 조성물은 또한 하나 이상의 활성 화합물을 포함할 수 있으며, 이는 상보적 활성을 갖는 활성 화합물이며 일반적으로 서로 악영향을 미치지 않는다. 이러한 약제의 형태와 유효량은, 예를 들어, 제제에 존재하는 길항제의 양 및 형

태 및 대상체의 임상적 파라미터에 따라 달라진다.

- [0206] 약제학적 조성물은 종양 성장을 억제하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 출원의 약제학적 조성물은 질환의 발생 또는 진행을 억제 또는 지연시키고, 종양 크기를 감소시키고/시키거나(심지어 기본적으로 종양을 제거할 수 있음), 질환 상태를 완화 및/또는 안정화시킬 수 있다.
- [0207] 본 출원의 약제학적 조성물은 예방적 및/또는 치료적 유효량의 항체, 이의 항원 결합 단편을 포함할 수 있다. 예방적 및/또는 치료적 유효량은 질환 또는 장애를 갖거나 발생할 위험이 있는 대상체에서 질환 또는 장애 및/또는 이의 임의의 합병증을 예방 및/또는 치료(적어도 부분적으로 치료)하는 데 필요한 용량이다.
- [0208] 또 다른 양태에서, 본 출원은 의약의 제조에서 항원 결합 단백질 및/또는 융합 단백질의 용도를 제공한다. 의약은 암을 치료하고, 종양 성장을 억제하고/하거나 종양 세포 증식을 억제하는 데 사용하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 종양 또는 암은 PD-L1의 비정상적인 발현을 갖는 종양 또는 암이다. 본 출원에서, 종양은 PD-1 또는 PD-L1의 높은 발현을 갖는 종양을 포함할 수 있다. 본 출원에서, 종양은 PD-L1의 발현이 높은 종양을 포함할 수 있다. 본 출원에서, 종양은 고형 종양을 포함할 수 있다. 본 출원에서, 종양은 유방암, 폐암, 위암 및 요로상피암종을 포함할 수 있다.
- [0209] 또 다른 양태에서, 본 출원은 본원에 기재된 항원 결합 단백질 및/또는 폴리펩티드를 투여하는 단계를 포함하는, PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 억제하기 위한 방법을 제공한다. 예를 들어, 상기 방법은 생체의 또는 시험관내일 수 있다. 예를 들어, 상기 방법은 비치료 목적을 위한 방법일 수 있다. 일부 경우에, 상기 방법은 항원 결합 단백질 및/또는 PD-1이 PD-L1에 결합하도록 하는 조건하에서 생물학적 샘플과 본원에 기재된 항원 결합 단백질 및/또는 PD-1을 접촉시키는 단계, 항원 결합 단백질과 PD-L1 사이에 복합체가 형성되는지 여부를 검출하는 단계, 및 PD-1과 PD-L1 사이에 복합체가 형성되는지 여부를 검출하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0210] 또 다른 양태에서, 본 출원은 단리된 항원 결합 단백질 및/또는 폴리펩티드를 투여하는 단계를 포함하는, 면역 세포에서 사이토카인의 분비를 자극하기 위한 방법을 제공한다. 사이토카인은 IL-2일 수 있다. 면역 세포는 림프구, 예를 들어, T 림프구일 수 있다. 예를 들어, 상기 방법은 생체의 또는 시험관내일 수 있다. 예를 들어, 상기 방법은 비치료 목적을 위한 방법일 수 있다.
- [0211] 또 다른 양태에서, 본 출원은 단리된 항원 결합 단백질 및/또는 폴리펩티드를 투여하는 단계를 포함하는, PD-L1 단백질의 존재 및/또는 함량을 검출하기 위한 방법을 제공한다. 예를 들어, 상기 방법은 생체의 또는 시험관내일 수 있다. 예를 들어, 상기 방법은 비치료 목적을 위한 방법일 수 있다.
- [0212] 본 출원은 또한 종양 또는 암을 앓고 있는 대상체를 진단하기 위한 방법에서 항원 결합 단백질의 용도를 제공하며, 상기 방법은 본 출원의 항원 결합 단백질과 샘플을 접촉시킴으로써 대상체로부터 획득된 샘플에서 PD-L1의 존재 또는 발현 수준을 결정하는 단계 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계를 포함한다.
- [0213] 또 다른 양태에서, 본 출원은 본 출원에 기재된 핵산 분자 또는 항원 결합 단백질을 포함할 수 있는 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.
- [0214] 또 다른 양태에서, 본 출원은 항원 결합 단편을 포함할 수 있는 항체 약물 접합체를 제공한다.
- [0215] 또 다른 양태에서, 본 출원은 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질, 키메라 항원 수용체, 유전자 변형 세포, 항체 약물 접합체 및/또는 본 출원에 기재된 약제학적 조성물을 포함할 수 있는 키트를 제공한다. 그것은 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질, 키메라 항원 수용체, 유전자 변형 세포, 및/또는 본 출원에 기재된 항체 약물 접합체를 단일 공통 용기에 포함할 수 있으며, 또한 임의로 하나 이상의 치료제와 조합될 수 있고, 임의로 약제학적 조성물로 함께 제형화될 수 있다.
- [0216] 또 다른 양태에서, 본 출원은 항원 결합 단백질 또는 이의 약제학적 조성물을 투여하는 데 사용될 수 있는 약물 전달 장치를 제공한다.
- [0217] 임의의 이론에 결부시키지 않고, 다음 실시예는 단지 본 발명의 다양한 구현예를 설명하기 위한 것이며, 그들은 본 발명의 범위를 제한하기 위해 사용되지 않는다.
- [0218] **실시예**
- [0219] **실시예 1. 류린 항-인간 PD-L1 모노클로날 항체의 제조**
- [0220] 유화는 인간 PD-L1/B7-H1 단백질, Fc Tag(Acro Biosystem PD1-H5258) 및 PADRE로 수행한 다음, 6 내지 8주령의

암컷 SD 래트에 50 µg의 인간 PD-L1/B7-H1 단백질, Fc Tag/래트, 25 µg의 PADRE/래트를 복강내 주사하고; 그 후, 부스터 면역화를 2 내지 3주 간격으로 수행하였다. 래트는 총 3회 면역화하였고, 마지막 면역화 2주 후, 래트의 꼬리 혈액을 채취하여 혈청 내 항-인간 PDL1 항체의 역가를 결정했다. 프로인트 보조제(Freund's adjuvant) 없이 50 µg 단백질을 발작 면역화(ictus immunisatorius)를 위해 래트에 복강내 주사한 후, 래트의 비장 세포를 취하고, 3일째에 골수종(Sp2/0) 세포와 융합시켰다.

[0221] HEK293-PD-L1 세포에 특이적으로 결합하는 동시에 HEK293-hPD-L1 세포에 대한 수용체 PD-1의 결합을 차단할 수 있는 클론을 유세포 분석기로 융합 플레이트로부터 스크리닝하였고, 서브클로닝은 제한 희석 방법으로 수행하고, 최종적으로 특정 항체를 분비할 수 있는 모노클로날을 스크리닝했다. 모노클로날 항체는 HEK293-PD-L1에 대한 항체의 결합 능력의 검출, HEK293-hPD-L1 세포에 대한 PD-1의 결합을 차단하는 기능, 및 최종적으로 후보 항-인간 PD-L1 모노클로날 항체 50G2-3을 수득하기 위한 혼합 림프구 실험을 포함하여 후속 식별을 위해 무혈청 배지에서 소규모 생산 및 정제로 수득하였다. 모노클로날 항체 서열분석에 의해 수득된 뮤린 하이브리도마 클론 50G2-3의 가변 영역의 서열은 다음과 같다:

[0222] > 50G2-3 경쇄 가변 영역 서열

DIQMTQSPPSLSASLGQVTTTCQASQNINNYIAWYQQKPGKAPRQLIRYTSSTLV

[0223] GTPSRFSGSGSGKDYSFSSISNVESEDIASYYCLQYDNPNTFGAGTKLELK (서열번호 36)

[0224] > 50G2-3 중쇄 가변 영역 서열

EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCVASGFTFSNFWMTWIRQAPGKGLEWVASITHS
GGITYYPDSVKGRFTISRDDAKSTLYLQMNSLRSEDTATYYCSRDPTEAPFDYWGQG

[0225] VMVTVSS (서열번호 20)

[0226] [표 1]

뮤린 하이브리도마 클론 50G2-3의 중쇄 및 경쇄 CDR 서열

중쇄		경쇄	
HCDR1	GFTFSNF (서열번호 1)	LCDR1	QASQNINNYIA (서열번호 4)
HCDR2	THSGGI (서열번호 2)	LCDR2	YTSTLV (서열번호 5)
HCDR3	DPTEAPFDY (서열번호 3)	LCDR3	LQYDNPNT (서열번호 6)

[0227]

[0228] **실시예 2. 모노클로날 항체의 인간화**

[0229] 가장 상동성 인간 생식계열 항체(데이터 공급원: IMGT)를 인간화 설계 프레임워크로서 선택하였고(경쇄의 프레임워크는 IGKV1-33*01, IGKJ2*01에 기초하였고, 중쇄의 프레임워크는 IGHV3-7*01, IGHJ4*01에 기초하였다), 항체의 경쇄 및 중쇄의 가변 영역은 초티아에 의해 넘버링되었고[Chothia & Lesk, 1987], 항체의 CDR 영역은 CDRL1(L24-L34), CDRL2(L50-L56), CDRL3(L89-L97), CDRH1(H26-H32), CDRH2(H52-H56) 및 CDRH3(H95-H97)으로 정의되고, 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역의 아미노산의 인간화 돌연변이는 가변 영역의 서열 정렬 및 구조적 정보에 따라 수행하였으며; 발현 벡터를 설계하였고, 유전자를 합성하였고, 재조합 항체는 포유류 세포에 의해 발현시키고 정제하였으며, 인간화 항체와 키메라 항체 사이의 활성 및 물리적 및 화학적 특성의 차이를 비교하였고, 1 내지 2 라운드의 인간화 최적화를 수행했다.

[0230] 생식계열 항체 서열 정보:

➤ IGKV1-33*01

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE
 TGVPSRFSGSGSGTDFITFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLP (서열번호 60)

➤ IGKJ2*01

YTFGQGTKLEIK (서열번호 61)

➤ IGHV3-7*01

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQ
 DGSEKYYVDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (서열번호 62)

➤ IGHJ4*01

YFDYWGQGLVTVSS (서열번호 63)

[0231]

[0232]

다음 경쇄 및 중쇄의 최적화된 설계는 프레임워크 CDR로서 상기 게르만라인(Germanline) 항체의 서열을 기반으로 이식된 인간화 서열이었다(1910G2HzL0 및 1910G2HzH0은 키메라 항체의 경쇄 및 중쇄이고, 1910G2HzL2, 1910G2HzH2, 1910G2HzL3, 1910G2HzH3, 1910G2HzL4, 1910G2HzH4, 1910G2HzL7, 1910G2HzH7, 1910G2HzL9 및 1910G2HzH9는 인간화 항체의 경쇄 및 중쇄이다).

➤ 1910G2HzL0 경쇄 가변 영역 서열

DIQMTQSPSSLSASLGDVITTCQASQINNYIAWYQQKPGKAPRQLIRYTSSTLV
 GTPSRFSGSGSGKDYFSSISNVESEDIASYYCLQYDNVPNTFGAGTKLELK (서열번호 36)

➤ 1910G2HzL2 경쇄 가변 영역 서열

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQINNYIAWYQQKPGKAPKQLIRYTSSTLV

[0233]

GVPSPRFSGSGSGKDYFTFTISSLQPEDIATYYCLQYDNVPNTFGQGTKLEIK (서열번호 37)

➤ 1910G2HzL3 경쇄 가변 영역 서열

DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCQASQNINNYIAWYQQKPGKAPKQLIRYTSSTLVSGTPSRFSGSGSGKDYFTISNLQPEDIATYYCLQYDNPNTFGQGTKLEIK (서열번호 38)

➤ 1910G2HzL4 경쇄 가변 영역 서열

1910G2HzL2 (서열번호 37) 와 동일

➤ 1910G2HzL7 경쇄 가변 영역 서열

1910G2HzL2 (서열번호 37) 와 동일

➤ 1910G2HzL9 경쇄 가변 영역 서열

DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCQASQNINNYIAWYQQKPGKAPKQLIRYTSSTLVSGVPSRFSGSGSGKDFFTISSLQPEDIATYYCLQYDNPNTFGQGTKLEIK (서열번호 39)

➤ 1910G2HzH0 중쇄 가변 영역 서열

EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCVASGFTFSNFWMTWIRQAPGKGLEWVASITHSGGITYYPDSVKGRFTISRDDAKSTLYLQMNSLRSEDATATYYCSRDPTEAPFDYWGQGMVMTVSS (서열번호 20)

➤ 1910G2HzH2 중쇄 가변 영역 서열

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFWMTWVRQAPGKGLEWVASITHSGGITYYVDSVKGRFTISRDDAKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRDPTEAPFDYWGQGLVTVSS (서열번호 21)

[0234]

➤ 1910G2HzH3 중쇄 가변 영역 서열

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFWMSWVRQAPGKGLEWVASITHSGGITYYVDSVKGRFTISRDNKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRDPTEAPFDYWGQGMVMTVSS (서열번호 22)

➤ 1910G2HzH4 중쇄 가변 영역 서열

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFWMTWVRQAPGKGLEWVASITHSGGITYYPDSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRDPTEAPFDYWGQGLVTVSS (서열번호 23)

[0235]

➤ 1910G2HzH7 중쇄 가변 영역 서열

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFWMTWVRQAPGKGLEWVASITHSGGITYYADSVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRDPTEAPFDYWGQGLVTVSS (서열번호 24)

➤ 1910G2HzH9 중쇄 가변 영역 서열

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFWMSWVRQAPGKGLEWVASITHSGGITYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRDPTEAPFDYWGQGLVTVSS (서열번호 25)

[0236]

[0237]

상기 기재된 항체의 경쇄 및 중쇄를 결합하여 항원 결합 단백질 1910G2HzL2H2, 1910G2HzL3H3, 1910G2HzL4H4, 1910G2HzL7H7 및 1910G2HzL9H9를 수득한다.

[0238] 실시예 3. 본 출원의 항원 결합 단백질의 동역학적 파라미터의 결정

[0239] (1) 인간 PD-L1(Acro, 카탈로그 번호: H5229)에 대한 인간화 항체 1910G2HzL2H2, 1910G2HzL3H3, 1910G2HzL4H4, 1910G2HzL7H7 및 1910G2HzL9H9의 친화성은 Octet RED96e(Fortebio)에 의해 결정되었고, 항원과 항체는 모두 1xPBST(1xPBS: Sangon, B548117-0500; 0.02% Tween 20: 시그마-알로리치, P1379)로 희석하였고, 사용을 위한 항원의 농도는 100nM이었고, 사용을 위한 항체의 농도는 50nM이었다.

[0240] (2) 기계에서 샘플 검출(옥텟 데이터 획득 11.1.0.11): 먼저, 샘플을 200 µL/웰의 시스템으로 96웰 플레이트 (Greiner bio-one, 655209)에 첨가했다. 그런 다음, 소프트웨어 파라미터를 설정하고, 플레이트 온도는 30°C로 설정하고, 표준 역학적 신호를 수집하는 주파수는 5.0Hz였다. 다음으로, AHC 센서(Fortebio, 카탈로그 번호: 18-0015)를 1xPBST로 10분 동안 사전 습윤시킨 다음, 샘플을 기계에서 검출시켰다. 각 사이클은 다음 단계를 포함한다: 1) 60초 동안 완충액에 침지시키는 단계; 2) 항원이 센서에 비특이적으로 결합하는지 여부를 검출하는 단계; 3) pH 1.7의 10mM 글리신 용액의 재생 단계; 4) 60초 동안 완충액에 침지시키는 단계; 5) 20초 동안 센서에 항체를 고정시키는 단계; 6) 센서를 완충액에 180초 동안 침지시키는 단계; 7) 항체에 180초 동안 항원 결합하는 단계; 8) 10분 동안 항체로부터 항원을 해리시키는 단계; 9) 센서를 재생하는 단계.

[0241] (3) 데이터 분석

[0242] 1:1 비율의 항원-항체의 결합 속도(Ka) 및 해리 속도(Kd)는 Fortebio의 데이터 분석 11.0 소프트웨어로 측정하였고, 이들에 기초하여, 항체의 평형 해리 상수(KD)를 계산했다. 결과는 아래 표에 제시된 바와 같고, 인간 PD-L1에 대한 인간화 항체 1910G2HzL2H2, 1910G2HzL3H3, 1910G2HzL4H4, 1910G2HzL7H7 및 1910G2HzL9H9의 친화성은 아테졸리무맙에 필적할 만하며, 심지어 더 낮은 KD 값을 갖는다는 것을 나타낸다. 이들은 본 출원의 항원 결합 단백질은 더 높은 결합 친화성을 가졌음을 나타냈다.

[0243] [표 2]

인간 PD-L1에 대한 인간화 항체의 친화성

인간화 항체	KD (M)	kon (1/Ms)	kdis (1/s)
1910G2HzL2H2	2.435E-10	1.03E+06	2.50E-04
1910G2HzL3H3	4.522E-10	1.06E+06	4.77E-04
1910G2HzL4H4	1.601E-10	1.03E+06	1.65E-04
1910G2HzL7H7	3.019E-10	9.58E+05	2.89E-04
1910G2HzL9H9	2.137E-10	9.80E+05	2.10E-04
아테졸리무맙	4.837E-10	6.44E+05	3.11E-04

[0244]

[0245] 실시예 4. 세포 표면에서 항원 PD-L1에 대한 본 출원의 항원 결합 단백질의 결합 활성화.

[0246] CHOK1-cynoPD-L1 또는 HEK293-hPD-L1을 각 96웰 플레이트에서 5E6 세포로 수집하고, 300g에서 5분 동안 원심분리하고, 미리 냉각된 FACS 완충액으로 재현탁시키고, 3799 U자형 플레이트에 100 µL/웰로 균일하게 펼치고 실온에서 15분 동안 차단했다. 인간화 항체를 채취하고, 초기 농도 3.33 µg/mL에서 시작한 다음 3배 희석하여 12개의 구배를 확립했다. 2000rpm에서 5분 동안 차단 및 원심분리 후, 상청액을 제거했다. 희석된 항체를 100 µL/웰로 첨가하고, 혼합물을 균일하게 혼합하고, 4°C에서 1시간 동안 배양하였다. 혼합물을 2000rpm에서 5분 동안 원심분리하고 상청액을 제거하고, 잔류물을 FACS 완충액으로 1 내지 2회 세척했다. 2차 항체 염소-항-인간488, 1:1000을 100 µL/웰로 첨가하고, 4°C에서 1시간 동안 배양하고 2000rpm에서 5분 동안 원심분리한 후 상청액을 제거하고 잔류물을 FACS 완충액으로 1 내지 2회 세척한 후, FACS 완충액을 세포의 재현탁 및 기계에서 검출을 위해 30 µL/웰로 첨가했다.

[0247] 도 1은 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질이 HEK293 세포 상의 인간 PD-L1 단백질에 결합한다는 것을 보여주었다. 도 2는 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질이 CHOK1 세포 상의 원숭이 PD-L1 단백질에 결합한다는 것을 보여주었다. 결과는 도 1 및 도 2에 도시된 바와 같았으며, 세포 표면 상의 항원 PD-L1에 대한 본 출원의 항원 결합 단백질 1910G2HzL2H2, 1910G2HzL3H3, 1910G2HzL4H4, 1910G2HzL7H7 및 1910G2HzL9H9의 결합 활성화는 아테졸리무맙에 필적할 만하거나 심지어 더 높았다. PD-L1에 대한 본 출원의 항원 결합 단백질의 결합 활성화가 우수했음을

나타내었다.

[0248] 실시예 5. 본 출원의 항원 결합 단백질은 PD-1에 대한 세포 표면 상의 항원 PD-L1의 결합 활성을 차단한다.

[0249] HEK293-hPD-L1 또는 CHOK1-cynoPD-L1을 각 96웰 플레이트에서 5E6 세포로 수집하고, 300g에서 5분 동안 원심분리 후 미리 냉각된 FACS 완충액으로 재현탁시키고, 3799 U자형 플레이트에 100 μ L/웰로 균일하게 펼치고, 실온에서 15분 동안 차단했다. 인간화 항체를 채취하고, 초기 농도 10 μ g/mL에서 시작한 다음, 3배 희석하여 12개의 구배를 획득하였다. 0.224mg/mL의 비오틴-PD-1-mFc를 2 μ g/mL로 제조했다. 2000rpm에서 5분 동안 차단 및 원심분리 후, 상청액을 제거했다. 희석된 항체를 50 μ L/웰로 첨가하고, 혼합물을 균일하게 혼합하고, 2 μ g/mL의 비오틴-PD-1-mFc를 50 μ L/웰로 첨가하고 균일하게 혼합하고, 4°C에서 1시간 동안 배양했다. 2000rpm에서 5분 동안 원심분리 후, 상청액을 제거하고, 잔류물을 FACS 완충액으로 1 내지 2회 세척했다. 2차 항체 SA488, 1:1000을 100 μ L/웰로 첨가하고, 4°C에서 1시간 동안 배양하고, 2000rpm에서 5분 동안 원심분리한 후, 상청액을 제거했다. 잔류물을 FACS 완충액으로 1 내지 2회 세척한 다음, FACS 완충액을 세포의 재현탁 및 기기에서 검출을 위해 30 μ L/웰로 첨가했다. 도 3은 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질이 HEK293 세포 상의 인간 PD-L1 단백질에 대한 PD-1의 결합을 차단했음을 보여주었다. 도 4는 본 출원에 기재된 항원 결합 단백질이 CHOK1 세포 상의 원숭이 PD-L1 단백질에 대한 PD-1의 결합을 차단했음을 보여주었다. 결과는 도 3 및 도 4에 도시된 바와 같았으며, PD-1에 대한 세포 표면 상의 항원 PD-L1의 결합을 차단하는 본 출원의 항원 결합 단백질 1910G2HzL2H2, 1910G2HzL3H3, 1910G2HzL4H4, 1910G2HzL7H7 및 1910G2HzL9H9의 활성은 아테졸리무맙에 필적할 만했다. PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 차단하는 본 출원의 항원 결합 단백질의 활성이 우수했음을 나타냈다.

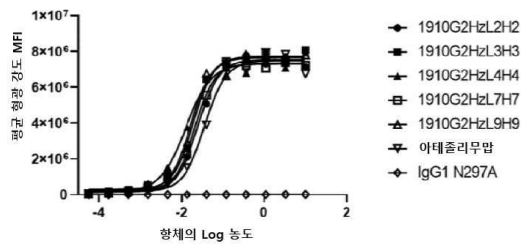
[0250] 실시예 6. 혼합 림프구 반응: 사이토카인 IL-2의 분비

[0251] 인간 수지상 DC 세포를 세포 배양 배지(1640+ 2% FBS)로 소생시키고, DC 세포의 밀도를 1×10^5 내지 1×10^7 세포/mL로 조정된 다음, 미토마이신 C를 최종 농도 50 μ g/mL로 첨가하여 암흑에서 37도에서 30분 동안 처리한 후, 10mL 배양 배지를 종결을 위해 첨가하고, 혼합물을 400g에서 10분 동안 원심분리한 후, 10mL 배양 배지로 세척했다. 항-PD1 항체의 구배 희석: 항체의 최대 최종 농도는 2.5 μ g/mL였고(제제 농도는 10 μ g/mL임), 구배 희석은 10배였고(5개 농도 포인트 + 1개의 0 농도), 이어서 제조된 항-PD1 항체 50 μ L를 상응하는 세포 배양 플레이트(Corning, 카탈로그 번호: 3599)에 첨가했다. 인간 말초 혈액 림프구 PBMC 및 미토마이신 C로 처리된 DC 세포를 수집하고, DC 세포의 밀도를 2×10^5 세포/mL로 조정된 후, 세포를 배양 플레이트에 50 μ L/웰로 첨가했고, 즉 웰당 DC 세포의 수는 1×10^4 세포/웰이었고; PBMC 세포의 밀도는 2×10^6 세포/mL로 조정된 다음, 세포를 100 μ L/웰로 배양 플레이트에 첨가하였고, 즉 웰당 PBMC 세포의 수는 2×10^5 세포/웰이었다. 세포 배양 플레이트를 37°C에서 5일 동안 5% 이산화탄소를 갖는 세포 배양기에 배치했다. 5일 후, 300g으로 5분 동안 원심분리 후 상청액을 수집하고, IL-2의 함량은 인간 IL-2 ELISA 키트(BD, 카탈로그 번호: 550611)를 사용하여 검출했다. 검출 방법은 키트 지침에 따라 엄격하게 수행되었으며, 데이터는 GraphPad Prism 소프트웨어로 처리하였다. 결과는 도 5에 도시된 바와 같았고, 본 출원의 항원 결합 단백질 1910G2HzL2H2, 1910G2HzL3H3, 1910G2HzL4H4, 1910G2HzL7H7 및 1910G2HzL9H9가 모두 림프구를 자극하여 아테졸리무맙보다 우수한 효과로 사이토카인을 분비할 수 있음을 나타낸다. 본 출원의 항원 결합 단백질이 면역 세포를 자극하여 사이토카인을 분비하는 높은 능력을 가졌음을 나타내었다.

[0252] 전술한 상세한 설명은 설명 및 예로서 제공된 것이며, 첨부된 청구범위의 범위를 제한하려는 의도는 아니다. 본 발명에 열거된 구현예의 많은 변형은 당업자에게 명백하며, 그들은 첨부된 청구범위 및 그들의 등가물의 범위 내에 있다.

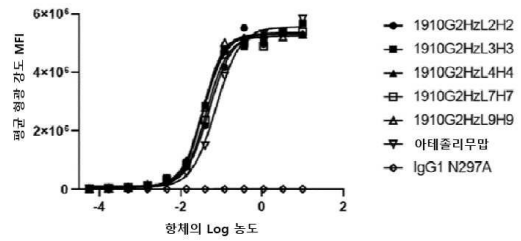
도면

도면1



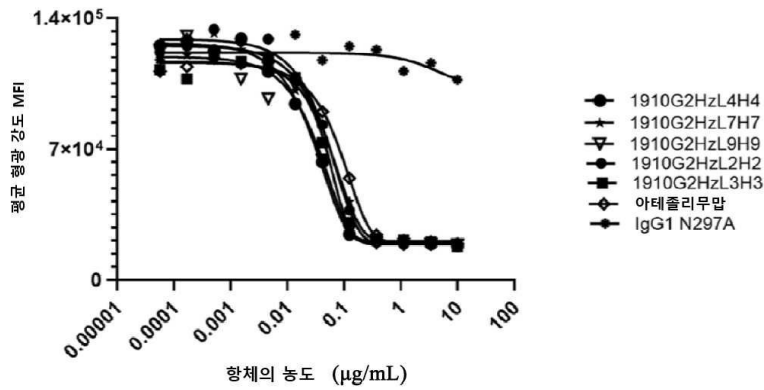
$\mu\text{g/mL}$	1910G2HzL2H2	1910G2HzL3H3	1910G2HzL4H4	1910G2HzL7H7	1910G2HzL9H9	아테졸리무맙	IgG1 N297A
EC50	0.02547	0.01985	0.01280	0.02185	0.01707	0.03687	NA

도면2



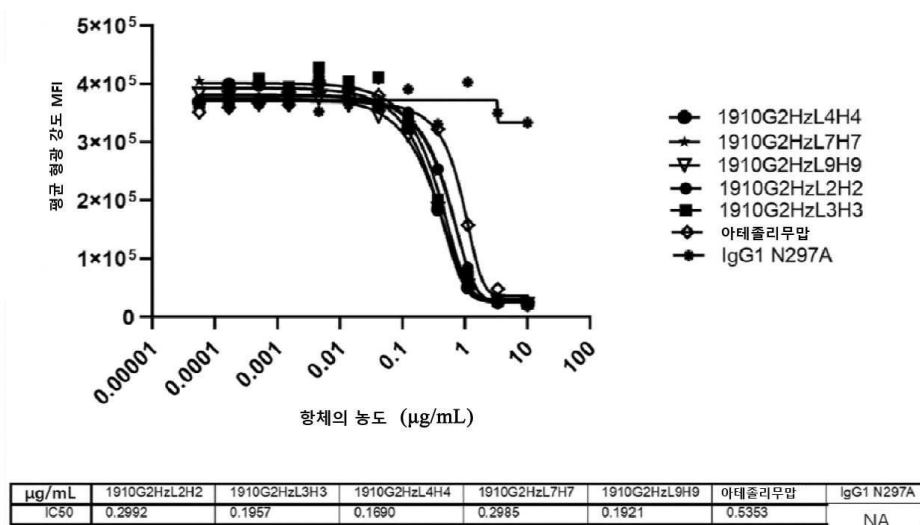
$\mu\text{g/mL}$	1910G2HzL2H2	1910G2HzL3H3	1910G2HzL4H4	1910G2HzL7H7	1910G2HzL9H9	아테졸리무맙	IgG1 N297A
EC50	0.05160	0.03781	0.03618	0.04450	0.03690	0.07650	NA

도면3

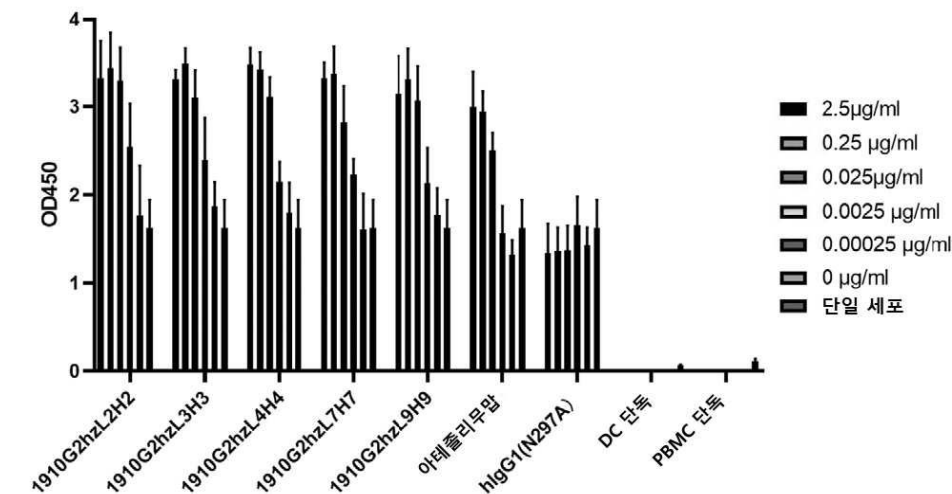


$\mu\text{g/mL}$	1910G2HzL2H2	1910G2HzL3H3	1910G2HzL4H4	1910G2HzL7H7	1910G2HzL9H9	아테졸리무맙	IgG1 N297A
IC50	0.04886	0.04982	0.02687	0.04844	0.03240	0.08541	NA

도면4



도면5



서열목록

SEQUENCE LIST

- <110> SHANGHAI JEMINCARE PHARMACEUTICAL CO., LTD.; JIANGXI JEMINCARE GROUP CO., LTD.
- <120> ANTI-PD-L1 ANTIBODY AND USE THEREOF
- <130> 0134-PA-027
- <160> 63
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 7
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> HCDR1

<400> 1

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe

1 5

<210> 2

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HCDR2

<400> 2

Thr His Ser Gly Gly Ile

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HCDR3

<400> 3

Asp Pro Thr Glu Ala Pro Phe Asp Tyr

1 5

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR1

<400> 4

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Asn Asn Tyr Ile Ala

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR2

<400> 5

Tyr Thr Ser Thr Leu Val Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR3

<400> 6

Leu Gln Tyr Asp Asn Val Pro Asn Thr

1 5

<210> 7

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 H-FR1

<400> 7

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser

 20 25

<210> 8

<211> 25

<212>

 PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH2, 1910G2HzH3, 1910G2HzH4, 1910G2HzH7 and 1910G2HzH9 H-FR1

<400> 8

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

 20 25

<210> 9

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 H-FR2

<400> 9

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

1 5 10 15

Ala Ser Ile

<210> 10

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH2, 1910G2HzH4 and 1910G2HzH7 H-FR2

<400> 10

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

1 5 10 15

Ala Ser Ile

<210> 11

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH3 and 1910G2HzH9 H-FR2

<400> 11

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

1 5 10 15

Ala Ser Ile

<210> 12

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 H-FR3

<400> 12

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

1 5 10 15
 Asp Ala Lys Ser Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu
 20 25 30
 Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Arg
 35 40

<210> 13

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH2 H-FR3

<400> 13

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

<210> 14

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH3 H-FR3

<400> 14

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

<210> 15

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH4 H-FR3

<400> 15

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg

 35 40

<210> 16

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH7 H-FR3

<400> 16

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg

 35 40

<210> 17

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH9 H-FR3

<400> 17

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg

 35 40

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 and 1910G2HzH3 H-FR4

<400> 18

Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH2, 1910G2HzH4, 1910G2HzH7 and 1910G2HzH9 H-FR4

<400> 19

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 20

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 VH

<400> 20

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Ala Ser Ile Thr His Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95
 Ser Arg Asp Pro Thr Glu Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val
 100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 21

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH2 VH

<400> 21

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 22

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH3 VH

<400> 22

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

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

Met Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 23

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH4 VH

<400> 23

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

Ala Ser Ile Thr His Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 24

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH7 VH

<400> 24

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 25

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH9 VH

<400> 25

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

 115

<210> 26

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 L-FR1

<400> 26

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

1 5 10 15

Asp Gln Val Thr Ile Thr Cys

 20

<210> 27

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzL2, 1910G2HzL3 and 1910G2HzL9 L-FR1

<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

20

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 L-FR2

<400> 28

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

1 5 10 15

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzL2, 1910G2HzL3 and 1910G2HzL9 L-FR2

<400> 29

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

1 5 10 15

<210> 30

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 L-FR3

<400> 30

Gly Thr Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Ser

1 5 10 15

Phe Ser Ile Ser Asn Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Ser Tyr Tyr Cys

20

25

30

<210> 31

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzL2 L-FR3

<400> 31

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

<210> 32

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzL3 L-FR3

<400> 32

Gly Thr Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr

1 5 10 15

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

 20 25 30

<210> 33

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzL9 L-FR3

<400> 33

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

<210>

34

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 L-FR4

<400> 34

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

1 5 10

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzL2, 1910G2HzL3 and 1910G2HzL9 L-FR4

<400> 35

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 36

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 VL

<400> 36

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Ser Phe Ser Ile Ser Asn Val Glu Ser

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Ser Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Val Pro Asn

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105

<210> 37

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzL2 VL

<400> 37

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 Asn Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Val Pro Asn
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 38

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzL3 VL

<400> 38

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 Asn Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Val Pro Asn
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 39

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzL9 VL

<400> 39

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 Asn Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Val Pro Asn
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 40

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain Constant Region

<400> 40

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

<210> 41

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain Constant Region

<400> 41

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

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

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

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

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

325 330

<210> 42

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH2 Heavy Chain

<400> 42

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

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

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

 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

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

<210> 43

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH3 Heavy Chain

<400> 43

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

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe

 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45
 Ala Ser Ile Thr His Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val

 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr

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

 85 90 95
 Ser Arg Asp Pro Thr Glu Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val

 100 105 110
 Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

 115 120 125
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

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

 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH4 Heavy Chain

<400> 44

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Ala Ser Ile Thr His Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

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

 115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

 130 135 140

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

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

 180 185 190

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

 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 45

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH7 Heavy Chain

<400> 45

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

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

 115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

 130 135 140

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

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

 180 185 190

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

 195 200 205

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

210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

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

385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

 435 440 445
 <210> 46

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzH9 Heavy Chain

<400> 46

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

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

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

340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

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

<210> 47
 <211> 214
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzL2 Light Chain

<400> 47

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 Asn Ile Asn Asn Tyr

 20 25 30
Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Gln Leu Ile

 35 40 45
Arg Tyr Thr Ser Thr Leu Val Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60
Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Val Pro Asn

 85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg 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> 48

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzL3 Light Chain

<400> 48

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 Asn Ile Asn Asn Tyr

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Val Pro Asn

 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg 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> 49

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1910G2HzL9 Light Chain

<400> 49

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 Asn Ile Asn Asn Tyr

 20 25 30
Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Gln Leu Ile

 35 40 45
Arg Tyr Thr Ser Thr Leu Val Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60
Ser Gly Ser Gly Lys Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Val Pro Asn

 85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg 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> 50

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 H-FR1; 1910G2HzH2, 1910G2HzH3, 1910G2HzH4, 1910G2HzH7 and 1910G2HzH9 H-FR1

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Xaa = Gly or Arg

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa = Lys or Arg

<220><221> misc_feature

<222> (23)..(23)

<223> Xaa = Ala or Val

<400> 50

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

1 5 10 15

Ser Leu Xaa Leu Ser Cys Xaa Ala Ser

20 25

<210> 51

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 H-FR2; 1910G2HzH2, 1910G2HzH4 and 1910G2HzH7 H-FR2; 1910G2HzH3 and 1910G2HzH9 H-FR2

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa = Ser or Thr

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa = Ile or Val

<400> 51

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

1 5 10 15

Ala Ser Ile

<210> 52

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 H-FR3; 1910G2HzH2 H-FR3; 1910G2HzH3 H-FR3; 1910G2HzH4 H-FR3; 1910G2HzH7 H-FR3;
1910G2HzH9 H-FR3

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa = Ala, Pro or Val

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> Xaa = Asp or Asn

<220><221

> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> Xaa = Ala or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> Xaa = Asn or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = Ser or Thr

<220><221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Xaa = Ala or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (36)..(36)

<223> Xaa = Thr or Val

<400> 52

Thr Tyr Tyr Xaa Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp

1 5 10 15

Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Xaa Glu

 20 25 30

Asp Thr Ala Xaa Tyr Tyr Cys Ser Arg

 35 40

<210> 53

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 and 1910G2HzH3 H-FR4; 1910G2HzH2, 1910G2HzH4, 1910G2HzH7 and 1910G2HzH9 H-FR4

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa = Thr or Val

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa = Leu or Met

<400> 53

Trp Gly Gln Gly Xaa Xaa Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 54

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 VH; 1910G2HzH2 VH; 1910G2HzH3 VH; 1910G2HzH4 VH; 1910G2HzH7 VH; 1910G2HzH9 VH

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Xaa = Gly or Arg

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa = Lys or Arg

<220><221> misc_feature

<222> (23)..(23)

<223> Xaa = Ala or Val

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = Ser or Thr

<220><221> misc_feature

<222> (37)..(37)

<223> Xaa = Ile or Val

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa = Ala, Pro or Val

<220><221> misc_feature

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = Asp or Asn

<220><221> misc_feature

<222> (75)..(75)

<223> Xaa = Ala or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (77)..(77)

<223> Xaa = Asn or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (78)..(78)

<223> Xaa = Ser or Thr

<220><221> misc_feature

<222> (88)..(88)

<223> Xaa = Ala or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (93)..(93)

<223> Xaa = Thr or Val

<220><221> misc_feature

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = Thr or Val

<220><221> misc_feature

<222> (113)..(113)

<223> Xaa = Leu or Met

<400> 54

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Ala Ser Ile Thr His Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Xaa Asp Ser Val

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ser Arg Asp Pro Thr Glu Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Xaa

 100 105 110

Xaa Val Thr Val Ser Ser

 115

<210> 55

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 L-FR1; 1910G2HzL2, 1910G2HzL3 and 1910G2HzL9 L-FR1

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa = Pro or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> Xaa = Leu or Val

<220><221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> Xaa = Gln or Arg

<400> 55

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

1 5 10 15

Asp Xaa Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 L-FR2; 1910G2HzL2, 1910G2HzL3 and 1910G2HzL9 L-FR2

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa = Lys or Arg

<400> 56

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

1 5 10 15

<210> 57

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 L-FR3; 1910G2HzL2 L-FR3; 1910G2HzL3 L-FR3; 1910G2HzL9 L-FR3

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa = Thr or Val

<220><221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> Xaa = Phe or Tyr

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Xaa = Ser or Thr

<220><221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> Xaa = Ser or Thr

<220><221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = Asn or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (22)..(22)

<223> Xaa = Leu or Val

<220><221> misc_feature

<222> (23)..(23)

<223> Xaa = Glu or Gln

<220>

><221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> Xaa = Pro or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (29)..(29)

<223> Xaa = Ser or Thr

<400> 57

Gly Xaa Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Lys Asp Xaa Xaa

1 5 10 15

Phe Xaa Ile Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Asp Ile Ala Xaa Tyr Tyr Cys

 20 25 30

<210> 58

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 L-FR4; 1910G2HzL2, 1910G2HzL3 and 1910G2HzL9 L-FR4

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa = Ala or Gln

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa = Ile or Leu

<400> 58

Phe Gly Xaa Gly Thr Lys Leu Glu Xaa Lys

1 5 10

<210> 59

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 50G2-3 VL; 1910G2HzL2 VL; 1910G2HzL3 VL; 1910G2HzL9 VL

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa = Pro or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> Xaa = Leu or Val

<220><221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> Xaa = Gln or Arg

<220><221> misc_feature

<222> (45)..(45)

<223> Xaa = Lys or Arg

<220><221> misc_feature

<222> (58)..(58)

<223> Xaa = Thr or Val

<220><221> misc_feature

<222> (71)..(71)

<223> Xaa = Phe or Tyr

<220><221> misc_feature

<222> (72)..(72)

<223> Xaa = Ser or Thr

<220><221> misc_feature

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = Ser or Thr

<220><221> misc_feature

<222> (77)..(77)

<223> Xaa = Asn or Ser

<220

><221> misc_feature
 <222> (78)..(78)
 <223> Xaa = Leu or Val
 <220><221> misc_feature
 <222> (79)..(79)
 <223> Xaa = Glu or Gln
 <220><221> misc_feature
 <222> (80)..(80)
 <223> Xaa = Pro or Ser
 <220><221> misc_feature
 <222> (85)..(85)
 <223> Xaa = Ser or Thr
 <220><221> misc_feature
 <222> (100)..(100)
 <223> Xaa = Ala or Gln
 <220><221> misc_feature
 <222> (106)..(106)
 <223> Xaa = Ile or Leu
 <400> 59
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Xaa Ser Leu Ser Ala Ser Xaa Gly

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

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

<210> 60
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <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 Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

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

 85 90 95
 <210> 61
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 61
 Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 1 5 10
 <210> 62
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 62
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Arg

<210> 63

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

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

1

5

10

15