



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년02월03일
(11) 등록번호 10-2357906
(24) 등록일자 2022년01월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/32 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/32 (2013.01)
A61K 47/6803 (2017.08)
- (21) 출원번호 10-2016-7017085
- (22) 출원일자(국제) 2014년11월27일
심사청구일자 2019년11월26일
- (85) 번역문제출일자 2016년06월24일
- (65) 공개번호 10-2016-0091961
- (43) 공개일자 2016년08월03일
- (86) 국제출원번호 PCT/CA2014/051140
- (87) 국제공개번호 WO 2015/077891
국제공개일자 2015년06월04일
- (30) 우선권주장
61/910,026 2013년11월27일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌
Roland Kontermann, Mabs, Landes Bioscience
4(2):pp. 182-197 (2012. 3.)
US06194551 B1
US06331415 B1
US06627196 B1

- (73) 특허권자
자임워크스 인코포레이티드
캐나다 브리티시 콜롬비아 브이6에이치 3브이9 밴
쿠버 웨스트 8번 애비뉴 540-1385
- (72) 발명자
와이서, 니나 이.
캐나다, 브리티시 콜롬비아 브이4케이 2이7,
델타, 크레센트 드라이브 5995
엔지, 고든 유콘
캐나다, 브리티시 콜롬비아 브이6피 2엔8,
밴쿠버, 웨스트 64번 애비뉴 1535
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
김영철, 김 순 영

전체 청구항 수 : 총 16 항

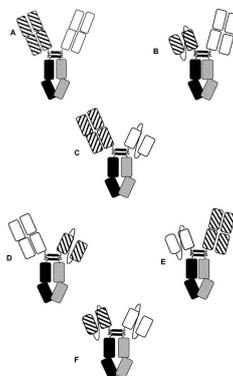
심사관 : 김정아

(54) 발명의 명칭 HER2를 표적화하는 이중특이성 항원-결합 작제물

(57) 요약

본 명세서에서 HER2에 특이적으로 결합하는 2중 파라토프 항원-결합 작제물이 제공된다. 2중 파라토프 항원-결합 작제물은 HER2의 ECD2에 결합하는 하나의 항원-결합 모이어티, HER2의 ECD4에 결합하는 제2 항원-결합 모이어티 및 Fc를 포함한다. 항원-결합 모이어티 중 적어도 하나는 scFv이다. 2중 파라토프 항원-결합 작제물은 암 치료에 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/6855 (2017.08)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/35 (2013.01)
C07K 2317/41 (2013.01)
C07K 2317/526 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)

(72) 발명자

위크맨, 그랜트 레이몬드

캐나다, 브리티시 콜롬비아 브이6케이 4에이치1,
밴쿠버, 트롯치 스트리트 2251

디지트, 서짓 비마라오

캐나다, 브리티시 콜롬비아 브이7이 3엔5, 리치몬드,
킹피셔 드라이브 11651, #51

에스코바-카브레라, 에릭

캐나다, 브리티시 콜롬비아 브이5에이 4비3, 버너비,
우드릿지 플레이스 8562

산체스, 마리오

캐나다, 브리티시 콜롬비아 브이6케이 1제트9, 밴쿠버,
웨스트 7번 에비뉴 3157

(30) 우선권주장

62/000,908 2014년05월20일 미국(US)
62/009,125 2014년06월06일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하는 제1 항원 결합 폴리펩타이드 작제물, 및 상기 제1 항원 결합 폴리펩타이드 작제물에 작동가능하게 연결되는 제2 항원 결합 폴리펩타이드 작제물을 포함하되,

상기 제2 항원 결합 폴리펩타이드 작제물은 제3 폴리펩타이드 및 제4 폴리펩타이드를 포함하며,

상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 335의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역(CDR) H2, 서열번호 336의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 H3 및 서열번호 348의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 H1을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 338의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 L2, 서열번호 347의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 L3 및 서열번호 340의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 L1을 포함하며, 상기 제3 폴리펩타이드는 서열번호 341의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 H2, 서열번호 342의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 H3 및 서열번호 343의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 H1을 포함하고, 상기 제4 폴리펩타이드는 서열번호 344의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 L2, 서열번호 345의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 L3 및 서열번호 346의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역 L1을 포함하며,

상기 제1 항원 결합 폴리펩타이드 작제물은 HER2-발현 세포 상의 HER2(인간 표피 성장인자 수용체 2) ECD2(세포외 도메인 2) 항원에 1가로 그리고 특이적으로 결합하고 상기 제2 항원 결합 폴리펩타이드 작제물은 HER2-발현 세포 상의 HER2 ECD4(세포외 도메인 4) 항원에 1가로 그리고 특이적으로 결합하는, 단리된 작제물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 제1 항원 결합 폴리펩타이드 작제물은 Fab이고 상기 제2 항원 결합 폴리펩타이드 작제물은 scFv인, 단리된 작제물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 제1 항원 결합 폴리펩타이드 작제물은 Fab이고 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인(VH)을 포함하며 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인(VL)을 포함하고;

상기 제2 항원 결합 폴리펩타이드 작제물은 scFv이며 상기 제3 및 제4 폴리펩타이드는 연결되어 있고 상기 제3 폴리펩타이드는 서열번호 297의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 도메인(VL)을 포함하며 상기 제4 폴리펩타이드는 서열번호 305의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 도메인(VH)을 포함하는, 단리된 작제물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 제1 항원 결합 폴리펩타이드 작제물은 Fab를 포함하고 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 97에 나타난 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄로 이루어지며 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 69에 나타난 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄로 이루어지고;

상기 제2 항원 결합 폴리펩타이드 작제물은 scFv를 포함하며 상기 제3 및 제4 폴리펩타이드는 연결되어있고 상기 제3 및 제4 폴리펩타이드는 서열번호 295에 나타난 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 작제물.

청구항 5

제1항에 있어서,

제1 Fc 폴리펩타이드 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 포함하는 이형이량체 Fc를 더 포함하되,
 상기 제1 Fc 폴리펩타이드는 제1 CH3 서열을 포함하고 상기 제2 Fc 폴리펩타이드는 제2 CH3 서열을 포함하며,
 상기 제1 Fc 폴리펩타이드는 상기 제1 항원 결합 폴리펩타이드 작제물에 작동가능하게 연결되며 상기 제2 Fc 폴리펩타이드는 상기 제2 항원 결합 폴리펩타이드 작제물에 작동가능하게 연결되는, 단리된 작제물.

청구항 6

제5항에 있어서,
 상기 이형이량체 Fc는 인간 IgG1 Fc이며, 상기 제1 Fc 폴리펩타이드는 IgG1 힌지 영역 링커에 의해 상기 제1 항원 결합 폴리펩타이드 작제물에 작동가능하게 연결되며,
 야생형 동형이량체 Fc와 비교하여 EU 넘버링에 따라,
 상기 제1 CH3 서열은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드에서의 T350V_L351Y_F405A_Y407V 변형을 포함하며, 상기 제2 CH3 서열은 상기 제2 Fc 폴리펩타이드에서의 T350V_T366L_K392L_T394W 변형을 포함하는, 단리된 작제물.

청구항 7

제5항에 있어서,
 상기 이형이량체 Fc는 하나 이상의 CH2 변형을 포함하는, 단리된 작제물.

청구항 8

제1항에 있어서,
 상기 단리된 작제물은 글리코실화된, 단리된 작제물.

청구항 9

제1항에 있어서,
 상기 단리된 작제물은 약물에 컨쥬게이팅된, 단리된 작제물.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 단리된 작제물 및 약학적 담체를 포함하는, 암 치료용 약학적 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 단리된 작제물을 포함하는, HER2 발현 (HER2+) 종양을 갖는 대상체의 치료용 제제.

청구항 12

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 단리된 작제물을 세포와 접촉시키는 단계를 포함하는, 세포 내 HER2 신호전달의 저해, 감소 또는 차단 방법.

청구항 13

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 단리된 작제물을 세포와 접촉시키는 단계를 포함하는, HER2-발현 종양 세포의 성장 저해 방법.

청구항 14

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 단리된 작제물의 적어도 하나의 폴리펩타이드를 암호화하는 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오타이드 또는 단리된 폴리뉴클레오타이드의 세트.

청구항 15

제14항에 따른 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 세트 중 하나 이상을 포함하는 벡터 또는 벡터의

세트.

청구항 16

제14항에 따른 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 세트를 포함하는 단리된 세포.

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원과의 상호참조

[0002]

본 출원은 2013년 11월 27일자로 출원된 미국 가출원 특허 제61/910,026호; 2014년 5월 20일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/000,908호; 및 2014년 6월 6일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/009,125호의 유익을 주장하

며, 이 기초출원들은 모두 본 명세서에 그의 전문이 참고로 포함된다.

[0003]

서열목록

[0004]

본 출원은 EFS-Web을 통해 제출된 서열목록을 포함하며, 본 명세서에 그의 전문이 참고로 포함된다. 20XX년 XX 월에 생성된 상기 ASCII 복사본은 명칭이 XXXXXUS sequencelisting.txt이고, 용량이 X,XXX,XXX 바이트이다.

배경 기술

[0005]

대부분의 현재 시판되는 항체 치료제는 2개의 항원-결합 도메인에 의해 부여되는 고친화도 결합 및 결합활성을 위해 최적화되고 선택된 2가 단일특이성이다. 돌연변이유발에 의한 FcγR 결합의 탈푸코실화(afucosylation) 또는 증강은 항체 Fc 의존적 세포 세포독성 메커니즘을 통해 항체를 더 효율있게 제공하는데 사용되었다. 탈푸코실화된 항체 또는 증강된 FcγR 결합을 지니는 항체는 여전히 임상 시험에서 불완전한 치료적 효능을 겪고 있으며, 시판 약물 상태는 아직 임의의 이들 항체에 대해 달성되지 않았다. 독소에 컨쥬게이트된 전형적인 2가 항체 (항체 약물 컨쥬게이트)는 더 효율있지만, 더 넓은 임상 효능은 용량-제한 독성에 의해 제한된다.

[0006]

치료적 항체는 표적 특이성, 대상 환자에 대한 투여 후 생체이용률 및 생체 분포, 및 충분한 표적 결합 친화도 및 항체 의존적 치료 효과를 최대화하기 위한 고표적 점유를 포함하는 특성의 최소 특징을 이상적으로 소유한다. 전형적으로 치료적 항체는 단일특이성이다. 그러나 단일특이성 표적화는 신호전달 및 질환 병리에서 적절할 수 있는 다른 표적 에피토프를 처리하지 않아서 약물 내성 및 도피 메커니즘을 가능하게 한다. 일부 현재의 치료적 패러다임은 동일한 표적 항원의 두 상이한 에피토프를 표적화하는 2개의 치료적 단일특이성 항체 조합의 사용을 필요로 한다. 하나의 예는 트라스투주맙 및 퍼투주맙의 병용 사용인데, 둘 다 일부 암세포의 표면 상에서 HER2 수용체 단백질을 표적화하지만, 환자는 여전히 질환이 진행되는 한편, 더 낮은 HER2 수용체 수준(허셉트(Hercept) 시험에 의해 HER2 <3+)을 지니는 다른 환자는 치료적 이점을 나타내지 않는다. HER2를 표적화하는 치료적 항체는 젠맵사(GenMab)의 WO 2012/143523호 및 제넨테크사(Genentech)의 WO 2009/154651에 개시되어 있다. 항체는 또한 WO 2009/068625 및 WO 2009/068631에 기재되어 있다.

[0007]

2011년 11월 4일자로 출원된 공동출원된 특허 출원 PCT/CA2011/001238호, 2012년 11월 2일자로 출원된 PCT/CA2012/050780호, 2013년 5월 10일자로 출원된 PCT/CA2013/00471호 및 2013년 5월 8일자로 출원된 PCT/CA2013/050358호는 치료적 항체를 기재한다. 각각은 본 명세서에서 그들의 전문이 모든 목적을 위해 참고로 포함된다.

발명의 내용

[0008]

본 명세서에서 HER2에 결합하는 2가 항원-결합 작제물이 기재된다. 항원-결합 작제물은 HER2-발현 세포 상의 HER2(인간 표피 성장인자 수용체 2) ECD2(세포외 도메인 2) 항원에 1가로 그리고 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 폴리펩타이드 작제물 및 HER2-발현 세포 상에서 HER2 ECD4(세포외 도메인 4) 항원에 1가로 그리고 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 폴리펩타이드 작제물, 제1 링커 폴리펩타이드 및 제2 링커 폴리펩타이드를 포함하되, 제1 링커 폴리펩타이드는 제1 항원-결합 폴리펩타이드 작제물에 작동가능하게 연결되고, 제2 링커 폴리펩타이드는 제2 항원-결합 폴리펩타이드 작제물에 작동가능하게 연결되며; 링커 폴리펩타이드는 서로 공유 결합을 형성할 수 있고, ECD2- 또는 ECD4-결합 폴리펩타이드 작제물 중 적어도 하나는 scFv이다. 특정 실시형태에서, ECD2-결합 폴리펩타이드 작제물은 scFv이고, ECD2-결합 폴리펩타이드 작제물은 Fab이다. 특정 실시형태에서, ECD2-결합 폴리펩타이드 작제물은 Fab이고 ECD4 결합 폴리펩타이드 작제물은 scFv이다. 일부 실시형태에서, ECD2-와 ECD4-결합 폴리펩타이드 작제물은 둘 다 scFv이다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 CH3 서열을 포함하는 이량체 Fc를 가진다. 일부 실시형태에서, Fc는 야생형 동형이량체 Fc와 비슷한 안정성을 지니는 이형 이량체의 형성을 촉진하는 CH3 서열에서 하나 이상의 변형을 갖는 이형이량체이다. 일부 실시형태에서, 이형 이량체 CH3 서열은 용융 온도(Tm)가 68°C 이상이다. 또한 항원-결합 작제물을 암호화하는 핵산, 및 벡터 및 세포가 기재된다. 또한 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물을 이용하여 장애, 예를 들어, 암을 치료하는 방법이 기재된다.

[0009]

또한 본 명세서에서 VL 영역에서 돌연변이 Y96A 및 VH 영역에서 T30A/A49G/L70F(카바트(Kabat)에 따라 넘버링)를 포함하는 변형된 퍼투주맙 작제물이 제공된다. 일 실시형태에서, 변형된 퍼투주맙 작제물은 1가이고, 퍼투주맙보다 HER2 ECD2에 대해 7 내지 9-배 더 높은 친화도를 가진다. 특정 실시형태에서, 변형된 퍼투주맙 작제물은 Fab/Fab, Fab/scFv 또는 scFv/scFv 형식을 가진다.

도면의 간단한 설명

[0010]

도 1A는 Fab-Fab 형식으로 2중 파라토프(biparatopic) 항체의 구조를 도시한 도면.

도 1B 내지 도 1E는 cFv-Fab 형식으로 2중 파라토프 항체의 가능한 형태의 구조를 도시한 도면. 도 1B에서, 항원-결합 도메인 1은쇄 A에 융합된 scFv인 반면, 항원-결합 도메인 2는쇄 B에 융합된 Fab이다. 도 1C에서, 항원-결합 도메인 1은쇄 A에 융합된 Fab인 반면, 항원-결합 도메인 2는쇄 B에 융합된 scFv이다. 도 1D에서, 항원-결합 도메인 2는쇄 A에 융합된 Fab인 반면, 항원-결합 도메인 1은쇄 B에 융합된 scFv이다. 도 1E에서, 항원-결합 도메인 2는쇄 A에 융합된 scFv인 반면, 항원-결합 도메인 1은쇄 B에 융합된 Fab이다. 도 1F에서, 항원-결합 도메인은 둘 다 scFv이다.

도 2는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 발현 및 정제의 특성규명을 도시한 도면. 도 2a 및 도 2b는 단백질 A 정제된 항체의 SEC 크로마토그래피, 및 v5019의 10L 발현 및 정제의 비환원성 SDS-PAGE 분석을 도시한다. 도 2C는 v10000의 25L 발현 및 정제의 SDS-PAGE 분석을 도시한다.

도 3은 단백질 A 및 SEC에 의해 정제된 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 UPLC-SEC 분석 결과를 도시한 도면. 도 3a는 v5019에 대한 결과이며, 상부 패널은 정제 결과를 나타내고, 하부 패널은 y-축에 대해 확장된 규모를 지니는 동일한 결과를 나타낸다. 얻어진 데이터의 요약은 이하의 UPLC-SEC 결과에 제공한다. 도 3b는 v10000에 대한 결과를 나타낸다.

도 4는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 이형이량체 순도의 LCMS 분석을 도시한 도면. 도 4a는 v5019의 풀링한 SEC 분석의 LC-MS 분석으로부터의 결과를 도시한다. 도 4b는 v10000의 풀링한 단백질 A 분석의 LC-MS 분석으로부터의 결과를 도시한다.

도 5는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 25L-규모 제제의 분석을 도시한 도면. 도 5a는 맵셀렉트(MabSelect)(상표명) 및 하이트랩(HiTrap)(상표명) SP FF 정제 후에 예시적인 항-HER2 2중 파라토프의 SDS-PAGE 프로파일을 도시한다. 도 5b는 정제된 항체의 LCMS 분석을 도시한다.

도 6는 FACS에 측정하여 대조군 항체에 비해 상이한 HER2 수용체 밀도를 나타내는 HER2+ 전세포에 결합하는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체의 능력을 비교한 도면. 도 6a 및 도 6e는 SKOV3 세포에 대한 결합을 도시하고; 도 6b는 JIMT1 세포에 대한 결합을 도시하며; 도 6c 및 도 6f는 MCF7 세포에 대한 결합을 도시하고; 도 6d는 MDA-MB-231 세포에 대한 결합을 도시하며; 및 도 6g는 WI-38 세포에 대한 결합을 도시한다.

도 7은 HER2+ 세포의 성장을 저해하는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 능력을 도시한 도면. 도 7a 및 도 7d는 SKOV3 세포의 성장 저해를 나타내고; 도 7b는 BT-474 세포의 성장 저해를 나타내며; 도 7c는 SKBR3 세포에서의 성장 저해를 나타내고, 도 7e는 JIMT-1 세포에서의 성장 저해를 나타낸다.

도 8은 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 파라토프에 관한 SPR 결합 데이터를 도시한 도면. 도 8A는 고정된 Her2 ECD 또는 이량체 Her2-Fc에 결합을 위한 1가 항-Her2 항체(v1040; 예시적인 항-Her2 2중 파라토프 항체의 CH-B에 대한 항원-결합 도메인을 나타냄)의 K_D 값(nM)을 도시한다. 도 8B는 고정된 Her2 ECD 또는 이량체 Her2-Fc에 결합을 위한 1가 항-Her2 항체(v4182; 예시적인 항-Her2 2중 파라토프 항체의 CH-A에 대한 항원-결합 도메인을 나타냄)의 K_D 값(nM)을 도시한다.

도 9는 HER2+ 세포에서 내재화하는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 능력을 도시한 도면. 도 9A는 BT-474 세포에서의 내재화를 도시한 반면, 도 9b는 JIMT-1 세포에서의 내재화를 도시한다.

도 10은 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 표면 결합 및 내재화를 도시한 도면. 도 10a(v5019)은 BT-474 세포에서의 결과를 도시하고; 도 10b(v5019) 및 도 10f(v5019 및 v10000)는 JIMT1 세포에서의 결과를 도시하며; 도 10c(v5019) 및 도 10e(v5019 및 v10000)는 SKOV3 세포에서의 결과를 도시하고, 도 10d(v5019)는 MCF7 세포에서의 결과를 도시한다.

도 11은 SKOV3 세포에서 ADCC를 매개하는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 능력을 도시한 도면. 도 11A에서, 분석은 효과기 대 표적 세포비 5:1을 이용하여 수행되고; 도 11B에서, 분석은 효과기 대 표적 세포비 3:1을 이용하여 수행되며; 도 11C에서, 분석은 효과기 대 표적 세포비 1:1을 이용하여 수행된다.

도 12은 재조합 인간 HER2에 대한 1가 항-HER2(v630 및 v4182) 및 예시적인 2중 파라토프 항-Her2 항체(v5019)의 친화도 및 결합 역학의 특성규명을 도시한 도면. 도 12A는 k_a (1/Ms)의 측정을 나타낸다. 도 12B는 k_d (1/

s)의 측정을 나타낸다. 도 12C는 $K_D(M)$ 의 측정을 나타낸다.

도 13는 항체 포획 수준의 범위에 걸쳐 재조합 인간 HER2에 대한 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체의 친화도 및 결합 특징을 도시한 도면.

도 13A는 예시적인 2중 파라토프 항-Her2 항체(v5019)에 대한 항체 포획 수준의 범위에 걸쳐 결정된 HER2 ECD에 대한 $k_d(1/s)$ 의 측정을 도시한 도면. 도 13B는 1가 항-Her2 항체(v4182)에 대한 항체 포획 수준 범위에 걸쳐 결정된 HER2 ECD에 대한 $k_d(1/s)$ 의 측정을 도시한다. 도 13C는 1가 항-Her2 항체(v630)에 대한 항체 포획 수준 범위에 걸쳐 결정된 HER2 ECD에 대한 $k_d(1/s)$ 의 측정을 도시한다.

도 14는 단일특이성 항-ECD4 HER2 항체(좌), 및 Fab-scFv 2중 파라토프 항-ECD2x ECD4 HER2 항체(우)의 결합 메커니즘의 비교를 도시한 도면. 단일특이성 항-ECD4 HER2 항체는 2개의 HER2 분자에 하나의 항체를 결합시킬 수 있는 반면; 2중 파라토프 항-ECD2 x ECD4 HER2 항체는 2개의 HER2 분자에 대해 하나의 항체뿐만 아니라 그 안에서 하나의 HER2 분자에 대해 2개의 항체 및 HER2 수용체 가교 및 격자 형성 후에 하류의 생물학적 효과, 예컨대 내재화 및/또는 화살표로 표시한 바와 같은 성장 저해를 초래하는 조합을 결합시킬 수 있다. IEC는 "면역 효과기 세포"를 나타낸다. HER2의 4개의 세포외 도메인은 1, 2, 3 또는 4개로서 넘버링되며, 여기서 1=ECD1, 2=ECD2, 3=ECD3 및 4=ECD4이다.

도 15는 BT-474 세포 내 AKT 인산화에 대한 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 효과를 도시한 도면.

도 16은 심장 근육 세포 생존도에 대한 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 효과를 도시한 도면. 도 16A는 심장 근육 세포 생존도에 대한 v5019 및 대응하는 ADC v6363의 효과를 도시하고; 도 16B는 심장 근육 세포 생존도에 대한 v5019, v7091 및 v10000 및 대응하는 ADC v6363, 7148, 10553의 효과를 도시하며, 도 16C는 독소루비신-전처리 심장근육세포의 생존도에 대한 v5019, v7091 및 v10000 및 대응하는 ADCs v6363, 7148, 10553의 효과를 도시한다.

도 17은 HER2+ 세포의 성장을 저해하는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 약물 컨쥬게이트의 능력을 도시한 도면. 도 17a는 JIMT1 세포 성장을 저해하는 ADC v6363의 능력을 도시한다. 도 17b는 SKOV3 세포 성장을 저해하는 ADC v6363의 능력을 나타낸다. 도 17c는 MCF7 세포의 성장을 저해하는 ADC v6363의 능력을 나타낸다. 도 17d는 MDA-MB-231 세포의 성장을 저해하는 ADC v6363의 능력을 나타낸다. 도 17e는 SKOV3 세포의 성장을 저해하는 ADC v6363, v10553 및 v1748의 능력을 나타낸다. 도 17f는 JIMT-1 세포의 성장을 저해하는 ADC v6363, v10553 및 v1748의 능력을 나타낸다. 도 17g는 NCI-N87 세포의 성장을 저해하는 ADC v6363, v10553 및 v1748의 능력을 나타낸다.

도 18은 인간 난소암 계통 이종이식 모델(SKOV3)에서 2중 파라토프 항-HER2 항체의 효과를 도시한 도면. 도 18a는 평균 종양 용적에 대한 항체의 효과를 나타낸다. 도 18b는 동물의 생존 백분율에 대한 항체의 효과를 나타낸다.

도 19는 인간 난소암 계통 이종이식 모델(SKOV3)에서 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 효과를 도시한 도면. 도 19a는 평균 종양 용적에 대한 항체의 효과를 나타낸다. 도 19b는 동물의 생존 백분율에 대한 항체의 효과를 나타낸다.

도 20은 인간 유방 1차 세포 이종이식 모델(HBCx-13b)에서 평균 종양 용적에 대한 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 효과를 도시한 도면.

도 21은 인간 유방 1차 세포 이종이식 모델(T226)에서 평균 종양 용적에 대한 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 효과를 도시한 도면.

도 22는 인간 유방 1차 세포 이종이식 모델(HBCx-5)에서 평균 종양 용적에 대한 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트 (ADC)의 효과를 도시한 도면.

도 23은 인간 세포주 이종이식 모델(SKOV3)에서 항-HER2 치료 내성 종양에 대한 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 효과를 도시한 도면.

도 24는 인간 1차 세포 이종이식 모델(HBCx-13b)에서 항-HER2 치료 내성 종양에 대한 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 효과를 도시한 도면.

도 25는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 열 안정성을 도시한 도면. 도 25A는 v5019의 열 안정성을 도시

한다. 도 25B는 v10000의 열 안정성을 도시한 도면. 도 25C는 v7091의 열 안정성을 도시한다.

도 26은 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 약물 키투게이트의 열 안정성을 도시한 도면. 도 26A은 v6363의 열 안정성을 도시한다. 도 26B는 v10553의 열 안정성을 도시한다. 도 26C는 v7148의 열 안정성을 도시한다.

도 27은 HER2+ 세포에서 ADCC를 매개하는 항-HER2 2중 파라토프 항체의 능력을 도시한 도면. 도 27c에 나타난 범례를 도 27a 및 도 27b에 적용한다. 도 27a는 SKBR3 세포에서의 이 능력을 도시하고; 도 27b는 JIMT-1 세포에서의 이 능력을 도시하며; 도 27c는 MDA-MB-231 세포에서의 이 능력을 도시하고; 도 27d는 WI-38 세포에서의 이 능력을 도시한다.

도 28은 ADCC를 매개하기 위한 항-HER2 2중 파라토프 항체의 능력에 대한 탈푸코실화 효과를 도시한 도면. 도 28b에 나타난 범례를 마찬가지로 도 28a에 적용한다. 도 28a는 ADCC를 매개하는 v5019의 탈푸코실화된 형태의 능력을 SKOV3 세포에서 허셉틴(Herceptin)(상표명)의 능력과 비교한다. 도 28b는 DCC를 매개하는 v5019의 탈푸코실화된 형태의 능력을 MDA-MB-231 세포에서 허셉틴(상표명)의 능력과 비교한다. 도 28c는 ZR-75-1 세포에서 허셉틴(상표명)에 대해 ADCC를 매개하는 v10000의 능력을 v10000의 탈푸코실화된 형태의 능력과 비교한다.

도 29는 성장-자극 리간드의 존재 또는 부재에서 BT-474 세포 성장을 저해하는 v5019의 능력을 도시한 도면.

도 30은 인간 유방암 이종이식 모델(HBCx13B)에서 종양 용적에 대한 v5019의 탈푸코실화된 형태(v7187)의 효과를 도시한 도면.

도 31은 HER2+ 종양 세포에 결합하는 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 항-HER2 2중 파라토프-ADC의 능력을 도시한 도면. 도 31a는 SKOV3 세포에서 v6363의 결합을 T-DM1 유사체인 v6246에 비교한다. 도 31b는 JIMT-1 세포에서 v6363의 결합을 T-DM1 유사체인 v6246에 비교한다. 도 31c는 SKOV3 세포에서 몇몇 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 항-HER2 2중 파라토프-ADC의 결합을 대조군과 비교한다. 도 31d는 JIMT-1 세포에서 몇몇 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 항-HER2 2중 파라토프-ADC의 결합을 대조군에 비교한다.

도 32는 HER2 3+(ER-PR 음성) 환자 유래 이종이식 모델(HBCx13b)에서 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC의 용량-의존적 종양 성장 저해를 도시한 도면. 도 32A는 종양 용적에 대한 v6363의 효과를 나타내는 반면, 도 32B는 생존 백분율에 대한 효과를 나타낸다.

도 33은 트라스투주맙 내성 PDX HBCx-13b 이종이식 모델에서 관리 조합 표준(Standard of Care Combination)에 비교한 2중 파라토프 항-HER2-ADC v6363의 효과를 도시한다. 도 33A는 종양 용적에 대한 치료 효과를 도시하는 한편, 도 33B는 생존에 대한 치료 효과를 도시한다.

도 34는 HER2+ 트라스투주맙-내성 유방암 세포 유래 종양 이종이식 모델(JIMT-1)에서 2중 파라토프 항-HER2-ADC의 효능을 도시한 도면.

도 35는 트라스투주맙 민감성 난소암 세포 유래 종양 이종이식 모델(SKOV3)에서 생체내에서 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 효능을 도시한 도면. 도 35A는 종양 용적에 대한 치료 효과를 도시한 반면, 도 35B는 생존에 대한 치료 효과를 도시한다.

도 36은 트라스투주맙 민감성 난소암 세포 유래 종양 이종이식 모델(SKOV3)에서 생체내 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 용량-의존적 효능을 도시한 도면.

도 37은 3+, 2+ 또는 1+ 수준에서 HER2 및 EGFR 및/또는 HER3을 발현시키는 세포주의 성장을 저해하는 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 항-HER2 2중 파라토프-ADC의 능력을 도시한 도면. 도 37A는 성장 선택 세포주를 저해하는 v10000의 능력을 도시한 도면. 도 37B는 선택된 세포주의 성장을 저해하는 v10553의 능력을 도시한 도면.

도 38은 세포주의 패널에서 성장을 저해하는 v10000 및 v10553의 능력의 요약을 도시한 도면. 하이픈 연결된 값(예를 들어 1/2)은 문헌에서 보고된 바와 같은 모순된 erbb 수용체 수준을 표시하고; Erbb IHC 값을 내부로 또는 문헌으로부터 얻었다. 보고된 값이 없는 경우, 수용체 양은 공지되어 있지 않고/있거나 보고되지 않는다. * IHC 수준은 erBb2 유전자 발현 데이터(크라운 바이오사이언시즈(Crown Biosciences))에 기반하여 추정한다. 넘버링한 참조번호를 이하에 기재한다.

도 39는 HER2+ 세포에서 ADCC를 매개하는 v10000의 능력을 도시한 도면. 도 39a는 FaDu 세포에서의 결과를 도시한다. 도 39b는 A549 세포에서의 결과를 도시한다. 도 39c는 BxPC3 세포에서의 결과를 도시한다. 도 39d는 미아 파카2 세포에서의 결과를 도시한다.

도 40은 HER2+ 세포에서 ADCC를 매개하는 항-HER2 2중 파라토프 항체의 능력을 도시한다. 도 40A는 A549 세포에서의 결과를 도시한다. 도 40B는 NCI-N87 세포에서의 결과를 도시한다. 도 40C는 HCT-116 세포에서의 결과를 도시한다.

도 41은 결합 HER2+ 세포에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 효과를 도시한 도면. 도 41a는 BT-474 세포에 대한 결합에 대한 형식의 효과를 도시한다. 도 41b는 JIMT-1 세포에 대한 형식의 효과를 도시한다. 도 41c는 MCF7 세포에 대한 결합에 대한 형식의 효과를 도시한다. 도 41d는 MDA-MB-231 세포에 대한 결합에 대한 형식의 효과를 도시한다.

도 42는 HER2+ 세포 내 항체의 내재화에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 효과를 도시한 도면. 도 42A는 BT-474 세포에서 내재화 효과를 도시한다. 도 42B는 JIMT-1 세포에서 내재화에 대한 효과를 도시한다. 도 42C는 MCF7 세포에서 내재화 효과를 도시한다.

도 43은 HER2+ 세포에서 ADCC를 매개하는 능력에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 효과를 도시한 도면. 도 43a는 JIMT-1 세포에서의 효과를 도시한다. 도 43b는 MCF7 세포에서의 효과를 도시한다. 도 43c는 HER2 0/1+ MDA-MB-231 유방 종양 세포에서의 효과를 도시한다.

도 44는 성장-자극 리간드의 존재 또는 부재에서 BT-474 세포에서의 HER2+ 종양 세포 성장을 저해하는 항체의 능력에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 효과를 도시한 도면.

도 45는 SKBR3 세포의 성장을 저해하는 항체의 능력에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 효과를 도시한 도면.

도 46는 HER2+ 종양 세포의 성장을 저해하는 항체의 능력에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 효과를 도시한 도면. 도 46a는 SKOV3 세포에서의 성장 저해를 도시한다. 도 46b는 JIMT-1 세포에서의 성장 저해를 도시한다. 도 46c는 MCF7 세포에서의 성장 저해를 도시한다.

도 47은 SPR에 의해 측정된 바와 상이한 형식의 항-HER2 2중 파라토프 항체의 결합 특성의 비교를 도시한 도면. 도 47A는 v6903 및 v7091과 상이한 항체 포획 수준에서 kd(1/s)에 대한 플롯 및 선형 회귀 분석을 도시한다. 도 47B는 v6903 및 v7091과 상이한 항체 포획 수준에서 KD(M)에 대한 플롯 및 선형 회귀 분석을 도시한다.

도 38의 참고문헌은 다음과 같다: 1. Labouret et al. 2012, Neoplasia 14: 121-130; 2. Ghasemi et al. 2014, Oncogenesis doi: 10.1038/oncsis.2014.31; 3. Gaborit et al. 2011 J Bio Chem, 286: 1133-11345; 4. Kimura et al. 2006, Clin Cancer Res; 12:4925-4932; 5. Komoto et al. 2009, Cane Sci; 101: 468-473; 6. Cretella et al. 2014, Molecular Cancer 13: 143-155; 7. Bunn et al. 2001, Clin Cancer Res; 7:3239-3250; 8. Lewis Phillips et al. 2013, Clin Cancer Res, 20:456-468; 9. McDonagh et al. 2012, 11: 582-593; 10. Coldren et al. 2006, Mol Cancer Res:521-528; 11. Cavazzoni et al. 2012 Mol Cancer, 11: 91-115; 12. Li et al. 2014, Mol Cancer Res, doi: 10.1158/1541-7786.MCR-13-0396; 13. Chmielewski et al. 2004, Immunology, 173:7647-7653; 14. Kuwada et al. 2004, Int J Cancer, 109:291-301; 15. Fujimoto-Ouchi et al. 2007, Clin Chemother Pharmacol, 59:795-805; 16. Chavez-Bianco et al. 2004, BMC Cancer, 4:59; 17. Campiglio et al. 2004, J Cellular Physiology. 198:259-268; 18. Lehmann et al. 2011, J Clin Investigation, 121: 2750-2767; 19. Collins et al. 2011, Annals Oncology, 23: 1788-1795; 20. Takai et al. 2005, Cancer, 104:2701-2708; 21. Rusnack et al. 2007, Cell Prolif, 40:580-594; 22. Ma et al. 2013, PLOS ONE, 8:e73261-e73261; 23. Meira et al. 2009, British J Cancer, 101:782-791; 24. Hayashi MP28-14 poster; 25. Wang et al. 2005 J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci. 25:326-8; 26. Makhja et al. 2010. J Clin Oncolo 28: 1215-1223.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 본 명세서에서 HER2-발현 세포 상의 HER2(인간 표피 성장인자 수용체 2) ECD2(세포외 도메인 2) 항원에 1가로 그리고 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 폴리펩타이드 작제물 및 HER2-발현 세포 상에서 HER2 ECD4(세포외 도메인 4) 항원에 1가로 그리고 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 폴리펩타이드 작제물을 포함하는 항원-결합 작제물이 기재되되, ECD2- 또는 ECD4-결합 폴리펩타이드 작제물 중 적어도 하나는 scFv이다. 특정 실시형태에서, ECD2-결합 폴리펩타이드 작제물은 scFv이고, ECD4-결합 폴리펩타이드 작제물은 Fab이다. 특정 실시형태에서, ECD2-결합 폴리펩타이드 작제물은 Fab이고 ECD4 결합 폴리펩타이드 작제물은 scFv이다. 일부 실시형태에서, ECD2-와 ECD4-결합 폴리펩타이드 작제물은 둘 다 scFv이다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물은

CH3 서열을 포함하는 이량체 Fc를 가진다. 일부 실시형태에서, Fc는 야생형 동형이량체 Fc와 비슷한 안정성을 지니는 이형이량체의 형성을 촉진하는 CH3 서열에서 하나 이상의 변형을 갖는 이형이량체이다. 일부 실시형태에서, 이형이량체 CH3 서열은 용융 온도(Tm)가 68°C 이상이다.

[0012] 항원-결합 작제물은 시험관내 항종양 활성, 예컨대 (i) 표피 성장 인자 또는 헤레굴린에 의한 자극의 존재와 부재 둘 다에서 암세포 성장을 저해하는 능력, (ii) 암세포에서 내재화될 능력 및 (iii) 항체-지향 효과기 세포 사멸(antibody-directed effector cell killing: ADCC)을 매개하는 능력을 나타낸다. 이들 시험관내 활성은 네이키드 항원-결합 작제물(즉, 약물 또는 독소에 비컨쥬게이팅)에 의해, 그리고 메이탄신에 컨쥬게이팅된 항원-결합 작제물에 의해, 그리고 상이한 수준의 HER2 발현(1+, 2+ 및 3+)에서 관찰된다.

[0013] 본 명세서에서 항원-결합 작제물의 형식(scFv/scFv, scFv/Fab 또는 Fab/Fab)이 그의 기능성 프로파일을 결정함에 있어서 중요하다는 것을 나타낸다. 특정 실시형태에서, 항-HER2 결합 작제물은 기준 2중 파라토프 항원-결합 작제물에 비해 HER2-발현 종양 세포에 의해 내재화되는 증가된 능력을 나타내며, 이때 ECD2와 ECD4-결합 폴리펩타이드 작제물은 둘 다 Fab이다. ECD2와 ECD4-결합 폴리펩타이드가 둘 다 scFv인 일 실시형태는 Fab/scFv 형식을 갖는 동등한 친화도의 작제물보다 1+, 2+ 또는 3+ 수준에서 HER2를 발현시키는 종양 세포에 의해 더 큰 정도로 내재화되는데, 이는 결국 Fab/Fab 형식을 갖는 동등한 친화도의 작제물보다 더 효율적으로 내재화된다. 용이하게 내재화된 실시형태는 사멸을 달성하기 위해 종양 세포에 의한 내재화를 필요로 하는 항체-약물 컨쥬게이트의 양호한 후보이다.

[0014] 특정 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 Fab/Fab 형식을 갖는 동등한 친화도의 작제물에 비해 낮은 수준의 HER2를 발현시키는 종양 세포의 ADCC 사멸에서 증가된 효능을 나타낸다. 일 실시형태에서, Fab/scFv 형식을 갖는 항원-결합 작제물은 Fab/Fab 형식을 갖는 항-HER2 작제물보다 저수준의 HER2(HER2 0-1+ 또는 1+)를 발현시키는 종양 세포의 ADCC 사멸에서 더 강력한데, 이는 결국 scFv/scFv 형식을 갖는 항원-결합 작제물보다 더 강력하다.

[0015] 일부 실시형태에서, 항-HER2 항원-결합 작제물은 글리코실화된다.

[0016] 일부 실시형태에서, 항-HER2 결합 작제물은 탈글리코실화된다. 일부 실시형태에서, 항-HER2 결합 작제물은 약물에 결합된다. 일부 실시형태에서, 항-HER2 결합 작제물은 SMCC 링커를 통해 메이탄신(DM1)에 결합된다.

[0017] 또한 본 명세서에서 대상체에 항-HER2 항원-결합 작제물을 투여함으로써 HER2+ 종양을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 기재된다. 일부 실시형태에서, 종양에 대한 HER2 발현 수준은 2+ 이하이다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 메이탄신에 컨쥬게이팅된다. 특정 실시형태에서, 종양은 췌장암, 두경부암, 위암, 결장직장암, 유방암, 신장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 자궁암, 악성 흑색종, 인두암, 구강암 또는 피부암이다. 일부 실시형태에서, 종양은 (i) HER2 3+ 에스트로겐 수용체 음성(ER-), 프로게스테론 수용체 음성(PR-), 트라스투주맙 내성, 화학요법 내성 침습성 유관 유방암, (ii) HER2 3+ ER-, PR-, 트라스투주맙 내성 염증성 유방암, (iii) HER2 3+, ER-, PR-, 침습성 유관 암종 또는 (iv) HER2 2+ HER2 유전자 증폭 트라스투주맙 및 퍼투주맙 내성 유방암이다.

[0018] 또한 본 명세서에서 종양 세포의 성장을 저해하는 방법 또는 항원-결합 작제물을 투여함으로써 종양 세포를 사멸시키는 방법이 제공된다.

[0019] 또한 본 명세서에서 VL 영역에서 돌연변이 Y96A 및 VH 영역에서 T30A/A49G/L70F(카바트에 따라 넘버링)를 포함하는 변형된 퍼투주맙 작제물이 제공된다. 일 실시형태에서, 변형된 퍼투주맙 작제물은 1가이고, 퍼투주맙보다 HER2 ECD2에 대해 7 내지 9-배 더 높은 친화도를 가진다. 특정 실시형태에서, 변형된 퍼투주맙 작제물은 Fab/Fab, Fab/scFv 또는 scFv/scFv 형식을 가진다.

[0020] **이중특이성 항원-결합 작제물**

[0021] 본 명세서에서 HER2에 결합하는 2중 특이성 항원-결합 작제물이 제공된다. 2중 특이성 항원-결합 작제물은 2개의 항원-결합 폴리펩타이드 작제물을 포함하며, 각각은 HER2의 상이한 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 공지된 항체 또는 항원-결합 작제물로부터 유래된다. 이하에 더 상세하게 기재하는 바와 같이, 항원-결합 폴리펩타이드 작제물은 단백질 작제물, 예컨대 Fab(단편 항원-결합), scFv(단일쇄 Fv) 및 sdab(단일 도메인 항체)일 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 전형적으로, 항원-결합 작제물은 Fc를 포함한다.

[0022] 용어 "항원-결합 작제물"은 임의의 제제, 예를 들어 항원에 결합할 수 있는 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 복합체를 지칭한다. 일부 양상에서, 항원-결합 작제물은 관심 대상의 항원에 특이적으로 결합하는 폴리펩타이드이

다. 항원-결합 작제물은 단량체, 이량체, 다량체, 단백질, 펩타이드 또는 단백질 또는 펩타이드 복합체; 항체, 항체 단편, 또는 이의 항원-결합 단편; scFv 등일 수 있다. 항원-결합 작제물은 단일특이성, 2중 특이성, 또는 다중 특이성인 폴리펩타이드 작제물일 수 있다. 일부 양상에서, 항원-결합 작제물은, 예를 들어, 하나 이상의 Fc에 연결된 하나 이상의 항원-결합 구성성분(예를 들어, Fab 또는 scFv)을 포함할 수 있다. 항원-결합 작제물의 추가적인 예를 이하에 기재하며 실시예에서 제공한다.

[0023] 용어 "2중 특이성"은, 예를 들어, 2개의 항원-결합 모이어티(예를 들어 항원-결합 폴리펩타이드 작제물)를 갖고, 각각은 독특한 결합 특이성을 지니는 임의의 체제를 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들어, 제1 항원-결합 모이어티는 제1 항원 상에서 에피토프에 결합하고, 제2 항원-결합 모이어티는 제2 항원 상에서 에피토프에 결합한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "2중 파라토프"는 2중 특이성 항체를 지칭하며, 여기서 제1 항원-결합 모이어티 및 제2 항원-결합 모이어티는 동일한 항원 상에서 상이한 에피토프에 결합한다. 2중 파라토프 2중 특이성 항체는 동일한 항원 분자 상에서 2개의 에피토프에 결합할 수 있거나, 또는 2개의 상이한 항원 분자 상에서 에피토프에 결합할 수 있다.

[0024] 단일특이성 항원-결합 작제물은 하나의 결합 특이성을 지니는 항원-결합 작제물을 지칭한다. 다시 말해서, 항원-결합 모이어티는 둘 다 동일한 항원 상에서 동일한 에피토프에 결합한다. 단일특이성 항원-결합 작제물의 예는, 예를 들어 HER2에 결합하는 트라스투주맵, 퍼투주맵을 포함한다.

[0025] 항원-결합 작제물은 항체 또는 이의 항원-결합 부분일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 "항체" 또는 "면역글로불린"은 분석물(예를 들어, 항원)에 특이적으로 결합하고 인식하는 면역글로불린 유전자 또는 면역글로불린 유전자들, 또는 이의 단편에 의해 실질적으로 암호화된 폴리펩타이드를 지칭한다. 인식된 면역글로불린 유전자는 카파, 람다, 알파, 감마, 델타, 엡실론 및 뮤 불변 영역 유전자뿐만 아니라 무수한 면역글로불린 가변 영역 유전자를 포함한다. 경쇄는 카파 또는 람다 중 하나로서 분류된다. 항체 또는 면역글로불린의 "부류"는 그의 중쇄에 의해 소유되는 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 5가지 주된 부류의 항체가 있으며: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM, 이들 중 몇몇은 추가로 하위부류(아형), 예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂로 나누어질 수 있다. 상이한 부류의 면역글로불린에 대응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α, δ, ε, γ 및 μ로 불린다.

[0026] 예시적인 면역글로불린(항체) 구조 단위는 두 쌍의 폴리펩타이드 쇄로 구성되며, 각각의 쌍은 하나의 "경"쇄(약 25kD) 및 하나의 "중"쇄(약 50 내지 70kD)를 가진다. 각각의 쇄의 N-말단 도메인은 주로 항원 인식을 초래하는 약 100 내지 110개 이상의 아미노산의 가변 영역을 정한다. 용어 가변 경쇄(VL) 및 가변 중쇄(VH)는 각각 이들 경쇄 도메인 및 중쇄 도메인을 지칭한다. IgG1 중쇄는 N-말단으로부터 C-말단까지 VH, CH1, CH2 및 CH3 도메인을 각각 포함한다. 경쇄는 N으로부터 C 말단까지 VL 및 CL 도메인을 포함한다. IgG1 중쇄는 CH1과 CH2 도메인 사이의 힌지를 포함한다. 특정 실시형태에서, 면역글로불린 작제물은 치료적 폴리펩타이드에 연결된 IgG, IgM, IgA, IgD 또는 IgE로부터의 적어도 하나의 면역글로불린 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공된 항원-결합 작제물에서 발견된 면역글로불린 도메인은 면역글로불린 기반 작제물, 예컨대 다이어바디(diabody) 또는 나노바디로부터 생기거나 또는 유래된다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 면역글로불린 작제물은 중쇄 항체, 예컨대 카멜리드 항체로부터 적어도 하나의 면역글로불린 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 면역글로불린 작제물은 포유류 항체, 예컨대 소 항체, 인간 항체, 카멜리드 항체, 마우스 항체 또는 임의의 키메라 항체로부터 적어도 하나의 면역글로불린 도메인을 포함한다.

[0027] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열에서 초가변이고/이거나 구조적으로 정해진 루프("초가변 루프")를 형성하는 항체 가변 도메인의 각각의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 천연 4-쇄 항체는 6개의 HVR; VH에서 3개(H1, H2, H3), 및 VL에서 3개(L1, L2, L3)를 포함한다. HVR을 일반적으로 초가변 루프로부터의 및/또는 상보성 결정 영역(CDR)으로부터의 아미노산 잔기를 포함하며, 후자는 가장 높은 서열 가변성을 가지고/가지거나 항원 인식에 수반된다. VH에서 CDR1을 제외하고, CDR은 일반적으로는 초가변 루프를 형성하는 아미노산 잔기를 포함한다. 초가변 영역(HVR)은 또한 "상보성 결정 영역"(CDR)으로서 지칭되고, 이들 용어는 본 명세서에서 항원-결합 영역을 형성하는 가변 영역의 일부에 대한 언급에서 상호호환적으로 사용된다. 이 특정 영역은 문헌[Kabat et al, U.S. Dept. of Health and Human Services, Sequences of Proteins of Immunological Interest (1983) 및 Chothia et al, J Mol Biol 196:901-917 (1987)]에 의해 기재되어 있고, 여기서 정의는 서로 비교할 때 아미노산 잔기의 중복 또는 서브세트를 포함한다. 그럼에도 불구하고, 항체 또는 이의 변이체의 CDR을 지칭하는 정의 중 하나의 적용은 본 명세서에 정의되고 사용된 바와 같은 용어의 범주 내인 것으로 의도된다. 각각의 상기 인용된 참고문헌에 의해 정의된 바와 같은 CDR을 포함하는 적절한 아미노산

잔기는 이하에 비교로서 표 1에 제시한다. 특정 CDR을 포함하는 정확한 잔기수는 CDR의 서열 및 크기에 따라 다를 것이다. 당업자는 잔기가 항체의 가변 영역 아미노산 서열을 제공하는 특정 CDR을 포함한다는 것을 일상적으로 결정할 수 있다.

[0028] 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "단일-쇄"는 펩타이드 결합에 의해 선형으로 연결된 아미노산 단량체를 포함하는 분자를 지칭한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 폴리펩타이드 작제물 중 하나는 단일쇄 Fab 분자, 즉, Fab 분자이되, Fab 경쇄 및 Fab 중쇄는 단일 펩타이드 쇠를 형성하기 위해 펩타이드 링커에 의해 연결된다. 특정의 이러한 실시형태에서, Fab 경쇄의 C-말단은 단일쇄 Fab 분자에서 Fab 중쇄의 N-말단에 연결된다. 특정의 다른 실시형태에서, 항원-결합 폴리펩타이드 작제물 중 하나는 단일쇄 Fv 분자(scFv)이다. 본 명세서에서 더 상세하게 기재한 바와 같이, scFv는 폴리펩타이드쇄에 의해 중쇄(VH)의 가변 도메인의 C-말단으로부터 N-말단까지 연결된 경쇄(VL)의 가변 도메인을 가진다. 대안적으로, scFv는 폴리펩타이드쇄를 포함하며, 여기서, VH의 C-말단 단부에서 폴리펩타이드쇄에 의해 VL의 N-말단 단부에 연결된다.

[0029] **항원-결합 폴리펩타이드 작제물**

[0030] 2중 특이성 항원-결합 작제물은 HER2의 특정 도메인 또는 에피토프에 각각 결합하는 2개의 항원-결합 폴리펩타이드 작제물을 포함한다. 일 실시형태에서, 각각의 항원-결합 폴리펩타이드 작제물은 HER2의 세포외 도메인, 예를 들어, ECD2 또는 ECD4에 결합한다. 항원-결합 폴리펩타이드 작제물은, 적용분야에 따라서, 예를 들어, Fab, 또는 scFv일 수 있다.

[0031] 2중 특이성 항원-결합 작제물의 형식은 2중 특이성 항원-결합 작제물의 기능적 특징을 결정한다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 scFv-Fab 형식을 가진다(즉, 하나의 항원-결합 폴리펩타이드 작제물은 scFv이고, 다른 항원-결합 폴리펩타이드 작제물은 Fab-scFv으로도 지칭되는 Fab이다). 다른 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 scFv-scFv 형식(즉, 항원-결합 폴리펩타이드 작제물은 둘 다 scFv임)을 가진다.

[0032] 항체의 "Fab 단편"(또한 단편 항원 결합이라 칭함)은 각각 경쇄 및 중쇄에서 가변 도메인 VL 및 VH를 따라 경쇄의 불변 도메인(CL) 및 중쇄의 제1 불변 도메인(CH1)을 함유한다. 가변 도메인은 항원 결합에 관여하는 상보성 결정 루프(complementarity determining loop: CDR, 또한 초가변 구역이라 칭함)를 포함한다. Fab' 단편은 항체 힌지 구역으로부터 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카복시 말단에서 몇몇 잔기의 첨가에 의해 Fab 단편과 다르다.

[0033] "단쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함하고, 여기서 이들 도메인은 단일 폴리펩타이드 쇠에 존재한다. 일 실시형태에서, Fv 폴리펩타이드는 항원 결합을 위해 scFv가 원하는 구조를 형성하게 하는, VH 도메인과 VL 도메인 사이의 폴리펩타이드 링커를 추가로 포함한다. scFv의 검도를 위해, 문헌[Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)]을 참조한다. HER2 항체 scFv 단편은 W093/16185; 미국 특허 제5,571,894호; 및 미국 특허 제5,587,458호에 기재되어 있다.

[0034] "단일 도메인 항체" 또는 "sdAb" 형식은 개개의 면역글로불린 도메인이다. Sdab는 상당히 안정하며 항체의 Fc 쇠와의 융합 상대로서 발현이 용이하다(Harmsen MM, De Haard HJ (2007). "Properties, production, and applications of camelid single-domain antibody fragments". *Appl. Microbiol Biotechnol.* 77(1): 13-22).

[0035] **항원-결합 작제물의 형식 및 기능**

[0036] 본 명세서에서 2개의 항원-결합 폴리펩타이드 작제물, 즉, HER2 ECD2에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 폴리펩타이드 작제물, 및 HER2 ECD4에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 폴리펩타이드 작제물을 갖는 2중 파라토프 HER2 항원-결합 작제물이 제공된다. 항원-결합 작제물의 형식은 제1 항원-결합 폴리펩타이드 또는 제2 항원-결합 폴리펩타이드 중 적어도 하나가 scFv인 것이다. 항원-결합 작제물의 형식은 scFv-scFv 또는 Fab-scFv 또는 scFv-Fab(각각 제1 항원-결합 폴리펩타이드 작제물-제2 항원-결합 폴리펩타이드)일 수 있다.

[0037] 특정 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 시험관내 항-종양 활성, 예컨대 (i) 표피 성장 인자 또는 헤레글린에 의한 자극의 존재 또는 부재에서 암세포 성장을 저해하는 능력, (ii) 암세포에서 내재화되는 능력(HER2 항원에 대한 결합을 통해 그리고 그것이 내재화되도록 야기하는 것을 통해) 그리고 (iii) 항체-지향 효과기 세포 사멸(ADCC)을 매개하는 능력을 나타낸다. 이들 시험관내 활성은 네이키드 항원-결합 작제물에 의해, 그리고 메이탄 신에 컨쥬게이트된 항원-결합 작제물에 의해, 다양한 수준의 HER2 발현에서(1+, 2+ 및 3+) 관찰된다.

[0038] 본 명세서의 예는 항원-결합 작제물의 형식(scFv/scFv, scFv/Fab 또는 Fab/Fab)은 그의 기능성 프로파일을 결정

하는데 중요하다는 것을 나타낸다. 특정 실시형태에서, 항-HER2 결합 작제물은 기준 항원-결합 작제물에 비해 HER2-발현 종양 세포에 의해 내재화될 증가된 능력을 나타내며, 이때 ECD2와 ECD4-결합 폴리펩타이드 작제물은 둘 다 Fab이다. 항-HER2 항원-결합 작제물의 내재화 정도는 ECD2 또는 ECD4에 대해 항원-결합 폴리펩타이드 작제물 중 하나 또는 둘 다의 친화도를 증가시킴으로써 추가로 개선될 수 있다는 것이 상정된다. ECD2와 ECD4-결합 폴리펩타이드가 둘 다 scFv인 일 실시형태는, Fab/scFv 형식을 갖는 동등한 친화도의 작제물보다 1+, 2+ 또는 3+ 수준에서 HER2를 발현시키는 종양 세포에 의해 더 큰 정도로 내재화되는데, 이는 결국 Fab/Fab 형식을 갖는 동등한 친화도의 작제물보다 더 효율적으로 내재화된다. 용이하게 내재화된 실시형태는 사멸을 달성하기 위해 종양 세포에 의한 내재화를 필요로 하는 항체-약물 컨주게이트의 양호한 후보이다. 대조적으로, 특정 실시형태에서, 용이하게 내재화되지 않은 항원-결합 작제물은 Fab/Fab 형식을 갖는 동등한 친화도의 작제물에 비해 저수준의 HER2를 발현시키는 종양 세포의 ADCC 사멸에서 증가된 효능을 나타낸다. 일 실시형태에서, Fab/scFv 형식을 갖는 항원-결합 작제물은 Fab/Fab 형식을 갖는 항-HER2 작제물보다 저수준의 HER2(HER2 0-1+ 또는 1+)를 발현시키는 종양 세포의 ADCC 사멸에서 더 강력한테, 이는 결국 scFv/scFv 형식을 갖는 항원-결합 작제물보다 더 강력하다. 일부 실시형태의 증강된 ADCC 효능은 1) 낮은 HER2 수용체 밀도로 세포에 열광적으로 결합하고 후속적으로 표적 세포 표면 상에서 HER2 수용체를 클러스터링하며 하류의 세포-매개 사멸을 매개하는 그들의 증가된 능력; 및/또는 2) (내재화를 야기하기보다는) 세포 표면 상에 남아있는 그들의 증가된 능력에 기인할 수 있으며; 따라서 그들은 세포-매개 효과기 사멸에 대해 더 이용가능하다.

[0039] **HER2**

[0040] 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 HER2의 ECD2 및 ECD4에 결합하는 항원-결합 폴리펩타이드 작제물을 가진다.

[0041] 표현 "ErbB2" 및 "HER2"는 본 명세서에서 상호호환적으로 사용되며, 예를 들어, 문헌[Semba et al., *PNAS* (USA) 82:6497-6501 (1985) 및 Yamamoto et al. *Nature* 319:230-234 (1986)](젠뱅크 수탁 번호 X03363)]에 기재된 인간 HER2 단백질을 지칭한다. 용어 "erbB2" 및 "neu"는 인간 ErbB2 단백질을 암호화하는 유전자를 지칭한다. p185 또는 p185neu는 neu 유전자의 단백질 산물을 지칭한다.

[0042] HER2는 HER 수용체이다. "HER 수용체"는 인간 표피 성장인자 수용체(HER) 패밀리에 속하고 EGFR, HER2, HER3 및 HER4 수용체를 포함하는 수용체 단백질 타이로신 키나제이다. HER 수용체는 일반적으로 HER 리간드에 결합할 수 있는 세포의 도메인; 친유성 막관통 도메인; 보존된 세포내 타이로신 키나제 도메인; 및 인산화될 수 있는 몇몇 타이로신 잔기를 보유하는 카복실-말단 신호전달 도메인을 포함할 것이다. "HER 리간드"는 HER 수용체에 결합하고/하거나 활성화하는 폴리펩타이드를 의미한다.

[0043] HER2의 세포밖(엑트) 도메인은 4개의 도메인, 즉, 도메인 I(ECD1, 약 1 내지 195개의 아미노산 잔기), 도메인 II(ECD2, 약 196 내지 319의 아미노산 잔기), 도메인 III(ECD3, 약 320 내지 488의 아미노산 잔기), 및 도메인 IV(ECD4, 약 489 내지 630의 아미노산 잔기)(신호 펩타이드 없이 넘버링한 잔기)를 포함한다. 문헌[Garrett et al. *Mol. Cell.* 11: 495-505 (2003), Cho et al. *Nature* 421: 756-760 (2003), Franklin et al. *Cancer Cell* 5:317-328 (2004), Tse et al. *Cancer Treat Rev.* 2012 Apr;38(2): 133-42 (2012), 또는 Plowman et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90: 1746-1750 (1993)] 참조.

[0044] HER2의 서열은 다음과 같으며; ECD 경계는 도메인 I: 1 내지 165; 도메인 II: 166 내지 322; 도메인 III: 323 내지 488; 도메인 IV: 489 내지 607이다.

```

1 tqvctgtdmk lrlpaspeth ldmlrhlyqg cqvvqgnlel tylptnasls flqdiqevqg
61 yvliahnqvr qvplqrlriv rgtqlfedny alavldngdp lnnttpvtga spggirelql
121 rslteilkkg vliqrnpqlc yqdtilwkdi fhknnqlalt lidtnrsrac hpcspmkgs
181 rcwgessedc qsltrtvcaq gcarckgplp tdccheqcaa gctgpkhsdc laclhfnhsg
241 icelhepalv tyntdtfesm pnpegrtyfg ascvtacpyn ylstdvgsct lvcplhnqev
301 taedgtqrce kcskpcarvc ylgmehlre vravtsaniq efagckkifg slaflpesfd
361 gdpasntapl qpeqlqvfet leeitgylyi sawpdsldl svfqnlqvgr grilhngays
421 ltlqglgisw lglrslrelg sglalihhnt hlcfvhtvpw dqifrnphqa llhtanrped
481 ecvgeglach qlcarghchw pgptqcvncs qlfgrqecve ecrvlqglpr eyvnrhclp
541 chpecqpqng svctfgepad qcvacahykd ppcfvarcps gvkpdlsymp iwklpdeega
601 cqpccpin (서열번호 xxx)
    
```

[0045]

- [0046] "에피토프 2C4"는 항체 2C4가 결합하는 HER2의 세포외 도메인에서의 영역이다. 에피토프 2C4는 HER2의 세포외 도메인에서 도메인 II로부터의 잔기를 포함한다. 2C4 및 페르투주맵은 도메인 I, II 및 III의 접합부에서 HER2의 세포외 도메인에 결합한다. 문헌[Franklin et al. *Cancer Cell* 5:317-328 (2004)]. 2C4 에피토프에 결합하는 항체를 선별하기 위해, 문헌[Antibodies, *A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988)]에 기재된 것과 같은 일상적 가교 차단 분석을 수행할 수 있다. 대안적으로, 항체가 당업계에 공지된 방법을 이용하여 HER2의 2C4 에피토프에 결합하는지를 평가하기 위해 에피토프 맵핑을 수행할 수 있고/있거나, HER2의 도메인(들)이 항체에 의해 결합되는지를 보기 위해 항체-HER2 구조를 연구할 수 있다 (Franklin et al. *Cancer Cell* 5:317-328 (2004)).
- [0047] "에피토프 4D5"는 항체 4D5(ATCC CRL 10463) 및 트라스투주맵이 결합하는 HER2의 세포외 도메인에서의 영역이다. 이 에피토프는 HER2의 막관통 도메인에 가깝고, HER2의 도메인 IV 내에 있다. 4D5 에피토프에 결합하는 항체를 선별하기 위해, 문헌[Antibodies, *A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988)]에 기재된 것과 같은 일상적 가교 차단 분석을 수행할 수 있다. 대안적으로, 항체가 HER2의 4D5 에피토프(예를 들어, 약 잔기 529 내지 약 잔기 625(잔기 529와 625를 포함)의 구역에서의 임의의 하나 이상의 잔기, 미국 특허 공보 제2006/0018899호의 도 1 참조)에 결합하는지의 여부를 평가하기 위해 에피토프 맵핑을 수행할 수 있다.
- [0048] "특이적으로 결합한다", "특이적 결합" 또는 "선택적 결합"은 결합이 항원에 대해 선택적이고 원치않는 또는 비특이적 상호작용과 차별화될 수 있다는 것을 의미한다. 특이적 항원 결정인자에 결합하는 항원-결합 작제물의 능력은 효소-결합 면역흡착 분석(ELISA) 또는 당업자에게 친숙한 다른 기법, 예를 들어 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance: SPR) 기법(바이어코어(BIACore) 기기 상에서 분석)(Liljeblad et al, *Glyco J* 17, 323-329 (2000)) 및 전통적인 결합 분석(Heeley, *Endocr Res* 28, 217-229 (2002))을 통해 측정될 수 있다. 일 실시형태에서, 관련없는 단백질에 대한 항원-결합 모이어티의 결합 정도는, 예를 들어, SPR에 의해 측정하여 항원에 대한 항원-결합 작제물 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시형태에서, 항원에 결합하는 항원-결합 작제물 또는 항원-결합 모이어티를 포함하는 항원-결합 분자는 해리상수(K_D)가 $< 1\mu M$, $< 100nM$, $< 10nM$, $< 1nM$, $< 0.1nM$, $< 0.01nM$, 또는 $< 0.001nM$ 이다(예를 들어 $10^{-8}M$ 이하, 예를 들어 $10^{-8}M$ 내지 $10^{-13}M$, 예를 들어, $10^{-9}M$ 내지 $10^{-13}M$).
- [0049] "헤레굴린"(HRG)은 본 명세서에서 사용될 때 미국 특허 제5,641,869호 또는 문헌[Marchionni et al, *Nature*, 362:312-318 (1993)]에 개시된 바와 같은 헤레굴린 유전자 산물에 의해 암호화된 폴리펩타이드를 지칭한다. 헤레굴린의 예는 헤레굴린- α , 헤레굴린- $\beta 1$, 헤레굴린- $\beta 2$ 및 헤레굴린- $\beta 3$ (Holmes et al, *Science*, 256: 1205-1210 (1992); 및 미국 특허 제5,641,869호); neu 분화 인자(NDF)(Peles et al. *Cell* 69: 205-216 (1992)); 아세틸콜린 수용체-유도 활성(ARIA)(Falls et al. *Cell* 72:801-815 (1993)); 신경교 성장인자(glial growth factor: GGF)(Marchionni et al, *Nature*, 362:312-318 (1993)); 감각 및 운동 뉴런 유도 인자(sensory and motor neuron derived factor: SMDF)(Ho et al. *J. Biol. Chem.* 270: 14523-14532 (1995)); γ -헤레굴린(Schaefer et al. *Oncogene* 15: 1385-1394 (1997))을 포함한다. 상기 용어는 천연 서열 HRG 폴리펩타이드의 생물학적으로 활성인 단편 및/또는 아미노산 서열 변이체, 예컨대 이의 EGF-유사 도메인(예를 들어 HRG β 1177-244)을 포함한다.
- [0050] "HER 활성화" 또는 "HER2 활성화"는 임의의 하나 이상의 HER 수용체, 또는 HER2 수용체의 활성화 또는 인산화를 의미한다. 일반적으로, HER 활성화는 신호 형질도입(예를 들어, HER 수용체 또는 기질 폴리펩타이드에서 HER 수용체 인산화 타이로신 잔기의 세포내 키나제 도메인에 의해 야기된 것)을 발생시킨다. HER 활성화는 관심 있는 HER 수용체를 포함하는 HER 이량체에 결합하는 HER 리간드에 의해 매개될 수 있다. HER 이량체에 결합하는 HER 리간드는 이량체에서 하나 이상의 HER 수용체의 키나제 도메인을 활성화하고 이로써 하나 이상의 HER 수용체에서의 타이로신 잔기를 인산화하고/하거나, Akt 또는 MAPK 세포내 키나제와 같은 첨가의 기질 폴리펩타이드(들)에서의 타이로신 잔기를 인산화할 수 있다.
- [0051] **유도된 항원-결합 폴리펩타이드 작제물**
- [0052] 항원-결합 폴리펩타이드 작제물은 도메인 유형과 상관없이 공지된 항-HER2 항체 또는 항-HER2 결합 도메인으로부터 유래될 수 있다. 도메인 유형의 예는 Fab 단편, scFv 및 sdAb를 포함한다. 더 나아가, 공지된 항-HER2 항체 또는 결합 도메인의 항원-결합 모이어티가 Fab라면, Fab는 scFv로 전환될 수 있다. 마찬가지로, 공지된 항-HER2 항체 또는 결합 도메인의 항원-결합 모이어티가 scFv라면, scFv는 Fab로 전환될 수 있다. 항원-결합 도메

인 유형 간의 전환 방법은 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Zhou et al (2012) Mol Cancer Ther 11: 1167-1476]에 기재된, 예를 들어 scFv의 Fab 형식으로서의 전환 방법 참조. 그것에 기재된 방법은 참고로 포함 됨).

- [0053] 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 ECD2 또는 ECD4에 결합하는 공지된 항-HER2 항체로부터 유래될 수 있다. 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같이, ECD2 또는 ECD4에 결합하는 항체는 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 2C4 또는 퍼투주맵(ECD2에 결합), 4D5 또는 트라스투주맵(ECD4에 결합)을 포함한다. HER2의 ECD2 또는 ECD4에 결합하는 다른 항체는 또한 당업계에서, 예를 들어 WO 2011/147982(젠맵 A/S)에 기재되었다.
- [0054] 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물의 항원-결합 폴리펩타이드 작제물은 HER2의 ECD4에 대한 항체 4D5 또는 트라스투주맵의 결합을 50% 이상만큼 차단하는 항체로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물의 항원-결합 폴리펩타이드 작제물은 HER2의 ECD2에 대한 항체 2C4 또는 퍼투주맵의 결합을 50% 이상만큼 차단하는 항체로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 HER2의 ECD2에 대한 항체 2C4 또는 퍼투주맵의 결합을 30% 이상만큼 차단하는 항체로부터 유래된다.
- [0055] 일 실시형태에서, 항원-결합 폴리펩타이드 작제물은 트라스투주맵 또는 퍼투주맵의 Fab 단편으로부터 유래된다. 일 실시형태에서, 항원-결합 폴리펩타이드는 scFv로부터 유래된다.
- [0056] 특정 실시형태에서, 항원-결합 폴리펩타이드는 이들 항체의 인간화 또는 키메라 형태로부터 유래된다.
- [0057] 비인간(예를 들어, 설치류) 항체의 "인간화" 형태는 비인간 면역글로불린으로부터 유래한 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 대부분의 경우, 인간화 항체는 수혜자의 추가변 구역으로부터의 잔기가 목적으로 하는 특이성, 친화도 및 역량을 가지는 비인간 중(공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류의 추가변 구역으로부터의 잔기에 의해 대체된 인간 면역글로불린(수용자 항체)이다. 몇몇 경우에, 인간 면역글로불린의 프레임워크 영역(framework region: FR) 잔기는 상응하는 비인간 잔기에 의해 대체된다. 더 나아가, 인간화 항체는 수혜자 항체 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이 변형은 항체 성능을 추가로 개선하기 위해 만들어진다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개, 및 통상적으로 2개의, 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 추가변 루프가 비인간 면역글로불린에 대응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR이 인간 면역글로불린 서열의 것이다. 인간화 항체는 임의로 또한 면역글로불린 불변 구역(Fc)의 적어도 일부, 통상적으로 인간 면역글로불린의 것을 포함할 것이다. 추가의 상세내용을 위해, 문헌[Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et al, *Nature* 332:323-329 (1988); 및 Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992)]을 참조한다.
- [0058] 인간화 HER2 항체는 미국 특허 제5,821,337호(본 명세서에 명확히 참고로 포함됨)의 표 3에 기재된 바와 같은 huMAb4D5-1, huMAb4D5-2, huMAb4D5-3, huMAb4D5-4, huMAb4D5-5, huMAb4D5-6, huMAb4D5-7 및 huMAb4D5-8 또는 트라스투주맵(허셉틴(등록상표)); 인간화 520C9(WO93/21319) 및 미국 특허 공보 제2006/0018899호에 기재된 바와 같은 20' 인간화 2C4 항체를 포함한다.
- [0059] **친화도 성숙**
- [0060] 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 친화도 성숙을 이용하여 공지된 HER2 결합 항체로부터 유래된다.
- [0061] 동족 항원에 대해 항원 결합 폴리펩타이드의 친화도를 증가시키는 것이 바람직한 예에서, 당업계에 공지된 방법은 항원에 대한 항원 결합 폴리펩타이드의 친화도를 증가시키기 위해 사용될 수 있다. 이러한 방법의 예는 하기 문헌에 기재되어 있다[Birtalan et al. (2008) *JMB* 377, 1518-1528; Gerstner et al. (2002) *JMB* 321, 851-862; Kelley et al. (1993) *Biochem* 32(27), 6828-6835; Li et al. (2010) *JBC* 285(6), 3865-3871, 및 Vajdos et al. (2002) *JMB* 320, 415-428].
- [0062] HER2 항원-결합 도메인의 친화도 성숙을 위한 하나의 예시적 방법은 다음과 같이 기재된다. 트라스투주맵/HER2(PDB 코드 1N8Z) 복합체 및 퍼투주맵/HER2 복합체(PDB 코드 1S78)의 구조는 모델링을 위해 사용된다. 분자 동역학(MD)은 수성 환경에서 WT 복합체의 고유 동역 성질을 평가하기 위해 이용될 수 있다. 가요성 골격을 따른 평균 장 및 전량(dead-end) 제거 방법은 선별된 돌연변이체에 대한 모델 구조를 최적화하고 제조하기 위해 사용될 수 있다. 패킹 이후, 접촉 밀도, 충돌 점수, 소수화도 및 정전을 포함하는 다수의 특징이 점수 매겨질 것이다. 일반화된 태생 방법은 용매 환경의 효과의 정확한 모델링을 허용하고, 교번의 잔기 유형에 대한 단백질에서의 특정 위치의 돌연변이 이후 자유 에너지 차이를 산출할 것이다. 접촉 밀도 및 충돌 점수는 효과적인 단백질 패킹의 중요한 양상인 상보성의 측정치를 제공할 것이다. 선별 절차는 지식 기반 가능성, 및 쌍별 잔기 상호작용 에너지 및 엔트로피 산출에 의존하는 커플링 분석 계획을 이용한다. HER2 결합을 증대시키도록 공지된 문헌

돌연변이, 및 이들의 조합은 하기 표에 요약되어 있다:

[0063] (표 A4)

트라스투주맙-HER2 시스템에 대한 HER2에 대한 결합을 증가시키는 것으로 알려진 트라스투주맙 돌연변이.

돌연변이	보고된 개선
H_D102W (H_D98W)	3.2X
H_D102Y	3.1X
H_D102K	2.3X
H_D102T	2.2X
H_N55K	2.0X
H_N55T	1.9X
L_H91F	2.1X
L_D28R	1.9X

[0064]

[0065] (표 A5)

퍼투주맙-HER2 시스템에 대한 HER2에 대한 결합을 증가시키는 것으로 알려진 퍼투주맙 돌연변이.

돌연변이	보고된 개선
L_I31A	1.9X
L_Y96A	2.1X
L_Y96F	2.5X
H_T30A	2.1X
H_G56A	8.3X
H_F63V	1.9X

[0066]

항원-결합 작제물의 Fc.

[0067] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 Fc, 예를 들어, 이량체 Fc를 포함한다.

[0068] 본 명세서에서 용어 "Fc 도메인" 또는 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 포함하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정하기 위해 사용된다. 상기 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 본 명세서에서 달리 구체화되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역 내의 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌[문헌[Kabat et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991]에 기재된 바대로 EU 인덱스라 또한 불리는 EU 넘버링 시스템에 따른다. 본 명세서에 사용되는 이량체 Fc의 "Fc 폴리펩타이드"는 이량체 Fc 도메인을 형성하는 2개의 폴리펩타이드, 즉 안정한 자기 회합할 수 있는 면역글로불린 중쇄의 C 말단 불변 영역을 포함하는 폴리펩타이드 중 1개를 지칭한다. 예를 들어, 이량체 IgG Fc의 Fc 폴리펩타이드는 IgG CH2 및 IgG CH3 불변 도메인 서열을 포함한다.

[0070] Fc 도메인은 CH3 도메인 또는 CH3 및 CH2 도메인 중 어느 하나를 포함한다. CH3 도메인은 2개의 CH3 서열을 포함한다(이량체 Fc의 2개의 Fc 폴리펩타이드의 각각으로부터의 하나씩). CH2 도메인은 2개의 CH2 서열을 포함한다(이량체 Fc의 2개의 Fc 폴리펩타이드의 각각으로부터의 하나씩).

[0071] 일부 양상에서, Fc는 적어도 1개 또는 2개의 CH3 서열을 포함한다. 일부 양상에서, Fc는, 하나 이상의 링커와 함께 또는 링커 없이, 제1 항원 결합 작제물 및/또는 제2 항원 결합 작제물에 커플링된다. 일부 양상에서, Fc는 인간 Fc이다. 일부 양상에서, Fc는 인간 IgG 또는 IgG1 Fc이다. 일부 양상에서, Fc는 이형이량체 Fc이다. 일부 양상에서, Fc는 적어도 1개 또는 2개의 CH2 서열을 포함한다.

- [0072] 일부 양상에서, Fc는 CH3 서열 중 적어도 하나에서 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 양상에서, Fc는 CH2 서열 중 적어도 하나에서 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 양상에서, Fc는 단일 폴리펩타이드이다. 일부 양상에서, Fc는 다수의 펩타이드, 예를 들어 2개의 폴리펩타이드이다.
- [0073] 일부 양상에서, Fc는 특허 출원 PCT/CA2011/001238(2011년 11월 4일자에 출원) 또는 PCT/CA2012/050780(2012년 11월 2일자에 출원)(이들 각각의 전체 개시내용은 모든 목적을 위해 본 명세서에 그 전문이 참고로 포함됨)에 기재된 Fc이다.
- [0074] **변형된 CH3 도메인**
- [0075] 일부 양상에서, 본 명세서에 기재된 항원 결합 작제물은 비대칭적으로 변형된 변형된 CH3 도메인을 포함하는 이형이량체 Fc를 포함한다. 이형이량체 Fc는 제1 Fc 폴리펩타이드 및 제2 Fc 폴리펩타이드(상호호환적으로 사용될 수 있되, 단 Fc는 1개의 제1 Fc 폴리펩타이드 및 1개의 제2 Fc 폴리펩타이드를 포함함)인 2개의 중쇄 불변 도메인 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 일반적으로, 제1 Fc 폴리펩타이드는 제1 CH3 서열을 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드는 제2 CH3 서열을 포함한다.
- [0076] 비대칭 방식으로 도입된 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는 2개의 CH3 서열은 일반적으로, 2개의 CH3 서열이 이량체화될 때, 동형이량체보다는 이형이량체 Fc를 생성시킨다. 본 명세서에 사용되는 바대로, "비대칭 아미노산 변형"은 제1 CH3 서열에서 특정 위치에서의 아미노산이 제2 CH3 서열에서 동일한 위치에서의 아미노산과 다른 임의의 변형을 의미하고, 제1 및 제2 CH3 서열은 우선적으로 쌍을 지어 동형이량체보다는 이형이량체를 형성한다. 이 이형이량체화는 각각의 서열에서 동일한 각각의 아미노산 위치에서의 2개의 아미노산의 오직 하나의 변형; 또는 제1 및 제2 CH3 서열의 각각에서 동일한 각각의 위치에서의 각각의 서열에서 아미노산 둘 다의 변형의 결과일 수 있다. 이형이량체 Fc의 제1 및 제2 CH3 서열은 하나 또는 하나 초과와 비대칭 아미노산 변형을 포함할 수 있다.
- [0077] 표 A는 전장 인간 IgG1 중쇄의 231번 내지 447번 아미노산에 상응하는 인간 IgG1 Fc 서열의 아미노산 서열을 제공한다. CH3 서열은 전장 인간 IgG1 중쇄의 341번 내지 447번 아미노산을 포함한다.
- [0078] 전형적으로 Fc는 이량체화할 수 있는 2개의 인접 중쇄 서열(A 및 B)을 포함할 수 있다. 일부 양상에서, Fc의 하나의 서열 또는 서열 둘 다는 EU 넘버링을 이용하여 L351, F405, Y407, T366, K392, T394, T350, S400 및/또는 N390의 위치에서 하나 이상의 돌연변이 또는 변형을 포함한다. 일부 양상에서, Fc는 표 A에 기재된 돌연변이체 서열을 포함한다. 일부 양상에서, Fc는 변이체 1 A-B의 돌연변이를 포함한다. 일부 양상에서, Fc는 변이체 2 A-B의 돌연변이를 포함한다. 일부 양상에서, Fc는 변이체 3 A-B의 돌연변이를 포함한다. 일부 양상에서, Fc는 변이체 4 A-B의 돌연변이를 포함한다. 일부 양상에서, Fc는 변이체 5 A-B의 돌연변이를 포함한다.

[0079] (표 A)

IgG1 Fc 서열

인간 IgG1 Fc 서열 231-447 (EU-넘버링)	APELLGGPSVFLFPPKPKDITLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: xxx)	
변이체 IgG1 Fc 서열 (231-447)	쇄	돌연변이
1	A	L351Y_F405A_Y407V
1	B	T366L_K392M_T394W
2	A	L351Y_F405A_Y407V
2	B	T366L_K392L_T394W
3	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
3	B	T350V_T366L_K392L_T394W
4	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
4	B	T350V_T366L_K392M_T394W
5	A	T350V_L351Y_S400E_F405A_Y407V
5	B	T350V_T366L_N390R_K392M_T394W

[0080]

[0081]

제1 및 제2 CH3 서열은, 전장 인간 IgG1 중쇄의 231번 내지 447번 아미노산과 관련하여, 본 명세서에 기재된 아미노산 돌연변이를 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 이형이량체는 Fc는 F405번 및 Y407번 위치에서 아미노산 변형을 가지는 제1 CH3 서열, 및 T394번 위치에서 아미노산 변형을 가지는 제2 CH3 서열을 가지는 변형된 CH3 도메인을 포함한다. 일 실시형태에서, 이형이량체 Fc는 L351Y, F405A 및 Y407V로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 변형을 가지는 제1 CH3 서열, 및 T366L, T366I, K392L, K392M 및 T394W로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 변형을 가지는 제2 CH3 서열을 가지는 변형된 CH3 도메인을 포함한다.

[0082]

일 실시형태에서, 이형이량체 Fc는 L351번, F405번 및 Y407번 위치에서 아미노산 변형을 가지는 제1 CH3 서열, 및 T366, K392 및 T394번 위치에서 아미노산 변형을 가지는 제2 CH3 서열을 가지는 변형된 CH3 도메인을 포함하고, 제1 또는 제2 CH3 서열 중 하나는 Q347번 위치에서 아미노산 변형을 추가로 포함하고, 다른 CH3 서열은 K360번 위치에서 아미노산 변형을 추가로 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 이형이량체 Fc는 L351번, F405번 및 Y407번 위치에서 아미노산 변형을 가지는 제1 CH3 서열, 및 T366번, K392번 및 T394번 위치에서 아미노산 변형을 가지는 제2 CH3 서열을 가지는 변형된 CH3 도메인을 포함하고, 제1 또는 제2 CH3 서열 중 하나는 Q347번 위치에서 아미노산 변형을 추가로 포함하고, 다른 CH3 서열은 K360번 위치에서 아미노산 변형을 추가로 포함하고, 상기 CH3 서열 중 하나 또는 둘 다는 아미노산 변형 T350V를 추가로 포함한다.

[0083]

일 실시형태에서, 이형이량체 Fc는 L351번, F405번 및 Y407번 위치에서 아미노산 변형을 가지는 제1 CH3 서열, 및 T366번, K392번 및 T394번 위치에서 아미노산 변형을 가지는 제2 CH3 서열을 가지는 변형된 CH3 도메인을 포함하고, 상기 제1 및 제2 CH3 서열 중 하나는 D399R 또는 D399K의 아미노산 변형을 추가로 포함하고, 다른 CH3 서열은 T411E, T411D, K409E, K409D, K392E 및 K392D 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 이형이량체 Fc는 L351번, F405번 및 Y407번 위치에서 아미노산 변형을 가지는 제1 CH3 서열, 및 T366번, K392번 및 T394번 위치에서 아미노산 변형을 가지는 제2 CH3 서열을 가지는 변형된 CH3 도메인을 포함하고, 제1 또는 제2 CH3 서열 중 하나는 D399R 또는 D399K의 아미노산 변형을 추가로 포함하고, 다른 CH3 서열은 T411E, T411D, K409E, K409D, K392E 및 K392D 중 하나 이상을 포함하고, 상기 CH3 서열 중 하나 또는 둘 다는 아미노산 변형 T350V를 추가로 포함한다.

[0084]

일 실시형태에서, 이형이량체 Fc는 L351번, F405번 및 Y407번 위치에서 아미노산 변형을 가지는 제1 CH3 서열, 및 T366번, K392번 및 T394번 위치에서 아미노산 변형을 가지는 제2 CH3 서열을 가지는 변형된 CH3 도메인을 포함하고, 상기 CH3 서열 중 하나 또는 둘 다는 T350V의 아미노산 변형을 추가로 포함한다.

[0085]

일 실시형태에서, 이형이량체 Fc는 하기 아미노산 변형을 포함하는 변형된 CH3 도메인을 포함하고, 여기서 "A"

는 제1 CH3 서열에 대한 아미노산 변형을 나타내고, "B"는 제2 CH3 서열에 대한 아미노산 변형을 나타낸다: A: L351Y_F405A_Y407V, B: T366L_K392M_T394W, A: L351Y_F405A_Y407V, B: T366L_K392L_T394W, A: T350V_L351Y_F405A_Y407V, B: T350V_T366L_K392L_T394W, A: T350V_L351Y_F405A_Y407V, B: T350V_T366L_K392M_T394W, A: T350V_L351Y_S400E_F405A_Y407V 및/또는 B: T350V_T366L_N390R_K392M_T394W.

[0086] 하나 이상의 비대칭 아미노산 변형은 이형이량체 Fc의 형성을 촉진할 수 있고, 이형이량체 CH3 도메인은 야생형 동형이량체 CH3 도메인에 필적하는 안정성을 가진다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 비대칭 아미노산 변형은 이형이량체 Fc 도메인의 형성을 촉진하고, 이형이량체 Fc 도메인은 야생형 동형이량체 Fc 도메인에 필적하는 안정성을 가진다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 비대칭 아미노산 변형은 이형이량체 Fc 도메인의 형성을 촉진하고, 이형이량체 Fc 도메인은 시차 주사 열량계 연구에서 용점(T_m)을 통해 관찰된 안정성을 가지고, 용점은 상응하는 대칭 야생형 동형이량체 Fc 도메인에 관찰된 것의 4°C 이내이다. 일부 양상에서, Fc는 야생형 동형이량체 Fc에 필적하는 안정성으로 이형이량체 Fc의 형성을 촉진하는 적어도 하나의 C₄₃ 서열에서의 하나 이상의 변형을 포함한다.

[0087] 일 실시형태에서, CH3 도메인의 안정성은 예를 들어 시차 주사 열량계(differential scanning calorimetry: DSC)에 의해 CH3 도메인의 용점을 측정함으로써 평가될 수 있다. 따라서, 추가의 실시형태에서, CH3 도메인은 약 68°C 이상의 용점을 가진다. 또 다른 실시형태에서, CH3 도메인은 약 70°C 이상의 용점을 가진다. 또 다른 실시형태에서, CH3 도메인은 약 72°C 이상의 용점을 가진다. 또 다른 실시형태에서, CH3 도메인은 약 73°C 이상의 용점을 가진다. 또 다른 실시형태에서, CH3 도메인은 약 75°C 이상의 용점을 가진다. 또 다른 실시형태에서, CH3 도메인은 약 78°C 이상의 용점을 가진다. 일부 양상에서, 이량체화된 CH3 서열은 약 68°C, 69°C, 70°C, 71°C, 72°C, 73°C, 74°C, 75°C, 76°C, 77°C, 77.5°C, 78°C, 79°C, 80°C, 81°C, 82°C, 83°C, 84°C 또는 85°C 이상의 용점(T_m)을 가진다.

[0088] 일부 실시형태에서, 변형된 CH3 서열을 포함하는 이형이량체 Fc는 발현된 생성물에서 동형이량체 Fc에 비해 적어도 약 75%의 순도로 형성될 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 이형이량체 Fc는 약 80% 초과 순도로 형성된다. 또 다른 실시형태에서, 이형이량체 Fc는 약 85% 초과 순도로 형성된다. 또 다른 실시형태에서, 이형이량체 Fc는 약 90% 초과 순도로 형성된다. 또 다른 실시형태에서, 이형이량체 Fc는 약 95% 초과 순도로 형성된다. 또 다른 실시형태에서, 이형이량체 Fc는 약 97% 초과 순도로 형성된다. 일부 양상에서, Fc는 발현될 때 약 75% 초과, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 순도로 형성된 이형이량체이다. 일부 양상에서, Fc는, 단일 세포를 통해 발현될 때, 약 75% 초과, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 순도로 형성된 이형이량체이다.

[0089] 이형이량체 Fc 형성을 촉진하기 위해 단량체 Fc 폴리펩타이드를 변형시키기 위한 첨가의 방법은 국제 특허 공보 WO 제96/027011(구멍에 손잡이(knob into hole)), 문헌[Gunasekaran et al. (Gunasekaran K. et al. (2010) J Biol Chem. 285, 19637-46, 선택적 이형이량체화를 달성하기 위한 정전 설계)], 문헌[Davis et al. (Davis, JH. et al. (2010) Prot Eng Des Sel; 23(4):195-202, 가닥 교환 조작 도메인(strand exchange engineered domain: SEED) 기술] 및 문헌[Labrijn et al [Efficient generation of stable bispecific IgG1 by controlled Fab-arm exchange. Labrijn AF, Meesters JI, de Goeij BE, van den Bremer ET, Neijssen J, van Kampen MD, Strumane K, Verploegen S, Kundu A, Gramer MJ, van Berkel PH, van de Winkel JG, Schuurman J, Parren PW. Proc Natl Acad Sci USA. 2013 Mar 26; 110(13):5145-50]에 기재되어 있다.

[0090] **CH2 도메인**

[0091] 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물의 Fc는 CH2 도메인을 포함한다. Fc의 CH2 도메인의 일 예는 표 A에 나타난 서열의 아미노산 231 내지 340이다. 몇몇 효과기 기능은 항체의 Fc에 결합하는 Fc 수용체(FcR)에 의해 매개된다.

[0092] 용어 "Fc 수용체" 및 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 기재하기 위해 사용된다. 예를 들어, FcR은 천연 서열 인간 FcR일 수 있다. 일반적으로, FcR은 IgG 항체(감마 수용체)에 결합하는 것이고, Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII 하위유형의 수용체, 예컨대 이 수용체의 대립유전자 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태를 포함한다. Fc γ RII 수용체는 주로 이의 세포질 도메인이 다른 유사한 아미노산 서열을 가지는 Fc γ RIIA("활성화 수용체") 및 Fc γ RIIIB("저해 수용체")를 포함한다. 다른 아형의 면역글로불린은 특정 FcR에 의해 또한 결합할 수 있다(예를 들어, 문헌[Janeway et al, Immuno Biology: the immune system in health and disease, (Elsevier Science Ltd., NY)(4th ed., 1999)] 참조). 활성화 수용체 Fc γ RIIA는 이의 세포질 도메인에서 면역

수용체 타이로신 기반 활성화 모티프(immunoreceptor tyrosine-based activation motif: ITAM)를 함유한다. 저해 수용체 Fc γ RIIB는 이의 세포질 도메인에서 면역수용체 타이로신 기반 저해 모티프(immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif: ITIM)를 함유한다(문헌[Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)]에서 검토됨). FcR은 문헌[Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991); Capel et al, Immunomethods 4:25-34 (1994); 및 de Haas et al, J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)]에서 검토된다. 미래에 확인되는 것을 포함하여 다른 FcR은 본 명세서에서 용어 "FcR"에 포함된다. 상기 용어는 태아에 대해 모계 IgG의 전달을 담당하는 FcRn인 신생아 수용체를 또한 포함한다(Guyer et al, J. Immunol. 117:587 (1976); 및 Kim et al, J. Immunol. 24:249 (1994)).

[0093] CH2 도메인에서의 변형은 Fc에 대한 FcR의 결합에 영향을 미칠 수 있다. Fc 영역에서 다수의 아미노산 변형은 상이한 Fc감마 수용체의 친화도를 선택적으로 변용시키는 것에 대해 당업계에서 공지되어 있다. 일부 양상에서, Fc는 Fc-감마 수용체의 선택적 결합을 촉진하기 위해 하나 이상의 변형을 포함한다.

[0094] Fc의 Fc에 대한 결합을 변용시키는 예시적 돌연변이를 이하에 열거한다:

S298A/E333A/K334A, S298A/E333A/K334A/K326A (Lu Y, Vernes JM, Chiang N, et al. J Immunol Methods. 2011 Feb 28;365(1-2):132-41);

F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L, F243L/R292P/Y300L/L235V/P396L (Stavenhagen JB, Gorlatov S, Tuailon N, et al. Cancer Res. 2007 Sep 15;67(18):8882-90; Nordstrom JL, Gorlatov S, Zhang W, et al. Breast Cancer Res. 2011 Nov 30;13(6):R123);

F243L (Stewart R, Thom G, Levens M, et al. Protein Eng Des Sel. 2011 Sep;24(9):671-8.), S298A/E333A/K334A (Shields RL, Namenuk AK, Hong K, et al. J Biol Chem. 2001 Mar 2;276(9):6591-604);

S239D/I332E/A330L, S239D/I332E (Lazar GA, Dang W, Karki S, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Mar 14;103(11):4005-10);

S239D/S267E, S267E/L328F (Chu SY, Vostiar I, Karki S, et al. Mol Immunol. 2008 Sep;45(15):3926-33);

[0095]

[0096] S239D/D265S/S298A/I332E, S239E/S298A/K326A/A327H, G237F/S298A/A330L/I332E, S239D/I332E/S298A, S239D/K326E/A330L/I332E/S298A, G236A/S239D/D270L/I332E, S239E/S267E/H268D, L234F/S267E/N325L, G237F/V266L/S267D 및 본 명세서에 참고로 포함된 WO2011/120134 및 WO2011/120135에 열거된 다른 돌연변이. 문헌[*Therapeutic Antibody Engineering*(William R. Strohl and Lila M. Strohl, Woodhead Publishing series in Biomedicine No 11, ISBN 1 907568 37 9, Oct 2012)]은 283 페이지에서 돌연변이를 열거한다.

[0097] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 항원에 결합하는 항원-결합 폴리펩타이드 작제물; 및 동일한 이량체 Fc를 포함하지 않는 항원-결합 작제물에 비해 안정성 및 제조의 용이성과 같은 우수한 생물물리학적 특성을 갖는 이량체 Fc를 포함한다. 일부 실시형태에서 CH2 도메인은 하나 이상의 비대칭 아미노산 변형을 포함한다. 예시적인 비대칭 돌연변이는 국제 특허 출원 PCT/CA2014/050507호에 기재되어 있다.

[0098] **효과기 기능을 개선시키기 위한 추가적인 변형.**

[0099] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 효과기 기능을 매개하기 위한 그의 능력을 개선시키기 위해 변형을 포함한다. 이러한 변형은 당업계에 공지되어 있고, 탈푸코실화, 또는 활성화 수용체에 대한 (주로 ADCC에 대해 FCGR3a, 및 CDC에 대해 C1q에 대한) Fc의 친화도의 공학 처리를 포함한다. 다음의 표 B는 효과기 기능 공학처리에 대해 문헌에서 보고되는 다양한 설계를 요약한다.

[0100] 아미노산 서열을 변용시키는 일 없이 Fc 글리코실화 부위(Asn 297 EU 넘버링) 상에서 푸코스가 거의 없거나 또는 없는 항원-결합 작제물의 제조방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 글리맥스(GlymaX)(등록상표) 기법(프로바이오젠 아게(ProBioGen AG))은 항원 결합 작제물 제조에 사용된 세포로의 푸코스 생합성의 세포 경로를 피하는 효소에 대한 유전자의 도입에 기초한다. 이는 항원 결합 작제물 생성 세포에 의한 N 연결 항체 탄수화물 부분에

대한 당 "푸코스"의 첨가를 방지한다(von Horsten et al. (2010) *Glycobiology*. 2010 Dec; 20(12):1607-18). 더 낮은 수준의 푸코실화를 가지는 항원 결합 작제물을 얻는 또 다른 접근법은 미국 특허 제8,409,572호(항원 결합 작제물에서 더 낮은 수준의 푸코실화를 생성하는 이의 능력에 대해 항원 결합 작제물 제조를 위한 세포주를 선택하는 것을 교시함)에서 발견될 수 있다. 항원 결합 작제물은 완전 탈푸코실화될 수 있거나(이들이 검출 가능한 푸코스를 함유하지 않는다는 것을 의미), 또는 이들이 부분 탈푸코실화될 수 있어서, 단리된 항체가 포유동물 발현 시스템에 의해 생성된 유사한 항체에 대해 보통 검출된 푸코스의 양의 95% 미만, 85% 미만, 75% 미만, 65% 미만, 55% 미만, 45% 미만, 35% 미만, 25% 미만, 15% 미만 또는 5% 미만을 함유한다는 것을 의미한다.

[0101] 따라서, 일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 작제물은 개선된 효과기 기능을 부여하는 표 B에 언급된 바와 같은 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는 이량체 Fc를 포함할 수 있다. 다른 실시형태에서, 작제물은 효과기 기능을 개선시키기 위해 탈푸코실화될 수 있다.

[0102] (표 B)

도메인 및 효과기 기능 공학 처리

참고문헌	돌연변이	효과
Lu, 2011, Ferrara 2011, Mizushima 2011	탈푸코실화	증가된 ADCC
Lu, 2011	S298A/E333A/K334A	증가된 ADCC
Lu, 2011	S298A/E333A/K334A/K326A	증가된 ADCC
Stavenhagen, 2007	F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L	증가된 ADCC
Nordstrom, 2011	F243L/R292P/Y300L/L235V/P396L	증가된 ADCC
Stewart, 2011	F243L	증가된 ADCC
Shields, 2001	S298A/E333A/K334A	증가된 ADCC
Lazar, 2006	S239D/I332E/A330L	증가된 ADCC
Lazar, 2006	S239D/I332E	증가된 ADCC
Bowles, 2006	AME-D, 구체화된 돌연변이 없음	증가된 ADCC
Heider, 2011	37.1, 개시된 돌연변이 없음	증가된 ADCC
Moore, 2010	S267E/H268F/S324T	증가된 CDC

[0103]

[0104] Fc γ R 및/또는 상보체 결합 및/또는 효과기 기능을 감소시키는 Fc 변형은 당업계에서 공지되어 있다. 최근의 간행물은 감소 또는 침묵 효과기 활성을 지니는 항체를 유전자 조작하기 위해 사용된 전략을 기재한다(문헌[Strohl, WR (2009), *Curr Opin Biotech* 20:685-691, 및 Strohl, WR and Strohl LM, "Antibody Fc engineering for optimal antibody performance" In *Therapeutic Antibody Engineering*, Cambridge: Woodhead Publishing (2012), pp 225-249] 참조). 이들 전략은 글리코실화의 변형, IgG2/IgG4 스캐폴드(scaffold)의 사용 또는 Fc의 힌지 또는 CH2 영역 내 돌연변이의 도입을 통해 효과기 기능의 감소를 포함한다. 예를 들어, 미국 특허 공개 제 2011/0212087호(스트롤(Strohl)), 국제 특허 출원 공개 WO 2006/105338(젠코사(Xencor)), 미국 특허 공개 제 2012/0225058호(젠코사), 미국 특허 공개 제 2012/0251531호(제넨테크사) 및 스트롭(Strop) 등의 ((2012) *J. Mol. Biol.* 420: 204-219)는 Fc에 대한 Fc γ R 또는 상보체 결합을 감소시키기 위한 특이적 변형을 기재한다.

[0105] Fc에 대한 Fc γ R 또는 상보체 결합을 감소시키기 위한 공지된 아미노산 변형의 구체적이고, 비제한적인 예는 다음의 표에서 동정된 것을 포함한다:

[0106] (표 C)

Fc γ R를 감소시키거나 Fc에 대한 결합을 보완하는 변형

회사명	돌연변이
GSK	N297A
오쵸 바이오테크 (Ortho Biotech)	L234A/L235A
프로테인 디자인 랩스 (Protein Design labs)	IGG2 V234A/G237A
웰컴 랩스 (Wellcome Labs)	IGG4 L235A/G237A/E318A
GSK	IGG4 S228P/L236E
알렉시온 (Alexion)	IGG2/IGG4 콤보
머렉 (Merck)	IGG2 H268Q/V309L/A330S/A331S
브리스톨-마이어즈 (Bristol-Myers)	C220S/C226S/C229S/P238S
시애틀 제네틱스 (Seattle Genetics)	C226S/C229S/E3233P/L235V/L235A
암젠 (Amgen)	이콜라이 생성, 비글리코
메디문 (Medimune)	L234F/L235E/P331S
트루비온 (Trubion)	хин지 돌연변이체, 가능하게는 C226S/P230S

[0107]

[0108]

일 실시형태에서, Fc는 상기 표에서 동정된 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함한다. 다른 실시형태에서, Fc는 L234, L235 또는 D265 중 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함한다. 다른 실시형태에서, Fc는 L234, L235 및 D265에서 아미노산 변형을 포함한다. 다른 실시형태에서, Fc는 아미노산 변형 L234A, L235A 및 D265S를 포함한다.

[0109]

링커 및 링커 폴리펩타이드

[0110]

항원-결합 작제물의 각각의 항원-결합 폴리펩타이드 작제물은 링커 폴리펩타이드에 작동가능하게 연결되되, 링커 폴리펩타이드는 서로 공유 결합을 형성할 수 있다. 본 명세서에 기재된 2중 특이성 항원-결합 작제물과 관련하여 두 항원-결합 폴리펩타이드 작제물이 Fab-scFv 또는 scFv-scFv 형식일지라도, 링커 폴리펩타이드를 지니는 제1 항원-결합 폴리펩타이드 작제물 및 제2 항원-결합 폴리펩타이드 작제물을 포함하는 항원-결합의 공간적 입체구조는 파파인 소화에 의해 생성되는 F(ab')₂ 단편의 파라토프의 상대적 공간적 입체구조와 유사하다.

[0111]

따라서, 링커 폴리펩타이드는 그들이 F(ab')₂ 단편의 파라토프의 상대적 공간적 입체구조를 유지하도록 선택되고, IgG의 코어 힙지 내 이황화 결합에서 동등한 공유 결합을 형성할 수 있다. 적합한 링커 폴리펩타이드는 IgG 힙지 영역, 예를 들어 IgG1, IgG2 또는 IgG4로부터의 힙지 영역을 포함한다. 이들 예시적인 링커의 변형된 형태가 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, IgG4 힙지의 안정성을 개선시키는 변형은 당업계에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌[Labrijn et al. (2009) Nature Biotechnology 27, 767 - 771] 참조).

[0112]

일 실시형태에서, 링커 폴리펩타이드는 본 명세서에 기재된 스캐폴드, 예를 들어 Fc에 작동가능하게 연결되어 있다. 일부 양상에서, Fc는 하나 이상의 링커를 지니는 하나 이상의 항원-결합 폴리펩타이드 작제물에 결합된다. 일부 양상에서, Fc는 링커에 의해 각각의 항원-결합 폴리펩타이드의 중쇄에 결합된다.

[0113]

다른 실시형태에서, 링커 폴리펩타이드는 Fc 이외의 스캐폴드에 작동가능하게 연결된다. 다수의 대안의 단백질 또는 분자 도메인은 당업계에 공지되어 있고, 두 상이한 항원-결합 폴리펩타이드의 선택적 쌍을 형성하기 위해 사용될 수 있다. 예는 선택적으로 함께 짝지어지는 Fos 및 Jun과 같은 류신 지퍼 도메인이다[S A Kostelny, M S Cole, and J Y Tso. Formation of a bispecific antibody by the use of leucine zippers. J Immunol 1992 148: 1547-53; Bemd J. Wranik, Erin L. Christensen, Gabriele Schaefer, Janet K. Jackman, Andrew C.

Vendel, and Dan Eaton. LUZ-Y, a Novel Platform for the Mammalian Cell Production of Full-length IgG-bispecific Antibodies. *J. Biol. Chem.* 2012 287: 43331-43339]. 대안적으로, 다른 선택적으로 짝지어지는 분자 쌍, 예컨대 바르나제 바르스타 쌍(barnase barstar pair)[Deyev, S. M., Waibel, R., Lebedenko, E. N., Schubiger, A. P., and **Plückthun**, A. (2003). Design of multivalent complexes using the barnase*barstar module. *Nat Biotechnol* 21, 1486-1492], DNA 가닥쌍[Zahida N. Chaudri, Michael Bartlett-Jones, George Panayotou, Thomas Klonisch, Ivan M. Roitt, Torben Lund, Peter J. Delves, Dual specificity antibodies using a double-stranded oligonucleotide bridge, *FEBS Letters*, Volume 450, Issues 1-2, 30 April 1999, 페이지 23-26], 분할 형광 단백질 쌍[Ulrich Brinkmann, Alexander Haas. Fluorescent antibody fusion protein, its production and use, WO 2011135040 A1]이 또한 사용될 수 있다.

[0114] **해리 상수(K_D) 및 최대 결합(B_{max})**

[0115] 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 해리상수 및 최대 결합을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 기능적 특징에 의해 기재된다.

[0116] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "해리상수(K_D)"는 특정 리간드-단백질 상호작용의 평형 해리상수를 지칭하는 것으로 의도된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 리간드-단백질 상호작용은 단백질-단백질 상호작용 또는 항체-항원 상호작용을 의미하지만, 이들로 제한되지는 않는다. K_D 는 더 적은 성분(A+B)으로 가역적으로 해리하는 2개의 단백질(예를 들어, AB)의 성향을 측정하고, 결합 상수 또는 "온-속도(on-rate)(k_{on})"에 대한 "오프-속도(off-rate)(k_{off})"라고도 불리는 해리 상수의 비율로서 정의된다. 따라서, K_D 는 k_{off}/k_{on} 이고, 몰 농도(M)로 표시된다. 그렇다면 K_D 가 더 적을수록, 결합의 친화도가 더 강하다. 따라서, 1mM의 K_D 는 1nM의 K_D 와 비교하여 약한 결합 친화도를 나타낸다. 항원 결합 작제물에 대한 K_D 값은 당업계에서 널리 확립된 방법을 이용하여 결정될 수 있다. 항원 결합 작제물의 K_D 를 결정하는 일 방법은 표면 플라즈몬 공명(SPR)을 사용하는 것, 통상적으로 바이오센서 시스템, 예컨대 비아코어(Biacore)(등록상표) 시스템을 사용하는 것에 의한다. 등온 적정 열량계(isothermal titration calorimetry: ITC)는 결정하기 위해 사용될 수 있는 또 다른 방법이다.

[0117] 항원 결합 작제물의 결합 특징은 다양한 기법에 의해 결정될 수 있다. 이 중 하나는 유세포 분석법(fluorescence-activated cell sorting: FACS, 형광 활성화 세포 분류법)에 의해 항원을 발현하는 표적 세포에 대한 결합의 측정이다. 전형적으로, 이러한 실험에서, 관심 있는 항원을 발현하는 표적 세포는 상이한 농도의 항원 결합 작제물과 항온처리되고, 세척되고, 항원 결합 작제물을 검출하기 위해 2차 물질과 항온처리되고, 세척되고, 세포에서 검출 신호의 강도를 나타내는 중앙 형광 강도(median fluorescent intensity: MFI)(결국 세포에 결합된 항원 결합 작제물의 수와 관련됨)를 측정하기 위해 유세포 분석계에서 분석된다. MFI에 대한 항원 결합 작제물 농도 데이터는 이후 B_{max} 및 겉보기 K_D 인 2개의 중요한 결합 매개변수를 생성하기 위해 포화 결합 식으로 작도된다.

[0118] 겉보기 K_D , 또는 겉보기 평형 해리 상수는 최대 세포 결합의 절반이 관찰되는 항원 결합 작제물 농도를 나타낸다. 분명히, K_D 값이 더 작을수록, 최대 세포 결합에 도달하는데 필요한 항원 결합 작제물 농도가 더 낮고, 따라서 항원 결합 작제물의 친화도가 더 높다. 겉보기 K_D 는 세포 결합 실험의 조건, 예컨대 세포에서 발현된 상이한 수용체 수준 및 항온처리 조건에 따라 달라지고, 따라서 겉보기 K_D 는 무세포 분자 실험, 예컨대 SPR 및 ITC로부터 결정된 K_D 값과 일반적으로 다르다. 그러나, 상이한 방법 사이에 일반적으로 양호한 합의가 있다.

[0119] 용어 " B_{max} " 또는 최대 결합은 항원 결합 작제물의 포화 농도에서 세포에 대한 최대 항원 결합 작제물 결합 수준을 의미한다. 이 매개변수는 상대 비교를 위해 임의 단위 MFI로 보고되거나, 표준 곡선의 사용에 의해 세포에 결합된 항원 결합 작제물의 수에 상응하는 절대값으로 전환될 수 있다. 일부 실시형태에서, 항원 결합 작제물은 기준 항원 결합 작제물의 B_{max} 의 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 1.6배, 1.7배, 1.8배, 1.9배 또는 2.0배인 B_{max} 를 나타낸다.

[0120] 본 명세서에 기재된 항원 결합 작제물의 경우, FSA에 대한 B_{max} 에서의 가장 깨끗한 분리는 포화 농도에서 발생하고, B_{max} 는 FSA에 따라 더 이상 증가할 수 없다. 비포화 농도에서 유의성이 더 적다. 일 실시형태에서, 기준 항원 결합 작제물과 비교하여 항원 결합 작제물의 B_{max} 및 K_D 의 증가는 표적 세포에서 표적 항원 발현의 수준에

독립적이다.

[0121] 일부 실시형태에서 본 명세서에 기재된 단리된 항원 결합 작제물이 있고, 상기 항원 결합 작제물은 상응하는 기준 항원 결합 작제물과 비교하여 상기 항원을 디스플레이하는 표적 세포에 대한 Bmax(최대 결합)의 증가를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 상기 Bmax의 증가는 상응하는 기준 항원 결합 작제물의 Bmax의 적어도 약 125%이다. 특정 실시형태에서, Bmax의 증가는 상응하는 기준 항원 결합 작제물의 Bmax의 적어도 약 150%이다. 일부 실시형태에서, Bmax의 증가는 상응하는 기준 항원 결합 작제물의 Bmax의 적어도 약 200%이다. 일부 실시형태에서, Bmax의 증가는 상응하는 기준 항원 결합 작제물의 Bmax의 약 110% 초과이다.

[0122] **증가된 효과기 기능**

[0123] 일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 2중 특이성 항원-결합 작제물은 각각 대응하는 단일특이성 2가 항원-결합 작제물에 비해(즉, ECD2에 결합하는 단일특이성 2가 항원-결합 작제물 또는 ECD4에 결합하는 단일특이성 2가 항원-결합 작제물에 비해) 및/또는 2개의 단일특이성 2가 항원-결합 작제물의 조합에 비해 증가된 효과기 기능을 나타낸다. 항체 "효과기 기능"은 항체의 Fc 도메인(천연 서열 Fc 도메인 또는 아미노산 서열 변이체 Fc 도메인)에 기인하는 해당되는 생물학적 활성을 지칭한다. 항체 효과기 기능의 예는 C1q 결합; 상보체 의존적 세포독성(complement dependent cytotoxicity: CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존적 세포-매개 세포독성(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC); 항체 의존적 세포의 식세포 작용(antibody dependent cellular phagocytosis: ADCP); 세포 표면 수용체의 하향조절(예를 들어, B 세포 수용체; BCR) 등을 포함한다.

[0124] **ADCC**

[0125] 따라서, 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 Fab-scFv 형식이며, 1+ 수준에서 HER2 를 발현시키는 세포에서 Fab-Fab 형식인 형식 기준 항원-결합 작제물보다 ADCC 분석에서 더 높은 효능을 나타낸다.

[0126] 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 트라스투주맙 또는 이의 유사체인 기준 항원-결합 작제물보다 ADCC 분석에서 더 큰 최대 세포 용해를 나타낸다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 Fab-scFv 형식이며, 트라스투주맙 또는 이의 유사체, 또는 트라스투주맙 또는 퍼투주맙 유사체의 조합물인 기준 항원-결합 작제물보다 ADCC 분석에서 더 큰 최대 세포 용해를 나타낸다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 Fab-scFv 형식이며, 1+ 이상의 수준에서 HER2를 발현시키는 세포에서 트라스투주맙 또는 이의 유사체인 기준 항원-결합 작제물보다 ADCC 분석에서 더 큰 최대 세포 용해를 나타낸다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 Fab-scFv 형식이고, HER2 2+/3+ 세포에서 트라스투주맙 또는 이의 유사체인 기준 항원-결합 작제물보다 ACC 분석에서 더 큰 효능을 나타낸다.

[0127] **내재화**

[0128] 본 명세서에 기재된 2중 특이성 항원-결합 작제물은 수용체 HER2에 대한 결합을 통해 HER2+ 세포에서 내재화된 다. 따라서, 본 명세서에 기재된 2중 특이성 항원-결합 작제물은 HER2+ 세포 내 수용체 내재화를 유도할 수 있다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 Fab-scFv 형식이며, 3+ 수준에서 HER2를 발현시키는 세포에서 Fab-Fab 형식인 형식 기준 항원-결합 작제물보다 더 큰 HER2 내재화를 유도한다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 Fab-scFv 형식이며, 2+ 또는 3+ 수준에서 HER2를 발현시키는 세포에서 Fab-Fab 형식인 형식 기준 항원-결합 작제물보다 더 큰 HER2 내재화를 유도한다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 scFv-scFv 형식이고, 1+, 2+ 또는 3+ 수준에서 HER2를 발현시키는 세포에서 Fab-Fab 형식인 형식 기준 항원-결합 작제물보다 더 큰 HER2 내재화를 유도한다.

[0129] **세포의 세포독성**

[0130] 2중 특이성 항원-결합 작제물은 본 명세서의 다른 곳이 기재된 바와 같은 ADC로서 제조될 수 있으며 세포에 대해 세포독성이다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물 ADC는 트라스투주맙 또는 이의 유사체인 기준 항원-결합 작제물 또는 HER2 1+, 2+, 2+/3+ 또는 3+ 세포에서 T-DM1과 퍼투주맙의 조합물인 기준 항원-결합 작제물보다 HER2+ 유방암 세포에서 세포독성 또는 세포 생존 분석에서 더 큰 효능을 나타낸다.

[0131] **Fc γ R에 대한 증가된 결합 능력**

[0132] 일부 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 하나 이상의 Fc γ R에 대해 더 큰 결합 능력(Rmax)을 나타낸다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 약 1.3- 내지 2-배의 동형이량체 Fc를 갖는, v506 또는 v6246인 기준 항원-결합 작제물 이상으로 하나 이상의 Fc γ R에 대해 Rmax의 증가를 나타낸다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 기준 2가 항원-결합 작제물 이상으로 약 1.3 내지 1.8배의 CD16 Fc γ R에 대한

Rmax의 증가를 나타낸다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 기준 2가 항원-결합 작제물 이상으로 약 1.3 내지 1.8배의 CD32 Fc γ R에 대한 Rmax의 증가를 나타낸다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 기준 2가 항원-결합 작제물 이상으로 약 1.3- 내지 1.8-배의 CD64 Fc γ R에 대한 Rmax의 증가를 나타낸다.

[0133] Fc γ R에 대한 증가된 친화도

[0134] 본 명세서에 제공된 2중 특이성 항원-결합 작제물은 트라스투주맙과 같은 기준 항원-결합 작제물에 비해 Fc γ R에 대해 증가된 친화도를 가진다. 결합으로부터 초래된 증가된 Fc 농도는 증가된 ADCC 및/또는 다른 면역 효과기 사멸 메커니즘과 일치된다.

[0135] 일부 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 하나 이상의 Fc γ Rs에 대해 증가된 친화도를 나타낸다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물이 HER2에 결합하는 항원-결합 폴리펩타이드를 포함하는 경우, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 적어도 하나의 Fc γ R에 대해 증가된 친화도를 나타낸다. 본 실시형태에 따르면, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 CD32에 대해 증가된 친화도를 나타낸다.

[0136] FcRn 결합 및 PK 매개변수

[0137] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 FcRn에 결합할 수 있다. 당업계에서 공지된 바와 같이, FcRn에 대한 결합은 흡수된 항체를 엔도솜으로부터 혈류 내로 다시 재순환시킨다(Raghavan et al, 1996, Annu Rev Cell Dev Biol 12: 181-220; Ghetie et al, 2000, Annu Rev Immunol 18:739-766). 전장 분자의 큰 크기에 기인하는 신장 여과의 배제와 결합된 이 과정은 1주 내지 3주의 범위에 있는 바람직한 항체 혈청 반감기를 초래한다. FcRn에 대한 Fc의 결합은 항체 수송체에서 중요한 역할을 한다.

[0138] 약동학적 매개변수

[0139] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 2중 특이성 항원-결합 작제물은 상업적으로 입수가 가능한 치료적 항체와 비슷한 약동학적(PK) 특성을 나타낸다. 일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 2중 특이성 항원-결합 작제물은 혈청 농도, t1/2, 베타 반감기 및/또는 CL과 관련하여 공지된 치료학적 항체와 유사한 PK 특성을 나타낸다. 일 실시형태에서, 2중 특이성 항원-결합 작제물은 상기 단일특이적 2가 항원 결합 작제물과 비슷하거나 또는 더 큰 생체내 안정성을 나타낸다. 이러한 생체내 안정성 매개변수는 혈청 농도, t1/2, 베타 반감기 및/또는 CL을 포함한다.

[0140] 2중 특이성 항원-결합 작제물의 시험. Fc γ R, FcRn 및 C1q 결합

[0141] 2중 특이성 항원-결합 작제물의 효과기 기능은 다음과 같이 시험될 수 있다. ADCC, CDC 및/또는 ADCC 활성을 평가하기 위해 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 분석을 수행할 수 있다. 예를 들어, Fc 수용체(FcR) 결합 분석은 Fc γ R 결합을 측정하기 위해 수행될 수 있다. ADCC를 매개하기 위한 1차 세포인 NK 세포는 Fc γ RIII만을 발현시키는 반면, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII를 발현시킨다. 조혈 세포 상에서의 FcR 발현은 문헌 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991)]의 464 페이지 표 3에 요약되어 있다. 관심 대상 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 실험실내 분석의 예는 미국 특허 제5,500,362호 또는 제5,821,337호에 기재되어 있다. 이러한 분석에 유용한 효과기 세포는 말초 혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cell: PBMC) 및 자연 살해(Natural Killer: NK) 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 관심 있는 분자의 ADCC 활성은 예를 들어 문헌[Clynes et al. PNAS (USA) 95:652-656 (1998)]에 개시된 것과 같은 동물 모델에서 생체내에서 평가될 수 있다. C1q 결합 분석은 또한, 2중 특이성 항원-결합 작제물이 C1q에 결합하고 따라서 CDC를 활성화할 수 있는지를 결정하기 위해, 수행될 수 있다. 보체 활성화를 평가하기 위해, 예를 들어 문헌 [Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)]에 기재된 CDC 분석을 수행할 수 있다. 당업계에 널리 공지된 방법을 이용하여 예컨대 SPR에 의한 FcRn 결합 및 항체의 생체내 PK 결정이 또한 수행될 수 있다.

[0142] 항원-결합 작제물의 시험: HER2 결합

[0143] 항원-결합 작제물 또는 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 시험관내에서 시험되고, 이어서, 인간에서의 사용 전에 목적으로 하는 치료적 또는 예방적 활성에 대해 생체내에서 시험된다. 예를 들어, 화합물 또는 약제학적 조성물의 치료적 또는 예방적 유용성을 입증하기 위한 시험관내 분석은 세포주 또는 환자 조직 샘플에 대한 화합물의 효과를 포함한다. 세포주 및/또는 조직 샘플에 대한 화합물 또는 조성물의 효과는 로제트(rosette) 형성 분석 및 세포 용해 분석을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 당업자에게 공지된 기법을 이용하여 결정될 수

있다. 본 발명에 따르면, 특이적 항원-결합 작제물의 투여가 표시되는지의 여부를 결정하기 위해 사용될 수 있는 시험관내 분석은 시험관내 세포 배양 분석 또는 환자 조직 샘플이 배양물 내에서 성장되는 시험관내 분석을 포함하고, 달리 투여된 항원-결합 작제물에 노출되며, 조직 샘플에 대한 이러한 항원-결합 작제물의 효과가 관찰된다.

[0144] 후보 항원-결합 작제물은 HER2를 발현시키는 세포, 예를 들어, 유방암 세포주를 이용하여 분석될 수 있다. 다음의 표 D는 몇몇 대표적인 암세포주에서 HER2의 발현 수준을 기재한다.

[0145] (표 D)

관심 대상의 세포주에서 HER2의 상대적 발현수준

세포주	설명	IHC 스코어링	HER2 수용체/세포
NCI-N87	인간 위 암종	3+	평가하지 않음
A549	인간 폐 폐포 암종 (비소세포 폐암)	0/1+	평가하지 않음
BxPC-3	인간 췌장 선암종	1+	평가하지 않음
MIA PaCa-2	인간 췌장관 선암종	2+	평가하지 않음
FaDu	인간 인두 편평 세포 암종	2+	평가하지 않음
HCT-116	인간 결장직장 상피 암종	1+	평가하지 않음
WI-38	정상 태아 폐	0	1.0x10E4
MDA-MB-231	인간 삼중음성 유방 상피 선암종	0/1+	1.7x10E4 - 2.3x10E4
MCF-7	인간 에스트로겐 수용체 양성 유방 상피 선암종	1+	4x10E4 - 7x10E4
JIMT-1	트라스투주맙 내성 유방 상피 암종, 증폭된 HER2 발암유전자, HER2-저해 약물(즉, 허셉틴(상표명)에 민감성	2+	2x10E5 - 8x10E5
ZR-75-1	에스트로겐 수용체 양성 유관 암종	2+	3x10E5
SKOV-3	인간 난소 상피 선암종, 증폭된 HER2 유전자	2/3+	5x10E5 - 1x10E6
SK-BR-3	인간 유방 상피 선암종	3+	> 1x10E6
BT-474	인간 유방 상피 유관 암종	3+	> 1x10E6

[0146]

[0147] McDonagh et al Mol Cancer Ther. 2012 Mar; 11(3): 582-93; Subik et al. (2010) Breast Cancer: Basic Clinical Research:4; 35-41; Carter et al. PNAS, 1994:89:4285-4289; Yarden 2000, HER2: Basic Research, Prognosis and Therapy; Hendricks et al Mol Cancer Ther 2013;12: 1816-28.

[0148] 당업계에서 공지된 바와 같이, 다수의 분석은 본 명세서에 기재된 방법에서 사용하기에 적합한 항원-결합 작제물을 동정하기 위해 사용될 수 있다. 이들 분석은 HER2를 발현시키는 암세포에서 수행될 수 있다. 적합한 암세포의 예는 표 A5에서 동정된다. 수행될 수 있는 분석의 예는 다음과 같이 기재된다.

[0149] 예를 들어, HER2에 결합하는 성장 저해 후보 항원-결합 작제물을 동정하기 위해, HER2를 발현시키는 암세포의 성장을 저해하는 항체를 선별할 수 있다. 일 실시형태에서, 선택의 후보 항원-결합 작제물은 대조군 항원-결합 작제물에 비해 약 20 내지 100%만큼 그리고 바람직하게는 약 50 내지 100%만큼 세포 배양물 내 암세포의 성장을 저해할 수 있다.

[0150] 세포사를 유도하는 후보 항원-결합 작제물을 선택하기 위해, 예를 들어 PI(포스파티딜이노시톨), 트립판 블루 또는 7AAD 흡수에 의해 표시되는 막 완전성의 손실은 대조군에 비교하여 평가될 수 있다.

[0151] 세포자멸사를 유도하는 후보 항원-결합 작제물을 선택하기 위해, 아넥신 결합이 사용될 수 있다. 아넥신 결합 분석에 추가로, DNA 염색 분석이 또한 사용될 수 있다.

[0152] 일 실시형태에서, 관심 대상의 후보 항원-결합 작제물은 단클론성 항체 4D5보다 실질적으로 더 효과적으로, 그리고 바람직하게는 단클론성 항체 7F3보다 실질적으로 더 효과적으로 공동 면역침전 실험에서 결정된 바와 같은 MCF7과 SK-BR-3 세포 둘 다에서 ErbB3과 ErbB2의 헤레굴린 의존적 결합을 차단할 수 있다.

[0153] 관심 대상의 항체에 의해 결합되는 ErbB2 상의 에피토프에 결합하는 항원-결합 작제물을 선별하기 위해, 문헌 [Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988)]에 기

재된 것과 같은 일상적인 가교-차단 분석이 수행될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 에피토프 맵핑은 당 업계에 공지된 방법에 의해 수행될 수 있다.

[0154] 항원-결합 작제물 사이의 경쟁은 시험 하에서 항원-결합 작제물이 공통 항원에 대한 기준 항원-결합 작제물의 특이적 결합을 저해 또는 차단하는 분석에 의해 결정될 수 있다(예를 들어, 문헌[Junghans et al, Cancer Res. 50: 1495, 1990; Fendly et al. Cancer Research 50: 1550-1558]; 미국 특허 제6,949,245호 참조). 시험 항원-결합 작제물은 과량의 시험 항원-결합 작제물(예를 들어, 적어도 2x, 5x, 10x, 20x 또는 100x)이 경쟁 결합 분석으로 측정하여 예를 들어, 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%만큼 기준 항원-결합 작제물의 결합을 저해 또는 차단한다면 기준 항원-결합 작제물과 경쟁한다. 경쟁 분석에 의해 동정되는 항원-결합 작제물(경쟁하는 항원-결합 작제물)은 입체 장애가 일어나도록 기준 항원-결합 작제물에 의해 결합되는 에피토프에 대해 충분히 근위에 인접한 에피토프에 결합하는 기준 항원-결합 작제물 및 항원-결합 작제물과 동일한 에피토프에 대한 항원-결합 작제물 결합을 포함한다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 HER2에 대한 결합을 위해 제 1 항원-결합 작제물과 경쟁하는 제2의 경쟁 항원-결합 작제물이 동정될 수 있다. 특정 예에서, 제2 작제물은 경쟁적 결합 분석으로 측정하여, 예를 들어 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%만큼 제1 작제물의 결합을 차단 또는 저해할 수 있다. 특정 예에서, 제2 작제물은 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 초과만큼 제1 작제물을 대체할 수 있다.

[0155] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은, 예를 들어 동물 모델에서 생체내에서 기능에 대해 분석된다. 일부 실시형태에서, 동물 모델은 표 E에 기재된 것이다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 기준 항원-결합 작제물에 비해 동물 모델에서의 치료 효능의 증가를 나타낸다.

[0156] (표 E)

HER2 결합 항원-결합 작제물을 시험하기 위한 동물 모델

이종이식 모델	설명	참고문헌
SKOV3 인간 난소 암	HER2+3+, 증폭된 유전자	Rhodes et al. 2002. American Journal of Pathology 118:408-417; Sims et al. 2012. British Journal of Cancer 106: 1779-1789
HBCx-13b 인간 전이성 유방암	HER2 3+, 에스트로겐 수용체 음성, 프로게스테론 수용체 음성; 침습성 유관 암종; 화학요법 내성; 트라스투주맙 내성	Marangoni et al. 2007. Clinical Cancer Research 13:3989-3998; Reyat et al. 2012. Breast Cancer Research 14:R11
T226 인간 유방암	HER2 3+, 에스트로겐 수용체 음성, 프로게스테론 수용체 음성; 염증성 유방암; 트라스투주맙 내성, 도세탁셀 및 카팩시타빈 중간 정도 민감성, 아드리아마이신/사이클로포스파마이드 민감성	
HBCx-5 인간 유방암	HER2 3+, 에스트로겐 수용체 음성, 프로게스테론 수용체 음성; 침습성 유관 암종; 내강 B; 트라스투주맙 내성, 도세탁셀에 중간 정도의 민감성, 카팩시타빈, 아드리아마이신/사이클로포스파마이드 민감성	Marangoni et al. 2007. Clinical Cancer Research 13:3989-3998; Reyat et al. 2012. Breast Cancer Research 14:R11
JIMT-1 인간 유방암	HER2 2+, 증폭된 HER2 유전자, 트라스투주맙 및 퍼투주맙 내성	Tanner et al. 2004. Molecular Cancer Therapeutics 3: 1585-1592

[0157]

[0158] **기준 항원-결합 작제물**

[0159] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 2중 특이성 항원-결합 작제물의 기능적 특징을 기준 항원-결합 작제물의 기능적 특징과 비교한다. 기준 항원-결합 작제물의 동일성은 측정된 기능적 특징 또는 만들어진 차이에 의존한다. 예를 들어, 예시적인 2중 특이성 항원-결합 작제물의 기능적 특징과 비교할 때, 기준 항원-결합 작제물은 예를 들어 v506과 같은 트라스투주맙 유사체일 수 있거나, 또는 트라스투주맙 및 퍼투주맙(v4184)과 같은 항체의 조합물일 수 있다. 2중 특이성 항원-결합 작제물의 형식이 비교되는 실시형태에서, 기준 항원-결합 작제물은, 예를 들어, 항원-결합 모이어티가 둘 다 Fab-Fab 형식(형식 기준 항원-결합 작제물)인 2중 파라토프

항-HER2 항체이다. 후자의 작제물의 예는 v6902 및 v6903을 포함한다.

[0160] 항원-결합 작제물 및 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)

[0161] 특정 실시형태에서, 항원 결합 작제물은 약물, 예를 들어 독소, 화학치료제, 면역 조절제 또는 방사선 동위원소에 컨쥬게이팅된다. ADC(항체 약물 컨쥬게이트 또는 항원-결합 작제물 약물 컨쥬게이트)를 제조하는 몇몇 방법이 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어 미국 특허 제8,624,003호(포트 방법), 제8,163,888호(1단계) 및 제5,208,020호(2단계 방법)에 기재되어 있다.

[0162] 일부 실시형태에서, 약물은 메이탄신, 아우리스타틴, 칼리케아미신, 또는 이들의 유도체로부터 선택된다. 다른 실시형태에서, 약물은 DM1 및 DM4로부터 선택된 메이탄신이다. 추가의 예는 하기 기재되어 있다.

[0163] 일부 실시형태에서, 약물은 SMCC 링커(DM1) 또는 SPDB 링커(DM4)에 의해 단리된 항원 결합 작제물에 컨쥬게이션된다. 첨가의 예는 하기 기재되어 있다. 약물-대-항원 결합 단백질 비율(DAR)은 예를 들어 1.0 내지 6.0, 또는 3.0 내지 5.0, 또는 3.5 내지 4.2일 수 있다.

[0164] 일부 실시형태에서, 항원 결합 작제물은 세포독성제에 컨쥬게이팅된다. 용어 "세포독성제"는, 본 명세서에 사용되는 바대로, 세포의 기능을 저해하거나 방해하고/하거나, 세포의 파괴를 발생시키는 물질을 의미한다. 상기 용어는 방사선 동위원소(예를 들어, At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32 및 Lu177의 방사선 동위원소), 화학치료제, 및 독소, 예컨대 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 소분자 독소 또는 효소 활성 독소(이들의 단편 및/또는 변이체 포함)를 포함하도록 의도된다. 추가의 예는 하기 기재되어 있다.

[0165] 약물

[0166] ADC의 다양한 실시형태에 사용된 약물 또는 페이로드(payload)의 비제한적 예는 DM1(메이탄신, N2'-데아세틸-N2'-(3-머캅토-1-옥소프로필)- 또는 N2'-데아세틸-N2'-(3-머캅토-1-옥소프로필)-메이탄신), mc-MMAD(6-말레이미도카프로일-모노메틸아우리스타틴-D 또는 N-메틸-L-발릴-N-[(1S,2R)-2-메톡시-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소-3-[[[(1S)-2-페닐-1-(2-티아졸릴)에틸]아미노]프로필]-1-피롤리딘]-1-[(1S)-1-메틸프로필]-4-옥소부틸]-N-메틸-(9CI)-L-발린아마이드), mc-MMAF(말레이미도카프로일-모노메틸아우리스타틴 F 또는 N-[6-(2,5-다이하이드로-2,5-다이옥소-1H-피롤-1-일)-1-옥소헥실]-N-메틸-L-발릴-L-발릴-(3R,4S,5S)-3-메톡시-5-메틸-4-(메틸아미노)헵타노일-(αR,βR,2S)-β-메톡시-α-메틸-2-피롤리딘프로파노일-L-페닐알라닌) 및 mc-Val-Cit-PABA-MMAE(6-말레이미도카프로일-ValCit-(p-아미노벤질옥시카보닐)-모노메틸아우리스타틴 E 또는 N-[[[4-[[N-[6-(2,5-다이하이드로-2,5-다이옥소-1H-피롤-1-일)-1-옥소헥실]-L-발릴-N5-(아미노카보닐)-L-오르니틸]아미노]페닐]메톡시]카보닐]-N-메틸-L-발릴-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1R,2S)-2-하이드록시-1-메틸-2-페닐에틸]아미노]-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필]-1-피롤리딘]-2-메톡시-1-[(1S)-1-메틸프로필]-4-옥소부틸]-N-메틸-L-발린아마이드)를 포함한다. DM1은 튜불린 저해제 메이탄신의 유도체이지만, MMAD, MMAE 및 MMAF는 아우리스타틴 유도체이다.

[0167] 메이탄신노이드 약물 모이어티

[0168] 상기 나타낸 바와 같이, 일부 실시형태에서, 약물은 메이탄신노이드이다. 예시적인 메이탄신노이드는 DM1, DM3(N^{2'}-데아세틸-N2'-(4-머캅토-1-옥소펜틸) 메이탄신), 및 DM4(N^{2'}-데아세틸-N2'-(4-메틸-4-머캅토-1-옥소펜틸)메틸메이탄신)을 포함한다(미국 특허 제20090202536호 참조).

[0169] 메이탄신 화합물 상의 다수의 위치는 연결 유형에 따라서 결합 위치로서 유용한 것으로 알려져 있다. 예를 들어, 에스터 결합을 형성하기 위해, 하이드록실기를 갖는 C-3 위치, 하이드록시메틸에 의해 변형된 C-14 위치, 하이드록실기에 의해 변형된 C-15 위치 및 하이드록실기를 갖는 C-20 위치는 모두 적합하다.

[0170] 메이탄신노이드 약물 모이어티의 모든 입체이성질체는 본 명세서에 기재된 ADC, 즉, 카이랄 탄소 D에서 R 및 S 입체배치의 임의의 조합에 대해 상정된다.

[0171] 아우리스타틴

[0172] 일부 실시형태에서, 약물은 아우리스타틴, 예컨대 아우리스타틴 E(또한 돌라스타틴-10의 유도체로서 당업계에 공지됨) 또는 이의 유도체이다. 아우리스타틴은 예를 들어 아우리스타틴 E와 케토산 사이에 형성된 에스터일 수 있다. 예를 들어, 아우리스타틴 E는 각각 AEB 및 AEVB를 생성하기 위해 파라아세틸 벤조산 또는 벤조일발레르산과 반응할 수 있다. 다른 전형적인 아우리스타틴은 AFP, MMAF 및 MMAE를 포함한다. 예시적인 아우리스타틴의 합

성 및 구조는 미국 특허 제6,884,869호, 제7,098,308호, 제7,256,257호, 제7,423,116호, 제7,498,298호 및 제 7,745,394호에 기재되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 모든 목적을 위해 포함된다.

[0173] 화학치료제

[0174] 일부 실시형태에서, 항원 결합 작제물은 화학치료제에 컨주게이팅된다. 예는 시스플라틴 및 라파티닙을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. "화학치료제"는 암의 치료에서 유용한 화학 화합물이다.

[0175] 화학치료제의 예는 알킬화제, 예컨대 티오테파 및 사이클로포스파마이드(사이톡산(CYTOXAN)(상표명)); 알킬 설포네이트, 예컨대 부설판, 임프로설판 및 피포설판; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카르보퀸, 메투레도파 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸라멜라민, 예컨대 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아마이드, 트리에틸렌티오포스포르아마이드 및 트리메틸올로멜라민; 질소 머스타드, 예컨대 클로르암부실, 클로르나파진, 클로로포스파마이드, 에스트라무스틴, 이포스파마이드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벤비신, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파마이드, 우라실 머스타드; 나이트로우레아, 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 라니무스틴; 항생제, 예컨대 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 각티노마이신, 칼리케아미신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 탁티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-다이아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신, 에피루비신, 예소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 펠로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 켈라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니벡스, 지노스타틴, 조루비신; 항대사물질, 예컨대 메토트렉세이트 및 5-플루오로우라실(5-FU); 염산 유사체, 예컨대 데노프테린, 메토트렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-머캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디테옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘, 5-FU; 안드로겐, 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스타탄, 테스토라톤; 항아드레날린, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트리로스탄; 염산 보충제, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파마이드 글리코시드; 아미노레블린산; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트라세이트; 데포파민; 데베콜신; 디아지퀸; 엘포르니틴; 엘리프티눔 아세테이트; 에토글루시드; 질산갈륨; 하이드록시우레아; 웬탄; 로니다민; 미토구아존; 미톡산트론; 모피다몰; 니트라크린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 포도필린산; 2-에틸하이드라자이드; 프로카르바진; PSK7; 라족산; 시조피란; 스피로케르마늄; 테누아존산; 트리아지퀸; 2,2',2''-트리클로로트리에틸아민; 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토라톨; 피포브로판; 가시토신; 아라비노신("Ara-C"); 사이클로포스파마이드; 티오테파; 탁산, 예를 들어 파클리탁셀(탁솔(TAXOL)(등록상표), 브리스톨-마이어 스퀵 옹콜로지사(Bristol-Myers Squibb Oncology)(뉴저지주 프린스턴에 소재)) 및 도세탁셀(탁소텔(TAXOTERE)(등록상표), 론-폴랑크 로리사(Rhone-Poulenc Rorer)(프랑스 안토니에 소재)); 클로람부실; 겐시타빈; 6-티오구아닌; 머캅토피린; 메토트렉세이트; 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포사이드(VP-16); 이포스파마이드; 미토마이신 C; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 나벨빈; 노반트론; 테니포시드; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; CPT-11; 토포아이스머라제 저해제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴(DMF0); 레티노산; 에스페라미신; 카페시타빈; 및 상기의 임의의 약제학적으로 허용가능한 염, 산 또는 유도체를 포함한다. 종양에 대한 호르몬 작용을 조절하거나 저해하는 항호르몬제, 예컨대 항에스트로겐제, 예를 들어 타목시펜, 랄록시펜, 아로마타제 저해 4(5)-이미다졸, 4-하이드록시타목시펜, 트라이옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤, 및 토레미펜(화레스톤(Fareston)); 및 항안드로겐제, 예컨대 플루타마이드, 닐루타마이드, 비칼루타마이드, 류프롤라이드 및 고세렐린; 및 상기의 임의의 약제학적으로 허용가능한 염, 산 또는 유도체가 또한 이 정의 내에 포함된다.

[0176] 컨주게이트 링커

[0177] 일부 실시형태에서, 약물은 링커에 의해 항체와 같은 항원 결합 작제물에 연결된다. 항체에 대한 링커의 부착은 다양한 방식으로, 예컨대 표면 라이신, 산화 탄수화물에 대한 환원 커플링을 통해, 및 쇄간 이황화 결합을 감소 시킴으로써 방출된 시스테인 잔기를 통해 달성될 수 있다. 하이드라존-, 이황화- 및 펩타이드-기반 결합을 포함하는 다양한 ADC 연결 시스템이 당업계에 공지되어 있다.

[0178] 적합한 링커는 예를 들어 절단 가능 및 절단 불가 링커를 포함한다. 절단 가능한 링커는 통상적으로 세포내 조건 하에 절단에 놓이기 쉽다. 적합한 절단 가능한 링커는 예를 들어 세포내 프로테아제, 예컨대 리소솜 프로테아제 또는 엔도솜 프로테아제에 의해 절단 가능한 펩타이드 링커를 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 링커는

다이펩타이드 링커, 예컨대 발린-시트룰린(val-cit), 페닐알라닌-라이신(phe-lys) 링커, 또는 말레이미도카프로닉-발린-시트룰린-p-아미노벤질옥시카보닐(mc-Val-Cit-PABA) 링커일 수 있다. 또 다른 링커는 설포숙신이미딜-4-[N-말레이미도메틸]사이클로헥산-1-카복실레이트(SMCC)이다. 설포-smcc 컨주게이션은 설포하이드릴(티올, -SH)과 반응하는 말레이미드기를 통해 발생하지만, 이의 설포-NHS 에스터는 (라이신 및 단백질 또는 펩타이드 N 말단에서 발견되는 것처럼) 1차 아민에 대해 반응성이다. 훨씬 또 다른 링커는 말레이미도카프로일(MC)이다. 다른 적합한 링커는 특정 pH 또는 pH 범위에서 가수분해 가능한 링커, 예컨대 하이드라존 링커를 포함한다. 첨가의 적합한 절단 가능한 링커는 다이설파이드 링커를 포함한다. 링커, 예를 들어 MC 링커 등은 약물이 방출되게 하기 위해 항체가 세포내 분해되어야 하는 정도로 항체에 공유로 결합할 수 있다.

[0179] **ADC의 제조**

[0180] ADC는, (1) 항체-링커 중간체 Ab-L을 형성하기 위한, 공유 결합을 통한 항체의 친핵기 또는 친전자기와 2가 링커 시약의 반응, 이어서 활성화 약물 모이어티 D와의 반응; 및 (2) 약물-링커 중간체 D-L을 형성하기 위한, 공유 결합을 통한 약물 모이어티의 친핵기 또는 친전자기와 링커 시약의 반응, 이어서 항체의 친핵기 또는 친전자기와의 반응을 포함하는, 당업계의 당업자에게 공지된 유기 화학 반응, 조건 및 시약을 이용하여 몇몇 방식에 의해 제조될 수 있다. 컨주게이션 방법 (1) 및 (2)는 본원에 기재된 항체-약물 컨주게이트를 제조하기 위해 다양한 항체, 약물 모이어티 및 링커에 의해 이용될 수 있다.

[0181] ADC를 제조하는 방법의 몇몇 구체적인 예는 당업계에 공지되어 있고, 미국 특허 8,624,003호(포트 방법), 제 8,163,888호(1단계) 및 5,208,020호(2단계 방법)에 기재되어 있다.

[0182] **항원 결합 작제물의 제조방법**

[0183] 항원 결합 작제물은 예를 들어 미국 특허 제4,816,567호에 기재된 바대로 제조합 방법 및 조성물을 사용하여 제조될 수 있다.

[0184] 일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원 결합 작제물을 암호화하는 단리된 핵산이 제공된다. 이러한 핵산은 항원 결합 작제물의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 VH를 포함하는 아미노산 서열(예를 들어, 항원 결합 작제물의 경쇄 및/또는 중쇄)을 암호화할 수 있다. 추가의 실시형태에서, 이러한 핵산을 포함하는 하나 이상의 벡터(예를 들어, 발현 벡터)가 제공된다. 일 실시형태에서, 핵산은 다시스트론성 벡터에서 제공된다. 추가의 실시형태에서, 이러한 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 이러한 일 실시형태에서, 숙주 세포는 (1) 항원 결합 작제물의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및 항원 결합 폴리펩타이드 작제물의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 벡터, 또는 (2) 항원 결합 폴리펩타이드 작제물의 VL을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 제1 벡터 및 항원 결합 폴리펩타이드 작제물의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 제2 벡터를 포함한다(예를 들어, 이들에 의해 형질전환된다). 일 실시형태에서, 숙주 세포는 진핵생물, 예를 들어 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 또는 인간 배아 신장(human embryonic kidney: HEK) 세포, 또는 림프성 세포(예를 들어, YO, NSO, Sp20 세포)이다. 일 실시형태에서, 항원 결합 작제물을 제조하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 항원 결합 작제물의 발현에 적합한 조건 하에 상기 제공된 바와 같은 항원 결합 작제물을 암호화하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 임의로 숙주 세포(또는 숙주 세포 배양물 배지)로부터 항원 결합 작제물을 회수하는 단계를 포함한다.

[0185] 항원 결합 작제물의 재조합체 제조를 위해, 예를 들어 상기 기재된 바와 같은 항원 결합 작제물을 암호화하는 핵산은 숙주 세포에서 추가의 클로닝 및/또는 발현을 위해 단리되고 하나 이상의 벡터로 삽입된다. 이러한 핵산은 전통적인 절차를 이용하여(예를 들어, 항원 결합 작제물의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용함으로써) 용이하게 단리되고 서열분석될 수 있다.

[0186] 용어 "실질적으로 정제된"은 천연 유래 환경에서 발견되는 바와 같은 단백질을 정상적으로 수반하거나 또는 이러한 단백질과 상호작용하는 구성성분이 실질적으로 또는 본질적으로 없을 수 있는 본 명세서에 기재된 작제물 또는 이의 변이체를 지칭하며, 즉, 특정 실시형태에서 세포 물질이 실질적으로 없는 재조합적으로 생성된 이형 다량체의 경우에 천연 세포 또는 숙주 세포는 오염 단백질의 약 30% 미만, 약 25% 미만, 약 20% 미만, 약 15% 미만, 약 10% 미만, 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2% 미만, 또는 약 1%(건조중량) 미만을 갖는 단백질의 제조를 포함한다. 이형다량체 또는 이의 변이체가 숙주 세포에 의해 재조합적으로 생성될 때, 단백질은 특정 실시형태에서 세포의 약 30건조중량%, 약 25건조중량%, 약 20건조중량%, 약 15건조중량%, 약 10건조중량%, 약 5건조중량%, 약 4건조중량%, 약 3건조중량%, 약 2건조중량%, 또는 약 1건조중량% 이하로 존재한다. 이형다량체 또는 이의 변이체가 숙주 세포에 의해 재조합적으로 생성될 때, 특정 실시형태에서, 단백질은 세포의 건조중

량으로 약 5g/l, 약 4g/l, 약 3g/l, 약 2g/l, 약 1g/l, 약 750mg/l, 약 500mg/l, 약 250mg/l, 약 100mg/l, 약 50mg/l, 약 10mg/l, 또는 약 1mg/l 이하에서 배양 배지 내에 존재한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법에 의해 생성된 "실질적으로 정제된" 이형다량체는 적절한 방법, 예컨대 SDS/PAGE 분석, RP-HPLC, SEC, 및 모세관 전기이동에 의해 결정하여 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70% 순도 수준, 특별하게는, 적어도 약 75%, 80%, 85%의 순도 수준, 및 더 특별하게는, 적어도 약 90%의 순도 수준, 적어도 약 95%의 순도 수준, 적어도 약 99% 이상의 순도 수준을 가진다.

- [0187] 항원-결합 작제물-암호화 벡터의 클로닝 또는 발현을 위한 적합한 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 원핵세포 또는 진핵세포를 포함한다.
- [0188] "재조합 숙주 세포" 또는 "숙주 세포"는 삽입을 위해 사용되는 방법, 예를 들어, 직접 흡수, 형질도입, f-짝짓기(f-mating) 또는 재조합 숙주 세포를 생성하기 위해 당업계에 공지된 다른 방법에도 불구하고 외인성 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 세포를 지칭한다. 외인성 폴리뉴클레오타이드는 비통합 벡터, 예를 들어 플라스미드로서 유지될 수 있고, 또는 대안적으로 숙주 게놈 내로 통합될 수 있다.
- [0189] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "진핵생물"은 계통발생 도메인 진핵생물계(Eucarya)에 속하는 유기체, 예컨대 동물(포유동물, 곤충, 파충류, 조류(bird) 등을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않음), 섬모충류, 식물(외떡잎식물, 쌍떡잎식물, 조류(algae) 등을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않음), 진균, 효모, 편모충류, 미포자충류, 원생동물 등을 의미한다.
- [0190] 본 명세서에 사용되는 바대로, 용어 "원핵생물"은 원핵생물 유기체를 의미한다. 예를 들어, 비진핵생물 유기체는 유박테리아(Eubacteria)(에스케리키아 콜라이, 썬머스 썬모필루스(Thermus thermophilus), 바실루스 스테아로썬모필루스(Bacillus stearothermophilus), 슈도모나스 플루오레센스(Pseudomonas fluorescens), 슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa), 슈도모나스 푸티다(Pseudomonas putida) 등을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않음) 계통발생 도메인, 또는 고세균(Archaea)(메타노코커스 야나쉬이(Methanococcus jannaschii), 메타노박테리움 썬모아우토포트로피쿰(Methanobacterium thermoautotrophicum), 할로박테리움(Halobacterium), 예컨대 할로페락스 볼카니(Haloferax volcanii) 및 할로박테리움 종 NRC-1, 아르카에오글로부스 풀지두스(Archaeoglobus fulgidus), 피로코커스 푸리오수스(Pyrococcus furiosus), 피로코커스 호리코시(Pyrococcus horikoshii), 아에우로피룸 페르닉스(Aeuropyrum pernix) 등을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않음) 계통발생 도메인에 속할 수 있다.
- [0191] 예를 들어, 항원 결합 작제물은 특히 글리코실화 및 Fc 효과기 기능이 필요하지 않을 때 박테리아에서 생성될 수 있다. 박테리아에서 항원 결합 작제물 단편 및 폴리펩타이드의 발현을 위해, 예를 들어 미국 특허 제 5,648,237호, 제5,789,199호 및 제5,840,523호를 참조한다. (이콜라이에서의 항체 단편의 발현을 기술하는 문헌 [Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003), pp. 245-254]을 또한 참조한다.) 발현 후, 항원 결합 작제물은 가용성 분획에서 박테리아 세포 페이스트로부터 단리되고 추가로 정제될 수 있다.
- [0192] 원핵생물에 추가적으로, 진핵생물 미생물, 예컨대 섬질 진균 또는 효모는, 진균 및 효모 균주를 포함하는, 항원 결합 작제물 암호화 벡터에 대한 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이고, 이 균주의 글리코실화 경로는 "인간화"되어, 부분 또는 완전 인간 글리코실화 패턴을 가지는 항원 결합 작제물을 생성시킨다. 문헌[Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004) 및 Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)]을 참조한다.
- [0193] 글리코실화 항원 결합 작제물의 발현에 적합한 숙주 세포는 다세포 유기체(무척추동물 및 척추동물)로부터 또한 유래한다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 특히 스포돔테라 프루지페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포의 형질감염에 대해 곤충 세포와 조합되어 사용될 수 있는 수많은 바큇로바이러스 균주(baculoviral strain)가 동정되었다.
- [0194] 식물 세포 배양물은 숙주로서 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, (형질전환 식물에서 항원 결합 작제물을 제조하기 위해 플란티바디즈(PLANTIBODIES)(상표명)를 기재하는) 미국 특허 제5,959,177호, 제6,040,498호, 제6,420,548호, 제7,125,978호 및 제6,417,429호를 참조한다.
- [0195] 척추동물 세포는 숙주로서 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 현탁액 중에 성장하기에 적합한 포유동물 세포주가 유용할 수 있다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주(COS-7); 인간 배아 신장 세포주(예를 들어, 문헌[Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)]에 기재된 바와

같은 293 또는 293 세포); 새끼 햄스터 신장 세포(BHK); 마우스 세르톨리 세포(예를 들어, 문헌[Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)]에 기재된 바와 같은 TM4 세포); 원숭이 신장 세포(CV1); 아프리카 그린 원숭이 신장 세포(VERO-76); 인간 자궁경부암종 세포(HELA); 개과 신장 세포(MDCK; 버팔로 래트 간 세포(BRL 3A); 인간 폐 세포(W138); 인간 간 세포(Hep G2); 마우스 유방 종양(MMT 060562); 예를 들어 문헌[Mather et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)]에 기재된 바와 같은 TRI 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포이다. 다른 유용한 포유동물 숙주 세포주는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 예컨대 DHFR⁻CHO 세포(Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); 및 골수종 세포주, 예컨대 YO, NS0 및 Sp2/0을 포함한다. 항원 결합 작제물 제조에 적합한 특정 포유동물 숙주 세포주의 검토를 위해, 예를 들어 문헌[Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), pp. 255-268 (2003)]을 참조한다.

[0196] 일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원 결합 작제물은 적어도 하나의 안정한 포유동물 세포를 미리 결정된 비율의 항원 결합 작제물을 암호화하는 핵산으로 형질감염시키는 단계; 및 적어도 하나의 포유동물 세포에서 핵산을 발현시키는 단계를 포함하는 방법에 의해 안정한 포유동물 세포에서 제조된다. 일부 실시형태에서, 핵산의 미리 결정된 비율은, 발현된 생성물에서 가장 높은 백분율의 항원 결합 작제물을 생성시키는, 유입 핵산의 상대 비율을 결정하기 위한, 일시적 형질감염 실험에서 결정된다.

[0197] 일부 실시형태에서 본 명세서에 기재된 안정한 포유동물 세포에서 항원 결합 작제물을 제조하는 방법이 있고, 적어도 하나의 안정한 포유동물 세포의 발현 생성물은 단량체 중쇄 또는 경쇄 폴리펩타이드, 또는 다른 항체와 비교하여 더 큰 백분율의 원하는 글리코실화 항원-결합 작제물을 포함한다.

[0198] 일부 실시형태에서 본 명세서에 기재된 안정한 포유동물 세포에서 글리코실화 항원 결합 작제물을 제조하는 방법이 있고, 상기 방법은 원하는 글리코실화 항원-결합 작제물을 확인하고 정제하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 확인은 액체 크로마토그래피 및 질량 분광법 중 하나 또는 둘 다에 의한다.

[0199] 필요한 경우, 항원 결합 작제물은 발현 후 정제되거나 단리될 수 있다. 단백질은 당업계의 당업자에게 공지된 다양한 방식으로 단리되거나 정제될 수 있다. 표준 정제 방법은, FPLC 및 HPLC와 같은 시스템을 이용하여, 대기압 또는 고압에서 수행되는, 이온 교환, 소수성 상호작용, 친화도, 사이징 또는 겔 여과, 및 역상을 포함하는 크로마토그래피 기법을 포함한다. 정제 방법은 또한 전기영동, 면역학적, 침전, 투석 및 크로마토포커싱(chromatofocusing) 기법을 포함한다. 단백질 농도와 조합된, 한외여과 및 정용여과 기법이 또한 유용하다. 당업계에 널리 공지된 것처럼, 다양한 천연 단백질은 Fc 및 항체에 결합하고, 이 단백질은 항원 결합 작제물의 정제를 위해 본 발명에서 용도가 발견될 수 있다. 예를 들어, 박테리아 단백질 A 및 G는 Fc 구역에 결합한다. 마찬가지로, 박테리아 단백질 L은 몇몇 항체의 Fab 구역에 결합한다. 정제는 특정한 용합 파트너에 의해 대개 가능해질 수 있다. 예를 들어, 항체는 GST 융합이 이용되는 경우 글루타티온을 사용하거나, His-태그가 이용되는 경우 Ni⁺² 친화도 크로마토그래피를 사용하거나, 플래그-태그가 이용되는 경우 부동화 항-플래그 항체를 사용하여 정제될 수 있다. 적합한 정제 기법에서 일반 가이드를 위해, 예를 들어 전문이 참조문헌으로 포함된 문헌 [Protein Purification: Principles and Practice, 3rd Ed., Scopes, Springer-Verlag, NY, 1994(전문이 참조문헌으로 포함됨)]을 참조한다. 필요한 정제의 정도는 항원 결합 작제물의 사용에 따라 달라질 것이다. 몇몇 경우에, 정제가 필요하지 않다.

[0200] 특정 실시형태에서, 항원 결합 작제물은 Q-세파로스(SEPHAROSE), DEAE 세파로스, 포로스(poros) HQ, 포로스 DEAF, 토요펠(Toyopearl) Q, 토요펠 QAE, 토요펠 DEAE, 리소스(Resource)/소스(Source) Q 및 DEAE, 프락토겔(Fractogel) Q 및 DEAE 칼럼(이들로 제한되지는 않음)에서의 크로마토그래피를 포함하는 음이온 교환 크로마토그래피를 사용하여 정제된다.

[0201] 구체적인 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단백질은 SP-세파로스, CM 세파로스, 포로스 HS, 포로스 CM, 토요펠 SP, 토요펠 CM, 리소스/소스 S 및 CM, 프락토겔 S 및 CM 칼럼, 및 이들의 등가물 및 등가물(이들로 제한되지는 않음)을 포함하는 양이온 교환 크로마토그래피를 사용하여 정제된다.

[0202] 또한, 본 명세서에 기재된 항원 결합 작제물은 당업계에 공지된 기법을 이용하여 화학적으로 합성될 수 있다(예를 들어, 문헌[Creighton, 1983, *Proteins: Structures and Molecular Principles*, W. H. Freeman & Co., N.Y., 및 Hunkapiller et al., *Nature*, 310:105-111 (1984)] 참조). 예를 들어, 폴리펩타이드의 단편에 상응하는 폴리펩타이드는 펩타이드 합성장치의 사용에 의해 합성될 수 있다. 더욱이, 원하는 경우, 비전통적인 아미노산 또는 화학 아미노산 유사체는 폴리펩타이드 서열에 대한 치환 또는 첨가로서 도입될 수 있다. 비전통적인 아미노산은 일반적으로 공통 아미노산의 D-이성질체, 2,4-다이아미노뷰티르산, 알파-아미노 아이소뷰티르산, 4-아

미노뷰티르산, Abu, 2-아미노 뷰티르산, g-Abu, e-Ahx, 6-아미노 헥산산, Aib, 2-아미노 아이소뷰티르산, 3-아미노 프로피온산, 오르니틴, 노르류신, 노르발린, 하이드록시프롤린, 사르코신, 시트룰린, 호모시트룰린, 시스테인, t-부틸글리신, t-부틸알라닌, 페닐글리신, 사이클로헥실알라닌, □-알라닌, 플루오로-아미노산, 디자이너 아미노산, 예컨대 □-메틸 아미노산, C□-메틸 아미노산, N□-메틸 아미노산 및 아미노산 유사체를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 더욱이, 아미노산은 D(우선성) 또는 L(좌선성)일 수 있다.

- [0203] **번역후 변형:**
- [0204] 특정 실시형태에서 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 번역 동안 또는 번역 후에 차별적으로 변형된다.
- [0205] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "변형된"은 주어진 폴리펩타이드에 이루어진 임의의 변화, 예컨대 폴리펩타이드의 길이, 폴리펩타이드의 아미노산 서열, 화학 구조, 공번역 변형, 또는 번역 후 변형의 변화를 의미한다. 형태 "(변형된)" 용어는 논의되는 폴리펩타이드가 선택적으로 변형된다는 것, 즉 논의 중인 폴리펩타이드가 변형 또는 비변형될 수 있다는 것을 의미한다.
- [0206] 용어 "번역 후 변형된"은 폴리펩타이드쇄 내로 편입된 후 이러한 아미노산에 이루어진 천연 또는 비천연 아미노산의 임의의 변형을 의미한다. 상기 용어는 오직 예로서 공번역 생체내 변형, 공번역 시험관내 변형(예컨대, 무세포 번역 시스템에서), 번역 후 생체내 변형 및 번역 후 시험관내 변형을 포함한다.
- [0207] 일부 실시형태에서, 변형은 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호기/차단기에 의한 유도체화, 단백질분해 절단 및 항체 분자 또는 항원-결합 작제물 또는 다른 세포 리간드에 대한 결합 중 적어도 하나이다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 브롬화사이아노젠, 트립신, 키모트립신, 파파인, V8 프로테아제, NaBH₄에 의한 특이적 화학 절단; 아세틸화, 포밀화, 산화, 환원; 투니카마이신의 존재 하의 대사 합성을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 공지된 기법에 의해 화학적으로 변형된다.
- [0208] 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물의 추가적인 번역 후 변형은 원핵생물 숙주 세포 발현의 결과로서, 예를 들어 N-연결 또는 O-연결 탄수화물쇄, N-말단 또는 C-말단 단부의 가공, 아미노산 골격에 대한 화학 모이어티의 부착, N-연결 또는 O-연결 탄수화물 쇠의 화학 변형, 및 N-말단 메티오닌 잔기의 첨가 또는 결실 등을 포함한다. 항원 결합 작제물은 단백질의 검출 및 단리를 가능하게 하는 검출 가능한 표지, 예컨대 효소, 형광, 동위원소 또는 친화도 표지에 의해 변형될 수 있다. 특정 실시형태에서, 적합한 효소 표지의 예는 호스레디쉬 페록시다제, 알칼리 포스파타제, 베타-갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스터라제를 포함하고; 적합한 보결분자단 복합체의 예는 스트렙타비딘 바이오틴 및 아비딘/바이오틴을 포함하고; 적합한 형광 재료의 예는 옴벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 아이소티오사이아네이트, 로다민, 다이클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 단실클로라이드 또는 피코에리트린을 포함하고; 발광 재료의 예는 루미놀을 포함하고; 생물발광 재료의 예는 루시페라제, 루시페린 및 에쿠오린을 포함하고; 적합한 방사성 재료의 예는 요오드, 탄소, 황, 트리튬, 인듐, 테크네튬, 탈륨, 갈륨, 팔라듐, 몰리브덴, 제논, 불소를 포함한다.
- [0209] 구체적인 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원 결합 작제물은 방사선 금속 이온과 회합하는 대환식 킬레이터에 부착된다.
- [0210] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원 결합 작제물은 천연 과정, 예컨대 번역 후 과정, 또는 당업계에 널리 공지된 화학 변형 기법에 의해 변형될 수 있다. 특정 실시형태에서, 동일한 유형의 변형이 특정 폴리펩타이드에서 몇몇 자리에서 동일한 또는 다양한 정도로 존재할 수 있는 것으로 이해될 것이다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물로부터의 폴리펩타이드는, 예를 들어 유비퀴틴화의 결과로서 분지될 수 있고, 일부 실시형태에서, 분지와 함께 또는 분지 없이 환식일 수 있다. 환식, 분비 및 분지의 환식 폴리펩타이드는 번역 후 천연 과정으로부터 생길 수 있거나, 합성 방법에 의해 제조될 수 있다. 변형은 아세틸화, 아실화, ADP-리보실화, 아미드화, 플라빈의 공유 부착, 헴 모이어티의 공유 부착, 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유도체의 공유 부착, 지질 또는 지질 유도체의 공유 부착, 포스포티딜이노시톨의 공유 부착, 가교결합, 고리화, 다이설파이드 결합 형성, 탈메틸화, 공유 크로스링크의 형성, 시스템인의 형성, 피로글루타메이트의 형성, 포밀화, 감마-카복실화, 글리코실화, GPI 앵커 형성, 하이드록실화, 요오드화, 메틸화, 미리스틸화, 산화, 폐길화, 단백질분해 과정, 인산화, 프레닐화, 라세미화, 셀레노일화, 황산화, 단백질에 대한 아미노산의 전이-RNA 매개 첨가, 예컨대 알기닐화 및 유비퀴틴화를 포함한다. (예를 들어, 문헌[PROTEINS-STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES, 2nd Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York (1993); POST-TRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, 페이지 1-12 (1983); Seifter et al., Meth. Enzymol. 182:626-646 (1990); Rattan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 663:48-62

(1992)] 참조).

[0211] 특정 실시형태에서, 항원 결합 작제물은, 본 명세서에 기재된 단백질에 의해 결합되거나, 이에 결합하거나, 이것과 회합되는, 폴리펩타이드의 면역검정 또는 정제에 특히 유용한, 고체 지지체에 또한 부착될 수 있다. 이러한 고체 지지체는 유리, 셀룰로스, 폴리아크릴아마이드, 나일론, 폴리스타이렌, 폴리비닐 클로라이드 또는 폴리프로필렌을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0212] **약제학적 조성물**

[0213] 또한 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물을 포함하는 약제학적 조성물이 본 명세서에 제공된다. 약제학적 조성물은 작제물 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함한다.

[0214] 용어 "약제학적으로 허용가능한"은 연방정부 또는 주 정부의 규제 기간이 승인하거나, 동물, 더욱 특히 인간에서의 사용에 대해 미국 약전 또는 다른 일반적으로 인식되는 약전에 수록된다는 것을 의미한다. 용어 "담체"는 치료제가 투여되는 희석제, 아췌번트, 부형제 또는 비히클을 의미한다. 이러한 약제학적 담체는 무균 액체, 예컨대 물 및 오일, 예컨대 석유, 동물, 식물성 또는 합성 기원의 것, 예컨대 땅콩유, 대두유, 광유, 참깨유 등일 수 있다. 일부 양상에서, 담체는 자연에서 발견되지 않는 인공 담체이다. 물은 약제학적 조성물이 정맥내 투여될 때 담체로서 사용될 수 있다. 식염수 용액 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액을 특히 주사용 용액을 위해 액체 담체로서 또한 사용할 수 있다. 적합한 약제학적 부형제는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 옥수수, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 스테아르산나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 염화나트륨, 탈지분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다. 상기 조성물은, 바람직한 경우, 소량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 또한 함유할 수 있다. 이 조성물은 액체, 현탁제, 유화제, 정제, 환제, 캡슐, 산제, 지효성 제형 등의 형태를 취할 수 있다. 상기 조성물은 전통적인 결합제 및 담체, 예컨대 트리글리세라이드와 좌제로서 제형화될 수 있다. 경구 제형은 만니톨, 락토스, 전분, 스테아르산마그네슘, 사카린나트륨, 셀룰로스, 탄산마그네슘 등의 약제학적 등급의 표준 담체를 포함할 수 있다. 적합한 약제학적 담체의 예는 이. 더블유. 마틴(E. W. Martin)의 "Remington's Pharmaceutical Sciences"에 기재되어 있다. 이러한 조성물은 환자에 대한 적절한 투여를 위한 형태를 제공하기 위해 적합한 양의 담체와 함께, 바람직하게는 정제된 형태의, 치료학적 유효량의 화합물을 함유할 것이다. 제형은 투여 방식에 적합해야 한다.

[0215] 특정 실시형태에서, 작제물을 포함하는 조성물은 인간에 대한 정맥내 투여에 적합한 약제학적 조성물로서 일상적 절차에 따라 제형화된다. 통상적으로, 정맥내 투여를 위한 조성물은 무균 등장성 수성 완충제 중의 용액이다. 필요한 경우, 상기 조성물은 주사 부위에서의 통증을 없애기 위해 국소 마취제, 예컨대 리그노카인 및 가용화제를 또한 포함할 수 있다. 일반적으로, 성분은 단위 제형 중에, 예를 들어 활성 물질의 분량을 나타내는 밀봉 밀폐 용기, 예컨대 앰플 또는 사세트(sachette)에서 건조 동결건조 분말 또는 물 비함유 농축물로서 별개로 또는 함께 혼합되어 제공된다. 상기 조성물이 점적주사에 의해 투여되는 경우, 이것은 무균 약제학적 등급 물 또는 식염수를 함유하는 점적주사 병이 없을 수 있다. 상기 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우, 무균 주사용수 또는 식염수의 앰플이 제공될 수 있어서, 성분은 투여 전에 혼합될 수 있다.

[0216] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 조성물은 천연 또는 염 형태로서 제형화된다. 약제학적으로 허용되는 염은 음이온에 의해 형성된 것, 예컨대 염산, 인산, 아세트산, 옥살산, 타르타르산 등으로부터 유도된 것, 및 양이온에 의해 형성된 것, 예컨대 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 수산화제이철, 아이소프로필아민, 트리에틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘, 프로카인 등으로부터 유래한 것을 포함한다.

[0217] **치료방법**

[0218] 특정 실시형태에서, 질환 또는 장애를 치료, 예방 또는 개선시키기 위해 유효량의 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물을 이러한 치료, 예방 또는 개선이 요망되는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 질환 또는 장애의 치료방법이 제공된다.

[0219] "장애"는 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물 또는 방법을 이용하는 치료로부터 유익을 얻는 임의의 병태를 지칭한다. 이것은 포유동물이 해당 장애에 대한 소인이 있는 병리학적 병태를 포함하는 만성 및 급성 장애 또는 질환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 장애는 이하에 더 상세하게 기재하는 바와 같은 암이다.

[0220] 용어 "대상체"는 동물, 일부 실시형태에서 치료, 관찰 또는 실험의 대상인 포유류를 지칭한다. 동물은 인간, 비인간 영장류, 반려 동물(예를 들어, 개, 고양이 등), 농장 동물(예를 들어, 소, 양, 돼지, 말 등) 또는 실험실 동물(예를 들어, 래트, 마우스, 기니픽 등)일 수 있다.

- [0221] 본 명세서에서 사용되는 용어 "포유류"는 인간, 비인간 영장류, 개, 고양이, 무린, 소, 말 및 돼지를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0222] "치료"는 치료 중인 개체 또는 세포의 자연적 과정을 변용하는 시도에서의 임상 중재를 지칭하고, 임상 병리학의 예방을 위해 또는 이의 과정 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 경감, 질환의 임의의 직접 또는 간접 병리학적 결과의 감소, 전이의 예방, 질환 진행의 속도의 감소, 질환 상태의 경감 또는 완화, 및 관해 또는 개선된 예후를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 질환 또는 장애의 진행을 지연시키기 위해 사용된다. 일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물 및 방법은 종양 퇴축을 달성한다. 일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물 및 방법은 종양/암성장의 저해를 달성한다.
- [0223] 바람직한 치료효과는 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 경감, 질환의 병리학적 결과의 임의의 직접적 또는 간접적 감소, 전이 예방, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 호전 또는 완화, 개선된 생존 및 관해 또는 개선된 예후를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 질환 발생을 지연시키거나 또는 질환 진행을 늦추기 위해 사용된다.
- [0224] 본 명세서에 사용된 용어 "유효량"은 인용 방법의 목표를 달성할, 예를 들어 치료 중인 질환, 병태 또는 장애의 증상 중 하나 이상을 일정한 정도로 완화시킬 투여 중인 작제물의 양을 지칭한다. 치료적 단백질의 비정상적 발현 및/또는 활성과 관련된 질환 또는 장애의 치료, 저해 및 예방에서 효과적인 본 명세서에 기재된 조성물의 양은 표준 임상 기법에 의해 결정될 수 있다. 추가로, 시험관내 분석은 선택적으로 최적의 투약량 범위 동정하게 하는데 사용될 수 있다. 제형에서 사용될 정확한 용량은 또한 투여 경로, 및 질환 또는 장애의 심각성에 의존할 것이며, 실행자의 판단 및 각각의 환자의 상황에 따라 결정되어야 한다. 유효 용량은 시험관내 또는 동물 모델 시험 시스템으로부터 유도된 용량-반응 곡선으로부터 추론된다.
- [0225] 항원-결합 작제물은 대상체에게 투여된다. 다양한 전달 시스템, 예를 들어 리포솜, 마이크로입자, 마이크로캡슐에서의 캡슐화, 화합물을 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체 매개 내포작용(예를 들어, 문헌[Wu and Wu, J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987)] 참조), 레트로바이러스 또는 다른 벡터의 일부로서의 핵산의 작제 등은 공지되어 있고, 본 명세서에 기재된 항원 결합 작제물 제형을 투여하기 위해 사용될 수 있다. 도입 방법은 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비강내, 경막외 및 경구 투여를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 상기 화합물 또는 조성물은 임의의 편리한 경로에 의해, 예를 들어 점적주사 또는 블루스 주사에 의해, 상피 또는 점막피부 내벽(예를 들어, 경구 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 다른 생물학적으로 활성인 물질과 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신 또는 국소일 수 있다. 또한, 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원 결합 작제물 조성물을 심실내 및 척추강내 주사를 포함하는 임의의 적합한 경로에 의해 중추 신경계로 도입하는 것이 바람직할 수 있고; 심실내 주사는 예를 들어 옴야(Ommaya) 저장소와 같은 저장소에 부착된 심실내 카테터에 의해 수월해질 수 있다. 폐 투여는 예를 들어 흡입기 또는 분무기, 및 에어로졸제를 가지는 제형의 사용에 의해 또한 이용될 수 있다.
- [0226] 구체적 실시형태에서, 치료의 필요 부위에 국소로 항원 결합 작제물, 또는 본 명세서에 기재된 조성물을 투여하는 것이 바람직하고; 이는 예를 들어 예의 방식으로 수술 동안 국소 점적주사, 국소 적용에 의해, 예를 들어 수술 후 상처 드레싱과 함께, 주사에 의해, 카테터에 의해, 좌제에 의해, 또는 이식물에 의해 달성될 수 있고, 상기 이식물은 시알라스틱(sialastic) 막 또는 섬유와 같은 막을 포함하는 다공성, 비다공성 또는 젤라틴성 재료이다. 바람직하게는, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물을 포함하는 단백질을 투여할 때, 단백질이 흡수하지 않는 물질을 사용하도록 주의를 기울여야 한다.
- [0227] 다른 실시형태에서, 항원 결합 작제물 또는 조성물은 소포, 특히 리포솜에서 전달될 수 있다(문헌[Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treat et al., in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365 (1989); Lopez-Berestein, 상기 참조, pp. 317-327; 일반적으로 상기 참조).
- [0228] 또 다른 실시형태에서, 항원 결합 작제물 또는 조성물은 제어 방출 시스템으로 전달될 수 있다. 일 실시형태에서, 펌프를 사용할 수 있다(문헌[Langer, 상기 참조; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al, N. Engl. J. Med. 321:574 (1989)] 참조). 다른 실시형태에서, 중합체 재료를 사용할 수 있다(문헌[Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, J., Macromol. Sci.

Rev. Macromol. Chem. 23:61 (1983)]참조; 또한 문헌[Levy et al., Science 228:190 (1985); During et al., Ann. Neurol. 25:351 (1989); Howard et al., J. Neurosurg. 71:105 (1989)] 참조). 또 다른 실시형태에서, 제어 방출 시스템은 치료학적 표적, 예를 들어 뇌에 근접하게 위치할 수 있어서, 전신 용량의 분획만을 필요로 한다(예를 들어, 문헌[Goodson, Medical Applications of Controlled Release, 상기 참조, vol. 2, pp. 115-138 (1984)] 참조).

[0229] 본 명세서에 기재된 항원 결합 작제물을 암호화하는 핵산을 포함하는 구체적 실시형태에서, 핵산은, 예를 들어 레트로바이러스 벡터(미국 특허 제4,980,286호 참조)의 사용에 의해, 또는 직접 주사에 의해, 또는 마이크로입자 충격(예를 들어, 유전자 총; 유전자충격(Biolistic), 듀폰사(Dupont))의 사용에 의해, 또는 지질 또는 세포-표면 수용체 또는 형질감염 물질에 의한 코팅에 의해, 또는 핵에 진입하는 것으로 알려진 호메오박스(homeobox)-유사 펩타이드에 대한 결합에서 이것의 투여에 의해(예를 들어, 문헌[Joliot et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868 (1991)] 참조) 및 기타 등등에 의해 이것이 세포내가 되도록, 적절한 핵산 발현 벡터의 일부로서 이것을 구성함으로써 그리고 이것을 투여함으로써 암호화된 단백질의 발현을 촉진하도록 생체 내 투여될 수 있다. 대안적으로, 핵산은 상동성 재조합에 의해 발현을 위해 세포내 도입되고 숙주 세포 DNA 내에 혼입될 수 있다.

[0230] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 비중복 결합 표적 에피토프와 항원-결합 작제물과의 조합물로서 투여된다.

[0231] 질환 또는 장애의 치료, 저해 및 예방에서 유효하게 될 항원-결합 작제물의 양은 표준 임상 기법에 의해 결정될 수 있다. 추가로, 시험관내 분석은 최적의 투약량 범위를 동정하게 하도록 선택적으로 사용될 수 있다. 제형에서 사용될 정확한 용량은 또한 투여 경로, 및 질환 또는 장애의 심각성에 의존할 것이며, 실행자의 판단 및 각각의 환자의 상황에 따라 결정되어야 한다. 유효 용량은 시험관내 또는 동물 모델 시험 시스템으로부터 유도된 용량-반응 곡선으로부터 추론된다.

[0232] 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 단독으로 또는 다른 유형의 치료(예를 들어, 방사선 요법, 화학요법, 호르몬 요법, 면역요법 및 항-종양제)와 병용하여 투여될 수 있다. 일반적으로, 환자와 동일한 종인 종 유래의 또는 (항체의 경우에) 종 반응성의 산물의 투여가 바람직하다. 따라서, 실시형태에서, 인간 항원-결합 작제물, 단편 유도체, 유사체 또는 핵산은 요법 또는 예방을 위해 인간 환자에게 투여된다.

[0233] **암의 치료방법**

[0234] 대상체에서 HER2+ 암 또는 종양을 치료하는 방법 및 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물을 이용하여 HER2+ 종양 세포의 성장을 저해하거나 또는 HER2+ 종양 세포를 사멸시키는 방법이 본 명세서에 기재된다.

[0235] HER2+ 암은 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물이 암에 결합될 수 있도록 HER2를 발현시키는 암을 의미한다. 당업계에서 공지된 바와 같이, HER2+ 암은 다른 수준에서 HER2를 발현시킨다. ErbB, 예를 들어 암세포에서 ErbB2(HER2) 발현을 결정하기 위해, 다양한 진단적/예비적 분석을 이용가능하다. 일 실시형태에서, ErbB2 과발현은 IHC에 의해, 예를 들어 허셉테스트(HERCEPTEST)(등록상표)(다코(Dako))를 이용하여 분석될 수 있다. 종양 생검으로부터의 파라핀 포매된 조직 절편에 IHC 분석을 실시할 수 있고 다음과 같은 ErbB2 단백질 염색 강도 기준에 따랐다.

[0236] 스코어 0 염색이 관찰되지 않거나 또는 10% 미만의 종양 세포에서 막 염색이 관찰됨.

[0237] 스코어 1+ 10% 초과와 종양 세포에서 희미한/겨우 인식가능한 막 염색을 검출함. 세포는 그들의 막 부분에서만 염색됨.

[0238] 스코어 2+ 10% 초과와 종양 세포에서 약한 내지는 보통의 완전한 막 염색이 관찰됨.

[0239] 스코어 3+ 10% 초과와 종양 세포에서 보통의 내지 강한 완전한 막 염색이 관찰됨.

[0240] ErbB2 과발현 평가에 대해 0 또는 1+ 스코어를 지니는 해당 종양은 ErbB2를 과발현시키지 않는 것으로 특성규명될 수 있는 반면, 2+ 또는 3+ 스코어를 지니는 해당 종양은 ErbB2를 과발현시키는 것으로 특성규명될 수 있다.

[0241] 대안적으로 또는 추가적으로, 형광 인시추 혼성화(fluorescence in situ hybridization: FISH) 분석, 예컨대 INFORM(상표명)(아리조나주에 소재한 벤타나(Ventana)에 의해 시판됨) 또는 패스비전(PATHVISION)(상표명)(바이시스(Vysis), I11.)는 종양 내 ErbB2 과발현의 정도를 (만약에 있다면) 결정하기 위해 포말린-고정, 파라핀-포매 종양 조직 상에서 수행될 수 있다. IHC 분석과 비교하여, HER2 유전자 증폭을 측정하는 FISH 분석은 허셉틴

(등록상표)에 의한 치료에 대한 환자의 반응과 더 양호하게 상관관계가 있는 것으로 보이고, 현재 허셉틴(등록상표) 치료가 유리할 가능성이 있는 환자를 동정하기 위한 바람직한 분석이 되는 것으로 고려된다.

- [0242] 표 D는 몇몇 대표적인 유방암 및 다른 암세포주에 대한 HER2의 발현 수준을 기재한다(Subik et al. (2010) Breast Cancer: Basic Clinical Research:4; 35-41; Prang et a. (2005) British Journal of Cancer Research:92; 342-349). 표에 나타난 바와 같이, MCF-7 및 MDA-MB-231 세포는 낮은 HER2 발현 세포이 되는 것으로 고려되며; JIMT-1 및 ZR-75-1 세포는 중간 HER2 발현 세포가 되는 것으로 고려되며, SKBR3 및 BT-474 세포는 고 HER2 발현 세포가 되는 것으로 고려된다. SKOV3(난소암) 세포는 중간 HER2 발현 세포가 되는 것으로 고려된다.
- [0243] 본 명세서에서 대상체에게 유효량의 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물을 포함하는 약제학적 조성물을 제공하는 단계를 포함하는 HER2+ 암 또는 종양을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 기재된다.
- [0244] 또한 본 명세서에서 암 또는 종양을 치료하기 위한 의학의 제조를 위해 본 명세서에 기재된 HER2 항원-결합 작제물의 용도가 기재된다. 또한 본 명세서에서 암 또는 종양의 치료에서 사용하기 위한 HER2 항원-결합 작제물이 기재된다.
- [0245] 구체적 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 v10000, v7091, v5019 또는 v5020이다. 일 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 v10000이다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 메이탄신(DM1)에 컨주게이팅된다. DM1에 컨주게이팅된 항원-결합 작제물이 종양 세포 내로 내재화될 때, DM1은 작제물로부터 세포내로 절단되고, 종양 세포를 사멸시킨다.
- [0246] 일부 실시형태에서, 치료 중인 대상체는 췌장암, 두경부암, 위암, 결장직장암, 유방암, 신장암, 자궁경부암, 난소암, 뇌암, 자궁내막암, 방광암, 비소세포 폐암 또는 표피 유래암을 가진다. 일부 실시형태에서, 종양은 전이성이다.
- [0247] 일반적으로, 치료 중인 대상체의 종양은 종양 세포 당 HER2의 평균 10,000개 이상의 복제물을 발현시킨다. 특정 실시형태에서, 종양은 IHC에 의해 결정하여 HER2 0-1+, 1+, HER2 2+ 또는 HER2 3+이다. 일부 실시형태에서, 종양은 HER2 2+ 이하, 또는 HER2 1+ 이하이다.
- [0248] 일부 실시형태에서, 항원-결합 작제물로 치료 중인 대상체의 종양은 유방암이다. 구체적 실시형태에서, 유방암은 2+ 수준 이하에서 HER2를 발현시킨다. 구체적 실시형태에서, 유방암은 1+ 수준 이하에서 HER2를 발현시킨다. 일부 실시형태에서, 유방암은 에스트로젠 수용체(ER+) 및/또는 프로게스테론 수용체(PR+)를 발현시킨다. 일부 실시형태에서, 유방암은 ER- 및 또는 PR-이다. 일부 실시형태에서, 유방암은 증폭된 HER2 유전자를 가진다. 일부 실시형태에서, 유방암은 HER2 3+ 에스트로젠 수용체 음성(ER-), 프로게스테론 수용체 음성(PR-), 트라스투주맵 내성, 화학요법 내성 침습성 유관 유방암이다. 다른 실시형태에서, 유방암은 HER2 3+ ER-, PR-, 트라스투주맵 내성 염증성 유방암이다. 다른 실시형태에서, 유방암은 HER2 3+, ER-, PR-, 침습성 유관 암종이다. 다른 실시형태에서, 유방암은 HER2 2+ HER2 유전자 증폭된 트라스투주맵 및 퍼투주맵 내성 유방암이다. 일부 실시형태에서, 유방암은 삼중 음성이다(ER-, PR- 및 낮은 HER2-발현).
- [0249] 일 실시형태에서, 종양은 증폭된 HER2 유전자를 갖는 HER2 2/3+ 난소 상피 선암종이다.
- [0250] 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물을 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 다른 표준 치유 요법에 대해 내성이 있거나 또는 내성이 생기고 있는 HER2+ 종양을 갖는 대상체의 치료방법이 본 명세서에 제공된다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 선택적으로 하나 이상의 현재의 항-HER2 요법과 병용하여 현재의 요법에 대해 비반응성인 대상체에게 제공된다. 일부 실시형태에서, 현재의 항-HER2 요법은 항-HER2 또는 항-HER3 단일특이성 2가 항체, 트라스투주맵, 퍼투주맵, T-DM1, 이중 특이성 HER2/HER3 scFv, 또는 이들의 조합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 암은 탁산과 같은 다양한 화학치료제에 대해 내성이 있다. 일부 실시형태에서, 암은 트라스투주맵에 대해 내성이 있다. 일부 실시형태에서, 암은 퍼투주맵에 대해 내성이 있다. 일 실시형태에서, 암은 TDM1(DM1에 컨주게이팅된 트라스투주맵)에 대해 내성이 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 이전에 항-HER2 항체, 예컨대 트라스투주맵, 퍼투주맵 또는 DM1을 이용하여 치료된 적이 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 이전에 항-HER2 항체를 이용하여 치료된 적이 없다. 일 실시형태에서, 항원-결합 작제물은 환자가 이전의 항-HER2 요법에 대해 진행될 때, 전이암의 치료를 위해 대상체에게 제공된다.
- [0251] 본 명세서에서 추가적인 항-종양제와 함께 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물을 포함하는 유효량의 약제학적 조성물을 제공하는 단계를 포함하는 HER2+ 종양을 갖는 대상체의 치료방법이 제공된다. 추가적인 항종양제는 상

기 언급한 바와 같은 치료적 항체 또는 화학치료제일 수 있다. 본 발명의 항원-결합 작제물과 병용하여 사용하기에 유용한 화학치료제는 시스플라틴, 카보플라틴, 파클리탁셀, 알부민-결합 파클리탁셀, 도세탁셀, 겐시타빈, 비노렐빈, 이리노테칸, 에토포사이드, 빈블라스틴, 페메트렉세드, 5-플루오로유라실(폴린산이 있거나 또는 없음), 카페시타빈, 카보플라틴, 에피루비신, 옥살리플라틴, 폴피리녹스, 아브락산 및 사이클로포스파마이드를 포함한다.

- [0252] 일부 실시형태에서, 종양은 비소세포 폐암이고, 추가적인 작용제는 시스플라틴, 카보플라틴, 파클리탁셀, 알부민-결합 파클리탁셀, 도세탁셀, 겐시타빈, 비노렐빈, 이리노테칸, 에토포사이드, 빈블라스틴 또는 페메트렉세드 중 하나 이상이다. 실시형태에서, 종양은 위암 또는 위암이며, 추가적인 제제는 5-플루오로유라실(폴린산이 있거나 또는 없음), 카페시타빈, 카보플라틴, 시스플라틴, 도세탁셀, 에피루비신, 이리노테칸, 옥살리플라틴, 또는 파클리탁셀 중 하나 이상이다. 다른 실시형태에서, 종양은 췌장암이고, 추가적인 제제는 겐시타빈, 폴피리녹스, 아브락산 또는 5-플루오로유라실 중 하나 이상이다. 다른 실시형태에서, 종양은 에스트로겐 및/또는 프로게스테론 양성 유방암이고, 추가적인 제제는 (a) 독소루비신 및 에피루비신의 조합물, (b) 파클리탁셀과 도세탁셀의 조합물, 또는 (c) 5-플루오로유라실, 사이클로포스파마이드와 카보플라틴의 조합물 중 하나 이상이다. 다른 실시형태에서, 종양은 두경부암이고, 추가적인 제제는 파클리탁셀, 카보플라틴, 독소루비신 또는 시스플라틴 중 하나 이상이다. 다른 실시형태에서, 종양은 난소암이고, 추가적인 제제는 시스플라틴, 카보플라틴, 또는 탁산, 예컨대 파클리탁셀 또는 도세탁셀 중 하나 이상일 수 있다.
- [0253] 추가적인 제제는 치료 중인 대상체에게 항원-결합 작제물과 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.
- [0254] 항원-결합 작제물로 치료 중인 대상체는 인간, 비인간 영장류 또는 다른 포유류, 예컨대 마우스일 수 있다.
- [0255] 일부 실시형태에서, 유효량의 항원-결합 작제물을 종양을 갖는 대상체에게 제공하는 것의 결과는 종양 수축, 종양 성장의 저해, 종양 진행에 대한 시간 증가, 대상체의 무병생존 연장, 전이 감소, 대상체의 무진행 생존율 증가 또는 대상체의 전반적인 생존율 증가 또는 치료를 받는 대상체 그룹의 전반적인 생존율 증가이다.
- [0256] 또한 본 명세서에서 세포를 본 명세서에 제공된 항원-결합 작제물과 접촉시키는 단계를 포함하는 HER2-발현 종양 세포의 성장을 사멸 또는 저해시키는 방법이 기재된다.
- [0257] 다양한 실시형태에서, 종양 세포는 HER2 1+ 또는 2+ 인간 췌장 암종 세포, HER2 3+ 인간 폐 암종 세포, HER2 2+ 인간 코카시안 기관지폐포 암종 세포, 인간 인두 암종 세포, HER2 2+ 인간 혀 편평 세포 암종 세포, 인두의 HER2 2+ 편평 세포 암종 세포, HER2 1+ 또는 2+ 인간 결장직장 암종 세포, HER2 3+ 인간 위 암종 세포, HER2 1+ 인간 유관 ER+(에스트로겐 수용체-양성) 암종 세포, HER2 2+/3+ 인간 ER+, HER2-중폭된 유방 암종 세포, HER2 0+/1+ 인간 삼중 음성 유방 암종 세포, HER2 2+ 인간 자궁내막모양 암종 세포, HER2 1+ 폐-전이성 악성 흑색종 세포, HER2 1+ 인간 자궁경부 암종 세포, Her2 1+인간 신세포 암종 세포, 또는 HER2 1+ 인간 난소 암종 세포일 수 있다.
- [0258] 항원-결합 작제물과 DM1에 컨주게이팅된 실시형태에서, 종양 세포는 HER2 1+ 또는 2+ 또는 3+ 인간 췌장 암종 세포, HER2 2+ 전이성 췌장 암종 세포, HER2 0+/1+, +3+ 인간 폐 암종 세포, HER2 2+ 인간 코카시안 기관지폐포 암종 세포, HER2 0+ 미분화 폐 암종, 인간 비소세포 폐 암종 세포, 인간 인두 암종 세포, HER2 2+ 인간 혀 편평 세포 암종 세포, 인두의 HER2 2+ 편평 세포 암종 세포, HER2 1+ 또는 2+ 인간 결장직장 암종 세포, HER2 0+, 1+ 또는 3+ 인간 위 암종 세포, HER2 1+ 인간 유관 ER+(에스트로겐 수용체-양성) 암종 세포, HER2 2+/3+ 인간 ER+, HER2-중폭된 유방 암종 세포, HER2 0+/1+ 인간 삼중 음성 유방 암종 세포, HER2 0+ 인간 유관 암종 (기저 B, 간충직-유사 삼중 음성) 세포, HER2 2+ ER+ 유방 암종, HER2 0+ 인간 전이성 유방 암종 세포(ER-, HER2-중폭된, 내강 A, TN), 인간 자궁 배엽성 종양(혼합 등급 III) 세포, 2+ 인간 자궁내막모양 암종 세포, HER2 1+ 인간 피부 유피 암종 세포, HER2 1+ 폐-전이성 악성 흑색종 세포, HER2 1+ 악성 흑색종 세포, 인간 자궁경부 유피 암종 세포, HER2 1+ 인간 방광 암종 세포, HER2 1+ 인간 자궁경부 암종 세포, Her2 1+인간 신세포 암종 세포, 또는 HER2 1+, 2+ 또는 3+ 인간 난소 암종 세포일 수 있다.
- [0259] 일부 실시형태에서, 종양 세포는 다음의 세포주 중 하나 이상일 수 있다(도 37 및 도 38에 나타냄): 췌장 종양 세포주 BxPC3, 카판-1(Capan-1), 미아파카2(MiaPaca2); 폐 종양 세포주 칼루-3(Calu-3), NCI-H322; 두경부 종양 세포주 디트로이트(Detroit) 562, SCC-25, FaDu; 결장직장 종양 세포주 HT29, SNU-C2B; 위 종양 세포주 NCI-N87; 유방 종양 세포주 MCF-7, MDAMB175, MDAMB361, MDA-MB-231, BT-20, JIMT-1, SkBr3, BT-474; 자궁 종양 세포주 TOV-112D; 피부 종양 세포주 말메-3M(Malme-3M); 자궁경부 종양 세포주 카스키(Caski), MS751; 방광 종양 세포주 T24, 난소 종양 세포주 CaOV3 및 SKOV3.

[0260] 항원-결합 작제물이 DM1에 컨주게이팅된 일부 실시형태에서, 종양 세포는 다음의 세포주(도 37 및 도 38에 나타냄) 중 하나 이상일 수 있다: 췌장 종양 세포주 BxPC3, 카관-1, 미아파카2, SW 1990, Panc1; 폐 종양 세포주 A549, 칼루-3, 칼루-6, NCI-H2126, NCI-H322; 두경부 종양 세포주 디트로이트 562, SCC-15, SCC-25, FaDu; 결장직장 종양 세포주 콜로201(Colo201), DLD-1, HCT116, HT29, SNU-C2B; 위 종양 세포주 SNU-1, SNU-16, NCI-N87; 유방 종양 세포주 SkBr3, MCF-7, MDAMB175, MDAMB361, MDA-MB-231, ZR-75-1, BT-20, BT549, BT-474, CAMA-1, MDAMB453, JIMT-1, T47D; 자궁 종양 세포주 SK-UT-1, TOV-112D; 피부 종양 세포주 A431, 말메-3M, SKEMEL28; 자궁경부 종양 세포주 카스키, MS751; 방광 종양 세포주 T24, 신장 종양 세포주 ACHN; 난소 종양 세포주 CaOV3, 오바-3(Ovar-3) 및 SKOV3.

[0261] **키트 및 제조 물품**

[0262] 또한 본 명세서에서 하나 이상의 항원-결합 작제물을 포함하는 키트가 기재된다. 키트의 개개 구성성분은 별도의 용기로 그리고 이러한 용기와 함께 포장되고, 약제학적 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 시판을 규제하는 정부기관에 의해 규정된 형태의 안내문이 있을 수 있으며, 이 안내문은 제조, 사용 또는 시판의 기관에 의한 승인을 반영한다. 키트는 선택적으로 항원-결합 작제물에 대한 사용방법 또는 투여 요법을 약속하는 설명 또는 지시사항을 포함할 수 있다.

[0263] 키트의 하나 이상의 구성성분이 용액, 예를 들어 수용액 또는 멸균 수용액으로서 제공될 때, 용기 수단은 그 자체가, 용액이 대상체에게 투여되거나 또는 적용되고, 키트의 다른 구성성분과 혼합될 수 있는 흡입제, 주사기, 피펫, 눈 점적 또는 다른 이러한 유사한 장치일 수 있다.

[0264] 키트의 구성성분은 또한 건조 또는 동결건조 형태로 제공될 수 있고, 키트는 추가적으로 동결건조된 구성성분의 재구성을 위한 적합한 용매를 포함할 수 있다. 용기의 수 또는 유형과 관계없이, 본 명세서에 기재된 키트는 또한 환자에 대한 조성물의 투여를 보조하기 위한 기기를 포함할 수 있다. 이러한 기기는 흡입제, 비강분사 장치, 주사기, 피펫, 포셉, 계량 스푼, 눈 점적기 또는 유사한 의학적으로 승인된 전달 비허클일 수 있다.

[0265] 본 명세서에 기재된 다른 양상에서, 상기 기재한 장애의 치료, 예방 및/또는 진단에 유용한 물질을 포함하는 제조물품이 제공된다. 제조물품은 용기 및 용기 상에 또는 용기에 결합된 라벨 또는 포장 삽입물을 포함한다. 적합한 용기는, 예를 들어 보틀, 바이알, 주사기, IV 용액 백 등을 포함한다. 용기는 다양한 물질, 예컨대 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 용기는 단독으로 또는 병태를 치료, 예방 및/또는 진단하는데 효과적인 다른 조성물과 조합된 조성물을 보유하고, 멸균 접근 포트를 가질 수 있다(예를 들어, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘에 의해 뚫릴 수 있는 마개를 갖는 바이알일 수 있다). 조성물 내 적어도 하나의 활성제는 본 명세서에 기재된 T 세포 활성화 항원-결합 작제물이다. 라벨 또는 포장 삽입물은 조성물이 선택 병태를 치료하기 위해 사용된다는 것을 나타낸다.

[0266] 게다가, 제조 물품은 (a) 제1 용기로서, 그 안에 조성물을 수용하되, 조성물은 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물을 포함하는, 제1 용기; 및 (b) 제2 용기로서, 그 안에 조성물을 수용하되, 조성물은 추가적인 세포독성제 또는 다른 치료제를 포함하는, 제2 용기를 포함할 수 있다. 본 명세서에 기재된 이 실시형태에서 제조물품은 조성물이 특정 병태를 치료하기 위해 사용될 수 있다는 것을 나타내는 포장 삽입물을 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 제조물품은 약제학적으로 허용가능한 완충제, 예컨대 주사용 정균수 (bacteriostatic water for injection: BWFI), 인산염 완충 식염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2(또는 제3) 용기를 추가로 포함할 수 있다. 다른 완충제, 희석제, 충전제, 바늘 및 주사기를 포함하는, 상업적 그리고 사용자 견지로부터 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[0267] **폴리펩타이드 및 폴리뉴클레오타이드**

[0268] 본 명세서에 기재된 항원-결합 작제물은 적어도 하나의 폴리펩타이드를 포함한다. 또한 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 기재된다. 항원-결합 작제물은 전형적으로 단리된다.

[0269] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "단리된" 천연 세포 배양 환경의 구성성분으로부터 동정 및 분리 및/또는 회수된 제제(예를 들어, 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드)를 의미한다. 그의 천연 환경의 오염물질 성분은 항원-결합 작제물에 대한 진단적 또는 치료적 사용을 방해하는 물질이고, 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 단리된 것은 또한, 예를 들어 인간 개입을 통해 합성적으로 생성된 제제를 지칭한다.

[0270] 용어 "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 본 명세서에서 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하기 위해 상호

호환적으로 사용된다. 즉, 폴리펩타이드에 대한 설명은 펩타이드의 설명 및 단백질의 설명에 동등하게 적용되고, 그 반대도 그렇다. 상기 용어는 천연 발생 아미노산 중합체뿐만 아니라 하나 이상의 아미노산 잔기가 비천연적으로 암호화된 아미노산인 아미노산 중합체에 적용된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 상기 용어는 전장 단백질을 포함하는 임의의 길이의 아미노산 쇄를 포함하되, 아미노산 잔기는 공유 펩타이드 결합에 의해 연결된다.

[0271] 용어 "아미노산"은 천연 유래 및 비천연 유래 아미노산뿐만 아니라 천연 유래 아미노산과 유사한 방식으로 작용하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체를 지칭한다. 천연으로 암호화된 아미노산은 20개의 공통 아미노산(알라닌, 알기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 아이소류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프랄린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 타이로신 및 발린) 및 피롤리신 및 셀레노시스테인이다. 아미노산 유사체는 천연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조, 즉 산소, 카복실기, 아미노기 및 R 기에 결합된 탄소를 가지는 화합물, 예컨대 호모세린, 노르류신, 메티오닌 설폰사이드, 메티오닌 메틸 설포늄을 의미한다. 이러한 유사체는 변형된 R 기(예컨대, 노르류신) 또는 변형된 펩타이드 골격을 가지지만, 천연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 보유한다. 아미노산에 대한 언급은 예를 들어 천연 발생 단백질생성 L-아미노산; D-아미노산, 화학 변형된 아미노산, 예컨대 아미노산 변이체 및 유도체; 천연 발생 단백질비생성 아미노산, 예컨대 β-알라닌, 오르니틴 등; 및 아미노산에 특징적인 당업계에 공지된 특성을 갖는 화학적으로 합성된 화합물을 포함한다. 천연 비발생 아미노산의 예는 α-메틸 아미노산(예를 들어, α-메틸 알라닌), D-아미노산, 히스티딘 유사 아미노산(예를 들어, 2-아미노-히스티딘, β-하이드록시-히스티딘, 호모히스티딘), 측쇄에서 추가의 메틸렌을 가지는 아미노산("호모" 아미노산), 및 측쇄에서의 카복실산 작용기가 설폰산기로 대체된 아미노산(예를 들어, 시스테인)을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 본 발명의 단백질로의 합성 비네이티브 아미노산, 치환 아미노산, 또는 하나 이상의 D-아미노산을 포함하는 비천연 아미노산의 도입은 다수의 상이한 방식에서 유리할 수 있다. D-아미노산 함유 펩타이드 등은 L-아미노산 함유 대응물질과 비교하여 실험실 내 또는 생체내 증가한 안정성을 나타낸다. 따라서, 펩타이드 등의 작제, 도입한 D-아미노산은 더 높은 세포내 안정성이 원해지거나 필요할 때 특히 유용할 수 있다. 더 구체적으로, D-펩타이드 등은 내인성 펩티다제 및 프로테아제에 내성이어서, 이러한 특성이 바람직할 때 분자의 개선된 생체이용률, 및 생체내 연장된 수명을 제공한다. 첨가적으로, D-펩타이드 등은 T 보조 세포에 대한 주요 조직적합 복합체 클래스 II 제한된 제시를 위해 효과적으로 처리될 수 없고, 따라서 전체 유기체에서 체액 면역 반응을 덜 유도할 것이다.

[0272] 아미노산은 IUPAC-IUB 생화학 명명 위원회(Biochemical Nomenclature Commission)에 의해 권고되는 통상적으로 알려진 3글자 기호 또는 1글자 기호에 의해 본 명세서에서 지칭될 수 있다. 마찬가지로, 뉴클레오타이드는 이의 통상적으로 허용되는 한 글자 암호에 의해 지칭될 수 있다.

[0273] 또한 본 발명에 항원-결합 작제물의 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 포함된다. 용어 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "뉴클레오타이드 서열"은 2 이상의 뉴클레오타이드 분자의 연속적 신장을 표시하는 것으로 의도된다. 뉴클레오타이드 서열은 게놈, cDNA, RNA, 반합성 또는 합성 유래 또는 이의 임의의 조합물을 가질 수 있다.

[0274] 용어 "핵산"은, 단일 또는 이중 가닥 형태의, 데옥시리보뉴클레오타이드, 데옥시리보뉴클레오사이드, 리보뉴클레오사이드, 또는 리보뉴클레오타이드 및 이의 중합체를 의미한다. 특별하게 제한되지 않는 한, 상기 용어는 기준 핵산과 유사한 결합 특성을 가지고, 천연 발생 뉴클레오타이드와 유사한 방식으로 대사되는, 천연 뉴클레오타이드의 공지된 유사체를 함유하는 핵산을 포함한다. 구체적으로 달리 제한되지 않은 한, 상기 용어는 또한 PNA를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 유사체(펩티도핵산), 안티센스 기술에서 사용된 DNA의 유사체(포스포로티오에이트, 포스포로아미데이트 등)를 의미한다. 달리 표시되지 않은 한, 특정한 핵산 서열은 또한 이의 보존적으로 변형된 변이체(축퇴성 코돈 치환을 포함하지만, 이것으로 제한되지는 않음) 및 상보성 서열, 및 명확히 표시된 서열을 함축하여 포함한다. 구체적으로, 축퇴성 코돈 치환은 하나 이상의 선택된(또는 모든) 코돈의 제3 위치가 혼합 염기 및/또는 데옥시노신 잔기에 의해 치환된 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다(Batzer et al, Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka et al, J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); Rossolini et al, Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994)).

[0275] "보존적으로 변형된 변이체"는 아미노산 및 핵산 서열 둘 다에 적용된다. 특정한 핵산 서열과 관련하여, "보존적으로 변형된 변이체"는 동일한 또는 본질적으로 동일한 아미노산 서열을 암호화하는 핵산, 또는 핵산이 아미노산 서열을 암호화하지 않는 경우, 본질적으로 동일한 서열을 의미한다. 유전자 코드의 축퇴성 때문에, 다수의 기능적으로 동일한 핵산이 임의의 특정 단백질을 암호화한다. 예를 들어, 코돈 GCA, GCC, GCG 및 GCU는 모두 아미노산 알라닌을 암호화한다. 따라서, 알라닌이 코돈에 의해 언급되는 모든 위치에서, 코돈은 암호화된 폴리펩

타이드를 변용하지 않으면서 기재된 임의의 상응하는 코돈으로 변용될 수 있다. 이러한 핵산 변이는 "침묵 변이"(보존적으로 변형된 변이의 일 중임)이다. 폴리펩타이드를 암호화하는 본 명세서에서 모든 핵산 서열은 핵산의 모든 가능한 침묵 변이를 또한 기술한다. 당업계의 당업자는 핵산에서의 각각의 코돈(AUG(메티오닌에 대한 원래 유일한 코돈), 및 TGG(트립토판에 대한 원래 유일한 코돈) 제외)이 기능적으로 동일한 분자를 생성하도록 변형될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 따라서, 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 각각의 침묵 변이는 각각의 기재된 서열에 내포된다.

[0276] 아미노산 서열과 관련하여, 당업계의 당업자는 암호화된 서열에서의 단일 아미노산 또는 적은 백분율의 아미노산을 변용, 첨가 또는 결실시키는 핵산, 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질 서열에 대한 개별 치환, 결실 또는 첨가가 "보존적으로 변형된 변이체"라는 것을 인식할 것이고, 여기서 변용은 아미노산의 결실, 아미노산의 첨가, 또는 화학적으로 유사한 아미노산에 의한 아미노산의 치환을 발생시킨다. 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표가 당업계의 당업자에게 공지되어 있다. 이러한 보존적으로 변형된 변이체는 또한 본 발명의 다형 변이체, 중간 동족체 및 대립유전자를 배제하지 않는다.

[0277] 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표는 당업자에게 공지되어 있다. 하기 8개의 군은 각각 서로에 대한 보존적 치환인 아미노산을 함유한다: 1) 알라닌(A), 글라이신(G); 2) 아스파르트산(D), 글루탐산(E); 3) 아스파라긴(N), 글루타민(Q); 4) 아르기닌(R), 라이신(K); 5) 아이소류신(I), 류신(L), 메티오닌(M), 발린(V); 6) 페닐알라닌(F), 타이로신(Y), 트립토판(W); 7) 세린(S), 트레오닌(T); 및 [0139] 8) 시스테인(C), 메티오닌(M)(예를 들어, 문헌[Creighton, Proteins: Structures and Molecular Properties (W H Freeman & Co.; 2nd edition (December 1993)] 참조).

[0278] 용어 "동일한" 또는 "동일성" 백분율은, 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩타이드 서열의 맥락에서, 동일한 2개 이상의 서열 또는 하위서열을 의미한다. 서열은, 하기 서열 비교 알고리즘(또는 당업계의 당업자에게 이용 가능한 다른 알고리즘) 중 하나를 사용하여 또는 수동 정렬 및 시각 검사에 의해 측정할 때, 비교 창 또는 지정 구역에 걸쳐 비교되고 최대 상응도에 대해 정렬될 때, 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드의 백분율(즉, 특정 구역에 걸쳐 약 60%의 동일성, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90% 또는 약 95%의 동일성)을 가지는 경우 "실질적으로 동일"하다. 이 정의는 또한 시험 서열의 보안에 관한 것이다. 동일성은 적어도 길이 약 50개의 아미노산 또는 뉴클레오타이드인 구역, 또는 길이 75개 내지 100개의 아미노산 또는 뉴클레오타이드인 구역에 걸쳐, 또는, 규정되지 않은 경우, 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드의 전체 서열에 걸쳐 존재할 수 있다. 인간 이외의 종으로부터의 동족체를 포함하는, 본 발명의 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 서열 또는 이의 단편을 가지는 표지된 프로브와의 엄격한 혼성화 조건 하에 라이브러리를 선별하는 단계, 및 상기 폴리뉴클레오타이드 서열을 함유하는 전장 cDNA 및 게놈 클론을 단리시키는 단계를 포함하는 과정에 의해 얻어질 수 있다. 이러한 혼성화 기법은 당업자에게 널리 공지되어 있다.

[0279] 서열 비교를 위해, 전형적으로 하나의 서열은 시험 서열이 비교되는 기준 서열로서 작용한다. 서열 비교 알고리즘을 사용할 때, 시험 서열 및 기준 서열은 컴퓨터에 입력되고, 필요한 경우 하위서열 좌표가 지정되고, 서열 비교 프로그램 매개변수가 지정된다. 디폴트 프로그램 매개변수를 사용할 수 있거나, 대안적인 매개변수가 지정될 수 있다. 서열 비교 알고리즘은 이후 프로그램 매개변수에 기초하여 기준 서열에 대해 시험 서열에 대한 서열 동일성 백분율을 계산한다.

[0280] "비교 창"은, 본 명세서에 사용되는 바대로, 20개 내지 600개, 보통 약 50개 내지 약 200개, 더욱 보통 약 100개 내지 약 150개(여기서, 서열은 2개의 서열이 최적으로 정렬된 후 동일한 수의 인접 위치의 기준 서열과 비교될 수 있음)로 이루어진 군으로부터 선택된 인접 위치의 수의 임의의 하나의 분절에 대한 기준을 포함한다. 비교를 위한 서열의 정렬의 방법은 당업계의 당업자에게 공지되어 있다. 비교를 위한 서열의 최적 정렬은 문헌 [Smith and Waterman (1970) Adv. Appl. Math. 2:482c]의 국소 상동성 알고리즘에 의해, 문헌[Needleman and Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:443]의 상동성 정렬 알고리즘에 의해, 문헌[Pearson and Lipman (1988) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444]의 유사성 방법에 대한 조사에 의해, 이 알고리즘의 컴퓨터화 실행(위스콘신 제네틱스 소프트웨어 패키지(Wisconsin Genetics Software Package), 제네틱스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group)(위스콘신주 매디슨 사이언스 드라이브 575)에서의 GAP, BESTFIT, FASTA 및 TFASTA)에 의해, 또는 수동 정렬 및 시각 검사(예를 들어, 문헌[Ausubel et al, Current Protocols in Molecular Biology (1995 부록)] 참조)에 의해 수행될 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0281] 서열 동일성 및 서열 유사성의 백분율을 결정하기 위해 적합한 알고리즘의 일 예는 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이고, 이것은 각각 문헌[Altschul et al. (1997) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402, 및 Altschul et al. (1990)

J. Mol. Biol. 215:403-410]에 기재되어 있다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 ncbi.nlm.nih.gov에서 월드 와이드 웹(World Wide Web)에서 이용 가능한 국립 생물공학 정보 센터(National Center for Biotechnology Information)를 통해 공중에게 이용 가능하다. BLAST 알고리즘 매개변수 W, T 및 X는 정렬의 속도 및 민감도를 결정한다. (뉴클레오타이드 서열에 대한) BLASTN 프로그램은 디폴트로서 워드 길이(W) 11, 예측(E) 10, M=5, N=-4 및 가닥 둘 다의 비교를 이용한다. 아미노산 서열의 경우, BLASTP 프로그램은 디폴트로서 워드 길이 3 및 예측(E) 10을 이용하고, BLOSUM62 점수 매김 매트릭스(문헌[Henikoff and Henikoff (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915] 참조)는 (B) 50, 예측(E) 10, M=5, N=-4 및 가닥 둘 다의 비교를 정렬한다. BLAST 알고리즘이 통상적으로 수행되고, "낮은 복잡도" 필터가 꺼진다.

[0282] BLAST 알고리즘은 2개의 서열 사이의 유사성의 통계 분석을 또한 수행한다(예를 들어, 문헌[Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787] 참조). BLAST 알고리즘에 의해 제공된 유사성의 하나의 측정치는 2개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열 사이의 일치이 우연히 발생할 확률의 표시를 제공하는 가장 적은 합계 확률(P(N))이다. 예를 들어, 기준 핵산에 대한 시험 핵산의 비교 시 가장 적은 합계 확률이 약 0.2 미만, 또는 약 0.01 미만, 또는 약 0.001 미만인 경우 핵산은 기준 서열과 유사하다고 생각된다.

[0283] 어구 "선택적으로(또는 특이적으로) 혼성화한다"는 특정한 뉴클레오타이드 서열이 복합 혼합물(전체 세포, 또는 라이브러리 DNA 또는 RNA(이들로 제한되지는 않음)를 포함)에 존재할 때 엄격한 혼성화 조건 하에 오직 그 서열에 대한 분자의 결합, 이중화 또는 혼성화를 의미한다.

[0284] 어구 "엄격한 혼성화 조건"은, 당업계에서 공지된 바대로, 낮은 이온 농도 및 높은 온도의 조건 하에 DNA, RNA, 또는 다른 핵산의 서열, 또는 이의 조합의 혼성화를 의미한다. 통상적으로, 엄격한 조건 하에 프로브는 핵산의 복합 혼합물(전체 세포, 또는 라이브러리 DNA 또는 RNA(이들로 제한되지는 않음)를 포함)에서 이의 표적 하위서열에 혼성화하지만, 복합 혼합물에서 다른 서열에 혼성화하지 않는다. 엄격한 조건은 서열 의존적이고, 상이한 상황에서 상이할 것이다. 더 긴 서열이 더 높은 온도에서 특이적으로 혼성화한다. 핵산의 혼성화에 대한 광범위한 가이드는 문헌[Tijssen, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology - Hybridization with Nucleic Probes, "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid assays" (1993)]에서 발견된다.

[0285] 본 명세서에서 사용되는 용어 "공학 처리하다, 공학 처리된, 공학 처리하는"은 천연 유래 또는 재조합 폴리펩타이드 또는 이의 단편의 펩타이드 골격 또는 번역 후 변형의 임의의 조작을 포함하는 것으로 고려된다. 공학 처리는 아미노산 서열의 변형, 글리코실화 패턴의 변형 또는 개개 아미노산의 측쇄의 변형뿐만 아니라 이들 접근의 조합을 포함한다. 공학 처리된 단백질은 표준 분자 생물학 기법에 의해 발견되고 생성된다.

[0286] "단리된 핵산 분자 또는 폴리뉴클레오타이드"는 그의 천연 환경으로부터 제거된 의도된 핵산 분자, DNA 또는 RNA이다. 예를 들어, 벡터 내에 함유된 폴리펩타이드를 암호화하는 재조합 폴리뉴클레오타이드는 단리된 것으로 고려된다. 단리된 폴리뉴클레오타이드의 추가적인 예는 이중성 숙주 세포 또는 용액 중에서 (부분적으로 또는 실질적으로) 정제된 폴리뉴클레오타이드에서 유지된 재조합 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 단리된 폴리뉴클레오타이드는 보통 폴리뉴클레오타이드 분자를 함유하는 세포 내에 함유된 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함하지만, 폴리뉴클레오타이드 분자는 염색체밖에서 또는 그의 천연 염색체 위치와 상이한 염색체 위치에 존재한다. 단리된 RNA 분자는 생체내 또는 시험관내 RNA 전사체뿐만 아니라 양성 및 음성 가닥 형태, 및 이중 가닥 형태를 포함한다. 본 명세서에 기재된 단리된 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 추가로 합성적으로, 예를 들어 PCR 또는 화학적 합성을 통해 생성된 이러한 분자를 포함한다. 추가로, 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 조절 구성요소, 예컨대 프로모터, 리보솜 결합 부위 또는 전사 종결자를 포함한다.

[0287] 용어 "중합효소 연쇄 반응" 또는 "PCR"은 일반적으로, 예를 들어, 미국 특허 제4,683,195호에 기재된 바와 같이 목적으로 하는 시험관내 뉴클레오타이드 서열의 증폭 방법을 지칭한다. 일반적으로, PCR 방법은 주형 핵산에 우선적으로 혼성화할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 이용하여, 반복된 주기의 프라이머 연장 합성을 수반한다.

[0288] 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드가 본 발명의 기준 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도, 예를 들어 95% "동일한" 뉴클레오타이드 서열을 갖는 경우, 폴리뉴클레오타이드 서열이 기준 뉴클레오타이드 서열의 각각 100개의 뉴클레오타이드 당 5개까지의 점돌연변이를 포함할 수 있다는 것을 제외하고 폴리뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 서열은 기준 서열과 동일한 것으로 의도된다. 다시 말해서, 기준 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 95% "동일한" 뉴클레오타이드 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 얻기 위해, 기준 서열 내 뉴클레오타이드의 5%까지는 결실되거나 또는 다른 뉴클레오타이드로 치환될 수 있고, 또는 기준 서열 내 총 뉴클레오타이드의 5%까지의 뉴클

레오타이드 수는 기준 서열에 삽입될 수 있다. 기준 서열의 이들 변용은 기준 뉴클레오타이드 서열의 5' 또는 3' 위치에서 또는 기준 서열 내의 잔기 중에서 개개로 또는 기준 서열 내에서 하나 이상의 인접한 기에 배치된 해당 말단 위치 사이의 어디에서나 생길 수 있다. 실행적 방식으로, 임의의 특정 폴리뉴클레오타이드 서열이 본 발명의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한지의 여부는 공지된 컴퓨터 프로그램, 예컨대 폴리펩타이드에 대해 상기 논의한 것(예를 들어, ALIGN-2)을 관행적으로 이용하여 결정될 수 있다.

[0289] 폴리펩타이드의 유도체 또는 변이체는 유도체 또는 변이체의 아미노산 서열이 본래 펩타이드의 100개의 아미노산 서열과 적어도 50% 동일성을 가진다면, 펩타이드와 "상동성"을 공유하거나 또는 "상동성"일 수 있는 것으로 언급된다. 특정 실시형태에서, 유도체 또는 변이체는 유도체와 동일한 수의 아미노산 잔기를 갖는 펩타이드 또는 펩타이드의 단편과 적어도 75% 동일하다. 특정 실시형태에서, 유도체 또는 변이체는 유도체와 동일한 수의 아미노산 잔기를 갖는 펩타이드 또는 펩타이드의 단편과 적어도 85% 동일하다. 특정 실시형태에서, 유도체의 아미노산 서열은 유도체와 동일한 수의 아미노산 잔기를 갖는 펩타이드 또는 펩타이드의 단편과 적어도 90% 동일하다. 일부 실시형태에서, 유도체의 아미노산 서열은 유도체와 동일한 수의 아미노산 잔기를 갖는 펩타이드 또는 펩타이드의 단편과 적어도 95% 동일하다. 특정 실시형태에서, 유도체 또는 변이체는 유도체와 동일한 수의 아미노산 잔기를 갖는 펩타이드 또는 펩타이드의 단편과 적어도 99% 동일하다.

[0290] 본 명세서에서 사용되는 용어 "변형된"은 주어진 폴리펩타이드로 이루어진 임의의 변화, 예컨대 폴리펩타이드 길이에 대한 변화, 아미노산 서열, 화학적 구조, 공백 변형 또는 폴리펩타이드의 변형 후 변형을 지칭한다. 용어 형태가 "변형된"은 논의되는 폴리펩타이드가 선택적으로 변형된다는 것을 의미하며, 즉, 논의 하의 폴리펩타이드는 변형 또는 비변형일 수 있다.

[0291] 일부 양상에서, 항원-결합 작제물은 본 명세서에 개시된 표(들) 또는 수탁 번호(들)에 제공된 적절한 아미노산 서열 또는 단편에 대해 적어도 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 단리된 항원-결합 작제물은 본 명세서에 개시된 표(들) 또는 수탁 번호(들)에 제공된 적절한 뉴클레오타이드 서열 또는 이의 단편에 대해 적어도 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일한 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0292] 본 발명은 특정 프로토콜; 세포주, 작제물 및 본 명세서에 기재된 시약으로 제한되지 않으며 이러한 것은 다를 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 또한 본 명세서에 사용된 전문용어는 단지 특정 실시형태를 기재하는 목적을 위한 것이며, 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 의도되지 않는다는 것이 이해되어야 한다.

[0293] 본 명세서에서 언급된 모든 간행물 및 특허는, 예를 들어 현재 기재된 발명과 관련하여 사용될 수 있는 간행물에 기재된 작제물 및 방법을 기재하고 개시할 목적을 위해 본 명세서에 참고로 포함된다. 본 명세서에서 논의되는 간행물은 본 발명의 출원일 전의 그들의 개시내용에 대해서만 제공된다. 본 명세서의 어떤 것도 본 발명자들이 선행 발명 때문에 또는 임의의 다른 이유로 이러한 개시내용보다 선행한다는 자격을 부여하지 않는다는 용인으로서 해석되어서는 안 된다.

[0294]

참고문헌

Bowles JA, Wang SY, Link BK, Allan B, Beuerlein G, Campbell MA, Marquis D, Ondek B, Wooldridge JE, Smith BJ, Breitmeyer JB, Weiner GJ. Anti-CD20 monoclonal antibody with enhanced affinity for CD16 activates NK cells at lower concentrations and more effectively than rituximab. *Blood*. 2006 Oct 15;108(8):2648-54. Epub 2006 Jul 6.

Desjarlais JR, Lazar GA. Modulation of antibody effector function. *Exp Cell Res*. 2011 May 15;317(9):1278-85.

Ferrara C, Grau S, Jäger C, Sondermann P, Brünker P, Waldhauer I, Hennig M, Ruf A, Rufer AC, Stihle M, Umaña P, Benz J. Unique carbohydrate-carbohydrate interactions are required for high affinity binding between FcγRIII and antibodies lacking core fucose. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Aug 2;108(31):12669-74.

Heider KH, Kiefer K, Zenz T, Volden M, Stilgenbauer S, Ostermann E, Baum A, Lamche H, Küpcü Z, Jacobi A, Müller S, Hirt U, Adolf GR, Borges E. A novel Fc-engineered monoclonal antibody to CD37 with enhanced ADCC and high proapoptotic activity for treatment of B-cell malignancies. *Blood*. 2011 Oct 13;118(15):4159-68. Epub 2011 Jul 27. *Blood*. 2011 Oct 13;118(15):4159-68. Epub 2011 Jul 27.

[0295]

Lazar GA, Dang W, Karki S, Vafa O, Peng JS, Hyun L, Chan C, Chung HS, Eivazi A, Yoder SC, Vielmetter J, Carmichael DF, Hayes RJ, Dahiyat BI. Engineered antibody Fc variants with enhanced effector function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Mar 14;103(11):4005-10. Epub 2006 Mar 6.

Lu Y, Vernes JM, Chiang N, Ou Q, Ding J, Adams C, Hong K, Truong BT, Ng D, Shen A, Nakamura G, Gong Q, Presta LG, Beresini M, Kelley B, Lowman H, Wong WL, Meng YG. Identification of IgG(1) variants with increased affinity to FcγRIIIa and unaltered affinity to FcγRI and FcRn: comparison of soluble receptor-based and cell-based binding assays. *J Immunol Methods*. 2011 Feb 28;365(1-2):132-41. Epub 2010 Dec 23.

Mizushima T, Yagi H, Takemoto E, Shibata-Koyama M, Isoda Y, Iida S, Masuda K, Satoh M, Kato K. Structural basis for improved efficacy of therapeutic antibodies on defucosylation of their Fc glycans. *Genes Cells*. 2011 Nov;16(11):1071-1080.

Moore GL, Chen H, Karki S, Lazar GA. Engineered Fc variant antibodies with enhanced ability to recruit complement and mediate effector functions. *MAbs*. 2010 Mar-Apr;2(2):181-9.

Nordstrom JL, Gorlatov S, Zhang W, Yang Y, Huang L, Burke S, Li H, Ciccarone V, Zhang T, Stavenhagen J, Koenig S, Stewart SJ, Moore PA, Johnson S, Bonvini E. Anti-tumor activity and toxicokinetics analysis of MGAH22, an anti-HER2 monoclonal antibody with enhanced Fc-gamma receptor binding properties. *Breast Cancer Res*. 2011 Nov 30;13(6):R123. [Epub ahead of print]

Richards JO, Karki S, Lazar GA, Chen H, Dang W, Desjarlais JR. Optimization of antibody binding to FcγRIIIa enhances macrophage phagocytosis of tumor cells. *Mol Cancer Ther*. 2008 Aug;7(8):2517-27.

Schneider S, Zacharias M. Atomic resolution model of the antibody Fc interaction with the complement C1q component. *Mol Immunol*. 2012 May;51(1):66-72.

Shields RL, Namenuk AK, Hong K, Meng YG, Rae J, Briggs J, Xie D, Lai J, Stadlen A, Li B, Fox JA, Presta LG. High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc gamma RI, Fc gamma RII, Fc gamma RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc gamma R. *J Biol Chem*. 2001 Mar 2;276(9):6591-604.

Stavenhagen JB, Gorlatov S, Tuailon N, Rankin CT, Li H, Burke S, Huang L, Vijn S, Johnson S, Bonvini E, Koenig S. Fc optimization of therapeutic antibodies enhances their ability to kill tumor cells in vitro and controls tumor expansion in vivo via low-affinity activating Fcγ receptors. *Cancer Res*. 2007 Sep 15;67(18):8882-90.

Stewart R, Thom G, Levens M, Güler-Gane G, Holgate R, Rudd PM, Webster C, Jermutus L, Lund J. A variant human IgG1-Fc mediates improved ADCC. *Protein Eng Des Sel*. 2011 Sep;24(9):671-8. Epub 2011 May 18.

실시예

이하는 본 발명을 수행하기 위한 구체적 실시형태의 예이다. 예는 오직 예시 목적을 위해 제공되고, 임의의 방식으로 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 사용된 숫자(예를 들어, 양, 온도 등)와 관련하여 정확성을 보장하기 위해 노력을 하였지만, 몇몇 실험 오차 및 편차는 물론 허용되어야 한다.

본 발명의 실행은, 달리 표시되지 않은 한, 당해 분야의 지식 내에 단백질 화학, 생물화학, 재조합 DNA 기법 및

약리학의 전통적인 방법을 이용할 것이다. 이러한 기법은 문헌에 완전히 설명되어 있다. 예를 들어, 문헌[T.E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* (W.H. Freeman and Company, 1993); A.L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Edition, 1989); *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg *Advanced Organic Chemistry 3rd Ed.* (Plenum Press) Vols A and B(1992)]을 참조한다.

[0301] **실시예 1: 예시적인 항-HER2 2중 특이성 항체 및 대조군의 제조**

[0302] 다수의 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체(또는 항원-결합 작제물) 및 대조군을 이하에 기재하는 바와 같이 제조하였다. 항체 및 대조군을 상이한 형식으로 제조하고, 예시적인 2중 파라토프 형식의 표시를 도 1에 나타낸다. 도 1에 나타난 모든 형식에서, 이형이량체 Fc는 검정색으로 나타내는 하나의 쇠(쇠 A) 및 회색으로 나타내는 다른 쇠(쇠 B)로 도시하는 한편, 하나의 항원-결합 도메인(1)은 빗금으로 채워서 나타낸 반면, 다른 항원-결합 도메인(2)은 흰색으로 나타낸다.

[0303] 도 1A는 Fab-Fab 형식으로 2중 파라토프 항체의 구조를 도시한다. 도 1B 내지 도 1E는 scFv-Fab 형식으로 2중 파라토프 항체의 가능한 형태의 구조를 도시한다. 도 1B에서, 항원-결합 도메인 1은 쇠 A에 융합된 scFv인 반면, 항원-결합 도메인 2는 쇠 B에 융합된 Fab이다. 도 1C에서, 항원-결합 도메인 1은 쇠 A에 융합된 Fab인 한편, 항원-결합 도메인 2는 쇠 B에 융합된 scFv이다. 도 1D에서, 항원-결합 도메인 2는 쇠 A에 융합된 Fab인 한편, 항원-결합 도메인 1은 쇠 B에 융합된 scFv이다. 도 1E에서, 항원-결합 도메인 2는 쇠 A에 융합된 scFv인 한편, 항원-결합 도메인 1은 쇠 B에 융합된 Fab이다. 도 1F에서, 항원-결합 도메인은 둘 다 scFv이다.

[0304] 다음의 변이체의 서열은 실시예 이후에 발견되는 서열 표에서 제공한다. 카바트 및 코티아(Chothia) 방법의 조합을 이용하여 CDR 영역을 동정하였다. 영역은 동정을 위해 사용한 방법에 기반하여 약간 다를 수 있다.

[0305] **예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체**

[0306] 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체를 표 1에 나타내는 바와 같이 제조한다.

표 1

예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체

변이체		쇠 A	쇠 B
5019	에피토프를 함유하는 도메인	ECD2	ECD4
	형식	Fab	scFv
	항체명	퍼투주맵	트라스투주맵
	CH3 서열 치환	T350V_L351Y_F405A_Y407V	T366I_N390R_K392M_T394W
5020	에피토프를 함유하는 도메인	ECD4	ECD2
	형식	scFv	Fab
	항체명	트라스투주맵	퍼투주맵
	CH3 서열 치환	L351Y_S400E_F405A_Y405V	T350V_T366L_K392L_T394W
7091	에피토프를 함유하는 도메인	ECD2	ECD4
	형식	Fab	scFv
	항체명	퍼투주맵	트라스투주맵

[0307]

	CH3 서열 치환	T350V_L351Y_F405A_Y405V	T350V_T366L_K392L_T394W
10000	에피토프를 함유하는 도메인	ECD2	ECD4
	형식	Fab	scFv
	항체명	피투주맵 - VL 영역에서 Y96A 및 VH 영역에서 T30A/A49G/L69F 을 지님	트라스투주맵
	CH3 서열 치환	T350V_L351Y_F405A_Y405V	T350V_T366L_K392L_T394W
6902	에피토프를 함유하는 도메인	ECD2	ECD4
	형식	Fab	Fab
	항체명	트라스투주맵	피투주맵
	Fab 치환	HC: L143E_K145T LC: Q124R	HC: D146G_Q179K LC: Q124E_Q160E_T180E
	CH3 서열 치환	T350V_L351Y_F405A_Y405V	T350V_T366L_K392L_T394W
6903	에피토프를 함유하는 도메인	ECD2	ECD4
	형식	Fab	Fab
	Fab 치환	HC: L143E_K145T LC: Q124R_Q1160K_T178R	HC: D146G_Q179K LC: Q124E_Q160E_T180E
	항체명	트라스투주맵	피투주맵
	CH3 서열 치환	T350V_L351Y_F405A_Y405V	T350V_T366L_K392L_T394W
6717	에피토프를 함유하는 도메인	ECD4	ECD2
	형식	scFv	scFv
	항체명	피투주맵	트라스투주맵
	CH3 서열 치환	T350V_L351Y_F405A_Y405V	T366I_N390R_K392M_T394W

주의:

- EU 항체의 넘버링에 관해 카바트에서와 같이 EU 인덱스에 따라 CH3 넘버링 (Edelman et al., 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85);
- 카바트에 따라 Fab 또는 가변 도메인 넘버링 (Kabat and Wu, 1991; Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest. 5th Edition - US Department of Health and Human Services, NIH publication n° 91-3242, p 647 (1991))

[0308]

- "에피토프를 함유하는 도메인" = 항원-결합 모이어티가 결합하는 HER2의 도메인;
- "항체 명칭" = 항원-결합 모이어티로부터 유래된 항체가 야생형(존재할 때)에 비해 치환을 포함함;
- "Fab 치환" = 정확한 경쇄쌍을 촉진하는 Fab에서의 치환;
- "CH3 서열 치환" = 이형이량체 Fc의 형성을 촉진시키는 CH3 도메인에서의 치환

[0309]

[0310]

예시적인 항-HER2 1가 대조군 항체

[0311]

v1040: HER2 결합 도메인이 쇠 A 상에서 트라스투주맵으로부터 유래된 Fab이고, Fc 영역이 쇠 A에서 돌연변이 T350V_L351Y_F405A_Y407V, 쇠 B에서 T350V_T366L_K392L_T394W를 갖고, 돌연변이 C226S를 갖는 쇠 B의 힌지 영역을 갖는 경우의 1가 항-HER2 항체; 항원-결합 도메인은 HER2의 도메인 4에 결합한다.

[0312]

v630 - HER2 결합 도메인이 쇠 A 상에서 트라스투주맵으로부터 유래된 scFv이고, Fc 영역은 쇠 A에서 돌연변이 L351Y_S400E_F405A_Y407V, 쇠 B에서 T366I_N390R_K392M_T394W를 갖는 이형이량체이며, 쇠 둘 다에서 돌연변이 C226S(EU 넘버링)을 갖는 힌지 영역을 갖는 경우의 1가 항-HER2 항체; 항원-결합 도메인은 HER2의 도메인 4에

결합한다.

- [0313] v4182: HER2 결합 도메인은 쇠 A 상에서 퍼투주맙으로부터 유래된 Fab이고, Fc 영역은 쇠 A에서 돌연변이 T350V_L351Y_F405A_Y407V, 쇠 B에서 T350V_T366L_K392L_T394W를 갖고, 돌연변이 C226S를 갖는 쇠 B의 힌지 영역을 갖는 이형이량체인 경우의 1가 항-HER2 항체; 항원-결합 도메인은 HER2의 도메인 2에 결합한다.
- [0314] **예시적인 항-HER2 단일특이성 2가 항체 대조군(완전한 크기의 항체, FSA)**
- [0315] v506은 중국 햄스터 난소는 대조군으로서 내부에서 중국 햄스터 난소(CHO) 세포에서 생성한 야생형 항 HER2이다. HER2 결합 도메인은 둘 다 Fab 형식에서 트라스투주맙으로부터 유래되고 Fc는 야생형 동형이량체이며; 항원-결합 도메인은 HER2의 도메인 4에 결합된다. 이 항체는 또한 트라스투주맙 유사체로서 지칭된다.
- [0316] v792는 IgG1 힌지를 지니는 야생형 트라스투주맙이며, HER2 결합 도메인은 둘 다 Fab 형식에서 트라스투주맙으로부터 유래되고, Fc 영역은 쇠 A에서 돌연변이 T350V_L351Y_F405A_Y407V 및 쇠 B에서 T350V_T366L_K392L_T394W를 갖는 이형이량체이며; 항원-결합 도메인은 HER2의 도메인 4에 결합한다. 이 항체는 또한 트라스투주맙 유사체로서 지칭된다.
- [0317] v4184, HER2 결합 도메인은 둘 다 Fab 형식에서 퍼투주맙으로부터 유래되고, Fc 영역은 쇠 A에서 돌연변이 T350V_L351Y_F405A_Y407V 및 쇠 B에서 T350V_T366L_K392L_T394W를 갖는 이형이량체인, 2가 항-HER2 항체. 항원-결합 도메인은 HER2의 도메인 2에 결합한다. 이 항체는 또한 퍼투주맙 유사체로서 지칭된다.
- [0318] hIgG는 상업적 비특이적 다클론성 항체 대조군이다(잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch), # 009-000-003).
- [0319] 이들 항체 및 대조군(인간 IgG 이외)을 다음과 같이 클로닝하고 발현시켰다. 항체 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자를 인간/포유류 발현을 위해 최적화한 코돈을 이용하여 유전자 합성을 통해 구성하였다. 트라스투주맙 Fab 서열을 공지된 HER2/neu 도메인 4 결합 항체로부터 생성하였다(Carter P. et al. (1992) Humanization of an anti pi 85 her2 antibody for human cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci* 89, 4285.) 그리고 Fc는 IgG1 아형이었다. 글리신-세린 링커를 이용하여 트라스투주맙의 VH 및 VL 도메인으로부터 scFv 서열을 생성하였다(Carter P. et al. (1992) Humanization of an anti pi 85 her2 antibody for human cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci* 89, 4285.). 퍼투주맙 Fab 서열을 공지된 HER2/neu 도메인 2 결합 Ab로부터 생성하였다(Adams C W et al. (2006) Humanization of a recombinant monoclonal antibody to produce a therapeutic her dimerization inhibitor, Pertuzumab. Cancer Immunol Immunother. 2006;55(6):717-27).
- [0320] 최종 유전자 산물을 포유류 발현 벡터 PTT5(NRC-BRI, 캐나다에 소재) 내로 서브 클로닝시키고 나서, CHO 세포에서 발현시켰다(Durocher, Y., Perret, S. & Kamen, A. High-level and high-throughput recombinant protein production by transient transfection of suspension-growing CHO cells. *Nucleic acids research* 30, e9 (2002)).
- [0321] CHO 세포를 2.5:1의 PEFDNA 비에서 수성 1mg/ml 25kDa 폴리에틸렌이민(PEI, 폴리사이언시스(polysciences))을 이용하여 대수 증식기에 형질감염시켰다(1.5 내지 2백만개 세포/ml). (Raymond C. et al. A simplified polyethylenimine-mediated transfection process for large-scale and high-throughput applications. *Methods*. 55(1):44-51 (2011)). 이형이량체를 형성하기 위한 최적의 농도 범위를 결정하기 위해, DNA를 이형이량체 형성을 가능하게 하는 중쇄(HC-A), 경쇄(LC) 및 중쇄 B(HC-B)의 최적의 DNA 비로 형질감염시켰다(예를 들어 HC-A/HC-B/LC 비 = 30:30:40 (v5019)). 4000rpm에서 원심분리 후에 수집한 배양 배지를 이용하여 5 내지 6일 후에 형질감염 세포를 채취하고 나서 0.45µm 필터를 이용하여 정제하였다.
- [0322] 정제한 배양 배지를 맵셀렉트 수레(MabSelect SuRe)(GE 헬스케어사(GE Healthcare)) 단백질 A-칼럼 상에 장입시키고 나서, pH 7.2에서 PBS 완충제의 10개 칼럼 용적으로 세척하였다. 항체를 pH 11에서 트리스로 중화시킨 항체를 함유하는 폴링한 분획을 이용하여 pH 3.6에서 시트르산 완충제 10개 칼럼 용적으로 용리시켰다.
- [0323] 단백질-A 항체 용리액을 겔 여과(SEC)에 의해 추가로 정제하였다. 겔 여과를 위해, 3.5mg의 항체 혼합물을 1.5 ml로 농축시키고, 1ml/분의 유속으로 AKTA 익스프레스 FPLC(AKTA Express FPLC)를 통해 세파덱스 200 하이로드(Sephadex 200 HiLoad) 16/600 200 pg 칼럼(GE 헬스케어사) 상에 장입시켰다. pH 7.4에서 PBS 완충제를 1ml/분의 유속에서 사용하였다. 정제한 항체에 대응하는 분획을 수집하고, ~1mg/ml로 농축시켰다.
- [0324] 상이한 분자 형식을 지니는 예시적인 항-HER2 ECD2 x ECD4 2중 파라토프 항체(예를 들어 v6717, scFv-scFv

IgG1; v6903 및 v6902 Fab-Fab IgG1; v5019, v7091 및 v10000 Fab-scFv IgG1)를 클로닝시키고, 발현 후 상기 기재한 바와 같이 정제하였다.

[0325] 항체 정제를 정량화하기 위해 그리고 표적 이형이량체 단백질 및 가능한 동형이량체 및/또는 절반의 항체 및/또는 잘못 짝지어진 경쇄 오염물질의 양을 결정하기 위해, LC-MS 무결함 질량 분석을 수행하였다. LC-MS 무결함 질량 분석을 ADC 분자에 대해 사용한 DAR 분석 계산을 제외하고 실시예 2에 기재한 바와 같이 수행하였다.

[0326] 데이터를 표 2에 나타낸다. 표 2는 이들 2중 파라토프 항체의 발현 및 정제가 v6717에 대해 목적으로 하는 산물 100%, v6903에 대해 목적으로 하는 이형이량체 산물 91% 및 v6902에 대해 목적으로 하는 산물 62%를 생성한다는 것을 나타낸다. 괄호의 숫자는 주요 피크의 양 플러스 + 81Da의 사이드 피크를 나타낸다. 이 사이드 피크는 전형적으로 C-말단 HA 태그를 함유하는 변이체(v6903 및 v6902)를 이용하여 검출된다. 주요 피크 및 사이드 피크를 더하는 것은 v6903 및 v6903에 대해 대략 98% 및 67%의 이형이량체 순도를 수득한다. 고이형이량체 순도에 기반하여, scFv-scFv 및 Fab-scFv 형식에 대한 직접 비교를 위한 대표적인 Fab-Fab 항-HER2 2중 파라토프 변이체로서 v6903를 동정하였다. v6903은 모든 형식 비교 분석에 포함시켰다.

표 2

항체의 발현 및 정제

변이체	목적으로 하는 이형이량체 총(+사이드 피크)
6717	100.0
6903	90.9 (97.7)
6902	62.4 (67.4)

[0327]

실시예 2: 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 제조

다음의 항-HER2 2중 파라토프 항체 약물 컨쥬게이트(항-HER2 2중 파라토프-ADC)를 제조하였다. 변이체 5019, 7091, 10000 및 506의 ADC를 제조하였다. 이들 ADC를 다음과 같이 동정한다:

[0330] v6363(DM1에 컨쥬게이팅된 v5019)

[0331] v7148(DM1에 컨쥬게이팅된 v7091)

[0332] v10553(DM1에 컨쥬게이팅된 v10000)

[0333] v6246(DM1에 컨쥬게이팅된 v506, T-DM1에 유사, 트라스투주맙-엠탄신) v6249(DM1에 컨쥬게이팅된 인간 IgG)

[0334] 메이탄신에 대한 직접 결합을 통해 ADC를 제조하였다. 실시예 1에 기재한 바와 같이(95% 초과 순도) 단백질 A 및 SEC에 의해 정제된 항체를 ADC 분자의 제조에서 사용하였다. ADC를 문헌[Kovtun YV, Audette CA, Ye Y, et al. Antibody-drug conjugates designed to eradicate tumors with homogeneous and heterogeneous expression of the target antigen. Cancer Res 2006;66:3214-21]에 기재된 방법에 따라 컨쥬게이팅하였다. ADC는 LC/MS에 의해 결정하고 이하에 기재하는 바와 같이 항체 당 3.0의 메이탄시노이드 분자의 평균 몰비를 가졌다.

[0335] ADC 컨쥬게이션 반응에서 사용한 시약의 상세한 설명은 다음과 같다: 컨쥬게이션 완충제 1: 50mM 인산칼륨/50mM 염화나트륨, pH 6.5, 2mM EDTA. 컨쥬게이션 완충제 2: 50mM 숙신산나트륨, pH 5.0. ADC 제형 완충제: 20mM 숙신산나트륨, 6%(w/v) 트레할로스, 0.02% 폴리솔베이트 20, pH 5.0. 다이메틸아세트아마이드(DMA); DMA 중의 10mM SMCC(컨쥬게이션 전에 제조), DMA 중의 10mM DM1-SH(컨쥬게이션 전에 제조), PBS 중의 1mM DTNB, 완충제 중의 1mM 시스테인, 20mM 숙신산나트륨, pH 5.0. UV-VIS 분광광도계(피셔 사이언티픽사(Fisher Scientific)의 나노 드롭 100), PD-10 칼럼(GE 헬스케어사).

[0336] ADC를 다음과 같이 제조하였다. 시작 항체 용액을 25ml의 컨쥬게이션 완충제 1 다음에 0.5ml 컨쥬게이션 완충제 1을 이용하여 앞서 평형상태로 만든 PD-10 칼럼 상에 장입시켰다. 항체 용리액을 수집하고 나서, 농도를 A₂₈₀에서 측정하고, 농도를 20mg/ml로 조절하였다. DMA 중의 10mM SMCC-DM1 용액을 제조하였다. 항체에 대해 7.5 몰당량의 SMCC-DM1을 항체 용액에 첨가하고 나서, DMA를 최종 DMA 용액 10% v/v에 첨가하였다. 반응물을 잠시 혼

합하고 나서, 실온에서 2시간 동안 인큐베이션시켰다. 두 번째 PD-10 칼럼을 25ml의 컨주게이션 완충제 1을 이용하여 평형상태로 만들고 나서, 항체-MCC-DM1 용액을 칼럼에 첨가한 다음 0.5ml의 완충제 1을 첨가하였다. 항체-MCC-DM1 용리액을 수집하고 나서, A₂₅₂ 및 A₂₈₀의 항체 용액을 측정하였다. 항체-MCC-DM1 농도를 계산하였다 ($\square = 1.45\text{mg}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 또는 $217500\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). ADC를 고 MW 분석을 위한 SEC-HPLC 칼럼 상에서 분석하였다(SEC-HPLC 칼럼 TOSOH, G3000-SWL, 7.8mm x 30cm, 완충제, 100mM 인산나트륨, 300mM 염화나트륨, pH 7.0, 유속: 1ml/분).

[0337] ADC 약물 대 항체비(DAR)를 토소(Tosoh) TSK 겔 뷰틸-NPR 칼럼(4.6mm x 3.5mm x 2.5mm)을 이용하는 HIC-HPLC에 의해 분석하였다. 25분에 걸쳐 10 내지 90% 완충제 B 다음에 4분 동안 100% 완충제 B의 구배를 이용하여 1ml/분으로 용리를 수행하였다. 완충제 A는 20mM 인산나트륨, 1.5M 황산암모늄, pH 7.0을 포함한다. 완충제 B는 20mM 인산나트륨, 25% v/v 아이소프로판올, pH 7.0을 포함한다.

[0338] ADC 약물 대 항체비(DAR)를 다음의 방법에 의해 LC-MS에 의해 결정하였다. 항체를 LC-MS 상에 장입하기 전에 PNGase F를 이용하여 탈글리코실화하였다. 다음의 조건을 이용하여 애질런트 1100 시리즈 HPLC 상에서 액체 크로마토그래피를 수행하였다.

[0339] 유속: MS에 대해 100 μ l/분으로 1ml/분 분할 포스트 칼럼(post column). 용매: ddH₂O 중에서 A = 0.1% 폼산, B = 65% 아세토나이트릴, 25% THF, 9.9% ddH₂O, 0.1% 폼산. 칼럼: 2.1 x 30mm PorosR2. 칼럼 온도: 80 $^{\circ}$ C; 용매를 또한 사전 가열하였다. 구배: 20% B(0 내지 3분), 20 내지 90% B(3 내지 6분), 90 내지 20% B(6 내지 7분), 20%B(7 내지 9분).

[0340] 후속적으로 질량분석법(MS)을 다음의 조건 하에 LTQ-오비트랩(Orbitrap) XL 질량분석계 상에서 수행하였다: 이온 맥스 전기분무(Ion Max Electrospray)를 이용하는 이온화 방법. 교정(Calibration) 및 조정 방법: CsI의 2 mg/ml 용액을 10 μ l/분의 유속에서 주입한다. 자동 조정 특성을 이용하여 m/z 2211에 대해 오비트랩을 조정하였다(관찰한 전체 CsI 이온 범위: 1690 내지 2800). 콘 전압: 40V; 튜브 렌즈: 115V; FT 해상도: 7,500; 스캔 범위 m/z 400-4000; 스캔 지연: 1.5분. 써모사(Thermo)의 프로매스(Promass) 데콘볼루션 소프트웨어를 이용하여 데이터의 분자량 프로파일을 생성하였다. 각각의 분획 피크에서 관찰한 DAR의 함수로서 샘플의 평균 DAR을 결정하였다(계산: Σ (DAR x 분획 피크 강도)를 이용).

[0341] 표 3은 ADC 분자에 대한 평균 DAR을 요약한다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 대조군에 대한 평균 DAR은 대략 3이었다.

표 3

ADC에 대한 평균 DAR

	DAR (LC-MS)	DAR (HIC)	n
v6246	2.9	3.0	5
v6363	2.6	3.3	5
v7148	3.4	3.9	1
v10553	4.0	4.0	1

[0342] **실시에 3; 항-HER2 2중 파라토프 항체의 발현 및 실험실용 규모(bench-scale) 정제**

[0343] 실시예 1에 기재한 항-HER2 2중 파라토프 항체(v5019, v7091 및 v10000)를 10 및/또는 25 l 용적으로 발현시키고, 다음과 같이 단백질 A 및 크기 배제 크로마토그래피(SEC)에 의해 정제하였다.

[0344] 정제한 배양 배지를 맵셀렉트 수레(GE 헬스케어사) 단백질-A 칼럼 상에 장입시키고 나서, pH 7.2에서 PBS 완충제의 10 칼럼 용적으로 세척하였다. 항체를 pH 11에서 트리스를 이용하여 중화시킨 항체를 함유하는 폴링 분획을 이용하여 pH 3.6에서 시트르산염 완충제 10 칼럼 용적으로 용리시켰다.

[0345] 단백질-A 항체 용리액(SEC)을 겔 여과에 의해 추가로 정제하였다. 겔 여과를 위해, 3.5mg의 항체 혼합물을 1.5 ml로 농축시키고 나서, 1ml/분의 유속에서 AKTA 익스프레스 FPLC를 통해 세파덱스 200 하이로드 16/600 200pg 칼럼(GE 헬스케어사) 상에 장입하였다. pH 7.4에서 PBS 완충제를 1ml/분의 유속에서 사용하였다. 정제한 항체에

대응하는 분획을 수집하고 나서, ~1mg/ml로 농축시켰다. 정제한 단백질을 실시예 2에 기재한 바와 같이 LC-MS에 의해 분석하였다.

- [0347] 10L 발현 및 실험실 규모 단백질 A 및 SEC 정제의 결과를 도 2a 및 도 2b에 나타낸다. 도 2a는 단백질 A 정제된 v5019의 SEC 크로마토그래피를 나타내며, 도 2b는 단백질 A 폴링 분획뿐만 아니라 SEC 분획 15 및 19 및 폴링한 SEC 분획 16 내지 18의 상대적 순도와 비교하는 비환원 SDS-PAGE 겔을 나타낸다. 이들 결과는 항-HER2 2중 파라토프 항체가 발현되었고, 단백질 A 및 SEC에 의한 정제로 순수한 단백질 샘플을 수득하였다는 것을 나타낸다. 추가적인 정량화를 UPLC-SEC 및 LC-MS 분석에 의해 수행하였고, 이를 실시예 4에 기재한다.
- [0348] 25L 발현 및 실험실 규모 단백질 A 및 SEC 정제의 결과를 도 2c에 나타낸다. 도 2c는 단백질 A 정제된 v10000의 상대적 순도를 비교하는 SDS-PAGE 겔을 나타낸다. 라인 M은 단백질 마커를 포함하고; 라인 1은 환원 조건 하에서 v10000를 포함하며; 라인 2는 비환원 조건 하에서 v10000를 포함한다. SDS-PAGE 겔은 v10000이 순수하고 비환원 조건 하에 대략 125kDa의 정확한 예측 MW에서 실행된다는 것을 나타낸다. 환원 조건 하에서 두 중쇄 밴드는 CH-A 중쇄(대략 49kDa) 및 CH-B 중쇄(대략 52.5kDa)에 대응하여 가시적이었고; CH-A 경쇄는 대략 23.5kDa의 정확한 예측 질량에서 가시적이며 실행된다. 이들 결과는 항-HER2 2중 파라토프 항체가 발현되고 단백질 A에 의해 1단계 정제가 순수한 단백질 샘플을 수득하였다는 것을 나타낸다. 추가적인 정량화를 UPLC-SEC 및 LC-MS 분석에 의해 수행하였고 실시예 4에 기재한다.
- [0349] **실시예 4: UPLC-SEC 및 LC-MS에 의한 2중 파라토프 항-HER2 항체 순도의 분석**
- [0350] 예시적인 단백질 A 및 SEC 정제된 2중 파라토프 항-HER2 이형다량체의 순도 및 응집 백분율을 기재한 방법에 따라 UPLC-SEC에 의해 결정하였다.
- [0351] 0.4ml/분에서 30°C로 설정한 워터스(Waters) BEH200 SEC 칼럼(2.5ml, 4.6 x 150mm, 스테인레스강, 1.7µm 입자)을 이용하여 UPLC-SEC 분석을 수행하였다. 실행 시간 7분, 및 주사 당 총 용적 2.8ml과 실행 완충제 25mM 인산나트륨, 150mM 아세트산나트륨, pH 7.1; 및, 150mM 인산나트륨, pH 6.4 내지 7.1로 이루어졌다. 90 내지 400 nm에서 그리고 280nm에서 여기 및 300 내지 360nm에서 수집한 방출을 이용하는 형광에 의해 흡광도에 의한 검출이 용이하게 되었다. 임파워(Empower) 3 소프트웨어에 의해 피크 통합을 분석하였다.
- [0352] 폴링한 v5019 SEC 분획의 UPLC-SEC 결과를 도 3a에 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체가 단백질 A 및 SEC 크로마토그래피에 의해 99% 초과 순도(1% 미만의 HMW 중)로 정제되었다는 것을 나타낸다.
- [0353] v10000 폴링한 단백질 A 분획의 UPLC-SEC 결과를 도 3b에 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체가 단백질 A 크로마토그래피에 의해 96% 초과 순도(1% 미만의 HMW 중)로 정제되었다는 것을 나타낸다.
- [0354] 실시예 2에 기재한 방법에 의해 표준 조건 하에서 LC-MS를 이용하여 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체 순도를 결정하였다. v5019의 폴링한 SEC 분획의 LC-MS 분석으로부터의 결과를 도 4a에 나타낸다. 이 데이터는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 이형이량체가 이형이량체 순도 100%를 가진다는 것을 나타낸다. v10000의 폴링한 단백질 A 분획의 LC-MS 분석으로부터의 결과를 도 4b에 나타낸다. 이 데이터는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 이형이량체가 1 단계 단백질 A 정제 후에 98%의 이형이량체 순도를 가진다는 것을 나타낸다.
- [0355] 단백질 A 크로마토그래피 및/또는 단백질 A 및 SEC에 의해 정제한 항체를 다음의 예에 기재한 분석에 대해 사용하였다.
- [0356] **실시예 5. 단백질 A 및 CEX 크로마토그래피에 의해 정제한 2중 파라토프 항-HER2 항체의 대규모 발현 및 제조가능성 평가**
- [0357] 실시예 1에 기재한 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 v5019를 25ℓ 규모로 발현시키고, 다음과 같이 정제하였다.
- [0358] 상청액으로부터 그리고 그 다음에 단백질 A 정제(맙셀렉트(상표명) 수지; GE 헬스케어사) 다음에 양이온 교환 크로마토그래피(하이트랩(상표명) SP FF 수지; GE 헬스케어사)로 이루어진 2 단계 정제 방법으로부터 항체를 얻었다.
- [0359] CHO-3E7 세포를 오비탈 진탕기(펜실베이니아주 체스터에 소재한 VWR 사이언티픽사(VWR Scientific)) 상에서 5% CO₂(매사추세츠주 액턴에 소재한 커밍 인코포레이티드사(Coming Inc.))와 함께 37°C에서 엘렌마이어 플라스크에서 무혈청 프리스타일 CHO 발현 배지(미국 캘리포니아주 칼스베드에 소재한 인비트로젠사(Invitrogen))에서 유지하였다. 형질감염 2일 전에, 웨이브 바이오리액터 시스템(Wave Bioreactor System) 20/50(GE 헬스케어사 바이

오-사이언스 코퍼레이션(GE Healthcare Bio-Science Corp))을 이용하여 세포를 25 l의 용적으로 50 l 셀백(CellBag) 내에서 적절한 밀도로 파중시켰다. 형질감염일에, DNA 및 PEI(독일 에펠하임에 소재한 폴리사이언스즈(Polysciences))를 최적의 비로 혼합하고 나서, 실시예 1에 기재한 방법을 이용하여 세포에 첨가하였다. 제6일에 수집한 세포 상청액을 추가 정제를 위해 사용하였다.

[0360] 세포 배양 브로스를 원심분리시키고 여과시킨 후 10.0 ml/분으로 XK26/20 (GE 헬스케어사, 스웨덴 옉살라)에서 패킹한 30ml 막셀렉트(상표명) 상에 장입시켰다. 적절한 완충제를 이용하는 세척 및 용리 후에, 분획을 수집하고 나서, 1M 트리스-HCl, pH 9.0로 중화시켰다. XK16/20(스웨덴 옉살라에 소재한 GE 헬스케어사)에 패킹한 20ml SP FF 수지를 통해 표적 단백질을 추가로 정제하였다. 막셀렉트(상표명) 정제 샘플을 20mM NaAC, pH 5.5를 이용하여 희석시켜 전도도를 5ms/cm 미만으로 조절하고, 50mM 시트르산(pH3.0)을 첨가하여 샘플 pH 값 5.5로 조절하였다. 샘플을 하이트랩(상표명) SP FF 수지(GE 헬스케어사) 상에 1ml/분으로 장입시키고 나서, 20mM NaAC로 세척하였다. 20mM NaAC, 1M NaCl, pH 5.5, 1ml/분에서 10CV의 구배 용리 0 내지 100%를 이용하여 단백질을 용리시켰다.

[0361] 정제 단백질을 실시예 1에 기재한 바와 같은 SDS-PAGE에 의해, 그리고 실시예 4에 기재한 방법에 의해 이형이량체 순도에 대해 LC-MS에 의해 분석하였다. 결과를 도 5a 및 도 5b에 나타낸다. 도 5a는 막셀렉트(상표명) 및 하이트랩(상표명) SP FF 정제 후에 v5019의 SDS-PAGE 결과를 나타내고; 라인 M은 단백질 마커; 라인 1: 환원 조건 하의 v5019(3µg); 라인 2: 비환원 조건 하의 v5019(2.5µg)를 포함한다. SDS-PAGE 겔은 v5019가 막셀렉트(상표명) 및 하이트랩(상표명) SP FF 정제 후에 상대적으로 순수하며, 그리고 비환원 조건 하에서 대략 125 kDa의 정확한 예측 MW에서 실행된다는 것을 나타낸다. 환원 조건 하에서, 두 중쇄 밴드는 CH-A 중쇄(대략 49kDa) 및 CH-B 중쇄(대략 52.5kDa)에 대응하여 가시적이며; CH-A 경쇄는 가시적이고, 대략 23.5kDa의 정확한 예측 질량에서 실행된다.

[0362] 실시예 4에 기재한 방법을 이용하여 이형이량체 순도를 결정하기 위해 막셀렉트(상표명) 및 하이트랩(상표명) SP FF 정제된 v5019의 LC-MS 분석을 수행하였다. LC-MS 분석으로부터의 결과를 도 5b에 나타낸다. 이들 결과는 막셀렉트(상표명) 및 하이트랩(상표명) SP FF를 이용하는 v5019 정제가 99% 초과인 이형이량체 순도(거의 없는 1% 미만) 또는 검출불가능한 동형이량체 또는 절반 항체 오염물질)를 수득한다는 것을 나타낸다.

[0363] **실시예 6: 저수준 내지 고수준의 HER2를 발현시키는 세포주에서 대조군의 Bmax에 대한 2중 파라토프 항-HER2 항체의 Bmax의 비교**

[0364] 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체가 대조군에 비해 변화하는 수준의 HER2를 발현시키는 세포에 결합하는 능력을 측정하기 위해 다음의 실험을 수행하였다. 사용한 세포주는 SKOV3(HER2 2+/3+), JIMT-1(HER2 2+), MDA-MB-231(HER2 0/1+) 및 MCF7(HER2 1+)였다. 시험한 2중 파라토프 항-HER2 항체는 v5019, v7091 및 v10000을 포함한다. B_{max} 및 겔보기 K_D(평균 헤리상수)의 구체적 측정에 의해 2중 파라토프 항-HER2 항체가 HER2 발현(HER2+) 세포에 결합하는 능력을 이하에 기재한 바와 같이 결정하였다.

[0365] HER2+ 세포 표면에 대한 시험 항체의 결합을 유세포 분석에 의해 결정하였다. PBS를 이용하여 세포를 세척하고 나서, 1x10⁵ 개 세포/100µl에서 DMEM 중에 재현탁시켰다. 100µl 세포 현탁액을 각각 마이크로원심관에 첨가한 후에 10µl/관의 항체 변이체를 첨가하였다. 관을 4°C에서 2시간 동안 로테이터 상에서 인큐베이션시켰다. 마이크로원심관을 2분 동안 2000RPM, 실온에서 원심분리시키고 나서, 세포 펠렛을 500µl 배지로 세척하였다. 각각의 세포 펠렛을 2µg/샘플로 배지 내에서 희석시킨 100µl의 플루오로크롬-표지 2차 항체로 재현탁시켰다. 이어서, 샘플을 로테이터 상에서 1시간 동안 4°C에서 인큐베이션시켰다. 인큐베이션 후에, 세포를 2분 동안 2000 rpm에서 원심분리시키고 배지에서 세척하였다. 세포를 500µl 배지에서 재현탁시키고 나서, 5µl 요오드화 프로피디움(PI)을 함유하는 관에서 여과시키고, 제조업자의 설명서에 따라 BD LSR II 유세포 분석기 상에서 분석하였다. 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 이형이량체 항체 및 대조군 항체의 KD를 데이터 분석과 함께 FACS에 의해 평가하고 나서, 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism)에서 곡선 맞춤을 수행하였다.

[0366] 결과를 도 6a 내지 도 6g에 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019, v7091 및 v10000)가 항-HER2 FSA(v506)에 비해 대략 1.5배 더 높은 B_{max}로 HER2+ 세포에 결합할 수 있다는 것을 입증한다. 도 6a 내지 도 6g의 결과는 또한 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019, v7091 및 v10000)가 두 항-HER2 FSA(v506 + v4184)의 조합물과 비교하여 유사한 B_{max}로 HER2+ 세포에 결합할 수 있다는 것을 나타낸다.

[0367] HER2+ SKOV3 세포(HER2 2/3+)에 대한 결합 결과를 도 6a, 도 6e 및 표 4 및 표 5에 나타낸다. 도 6a 및 표 4의 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)가 두 상이한 항-HER2 FSA(v506 또는 v4184)에 비해 SKOV3

세포에 결합함에 있어서 대략 1.5배 더 높은 Bmax를 나타낸다는 것을 보여준다. 결과는 또한 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)가 두 항-HER2 FSA(v506 + v4184)의 조합물과 비교하여 동등한 Bmax를 나타낸다는 것을 보여준다. SKOV3에 대한 결합을 위한 v5019의 겹보기 K_D 는 항-HER2 FSA 단독(v506 또는 v4184), 또는 두 항-HER2 FSA(v506 + v4184)의 조합물에 비해 대략 2 내지 4배 더 높았다.

표 4

SKOV3 세포에 대한 결합

항체 변이체	K_D (nM)	Bmax
v506	2.713	29190
v4184	4.108	29204
v5019	8.084	47401
v506 + v4184	4.414	49062

[0368]

[0369]

도 6e 및 표 5의 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019, 7091 및 v10000)가 두 상이한 항-HER2 FSA(v506 또는 v4184)에 비해 SKOV3 세포에 대한 결합에서 대략 1.5 내지 1.6배 더 높은 Bmax를 나타낸다는 것을 보여준다. 결과는 또한 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019, 7091 및 v10000)가 두 항-HER2 FSA(v506 + v4184)의 조합물에 비교하여 동등한 Bmax를 나타낸다는 것을 나타낸다. SKOV3에 대한 결합을 위한 v5019, v7091, v10000 및 두 항-HER2 FSA(v506 + v4184)의 조합물의 겹보기 K_D 는 항-HER2 FSA 중 하나 단독(v506 또는 v4184)에 비해 대략 2 내지 3배 더 높았다.

표 5

SKOV3에 대한 결합

항체 변이체	K_D (nM)	Bmax
v506	4.8	30007
v4184	5.6	27628
v506 + v4184	10.0	49014
v5019	13.6	47693
v7091	14.5	44737
v10000	10.3	48054

[0370]

[0371]

JIMT-1 세포주(HER2 2+)에서의 결합 곡선을 도 6b 및 표 6에 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)가 항-HER2 FSA(v506)에 비해 JIMT-1 세포에 대한 결합에 있어서 대략 1.5배 더 높은 Bmax를 나타낸다는 것을 보여준다. 결과는 또한 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)가 두 항-HER2 FSA의 조합물(v506 + v4184)에 비교하여 동등한 Bmax를 나타낸다는 것을 보여준다. JIMT-1에 대한 결합을 위한 v5019의 겹

보기 KD는 항-HER2 FSA(v506)에 비해 대략 2배 더 높았고, 두 항-HER2 FSA의 조합물(v506 + v4184)과 비교하여 유사하였다(대략 1.2배 더 큼).

표 6

JIMT-1 세포에 대한 결합

항체 변이체	K_D (nM)	Bmax
v506	1.875	4905
v5019	4.317	7203
v506 + v4184	5.057	7200

[0372]

[0373]

MCF7 세포주(HER2 1+)에서의 결합 곡선을 도 6c, 도 6f 및 표 7 및 표 8에 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019, 7091 및 v10000)가 항-HER2 FSA(v506)에 비해 MCF7 세포에 대한 결합에 있어서 대략 1.5배 더 높은 Bmax를 나타낸다는 것을 보여준다. 도 6c의 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)가 두 항-HER2 FSA의 조합물(v506 + v4184)에 비해 동등한 Bmax를 나타낸다는 것을 보여준다. MCF7에 대한 결합을 위한 v5019의 겘보기 KD는 항-HER2 FSA(v506) 및 두 항-HER2 FSA의 조합물(v506 + v4184)과 유사하였다.

표 7

MCF7 세포에 대한 결합

항체 변이체	K_D (nM)	Bmax
v506	1.301	542
v5019	1.506	872
v506 + v4184	2.095	903

[0374]

[0375]

도 6f 및 표 8의 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019, v7091 및 v10000)가 FSA 단일특이성 v506에 비해 대략 1.6 내지 1.7-배 더 큰 Bmax를 나타낸다는 것을 보여준다. v5019, v7091 및 v10000의 겘보기 K_D 는 항-HER2 FSA(v506)와 유사하였다.

표 8

MCF7 세포에 대한 결합

항체 변이체	K_D (nM)	Bmax
v506	3.5	571
v5019	5.6	968
v7091	6.5	918
v10000	3.7	915

[0376]

[0377]

MDA-MB-231 세포주(HER2 0/1+)에서의 결합 곡선을 도 6d 및 표 9에 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)가 항-HER2 FSA(v506)에 비해 MDA-MB-231 세포에 대한 결합에서 대략 1.5배 더 높은 Bmax를 나타낸다는 것을 보여준다. 결과는 또한 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)가 두 항-HER2 FSA의 조합물(v506 + v4184)과 비교하여 동등한 Bmax를 나타낸다는 것을 보여준다. MDA-MB-231에 대한 결합을 위한 v5019의 겘보기 KD는 항-HER2 FSA(v506)에 비해 대략 2.4배 더 낮고, 두 항-HER2 FSA의 조합물(v506 + v4184)

에 비해 대략 1.7배 더 높았다.

표 9

MDA-MB-231 세포에 대한 결합

항체 변이체	K _D (nM)	Bmax
v506	8.364	0.9521
v5019	3.543	1.411
v506 + v4184	2.040	1.542

[0378]

[0379]

WI-38 폐 섬유아세포 세포주에서의 결합 곡선을 도 6g 및 표 10에 나타낸다. WI-38 세포주는 HER2의 기저 수준(HER2 0+, -10,000 수용체/세포)을 발현시키는 정상 폐 상피이다(Carter et al. 1992, PNAS, 89:4285-4289; Yarden 2000, HER2: Basic Research, Prognosis and Therapy). 이들 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019, v7091, v10000)가 항-HER2 FSA(v506)에 비교하여 WI-38 세포에 대한 결합에서 동등한 세포 표면 장식(Bmax)을 나타낸다는 것을 보여주지만; 그러나, v506에 대한 결합은 포화에 도달되는 것으로 나타나지 않았고, 따라서 K_D를 결정할 수 없었다는 것을 주목한다. 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체 중에서 걸보기 KD는 동일하였다.

표 10

WI-38 세포에 대한 결합

항체 변이체	K _D (nM)	Bmax
v506	결정되지 않음	~366
v5019	7.0	380
v7091	8.3	371
v10000	8.4	418

[0380]

[0381]

이들 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체가 항-HER2 단일특이성 FSA보다 대략 1.5 내지 1.6배 더 큰 수준으로 HER2 1+, 2+ 및 3+ 종양 세포에 결합할 수 있고, 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체가 상이한 에피토프 특이성을 지니는 두 독특한 단일특이성 항-HER2 FSA의 조합물에 비교하여 동등한 수준으로 HER2 1+, 2+ 및 3+ 종양 세포에 결합할 수 있다는 것을 나타낸다. 이들 결과는 또한 2중 파라토프 항-HER2 항체가 대략 10,000 개 미만의 HER2 수용체/세포를 발현시키는 기저 HER2 발현 세포에 대해 증가된 결합(즉, 단일특이성 항-HER2 항체에 비해, v506)을 나타내지 않고, 2중 파라토프 항-HER2 항체에 대한 증가된 세포 표면 결합을 위한 역치가 HER2 수용체 수준이 대략 10,000개 초과 수용체/세포일 때 생긴다는 것을 나타낸다. 이 데이터에 기반하여, 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체가 HER2 3+, 2+ 및 1+ 종양 세포에 대해 증가된 세포 표면 결합을 갖지만, 대략 10,000개 이하의 수용체에서 HER2 수용체의 기저 수준을 발현시키는 비-종양 세포에 대해 증가된 세포 표면 결합을 갖지 않는다는 것을 예상하였다.

[0382]

실시예 7: HER2+ 세포의 성장을 저해하는 2중 파라토프 항-HER2 항체의 능력

[0383]

예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체가 3+ 및 2+ 수준에서 HER2를 발현시키는 세포 성장을 저해하는 능력을 측정하였다. 실험을 HER2 3+ 세포주 BT-474, SKBr3, SKOV3 및 HER2 2+ JIMT-1에서 수행하였다. 2중 파라토프 항-HER2 항체 v5019, v7091 및 v10000을 시험하였다. 2중 파라토프 항-HER2 항체가 BT-474 세포(200nM 항체); SKOV3, SKBr3 및 JIMT-1 세포(300nM 항체)의 성장을 저해하는 능력을 이하에 기재하는 바와 같이 측정하였다.

[0384]

시험 항체를 배지에서 희석시키고 나서 10 μ l/웰에서 3회 중복하여 세포에 첨가하였다. 플레이트를 37 $^{\circ}$ C에서 3일 동안 인큐베이션시켰다. 세포 생존도를 알라마르블루(AlamarBlue)(상표명)(바이오소스(Biosource) # dal1100),

또는 셀타이터-글로(Celltiter-Glo)(등록상표) 중 하나를 이용하여 측정하고, 제조업자의 설명서에 따라 흡광도를 판독하였다. 데이터를 비처리 대조군에 대해 정규화시키고, 그래프패드 프리즘에서 분석을 수행하였다.

[0385] 성장 저해 결과를 도 7a 내지 도 7e에 나타낸다. 결과의 요약을 표 11A 및 표 11B에 제공한다. 도 7a 내지 도 7b 및 표 11A의 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프(v5019)가 HER2+ SKOV3 및 BT-474 세포주의 성장을 저해할 수 있다는 것을 나타낸다. 도 10a는 항-HER2 2중 파라토프 항체가 항-HER2 FSA(v506)에 비교할 때, 그리고 두 항-HER2 FSA 항체의 조합물(v506 + v4184)에 비교할 때 SKOV3의 가장 큰 성장 저해를 매개하였다는 것을 나타낸다.

[0386] (표 11A)

HER2 3+ 암세포의 성장 저해

치료	생존%	
	SKOV3 HER2 2+/3+	BT-474 HER2 3+
v506	88	37
v506 + v4184	96	32
v5019	77	43

[0387]

[0388] 도 7c 내지 도 7e 및 표 11B의 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체(v5019, v7091 및 v10000)가 HER2 3+ SKBR3, HER2 2+/3+ SKOV3 및 HER2 2+ JIMT-1 종양 세포주의 성장을 저해할 수 있다는 것을 나타낸다. 도 7c는 항-HER2 2중 파라토프 항체 v7091 및 v10000이 HER2 3+ SKBR3 유방 종양 세포의 가장 큰 성장 저해를 매개하였다는 것을 나타낸다. 도 7d는 항-HER2 2중 파라토프 항체(v7091 및 v10000)가 HER2 3+ SKOV3 난소 종양 세포의 가장 큰 성장 저해를 매개하였다는 것을 나타낸다. 도 7e는 항-HER2 2중 파라토프 항체(v7091 및 v10000)가 HER2 2+ 허셉틴-내성 JIMT-1 종양 세포의 가장 큰 성장 저해를 매개하였다는 것을 나타낸다. 시험한 모든 세포주에서, 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체(v7091 및 v10000)는 항-HER2 FSA 단일특이성 항체(v506)에 비해 더 큰 성장 저해를 매개하였다.

[0389] (표 11B)

HER2 3+ 암세포의 성장 저해

치료	생존%		
	SKBr3 HER2 3+	SKOV3 HER2 2+/3+	JIMT-1 HER2 2+
v506	52	107	107
v5019	59	83	106
v7091	35	79	85
v10000	34	73	84

[0390]

[0391] 이들 결과는 2중 파라토프 항-HER2 항체의 예시적인 포화 농도가 HER2 3+ 및 2+ 유방 및 난소 및 HER2 2+ 트라스투주맙 내성 종양 세포를 FSA 항-HER2 단일특이성 항체보다 대략 20% 더 크게 성장 저해할 수 있다는 것을 나타낸다.

실시예 8: HER2 ECD에 비해 이량체 HER2에 대한 2중 파라토프 항-HER2 항체 파라토프의 우선적인 결합

[0392] 본 실험을 막 결합된 HER2(HER2-Fc)와 떨어진 HER2 ECD 사이의 차별적 결합에 대한 대응으로서 이량체 HER2 및 HER2 ECD에 결합하는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체의 개개 파라토프의 능력을 결정하기 위해 수행하였다. 실험을 다음과 같이 수행하였다.

[0394] 표면 플라즈몬 공명(SPR) 분석: HER2 세포의 도메인(sHER-2, 이바이오사이언스(Ebioscience) BMS362, 전장 단백질 _암호화 아미노산 23 내지 652) 및 HER2-Fc(세포의 도메인의 아미노산 1 내지 652를 암호화하는 이량체 HER2-Fc 용합; 시노 바이올로지컬 인코포레이티드(Sino Biological Inc.), 10004-H02H)에 대한 결합을 위한 1가 항-HER2 항체(v1040 또는 v4182)의 친화도를 비아코어(GE 헬스케어사사)로부터의 T200 시스템을 이용하여 SPR에 의해 측정하였다. HER2 ECD에 대한 결합을 다음의 방법에 의해 결정하였다. 10mm 헵세스(Hepes) pH 6.8에서 HER2 ECD를 44RU(반응 단위)수준으로 아민 결합을 통해 CM5 칩 상에 고정시켰다. 1가 항-HER2 항체를 0.76 내지 60nM 범위의 농도에서 HER2 고정 칩의 표면 위로 통과시켰다. HER2-Fc에 대한 결합을 다음의 방법에 의해 결정하였다. 10mm 헵세스 pH 6.8에서 HER2-Fc를 43RU 수준으로 아민 결합을 통해 CM5 칩 상에 고정시켰다. 1가

항-HER2 항체를 0.76 내지 60nM 범위의 농도에서 HER2 고정 칩의 표면 위로 통과시켰다. 항체 농도를 3회 중복으로 결합에 대해 분석하였다. 단일 주기 역학 방법을 이용하여 평형 해리 결합 상수(K_D) 및 역학(k_a 및 k_d)을 결정하였다. 센소그램(Sensogram)은 1:1 랑그뮐어(Langmuir) 결합 모델에 대해 전체적으로 적합하였다. 모든 실험을 실온에서 수행하였다.

[0395] 결과를 도 8A, 도 8B, 표 11C 및 표 11D에 나타낸다. 도 8A 및 표 11C의 결과는 1가 항-HER2 항체(v1040; 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 CH-B에 대한 항원-결합 도메인을 표시함)의 SPR 결합 데이터를 나타낸다. 도 8A는 고정시킨 HER2 ECD 또는 HER2-Fc에 대한 v1040 결합의 K_D 값(nM)을 도시하고, 1가 항-HER2 항체는 HER2 ECD에 비해 HER2-Fc에 대한 결합에 대해 더 낮은 K_D 를 가진다는 것을 나타낸다. 표 11C는 HER2 ECD 및 HER2-Fc('HER2 mem')에 대한 결합에서 전체 크기 항-HER2 항체(FSA)에 비교한 1가 항-HER2 항체(OA)의 k_a (1/M s) 및 k_d (1/s) 값을 나타낸다. 이 데이터는 HER2 ECD 및 HER2-Fc에 대한 결합에 대해 OA 및 FSA의 비슷한 온 속도(k_a)와 오프 속도(k_d)를 나타낸다.

[0396] (표 11C)

HER2 ECD 및 HER2-Fc('HER2 mem')에 대한 결합에서 전체 크기 항-HER2 항체(FSA)에 비교한 1가 항-HER2 항체의 k_a (1/M) 및 k_d (1/s) 값

	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)
OA 대 HER2 ECD	2.00E+05	6.15E-05
FSA 대 HER2 ECD	4.14E+05	2.01E-05
OA 대 HER2 mem	1.88E+05	4.38E-05
FSA 대 HER2 mem	3.41E+05	4.94E-06*

[0397]

[0398] 도 8B 및 표 11D의 결과는 1가 항-HER2 항체(v4182; 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 CH-A에 대한 항원-결합 도메인을 표시함)의 SPR 결합 데이터를 나타낸다. 도 8B는 고정된 HER2 ECD 또는 HER2-Fc에 대한 v4182 결합의 K_D 값(nM)을 도시하고, 1가 항-HER2 항체는 HER2 ECD에 비교하여 HER2-Fc에 대한 결합에 대해 더 낮은 K_D 를 가진다는 것을 나타낸다. 표 11D는 HER2 ECD 및 HER2-Fc('HER2 mem')에 대한 결합에서 전체 크기 항-HER2 항체(FSA)에 비교한 1가 항-HER2 항체(OA)의 k_a (1/M s) 및 k_d (1/s) 값을 나타낸다. 이 데이터는 HER2 ECD 및 HER2-Fc에 대한 결합에 대해 OA 및 FSA의 비슷한 온 속도(k_a)와 오프 속도(k_d)를 나타낸다.

[0399] (표 11D)

	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)
OA 대 HER2 ECD	9.08E+04	6.17E-04
FSA 대 HER2 ECD	9.55E+04	3.93E-04
OA 대 HER2 mem	1.39E+05	2.04E-04
FSA 대 HER2 mem	1.77E+05	6.84E-05

[0400]

[0401] 이들 데이터는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 각각의 파라토프가 HER2 ECD에 비해 대표적인 막 결합 HER2인 이량체 HER2 항원에 대한 결합에 대해 더 낮은 K_D 값을 가진다는 것을 나타낸다. 이 데이터에 기반하여, 예시적인 항-HER2 항체가 병에 걸린 환자의 혈청에 존재하고 치료 항체에 대한 싱크(sink)로서 작용할 수 있는 떨어진 HER2 ECD에 비해 막 결합 HER2 항원에 대해 더 높은 결합 친화도를 가진다는 것을 예상하였다(Brodowicz T, et al. Soluble HER-2/neu neutralizes biologic effects of anti-HER-2/neu antibody on breast cancer cells in vitro. Int J Cancer. 1997; 73:875-879). 예를 들어, 기준 HER2 ECD 수준은 15ng/ml 이하인 반면; 진행성 질환을 지니는 환자는 HER2 ECD가 38ng/ml 초과이다.

[0402] **실시예 9: HER2+ 세포에서 2중 파라토프 항-HER2 항체의 전체 세포 부하 및 내재화**

[0403] 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체가 HER2 2+ 세포에서 내재화되는 능력을 평가하기 위해 이 실험을 수행하였다. 직접 내재화 방법은 문헌[Schmidt, M. et al, *Kinetics of anti-car cinoembryonic antigen antibody*

internalization: effects of affinity, bivalency, and stability. Cancer Immunol Immunother (2008) 57: 1879-1890)에서 상술되는 프로토콜에 따랐다. 구체적으로, 항체를 알렉사플루오르(AlexaFluor)(등록상표) 488 단백질 표지 키트(Protein Labeling Kit)(인비트로젠사, 카탈로그 번호 A10235)를 이용하여 제조업자의 설명에 따라 직접 표지하였다.

- [0404] 내재화 분석을 위해, 12 웰 플레이트를 1×10^5 개 세포/웰로 파종시키고 나서, 37°C + 5% CO₂에서 밤새 인큐베이션시켰다. 다음 날, 표지한 항체를 DMEM + 10% FBS 중의 200nM에 첨가하고 나서, 37°C + 5% CO₂에서 24시간 동안 인큐베이션시켰다. 암실 조건 하에서, 배지를 흡입하고, 웰을 2 x 500 μ l PBS로 세척하였다. 세포를 채취하기 위해, 세포 해리 완충제(250 μ l)를 37°C에서 첨가하였다. 세포를 펠렛화하고, 항-알렉사 플루오르(Alexa Fluor) 488과 함께 또는 없이, 50 μ g/ml에서 토끼 IgG 분획(몰레큘러 프로브즈(Molecular Probes), A11094)을 100 μ l DMEM + 10% FBS 중에서 재현탁시키고 나서, 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 300 μ l, DMEM + 10% FBS를 분석하기 전에, 샘플을 여과시키고, 4 μ l 요오드화 프로피듐을 첨가하였다. LSRII 유세포 분석기를 이용하여 샘플을 분석하였다.
- [0405] HER2+ 세포에서 내재화하기 위한 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 능력을 도 9A 및 도 9B에 나타낸다. 도 9A는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 항-HER2 FSA 대조군과 함께 24시간 인큐베이션 후에 BT-474 세포에서 검출가능한 항체 및 내부 항체의 결과를 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체(v5019)와 함께 인큐베이션이 항-HER2 FSA 대조군에 비해 BT-474 세포에서 대략 2배 더 내재화된 항체를 초래한다는 것을 나타낸다. 도 9B는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 항-HER2 FSA 대조군과 함께 24시간 인큐베이션 후에 JIMT-1 세포에서 검출가능한 표면 및 내부 항체의 결과를 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체(v5019)와 함께 인큐베이션이 항-HER2 FSA 대조군에 비해 JIMT-1 세포에서 대략 2배 더 내재화된 항체를 초래한다는 것을 나타낸다. 24시간 후 표면 염색의 양은 BT-474와 JIMT-1 세포 둘 다에서 2중 파라토프 항-HER2와 항-HER2 FSA 간에 비슷하였다.
- [0406] 도 10a 내지 도 10f의 결과는 37°C에서 24시간 후에 내재화된 항체의 양에 추가로, 37°C에서 24시간 동안 인큐베이션 후에 표면에 결합된 항체에 비해 4°C에서 2시간 후에 전체 세포 표면에 결합된 검출가능한 항체의 비교를 나타낸다. 도 10a는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 항-HER2 FSA 대조군과 함께 인큐베이션 후에 BT-474 세포의 결과를 나타낸다. 이들 결과는 24시간 동안 BT-474 세포와 함께 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 인큐베이션이 전체 세포의 표면 상에서 검출된 항체의 대략 15% 감소를 초래한다는 것을 나타낸다. 도 10a는 또한 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체(v5019)와 함께 인큐베이션인 항-HER2 FSA 대조군에 비해 BT-474 세포에서 대략 2배 더 내재화된 항체를 초래한다는 것을 나타낸다.
- [0407] 도 10b는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 항-HER2 FSA 대조군과 함께 인큐베이션 후에 JIMT-1 세포에서의 결과를 나타낸다. 도 10b는 4°C에서 2시간 후에 표면 염색의 첨가에 따른 도 9B에 나타난 실험의 반복이다. 이들 결과는 JIMT-1 세포와 함께 24시간 동안의 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 인큐베이션이 전체 세포 표면 상에서 검출된 항체의 대략 57% 감소를 초래한다는 것을 나타낸다. 도 10b는 또한 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체(v5019)와 함께 인큐베이션이 항-HER2 FSA 대조군에 비해 37°C에서 24시간 인큐베이션 후에 BT-474 세포에서 더 내재화된 항체를 초래한다는 것을 나타낸다.
- [0408] 도 10c는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체와 함께 인큐베이션 후에 SKOV3 세포에서의 결과를 나타낸다. 이들 결과는 24시간 동안 SKOV3 세포와 함께 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 인큐베이션이 전체 세포 표면 상에서 검출된 항체의 대략 32% 감소를 초래한다는 것을 나타낸다.
- [0409] 도 10d는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체와 함께 인큐베이션 후에 MCF7 세포에서의 결과를 나타낸다. 이들 결과는 24시간 동안 MCF7 세포와 함께 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 인큐베이션이 전체 세포 표면 상에서 검출된 항체의 대략 45% 감소를 초래한다는 것을 나타낸다.
- [0410] 도 10e는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체, 즉, v5019, v7091 및 v10000과 함께 인큐베이션 후에 SKOV3 세포에서의 결과를 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체가 항-HER2 FSA 대조군에 비해 SKOV3 세포에 의해 1.5 내지 1.8배 더 내재화된 항체를 초래한다는 것을 나타낸다. 24시간 동안 항-HER2 FSA 대조군과 함께 인큐베이션은 전체 세포 표면 상에서 검출된 항체의 가장 큰 감소(~77%)를 초래하였다.
- [0411] 도 10f는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체, 즉, v5019, v7091 및 v10000과 함께 인큐베이션 후에 JIMT-1 세포에서의 결과를 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체가 항-HER2 FSA 대조군에 비해 JIMT-1 세포에 의해 1.4 내지 1.8배 더 내재화된 항체를 초래한다는 것을 나타낸다. 24시간 동안 항-HER2 2중

파라토프 항체(v5019 및 v10000)와 함께 인큐베이션은 전체 세포 표면 상에서 검출된 항체의 가장 큰 감소 (~64%)를 초래하였다.

[0412] 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체가 단일특이성 항-HER2 FSA에 비해 HER2+ 세포에서 우수한 내재화 특성을 가진다는 것을 나타낸다. 37°C에서 24시간 인큐베이션 후에 검출된 표면 항체의 감소는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체가 HER2+ 세포에서 인큐베이션 후에 세포 표면 HER2 수용체의 양을 감소시킬 수 있고, 인큐베이션 후 표면 HER2 감소는 HER2 2+ 종양 세포에서 가장 크다는 것을 나타낸다.

[0413] **실시예 10: 1, 3 및 16 시간에 HER2+ 세포와 함께 인큐베이션 후에 항-HER2 2중 파라토프 항체의 세포 염색 및 위치**

[0414] 상이한 시점에 그리고 전체 세포 부하 및 내재화를 분석하기 위해 실시예 9에서 제시한 직교 방법으로서 HER2+ JIMT-1 세포 내 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 내재화를 분석하기 위해 이 실험을 수행하였다.

[0415] JIMT-1 세포를 1시간, 3시간 및 16시간 동안 무혈청 DMEM, 37°C + 5% CO₂에서 200nM로 항체(v506, v4184, v5019, 또는 v506과 v4184의 조합물)와 함께 인큐베이션시켰다. 세포를 가운 멸균 PBS(500ml/웰)로 2회 부드럽게 세척하였다. 세포를 실온에서 10분 동안 250ml의 10% 포말린/PBS 용액을 이용하여 고정시켰다. 고정된 세포를 PBS(500μl/웰)로 3회 세척하고 나서, 5분 동안 0.2% 트리트론 X-100을 함유하는 PBS의 250μl/웰로 침투시키고, 500μl/웰 PBS로 3회 세척하였다. 세포를 1시간 동안 실온에서 PBS + 5% 염소 혈청 500μl/웰로 차단시켰다. 차단 완충제를 제거하고 나서, 300μl/웰 2차 항체(알렉사 플루오르 488-컨쥬게이팅된 아피니퓨어(AffiniPure) Fab 단편 염소 항-인간 IgG(H+L); 잭슨 이뮤노리서치 래버러토리즈 인코포레이티드; 109-547-003)를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. 세포를 500μl/웰의 PBS로 3회 세척하고 나서, 이어서 고정 세포를 함유하는 커버슬립을 DAPI와 함께 프롤롱(Prolong) 금 변색방지제(라이프 테크놀로지즈(Life Technologies); #P36931)를 이용하여 슬라이드 상에 장착하였다. 60X 단일 이미지를 올림푸스(Olympus) FV1000 공초점 현미경을 이용하여 획득하였다.

[0416] 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체(v5019)가 3시간에 JIMT-1 세포 내로 내재화되고 주로 핵에 가깝게 위치되었다는 것을 나타내었다. 3시간 인큐베이션에서 이미지와 비교하면 두 항-HER2 FSA의 조합물(v506 +v4184)에 비해 그리고 개개의 항-HER2 FSA(v506 또는 v4184)에 비해 항-HER2 2중 파라토프 항체와 관련된 더 많은 양의 내부 염색을 나타내었다. 항체 염색의 세포 위치 차이는 항-HER2 2중 파라토프 항체(v5019) 결과를 항-HER2 FSA(v4184)와 비교할 때; 항-HER2 FSA(v4184)가 1, 3 및 16시간 시점에 확인한 혈장막 염색을 나타낸 경우에 보였다. 검출가능한 항체의 양은 두 항-HER2 FSA(v506 + v4184) 및 항-HER2 2중 파라토프 항체 처리의 조합물인 항-HER2 FSA(v506)에 대해 16시간에 감소되었다(데이터 미제시).

[0417] 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 v5019가 HER2+ 세포에서 내재화되었고, 내재화된 항체가 3시간 인큐베이션 후에 검출가능하다는 것을 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체가 항-HER2 FSA에 비해 HER2+ 세포에서 더 큰 양으로 내재화할 수 있다는 것을 나타낸 실시예 9에 제시한 결과와 일치되었다.

[0418] **실시예 11: 대조군에 비해 2중 파라토프 항-HER2 항체에서 매개된 HER2+ 세포의 ADCC**

[0419] SKOV3 세포(난소암, HER2 2+/3+)에서 ADCC를 매개하기 위한 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체의 능력을 측정하기 위해 이 실험을 수행하였다.

[0420] 표적 세포를 30분 동안 시험 항체(45μg/ml로부터 10배씩 내려가는 농도)와 함께 사전 인큐베이션시킨 후에, 5:1의 효과기/표적 세포비로 효과기 세포를 첨가하고 37°C + 5% CO₂에서 6시간 동안 인큐베이션을 계속하였다. 샘플을 45μg/ml로부터 10배 내려가는 8가지 농도로 시험하였다. LDH 분석 키트를 이용하여 LDH 방출을 측정하였다.

[0421] 5:1, 3:1 및 1:1의 효과기/표적(E/T)비로 다양한 농도의 샘플을 이용하여 용량-반응 연구를 수행하였다. 절반의 최대 유효 농도(EC₅₀) 값을 그래프패드 프리즘을 이용하여 S자형 용량-반응 비선형 회귀 적합도에 의해 분석하였다.

[0422] 세포를 37°C/5% CO₂에서 맥코이(McCoy)의 5a 완전 배지에서 유지시키고, ATCC로부터의 프로토콜에 따라 10% FBS로 보충한 적합한 배지를 이용하여 주기적으로 다시 배양시켰다. p10보다 더 소수의 계대에 의한 세포를 분석에서 사용하였다. 샘플을 분석에서 사용하기 전에 1% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신으로 보충한 페놀 레드

무 DMEM 배지를 이용하여 0.3 내지 300nM의 농도로 희석시켰다.

[0423] 효과기 대 표적 세포비 5:1에서 HER2+ SKOV3 세포의 ADCC 결과를 도 11A 및 표 12에 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)가 항-HER2 FSA(v792) 및 두 상이한 항-HER2 FSA의 조합물(v792+v4184)과 비교할 때 ADCC에 의해 최대 표적 세포 용해의 가장 큰 백분율을 매개하였다는 것을 나타낸다. 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체에 의해 매개된 최대 세포 용해의 차이는 항-HER2 FSA에 비해 대략 1.6배 더 크고, 두 상이한 항-HER2 FSA의 조합물(v792 + v4184)에 비해 대략 1.2배 더 컸다.

표 12

항체 변이체	EC ₅₀ (nM)	최대 세포 용해%
v792	~0.032	17.82
v5019	~0.164	28.57
v792 + v4184	~0.042	23.85

[0424]

[0425] 효과기 대 표적 세포비 3:1에서 HER2+ SKOV3 세포의 ADCC 결과를 도 11B 및 표 13에 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)가 항-HER2 FSA(v792) 및 두 상이한 항-HER2 FSA의 조합물(v792+v4184)에 비교할 때 ADCC에 의해 최대 표적 세포 용해의 가장 큰 백분율을 매개한다는 것을 나타낸다. 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체에 의해 매개되는 최대 세포 용해의 차이는 항-HER2 FSA에 비해 대략 1.3배 더 크고, 두 상이한 항-HER2 FSA의 조합물(v792 + v4184)에 비해 대략 1.8-배 더 컸다.

표 13

항체 변이체	EC ₅₀ (nM)	최대 세포 용해%
v792	1.064	16.9
v5019	~0.4608	22.3
v792 + v4184	~1.078	12.3

[0426]

[0427] 효과기 대 표적 세포비 1:1에서 HER2+ SKOV3 세포의 ADCC 결과를 도 11C 및 표 14에 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)는 항-HER2 FSA(v792) 및 두 상이한 항-HER2 FSA의 조합물(v792+v4184)에 비교할 때 ADCC에 의해 최대 표적 세포 용해의 가장 큰 백분율을 매개하였다는 것을 나타낸다. 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체에 의해 매개되는 최대 세포 용해의 차이는 항-HER2 FSA에 비해 대략 1.8배 더 크고, 두 상이한 항-HER2 FSA의 조합물(v792 + v4184)에 비해 대략 1.13배 더 컸다.

표 14

항체 변이체	EC ₅₀ (nM)	최대 세포 용해%
v792	1.429	7.529
v5019	~1.075	13.29
v792 + v4184	~0.1121	11.73

[0428]

[0429] 도 11 및 표 12 내지 표 14의 결과는 예시적인 2중 파라토프 HER2 항체가 항-HER2 FSA 및 두 항-HER2 FSA의 조합물에 비교할 때 상이한 E:T 비에서 SKOV3 세포의 가장 큰 ADCC를 매개한다는 것을 나타낸다. 항-HER2 2중 파라토프 항체에 의해 매개되는 증가된 ADCC의 관찰은 화학요법 후 가변적 및/또는 감소된 순환 효과기 세포를 발현시키는 HER2+ 병에 걸린 환자에서 예상되었다(Suzuki E. et al. Clin Cancer Res 2007;13: 1875-1882). 도

11의 관찰은 실시예 6에 제시한 전세포 결합 Bmax 데이터와 일치하는데, 이는 항-HER2 FSA에 비해 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체에 대한 세포 결합에서 대략 1.5배 증가를 나타낸다.

[0430] **실시예 12: 예시적인 항-HER2 항체가 HER2 ECD에 결합하는 능력**

[0431] 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체가 HER2 ECD에 결합하는 메커니즘을 평가하기 위해; 특별하게는, 2중 파라토프 항체 분자의 파라토프가 둘 다 하나의 HER2 ECD에 결합할 수 있는지의 여부(시스 결합; 1:1 항체 대 HER2 분자) 또는 하나의 2중 파라토프 항체의 각각의 파라토프가 두 상이한 HER2 ECD에 결합할 수 있는지의 여부(트랜스 결합; 1:2 항체 대 HER2 분자)를 이해하기 위해 SPR 분석을 사용하였다. 시스 대 트랜스 결합의 표시를 도 14에 도시한다. 항체 포획 수준(표준 밀도)이 증가함에 따라 감소된(느려진) 오프 속도 사이의 상관관계는 트랜스 결합(즉, 두 HER2 분자에 대한 하나의 항체 분자 결합)의 표시이다.

[0432] 재조합 인간 HER2에 대한 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)의 친화도 및 결합 역학을 측정하고, 1가 항-HER2 항체(v630 또는 v4182; v5019의 개개 파라토프를 포함)의 결합 역학을 비아코어(GE 헬스케어사)로부터의 T200 시스템을 이용하여 SPR에 의해 측정된 것과 비교하였다. 5 내지 10µg/ml 농도에서 주사한 2000 내지 4000 RU의 항-인간 Fc를 표준 아민 결합을 이용하여 CM5 칩 상에 고정시켰다. 1가 항-HER2 항체(v630 또는 v4182) 및 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)를 350 내지 15RU 범위의 반응 수준에서 항-인간 Fc(PBST에서 0.08 내지 8µg/ml 범위의 농도로 주사, 10µl/분으로 1분) 상에서 포획하였다. 재조합 인간 HER2를 PBST 중에서 희석시키고 나서, 3-배 희석으로 120nM, 200nM 또는 300nM 중 하나의 시작 농도에서 주사하고, 50 µl/분의 유속으로 3분 동안 주사한 다음, 마지막 주사의 마지막에 다른 30분 동안 해리시켰다. HER2 희석물을 2회 중복해서 분석하였다. 센소그램을 1:1 랭그뮐어 결합 모델에 대해 전체적으로 적합화하였다. 모든 실험을 25 °C에서 수행하였다.

[0433] 결과를 도 12 및 도 13에 나타낸다.

[0434] 도 12A의 결과는 칩 표면 상에서 주사 및 포획 항체 농도 범위에 걸쳐 재조합 인간 HER2에 대한 결합에 대한 1가 항-HER2(v630 및 v4182) 및 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)의 ka(1/Ms)를 나타낸다. 이들 결과는 상이한 항체 포획 수준에서 v630, v4182 및 v5019에 대해 ka가 변하지 않는다는 것을 나타낸다.

[0435] 도 12B의 결과는 칩의 표면에 대한 주사 및 포획 항체 농도의 범위에 걸쳐 재조합 인간 HER2에 대한 결합에 대한 1가 항-HER2(v630 및 v4182) 및 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)의 kd(1/s)를 나타낸다. 이들 결과는 증가된 항체 포획 수준에서 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 (v5019)에 대해서만 kd가 감소된다는 것을 나타낸다.

[0436] 도 12C의 결과는 칩 표면 상에서 주사 및 포획 항체 농도의 범위에 걸쳐 재조합 인간 HER2에 대한 결합에 대해 1가 항-HER2(v630 및 v4182) 및 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)의 K_D(M)를 나타낸다. 이들 결과는 K_D가 증가된 항체 포획 수준에서 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체(v5019)에 대해서만 감소되었다는 것을 나타낸다. 이 결과는 도 15B에 나타난 감소된 kd 값과 상관관계가 있었다.

[0437] 도 13A의 결과는 항체 포획 수준의 범위에 걸쳐 재조합 인간 HER2에 대한 결합에 대해 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)의 kd(1/s)를 나타낸다. 이들 결과는 칩 표면 상에서 포획된 항체의 더 높은 RU에 반비례한다는 것을 나타낸다(즉, 더 높은 항체 포획 수준에서 더 느린 오프 속도). 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)가 더 높은 항체 포획 수준에서 오프 속도의 감소에 의해 증명되는 바와 같이 두 별개의 HER2 분자(즉, 트랜스 결합) 상에서 HER2 ECD2 및 HER2 ECD4를 결합시킬 수 있다는 것을 나타낸다. 이 데이터는 도 47에 제시하고 실시예 43에서 논의한 유사한 실험에 의해 뒷받침되며, 2가 단일특이성 항-HER2 FSA(v506)는 시스 결합(1:1 항체 대 HER2)을 입증하였고, kd(1/s) 및 K_D(M) 값은 이 분자에 대해 예상된 바와 같이 증가된 항체 포획 수준에서 일정하게 남아있다.

[0438] 도 13B의 결과는 항체 포획 수준의 범위에 걸쳐 재조합 인간 HER2에 대한 결합에 대해 1가 항-HER2 항체(v4182)의 kd(1/s)를 나타낸다. 이들 결과는 칩 표면 상에서 포획한 상이한 항체 RU 범위에 걸쳐 kd 값의 변화가 없음을 나타낸다. 이들 결과는 1가 항-HER2 항체(v4182)가 1가로 1:1(시스 결합)로 결합한다는 것을 나타낸다.

[0439] 도 13C의 결과는 항체 포획 수준 범위에 걸쳐 재조합 인간 HER2에 대한 결합에 대해 1가 항-HER2 항체(v630)의 kd(1/s)를 나타낸다. 이들 결과는 칩 표면 상에서 포획된 상이한 항체 RU 범위에 걸쳐 kd 값의 변화가 없음을 나타낸다. 이들 결과는 1가 항-HER2 항체(v630)가 1가로 1:1(시스 결합)로 결합한다는 것을 나타낸다. 이 데이

터는 도 47에서 제시하고 실시예 43X에서 논의한 실험에 의해 뒷받침되며, 여기서 2가 단일특이성 항-HER2 FSA(v506)는 kd(1/s)의 변화가 없다는 것을 나타내었다.

[0440] 도 12 및 도 13의 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019)가 도중에 두 HER2 분자(항체 대 HER2 비 1:2)에 대해 동시에 결합할 수 있다는 것을 나타낸다. SPR에 의해 검출되는 결합의 트랜스 메커니즘은 실시예 9 및 10에 제시한 내재화 데이터와 조합하여 실시예 6에서 제시한 더 높은 세포 표면 포화 결합 데이터(Bmax)와 일치된다.

[0441] **실시예 13: BT-474 세포에서 AKT 인산화에 대한 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체 인큐베이션의 효과**

[0442] 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체가 BT-474 세포에서 pAKT 신호전달을 감소시키는 능력을 다음의 변형에 의해 제조업자의 설명서에 따라 AKT 비색 세포내 ELISA 키트(AKT Colorimetric In-Cell ELISA Kit)(써모 사이언티픽사; 카탈로그 번호 62215)를 이용하여 시험하였다. 세포를 5×10^3 개/웰에서 파종하고 나서, 24시간 동안 37 °C + 5% CO₂에서 인큐베이션시켰다. 세포를 30분 동안 100nM 항체와 함께 인큐베이션시킨 다음 rhHRG-β 1과 함께 15분 동안 인큐베이션시켰다. 세포를 설명서에 따라 세척, 고정 및 침투시켰다. 2차 항체(1:5000; 잭슨 이뮤노노리서치, HRP-당나귀 항-마우스 IgG, JIR, 카탈로그 번호 715-036-150, HRP-당나귀 항-토끼 IgG, JIR, 카탈로그 번호 711-036-452)를 첨가하고 나서, 분석을 제조업자의 설명서에 따라 처리하였다.

[0443] 도 15의 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체가 인간 IgG 대조군(CTL)에 비해 HRG β 1의 존재 하에 p-Akt 수준의 대략 1.2배 감소를 매개하였다는 것을 나타낸다. 두 항-HER2 FSA의 조합물(v506 + v4184)은 인간 IgG 대조군에 비해 대략 1.5배 더 적은 HRG β 1의 존재 하에 p-Akt 수준의 가장 큰 감소를 매개하였다. p-Akt의 보통의 감소는 인간 IgG 대조군 항체에 비해 리간드(HRG β 1)의 부재 시 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체에 의해 검출되었다.

[0444] 이들 데이터는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체가 HER2+ 세포에서 리간드-활성화 신호전달을 차단할 수 있다는 것을 나타낸다.

[0445] **실시예 14: 심장 근육 세포 생존도에 대한 2중 파라토프 항-HER2 항체의 효과**

[0446] 잠재적 심장독성 효과의 예비 적응증을 얻기 위해 심장 근육 세포 생존도에 대한 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체 및 ADC의 효과를 측정하였다.

[0447] 기저 수준의 HER2 수용체를 발현시키는 iCell 심장근육세포(셀룰러 다이나믹스 인터내셔널(Cellular Dynamics International, CMC-100-010)을 제조업자의 설명서에 따라 성장시키고, 항체 치료 후에 심장 근육 세포 건강 상태를 평가하기 위해 표적 세포로서 사용하였다. 분석을 다음과 같이 수행하였다. 세포를 96-웰 플레이트(15,000 개 세포/웰)에 파종시키고, 48시간 동안 유지시켰다. 세포 배지를 유지 배지로 대체하고 나서, 세포를 72시간 동안 유지하였다. 항체-유도 심장독성 효과를 평가하기 위해, 세포를 변이체 단독으로 또는 조합물로 10 및 100nM로 72시간 동안 처리하였다. 안트라사이클린-유도 심장독성(단독으로 또는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체와 조합하여) 효과를 평가하기 위해, 세포를 1시간 동안 3 μM (~IC₂₀)의 독소루비신으로 처리한 후에, 72시간 동안 10 및 100nM로 항체 변이체 단독으로 또는 조합하여 처리하였다. 제조업자의 설명서에 따라 셀타이터글로(CellTiter-Glo)(등록상표) 발광 세포 생존도 분석(프로메가(Promega), G7570) 및/또는 셀포로다민(시그마(Sigma) 230162-5G)을 이용하여 세포 APT 수준을 정량화함으로써 세포 생존도를 평가하였다.

[0448] 결과를 도 16A 내지 도 16C에 나타낸다. 도 16A의 결과는 치료적으로 적절한 농도의 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체(v5019) 및 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC(v6363)와 함께 심장근육세포의 인큐베이션이 비처리 대조군('모의')에 비해 심장 근육 세포 생존도에 영향을 미치지 않는다는 것을 나타낸다.

[0449] 도 16B의 결과는 치료적으로 적절한 농도의 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체(v5019, v7091 및 v10000), 및 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC(v6363, v7148 및 v10553)와 함께 심장근육세포의 인큐베이션이 비처리 대조군('모의')에 비해 심장 근육 세포 생존도에 대해 효과가 없다는 것을 나타낸다. 도 16A 및 도 16B의 결과에 기반하여, 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC가 다른 항-HER2 표적화 항체에 의해 보고된 바와 같이, 예를 들어 미토콘드리아 기능장애를 통해 심근병증을 유도하지 않아야 한다는 것을 예상한다(Grazette L.P. et al. Inhibition of ErbB2 Causes Mitochondrial Dysfunction in Cardiomyocytes; Journal of the American College of Cardiology: 2004; 44: 11).

[0450] 도 16C의 결과는 독소루비신에 의한 심장근육세포의 전처리 다음에 치료적으로 적절한 농도의 예시적인 항-HER2

2중 파라토프 항체(v5019, v7091 및 v10000) 및 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC(v6363, v7148 및 v10553)와 함께 인큐베이션이 비처리 대조군 + 독소루비신('모의 + 독소루비신')에 비해 심장 근육 세포 생존도에 대해 효과가 없다는 것을 나타낸다. 도 16C에서의 결과에 기반하여, 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC는 동시에 안트라사이클린 처리를 받는 환자에서 심장 기능장애의 증가된 위험을 초래하지 않아야 한다는 것을 예상하였다(Seidman A, Hudis C, Pierrri MK, et al. Cardiac dysfunction in the trastuzumab clinical trials experience. J Clin Oncol (2002) 20: 1215-1221).

[0451] 도 16A 내지 도 16C는 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 ADC와 함께 심장근육세포의 인큐베이션이 단독으로 또는 독소루비신과 조합하여 처리될 때, 단일특이성 항-HER2 FSA 항체(v506), 항-HER2 FSA 조합물(v506 + v4184) 및 ADC(v6246)와 비교할 때 동등한 효과를 가진다는 것을 나타낸다. 이들 결과에 기반하여, 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 ADC는 항-단일특이성 항-HER2 FSA, 트라스투주맙 또는 ADC, T-DM1에 비해 더 큰 심장독성 효과를 갖지 않는다는 것을 예상하였다.

[0452] **실시예 15: HER2+ 세포에서 예시적인 2중 파라토프 항-HER2-ADC의 세포독성**

[0453] 예시적인 2중 파라토프 항-HER2-ADC 항체(v6363, v7148 및 v10553)가 HER2+ 세포에서 세포의 세포독성을 매개하는 능력을 측정하였다. DM1(v6249)에 컨주게이팅된 인간 IgG를 일부 경우에 대조군으로서 사용하였다. HER2+ 유방 중앙 세포주 JIMT-1, MCF7, MDA-MB-231, HER2+ 난소 중앙 세포주 SKOV3, 및 HER2+ 위 세포주 NCI-N87에서 실험을 수행하였다. HER2+ 세포에서 예시적인 2중 파라토프 항-HER2-ADC 항체의 세포독성을 평가하고 단일특이성 항-HER2 FSA-ADC(v6246) 및 항-HER2-FSA-ADC + 항-HER2-FSA 대조군(v6246 + v4184)과 비교하였다. 상기 방법을 실시예 7에 기재한 바와 같이 다음의 변형에 의해 수행하였다. 항-HER2 ADC를 24시간 동안 표적 SKOV3 및 JIMT-1(도 17a 및 도 17b) 세포와 함께 인큐베이션시키고 나서, 세포를 세척하고, 배지를 대체하고 나서, 37°C에서 5일 인큐베이션 후에 세포 생존도를 평가하였다. 항-HER2 ADC를 6시간 동안 표적 MCF7 및 MDA-MB-231 표적 세포와 함께 인큐베이션시키고 나서(도 17c 및 도 17d), 세포를 세척하고, 배지를 대체하고 나서, 세포 생존도를 37°C에서 5일 인큐베이션 시 평가하였다. 도 17e 내지 도 17g에서, 항-HER2 ADC를 표적 SKOV3, JIMT-1, NCI-N87 세포와 함께 5일 동안 계속적으로 인큐베이션시켰다. 세포 생존도를 알라마르블루(AlamarBlue)(상표명)(도 17a 내지 도 17d) 또는 셀타이터-글로(Celltiter-Glo)(등록상표)(도 17e 내지 도 17g) 중 하나를 이용하여 실시예 7에 기재한 바와 같이 측정하였다.

[0454] 결과를 도 17a 내지 도 17g에 나타내고, 데이터를 표 15 및 표 16에서 요약한다.

[0455] 도 17a 및 표 15 및 표 16의 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC(v6363)가 항-HER2-FSA-ADC(v6246) 및 항-HER2-FSA-ADC + 항-HER2 FSA의 조합물(v6246 +v4184)에 비해 JIMT-1에서 더 세포독성이라는 것을 나타낸다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC는 항-HER2 FSA-ADC 대조군에 비해 대략 13배 더 낮은 우수한 EC₅₀을 가졌다.

[0456] 도 17b 및 표 15의 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC(v6363)가 항-HER2-FSA-ADC(v6246) 및 항-HER2-FSA-ADC + 항-HER2 FSA의 조합물(v6246 +v4184)에 비해 SKOV3에서 더 세포독성이라는 것을 나타낸다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC는 항-HER2 FSA-ADC 대조군에 비해 대략 5배 더 낮은 우수한 EC₅₀을 가졌다.

[0457] 도 17c 및 표 15의 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC(v6363)가 항-HER2-FSA-ADC(v6246) 및 항-HER2-FSA-ADC + 항-HER2 FSA의 조합물(v6246 +v4184)에 비해 MCF7에서 더 세포독성이라는 것을 나타낸다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC는 항-HER2 FSA-ADC 대조군에 비해 대략 2배 더 낮은 우수한 EC₅₀을 가졌다.

[0458] 도 17d 및 표 15의 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC(v6363)이 항-HER2-FSA-ADC (v6246) 및 항-HER2-FSA-ADC + 항-HER2 FSA의 조합물(v6246 +v4184)에 비해 MDA-MB-231에서 더 세포독성이라는 것을 나타낸다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC는 항-HER2 FSA-ADC 대조군에 비해 대략 2배 더 낮은 우수한 EC₅₀을 가졌다.

표 15

항-HER2 2중 파라토프-ADC	SKOV3 세포에서의 세포독성 (EC ₅₀)			
	항-HER2 FSA-ADC	항-HER2 2중 파라토프-ADC	항-HER2 2중 파라토프-ADC	항-HER2 2중 파라토프-ADC
v6246	0.9225	5.942	122.0	~1075
v6246 + 4184	3.146	12.68	~24432	136.4
v6363	0.1776	0.4443	58.55	141.0

[0459]

[0460]

도 17e 및 표 16의 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC(v6363, v7148 및 v10553)가 항-HER2-FSA-ADC(v6246)에 비해 SKOV3 난소 종양 세포에서 더 세포독성이라는 것을 나타낸다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC는 항-HER2 FSA-ADC 대조군에 비해 대략 2배 내지 7배 더 낮은 우수한 EC₅₀을 가졌다.

[0461]

도 17f 및 표 16의 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC(v6363, v7148 및 v10553)가 항-HER2-FSA-ADC(v6246)에 비해 JIMT-1 유방 종양 세포에서 더 세포독성이라는 것을 나타낸다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC는 항-HER2 FSA-ADC 대조군에 비해 대략 6배 내지 9배 더 낮은 우수한 EC₅₀을 가졌다.

[0462]

도 17g 및 표 16의 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC(v6363, v7148 및 v10553)가 NCI-N87 위 종양 세포에서 세포독성이라는 것을 나타낸다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC는 항-HER2 FSA-ADC 대조군에 비교하여 거의 동일한 EC₅₀ 값을 가졌다.

표 16

항체 변이체	EC ₅₀ (nM)		
	SKOV3	JIMT-1	NCI-N87
v6246	0.22	3.52	1.04
v6363	0.03	0.56	1.33
v7148	0.06	0.56	2.74
v10553	0.09	0.39	1.69

[0463]

[0464]

이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC(v6363, v7148 및 v10553)이 HER2 3+, 2+, 및 1+ 유방 종양 세포에서 항-HER2-FSA-ADC 대조군에 비해 더 세포독성이라는 것을 나타낸다. 이들 결과는 또한 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC(v6363, v7148 및 v10553)가 HER2 2/3+ 위 종양 세포에서 세포독성이라는 것을 나타낸다. 이들 결과는 실시예 9에 제시된 내재화 결과와 일치된다.

[0465]

실시예 16: 인간 난소암 세포 이중이식 모델에서 2중 파라토프 항-HER2 항체의 효과

[0466]

예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체의 항-종양 효능을 평가하기 위해 확립된 인간 난소암 세포 유래 이중이식 모델 SOV3을 사용하였다.

[0467]

암컷 흥선제거 누드 마우스에 1mm³ 종양 단편의 피하 삽입을 통해 종양을 접종하였다. 그들이 평균 용적 220mm³에 도달될 때까지 종양을 모니터링하고; 이어서, 동물을 3개의 처리군으로 무작위화한다: IgG 대조군, 항-HER2 FSA(v506) 및 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019).

[0468]

15마리의 동물을 각각의 그룹에 포함시켰다. 각각의 그룹에 대한 투약량은 다음과 같았다:

[0469]

A) IgG 대조군을 연구 제1일에 30mg/kg의 부하 용량으로 정맥내로 투약하고, 이어서 연구 제39일에 주 당 2회 20mg/kg의 유지 용량으로 투약한다.

[0470]

B) 항-HER2 FSA(v506)를 연구 제1일에 15mg/kg의 부하 용량으로 정맥내로 투약하고, 이어서 연구 제18일에 주 당 2회 10mg/kg의 유지 용량으로 투약한다. 제22일 내지 제39일에, 5mg/kg 항-HER2 FSA를 주 당 2회 정맥내로

투약하였다. 항-HER2 FSA(v4184)를 주 당 2회 복강내로 5mg/kg으로 동시에 투약하였다.

[0471] C) 2중 파라토프 항-HER2 항체를 연구 제1일에 15mg/kg의 장입 용량으로 정맥내로 투약하고, 이어서, 연구 제39일에 주 당 2회 10mg/kg의 유지 용량으로 투약한다.

[0472] 종양 용적을 연구 과정에 걸쳐 주 당 2회 측정하고 나서, 반응자의 수 및 중앙값 생존을 제22일에 평가하였다. 결과를 도 18 및 표 17에 나타낸다.

[0473] 2중 파라토프 항-HER2 및 항-HER2 FSA는 IgG 대조군에 비해 우수한 종양 성장 저해를 입증하였다. 2중 파라토프 항-HER2 항체는 항-HER2 FSA 조합물에 비해 우수한 종양 성장 저해를 유도하였다(도 18a). 2중 파라토프 항-HER2 항체는 제22일에 항-HER2 FSA v506에 비교하여 반응 종양 수의 증가와 관련되었다(각각 11 및 5)(표 17). 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체 및 항-HER2 FSA는 IgG 대조군에 비해 우수한 생존을 입증하였다. 2중 파라토프 항-HER2 항체는 항-HER2 FSA(36일)에 비해 우수한 중앙값 생존(61일)을 가졌다(도 18b 및 표 17). 연구 제22일에 제2 항-HER2 FSA(v4184)를 항-HER2 FSA(v506)에 대한 조합물에 첨가하였다. 두 항-HER2 FSA의 조합물은 항-HER2 FSA(v506) 단독에 비해 추가적인 종양 성장 저해를 유도하였다.

표 17

n=15, 제22일	IgG	v506	v5019
평균 TV (mm ³) (기준으로부터의 변화%)	1908 (+766%)	1291 (+486%)	697 (+217%)
% TGI	0	32	63
반응자 (TV < 대조군의 50%)	0/15	5/15	11/15
중앙값 생존(일수)	22	36	61

[0474]

[0475] **실시예 17: 인간 난소암 세포주 이중이식 모델에서 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 효과**

[0476] 확립된 인간 난소암 세포 유래 이중이식 모델 SKOV3을 사용하여 DM1에 컨쥬게이팅된 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v6363)의 항종양 효능을 평가하였다.

[0477] 암컷 흥선제거 누드 마우스에 1mm³ 종양 단편의 피하 삽입을 통해 종양을 접종하였다. 그들이 평균 용적 220mm³에 도달될 때까지 종양을 모니터링하고; 이어서, 동물을 3개의 처리군으로 무작위화한다: IgG 대조군, 항-HER2 FSA-ADC 및 2중 파라토프 항-HER2-ADC.

[0478] 15마리의 동물을 각각의 그룹에 포함시켰다. 각각의 그룹에 대한 투약량은 다음과 같았다:

[0479] A) IgG 대조군을 연구 제1일에 30mg/kg의 부하 용량으로 정맥내로 투약하고, 이어서 연구 제39일에 주 당 2회 20mg/kg의 유지 용량으로 투약한다.

[0480] B) 항-HER2 FSA-ADC(v6246)를 연구 제1일에 10mg/kg의 부하 용량으로 정맥내로 투약하고, 이어서 연구 제15일 및 제29일에 5mg/kg의 유지 용량으로 투약한다.

[0481] C) 2중 파라토프 항-HER2 항체(v6363)를 연구 제1일에 10mg/kg의 장입 용량으로 정맥내로 투약하고, 이어서, 연구 제15일 및 제29일에 5mg/kg의 유지 용량으로 투약한다.

[0482] 종양 용적을 연구 내내 측정하였고, 반응자의 수 및 중앙값 생존을 제22일에 평가하였다. 결과를 도 19에 나타낸다. 결과의 요약을 표 18에 나타낸다.

[0483] 2중 파라토프 항-HER2-ADC 및 항-HER2 FSA-ADC는 IgG 대조군에 비해 더 양호하게 종양 성장을 저해하였다(도 19a 및 표 18). 2중 파라토프 항-HER2-ADC는 항-HER2 FSA-ADC보다 더 큰 정도로 종양 성장을 저해하였다. 2중 파라토프 항-HER2-ADC 그룹은 항-HER2 FSA-ADC에 비해 반응하는 종양 수의 증가와 관련되었다(각각 11 및 9). 2중 파라토프 항-HER2-ADC 및 항-HER2 FSA-ADC 그룹은 IgG 대조군에 비해 우수한 생존을 입증하였다(도 19b 및 표 18). 2중 파라토프 항-HER2 항체 그룹은 제36일의 중앙값 생존을 갖는 항-HER2 FSA-ADC에 비교하여 제61일의 중앙값 생존을 입증하였다(도 19b 및 표 18).

표 18

n=15, 제22일	IgG	v6246	v6363
평균 TV (mm ³) (기준으로부터의 변화%)	1908 (+766%)	873 (+297%)	632 (+187%)
% TGI	0	54%	67%
반응자 (TV < 대조군의 50%)	0/15	9/15	11/15
중앙값 생존 (일수)	22	36	61

[0484]

[0485] **실시예 18: 인간 1차 세포 이종이식 모델(HBCx-13b)에서 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 효과**

[0486] 인간 유방암로부터의 트라스투주맙 내성 환자 유래 이종이식 모델, HBCx-13B를 사용하여 DM1에 컨쥬게이팅된 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체의 항-종양 효능을 평가하였다.

[0487] 암컷 흉선제거 누드 마우스에 20mm³ 종양 단편의 피하 삽입을 통해 종양을 접종하였다. 그들이 평균 용적 100mm³에 도달될 때까지 종양을 모니터링하고; 이어서, 동물을 3개의 처리군으로 무작위화한다: 항-HER2 FSA(v506), 항-HER2 FSA-ADC(v6246) 및 2중 파라토프 항-HER2-ADC(v6363). 각각의 그룹에 7마리 동물을 포함시켰다. 각각의 그룹에 대한 투약량은 다음과 같았다:

[0488] A) 항-HER2 FSA를 연구 제1일에 15mg/kg의 부하 용량으로 그리고 연구 제4일, 제8일, 제11일, 제15일, 제18일, 제22일 및 제25일에 투여한 10mg/kg의 유지 용량으로 정맥내로 투약하였다.

[0489] B) 항-HER2 FSA-ADC를 연구 제1일에 10mg/kg의 부하 용량으로, 이어서, 제22일에 5mg/kg의 유지 용량으로 정맥내로 투약하였다.

[0490] C) 2중 파라토프 항-HER2 항체-ADC를 연구 제1일에 10mg/kg의 부하 용량으로, 이어서, 제22일에 5mg/kg의 유지 용량으로 정맥내로 투약하였다.

[0491] 종양 용적을 연구 내내 측정하였고, 평균 종양 용적, 완전한 반응 및 제로 잔여 질환 매개변수를 제50일에 평가하였다. 결과를 도 20에 나타낸다. 결과의 요약을 표 19에 나타낸다.

[0492] 2중 파라토프 항-HER2-ADC 및 항-HER2 FSA-ADC는 항-HER2 FSA(v506)에 비해 더 큰 종양 성장 저해를 입증하였다. 2중 파라토프 항-HER2-ADC는 항-HER2 FSA-ADC보다 더 양호하게 종양 성장을 저해하였다. 항-HER2 FSA-ADC 그룹과 비교하여 2중 파라토프 항-HER2-ADC 그룹은 완전한 반응을 나타내는 종양 수의 증가(기준 이하로 10% 초과 증가)(각각 7 및 4) 및 제로 잔여 질환을 나타내는 종양 수의 증가(각각 5 및 2)와 관련되었다.

표 19

n=7, 제50일	v506	v6246	v6363
평균 TV (mm ³) (기준으로부터의 변화%)	1149 (+1018%)	262 (+153%)	26 (-75%)
% TGI	0%	77%	98%
완전한 반응 (10% 초과 기준 억제)	0	4/7	7/7
제로 잔여 질환 (TV<20mm ³)	0	2/7	5/7

[0493]

[0494] **실시예 19: 인간 1차 세포 이종이식 모델(T226)에서 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 효과**

- [0495] 인간 유방암으로부터의 환자 유래 트라스투주맙 내성 이종이식 모델, T226을 사용하여 예시적인 2중 파라토프 항-HER2-ADC의 항-종양 효능을 평가하였다.
- [0496] 암컷 흥선제거 누드 마우스에 20mm³ 종양 단편의 피하 삽입을 통해 종양을 접종하였다. 그들이 평균 용적 100mm³에 도달될 때까지 종양을 모니터링하고; 이어서, 동물을 4개의 처리군으로 무작위화한다: IgG 대조군(n=15), 항-HER2 FSA(v506; n=15), 항-HER2 FSA-ADC(v6246; n=16) 및 2중 파라토프 항-HER2-ADC 컨쥬게이트(v6363; n=16). 각각의 그룹에 대한 투약량은 다음과 같았다:
- [0497] A) IgG 대조군을 연구 제1일에 15mg/kg의 부하 용량으로 그리고 연구 제4일, 제8일, 제11일, 제15일, 제18일, 제22일 및 제25일에 투여한 10mg/kg의 유지 용량으로 정맥내로 투약하였다.
- [0498] B) 항-HER2 FSA를 연구 제1일에 15mg/kg의 부하 용량으로, 제4일, 제8일, 제11일, 제15일, 제18일, 제22일 및 제25일에 10mg/kg의 유지 용량으로 정맥내로 투약하였다.
- [0499] C) 항-HER2 FSA-ADC를 연구 제1일 및 제15일에 5mg/kg으로 정맥내로 투약하였다.
- [0500] D) 2중 파라토프 항-HER2-ADC 컨쥬게이트를 연구 제1일 및 제15일에 5mg/kg으로 정맥내로 투약하였다.
- [0501] 연구 과정 내내 종양 용적을 측정하였고, 평균 종양 용적 및 완전한 반응 매개변수를 제31일에 평가하였다. 결과를 도 21에 나타낸다. 결과의 요약을 표 20에 나타낸다.
- [0502] 2중 파라토프 항-HER2-ADC 및 항-HER2 FSA-ADC는 항-HER2 FSA(v506) 및 IgG 대조군에 비해 더 양호한 종양 성장 저해를 입증하였다. 예시적인 2중 파라토프 항-HER2-ADC는 이 모델에서 항-HER2 FSA-ADC에 비해 동등한 종양 성장 저해 및 완전한 기준 퇴행을 유도하였다(도 21 및 표 20).

표 20

제31일	IgG (n=13)	v506 (n=13)	v6246 (n=16)	v6363 (n=16)
평균 TV (mm ³) (기준으로부터의 변화%)	1797 (+1728%)	1611 (+1573)	422 (+332%)	572 (+483%)
% TGI (대. hIgG)	0%	11%	77%	68%
완전한 반응 (10% 초과 기준 억제)	0/13	0/14	1/16	1/16

- [0503]
- [0504] **실시예 20: 인간 1차 세포 이종이식 모델(HBCx-5)에서 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 효과**
- [0505] 인간 유방암으로부터의 환자 유래 트라스투주맙 내성 이종이식 모델, HBCx-5(침습성 유관 암종, 내강 B)을 사용하여 예시적인 2중 파라토프 항-HER2-ADC의 항-종양 효능을 평가하였다.
- [0506] 암컷 흥선제거 누드 마우스에 20mm³ 종양 단편의 피하 삽입을 통해 종양을 접종하였다. 그들이 평균 용적 100mm³에 도달될 때까지 종양을 모니터링하고; 이어서, 동물을 4개의 처리군으로 무작위화한다: IgG 대조군(n=15), 항-HER2 FSA(v506; n=15), 항-HER2 FSA-ADC(v6246; n=16) 및 2중 파라토프 항-HER2-ADC(v6363; n=16). 각각의 그룹에 대한 투약량은 다음과 같았다:
- [0507] A) IgG 대조군을 연구 제1일에 15mg/kg의 부하 용량으로 그리고 연구 제4일, 제8일, 제11일, 제15일, 제18일, 제22일 및 제25일에 투여한 10mg/kg의 유지 용량으로 정맥내로 투약하였다.
- [0508] B) 항-HER2 FSA를 연구 제1일에 15mg/kg의 부하 용량으로, 제4일, 제8일, 제11일, 제15일, 제18일, 제22일 및 제25일에 10mg/kg의 유지 용량으로 정맥내로 투약하였다.
- [0509] C) 항-HER2 FSA-ADC를 연구 제1일 및 제15일, 제22일, 제29일, 제36일에 10mg/kg으로 정맥내로 투약하였다.
- [0510] D) 2중 파라토프 항-HER2-ADC를 연구 제1일 및 제15일, 제22일, 제29일, 제36일에 10mg/kg으로 정맥내로 투약하였다.
- [0511] 연구 과정 내내 종양 용적을 측정하였고, 평균 종양 용적, T/C 비, 반응자의 수, 완전 반응 및 제로 잔여 질환

매개변수를 제43일에 평가하였다. 결과를 도 22에 나타낸다. 결과의 요약을 표 21에 나타낸다.

[0512] 2중 파라토프 항-HER2-ADC 및 항-HER2 FSA-ADC는 항-HER2 FSA (v506) 및 IgG 대조군에 비해 더 양호한 종양 성장 저해를 입증하였다. 예시적인 2중 파라토프 항-HER2-ADC는 동등한 종양 성장 저해를 유도하였고, 트라스투주맵 내성 HBCx-5 인간 유방암 이종이식 모델에서의 항-HER2 FSA-ADC에 비해 반응자 수가 증가되었다(도 22 및 표 21).

표 21

제 43일	IgG (n=4)	허셉틴 (n=5)	T-DM1 (n=7)	6363 (n=7)
평균 TV (mm ³) (기준으로부터의 변화%)	922 (+693%)	815 (+598%)	193 (+65%)	241 (+106%)
T/C (IgG) 비	1	0.88	0.21	0.26
반응자 (TV < 대조군의 50%)	0/4	1/5	6/7	7/7
완전한 반응 (10% 초과 기준 억제)	0/4	0/5	1/7	0/7
제로 잔여 질환 (TV<20mm ³)	0/4	0/5	0/7	0/7

[0513]

[0514] 실시예 21: 인간 세포주 이종이식 모델(SKOV3)에서 항-HER2 치료 내성 종양에 대한 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 효과

[0515] 실시예 17에서 기재한 확립된 인간 난소암 세포 유래 이종이식 모델 SKOV3을 사용하여 항-HER2 치료 내성 종양에서 예시적인 2중 파라토프 항-HER2-ADC의 항-종양 효능을 평가하였다.

[0516] 상기 방법은 다음의 변형과 함께 실시예 17에 기재한 바를 따랐다. 동물의 코호트에 연구 제1일에 15mg/kg로 그리고 제4일, 제8일, 제15일에 10mg/kg으로 항-HER2 항체를 정맥내로 투약하였지만; 이 치료는 이 모델에서 제15일까지 효능있는 반응을 입증하지 못하였다. 이어서, 이 처리군을 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(v6363)를 이용하는 치료로 전환시키고, 연구 제19일 및 제27일에 5mg/kg으로 그리고 연구 제34일, 제41일 및 제48일에 15mg/kg으로 투약하였다.

[0517] 종양 용적을 실험 과정 내내 1주 2회 측정하였다.

[0518] 결과를 도 23에 나타내며, 예시적인 2중 파라토프 항-HER2-ADC (v6363)로 처리한 군은 220mm²의 초기 평균 시작 용적 미만의 평균 종양 용적으로 종양 퇴행을 보였다는 것을 나타낸다.

[0519] 실시예 22: 인간 1차 세포 이종이식 모델(HBCx-13b)에서 항-HER2 치료 내성 종양에 대한 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)의 효과

[0520] 인간 유방암으로부터의 트라스투주맵 내성 환자 유래 이종이식 모델인 HBCx-13B를 사용하여 DM1에 컨쥬게이트된 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체의 항-종양 효능을 평가하였다.

[0521] 상기 방법은 다음의 변형과 함께 실시예 18에 기재한 바를 따랐다. 동물의 코호트에 연구 제1일에 15mg/kg로 그리고 제4일, 제8일, 제15일, 제18일, 제22일 및 제25일에 10mg/kg으로 이중 특이성 항-ErbB 패밀리 표적화 항체를 정맥내로 투약하였지만; 이 치료는 효능있는 반응을 입증하지 못하였다. 이어서, 이 처리군을 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체 약물 컨쥬게이트(v6363)를 이용하는 치료로 전환시키고, 제31일, 제52일에 10mg/kg으로 그리고 제45일에 5mg/kg으로 투약하였다. 연구의 지속 내내 종양 용적을 측정하였다.

[0522] 결과를 도 24에 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2-ADC(v6363)가 종양 진행을 예방하였다는 것을 나타낸다. 제1 투약으로부터 제57일까지, v6363 처리군의 종양 용적은 2% 미만만큼 증가된 반면, 동일한 간격에서 v506 처리군은 110% 초과만큼 성장하였다.

[0523] 실시예 23: 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체의 푸코스 함량 분석

[0524] 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019, v7091 및 v10000)의 N-연결 글리칸의 푸코스 함량을 정량화하기 위해 당펩타이드 분석을 수행하였다.

[0525] 당펩타이드 분석을 다음과 같이 수행하였다. 항체 샘플을 56°C에서 1시간 동안 10mM DTT를 이용하여 환원시키고, 실온에서 1시간 55mM 요오도아세트아마이드를 이용하여 알킬화시키고 나서, 37°C에서 50mM 중탄산 암모늄 중의 트립신을 이용하여 용액 중에서 분해시켰다. 큐토프-올티마(QToF-Ultima) 상에서 나노LC-MS/MS에 의해 트립신 분해를 분석하였다. NCBI 데이터베이스를 마스코트(Mascot)를 이용하여 검색하여 단백질 서열을 동정하였다. MaxEnt3(MassLynx)을 이용하여 당단백질 이온을 데콘볼루션시키고, 상이한 당형태를 정량화하였다.

[0526] 당단백질 분석 결과의 요약을 표 22에 제시한다. 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019, v7091 및 v10000)의 N-연결 글리칸은 대략 90% 푸코실화된(푸코스가 없는 10% N-연결 글리칸). 단일특이성 항-HER2 FSA(v506)의 N-연결 글리칸은 대략 96% 푸코실화되며(푸코스가 없는 4% N-연결 글리칸) 및 허셉틴(등록상표)은 대략 87% 푸코실화된(푸코스가 없는 4% N-연결 글리칸).

표 22

Fc N-연결 글리코펩타이드 분석

항체 변이체	푸코스과 함께 관찰한 글리코펩타이드의 평균%	푸코스 없이 관찰한 글리코펩타이드의 평균%	n
v506	96.4	3.6	5
허셉틴 (등록상표)	86.5	13.4	4
v5019	90.5	9.4	6
v7091	89.9	26.9	3
v10000	89.2	10.7	5

[0527]

[0528] 이들 결과는 CHO 세포에서 일시적으로 발현된 2중 파라토프 항-HER2 항체(이형이량체 Fc를 지님)가 상업적 허셉틴(등록상표)에 비해 N-글리칸에서 대략 3% 더 높은 푸코스 함량을 가진다는 것을 나타낸다. CHO 세포에서 일시적으로 발현된 동형이량체 항-HER2 FSA(v506)는 대략 96%의 가장 높은 푸코스 함량을 가졌다.

[0529] **실시예 24: 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체의 열 안정성**

[0530] 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019, v7091 및 v10000) 및 ADC(v6363, v7148 및 v10533)의 열 안정성을 이하에 기재하는 DSC에 의해 측정하였다.

[0531] PBS 중에서 약 0.3mg/ml로 조절된 정제된 단백질 샘플(항-HER2 2중 파라토프 항체 및 항-HER2 2중 파라토프-ADC)을 이용하여 마이크로칼(MicroCal)(상표명) VP-모세관 DSC(GE 헬스케어사)에서 DSC를 수행하였다. 샘플을 저퍼드백, 8초 필터, 5분 프레T스탯(preTstat) 및 70psi 질소 압력을 이용하여 60°C/시간 속력으로 20.0로부터 100°C로 스캔하였다. 얻어진 써모그램을 오리진(Origin) 7 소프트웨어를 이용하여 분석하였다.

[0532] 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v5019, v7091 및 v10000)의 열 안정성 결과를 도 25A 내지 도 25C에 나타낸다. 도 25A는 v5019에 대한 써모그램을 나타내고; 각각의 Fc 및 쇠 A Fab는 75°C의 T_m을 가지며, 5019의 쇠 scFv는 69°C의 T_m을 가진다. 도 25B는 v10000에 대한 써모그램을 나타내고; Fc CH3 도메인은 T_m 82°C를 가지며, Fab 쇠 A는 76.5°C의 T_m을 가지고, 쇠 B scFv는 69.5°C의 T_m을 가진다. 도 25C는 v7091에 대한 써모그램을 나타내고; Fc CH3 도메인은 T_m 82°C를 가지며, Fab 쇠 A는 76.7°C의 T_m을 가지고, 쇠 B scFv는 69.5°C의 T_m을 가진다.

[0533] 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 ADC(v6363, v7148 및 v10533)의 열 안정성 결과를 도 26A 내지 도 26C에 나타낸다. 도 26A는 v6363에 대한 써모그램을 나타내고; Fc는 75°C의 T_m을 가지며, 쇠 A Fab 및 Fc CH3 도메인은 75°C의 T_m을 가진다. 6363의 쇠 B scFv는 69°C의 T_m을 가진다. 도 26B는 v10553에 대한 써모그램을 나타내고; Fc CH3 도메인은 83°C의 T_m을 가지며, 쇠 A Fab는 75.7°C의 T_m을 가지고, 쇠 B scFv는 66.2°C의 T_m을 가진다. 도

26C는 v7148에 대한 써모그램을 나타내고; Fc CH3 도메인은 82.6°C의 T_m을 가지며, 쇠 A Fab는 74.8°C의 T_m을 가지고, 쇠 B scFv는 66.6°C의 T_m을 가진다.

[0534] 예시적인 2중 파라토프 항체 및 ADC는 야생형 IgG와 비슷한 열 안정성을 가진다.

[0535] **실시예 25: 여러 수준의 HER2를 발현시키는 유방 종양 세포의 ADCC를 유발하는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체의 능력**

[0536] HER2 양성 3+, 2+ 및 0/1+ HER2 발현 (삼중-음성) 유방암 세포주의 용량 의존적 ADCC를 유발하는 예시적인 2중 파라토프 항체(v5019)의 능력을 시험하였다. NK 효과기 세포 대 표적 세포비가 5:1로 일정하게 남아있는 것을 제외하고 ADCC 실험을 실시예 11에 기재한 바와 같이 수행하였다.

[0537] ADCC 결과를 도 27 및 표 23에 나타낸다. 도 27a 내지 도 27c의 결과는 예시적인 2중 파라토프 항체(v5019)가 허셉틴(등록상표)에 비해 HER2 양성 3+, 2+ 및 0/1+ HER2 발현 유방암 세포의 대략 1.2 내지 1.3배 더 큰 최대 세포 용해를 유발한다는 것을 나타낸다. 결과는 또한 v5019(푸코스를 지니는 90% N-글리칸)가 허셉틴(등록상표)(푸코스를 지니는 86% N-글리칸; 실시예 23)에 비해 N-글리칸(NK 세포 상에서 CD16에 대해 더 낮은 결합 친화도를 야기함)에서 대략 4% 더 높은 푸코스 함량을 가짐에도 불구하고 HER2 양성 3+, 2+ 및 0/1+ HER2 발현 유방암의 ADCC를 더 효과적으로 매개한다는 것을 나타낸다. v5019에 의해 유발되는 더 높은 표적 세포 사멸은 실시예 6에 기재된 바와 같은 증가된 종양 세포 장식에 기인할 가능성이 있다.

표 23

HER2 3+, 2+ 및 0/1+ HER2 발현 유방암 세포의 ADCC

치료	SKBr3 HER2 3+		JIMT-1 HER2 2+		MDA-MB-231 HER2 0/1+	
	최대 표적 세포 용해%	EC ₅₀ (nM)	최대 표적 세포 용해%	EC ₅₀ (nM)	최대 표적 세포 용해%	EC ₅₀ (nM)
v5019	30	~0.9	60	0.001	53	0.9
허셉틴 (등록상표)	23	~0.9	51	0.002	44	0.9

[0538]

[0539] 도 27d에서 ADCC 결과는 예시적인 2중 파라토프 항체(v7091 및 v10000)가 기저 HER2 발현 WI-38 세포주에서 허셉틴(등록상표)에 비교하여 유사한 최대 세포 용해를 유발한다는 것을 나타낸다. ADCC 결과는 HER2 수용체 수준이 10,000개 HER2/세포 초과일 때 증가된 결합 및 ADCC에 대한 역치가 생긴다는 것을 나타내는 세포 결합 데이터(실시예 6)를 뒷받침한다. 이 데이터에 기반하여, 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체는 HER2 3+, 2+ 및 1+ 종양 세포의 증가된 세포 표면 결합 및 ADCC를 가질 것이지만, 대략 10,000개 이하의 수용체에서 HER2 수용체의 기저 수준을 발현시키는 비-종양 세포의 증가된 세포 표면 결합 및 ADCC를 갖지 않을 것으로 예상하였다.

[0540] **실시예 26: ADCC에 대한 항체 탈푸코실화의 효과**

[0541] HER2 양성 2/3+, 2+ 및 0/1+ HER2 발현(삼중-음성) 유방암 세포주의 용량-의존적 ADCC를 유발하는 탈푸코실화된 예시적인 2중 파라토프 항체(v5019-탈푸코실화, 10000-탈푸코실화)의 능력을 시험하였다. ADCC 실험을, 불변 NK 효과기 세포 또는 PBMC 효과기 대 표적(E:T) 세포비 5:1을 사용한 것을 제외하고 실시예 11에 기재한 것과 같이 SKOV3 세포, MDA-MB-231 세포 및 ZR75-1 세포에서 수행하였다. 탈푸코실화된 예시적인 2중 파라토프 항체를 문헌[von Horsten et al. 2010 Glycobiology 20: 1607-1618]에 기재한 바와 같이 일시적으로 발현시킨 RMD 효소를 이용하여 실시예 1에 기재한 바와 같이 CHO 세포에서 일시적으로 생성하였다. v5019-탈푸코실화 및 v10000-탈푸코실화의 푸코스 함량을 실시예 23에 기재한 바와 같이 측정하였고, 2% 미만의 푸코실화가 되는 것으로 결정하였다(데이터 미제시). NK 효과기 세포를 이용하는 데이터를 도 28a 내지 도 28b에 나타낸 한편, PBMC를 이용하는 데이터를 도 28c에 나타낸다.

[0542] 도 28a, 도 28b 및 표 24는 허셉틴(등록상표)보다 대략 1.5 내지 1.7배 더 높은 최대 세포 용해로 탈푸코실화된 v5019(v5019-탈푸코실화)가 HER 2/3+ 및 0/1+ HER2 발현 유방암 세포의 ADCC를 유발한다는 것을 나타낸다.

표 24

HER2 2/3+ 및 기저 HER2 발현 (삼중-음성) 유방암 세포의 ADCC

치료	SKOV3 HER2 2+/3+		MDA-MD-231 HER2 0/1+	
	최대 표적 세포 용해%	EC ₅₀ (nM)	최대 표적 세포 용해%	EC ₅₀ (nM)
v5019-탈푸코실화	24	~0.6	58	~0.6
허셉틴 (등록상표)	14	~0.6	40	~0.3

[0543]

[0544]

도 28c 및 표 25의 결과는 v10000가 허셉틴(등록상표)보다 대략 1.3배 더 큰 최대 세포 용해로 HER2 2+ ZR-75-1 유방암 세포의 ADCC를 유발하고, v10000-탈푸코실화가 허셉틴(등록상표)보다 대략 1.5배 더 큰 최대 세포 용해를 유발한다는 것을 나타낸다.

표 25

HER2 2/3+ 유방암 세포의 ADCC

치료	ZR-751 HER2 2+	
	최대 표적 세포 용해%	EC ₅₀ (nM)
v10000	28	~0.06
v10000-탈푸코실화	32	~0.7
허셉틴 (등록상표)	21	~0.5

[0545]

[0546]

ADCC 결과는 예시적인 탈푸코실화된 2중 파라토프 항체(v5019-탈푸코실화, v10000-탈푸코실화)가, 허셉틴(등록상표)을 기준점으로서 사용할 때의 푸코실화 항체(v5019 실시예 25, v10000)에 비해 대략 15 내지 25% 더 큰 최대 세포 용해를 유발한다는 것을 나타낸다. 이들 결과는 Fc N-글리칸의 푸코스 함량이 ADCC에 의해 증가된 최대 세포 용해를 초래한다는 것을 나타낸다.

[0547]

실시예 27: 외인성 성장-자극 리간드(EGF 및 HRG)의 존재 하에 HER2 3+ 유방암 세포의 성장을 저해하는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체의 능력

[0548]

외인성 성장-자극 리간드(EGF 및 HRG)의 존재 하에 HER2 3+ 유방암 세포의 성장을 저해하는 5019의 능력을 시험하였다.

[0549]

항체 및 외인성 리간드(10ng/ml HRG 또는 50ng/ml EGF)를 표적 BT-474 HER2 3+ 세포에 3회 중복해서 첨가하고 나서, 5일 동안 37°C에서 인큐베이션시켰다. 알라마르블루(상표명)(2시간 동안 37°C)를 이용하여 세포 생존도를 측정하고 나서, 흡광도를 530/580nm에서 판독하였다. 데이터를 비처리 대조군에 대해 정규화시키고 나서, 그래프패드 프리즘을 이용하여 분석을 수행하였다.

[0550]

결과를 도 29 및 표 26에 나타낸다. 결과는 예시적인 2중 파라토프 항체 v5019가 성장 자극 리간드의 부재 시 (70% 저해)뿐만 아니라 EGF(40% 저해) 또는 HRG(~10% 저해)의 존재 하에 HER2 3+ 유방암 세포의 성장을 저해한다는 것을 나타낸다. 항-HER2 단일특이성 FSA(v506)는 다른 erbB 수용체 EGFR 및 HER3를 통해 EGF 또는 HRG 유도 종양 세포 성장을 차단하지 않는다는 것을 나타낸다. v5019는 HER2 및 다른 동료 erbB 수용체를 통한 리간드-의존적 이량체화 및 성장을 저해함에 있어서 v506보다 우수하다.

표 26

HER2 3+ 암세포의 성장 저해

치료	생존%		
	항체 단독	+ EGF	+ HRG
모의	100	122	110
v506	41	114	129
v5019	31	56	92

[0551]

[0552]

이들 결과는 예시적인 2중 파라토프 항체가 HER2+ 세포의 리간드-의존적 성장을 감소시킬 수 있다는 것을 나타내며, 이는 항-ECD2 쇠 A Fab 암의 결합 및 리간드 자극 수용체 동형- 및 이형이량체화의 후속적 차단 및 erbB 신호전달에 기인할 가능성이 있다.

[0553]

실시예 28: 침습성 유관 유방 암종의 트라스투주맙-내성 및 화학요법 내성 HER2 3+ 환자-유래(PDX) 전이성 유방암 이종이식 모델에서 2중 파라토프 항 HER2 항체의 효과

[0554]

침습성 유관 인간 유방암으로부터의 HER2 3+(ER-PR 음성) 환자 유래 이종이식 모델인 HBCx-13B를 사용하여 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체, v7187의 항-종양 효능을 평가하였다. v7187은 v5019의 탈푸코실화 형태이다.

[0555]

모델은 단일 제제 트라스투주맙, 트라스투주맙과 퍼투주맙의 조합물(실시예 31 참조), 카페시타빈, 도세탁셀과 아드리아마이신/사이클로포스파마이드에 대해 내성이 있다.

[0556]

암컷 흉선제거 누드 마우스에 20mm³ 종양 단편의 피하 삽입을 통해 종양을 접종하였다. 그들이 평균 용적 140mm³에 도달될 때까지 종양을 모니터링하였다. 이어서, 동물을 2개의 처리군으로 무작위화한다: 비히클 대조군 및 v7187(각각의 그룹에 8마리 동물이 있음). 정맥내 투약량은 다음과 같았다. 비히클 대조군에 연구 제43일에 주당 2회 5ml/kg의 제형 완충제로 정맥내로 투약하였다. v7187에 연구 제43일에 주당 2회 10mg/kg으로 정맥내로 투약하였다. 연구 내내 종양 용적을 측정하였고, 표 27에 나타낸 바와 같이 제43일에 다른 매개변수를 평가하였다.

[0557]

결과를 도 30 및 표 27에 나타낸다. 결과는 비히클 대조군으로 처리한 종양의 계속적 진행을 나타내고 연구 제43일에 1600mm³를 초과한다는 것을 나타낸다. v7187로 처리한 마우스는 제43일에 평균 종양 용적 740mm³로 상당히 더 큰 종양 성장 저해(T/C - 0.44)를 나타내었다. v7187은 연구 제43일에 제로 잔여 질환에 의해 단일 종양이 완전한 퇴행을 나타냄에 따라 5/8 종양에서 반응을 유발하였다. v7187로 처리한 동물은 비히클 대조군으로 처리한 0/8 마우스에 비해 요법에 대해 5/8 종양이 반응함에 따라 우수한 반응을 가졌다. 추가로, v7187에 의한 치료는 각각 19일 및 11일의 배가 시간을 지니는 비히클 대조군에 비해 종양 진행이 상당히 지연되었다.

표 27

종양 반응		비히클	V7087
제 43일	평균 TV (mm ³) (기준으로부터의 변화%)	1683 (+1079%)	740 (+422%)
	T/C 비	1	0.44
	반응자 (TV < 대조군의 50%)	0/8	5/8
	PR (10% 초과 기준 억제)	0/8	1/8
	ZRD (TV < 20mm ³)	0/8	1/8
진행에 대한 시간	배가시간 (일수)	11	19

[0558]

[0559]

예시적인 항-HER2 2중 파라토프(v7187)는 트라스투주맙+퍼투주맙 내성 HER2 3+ 전이성 유방암 종양 이종이식 모델에서 효능있음을 나타낸다. V7187 치료는 높은 반응 속도를 가지며, 표준 치료 내성 HER2 3+ 유방암의 종양의

종양 진행을 상당히 손상시킬 수 있다.

[0560] 실시예 29: HER2+ 종양 세포주에 대한 2중 파라토프 항-HER2 ADC의 평가

[0561] HER2 양성 3+, 2+, 유방 및 난소 종양 세포주에 결합하고 포화시키는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 ADC의 능력을 실시예 6에 기재한 바와 같은 FACS에 의해 분석하였다.

[0562] 데이터를 도 31에 나타낸다. 도 31a는 포화 농도에서 T-DM1(v6246) 보다 대략 2.0배 더 큰 Bmax(MFI)로 SKOV3 종양 세포주에 결합하는 v6363을 나타낸다. 도 31b는 v6363이 포화 농도에서 T-DM1(v6246)보다 대략 1.6배 더 큰 Bmax(MFI)로 JIMT-1 종양 세포주에 결합한다는 것을 나타낸다. 이들 데이터는 v6363(ADC)이 모 비컨쥬게이팅 v5019 항체(실시예 6)에 비교하여 증가된 세포 표면 결합의 유사한 종양 세포 결합 특성을 가진다는 것을 나타낸다. SMCC-DM1(v6363)과의 v5019의 컨쥬게이션은 항체의 항원-결합 특성을 변용시키지 않는다.

[0563] 예시적인 2중 파라토프 항체(v5019, v7091 및 v10000) 및 ADC(v6363, v7148 및 v10553)에 대한 직접 비교를 포함시키기 위해 FACS 결합 분석을 반복하였다. 데이터를 도 31c 및 도 31d에 나타낸다. 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 ADC(v6363, v7148 및 v10553)는 비표지 2중 파라토프 항체(v5019, v7091 및 v10000)에 비교하여 동등한 세포 표면 포화(Bmax)를 가진다.

[0564] 이들 데이터는 SMCC-DM1과의 예시적인 2중 파라토프 항체(v5019, v7091 및 v10000)의 컨쥬게이션이 결합 특성을 변용시키지 않는다는 것을 나타낸다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항-HER2 ADC(v6363, v7148 및 v10553)는 단일특이성 항-HER2 ADC(v6246, T-DM1)에 비해 대략 1.5배(또는 더 크게) 증가된 세포 표면 결합을 가진다.

[0565] 실시예 30: HER2 3+ (ER-PR 음성) 환자 유래 이종이식 모델에서 예시적인 항-HER2 2중 파라토프-ADC의 용량-의존적 종양 성장 저해

[0566] 침습성 유관 인간 유방암으로부터의 HER2 3+(ER-PR 음성) 환자 유래 이종이식 모델인 HBCx-13B를 사용하여 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 ADC, v6363의 항-종양 효능을 평가하였다. 상기 모델은 단일 제제 트라스투주맙, 트라스투주맙과 퍼투주맙의 조합물(실시예 31 참조), 카페스타빈, 도세탁셀 및 아드리아마이신/사이클로포스파마이드에 대해 내성이다.

[0567] 암컷 흥선제거 누드 마우스에 20mm³ 종양 단편의 피하 삽입을 통해 종양을 접종하였다. 그들이 평균 용적 160mm³에 도달될 때까지 종양을 모니터링하고; 이어서, 동물을 5개의 처리군으로 무작위화한다: 비특이적 인간 IgG 대조군 및 v6363의 4개의 상승적 용량. 8 내지 10마리 동물을 각각의 그룹에 포함시켰다. 각각의 그룹에 대한 투약량은 다음과 같았다. IgG 대조군에 연구 제29일에 주 당 2회 10mg/kg으로 정맥내로 투약하였다. v6363에 연구 제1일, 제15일 및 제29일에 0.3, 1, 3 또는 10mg/kg으로 정맥내로 투약하였다. 종양 용적을 연구 내내 평가하고, 매개변수를 표 29에 나타낸 바와 같이 평가하였다.

[0568] 결과를 도 32 및 표 28에 나타낸다. 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 ADC(v6363)가 트라스투주맙-내성 HBCx-13b PDX 모델에서 용량-의존적 종양 성장 저해를 매개하였다는 것을 나타낸다(도 32A). 추가로, v6363은 용량 의존적 방식으로 전반적인 생존을 개선시켰으며, IgG 대조군에 대해 43일에 비교하여 3mg/kg 및 10mg/kg 용량에 대해 중앙값 생존 시간은 63일 초과였다(도 32B 및 표 28). 3mg/kg 용량은 대조군(0/8)에 비해 증가된 반응 속도(5/10)와 관련되었다. 10mg/kg 용량에서 v6363으로 치료한 모든 마우스는 요법(9/9)에 반응할 뿐만 아니라 종양 진행의 방지를 나타내었다. 게다가, 대다수의 종양은 객관적인 부분적 반응(7/9)을 가졌고, 연구 마지막에, 다수는 제로 잔여 질환(6/9)이 있었다. v6363은 모든 용량에서 잘 용인되었고, 어떤 유해 사건도 관찰되지 않았으며, 체중 손실이 관찰되지 않았다.

표 28

종양 반응		IgG	6363 0.3 mg/kg	6363 1 mg/kg	6363 3 mg/kg	6363 10 mg/kg
제 43일	평균 TV (mm ³) (기준으로 부터의 변화%)	1963 (+1119%)	1916 (+1073%)	1613 (+895%)	1268 (+682%)	84 (-49%)
	T/C (IgG) 비	1	0.97	0.82	0.64	0.04
	반응자 (TV < 대조군의 50%)	0/8	0/10	2/10	5/10	9/9
	PR	0/8	0/10	0/10	0/10	7/9

[0569]

	(>10% 기준 억제)					
	ZRD (TV<20mm ³)	0/8	0/10	0/10	0/10	6/9
진행에 대한 시간	종양 배가시간 (일수)	9	9	14	17	52
생존 반응	종양값 생존 (일수)	43	41	50	>63	>63
체중	기준으로 부터의 변화%	+10%	+10%	+9%	+5%	+0%

[0570]

[0571]

이들 데이터는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 ADC(v6363)가 트라스투주맙+퍼투주맙 내성 HER2 3+ 전이성 유방암 종양 이종이식 모델에서 효능있다는 것을 나타낸다. v6363 치료는 고반응률과 관련되며, 종양 진행을 상당히 손상시키고, 표준 치료 내성 HER2 3+ 유방암에서 생존을 연장시킨다.

[0572]

실시예 31: 트라스투주맙 내성 PDX HBCx-13b에서의 표준 치료 조합에 비교한 2중 파라토프 항-HER2-ADC

[0573]

HER2 3+, ER-PR 음성 트라스투주맙 내성 환자 유래 유방암 이종이식 모델(HBCx-13b)에서 v6363의 효능을 평가하고 허셉틴(상표명) + 퍼제타(Perjeta)(상표명); 및 허셉틴(상표명) + 도세탁셀의 조합물과 비교하였다.

[0574]

암컷 흥선제거 누드 마우스에 20mm³ 종양 단편의 피하 삽입을 통해 종양을 접종하였다. 그들이 평균 용적 100mm³에 도달될 때까지 종양을 모니터링하고; 이어서, 동물을 4개의 처리군(8 내지 10마리 동물/그룹)으로 무작위화한다: 비특이적 인간 IgG 대조군, 허셉틴(상표명) +도세탁셀, 허셉틴(상표명) +퍼제타(상표명) 및 v6363. 각각의 그룹에 대한 투약량은 다음과 같았다. IgG 대조군에 연구 제29일에 주 당 2회 10mg/kg으로 정맥내로 투약하였다. 허셉틴(상표명) +도세탁셀 조합물 허셉틴(상표명)을 연구 제29일에 1주 2회 10mg/kg으로 정맥내로 투약하

고, 도세탁셀을 연구 제1일 및 제22일에 20mg/kg으로 복강내로 투약하였다. 허셉틴(상표명) + 퍼제타(상표명) 조합물 허셉틴을 연구 제29일에 1주 2회 5mg/kg으로 정맥내로 투약하고, 퍼제타를 연구 제29일에 1주 2회 5mg/kg으로 정맥내로 투약하였다. 허셉틴(상표명) 및 퍼제타(상표명)를 동시에 투약하였다. v6363을 연구 제1일, 제15일 및 제29일에 10mg/kg으로 정맥내로 투약하였다.

[0575] 결과를 도 33 및 표 29에 나타낸다. 도 33A는 시간에 따른 종양 용적을 나타내고, 도 33B는 생존 플롯을 나타낸다. 이들 결과는 허셉틴(상표명) + 퍼제타(상표명)의 조합물이 대조군 IgG에 비해 임의의 종양 성장 저해를 생성하지 않았고 제39일에 1800mm³를 초과하였다는 것을 나타낸다. 허셉틴(상표명) + 도세탁셀의 조합물은 종양 성장을 상당히 감소시키지는 않았지만, 제53일까지 IgG 대조군에 대한 제43일에 비해 종양값 생존율을 연장시켰다. v6363는 유의한 종양 성장 저해(T/C - 0.04)를 생성하였으며, 여기서, 모든 종양은 요법에 반응하였고, 7/10 종양은 완전한 퇴행을 경험하였다(제로 잔여 질환). v6363는 조합물 요법 둘 다에 비해 생존율을 상당히 연장시켰다. 코호트에 걸쳐 체중은 치료에 의해 상당히 영향받지 않았다.

표 29

종양 반응		IgG	허셉틴 (상표명) +퍼제타 (상표명)	허셉틴 (상표명) +도세탁셀	v6363 10mg/kg
제39일	평균 TV (mm ³) (기준으로 부터의 변화%)	1809 (+1023%)	1975 (+1085%)	1328 (+714%)	76 (-54%)
	T/C (IgG) 비	1.0	1.10	0.73	0.04
	반응자 (TV < 대조군의 50%)	0/8	0/8	1/10	9/9
	PR (>10% 기준 억제)	0/8	0/8	0/10	8/9
	ZRD (TV<20mm ³)	0/8	0/8	0/10	6/9
생존 반응	중양값 생존 (일수)	43	39	53	>63
체중	기준으로 부터의 변화%	+10%	+7%	+3%	-2%

[0576]

[0577] 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 ADC(v6363)가 이 이종이식 모델에서 시험한 모든 매개변수에 대해 표준 치료 조합물보다 우수하다는 것을 나타낸다.

[0578] **실시예 32: HER2+ 트라스투주맵-내성 유방암 세포 유래 종양 이종이식 모델에서 2중 파라토프 항-HER2-ADC의 효능**

[0579] HER2 3+ 트라스투주맵 내성 유방암 세포-유래(JIMT-1, HER2 2+) 이종이식 모델에서 v6363의 효능을 평가하였다 (Tanner et al. 2004. Molecular Cancer Therapeutics 3: 1585-1592).

[0580] 암컷 RAG2 마우스에 종양을 피하로 접종하였다. 그들이 평균 용적 115mm³에 도달될 때까지 종양을 모니터링하고; 이어서, 동물을 2개의 처리군으로 무작위화한다: 트라스투주맵(n=10) 및 v6363. 각각의 그룹에 대한 투약량은 다음과 같았다. 트라스투주맵을 제1일에 정맥내로 15mg/kg으로 그리고 연구 제26일에 주당 2회 10mg/kg으로 정맥내로 투약하였다. v6363을 연구 제1일 및 제15일에 5mg/kg으로 정맥내로 연구 제23일 및 제30일에 10mg/kg으로

로 그리고 제37일 및 제44일에 9mg/kg을 정맥내로 투약하였다.

[0581] 결과를 도 34 및 표 30에 나타낸다. 이들 결과는 v6363이 연구 제36일에 트라스투주맵에 비해 종양 성장(T/C - 0.74)을 상당히 저해한다는 것을 나타낸다. v6363 및 트라스투주맵 치료는 체중을 상당히 변화시키지 않았다. v6363 혈청 노출은 처음 10mg/kg 용량 후 제7일에 17.9µg/ml였다.

표 30

종양 반응		트라스투주맵	6363
제36일	평균 TV (mm ³) (기준으로 부터의 변화%)	718 (+541)	532 (+335%)
	T/C (Tras)비	1	0.74
	반응자 (TV < 대조군의 50%)	1/10	2/13
	PR (>10% 기준 억제)	0/10	0/13

[0582]

	ZRD (TV<20mm ³)	0/10	0/13
체중	기준으로 부터의 변화%	+5.8%	+3.1%
약물 노출 (7일)	평균 혈청 농도 (ug/ml)	187.2	17.9

[0583]

[0584] 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 ADC(v6363)가 트라스투주맵-내성 유방암에서 효능이 있고, 현재의 표준 치료에 대해 내성이 있는 유방암을 치료하는데 잠재적 효용을 가진다는 것을 나타낸다.

[0585] **실시예 33: 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 항-HER2 2중 파라토프-ADC의 이형이량체 Fc에 결합하는 FcγR**

[0586] 이형이량체 Fc를 갖는 항-HER2 2중 파라토프 항체(v5019, v7019 v10000) 및 ADC(v6363, v7148 및 v10553)의 인간 Fcγ에 대한 결합을 평가하고, 동형이량체 Fc를 갖는 항-HER2 FSA(v506) 및 ADC(v6246)에 비교하였다.

[0587] 항체 Fc 영역에 대한 FcγR의 친화도를 프로테온(ProteOn) XPR36(BIO-RAD)을 이용하여 SPR에 의해 측정하였다. HER2를 표준 아민 결합에 의해 CM5 칩 상에 고정시켰다(3000RU). 항체는 HER2 표면 상에서 포획한 항원이었다. 정제한 FcγR을 2분 동안 다양한 농도(20 내지 30µl/분)로 주사한 후에 4분 동안 해리시켰다. 센소그램을 1:1 랑그뮐어 결합 모델에 전체적으로 적합화시켰다. 실험을 25°C에서 수행하였다.

[0588] 결과를 표 31에 나타낸다. 예시적인 이형이량체 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 ADC는 비슷한 친화도로 CD16aF, CD16aV158, CD32aH, CD32aR131, CD32bY163 및 CD64A에 결합되었다. 항체의 SMCC-DM1과의 컨주게이션은 FcγR 결합에 부정적으로 영향을 미치지 않는다. 이형이량체 항-HER2 2중 파라토프 항체는 동형이량체 항-HER2 FSA(v506) 및 ADC(v6246)에 비해 CD16aF, CD32aR131, CD32aH에 대해 대략 1.3 내지 2배 더 높은 친화도를 가진다. 이들 결과는 이형이량체 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 ADC가 WT 동형이량체 IgG1과 유사 또는 더 큰 친화도로 면역 효과기 세포 상에서 FcγR의 상이한 다형체 형태에 결합한다는 것을 나타낸다.

표 31

SPR 에 의한 인간 FcγR 결합

변이체	10uM CD16a v158		10uM CD16aF		10uM CD32aR131		10uM CD32aH		10uM CD32b Y163		100nM CD64A	
	KD 평균	SD	KD 평균	SD	KD 평균	SD	KD 평균	SD	KD 평균	SD	KD 평균	SD
v506	1.5E-07	2E-08	7.1E-07	1E-08	7.6E-07	1E-07	6.3E-07	2E-08	2.4E-06	1E-07	8.64E-10	4.33E-10
v6246	1.6E-07	2E-08	7.0E-07	9E-09	7.4E-07	7E-08	6.3E-07	2E-08	2.1E-06	7E-08	1.08E-09	5.13E-10
v10000	1.2E-07	1E-08	4.8E-07	2E-08	5.1E-07	9E-08	4.6E-07	2E-08	1.5E-06	7E-08	8.41E-10	4.74E-10
v10553	1.2E-07	2E-08	4.9E-07	2E-07	3.5E-07	1E-07	3.6E-07	4E-09	1.2E-06	7E-08	4.95E-10	1.41E-10
v7091	1.2E-07	1E-08	5.1E-07	2E-08	5.6E-07	9E-08	5.0E-07	3E-08	1.7E-06	8E-08	9.68E-10	5.05E-10
v7148	1.2E-07	2E-08	5.4E-07	2E-07	3.7E-07	1E-07	4.2E-07	1E-08	1.5E-06	1E-07	5.77E-10	2.02E-10
v5019	1.3E-07	1E-08	5.2E-07	1E-08	5.6E-07	6E-08	4.7E-07	2E-08	1.6E-06	2E-07	8.44E-10	4.88E-10
v6363	1.2E-07	2E-08	4.5E-07	1E-07	3.5E-07	1E-07	3.4E-07	1E-08	1.2E-06	5E-08	4.58E-10	1.13E-10

[0589]

[0590] 실시예 34: 트라스투주맙 민감성 난소암 세포 유래 종양 이종이식 모델에서 생체내 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 효능

[0591] 실시예 17에 기재한 확립된 인간 난소암 세포 유래 이종이식 모델 SKOV3을 사용하여 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체, v5019, v7091 및 v10000의 항-종양 효능을 평가하였다.

[0592] 암컷 흥선제거 누드 마우스에 좌측 옆구리에 피하로 HBSS에서 325,000개 세포의 종양 현탁액을 접종하였다. 그들이 평균 용적 190mm³에 도달될 때까지 종양을 모니터링하고, 무작위의 시차를 둔 방식으로 4개 처리군에 등록하였다: 비특이적 인간 IgG 대조군, v5019, v7091, 및 v10000. 각각의 그룹에 대한 투약량은 다음과 같았다. 비특이적 인간 IgG를 연구 제1일에 시작해서 연구 제26일까지 주당 2회 10mg/kg으로 정맥내로 투약하였다. v5019, v7091, 및 v10000을 연구 제1일에 시작해서 연구 제26일까지 주당 2회 3mg/kg으로 정맥내로 투약하였다. 연구 내내 종양 용적을 측정하였고, 표 32에 열거한 매개변수를 제29일에 측정하였다.

[0593] 데이터를 도 35A(종양 성장), 도 35B(생존 플롯) 및 표 32에 제시하고, v5019, v7091 및 v10000에 의한 치료가 비슷한 종양 성장 저해(T/C: 0.53-0.71), 반응하는 종양의 수, 연장에 대한 시간 및 IgG 대조군에 비교한 연구 제29일의 생존율을 야기한다는 것을 나타낸다. v5019, v7091, 및 v10000의 혈청 노출은 연구 제7일에 유사하였다(31 내지 41μg/ml).

표 32

종양 반응		IgG (n=8)	v5019 (n=11)	V7091 (n=11)	V10000 (n=11)
제29일	평균 TV (mm ³) (기준으로부터의 변화%)	1903 (+899%)	1001 (+416%)	1354 (+618%)	1114 (+503%)

[0594]

	T/C (Tras) 비)	1	0.53	0.71	0.58
	반응자 (TV < 대조군의 50%)	1/8	5/11	4/11	6/11
	PR (>10% 기준 억제)	0/8	1/11	0/11	0/11
	ZRD (TV<20mm3)	0/8	0/11	0/11	0/11
진행에 대한 시간	종양 배가 시간 (일수)	12	15	16	15
생존	중앙값 생존 (일수)	29	Na	37	41
약물 노출 (7일)	평균 혈청 농도 (ug/ml)	na	31.2	41.0	31.2

[0595]

[0596]

이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체, v5019, v7091 및 v10000는 중등증의 트라스투주맙 민감성 HER2 과발현 난소암을 치료함에 있어서 잠재적 효용을 가진다는 것을 나타낸다.

[0597]

실시예 35: 예시적인 2중 파라토프 항-her2 항체는 트라스투주맙-민감성 난소암 세포 유래 종양 이종이식물의 종양 성장을 용량 의존적으로 저해한다

[0598]

실시예 17에 기재된 확립된 인간 난소암 세포 유래 이종이식 모델 SKOV3을 사용하여 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체, v10000의 용량 의존적 효능을 평가하였다.

[0599]

암컷 흥선제거 누드 마우스는 좌측 옆구리에 피하로 HBSS에서 325,000개 세포의 종양 현탁액을 접종하였다. 그들이 평균 용적 190mm³에 도달될 때까지 종양을 모니터링하고, 무작위의 시차를 둔 방식으로 6개 처리군에 등록하였다: 비특이적 인간 IgG 대조군, 5개의 상승적 용량의 v10000. 9 내지 13마리 동물을 각각의 그룹에 포함시켰다. 각각의 그룹에 대한 투약량은 다음과 같았다. IgG 대조군을 연구 제26일까지 주당 2회 10mg/kg으로 정맥내로 투약하였다. v10000을 주당 2회 0.1, 0.3, 1, 3 또는 10mg/kg으로 정맥내로 투약하였다.

[0600]

데이터를 도 36 및 표 33에 제시하고, v10000에 의한 치료가 대조군 IgG에 비해 종양 성장 저해(T/C: 0.28 내지 0.73)를 용량 의존적으로 유도한다는 것을 나타낸다. 추가로, v10000은 연구 제29일에 반응 종양(10mg/kg에서 7/9 및 0.1mg/kg에서 3/11) 증가된 진행 시간(10mg/kg에서 24일 및 0.1mg/kg에서 12일)과 용량 의존적으로 관련되었다. 제7일에 v10000의 혈청 노출은 용량 의존적이었고, 0.1mg/kg에 의해 0.46µg/ml로부터 10mg/kg 용량에 의해 79.3µg/ml로 증가되었다.

표 33

종양 반응		IgG (n=8)	V10000, 10 mg/kg (n=9)	V10000, 3 mg/kg (n=11)	V10000, 1 mg/kg (n=11)	V10000, 0.3 mg/kg (n=13)	V10000, 0.1 mg/kg (n=11)
제29일	평균 TV (mm ³) (기준으로 부터의 변화%)	1903 (+899%)	543 (+281%)	1114 (+503%)	1534 (+688%)	1535 (+694%)	1385 (+643%)
	T/C 비	1	0.28	0.58	0.81	0.81	0.73
	반응자 (TV < 대조군의 50%)	1/8	7/9	6/11	2/11	3/13	3/11
	PR (>10% 기준 억제)	0/8	1/9	0/11	0/11	0/13	0/11
	ZRD (TV<20mm ³)	0/8	0/9	0/11	0/11	0/13	0/11
진행에 대한 시간	종양 배가 시간 (일수)	12	24	15	14	12	12
약물 노출 (7일)	평균 혈청 농도 (ug/ml)	na	79.3	31.2	4.7	1.5	0.46

[0601]

[0602]

이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체인 v10000이 용량 의존적 방식으로 종양 진행을 저해한다는 것을 나타낸다.

[0603]

실시예 36: 3+, 2+ 또는 1+ 수준에서 HER2 및 EGFR 및/또는 HER3을 발현시키는 세포주의 성장을 저해하는 항-HER2 2중 파라토프 항체 및 항-HER2 2중 파라토프-ADC의 능력

[0604]

IHC에 의해 정해진 3+, 2+, 1+ 또는 0+ 수준에서 HER2 및 EGFR 및/또는 HER3을 발현시키는 유방, 결장직장, 위, 폐, 피부, 난소, 신장, 췌장, 두경부, 자궁 및 방광 종양 세포주 선택의 성장을 저해하는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체(v10000) 및 대응하는 2중 파라토프 항-HER2 ADC(v10553)의 능력을 측정하기 위해 다음의 실험을 수행하였다.

[0605]

실험을 다음과 같이 수행하였다. 분석의 72시간 지속 후에 대략 60 내지 90% 컨플루언시(confluency)를 수득하는 과중 밀도를 동정하기 위해 각각의 세포주에 대한 최적의 과중 밀도를 독특하게 결정하였다. 각각의 세포주를 96웰 플레이트에서 세포주 당 적절한 성장 배지에서 최적의 과중 밀도로 과중하였고, 24°C에서 36°C 그리고 5% CO₂에서 인큐베이션시켰다. 항체를 양성 및 비히클 대조군과 함께 3가지 농도로(v10000은 300, 30 및 0.3nM에서; v10553은 300, 1, 0.1nM에서) 첨가하였다. 5-FU(5-플루오로유라실), 파클리탁셀, 시스플라틴, 에토포사이드(25 μM), PBS로 이루어진 비히클 대조군의 양성 대조군 화학약제일 약물 조합물. 항체 치료 및 대조군을 36°C 및 5% CO₂에서 세포 배양 인큐베이터에서 72시간 동안 세포와 함께 인큐베이션시켰다. 플레이트를 1200RPM에서 10부 동안 원심분리시키고, 배양 배지를 흡입에 의해 완전히 제거하였다. RPMI SFM 배지(200 μl) 및 MTS(20μl)를 각각의 웰에 첨가하고 나서, 36°C 및 5% CO₂에서 3시간 동안 인큐베이션시켰다. 광학 밀도를 490nm에서 관독하고 나서, 성장 저해 백분율을 비히클 대조군에 대해 결정하였다.

[0606]

결과를 도 37에 나타내고, 모든 시험 결과의 요약은 도 38에 나타낸다. 도 37A는 v10000의 성장 저해 결과를 나타낸다. 이들 결과는 v10000이 3+, 2+, 1+ 또는 0+ 수준에서 HER2를 발현시키고 EGFR 및/또는 HER3을 공동발현시키는 유방, 결장직장, 위, 폐, 피부, 난소, 신장, 췌장, 두경부, 자궁 및 자궁내막 종양 세포주의 성장을 저해할 수 있다는 것을 나타낸다. 300nM에서 v10000 및 v10553의 활성을 도 38에 요약하며, '+'는 비히클 대조군이 5% 초과인 300nM에서 세포 생존도의 감소를 나타낸 세포주를 나타내고, '-'는 비히클 대조군의 5% 미만의 생존도를 나타낸다.

- [0607] 도 37B는 v10553의 성장 저해 결과를 나타낸다. 이들 결과는 v10553이 3+, 2+, 1+ 또는 0+ 수준에서 HER2를 발현시키고 EGFR 및/또는 HER3을 공동발현시키는 유방, 결장직장, 위, 폐, 피부, 난소, 신장, 췌장, 두경부, 자궁 및 방광 종양 세포주의 성장을 저해할 수 있다는 것을 나타낸다(또한 도 38 참조). 도 37B에 플롯팅한 결과를 300 및 1nM에서 최소 용량 의존적 성장 저해를 나타낸 세포주에 의해 정하며, 1nM의 성장 저해는 5% 이상이였다(도 37B).
- [0608] 이들 결과는 예시적인 2중 파라토프 항체 v10000 및 ADC v10553이 3+, 2/3+, 2+, 1+ 및 0/1+ 수준에서 HER2를 발현시키고, 2+, 1+ 수준에서 EGFR 및/또는 HER3을 공동발현시키는 유방, 결장직장, 위, 폐, 피부, 난소, 신장, 췌장, 두경부, 자궁 및 방광 조직으로부터 유래된 종양 세포의 성장을 저해할 수 있다는 것을 나타낸다.
- [0609] **실시예 37: HER2 2+, 1+ 및 0/1+ 암세포의 ADCC를 매개하는 항-HER2 2중 파라토프 항체의 능력**
- [0610] 2+, 1+ 및/또는 0/1+ 수준에서 HER2를 발현시키고 2+ 또는 1+ 수준에서 EGFR 및/또는 HER3을 공동발현시키는 종양 세포의 ADCC를 매개하는 항-HER2 2중 파라토프 항체의 능력을 결정하기 위해 다음의 실험을 수행하였다. 시험한 항-HER2 2중 파라토프 항체는 5019, 10000 및 10154(v10000의 탈푸코실화된 형태)이며, 대조군은 허셉틴(상표명) 및 v506이었다.
- [0611] NK-92 효과기 세포(도 39)로 E/T: 5:1에 의해 실시예 11 및 실시예 25에 기재한 바와 같이, 그리고 PBMC 효과기 세포로 E/T 30:1에 의해 실시예 26에 기재한 바와 같이 ADCC 실험을 수행하였다.
- [0612] 결과를 도 39(NK-92 효과기 세포) 및 도 40(PBMC 효과기 세포)에 나타낸다. 도 39a는 HER2 2+ 두경부 종양 세포주(하인두 암종)인 FaDu의 ADCC의 결과를 나타내며, 여기서 항-HER2 2중 파라토프는 대략 15 최대 세포 용해를 유발한다. 도 39c는 HER2 1+BxPC3 췌장 종양 세포주의 ADCC 결과를 나타내고, 도 39d는 HER2 2+ 미아파카2 췌장 종양 세포주의 결과를 나타낸다. 도 39b는 HER2 0/1+ A549 NSCLC (비소세포 폐암) 종양 세포주의 ADCC 결과를 나타낸다. BxPC3에서, 미아파카2 및 A549 종양 세포주인 v10000은 대략 5% 최대 종양 세포 용해를 매개하였다.
- [0613] 도 40은 ADCC가 A549, NCI-N87 및 HCT-116 세포를 초래한다는 것을 나타내며, 여기서 PBMC는 효과기 세포로서 사용되었다. 도 40A는 HER2 0/1+ A549 NSCLC 종양 세포주의 ADCC 결과를 나타내며, 여기서 v10000은 ~28% 최대 세포 용해를 유발하였고, 이는 N-연결 글리칸에서 동일한 수준의 푸코스 함량을 갖는 허셉틴(상표명)과 비슷하였다. 예시적인 100% 탈푸코실화된(0% 푸코스) 2중 파라토프 v10154는 최대 세포용해의 증가(40% 최대 세포 용해) 및 N-연결 글리칸에서 대략 88% 푸코스를 갖는 v10000 및 허셉틴에 비해 증가된 효능을 나타낸다.
- [0614] 도 40B는 HER2 3+ 위 종양 세포주인 NCI-N87의 ADCC 결과를 나타낸다. 도 40B는 예시적인 2중 파라토프 v5019 (대략 88% 푸코실화)가 대략 23% 최대 세포 용해를 매개하고, 트라스투주맵 v506(대략 98% 푸코실화됨)에 비해 더 낮은 EC50을 가진다는 것을 나타낸다.
- [0615] 도 40C는 HER2 1+ HCT-116 결장직장 종양 세포주의 ADCC 결과를 나타낸다. 도 40C는 예시적인 2중 파라토프 v5019(대략 88% 푸코실화)가 대략 25% 최대 세포 용해를 매개하고 트라스투주맵 v506에 비해 더 강력하다(대략 98% 푸코실화)는 것을 나타낸다.
- [0616] 이들 결과는 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체가 두경부, 위, NSCLC, 및 췌장 종양 조직으로부터 유래된 HER2 0/1+, 2+ 및 3+ 종양 세포의 ADCC를 유발할 수 있다는 것을 나타낸다. 효과기 세포로서 NK-92 세포의 존재 하에 ADCC는 더 높은 최대 세포 용해 백분율(5% 초과)을 나타내는 걸보기 HER2 2+ 수용체 수준 필요조건(즉, 2+ 이상)을 가졌다. 그러나, PBMC 세포를 효과기 세포로서 사용하였을 때, 더 고수준의 최대 세포 용해가 달성되었고(5% 초과 및 28% 또는 40%까지; 각각 v10000 및 v10154), 5% 초과 ADCC가 0/1+, 1+ 및 3+ HER2 수용체 밀도 수준에서 보였기 때문에 HER2 수용체 밀도에 독립적이었다.
- [0617] **실시예 38: SPR에 의해 측정된 바와 같은 HER2 결합 친화도 및 역학**
- [0618] 실시예 1에 표시한 바와 같이, 상이한 항원-결합 모이어티 형식을 갖는 항-HER2 2중 파라토프 항체를 표 1에 기재한 바와 같이 구성하였다. 형식은 Fab-scFv 형식(v5019, v7091 및 v10000)과 함께 scFv-scFv 형식(v6717), Fab-Fab 형식(v6902 및 v6903)을 포함하였다. HER2 결합 친화도 및 이들 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 역학을 비교하기 위해 다음의 실험을 수행하였다.
- [0619] 뮤린 HER2 ECD(시노 바이올로지컬(Sino Biological) 50714-M08H)에 대한 친화도 및 결합 역학을 비아코어사(GE 헬스케어사)로부터의 T200 SPR 시스템을 이용하여 단일 주기 역학에 의해 측정하였다. 항인간 Fc의 2000 내지 4000RU를 표준 아민 결합을 이용하여 CM5 칩 상에 고정시켰다. 5019를 50RU에서 항-인간 Fc 표면 상에서 포획하

였다. 재조합 HER2 ECD(1.8 내지 120nM)를 3분 동안 50 μ l/분으로 주사한 다음에 마지막 주사 후 30분 동안 헤리 시켰다. HER2 희석물을 2회 중복해서 분석하였다. 센소그램을 1:1 랑그뮐어 결합 모델에 전체적으로 적합화시켰다. 모든 실험을 실온, 즉, 25 $^{\circ}$ C에서 수행하였다.

[0620] 표 34의 결과는 Fab-scFv 2중 파라토프 항체(v5019 및 v7091), Fab-Fab 변이체(v6902 및 v6903) 및 scFv-scFv 변이체(v6717)가 비슷한 결합 친화도(1 내지 4nM)를 가진다는 것을 나타낸다. Fab-scFv 변이체 v10000은 대략 0.6nM의 더 높은 결합 친화도(더 낮은 K_D)를 가졌다. 단일특이성 항-HER2 ECD4 항체(v506) 및 항-HER2 ECD2 항체(v4184)를 대조군으로서 분석에 포함시켰다. 이들 결과는 v6717, v6902, v6903, v5019 및/또는 v7091을 포함하는 분자 형식이 동등한 결합 친화도를 가진다는 것을 나타내며, 따라서 이들 항체 간의 기능의 차이는 형식의 차이로부터 초래되는 것으로 고려할 수 있다.

표 34

항체 변이체	평균			표준 편차		
	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)
v506	7.34E+04	4.08E-05	5.56E-10	1.13.E+03	3.04E-06	3.28E-11
v4184	3.61E+04	5.46E-04	1.56E-08	7.78.E+03	2.80E-05	4.12E-09
v5019	6.01E+04	7.77E-05	1.29E-09	1.30.E+03	8.56E-07	4.24E-11
v7091	5.17E+04	1.19E-04	2.31E-09	2.70.E+03	1.49E-05	4.09E-10
v10000	6.44E+04	3.69E-05	5.79E-10	6.18.E+03	6.72.E-06	1.42E-10
v6902	6.83E+04	1.72E-04	2.72E-09	1.93E+04	4.49E-05	1.43E-09
v6903	7.10E+04	1.71E-04	2.75E-09	3.60E+04	3.96E-06	1.34E-09
v6717	1.50E+05	5.33E-04	4.45E-09	1.28E+05	2.54E-04	2.11E-09

[0621]

[0622] **실시예 39: HER2+ 종양 세포에 대한 결합에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 효과**

[0623] 상이한 분자 형식(예를 들어 v6717, scFv-scFv IgG1; v6903 및 v6902 Fab-Fab IgG1; v5019, v7091 및 v10000 Fab-scFv IgG1)을 갖는 예시적인 항-HER2 ECD2 x ECD4 2중 파라토프 항체의 전체 세포 결합 특성(B_{max} 및 겉보기 K_D)을 비교하기 위해 다음의 실험을 수행하였다.

[0624] 실험을 실시예 6에 기재한 바와 같이 수행하였다. 결과를 도 41 및 표 35 내지 38에 나타낸다. 도 41a 및 표 35는 BT474 HER2 3+ 유방 종양 세포주에 대한 예시적인 2중 파라토프 항체의 FACS 결합 결과를 나타낸다. 결과는 단일특이성 2가 항-HER2 항체 v506과 비교할 때 모든 항-HER2 항체가 더 높은 B_{max} (1.5 내지 1.7배 더 큼)를 가진다는 것을 나타낸다. Fab-scFv(v5019, v7091 및 v10000) 및 Fab-Fab(v6903) 형식은 대략 1.7배 증가된 B_{max} 를 가지며, scFv-scFv 형식(v6717)은 v506에 비해 1.5배 증가된 B_{max} 를 가진다. FSAs v506 및 v4184의 등물 조합은 B_{max} 에서 1.7배 증가를 초래하였다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 항체의 겉보기 KD 는 단일특이성 v506에 비해 대략 2 내지 3배 더 높았다.

표 35

FACS 결합 BT-474

항체 변이체	K _D (nM)	Bmax
v506	9.0	23536
v10000	16	39665
v506+ v4184	16	40320
v5019	21	39727
v7091	22	36718
v6717	30	36392
v6903	31	40321

[0625]

[0626]

도 41b 및 표 36은 JIMT-1 HER2 2+ 유방 종양 세포주에 대한 FACS 결합 결과를 나타낸다. 결과는 모든 항-HER2 항체가 단일특이성 2가 항-HER2 항체 v506에 비교할 때 더 높은 Bmax(1.5 내지 1.8배 더 큼)를 가진다는 것을 나타낸다. Fab-scFv(v7091 및 v10000) 및 Fab-Fab(v6903) 형식은 대략 1.7배 증가된 Bmax를 가지며, scFv-scFv 형식(v6717)은 1.5배 증가된 Bmax를 가지고, Fab-scFv(v5019) 및 FSA 조합물(v506 + v4184)은 v506에 비해 1.8배 증가된 Bmax를 가졌다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 Fab-scFv 항체의 겉보기 K_D는 단일특이성 v506에 비해 대략 2 내지 4배 더 높은 반면; Fab-Fab(v6903) 및 scFv-scFv(v6717)의 K_D는 v506에 비해 대략 8배 더 높았다.

표 36

FACS 결합 JIMT-1

항체 변이체	K _D (nM)	Bmax
v506	3.5	2574
v10000	7.6	4435
v506+ v4184	8.0	4617
v5019	12	4690
v7091	14	4456
v6717	26	3769
v6903	28	4452

[0627]

[0628]

도 41c 및 표 37은 HER2 1+ MCF7 유방 종양 세포주에 대한 예시적인 2중 파라토프 항체의 FACS 결합 결과를 나타낸다. 결과는 항-HER2 항체 v10000과 FSA 조합물(v506 + v4184)이 단일특이성 2가 항-HER2 항체 v506에 비해 1.6배 더 높은 Bmax를 가진다는 것을 나타낸다. Fab-scFv(v5019, v7091)는 대략 1.4배를 가지고; scFv-scFv 형

식(v6717)은 1.3배이며, Fab-Fab 형식(v6903)은 v506에 비해 1.2배 증가된 Bmax를 가진다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 Fab-scFv, Fab-Fab(v6903)와 FSA 조합물(v506 + v4184)의 겔보기 KD는 v506에 비해 대략 2 내지 3 배 더 낮은 반면; scFv-scFv(v6717)의 K_D 는 v506에 비해 대략 3배 더 높았다.

표 37

FACS 결합 MCF7

항체 변이체	K_D (nM)	Bmax
v506+ v4184	4.5	1410
v7091	6.1	1216
v5019	6.3	1201
v10000	6.8	1381
v6903	7.1	1105
v506	12	889
v6717	32	1167

[0629]

[0630]

도 41d 및 표 38은 HER2 0/1+ MDA-MD-231 유방 종양 세포주에 대한 예시적인 2중 파라토프 항체의 FACS 결합 결과를 나타낸다. 결과는 예시적인 2중 파라토프 항-HER2 항체가 단일특이성 2가 항-HER2 항체 v506에 비해 대략 1.3 내지 1.4배 증가된 Bmax를 가진다는 것을 나타낸다. FSA 조합물(v506 + v4184)은 1.7배 증가된 Bmax를 가진다. 예시적인 항-HER2 2중 파라토프 Fab-scFv 항체(v5019, v7091, v10000) 및 FSA 조합물(v506 + v4184)의 겔보기 KD는 v506과 비교하여 거의 동등한 K_D 를 갖는 반면; Fab-Fab(v6903) 및 scFv-scFv(v6717)는 v506에 비해 각각 거의 4배 및 16배 더 높은 K_D 였다.

표 38

FACS 결합 MDA-MB-231

항체 변이체	K_D (nM)	Bmax
v506	4.8	395
v10000	5.6	558
v506+ v4184	7.3	662
v7091	7.9	525
v5019	8.7	548
v6903	17	534
v6717	77	524

[0631]

[0632]

종양 세포 결합은 상이한 분자 형식을 지니는 항-HER2 2중 파라토프 항체가 2가 단일특이성 항-HER2 항체에 비해 HER2 3+, 2+, 1+ 및 0/1+ 종양 세포에 대해 증가된 Bmax를 가진다는 것을 나타낸다. 상이한 항-HER2 2중 파라토프 항체 중에서, scFv-scFv 형식은 HER2 3+, 2+, 1+ 및 0/1+ 종양 세포 상의 v506에 대해 가장 낮은 Bmax

획득을 가졌다. 이들 결과는 또한 scFv-scFv 및 Fab-Fab 형식이 단일특이성 v506(3 내지 16배 증가) 및 2중 파라토프 Fab-scFv 형식(대략 2배 이상)에 비해 HER2 3+, 2+, 1+ 및 0/1+ 중앙 세포에 대해 KD의 가장 높은 증가를 가진다는 것을 나타낸다. KD의 증가는 열망적인 결합의 감소를 표시하며, 세포 표면 상에서 HER2에 대해 독특한 결합 메커니즘을 가진다는 것을 시사한다.

[0633] **실시예 40: HER2+ 세포 내 내재화에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 효과**

[0634] 다양한 수준으로 HER2를 발현시키는 HER2+ 세포에서 내재화를 위해 상이한 분자 형식(예를 들어 v6717, scFv-scFv IgG1; v6903 및 v6902 Fab-Fab IgG1; v5019, v7091 및 v10000 Fab-scFv IgG1)을 갖는 예시적인 항-HER2 ECD2 x ECD4 2중 파라토프 항체의 능력을 비교하기 위해 다음의 실험을 수행하였다.

[0635] 실시예 9에서 상술한 바와 같이 실험을 수행하였다. 결과를 도 42 및 표 39 내지 41에 나타낸다. 도 42A 및 표 39는 HER2 3+ BT-474에서의 내재화 결과를 나타낸다. 이들 결과는 Fab-scFv 형식(v10000) 및 FSA 조합물(v506 + v4184)이 단일특이성 항-HER2 v506에 비해 2.2배 더 큰 양의 세포내 항체를 가진다는 것을 나타낸다. scFv-scFv 형식(v6717)은 1.9배 더 크고; Fab-scFv 형식(v5019 및 v7091)은 1.5 내지 1.7배 더 크며; Fab-Fab 형식(v6902 및 v6903)은 v506에 비해 1.2 내지 1.3배 더 큰 세포내 항체 축적량을 가진다.

표 39

내재화 **BT-474**

항체 변이체	표면 4°C	표면 37°C	내부 37°C
v506	2156	1590	3453
v6902	2407	2077	4035
v6903	2717	986	4573
v7091	2759	2227	5111
v5019	2867	2675	5710
v6717	2006	1212	6498
v10000	3355	2851	7528
v506 + v4184	3998	2326	7569

[0636]

[0637] 도 42B 및 표 40은 HER2 2+ JIMT-1에서 내재화 결과를 나타낸다. 이들 결과는 Fab-scFv 형식(v10000) 및 FSA 조합물(v506 + v4184)이 단일특이성 항-HER2 v506에 비해 각각 1.8 및 1.9배 더 큰 양의 세포내 항체를 가진다는 것을 나타낸다. scFv-scFv(v6717) 및 Fab-scFv 형식(v5019)은 1.4배 더 크고; Fab-scFv(v7091) 및 Fab-Fab 형식(v6902 및 v6903)은 v506에 비해 1.2배 더 큰 양의 세포내 항체 축적을 가진다.

표 40

내재화 JIMT-1

항체 변이체	표면		내부 37°C
	표면 4°C	37°C	
v506	337	-7.1	759
v6902	389	152	926
v7091	426	102	935
v6903	392	130	945
v5019	437	5.2	1035
v6717	247	31	1082
v10000	474	103	1375
v506 + v4184	583	89	1449

[0638]

[0639] 도 42C 및 표 41은 HER2 1+ MCF7에서 내재화 결과를 나타낸다.

[0640] 이들 결과는 scFv-scFv 형식 및 Fab-scFv 형식이 단일특이성 항-HER2 v506에 비해 3.0 및 2.8배 더 큰 양의 세포내 항체를 가진다는 것을 나타낸다. Fab-scFv 형식(v10000) 및 FSA 조합물(v506 + v4184)은 대략 2.0배이며; Fab-scFv(v7091) 및 Fab-Fab(v6903) 형식은 v506에 비해 1.8배 더 큰 양의 세포내 항체 축적을 가진다.

표 41

내재화 MCF7

항체 변이체	표면 4°C	표면	
		37°C	내부 37°C
v506	48	10	48
v7091	77	27	87
v6903	81	35	89
v10000	78	20	96
v506 + v4184	87	19	103
v5019	81	17	134
v6717	48	31	145

[0641]

[0642] 이들 결과는 상이한 분자 형식을 지니는 항-HER2 2중 파라토프 항체가 항원-결합 도메인의 구조 및 형식에 대해 변하는 HER2 3+, 2+ 및 1+ 종양 세포에서의 독특한 내재화 정도를 가진다는 것을 나타낸다. 일반적으로, v506 및 v4184, Fab-scFv(v10000, v7091 및 v5019) 및 scFv-scFv(v6717) 2중 파라토프 형식의 단일특이성 FSA 조합물은 HER2 3+, 2+ 및 1+ 종양 세포에서 더 큰 내재화 값을 가졌다. 반면에, Fab-Fab 2중 파라토프 형식(v6902 및 v6903)은 HER2 3+, 2+ 및 1+ 종양 세포에서 가장 낮은 내재화 값을 가졌다. 이들 데이터는 항원-결합 도메인의 분자 형식 및 기하학적 스페이싱이 HER2 수용체와 교차하고, 후속적으로 HER2 + 종양 세포에서 내재화하는 2중 파라토프 항체의 능력에 영향을 미친다는 것을 시사한다. 두 항원-결합 도메인 사이에 가장 큰 거리를 갖는 Fab-Fab 2중 파라토프 형식은 가장 낮은 정도의 내재화를 초래한 반면, 항원-결합 도메인 사이에 더 짧은 거리를 갖는 Fab-scFv 및 scFv-scFv 형식은 HER2 + 세포에서 더 큰 내재화를 가졌다. 이는 문헌[Jost et al 2013, Structure 21, 1979-1991]에 기재된 바와 같은 효능과 더 짧은 링커 길이의 상관관계와 일치된다.

[0643] **실시예 41: HER2+ 세포에서 ADCC에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 효과**

[0644] 여러 수준에서 HER2를 발현시키는 HER2+ 세포에서 ADCC를 매개하기 위해 상이한 분자 형식(예를 들어 v6717, scFv-scFv IgG1; v6903 및 v6902 Fab-Fab IgG1; v5019, v7091 및 v10000 Fab-scFv IgG1)을 갖는 예시적인 항-HER2 ECD2 x ECD4 2중 파라토프 항체의 능력을 비교하기 위해 다음의 실험을 수행하였다.

[0645] ADCC 분석을 수행하기 전에, N-연결 글리코펩타이드에서 푸코스 함량을 정량화하기 위해 항체 샘플에 대해 글리코펩타이드 분석을 수행하였다. 상기 방법은 실시예 23에 기재한 바에 따랐다. 결과를 표 42에 나타내고; 데이터는 예시적인 2중 파라토프 변이체 v5019, v6717, v6903이 N-연결 글리칸에서 동등한 푸코스 함량(91 내지 93%)을 가진다는 것을 나타낸다. ADCC 분석 결과의 해석에서 푸코스 함량을 정규화하기 위해 N-글리칸에서 동등한 수준의 푸코스를 지니는 항체 샘플을 ADCC 분석에 대해 선택하였다.

표 42

LC-MS 트립신 펩타이드 분석

변이체	푸코스과 함께 관찰한 당단백질의 백분율	푸코스 없이 관찰한 당단백질의 백분율
v6903	90.7	9.3
v6717	92.8	7.2
v5019	91.3	8.7

[0646]

[0647] NK-92 효과기 세포에 의해 E/T: 5:1로 실시예 11에 기재한 바와 같이 ADCC 실험을 수행하였다. ADCC 결과를 도 43 및 표 43 내지 45에 나타낸다. 도 43a 및 표 43는 HER2 2+ JIMT-1 유방 종양 세포에서 ADCC 결과를 나타낸다. 이들 데이터는 v5019, v6717 및 v6903이 유사한 수준의 최대 세포 용해를 유발하고, HER2 2+ 종양 세포가 표적화될 때 scFv-scFv 형식(v6717)이 v5019 및 v6903에 비해 덜 강력하다는 것을 나타낸다.

표 43

JIMT-1 ADCC

항체 변이체	EC50 (nM)	최대 세포 용해%
v6903	~ 0.03	48
v5019	~ 0.16	47
v6717	~ 0.72	51

[0648]

[0649] 도 43b 및 표 44는 HER2 1+ MCF7 유방 종양 세포에서 ADCC 결과를 나타낸다. 이들 데이터는 v5019 및 v6717이 v6903(24%)에 비해 약간 더 큰 최대 세포 용해(27 내지 30%)를 가진다는 것을 나타낸다. 또한 이들 데이터는 v6717의 효능이 가장 적고, 다음에 v6903 및 v5019는 더 낮은 EC50 값을 가진다는 것을 나타낸다.

표 44

MCF7 ADCC

항체 변이체	EC ₅₀ (nM)	최대 세포 용해%
v5019	~ 0.69	27
v6717	109	30
v6903	0.94	24

[0650]

[0651]

도 43c 및 표 45는 HER2 0/1+ MDA-MB-231 유방 종양 세포에서의 ADCC 결과를 나타낸다. 이들 데이터는 v5019가 v6903(62%) 및 v6717(63%)에 비해 약간 더 큰 최대 세포 용해(77%)를 나타낸다는 것을 나타낸다. 이들 데이터는 또한 v6717의 효능이 가장 적고, 다음에 v6903 및 v5019는 더 낮은 EC₅₀ 값을 가진다는 것을 나타낸다.

표 45

MDA-MB-231 ADCC

항체 변이체	EC ₅₀ (nM)	최대 세포 용해%(상부만)
v5019	0.20	71
v6717	10	63
v6903	0.79	62

[0652]

[0653]

이들 데이터는 예시적인 항-HER2 ECD2 x ECD4 2중 파라토프 항체가 HER2 2+ 및 1+ 종양 세포에서 ADCC에 의해 유사한 최대 세포 용해 수준을 유발한다는 것을 나타낸다. 최대 세포 용해에서의 유사점에도 불구하고, 이들 데이터는 또한 상이한 분자 형식이 독특한 ADCC 효능을 가진다는 것을 나타낸다. scFv-scFv는 HER2 2+ 및 HER2 1+ 에서 효능이 가장 적었다(가장 큰 EC₅₀ 값). 3개 형식 중에서의 차별적인 효능은 HER2 1+ 세포를 표적화하는 ADCC 데이터에서 알 수 있었으며, 여기서 EC₅₀ 값은 v6717 > v6903 > v5019였다. 이들 데이터는 실시예 40에 제시한 관찰(FACS 결합)과 일치되며, K_D의 증가(감소된 친화도)를 Fab-Fab 및 scFv-scFv 형식에 의해 알 수 있었다.

[0654]

실시예 42: HER2 + 종양 세포 성장에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 효과

[0655]

기저 성장 또는 리간드-자극 중 하나로 HER2 3+, 2+ 및 1+ 종양 세포의 성장에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 효과를 비교하기 위해 다음의 실험을 수행하였다. 기저 성장을 실시예 15에서 기재한 바와 같이 측정할 반면, 리간드-자극 성장은 실시예 27에 기재한 바와 같이 측정하였다. 실험 유형 둘 다에서, 성장을 대조군 처리에 대해 생존율%로서 측정하였다.

[0656]

도 44 및 표 46은 외인성 성장 자극 리간드(EGF 및 HRG)의 존재 하에서 HER2 3+ 유방암 세포(BT-474)의 성장에 대한 예시적인 항-HER2 ECD2 x ECD4 2중 파라토프 항체의 효과를 나타낸다. EGF 또는 HRG의 부재 시, 항-HER2 2중 파라토프 항체는 BT-474 세포의 성장을 저해할 수 있으며, 여기서, 각각의 처리군의 생존율%를 다음과 같이 랭킹하였다: v6903 < v506 + v4184 < 506 < v7091 < v5019 < v10000 < v6717. HRG의 존재 하에, 모의 대조군에 대한 성장 저해를 v506 + v4184의 FSA 조합물에 의해서만 달성하였다. EGF의 존재 하에서, 모의 대조군에 대한 성장 저해를 달성하였고, 여기서 각각의 처리군의 생존율%를 다음과 같이 랭킹하였다: v6903 < v506 + v4184 < 7091 < v10000 < 5019.

표 46

치료	생존%		
	항체 단독	+ HRG	+ EGF
모의	100	143	131
v6717	113	126	129
v10000	70	118	78
v5019	67	133	81
v7091	61	119	61
v506	53	141	118
v506 + v4184	43	89	45
v6903	32	120	39

[0657]

[0658]

도 45은 SKBr3 HER2 3+ 세포주의 성장 저해에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 용량 의존적 효과를 나타낸다. 데이터는 도 44에 제공한 결과와 일치되며, 여기서, 2중 파라토프 형식의 랭크 순위 효력/효능은 다음과 같다: HER2 3+ 종양 세포에서 Fab-Fab > Fab-scFv > scFv-scFv.

[0659]

HER2+ 세포 생존에 대한 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식의 효과를 도 46에 나타내며, 여기서 도 46a는 300nM에서 트라스투주맙 민감성 SKOV3 HER2 2+/3+ 세포주에서의 결과를 나타내고; 도 46b는 300nM에서 JIMT-1 HER2 2+(트라스투주맙 내성) 세포에서의 결과를 나타내며, 도 46c는 300nM에서 MCF7 HER2 1+ 세포주에서의 결과를 나타낸다. SKOV3 세포주에서, 성장 저해 정도에서 2중 파라토프 형식 간에 관찰된 차이는 거의 없으며, JIMT-1 및 MCF7 세포에서 임의의 시험 항체에 의해 관찰된 성장 저해는 전혀 없었다.

[0660]

도 44 및 도 45의 데이터는 Fab-scFv 및 Fab-Fab 형식을 지니는 항-HER2 ECD2 x ECD4 2중 파라토프 항체 (v5019, v7091, v10000, v6903)가 EGF 또는 HRG의 부재 및 존재 하에 HER2 3+ 종양 세포의 성장을 저해할 수 있다는 것을 나타낸다. HER2 3+ 세포주 BT-474 및 SKBR3에서, 모의 대조군에 대한 성장 저해를 다음과 같이 순위 랭킹하였다, v506 + v4184 > v6903 > v7091 > v10000 > v5019 > v506 > v6717. 항원-결합 도메인 사이의 거리(Fab-Fab > Fab-scFv > scFv-scFv)는 HER2 3+ 종양 세포에서 성장 저해의 랭크 순위와 상관관계가 있다. 트라스투주맙-민감성 종양 세포, 즉, BT-474 및 SKBR3의 데이터에 기반하여, 형식 간의 성장 저해 차이는 HER2 3+ 수준에서 상당하지만, HER2 2+ 또는 HER2 1+ 수준에서 더 적을 것으로 예상할 수 있다.

[0661]

실시예 43: 여러 항체 포획 수준에서 HER2 결합 친화도 및 역학의 평가

[0662]

SPR에 의해 여러 가지 표면 밀도에서 포획할 때 예시적인 항-HER2 ECD2 x ECD4 2중 파라토프 항체의 HER2 결합 역학(kd, 오프 속도)를 비교하기 위해 다음의 실험을 수행하였다. 항체 포획 수준(표면 밀도)가 증가함에 따른 감소된(더 느린) 오프-속도 사이의 상관관계는 트랜스 결합(즉, 두 HER2 분자에 대한 하나의 항체 분자의 결합, 실시예 12에 기재)의 표시이다. 이 실험에서, Fab-Fab 형식(v6903)을 Fab-scFv 형식(v7091)과 비교하여 변이체 간의 트랜스 결합에서의 잠재적 차이를 결정하였다. 항원-결합 도메인 사이의 더 큰 공간적 거리에 기인하여, Fab-Fab 형식이 시스 결합(하나의 HER2 분자 상에서 ECD 2 및 4가 맞물림)할 수 있는 반면; Fab-scFv는 그의 항원-결합 도메인 사이의 더 짧은 거리에 기인하여 시스 결합할 수 없다는 가설을 세웠다. 항-HER2 단일특이성 v506을 대조군으로서 포함시켰다.

[0663]

실시예 12에 기재한 바와 같이 SPR에 의해 실험을 수행하였다. 데이터를 도 47에 나타낸다. 도 47A는 v6903 및 v7091에 의한 상이한 항체 포획 수준에서 kd(1/s)에 대한 플롯 및 선형 회귀 분석을 나타낸다. v7091과 v6903은 둘 다 표면 포획 수준이 증가함에 따라 오프-속도가 감소되는 경향을 나타내지만; 그러나, Fab-scFv 변이체와 유의하게 상관관계가 있었지만(v7091; P 값 = 0.023) Fab-Fab 형식과는 그렇지 않다(v6903; P 값 = 0.053). 항-HER2 단일특이성 대조군인 v506에 대해 항체 포획 수준이 변화함에 따라 오프-레이트는 변하지 않은 채로 있었다.

- [0664] 도 47B는 v6903 및 v7091과 상이한 항체 포획 수준에서 $K_D(M)$ 에 대한 플롯 및 선형 회귀 분석을 나타낸다. 오프-속도 비교와 유사하게, v7091과 v6093은 둘 다 표면 포획 수준이 증가함에 따라 친화도가 증가하는 경향(더 낮은 K_D 값)을 나타낸다. 그러나, Fab-scFv 변이체와 유의하게 상관관계가 있었지만(v7091; P 값 = 0.04) Fab-Fab 형식과는 그렇지 않다(v6093; P 값 = 0.51). K_D 는 항-HER2 단일특이성 대조군인 v506에 대해 항체 포획 수준이 변함에 따라 변하지 않은 채로 남아있었다. 도 47의 데이터는 Fab-Fab 및 Fab-scFv 항-HER2 2중 파라토프 항체 형식이 항체 표면 포획 수준이 증가함에 따라 오프-속도가 감소하는 경향을 나타내고; 이들 경향은 단일특이성 항-Her2 항체에 비해 독특하다는 것을 나타낸다.
- [0665] **실시예 44: 퍼투주맵 Fab의 친화도 및 안정성 공학 처리**
- [0666] 표 1에 나타난 바와 같이, 하나의 변이체(v10000)는 퍼투주맵 Fab에서 돌연변이를 함유한다. 이 Fab는 1가 또는 1-암 항체(OAA)로서 실험적으로 측정된 친화도 및 안정성 공학 처리 인실리코(in silico) 노력으로부터 유래된다.
- [0667] 변이체 9996: 1가 항-HER2 항체, 여기서 HER2 결합 도메인은 쇠 A 상에서 퍼투주맵으로부터 유래된 Fab이고(VL 영역에서 Y96A 및 VH 영역에서 T30A/A49G/L69F(카바트 넘버링)) Fc 영역은 쇠 A에서 돌연변이 T350V_L351Y_F405A_Y407V(EU 넘버링), 쇠 B에서 T350V_T366L_K392L_T394W(EU 넘버링) 및 돌연변이 C226S를 갖는 쇠 B의 힌지 영역을 갖는 이형이량체이며; 항원-결합 도메인은 HER2의 도메인 4에 결합한다.
- [0668] 변이체 10014: 1가 항-HER2 항체, 여기서 HER2 결합 도메인은 쇠 A 상에서 퍼투주맵으로부터 유래된 Fab이고(VL 영역에서 Y96A 및 VH 영역에서 T30A(카바트 넘버링)) Fc 영역은 쇠 A에서 돌연변이 T350V_L351Y_F405A_Y407V(EU 넘버링), 쇠 B에서 T350V_T366L_K392L_T394W(EU 넘버링) 및 돌연변이 C226S를 갖는 쇠 B의 힌지 영역을 갖는 이형이량체이며; 항원-결합 도메인은 HER2의 도메인 4에 결합한다.
- [0669] 변이체 10013: 1가 항-HER2 항체, 여기서 HER2 결합 도메인은 쇠 A 상에서 야생형 퍼투주맵으로부터 유래된 Fab이고, Fc 영역은 쇠 A에서 돌연변이 T350V_L351Y_F405A_Y407V(EU 넘버링), 쇠 B에서 T350V_T366L_K392L_T394W(EU 넘버링) 및 돌연변이 C226S를 갖는 쇠 B의 힌지 영역을 갖는 이형이량체이며; 항원-결합 도메인은 HER2의 도메인 4에 결합한다.
- [0670] HER2 결합 친화도 및 공학 처리된 퍼투주맵 변이체의 안정성과 비교하기 위해 다음의 실험을 수행하였다.
- [0671] OAA 변이체를 클로닝시키고, 실시예 1에 기재한 바와 같이 발현시켰다.
- [0672] OAA를 실시예 1에 기재한 바와 같이 단백질 A 크로마토그래피 및 크기 배제 크로마토그래피에 의해 정제하였다.
- [0673] 이형이량체 순도(즉, 이형이량체 Fc에 의한 OAA의 양)를 캘리퍼 랩칩 GXII(Caliper LabChip GXII)(퍼킨 엘머(Perkin Elmer) #760499)를 이용하여 비환원 고속대량 처리 단백질 발현 분석에 의해 평가하였다. HT 단백질 발현 랩칩 사용자 가이드 버전2 랩칩 GXII 사용자 매뉴얼에 따라 다음의 변형에 의해 절차를 수행하였다. $2\mu\text{l}$ 또는 $5\mu\text{l}$ (농도 범위 5 내지 $2000\text{ng}/\mu\text{l}$) 중 하나에서 이형이량체 샘플을 HT 단백질 발현 샘플 완충제(퍼킨 엘머 #760328) $7\mu\text{l}$ 와 함께 96 웰 플레이트(바이오래드 # HSP9601)에서 별도의 웰에 첨가하였다. 이어서, 이형이량체 샘플을 70°C 에서 15분 동안 변성시켰다. HT 단백질 발현 칩(퍼킨 엘머 #760499) 및 Ab-200 분석 세팅을 이용하여 랩칩 기기를 작동시킨다. 사용 후에, 칩을 밀리큐 워터(MilliQ water)로 세정하고 나서 4°C 에서 저장하였다.
- [0674] 샘플의 안정성을 실시예 24에 나타난 프로토콜에 따라 DSC에 의해 결정한 바와 같이 용점 또는 T_m 을 측정함으로써 평가하였다. DSC를 SEC 정제 전에 그리고 후에 측정하였다.
- [0675] 실시예 12로부터의 프로토콜에 따라서 SPR에 의해 샘플의 HER2 ECD에 대한 친화도를 측정하였다. SEC 정제 전에 그리고 후에 SPR을 측정하였다. 표 47A 및 표 47B에 요약한 바와 같이, 가변 도메인 내의 돌연변이는 야생형 퍼투주맵에 비해 Fab의 HER2 친화도가 증가된 반면, WT 안정성은 유지하였다. 캘리퍼 랩칩에 의해 순도를 결정하였다; 2 $KD(WT)/KD(\text{돌연변이})$.

[0676] (표 47A)

OAA 변이체	Fab HC 돌연변이	LC 돌연변이체	Pr-A 수율 (mg/L)	SPR SEC 전				SEC 후 HEC 순도 ¹	SPR SEC 후			
				KD 평균 (nM)	KD 표준편차 (nM)	n	wrt WT ² 배수		KD 평균 (nM)	KD 표준편차 (nM)	n	wrt WT 배수
v9996	T30A/A49G /L69F	Y96A	22	1.7E-09	1.7E-10	5	9.6	93%	1.8E-09	1.6E-11	2	8.4
v10014	T30A	Y96A	20	2.0E-09	3.1E-10	4	8.1	81%	2.1E-09	5.2E-10	3	7.0
v10013	WT	WT	18	1.6E-08	5.1E-09	16	1.0	91%	1.5E-08	3.5E-09	4	1.0

[0677]

[0678] (표 47B)

OAA 변이체	DSC SEC 전		DSC SEC 후	
	Tm (C)	Δ Tm wrt WT (C)	Tm (C)	Δ Tm wrt WT (C)
v9996	77.2	-0.2	77.2	-0.7
v10014	75.5	-1.9	75.5	-2.4
v10013	77.4	0.0	77.9	0.0

[0679]

[0680]

실시예에서 사용한 시약은 일반적으로 상업적으로 입수가 가능하거나, 또는 당업계에 공지된 상업적으로 입수가 가능한 기기, 방법 또는 시약을 이용하여 준비할 수 있다. 앞서 언급한 실시예는 본 명세서에 기재한 다양한 양상 및 본 명세서에 기재한 방법의 실행을 도시한다. 실시예는 본 발명의 다양한 상이한 실시형태의 배타적 설명을 제공하는 것으로 의도되지 않는다. 따라서, 앞서 언급한 발명을 이해의 명확함의 목적을 위해 예시 및 실시예의 방법에 의해 일부 상세하게 기재하였지만, 당업자는 첨부하는 청구범위의 정신 또는 범주로부터 벗어나는 일 없이 다양한 변화와 변형이 이루어질 수 있다는 것을 용이하게 인식할 것이다.

[0681]

본 명세서에 언급한 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 각각의 개개 간행물, 특허 또는 특허 출원이 구체적으로 그리고 개개로 본 명세서에 참고로 포함된 것으로 표시되는 것과 동일한 정도로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0682]

서열 표

변이체	H1 클론명칭	H2 클론명칭	L1 클론명칭	L2 클론명칭
792	1011	1015	-2	-2
5019	3057	720	1811	NA
5020	719	3041	NA	1811
7091	3057	5244	1811	NA
10000	6586	5244	3382	NA
6903	5065	3468	5037	3904
6902	5065	3468	5034	3904
6717	3317	720	NA	NA
1040	4560	4553	NA	4561
630	719	716	NA	NA
4182	4560	3057	NA	1811
506	642	642	-2	-2
4184	3057	3041	1811	1811
9996	4372	6586	NA	3382

[0683]

서열 번호	클론	설명	서열 (아미노산 또는 ⁶)
1	642	Full	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGPNIKDTYIHWRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVVYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
2	642	Full	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGATTCACATCAAGGACACCTACATTCAGTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGG AGTGGGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCGGACTCCGTGAAGGGGAGGTTT ACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACA CTGCTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC CGCTGTGTACTATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGGGGACAGGGGA CCCTGGTGACAGTGAAGCTCCGCCTCTACCAAGGGCCCCAGTGTGTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAA TCCACCTCTGGAGGACAGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTCCCCGAGCCTGTGACCGT

[0684]

			GAGTTGGAACTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGCACTTTTCCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGC TGTAATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATAAGACCCA CACCTGCCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCTAAGC CAAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGGACTCCCAGAGTGACCTGCGTGTGGTGGACGTGTCTCACGAG GACCCCGAAGTGAAGTCAACTGGTACGTGATGCGCTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAG AGAGGAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTGTGAGCGTGTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAAGTCAATAAAGGCCCTGCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCT AAGGCCAAGGCCAGCCAGGGAGCCCAAGTGTACACACTGCCACCACGAGAGAGCAACTGACCCAA GAACAGGTGTCCCTGACATGTCTGTTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAAT CAAAATGACAGCCAGAGAACAATTACAAGACCAACACTCCAGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTC CTGTATTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGAACTGTTAGTTGTTTCAAGTGT GCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGCTCCCTGCTCCCGGCAA
3	642	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRaedTAVYCSRHWGDFYAMDYWGQGLVTVSS
4	642	VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGATTCACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTGCGCAGGCTCCAGGAAAAGGACTGG AGTGGGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTCCGTGAAGGGGAGGTT ACTATTAGCGCCGATACATCAAAAACACTGCTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAAGATAC CGCTGTGTACTATTGCAGTGCATGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGGGACAGGGGA CCCTGTGACAGTGCAGCTCC
5	642	H1	GFNIKDTY
6	642	H1	GGATTCAACATCAAGGACACCTAC
7	642	H3	SRWGGDFYAMDY
8	642	H3	AGTCGATGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTAT
9	642	H2	IYPTNGYT
10	642	H2	ATCTATCCCACTAATGGATACACC
11	642	CH1	ASTKGPSVPLAPSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVDKVV
12	642	CH1	GCCTCTACCAAGGGCCCAAGTGTGTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACTCTGGAGGGACAGC CGCTCTGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGACCGTGAAGTGGAACTCAGGCGCCC TGACAAGCGGAGTGCACTTTTCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGACTCCCTGCTCTGTG GTGACAGTGCAGTTCAGGCTGGGACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCATAAGCCCTCAA TACAAAAGTGGACAAGAAAGTG
13	642	CH2	APELLGGPSVFLFPPPKDITLMIERTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREBQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAK
14	642	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGAT TTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGAAGTGTCTCACGAGGACCCGAAAGTGAAGTCA ACTGGTACGTGGATGCGTGGAAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACTACAACCTCC ACTTATCGCGTGTGAGCGTGTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTAAAGTG CAAAAGTCAATAAAGCCCTGCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAA
15	642	CH3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
16	642	CH3	GGCCAGCAAGGGAGCCCAAGTGTACACACTGCCACCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACAGGT GTCCCTGACATGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCAGAGAACAAATCAAGACACACTCCAGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCTCCTGTATTCC AAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGAACTGTTAGTTGTTCAAGTGTGATGATGAGC CCTGCACAATCATTAACACTCAGAAGAGCCTGCTCCCTGCTCCCGGC
17	3468	전체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEMDWRQAPGKLEWVADVNPNSGGSIYNRFPKGRF TISVDRSKNTLYLQMNSLRaedTAVYCARNLGPSFYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKGYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLKSSGLYSLSSVTVVPSSSLGTQTYICNV

[0685]

			NHKPSNTRKVDKVEPKSCDKTHTCPAPPELLGGPSVFLFPPPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSPFLYSKLTVDKSRNQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
18	3468	전체	GAAGTGCAGCTGGTCGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGTCCTGCGCTGTCTTGCGCCGCTAGTGGCTTCACTTTTACCAGACTACCCATGGATTGGGTGCGACAGGCACCTGGAAAGGGCCTGGAGTGGGTGCGGATGTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACCAGCGGTTCAAGGGCCGGTTCACCCCTGTCACTGGACCGGAGCAAAAACACCCCTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCAGCCGAGATAC TGCTGTGTACTATTGCGCCCGGAATCTGGGCCCTCCCTTCTACTTTGACTATTGGGGGCGAGGAACTC TGSTCAACCGTGAGCTCCGCTCCACCAAGGGACCTTCTGTGTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCC ACATCTGGGGAACTGCAGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGGCTACTTCCAGAGCCGCTCACAGTGTCT TTGAAACAGTGGCGCTCTGACTTCTGGGGTCCACACCTTTCCTGCAGTGTGAAGTCAAGCGGGCTGT ACAGCCTGTCTCTGTGGTCAACGTCACAGTTCAAGCCTGGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTG AATCAACAGCCATCCAATAACAAAAGTCGACAAGAAAGTGAACCCCAAGTCTTGTGATAAAACCCATAC ATGCCCCCTTGTCTGCACACAGAGCTGTGGGAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCCCAAGCCTA AAGATACTACTGATGATTAGTAGGACCCAGAAAGTCAATGCGTGGTCTGTCGAGCCTGAGCCAGGAGCA CCGGAAGTCAAGTTTAACTGTACTGAGCGGCGTGCAGGTGCATAATGCCAAGACTAAAACCCAGGGA GGAACAGTACAACAGTACCTATCGCGTGTGTGCTGCTGACAGTGTGCATCAGGATTGGCTGAACG GGAAGAGTATAAGTGCAAAAGTGAAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAAATTTCCAG GCAAAAGGACAGCCTAGAGAACCAAGGTGTACGTGTCTGCTCCATCAAGGGATGAGCTGACAAAGAA CCAGGTGAGCCTGCTGTCTGTGTAAGGATTCTATCCCTCTGACATTGCTGTGGAGTGGGAAAAGTA ATGGCCAGCCTGAGAACAAATTAACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTCTTTCTG TATAGCAAGCTGACCGCTGACAAATCCCGTGGCAGCAGGGGAATGTGTTAGTTGTTCACTGATGCA CGAGGCACTGCACAACCAATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCAACAGGG
19	3468	VH	EVQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCLAAASGFTPTDYMWRQAPGKLEWVADVNPNSGGSIYNQRPKGRF TLSVDRSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARNLGPSPFYFDYWGQGLTVTVSS
20	3468	VH	GAAGTGCAGCTGGTCGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGTCCTGCGCTGTCTTGCGC CGCTAGTGGCTTCACTTTTACCAGACTACCCATGGATTGGGTGCGACAGGCACCTGGAAAGGGCCTGG AGTGGGTGCGGATGTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACCAGCGGTTCAAGGGCCGGTTC ACCCTGTCACTGGACCGGAGCAAAAACACCCCTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCAGCCGAGATAC TGCTGTGTACTATTGCGCCCGGAATCTGGGCCCTCCCTTCTACTTTGACTATTGGGGGCGAGGAACTC TGSTCAACCGTGAGCTCC
21	3468	H1	GFTFTDYT
22	3468	H1	GGCTTCACTTTTACCAGACTACCC
23	3468	H3	ARNLGPSPFYFDY
24	3468	H3	GCCCGGAATCTGGGGCCCTCCCTTCTACTTTGACTAT
25	3468	H2	VNPNSGGG
26	3468	H2	GTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCC
27	3468	CH1	ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKGYFPEPVTVSWNSGALTSVHFTPAVLKSSGLYLSVV VIVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTRKVDKVV
28	3468	CH1	GCCTCCACCAAGGGACCTTCTGTGTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACATCTGGGGAACTGC AGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGGCTACTTCCAGAGCCGCTCACAGTGTCTTGAACAGTGGCGCTC TGACTTCTGGGGTCCACACCTTTCTGCTGCTGAAAGTCAAGCGGGTGTACAGCCTGTCTCTGTG GTACCCGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCAACAGCCATCCAA TACAAAAGTCGACAAGAAAGTG
29	3468	CH2	APPELLGGPSVFLFPPPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREBQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
30	3468	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTTCCACCCCAAGCCTAAAGATACACTGATGAT TAGTAGGACCCAGAAAGTCAATGCGTGGTCTGTGAGCGTGAACCCAGGAGCCCGAAGTCAAGTTTA ACTGGTACGTGGACGGCGTGCAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCCAGGGAGGAACAGTACAACAGT ACCTATCGCGTGTGTGCTGCTGACAGTGTGCTCAGGATTGGCTGAACGGGAAAGAGTATAAGTG

[0686]

			CAAAGTGAGCAATRAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAAAATTTCCAAGGCAAAA
31	3468	CH3	GQPREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVPSCSVMHEALHNNHYTQKSLSLSPG
32	3468	CH3	GGACAGCCTAGAGAACCACAGGTGTACGTGCTGCCCTCCATCAAGGGATGAGCTGACAAAGAACAGGT CAGCCTGCTGTCTGTGAAAGGATCTATCCCTCTGACATTGCTGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCC AGCCTGAGAACAAATACCTGACCTGGCCCCCTGTGTGGACTCAGATGGCAGCTTCTTTCTGTATAGC AAGCTGACCGTCCGACAAATCCCGGTGGCAGCAGGGGAATGTGTTTAGTTGTTTCAGTCATGCAAGGGC ACTGCACAAACATTACCCAGAGTCACTGTCACTGTCAACAGG
33	1811	전체	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYIYIPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIPPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSPNRGEC
34	1811	전체	GATATTAGATGACCCAGTCCCAAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTGGCGACCGAGTCAACCATCACATG CAAGGCTTCCCAGGATGTGTCTATTGGAGTGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGCACCACCAAGC TGCTGATCTATAGCGCTCCTACCGTATACCGCGTGCCTCTAGATTCTCTGGCAGTGGGTACAGGA ACAGACTTTACTCTGACCATCTCTAGTCTGCAGCCTGAGGATTCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCATATACCTTTGGCCAGGGGACAAAAGTGGAGATCAAGGAGACTGTGGCCGCTCCCT CCGTCTTCAATTTTCCCCTTCTGACGAACAGCTGAAAAGTGGCACAGCCAGCGTGGTCTGTCTGCTG AACAAATTTCTACCTTCGCGAAGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGCATAACGCTCTGCAGAGCGGCAACAG CCAGGAGTCTGTGACTGAAACAGGACAGTAAAGATTCAACCTATAGCCTGTCAAGCACACTGACTCTGA GCAAGGCAGACTACGAGAAGCACAAGTGTATGCTGCGAAGTCAACATCAGGGGCTGTCTCTCTCT GTGACTAAGAGCTTTAACAGAGGAGAGTGT
35	1811	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYIYIPYTFGQGTKVEIK
36	1811	VL	GATATTAGATGACCCAGTCCCAAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTGGCGACCGAGTCAACCATCACATG CAAGGCTTCCCAGGATGTGTCTATTGGAGTGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGCACCACCAAGC TGCTGATCTATAGCGCTCCTACCGTATACCGCGTGCCTCTAGATTCTCTGGCAGTGGGTACAGGA ACAGACTTTACTCTGACCATCTCTAGTCTGCAGCCTGAGGATTCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCATATACCTTTGGCCAGGGGACAAAAGTGGAGATCAAG
37	1811	L1	QDVSIG
38	1811	L1	CAGGATGTGTCTATTGGA
39	1811	L3	QYYIYIPYT
40	1811	L3	CAGCAGTACTATATCTACCCATATACC
41	1811	L2	SAS
42	1811	L2	AGCGCCTCC
43	1811	CL	RTVAAPSVFIPPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLTKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTSPNRGEC
44	1811	CL	AGGACTGTGGCCGCTCCCTCCGCTCTCATTTTTCCCCTTCTGACGAACAGCTGAAAAGTGGCACAGC CAGCGTGGTCTGTCTGTGAAACAATTTCTACCTTCGCGAAGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGGATAACG CTCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGTCTGTGACTGAAACAGGACAGTAAAGATTCAACCTATAGCCTG TCAAGCACACTGACTCTGAGCAAGGCAGACTACGAGAAGCACAAGTGTATGCTGCGAAGTCAACACA TCAGGGGCTGTCTCTCTGTGACTAAGAGCTTTAACAGAGGAGAGTGT
45	5034	전체	DYKDDDDKIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASFLYSGVPS RFGSRSRGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYHTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIPPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYKHKVYACEV THQGLSSPVTSPNRGEC
46	5034	전체	GACTCAAAGACGACGATGACAAAGATATCCAGATGACCCAGTCCCTAGCTCCCTGTCCGCTTCTGT GGCGATAGGGTCACTATTACCTGCCGCGCATCTCAGGACGTGAACACCGCAGTCCGCTGGTACCAGC AGAAGCCTGGGAAAGCTCCAAAGCTGTGATCTACAGTGCATCATTCTGTATTACAGGATGCCCAGC CGGTTTAGCGGACGACAGTCTGCCACCGATTTCACTGACTATTCTAGTCTGCAGCCTGAGGACTT TGCCACATACTATTGCCAGCAGCACTATACCACACCCCTACTTTGGCCAGGGGACAAAAGTGGAGA

[0687]

			TC AAGCGAACTGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCAATTTTTCCACCAGCGATGAAAGACTGAAAGTCCGGC ACAGCTTCTGTGGTCTGTCTGTGTAACAATTTTTACCCAGAGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGA CAACGCTCTGCAGAGTGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACAGAACAGGATTCCAAAGACTCTACTTATA GTCTGTCAAGCACCCCTGACACTGAGCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCCTGTGAGGTC ACACATCAGGGGCTGTCAATCACCAGTCAACCAATCATTCAATCGGGGGAGTGC
47	5034	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSG TDFLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
48	5034	VL	GATATCCAGATGACCCAGTCCCCTAGCTCCCCTGTCCGCTTCTGTGGCGATAGGGTCACTATTACCTG CCGCGCATCTCAGGACGTGAACACCGCAGTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGGAAAGCTCCAAAGC TGCTGATCTACAGTGCATCATTCTGTATTACAGAGTGCACCGCGGTTTAGCGGCAGCAGATCTGGC ACCGATTTCACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCTGAGGACTTTGCCACATACTATTGCCAGCAGCA CTATACCACACCCCTACTTTGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGATCAAG
49	5034	L1	QDVNTA
50	5034	L1	CAGGACGTGAACCCGCA
51	5034	L3	QQHYTTPPT
52	5034	L3	CAGCAGCACTATACCACACCCCTACT
53	5034	L2	SAS
54	5034	L2	AGTGCATCA
55	5034	CL	RTVAAPSVFIFPPSDERLKSQTASVYVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
56	5034	CL	CGAACTGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCAATTTTTCCACCAGCGATGAAAGACTGAAAGTCCGGCAGC TTCGTGGTCTGTCTGTGTAACAATTTTTACCCAGAGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGAACAACG CTCTGCAGAGTGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACAGAACAGGATTCCAAAGACTCTACTTATAGTCTG TCAAGCACCCCTGACACTGAGCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCCTGTGAGGTACACA TCAGGGGCTGTCAATCACCAGTCAACCAATCATTCAATCGGGGGAGTGC
57	5037	전체	DYKDDDDKDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS RFSGRSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDERLKS TASVYVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSKESVTEQDSKDSYSLSSRLTSLKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
58	5037	전체	GACTACAAAGACGACGATGACAAAGATATCCAGATGACCCAGTCCCCTAGCTCCCCTGTCCGCTTCTGT GGCGGATAGGGTCACTATTACCTGCCGCGCATCTCAGGACGTGAACACCGCAGTCGCCTGGTACCAGC AGAAGCCTGGGAAAGCTCCAAAGCTGTGATCTACAGTGCATCATTCTGTATTACAGGAGTCCCGCAGC CGGTTTAGCGCAGCAGATCTGGCACCGATTTCACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCTGAGGACTT TGCCACATACTATTGCCAGCAGCACTATACCACACCCCTACTTTGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGA TC AAGCGAACTGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCAATTTTTCCACCAGCGATGAAAGACTGAAAGTCCGGC ACAGCTTCTGTGGTCTGTCTGTGTAACAATTTTTACCCAGAGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGA CAACGCTCTGCAGAGTGGCAACAGCAAGGAGAGCGTGACAGAACAGGATTCCAAAGACTCTACTTATA GTCTGTCAAGCAGACTGACACTGAGCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCCTGTGAGGTC ACACATCAGGGGCTGTCAATCACCAGTCAACCAATCATTCAATCGGGGGAGTGC
59	5037	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSG TDFLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
60	5037	VL	GATATCCAGATGACCCAGTCCCCTAGCTCCCCTGTCCGCTTCTGTGGCGATAGGGTCACTATTACCTG CCGCGCATCTCAGGACGTGAACACCGCAGTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGGAAAGCTCCAAAGC TGCTGATCTACAGTGCATCATTCTGTATTACAGGAGTGCACCGCGTITAGCGGCAGCAGATCTGGC ACCGATTTCACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCTGAGGACTTTGCCACATACTATTGCCAGCAGCA CTATACCACACCCCTACTTTGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGATCAAG
61	5037	L1	QDVNTA
62	5037	L1	CAGGACGTGAACCCGCA
63	5037	L3	QQHYTTPPT
64	5037	L3	CAGCAGCACTATACCACACCCCTACT

[0688]

65	5037	L2	SAS
66	5037	L2	AGTGCATCA
67	5037	CL	RTVAAPSVFIFPPSDERLKSQTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSKESVTEQDSKDSSTYSL SSRLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
68	5037	CL	CGAAGCTGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCATTTTCCACCCAGCGATGAAAGACTGAACTCCGGCACAGC TTCTGTGGTCTGTCTGCTGAAACAATTTTCCACCCAGAGAGGCCAAAGTGCAGTGAAGGTCGACAAAG CTCTGACAGATGGCAACAGCAAGGAGAGCGTGACAGAACAGGATTCCAAAGACTCTACTTATAGTCTG TCAAAGCAGACTGACACTGAGCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCCTGTGAGGTCACACA TCAGGGGCTGTCTATCACCAGTCACCAAAATCATTCAATCGGGGGGAGTGC
69	3382	전체	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQDVSIGVAWYQQKPKGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFGSGSG TDFLTLISSLQPEDFATYYCQYYIYPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSLSTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
70	3382	전체	GATATTCAGATGACCCAGTCCCAAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTGGGCGACCGAGTCAACATCACATG CAAGGCTCCCAAGATGTCTATTGGAGTCGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAAGCACCACAGC TGCTGATCTATAGCGCTCCTACCGGTATACCGGCGTGCCCTCTAGATTCTCTGGCAGTGGGTGAGGA ACAGACTTTACTCTGACCATCTCTAGTCTGACGCTGAGGATTTGCTACCTACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCAGCCACCTTTGGCCAGGGGCAAAAAGTGGAGATCAAGAGGACTGTGGCCGCTCCCT CCGCTTTCATTTTCCCTCTGACGAAACAGCTGAAAAGTGGCACAGCCAGCGTGTCTGTCTGTCTG AACAAATTTCTACCTCGCGAAGCCAAAGTGCAGTGAAGGTCGATAACGCTCTGCAGAGCGGCAACAG CCAGGAGTCTGTGACTGAACAGGACAGTAAAGATTCAACCTATAGCCTGTCAAGCACAACACTCTGTA GCAAGGCAGACTACGAGAAGCACAAGTGTATGCCTGCGAAGTCAACATCAGGGGCTGTCTCTCTCT GTGACTAAGAGCTTTAAACAGAGGAGTGT
71	3382	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQDVSIGVAWYQQKPKGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFGSGSG TDFLTLISSLQPEDFATYYCQYYIYPATFGQGTKVEIK
72	3382	VL	GATATTCAGATGACCCAGTCCCAAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTGGGCGACCGAGTCAACATCACATG CAAGGCTCCCAAGATGTCTATTGGAGTCGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAAGCACCACAGC TGCTGATCTATAGCGCTCCTACCGGTATACCGGCGTGCCCTCTAGATTCTCTGGCAGTGGGTGAGGA ACAGACTTTACTCTGACCATCTCTAGTCTGACGCTGAGGATTTGCTACCTACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCAGCCACCTTTGGCCAGGGGCAAAAAGTGGAGATCAAG
73	3382	L1	QDVSIG
74	3382	L1	CAGGATGTGTCTATTGGA
75	3382	L3	QYYIYPAT
76	3382	L3	CAGCAGTACTATATCTACCCAGCCACC
77	3382	L2	SAS
78	3382	L2	AGCGCCTCC
79	3382	CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSL SSTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
80	3382	CL	AGGACTGTGGCCGCTCCCTCCGCTTTCATTTTCCCTTCTGACGAAACAGCTGAAAAGTGGCACAGC CAGCGTGGTCTGTCTGCTGAAACAATTTCTACCTCGCGAAGCCAAAGTGCAGTGAAGGTCGATAACG CTCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGTCTGTGACTGAACAGGACAGTAAAGATTCAACCTATAGCCTG TCAAAGCACAACACTGACTCTGAGCAAGGCAGACTACGAGAAGCACAAGTGTATGCCTGCGAAGTCAACA TCAGGGGCTGTCTCTCTCTGTGACTAAGAGCTTTAAACAGAGGAGTGT
81	5065	전체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIDKTYIHWRVQAPGKGLWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRADTAVYYCSRWGGDFYAMDYWGQGLVTVSSASTKGFVFPFLAPSSK STSGGTAAALGCEVIDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKVEPKSCKHTHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISSRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTTIS KAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFA LVSKLTVDKSRWQQGNVFPSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
82	5065	전체	GAGGTGCAGCTGGTCGAAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGTCAGTGCAGCTGAGCTGCGC

[0689]

			AGCTTCCGGCTTCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTCCGCCAGGCTCCTGGAAAAGGCCTGG AGTGGGTGGCAGAACTATCCAATAATGGATACACCCGGTATGCCACTCCGTGAAGGCCGGTTC ACCATTTCTGCAGATCAAGTAAAAACACTGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC AGCCGTGTACTATTGCAGCCGATGGGGAGGCGACGGCTTCTACGCTATGGATTATTGGGGGACGGGAA CCCTGGTCAACAGTGAAGCTCCGCATCAACAAGGGGCTTAGCGTGTTCACACTGGCCCCCTCTAGTAAA TCCACCTCTGGGGGAAACAGCAGCCCTGGGATGTGAGGTGACCGACTACTCCAGAGCCCGTCACTGT GAGCTGGAACTCCGGCCCTGACATCTG3GGTCCATACTTTTCTGCTGTGCTGAGTCAAGCGGCC TGACAGCCTGTCTCTGTGGTCACTGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAC GTGAATCACAAGCCATCCAATACCAAAGTCGACAAGAAAGTGGAAACCAGTCTTGTGATAAAACACA TACTTGGCCCCCTTGTCTGCAACAGAGTCTGTTGGAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTTCCACCCAAAGC CTAAGACACCCCTGATGATTAGTAGGACTCCAGAAGTCACTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAG AGCCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCAG GGAGGAACAGTACAACCTCCACTTATGCGTGTGTCTGCTGACCGTGTGCACCCAGGACTGGCTGA ACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGAACAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTTCC AAGGCTAAAGGGCAGCCTAGAGAACCACAGGTGTAGCTGTACCCCTCATCTAGGGACGAGCTGACCAA GAACAGGTCAGTCTGACATGTCTGGTGAAGGGTTCATCCACGAGATATCGCAGTGGAGTGGGAAT CCAATGGACAGCCTGAGAACAAATTAACAGACCAACCCCTGTCTGGACTCTGATGGAAAGTTTCGCC CTGGTGAAGTGAAGCTGACCGTGCATAAATCAAGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAAGCTGTTCAAGTAT GCACGAGCACTGCACAACCACTACACCCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCCCCCGCC
83	5065	VH	EVQLVESGGGLVQPQGLSLRLSRAAGSFNIKDTYIHWVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSS
84	5065	VH	GAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGCTCACTGCGACTGAGCTGCGC AGCTTCCGGCTTCAACATCAAGGACACCTACATTCACCTGGTCCGCCAGGCTCCTGGAAAAGGCCTGG AGTGGGTGGCAGCAATCTATCCAATAATGGATACACCCGGTATGCCACTCCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATTTCTGCAGATCAAGTAAAAACACTGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC AGCCGTGTACTATTGCAGCCGATGGGGAGGCGACGGCTTCTACGCTATGGATTATTGGGGGACGGGAA CCCTGGTCAACAGTGAAGCTCC
85	5065	H1	GFNIKDTY
86	5065	H1	GGCTTCAACATCAAGGACACCTAC
87	5065	H3	SRWGGDGFYAMDY
88	5065	H3	AGCCGATGGGGAGGCGACGGCTTCTACGCTATGGATTAT
89	5065	H2	IYPTNGYT
90	5065	H2	ATCTATCCAATAATGGATACACC
91	5065	CH1	ASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCEVIDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYLSLSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHPKPNKVDKVK
92	5065	CH1	GCATCAACAAAGGGGCTAGCGTGTTCACCTGGCCCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGGGGAACAGC AGCCCTGGGATGTGAGGTGACCGACTACTCCAGAGCCCGTCACTGTGAGCTGGAACCTCCGGGCCCC TGACATCTGGGGTCCATACTTTTCTGCTGTGCTGACGTCAAGCGGCTGTACAGCCTGTCTCTGTG GTCACTGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCCAA TACCAAAGTCGACAAGAAAGTG
93	5065	CH2	APPELLGGPSVFLFPPPKKDTLMIISRTPEVTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
94	5065	CH2	GCACAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTTCCACCCAAAGCCTAAAGACACCCCTGATGAT TAGTAGGACTCCAGAAGTCACTGCGTGGTGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCAGGAGGAAACAGTACAACCTCC ACTTATCGCGTGTGTCTGCTGCTGACCCGTGCTGCACCCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTG CAAAGTGAACAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTTCCAAGGCTAAA
95	5065	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVPSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
96	5065	CH3	GGCAGCCTAGAGAACCAAGGTGTACGTGTACCCCTCCATCTAGGGACGAGCTGACCAAGAACAGGT CAGTCTGACATGTCTGGTGAAGGGTTCATCCAGCGATATCGCAGTGGAGTGGGAATCCAATGGAC

[0690]

			AGCCTGAGAACAAATTACAAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCTGATGGAAATTCGCCCTGGTGAGT AAGCTGACCGTCGATAAATCACGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTGAGCTGTTGAGTATGACGAGAAC ACTGCACAACCACTACACCCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCCCCCGGC
97	6586	전체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFADYTMQWVRQAPGKLEWVGDVNPNSGGSIYNQRFKGRF TFSVDRSKNTLYLQMNLSRAEDTAVIYCARNLGPSFYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLPAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHPKSNKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISSRTPEVTVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSPAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
98	6586	전체	GAGGTGCAGCTGGTGAATCAGGAGGGGGCCTGGTGCAGCCCGAGGGTCTCTGCGACTGTCATGTGC CGCTTCTGGGTTCACTTTCGACAGACTACACAATGGATTGGGTGCCAGGCCCCGGAAAGGGACTGG AGTGGGTGGGCGATGTCAACCCCTAATTCTGGCGGGAGTATCTACAACAGCGGTTCAAGGGGAGATT ACTTTTTCAGTGGACAGAAACAAAACACCCCTGTATCTGCAGATGAAACAGCCTGAGGGCCGAAAGTAC CGCTGTCTACTATTGCGCTCGCAATCTGGCCCCAGTTTCTACTTTGACTATTGGGGGCGAGGAAACCC TGGTGACAGTCACTCCGCTAGCACTAAGGGGCCCTCCGCTGTTTCCACTGCTCCCTCTAGTAAATCC ACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATGCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCACTCACAGTGGAG TTGGAACCTCAGGGCTCTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGTGCAGTCAAGCGGACTGT ACTCCCTGTCTCTGTGGTCAACCGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATATCTGCAACGTG AATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTGCACAAGAAAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATAAAACTCATA CTGCCACCTTGTCCGGCCGAGAACTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTCTGTTTCCACCCCAAGCCTA AAGACACCTGATGATTTCCCGACTCCTGAGTCACTGCGTGTGCTGSACTGTCTCACGAGGAC CCCAGAGTCAAGTTCAACTGCTACGTGATGGCGTCCGAAAGTGCATAATGCCAAGACCAAAACCCCGGAA GGAAACAGTCAAACTCTACTATAGAGTGTGAGTGTCTGACAGTGTGCACACAGGACTGGCTGAATG GGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAAGCAACAAGCCCTGCCCGCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAA GCAAAAGGACAGCCTCGCGAACACAGGCTACTCGTCTACCCCCATCAAGAGATGAATGACAAAAAA TCAGGTCTCTCTGACATGCTGGTCAAAGGATTTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGAAAAGTA ACGGCCAGCCCGAGAAACAATTAACAAGACCAACCCCTGTCTGACTCTGATGGGAGTTTCGCTCTG GTGTCAAAGCTGACCGTGCATAAAAGCCGGTGCAGCAGGGCAATGTGTTTACTGCTCCGCTCATGCA CGAAGCCCTGCACAATCACTACACACAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
99	6586	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFADYTMQWVRQAPGKLEWVGDVNPNSGGSIYNQRFKGRF TFSVDRSKNTLYLQMNLSRAEDTAVIYCARNLGPSFYFDYWGQGLTVTVSS
100	6586	VH	GAGGTGCAGCTGGTGAATCAGGAGGGGGCCTGGTGCAGCCCGAGGGTCTCTGCGACTGTCATGTGC CGCTTCTGGGTTCACTTTCGACAGACTACACAATGGATTGGGTGCCAGGCCCCGGAAAGGGACTGG AGTGGGTGGGCGATGTCAACCCCTAATTCTGGCGGGAGTATCTACAACAGCGGTTCAAGGGGAGATT ACTTTTTCAGTGGACAGAAACAAAACACCCCTGTATCTGCAGATGAAACAGCCTGAGGGCCGAAAGTAC CGCTGTCTACTATTGCGCTCGCAATCTGGCCCCAGTTTCTACTTTGACTATTGGGGGCGAGGAAACCC TGGTGACAGTCACTCC
101	6586	H1	GPTFADYT
102	6586	H1	GGGTTCACTTTCGACAGACTACACA
103	6586	H3	ARNLGPSFYFDY
104	6586	H3	GCTCGCAATCTGGGCCAGTTTCTACTTTGACTAT
105	6586	H2	VNPNSGGSI
106	6586	H2	GTCAACCCCTAATTCTGGCGGGAGT
107	6586	CH1	ASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNKVDKVV
108	6586	CH1	GCTAGCACTAAGGGGCCCTCCGCTGTTTCCACTGGCTCCCTTAGTAAATCCACTCTGGAGGCACAGC TGCACTGGGATGCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCACTGAGTGGAACTCAGGGGCTC TGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGAGTGTGCAGTCAAGCGACTGTACTCCCTGTCTCTGTG GTCAACCGTCCCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCAACAGCCATCAA TACAAAAGTGCACAAGAAAGT

[0691]

109	6586	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAK
110	6586	CH2	GCGCCAGAATCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTTCCACCCAGCCTAAAGACACCCCTGATGAT TTCCCGGACTCCTGAGGTCACTGCGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACCAACCCCGGGAGGAACAGTACAACCTCT ACCTATAGAGTCGTGAGTGTCTGACAGTGTGACCCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGATATAAGTG TAAAGTGAGCAACAAGCCCTGCCCGCCCCAATCGAAAAACAATCTCTAAAGCAAAA
111	6586	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
112	6586	CH3	GGACAGCCTCGCAACCAAGGTCTACGTCTACCCCCCATCAAGAGATGAACTGACAAAAAATCAGGT CTCTCTGACATGCCTGGTCAAAGGATTCTACCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAAACGGCC AGCCCGAGAACAAATTAAGACACACCCCTGTCTGAGTCTGATGGGAGTTTGGCTCTGGTGTCA AAGCTGACCGTCGATAAAAAGCCGTGGCAGCAGGCAATGTGTTTAGCTGCTCCGTATCGACCGAAGC CCTGCACAATCACTACACACAGAATCCTCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
113	3904	Full	YPYDVPDYATGSDIQMTQSPSSLSASVGRVTTICKASQDVSI GVAWYQQKPKAPKLLIYSASYRYT GVPSRFSGSGSDFTLTISSLPEDFATYYCQYYIYPYTPGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEE LKSQTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSEESVTEQDSKDYSLSTLELSKADYKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
114	3904	Full	TATCCCTACGATGTGCTGACTACGCTACTGGCTCCGATATCCAGATGACCCAGTCTCCAAGTCCCT GAGTGCATCAGTGGGGACCGAGTCAACATCAATGCAAGGCTTCCAGGATGTGTCTATTGGAGTCC CATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGCACCCAAAGCTGTGATCTACAGCGCTCCTACCGGTATACT GGGGTGCCCTCCAGATTCTCTGGCAGTGGGTGAGGAAACGACTTTACTCTGACCATCTCTAGTCTGCA GCCCGAGGATTTCCGCCACTACTATTGCCAGCAGTACTATCTACCCCTTATACCTTTGGCCAGGGGA CAAAAGTGGAGATCAAGAGGACAGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCAATTTTCCCTTCCGACGAAAG CTGAAAAGTGGAACTGCTTCAGTGTCTGTCTGCTGAAACAATTTCTACCCCGCGAAGCCAAAGTGA GTGGAAGGTCGATAACGCTCTGACAGCGGCAATTCGAGGAGTCTGTGACAGAACAGGACAGTAAAG ATTCAACTTATAGCCTGTCAAGCACACTGGAGCTGTCTAAGGAGACTACGAGAAGCAAAAAGTGTAT GCCTCGGAAGTCAACCATCAGGGGCTGCTCTCCCGTGACAAAGAGCTTTAACAGAGGAGAGTGT
115	3904	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTTICKASQDVSI GVAWYQQKPKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGS GSDFTLTISSLPEDFATYYCQYYIYPYTPGQGTKEIK
116	3904	VL	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCAAGTCCCTGAGTGCATCAGTGGGGACCGAGTCAACATCAATG CAAGGCTTCCAGGATGTGTCTATTGGAGTCCGATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGCACCACAGC TGCTGATCTACAGCGCTCCTACCGGTATACTGGGTGCCTTCCAGATTCTCTGGCAGTGGGTGAGGA ACCGACTTTACTCTGACCATCTCTAGTCTGACCGCGAGGATTTGCCACCTACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCCTTATACCTTTGGCCAGGGGACAAAAGTGGAGATCAAG
117	3904	L1	QDVSI G
118	3904	L1	CAGGATGTGTCTATTGGA
119	3904	L3	QYYIYPYT
120	3904	L3	CAGCAGTACTATATCTACCCCTTATACC
121	3904	L2	SAS
122	3904	L2	AGCGCCTCC
123	3904	CL	RTVAAPSVFIFPPSDEELKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSEESVTEQDSKDYSL SSTLELSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
124	3904	CL	AGGACAGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCAATTTTCCCTTCCGACGAAAGAGCTGAAAAGTGGAACTGC TTCAGTGGTCTGTCTGCTGAAACAATTTCTACCCCGCGAAGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGCATAACG CTCTGCAGAGCGGCAATTCGAGGAGTCTGTGACAGAACAGGACAGTAAAGATTCAACTTATAGCCTG TCAAGCACACTGGAGCTGTCTAAGGAGACTACGAGAAGCAAAAAGTGTATGCCTGCGAAGTCAACCA TCAGGGGCTGTCTCTCCCGTGACAAAAGAGCTTTAACAGAGGAGAGTGT
125	4553	전체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGPNIKDTHHWVRQAPGKGLWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRRAEDTAVYCSRGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFFLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN

[0692]

			VNHKPSNTEKVKVEPKSCDKHTHTPCPCAPPELLGGPSVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFPSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
126	4553	전체	GAAGTCCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTCAGCCAGGAGGGTCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGCTTCAAACATCAAGGACACCTACATTCACCTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGAAGGCGCTGG AGTGGGTGGCACGAATCTATCCAACTAATGGATACACCCGGTATGCAGACAGCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATTAGCGCAGATACATCCAAAAACTGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAAGATAC TGCTGTACTATTGTCAGTCCGGTGGGAGGCGACGGCTTCTACGCTATGGATTATTGGGGGAGGGAA CCCTGGTCAAGTGGCTCCGATCTACAAAGGGCCCTAGTGTGTTCCACTGGCCCCCTCTAGTAAA TCCACCTCTGGGGAAACAGCAGCCCTGGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCAGAGCCCGTCACTGT GAGTTGGAACTCAGGCGCCCTGACATCCGGGGTCCATACTTTCTGCTGTGCTGAGTCAAGCGGCC TGTACTCTCTGCTCTGTGTCCCGTCCAAAGTTCAGCCCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCAGCAATCAAAAAGTCGACAGAAAGTGAACCCAGAGCTGTGATAAAAACA TACTTGGCCCCCTGTCTGTCACAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCACCCAGC CTAAGAAGACCCCTGATGATTTCCAGGACTCCAGAAGTCACTGCGTGGTGTGGTCAAGTGTCTCAGAG GACCCGAACTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGCAAAAAGCCAG GGAGGAACAGTACAACTCAACTTATCGCGTGTGAGCGTCTGACCGTGTGCACCCAGGACTGGCTGA ACGGCAAGGAGTATAAGTCAAAAGTGAAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAAACATTAGC AAGGCCAAGGGCAGCCTAGAGAACCACAGGTCTACGTGTATCCTCAAGCAGGGACGAGCTGACCAA GAACCAAGGTCTCCCTGACATGTCTGTGAAAAGGGTTTACCCAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAAT CAAATGGACAGCCTGAAAAAATAAAGACCACCCCTGTGTGGACGAGATGGCAGCTTCGCT CTGCTTCCCAAGCTGACTGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGCTTTTAGTTGTTCAAGTGT GATGATGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGAGCCTGTCCTGCTCCCGGCAAA
127	4553	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVVYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSS
128	4553	VH	GAAGTCCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTCAGCCAGGAGGGTCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGCTTCAAACATCAAGGACACCTACATTCACCTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGAAGGCGCTGG AGTGGGTGGCACGAATCTATCCAACTAATGGATACACCCGGTATGCAGACAGCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATTAGCGCAGATACATCCAAAAACTGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAAGATAC TGCTGTACTATTGTCAGTCCGGTGGGAGGCGACGGCTTCTACGCTATGGATTATTGGGGGAGGGAA CCCTGGTCAAGTGGCTCC
129	4553	H1	GFNIKDTY
130	4553	H1	GGCTTCAACATCAAGGACACCTAC
131	4553	H3	SRWGGDGFYAMDY
132	4553	H3	AGTCGGTGGGGAGGCGAGCGCTTCTACGCTATGGATTAT
133	4553	H2	IYPTNGYT
134	4553	H2	ATCTATCCAACTAATGGATACACC
135	4553	CH1	ASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSVHFTFPAVLQSSGLYSLSSV VIVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTEKVKV
136	4553	CH1	GCATCTACAAAGGGGCTAGTGTGTTCCACTGGCCCCCTAGTAAATCCACCTCTGGGGAAACAGC AGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCAGAGCCCGTCACTGTGAGTTGGAATCAGGCGCCC TGACATCCGGGGTCCATACTTTTCTGCTGTGCTGAGTCAAGCGGCTGTACTCTCTGCTCTCTGTG GTCACCGTCCCAAGTTCAAGCCTGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTTGAATCAACAGCCAAAGCAA TACAAAAGTCGACAGAAAGTG
137	4553	CH2	APPELLGGPSVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
138	4553	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCACCCAGCCTAAAGACACCCCTGATGAT TTCCAGGACTCCAGAAGTCACTGCGTGGTGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCGAAAGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGCAAAAAGGAGGAAACAGTACAACTCA ACTTATCGCGTGTGAGCGTCTGACCGTGTGCACCCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGATATAAGTG

[0693]

			CAAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACCATTAGCAAGGCCAAA
139	4553	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFS C SVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
140	4553	CH3	GGGCAGCCTAGAGAACCCACAGGTCTACGTGTATCCTCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACAGGT CTCCCTGACATGCTGGTGAAGGGTTTACCCAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCTGAAAACAATTATAAGACCACACCCCTGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCGCTCTGGTCTCC AAGCTGACTGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGTTGTTTCAGTGATGCATGAGGC ACTGCACAATCATTACACCCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
141	716	전체	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI S KAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLI CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENRYMTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFS C SVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
142	716	전체	GAGCCCAAGAGCAGCGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACC TAGCGTGTCTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGATTCCAGGACTCCCGAGGTGACCT GCGTGGTGGTGGACGTGTCTCAGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCACCTGGTACGTGGATGGCGTGGAA GTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTGTGAGCGTGT GACCGTGTGCACAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAACTCAGTAATAAGCCCTGC CTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAGGCCAGCCAGGAGGCCCAAGGTGTACACACTG CCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACAGGTGCTCCCTGATCTGTCTGGTGAAGAGCTTCTATCC TAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAGATACATGACCTGGCCTCCAG TGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTATTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAG GGGAACTGTGTTAGTTGTTCAAGTGAATGATGAAGCCCTGCAAACTATTACACTCAGAAGAGCCTGTCT CCTGTCTCCCGGCAAA
143	716	CH2	APELLGGPSVFLPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREBQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI S KAK
144	716	CH2	GCTCCAGAACTCTGGGAGGACCTAGCGTGTCTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGAT TCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGACGTGTCTCAGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCAC ACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAAACAGTACAACTCC ACTTATCGCGTGTGAGCGTGTGACCGTGTGACCCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTG CAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAA
145	716	CH3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLI CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENRYMTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFS C SVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
146	716	CH3	GGGCAGCCAAAGGAGCCCCAGGTGTACACTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACAGGT GTCCCTGATCTGCTGGTGAAGGGCTTCTATCCTAGTGATATGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCAGAGAACAGATACATGACCTGGCCTCCAGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTATTCC AAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAAACGTGTTTAGTTGTTTCAGTGATGCATGAAGC CCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
147	719	전체	DIQMTPSPSLSASVGDVITICRASQDVNTAVAWYQQKPKKAPKLLIYSASFLYSGVPSRPSGSRSG TDFTLTISLQPEDFATYICQHYHTPPTPGQGTVEIKGSGSGSGSGSGSGSGSGSGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGPNIKDTHYIHWVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRADTAIVYCSRWGGDFYAMDYWGQGLTVIVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREBQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI S KAKGQPREPQVYTYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFS C SVMHEALHNHYTQKLS LSLSPGK
148	719	전체	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGATCTGTAGGAGACAGAGTACCATCACTTG CCGGCAAGTCAGGACGTAAACCCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAAACAGGGAAAGCCCTAAGC TCTGATCTATTCTGCATCCTTTTGTACAGTGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTCGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTGCAACTTACTACTGTCAACAGCA TTACACTACCCACCCACTTTCCGGCCAGGGACCAAGTGGAGATCAAGGTTGGTTCTGGTGGTGGTT CTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGA GGCTTGGTACAGCCTGGCGGTCCCTGAGACTCTCTGTGACGCTCTGGATTCAACATTAAGATAC

[0694]

			TTATATCCAATCGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCGCACGTAITTTATCCCAAA ATGGTTACACACGGTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCGACAGACTTCCAAGAAC ACCCGCTATCTGCAAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTTTATTACTGTTCAAGATGGGG CGGAGACGGTTTCTACGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGGACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCGCG AGCCCAAGAGCAGGATAAGACCCACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCT AGCGTGTCTCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTG CGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGAAG TGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAAACAGTACAACCTCCACTTATCGCGTGTGAGCGTGTG ACCGTGTCTGACCCAGGACTGGCTGAACGGGAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAAGTAATAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAAACCTCTCTAAGGCCAAAAGGCCAGCCAAAGGGAGCCCGAGGTGTACACATACC CACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACATGTCTGTGGTGAAGGCTTCTATCCT AGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAAACAATTACAAAGACCACACTCCAGT GCTGGACGAGGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGG GGAACTGTATTAGTTTTCAGTGTGATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCC CTGTCTCCCGCAAA
149	719	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASFLYGVPSRFSGRSG TDFLTISSLQPEDFATYYCQHYTTPPTFGQGTKEIK
150	719	VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTACCATCACTTG CCGGGCAAGTCAGGACGTTAACACCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAGCCCTAAGC TCTGATCTATTCTGCATCCTTTTGTACAGTGGGTCCCAAGTTCAGTGGCAGTCTGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGAACCTTACTACTGTCAACAGCA TTACACTACCCCACTTTTCGGCCAAGGGACCAAGTGGAGATCAAA
151	719	L1	QDVNTA
152	719	L1	CAGGACGTTAACACCGCT
153	719	L3	QHYTTPPT
154	719	L3	CAACAGCATTACACTACCCCACT
155	719	L2	SAS
156	719	L2	TCTGCATCC
157	719	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLVWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLVTVSS
158	719	VH	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGC AGCCTCTGGATTCAACATTAAGATACTTATATCCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGAAAGGCGCTGG AGTGGGTGCACGTAITTTATCCCAAAATGGTTACACAGGTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTC ACCATCTCCGACAGACTTCCAAGAACCCGCTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACAC GGCCGTTTATTACTGTTCAGATGGGGCGGAGACGGTTTCTACGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGGA CCCTGGTCAACGCTCTCTCA
159	719	H1	GFNIKDTY
160	719	H1	GGATTCAACATTAAGATACTTAT
161	719	H3	SRWGGDGFYAMDY
162	719	H3	TCAAGATGGGGCGGAGACGGTTTCTACGCTATGGACTAC
163	719	H2	IYPTNGYT
164	719	H2	ATTTATCCCAAAATGGTTACACA
165	719	CH2	APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAK
166	719	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGAT TTCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGAGCGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAAACAGTACAACCTCC ACTTATCGCGTCTGAGCGTGTGACCCGTCTGCACAGGACTGGCTGACCGGGAAGGATATAAGTG CAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCTGCTCAATCGAAAAAACCTCTTAAGGCCAAA
167	719	CH3	GQPREPQVYTPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDDEGDFALVS

[0695]

			KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
168	719	CH3	GGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACACATACCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCCAGGT GTCCCTGACATGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCAGAGAACAATTAAGACACACCTCCAGTGTGGACGAGGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCC AAGCTGACAGTGGATAAACTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTGTGTTTCAGTGTGATGATGAAAC CCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGCC
169	720	전체	DIQMTQSPSSLSASVGDVNTITCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYHTPPTFGQGTKVEIKGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGPNIKDYYIHWRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRLEDVAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPAPPELLGGP SVFLPPPKPKDLMISRTPEVTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDHLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLIQLVKGFYP SDIAVEWESNQPENRYMTWPPVLDSDGSPFLYSLKTLVTKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL LSFPGK
170	720	전체	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCCACATCACTTG CCGGCAAGTCAGGACGTTAACACCCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAAACAGGAAAGCCCTAAGC TCCTGATCTATTCTGCATCCTTTTGTACAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGCATCTGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCACCTTACTACTGTCAACAGCA TTACACTACCCCAACCACTTTCCGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAAGGTGGTTCCTGGTGGTGGT CTGGTGGTGGTCTGGTGGTGGTCTGGTGGTGGTCTGGTGAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGA GGCTTGGTACAGCCTGGCGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACATTAAGATAC TTATATCCACTGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGTCCGACGATTTATCCCAAA ATGGTTACACACGATATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACATCTCCGACAGACTTCCAAGAAC ACCCGCTACTCTGCAAAATGAAAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTTTATTACTGTTCAAGTGGGG CGAGACCGTCTTCTACGCTATGGACTACTGGGGCCAAAGGACCCCTGGTCCCGTCTCCTCAGCCGCG AGCCCAAGAGCAGCGATAAGACCCACACTGCCCTCCCTGTCCAGTCCAGAACTGCTGGGAGGACCT AGCGTGTCTCTGTTCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTG CGTGGTGGTGGACGTGTCTCACAGGACCCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGAAG TGCCATAATGCTAAGACAAAACCAAGSAGGAAACAGTACAACCTCACTTATCCGCTCGTGAGCGTGTG ACCCGTGCTGCACACAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAAGTCAAGTAAATAAGGCCCTGCC TGCTCCAAATCGAAAAAACCTCTCTAAGGCCAAAGGCCAAGGAGCCCGAGGTGTACACACTGC CACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCCAGGTGTCCCTGATCTGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCT AGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAGATACATGACCTGGCTCCAGT GCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTCTCTGTATTCCAAGCTGACAGTGGATAAACTCGATGGCAGCAGG GGAACGTGTTTGTGTTTCAAGTGTGATGATGAAAGCCCTGCACAATCAATACACTCAGAAGAGCCTGTCC CTGTCTCCCGGCAAA
171	720	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDVNTITCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYHTPPTFGQGTKVEIK
172	720	VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCCACATCACTTG CCGGCAAGTCAGGACGTTAACACCCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAAACAGGAAAGCCCTAAGC TCCTGATCTATTCTGCATCCTTTTGTACAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGCATCTGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCACCTTACTACTGTCAACAGCA TTACACTACCCCAACCACTTTCCGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAA
173	720	L1	QDVNTA
174	720	L1	CAGGACGTTAACACCCGCT
175	720	L3	QQHYHTPPT
176	720	L3	CAACAGCATTACACTACCCCAACCACT
177	720	L2	SAS
178	720	L2	TCTGCATCC
179	720	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGPNIKDYYIHWRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRLEDVAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSS

[0696]

180	720	VH	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGC AGCCTCTGATTCAACATTAAGATACTTATATCCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGCGCTGG AGTGGGTGCGCACGTATTATCCACAARTGGTTACACACGGTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTC ACCATCTCCGCAGACACTTCCAAGAACACCGGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACAC GGCCGTTTATTACTGTTCAAGATGGGGCGGAGACGGTTTCTACGCTATGGACTACTGGGGCCAAAGGGA CCCTGGTCAACCGTCTCCTCA
181	720	H1	GFNIKDTY
182	720	H1	GGATTCAACATTAAGATACTTAT
183	720	H3	SRWGGDGFYAMDY
184	720	H3	TCAAGATGGGGCGGAGACGGTTTCTACGCTATGGACTAC
185	720	H2	IYPTNGYT
186	720	H2	ATTTATCCCAAAATGGTTACACA
187	720	CH2	APELLGGPSVFLFPKPKDLMISRPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAK
188	720	CH2	GCTCCAGAAGTCTGGGAGGACTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACTCTGATGAT TCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAACCTCC ACTTATCGCGTCTGTGAGCGTGTGACCGTGTGCACACAGGACTGGCTGAACGGGAGGAGTATAAGTG CAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCGCTCCAATCGAAAAAACATCTCTAAGGCCAAA
189	720	CH3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLICLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENRYMTWPPVLDSDGSEFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTKLSLSLPG
190	720	CH3	GGCCAGCCAAAGGAGCCCGAGGTGACACACTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGT GTCCTGATCTGTCTGGTAAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCAGAGAACAGATACATGACCTGGCCCTCCAGTCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTCTGTATTCC AAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTAGTTGTTTCAGTGATGATGAAGC CCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
191	4561	전체	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPKGAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSSRSG TDFLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSFIPTPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
192	4561	전체	GATATTAGATGACCCAGTCCCCTAGCTCCCTGTCCGCTTCTGTGGGCGACAGGGTCACTATCACCTG CCGCGCATCTCAGGATGTGAACAACCGCAGTCCGCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGGAAAGCTCCAAGC TGCTGATCTACAGTGCATCATTCTGTATTACAGGAGTGCCAGCCGGTTTAGCGGCAGCAGATCTGGC ACCGACTTCACACTGACTATCTCTAGTCTGCAGCCTGAGGATTTGCCCACATACTATTGCCAGCAGCA CTATACCCACCCCTACTTTCCGCCAGGGGACCAAAGTGSAGATCAAGCGAACTGTGGCCGCTCCAA GTGTCTTCAATTTCCACCCAGCGAACACAGCTGAAATCCGGCACAGCTTCTGTGGTCTGTCTGTCTG AACAACTTCTACCCAGAGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGCATAACGCTCTGCAGAGTGGCAACAG CCAGGAGAGCGGTGACAGAACAGGACTCCAAGATTCTACTTATAGTCTGTCAAGCACCCCTGACACTGA GCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCTGTGAGGTGACCCATCAGGGGCTGTCTCTCC GTGACCAAGTCTTTCAACCGAGGCGAATGT
193	4561	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPKGAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSSRSG TDFLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
194	4561	VL	GATATTAGATGACCCAGTCCCCTAGCTCCCTGTCCGCTTCTGTGGGCGACAGGGTCACTATCACCTG CCGCGCATCTCAGGATGTGAACAACCGCAGTCCGCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGGAAAGCTCCAAGC TGCTGATCTACAGTGCATCATTCTGTATTACAGGAGTGCCAGCCGGTTTAGCGGCAGCAGATCTGGC ACCGACTTCACACTGACTATCTCTAGTCTGCAGCCTGAGGATTTGCCCACATACTATTGCCAGCAGCA CTATACCCACCCCTACTTTCCGCCAGGGGACCAAAGTGGAGATCAAG
195	4561	L1	QDVNTA
196	4561	L1	CAGGATGTGAACACCCGA
197	4561	L3	QQHYTTPPT

[0697]

198	4561	L3	CAGCAGCACTATACCAACCCCTACT
199	4561	L2	SAS
200	4561	L2	AGTGCATCA
201	4561	CL	RTVAAPSVFIPFPSDBQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSL SSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSPNRGEC
202	4561	CL	CGAATCTGGCCCGCTCCRAAGTGTCTTCAATTTTCCACCAGCGACGAACAGCTGAAATCCGGCACRGC TTCTGTGTCTGTCTGTCTGAAACAACCTTCTACCCAGAGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGCATAACG CTCTGCAGAGTGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACAGAACAGGACTCCAAAGATTCTACTTATAGTCTG TCAAGCACCCCTGACACTGAGCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCCTGTGAGGTGACCCA TCAGGGGCTGTCTTCTCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGAGGCGAATGT
203	3041	Full	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRF TLSDVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSTFYFDYWQGTLLVTVSSASTKGPSVFLPLAPSSKS TSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNV NPKPSNTKVDKVKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVYVLPFSRDELTKNQVSLCLVKGFPYSPDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVPSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
204	3041	Full	GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCCCTGCGCCTGTCTTGCGC CGCTAGTGGCTTCACTTTTACCGACTACACCATGGATTGGGTGCGACAGGCACCTGGAAGGGCCCTGG AGTGGGTGCGCGATGTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACAGCGGTTCAAGGGCCGGTTC ACCTGTGTCAGTGGACCGGAGCAAAAACACCTGTATCTGCAGATGAATAGCTGCGAGCCGGAAGATAC TGCTGTGTAATAATGCGCCCGAATCTGGGGCCCTCCTTCTACTTTGACTATTGGGGGCAGGGAATC TGCTCACCGTGAAGTCCCGCTCCACCAAGGACCTTCTGTGTTCCCACTGGCTCCTCTAGTAAATCC ACATCTGGGGAACTGCAGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTCCAGAGCCCGTCCACAGTGTCT TTGGAACAGTGGCGCTCTGACTCTGGGGTCCACACCTTCTGCAAGTGTGCAAGTCAAGCGGGCTGT ACAGCCCTGTCTCTGTGTGTCACCGTGCAGAGTCAAGCTGSGAACAAGACTTATATCTGCAACGTG AATCAAGCCATCCAATACAAAAGTGCACAAGAAAGTGGAAACCAAGTCTTGTGATAAAAACCCATAC ATGCCCCCTTGTCTGCAACAGAGTGTCTGGGAGGACCAAGCGTGTCTGTTTCCACCCAAAGCCTA AAGATACACTGATGATTAGTAGGACCCAGAAAGTCAACATGCGTGGTGGAGCTGAGCCACGAGGAC CCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGTGGACCGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGATAAAACCCAGGGA GGAACAGTACAACAGTACCTATCGCGTGTGTGTCAGTCTGACAGTGTGATCAGGATTGGCTGAACG GGAAGAGATATAAGTGCAAAAGTGAAGCAATAAGGCTCTGCCCCACCTATCGAGAAAAACAATTTCCAAG GCAAAAAGGACAGCCTAGAGAACACAGGTGTACGTGTGCCTCCATCAAGGGATGAGCTGACAAAAGAA CCAGGTGAGCCTGTGTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCCTGACATTGCTGTGAGTGGGAAAGTA ATGGCCAGCCTGAGAACAAATACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGACTCAGATGGCAGCTCTTCTCTG TATAGCAAGCTGACCGTGCACAAATCCCGGTGGCAGCAGGGGAATGTGTTTGTGTTTCAAGTCAATGCA CGAGGCACTGCACAACCAATTACCCAGAGTCACTGTCACTGTCAACAGGG
205	3041	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRF TLSDVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSTFYFDYWQGTLLVTVSS
206	3041	VH	GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCCCTGCGCCTGTCTTGCGC CGCTAGTGGCTTCACTTTTACCGACTACACCATGGATTGGGTGCGACAGGCACCTGGAAGGGCCCTGG AGTGGGTGCGCGATGTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACAGCGGTTCAAGGGCCGGTTC ACCTGTGTCAGTGGACCGGAGCAAAAACACCTGTATCTGCAGATGAATAGCTGCGAGCCGGAAGATAC TGCTGTGTAATAATGCGCCCGAATCTGGGGCCCTCCTTCTACTTTGACTATTGGGGGCAGGGAACTC TGCTCACCGTGAAGTCC
207	3041	H1	GFTFTDYT
208	3041	H1	GGCTTCACTTTTACCGACTACACC
209	3041	H3	ARNLGPSTFYFDY
210	3041	H3	GCCCCGAATCTGGGGCCCTCCTTCTACTTTGACTAT
211	3041	H2	VNPNSGGS
212	3041	H2	GTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCC

[0698]

213	3041	CH1	ASTKGPSVFLPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTIWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTRKVDKVV
214	3041	CH1	GCCTCCACCAAGGGACCTTCTGTGTTCCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACATCTGGGGAACTGC AGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCAGAGCCCGTCAACAGTGTCTTGGAAACAGTGGGCTC TGACTTCTGGGGTCCACACCTTTCTGTCAGTGTGAGTCAAGCGGGCTGTACAGCCTGTCTCTGTG GTCACCGTCCCAAGTTCAAGCCTGGGAACAAGACTTATATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCATCCAA TACAAAAGTCGACAAAGAAAGTG
215	3041	CH2	APELLGGPSVFLPFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAK
216	3041	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCCCAAGCCTAAAGATACACTGATGAT TAGTAGGACCCAGAAAGTCAACATGCGTGGTCTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTA ACTGCTACGTGGACGCGCTCGAGGTGCATATGCCAAGACTAAACCCAGGGAGGAAAGTACACACAGT ACCTATTCGCGTCTGTGTCAGTCTGACAGTGTGCATCAGGATGGCTGAACGGGAAAGATATAAGTG CAAAGTGAACAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTTCCAGGGCAAAA
217	3041	CH3	GQPREPQVIVLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
218	3041	CH3	GGACAGCCTAGAGAACCAAGGTGATCGTGTCCCTCCATCAAGGGATGAGCTGACAAAGAACAGGT CAGCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCCTCTGACATGCTGTGGATGGGAAAGTAAATGGCC AGCCTGAGAACAAATTAACCTGACCTGGCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCTTTCTGTATAGC AAGCTGACCGTGCAGAAATCCCGGTGGCAGCAGGGGAATGTGTTTAGTTGTTTCACTCATGCACGAGGC ACTGCACAACATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCAACAGGG
219	3057	전체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFTDYTMDVWRQAPGKLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRF TLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVIYCARNLGPSFYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTIWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTRKVDKVEPKSKDKHTHTCPCPAPELLGGPSVFLPFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVIVLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
220	3057	전체	GAAGTGCAGCTGGTCAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCCCTGCGCCTGTCTTGGCGC CGCTAGTGGCTTCACTTTTACCGACTACCCATGGATTGGGTGCGACAGGCACCTGGAAAGGGCCTGG AGTGGGTGCGCGATGTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACAGCGGTTCAAGGGCCGGTTC ACCCTGTCAAGTGGACCGGAGCAAAAACCCCTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCGAGCCGAAAGTAC TGCTGTGATCTATTGCGCCCGAATCTGGGGCCCTCTTCACTTTGACTATTGGGGGAGGGAACTC TGSTCACCGTGTGCTCCGCTCCACCAAGGGACCTTCTGTGTTCCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCC ACATCTGGGGGAACTGCAGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCAGAGCCCGTCAACAGTGTG TTGGAACAGTGGCGCTGACTTCTGGGTCCACACCTTTCTGCAAGTGTGCAAGTCAAGCGGGCTGT ACAGCCTGTCTCTGTGGTCAACCGTCCCAAGTTCAAGCCTGGGAACAAGACTTATATCTGCAACGTG AATCAACAGCCATCCAATACAAAAGTGCACAAGAAAGTGGAAACCAAGTCTTGTGATAAAAACCCATAC ATGCCCCCTTGTCTGCAACAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCCCAAGCCTA AAGATACACTGATGATTAGTAGGACCCAGAAGTCAATGCGTGTGCTGGACGTCAGCCACAGGAGC CCCGAAGTCAAGTTTAACTGTAAGTGGACGCGCTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCCAGGGAA GGAAACAGTACAACAGTACTATCGCGTGTGTGAGTCTGACAGTGTGCAAGGATTGGCTGAAAG GGAAAGAGTATAAGTGCAAAAGTGAACAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTTCCAAG GCAAAAGGACAGCCTAGAGAACACAGGTGATCGTGTATCTCCATCAAGGGATGAGCTGACAAAAGAA CCAGGTGAGCCTGACTTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCCTCTGACATGCTGTGGAGTGGGAAAGTA ATGGCCAGCCTGAGAACAAATTAACAAGCACACCCCTGTGCTGACTCAGATGGCAGCTTCCGCGTGT GTGAGCAAGCTGACCGTGCACAATCCCGGTGGCAGCAGGGGAATGTGTTTAGTTGTTCACTCATGCA CGAGGCACTGCACAACCAATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCAACAGGG
221	3057	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFTDYTMDVWRQAPGKLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRF TLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVIYCARNLGPSFYFDYWGQGLTVTVSS
222	3057	VH	GAAGTGCAGCTGGTCAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCCCTGCGCCTGTCTTGGCGC CGCTAGTGGCTTCACTTTTACCGACTACCCATGGATTGGGTGCGACAGGCACCTGGAAAGGGCCTGG

[0699]

			AGTGGGTGCGCGATGTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACCAGCGGTTCAAGGGCCGGTTC ACCCTGTCACTGGACCGGAGCAAAAAACCCCTGTATCTGCAGATGAATAGCCTCGAGCCGAGATAC TGCTGTACTATTGCGCCCGGAATCTGGGGCCCTCTCTACTTTGACTATTTGGGGGACGGGAATC TGGTACCGTGAGCTCC
223	3057	H1	GPTFTDYT
224	3057	H1	GGCTTCACTTTTACCGACTACACC
225	3057	H3	ARNLGPSPYFDY
226	3057	H3	GCCCGGAATCTGGGGCCCTCTCTACTTTGACTAT
227	3057	H2	VNPNSGGS
228	3057	H2	GTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCC
229	3057	CH1	ASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHVFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNKVDKVV
230	3057	CH1	GCCTCCACCAAGGACCTTCTGTGTCCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACATCTGGGGAACTGC AGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCACAGCCCGTCCACAGTGTCTTGAACAGTGGCGCTC TGACTTCTGGGGTCCACACCTTTCCCTGCAGTCTGCAGTCAAGCGGGTGTACAGCCTGTCTCTGTG GTCACCGTGCCAAAGTTCAAGCCTGGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCCAA TACAAAAGTCGACAAGAAAGTG
231	3057	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAK
232	3057	CH2	GCACCAGAGCTGTGGGAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTTCCACCCCAAGCCTAAAGATACACTGATGAT TAGTAGGACCCCGAAGTCAACATGCGTGGTGTGGACGTGAGCCACAGGACCCCGAAGTCAAGTTTA ACTGGTACGTGGACGCGCTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCAGGGAGGAAACAGTACAACAGT ACCTATCGCGTCTGTGCTCAGTCTGACAGTGTGCATCAGGATTGGCTGAACGGGAAAGAGTATAAGTG CAAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCCGACCTATCGAGAAAACAATTTCCAAGGCAAAA
233	3057	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFPSCVMHEALHNNHYTKLSLSLSPG
234	3057	CH3	GGACAGCCTAGAGAACCAAGGCTGACGTGTATCCTCCATCAAGGGATGAGCTGACAAAAGAACAGGT CAGCCTGACTTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCCTCTGACATGTGTGGAGTGGGAAAGTAAAGGCC AGCCTGAGAAACAATTAAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCCGCGTGGTGGC AAGCTGACCGTGCACAAATCCCGGTGGCAGCGGGAAATGTGTTTGTGTTTCACTGATGACAGGAGC ACTGCACACCAATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCACCCAGG
235	1011	전체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRRAEDTAVYCSRWGGDFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLPAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHVFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNPKVDKVEPKSKDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH E DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTI S KAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFA LVSKLTVDKSRWQQGNVFPSCVMHEALHNNHYTKLSLSLSPGK
236	1011	전체	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGATTCAAATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGG AGTGGGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTCCGTGAAGGGGAGGTTT ACTATTAGCGCCGATA CATCCAAAAACATGCTTACCTGCAGATGACAGCCTCGAGCCGAGGATAC CGCTGTGTA TATTG CAGTGCATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGGGGACAGGGGA CCCTGPTGACAGTGA GCTCCGCTCTA CCAAGGGCCCAAGTGTGTTCCCTGGCTCCTCTAGTAAA TCCACCTCTGGAGGGA CAGCCGCTCTGGGATGCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGACCGT GAGTTGGA ACTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGACACTTTTCTGCTGTGCTGCACTCAAGCGGGC TGTA CTTCCCTGTCTGTGGT GACAGTGC CAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAAC GTGAATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATAAGCCCA CACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGA ACTGTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCTTAAGC CAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGACGTGTCTCAAGAG GACCCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAG

[0700]

			AGAGGAAACAGTACAACCTCCACTTATCGCGTGTGAGCGTGTGACCGTGTGCAACAGGACTGGCTGACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGTCCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAGGCCAGCCRAAGGGAGCCCCAGGTGTACGTGTATCCACCAGCAGAGACGAACTGACCAA GAACCAAGTGTCCCTGCATGTCTGGTGAAGGCTTCTATCTAGTGATATGTCTGGAGTGGGAAATCAAATGGACAGCCAGAAACAATTACAAGACCAACCTCCAGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTGTGTTCAGTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAA
237	1011	VH	EVQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCAASGPNIKDTYIHWRVQAPKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRLEDVAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQTLVTVSS
238	1011	VH	GAGGTGCAGCTGGTGAAGCGGAGGAGACTGCTGCAGCCAGGAGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGATCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTGCAGCAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTGGGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTCCGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCCCGATACATCCAAAAACACTGCTTACCTGCAGATGAACAGCCTCGAGCCGGAAGATACCGCTGTGTACTATTSCAGTCCGATGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGGGGACAGGGGACCTGTGACAGTGAAGCTCC
239	1011	H1	GFNIKDTY
240	1011	H1	GGATTCAACATCAAGGACACCTAC
241	1011	H3	SRWGGDGFYAMDY
242	1011	H3	AGTCGATGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTAT
243	1011	H2	IYPTNGYT
244	1011	H2	ATCTATCCCACTAATGGATACACC
245	1011	CH1	ASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVV
246	1011	CH1	GCCTCTACCAAGGGCCCCAGTGTGTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGACAGCCGCTCTGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCCTGTGACCGTGAGTGGAACTCAGGCGCCCTGCAAGCGGAGTGACACTTTTCTGCTGTGTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCTCTGTGTGTGACAGTCCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTG
247	1011	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI S KAK
248	1011	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCTTAAGCCAAAAGCACTCTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGGCTGGTGGTGGAGCTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGAAGTGCATAATGTCTAAGACAAAACCAAGAGGAGGACAGTACAACTCCACTTATCGCGTCTGAGCGTGTGACCGTGTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAATAAAGGCCCTGCTCCCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAA
249	1011	CH3	GQPREPQVYVYPVSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSPALVSKLTVDKSRWQQGNVFS C SVMHEALHNNHTQKSLSLSPG
250	1011	CH3	GGCCAGCAAGGAGCCCCAGGTGTACGTGTACCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACATGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCTAGTGATATGCTGTGGAGTGGAAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAAATTACAAGACCAACCTCCAGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTTCAGTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
251	4560	전체	EPKSSDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI S KAKGQPREPQVYVLPVSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTPVLDSDGSFPLYSKLTVDKSRWQQGNVFS C SVMHEALHNNHTQKSLSLSPGK
252	4560	전체	GAACCTAAAAGCAGCAGCAAGACCCACACATGCCCCCTTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGAGGACC AAGCGTGTTCCTGTTCCACCCAAGCCCAAAGATACACTGATGATCAGCGAACTCCCGAGGTCACTCGCTGTGTGGACGTGTCCACGAGGACCCGAAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAAGCGCTCGAA GTGCATAATGCAAGACTAAACACCGGAGGAAACAGTACAACCTACATATAGAGTCTGAGTGTCTGACTGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGAGTATAAGTGCAAGTGTCTAATAAGGCCCTGC

[0701]

			CTGCTCCAATCGAGAAAATATTAGTAAGGCAAAGGGCAGCCAGGGAACTCAGGTCTACGTGCTGCTCCCAAGTCGCGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTCTCACTGCTGTGCTCTGGTGAAAGGATTCTATCCTTCCGATATTGCGGTGGAGTGGGAATCTAATGGCCAGCCAGAGAACAAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACGCGATGGGTCTCTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTGGACAAAAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGCTTTAGCTGTTCCGCTGATGCACGAAGCCCTGCACAATCATTACCCCAAGTCTCTGAGTCTGTCACTGGCAAAA
253	4560	CH2	APELLGGPSVFLPFPKPKDLMISRTPEVTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREBQYNS TYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAK
254	4560	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGCCAAGCGTGTTCCTGTTCCACCACCAAGCCAAAGATACACTGATGATCAGCCGAACCTCCCGAGGTCACTGCGTGGTCTGGACGTGTCACCCAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGTGACGTGGACGGCGTGAAGTGCATAATGCAAAGACTAAACCACGGGAGGAACAGTACAACTCTACATATAGAGTGTGAGTGTCTGACTGTGCTGCATCAGGATTTGGCTGAACGGCAAAAGAGTATAAGTGCAGAAAGTGTCTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAGAAAATATTAGTAAGGCAAAA
255	4560	CH3	GQPREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNQQPENNYLTWPPVLDSDGSFFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
256	4560	CH3	GGCAGCCCAAGGAACTCAGGTCTACGTGCTGCCTCAAGTCGCGACGAGCTGACCAAGAACAGGTCTCACTGCTGTGCTGGTGAAGGATTCTATCTTCCGATATTGCGGTGGAGTGGGAATCTAATGGCCAGCCAGAGAACAAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGGTCTCTTTCTGTATTCA AAGCTGACAGTGGACAAAAGCAGATGGCAGCAGGAAAAGCTTTAGCTGTTCCGCTGATGCACGAAGCCTGCACAATCATTACACCAGAAGTCTGTGAGTCTGTCACTGGC
257	3317	전체	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQDVTIGVANYQQKPKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGGSGG TDFLTISSSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKEIKGGGSGGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQF GGSRLRLSCAASGFTPTDYTMDWVRQAPGKLEWVADVNPNGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQ MNSLRLEDTAVYCARNLGSPFYFDYWGQGLVTVSSAAEPKSKDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDLMISRTPEVTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREBQYNS TYRVVSVLTVLHQD WLNKGEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNQQPENNYKTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
258	3317	전체	GACATTCAGATGACCCAGAGCCCTAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTCGGGGACAGGGTGAATACACTG CAAGGCTTTCACAGGATGTAGCATTGGCGTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGCACCCAAAGC TGCTGATCTATAGCGCCTCCTACAGGTATA CAGGCGTGCATCCCGCTTCTCTGGCAGTGGGTCAAGGA ACTGACTTTACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCCGAAGATTTCCGACATACACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCCTATACTTTTGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGATTAAGGGCGGAGGAGGCTCCGGAG GAGGAGGGTCTGAGGAGGAGGAAGTGAAGTCCAGCTGCTGGAACTTGGAGGAGGACTGGTGACGCCA GGAGGCTCCCTGAGGCTGTCTTGTGCCGCTAGTGGCTTCACTTTACAGACTACACAATGGATGGGT GCGCCAGGCACCAAGGAAAGGACTGGAATGGGTGCTGATGTGAACCTAATAGCGGAGGCTCCATCT ACAACAGCGGTTCAAAGGACGGTTCAACCTGTCACTGAGTCCAGTCCAGGAGCAAGAACACCCCTGTATCTGCAG ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGATACTGCTGTGTAATTGCGCCAGGAATCTGGGCCCAAGCTTCTA CTTTGACTATTGGGGCAGGGAAACA CTGGTCACTGTGTCAAGCGCAGCCGAAACCAAACTCTGTATA AGACTCACACCTGCCACCTTGTCCAGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCA CCCAAGCCAAAAGACACTCTGATGATTTCTAGAACCCTGAAGTGAATGTGTGGTCTGGACGTGAG TCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCAAGGTGCATAATGCCAAGACCA AACCCGAGAGGAAACAGTACAACTCAACCTATCGGGTCTGTAGCGTCTGACAGTGTGCATCAGGAC TGGCTGAACGGCAAGGATATAAGTGCAAAAGTGAAGCAACAAGGCTCTGCCTGCACCAATCGAGAAAGC CMTTTCGAAGGCTAAAGGGCAGCCCCGGAACCTCAGGTCTACGTGTATCTCCAAGCCGAGATGAGC TGACAAAAAACAGGTCTCCCTGACTTGTCTGTGAAGGGATTTTACCCAAGTGAATCGCAGTGGAG TGGGAATCAAATGGCCAGCCGAAAAAATAATAAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAG TTTCCGACTGGTCTCCAAACTGACCGTGGACAAGTCTCGGTGGCAGCAGGAAAACGCTTTAGCTGTT CCGTGTGACGAGGCCCCGACAAATCATTACACAGAAATCTCTGAGTCTGTCACTGGCAAG
259	3317	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQDVTIGVANYQQKPKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGGSGG TDFLTISSSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKEIK
260	3317	VL	GACATTCAGATGACCCAGAGCCCTAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTCGGGGACAGGGTGAATACACTG CAAGGCTTTCACAGGATGTAGCATTGGCGTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGCACCCAAAGC TGCTGATCTATAGCGCCTCCTACAGGTATA CAGGCGTGCATCCCGCTTCTCTGGCAGTGGGTCAAGGA ACTGACTTTACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCCGAAGATTTCCGACATACACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCCTATACTTTTGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGATTAAGGGCGGAGGAGGCTCCGGAG GAGGAGGGTCTGAGGAGGAGGAAGTGAAGTCCAGCTGCTGGAACTTGGAGGAGGACTGGTGACGCCA GGAGGCTCCCTGAGGCTGTCTTGTGCCGCTAGTGGCTTCACTTTACAGACTACACAATGGATGGGT GCGCCAGGCACCAAGGAAAGGACTGGAATGGGTGCTGATGTGAACCTAATAGCGGAGGCTCCATCT ACAACAGCGGTTCAAAGGACGGTTCAACCTGTCACTGAGTCCAGTCCAGGAGCAAGAACACCCCTGTATCTGCAG ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGATACTGCTGTGTAATTGCGCCAGGAATCTGGGCCCAAGCTTCTA CTTTGACTATTGGGGCAGGGAAACA CTGGTCACTGTGTCAAGCGCAGCCGAAACCAAACTCTGTATA AGACTCACACCTGCCACCTTGTCCAGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCA CCCAAGCCAAAAGACACTCTGATGATTTCTAGAACCCTGAAGTGAATGTGTGGTCTGGACGTGAG TCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCAAGGTGCATAATGCCAAGACCA AACCCGAGAGGAAACAGTACAACTCAACCTATCGGGTCTGTAGCGTCTGACAGTGTGCATCAGGAC TGGCTGAACGGCAAGGATATAAGTGCAAAAGTGAAGCAACAAGGCTCTGCCTGCACCAATCGAGAAAGC CMTTTCGAAGGCTAAAGGGCAGCCCCGGAACCTCAGGTCTACGTGTATCTCCAAGCCGAGATGAGC TGACAAAAAACAGGTCTCCCTGACTTGTCTGTGAAGGGATTTTACCCAAGTGAATCGCAGTGGAG TGGGAATCAAATGGCCAGCCGAAAAAATAATAAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAG TTTCCGACTGGTCTCCAAACTGACCGTGGACAAGTCTCGGTGGCAGCAGGAAAACGCTTTAGCTGTT CCGTGTGACGAGGCCCCGACAAATCATTACACAGAAATCTCTGAGTCTGTCACTGGCAAG

[0702]

			TGCTGATCTATAGCCCTCCTACAGGTATACAGGCGTGCCATCCCGCTTCTCTGGCAGTGGGTCAGGA ACTGACTTTACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCGAAAGATTTCGCCACATACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCCTATACTTTTGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGATTAAG
261	3317	L1	QDVSIG
262	3317	L1	CAGGATGTCAGCATTGGC
263	3317	L3	QQYIYPYT
264	3317	L3	CAGCAGTACTATATCTACCCCTATACT
265	3317	L2	SAS
266	3317	L2	AGCGCCTCC
267	3317	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWRQAPGKLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRF TLSVDRSKNTLYLQMNSLRaedTAVYVCARNLGPFYFDYWGQQLVTVSS
268	3317	VH	GAGGTCAGCTGGTGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGTCCTGAGGCTGTCTTGTGC CGCTAGTGGCTTACCTTTACAGACTACCAATGGATTGGGTGCGCCAGGCACCAGGAAAGGGACTGG AATGGGTGCGTGTGTAACCTTAATAGCGAGGCTCCATCTACAACCAGCGGTTCAAAGGACGGTTTC ACCCTGTCACTGAGCCGGAGCAAGAACAACCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGATAC TGCTGTGTACTATTGCGCCAGGAATCTGGGCCAAGCTTCTACTTTGACTATTGGGGCAGGGAACAC TGGTCACTGTGTCAAGC
269	3317	H1	GFTFTDYT
270	3317	H1	GGCTTACCTTTACAGACTACACA
271	3317	H3	ARNLGPSPYFDY
272	3317	H3	GCCAGGAATCTGGGCCAAGCTTCTACTTTGACTAT
273	3317	H2	VNPNSGGSS
274	3317	H2	GTGAACCTTAATAGCGGAGGCTCC
275	3317	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAK
276	3317	CH2	GTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTCTCTGTTTCCACCAGCCAAAAGACTCTGATGAT TTCTAGAACCCCTGAAGTGACATGTGTGGTCTGGACGTCAGTCAAGGACCCCGAAGTCAAATTCA ACTGGTACGTGGATGGCTCGAGGTGCATAATGCCAGACCAAACCCGAGAGGAACAGTACAACCTCA ACCTATCGGGTCTGAGCGCTCCTGACAGTGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGATATAAGTG CAAAGTGAGCAACAAGGCTCTGCTGCACCAATCGAAGAAGCAATTTCCAAGGCTAAA
277	3317	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSAFVLS KLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
278	3317	CH3	GGGCGCCCGGAACCTCAGGTCTACGTGTATCCTCCAAGCCGAGATGAGCTGACAAAAAACAGGT CTCCCTGACTTGTCTGGTGAAGGGATTTTACCAAGTGACATCGCAGTGGAGTGGGAATCAAATGGCC AGCCCGAAAAACAATTATAAGACCACCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAGTTTCGCACTGGTCTCC AAACTGACCGTGGACAAGTCTCGGTGGCAGCAGGAAACGTCCTTAGCTGTTCCGTGATGCAACAGGC CCTGCACAATCATTACACACAGAAATCTCTGAGTCTGTACCTGGC
279	1015	전체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRaedTAVYVCSRWGGDFYAMDYWGQQLVTVSSASTKGPSVFLPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAGQPREPQVYVLPSSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFP LYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
280	1015	전체	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGATTCACATCAAGGACACCTACATTCACCTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGG AGTGGGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGATACACCCGGTATGCCGACTCCCGTGAAGGGGAGGTTT ACTATTAGCCCGGATACATCAAAAACTGCTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAAGATAC CGCTGTGTACTATTGCGCTGATGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGGGGACAGGGGA CCCTGGTGCAGTGTGCTCCGCTCTACCAAGGGCCCGAGTGTGTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAA

[0703]

			TCCACCTCTGGAGGGACAGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGACCGT GAGTTGGAACCTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGCACACTTTTCTGCTGTGCTGAGTCAAGCGGGC TGTACTCCCTGTCTCTGTGGTGACAGTGCACAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAAC GTGAATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGACAAGAAAGTGAGCCCAAGAGCTGTGATAAGACCCA CACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTCTCTGTTTCCCCCTAAGC CAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGACTCCCGAGGTGACCTGCTGGTGGAGTGTCTCACAGAG GACCCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAG AGAGGAACAGTACAACCTCCACTTATCGCGTCTGAGCGTGTGACCGTGTGCACACAGGACTGGCTGA ACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAATTAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCT AAGGCCAAAGGCCAGCAAGGGAGCCCGAGTGTACGTGTGTCACCCAGCAGAGAGCAAACTGACCAA GAACCAAGTGTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGCTTCTATCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAAT CAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCTCAGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTC CTGTATTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTCAAGTAT GCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAA
281	1015	VH	EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPFQKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSS
282	1015	VH	GAGGTGACAGTGGTGAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGATCTCTCGACTGAGTTGCGC GCCTTCAGGATTCACATCAAGGACACCTACATTCACCTGGGTGCACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGG AGTGGGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGATGCGGACTCCGTGAAGGGGAGGTTT ACTATTAGCGCGGATACATCAAAAACTGCTTACCTGCAGATGAACAGCCCTCGAGCCGAGGATAC CGCTGTACTATTGCAAGTGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGGGGACAGGGGA CCCTGGTGACAGTGAAGCTCC
283	1015	H1	GFNIKDTY
284	1015	H1	GGATTCACATCAAGGACACCTAC
285	1015	H3	SRWGGDGFYAMDY
286	1015	H3	AGTCGATGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTAT
287	1015	H2	IYPTNGYT
288	1015	H2	ATCTATCCCACTAATGGATACAC
289	1015	CH1	ASTKQPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGQTQTYICNVNHKPSNTKVDKVV
290	1015	CH1	GCCTCTACCAAGGGCCCCAGTGTGTTTCCCTGGCTCCTCTAGTAAATCCACTCTGGAGGGGACGC CGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGACCGTGAAGTGGAACTCAGGCGCCC TGACAAGCGGAGTGCACACTTTTCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGCTCTGTG GTGACAGTGCCAAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCATAAGCCCTCAA TACAAAAGTGGACAGAAGATG
291	1015	CH2	APELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAK
292	1015	CH2	GCTCCAGAAGTCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGAT TTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCGAAAGTGAAGTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGAACAGTACAACCTCC ACTTATCGCGTCTGAGCGTGTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTG CAAAGTCAGTAATAAGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTTAAGGCCAAA
293	1015	CH3	GQPREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVPSCSVMHEALHNYTKLSLSLSPG
294	1015	CH3	GGCCAGCCAAAGGGAGCCCGAGGTGACGTGCTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACAGGT GTCCCTGCTGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCAGAGAACAAATACCTGACCTGCCCTCCAGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCCTGTATTCC AAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTCAAGTATGATGAAGC CCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
295	5244	전체	DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQDVTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASFYSGVPSRFRSGSRSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQHYHTPPFPGQTKVEIKGGSGGSGGGGGGGGGGSEVQLVESGG

[0704]

			GLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRPTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMIKSRTEPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREBEQYINSTRYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLKCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSPFLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMHEALHNNHYTKLSLSLSPG
296	5244	전체	GACATTGAGATGACACAGAGCCCCAGCTCCCTGAGTGCTTCAGTCGGCGACAGGGTGACTATCACCTGCGCGCATCCCAGGATGTCAACACCGCTGTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCTGGAAAAGCCCCAAGCTGCTGATCTACAGCGCTTCCTTCCTGTATTCTGGCGTGCCAAAGTCGGTTTTCTGGAAGTAGATCAGGCACACTGACTTCACTGACTATCTCTAGTCTGCGAGCCGGAAGATTTTGCCACCTACTATTGCCAGCAGCATATACACACCCCCCTACATTCCGACAGGGCACTAAAGTGGAGATTAAGGCGGGTCAGGCGGAGGGAACCGGAGGGGTCCCGAGGAGGGTCTGGAAGGAGGGAGTGAGAGGCTCCAGCTGGTGGAACTCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCCTCACTGCGACTGAGCTGTGCCGCTCCCGCTTTAACATCAAAGACACATACATTCAATTTGGGTGAGGACAGGCAAGGGAAGGACTGGAATGGGTGGCCCGCATCTATCCACAAATGGGTACACTCGATATGCCGACAGCGTGAAGGAGCGGTTTACCATTTCTGCTGATACCAAGTAAGAACACAGCATACCTCGCAGATGAACAGCCTGCGCGCAGAGGATACAGCCGCTGACTATTGCGAGTCGATGGGGGGAGACGCGCTTCTGACCCATGGATTATTGGGGCCAGGGGACTCTGGTCCCGTGTCAAGCCAGCCGAAACCTAAATTCCTTGACAAGACCCACACATGCCACCTGTCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTTCTCTGTTCTCCAAAGCCTAAAGATACACTGATGATAGCCGCACTCCCGAAGTCACTGTTGTTGGTGGAGCGTGTCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCAAGAGAGGAAACAGTACAATTCAACCTATAGGGTCTGAGCGTCTGACAGTCTGCATCAGGATTTGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTCAAAAGTCTCAACAAGGCCCTGCCCGCTCTATCGAGAAAGACTATTAGCAAGGCAAAAGGGCAGCCACGGGAACCCAGGTTACGCTGCTGCCCTAGCAGAGCGAGCTGACCAAAAACAGGTCTCCCTGCTGTGCTGGTGAAGGGCTTTTATCCTAGTGATATCGCTGTGGAGTGGAAATCAAATGGGCAAGCAAAAACAATTACCTGACATGGCCACCCGTCCTGGACAGCGATGGTCTCTTCTGATTCCAAACTGACTGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGAACGCTCTTACGCTGTCCGATGACAGAGGCCCTGCACAATCATTACCCAGAAGTCTCTGAGTCTGTCAACCCGGC
297	5244	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVITICTRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASFVLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
298	5244	VL	GACATTGAGATGACACAGAGCCCCAGCTCCCTGAGTGCTTCAGTCGGCGACAGGGTGACTATCACCTGCGCGCATCCCAGGATGTCAACACCGCTGTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCTGGAAAAGCCCCAAGCTGCTGATCTACAGCGCTTCCTTCCTGTATTCTGGCGTGCCAAAGTCGGTTTTCTGGAAGTAGATCAGGCACACTGACTTCACTGACTATCTCTAGTCTGCGAGCCGGAAGATTTTGCCACCTACTATTGCCAGCAGCATATACCAACACCCCTACATTCCGACAGGGCACTAAAGTGGAGATTAAG
299	5244	L1	QDVNTA
300	5244	L1	CAGGATGTCAACCCGCT
301	5244	L3	QQHYTTPPT
302	5244	L3	CAGCAGCACTATACCACACCCCTACA
303	5244	L2	SAS
304	5244	L2	AGCGCTTCC
305	5244	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRPTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSS
306	5244	VH	GAGGTCCAGCTGGTGGAACTCGGAGGAGGACTGGTCCAGCCTGGAGGCTCACTGCGACTGAGCTGTGCGCTTCCGGCTTTAACATCAAAGACACATACATTCAATTTGGGTGAGGCAAGGCAAGGGAAGGACTGGAAATGGGTGGCCCGCATCTATCCACAAATGGGTACACTCGATATGCCGACAGCGTGAAGGACGGTTTTACCATTTCTGCTGATACCAAGTAAGAACACAGCATACTGCGAGATGAACAGCCTGCGCGCAGAGGATACAGCCGTGACTATTGCGAGTCGATGGGGGGAGACGGCTTCTACGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGGACTCTGGTCAACCGTGTCAAGC
307	5244	H1	GFNIKDTY
308	5244	H1	GGCTTTAACATCAAAGACACATAC

[0705]

309	5244	H3	SRWGGDGFYAMDY
310	5244	H3	AGTCGATGGGGGGAGACGGCTTCTACGCCATGGATTAT
311	5244	H2	IYPTNGYT
312	5244	H2	ATCTATCCCACAAATGGGTACACT
313	5244	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREBQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAK
314	5244	CH2	GCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCTCTGTTTCTCCAAAGCCTAAAGATACACTGATGAT TAGCCGCACTCCCAGAGTCACTGTGTGGTCTGTGGACGTGTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCAAGAGAGGAAACAGTACAATTCA ACCTATAGGGTCTGAGCGTCTGACAGTGTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTG CAAAGTGTCTAACAGGCCCTGCCCGCTCCTATCGAGAAGACTATTAGCAAGGCAAAA
315	5244	CH3	GQPREPQVYVLPISRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSPFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
316	5244	CH3	GGGCAGCCACGGGAACCCAGGTCTACGTGCTGCCCCCTAGCAGAGACGAGCTGACCAAAAACAGGT CTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGCTTTTATCTAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGGC AGCCAGAAAACAATTACCTGACATGGCCACCCGTGTGGACAGCGATGGGTCTTCTTTCTGTATTCC AACTGACTGTGGACAAGTCTAGATGCCAGCAGGGAACGTTCTCAGCTGTTCCGTGATGACGAGGC CCTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCTCTGAGTCTGTACCCCGC
317	-2	전체	DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQDVNTAVAWYQQKPKGAPKLLIYSASFLYSGVPSRFRSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVPFIPPSDBQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
318	-2	전체	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAACATCACTTG CCGGGCAAGTCAGGACGTTAACACCCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAAACAGGGAAAAGCCCTAAGC TCCTGATCTATTCTGCATCCTTTTGTACAGTGGGTCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGCATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACTGAAGATTTTGAACCTTACTACTGTCAACAGCA TTACACTACCCCAACCACTTTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAAACGAACTGTGGCTGCACCAT CTGTCTTCACTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTGTGTGCCTGCTG AATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTC CCAAGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA GCAAAAGCAGACTACGAGAAAACAAGTCTACGCTCGAAGTCAACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCC GTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
319	-2	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQDVNTAVAWYQQKPKGAPKLLIYSASFLYSGVPSRFRSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
320	-2	VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAACATCACTTG CCGGGCAAGTCAGGACGTTAACACCCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAAACAGGGAAAAGCCCTAAGC TCCTGATCTATTCTGCATCCTTTTGTACAGTGGGTCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGCATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACTGAAGATTTTGAACCTTACTACTGTCAACAGCA TTACACTACCCCAACCACTTTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAA
321	-2	L1	QDVNTA
322	-2	L1	CAGGACGTTAACACCCGCT
323	-2	L3	QQHYTTPPT
324	-2	L3	CAACAGCATTACACTACCCCAACCACT
325	-2	L2	SAS
326	-2	L2	TCTGCATCC
327	-2	CL	RTVAAPSVPFIPPSDBQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL SSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
328	-2	CL	CGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCACTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGC CTCTGTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACG CCCTCCAATCGGGTAACTCCCAAGAGAGTGTCAAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTC

[0706]

			AGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAAACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
329	4372	전체	EPKSSDKTHTCPFCPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREBEQYNSYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYVYL PPSRDELTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSPFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
330	4372	전체	GAACCTAAATCCAGCGACAAGACCCACACATGCCCCCTTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACC AAGCGTGTCTCTTCCACCCAAAGCCAAAGATACACTGATGATCAGCCGAACCTCCCGAGGTCACT GCGTGGTCTGTGGAGTGTCCACAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAA GTGCATAATGCAAAGACTAAACCACGGGAGGAAACAGTACAACCTACATATAGAGTCTGTGAGTGTCT GACTGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAAACGGCAAAGATATAAGTGCAGAAAGTGTCTAATAAGCCCTGC CTGCTCCAATCGAGAAAACTATTAGTAAGGCAAAGGGCAGCCAGGGAACTCAGGTCTACGTGCTG CCTCCAAGTCGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTCTCACTGCTGTGCTGTTGAAAGGATTCTATCC TTCCGATATTGCGGTGGAGTGGGAATCTAATGGCCAGCCAGAGAACAAATACCTGACCTGGCCCTCG TGCTGGACAGCGATGGGTCTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTGGACAAAAGCAGATGGCAGCAG GGAAACGCTTTAGCTGTTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCACAATCATTACACCAGAACTCTCTGAG TCTGTCACTGGC
331	4372	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREBEQYNS TYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAK
332	4372	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTCTCTGTTCCACCCAGCCCAAAGATACACTGATGAT CAGCCGAACCTCCCGAGGTCACTGCGTGTCTGTGGACGTGTCACCGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTCCGAAGTGCATAATGCAAAGACTAAACCACGGGAGGAAACAGTACAACCT ACATATAGAGTCTGTGAGTGTCTGACTGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAAACGGCAAAGATATAAGTG CAAAGTGTCTAATAAGGCCCTGCTGCTCCAATCGAGAAAACTATTAGTAAGGCAAAA
333	4372	CH3	GQPREPQVYVYLPPSRDELTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSPFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
334	4372	CH3	GGGCGACCCAGGAACTCAGGTCTACGTGTGCTCCAAAGTCGCGACGAGCTGACCAAGAACCAGGT CTCACTGCTGTGTCTGGTGAAGGATTCTATCCTTCCGATATTGCGGTGGAGTGGGAATCTAATGGCC AGCCAGAGAACAAATACCTGACCTGGCCCTGTGCTGGACGCGATGGGTCTTCTTTCTGTATTCA AAGCTGACAGTGGACAAAAGCAGATGGCAGCAGGAAACGCTTTAGCTGTTCCGTGATGCACGAAGC CCTGCACAATCATTACACCCAGAACTCTCAGTCTGTCACTGGC

[0707]

서열번호	퍼투주맵 <i>WT CDR</i>	서열
335	CDR-H2	VNPNSGGS
336	CDR-H3	ARNLGPSFYFDY
337	CDR-H1	GFTFTDYT
338	CDR-L2	SAS
339	CDR-L3	QYYIYPYT
340	CDR-L1	QDVSIG

[0708]

서열번호	트라스투주맵 <i>WT CDR</i>	서열
341	CDR-H2	IYPTNGYT
342	CDR-H3	SRWGGDGFYAMDY
343	CDR-H1	GFNIKDTY
344	CDR-L2	SAS
345	CDR-L3	QQHYTTPPT
346	CDR-L1	QDVNTA

퍼투주맵 변이체 : CDR-L3: QQYYIYPAT

클론 3382, 변이체 10000 (서열번호 347)

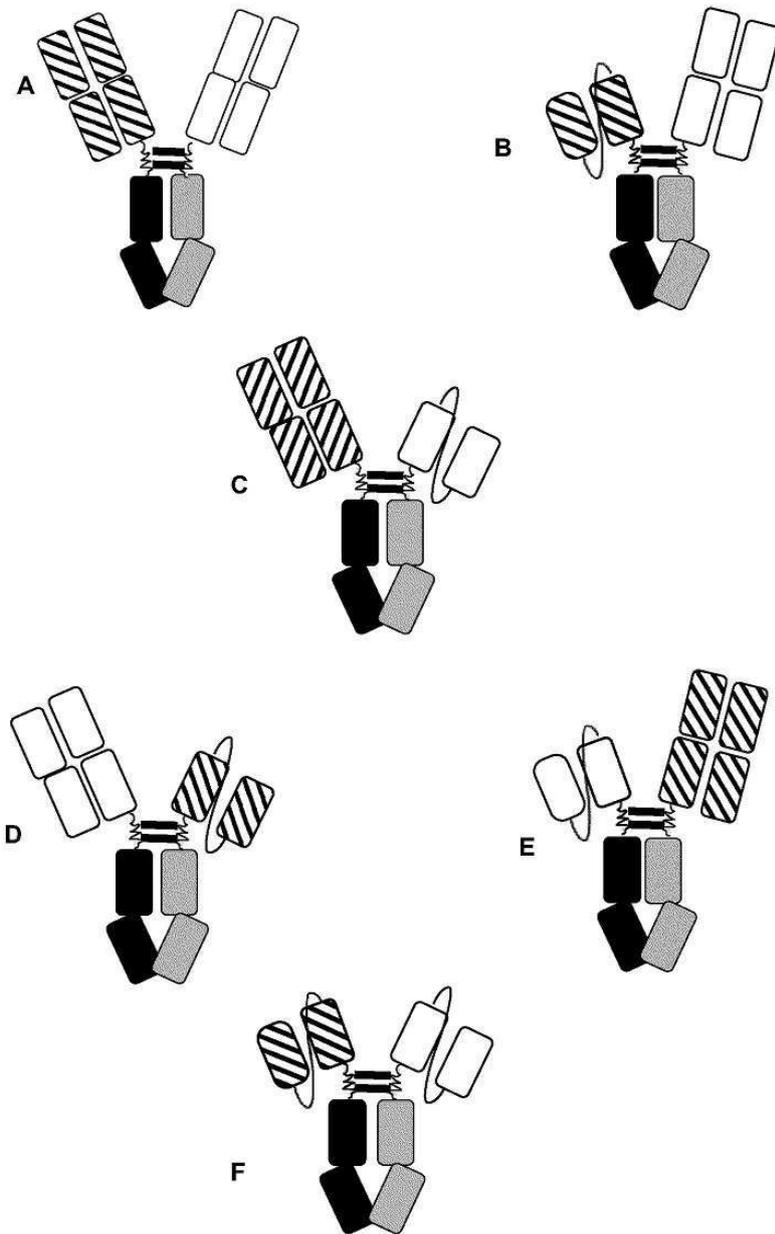
퍼투주맵 변이체 CDR-H1: GFTFADYT

클론 6586, 변이체 10000 (서열번호 348)

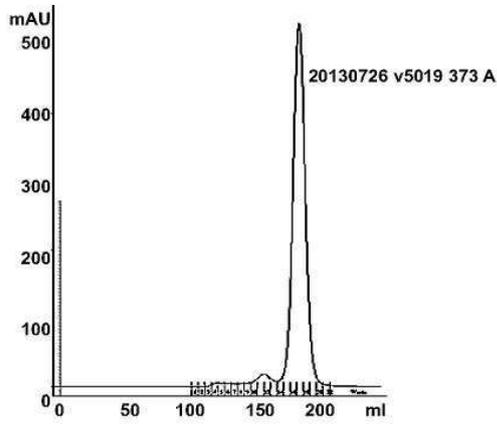
[0709]

도면

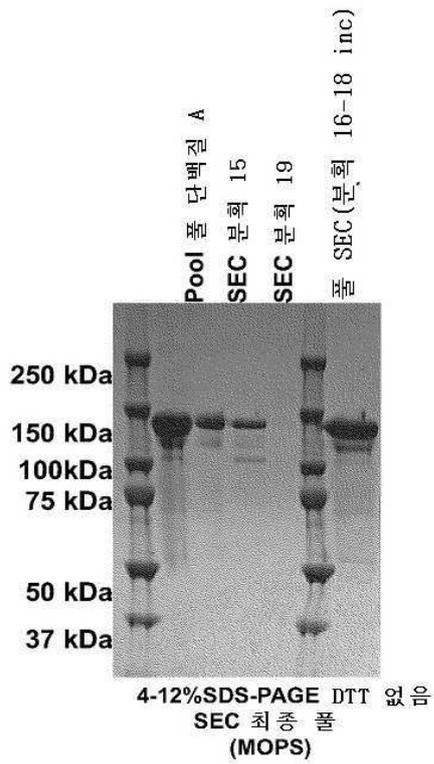
도면1



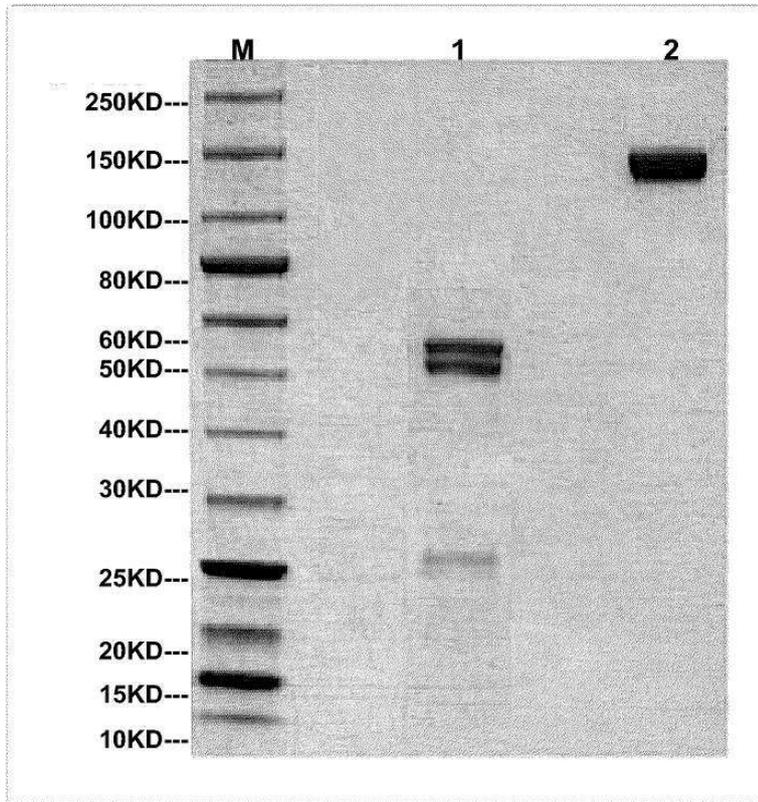
도면2a



도면2b

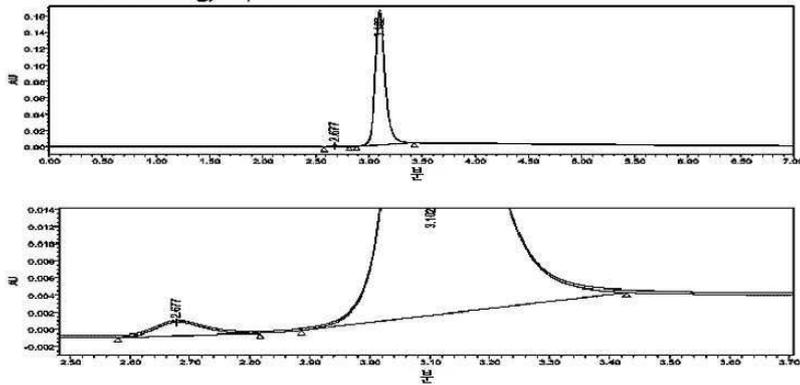


도면2c



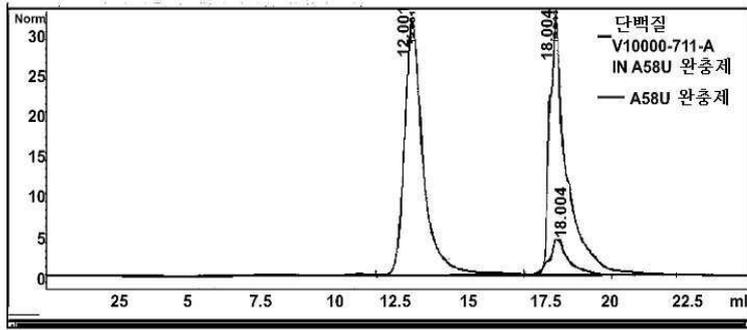
도면3a

V5019-313A 0.5mg/ml, 2x10ul 주사 중분



v5019-313A	추정 MW	log MW	체류 시간	피크 면적%
피크 1	300902	5.478426	2.677	0.83
	298938	5.475581	2.680	0.82
피크 2	118957	5.075391	3.102	99.17
	118957	5.075391	3.102	99.18

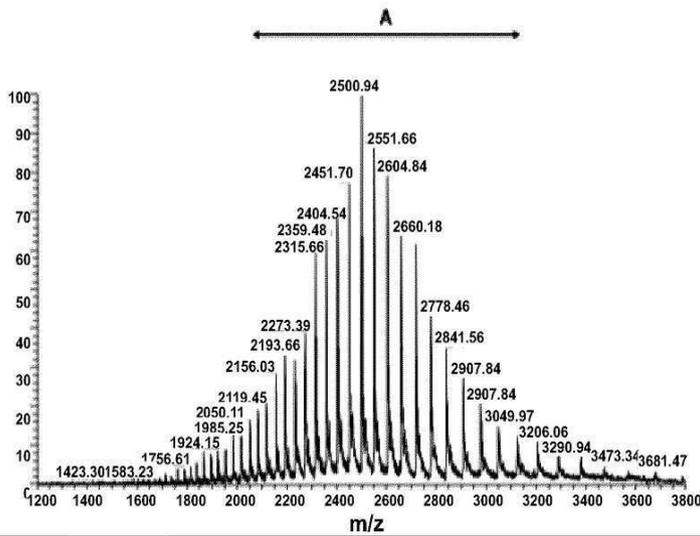
도면3b



피크 #	RT (분)	유형	높이	면적	면적%
1	8.022	MF R	0.183	22.103	1.508
2	11.059	MF R	0.179	9.708	0.662
3	12.961	MF R	30.701	1416.498	96.619
4	15.419	FM R	0.299	17.759	1.211

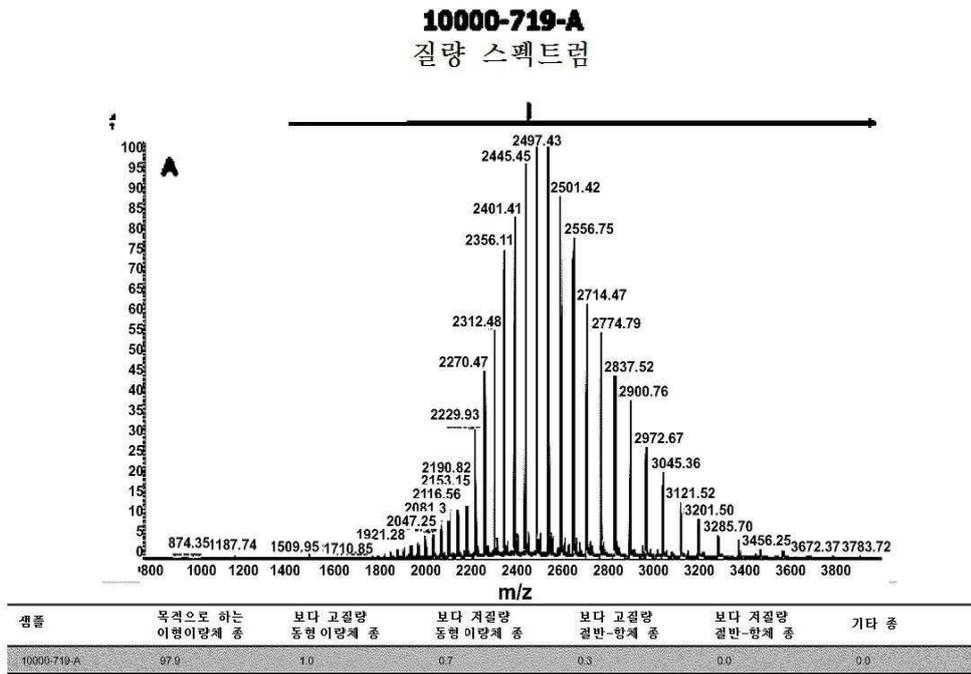
도면4a

5019-313-A
질량 스펙트럼

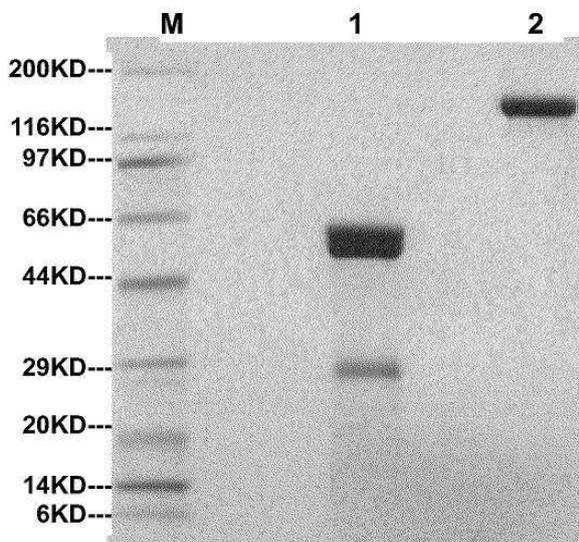


샘플	목적으로 하는 이형이량체 종	보다 고질량 동형 이량체 종	보다 저질량 동형 이량체 종	보다 고질량 결반-량체 종	보다 저질량 결반-량체 종	기타 종
5019-313-A	100	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

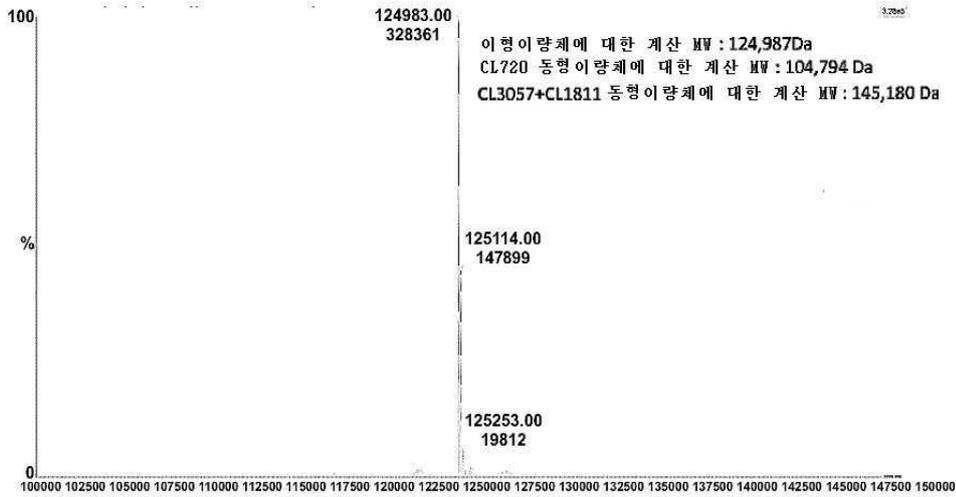
도면4b



도면5a



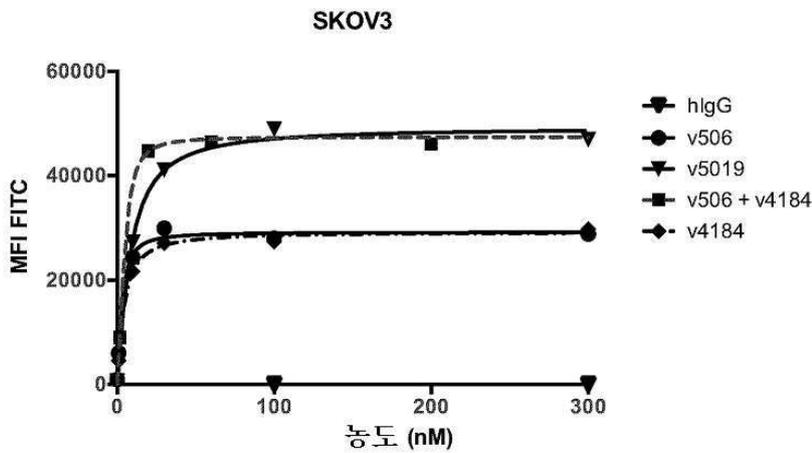
도면5b



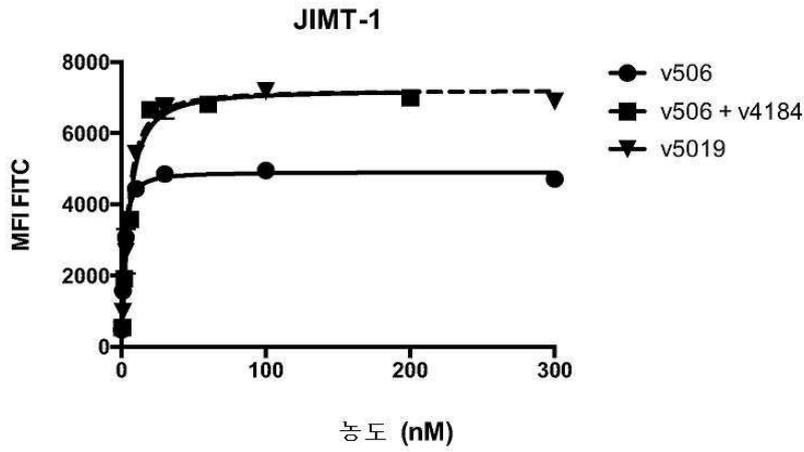
	정량화한 모두의 펩톤용로서의 각각의 종의 양				
	이형이량체	CH-A 동형이량체	CH-B 동형이량체	CH-B 단량체	CH-A 결반-항체
v5019	99.4	0.3	0.1	0	0.2

*: 라이신 및 0-글리칸측 피크는 이 계산에 포함하지 않았음

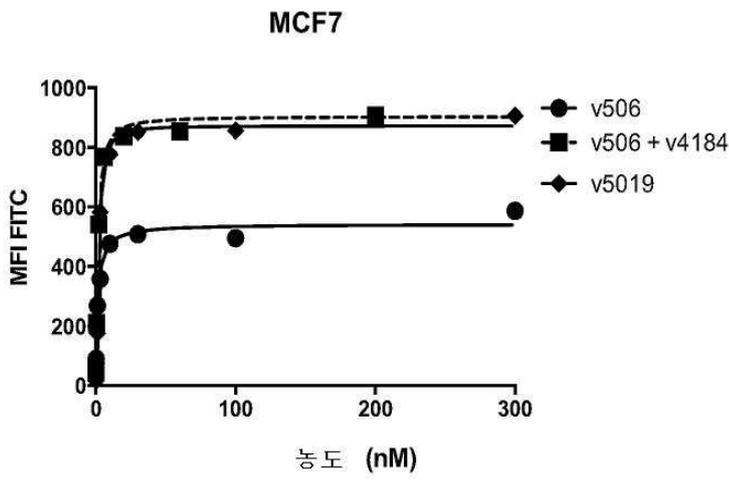
도면6a



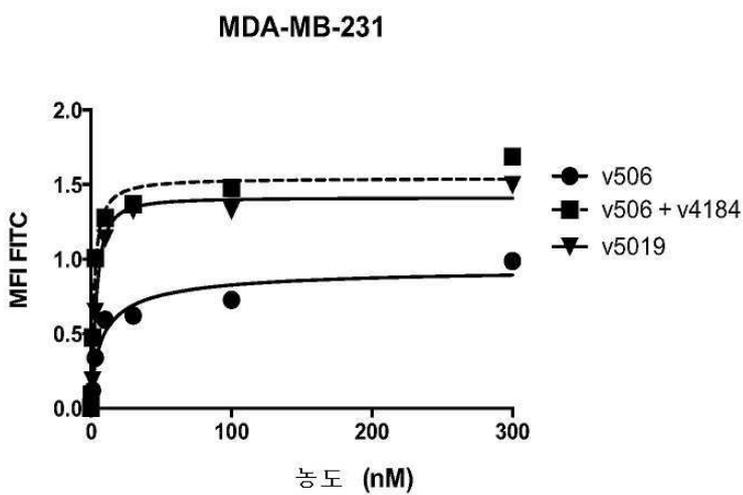
도면6b



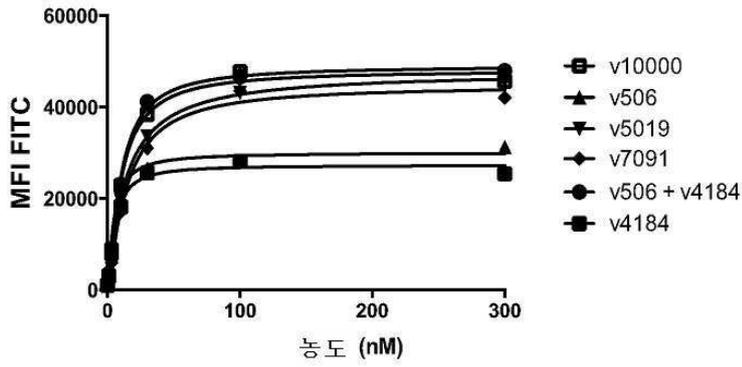
도면6c



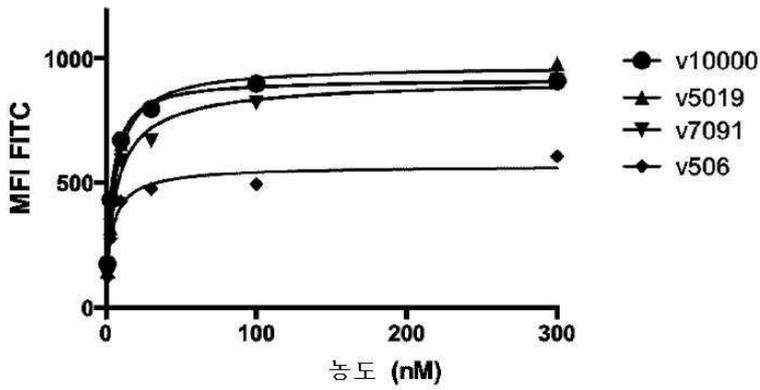
도면6d



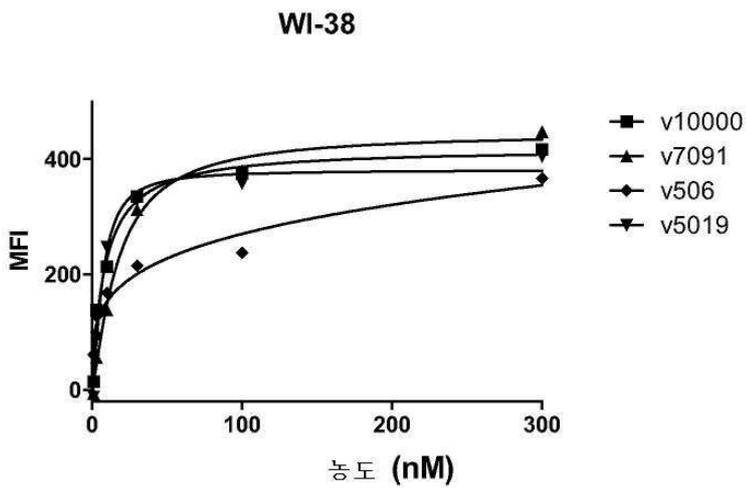
도면6e



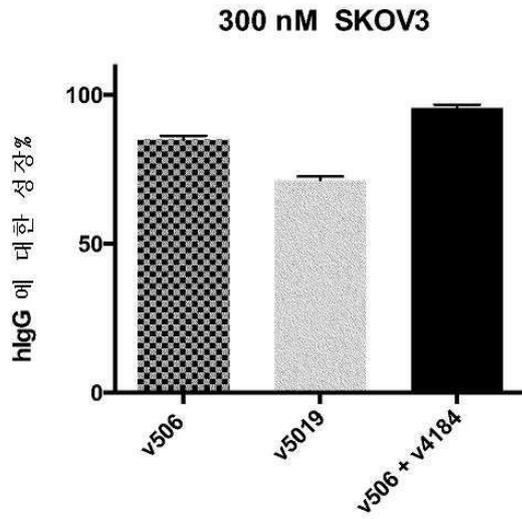
도면6f



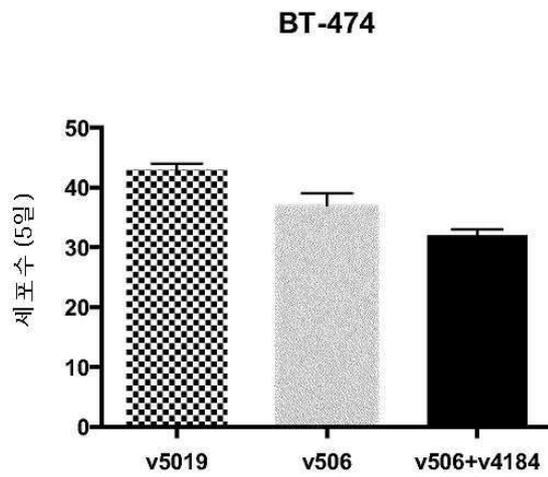
도면6g



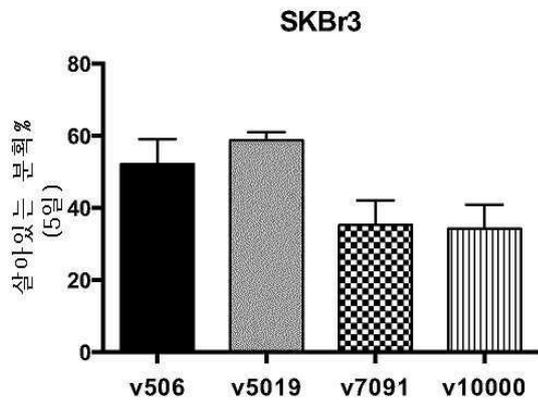
도면7a



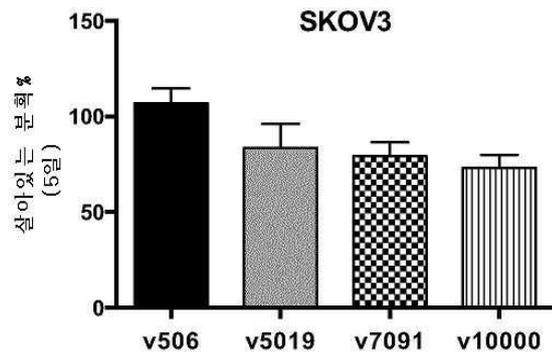
도면7b



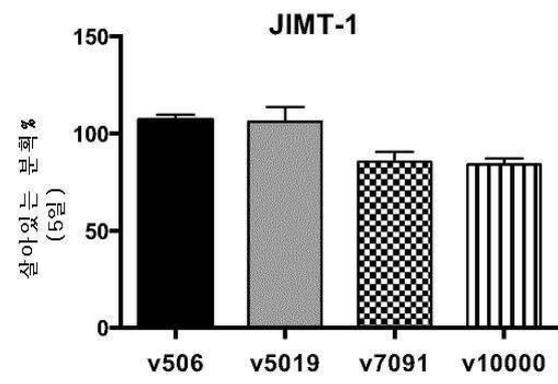
도면7c



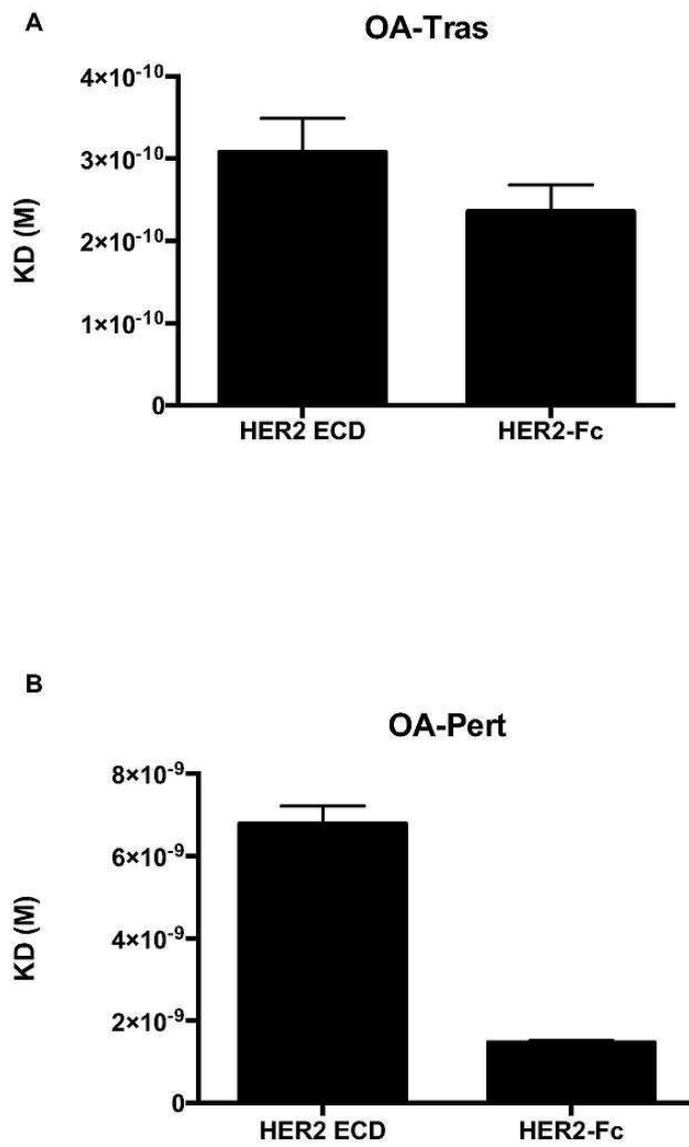
도면7d



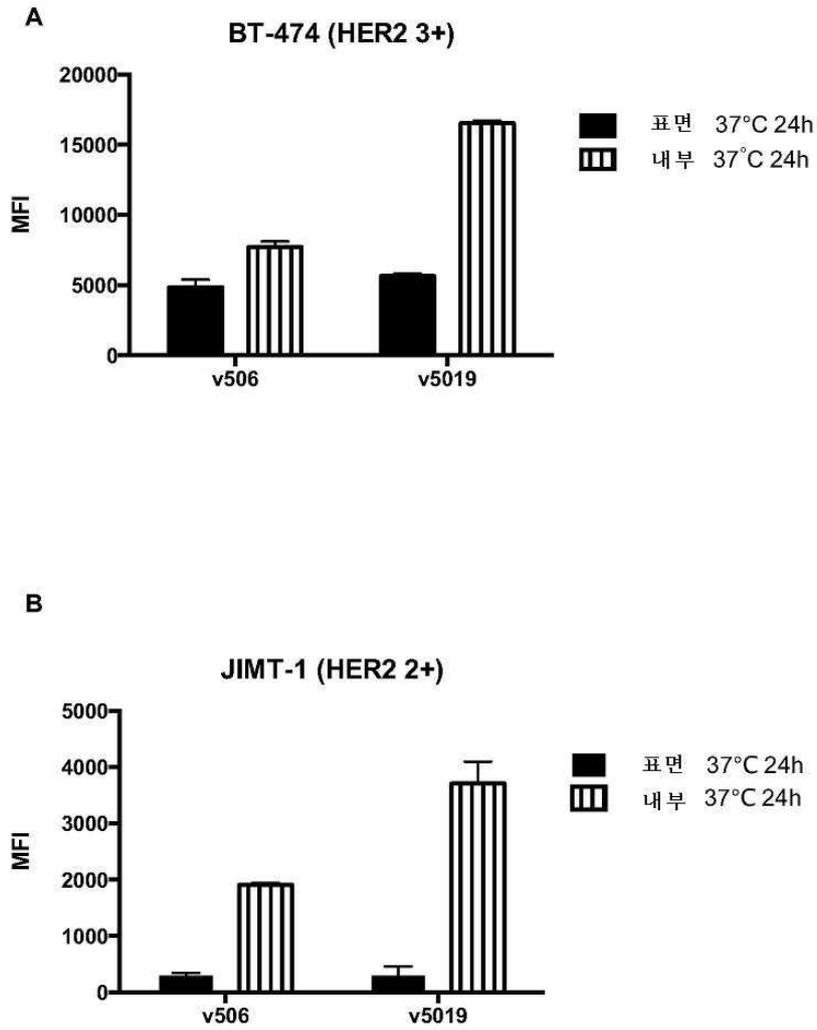
도면7e



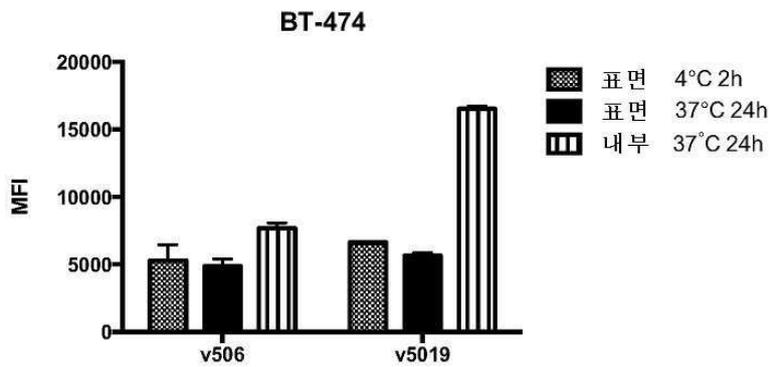
도면8



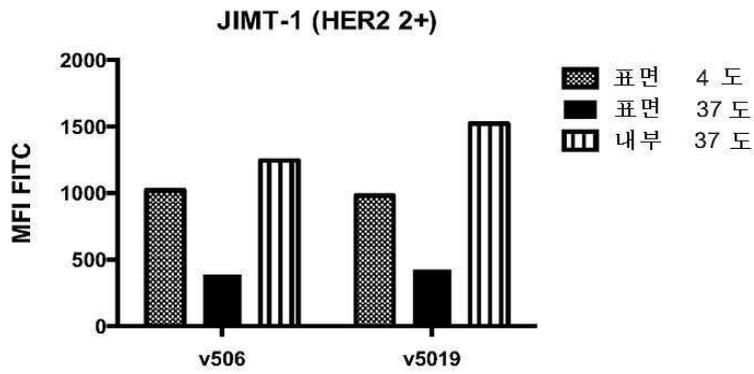
도면9



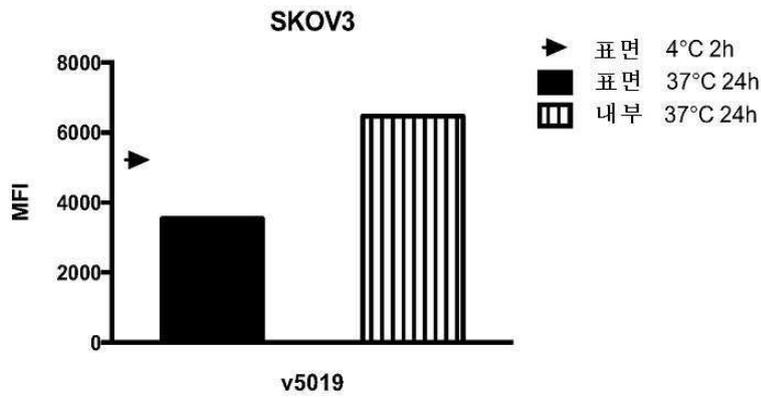
도면10a



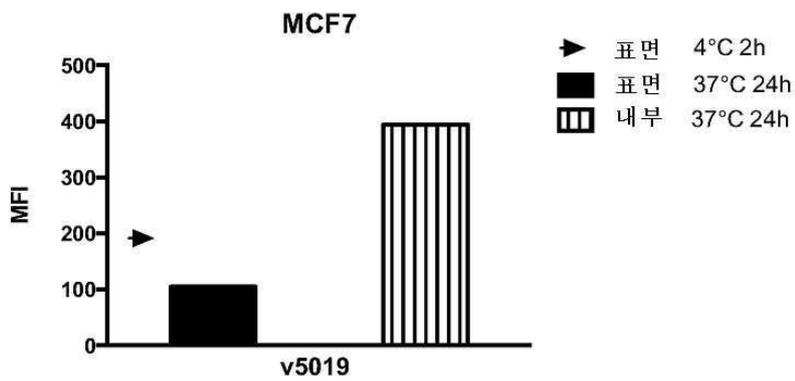
도면10b



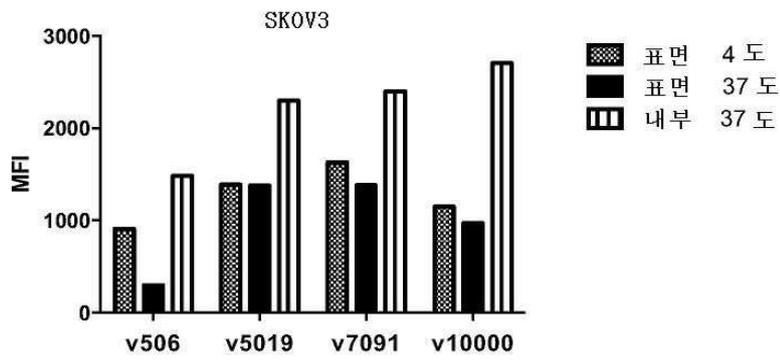
도면10c



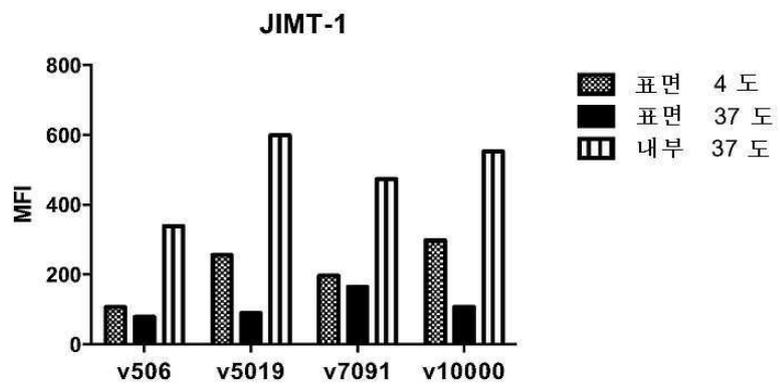
도면10d



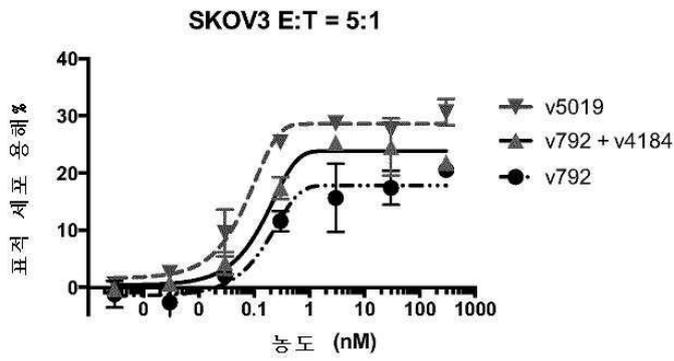
도면10e



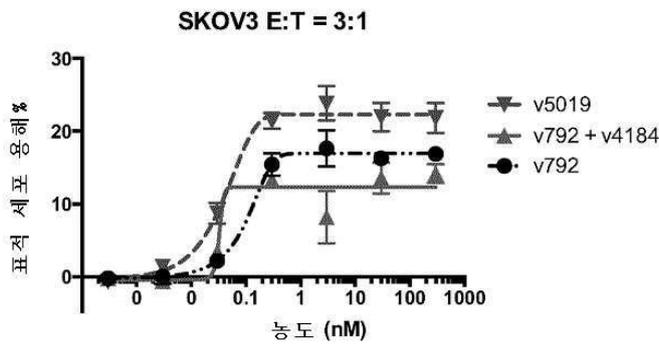
도면10f



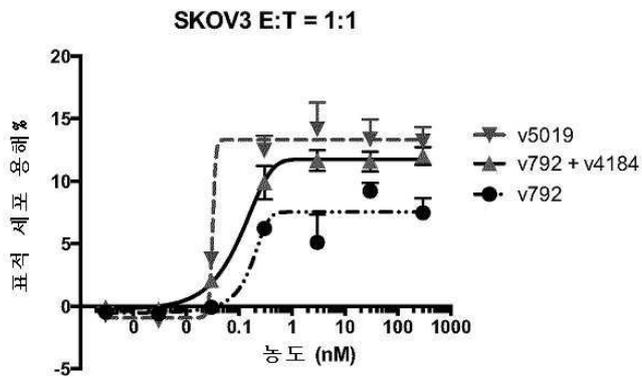
도면11



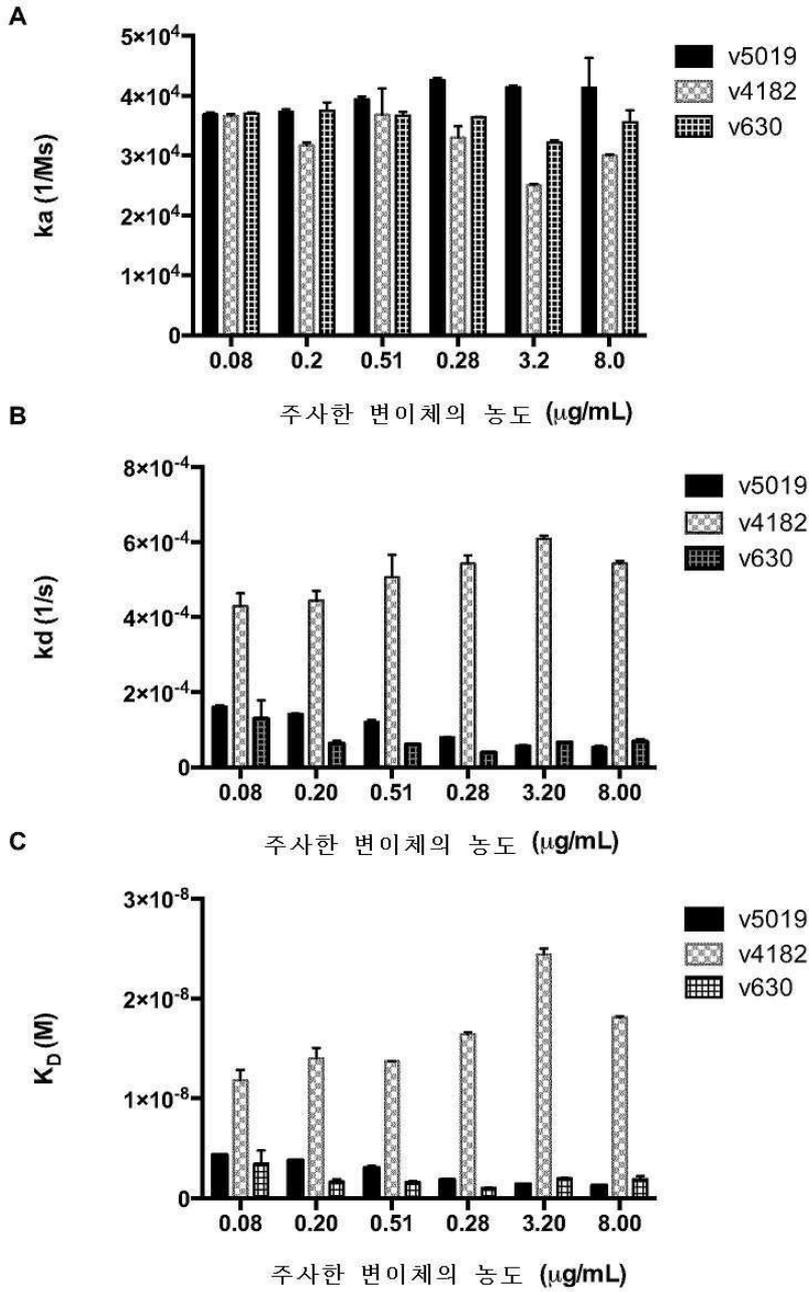
B



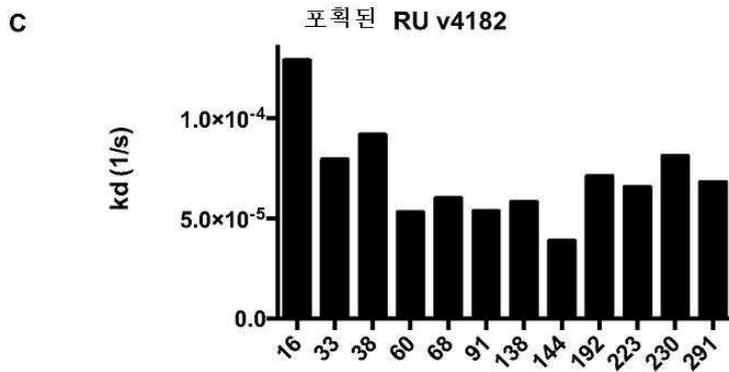
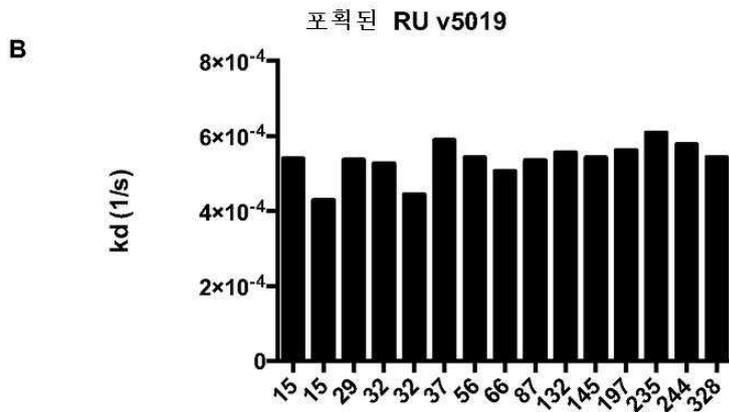
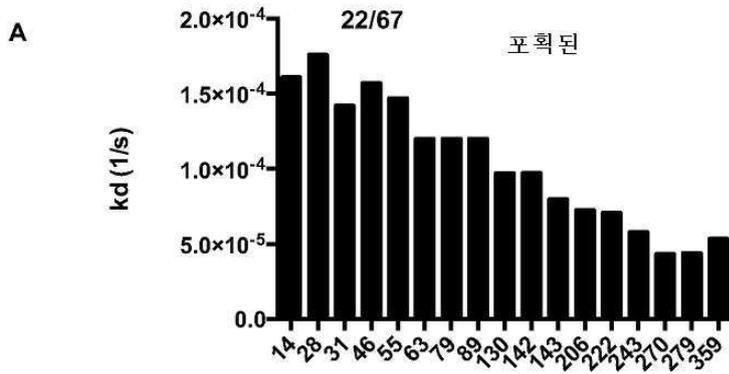
C



도면12

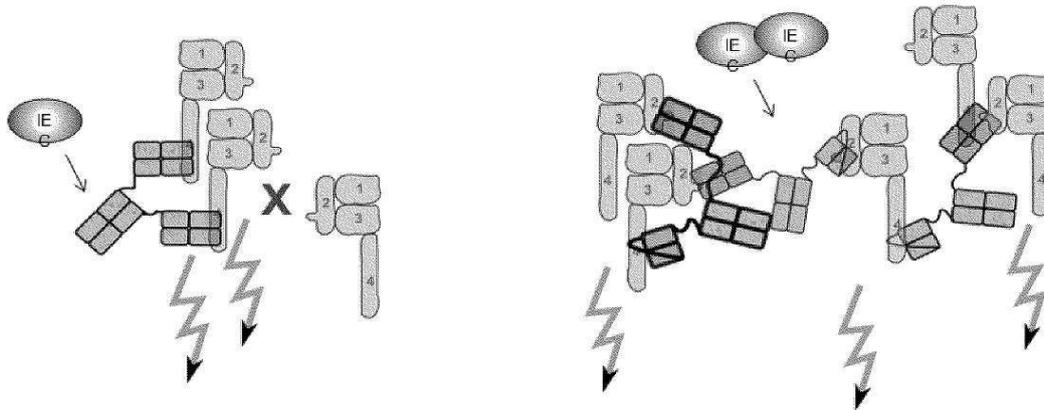


도면13



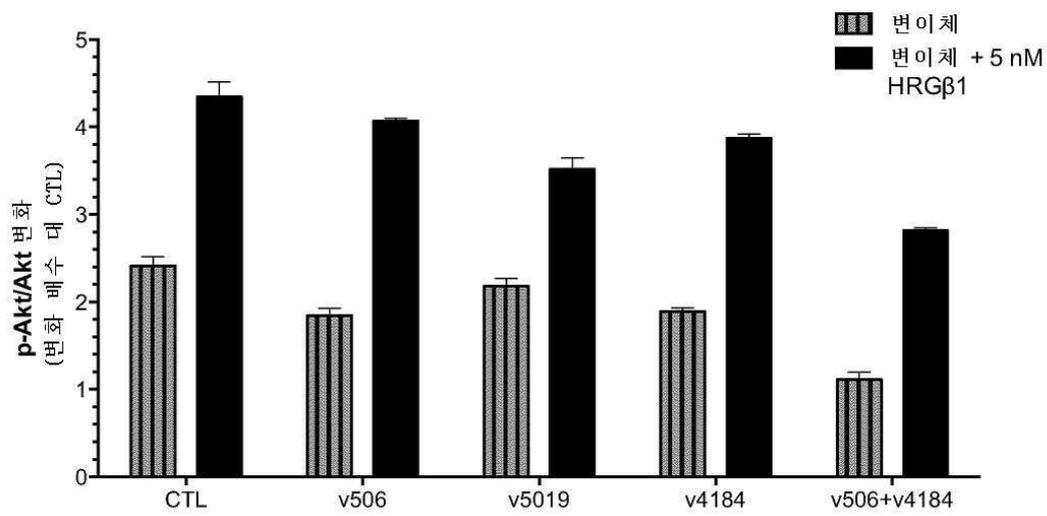
포획된 RU v630

도면14

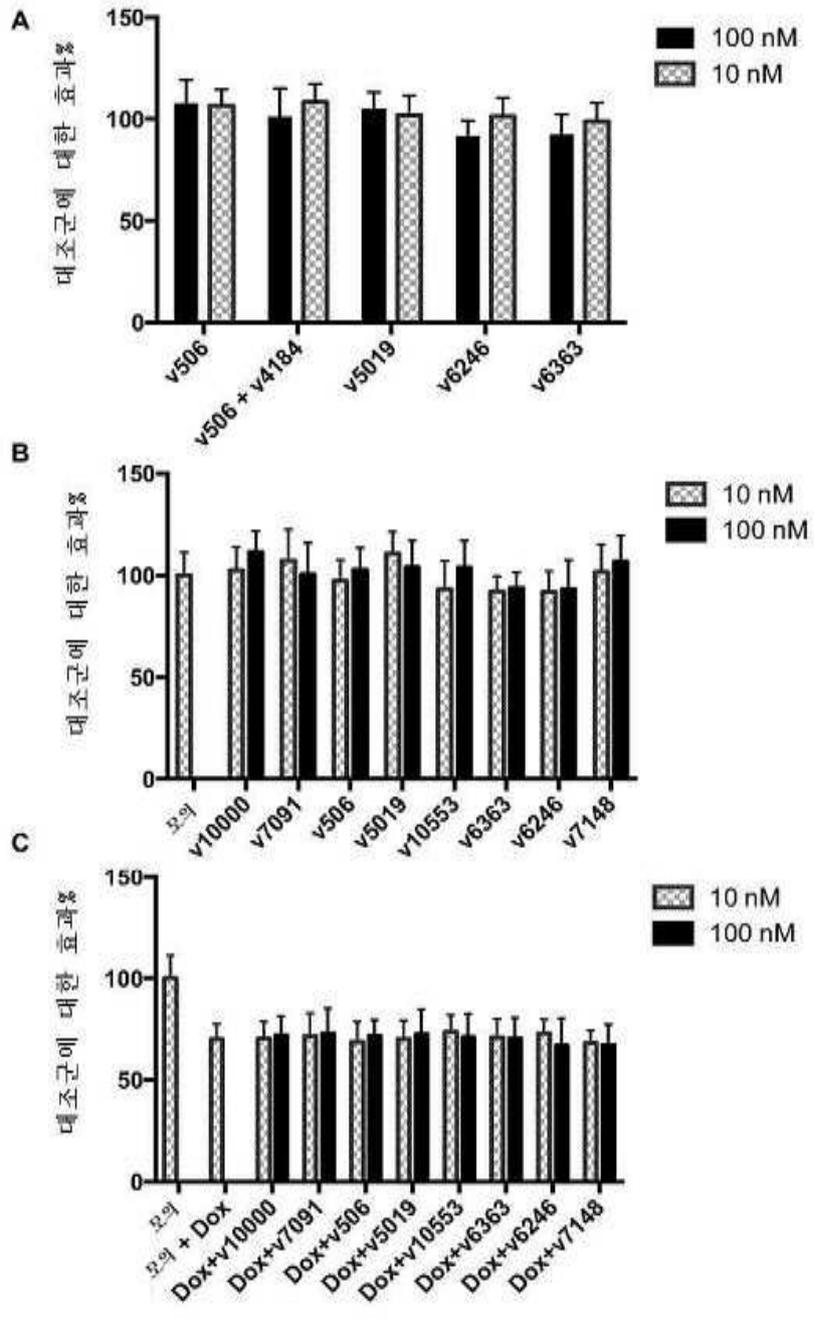


도면15

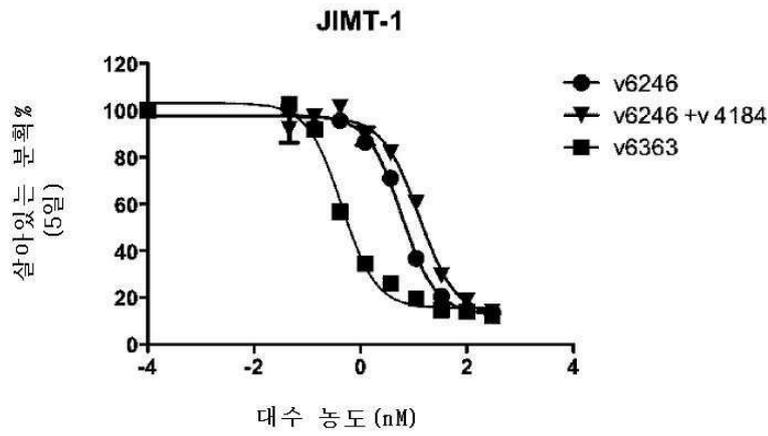
p-Akt/Akt 비 (CTL 변화 배수)



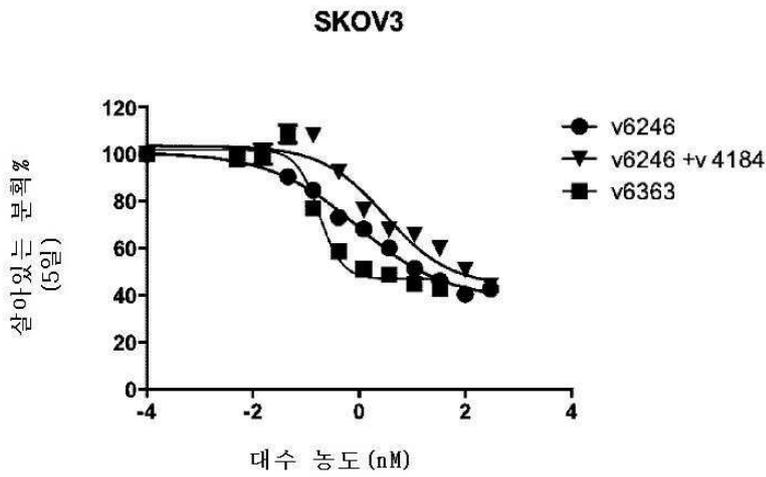
도면16



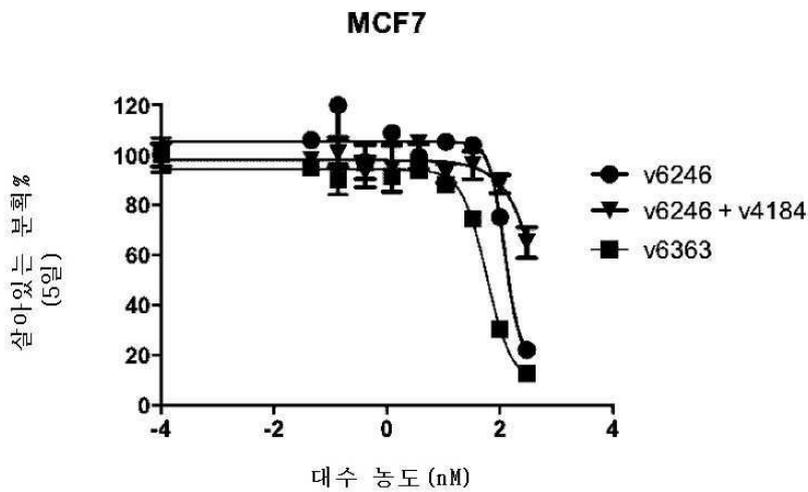
도면17a



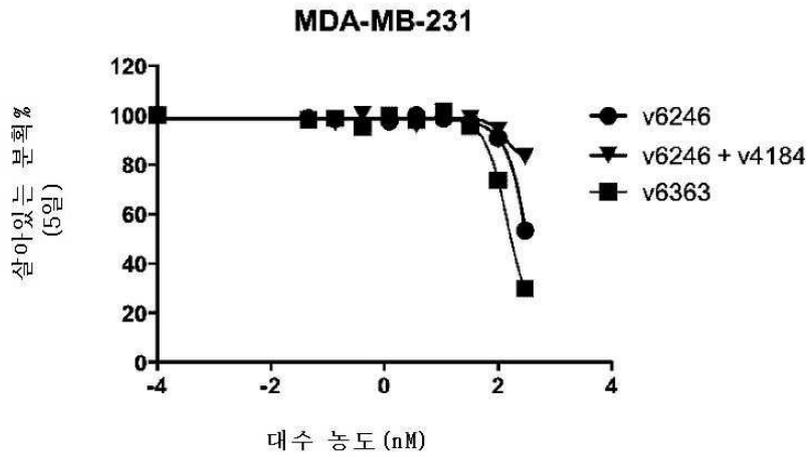
도면17b



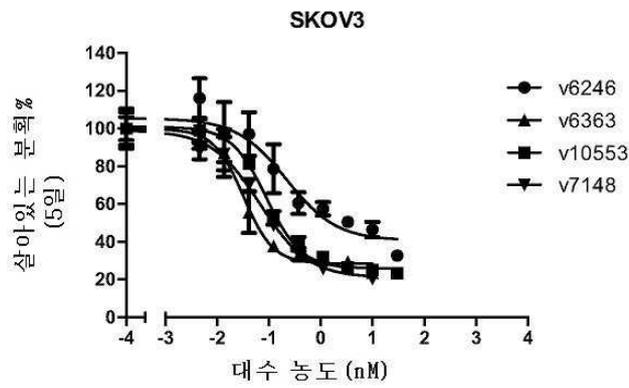
도면17c



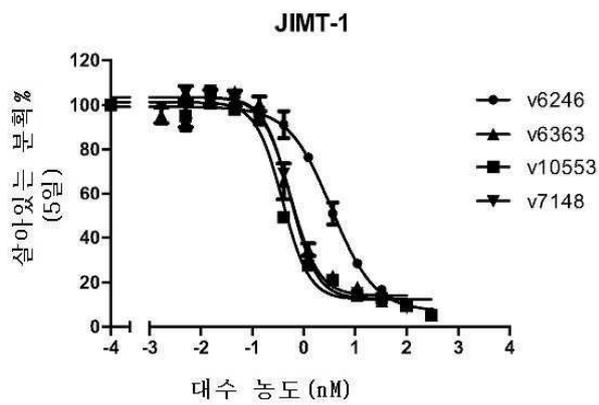
도면17d



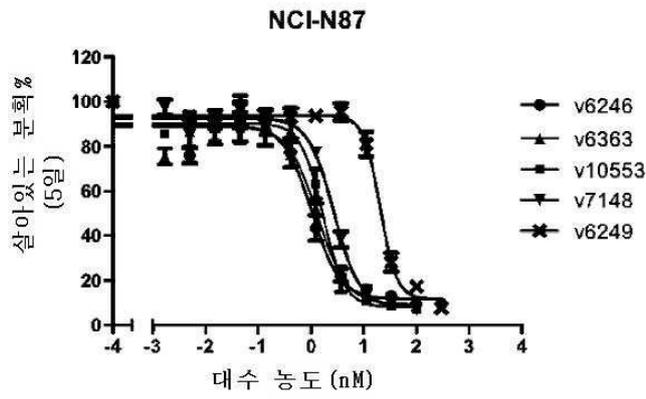
도면17e



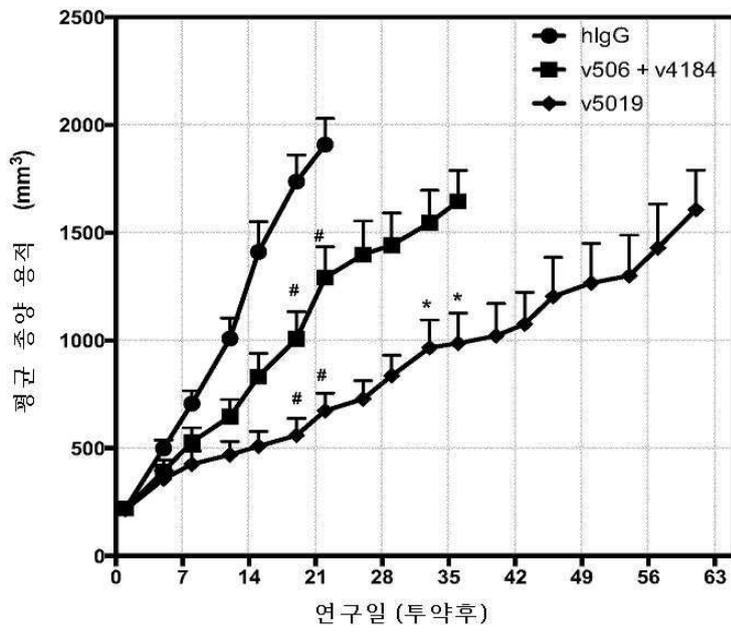
도면17f



도면17g

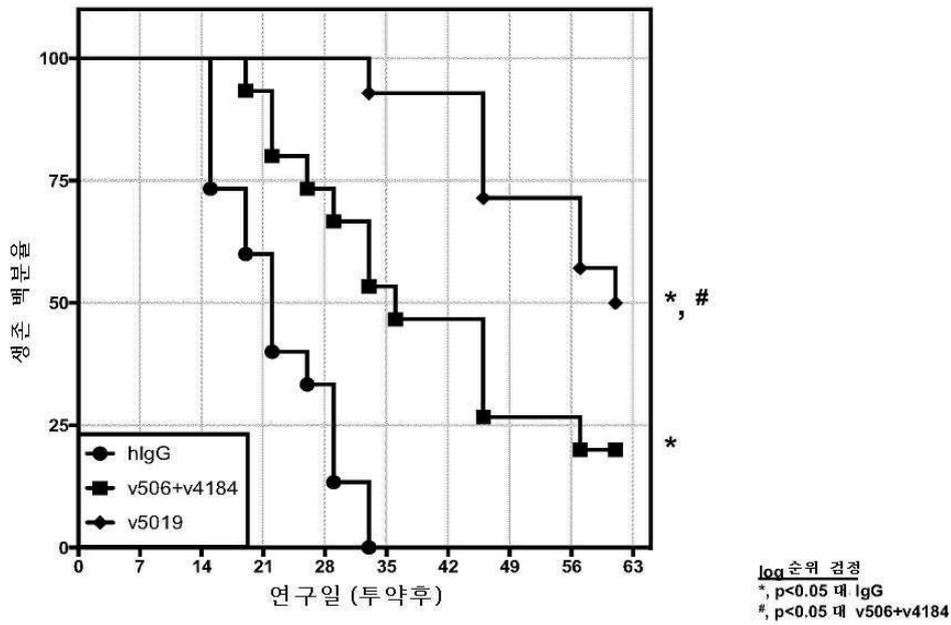


도면18a

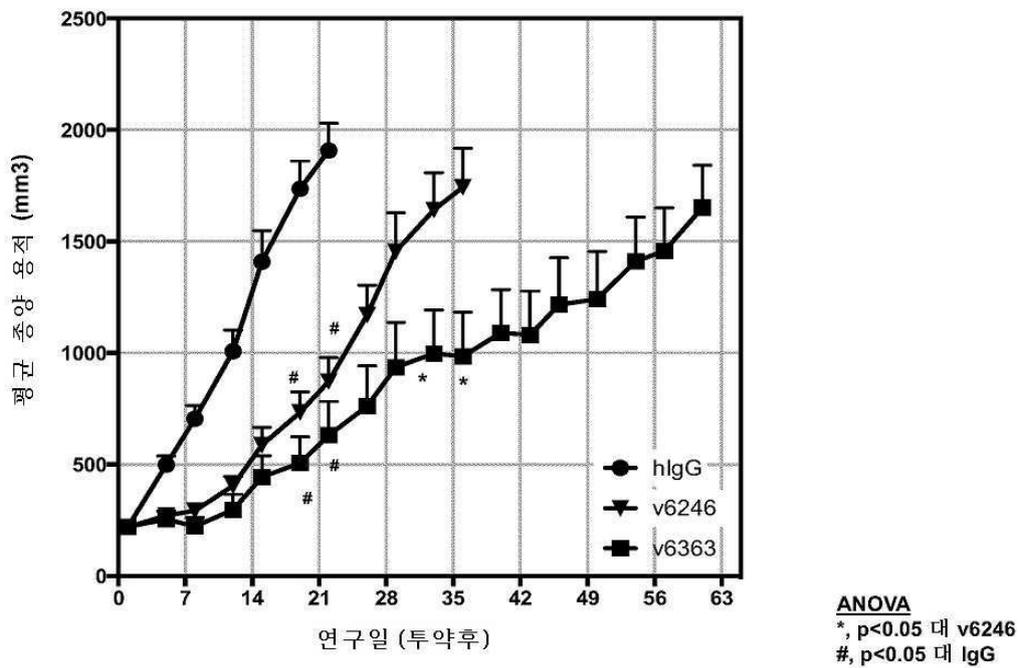


ANOVA
 *, p<0.05 대 v506
 #, p<0.05 대 IgG

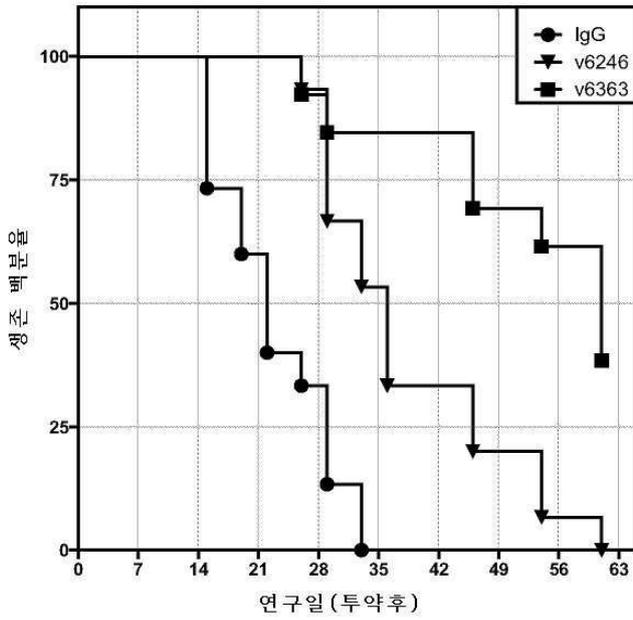
도면18b



도면19a

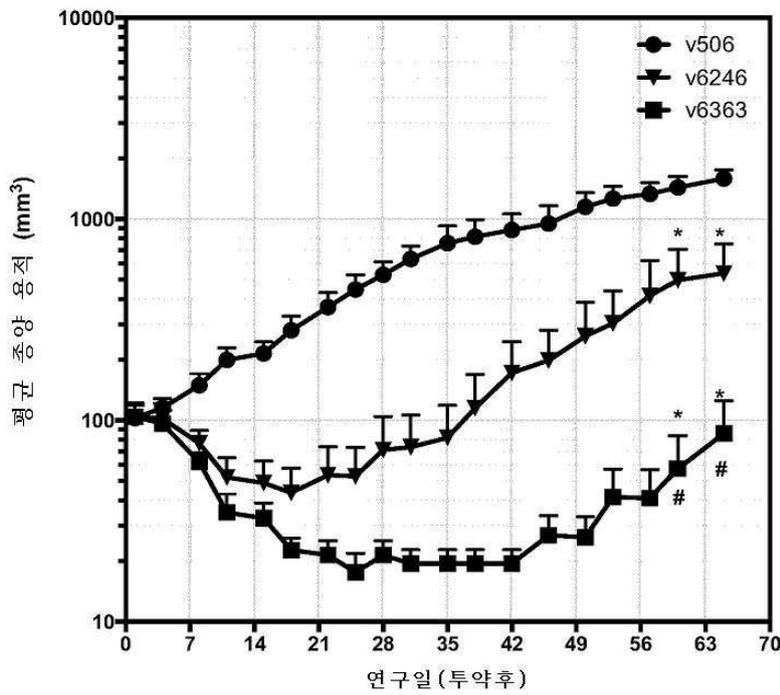


도면19b



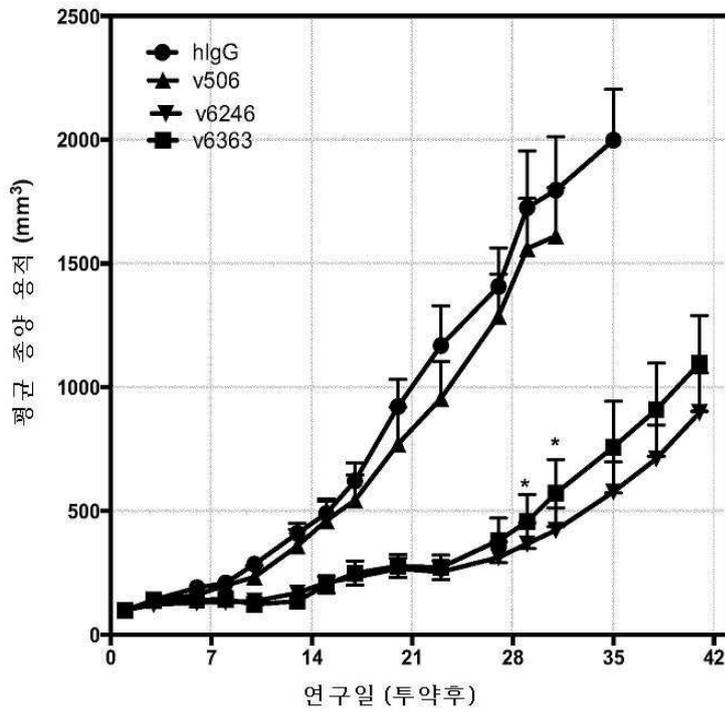
log 순위 검정
*, p<0.05 대 v6246

도면20



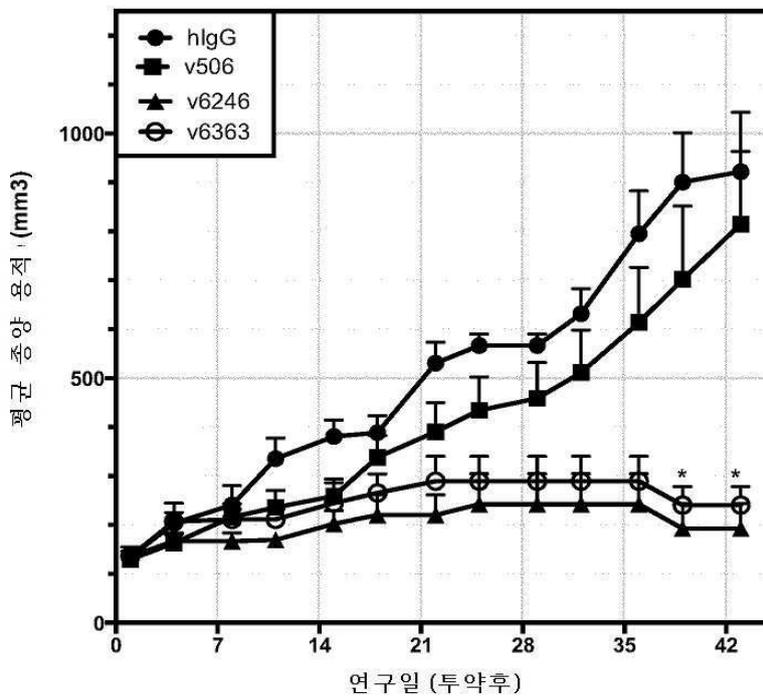
맨-윌트니
*, p<0.05 대 v506
#, p<0.05 대 v6246

도면21



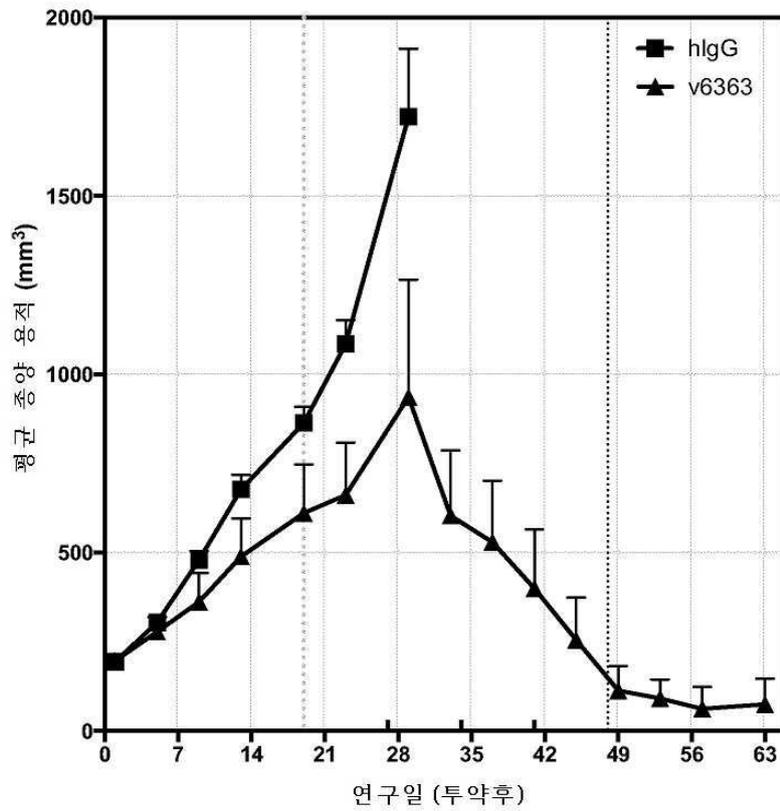
크러스칼-왈리스
*, p<0.05 대 v506

도면22

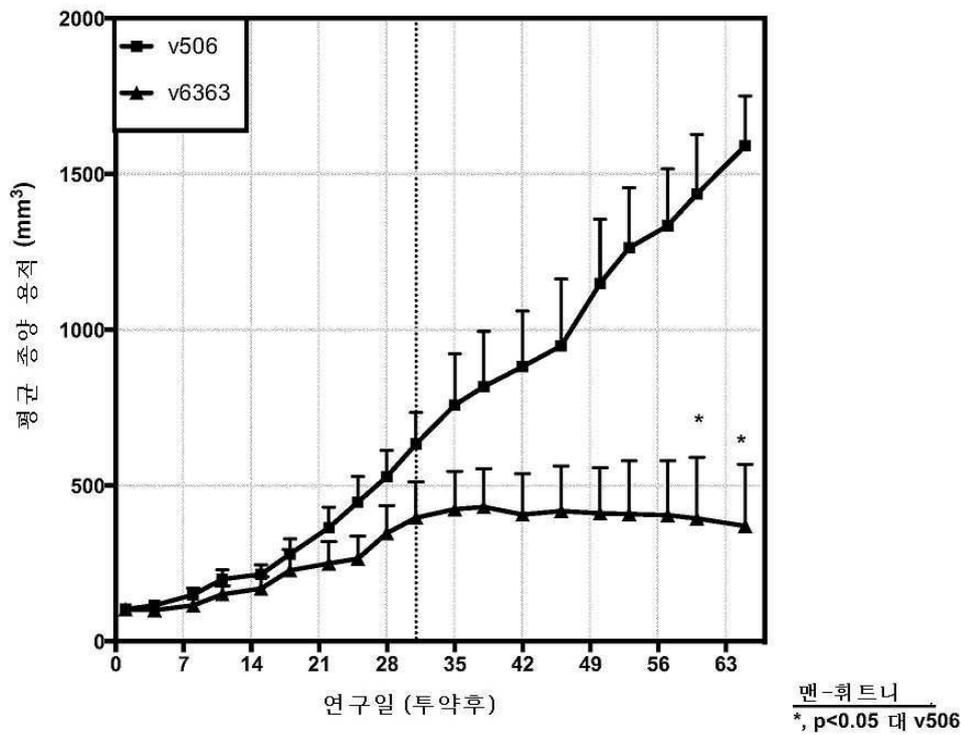


ANOVA
*, p<0.05 대 v506

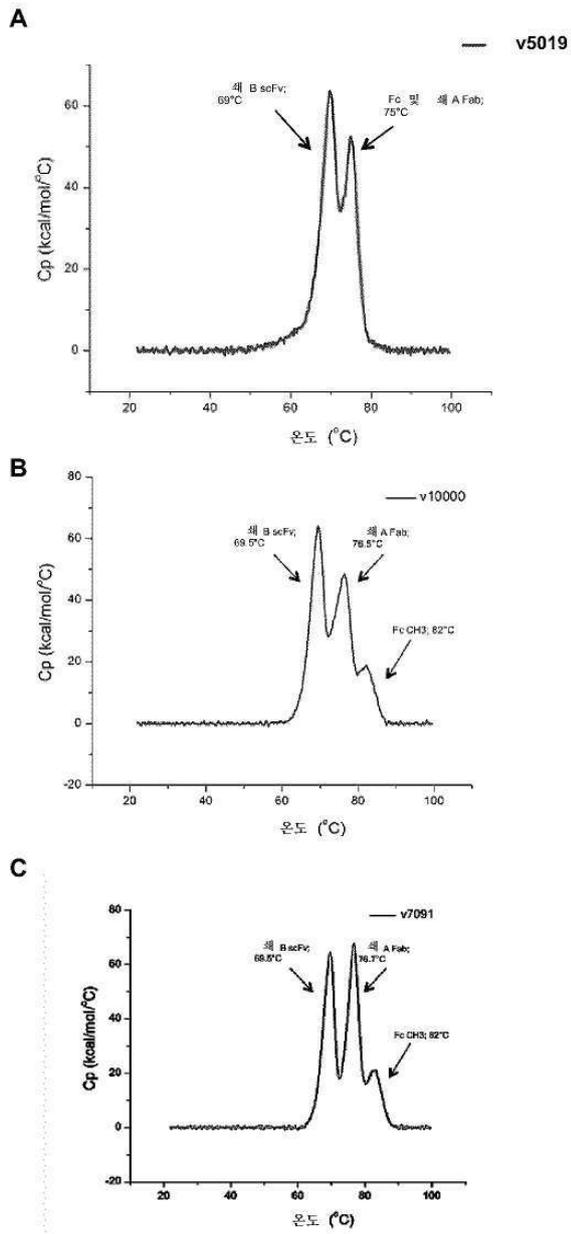
도면23



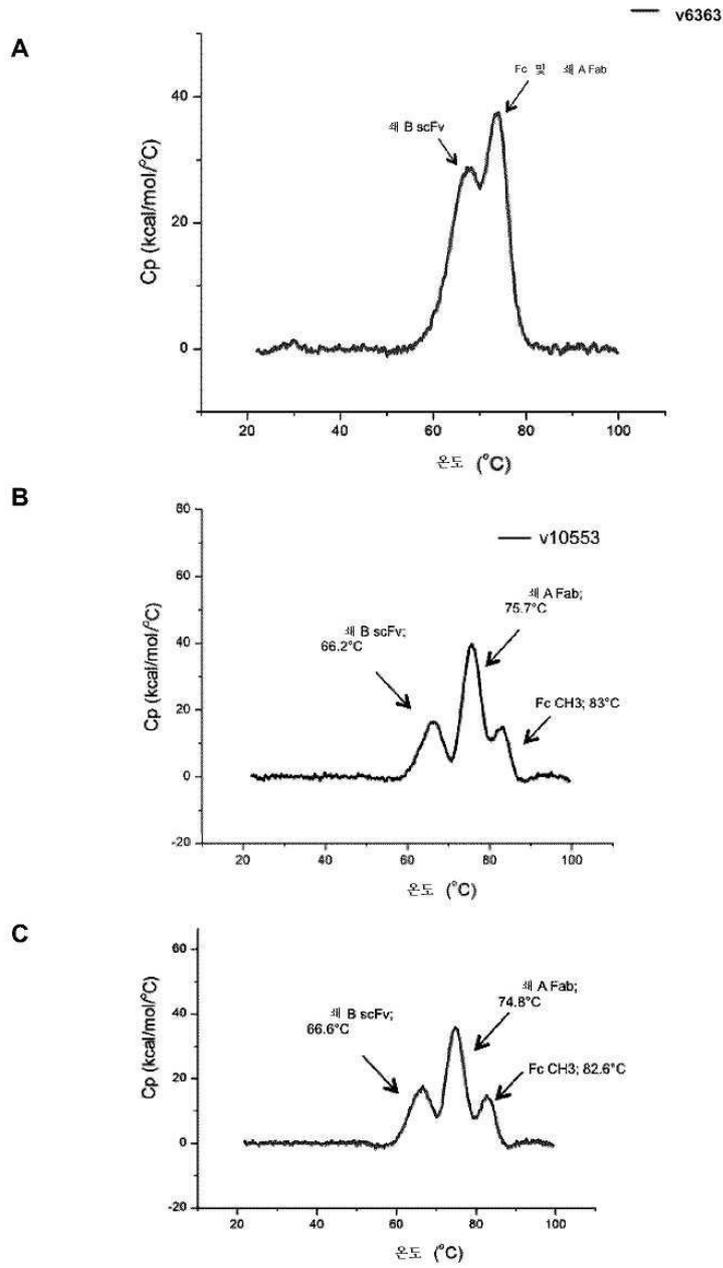
도면24



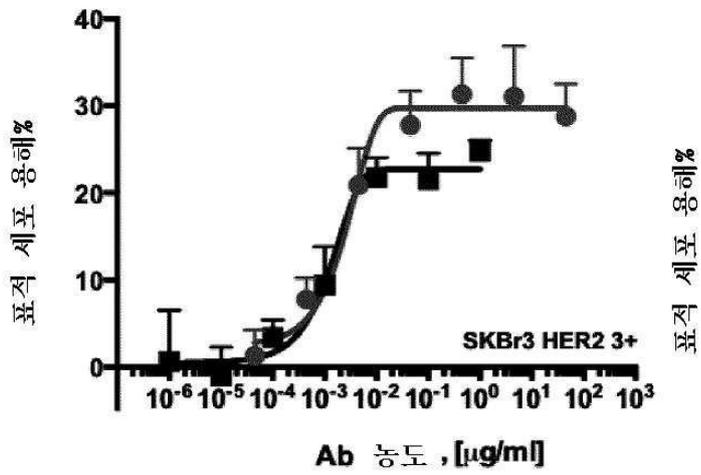
도면25



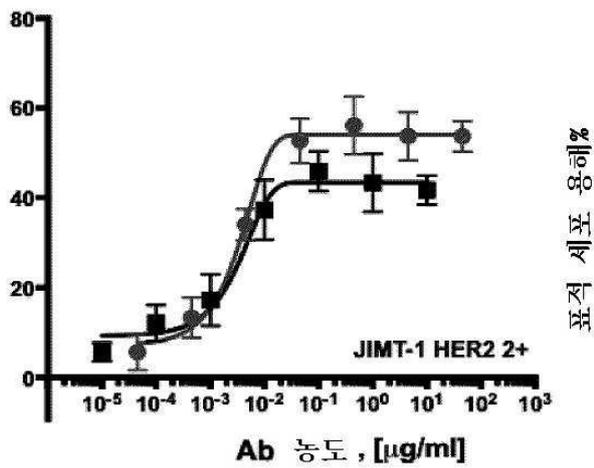
도면26



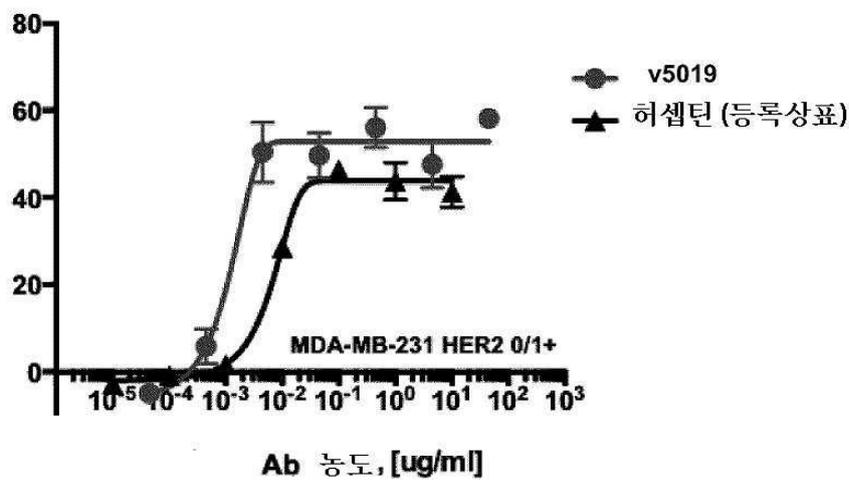
도면27a



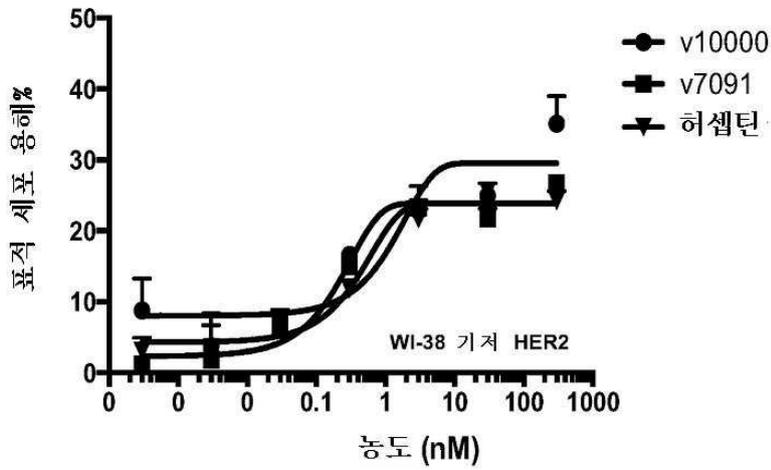
도면27b



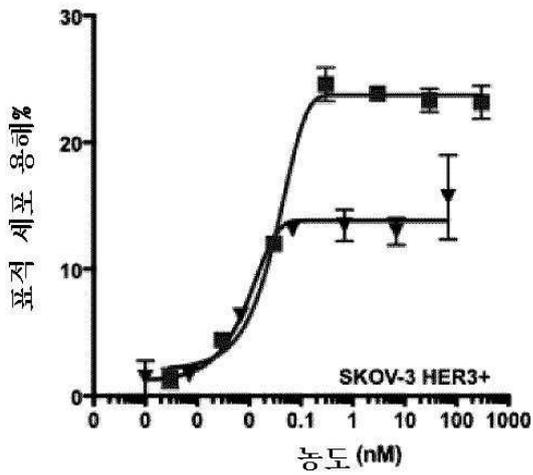
도면27c



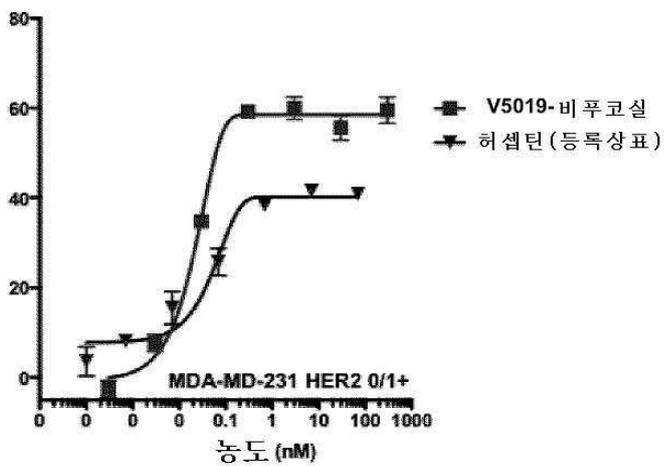
도면27d



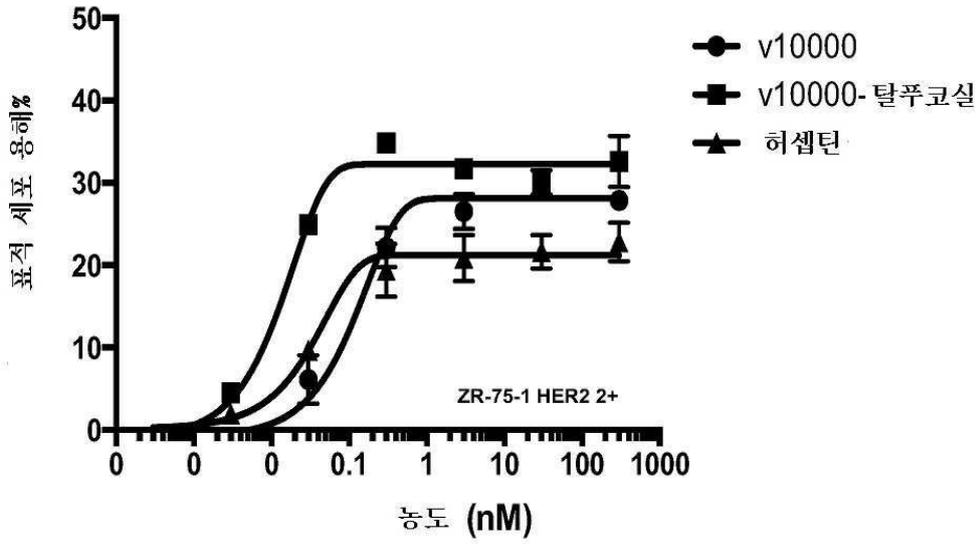
도면28a



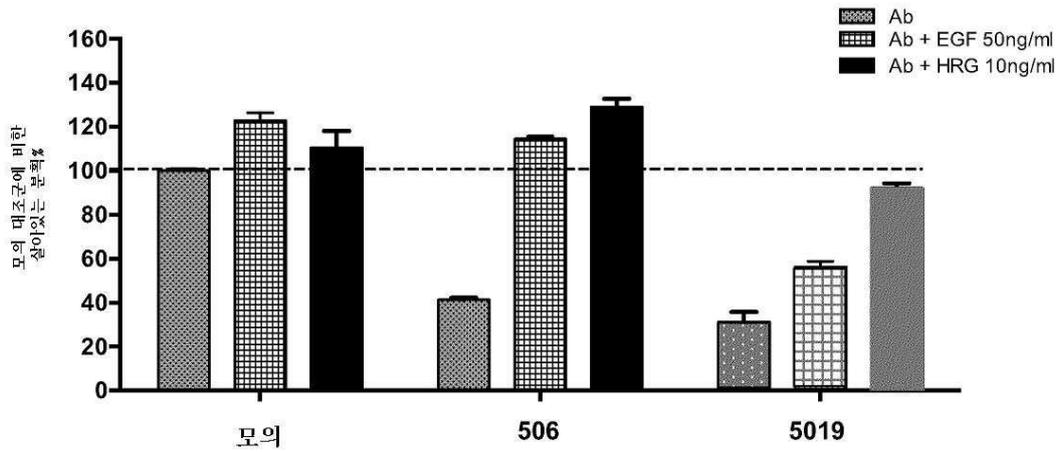
도면28b



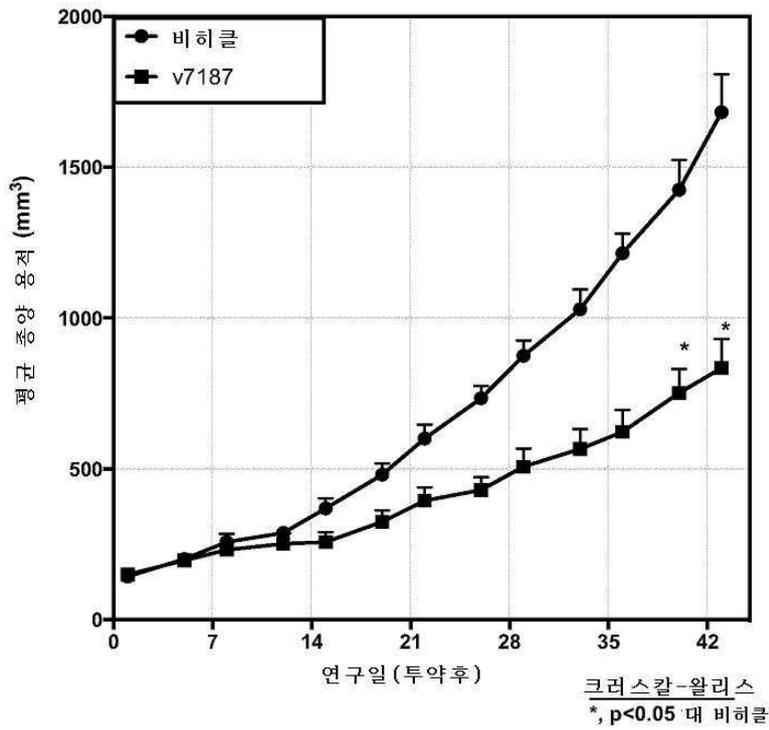
도면28c



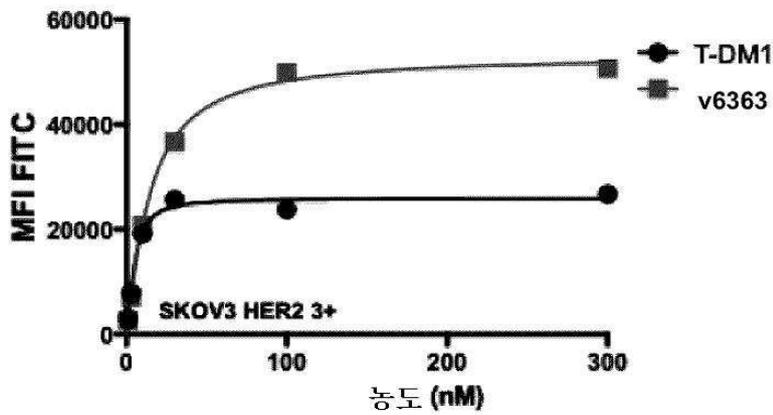
도면29



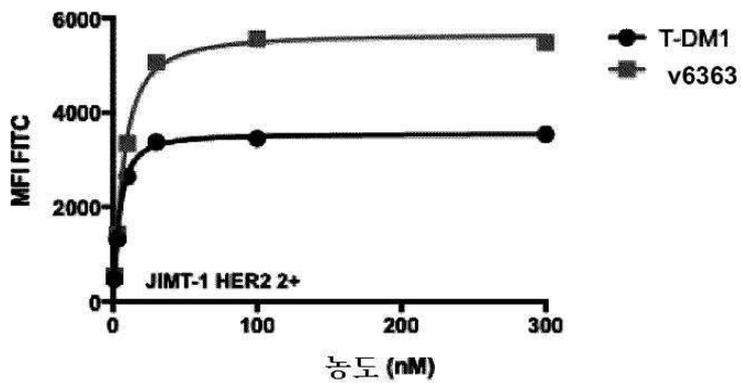
도면30



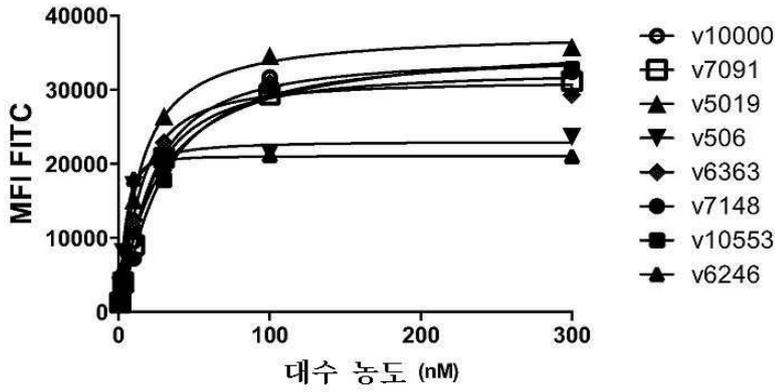
도면31a



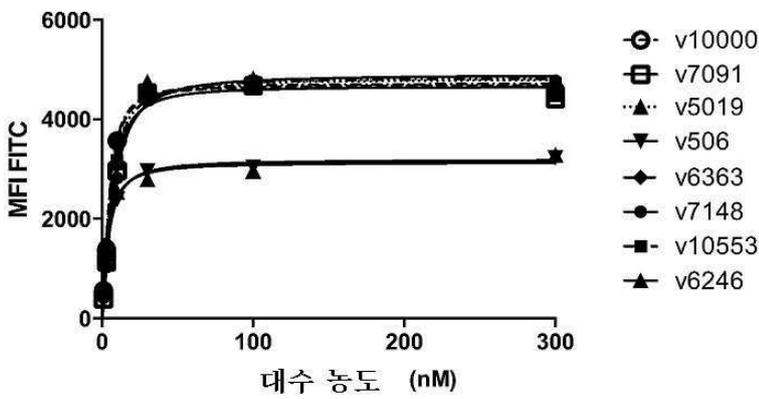
도면31b



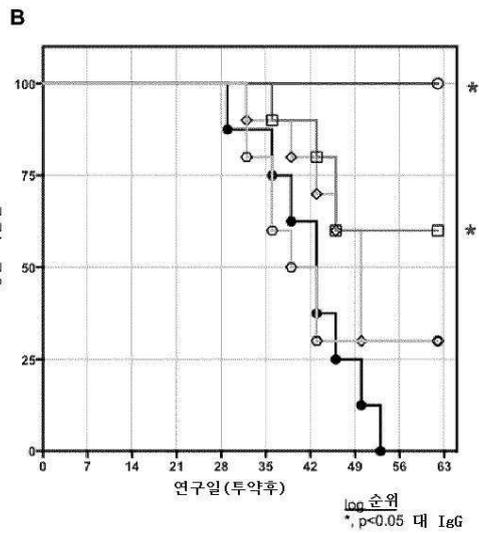
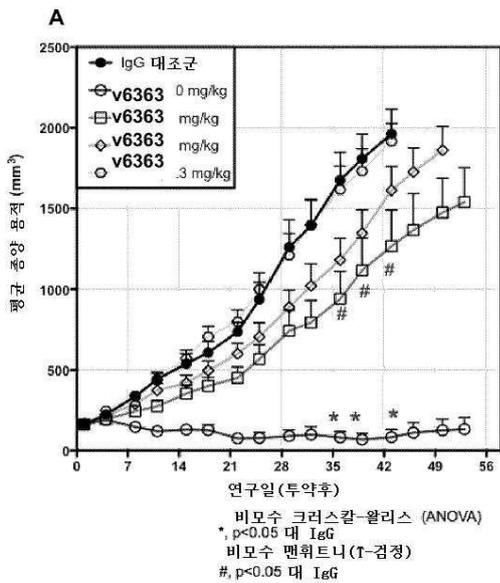
도면31c



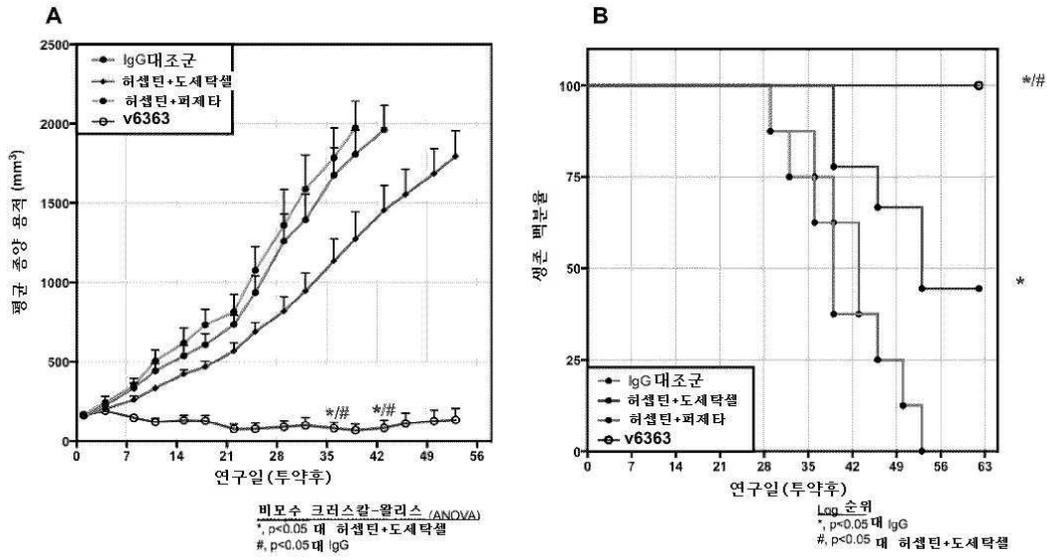
도면31d



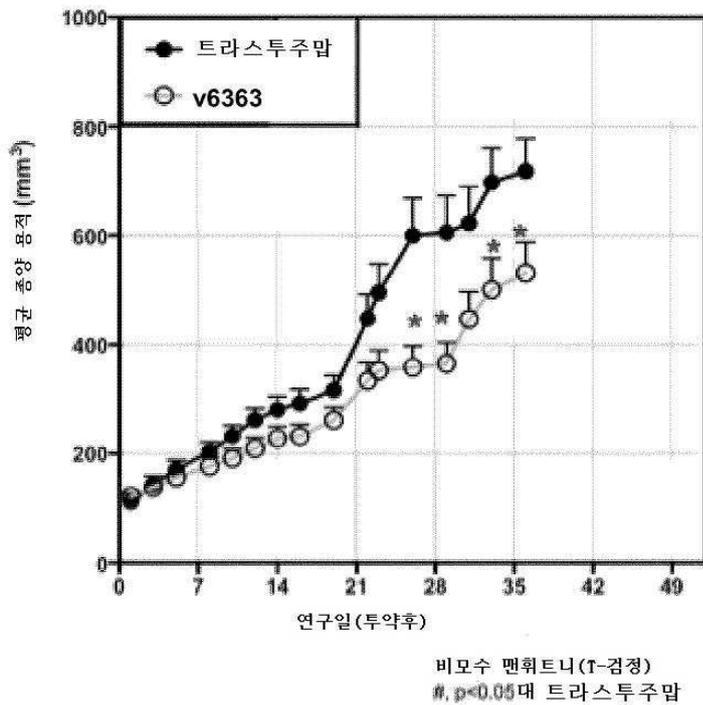
도면32



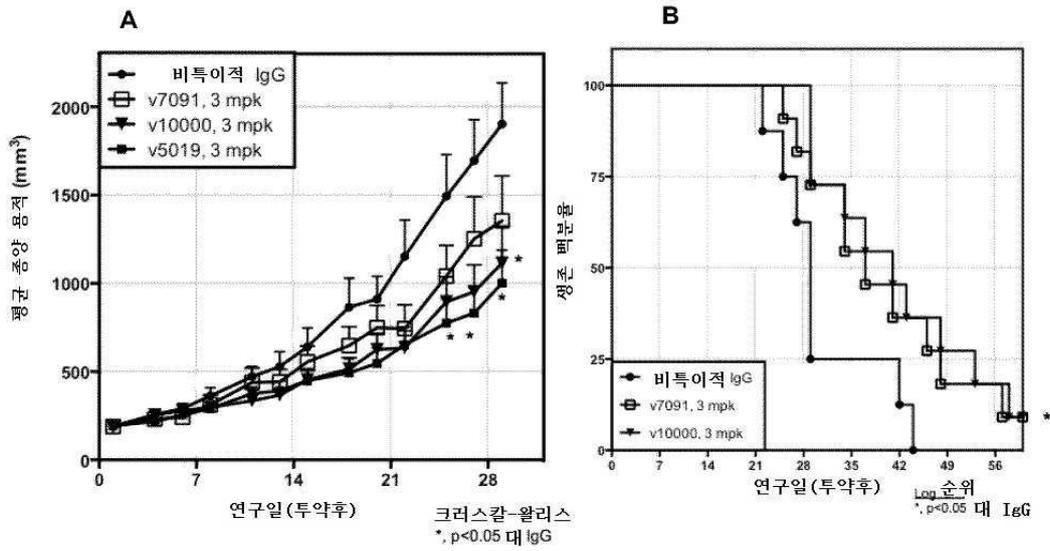
도면33



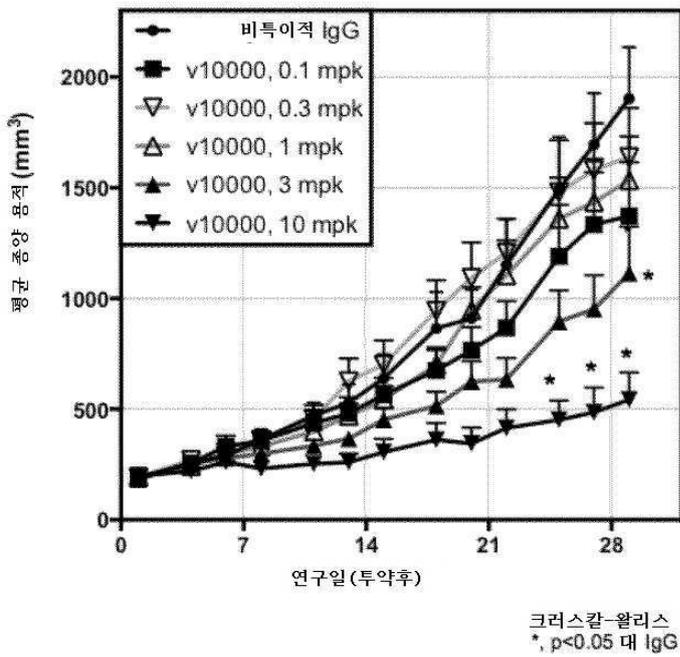
도면34



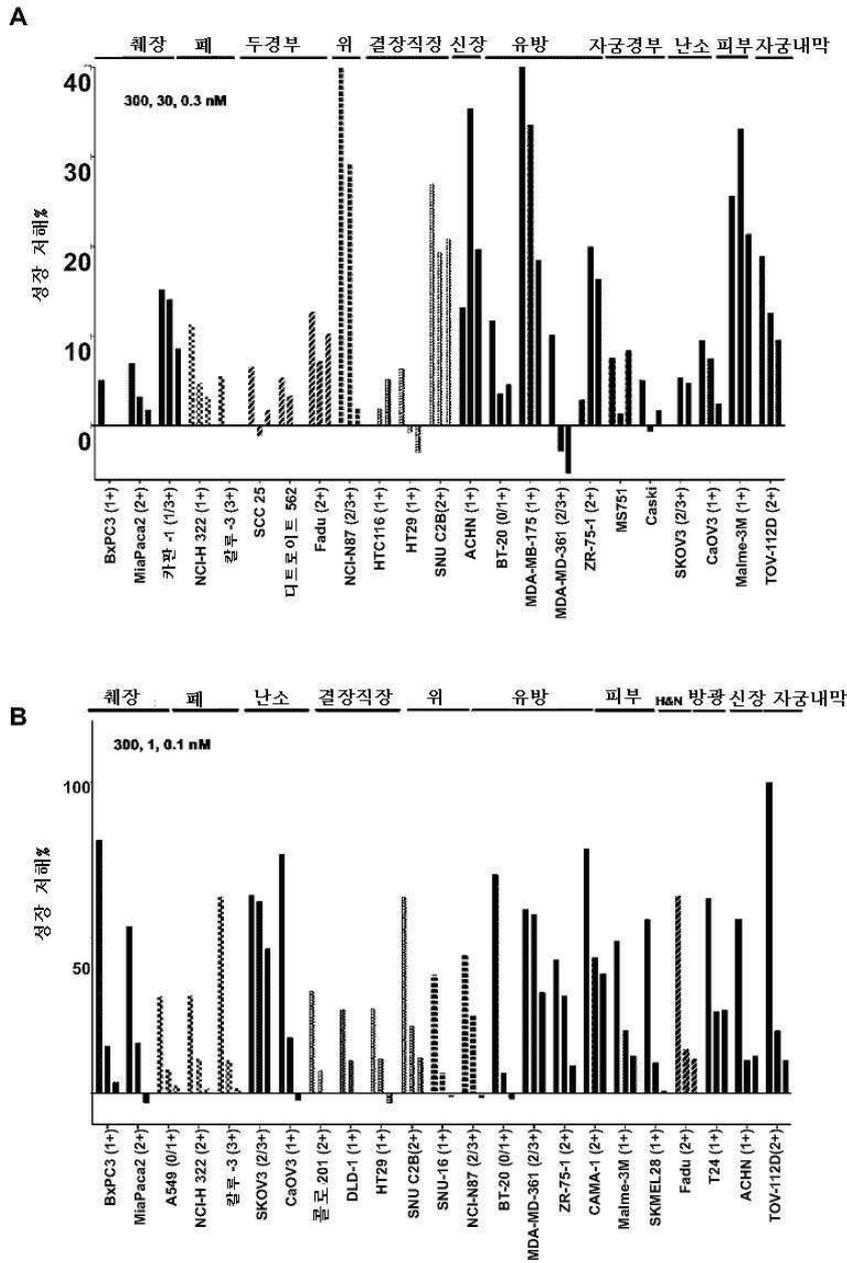
도면35



도면36



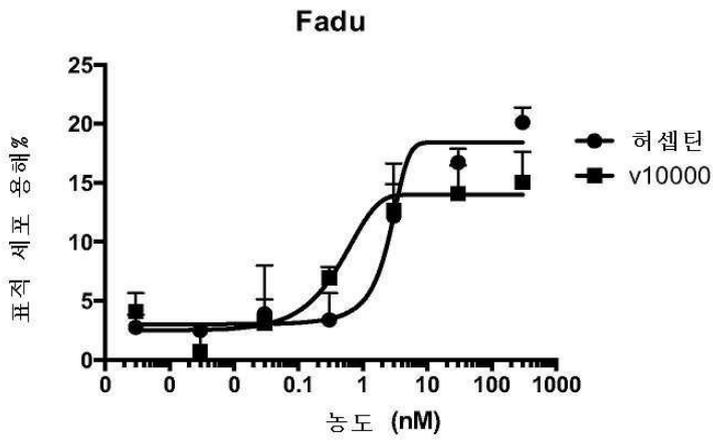
도면37



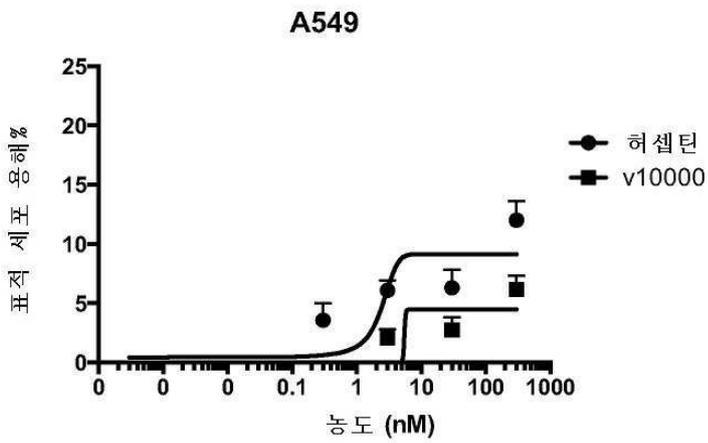
도면38

세포주	세포주 설명	IHC 수용체			V1000	V10553	참고문헌
		HER2	EGFR	HER3	활성	활성	
BxPC3	인간 췌장 선암종	1	2	1	+	+	1,2,3
카판-1	인간 췌장 선암종	1/3	1	0	+	+	1,4,5
미아파카2	인간 췌장 암종	2	1/2	0	+	+	3,4
SW 1990	인간 췌장 선암종, 전이성	2	1	0	-	+	2,4
Panc1	인간 췌장 암종	1	1/2		-	+	4
A549	인간 폐 암종	0/1	1		-	+	6,7
칼루-3	인간 폐 선암종	3	2	1	+	+	6,8,9
칼루-6	인간 폐 미분화 암종	0			-	+	6
NCI-H2126	인간 선암종: 비소세포 폐암				-	+	10
NCI-H322	인간 코카시안 기관지폐포 암종	2	2		+	+	6,7,11
디트로이트 562	인간 인두 암종				+	+	12
SCC-15	인간 혀 편평 세포 암종		2		-	+	12
SCC-25	인간 혀 편평 세포 암종		2		+	+	12
FaDu	편평 세포 암종, 인두	2	2		+	+	
콜로 201	인간 결장직장 암종	2	1		-	+	13
DLD-1	인간 결장직장 선암종, 듀크스 C형	1	0/1		-	+	14
HCT116	인간 결장직장 암종	1	0/1		-	+	14
HT 29	인간 결장직장 선암종	1	0		+	+	14
SNU-C2B	인간 막창자 결장직장 암종	2*			+	+	
SNU-1	인간 위 암종	0			-	+	15
SNU-16	인간 위 암종	1			-	+	15
NCL-N87	인간 위 암종	3	2	1	+	+	15
MDAMB175	인간 유방 암종, ER+	1	1	0/1	+	+	8,16
MDAMB361	인간 유방 선암종, ER+, HER2 amp	2/3	1	1	+	+	9,15,17
ZR-75-1	인간 유방 상피 도관 암종, ER+ 내강 A	2	1	1	-	+	9
BT-20	인간 유방 암종, 기저 A TNBC	0/1	2	1	+	+	18
BT549	인간 유방 암종, 기저 B, 간충직-유사 TNBC, ER-	0	0/1	0	-	+	18
CAMA-1	인간 유방 선암종, ER+	2	0	1	-	+	
MDAMB453	인간 유방 전이 암종, ER+, HER2amp 내강 A TNBC	0	0/1	0	-	+	18
T47D	인간 유방 암종, ER+	1	0	1	-	+	19
SK-UT-1	인간 자궁 배엽성 종양(혼합) 등급 III				-	+	
TOV-112D	인간 일차 악성 선암종: 자궁내막모양 암종	2	1	2	+	+	20
A431	인간 피부 유펜 암종	1	3		-	+	21
Malme-3M	인간 악성 흑색종, 전이성 폐	1	1	1	+	+	9,22
SKMEL28	인간 악성 흑색종	1	0		-	+	22
Caski	인간 자궁경부 암종	1			+	+	23
MS751	인간 자궁경부 유펜 암종				+	+	
T24	인간 방광 암종 세포	1	0		-	+	19,21,24
ACHN	인간 신세포 선암종	1	2	0/1	+	+	9,25
CaOV3	인간 난소 선암종	1	1		+	+	26
Ovcar-3	인간 난소 선암종	1/2	2	2	-	+	20,26
SKOV3	인간 난소 선암종	2/3	2	0/1	-	+	

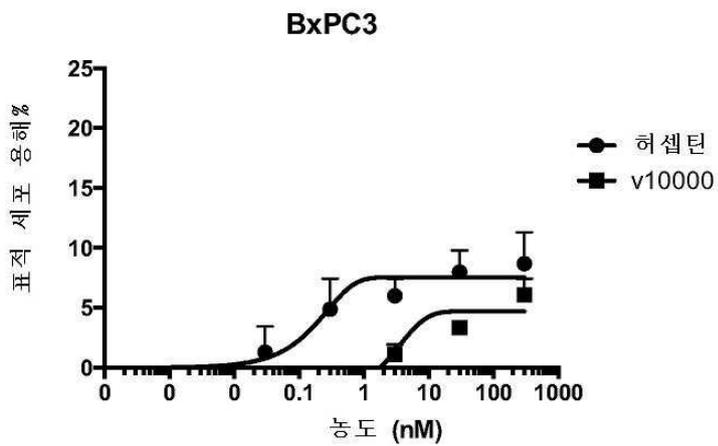
도면39a



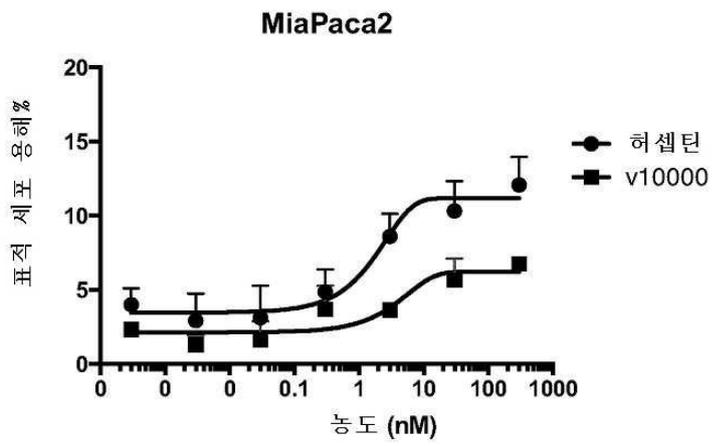
도면39b



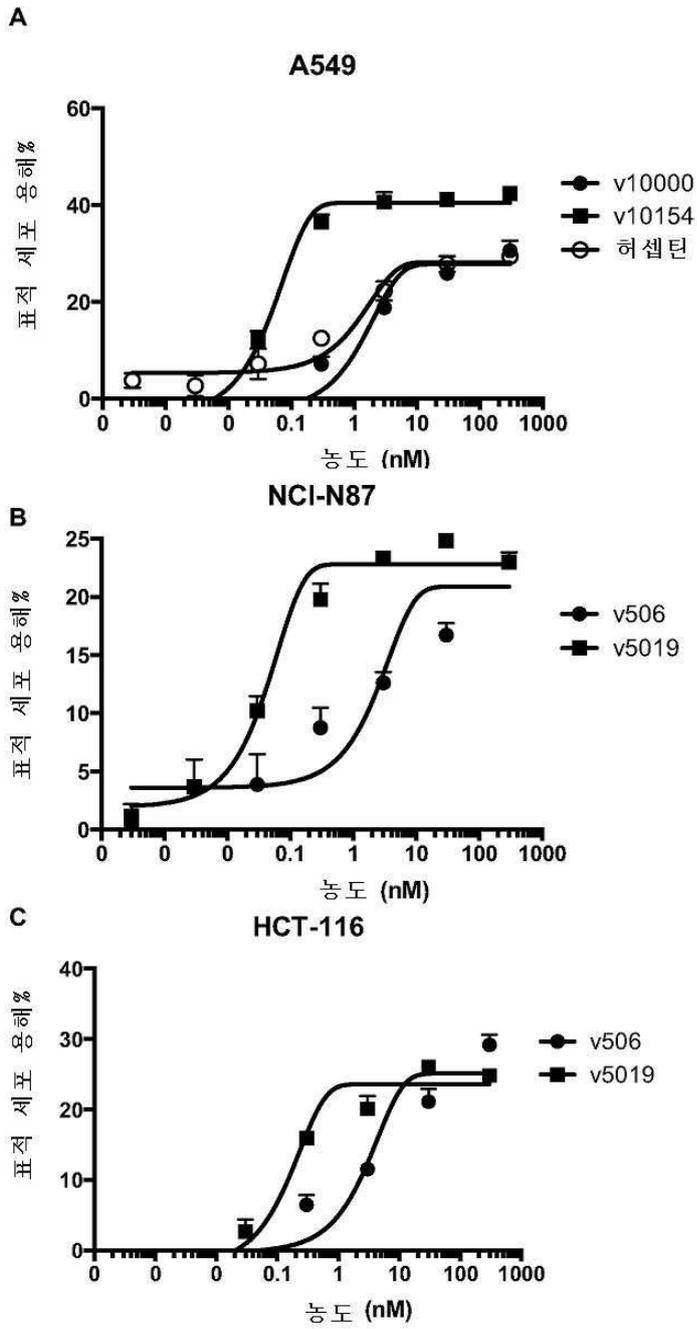
도면39c



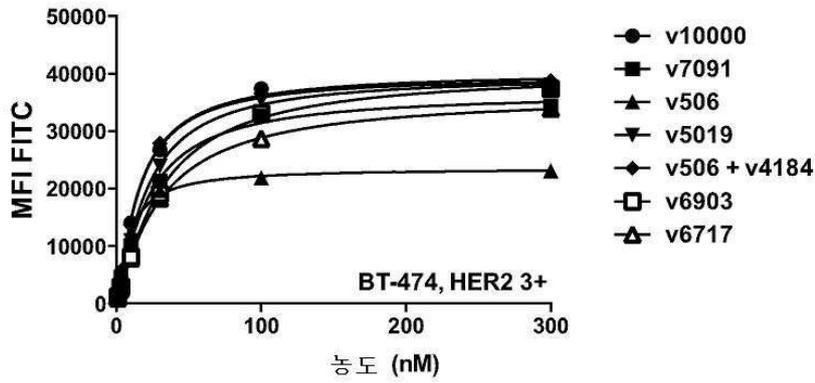
도면39d



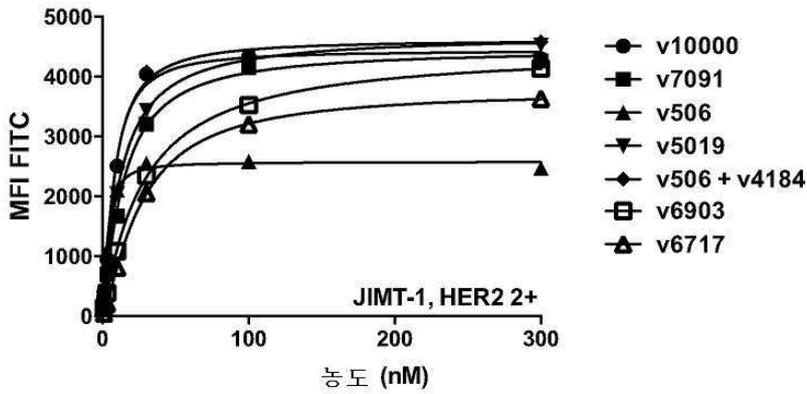
도면40



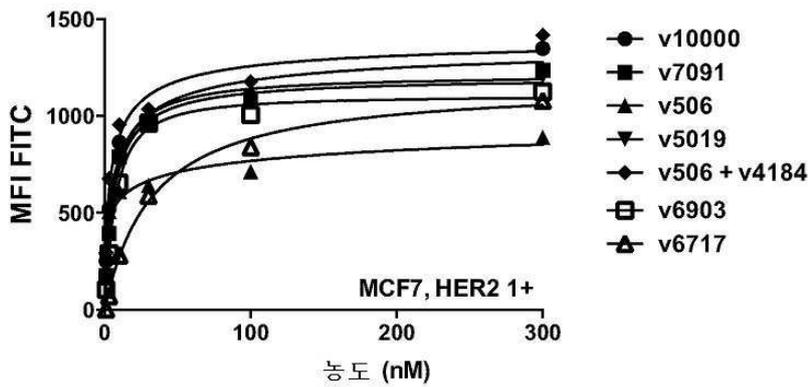
도면41a



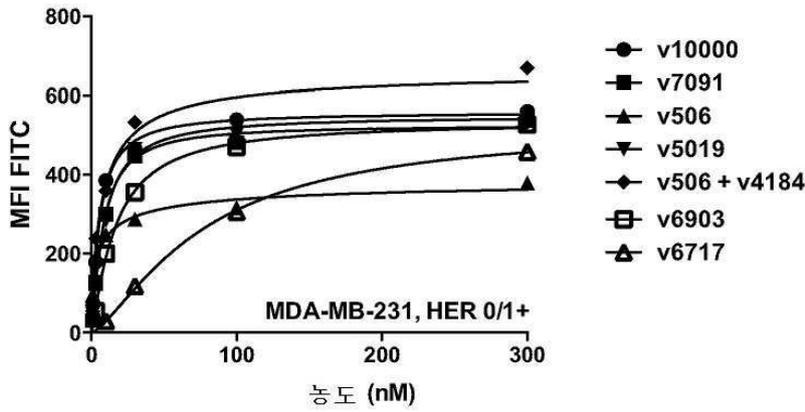
도면41b



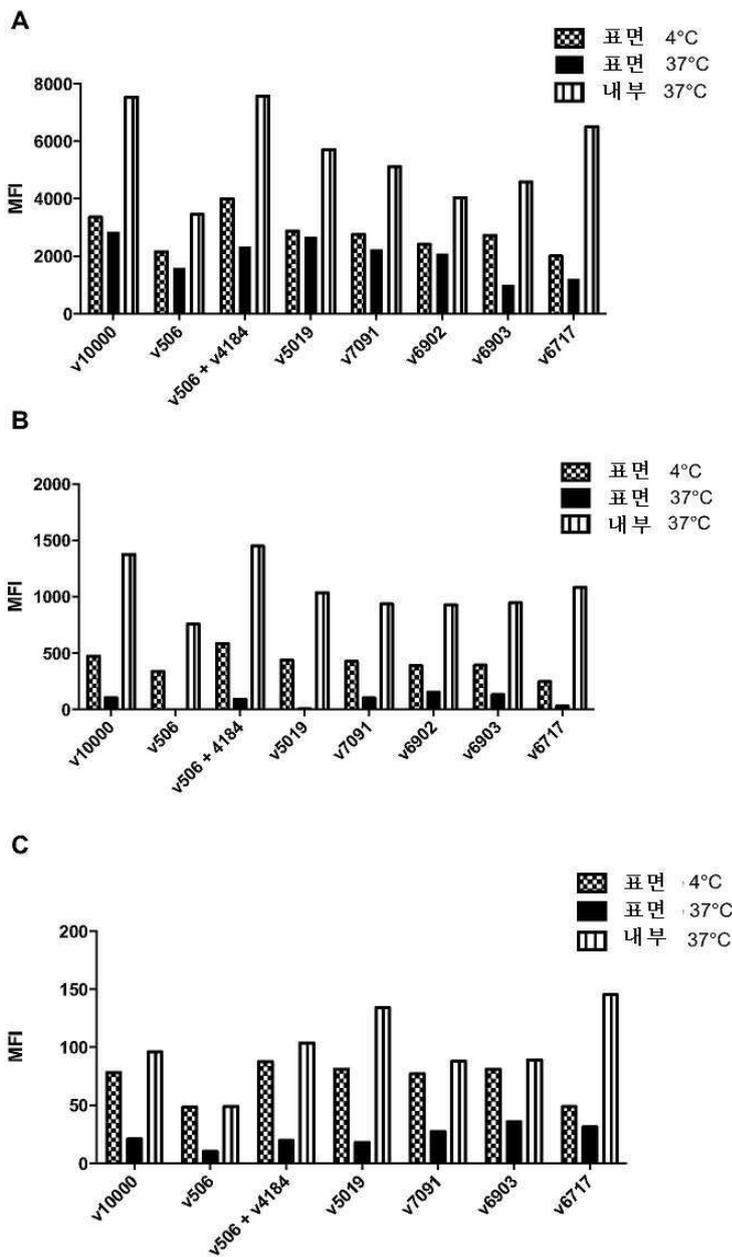
도면41c



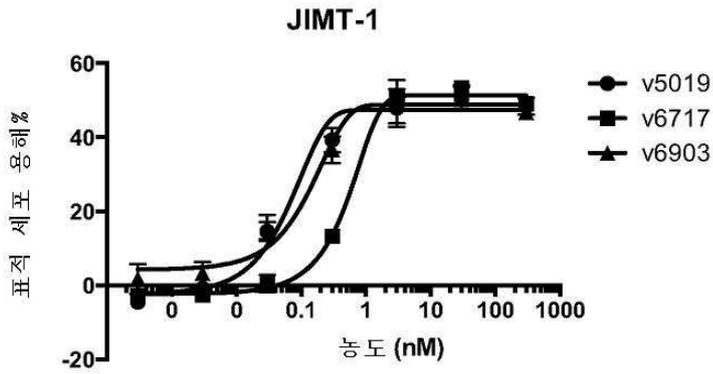
도면41d



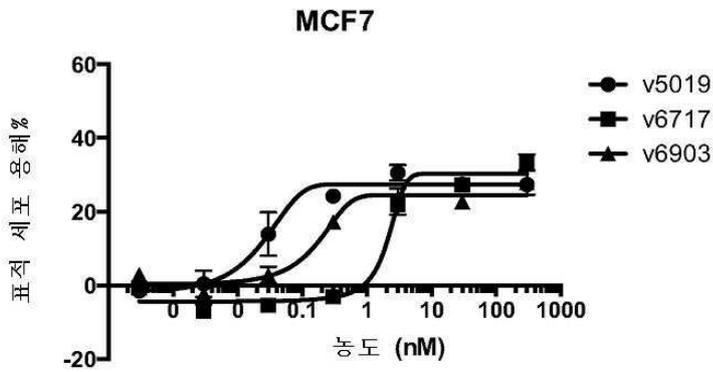
도면42



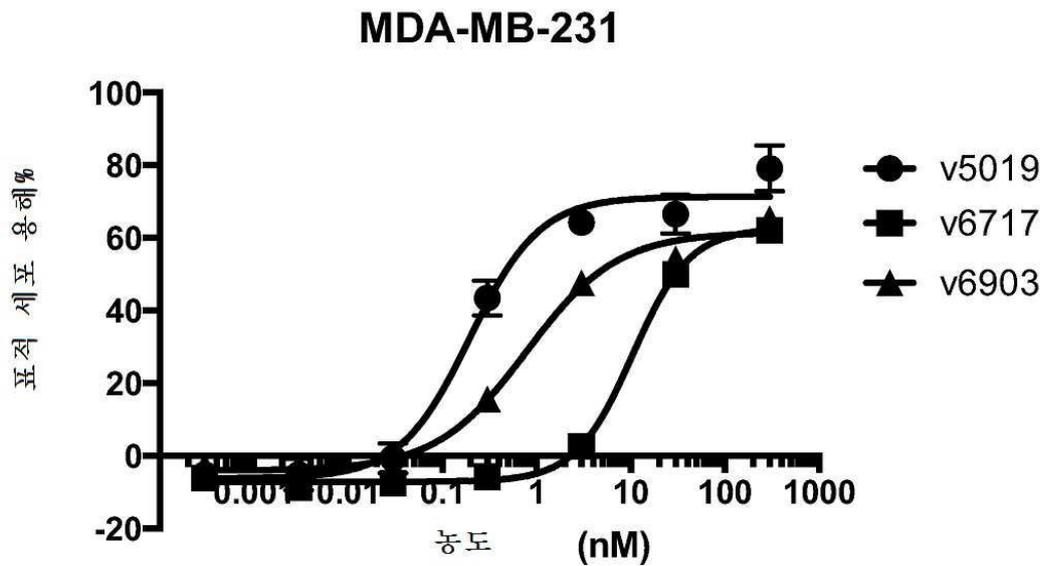
도면43a



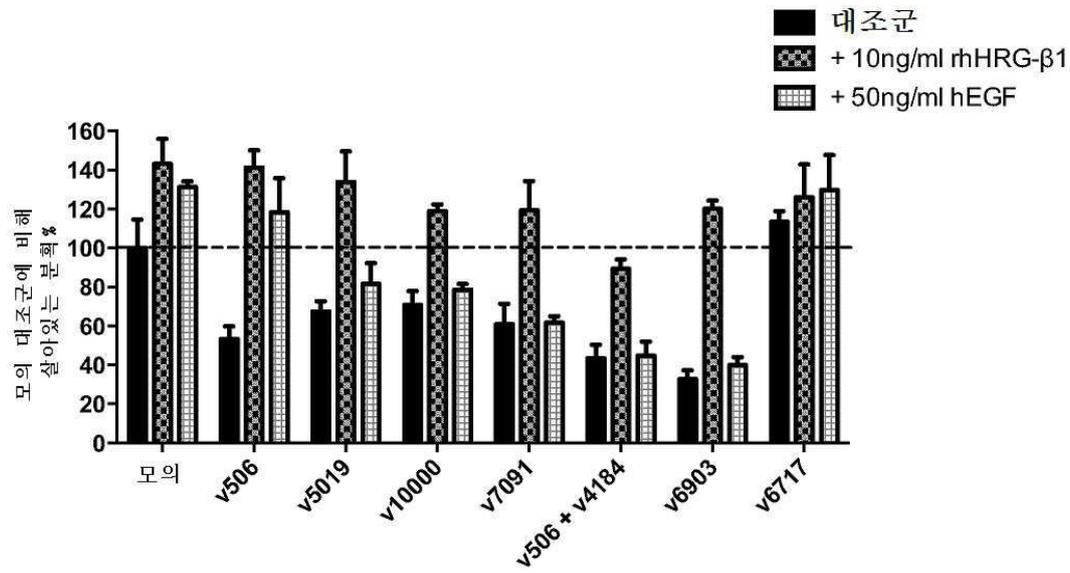
도면43b



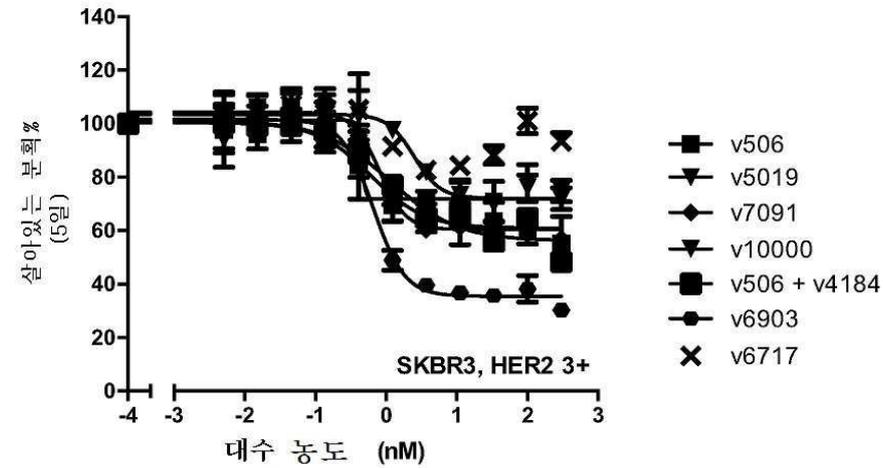
도면43c



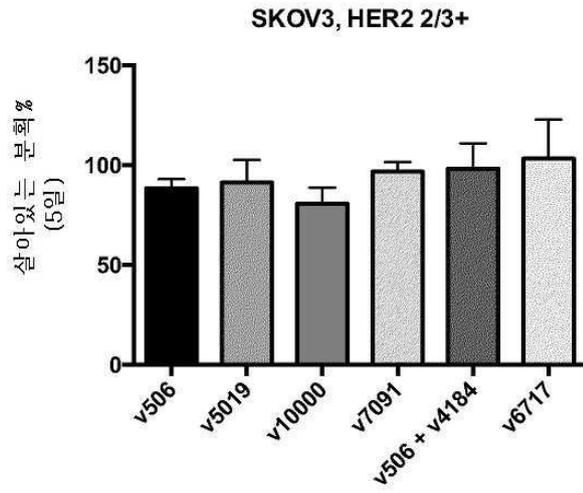
도면44



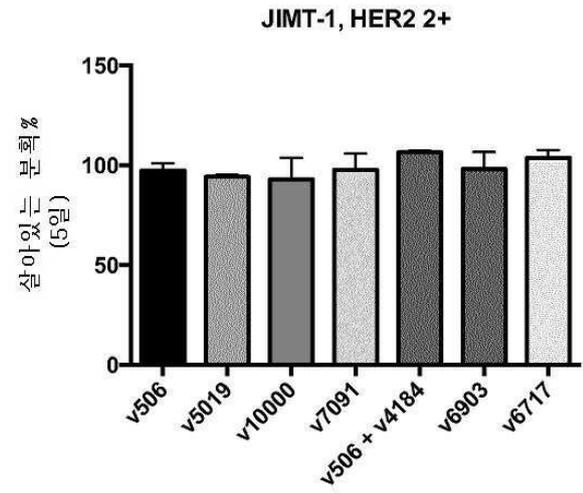
도면45



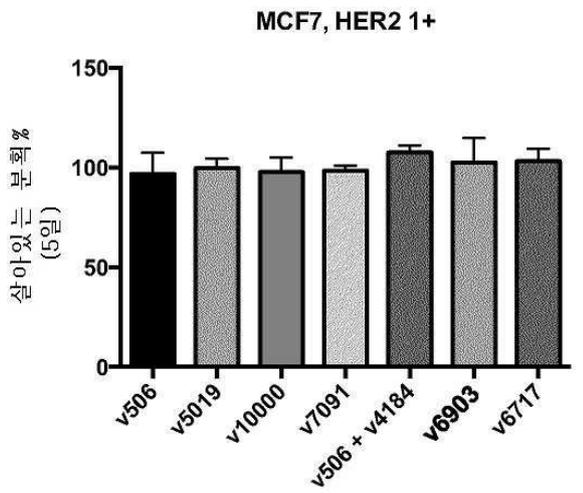
도면46a



도면46b

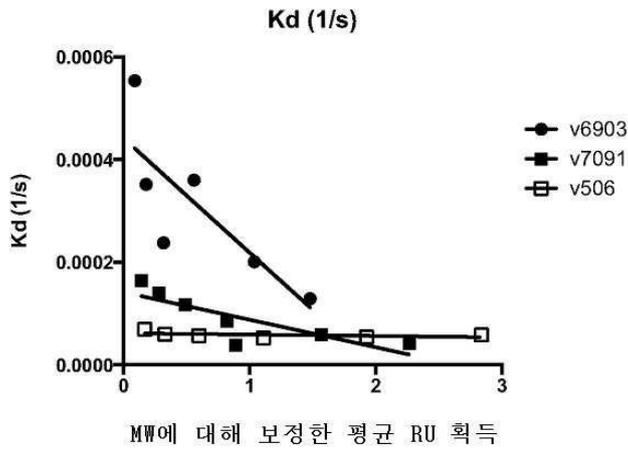


도면46c

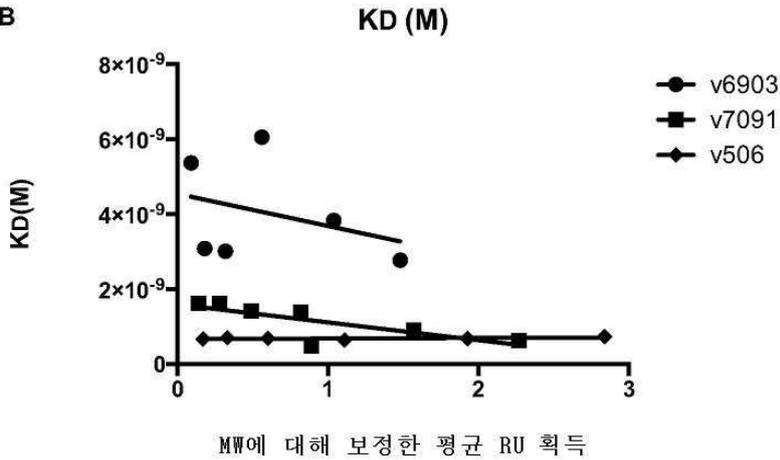


도면47

A



B



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> ZYMEWORKS INC.

<120> BISPECIFIC ANTIGEN-BINDING CONSTRUCTS TARGETING HER2

<130> 30712-28087/PCT

<140> PCT/CA2014/051140

<141> 2014-11-27

<150> 62/009,125

<151> 2014-06-06

<150> 62/000,908

<151> 2014-05-20

<150> 61/910,026

<151> 2013-11-27

<160> 350

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 1

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 2
 <211> 1350
 <212>
 DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 2
 gaggtgcagc tggtggaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60
 agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120
 ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180
 gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgcgata catcaaaaa cactgcttac 240
 ctgcagatga acagcctcgc agccgaagat accgctgtgt actatgcag tcatgggga 300
 ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360

 gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaatc cacctctgga 420
 gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 480
 tggaaactcag ggcacctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540
 gggctgtaact cctgtcctc tgtggtgaca gtccaagtt caagcctggg cacacagact 600
 tatactgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660
 aagagctgtg ataagacca cacctgcct cctgtccag ctccagaact gctgggagga 720
 cctagcgtgt tctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgattc caggactccc 780

 gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtct cacgaggacc ccgaagtga gttcaactgg 840
 tactgggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
 tccacttate gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcga aaa aacctctct 1020
 aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacacac tgccaccag cagagacgaa 1080
 ctgaccaaga accaggtgtc cctgacatgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140

gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacaatt acaagaccac acctccagtg 1200

ctggacagcg atggcagctt cttcctgtat tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260

cagcagggga acgtgttttag ttgttcagtg atgcatgaag cctgcacaaa tcattacact 1320

cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 3

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 3

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 4

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 4

gaggtgcagc tgggtgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60

agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120

ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180

gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcggcgata catcaaaaa cactgcttac 240

ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300

ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 5

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 6

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 6

ggattcaaca tcaaggacac ctac 24

<210> 7

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 7

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 8

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 8

agtcgatggg gaggagacgg attctacgct atggattat 39

<210> 9

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 9

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 10

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><

223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 10

atctatccca ctaatggata cacc 24

<210> 11

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 11

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

<210> 12

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 12

gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaadc cacctctgga 60
 gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgacctgt gaccgtgagt 120
 tggaactcag ggcacctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 180
 gggctgtact cctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 240

 tatactgca acgtgaatca taagcctca aatacaaaag tggacaagaa agtg 294

<210> 13

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 13

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

100 105 110

<210> 14

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 14

gtccagaac tgctgggagg acctagcgtg ttctgtttc cccctaagcc aaaagacact 60
 ctgatgattt ccaggactcc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc tcacaggac 120
 cccgaagtga agttcaactg gtacgtggat ggcgtggaag tgcataatgc taagacaaaa 180
 ccaagagagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtga gcgtgctgac cgtgctgcac 240

 caggactggc tgaacgggaa ggagtataag tgcaaagtca gtaataagcc cctgcctgct 300
 ccaatcgaaa aaaccatctc taaggccaaa 330

<210> 15

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

100 105

<210> 16

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 16

ggccagccaa gggagcccca ggtgtacaca ctgccacca gcagagacga actgaccaag 60

aaccaggtgt ccctgacatg tctggtgaaa ggcttctatc ctagtgatat tgctgtggag 120

tgggaatcaa atggacagcc agagaacaat tacaagacca cacctccagt gctggacagc 180

gatggcagct tcttctctgta ttccaagctg acagtgata aatctgatg gcagcagggg 240

aacgtgttta gttgttcagt gatgcatgaa gcctgcaca atcattacac tcagaagagc 300

ctgtccctgt ctcccggc 318

<210> 17

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 17

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 Thr Asp Tyr
 20 25 30

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

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

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

210 215 220

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

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

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

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

<210> 18

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 18

```

gaagtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cctgcgcctg      60
tcttgcgccg ctagtggctt cacttttacc gactacacca tggattgggt gcgacaggca      120

cctggaaagg gcctggagtg ggtcgccgat gtgaacccaa atagcggagg ctccatctac      180
aaccagcggg tcaagggccg gttcacccctg tcagtgacc ggagcaaaaa caccctgtat      240
ctgcagatga atagcctcgc agccgaagat actgctgtgt actattgcgc ccggaatctg      300
gggcctcct tctacttga ctattggggg cagggaactc tggtcaccgt gagctccgcc      360
tccaccaagg gaccttctgt gttccactg gctccctcta gtaaatccac atctggggga      420
actgcagccc tgggctgtct ggtgaagggc tacttcccag agcccgtcac agtgtcttgg      480
aacagtggcg ctctgacttc tggggtccac acctttctg cagtgtgaa gtcaagcggg      540

ctgtacagcc tgcctctgt ggtcaccgtg ccaagttaa gcctgggaac acagacttat      600
atctgcaacg tgaatcaaa gccatccaat acaaaagtcg acaagaaagt ggaaccaag      660
tcttgtgata aaaccatac atgccccct tgcctgcac cagagctgct gggaggacca      720
agcgtgttcc tgtttcacc caagcctaaa gataactga tgattagtag gaccccagaa      780
gtcacaatgc tggctgtgga cgtgagccac gaggaccccg aagtcaagt taactggtac      840
gtggacggcg tcgaggtgca taatgccaag actaaacca gggaggaaca gtacaacagt      900
acctatcgcg tcgtgtcagt cctgacagtg ctgcatcagg attggctgaa cgggaaagag      960

tataagtgca aagtgagcaa taaggctctg cccgcaccta tcgagaaaac aatttccaag      1020
gcaaaaggac agcctagaga accacaggtg tacgtgctgc ctccatcaag ggatgagctg      1080
acaaagaacc aggtcagcct gctgtgtctg gtgaaaggat tctatccctc tgacattgct      1140
gtggagtggg aaagtaatgg ccagcctgag acaattacc tgacctggcc cctgtgctg      1200
gactcagatg gcagcttctt tctgtatagc aagctgaccg tcgacaaatc ccggtggcag      1260
caggggaatg tgtttagtgt ttcagtcatg cagaggcac tgcacaacca ttacaccag      1320
aagtcactgt cactgtcacc agggg                                     1344

```

<210> 19

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 19

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 Thr Asp Tyr

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115

<210> 20

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 20

gaagtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cctgcgctg 60

tcttgcgccg ctagtggctt cacttttacc gactacacca tggattgggt gcgacaggca 120

cctggaagg gcctggagtg ggtcgccgat gtgaacccaa atagcggagg ctccatctac 180

aaccagcgg tcaagggccg gttcaccctg tcagtggacc ggagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga atagcctgcg agccgaagat actgctgtgt actattgcgc ccggaatctg 300

gggcctcct tctactttga ctattggggg caggggaactc tggtcaccgt gagctcc 357

<210> 21

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 21

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr

1 5

<210> 22

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 22

ggcttcactt ttaccgacta cacc 24

<210> 23

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 23

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 24

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 24

gcccggaatc tggggccctc cttctacttt gactat 36

<210> 25

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 25

Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 26

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide

<400> 26

gtgaacccaa atagcggagg ctcc 24

<210> 27

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 27

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 Gly 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 Lys 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

<210> 28

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 28

gcctccacca agggaccttc tgtgttccca ctggctccct ctagtaaac cacatctggg 60

ggaactgcag ccctgggctg tctggtgaag ggctacttcc cagagcccgt cacagtgtct 120

tggaacagtg gcgctctgac ttctggggtc cacaccttcc ctgcagtgtc gaagtcaagc 180

gggctgtaca gcctgtcctc tgtggtcacc gtgccaagtt caagcctggg aacacagact 240

tatatctgca acgtgaatca caagccatcc aatacaaaag tgcacaagaa agtg 294

<210> 29

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 29

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

1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100 105 110

<210> 30
 <211> 330
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 30
 gcaccagagc tgctgggagg accaagcgtg ttctgtttc cacccaagcc taaagataca 60

ctgatgatta gtaggacccc agaagtcaca tgcgtggtcg tggacgtgag ccacaggac 120
 cccgaagtca agtttaactg gtacgtggac ggcgtcgagg tgcataatgc caagactaaa 180
 cccaggagg aacagtacaa cagtacctat cgcgtcgtgt cagtcctgac agtgctgcat 240
 caggattggc tgaacgggaa agagtataag tgcaaagtga gcaataaggc tctgcccgca 300
 cctatcgaga aaacaatttc caaggcaaaa 330

<210> 31
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 31
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp
 1 5 10 15
 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Leu Cys Leu Val Lys Gly Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45
 Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 50 55 60

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

<210> 32

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 32

ggacagccta gagaaccaca ggtgtacgtg ctgcctccat caagggatga gctgacaaag 60
 aaccaggtca gcctgctgtg tctggtgaaa ggattctatc cctctgacat tgctgtggag 120
 tgggaaagta atggccagcc tgagaacaat tacctgacct ggccccctgt gctggactca 180
 gatggcagct tctttctgta tagcaagctg accgtcgaca aatcccgggtg gcagcagggg 240
 aatgtgttta gttgttcagt catgcacgag gcaactgcaca accattacac ccagaagtca 300
 ctgtcactgt caccaggg 318

<210> 33

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 33

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

20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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> 34
 <211> 642
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 34

gatattcaga tgaccagtc cccaagctcc ctgagtgctt cagtgggcga ccgagtcacc 60
atcacatgca aggcttccca ggatgtgtct attggagtcg catggtacca gcagaagcca 120
ggcaaagcac ccaagctgct gatctatagc gcctcctacc ggtataccgg cgtgcctct 180

agattctctg gcagtgggtc aggaacagac ttactctga ccatctctag tctgcagcct 240
gaggatttcg ctacctacta ttgccagcag tactatatct accatatac ctttggccag 300
gggacaaaag tggagatcaa gaggactgtg gccgctcctt ccgtttcat ttttcccct 360
tctgacgaac agctgaaaag tggcacagcc agcgtggtct gtctgctgaa caatttctac 420
cctcgcgaag ccaaagtgca gtggaaggtc gataacgctc tgcagagcgg caacagccag 480
gagtcctgta ctgaacagga cagtaaagat tcaacctata gcctgtcaag cacactgact 540
ctgagcaagg cagactacga gaagcacaaa gtgtatgctt gcgaagtcac acatcagggg 600

ctgtctctc ctgtgactaa gagctttaac agaggagagt gt 642

<210> 35

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 35

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 36

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 36

gatattcaga tgaccagtc cccaagctcc ctgagtcct cagtgggcca cagagtcacc 60
atcacatgca aggcttccca ggatgtgtct attggagtcg catggtacca gcagaagcca 120
ggcaaagcac ccaagctgct gatctatagc gcctcctacc ggtataccgg cgtgcctct 180
agattctctg gcagtgggtc aggaacagac ttactctga ccatctctag tctgcagcct 240
gaggatttcg ctacctacta ttgccagcag tactatatct accatatac ctttgccag 300

gggacaaaag tggagatcaa g 321

<210> 37

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 37

Gln Asp Val Ser Ile Gly

1 5

<210> 38

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 38

caggatgtgt ctattgga 18

<210

> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 39

Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 40

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 40

cagcagtact atatctaccc atatacc

27

<210> 41

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 41

Ser Ala Ser

1

<210> 42

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 42

agcgcctcc

9

<210> 43

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 43

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> 44

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 44

aggactgtgg ccgctccctc cgtcttcatt tttcccctt ctgacgaaca getgaaaagt	60
ggcacagcca gcgtggtctg tctgctgaac aatttctacc ctcgcaagc caaagtgcag	120
tggaaggtcg ataacgctct cgagagcggc aacagccagg agtctgtgac tgaacaggac	180
agtaaagatt caacctatag cctgtcaagc aactgactc tgagcaagc agactacgag	240
aagcacaag tgtatgcctg cgaagtcaca catcaggggc tgtcctctcc tgtgactaag	300

agctttaaca gaggagagtg t

321

<210> 45

<211> 222

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 45

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
1 5 10 15

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
 20 25 30

Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
 35 40 45

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
 50 55 60

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr
65 70 75 80

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
 85 90 95

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

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

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

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

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

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

<210> 46

<211> 666

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 46

gactacaaag acgacgatga caaagatatc cagatgaccc agtcccctag ctccctgtcc 60

gcttctgtgg gcgatagggt cactattacc tgcgcgcat ctcaggacgt gaacaccgca 120

gtcgcctggt accagcagaa gcctgggaaa gctccaaagc tgctgatcta cagtgcac 180

ttcctgtatt caggagtgcc cagccggttt agcggcagca gatctggcac cgattcaca 240

ctgactattt ctagtctgca gcctgaggac ttgcccacat actattgcca gcageactat 300

accacacccc ctactttcgg ccaggggacc aaagtggaga tcaagcgaac tgtggccgct 360

ccaagtgtct tcatttttcc acccagcgat gaaagactga agtccggcac agcttctgtg 420

gtctgtctgc tgaacaattt ttaccccaga gaggccaaag tgcagtggaa ggtcgacaac 480

gctctgcaga gtggcaacag ccaggagagc gtgacagaac aggattcaa agactctact 540

tatagtctgt caagcacct gacactgagc aaggcagact acgaaaagca taaagtgtat 600

gcctgtgagg tcacacatca ggggctgtca tcaccagtca ccaaatcatt caatcggggg 660

gagtgc 666

<210> 47

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<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 Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro

 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 100 105

<210> 48

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 48

gatatccaga tgaccagtc ccttagctcc ctgtccgctt ctgtgggcga tagggtcact 60

attacctgcc gcgcatctca ggacgtgaac accgcagtcg cctggtacca gcagaagcct 120

gggaaagctc caaagctgct gatctacagt gcatcattcc tgtattcagg agtgcccagc 180

cggtttagcg gcagcagatc tggcaccgat ttcacactga ctatttctag tctgcagcct 240

gaggactttg ccacatacta ttgccagcag cactatacca cacccttac tttcggccag 300

gggaccaaag tggagatcaa g 321

<210> 49

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 49

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1 5

<210>

50

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 50

caggacgtga acaccgca

18

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 51

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 52

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 52

cagcagcact ataccacacc ccctact

27

<210> 53

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 53

Ser Ala Ser

1

<210> 54

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 54

agtgcatca

9

<210> 55

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 55

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

1 5 10 15

Arg 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> 56

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 56

```

cgaactgtgg ccgctccaag tgtcttcatt tttccacca gcgatgaaag actgaagtcc      60
ggcacagctt ctgtggctcg tctgtgaac aatthttacc ccagagaggc caaagtgcag      120
tggaaagtcg acaacgctct gcagagtggc aacagccagg agagcgtgac agaacaggat      180
tccaaagact ctacttatag tctgtcaagc accctgacac tgagcaaggc agactacgaa      240
aagcataaag tgiatgctg tgaggtcaca catcaggggc tgtcatcacc agtcaccaaa      300

tcattcaatc ggggggagtg c                                             321
    
```

<210> 57

<211> 222

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 57

```

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

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

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Asp Glu Arg Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Ala

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

<210> 58

<211> 666

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 58

gactacaaag acgacgatga caaagatatac cagatgaccc agtcccttag ctcctgtcc 60

gcttctgtgg gcgatagggc cactattacc tgccgcgcat ctcaggacgt gaacaccgca 120

gtcgcctggt accagcagaa gcctgggaaa gctccaaagc tgctgatcta cagtgcac 180

ttctgtatt caggagtgcc cagccggttt agcggcagca gatctggcac cgatttaca 240

ctgactatct ctagtctgca gcctgaggac ttgccacat actattgcca gcagcactat 300

accacacccc ctactttcgg ccaggggacc aaagtggaga tcaagcgaac tgtggccgct 360

ccaagtgtct tcatttttcc acccagcgat gaaagactga agtccggcac agcttctgtg 420

gtctgtctgc tgaacaattt ttaccccaga gaggccaaag tgcagtggaa ggtcgacaac 480

gctctgcaga gtggcaacag caaggagagc gtgacagaac aggattccaa agactctact 540
 tatagtctgt caagcagact gacactgagc aaggcagact acgaaaagca taaagtgtat 600
 gcctgtgagg tcacacatca ggggctgtca tcaccagtca ccaaatcatt caatcggggg 660
 gagtgc 666

<210> 59

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 59

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

<210> 60

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 60

gatatccaga tgaccagtc ccctagctcc ctgtccgctt ctgtgggcga tagggcact 60
 attacctgcc gcgcatctca ggacgtgaac accgcagtcg cctggtacca gcagaagcct 120
 gggaaagctc caaagctgct gatctacagt gcatcattcc tgtattcagg agtgcccagc 180
 cggtttagcg gcagcagatc tggcaccgat ttcacactga ctatttctag tctgcagcct 240
 gaggactttg ccacatacta ttgccagcag cactatacca cacccttac ttcggccag 300
 gggaccaaag tggagatcaa g 321

<210> 61

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 61

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1 5

<210> 62

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 62

caggacgtga acaccgca 18

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 63

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 64

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 64

cagcagcact ataccacacc ccctact

27

<210> 65

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 65

Ser Ala Ser

1

<210> 66

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 66

agtgcatca

9

<210> 67

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 67

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

1

5

10

15

Arg 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 Lys Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Arg 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> 68

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 68

cgaactgtgg ccgctccaag tgtcttcatt ttccacca gcatgaaag actgaagtec 60
 ggcacagctt ctgtggtctg tctgtgaac aattttacc ccagagagc caaagtgcag 120
 tggaaggtcg acaacgctct gcagagtggc aacagcaagg agagcgtgac agaacaggat 180
 tccaaagact ctacttatag tctgtcaagc agactgacac tgagcaaggc agactacgaa 240
 aagcataaag tgtatgctg tgaggtcaca catcaggggc tgtcatcacc agtcacaaa 300
 tcattcaatc ggggggagtg c 321

<210> 69

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 69

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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> 70

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 70

```

gatattcaga tgaccagtc cccaagctcc ctgagtgcct cagtgggcga ccgagtcacc      60
atcacatgca aggettccca ggatgtgtct attggagtcg catggtacca gcagaagcca      120
ggcaaagcac ccaagctgct gatctatagc gcctcctacc ggtataccgg cgtgcctctt      180
agattctctg gcagtgggtc aggaacagac ttactctga ccatctctag tctgcagcct      240

gaggatttcg ctacctacta ttgccagcag tactatatct acccagccac ctttggccag      300
gggacaaaag tggagatcaa gaggactgtg gccgctcctt ccgtcttcat ttttcccctt      360
tctgacgaac agctgaaaag tggcacagcc agcgtggtct gtctgctgaa caatttctac      420
cctcgcgaag ccaaagtgca gtggaaggtc gataacgctc tgcagagcgg caacagccag      480
gagtctgtga ctgaacagga cagtaaagat tcaacctata gcctgtcaag cacactgact      540
ctgagcaagg cagactacga gaagcacaaa gtgtatgcct gcgaagtac acatcagggg      600
ctgtcctctc ctgtgactaa gagctttaac agaggagagt gt                          642
    
```

<210> 71

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 71

```

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
    
```

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

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

<210> 72

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 72

gatattcaga tgaccagtc cccaagctcc ctgagtgctt cagtgggcca cagagtcacc 60
 atcacatgca aggcttccca ggatgtgtct attggagtcg catggtacca gcagaagcca 120
 ggcaaagcac ccaagctgct gatctatagc gcctcctacc ggtataccgg cgtgcctctt 180
 agattctctg gcagtgggtc aggaacagac ttactctga ccatctctag tctgcagcct 240
 gaggatttcg ctacctacta ttgccagcag tactatatct acccagccac ctttgccag 300

 gggacaaaag tggagatcaa g 321

<210> 73

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 73

Gln Asp Val Ser Ile Gly
 1 5

<210> 74

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 74

caggatgtgt ctattgga 18

<210

> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 75

Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Ala Thr

1 5

<210> 76

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 76

cagcagtact atatctaccc agccacc 27

<210> 77

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 77

Ser Ala Ser

1

<210> 78

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 78

agcgcctcc

9

<210> 79

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 79

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> 80

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 80

aggactgtgg ccgctccctc cgttttcatt tttcccctt ctgacgaaca getgaaaagt 60

ggcacagcca gcgtggtctg tctgctgaac aatttctacc ctcgcaagc caaagtgcag 120

tggaaggtcg ataacgctct gcagagcggc aacagccagg agtctgtgac tgaacaggac 180
 agtaaagatt caacctatag cctgtcaagc aactgactc tgagcaaggc agactacgag 240
 aagcacaag tgatgcctg cgaagtcaca catcaggggc tgcctctcc tgtgactaag 300
 agctttaaca gaggagagtg t 321

<210> 81

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 81

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 Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Glu Val Thr Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

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

Gly

<210> 82

<211> 1347

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 82

gaggtgcagc tggtcgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggagggtc actgcgactg 60
 agctgcgcag cticcggctt caacatcaag gacacctaca ttactgggt cgccaggct 120
 cctggaaaag gcctggagtg ggtggcacga atctatcaa ctaatggata cacccggtat 180
 gccgactccg tgaagggccg gttcaccatt tetgcagata caagtaaaaa cactgcctac 240
 ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat acagccgtgt actattgcag ccgatgggga 300

 ggcgacggct tctacgctat ggattattgg gggcagggaa ccctggtcac agtgagctcc 360
 gcatcaacaa aggggcctag cgtgtttcca ctggccccct ctagtaaadc cacctctggg 420
 ggaacagcag ccctgggatg tgaggtgacc gactacttcc cagagcccgt cactgtgagc 480
 tggaaactccg ggcacctgac atctggggtc catacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540
 ggctgtaca gcctgtcctc tgtggtcact gtgccaaagt caagcctggg gactcagacc 600
 tataatctga acgtgaatca caagccatcc aataccaaac tcgacaagaa agtggaaacc 660
 aagtcttgtg ataaaacaca tacttgcccc ccttgtctctg caccagagct gctgggagga 720

 ccaagcgtgt tcctgtttcc acccaagcct aaagacacc tgatgattag taggactcca 780
 gaagtcaact gcgtggtcgt ggacgtgagc cagcaggacc ccgaagtcaa gttcaactgg 840
 tacgtggatg gcgtcgaggt gcataatgcc aagacaaaac ccagggagga acagtacaac 900
 tccacttate gcgtcgtgtc tgtcctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag 960
 gagtataagt gcaaagttag caataaggct ctgcccgcac ctatcgagaa aacaatttcc 1020
 aaggctaaag ggcagcctag agaaccacag gtgtacgtgt accctccatc tagggacgag 1080

ctgaccaaga accaggtcag tctgacatgt ctggtgaaag ggttctatcc cagcgatc 1140
 gcagtggagt ggaatccaa tggacagcct gagaacaatt acaagaccac acccctgtg 1200
 ctggactctg atggaagttt cgccctgggtg agtaagetga ccgtcgataa atcacgggtg 1260
 cagcagggca acgtgttcag ctgttcagtg atgcacgaag cactgcacaa ccactacacc 1320
 cagaaaagcc tgtccctgtc ccccggc 1347

<210> 83

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 83

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 Asn Ile Lys Asp Thr
	20	25	30
Tyr	Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35	40	45
Ala	Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val		
	50	55	60
Lys	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln		
	100	105	110
Gly	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
	115	120	

<210> 84

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 84

```
gaggtgcagc tggtcgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggagggtc actgcgactg      60
agctgcgcag cttccggctt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt cgccaggct      120
cctggaaaag gcctggagtg ggtggcacga atctatccaa ctaatggata cacccggtat      180
gccgactccg tgaagggccg gttcaccatt tctgcagata caagtaaaaa cactgcctac      240
ctgcagatga acagcctcg acgccgaagat acagccgtgt actattgcag ccgatgggga      300
ggcgcaggct tctacgctat ggattattgg gggcaggga ccctggtcac agtgagctcc      360
```

<210> 85

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 85

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 86

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 86

```
ggcttcaaca tcaaggacac ctac      24
```

<210> 87

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 87

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 88

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 88

agccgatggg gaggcgacgg cttctacgct atggattat 39

<210> 89

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 89

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 90

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 90

atctatccaa ctaatggata cacc 24

<210> 91

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 91

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 Glu Val Thr 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

<210> 92

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 92

gcatcaacaa aggggcctag cgtgtttcca ctggccccct ctagtaaadc cacctctggg 60
 ggaacagcag ccctgggatg tgaggtgacc gactacttcc cagagcccgt cactgtgagc 120

 tggaactccg ggcacctgac atctggggtc catacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 180
 ggctgtaca gcctgtcctc tgtggtcact gtgccaagtt caagcctggg gactcagacc 240
 tatactgca acgtgaatca caagccatcc aatacacaag tcgacaagaa agtg 294

<210> 93

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 93

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

 85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

 100 105 110

<210> 94

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 94

gcaccagagc tgctgggagg accaagcgtg ttctgtttc cacccaagcc taaagacacc 60

ctgatgatta gtaggactcc agaagtcacc tgcgtggtcg tggacgtgag ccacaggac 120

cccgaagtca agttcaactg gtacgtggat ggcgtcgagg tgcataatgc caagacaaaa 180

cccagggagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtgt ctgtcctgac cgtgctgcac 240

caggactggc tgaacggcaa ggagtataag tgcaaagtga gcaataagcc tctgcccgca 300

cctatcgaga aaacaatttc caaggctaaa 330

<210> 95

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 95

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp

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

65	70	75	80
Asn	Val	Phe	Ser
Cys	Ser	Val	Met
His	Glu	Ala	Leu
His	Asn	His	Tyr
85	90	95	
Thr	Gln	Lys	Ser
Leu	Ser	Leu	Ser
Pro	Gly		
100	105		

<210> 96

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 96

gggcagccta gagaaccaca ggtgtacgtg tacctccat ctagggacga gctgaccaag	60
aaccaggtca gtctgacatg tctggtgaaa gggttctatc ccagcgatat cgcagtggag	120
tggaatcca atggacagcc tgagaacaat tacaagacca caccctgt gctggactct	180
gatggaagtt tcgccctggt gagtaagctg accgtcgata aatcacggtg gcagcagggc	240
aacgtgttca gctgttcagt gatgcacgaa gcactgcaca accactacac ccagaaaagc	300
ctgtccctgt cccccgc	318

<210> 97

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 97

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 Ala Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

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

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

 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val
 340 345 350
 Tyr Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

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

<210> 98

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 98

```

gaggtgcagc tgggtggaatc aggagggggc ctggtgcagc ccggagggtc tctgcgactg      60
tcatgtgccg ctctcgggtt cactttcgca gactacacaa tggattgggt gcgacaggcc      120
cccggaaagg gactggagtg ggtgggcgat gtcaacccta attctggcgg gagtatctac      180
aaccagcggc tcaaggggag attcactttt tcagtggaca gaagcaaaaa caccctgtat      240
ctgcagatga acagcctgag ggccgaagat accgctgtct actattgcgc tcgcaatctg      300

ggccccagtt tctactttga ctattggggg caggaaccc tggtagacagt cagctccgct      360
agcactaagg ggccctccgt gtttccactg gctccctcta gtaaatccac ctctggaggc      420
acagctgcac tgggatgtct ggtgaaggat tacttccctg aaccagtcac agtgagtgg      480
aactcagggg ctctgacaag tggagtccat acttttcccg cagtgtctga gtcaagcggg      540
ctgtactccc tgtcctctgt ggtcaccgtg cctagttaa gcctgggcac ccagacatat      600
atctgcaacg tgaatcacia gccatcaaat acaaaagtcg acaagaaagt ggagcccaag      660
agctgtgata aaactcatic ctgcccacct tgtccggcgc cagaactgct gggaggacca      720

agcgtgttcc tgtttccacc caagcctaaa gacaccctga tgatttcccg gactcctgag      780
gtcacctgcg tggctgtgga cgtgtctcac gaggaccccg aagtcaagtt caactggtac      840
gtggatggcg tcgaagtgca taatgccaag accaaacccc gggaggaaca gtacaactct      900
acctatagag tcgtgagtggt cctgacagtg ctgcaccagg actggctgaa tgggaaggag      960
tataagtgta aagtgagcaa caaagccctg cccgccccaa tcgaaaaaac aatctctaaa      1020
gcaaaaggac agcctcgcga accacaggtc tacgtctacc ccccatcaag agatgaactg      1080
acaaaaaatc aggtctctct gacatgcctg gtcaaaggat tctacccttc cgacatcgcc      1140

gtggagtggg aaagtaacgg ccagcccgag acaattaca agaccacacc cctgtcctg      1200
gactctgatg ggagtttcgc tctggtgtca aagctgaccg tcgataaaaag ccggtggcag      1260
cagggcaatg tgtttagctg ctccgtcatg cacgaagccc tgcacaatca ctacacacag      1320
aagtccctga gcctgagccc tggc      1344

```

<210> 99

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 99

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 Ala Asp Tyr

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

 35 40 45
Gly Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe

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

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

 85 90 95
Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 100

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 100

gaggtgcagc tggtggaatc aggagggggc ctggtgcagc cgggagggtc tctgcgactg 60
tcatgtgccg cttctgggtt cactttcgca gactacacaa tggattgggt gcgacaggcc 120
cccggaaagg gactggagtg ggtggcgat gtcaacccta attctggcgg gagtatctac 180
aaccagcgg tcaaggggag attcactttt tcagtgagaca gaagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag ggccgaagat accgctgtct actattgcbc tcgcaatctg 300
 ggccccagtt tctactttga ctattggggg caggaaccc tggtagacagt cagctcc 357

<210> 101

<211

> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 101

Gly Phe Thr Phe Ala Asp Tyr Thr

1 5

<210> 102

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 102

gggttcactt tcgcagacta caca 24

<210> 103

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 103

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 104

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 104
 gctcgcaatc tgggccccag tttctacttt gactat 36
 <210> 105
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide
 <400> 105

 Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser
 1 5
 <210> 106
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 106
 gtcaacccta attctggcgg gagt 24
 <210> 107
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide
 <400> 107
 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

<210> 108

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 108

gctagcacta aggggccttc cgtgtttcca ctggctccct ctagtaaadc cacctctgga 60

ggcacagctg cactgggatg tctggtgaag gattacttcc ctgaaccagt cacagtgagt 120

tggaactcag gggctctgac aagtggagtc catacttttc cgcagtgct gcagtcaagc 180

ggactgtact cctgtcctc tgtggtcacc gtgcctagtt caagcctggg cacccagaca 240

tatatctgca acgtgaatca caagccatca aatacaaaag tgcacaagaa agtg 294

<210> 109

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 109

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

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

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 100 105 110

<210> 110

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 110

gcgccagaac tctgtggagg accaagcgtg ttctgtttc cacccaagcc taaagacacc 60
 ctgatgattt cccggactcc tgaggtcacc tgcgtggtcg tggacgtgtc tcacaggac 120

cccgaagtca agttcaactg gtacgtggat ggcgtcgaag tgcataatgc caagacaaa 180
 cccccggagg aacagtacaa ctctacctat agagtctga gtgtcctgac agtgctgcac 240
 caggactggc tgaatgggaa ggagtataag tgtaaagtga gcaacaaagc cctgcccgcc 300
 ccaatcgaaa aaacaatctc taaagcaaaa 330

<210> 111

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 111

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15

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

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

 65 70 75 80
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 85 90 95
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 100 105

<210> 112

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 112

ggacagcctc gcgaccaca ggtctacgtc tacccccat caagatga actgacaaaa 60

aatcaggtct ctctgacatg cctggcaca ggattctacc cttccgacat cgccgtggag 120

tgggaaagta acggccagcc cgagaacaat tacaagacca caccctgt cctggactct 180

gatgggagtt tcgctctggt gtcaaagctg accgtcgata aaagccgtg gcagcagggc 240

aatgtgttta gctgctcgt catgcacgaa gcctgcaca atactacac acagaagtcc 300

ctgagcctga gcctggc 318

<210> 113

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 113

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

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

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

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

 Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
 195 200 205
 Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
 210 215 220
 Glu Cys
 225
 <210> 114
 <211> 678
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 114

```
tatccctacg atgtgcctga ctacgtact ggctccgata tccagatgac ccagtctcca      60
agctccctga gtgcatcagt gggggaccga gtcacatca catgcaagc ttcccaggat      120
gtgtctattg gagtcgcatg gtaccagcag aagccaggca aagcaccaa gctgctgatc      180
tacagcgcct cctaccgcta tactggggtg cttccagat tctctggcag tgggtcagga      240
accgacttta ctctgacat ctctagtctg cagcccaggg atttcgccac ctactattgc      300
cagcagtact atatctacc ttataccttt ggccagggga caaaagtgga gatcaagagg      360
acagtggccc ctccaagtgt cttcattttt ccccttccg acgaagagct gaaaagtgga      420
actgcttcag tggctctgct gctgaacaat ttctaccccc gcgaagccaa agtgcagtgg      480
aaggtcgata acgctctgca gagcggcaat tccgaggagt ctgtgacaga acaggacagt      540
aaagattcaa cttatagcct gtcaagcaca ctggagctgt ctaaggcaga ctacgagaag      600
caciaagtgt atgcctgcga agtcacccat caggggctgt cctctcccgt gacaaagagc      660
ttaaacagag gagagtgt                                     678
```

<210> 115

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 115

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

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 116

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 116

gatatccaga tgaccagtc tccaagctcc ctgagtgcac cagtggggga ccgagtcacc 60

atcacatgca aggcttccca ggatgtgtct attggagtcg catggtacca gcagaagcca 120

ggcaaagcac ccaagctgct gatctacagc gcctcctacc ggtatactgg ggtgccttcc 180

agattctctg gcagtgggtc aggaaccgac tttactctga ccatctctag tctgcagccc 240

gaggatttgc ccacctacta ttgccagcag tactatatct acccttatac ctttggccag 300

gggacaaaag tggagatcaa g 321

<210> 117

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 117

Gln Asp Val Ser Ile Gly

1 5

<210> 118

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 118

caggatgtgt ctattgga

18

<210> 119

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 119

Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 120

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 120

cagcagtact atatctacc ttatacc

27

<210> 121

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 121

Ser Ala Ser

1

<210> 122

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 122

agcgcctcc

9

<210> 123

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 123

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

1 5 10 15

Glu 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 Glu Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

 50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Glu 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> 124

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 124

aggacagtgg ccgctccaag tgtcttcatt tttcccctt cgcacgaaga gctgaaaagt 60
 ggaactgctt cagtggctctg tctgtgaac aatttctacc cccgcaagc caaagtgcag 120
 tggaaggtcg ataacgctct gcagagcggc aattccgagg agtctgtgac agaacaggac 180
 agtaaagatt caacttatag cctgtcaagc aactggagc tgtctaagc agactacgag 240

aagcaciaag tgtatgcctg cgaagtcacc catcaggggc tgtcctctcc cgtgaciaag 300
 agctttaaca gaggagagtg t 321

<210> 125

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 125

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 Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30

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

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

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

145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

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

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

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

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly Lys
 450

<210> 126

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 126

gaagtccagc tggtcgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggagggtc tctgcgactg 60

agttgcgccg cttcaggctt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgccaggt 120

cctggaaaag gcctggagtg ggtggcacga atctatcaa ctaatggata cacccggtat 180

gcagacagcg tgaagggccg gttcaccatt agcgcagata catcaaaaa cactgcctac 240

ctgcagatga acagcctcgc agccaagat actgctgtgt actattgcag tcggtgggga 300

ggcgacggct tctacgctat ggattattgg gggcagggaa ccctggtcac agtgagctcc 360

gcatctaaa aggggcctag tgtgtttcca ctggccccct ctagtaaadc cacctctggg 420

ggaacagcag ccctgggatg tctggtgaag gactatttcc cagagcccgt cactgtgagt 480

tggaactcag gcgccctgac atccggggtc catacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540

ggcctgtact ctctgtcctc tgtggtcacc gtgccaagtt caagcctggg gactcagacc 600

tatatctgca acgtgaatca caagccaagc aatacaaaag tcgacaagaa agtggaaacc 660

aagagctgtg ataaacaca tacttgcccc cctgtgtctg caccagagct gctgggagga 720

ccatccgtgt tctgtttcc acccaagcct aaagacaccc tgatgatttc caggactcca 780

gaagtccact gcgtggtcgt ggacgtgtct cagcaggacc ccgaagtcaa gttcaactgg 840

tacgtggatg gcgtcgaggt gcataatgcc aagacaaaac ccaggggagga acagtacaac 900

tcaacttacc gcgtcgtgag cgtcctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag 960

gagtataagt gcaaagtgag caataaggct ctgcccgcac ctatcgagaa aaccattagc 1020
 aaggccaaag ggcagcctag agaaccacag gtctacgtgt atcctccaag cagggacgag 1080
 ctgaccaaga accaggctctc cctgacatgt ctggtgaaag ggttttacc cagtgatatc 1140
 gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcct gaaaacaatt ataagaccac accccctgtg 1200
 ctggacagcg atggcagctt cgctctggtc tccaagctga ctgtggataa atctcgggtg 1260
 cagcagggca acgtcttttag ttgttcagtg atgcatgagg cactgcacaa tcattacacc 1320

cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 127

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 127

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 128

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 128

gaagtccagc tggtcgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggagggtc tctgcgactg 60
 agttgcgccg cttcaggctt caacatcaag gacacctaca ttactgggt gcgccaggct 120
 cctggaaaag gcctggagtg ggtggcacga atctatccaa ctaatggata cacccggtat 180

gcagacagcg tgaagggccg gttcaccatt agcgcagata catcaaaaa cactgcctac 240
 ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat actgctgtgt actattgcag tcggtgggga 300
 ggcgacggct tctacgctat ggattattgg gggcagggaa ccctggtcac agtgagctcc 360

<210> 129

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 129

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 130

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<

220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 130

ggcttcaaca tcaaggacac ctac 24

<210> 131

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 131

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 132

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 132

agtcggtggg gaggcgacgg cttctacgct atggattat 39

<210> 133

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 133

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 134

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 134

atctatcaa ctaatggata cacc 24

<210> 135

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 135

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

<210> 136

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 136

gcatctacaa aggggcctag tgtgtttcca ctggccccct ctagtaaate cacctctggg 60

ggaacagcag ccctgggatg tctggtgaag gactatttcc cagagcccgt cactgtgagt 120

tggaactcag ggcacctgac atccggggtc catacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 180

ggcctgtact ctctgtcctc tgtggtcacc gtccaagtt caagcctggg gactcagacc 240

tatatctgca acgtgaatca caagccaagc aatacaaaag tgcacaagaa agtg 294

<210> 137

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 137

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

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

<210> 138

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 138

gcaccagagc tgetgggagg accatccgtg ttctgtttc cacccaagcc taaagacacc 60
 ctgatgattt ccaggactcc agaagtcacc tgcgtggtcg tggacgtgtc tcacgaggac 120
 cccgaagtca agttcaactg gtacgtggat ggcgtcgagg tgcataatgc caagacaaaa 180
 cccaggaggg aacagtacaa ctcaacttat cgcgtcgtga gcgtcctgac cgtgctgcac 240
 caggactggc tgaacggcaa ggagtataag tgcaaagtga gcaataaggc tctgcccgca 300
 cctatcgaga aaaccattag caaggccaaa 330

<210> 139

<211> 106

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 139

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15

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

 20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

 35 40 45

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

 50 55 60

Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

 85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

 100 105

<210> 140

<211> 318

<212>

DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 140

gggcagccta gagaaccaca ggtctactgt tatcctccaa gcaggacga gctgaccaag 60

aaccaggtct cctgacatg tctggtgaaa gggttttacc ccagtgatat cgctgtggag 120

tgggaatcaa atggacagcc tgaaaacaat tataagacca caccctgt gctggacagc 180

gatggcagct tcgctctggt ctccaagctg actgtggata aatctcgggt gcagcagggc 240

aacgtcttta gttgttcagt gatgcatgag gcaactgcaca atcattacac ccagaagagc 300

ctgtccctgt ctccccgc

318

<210> 141

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 141

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

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

 20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

 35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

 85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

 100 105 110

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

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Ile Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Arg Tyr

 165 170 175

Met Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

 180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 195 200 205
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 210 215 220
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230

<210> 142

<211> 696

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 142

gagcccaaga gcagcgataa gaccacacacc tgcctccct gtccagctcc agaactgctg 60
 ggaggaccta gcgtgttct gtttccccct aagccaaaag acactctgat gatttccagg 120
 actcccgagg tgacctgct ggtggtggac gtgtctcagc aggaccccga agtgaagtcc 180
 aactggtacg tggatggcgt ggaagtgcac aatgctaaga caaaaccaag agaggaacag 240
 tacaactcca cttatcgcgt cgtgagcgtg ctgaccgtgc tgcaccagga ctggctgaac 300

 gggaaggagt ataagtcaa agtcagtaat aaggccctgc ctgctccaat cgaaaaaacc 360
 atctctaagg ccaaaggcca gccaaaggag ccccaggtgt acacactgcc acccagcaga 420
 gacgaactga ccaagaacca ggtgtccctg atctgtctgg tgaaggctt ctatcctagt 480
 gatattgctg tggagtggga atcaaatgga cagccagaga acagatacat gacctggcct 540
 ccagtgtgg acagcgtgg cagcttcttc ctgtattcca agctgacagt ggataaatct 600
 cgatggcagc aggggaacgt gtttagttgt tcagtgatgc atgaagcct gcacaatcat 660
 tacactcaga agagcctgtc cctgtctccc ggcaaa 696

<210> 143

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 143

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

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

<210> 144

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 144

gctccagaac tgetgggagg acctagcgtg ttctgtttc ccctaagcc aaaagacact 60
 ctgatgattt ccaggactcc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc tcacaggac 120
 cccaagtga agttcaactg gtacgtgatg ggcgtggaag tgcataatgc taagacaaaa 180
 ccaagagagg aacagtacaa ctccaattat cgcgtcgtga gcgtgctgac cgtgctgcac 240
 caggactggc tgaacgggaa ggagtataag tgcaaagtca gtaataaggc cctgcctgct 300

 ccaatcgaag aaaccatctc taaggccaaa 330

<210> 145

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 147

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

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

465 470 475 480

Lys

<210> 148

<211> 1443

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 148

gacatccaga tgacctcagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtc ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca 180

agttcagtg gcagtcgac tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattaacta cccaccacac ttcggccaa 300

gggaccaaag tggagatcaa aggtggttct ggtggtggtt ctggtggtgg ttctggtggt 360

ggttctgggt gtggttctgg tgaagtgcag ctggtggagt ctggggagg cttggtacag 420

cctggcgggt ccctgagact ctctgtgca gcctctggat tcaacattaa agatacttat 480

atccactggg tccggcaagc tccaggaag ggcctggagt gggtcgcacg tatttatccc 540

acaaatggtt acacacgcta tgcggactct gtgaaggcc gattcacat ctccgcagac 600

acttcaaga acaccgcta tctgcaatg aacagtctga gagctgagga cacggccgtt 660

tattactggt caagatgggg cggagacggt ttctacgcta tggactactg gggccaaggg 720

accctggtca ccgtctctc agcccccag cccaagagca gcgataagac ccacacctgc 780

cctcctgtc cagctccaga actgctggga ggacctagcg tgttctggt tcccctaag 840

ccaaaagaca ctctgatgat ttccaggact cccgagtgta cctgcgtggt ggtggacctg 900

tctcacgagg acccgaagt gaagtcaac tggtagtgg atggcgtgga agtgcataat 960

gctaagaca aaccaagaga ggaacgtac aactcactt atcgctcgt gacgtgctg 1020

accgtgctgc accaggactg gctgaacggg aaggagtata agtgcaaagt cagtaataag 1080

gcctgcctg ctccaatga aaaaaccatc tctaaggcca aaggccagcc aaggagccc 1140

caggtgtaca cataccacc cagcagagac gaactgacca agaaccaggt gtccctgaca 1200

tgtctggtga aaggcttcta tctagtgat attgctgtgg agtgggaatc aatggacag 1260

ccagagaaca attacaagac cacacctcca gtgctggacg aggatggcag cttcgccctg 1320
 gtgtccaagc tgacagtgga taaatctcga tggcagcagg ggaacgtgtt tagttgttca 1380
 gtgatgcatg aagccctgca caatcattac actcagaaga gcctgtccct gtctcccggc 1440
 aaa 1443

<210> 149

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 149

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

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

<210> 150

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 150

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtcgata tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattacacta ccccaccac ttcggccaa 300
 gggaccaaag tggagatcaa a 321

<210> 151

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 151

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1 5

<210> 152

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 152

caggacgtta acaccgct 18

<210> 153

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<

<400> 153

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 154

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 154

caacagcatt acactacccc acccaact

27

<210> 155

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 155

Ser Ala Ser

1

<210> 156

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 156

tctgcatcc

9

<210> 157

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 157

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 158

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 158

gaagtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcgggtc cctgagactc 60

tctgtgtagc ccctctggatt caacattaaa gatacttata tccactgggt cggcaagct 120

ccagggaagg gcctggagtg ggtcgcacgt atttatccca caaatggtta cacacggtat 180

gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccgagaca cttccaagaa caccgcgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgttt attactgttc aagatggggc 300

ggagacggtt tctacgctat ggactactgg ggccaagga ccctggtcac cgtctcctca 360

<210> 159

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide
 <400> 159
 Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
 1 5

<210> 160
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 160
 ggattcaaca ttaaagatac ttat 24

<210> 161
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 161
 Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 162
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 162
 tcaagatggg gcggagacgg tttctacgct atggactac 39

<210> 163
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 163

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 164

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 164

atttatccca caaatggtta caca

24

<210> 165

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 165

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100 105 110

<210> 166

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 166

gctccagaac tgctgggagg acctagcgtg ttctgtttc cccctaagcc aaaagacact 60
ctgatgattt ccaggactcc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc tcacaggac 120
cccgaagtga agttcaactg gtacgtggat ggcgtggaag tgcataatgc taagacaaaa 180
ccaagagagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtga gcgtgctgac cgtgctgcac 240

caggactggc tgaacgggaa ggagtataag tgcaaagtca gtaataagcc cctgcctgct 300
ccaatcgaaa aaaccatctc taaggccaaa 330

<210> 167

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 167

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Tyr Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Glu Asp Gly Ser Phe

50 55 60

Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85

90

95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

100

105

<210> 168

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 168

ggccagccaa gggagcccca ggtgtacaca taccaccca gcagagacga actgaccaag 60
aaccaggtgt ccctgacatg tctggtgaaa ggcttctatc ctagtgatat tgctgtggag 120
tgggaatcaa atggacagcc agagaacaat tacaagacca cacctccagt gctggacgag 180
gatggcagct tcgccttggg gtccaagctg acagtggata aatctcgatg gcagcagggg 240

aacgtgttta gttgttcagt gatgcatgaa gcctgcaca atcattacac tcagaagagc 300
ctgtccctgt ctcccggc 318

<210> 169

<211> 481

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 169

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 325 330 335

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 340 345 350

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 355 360 365

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 370 375 380

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ile
 385 390 395 400

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 405 410 415

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Arg Tyr Met Thr Trp Pro Pro Val Leu
 420 425 430

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 435 440 445

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 450 455 460

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 465 470 475 480

Lys

<210> 170

<211> 1443

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 170

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtcgac tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattacacta cccacccac tttcggccaa 300

 gggaccaaag tggagatcaa aggtggttct ggtggtggtt ctggtggtgg tctggtggt 360
 ggttctggtg gtggttctgg tgaagtgcag ctggtggagt ctgggggagg cttggtacag 420
 cctggcgggt ccctgagact ctctgtgca gcctctggat tcaacattaa agatacttat 480
 atccactggg tccgcaagc tccaggaag ggcctggagt gggtcgcagc tatttatccc 540
 acaaatggtt acacacggtg tgcggactct gtgaagggcc gattcacat ctccgcagac 600
 acttccaaga acaccgcta tctgcaaatg aacagtctga gagctgagga cacggccgtt 660
 tattactgtt caagatgggg cggagacggt ttctacgcta tggactactg gggccaaggg 720

 acctggtca ccgtctctc agccgccgag cccaagagca gcgataagac ccacacctgc 780
 cctccctgtc cagctccaga actgctggga ggacctagcg tgttctgtt tcccctaag 840
 ccaaagaca ctctgatgat ttccaggact cccgagtgga cctgcgtggt ggtggactg 900
 tctcacgagg accccaagt gaagtcaac tggtagtgg atggcgtgga agtgcataat 960
 gctaagaca aaccaagaga ggaacagtac aactccactt atcgcgtcgt gagcgtgctg 1020
 accgtgctgc accaggactg gctgaacggg aaggagtata agtgcaaagt cagtaataag 1080
 gccctgctg ctccaatcga aaaaaccatc tctaaggcca aaggccagcc aaggagccc 1140

 caggtgtaca cactgccacc cagcagagac gaactgacca agaaccaggt gtcctgatc 1200
 tgtctggtga aaggcttcta tcttagtgat attgctgtgg agtgggaatc aatggacag 1260
 ccagagaaca gatacatgac ctggcctcca gtgctggaca gcgatggcag ctcttctctg 1320
 tattccaagc tgacagtgga taaatctcga tggcagcagg ggaacgtggt tagttgttca 1380
 gtgatcatg aagccctgca caatcattac actcagaaga gcctgtccct gtctcccggc 1440
 aaa 1443

<210> 171

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 171

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

1 5 10 15

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

<210> 172

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 172

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtcgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattacacta ccccaccac ttcggccaa 300
 gggaccaaag tggagatcaa a 321

<210> 173

<211

> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 173

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1 5

<210> 174

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 174

caggacgtta acaccgct

18

<210> 175

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 175

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 176

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 176

caacagcatt aactacccc acccact

27

<210> 177

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 177

Ser Ala Ser

1

<210> 178

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 178

tctgcatcc

9

<210> 179

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 179

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 180

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 180

gaagtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcgggtc cctgagactc 60

tctctgtcag cctctggatt caacattaa gatacttata tccactgggt cgggcaagct 120

ccagggaagg gcctggagtg ggtcgcacgt atttatccca caaatggta cacacggtat 180

gcgactctg tgaagggccg attcaccatc tccgcagaca cttccaagaa caccgctat 240

ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgttt attactgttc aagatggggc 300

ggagacggtt tctacgtat ggactactgg ggccaagga ccttggtcac cgtctcctca 360

<210> 181

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 181

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 182

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 182

ggattcaaca ttaaagatac ttat 24

<210> 183

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 183

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 184

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 184

tcaagatggg gcggagacgg tttctacgct atggactac

39

<210> 185

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 185

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210>

186

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 186

atttatccca caaatgggta caca

24

<210> 187

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 187

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 100 105 110

<210> 188

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 188

gtc ccagaac tgetgggagg acctagcgtg ttctgtttc ccctaagcc aaaagacact 60
 ctgatgattt ccaggactcc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc tcacaggac 120

cccgaagtga agttcaactg gtacgtggat ggcgtggaag tgcataatgc taagacaaaa 180

ccaagagagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtga gcgtgctgac cgtgctgcac 240

caggactggc tgaacgggaa ggagtataag tgcaaagtca gtaataaggc cctgcctgct 300

ccaatcgaaa aaaccatctc taaggccaaa 330

<210> 189

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 189

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

1 5 10 15
Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ile Cys Leu Val Lys Gly Phe

 20 25 30
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

 35 40 45
Asn Arg Tyr Met Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

 50 55 60
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

 85 90 95
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

 100 105

<210> 190

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 190

ggccagccaa gggagcccca ggtgtacaca ctgccacca gcagagacga actgaccaag 60

aaccaggtgt ccctgatctg tctggtgaaa ggcttctatc ctagtgatat tgctgtggag 120

tgggaatcaa atggacagcc agagaacaga tacatgacct ggcctccagt gctggacagc 180

gatggcagct tcttcctgta ttccaagctg acagtggata aatctcgatg gcagcagggg 240
 aacgtgttta gttgttcagt gatgcatgaa gcctgcaca atcattacac tcagaagagc 300
 ctgtccctgt ctcccggc 318

<210> 191

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 191

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

 Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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> 192

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 192

gatattcaga tgaccagtc ccctagctcc ctgtccgctt ctgtgggcga cagggtcact 60
 atcacctgcc gcgcatctca ggatgtgaac accgcagtcg cctggtacca gcagaagcct 120
 gggaaagctc caaagctgct gatctacagt gcatcattcc tgtattcagg agtgcccagc 180

cggtttagcg gcagcagatc tggcaccgac ttcacactga ctatctctag tctgcagcct 240
 gaggattttg ccacatacta ttgccagcag cactatacca cacccttac tttcggccag 300
 gggaccaaag tggagatcaa gcgaactgtg gccgctcaa gtgtcttcat tttccacc 360
 agcgacgaac agctgaaatc cggcacagct tctgtggtct gtctgctgaa caacttctac 420
 cccagagagg ccaaagtca gtggaaggc gataacgctc tgcagagtgg caacagccag 480
 gagagcgtga cagaacagga ctccaaagat tctacttata gtctgtcaag caccctgaca 540
 ctgagcaagg cagactacga aaagcataaa gtgtatgcct gtgaggtgac ccatcagggg 600

ctgtcttctc ccgtgaccaa gtctttcaac cgaggcgaat gt 642

<210> 193

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 193

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

<400> 195

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1 5

<210> 196

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 196

caggatgtga acaccgca

18

<210> 197

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 197

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 198

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 198

cagcagcact ataccacacc ccctact

27

<210> 199

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide
 <400> 199
 Ser Ala Ser
 1
 <210> 200
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 200
 agtgcacca
 <210> 201
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

9

polypeptide
 <400> 201
 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> 202

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 202

```

cgaactgtgg ccgtccaag tgtcttcatt ttccacca gcgacgaaca gctgaaatcc      60

ggcacagctt ctgtggtctg tctgctgaac aacttctacc ccagagaggc caaagtgcag    120
tggaaagtcg ataacgctct gcagagtggc aacagccagg agagcgtgac agaacaggac    180
tccaaagatt ctacttatag tctgtcaagc acctgacac tgagcaaggc agactacgaa    240
aagcataaag tgiatgctg tgaggtgacc catcaggggc tgtcttctcc cgtgaccaag    300
tctttcaacc gaggcgaatg t                                           321
    
```

<210> 203

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 203

```

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

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65           70           75           80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
    
```

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

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

340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Leu		
355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
435	440	445

<210> 204

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 204

gaagtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cctgcgcctg	60
tcttgcgccg ctagtggctt cacttttacc gactacacca tggattgggt gcgacaggca	120
cctggaaagg gcctggagtg ggtcgccgat gtgaaccaa atagcggagg ctccatctac	180
aaccagcggc tcaagggccg gttcacctg tcagtggacc ggagcaaaaa caccctgtat	240
ctgcagatga atagcctgcg agccgaagat actgctgtgt actattgcgc ccggaatctg	300
gggccctcct tctactttga ctattggggg cagggaaactc tggtcaccgt gagctccgcc	360
tccaccaagg gaccttctgt gttcccactg gctccctcta gtaaateccac atctggggga	420
actgcagccc tgggctgtct ggtgaaggac tacttcccag agcccgtcac agtgtcttgg	480
aacagtggcg ctctgacttc tggggtccac acctttctg cagtgtgca gtcaagcggg	540
ctgtacagcc tgtcctctgt ggtcacctg ccaagttcaa gcctgggaac acagacttat	600
atctgcaacg tgaatcaca gccatccaat acaaaagtcg acaagaaagt ggaaccaag	660

tcttgtgata aaaccatac atgccccct tgcctgcac cagagctgct gggaggacca 720

agcgtgttcc tgtttcacc caagcctaaa gatacactga tgattagtag gaccccagaa 780

gtcacatgcg tggctgtgga cgtgagccac gaggaccccg aagtcaagtt taactggtac 840

gtggacggcg tcgaggtgca taatgccaag actaaacca gggaggaaca gtacaacagt 900

acctatcgcg tcgtgtcagt cctgacagtg ctgcatcagg attggctgaa cgggaaagag 960

tataagtgca aagtgagcaa taaggctctg cccgcaccta tcgagaaaac aatttccaag 1020

gcaaaaggac agcctagaga accacaggtg tacgtgctgc ctccatcaag ggatgagctg 1080

acaaagaacc aggtcagcct gctgtgtctg gtgaaaggat tctatccctc tgacattgct 1140

gtggagtggg aaagtaatgg ccagcctgag aacaattacc tgacctggcc ccctgtgctg 1200

gactcagatg gcagcttctt tctgtatagc aagctgaccg tcgacaaaac ccggtggcag 1260

caggggaatg tgtttagtgt ttcagtcatg cagaggcac tgcacaacca ttacaccag 1320

aagtcactgt cactgtcacc aggg 1344

<210> 205

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 205

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 Thr Asp Tyr

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

 35 40 45
 Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe

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

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

 85 90 95

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 206

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 206

gaagtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cctgcgctg	60
tcttgcgccg ctagtggctt cacttttacc gactacacca tggattgggt gcgacaggca	120
cctggaaagg gctggagtg ggctgccgat gtgaacccaa atagcggagg ctccatctac	180
aaccagcggg tcaagggccg gttcacctg tcagtggacc ggagcaaaaa caccctgtat	240
ctgcagatga atagcctgcg agccgaagat actgctgtgt actattgcgc ccggaatctg	300
gggcctcct tctactttga ctattggggg caggaactc tggtcaccgt gagctcc	357

<210> 207

<211

> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 207

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr

1 5

<210> 208

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 208

ggcttcactt ttaccgacta cacc 24
 <210> 209
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide
 <400> 209
 Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 210
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 210
 gcccggaatc tggggcctc cttctacttt gactat 36
 <210> 211
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide
 <400> 211

 Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser
 1 5
 <210> 212
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 212

gtgaacccaa atagcggagg ctcc

24

<210> 213

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 213

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
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
	85	90	95
Lys Val			

<210> 214

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 214

gcctccacca agggaccttc tgtgttccca ctggctecct ctagtaaacc cacatctggg

60

ggaactgcag ccctgggctg tctggtgaag gactacttcc cagagcccgt cacagtgtct

120

tggaacagtg gcgctctgac ttctggggtc cacacctttc ctgcagtgct gcagtcaagc 180
 gggctgtaca gcctgtcctc tgtggtcacc gtgccaagtt caagcctggg aacacagact 240
 tataatctgca acgtgaatca caagccatcc aatacaaaag tcgacaagaa agtg 294

<210> 215

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 215

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 100 105 110

<210> 216

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 216

gcaccagagc tgctgggagg accaagcgtg ttctgtttc cacccaagcc taaagataca 60

ctgatgatta gtaggacccc agaagtcaca tgcgtggtcg tggacgtgag ccacgaggac 120
 cccgaagtca agtttaactg gtacgtggac ggcgtcgagg tgcataatgc caagactaaa 180
 cccagggagg aacagtacaa cagtacctat cgcgtcgtgt cagtcctgac agtgctgcat 240
 caggattggc tgaacgggaa agagtataag tgcaaagtga gcaataaggc tctgcccgca 300
 cctatcgaga aaacaatttc caaggcaaaa 330

<210> 217

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 217

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

1 5 10 15
 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Leu Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45
 Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

50 55 60
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

100 105

<210> 218

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 218

ggacagccta gagaaccaca ggtgtacgtg ctgcctccat caagggatga gctgacaaag 60

aaccaggtea gectgctgtg tctggtgaaa ggattctatc cctctgacat tgctgtggag 120

tgggaaagta atggccagcc tgagaacaat tacctgacct ggccccctgt gctggactca 180

gatggcagct tctttctgta tagcaagctg accgtcgaca aatcccgtg gcagcagggg 240

aatgtgttta gttgttcagt catgcacgag gcaactgcaca accattacac ccagaagtca 300

ctgtcactgt caccaggg 318

<210> 219

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 219

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 Thr Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

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

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

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

 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val
 340 345 350
 Tyr Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

gcaaaaggac agcctagaga accacagggtg tacgtgtatc ctccatcaag ggatgagctg 1080
 acaaagaacc aggtcagcct gacttgtctg gtgaaaggat tctatccctc tgacattgct 1140

 gtggagtggg aaagtaatgg ccagcctgag aacaattaca agaccacacc cectgtgctg 1200
 gactcagatg gcagcttcgc gctggtgagc aagctgaccg tcgacaaatc cgggtggcag 1260
 cagggaatg tgtttagttg ttcagtcatg cagaggcac tgcacaacca ttacaccag 1320
 aagtcactgt cactgtcacc aggg 1344

<210> 221

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 221

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
	Thr	Asp	Tyr
	20	25	30
Thr	Met	Asp	Trp
	Val	Arg	Gln
	Ala	Pro	Gly
	Lys	Gly	Leu
	Glu	Trp	Val
	35	40	45
Ala	Asp	Val	Asn
	Pro	Asn	Ser
	Gly	Gly	Ser
	Ile	Tyr	Asn
	Gln	Arg	Phe
	50	55	60
Lys	Gly	Arg	Phe
	Thr	Leu	Ser
	Val	Asp	Arg
	Ser	Lys	Asn
	Thr	Leu	Tyr
	65	70	75
Leu	Gln	Met	Asn
	Ser	Leu	Arg
	Ala	Glu	Asp
	Thr	Ala	Val
	Tyr	Tyr	Cys
	85	90	95
Ala	Arg	Asn	Leu
	Gly	Pro	Ser
	Phe	Tyr	Phe
	Asp	Tyr	Trp
	Gly	Gln	Gly
	100	105	110
Thr	Leu	Val	Thr
	Val	Ser	Ser
	115		

<210> 222

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 222

```

gaagtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cctgcgctg      60
tcttgcgccg ctagtggctt cacttttacc gactacacca tggattgggt gcgacaggca      120
cctggaaagg gcctggagtg ggtcgccgat gtgaaccaa atagcggagg ctccatctac      180
aaccagcggg tcaagggccg gttcacctg tcagtggacc ggagcaaaaa caccctgtat      240
ctgcagatga atagcctcgc agccgaagat actgctgtgt actattgcbc ccggaatctg      300
gggcctcct tctactttga ctattggggg caggaactc tggtcaccgt gagctcc      357
    
```

<210> 223

<211

> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 223

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr

1 5

<210> 224

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 224

```

ggcttcactt ttaccgacta cacc      24
    
```

<210> 225

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 225

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 226

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 226

gcccggaatc tggggccctc cttctacttt gactat 36

<210> 227

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 227

Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 228

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 228

gtgaacccaa atagcggagg ctcc 24

<210> 229

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 229

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

<210> 230

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 230

gcctccacca agggaccttc tgtgttccca ctggctcct ctagtaaadc cacatctggg 60
 ggaactgcag cctgggctg tctggtgaag gactacttcc cagagcccg t cacagtgtct 120

 tggaacagtg gcgctctgac ttctggggtc cacacctttc ctgcagtgtc gcagtcaagc 180
 gggctgtaca gcctgtcctc tgtggtcacc gtgccaagtt caagcctggg aacacagact 240
 tatactgca acgtgaatca caagccatcc aatacaaaag tgcacaagaa agtg 294

<210> 231

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 231

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

 85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

 100 105 110

<210> 232

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 232

gcaccagagc tgctgggagg accaagcgtg ttctgtttc cacccaagcc taaagataca 60

ctgatgatta gtaggacccc agaagtcaca tgcgtggtcg tggacgtgag ccacaggac 120

cccgaagtca agtttaactg gtacgtggac ggcgtcgagg tgcataatgc caagactaaa 180

cccaggagg aacagtacaa cagtacctat cgcgtcgtgt cagtctgac agtgctgcat 240

caggattggc tgaacgggaa agagtataag tgcaaagtga gcaataaggc tctgcccgca 300

cctatcgaga aaacaatttc caaggcaaaa 330

<210> 233

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 233

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15
 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

 20 25 30
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

 50 55 60
 Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

 85 90 95
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

 100 105

<210> 234

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 234

ggacagccta gagaaccaca ggtgtacgtg ttcctccat caaggatga gctgacaaag 60

aaccaggtca gcctgacttg tctggtgaaa ggattctatc cctctgacat tgctgtggag 120

tgggaaagta atggccagcc tgagaacaat tacaagacca caccctgt gctggactca 180

gatggcagct tcgcgctggt gagcaagctg accgtcgaca aatcccggtg gcagcagggg 240

aatgtgttta gttgttcagt catgcacgag gcactgcaca accattacac ccagaagtca 300

ctgtcactgt caccaggg 318

<210> 235

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 235

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 Asn Ile Lys Asp Thr

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

 100 105 110

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

 115 120 125

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

 130 135 140

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

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435

440

445

Gly Lys

450

<210> 236

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 236

```

gaggtgcagc tggaggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg      60
agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttactgggt gcgacaggct      120
ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat      180
gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgcgata catccaaaaa cactgcttac      240
ctgcagatga acagcctcgc agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga      300

ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc      360
gcctctacca agggccccag tgtgttccc ctggctcctt ctagtaaatic cacctctgga      420
gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc cggagcctgt gaccgtgagt      480
tggaaactcag ggcacctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc      540
gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtgccaaagt caagcctggg cacacagact      600
tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc      660
aagagctgtg ataagacca cacctgcctt ccctgtccag ctccagaact gctgggagga      720

cctagcgtgt tcctgtttcc ccctaagcca aaagactc tgatgatttc caggactccc      780
gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtct cagcaggacc ccgaagtga gttcaactgg      840
tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac      900
tccacttate gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag      960
gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaaaa aacctctct      1020
aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgt acccaccag cagagacgaa      1080
ctgaccaaga accaggtgtc cctgacatgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt      1140

gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacaatt acaagaccac acctccagtg      1200
ctggacagcg atggcagctt cgccctggtg tccaagctga cagtgataa atctcgatgg      1260

```

cagcagggga acgtgttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 237

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 237

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	Ala	Ser
	Gly	Phe	Asn
	Ile	Lys	Asp
	Thr		
	20	25	30
Tyr	Ile	His	Trp
	Val	Arg	Gln
	Ala	Pro	Gly
	Lys	Gly	Leu
	Glu	Trp	Val
	35	40	45
Ala	Arg	Ile	Tyr
	Pro	Thr	Asn
	Gly	Tyr	Thr
	Arg	Tyr	Ala
	Asp	Ser	Val
	50	55	60
Lys	Gly	Arg	Phe
	Thr	Ile	Ser
	Ala	Asp	Thr
	Ser	Lys	Asn
	Thr	Ala	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	Trp	Gly
	Gly	Gly	Asp
	Gly	Phe	Tyr
	Ala	Met	Asp
	Tyr	Trp	Gly
	Gln		
	100	105	110
Gly	Thr	Leu	Val
	Thr	Val	Ser
	Ser		
	115	120	

<210> 238

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 238

gaggtgcagc tggaggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60
 agttgcgcc cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120
 ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180
 gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgcgata catccaaaaa cactgcttac 240
 ctgcagatga acagcctcgc agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300
 ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360

<210> 239

<211

> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 239

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 240

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 240

ggattcaaca tcaaggacac ctac 24

<210> 241

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 241

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 242

<211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 242
 agtcgatggg gaggagacgg attctacgct atggattat 39
 <210> 243
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <400>
 > 243
 Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr
 1 5
 <210> 244
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 244
 atctatccca ctaatggata cacc 24
 <210> 245
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 245
 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

<210> 246

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 246

gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaate cacctctgga 60

gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgacacctgt gaccgtgagt 120

tggaactcag ggcacctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 180

gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 240

tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtg 294

<210> 247

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 247

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

 85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

 100 105 110

<210> 248

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 248

gctccagaac tgctgggagg acctagcgtg ttctgtttc ccctaagcc aaaagacact 60

ctgatgattt ccaggactcc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc tcacaggac 120

cccgaagtga agttcaactg gtacgtggat ggcgtggaag tgcataatgc taagacaaaa 180

ccaagagagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtga gcgtgctgac cgtgctgcac 240

caggactggc tgaacgggaa ggagtataag tgcaaagtca gtaataaggc cctgcctgct 300

ccaatcgaaa aaaccatctc taaggccaaa 330

<210> 249

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 249

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp

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

65 70 75 80
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 85 90 95
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 100 105

<210> 250

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 250

ggccagccaa gggagcccca ggtgtacgtg taccaccca gcagagacga actgaccaag 60

 aaccaggtgt ccctgacatg tctggtgaaa ggcttctatc ctagtgatat tgctgtggag 120
 tggaatcaa atggacagcc agagaacaat tacaagacca cacctccagt getggacagc 180
 gatggcagct tcgccctggt gtccaagctg acagtggata aatctcgatg gcagcagggg 240
 aacgtgttta gttgttcagt gatgcatgaa gcctgcaca atcattacac tcagaagagc 300
 ctgtccctgt ctcccggc 318

<210> 251

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 251

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

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

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

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

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 252

<211> 696

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 252

gaacctaaaa gcagcgacaa gaccacaca tgccccctt gtccagctcc agaactgctg 60

ggaggaccaa gcgtgttctt gtttcaccc aagcccaaag atacactgat gatcagccga 120

actcccaggg tcacctgctt ggtcgtggac gtgtcccacg aggaccccga agtcaagttc 180

aactggtacg tggacggcgt cgaagtgcct aatgcaaaga ctaaaccacg ggaggaacag 240

tacaactcta catatagagt cgtgagtgtc ctgactgtgc tgcacagga ttggctgaac 300

ggcaaagagt ataagtcaa agtgtctaataaggccctgc ctgctccaat cgagaaaact 360

attagtaagg caaaagggca gccagggaa cctcaggtct acgtgctgcc tccaagtgc 420

gacgagctga ccaagaacca ggtctcactg ctgtgtctgg tgaaaggatt ctatccttc 480

gatattgccg tggagtggga atctaattggc cagccagaga acaattacct gacctggccc 540

cctgtgctgg acagcgatgg gtccttcttt ctgtattcaa agctgacagt ggacaaaagc 600

agatggcagc agggaaactg ctttagctgt tccgtgatgc acgaagcct gcacaatcat 660

tacaccaga agtctctgag tctgtcacct ggcaaa 696

<210> 253

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 253

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 100 105 110

<210> 254

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 254

gctccagaac tgctgggagg accaagcgtg ttctgtttc cacccaagcc caaagataca 60

ctgatgatca gccgaactcc cgaggtcacc tgcgtggtcg tggacgtgtc ccacgaggac 120

cccgaagtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtcgaag tgcataatgc aaagactaaa 180

ccacgggagg aacagtacaa ctctacatat agagtcgtga gtgtcctgac tgtgctgcat 240

caggattggc tgaacggcaa agagtataag tgcaaagtgt ctaataaggc cctgcctgct 300

ccaatcgaga aaactattag taaggcaaaa 330

<210> 255

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 255

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp
 1 5 10 15

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

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

<210> 256

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 256

gggcagccca gggaaacctca ggtctactgt ctgcctccaa gtcgcgacga getgaccaag 60

aaccaggtct cactgctgtg tctggtgaaa ggattctatc cttccgatat tgccgtggag 120

tgggaatcta atggccagcc agagaacaat tacctgacct ggccccctgt gctggacagc 180

gatgggtcct tctttctgta ttcaaagctg acagtggaca aaagcagatg gcagcagggga 240

aacgtcttta gctgttccgt gatgcagaa gcctgcaca atcattacac ccagaagtct 300

ctgagtctgt cacctggc 318

<210> 257

<211> 475

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 257

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 Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

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

	245		250		255
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro					
	260		265		270
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr					
	275		280		285
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn					
	290		295		300
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg					
305		310		315	320
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val					
	325		330		335
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser					
	340		345		350
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys					
	355		360		365
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp					
	370		375		380
Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe					
385		390		395	400
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu					
	405		410		415
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe					
	420		425		430
Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly					
	435		440		445
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr					
	450		455		460
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
465		470		475	
<210> 258					
<211> 1425					

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 258

```

gacattcaga tgacccagag ccctagctcc ctgagtgcct cagtcgggga cagggtgact      60
atcacctgca aggtctcaca ggatgtcagc attggcgtgg catggtacca gcagaagcca      120

gggaaagcac ccaagctgct gatctatagc gcctcctaca ggtatacagg cgtgccatcc      180
cgcttctctg gcagtggttc aggaactgac ttactactga ctatttctag tctgcagccc      240
gaagatttcg ccacatacta ttgccagcag tactatatct acccttatac ttttgccag      300
gggaccaaag tggagattaa gggcggagga ggctccggag gaggagggtc tggaggagga      360
ggaagtgagg tccagctggt ggaatctgga ggaggactgg tgcagccagg agggtcctctg      420
aggctgtctt gtgccgctag tggcttcacc ttacagact acacaatgga ttgggtgcgc      480
caggcaccag gaaagggact ggaatgggtc gctgatgtga accetaatag cggaggctcc      540

atctacaacc agcggttcaa aggacggttc accctgtcag tggaccggag caagaacacc      600
ctgtatctgc agatgaacag cctgagagcc gaggatactg ctgtgtacta ttgcgccagg      660
aatctgggcc caagcttcta ctttgactat tgggggcagg gaacactggt cactgtgtca      720
agcgcagccg aacccaaatc ctctgataag actcacacct gccaccttg tccagctcca      780
gagctgctgg gaggacctag cgtgttctctg ttccaccca agccaaaaga cactctgatg      840
atctctagaa ccctgaagt gacatgtgtg gtcgtggacg tcagtcacga ggaccccgaa      900
gtcaaattca actggtacgt ggatggcgtc gaggtgcata atgccaagac caaacccga      960

gaggaacagt acaactcaac ctatcgggtc gtgagcgtcc tgacagtget gcatcaggac      1020
tggctgaacg gcaaggagta taagtgcaa gtgagcaaca aggctctgcc tgcaccaatc      1080
gagaagacca tttccaagc taaagggcag ccccgcaac ctcaggtcta cgtgtatcct      1140
ccaagccgag atgagctgac aaaaaaccag gtctccctga cttgtctggt gaagggattt      1200
tacccaagtg acatcgcagt ggagtgggaa tcaaatggcc agcccgaaaa caattataag      1260
accacacccc ctgtgctgga ctctgatggg agtttcgcac tggctctcaa actgaccgtg      1320
gacaagtctc ggtggcagca gggaaacgtc tttagctgtt ccgtgatgca cgaggcctg      1380

cacaatcatt acacacagaa atctctgagt ctgtcacctg gcaag      1425

```

<210> 259

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 259

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 Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly
 20 25 30

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

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

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

65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr

 85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 100 105

<210> 260

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 260

gacattcaga tgaccagag ccctagctcc ctgagtgcct cagtcgggga cagggtgact 60

atcacctgca aggcttcaca ggatgtcagc attggcgtgg catggtacca gcagaagcca 120

gggaaagcac ccaagctgct gatctatagc gcctcctaca ggtatacagg cgtgccatcc 180

cgcttctctg gcagtgggtc aggaactgac tttaactga ctatttctag tctgcagccc 240

gaagatttcg ccacatacta ttgccagcag tactatatct acccttatac ttttgccag 300

gggaccaaag tggagattaa g 321

<210> 261

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 261

Gln Asp Val Ser Ile Gly

1 5

<210> 262

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 262

caggatgtca gcattggc

18

<210> 263

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 263

Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 264

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 264

cagcagtact atatctaccc ttatact

27

<210> 265

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 265

Ser Ala Ser

1

<210> 266

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 266

agcgctcc

9

<210> 267

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 267

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

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 270

ggcttcacct ttacagacta caca

24

<210> 271

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 271

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 272

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 272

gccaggaatc tgggcccaag cttctacttt gactat

36

<210> 273

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 273

Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 274

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 274

gtgaacccta atagcggagg ctcc

24

<210> 275

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 275

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

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

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

<210> 276

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 276

gctccagagc tgctgggagg acctagcgtg ttctgtttc cacccaagcc aaaagacact 60
 ctgatgattt ctagaacccc tgaagtgaca tgtgtggtcg tggacgtcag tcacaggac 120
 cccgaagtca aattcaactg gtacgtggat ggcgtcgagg tgcataatgc caagacaaa 180
 ccccagagagg aacagtacaa ctcaacctat cgggtcgtga gcgtcctgac agtgctgcat 240
 caggactggc tgaacggcaa ggagtataag tgcaaagtga gcaacaagc tctgcctgca 300
 ccaatcgaga agaccatttc caagctaaa 330

<210> 277

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 277

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

<210> 278

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 278

```

gggcagcccc gcgaacctca ggtctacgtg ttcctccaa gccgagatga gctgacaaaa      60
aaccaggtct cctgacttg tctggtgaag ggattttacc caagtgacat cgcagtggag      120
tgggaatcaa atggccagcc cgaaaacaat tataagacca caccctgt gctggactct      180
gatgggagtt tcgactggt ctccaaactg accgtggaca agtctcggtg gcagcagga      240
aacgtcttta gctgttcggt gatgcacgag gcctgcaca atcattacac acagaaatct      300
ctgagtctgt cacctggc      318
    
```

<210> 279

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 279

```

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 Asn Ile Lys Asp Thr
           20           25           30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
           35           40           45
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
           50           55           60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
           100          105          110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
    
```

115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

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

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

 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Leu Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly Lys

450

<210> 280

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 280

gaggtgcagc tggtggaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60
 agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120
 ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180
 gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgcgata catcaaaaa cactgcttac 240
 ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300

 ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctgggtgac agtgagctcc 360
 gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaate cacctctgga 420
 gggacagccc ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 480
 tggaaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540
 gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtccaagtt caagcctggg cacacagact 600
 tatactgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660
 aagagctgtg ataagacceca cacctgccct ccctgtccag ctccagaact gctgggagga 720

cctagcgtgt tcctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780
 gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtct cagcaggacc ccgaagtga gttcaactgg 840
 tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
 tccacttate gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaata aacctctct 1020
 aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgc tgccaccag cagagacgaa 1080
 ctgaccaaga accagggtgc cctgctgtgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140

gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacaatt acctgacctg gcctccagtg 1200
 ctggacagcg atggcagctt cttctgtat tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
 cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 281

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 281

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 Asn Ile Lys Asp Thr

 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45
 Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 282

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 282

gaggtgcagc tggtgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg	60
agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct	120
ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat	180
gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgcgata catcaaaaa cactgcttac	240
ctgcagatga acagcctcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga	300
ggagacggat tciacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc	360

<210> 283

<211

> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 283

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 284

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 284

ggattcaaca tcaaggacac ctac	24
----------------------------	----

<210> 285

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 285

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 286

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 286

agtcgatggg gaggagacgg attctacgct atggattat 39

<210> 287

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400>

> 287

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 288

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 288

atctatccca ctaatggata cacc 24

<210> 289

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 289

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

<210> 290

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 290

gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaate cacctctgga 60

gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 120

tggaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 180

gggctgtact cctgtcctc tgtggtgaca gtccaagtt caagcctggg cacacagact 240

tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtg 294

<210> 291

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 291

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 100 105 110

<210> 292

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 292

gctccagaac tgctgggagg acctagcgtg ttctgtttc ccctaagcc aaaagacact 60

ctgatgattt ccaggactcc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc tcacaggac 120

cccgaagtga agttcaactg gtacgtggat ggcgtggaag tgcataatgc taagacaaaa 180

ccaagagagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtga gcgtgctgac cgtgctgcac 240
 caggactggc tgaacgggaa ggagtataag tgcaaagtca gtaataaggc cctgcctgct 300
 ccaatcgaaa aaaccatctc taaggccaaa 330

<210> 293

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 293

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

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

65 70 75 80
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 85 90 95
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 100 105

<210> 294

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 294

ggccagccaa gggagcccca ggtgtactgt ctgccacca gcagagacga actgaccaag 60

aaccaggtgt ccctgctgtg tctggtgaaa ggcttctatc ctagtgatat tgctgtggag 120
 tgggaatcaa atggacagcc agagaacaat tacctgacct ggcctccagt gctggacagc 180
 gatggcagct tcttctgtga ttccaagctg acagtggata aatctcgatg gcagcagggg 240
 aacgtgttta gttgttcagt gatgcatgaa gcctgcaca atcattacac tcagaagagc 300
 ctgtccctgt ctcccggc 318

<210> 295

<211> 480

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 295

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

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

 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
 130 135 140
 Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
 145 150 155 160

Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
 165 170 175
 Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 180 185 190

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

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

 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 325 330 335
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 340 345 350
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 355 360 365
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val
 370 375 380

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

405 410 415
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro Val Leu

420 425 430
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 435 440 445

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 450 455 460

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 465 470 475 480

<210> 296

<211> 1440

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 296

gacattcaga tgacacagag ccccagctcc ctgagtctt cagtcggcga cagggtgact 60
 atcacctgcc gcgcatccca ggatgtcaac accgctgtgg catggtacca gcagaagcct 120

ggaaaagccc caaagctgct gatctacagc gcttccttcc tgtattctgg cgtgccaagt 180
 cggttttctg gaagtagatc aggcactgac ttcacactga ctatctctag tctgcagccc 240
 gaagattttg ccacctacta ttgccagcag cactatacca cacccttac attcggacag 300
 ggcactaaag tggagattaa gggcgggtca ggcggaggga gcggaggagg gtccggagga 360
 gggctctggag gagggagtgg agaggtccag ctggtggaat ctggaggagg actggtgcag 420
 cctggaggct cactgcgact gagctgtgcc gcttccggct ttaacatcaa agacacatac 480
 attcattggg tcaggcaggc accaggaag ggactggaat ggggtggccc catctatccc 540

acaaatgggt aactcagata tgccgacagc gtgaaaggac ggtttacat tctgctgat 600
 accagtaaga acacagcata cctgcagatg aacagcctgc gcgagagga tacagccgtg 660
 tactattgca gtcgatgggg gggagacggc ttctaccca tggattattg gggccagggg 720
 actctggtca ccgtgtcaag cgcagccgaa cctaaatcct ctgacaagac ccacacatgc 780
 ccaccctgtc ctgctccaga gctgctggga ggaccatccg tgttcctgtt tcttccaaag 840
 cctaaagata cactgatgat tagccgcact cccgaagtca cctgtgtggt cgtggacgtg 900

tcccacgagg accccgaagt caagttcaac tggtagtgg acggcgtcga ggtgcataat 960

gccaagacta aaccaagaga ggaacagtac aattcaacct atagggtcgt gagcgtcctg 1020

acagtgtgc atcaggattg gctgaacggc aaggagtata agtgcaaagt gtctaacaag 1080

gcctgcccg ctctatcga gaagactatt agcaaggcaa aagggcagcc acgggaacct 1140

caggtctacg tgtgcccc tagcagagac gagctgacca aaaaccaggt ctccctgtg 1200

tgtctggtga agggctttta tcctagtgat atcgctgtgg agtgggaatc aatgggcag 1260

ccagaaaaca attacctgac atggccacc gtgctggaca gcatgggtc cttcttctg 1320

tattcacaac tgactgtgga caagtctaga tggcagcagg gaaacgtctt cagctgttcc 1380

gtgatgcacg aggcctgca caatcattac acccagaagt ctctgagtct gtcaccggc 1440

<210> 297

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 297

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 298

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 298

gacattcaga tgacacagag ccccagctcc ctgagtgctt cagtcggcga cagggtgact	60
atcacctgcc gcgcatccca ggatgtcaac accgctgtgg catgtacca gcagaagcct	120
ggaaaagccc caaagctgct gatctacagc gcttccttcc tgtattctgg cgtgccaagt	180
cggttttctg gaagtagatc aggcactgac ttcacactga ctatctctag tctgcagccc	240
gaagattttg ccacctacta ttgccagcag cactatacca cacccttac attcggacag	300

ggcactaaag tggagattaa g	321
-------------------------	-----

<210> 299

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 299

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1	5
---	---

<210> 300

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 300

caggatgtca acaccgct	18
---------------------	----

<210> 301

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 301

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 302

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 302

cagcagcact ataccacacc ccctaca

27

<210> 303

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 303

Ser Ala Ser

1

<210> 304

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 304

agcgcttcc

9

<210> 305

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 305

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 Asn Ile Lys Asp Thr

 20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

 50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

 100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115 120

<210> 306

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 306

gaggtccagc tgggtggaatc tggaggagga ctggtgcagc ctggaggctc actgcgactg 60
agctgtgccg cticcggctt taacatcaaa gacacataca ttcattgggt caggcaggca 120
ccaggaagg gactggaatg ggtggcccg atctatcca caaatgggta cactcgatat 180
gccgacagc tgaagagac gtttaccatt tctgctgata ccagtaagaa cacagcatac 240
ctgcagatga acagcctcgc cgcagaggat acagccgtgt actattgcag tcgatggggg 300
ggagacggct tctacccat ggattattgg ggccagggga ctctggtcac cgtgtcaagc 360

<210> 307

<211>

> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 307

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 308

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 308

ggctttaaca tcaaagacac atac

24

<210> 309

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 309

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 310

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 310

agtcgatggg ggggagacgg cttctacgcc atggattat 39

<210> 311

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400>

> 311

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 312

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide

<400> 312

atctatccca caaatgggta cact 24

<210> 313

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 313

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100 105 110

<210> 314

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 314

gctccagagc tgcctgggagg accatccgtg ttctgtttc ctccaaagcc taaagataca 60

ctgatgatta gccgcactcc cgaagtcacc tgtgtggtcg tggacgtgtc ccacgaggac 120

cccgaagtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtcgagg tgcataatgc caagactaaa 180

ccaagagagg aacagtacaa ttcaacctat agggctcgtga gcgtcctgac agtgcctgat 240

caggattggc tgaacggcaa ggagtataag tgcaaagtgt ctaacaagcc cctgcccgcct 300

cctatcgaga agactattag caaggcaaaa 330

<210> 315

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 315

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 100 105

<210> 316

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 316

gggcagccac ggaacccca ggtctacgtg ctgcccccta gcagagacga gctgaccaaa 60

aaccaggtct cctgctgtg tctggtgaag ggcttttata ctagtatat cgctgtggag 120

tgggaatcaa atgggcagcc agaaaacaat tacctgacat ggccaccctg gctggacagc 180

gatgggtcct tctttctgta ttccaaactg actgtggaca agtctagatg gcagcagga 240

aacgtcttca gctgttccgt gatgcacgag gcctgcaca atcattacac ccagaagtct 300

ctgagtctgt caccggc 318

<210> 317

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 317

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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> 318

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 318

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtcgata tgggacagat ttcactetca ccatcagcag tetgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattacta ccccaccac tttcgccaa 300
 gggaccaaag tggagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360
 tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgtttgtg gcctgctgaa taacttctat 420
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgcc tccaatcggg taactcccaa 480
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 319

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 319

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

<210> 320

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 320

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgcc gggcaagtca ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca	180
aggttcagtg gcagtcgac tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattacacta ccccaccac tttcggccaa	300

gggaccaaag tggagatcaa a	321
-------------------------	-----

<210> 321

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 321

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1	5
---	---

<210> 322

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 322

caggacgtta acaccgct	18
---------------------	----

<210> 323

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 323

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 324

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 324

caacagcatt aactacccc acccaact

27

<210> 325

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 325

Ser Ala Ser

1

<210> 326

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 326

tctgcatcc

9

<210> 327

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 327

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> 328

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 328

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcac ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

tggaaggtgg ataacgcct ccaatcgggt aactccaag agagtgtcac agagcaggac 180

agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc acctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240

aaacacaaag tctacgctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300

agcttcaaca ggggagagtg t 321

<210> 329

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 329

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

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

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Leu Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

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

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

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

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

<210> 332

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 332

gctccagaac tgctgggagg accaagcgtg ttctgtttc cacccaagcc caaagataca 60

 ctgatgatca gccgaactcc cgaggtcacc tgcgtggtcg tggacgtgtc ccacaggac 120
 cccgaagtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtcgaag tgcataatgc aaagactaaa 180
 ccacgggagg aacagtacaa ctctacatat agagtcgtga gtgtcctgac tgtgtgcat 240
 caggattggc tgaacggcaa agagtataag tgcaaagtgt ctaataaggc cctgcctgct 300
 ccaatcgaga aaactattag taaggcaaaa 330

<210> 333

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 333

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

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

<210> 334

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 334

gggcagccca gggaacctca ggtctacgtg ctgcctccaa gtcgcgacga gctgaccaag 60

 aaccaggtct cactgctgtg tctggtgaaa ggattctatc cttccgatat tgccgtggag 120
 tggaatcta atggccagcc agagaacaat tacctgacct ggccccctgt gctggacagc 180
 gatgggtcct tctttctgta ttcaaagctg acagtggaca aaagcagatg gcagcaggga 240
 aacgtcttta gctgttccgt gatgcagaa gcctgcaca atcattacac ccagaagtct 300
 ctgagtctgt cacctggc 318

<210> 335

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 335

Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 336

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 336

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 337

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 337

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr

1 5

<210> 338

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 338

Ser Ala Ser

1

<210> 339

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 339

Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 340

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 340

Gln Asp Val Ser Ile Gly

1 5

<210> 341

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 341

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 342

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 342

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 343

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 343

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 344

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 344

Ser Ala Ser

1

<210> 345

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 345

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 346

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide
 <400> 346
 Gln Asp Val Asn Thr Ala
 1 5
 <210> 347
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide
 <400> 347
 Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Ala Thr
 1 5
 <210> 348
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide
 <400> 348
 Gly Phe Thr Phe Ala Asp Tyr Thr
 1 5
 <210> 349
 <211> 607
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 349
 Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys Leu Arg Leu Pro Ala Ser
 1 5 10 15
 Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His Leu Tyr Gln Gly Cys Gln
 20 25 30

Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr Leu Pro Thr Asn Ala Ser
 35 40 45

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

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

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

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

 Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln Glu Val Thr Ala Glu Asp

Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys Phe Gly Pro Glu Ala Asp
 545 550 555 560
 Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp Pro Pro Phe Cys Val Ala
 565 570 575
 Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu Ser Tyr Met Pro Ile Trp
 580 585 590
 Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln Pro Cys Pro Ile Asn
 595 600 605

<210> 350

<211> 217

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 350

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

145 150 155 160
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

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