(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0009421
(43) 공개일자 2021년01월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01) *C07K 16/32* (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2021-7000437
(22) 출원일자(국제) 2019년06월11일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년01월06일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/036503
(87) 국제공개번호 WO 2019/241216
국제공개일자 2019년12월19일
(30) 우선권주장
62/684,818 2018년06월14일 미국(US)

(71) 출원인
바이오아트라, 엘엘씨
미국, 캘리포니아 92121, 샌디에이고, 스위트 100, 토레야나 로드 11085
(72) 발명자
쇼트 제이 엠
미합중국 92014 캘리포니아 델 마르 비아 에스페리아 12985
프레이 게르하르트
미합중국 92129 캘리포니아 샌디에고 비아 시마벨라 13768
창 화이 웬
미합중국 92069 캘리포니아 산 마르코스 새도우 힐스 드라이브 1318
(74) 대리인
이준성

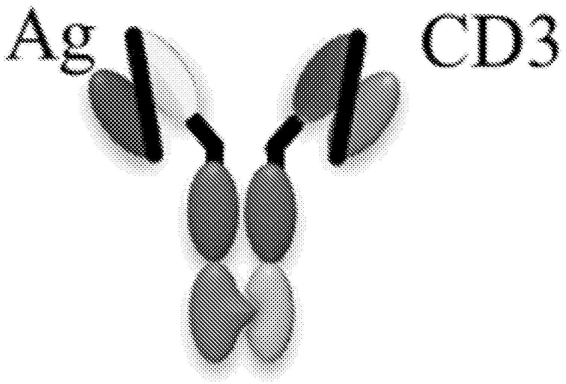
전체 청구항 수 : 총 58 항

(54) 발명의 명칭 **다중 특이적 항체 구조체**

(57) 요 약

본 다중 특이적 항체는 세포 특이 항원에 대한 결합 부위 적어도 1개와, 종양 반응서성 림프구 항원에 대한 결합 부위 적어도 1개를 함유하고, 다중 특이적 항체는 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편과, 제1 항원과 상이하면서 상기 IgG 항체 또는 단편의 1개 이상의 경쇄 또는 중쇄의 C 말단에 연결된 제2 항원과 결합하는 scFv 항체 적어도 1개를 포함한다. 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 세포 특이 항원 및 종양 반응성 림프구 항원중 적어도 1개, 또는 제1 항원 및 제2 항원과 가역적으로 결합한다. 본 다중 특이적 항체의 접합체와, 본 다중 특이적 항체를 제조하기 위한 방법도 또한 제공된다.

대 표 도 - 도1



2가 이종이량체

(52) CPC특허분류
C07K 16/2863 (2013.01)
C07K 16/30 (2013.01)
C07K 16/32 (2013.01)
C07K 16/468 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

세포 특이 항원에 대한 결합 부위 적어도 1개와;

종양 반응성 림프구 항원에 대한 결합 부위 적어도 1개

를 포함하는 다중 특이적 항체로서, 제2 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 제1 생리학적 조건에서 세포 특이 항원 및 종양 반응성 림프구 항원중 적어도 1개와 결합하는, 다중 특이적 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 세포 특이 항원은 암세포 특이 항원인 다중 특이적 항체.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 암세포 특이 항원은 신생항원인 다중 특이적 항체.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 세포 특이 항원은 노화 세포 특이 항원인 다중 특이적 항체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 생리학적 조건은 비정상 조건이고, 상기 제2 생리학적 조건은 정상 생리학적 조건인 다중 특이적 항체.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 비정상 조건은 종양 미세환경내 조건인 다중 특이적 항체.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 비정상 조건은 노화 세포 미세환경내 조건인 다중 특이적 항체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체와, 세포 특이 항원 및 종양 반응성 림프구 항원중 적어도 1개의 결합은 가역적인 다중 특이적 항체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 (1) 이중 특이적 항체 접합체; (2) 하이브리드 이중 특이적 IgG2; (3) 가변 도메인만을 가지는 이중 특이적 항체 분자; (4) CH1/CL 융합 단백질; (5) Fab 융합 단백질; (6) 비 면역글로불린 융합 단백질; (7) Fc 변형된 IgG; (8) 첨부 및 Fc 변형된 IgG; (9) 변형된 Fc 및 CH3 융합 단백질; (10) 첨부된 IgG-HC 융합체; (11) 첨부된 IgG-LC 융합체; (12) 첨부된 IgG-HC&LC 융합체; (13) Fc 융합체; (14) CH3 융합체; (15) IgE/IgM CH2 융합체; (16) $F(ab')_2$ 융합체; (17) CH1/CL 융합 단백질; (18) 변형 IgG; 및 (19) 비 면역글로불린 융합체로부터 선택되는 포맷으로 입체배열되는 다중 특이적 항체.

청구항 10

거대분자에 접합된, 제1항 내지 제9항중 어느 한 항에 의한 다중 특이적 항체를 포함하는 접합 다중 특이적 항체.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 거대분자는 단백질, 지방산 및 중합체중 적어도 1개로부터 선택되는 접합 다중 특이적 항체.

청구항 12

제10항에 있어서, 상기 거대분자는 알부민 또는 폴리에틸렌글리콜인 접합 다중 특이적 항체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 항원에 대한 결합 부위 적어도 1개는 IgG 항체 또는 이의 단편이고, 상기 세포 특이 항원은 종양 세포 항원이며,

상기 종양 반응성 림프구 항원에 대한 결합 부위 적어도 1개는 단일 사슬 항체인, 다중 특이적 항체.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 단일 사슬 항체 적어도 1개는 scFv 항체인 다중 특이적 항체.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 scFv 항체 적어도 1개는 링커를 통해 상기 IgG 항체 또는 이의 단편의 1개 이상의 경쇄 또는 중쇄의 C 말단에 부착된 다중 특이적 항체.

청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서. 상기 scFv 항체는 서열 번호 1 ~ 10의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 11 ~ 15의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역을 포함하는 다중 특이적 항체.

청구항 17

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 scFv 항체는 서열 번호 26 ~ 71의 아미노산 서열로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 다중 특이적 항체.

청구항 18

제14항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IgG 항체는

Axl, Her2, B7-H3 및 EpCAM으로부터 선택되는 항원과 결합하는 경쇄 가변 영역으로서, 서열 번호 16, 17, 20, 22 및 88 ~ 95의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과;

상기 경쇄 가변 영역이 결합하는 항원과 동일한 항원과 결합하는 중쇄 가변 영역으로서, 서열 번호 18, 19, 21, 23 ~ 25 및 80 ~ 87의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 다중 특이적 항체.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양 반응성 림프구 항원은 CD3 항원인 다중 특이적 항체.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양 반응성 림프구 항원은 T 세포, 대식세포, Jurkat 세포, 단핵구, NK 세포, 호중구, 호산구, 호염기구 및 림포카인 활성화 살해 세포로부터 선택되는 림프구상에 존재하는 다중 특이적 항체.

청구항 21

제1항 내지 제9항 및 제13항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포 특이 항원은 Axl, EpCAM, Ror2, Her2 및 B7-H3로부터 선택되는 다중 특이적 항체.

청구항 22

제1항 내지 제9항 및 제13항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 제1 생리학적 조건에서 세포 특이 항원과 결합하는 다중 특이적 항체.

청구항 23

제1항 내지 제9항 및 제13항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 제1 생리학적 조건에서 종양 반응성 림프구 항원과 결합하는 다중 특이적 항체.

청구항 24

제1항 내지 제9항 및 제13항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 제1 생리학적 조건에서 세포 항원 및 종양 반응성 림프구 항원 둘 다와 결합하는 다중 특이적 항체.

청구항 25

제1항 내지 제9항 및 제13항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 결합능보다 더 큰 결합능으로 제1 생리학적 조건에서 세포 항원 및 종양 반응성 림프구 항원의 조합과 결합하는 다중 특이적 항체.

청구항 26

제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편과;

제1 항원과는 상이한 제2 항원과 결합하고, 상기 IgG 항체 또는 단편의 적어도 1개의 경쇄 또는 중쇄의 C 말단에 연결된 scFv 항체 적어도 1개

를 포함하고, 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원중 적어도 1개와 가역적으로 결합하는, 다중 특이적 항체.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 제2 항원은 CD3 항원인 다중 특이적 항체.

청구항 28

제26항 또는 제27항에 있어서, 상기 scFv 항체는 서열 번호 1 ~ 10의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 11 ~ 15의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역을 포함하는 다중 특이적 항체.

청구항 29

제26항 또는 제27항에 있어서, 상기 scFv 항체는 서열 번호 26 ~ 71의 아미노산 서열로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 다중 특이적 항체.

청구항 30

제26항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IgG 항체는

Axl, Her2, B7-H3 및 EpCAM으로부터 선택되는 항원과 결합하는 경쇄 가변 영역으로서, 서열 번호 16, 17, 20, 22 및 88 ~ 95의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과;

상기 경쇄 가변 영역이 결합하는 항원과 동일한 항원과 결합하는 중쇄 가변 영역으로서, 서열 번호 18, 19, 21, 23 ~ 25 및 80 ~ 87의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 다중 특이적 항체.

청구항 31

제26항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원과 결합하는 다중 특이적 항체.

청구항 32

제26항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제2 항원과 결합하는 다중 특이적 항체.

청구항 33

제26항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원 둘 다와 결합하는 다중 특이적 항체.

청구항 34

제26항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 결합능보다 더 큰 결합능으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원의 조합과 결합하는 다중 특이적 항체.

청구항 35

제26항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원은 세포 표면 항원인 다중 특이적 항체.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 세포 표면 항원은 암세포 특이 항원인 다중 특이적 항체.

청구항 37

제26항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원은 신생항원인 다중 특이적 항체.

청구항 38

제26항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원은 Axl, EpCAM, Ror2, Her2 및 B7-H3로부터 선택되는 다중 특이적 항체.

청구항 39

a) 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편을 수득하는 단계;

b) 제2 항원과 결합하는 scFv 항체 적어도 1개를, 상기 IgG 항체 또는 단편의 경쇄 적어도 1개의 C 말단에 연결시켜, 구조체 1개 이상을 제조하는 단계;

c) 비정상 조건과 정상 생리학적 조건하에 제1 항원 및 제2 항원 중 적어도 1개와 결합하는지에 대해 b) 단계의 구조체 1개 이상을 스크리닝하는 단계; 및

d) 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원중 적어도 1개와 가역적으로 결합하는 구조체 1개 이상으로부터 다중 특이적 항체를 선택하는 단계

를 포함하는, 다중 특이적 항체를 제조하기 위한 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 제1 항원은 종양 세포 항원인 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 종양 세포 항원은 Axl, EpCAM, Ror2, Her2 및 B7-H3로부터 선택되는 방법.

청구항 42

제39항에 있어서, 상기 종양 세포 항원은 신생항원인 방법.

청구항 43

제39항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원은 종양 반응성 림프구 항원인 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 종양 반응성 림프구 항원은 CD3인 방법.

청구항 45

제43항에 있어서, 상기 종양 반응성 림프구 항원은 T 세포, 대식세포, Jurkat 세포, 단핵구, NK 세포, 호중구, 호산구, 호염기구 및 림포카인 활성화 살해 세포로부터 선택되는 림프구상에 존재하는 방법.

청구항 46

제39항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 scFv 항체는 서열 번호 1 ~ 10의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 11 ~ 15의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역을 포함하는 방법.

청구항 47

제39항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 scFv 항체는 서열 번호 26 ~ 71의 아미노산 서열로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 방법.

청구항 48

제39항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IgG 항체는

Axl, Her2, B7-H3 및 EpCAM으로부터 선택되는 항원과 결합하는 경쇄 가변 영역으로서, 서열 번호 16, 17, 20, 22 및 88 ~ 95의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과;

상기 경쇄 가변 영역이 결합하는 항원과 동일한 항원과 결합하는 중쇄 가변 영역으로서, 서열 번호 18, 19, 21, 23 ~ 25 및 80 ~ 87의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역을 포함하는 방법.

청구항 49

제39항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원과 결합하는 방법.

청구항 50

제39항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제2 항원과 결합하는 방법.

청구항 51

제39항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원 둘 다와 결합하는 방법.

청구항 52

제39항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 결합능보다 더 큰 결합능으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원의 조합과 결합하는 방법.

청구항 53

제1항 내지 제9항 및 제13항 내지 제38항 중 어느 한 항의 다중 특이적 항체 또는 제10항 내지 제12항 중 어느 한 항의 접합 다중 특이적 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 종양을 치료하는 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체 또는 접합 다중 특이적 항체는 암 신생항원 백신과 함께 투여되는 방

법.

청구항 55

제54항에 있어서, 상기 다중 특이적 항체 또는 접합 다중 특이적 항체는 암 신생항원 백신의 투여후에 투여되는 방법.

청구항 56

a) 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편을 수득하는 단계;

b) 제2 항원과 결합하는 scFv 항체를 수득하는 단계;

c) a) 및 b)의 항체중 어느 하나 또는 둘 다를 진화시켜, 진화된 항체 1개 이상을 제조하는 단계;

d) 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 각각의 항원과 결합하는 항체를 선택하기 위해 c)의 진화된 항체 1개 이상을 스크리닝하는 단계;

e) 제2 항원과 결합하는 scFv 항체를, 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 단편의 경쇄 적어도 1개의 C 말단에 연결시켜, 구조체 1개 이상을 제조하는 단계로서, 단 scFv 항체 및 IgG 항체중 적어도 1개는 d)에서 선택되고, d)에서 선택되지 않은 scFv 항체 또는 IgG 항체는, 만일 존재한다면, a) 또는 b) 단계로부터 유래한 것인 단계;

f) 단계 e)의 구조체 1개 이상을, 제1 항원 및 제2 항원 중 적어도 1개와 결합하는지에 대해 비정상 조건과 정상 생리학적 조건하에서 스크리닝하는 단계; 그리고

g) 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원중 적어도 1개와 결합하는 구조체 1개 이상으로부터 다중 특이적 항체를 선택하는 단계

를 포함하는, 다중 특이적 항체를 제조하기 위한 방법.

청구항 57

세포 특이 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편; 그리고

T 림프구 항원과 결합하고, 상기 IgG 항체 또는 이의 단편의 경쇄 적어도 1개 또는 중쇄 적어도 1개의 C 말단에 연결된 scFv 항체 적어도 1개

를 포함하되, 단 상기 scFv 항체 적어도 1개는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 상기 T 림프구 항원과 결합하는, 다중 특이적 항체.

청구항 58

a) 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편을 수득하는 단계;

b) 제2 항원과 결합하는 scFv 항체를, 상기 IgG 항체 또는 이의 단편의 경쇄 적어도 1개의 C 말단에 연결시켜, 구조체 1개 이상을 제조하는 단계로서, 단 상기 scFv 항체 적어도 1개는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 상기 제2 항원과 결합하는 단계;

c) 구조체 1개 이상을, 상기 제1 항원 및 상기 제2 항원과 결합하는지에 대해 비정상 조건과 정상 생리학적 조건하에서 스크리닝하는 단계; 및

d) 상기 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 상기 비정상 조건에서 상기 제1 항원과 결합하고, 상기 제2 항원과 가역적으로 결합하는 다중 특이적 항체를 선택하는 단계

를 포함하는, 다중 특이적 항체를 제조하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 다중 특이적 항체 분야에 관한 것이다. 구체적으로 본 발명은 조건부 활성 적어도 1개를 가지는 다중 특이적 항체와, 이를 제조하기 위한 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 단백질은 다양한 특징, 예컨대 상이한 조건에서의 작동에 있어 더 큰 활성 또는 개선된 안정성을 가지도록 조작될 수 있다. 예를 들어 효소는 고온에서 안정적이면서 다양한 활성 수준을 보이도록 진화되어 왔다. 고온에서 활성의 개선이 있는 상황일 때, 개선의 상당 부분은 Q10 룰에 의해 공통적으로 기술되는 더 큰 운동 활성의 결과일 수 있으며, 이때 효소의 경우 매 10℃ 증가할 때마다 산출량은 배가되는 것으로 추산된다. 개선된 단백질에 도입된 돌연변이는 통상 정상적인 작동 조건에서 단백질의 활성을 감소시킨다. 고온에서 작동하도록 디자인된 돌연변이 효소는 정상적 작동 온도에서 활성을 보일 수는 있지만, 통상적으로 야생형 효소에 비하여 그 활성 수준은 감소한다.

[0003] 항체는 치료용 단백질의 주요 군이 되어왔다. 통상의 항체는 보통 항원상 하나의 에피토프와 결합한다. 다중 특이적 항체라고 지칭되는 신규 항체 구조체는 1개를 초과하는 항원 또는 1개를 초과하는 동일 항원상 에피토프와 결합하도록 개발되었다. 다중 특이적 항체는, 예컨대 이중 특이적, 삼중 특이적 또는 사중 특이적 항체일 수 있다. 다중 특이적 항체는 광범위한 임상 분야 및 진단 분야에서 잠재성을 보였다. 유럽연합과 미국에서 이중 특이적 항체 약물 2가지(카투막소맙(Catumaxomab)™ 및 블리나투맙(Blinatumab)™)가 암성 질환의 치료용으로 승인되었다. 이 항체 약물의 독특한 특징으로 말미암아, 다중 특이적 항체는 차세대 항체 치료제로서 매력적인 것이 되었다.

[0004] US 2013/0017200는 다중 특이적 항체를 합성하는 방법을 개시하고 있다. 제1 항체 단편은 티오 반응성 가교제와 반응하여 항체 단편-가교제 기를 형성할 수 있는 유리 설프히드릴기를 가지고, 제1의 일중 특이성을 가지는 제1 모 항체로부터 수득된다. 항체 단편-가교제 기는, 제1 항체 단편과는 상이한 일중 특이성을 가지는 다른 모 항체로부터 수득된 것으로서, 각각 유리 설프히드릴기를 가지는 추가의 항체 단편 2개 이상 각각과 짝을 이루어 반응하여, 다중 특이적 항체를 생성한다. 다중 특이적 항체는 신규 치료제 및 진단제로서 적합할 수 있다.

[0005] Brinkmann 및 Kontermann("The making of bispecific antibodies," MABS, 2017, vol. 9, pp. 182-212, 2017)은, 오로지 항체 2개의 항원 결합 부위로 이루어진 소분자, IgG 구조를 가지는 분자, 그리고 상이한 항원 결합기로 이루어진 대형 복합 분자를 포함하는 이중 특이적 항체 포맷은 종종 이량체화 모듈과 합하여짐을 조망하였다. 이중 특이적 항체는 상이한 응용예에 따라서 자체 결합 모듈의 기하학적형태, 가요성, 결합가(valence), 배열 및 크기뿐 아니라, 자체의 분포 및 약동학적 특성이 가변적일 수 있다. 이중 특이적 포맷은 다양한 적응증에 대한 치료제 개발에 적용될 수 있는 항체의 다양성을 총괄하여 증가시킨다.

[0006] 조건부 활성인 유용한 항체를 제조하는 것도 또한 요망된다. 예를 들어 정상 생리학적 조건에서 실질적으로 비활성이고, 정상 생리학적 조건 이외의 조건(예컨대 비정상 조건)에서 유의미하게 더 활성인 항체, 임의의 미세환경에서 활성화되거나 비활성화되는 항체(예컨대 종양 미세환경에서 활성화되는 항체) 또는 시간이 경과함에 따라 활성화되거나 비활성화되는 항체가 그것이다. 온도 이외에, 항체가 진화 또는 최적화될 수 있도록 만드는 기타 촉발 조건(trigger condition)으로서는 pH, 삼투압, 삼투질 농도, 산화 스트레스, 산소 농도 및 전해질 농도를 포함한다. 활성 이외에, 진화 동안 최적화될 수 있는 항체의 기타 요망되는 특성으로서는 안정성, 반감기, 내약품성 및 단백분해내성을 포함한다.

[0007] 요망되는 특성을 가지는 돌연변이 항체로 모 항체를 진화 또는 조작하기 위한 다수의 전략이 공개되었다. 그러나 모 항체를 비정상 조건에서도 정상 생리학적 조건에서의 모 항체 원래 활성과 동일하거나 더 큰 활성을 가지게 하면서, 정상 생리학적 조건에서 비활성이거나 실질적으로 비활성이도록(활성이 10% 미만이 되도록, 특히 활성이 5% 미만이 되도록) 조작 또는 진화시키는 것은, 탈안정화 돌연변이(들)가, 탈안정화 효과에 반대작용을 하지 않는 활성 증가 돌연변이와 동시 존재할 것을 필요로 한다. 탈안정화 돌연변이는 Q10과 같은 표준 룰에 의해 예측되는 바보다 크게 항체 활성을 감소시킬 것으로 예측된다. 그러므로 구체적인 비정상 조건(예컨대 낮은 온도 또는 낮은 pH)에서 정상 생리학적 조건에서 진화한 단백질 또는 심지어 정상 생리학적 조건에서 실질적으로 비활성인 단백질보다 효율적으로 작용하는(활성이 더 큰) 단백질을 진화시키는 능력은, 조건부 활성 단백질이라 지칭되는 놀라운 신규 항체군을 창조해낸다. 예를 들어 조건부 활성 단백질의 비정상 조건에서의 활성 대 정상 생리학적 조건에서의 활성의 비는 모 단백질의 비정상 조건에서의 활성 대 정상 생리학적 조건에서의 활성의 비보다 더 클 수 있다. 몇몇 경우, 조건부 활성 단백질의 비정상 조건에서의 활성 대 정상 생리학적 조건에서의 활성의 비는 적어도 약 2:1, 또는 적어도 약 4:1, 또는 적어도 약 6:1, 또는 적어도 약 10:1, 또는 적어도 약 20:1, 또는 적어도 약 50:1, 또는 적어도 약 80:1, 또는 적어도 약 100:1일 수 있다.

[0008] 본 발명은 에피토프 또는 항원 적어도 1개에 대해 조건부 활성인 다중 특이적 항체의 신규 군을 제공한다. 이러

한 다중 특이적 항체의 신규 군은, 통상의 다중 특이적 항체의 가요성 및 다기능성(versatility)을 이용할 수 있음과 동시에, 활성이 요망되는 대상체의 병소, 조직 또는 장기에 대해 다중 특이적 항체의 활성, 친화성 및/또는 결합능을 유도하는 특성을 이용할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0009] 일 양상에서, 본 발명은 세포 항원에 대한 결합 부위 적어도 1개와; 종양 반응성 림프구 항원에 대한 결합 부위 적어도 1개를 포함하는 다중 특이적 항체를 제공한다. 본 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 활성(activity), 친화성(affinity) 및/또는 결합능(avidity)보다 더 큰 활성, 친화성 및/또는 결합능으로 제1 생리학적 조건에서 세포 항원 및 종양 반응성 림프구 항원중 적어도 1개와 결합한다.

[0010] 상기 구현예에 있어, 세포 항원은 암세포 연관 항원일 수 있거나, 또는 암세포 연관 항원은 신생항원일 수 있다.

[0011] 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, 세포 항원은 노화 세포 연관 항원일 수 있다.

[0012] 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, 제1 생리학적 조건은 비정상 조건일 수 있으며, 제2 생리학적 조건은 정상 생리학적 조건일 수 있다.

[0013] 상기 구현예에 있어, 비정상 조건은 종양 미세환경내 조건 또는 노화 세포 미세환경내 조건일 수 있다.

[0014] 상기 구현예들 중 임의의 것에 있어, 본 다중 특이적 항체와 세포 항원 및 종양 반응성 림프구 항원중 적어도 1개의 결합은 가역적일 수 있다.

[0015] 상기 구현예들중 임의의 하나에 있어, 본 다중 특이적항체는 (1) 이중 특이적 항체 접합체; (2) 하이브리드 이중 특이적 IgG2; (3) 가변 도메인만을 가지는 이중 특이적 항체 분자; (4) CH1/CL 융합 단백질; (5) Fab 융합 단백질; (6) 비 면역글로불린 융합 단백질; (7) Fc 변형된 IgG; (8) 첨부(appending) 및 Fc 변형된 IgG; (9) 변형된 Fc 및 CH3 융합 단백질; (10) 첨부된 IgG-HC 융합체; (11) 첨부된 IgG-LC 융합체; (12) 첨부된 IgG-HC&LC 융합체; (13) Fc 융합체; (14) CH3 융합체; (15) IgE/IgM CH2 융합체; (16) $F(ab')_2$ 융합체; (17) CH1/CL 융합 단백질; (18) 변형 IgG; 및 (19) 비 면역글로불린 융합체로부터 선택되는 포맷으로 입체배열될 수 있다.

[0016] 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, 본 다중 특이적 항체는 거대분자에 접합될 수 있다. 거대분자는 단백질, 지방산 및 중합체 중 적어도 1개로부터 선택될 수 있거나, 또는 거대분자는 알부민 또는 폴리에틸렌글리콜일 수 있다.

[0017] 상기구현예들 중 임의의 하나에 있어서, 세포 항원에 대한 결합 부위 적어도 1개는 IgG 항체 또는 이의 단편일 수 있으며, 세포 항원은 종양 세포 항원일 수 있다.

[0018] 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, 종양 반응성 림프구 항원에 대한 결합 부위 적어도 1개는 단일 사슬 항체일 수 있다. 단일 사슬 항체는 scFv 항체일 수 있다. scFv 항체는 상기 IgG 항체 또는 이의 단편의 경쇄 적어도 1개의 C 말단에 링커를 통하여 부착될 수 있다. 항체가 scFv 항체인 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, scFv 항체는 서열 번호 1 ~ 10의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 11 ~ 15의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있다. 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, scFv 항체는 서열 번호 26 ~ 71의 아미노산 서열로부터 선택되는 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0019] 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, IgG 항체는 Ax1, Her2, B7-H3 및 EpCAM로부터 선택되는 항원과 결합하고, 서열 번호 16, 17, 20, 22 및 88~95의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과; 상기 항원과 동일한 항원과 결합하고, 서열 번호 18, 19, 21, 23~25 및 80~87의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있다.

[0020] 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, 종양 반응성 림프구 항원은 CD3 항원일 수 있다.

[0021] 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, 종양 반응성 림프구 항원은 T 세포, 대식세포, Jurkat 세포, 단핵구, NK 세포, 호중구, 호산구, 호염기구 및 림포카인 활성화 살해 세포로부터 선택되는 림프구상에 존재할 수 있이다.

[0022] 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, 세포 항원은 Ax1, EpCAM, Ror2, Her2, 및 B7-H3로부터 선택될 수 있다.

[0023] 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 제1 생리학적 조건에서 세포 항원과 결합할 수 있다.

[0024] 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 제1 생리학적 조건에서 종양 반응성 림프구 항원과 결합할 수 있다.

[0025] 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 제1 생리학적 조건에서 세포 항원 및 종양 반응성 림프구 항원 둘 다와 결합할 수 있다.

[0026] 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, 본 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 결합능보다 더 큰 결합능으로 제1 생리학적 조건에서 세포 항원 및 종양 반응성 림프구 항원의 조합과 결합할 수 있다.

[0027] 다른 양상에서, 본 발명은 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편과; 제1 항원과 상이한 제2 항원과 결합하는 scFv 항체 적어도 1개를 포함하는 다중 특이적 항체의 제2 구현예를 제공하는데, 여기서 scFv 항체 적어도 1개는 상기 IgG 항체 또는 이의 단편의 경쇄 적어도 1개의 C 말단에 연결되고, 상기 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성 및/또는 결합능보다 더 큰 친화성 및/또는 결합능으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원 중 적어도 1개와 가역적으로 결합한다.

[0028] 제2 구현예에서, 제2 항원은 CD3 항원일 수 있다.

[0029] 상기 제2 구현예들 중 임의의 하나에 있어, scFv 항체는 서열 번호 1 ~ 10의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 11 ~ 15의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있다. 상기 구현예들 중 임의의 하나에 있어, scFv 항체는 서열 번호 26 ~ 71의 아미노산 서열로부터 선택되는 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0030] 상기 제2 구현예들 중 임의의 하나에서, IgG 항체 또는 단편은 Ax1, Her2, B7-H3 및 EpCAM로부터 선택되는 항원과 결합하고, 서열 번호 16, 17, 20, 22 및 88~95의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과; 상기 항원과 동일한 항원과 결합하고, 서열 번호 18, 19, 21, 23~25 및 80~87의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있다.

[0031] 상기 제2 구현예들 중 임의의 하나에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원과 결합할 수 있다.

[0032] 상기 제2 구현예들 중 임의의 하나에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제2 항원과 결합할 수 있다.

[0033] 상기 제2 구현예들 중 임의의 하나에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원 둘 다와 결합할 수 있다.

[0034] 상기 제2 구현예들 중 임의의 하나에서, 본 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 결합능보다 더 큰 결합능으로 제1 생리학적 조건에서 제1 항원 및 제2 항원의 조합과 결합할 수 있다.

[0035] 상기 제2 구현예들 중 임의의 하나에서, 제1 항원은 세포 표면 항원일 수 있으며, 이러한 세포 표면 항원은 암세포 표면 항원일 수 있다. 상기 제2 구현예들 중 임의의 하나에서, 제1 항원은 신생항원일 수 있다. 상기 제2 구현예들 중 임의의 하나에서, 제1 항원은 Ax1, EpCAM, Ror2, Her2 및 B7-H3로부터 선택될 수 있다.

[0036] 또 다른 양상에서, 본 발명은 a) 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편을 수득하는 단계; b) 제2 항원과 결합하는 scFv 항체 적어도 1개를, 상기 IgG 항체 또는 단편의 경쇄 적어도 1개의 C 말단에 연결시켜, 구조체 1개 이상을 제조하는 단계; c) 비정상 조건과 정상 생리학적 조건하에 제1 항원 및 제2 항원 중 적어도 1개와 결합하는지에 대해 b)의 구조체 1개 이상을 스크리닝(screening)하는 단계; 및 d) 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원중 적어도 1개와 가역적으로 결합하는 구조체 1개 이상으로부터 다중 특이적 항체를 선택하는 단계를 포함하는, 다중 특이적 항체를 제조하기 위한 방법을 제공한다.

[0037] 상기 방법에서, 제1 항원은 Axl, EpCAM, Ror2, Her2 및 B7-H3로부터 선택될 수 있는 종양 세포 항원 또는 신생 항원일 수 있다.

[0038] 상기 방법들 중 임의의 하나에서, 제2 항원은 종양 반응성 림프구 항원, 예컨대 CD3일 수 있다. 종양 반응성 림프구 항원은 T 세포, 대식세포, Jurkat 세포, 단핵구, NK 세포, 호중구, 호산구, 호염기구 및 림포카인 활성화 살해 세포로부터 선택되는 림프구상에 존재할 수 있다.

[0039] 상기 방법들 중 임의의 하나에서, scFv 항체는 서열 번호 1 ~ 10의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 11 ~ 15의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있다. 상기 구현예들 중 임의의 하나에서, scFv 항체는 서열 번호 26 ~ 71의 아미노산 서열로부터 선택되는 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0040] 상기 방법들 중 임의의 하나에서, IgG 항체는 Axl, Her2, B7-H3 및 EpCAM으로부터 선택되는 항원과 결합하고, 서열 번호 16, 17, 20, 22 및 88 ~ 95의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과; 상기 항원과 동일한 항원과 결합하고, 서열 번호 18, 19, 21, 23 ~ 25 및 80 ~ 87의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있다.

[0041] 상기 방법들 중 임의의 하나에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원과 결합할 수 있다.

[0042] 상기 방법들 중 임의의 하나에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제2 항원과 결합할 수 있다.

[0043] 상기 방법들 중 임의의 하나에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원 둘 다와 결합할 수 있다.

[0044] 상기 방법들 중 임의의 하나에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 결합능보다 더 큰 결합능으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원 둘 다의 조합과 결합할 수 있다.

[0045] 또 다른 양상에서, 본 발명은 상기 구현예들 중 임의의 하나의 다중 특이적 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체내 종양을 치료하는 방법을 제공한다.

[0046] 치료 방법에서, 본 다중 특이적 항체는 암 신생항원 백신과 함께 투여될 수 있거나, 또는 다중 특이적 항체는 암 신생항원 백신 투여후에 투여될 수 있다.

[0047] 또 다른 양상에서, 본 발명은 a) 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편을 수득하는 단계; b) 제2 항원과 결합하는 scFv 항체를 수득하는 단계; c) a) 및 b)의 항체중 어느 하나 또는 둘 다를 진화시켜, 진화된 항체 1개 이상을 제조하는 단계; d) 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 각각의 항원과 결합하는 항체를 선택하기 위해 c)의 진화된 항체 1개 이상을 스크리닝하는 단계; e) 제2 항원과 결합하는 scFv 항체를, 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 단편의 경쇄 적어도 1개의 C 말단에 연결시켜, 구조체 1개 이상을 제조하는 단계[단 scFv 항체 및 IgG 항체중 적어도 1개는 d)에서 선택되고, d)에서 선택되지 않은 scFv 항체 또는 IgG 항체는, 만일 존재한다면, a) 또는 b) 단계로부터 유래한 것임]; f) 단계 e)의 구조체 1개 이상을, 제1 항원 및 제2 항원 중 적어도 1개와 결합하는지에 대해 비정상 조건과 정상 생리학적 조건하에서 스크리닝하는 단계; 그리고 g) 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원중 적어도 1개와 결합하는 구조체 1개 이상으로부터 다중 특이적 항체를 선택하는 단계를 포함하는, 다중 특이적 항체를 제조하기 위한 방법을 제공한다.

[0048] 또 다른 양상에서, 본 발명은 a) 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편을 수득하는 단계; b) 제2 항원과 결합하는 scFv 항체를, 상기 IgG 항체 또는 이의 단편의 경쇄 적어도 1개의 C 말단에 연결시켜, 구조체 1개 이상을 제조하는 단계[단 상기 scFv 항체 적어도 1개는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 상기 제2 항원과 결합함]; c) 구조체 1개 이상을, 상기 제1 항원 및 상기 제2 항원과 결합하는지에 대해 비정상 조건과 정상 생리학적 조건하에서 스크리닝하는 단계; 및 d) 상기 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 상기 비정상 조건에서 상기 제1 항원과 결합하고, 상기 제2 항원과 가역적으로 결합하는 다중 특이적 항체를 선택하는 단계를 포함하는, 다중 특이적 항체를 제조하는 방법을 제공한다.

[0049] 또 다른 양상에서, 본 발명은 세포 특이 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편, 그리고 T 림프구 항원과 결합하고, 상기 IgG 항체 또는 이의 단편의 경쇄 적어도 1개 또는 중쇄 적어도 1개의 C 말단에 연결된 scFv 항체 적어도 1개를 포함하되, 단 상기 scFv 항체 적어도 1개는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으

로 비정상 조건에서 상기 T 림프구 항원과 결합하는 다중 특이적 항체를 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0050] 도 1은 항원(Ag)과의 결합을 위한 팔(arm) 1개와 CD3과의 결합을 위한 또 다른 팔 1개를 가지는 이종 이량체인 2가 다중 특이적 항체의 개략적 구조이다.

도 2는 각각의 팔이 항원(Ag)에 대한 결합 부위와 CD3에 대한 결합 부위를 가지는 동종 이량체인 4가 다중 특이적 항체의 개략적 구조이다.

도 3a는 도 2의 4가 다중 특이적 항체와, 항원 및 CD3이 동시에 결합하는지 측정하는데 사용되는 일반적 방법을 도시한 것이다.

도 3b는 pH 6.0 및 pH 7.4일 때 CD3/Axl에 대한 다중 특이적 항체의 CD3에 대한 비 조건부 결합 활성을 보여준다. 항체는 CD3 코팅된 ELISA 평판에 첨가되었으며, 결합은 HRP 표지화 항 IgG 항체(도 3a의 2차 항체 1)가 사용되어 검출되었다.

도 3c는 pH 6.0 및 pH 7.4일 때 Axl에 대한 다중 특이적 항체의 조건부 결합 활성을 보여준다. 항체는 CD3 코팅된 ELISA 평판에 첨가되었으며, 결합은 AXL 단백질(도 3a의 항원) 및 HRP 표지화 항 AXL 항체(도 3a의 2차 항체 2)가 사용되어 검출되었다.

도 4a는 pH 6.0 및 pH 7.4일 때 CD3/Axl에 대한 다중 특이적 항체의 부동화 CD3에 대한 조건부 결합 활성 및 비 조건부 결합 활성을 보여준다.

도 4b는 Axl이 부동화되었을 때 pH 6.0 및 pH 7.4에서 도 4a의 다중 특이적 항체 일부의 CD3에 대한 조건부 결합 활성 및 비 조건부 결합 활성을 보여준다.

도 5a는 pH 6.0 및 pH 7.4일 때 CD3/Her2에 대한 다중 특이적 항체의 부동화 CD3에 대한 조건부 결합 활성 및 비 조건부 결합 활성을 보여준다.

도 5b는 Her2가 부동화되었을 때 pH 6.0 및 pH 7.4에서 도 5a의 다중 특이적 항체의 CD3에 대한 조건부 결합 활성 및 비 조건부 결합 활성을 보여준다.

도 6은 pH 6.0 및 pH 7.4일 때 CD3/B7-H3에 대한 다중 특이적 항체의 부동화 CD3에 대한 조건부 결합 활성을 보여준다.

도 7은 조작된 Jurkat 효과기 세포상 CD3과 종양 표적 세포상 항원 둘 다에 대한 결합에 있어 본 발명의 다중 특이적 항체의 작동 모델 개략도를 보여준다.

도 8a는 CD3 및 Axl 둘 다에 대한 비 조건부 결합 활성을 가지는 이중 특이적 항체의, Jurkat 효과기 세포 자극 활성을 보여준다.

도 8b는 Axl에 대해서는 비 조건부 결합 활성을, CD3에 대해서는 조건부 결합 활성을 보이는 이중 특이적 항체의, Jurkat 효과기 세포 자극 활성을 보여준다.

도 9는 6.0 ~ 7.4의 pH 값에서 본 발명의 다중 특이적 항체의 CD3에 대한 조건부 결합 활성으로서, ELISA에 의해 측정된 조건부 결합 활성을 보여준다. 이러한 다중 특이적 항체는 CD3 및 EpCAM 둘 다와 결합한다.

도 10은 종양 이종이식편 마우스를 본 발명의 이중 특이적 항체(EpCAM x CAB-CD3)로 치료하였을 때의 결과로서의 평균 종양 부피를 보여준다.

도 11은 본 발명의 이중 특이적 항체(EpCAM x CAB-CD3)는, 비이클, 이소타입 대조군 및 비 조건부 활성 벤치마크 항체에 비해 말초 순환계내 T 세포 활성화를 감소시킴을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0051] 본원에 제공된 예의 이해를 용이하게 하기 위해, 자주 등장하는 임의의 방법들 및/또는 용어들이 본원에 정의될 것이다.

[0052] 하기 용어들, 즉 "약", "활성", "제제(agent)", "모호한 염기 요구조건", "아미노산", "증폭(amplification)", "키메라 특성(chimeric property)", "동족체(cognate)", "비교 윈도우(comparision window)", "보존적 아미노산 치환(conservative amino acid substitution)", "~에 대응하다", "분해 유효량", "한정된 서열 구조 틀",

"분해", "지향성 결찰(directional ligation)", "DNA 셔플링", "약물(drug)" 또는 "약물 분자", "유효량", "전해질", "에피토프(epitope)", "효소", "진화(evolution)" 또는 "진화시키는 것(evolving)", "단편(fragment)", "유도체(derivative)", "유사체(analog)", "단일 아미노산 치환의 완전 범위", "유전자(gene)", "유전적 불안정성", "비 상동성(heterologous)", "상동성(homologous)" 또는 " 상동성", "산업적 응용", "동일한" 또는 "동일성", "동일성의 구역", "단리된(isolated)", "단리된 핵산", "리간드", "결찰(ligation)", "링커(linker)" 또는 "스페이서(spacer)", "미세환경", "진화될 분자 특성", "돌연변이(mutation)", "자연 발생", "정상 생리학적 조건" 또는 "야생형 작동 조건", "핵산 분자", "핵산 분자", "~를 암호화하는 핵산 서열" 또는 "~의 DNA 암호화 서열" 또는 "~를 암호화하는 뉴클레오티드 서열", "프로모터 서열", "효소(단백질)를 암호화하는 핵산" 또는 "효소(단백질)를 암호화하는 DNA" 또는 "효소(단백질)를 암호화하는 폴리뉴클레오티드", "특이적 핵산 분자 종", "작업 핵산 시료를 핵산 라이브러리로 조립하는 것", "핵산 라이브러리", "핵산 구조체" 또는 "뉴클레오티드 구조체" 또는 "DNA 구조체", "구조체", "올리고뉴클레오티드"(또는 "올리고"), "상동성", "작동 가능하게 결합된", "~에 작동 가능하게 결합된", "모 폴리뉴클레오티드 세트", "환자(patient)" 또는 "대상체(subject)", "생리학적 조건", "집단(population)", "프로폼(pro-form)", "프리-프로폼(pre-pro-form)", "의사 랜덤(pseudorandom)", "유사 반복 단위(quasi-repeated unit)", "랜덤 펩티드 라이브러리", "랜덤 펩티드 서열", "수용체", "재조합체(recombinant)", "합성의", "관련된 폴리뉴클레오티드", "환원 재편성(reductive reassortment)", "기준 서열", "비교 윈도우", "서열 동일성", "서열 동일성%", "실질적 동일성", "기준 서열", "반복 지수(RI)", "제한 부위", "선별성 폴리뉴클레오티드", "서열 동일성", "유사성", "특이적으로 결합하다", "특이적 잡종화(specific hybridization)", "특이적 폴리뉴클레오티드", "엄격한 잡종화 조건", "실질적으로 동일한", "실질적으로 순수한 효소", "실질적으로 순수한", "치료하는 것(treating)", "가변성 분절(variable segment)", "변이체", "작용성", "조건부 활성 항체", "항체 의존적 세포 매개 세포독성" 또는 "ADCC", "암" 및 "암성", "다중 특이적 항체", "전장 항체", "라이브러리", "재조합 항체" 및 "개체" 또는 "대상체"의 정의들은 전체로서 참조로 본원에 인용된 WO 2016/138071에서의 정의와 동일하다.

[0053] 본원에 사용된 바와 같은 "비정상 조건"이란 용어는, 해당 조건에 대하여 대상체내에서 정상적으로 허용 가능한 범위를 벗어난 조건을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같은 "정상 생리학적 조건"이란 용어는, 대상체내 투여 위치에서 또는 작용 위치의 조직 또는 장기와 같은 대상체내 어떤 장소에서 정상 범위 내에 있는 것으로 간주되는 조건을 지칭한다. 이러한 정의의 내용중 노화 세포 및 종양 세포는 정상 세포로 간주되지 않으므로, 노화 세포 및 종양 세포에 의해 조성되거나, 이러한 세포내에 조성되거나 또는 이러한 세포 근방에 조성되는 조건은 비정상 조건으로 간주된다.

[0054] 본원에 사용되는 바와 같은 "항체"라는 용어는, 항원의 에피토프에 결합될 수 있는 비 변형 면역글로불린 분자 뿐만 아니라, 면역글로불린 분자의 단편, 예를 들어 Fab, Fab', $(Fab')_2$, Fv, 그리고 단일 사슬 항체(Single Chain Antibody; SCA) 단편을 지칭한다. 항체로부터 유래하는 것으로서, 해당 항체의 항원(예를 들어 폴리펩티드 항원)에 선택적으로 결합하는 능력을 일부 보유하는, 항체의 이러한 단편들은 당 분야에 널리 공지된 방법을 사용하여 제조될 수 있으며[예를 들어 문헌(Harlow and Lane, 상동) 참조], 다음과 같이 추가로 기술된다. 본 발명의 실시에 유용한 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, sIgA, IgD 또는 IgE일 수 있다. 항체는 면역친화성 크로마토그래피에 의해 예비 량만큼의 항원을 단리하는데 사용될 수 있다. 이러한 항체의 기타 다양한 용도는, 질환(예를 들어 신생물형성)의 진단 및/또는 기수 판단과, 질환, 예를 들어 신생물형성, 자가면역질환, AIDS, 심혈관질환 및 감염 등을 치료하기 위한 치료적 응용이다. 키메라, 인간 유사, 인간화 또는 전 인간 항체는 인간인 환자에의 투여에 특히 유용하다.

[0055] Fab 단편은 항체 분자의 1가 항원 결합 단편으로 이루어지고, 전 항체 분자를 파페인 효소로 분해하여, 비 변형 경쇄와 중쇄 일부로 이루어진 단편을 제조함으로써 제조될 수 있다.

[0056] 항체 분자의 Fab' 단편은 전 항체 분자를 펩신으로 처리한 다음, 환원시켜 비변형 경쇄와 중쇄 일부로 이루어진 분자를 생성함으로써 수득될 수 있다. 이러한 방식으로 처리된 항체 분자당 2개의 Fab' 단편이 수득된다.

[0057] 항체의 $(Fab')_2$ 단편은, 전 항체 분자를 펩신 효소로 처리하면서, 후속 환원 과정은 거치지 않았을 때 수득될 수 있다. $(Fab')_2$ 단편은 2개의 Fab' 단편이 2개의 이황화 결합에 의해 함께 결합되어 이루어진 이량체이다.

[0058] Fv 단편은, 2개의 사슬로서 발현된 중쇄의 가변 영역과 경쇄의 가변 영역을 함유하는 유전자 조작 단편으로서 정의된다.

[0059] "단일 사슬 항체("SCA")"는, 경쇄의 가변 영역과 중쇄의 가변 영역이, 적합하고 가요성인 폴리펩티드 라이너를

통해 연결되어 함유되어 있고, 아미노 말단 및/또는 카복시 말단에 추가의 아미노산 서열을 포함할 수 있는 유전자 조작 단일 사슬 분자이다. 예로서 scFv 항체는 단일 사슬 항체이다. 예를 들어 단일 사슬 항체는 암호화 폴리뉴클레오티드와의 연결을 위한 테더(tether) 분절을 포함할 수 있다. 기능성 단일 사슬 항체는, 일반적으로 특이적 표적 분자 또는 에피토프에 결합하는 전장 항체의 특성을 보유하기에 충분한 경쇄 가변 영역 일부와, 중쇄의 가변 영역 일부를 함유한다. 단일 사슬 항체는, 일반적으로 면역글로불린 상과의 유전자들에 의해 실질적으로 암호화된 연속적 아미노산[예를 들어 본원에 참고문헌으로서 인용되어 있는 문헌(The Immunoglobulin Gene Superfamily, A. F. Williams and A. N. Barclay, in Immunoglobulin Genes, T. Honjo, F. W. Alt, and THE Rabbits, eds., (1989) Academic press: San Diego, Calif., pp. 361-368)을 참조하시오], 매우 자주는 설치류, 인간 이외의 영장류, 조류, 돼지, 소, 양, 염소 또는 인간 중쇄 또는 경쇄 유전자 서열에 의해 암호화된 연속적 아미노산 적어도 10개로 이루어진 폴리펩티드 분절 하나 이상으로 이루어진 단백질이다. 기능성 단일 사슬 항체는, 특이적 표적 분자(통상적으로는 수용체 또는 항원(에피토프))와의 결합 특성을 보유하기에 충분한, 면역글로불린 상과 유전자 산물의 일부를 일반적으로 함유한다.

[0060] 본원에 사용된 바와 같은 "항원" 또는 "Ag"란 용어는, 면역 반응을 유발하는 분자로서 정의된다. 이 면역 반응은 항체 생산 또는 특이적 면역 수용성 세포의 활성화, 아니면 둘 다를 수반할 수 있다. 당 업자는, 실질적으로 모든 단백질 또는 펩티드, 그리고 다당체, 핵산 또는 지질을 포함하는 임의의 거대분자가 항원으로 사용될 수 있음을 이해할 것이다. 게다가 항원은 재조합 또는 게놈 DNA로부터 유래할 수 있다. 당 업자는, 면역 반응을 유도하는 단백질을 암호화하는 까닭에, "항원"을 암호화하는 것이라 칭하여지는 뉴클레오티드 서열 또는 부분 뉴클레오티드 서열을 포함하는 임의의 DNA가 본원에 사용됨을 이해할 것이다. 뿐 아니라 당 업자는, 항원은 오로지 유전자의 전장 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화될 필요는 없음을 이해할 것이다. 본 발명은 1개를 초과하는 유전자의 부분 뉴클레오티드 서열의 용도를 포함하되, 이에 한정되는 것은 아님과, 이러한 뉴클레오티드 서열은 요망되는 면역 반응을 유도하도록 다양한 조합을 이루며 배열됨을 용이하게 알 수 있다. 또한 당 업자는, 항원은 "유전자"에 의해 암호화될 필요가 전혀 없음을 이해할 것이다. 항원은 생물 시료로부터 생성될 수 있거나, 합성될 수 있거나 또는 유래할 수 있음을 용이하게 알 수 있다. 이러한 생물 시료는 조직 시료, 종양 시료, 세포 또는 생물 유체를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0061] 본원에 사용된 바와 같은 "결합능"이란 용어는, 분자 2개간 다수의 결합 부위들, 예컨대 표적 2개와 동시에 상호작용하는 다중 특이적 항체의 다수의 항원 결합 부위들간 합하여진 힘을 지칭한다. 1개를 초과하는 결합 상호작용이 일어날 때, 분자 2개는 모든 결합 부위가 해리될 때 오로지 해리되기만 할 것이므로, 해리 속도는 개별 결합 부위들의 해리 속도보다 더 느릴 것이며, 이로 말미암아 개별 결합 부위들의 결합력(친화성)에 비하여 더 큰 유효 총 결합력(결합능)을 제공할 것이다. 따라서 결합능은 개별 결합 부위와 특이적 에피토프의 친화성뿐 아니라, 다중 특이적 항체 및 항원의 결합가 둘 다에 관한 것이다. 예를 들어 이중 특이적 항체와, 반복적 에피토프 구조를 가지는 항원, 예컨대 중합체의 상호작용은 고 결합능의 하나가 될 것인데, 그 이유는 결합이란 것은 항원상에 다수의 에피토프에 대한 것일 수 있기 때문이다.

[0062] 본원에 사용되는 바와 같이, "암" 및 "암성의"라는 용어는, 통상적으로 비 조절성 세포 성장에 의해 특징지어지는, 포유동물내 생리학적 상태를 지칭한다. 암의 예는 B 세포 림프종(호지킨 림프종 및/또는 비 호지킨 림프종), 뇌 종양, 유방암, 결장암, 폐암, 간세포 암, 위암, 췌장암, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 요로암, 갑상선암, 신장암, 암종, 흑색종, 두경부암, 뇌암, 그리고 전립선암, 예를 들어 안드로겐 의존적 전립선암 및 안드로겐 비의존적 전립선암(이에 한정되는 것은 아님)을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0063] 본원에 사용된 바와 같은 "세포 항원" 또는 "세포 연관 항원"이란 용어는, 면역 반응을 유도할 수 있는 세포로부터 유래하거나 이러한 세포에 의해 발현되는 임의의 단백질, 탄수화물 또는 기타 성분을 지칭한다. 예를 들어 세포는 대상체내 임의의 세포, 구체적으로는 암세포 및 노화 세포일 수 있다. 세포 항원은 세포의 표면이나 세포의 내부에 있는 항원일 수 있다. 이 정의는, 세포 표면 또는 세포 막으로부터 정제된 단백질 또는 세포의 세포 표면과 연관된 독특한 탄수화물기를 포함하는 것으로 여겨지지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 이 정의는 또한 세포의 표면으로부터 유래하는 것으로서, 본 발명의 항체에 의해 접근될 세포의 특별한 처리를 필요로 하는 항원을 포함하기도 한다.

[0064] "조건부 활성" 또는 "조건부 활성인"이란 용어는, 다중 특이적 항체의 친화성 또는 결합능이, 정상 생리학적 조건에서보다 비정상 조건 1가지 이상에서 더 큰 경우를 지칭한다. 이 조건부 활성인 다중 특이적 항체는 체내 선택된 영역에서 활성을 보일 수 있으며/있거나 비정상 또는 허용 가능한 생리학적 조건하에서 증가 또는 감소한 활성을 보일 수 있다. 하나의 양상에서, 조건부 활성 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서는 실질적으로 비활성이지만, 비정상 조건에서는 활성이다. 예를 들어 하나의 양상에서, 조건부 활성 다중 특이적 항체는 정상

생리학적 pH에서 실질적으로 비활성이지만, 치매 환자의 뇌 또는 종양 미세환경과 같이 더 낮은 pH에서는 활성이다. 다른 양상에서, 조건부 활성 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 pH에서 가역적으로나 비가역적으로 비활성화될 수 있다. 추가의 양상에서, 조건부 활성 다중 특이적 항체는 치료용 단백질로부터 유래한다. 다른 양상에서, 조건부 활성 다중 특이적 항체는 약물 또는 치료제로서 사용된다.

[0065] 본원에 사용된 바와 같은 "에피토프" 또는 "항원 결정기"란 용어는, 항체가 결합하는 항원상 부위를 지칭한다. 에피토프는 연속적 아미노산으로부터 형성될 수 있거나(선형 에피토프), 단백질 3차 폴딩에 의해 병치된 불연속적 아미노산으로부터 형성될 수 있다(입체적 에피토프). 연속적 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 통상 변성 용매에 노출시 유지되는 반면에, 3차 폴딩에 의해 형성된 에피토프는 통상 변성 용매 처리시 소실된다. 에피토프는 3개 이상의 아미노산을 포함할 수 있다. 일반적으로 에피토프는 적어도 5개 ~ 7개의 아미노산(예컨대 에피토프 하나당 5개, 6개 또는 7개의 아미노산), 또는 적어도 8개 ~ 11개의 아미노산(예컨대 에피토프 하나당 8개, 9개, 10개 또는 11개의 아미노산), 또는 11개를 초과하는 아미노산(예컨대 에피토프 하나당 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개 또는 20개 아미노산), 또는 20개를 초과하는 아미노산(예컨대 에피토프 하나당 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 26개, 27개, 28개, 29개 또는 30개 아미노산), 드물게는 심지어 31개 ~ 40개의 아미노산으로 이루어져 있다. 에피토프의 공간 입체구조를 확정하는 방법으로서는, 예를 들어 X-선 결정학 및 2차원 핵 자기 공명법을 포함한다. 예를 들어 문헌[Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed (1996)]을 참조한다. 항원상 에피토프를 맵핑하기 위한 바람직한 방법은 표면 플라스몬 공명법이다.

[0066] "전장 항체"란 용어는, 항원 결합 가변 영역(V_H 또는 V_L)뿐 아니라 경쇄 불변 도메인(C_L) 및 중쇄 불변 도메인, 즉 CH1, CH2 및 CH3을 포함하는 항체를 지칭한다. 불변 도메인은 원산 서열 불변 도메인(예컨대 인간 원산 서열 불변 도메인) 또는 이의 아미노산 서열 변이체일 수 있다. 전장 항체의 중쇄 불변 도메인 아미노산 서열에 따라서, 전장 항체는 상이한 "군"으로 분류될 수 있다. 전장 항체에는 5가지 주요 군, 즉 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 있으며, 이들중 몇몇은 "하위군"(이소타입), 예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA 및 IgA2로 세분될 수 있다. 항체의 상이한 군에 대응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤라고 칭하여진다.

[0067] "개체", "환자" 또는 "대상체"는 인간 또는 동물이다. 예를 들어 대상체는 가축(예컨대 소, 양, 고양이, 개 및 말), 영장류(예컨대 인간 및 인간 이외의 영장류, 예컨대 원숭이), 토끼 및 설치류(예컨대 마우스 및 래트)로부터 선택되는 포유동물일 수 있다.

[0068] 본원에 사용된 바와 같은 "라이브러리"란 용어는 단일 풀(pool)내 핵산 또는 단백질의 모음(collection)을 지칭한다. 라이브러리는 DNA 재조합 기술이 사용되어 제조될 수 있다. 예를 들어 cDNA 또는 기타 임의의 단백질 암호화 DNA의 모음은 발현 벡터에 삽입되어, 단백질 라이브러리로 제조될 수 있다. cDNA 또는 단백질 암호화 DNA의 모음은 파아지 게놈에 삽입되어, 야생형 단백질의 박테리오파아지 전시 라이브러리로 제조될 수 있다. cDNA 모음은 선택된 세포 집단 또는 조직 시료로부터, 예컨대 Sambrook외 다수의 문헌(Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)에 개시된 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0069] 선택된 세포 유형으로부터 얻어진 cDNA 모음은 또한 Stratagene®과 같은 판매사로부터 상업적으로 입수 가능하다. 본원에 사용된 바와 같은 야생형 단백질 라이브러리는 생물 시료의 모음이 아니다.

[0070] 본원에 사용된 바와 같은 "다중 특이적 항체"란 용어는, 각각이 동일하거나 상이한 항원상 에피토프와 결합할 수 있는 상이한 결합 부위 적어도 2개를 가지는 전장 항체, 항체 단편, 또는 전장 항체 및 항체 단편 1개 이상을 포함하는 구조체이다. 구조체는 2개, 3개 또는 그 이상(예컨대, 4개, 5개, 6개 또는 7개)의 기능성 항원 결합 부위를 가지도록 조작될 수 있으며, 이 구조체는 또한 다중 특이적 항체 범위안에 포함된다(예를 들어 US 2002/0004587 A1 및 Brinkman 및 Kontermann의 문헌(MAbs, vol. 9, pp. 182-212, 2017)을 참조한다).

[0071] 본원에 사용된 바와 같은 "약학적으로 허용 가능한 염"이란 용어는 본 발명의 조건부 활성 다중 특이적 항체의 염 형태를 지칭한다. 염 형태는 (예컨대 유리 아미노기를 가지도록 형성된) 산 부가염이자, 무기산, 예컨대 염화수소산 또는 인산, 또는 유기산, 예컨대 아세트산, 옥살산, 주석산 및 말레산과 함께 형성된 산 부가염일 수 있다. 유리 카복실기를 가지도록 형성된 염은 또한 무기 염기, 예컨대 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘 또는 철 수산화물, 및 유기 염기, 예컨대 이소프로필아민, 트리메틸아민, 2-에틸아미노에탄올, 히스티딘 및 프로카인으로부터 유래할 수 있다.

[0072] 본원에 사용된 바와 같은 "예방적 유효량"이란 용어는, 해당 양만큼을 투여받지 않은 해당 대상체에서에 비하여 어떤 질환, 장애 또는 부작용의 예방 또는 경감, 또는 어떤 질환이나 장애의 진행 속도의 감소(이에 한정되는

것은 아님)를 초래하는 임의의 양을 의미한다. 이 용어는 또한 그 범위안에 정상 생리학적 기능을 향상시키는데 유효한 양뿐 아니라, 환자에서 제2의 약학 제제의 치료 효과 또는 예방 효과를 향상시키거나 보조하는 생리학적 기능을 유발시키는데 유효한 양을 포함하기도 한다.

[0073] 본원에 사용된 바와 같은 "예방하는 것"이란 용어는, 어떤 병태가 발생하는 것을 방지하거나 피하는 것을 지칭한다. 몇몇 구현예들에서, 예방하는 것이란, 어떤 병태, 예컨대 종양이나 노화 관련 병태와 연관된 손상을 경감시키기 위하여 본 발명의 다중 특이적 항체를 사용하는 것에 관한 것이다.

[0074] 본원에 사용된 바와 같은 "소분자"란 용어는, 분자량이 900 Da 미만이거나, 또는 500 Da 미만이거나, 또는 200 Da 미만이거나, 또는 100 Da 미만인 분자나 이온을 지칭한다. 본 발명의 검정 및 환경에 있어서, 소분자는 주로 검정이나 환경의 pH에 따라서, 종종 분자와 분자의 탈양성자화된 이온의 혼합물로서 존재할 수 있다.

[0075] 본원에 사용된 바와 같은 "치료적 유효량"이란 용어는, 치료적 유효량만큼이 투여되지 않은 대응 대상체에 비하여, 어떤 질환, 장애 또는 부작용의 치유, 예방 또는 경감을 초래하거나, 또는 어떤 질환이나 장애의 진행 속도의 감소를 초래하는(이에 한정되는 것은 아님), 본 발명의 다중 특이적 항체의 임의의 양을 의미한다. 이 용어는, 자체의 범위내에 정상 생리학적 기능을 향상시키는데 유효한 양뿐만 아니라, 제2 약학 제제의 치료 효과를 향상시키거나 보조하는 생리학적 기능을 환자에서 유발시키는데 유효한 양도 또한 포함한다.

[0076] "치료하는 것" 또는 "치료"란 용어는, 대상체내 질환이나 장애(예컨대 암)의 증상 1가지 이상의 중증도, 지속기간 또는 횟수를 감소시키는 것, 또는 증상의 가짓수를 감소시키는 것을 포함한다. "치료하는 것"이란 용어는 또한 대상체내에서 증상의 발생 또는 진행, 또는 증상이나 장애의 심각성의 진전 또는 장애의 진행을 지연시키는 것, 또는 장애를 가지는 대상체의 수명을 증가시키는 것을 의미할 수도 있다.

[0077] 본원에 사용된 바와 같은 "종양"이란 용어는 악성이건 양성이건 간에 신생물 세포 성장 및 증식 모두와, 전암성 및 암성 세포와 조직 모두를 지칭한다. "종양 미세환경"이란 용어는, 종양의 생존 및/또는 증식 및/또는 확산을 위해 악성 과정에 대한 구조적 및/또는 기능적 환경을 조성하는 요소를 비롯하여 종양 환경의 임의의 요소와 모든 요소를 지칭한다.

[0078] 본원에 사용된 바와 같은 "단위 투여형"이란 용어는, 한 대상체에 대한 단위 투여량으로서 적합한, 물리적으로 별개인 단위를 지칭하는데, 단 각각의 단위는 본 발명의 조건부 활성 다중 특이적 항체를 소정량(약학적으로 허용 가능한 희석제, 담체 또는 비이클과 연관하여 요망되는 치료 효과를 발휘하기에 충분한 본 발명의 다중 특이적 항체의 양인 것으로서 산정된 양)만큼을 함유한다.

[0079] **상세한 설명**

[0080] 본원 및 첨부된 특허청구의 범위에 사용된 바와 같은 단수 형태를 나타내는 "하나의(a)", "한(an)" 및 "본(the)"은, 문맥중 명백히 달리 명시되어 있지 않은 한, 복수의 대상을 포함함이 주목되어야 한다. 뿐 아니라, "하나의"(또는 "한"), "1개 이상" 및 "적어도 1개"라는 용어들은 본원에서 호환되어 사용될 수 있다. ~를 포함하는(comprising)", "~를 포함하는(including)", "~를 가지는(having)" 및 "~로부터 구성된(constructed from)"이란 용어들도 또한 호환되어 사용될 수 있다.

[0081] 달리 명시되지 않은 한, 본 명세서와 특허청구의 범위에 사용된 성분, 특성, 예컨대 분자량, 퍼센트, 비, 반응 조건 등의 양을 나타내는 모든 수치는, "약"이라는 용어가 존재하건 존재하지 않건 간에, 모든 경우에서 "약"이라는 용어에 의해 수식됨이 이해될 것이다. 그러므로 반대하는 것으로 명시되지 않은 한, 명세서 및 특허청구의 범위에 제시된 수치 매개변수는 본 발명에 의해 얻고자하는 요망 특성에 따라 변할 수 있는 근사치이다. 적어도 특허청구의 범위에 대한 균등론 적용을 한정하고자 하는 시도는 아닐 때, 각각의 수치 매개변수는 적어도 보고된 유의미 숫자의 수치에 비추어, 그리고 보통의 반올림 기법을 적용하여 해석되어야 할 것이다. 본 발명의 넓은 범위를 제시하는 수치 범위와 매개변수는 근사치임에도 불구, 특정 예에 제시된 수치 값은 가능한한 정확하게 보고된다. 그러나 임의의 수치 값은 본질적으로 각각의 시험 측정치에서 발견되는 표준 편차로부터 비롯되기 마련인 임의의 오차를 포함한다.

[0082] 본원에 개시된 각각의 성분, 화합물, 치환기 또는 매개변수는 단독으로 사용되거나 기타 본원에 개시된 성분, 화합물, 치환기 또는 매개변수 각각 및 이것들 모두중 1개 이상과 함께 사용되도록 개시되어 있는 것으로 해석되어야 함이 이해되어야 할 것이다.

[0083] 본원에 개시된 각각의 성분, 화합물, 치환기 또는 매개변수에 대한 각각의 양/값, 또는 양/값의 범위는 본원에 개시된 기타 임의의 성분(들), 화합물(들), 치환기(들) 또는 매개변수(들)에 대한 각각의 양/값, 또는 양/값의

범위와 함께 개시되는 것으로 해석되어야 하며, 본원에 개시된 성분(들), 화합물(들), 치환기(들) 또는 매개변수(들) 2개 이상에 대한 양/값 또는 양/값의 범위에 관한 임의의 조합은 이의 설명을 위하여 서로 조합되어 개시되어 있음도 또한 이해될 것이다.

[0084] 본원에 개시된 각각의 범위는, 각각의 구체적인 값이 유의미한 숫자의 갯 수와 동일한 갯 수를 가지는, 개시된 범위내에 있음을 개시하는 것으로서 해석될 것임도 또한 이해된다. 그러므로 1 내지 4와 같은 범위는 값들, 즉 1, 2, 3 및 4에 대한 분명한 개시로서 해석되어야 할 것이다. 본원에 개시된 각각의 범위의 하한치는 동일한 성분, 화합물, 치환기 또는 매개변수에 대하여 본원에 개시된 각각의 범위의 각각의 상한치 및 각각의 범위에 속하는 각각의 구체적인 값과 조합하여 개시되는 것으로 해석됨도 또한 이해된다. 그러므로 본 발명은, 각각의 범위의 각각의 하한치와, 각각의 범위의 각각의 상한치 또는 각각의 범위에 속하는 각각의 구체적인 값을 조합하거나, 또는 각각의 범위의 각각의 상한치와 각각의 범위내에 속하는 각각의 구체적인 값을 조합함으로써 수득된 모든 범위의 개시로서 해석되어야 할 것이다.

[0085] 또한, 발명의 설명 또는 실시예에 개시된 성분, 화합물, 치환기 또는 매개변수의 구체적인 양/값은 어떤 범위의 하한치 또는 상한치중 어느 하나에 대한 개시로서 해석되어야 할 것이므로, 본원의 어딘가에 개시된 동일 성분, 화합물, 치환기 또는 매개변수에 대한 구체적인 양/값 또는 범위의 기타 임의의 하한치 또는 상한치와 합하여져, 해당 성분, 화합물, 치환기 또는 매개변수에 대한 범위를 이룰수 있다.

[0086] 일 양상에서, 본 발명은 세포 항원에 대한 결합 부위 적어도 1개와, 종양 반응성 림프구 항원에 대한 결합 부위 적어도 1개를 포함하는 다중 특이적 항체를 제공한다. 이 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 제1 생리학적 조건에서 적어도 1개의 세포 항원 및 종양 반응성 림프구 항원과 결합한다. 몇몇 구현예들에서, 제1 생리학적 조건은 비정상 조건이고, 제2 생리학적 조건은 정상 생리학적 조건이다. 예를 들어 비정상 조건은 종양 미세환경에서의 조건일 수 있다. 본 발명의 다중 특이적 항체는 조건부 활성 다중 특이적 항체라 지칭될 수 있다. 다른 예로서, 비정상 조건은 노화 세포 미세환경내 조건일 수 있다. 이 내용에 있어 노화 세포는 노화가 일어나기 이전부터 동일한 지역에 원래부터 있었던 정상 세포와 동일하지 않으므로, 노화 세포는 비정상인 것으로 특징지어진다. 노화 세포 미세환경내 비정상 조건은 산성 pH, 낮은 산소 농도 및/또는 노화 연관 분비 항체 표현형(SASP)일 수 있다.

[0087] 몇몇 구현예들에서, 본 조건부 활성 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서는 실질적으로 비활성이지만, 선택적으로 정상 생리학적 조건에서의 조건부 활성 다중 특이적 항체의 활성 또는 조건부 항체가 유래한 모 항체의 정상 생리학적 조건에서의 활성보다 더 큰 활성 수준을 보이게 되는 비정상 조건에서는 활성이다. 다른 구현예에서, 본 조건부 활성 다중 특이적 항체는 pH 7.2 ~ 7.4에서는 실질적으로 비활성이지만, 이보다 더 낮은 pH인 pH 6.0 ~ 6.8에서는 활성이다. 몇몇 경우들에서, 본 조건부 활성 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서 가역적으로나 불가역적으로 비활성화된다. 다른 예에서, 본 조건부 활성 다중 특이적 항체는 고산소화 혈액, 예컨대 폐를 통과한 후의 혈액 또는 종양 미세환경에서 발견되는 더 낮은 pH 환경에서는 거의 활성일 수 있다. 조건부 활성 다중 특이적 항체는 약물, 치료제 또는 진단제로서 사용될 수 있다.

[0088] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체와 세포 항원 및/또는 종양 반응성 림프구 항원의 결합은 가역적이다. 이는, 본 다중 특이적 항체가 세포 항원 및/또는 종양 반응성 림프구 항원과 결합한 다음, 둘로 분리될 수 있음을 의미한다. 분리된 다중 특이적 항체는 세포 항원 및/또는 종양 반응성 림프구 항원과 또 다시 결합할 수 있다.

[0089] 몇몇 구현예들에서, 세포 항원은 세포 표면 항원 또는 세포 내부 항원일 수 있다. 세포는 종양 반응성 림프구에 의해 표적화되어 억제, 손상, 파괴 또는 사멸될 수 있다. 세포는 표적 세포라 지칭될 수 있다. 그러므로 세포는 본 발명의 다중 특이적 항체가 사용되는 치료에서 표적화될 수 있다. 특히 몇몇 질환 또는 병태가 치료되기 위해서 세포는 제거되도록 표적화될 수 있다. 예를 들어 암세포와 노화 세포는 제거되도록 표적화될 수 있다. 이러한 경우에서, 세포 항원은 암세포 항원 또는 노화 세포 항원일 수 있다.

[0090] 몇몇 구현예들에서, 세포 항원은 표적 세포와 우선적으로 결합하되, 다른 세포 유형에는 덜 만연한 항원이다. 본 발명의 다중 특이적 항체는 이러한 방식으로 표적 세포와 우선적으로 상호작용할 수 있다. 표적 세포는 암세포일 수 있다. 암세포 특이 항원의 예로서는 4-IBB, 5T4, 선암종 항원, 알파-태아단백질, BAFF, B-림프종 세포, C242 항원, CA-125, 탄산탈수효소 9(CA-IX), C-MET, CCR4, CD152, CD19, CD20, CD200, CD22, CD221, CD23(IgE 수용체), CD28, CD30 (TNFRSF8), CD33, CD4, CD40, CD44 v6, CD51, CD52, CD56, CD74, CD80, CEA, CNTO888, CTLA-4, DR5, EGFR, EpCAM, CD3, FAP, 피브론텍틴 잉여 도메인(fibronectin extra domain)-B, 엽산염 수용체 1, GD2, GD3 강글리오사이드, 당단백 75, GPNMB, HER2/neu, B7-H3, Axl, Ror2, HGF, 인간 산란 인자(human

scatter factor) 수용체 키나아제, IGF-1 수용체, IGF-I, IgG1, LI-CAM, IL-13, IL-6, 인슐린 유사 성장 인자 I 수용체, 인테그린 α5β1, 인테그린 αvβ3, MORAb-009, MS4A1, MUC1, 뮤신 CanAg, N-글리콜일뉴라민산, NPC-1C, PDGF-Ra, PDL192, 포스파티딜세린, 전립선 암종 세포, RANKL, RON, ROR1, SCH 900105, SDC1, SLAMF7, TAG-72, 테나신 C, TGF 베타 2, TGF-β, TRAIL-R1, TRAIL-R2, 종양 항원 CTAA16.88, VEGF-A, VEGFR-1, VEGFR2 및 비멘틴을 포함한다.

[0091] 일 구현예에서, 암세포 특이 항원은 CD3, Axl, EpCAM, Her2, Ror2 및 B7-H3로부터 선택된다.

[0092] 일 구현예에서, 표적화된 암세포는 유방암세포인데, 이 경우 유방 암세포 특이 항원은 EpCAM(상피 세포 부착 분자), Her2/neu(인간 표피 성장 인자 수용체 2), MUC-1, EGFR(표피 성장 인자 수용체), TAG-12(종양 연관 당단백 12), IGF1R(인슐린 유사 성장 인자 1 수용체), TACSTD2(종양 연관 칼슘 신호 전달체 2), CD318, CD340, CD104 및 N-카데린중 하나일 수 있다.

[0093] 다른 구현예에서, 암세포는 전립선 암세포인데, 이 경우 전립선 암세포 특이 항원은 EpCAM, MUC-1, EGFR, PSMA(전립선 특이 막 항원), PSA(전립선 특이 항원), TACSTD2, PSCA(전립선 줄기세포 항원), PCSA(전립선 세포 표면 항원), CD318, CD104 및 N-카데린중 하나일 수 있다.

[0094] 또 다른 구현예에서, 암세포는 결장직장 암세포인데, 이 경우 결장직장 암세포 특이 항원은 EpCAM, CD66c, CD66e, CEA(암태아항원), TACSTD2, CK20(사이토케라틴 20), CD104, MUC-1, CD318 및 N-카데린중 하나일 수 있다.

[0095] 또 다른 구현예에서, 암세포는 폐 암세포인데, 이 경우 폐 암세포 특이 항원은 CK18, CK19, CEA, EGFR, TACSTD2, CD318, CD104 및 EpCAM 중 하나일 수 있다.

[0096] 다른 구현예에서, 암세포는 췌장 암세포인데, 이 경우 췌장 암세포 특이 항원은 HSP70, mHSP70, MUC-1, TACSTD2, CEA, CD104, CD318, N-카데린 및 EpCAM중 하나일 수 있다.

[0097] 추가의 구현예에서, 암세포는 난소 암세포인데, 이 경우 난소 암세포 특이 항원은 MUC-1, TACSTD2, CD318, CD104, N-카데린 및 EpCAM중 하나일 수 있다.

[0098] 또 다른 구현예에서, 암세포는 방광 암세포인데, 이 경우 방광 암세포 특이 항원은 CD34, CD146, CD62, CD105, CD106, VEGF 수용체(혈관내피성장인자 수용체), MUC-1, TACSTD2, EpCAM, CD318, EGFR, 6B5 및 엽산염 결합 수용체중 하나일 수 있다.

[0099] 몇몇 경우들에서, 암세포는 암 줄기세포인데, 이 경우 암 줄기세포 특이 항원은 CD133, CD135, CD117 및 CD34중 하나일 수 있다.

[0100] 다른 경우에서, 암세포는 흑색종 암세포인데, 이 경우 흑색종 암세포 특이 항원은 멜라닌세포 분화 항원, 종양 태아 항원, SEREX 항원중 하나일 수 있다. 멜라닌세포 분화 항원의 예로서는 티로시나아제, gp75, gp100, MART1 또는 TRP-2를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 종양 태아 항원의 예로서는 MAGE 과 항원들(MAGE-A1, MAGE-A4), BAGE 과 항원들, GAGE 과 항원들 및 NY-ESO1을 포함한다. SEREX 항원의 예로서는 D-1 및 SSX-2를 포함한다. 종양 특이 항원의 추가 예로서는 CDK4 및 13-카테닌을 포함한다.

[0101] 몇몇 구현예들에서, 암세포 항원은 신생항원이다.

[0102] 예들이 이하 표 1에 제시되어 있다.

표 1

신생항원

암의 유형	신생항원
흑색종	BRAF-V 600E/D/G/K/M/L BRAF-L597RIS/V/Q BRAF-D594VIGI A/E/V/R/Q/S CTNNB1-S45P/Y IF KIT-V559D/A 흑색종 KIT-W557R KIT-L576P KIT-K642E NRAS-Q61P/H/L/R/E/K NRAS-G13V/A/D/C/R NRAS-G12V/A/D/C/R/S
비소세포 폐암종	AKTI-E17K EGFR-G719A/S/C/D EGFR-T790M EGFP-L858R KRAS-G 12S/R/C/A/D KRAS-Q61R/L/P/K/H KRAS-G 13A/D/C/R/S NRAS-G 12C/S/A/D NRAS-Q61P/H/R/L/K PIK3CA-E542K PIK3CA-E545K1Q/A/G/V PIK3CA-H1047L/R PTEN-R159S
급성골수성백혈병	IDHI-R132C/G/S/LIP/H IDH2-R140Q/W/L IDH2-RI72S/K/M JAK2-V617F KRAS-Q61R/L/P/K/H NRAS-Q61P/H/L/R/E/K NRAS-G13V/A/D/C/R NRAS-G 12V/A/D/C/R/S KIT-D816V FLT3-D835E/F/H/N/V/A/Y FLT3-1836L1M
폐암	BRAF-V600E BRAF-L597V BRAF-G469A BRAF-Y472C BRAF-G466V
유방암	AKTI-E17K PIK3CA-E542K PIK3CA-E545K/Q/A/G/V PIK3CA-Q546E/K/P/R/L/N PIK3CA-H1047L/R PTEN-R159S

[0103]

암의 유형	신생항원
난소암	BRAF-V600E BRAF-L597R KRAS-G 12C/R/V/A/D KRAS-G13A/D/C/R PI3K3CA-P542K PIK3CA-E545K/Q/A/G/V PIK3CA-Q546E/K/P/R/L/N PIK3CA-H1047L/R PTEN-P130G/Q
결장직장암	AKTI-E17K BRAF-V600E BRAF-D594G/V BRAF-G466V KRAS-G13S KRAS-Q61R/L/P/K/H KRAS-G 13A/D/C/R/SV KRAS-A146P/T/V NRAS-Q61P/H/L/R/E/K NRAS-G 12V/A/D/C/R/S PIK3CA-E542K PIK3CA-E545K/Q/A/G/V PIK3CA-Q546E/K/P/R/L/N PIK3CA-H1047L/R PTEN-R159S SMAD-R361H/C/S
뇌암	BRAF-V600E IDHI-R132G/C/S/L/P/H IDH2-RI72S/M/K IDH2-R140Q
위장관 기저종양	IBRAF-V600E KIT-V559D
갑상선암	BRAF-V600E KRAS--Q61 K/L/R/P KRAS-G 12C/R/S/V/D IIKRAS-G 13A/D/C/R/S KRAS-A146V

[0104]

[0105] 몇몇 구현예들에서, 세포 특이 항원은 APC, ARHGAP1, ARMCX-3, AXL, B2MG, BCL2L1, CAPNS2, CD261, CD39, CD54, CD73, CD95, CDC42, CDKN2C, CLYBL, COPG1, CRKL, DCR1, DCR2, DCR3, DEP1, DGKA, EBP, EBP50, FASL, FGF1, GBA3, GIT2, ICAM1, ICAM3, IGF1, ISG20, ITGAV, KITLG, LaminB1, LANCL1, LCMT2, LPHN1, MADCAM1, MAG, MAP3K14, MAPK, MEF2C, miR22, MMP3, MTHFD2, NAIP, NAPG, NCKAP1, Nectin4, NNMT, NOTCH3, NTAL, OPG, OSBPL3, p16, p16INK4a, p19, p21, p53, PAI1, PARK2, PFN1, PGM, PLD3, PMS2, POU5F1, PPP1A, PPP1CB, PRKRA, PRPF19, PRTG, RAC1, RAPGEF1, RET, Smurf2, STX4, VAMP3, VIT, VPS 26A, WEE1, YAP1, YH2AX 및 YWHAE를 포함할 수 있는 노화 세포 특이 항원으로부터 선택된다.

[0106] 본 발명의 다중 특이적 항체에 의해 결합된 기타 항원은 종양 반응성 림프구 항원일 수 있는데, 이 항원은 종양 세포를 표적화하는 림프구의 항원이다. 구체적으로 림프구가 종양 세포를 공격, 억제 또는 파괴할 수 있을 때, 림프구는 종양 반응성이다. 종양 반응성 림프구는 T 세포, 대식세포, Jurkat 세포, 단핵구, NK 세포, 활성화된 NK 세포, 호중구, 호산구, 호염기구, B 세포 및 림포카인 활성화 살해(LAK) 세포로부터 선택될 수 있다. T 세포는 원산 T 세포, 조력자 T 세포, 효과기 T 세포, 기억 T 세포, 세포독성 T 세포, 항원 특이적 T 세포 및 CD28-CD27-CD4 양성 T 세포일 수 있다.

[0107] 종양 반응성 림프구의 항원은, 통상적으로 T 세포상 마커, 예컨대 CD2, CD3, CD4, CD8 CD25, CD28, CD27, CD45RA, CD45RO, CD62L, CD95, CD127, CD137, 알파/베타 TCR, 감마/델타 TCR, CCR7, PD-1 및 Lag3을 포함한다. 대식세포상 항원의 몇몇 예로서는 CCR2, CD14, CD68, CD163, CSFIR 및 MSR1을 포함한다.

[0108] 이론에 국한되기를 바라지 않을 때, 본 발명의 다중 특이적 항체는 표적 세포와 종양 반응성 림프구 둘 다와 결합하고, 그 결과 표적 세포와 종양 반응성 림프구는 매우 근접하게 위치하게 된다. 이 점은, 표적 세포상에 있게 된 종양 반응성 림프구에 의한 공격을 촉진하고, 이를 통하여 표적 세포의 억제, 손상 또는 파괴가 초래될 것으로 생각된다. 종양 세포 및/또는 노화 세포의 억제 또는 제거에 따른 치료 효과는, 대상체 종양 세포 및/또는 노화 세포의 억제, 파괴 및 제거가 도모되도록 반응성 림프구를 종양 세포 및/또는 노화 세포에 가져다 놓기 위해 본 발명의 다중 특이적 항체를 사용함으로써 달성될 수 있다.

[0109] (온도, pH, 삼투압, 삼투질 농도, 산화 스트레스, 산소 농도 및 전해질 농도로부터 선택될 수 있는) 조건이 동일할 때, 제1 생리학적 조건 및 제2 생리학적 조건에서의 해당 조건의 수치 값은 서로간에 상이하다. 예를 들어

제1 생리학적 조건은 종양 미세환경에서 산성 pH, 즉 5.2 내지 7.0, 또는 5.8 내지 7.0, 또는 6.0 내지 6.8의 범위의 pH일 수 있다. 제2 생리학적 조건은 대상체 혈액중에서 정상 생리학적 pH, 즉 7.0 내지 7.8, 또는 7.2 내지 7.6 범위의 pH일 수 있다.

[0110] 몇몇 구현예들에서, 제1 생리학적 조건은 종양 미세환경에서의 더 낮은 산소 농도이고, 제2 생리학적 조건은 대상체 혈액중 정상인 생리학적 산소 농도이다. 기타 몇몇 구현예들에서, 제1 생리학적 조건은 노화 세포를 둘러싸고 있는 환경(노화 세포 미세환경)내 비정상 조건, 예컨대 산성 pH 및/또는 더 낮은 산소 농도이다. 뿐 아니라, 노화 세포 미세환경내 비정상 조건은 또한 노화 연관 분비 항체 표현형(SASP)도 포함한다. 노화 세포 미세환경내 노화 세포는 대사 활성이고, 노화 연관 분비 항체 표현형을 발현하는 노화 세포 미세환경에 대한 신호를 생성하는 단백질을 분비할 것이다(Coppe et al., Annu Rev Pathol., vol. 5, pp. 99-118, 2010).

[0111] 노화 메시지 분비체(senescence-messaging secretome)라고도 칭하여지는 SASP는 이하 생물 활성 인자들의 발현/분비를 포함할 수 있다(Pawlikowski et al., J Cell Sci, vol. 126, pp. 4061-4067, 2013):

[0112] i. 인터루킨, 예컨대 IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-7, IL-13, IL-15;

[0113] ii. 케모카인, 예컨대 IL-8, MCP2, MCP4, GROα, GROβ, GROɣ;

[0114] iii. 성장 인자, 예컨대 EGF, HGF, VEGF;

[0115] iv. 수용체 및 리간드, 예컨대 ICAM1, ICAM3, TRAIL-R3, Fas, uPAR, sTNFRI, sTNFRIII;

[0116] v. 프로테아제 및 조절인자, 예컨대 MMP1, MMP3, MMP10, MMP12. TIMP1, TIMP2, PAI1, PAI2; 및

[0117] vi. 세포외 불용성 분자, 예컨대 콜라겐, 피브로넥틴, 라미닌.

[0118] 이들 인자중 임의의 것 1개 이상은 본 발명의 조건부 활성을 유도하기 위한 조건으로서 사용될 수 있다.

[0119] 뿐 아니라, SASP는 이하 전형적 특징에 의해 추가로 특징지어질 수 있다(Pawlikowski et al, J Cell Sci, vol. 126, pp. 4061-4067, 2013):

[0120] a. 확대되고 편평한 형태,

[0121] b. $p16^{INK4a}$ 발현,

[0122] c. 증가한 리소좀 활성(노화 연관 b-갈락토시다아제; SA b-gal),

[0123] d. DNA 손상 반응,

[0124] e. 크로마틴 리모델링, 및

[0125] f. 자가포식.

[0126] 몇몇 구현예들에서, SASP는 이하 인자들중 1개 이상을 함유한다: IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-13, IL-15, IL-18, MCP1, MCP2, MCP4, MIF, MIP-1a, MIP-3a, HCC-4, 에오탁신-3, TECK, ENA-78, I-309, I-TAC, GROα, GROβ, GROɣ, VEGF, EGF, HGF, FGF, bFGF, KGF, 암피레귤린, 에피레귤린, 헤레귤린, SCF, SDF-1알파, PIGF, IGFBP-2, -3, -4, -6, -7, GM-CSF, PDGF-BB, TGF-α, TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3, ICAM1, ICAM3, TRAIL-R3, Fas, OPG, SGP130, EGF-R uPAR, sTNFRI, sTNFRIII, MMP1, MMP3, MMP7, MMP9, MMP10, MMP12, MMP13, MMP14, TIMP1, TIMP2, PAI1, PAI2, SLPI, 엔도텔린, 콜라겐, 피브로넥틴 및 라미닌.

[0127] 몇몇 구현예들에서, SASP는 이하의 것들 중 1개 이상을 포함한다: IL-8, GROα, VEGF, 엔도텔린, MMP7, MMP9, MMP10, MMP12, MMP13, TIMP1, TIMP2, TGF-β1. 기타 몇몇 구현예들에서, SASP는 적어도 IL-8, GROα, VEGF, 엔도텔린, MMP7, MMP9, MMP10, MMP12, MMP13, TIMP1, TIMP2 및 TGF-β1을 포함한다. 이러한 인자들중 임의의 것 1개 이상은 본 발명의 조건부 활성을 유도하기 위한 조건으로 사용될 수 있다.

[0128] 기타 몇몇 구현예들에서, 제1 생리학적 조건은 발병 부위, 조직 또는 장기에서의 비정상 조건이다. 제2 생리학적 조건은, 통상적으로 대상체 혈액중 정상 생리학적 조건, 예컨대 정상 생리학적 pH이다.

[0129] 본 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 친화성에 비하여 증가한 친화성으로 제1 생리학적 조건에서 적어도 1개의 세포 특이 항원 및 반응성 림프구 항원과 결합한다. 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 친화성에 비하여 증가한 친화성으로 제1 생리학적 조건에서 세포 특이 항원 및 반응성 림프구 항원중 적어도 1개와 결합한다. 예를 들어 본 다중 특이적 항체는, 비 조건부 활성을 보이며 세포 특이 항

원과 여전히 결합하면서, 제2 생리학적 조건에서의 결합 친화성에 비하여 증가한 결합 친화성으로 제1 생리학적 조건에서 세포 특이 항원과 결합할 수 있다. 다른 예에서, 본 다중 특이적 항체는, 비 조건부 활성을 보이며 세포 특이 항원과 여전히 결합하면서, 제2 생리학적 조건에서의 결합 친화성에 비하여 증가한 결합 친화성으로 제1 생리학적 조건에서 반응성 림프구 항원과 결합한다. 몇몇 구현예에서, 본 다중 특이적 항체는 제2 생리학적 조건에서의 결합능에 비하여 더 큰 결합능으로 제1 생리학적 조건에서 세포 특이 항원 및 반응성 림프구 항원 둘 다와 결합한다.

[0130] 본 다중 특이적 항체의 구조/포맷은 문헌[Brinkmann and Kontermann,"The making of bispecific antibodies," MABs, vol. 9, pp. 182-212, 2017]에 기술된 구조/포맷중 임의의 하나일 수 있다. 특히 Brinkmann 및 Kontermann 문헌의 도 2에는 이중 특이적 항체에 대한 상이한 구조/포맷 19개가 도시되어 있다. 이러한 구조/포맷은 (1) 이중 특이적 항체 접합체; (2) 하이브리드 이중 특이적 IgG2; (3) "가변 도메인만을 가지는"이중 특이적 항체 분자; (4) CH1/CL 융합 단백질; (5) Fab 융합 단백질; (6) 비 면역글로불린 융합 단백질; (7) Fc 변형된 IgG; (8) 첨부 및 Fc 변형된 IgG; (9) 변형된 Fc 및 CH3 융합 단백질; (10) 첨부된 IgG-HC 융합체; (11) 첨부된 IgG-LC 융합체; (12) 첨부된 IgG-HC&LC 융합체; (13) Fc 융합체; (14) CH3 융합체; (15) IgE/IgM CH2 융합체; (16) $F(ab')_2$ 융합체; (17) CH1/CL 융합 단백질; (18) 변형 IgG; 및 (19) 비 면역글로불린 융합체를 포함한다.

[0131] 특정 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 도 1에 보인 바와 같은 2가 scFv-Fc 이종이량체 또는 도 2에 보인 바와 같은 4가 동종이량체 "나비(butterfly)"일 수 있다. 이 2개의 구조에서, 반응성 림프구 항원은 오로지 종양 반응성 림프구 항원을 대표하는 것으로서 도시되어 있는 CD3에 한정되지 않는다. 도 1의 다중 특이적 항체는 (예컨대 IgG의) 제1 중쇄 불변 영역에 연결되어 있는, 세포 항원(Ag)에 대한 제1 결합 부위와, (예컨대 IgG의) 제2 중쇄 불변 영역에 연결되어 있는, 반응성 림프구 항원(예컨대 CD3)에 대한 제2 결합 부위를 가진다. 이 중쇄 2개는 이것들이 오로지 이종이량체만을 형성할 수 있도록, 예를 들어 납-인-홀 기술이 사용되어 조작된다. 제1 결합 부위와 제2 결합 부위는 세포 항원과 반응성 림프구 항원 각각에 결합하는 scFv 항체이다. 제1 결합 부위 및 제2 결합 부위중 하나 또는 둘 다는 각각의 항원에 대해 조건부 활성 결합 활성을 보인다.

[0132] 도 2의 다중 특이적 항체는 세포 특이 항원(Ag)에 결합하는 전장 IgG 항체와, 반응성 림프구 항원(예컨대 CD3)에 결합하는 scFv 항체를 가질 수 있다. scFv 항체는 링커를 통해 IgG 항체의 경쇄 C 말단에 연결된다. 링커는 짧은 알라닌 링커$(Ala)_n$, 세린 링커$(Ser)_n$, 친수성 링커 또는 글리신-세린 풍부 링커일 수 있다. IgG 항체의 중쇄는, scFv 항체에 연결되어 있던 IgG 항체의 경쇄와 쌍을 이루고, 이로써 동종이량체의 절반이 형성된다. 이 다중 특이적 항체는 "나비"와 같은 입체구조를 가진다.

[0133] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 종양 반응성 림프구 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편과, 종양 세포 항원과 결합하는 단일 사슬 항체를 포함하는데, 이 또한 도 2에 보인 바와 같이 "나비"와 같은 입체구조를 가진다. 단일 사슬 항체는 scFv 항체일 수 있다. scFv 항체는 본원에 기술된 바와 같이 링커를 통해서 IgG 항체의 C 말단에 부착될 수 있다.

[0134] 본 발명의 다중 특이적 항체의 결합 부위 각각은 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역을 포함한다. 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역은 단일 사슬 항체 포맷일 수 있거나, 또는 경쇄와 중쇄의 쌍형성에 의해 형성되는 바와 같이 2사슬 포맷일 수 있다(도 1 및 도 2). 조건부 활성을 보이는 결합 부위에서, 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역 중 하나가 조건부 활성이거나, 또는 둘 다가 조건부 활성일 수 있다. CD3에 결합하는 예시적 경쇄 가변 영역은 서열 번호 1의 아미노산 서열을 가지는 비 조건부 활성 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 2 ~ 10으로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 조건부 활성 경쇄 가변 영역을 포함한다. CD3에 결합하는 예시적 중쇄 가변 영역은 서열 번호 11의 아미노산 서열을 가지는 비 조건부 활성 중쇄 가변 영역과, 서열 번호 12 ~ 15로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 조건부 활성 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0135] Axl에 결합하는 예시적 경쇄 가변 영역은 서열 번호 16의 아미노산 서열을 가지는 비 조건부 활성 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 17의 아미노산 서열을 가지는 조건부 활성 경쇄 가변 영역을 포함한다. Axl에 결합하는 예시적 중쇄 가변 영역은 서열 번호 18의 아미노산 서열을 가지는 비 조건부 활성 중쇄 가변 영역과, 서열 번호 19의 아미노산 서열을 가지는 조건부 활성 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0136] Her2에 결합하는 예시적 경쇄 가변 영역은 서열 번호 20의 아미노산 서열을 가지는 비 조건부 활성 경쇄 가변 영역이다. Her2에 결합하는 예시적 중쇄 가변 영역은 서열 번호 21의 아미노산 서열을 가지는 비 조건부 활성 중쇄 가변 영역이다.

[0137] B7-H3에 결합하는 예시적 경쇄 가변 영역은 서열 번호 22의 아미노산 서열을 가지는 비 조건부 활성 경쇄 가변 영역이다. B7-H3에 결합하는 예시적 중쇄 가변 영역은 서열 번호 23의 아미노산 서열을 가지는 비 조건부 활성 중쇄 가변 영역과, 서열 번호 24 및 25로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 조건부 활성 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0138] EpCAM에 결합하는 예시적 경쇄 가변 영역은 서열 번호 88 ~ 95의 아미노산 서열을 가지는 비 조건부 활성 경쇄 가변 영역이다. EpCAM에 결합하는 예시적 중쇄 가변 영역은 서열 번호 80 ~ 87의 아미노산 서열을 가지는 비 조건부 활성 중쇄 가변 영역을 포함한다. 경쇄 가변 영역들중 하나는 중쇄 가변 영역들중 하나와 합하여져, EpCAM에 대한 결합 부위를 형성한다. EpCAM에 대한 결합 부위는 서열 번호 26 ~ 71의 아미노산 서열로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 단일 사슬 항 CD3 항체와 연결되여, EpCAM 및 CD3 둘 다와 결합하는 다중 특이적 항체를 형성한다.

[0139] EpCAM 및 CD3과 결합하는 다중 특이적 항체의 몇몇 예들이 이하 표 2에 보인다.

표 2

EpCAM 및 CD3과 결합하는 다중 특이적 항체

EpCAM 및 CD3과 결합하는 다중특이적 항체	항 EpCAM 경쇄 가변 영역	항 EpCAM 중쇄 가변 영역	항 CD3 단일 사슬 항체
BAP150-02-BF2	서열 번호 88	서열 번호 80	서열 번호 27
BAP150-02-BF3	서열 번호 89	서열 번호 81	서열 번호 28
BAP150-02-BF4	서열 번호 90	서열 번호 82	서열 번호 29
BAP150-02-BF5	서열 번호 91	서열 번호 83	서열 번호 30
BAP150-02-BF6	서열 번호 92	서열 번호 84	서열 번호 31
BAP150-02-BF7	서열 번호 93	서열 번호 85	서열 번호 32
BAP150-02-BF8	서열 번호 94	서열 번호 86	서열 번호 33
BAP150-02-BF9	서열 번호 95	서열 번호 87	서열 번호 34

[0140]

[0141] 기타 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 도 1에 보인 바와 같이 세포 특이 항원에 대한 결합 부위를 형성하는 2개의 가변 영역과, 반응성 림프구 항원에 대한 결합 부위를 형성하는 기타 2개의 가변 영역을 가지도록 구성될 수 있다. 이러한 가변 영역은 서열 번호 1 ~ 25 및 서열 번호 80 ~ 95의 아미노산 서열들을 가지는 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역으로부터 선택될 수 있다. 결합 부위들중 하나 또는 둘 다는 자체의 각각의 항원에 대해 조건부 활성을 보여야 한다. 조건부 활성을 보이는 각각의 결합 부위에서, 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역중 적어도 1개는, 자체의 항원에 대해 제2 생리학적 조건(예컨대 정상 생리학적 조건)에서의 친화성에 비해 증가한 친화성을 제1 생리학적 조건(예컨대 비정상 조건)에서 가진다. 그러므로 당 업자는 서열 번호 1 ~ 25 및 서열 번호 80 ~ 95의 아미노산 서열들을 가지는 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역으로부터 적당한 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역을 선택하여, 도 1에 보인 바와 같은 다중 특이적 항체를 구성할 수 있다. 도 1의 중쇄 단편은 IgG의 임의의 하위군인 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4를 포함한 IgG 항체의 불변 영역으로부터 선택된다.

[0142] 기타 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 도 2에 보인 바와 같이 구성될 수 있다. 유사하게, scFv 항체의 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역, 그리고 전장 IgG 항체의 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역도 또한 서열 번호 1 ~ 25 및 서열 번호 80 ~ 95의 아미노산 서열들을 가지는 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역으로부터 선택될 수 있다. 조건부 활성을 보이는 각각의 결합 부위에서, 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역중 적어도 1개는, 자체의 항원에 대해 제2 생리학적 조건(예컨대 정상 생리학적 조건)에서의 친화성에 비해 증가한 친화성을 제1 생리학적 조건(예컨대 비정상 조건)에서 가진다. 그러므로 당 업자는 서열 번호 1 ~ 25 및 서열 번호 80 ~ 95의 아미노산 서열들을 가지는 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역으로부터 적당한 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역을 선택하여, 도 2에 보인 바와 같은 다중 특이적 항체를 구성할 수 있다. 도 2의 불변 영역은 IgG의 임의의 하위군인 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4를 포함한 IgG 항체의 불변 영역으로부터 선택된다.

[0143] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 종양 반응성 림프구 항원인 CD3, 그리고 세포 특이 항원인 또 다른 종양 연관 항원(TAA)과 결합한다. 본 다중 특이적 항체는, 서열 번호 1 ~ 10의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 11 ~ 15의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역을 포함하는, CD3에 대한 결합 부위를 가진다. 대안적으로, CD3에 대한 결합 부위는 서열 번호

26 ~ 71의 아미노산 서열들로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 항 CD3 단일 사슬 항체를 포함한다. 본 다중 특이적 항체는 서열 번호 16, 17, 20 및 22의 아미노산 서열을 가지는 것으로서, Axl, Her2 및 B7-H3중 하나와 결합하는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 18, 19, 21 및 23 ~ 25의 아미노산 서열을 가지는 것으로서, Axl, Her2 및 B7-H3중 하나와 결합하는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역을 포함하는, TAA에 대한 결합 부위를 가진다. EpCAM에 대한 결합 부위는 서열 번호 88 ~ 95로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 80 ~ 87로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역을 포함한다. CD3에 대한 결합 부위와, Axl, EpCAM, Her2 또는 B7-H3에 대한 결합 부위중 적어도 1개는 조건부 활성이다.

[0144] 다중 특이적 항체에 관한 몇몇 예들이 표 3에 보인다. 이 예들은 각각 TAA 및 CD3에 대한 결합 부위를 가진다. "WT"란, 결합 부위의 친화성이 비 조건부임, 즉 다중 특이적 항체가 제1 조건(예컨대 비정상 조건)과 제2 조건(예컨대 정상 생리학적 조건) 사이에서 유의미한 차이가 없는, 항원에 대한 친화성을 가짐을 나타낸다. CAB란, 결합 부위의 친화성이 조건부임, 즉 다중 특이적 항체가 제2 조건(예컨대 정상 생리학적 조건)에서보다 제1 조건(예컨대 비정상 조건)에서가 더 큰, 항원에 대한 친화성을 가짐을 나타낸다.

표 3

TAA 및 CD3과 결합하는 다중 특이적 항체의 예

예의 유형	TAA에 대한 결합 활성	링 커	CD3에 대한 결합 활성
비교예	Axl WT	$(Ala)_n$	CD3 WT
본 발명	Axl WT	$(Ala)_n$	CD3 CAB1
본 발명	Axl WT	$(Ala)_n$	CD3 CAB3
본 발명	Axl WT	$(Ala)_n$	CD3 CAB4
본 발명	Axl CAB	$(Ala)_n$	CD3 CAB1
본 발명	Axl CAB	$(Ala)_n$	CD3 CAB3
본 발명	Axl CAB	$(Ala)_n$	CD3 CAB4
비교예	B7-H3 WT	$(Ala)_n$	CD3 WT
본 발명	B7-H3 CAB	$(Ala)_n$	CD3 CAB1
본 발명	B7-H3 CAB	$(Ala)_n$	CD3 CAB3
본 발명	B7-H3 CAB	$(Ala)_n$	CD3 CAB4
본 발명	Her2 WT	$(Ala)_n$	CD3 CAB1
본 발명	Her2 WT	$(Ala)_n$	CD3 CAB3
본 발명	Her2 WT	$(Ala)_n$	CD3 CAB4
비교예	EpCAM WT	$(GlyGlySer)_n$	CD3-WT
본 발명	EpCAM WT	$(GlyGlySer)_n$	CD3-BF2
본 발명	EpCAM WT	$(GlyGlySer)_n$	CD3-BF3
본 발명	EpCAM WT	$(GlyGlySer)_n$	CD3-BF4
본 발명	EpCAM WT	$(GlyGlySer)_n$	CD3-BF5
본 발명	EpCAM WT	$(GlyGlySer)_n$	CD3-BF6
본 발명	EpCAM WT	$(GlyGlySer)_n$	CD3-BF7
본 발명	EpCAM WT	$(GlyGlySer)_n$	CD3-BF8
본 발명	EpCAM WT	$(GlyGlySer)_n$	CD3-BF8

[0145]

[0146] 몇몇 구현예들에서, IgG 항체 및 단일 사슬 항체중 어느 하나 또는 둘 다는 대상체의 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하기 위하거나 대상체의 건강을 개선하기 위해, 이 대상체에 투여하기 위한 치료용 또는 예방용 항체이다. 치료용 또는 예방용 항체는 인간이나 동물에 치료용으로나 예방용으로 사용하는 것에 대해 국가 또는 영내 규제 당국, 예컨대 미국 식품의약국 및 유럽 의약청으로부터 승인받을 수 있다.

[0147] 기타 몇몇 구현예들에서, IgG 항체 및 단일 사슬 항체중 어느 하나 또는 둘 다는 (공중보건서비스법 제351항(i)(미국의 경우 42 U.S.C. 262(i))에 정의된 바와 같은) 혁신 제약사에 의해 판매되는 기준 생체의약품(biologic product)과 품질, 안전성 및 효능 면에서 거의 동일한 것으로 여겨지는 생물약제인 바이오시밀러(biosimilar) 이다. 임상 비활성 성분들은 바이오시밀러와 기준 생체의약품간에 근소한 차이가 있을 수 있다.

[0148] 일 구현예에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 암세포 특이 항원에 결합한다. 다른 구현예에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 반응성 림프구 항원에 결합한다. 다른 구현예에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 암세포 특이 항원과 반응성 림프구 항원 둘 다와 결합한다. 다른 구현예에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 결합능보다 더 큰 결합능으로 비정상 조건에서 암세포 특이 항원 및 반응성 림프구 항원의 조합에 결합한다. 비정상 조건과 정상

생리학적 조건은 대상체 혈액과 종양 미세환경간에 상이한 pH, 산소 농도 또는 기타 임의의 조건으로부터 선택될 수 있다.

[0149] 일 구현예에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 노화 세포 미세환경내 비정상 조건에서 노화 세포 특이 항원과 결합한다. 다른 구현예에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 노화 세포 미세환경내 비정상 조건에서 반응성 림프구 항원과 결합한다. 다른 구현예에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 노화 세포 미세환경내 비정상 조건에서 암세포 특이 항원 및 반응성 림프구 항원 둘 다와 결합한다. 다른 구현예에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 결합능보다 더 큰 결합능으로 노화 세포 미세환경내 비정상 조건에서 암세포 특이 항원 및 반응성 림프구 항원의 조합에 결합한다. 비정상 조건과 정상 생리학적 조건은 대상체 혈액 또는 정상 조직과 노화 세포 종양 미세환경간에 상이한 조성하는 pH, 산소 농도 또는 기타 임의의 조건으로부터 선택될 수 있다.

[0150] 다른 양상에서, 본 발명은 제1 항원(예컨대 세포 특이 항원)에 결합하는 IgG 항체와, 제1 항원과 상이한 제2 항원(예컨대 반응성 림프구 항원)과 결합하는 적어도 1개의 scFv 항체를 포함하는 다중 특이적 항체를 제공한다. scFv 항체는 본원에 기술된 바와 같이 링커를 통하여 IgG 항체의 C 말단에 연결될 수 있다. 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원중 적어도 1개와 가역적으로 결합한다.

[0151] 제1 항원 및 제2 항원은 특정 항원에 한정되는 것은 아니고, 그 대신 요망되는 결과 달성을 촉진하는 관계를 일부 가지는 항원들의 임의의 쌍일 수 있다. 일 구현예에서, 제1 항원은 세포 표면 항원이다. 제1 항원은 암세포 특이 항원, 예컨대 Ax1, Ror2, Her2, EpCAM 또는 B7-H3일 수 있다. 다른 구현예에서, 제2 항원은 종양 반응성 림프구의 항원, 예컨대 CD3이다. 적합한 암세포 항원 및 반응성 림프구 항원에 관한 더 많은 예는 본원의 어딘가에 기술되어 있다.

[0152] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 도 2에 보인 바와 같은 포맷을 이루는데, 즉 scFv 항체는 CD3과 결합하고, 서열 번호 1 ~ 10의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 11 ~ 15의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는, 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역을 포함한다. 대안적으로, CD3에 대한 결합 부위는 서열 번호 26 ~ 71의 아미노산 서열로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 항 CD3 단일 사슬 항체를 포함한다. IgG 항체는 TAA와 결합하고, 서열 번호 16, 17, 20 및 22의 아미노산 서열을 가지는, Ax1, Her2 및 B7-H3중 하나에 결합하는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 18, 19, 21 및 23 ~ 25의 아미노산 서열을 가지는, Ax1, Her2 및 B7-H3중 하나에 결합하는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역을 포함한다. EpCAM에 대한 결합 부위는 서열 번호 88 ~ 95로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 80 ~ 87로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역을 포함한다. IgG 항체의 경쇄 및 중쇄의 불변 영역은 IgG의 임의의 하위군, 즉 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4를 비롯한 IgG 항체의 불변 영역으로부터 선택될 수 있다. 이러한 다중 특이적 항체들 가운데, CD3에 대한 결합 부위와 Ax1, EpCAM, Her2 또는 B7-H3에 대한 결합 부위중 적어도 1개가 조건부 활성인 한, 본 다중 특이적 항체는 조건부 활성이고, 본 발명의 범위내에 있는 것으로 간주된다.

[0153] 본 발명은 다중 특이적 항체를 제조하기 위한 것으로서, 개발 시간을 유의미하게 단축시킬 수 있는 플랫폼을 제공한다. 이 플랫폼은, 단일 조건부 활성 항 종양 반응성 림프구 항원의 항체 또는 항체 단편(예컨대 항 CD3 항체)이 또 다른 항원(예컨대 암세포 표면 항원)에 대한 또 다른 항체 또는 항체 단편에 공유 부착되어, 조건부 활성 다중 특이적 항체로 생성될 수 있는 "플러그 앤드 플레이(plug and play)"라 칭하여질 수 있다. 기타 항원에 대한 항체 또는 항체 단편은 조건부 활성일 수 있거나 조건부 활성일 수 없다.

[0154] 이 "플러그 앤드 플레이" 플랫폼의 이점은, 예를 들어 일단 조건부 활성 항 종양 반응성 림프구 항원의 항체 또는 항체 단편(예컨대 항 CD3 항체)이 사용될 수 있으면, 조건부 활성 다중 특이적 항체는 이 항체 또는 항체 단편을 또 다른 항체 또는 항체 단편과 연결함으로써 제조될 수 있다는 점이다. 본 조건부 활성 항 종양 반응성 림프구 항체 또는 항체 단편은 전장 항체, V_H 및 V_L 영역을 포함하는 항체 단편, 또는 단일 사슬 항체일 수 있다. 제조된 조건부 활성 다중 특이적 항체의 성분 2개는 조건부 결합 활성을 가지고, 각각 자체의 각각의 항원과 결합하는 것으로 공지되어 있는 관계로, 이 조건부 활성 다중 특이적 항체 또는 항체 단편의 성공적 제조는 최소한의 개발 시간으로 달성될 것으로 합리적으로 예상된다. 본 발명에 의해 입증되는 바와 같이, 이 플랫폼은 CD3과, 항원 AXL, EpCAM, HER2 및 B7-H3 각각 둘 다와 결합하는 다중 특이적 항체를 생성하는데 성공적으로 적용되어 왔다.

[0155] 몇몇 구현예들에서, 비정상 조건은 pH 약 5.0 내지 약 7.0, 또는 약 5.2 내지 약 6.8, 또는 약 5.4 내지 약 6.8, 또는 약 5.6 내지 약 6.8, 또는 약 5.8 내지 약 6.8, 또는 약 6.0 내지 약 6.8, 또는 약 6.2 내지 약 6.8, 또는 약 6.4 내지 약 6.8, 또는 약 6.6 내지 약 6.8 범위의 산성 pH이다. 몇몇 구현예들에서, 산성 pH는 약 6.4 내지 약 7.0, 또는 약 6.6 내지 약 7.0, 또는 약 6.8 내지 약 7.0의 범위일 수 있다. 정상 생리학적 조건은 당 분야에 잘 정립되어 있는 혈액중 정상 생리학적 pH일 수 있다. 몇몇 구현예들에서, 혈액중 정상 생리학적 pH는 약 7.0 내지 약 7.8, 또는 약 7.1 내지 약 7.7, 또는 약 7.2 내지 약 7.6, 또는 약 7.2 내지 약 7.5, 또는 약 7.2 내지 약 7.4의 범위일 수 있다.

[0156] 임의의 구현예들에서, 본 발명의 다중 특이적 항체는 적어도 약 1.3:1, 또는 적어도 약 2:1, 또는 적어도 약 3:1, 또는 적어도 약 4:1, 또는 적어도 약 5:1, 또는 적어도 약 6:1, 또는 적어도 약 7:1, 또는 적어도 약 8:1, 또는 적어도 약 9:1, 또는 적어도 약 10:1, 또는 적어도 약 11:1, 또는 적어도 약 12:1, 또는 적어도 약 13:1, 또는 적어도 약 14:1, 또는 적어도 약 15:1, 또는 적어도 약 16:1, 또는 적어도 약 17:1, 또는 적어도 약 18:1, 또는 적어도 약 19:1, 또는 적어도 약 20:1, 또는 적어도 약 30:1, 또는 적어도 약 40:1, 또는 적어도 약 50:1, 또는 적어도 약 60:1, 또는 적어도 약 70:1, 또는 적어도 약 80:1, 또는 적어도 약 90:1, 또는 적어도 약 100:1과 같이 비정상 조건에서의 세포 항원 및/또는 종양 반응성 림프구 항원과의 친화성 또는 결합능 대 정상 생리학적 조건에서의 세포 항원 및/또는 종양 반응성 림프구 항원과의 친화성 또는 결합능의 비를 가진다.

[0157] 일 구현예에서, 본 다중 특이적 항체는 오로지 자연 발생 아미노산만으로 이루어져 있다. 알라닌(ala 또는 A), 아르기닌(arg 또는 R), 아스파라긴(asn 또는 N), 아스파르트산(asp 또는 D), 시스테인(cys 또는 C), 글루탐산(glu 또는 E), 글루타민(gin 또는 Q), 글리신(gly 또는 G), 히스티딘(his 또는 H), 이소루신(ile 또는 I), 루신(leu 또는 L), 리신(lys 또는 K), 메티오닌(met 또는 M), 페닐알라닌(phe 또는 F), 프롤린(pro 또는 P), 세린(ser 또는 S), 트레오닌(thr 또는 T), 트립토판(tip 또는 W), 티로신(tyr 또는 Y) 및 발린(val 또는 V)이라 지칭되는 20개의 자연 발생 아미노산이 존재한다.

[0158] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 비 자연 발생 아미노산 1개 이상을 포함한다. 예를 들어 비 자연 발생 아미노산은 카보닐기, 아세틸기, 아미노옥시기, 히드라진기, 히드라지드기, 세미카바지드기, 아지드기 또는 알킨기를 포함한다. 예를 들어 적합한 비 자연 발생 아미노산에 대한 미국 특허 제7,632,924호를 참조한다. "비 자연 발생 아미노산"이란 용어는 또한 자연 발생 아미노산 변형(예컨대 번역후 변형)에 의해 제조되되, 아미노산 자체는 성장중인 폴리펩티드에 살아있는 유기체의 번역 복합체에 의하여 자연상 혼입되지 않는 아미노산을 포함하기도 한다. 이러한 비 자연 발생 아미노산의 예들로서는 N-아세틸글루코사미닐-L-세린, N-아세틸글루코사미닐-L-트레오닌 및 O-포스포티로신을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0159] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 전체가 아미노산의 합성 비자연 유사체로 이루어졌거나, 또는 일부는 자연 발생 아미노산이고 일부는 비 자연 발생 아미노산 유사체인 키메라 분자인 "모의체" 또는 "펩티도모의체" 형태이다. 자연 발생 아미노산 보존적 치환이 또한 항체의 구조 및/또는 활성을 거의 변경하지 않는 한, 모의체에는 또한 이러한 치환이 임의의 횟수만큼 발생할 수 있다.

[0160] 모의체 형태는 비 자연 구조 성분들의 임의의 조합을 함유할 수 있다. 일 양상에서, 본 발명의 모의체는 이하 3개의 구조기중 하나 또는 모두를 포함한다: a) 자연 발생 아미드 결합("펩티드 결합") 연결 이외의 잔기 연결기; b) 자연 발생 아미노산 잔기를 대신하는 비 자연 발생 잔기; 또는 c) 2차 구조 모의를 유도하는 잔기, 즉 2차 구조, 예컨대 베타 턴(beta turn), 감마 턴(gamma turn), 베타 시트(beta sheet), 알파 나선체 입체구조 등을 유도하거나 안정화하는 잔기. 예를 들어 본 다중 특이적 항체는, 이의 잔기 모두 또는 일부가 자연 펩티드 결합 이외의 화학적 수단에 의해 연결될 때의 모의체로서 특징지어질 수 있다. 개별 펩티도모의체 잔기는 펩티드 결합, 기타 화학 결합 또는 커플링 수단, 예컨대 글루타르알데히드, N-하이드록시숙신이미드에스테르, 2작용성 말레이미드, N,N'-디사이클로헥실카보디이미드(DCC) 또는 N,N'-디이소프로필카보디이미드(DIC)에 의해 연결될 수 있다. 전통적인 아미드 결합("펩티드 결합") 연결에 대한 대안이 될 수 있는 연결기는, 예컨대 케토메틸렌(예컨대 -C(=O)~NH-에 대한 ~C(=O)~CH_2~), 아미노메틸렌(CH_2-NH), 에틸렌, 올레핀(CH=CH), 에테르(CH_2~O), 티오에테르(CH_2~S), 테트라졸, 티아졸, 레트로아미드, 티오아미드 또는 에스테르를 포함한다[예컨대 문헌(Spatola (1983), Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins, vol. 7, pp 267-357, "Peptide Backbone Modifications,", Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides, and Proteins, vol. 7, B. Weistein, ed., New York: Marcell Dekker, pp. 257-267) 참조].

[0161] 비 자연 발생 아미노산 잔기의 더 많은 예로서는 D- 또는 L-나필알라닌; D- 또는 L-페닐글리신; D- 또는 L-2 티에네알라닌; D- 또는 L-1,-2, 3- 또는 4-피레네일알라닌; D- 또는 L-3 티에네일알라닌; D- 또는 L-(2-피리디

닐)알라닌; D- 또는 L-(3-피리디닐)알라닌; D- 또는 L-(2-피라지닐)알라닌; D- 또는 L-(4-이소프로필)페닐글리신; D-(트리플루오로메틸)페닐글리신; D-(트리플루오로메틸)페닐알라닌; D-p-플루오로페닐알라닌; D- 또는 L-p-비페닐페닐알라닌; D- 또는 L-p-메톡시비페닐페닐알라닌; D- 또는 L-2-인돌(알킬)알라닌; 그리고 D- 또는 L-알킬알라닌을 포함하되, 단 알킬은 치환 또는 비치환 메틸, 에틸, 프로필, 헥실, 부틸, 펜틸, 이소프로필, 이소부틸, sec-이소부틸, 이소펜틸 또는 비 산성 아미노산일 수 있다. 비 자연 발생 아미노산의 방향성 고리는, 예컨대 티아졸릴, 티오페닐, 피라졸릴, 벤지미다졸릴, 나프틸, 푸라닐, 피롤릴 및 피리딜 방향성 고리를 포함한다.

[0162] 산성의 비 자연 발생 아미노산은, 예컨대 음 하전 상태가 유지되는 비 카복실산염 아미노산, 예컨대 (포스포노)알라닌; 황화 트레오닌에 의한 치환을 통해 생성될 수 있다. 카복실 측기(예컨대 아스파르틸 또는 글루타밀)는 또한 카보디이미드(R'-N=C=N-R'), 예컨대 1-사이클로헥실-3(2-모폴리닐-(4-에틸)카보디이미드 또는 1-에틸-3(4-아조니아-4,4-디메톨펜틸)카보디이미드와의 반응에 의해 선택적으로 변형될 수 있다. 아스파르틸 또는 글루타밀은 또한 암모늄 이온과의 반응을 통해 아스파라기닐 및 글루타미닐 잔기로 전환될 수도 있다.

[0163] 염기성 비 자연 발생 아미노산은, 예컨대 (리신 및 아르기닌에 더하여) 오르니틴, 시트룰린 또는 (구아니디노)아세트산 또는 (구아니디노)알킬아세트산으로의 치환에 의해 생성될 수 있되, 단 알킬은 상기 정의되어 있다. (예컨대 COOH 대신 CN-기를 함유하는) 니트릴 유도체가 아스파라긴 또는 글루타민 대신 치환될 수 있다. 아스파라기닐 및 글루타미닐 잔기는 대응하는 아스파르틸 잔기 또는 글루타밀 잔기로 탈아민화될 수 있다. 아르기닐과, 예컨대 종래의 시약, 예컨대 페닐글리옥살, 2,3-부탄디온, 1,2-사이클로헥산디온 또는 닌히드린 1개 이상을 반응시킴으로써 생성될 수 있는 아르기닌 잔기 모의체는 알칼리 조건하에 있을 수 있다. 티로신 잔기 모의체는 티로실과, 예컨대 방향성 디아조늄 화합물 또는 테트라니트로메탄을 반응시킴으로써 생성될 수 있다. N-아세틸이미디졸 및 테트라니트로메탄은 O-아세틸티로실 종과 3-니트로 유도체 각각을 생성하는데 사용될 수 있다. 시스테인 잔기 모의체는 시트테이닐 잔기와, 예컨대 알파-할로아세트산염, 예컨대 2-클로로아세트산 또는 클로로아세타미드 및 대응하는 아민을 반응시킴으로써 생성될 수 있으며, 그 결과 카복시메틸 또는 카복시아미도메틸 유도체가 생성된다. 시스테인 잔기 모의체는 또한 시스테이닐 잔기와, 예컨대 브로모트리플루오로아세톤, 알파-브로모-베타-(5-이미도조일)프로피온산; 클로로아세틸 인산염, N-알킬말레이미드, 3-니트로-2-피리딜 이황화물; 메틸 2-피리딜 이황화물; p-클로로머큐리벤조산염; 2-클로로머큐리-4-니트로페놀; 또는 클로로-7-니트로벤조-옥사-1,3-디아졸을 반응시킴으로써 생성될 수도 있다. 리시닐이, 예컨대 숙신산 무수물 또는 기타 카복실산 무수물과 반응할 때, 리신 모의체가 생성될 수 있다(그리고 아미노 말단 잔기가 변경될 수 있다). 리신 및 기타 알파-아미노 함유 잔기 모의체는 또한 이미도에스테르, 예컨대 메틸피콜린이미드산염, 피리독살 인산염, 피리독살, 클로로보로히드라이드, 트리니트로벤젠설폰산, O-메틸이소우레아, 2,4-펜탄디온과의 반응, 그리고 글리옥실산염과의 트랜스아미다아제 촉매화 반응에 의해 생성될 수 있다. 메티오닌의 모의체는, 예컨대 메티오닌 설폭시화물과의 반응에 의해 생성될 수 있다. 프롤린의 모의체는, 예컨대 피페콜산, 티아졸리딘 카복실산, 3- 또는 4-하이드록시프롤린, 데하이드로프롤린, 3- 또는 4-메틸프롤린 또는 3,3-디메틸프롤린을 포함한다. 히스티딘 잔기 모의체는, 예컨대 디에틸프로탄산염 또는 파라-브로모펜아실 브롬화물과 히스티딜의 반응에 의해 생성될 수 있다. 기타 모의체로서는, 예컨대 프롤린과 리신의 하이드록실화에 의해 생성된 것; 세릴 또는 트레오닐 잔기의 하이드록실기의 인산화에 의해 생성된 것; 리신, 아르기닌 및 히스티딘의 알파-아미노기 메틸화에 의해 생성된 것; N 말단 아민의 아세틸화에 의해 생성된 것; 주쇄 아미드 잔기의 메틸화 또는 N-메틸아미노산으로의 치환에 의해 생성된 것; 또는 C 말단 카복실기의 아미드화에 의해 생성된 것을 포함한다.

[0164] 본 다중 특이적 항체의 모의체 형태는 또한 반대의 키랄성을 가지는 아미노산 1개 이상을 함유할 수도 있다. 그러므로 L-입체배열로 자연 발생되는 임의의 아미노산(화학 실체의 구조에 따라서 R-형 또는 S-형으로 지칭될 수도 있음)은 동일한 화학 구조형을 가지는 아미노산, 즉 펩티도모의체이되, 반대의 키랄성을 가지는 아미노산(D-아미노산이라 지칭됨)으로 치환될 수 있어, R-형 또는 S-형이라 지칭될 수도 있다.

[0165] 본 다중 특이적 항체의 모의체형은 임의의 단백질 화학 합성 기술이 사용되어 합성될 수 있다. 통상의 시험관내 단백질 합성 방법에서, 펩티드는 펩티드와 아미노산 사이에 펩티드 결합을 형성함으로써 그 길이가 1개 아미노산씩 확장된다. 펩티드 결합의 형성은 자연 발생 아미노산 또는 비 자연 발생 아미노산을 이용할 수 있는 결찰 반응이 사용되어 수행된다. 그러므로 비 자연 발생 아미노산은 이러한 방식으로 본 발명의 다중 특이적 항체에 도입되어, 모의체를 이룰 수 있다.

[0166] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체중 비 자연 발생 아미노산은 거대분자, 예컨대 중합체, 단백질 또는 지방산등에 연결을 제공할 수 있다. 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 중합체(예컨대 폴리펩티드 이외의 중합체)에 연결(예컨대 공유적으로 연결)된다. 적합한 중합체로는, 예컨대 생체적합성 중합체와 수용성의 생체

적합성 중합체를 포함한다. 적합한 중합체는 합성 중합체 및 자연 발생 중합체를 포함한다. 중합체의 예로서는 치환 또는 비치환 직쇄 또는 분지쇄 폴리알킬렌, 폴리알케닐렌 또는 폴리옥시알킬렌 중합체, 또는 분지형 또는 비분지형 다당체, 예컨대 동종- 또는 이종-다당체를 포함한다. 중합체의 더 많은 예로서는 에틸렌비닐알코올 공중합체(보통 일반명 EVOH 또는 상품명 EVAL로 공지되어 있음); 폴리부틸메타크릴산염; 폴리(하이드록시발레르산염); 폴리(L-젖산); 폴리카프로락톤; 폴리(락티드-코-글리콜리드); 폴리(하이드록시부티르산염); 폴리(하이드록시부티르산염-코-발레르산염); 폴리디옥사논; 폴리오르토에스테르; 폴리무수물; 폴리(글리콜산); 폴리(D,L-젖산); 폴리(글리콜산-코-트리메틸렌 탄산염); 폴리포스포에스테르; 폴리포스포에스테르 우레탄; 폴리(아미노산); 시아노아크릴산염; 폴리(트리메틸렌 탄산염); 폴리(이미노탄산염); 코폴리(에테르-에스테르)(예컨대 폴리(에틸렌 산화물)-폴리(젖산)(PEO/PLA) 공중합체); 폴리알킬렌 옥살산염; 폴리포스파젠; 생체분자, 예컨대 피브린, 피브리노겐, 셀룰로스, 전분, 콜라겐 및 히알루론산; 폴리우레탄; 실리콘; 폴리에스테르; 폴리올레핀; 폴리이소부틸렌 및 에틸렌-알파올레핀 공중합체; 아크릴 중합체 및 공중합체; 비닐 할로겐화물 중합체 및 공중합체, 예컨대 폴리비닐 염화물; 폴리비닐에테르, 예컨대 폴리비닐메틸에테르; 폴리비닐리덴 할로겐화물, 예컨대 폴리비닐리덴 플루오르화물 및 폴리비닐리덴 염화물; 폴리아크릴로니트릴; 폴리비닐케톤; 폴리비닐 방향족 중합체, 예컨대 폴리스티렌; 폴리비닐 에스테르, 예컨대 폴리비닐 아세트산염; 비닐 단량체 서로간 및 올레핀의 공중합체, 예컨대 에틸렌-메틸메타크릴산염 공중합체, 아크릴로니트릴-스티렌 공중합체, ABS 수지, 그리고 에틸렌-비닐아세트산염 공중합체; 폴리아미드, 예컨대 나일론 66 및 폴리카프로락탐; 알키드 수지; 폴리탄산염; 폴리옥시메틸렌; 폴리이미드; 폴리에테르; 에폭시 수지; 폴리우레탄; 레이온; 레이온-트리아세트산염; 셀룰로스; 셀룰로스 아세트산염; 셀룰로스 부티르산염; 셀룰로스 아세트산염 부티르산염; 셀로판; 셀룰로스 질산염; 셀룰로스 프로피온산염; 셀룰로스 에테르; 비결정성 테플론; 폴리(에틸렌글리콜); 및 카복시메틸 셀룰로스를 포함한다.

[0167] 합성 중합체의 예로서는 비치환 및 치환 직쇄 또는 분지쇄 폴리(에틸렌글리콜), 폴리(프로필렌글리콜), 폴리(비닐알코올) 및 이것들의 유도체, 예컨대 치환 폴리(에틸렌글리콜), 예컨대 메톡시폴리(에틸렌글리콜) 및 이것들의 유도체를 포함한다. 적합한 자연 발생 중합체로서는, 예컨대 알부민, 아밀로스, 덱스트란, 글리코겐 및 이것들의 유도체를 포함한다.

[0168] 연결된 중합체의 평균 분자량은 500 Da 내지 50000 Da의 범위, 예컨대 5000 Da 내지 40000 Da, 또는 25000 내지 40000 Da일 수 있다. 예를 들어 다중 특이적 항체가 폴리(에틸렌글리콜)(PEG) 또는 메톡시폴리(에틸렌글리콜) 중합체를 포함하는 몇몇 구현예들에서, PEG 또는 메톡시폴리(에틸렌글리콜) 중합체의 분자량은 약 0.5 킬로달톤(kDa) 내지 약 1 kDa, 약 1 kDa 내지 약 5 kDa, 약 5 kDa 내지 약 10 kDa, 약 10 kDa 내지 약 25 kDa, 약 25 kDa 내지 약 40 kDa, 또는 약 40 kDa 내지 약 60 kDa의 범위일 수 있다.

[0169] 예를 들어 수용성 중합체(예컨대 PEG)는, 카보닐기를 포함하는 수용성 중합체와, 아미노옥시, 히드라진, 히드라지드 또는 세미카바지드 기를 포함하는 비 자연 발생 아미노산을 가지는 다중 특이적 항체를 반응시킴으로써 이 다중 특이적 항체에 연결될 수 있다. 다른 예로서, 본 다중 특이적 항체는, 알킨 함유 아미노산을 포함하는 다중 특이적 항체와 아지드기를 포함하는 수용성 중합체를 반응시킴으로써 이 수용성 중합체에 연결될 수 있다. 몇몇 경우에서, 아지드기 또는 알킨기는 아미드 연결을 통해 PEG 분자에 연결된다.

[0170] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체에 연결된 거대분자는 알부민이다. 알부민은, 예를 들어 본 다중 특이적 항체를 투여받은 대상체의 알부민일 수 있다. 예를 들어 만일 본 다중 특이적 항체가 인간에 사용되기 위한 것이면, 인간 알부민이 다중 특이적 항체에 연결된다. 만일 본 다중 특이적 항체가 개에 사용되기 위한 것이면, 개 알부민이 다중 특이적 항체에 연결된다. 일반적으로 말해서, 만일 본 다중 특이적 항체가 어떤 종에서 사용되기 위한 것이면, 해당 종으로부터 유래한 알부민이 다중 특이적 항체에 연결된다.

[0171] 거대분자의 본 다중 특이적 항체로의 접합을 위한 링커의 예로서는 글루타르알데히드, 동종 이작용성 가교제 또는 이종 이작용성 가교제를 포함한다. 글루카르알데히드는 폴리펩티드의 아미노산기를 통해 폴리펩티드들을 가교한다. 동종 이작용성 가교제(예컨대 동종 이작용성 이미도에스테르, 동종 이작용성 N-하이드록시숙신이미딜(NHS) 에스테르 또는 동종 이작용성 설프히드릴 반응성 가교제)는 동일한 반응성 기 2개 이상을 함유하고, 연결될 거대분자 및 다중 특이적 항체의 혼합물을 함유하는 용액에 가교제가 첨가되는 1단계 반응 절차에 사용될 수 있다. 이미도 에스테르는 약 알칼리 pH에서 오로지 1차 아민과 반응하여 이미도아미드로 생성되는데, 이때 가교된 거대분자 및 다중 특이적 항체의 전체 전하량은 영향받지 않는다. 동종 이작용성 설프히드릴 반응성 가교제는 비스말레이미드헥산(BMH), 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠(DFDNB) 및 1,4-디-(3',2'-피리딜디티오)프로피노아미도부탄(DPDPB)을 포함한다.

[0172] 이종 이작용성 가교제는 상이한 반응성 기(예컨대 아민 반응성 기 및 설프히드릴 반응성 기)를 2개 이상 가지고, 거대분자 및 다중 특이적 항체중 어느 하나와 아민 또는 설프히드릴 반응성 기를 통해 가교된 다음, 미반응 기를 통해 거대분자 및 다중 특이적 항체중 나머지 하나와 반응한다. 다수의 이종 이작용성 할로아세틸 가교제가 피리딜 이황화물 가교제로서 사용될 수 있다. 카보디이미드는 카복실기를 아민에 커플링하여, 아미드 결합을 형성하기 위한 이종 이작용성 가교 시약의 전통적인 예이다.

[0173] 본 다중 특이적 항체는 당화될 수 있는데, 예컨대 탄수화물기 또는 다당체기에 공유적으로 연결될 수 있다. 다중 특이적 항체의 당화는, 통상 N-연결 또는 O-연결을 통하여 이루어진다. N-연결 당화란, 탄수화물기를, 다중 특이적 항체의 아스파라긴 잔기 측쇄에 부착시키는 것을 지칭한다. 트리펩티드 서열인 "아스파라긴-X-세린" 또는 "아스파라긴-X-트레오닌"[단 여기서 X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임]은 탄수화물기의 아스파라긴 측쇄에의 효소에 의한 부착을 위한 인지 서열이다. 그러므로 다중 특이적 항체에 이러한 트리펩티드 서열들중 어느 하나가 존재하면, 잠재적 당화 부위가 생성된다. O-연결 당화란, 당, 즉 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스 또는 자일로스중 하나의, 하이드록시아미노산, 가장 일반적으로는 세린 또는 트레오닌에의 부착을 지칭하되, 단 이때 5-하이드록시프롤린 또는 5-하이드록시리신도 또한 사용될 수 있다.

[0174] 당화 부위의 본 다중 특이적 항체로의 부가는, 자체의 아미노산 서열을 변경하여, 이것이 (N-연결 당화 부위에 대한) 전술된 트리펩티드 서열중 1개 이상을 함유하도록 만듦으로써 달성될 수 있다. 변경은 또한 1개 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 (O-연결 당화 부위에 대한) 원래 항체 서열에의 부가 또는 치환에 의해 이루어질 수 있다. 거꾸로 말하면, 당화 부위의 제거는 다중 특이적 항체의 원산 당화 부위내 아미노산 변경에 의해 달성될 수 있다.

[0175] 본 다중 특이적 항체는 글루타르알데히드, 동종 이작용성 가교제 또는 이종 이작용성 가교제로부터 선택되는 링커가 사용될 때 다른 거대분자(예컨대 지질, 폴리펩티드, 합성 중합체 및 탄수화물 등)에 공유적으로 연결될 수 있다. 글루타르알데히드는 자체의 아미노기를 통해 다중 특이적 항체를 가교한다. 동종 이작용성 가교제 및 이종 이작용성 가교제는 본 출원에 기술되어 있다.

[0176] WO 2017/078839에 기술된 조건부 활성 항체 또는 이의 단편은 다중 특이적 항체를 구성하는데 사용될 수 있다. 이러한 조건부 활성 항체(전장 항체, 단편 또는 단일 사슬 항체)는 자체의 항원에 대해 비정상 조건에서 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 증가한 친화성을 가진다. 본 다중 특이적 항체는 조건부 활성 항체(전장 항체, 단편 또는 단일 사슬 항체)를, 조건부 활성을 보일 수 있거나 보일 수 없는 1개 이상의 항체(전장 항체, 단편 또는 단일 사슬 항체)와 연결시킴으로써 구성될 수 있다.

[0177] 본 다중 특이적 항체를 구성하는데 사용된 링커는 다중 특이적 항체의 적당한 폴딩(folding)을 보장하는 가요성 펩티드일 수 있다. 예시적 링커는 (Ser)n, (Ser-Ala)n 및 (Ala)n을 포함한다.

[0178] 몇몇 구현예들에서, 다용도 조건부 활성 항체(전장 항체, 단편 또는 단일 사슬 항체)는 반응성 림프구상 항원과 결합하고, 상이한 표적 세포(예컨대 상이한 종양)의 항원에 대한 여러 항체와 연결되도록 제조될 수 있다. 이러한 다중 특이적 항체는 동일한 반응성 림프구를 이와 같은 상이한 표적 세포(예컨대 상이한 유형의 종양) 각각에 가져다 놓을 수 있다. 따라서 이러한 다중 특이적 항체는, 예를 들어 대상체가 다수의 상이한 종양을 가지거나 심지어 하나의 미확인 종양을 가질 때조차, 다수의 상이한 종양 세포 유형을 표적화하는데 사용될 수 있다. 이는 종양의 존재가 생검을 어렵게 만드는 지역에 종양이 존재하는 경우 특히 유용할 수 있다.

[0179] 몇몇 구현예들에서, 암세포(예컨대 유방 암세포)상 항원에 결합하는 다용도 조건부 활성 항체(전장 항체 또는 단일 사슬 항체)는, 상이한 반응성 림프구의 항원과 결합하는 다양한 항체와 연결되어, 상이한 반응성 림프구를 동일한 표적 암세포에 가져다 놓는 다중 특이적 항체로 제조될 수 있다. 이러한 다용도 다중 특이적 항체는 암세포 항원에 대해 종양 미세환경내 조건에서 더 큰 친화성으로 조건부 친화성을 보인다. 따라서 이와 같은 다중 특이적 항체는 상이한 반응성 림프구(예컨대 T 세포, 대식세포, NK 세포)를 동일한 종양(유방 종양)에 가져다 놓음으로써 치료의 효능을 증가시킬 수 있다.

[0180] 항원(제1 항원 또는 제2 항원)에 대해 정상 생리학적 조건에서보다 비정상 조건에서 더 큰 친화성을 보이는, 제1 항원(예컨대 세포 항원) 또는 제2 항원(예컨대 종양 반응성 림프구 항원)에 대한 조건부 활성 항체를 제조하기 위해, 제1 항원 및 제2 항원중 어느 하나 또는 둘 다와 결합하는 모 항체를 기점으로 WO 2016/138071에 기술된 바와 같은 방법이 사용될 수 있다. 조건부 활성 항체는 본 발명의 다중 특이적 항체를 구성하는데 사용될 수 있다.

[0181] 모 항체는 동물을 항원으로 면역화하여 생성된 모노클로날 항체 또는 폴리클로날 항체일 수 있다. 항체(폴리클

로날 항체 및 모노클로날 항체)로 면역화하는 방법, 이러한 항체를 제조 및 단리하는 방법은 당 업자들에게 공지되어 있으며, 과학 문헌 및 특허 문헌에 기술되어 있다[예컨대 문헌(Coligan, Current Protocols In Immunology, Wiley/Greene, NY (1991); Stites (eds.) Basic And Clinical Immunology (7th ed.) Lange Medical Publications, Los Altos, Calif. ("Stites"); Goding, Monoclonal Antibodies: Principles And Practice (2d ed.) Academic Press, New York, N. Y. (1986); Kohler (1975) "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity", Nature 256:495; Harlow (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York.)을 참조한다]. 항체는 또한 동물을 사용하는 전통적인 생체내 방법에 더하여, 예컨대 재조합 항체 결합 부위 발현 파아지 전시 라이브러리를 사용함으로써 시험관내에서 제조될 수도 있다. 예를 들어 문헌[Hoogenboom (1997) "Designing and optimizing library selection strategies for generating high-affinity antibodies", Trends Biotechnol. 15:62-70; and Katz (1997) "Structural and mechanistic determinants of affinity and specificity of ligands discovered or engineered by phage display", Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 26:27-45]을 참조한다.

[0182] 제1 검정 및 제2 검정을 위한 검정 용액은 시트르산염 완충제, 예컨대 시트르산나트륨, 인산염 완충제, 중탄산염 완충제, 예컨대 크렙스 완충제, 인산염 완충 염수(PBS) 완충제, Hank 완충제, Tris 완충제, HEPES 완충제 등으로부터 선택되는 완충제를 포함할 수 있다. 당 업자에게 검정에 적합할 것으로 공지된 기타 완충제도 또한 사용될 수 있다.

[0183] 제1 검정 및 제2 검정을 위한 검정 용액은 무기 화합물, 이온 및 유기 분자, 또는 일반적으로 포유동물, 예컨대 인간이나 동물의 체액에서 발견되는 것으로부터 선택되는 분자 적어도 1개를 함유할 수 있다. 이러한 무기 화합물, 이온 및 유기 분자는 WO 2016/138071에 상세히 기술되어 있다.

[0184] 본 조건부 활성 항체는 무기 화합물, 이온 및 유기 분자로부터 선택되는 분자 또는 이온과 상호작용할 수 있다. 조건부 활성 항체와 분자 또는 이온 사이의 상호작용은 수소 결합에 의한 결합, 소수성 상호작용 및 반 데르 발스(Van der Waals) 상호작용을 포함할 수 있다.

[0185] 예를 들어 분자 또는 이온, 예컨대 중탄산염은 조건부 활성 항체내 염 다리(salt bridge)를 형성시킴으로써 조건부 활성 항체의, 이의 항원에 대한 결합 활성을 감소시킬 수 있다. 예를 들어 중탄산염은 자체의 pKa인 6.4보다 더 낮은 pH에서 양성자 부가되므로 하전되지 않는다. 비하전 중탄산염은 염 다리를 형성할 수 없으므로, 본 조건부 활성 항체와 이의 항원의 결합에 미미한 영향을 미친다. 그러므로 본 조건부 활성 항체는 낮은 pH에서 자체의 항원과의 결합 활성이 크다. 다른 한편, 중탄산염의 pKa보다 높은 pH에서 중탄산염은 양성자를 잃음으로써 이온화되는 결과, 음으로 하전된다. 음으로 하전된 중탄산염은 조건부 활성 항체상 양으로 하전된 기 또는 극성화된 기 사이에 염 다리를 생성하여, 조건부 활성 항체의 구조를 안정화할 것이다. 이는 조건부 활성 항체와 자체의 항원의 결합을 차단 또는 환원시킬 것이다, 그러므로 본 조건부 활성 항체는 높은 pH에서 작은 활성을 보인다. 따라서 중탄산염 존재시 본 조건부 활성 항체는 pH 의존적 활성을 보이는데, 항체는 높은 pH에서보다 낮은 pH에서 더 큰 결합 활성을 보인다.

[0186] 분자 또는 이온, 예컨대 중탄산염이 검정 용액에 존재하지 않을 때, 조건부 활성 항체는 자체의 조건부 활성을 상실할 수 있다. 이는 아마도 단백질 구조를 안정화(고정)하는 염 다리가 조건부 활성 항체에 결여되어 있기 때문일 것이다. 그러므로 파트너는 제1 pH 및 제2 pH에서 유사한 활성을 보이며, 그 어떠한 pH에서도 조건부 활성 항체상 결합 부위에의 접근경로와 유사한 접근경로를 가질 것이다.

[0187] 염 다리(이온 결합)는 조건부 활성 항체의 활성에 영향을 미치는데에 있어 분자 또는 이온에 대해 가장 강력하고 가장 일반적인 수단이긴 하지만, 상기 언급된 조건부 활성 항체 및 이러한 분자 또는 이온 사이의 또 다른 상호작용도 또한 조건부 활성 항체의 구조를 안정화(고정)하는데 기여할 수 있음이 이해될 것이다.

[0188] 예시적 분자 및 이온이 이황화물, 황화수소, 히스티딘, 히스타민, 시트르산염, 중탄산염, 아세트산염 및 젖산염으로부터 선택된다. 이러한 소분자 각각의 pKa는 6.2 내지 7.0이다. 기타 적합한 소분자는 본원의 원리를 이용하는 교재, 예컨대 문헌[CRC Handbook of Chemistry and Physics, 96th Edition, by CRC press, 2015; Chemical Properties Handbook, McGraw-Hill Education, 1998]에서 찾아볼 수 있다.

[0189] 분자 또는 이온은 입체 장해를 최소화함으로써 조건부 활성 단백질상 작은 포켓에의 최대 접근경로를 보장하기 위해, 낮은 분자량 및/또는 비교적 작은 입체구조를 가질 수 있다. 이러한 이유로, 통상 분자량이 900 Da 미만, 또는 500 Da 미만, 또는 200 Da 미만, 또는 100 Da 미만인 소형의 분자나 이온이 종종 사용된다. 예를 들어 수소의 황화물, 이황화물 및 중탄산염은 모두 분자량이 작고, 조건부 활성 단백질상 포켓에의 접근경로를 제공하

는 소형 구조를 가진다.

[0190] 일 구현예에서, 인간 혈청이 실질적으로 동일한 농도로 정상 생리학적 조건 및 비정상 조건에 대한 검정 용액 둘 다에 첨가될 수 있다. 인간 혈청은 다수의 무기 화합물, 이온, 유기 분자(단백질 포함)를 가지므로, 검정 용액은 2개의 검정 용액간에 실질적으로 동일한 농도로 존재하는 성분, 즉 무기 화합물, 이온, 유기 분자로부터 선택되는 성분을 많이, 그리고 여러 개 가질 것이다.

[0191] 몇몇 구현예들에서, 혈청의 임의의 성분은 검정 용액중 의도적으로 최소화될 수 있거나, 검정 용액으로부터 배제할 수 있다. 예를 들어 항체가 스크리닝될 때, 단백질과 결합하거나 단백질을 흡착하는 혈청의 성분은 검정 용액중에 최소화될 수 있거나, 검정 용액으로부터 배제될 수 있다. 이처럼 결합된 단백질은 위양성을 나타낼 수 있으므로, 조건부 활성이 아니고, 여러 상이한 조건에서 오히려 혈청중에 존재하는 성분과만 결합하는 결합 돌연변이 단백질을 포함시킨다. 따라서 이처럼 검정시 잠재적으로 돌연변이 단백질과 결합할 수 있는 분자를 최소화하거나 배제하기 위하여 검정 성분이 주의깊게 선택되면, 검정에서 요망되는 결합 파트너 이외의 분자와 결합함으로 말미암아 부주의하게도 조건부 활성에 대해 양성으로 동정될 수 있는 위양성 돌연변이 단백질의 수는 감소할 수 있다. 예를 들어 인간 혈청중 성분과 결합하는 성향을 가지는 돌연변이 단백질이 스크리닝되는 몇몇 구현예들에서, 인간 혈청 성분과 결합하는 돌연변이 단백질에 의해 유발되는 위양성 발현 가능성을 감소시키거나 없애기 위하여 검정 용액에 소 혈청 알부민이 사용될 수 있다. 당 업자에 의해 널리 이해되는 동일한 목표를 달성하기 위해, 특정의 경우에 기타 유사한 대체물도 또한 제조될 수 있다.

[0192] 다른 양상에서, 본 발명은 다중 특이적 항체를 제조하기 위한 방법을 제공한다. 이 방법은 하기 단계들, 즉

[0193] a) 제1 항원과 결합하는 IgG 항체를 수득하는 단계;

[0194] b) 제2 항원과 결합하는 단일 사슬 항체 적어도 1개를, 링커를 통하여 IgG 항체의 경쇄 적어도 1개의 C 말단에 부착시켜, 1개 이상의 구조체를 제조하는 단계;

[0195] c) 비정상 조건 및 정상 생리학적 조건 하에서 b)의 구조체 1개 이상을, 제1 항원 또는 제2 항원중 적어도 1개와 결합하는지에 대해 스크리닝하는 단계; 및

[0196] d) 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원 또는 제2 항원중 적어도 1개와 가역적으로 결합하는 구조체들로부터 다중 특이적 항체를 선택하는 단계

[0197] 를 포함한다.

[0198] 몇몇 구현예들에서, 제1 항원은 본원에 기술된 바와 같은 세포 특이 항원, 구체적으로 암세포 특이 항원 또는 노화 세포 특이 항원일 수 있다. 일 구현예에서, 제1 항원은 Axl, EpCAM, Ror2, Her2 및 B7-H3으로부터 선택된다. 제2 항원은 종양 반응성 림프구 항원, 예컨대 CD3일 수 있다. 적합한 반응성 림프구 항원의 더 많은 예도 또한 본원에 기술되어 있다.

[0199] 기타 몇몇 구현예들에서, 제2 항원은 본원에 기술된 바와 같은 신생항원이다.

[0200] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 종양 반응성 림프구 항원으로서 CD3에, 그리고 세포 특이 항원으로서 또 다른 종양 연관 항원(TAA)에 결합한다. 본 다중 특이적 항체는, 서열 번호 1 ~ 10의 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 11 ~ 15의 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역을 포함하는, CD3에 대한 결합 부위를 가진다. 대안적으로 CD3에 대한 결합 부위는 서열 번호 26 ~ 71의 아미노산 서열로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 항 CD3 단일 사슬 항체를 포함한다. 본 다중 특이적 항체는, 서열 번호 16, 17, 20 및 22의 아미노산 서열을 가지며, Axl, Her2 및 B7-H3 중 하나와 결합하는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 18, 19, 21 및 23 ~ 25의 아미노산 서열을 가지며, Axl, Her2 및 B7-H3중 하나와 결합하는 중쇄 가변 영역으로부터 선택되는 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역을 포함하는, TAA에 대한 결합 부위를 가진다. EpCAM에 대한 결합 부위는 서열 번호 88 ~ 95로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역과, 서열 번호 80 ~ 87로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 이러한 다중 특이적 항체들 가운데, CD3에 대한 결합 부위, Axl, EpCAM, Her2 또는 B7-H3에 대한 결합 부위 중 적어도 1개가 조건부 활성인 한, 다중 특이적 항체는 조건부 활성이고, 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 간주된다.

[0201] 일례에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원과 결합한다. 다른 예에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제2 항원과 결합한다. 또 다른 예에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 친화

성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원 둘 다와 결합한다. 또 다른 예에서, 본 다중 특이적 항체는 정상 생리학적 조건에서의 결합능보다 더 큰 결합능으로 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원의 조합과 결합한다.

[0202] 몇몇 구현예들에서, 비정상 조건은 약 5.0 내지 약 7.0, 또는 약 5.2 내지 약 6.8, 또는 약 5.4 내지 약 6.8, 또는 약 5.6 내지 약 6.8, 또는 약 5.8 내지 약 6.8, 또는 약 6.0 내지 약 6.8, 또는 약 6.2 내지 약 6.8, 또는 약 6.4 내지 약 6.8, 또는 약 6.6 내지 약 6.8의 범위인 산성 pH이다. 몇몇 구현예들에서, 산성 pH는 약 6.4 내지 약 7.0, 또는 약 6.6 내지 약 7.0, 또는 약 6.8 내지 약 7.0의 범위에 있을 수 있다. 정상 생리학적 조건은 당 분야에 잘 정립된 혈액중 정상 생리학적 pH일 수 있다. 몇몇 구현예들에서, 혈액중 정상 생리학적 pH는 약 7.0 내지 약 7.8, 또는 약 7.1 내지 약 7.7, 또는 약 7.2 내지 약 7.6, 또는 약 7.2 내지 약 7.5, 또는 약 7.2 내지 약 7.4의 범위에 있을 수 있다.

[0203] **다중 특이적 항체의 제조**

[0204] 다른 양상에서, 본 다중 특이적 항체를 제조하기 위한 방법이 제공된다. 본 방법은 2개의 출발 재료, 즉 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편과, 제2 항원과 결합하는 scFv 항체로부터 다중 특이적 항체를 제조한다. 이 항체 2개중 하나 또는 둘 다는 진화된 항체를 생성하도록 진화되고, 이처럼 진화된 항체는 정상 생리학적 조건하에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건하에서 IgG 항체 또는 scFv 항체 각각의 제1 항원 또는 제2 항원과 결합하는 IgG 항체 및/또는 scFv 항체에 대해 스크리닝된다. 제2 항원과 결합하는 scFv 항체 적어도 1개는 IgG 항체 또는 단편의 경쇄 적어도 1개의 C 말단에 연결되고, 그 결과 구조체 1개 이상이 생성된다. scFv 항체 및 IgG 항체중 적어도 1개는 출발 IgG 항체 및 scFv 항체중 하나 또는 둘 다로부터 진화된 항체들로부터 스크리닝된 항체이다. 만일 출발 항체가 진화되면, 출발 항체는 "모 항체"라 지칭될 수 있고, 이것으로부터 진화된 항체 1개 이상은 "돌연변이 항체" 또는 "진화된 항체"라 지칭될 수 있다.

[0205] 본 구조체는 비정상 조건 및 정상 생리학적 조건하에서 제1 항원 및 제2 항원중 적어도 1개와의 결합에 대해 추가로 스크리닝되고, 그 결과 정상 생리학적 조건하에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건하에서 제1 항원 및 제2 항원중 적어도 1개와 결합하는 다중 특이적 항체가 선택된다. 다중 특이적 항체와, 제1 항원 또는 제2 항원의 결합은 가역적일 수 있다.

[0206] 출발 재료인 IgG 항체 및 scFv 항체를 진화시키기 적합한 방법은, 예를 들어 WO 2012/009026에 기술되어 있다. 진화된 항체 또는 구조체를 스크리닝하기 적합한 방법은, 예를 들어 WO 2017/078839에 기술되어 있다.

[0207] 다른 양상에서, 본 다중 특이적 항체를 제조하는 방법이 제공된다. 이 방법은 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편과, 정상 생리학적 조건하에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건하에서 제2 항원과 결합하는 scFv 항체로부터 시작된다. 본 방법은 제2 항원과 결합하는 scFv 항체를 IgG 항체 또는 이의 단편의 경쇄 적어도 1개의 C 말단에 연결시켜, 구조체 1개 이상을 제조하는 단계, 정상 생리학적 조건과 비정상 조건에서 제1 항원 및 제2 항원과의 결합 활성에 대해 구조체 1개 이상을 스크리닝하는 단계, 그리고 제1 항원과 결합하고, 상기 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 제2 항원과 가역적으로 결합하는 다중 특이적 항체를 선택하는 단계를 포함한다.

[0208] 전술된 방법에 의해 제조된 다중 특이적 항체도 또한 제공된다. 이러한 다중 특이적 항체는 세포 특이 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편과, IgG 항체 또는 이의 단편의 경쇄 적어도 1개 또는 중쇄 적어도 1개의 C 말단에 연결된 T 림프구 항원과 결합하는 scFv 항체 적어도 1개를 포함한다. scFv 항체 적어도 1개는 정상 생리학적 조건에서의 친화성보다 더 큰 친화성으로 비정상 조건에서 T 림프구 항원과 가역적으로 결합한다.

[0209] 본 다중 특이적 항체를 제조하기 위한 출발 재료는, 제1 항원과 결합하는 IgG 항체 또는 이의 단편과, 본원에 기술된 제2 항원과 결합하는 scFv 항체를 포함한다. 이러한 다중 특이적 항체의 기타 특징들도 또한 본원의 어딘가에 기술되어 있다.

[0210] **제제에의 접합**

[0211] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 치료제, 예방제, 진단제, 검출 가능 표지, 칼레이트화제 또는 조영제일 수 있는 제제에 접합될 수 있다. 몇몇 구현예들에서, 다중 특이적 항체상에 접합된 제제는, 일단 다중 특이적 항체가 작용 부위(예컨대 종양)에 도달하게 되면, 선택적으로 다중 특이적 항체로부터 방출될 수 있다. 이러한 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 접합된 제제(예컨대 치료제, 예방제 또는 진단제)를 대상체내 작용 부위로 운반하기 위한 전달 비이클로서 작용을 할 수 있다.

[0212] 본 다중 특이적 항체는 공유 접합 또는 비공유 접합을 통해 제제에 접합될 수 있다. 공유 접합은 직접 이루어지거나 또는 링커를 통하여 이루어질 수 있다. 임의의 구현예들에서, 직접적인 접합은 제제와 다중 특이적 항체의 융합 단백질 구성에 의할 수 있다(즉 다중 특이적 항체와 제제를 암호화하는 유전자 2개의 유전자 융합과, 이것들의 단일 단백질로서의 발현에 의할 수 있다). 임의의 구현예들에서, 직접적인 접합은 다중 특이적 항체상 반응성 기와 제제상 대응하는 기 사이의 공유 결합 형성에 의한다. 임의의 구현예들에서, 직접적인 접합은 적당한 조건하에서 제제와의 공유 부착을 달성하는 반응성 기(비제한적 예로서, 설프히드릴기 또는 카복실기)를 포함시키기 위한 다중 특이적 항체의 변형(즉 유전자 변형)에 의하거나, 그 반대이다. 예를 들어 요망되는 반응성 기를 가지는 아미노산(즉 시스테인 잔기)은 다중 특이적 항체에 도입되어, 제제와 이황화 결합을 형성할 수 있다. 제제를 다중 특이적 항체에 공유 접합하기 위한 위한 방법[즉 광가교법, 예컨대 문헌(Zatsepin et al. Russ. Chem. Rev., 74: 77-95 (2005)) 참조]도 또한 당 분야에 공지되어 있다.

[0213] 비공유 접합은 당 업자에 의해 용이하게 이해될 바와 같이 임의의 비공유 부착 수단, 예컨대 소수성 결합, 이온 결합 및 정전기적 상호작용 등에 의할 수 있다.

[0214] 접합은 또한 다양한 링커가 사용되어 수행될 수도 있다. 예를 들어 다중 특이적 항체와 제제는 다양한 이작용성 단백질 커플링제, 예컨대 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오) 프로피온산염(SPDP), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실산염(SMCC), 이미노티올란(IT), 이미도에스테르의 이작용성 유도체(예컨대 디메틸아디피미데이트 HCl), 활성 에스테르(예컨대 디숙신이미딜 수베르산염), 알데히드(예컨대 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물(예컨대 비스(p-아지도벤조일)헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체(예컨대 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시안산염(예컨대 톨루엔 2,6-디이소시안산염) 및 활성 2플루오르 화합물(예컨대 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)이 사용되어 접합될 수 있다. 1개 ~ 20개의 아미노산이 펩티드 결합에 의해 연결되어 포함된 펩티드 링커도 또한 사용될 수 있다. 이러한 임의의 구현예들에서, 아미노산은 20개의 자연 발생 아미노산으로부터 선택된다. 이러한 기타 임의의 구현예들에서, 아미노산중 1개 이상은 글리신, 알라닌, 프롤린, 아스파라긴, 글루타민 및 리신으로부터 선택된다.

[0215] 링커는 작용 부위로 전달될 때 제제의 방출을 촉진하는 "절단 가능 링커"일 수 있다. 예를 들어 산 불안정 링커, 펩티다아제 감수성 링커, 광불안정 링커, 디메틸 링커 또는 이황화물 함유 링커(Chari et al, Cancer Res., vol. 52, pp. 127-131, 1992; 미국 특허 제5,208,020호)가 사용될 수 있다.

[0216] 접합된 치료제 또는 예방제, 예컨대 방사성 입자, 화학요법 약물 또는 세포의 독소(즉 세포독소)는 신체에 독성일 수 있다. 접합된 치료제를 작용 부위에 전달하기 위해 본 발명의 다중 특이적 항체가 사용되면, 이러한 치료제의 활성이 요망되지 않는 체내 부위에서 치료제의 독성 효과는 유의미하게 감소할 것이다. 방사성 입자를 항체에 접합시키기 위한 기술은 당 분야에 공지되어 있다. 이브리투모맙 티욱세탄(제발린; Zevalin®) 및 토시투모맙(벡사; Bexxar®)는 방사성 입자가 접합된 모노클로날 항체의 예이다. 이것 둘 다는 상이한 방사성 입자와 접합된, CD20 항원에 대한 항체이다. 유사하게 화학요법 약물과 항체를 접합시키기 위한 기술도 또한 당 분야에 공지되어 있다. 화학요법 약물과 접합된 것으로서 시판중인 항체가 적어도 2개 있다(브렌툭시맙 베도틴(아드세트리스; Adcetris®) 및 아도-트라스투주맙 엠탄신(카드사일라; Kadcyla™)). 세포 독소를 항체와 접합시키기 위한 기술도 또한 당 분야에 공지되어 있다. 예를 들어 데니루킨 디프티톡스(온탁(Ontak®), 암 약물)는 디프테리아를 유발하는 세균 유래 독소에 부착된, 인터루킨-2(IL-2)라 공지된 면역계 단백질로 이루어져 있다.

[0217] 이러한 제제가 작용 부위 또는 발병 부위로 전달되는 동안 이 제제의 부작용을 줄이기 위해, 임의의 종류의 방사성 입자, 화학요법 약물 및 세포의 독소가 본 발명의 다중 특이적 항체에 접합될 수 있음도 고려된다.

[0218] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체에 접합된 방사성 입자는 방사성 동위원소 1개 이상이 합침된 입자를 포함하고, 세포의 국소 열치료(locoregional ablation)에 충분한 방사능을 가진다. 입자는 유리, 금속, 수지, 알부민 또는 중합체(들)를 포함할 수 있다. 방사성 입자내 금속은 철, 가돌리늄 및 칼슘으로부터 선택될 수 있다. 방사성 입자내 방사성 동위원소 1개 이상의 예는 갈륨-67(^{67}Ga), 이트륨-90(^{90}Y), 갈륨-68(^{68}Ga), 탈륨-201(^{201}T1), 스트론튬-89(^{89}Sr), 인듐-111(^{111}In), 요오드-131(^{131}I), 사마륨-153(^{153}Sm), 테크네튬-99m(^{99m}Tc), 레늄-186(^{186}Re), 레늄-188(^{188}Re), 구리-62(^{62}Cu) 및 구리-64(^{64}Cu)로부터 선택된다. 조성물중 방사성 동위원소(들)는 베타 복사선, 감마 복사선 및/또는 양전자를 방출할 수 있다.

[0219] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체에 접합된 화학요법 약물은 안트라사이클린, 토포이소머라아제 I 및/또는 II 억제제, 방추체저해제 식물 알칼로이드, 알킬화제, 항대사물질, 엘립티신 및 하르민으로부터 선택된다.

[0220] 안트라사이클린(또는 안트라사이클린계 항생제)은 스트렙토마이세스(*Streptomyces*) 세균으로부터 유래한다. 이 화합물은 다양한 암, 예컨대 간세포 암종, 백혈병, 림프종, 유방암, 자궁암, 난소암 및 폐암을 치료하는데 사용된다. 안트라사이클린은 독소루비신, 도노루비신, 에피루비신, 이다루비신, 발루비신, 피라루비신, 조루비신, 아클라루비신, 데토루비신, 카미노마이신, 모폴리노독소루비신, 모폴리노도노루비신, 메톡시모폴리닐독소루비신 및 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0221] 토포이소머라아제는 DNA의 토폴로지(topology)를 유지하는 필수 효소이다. I형 및 II형 토포이소머라아제의 억제는, 적절한 DNA의 수퍼코일링(supercoiling)을 엉망으로 만들어 DNA 전사와 복제 둘 다를 방해한다. I형 토포이소머라아제 억제제 일부는 캄프토테신 유도체를 포함한다. 캄프토테신 유도체란, 캄프토테신 유사체, 예컨대 이리노테칸, 토포테칸, 헥사테칸, 실라테칸, 루토르테칸, 카레니테신(BNP1350), 김마테칸(ST1481), 벨로테칸(CKD602) 또는 이것들의 약학적으로 허용 가능한 염을 지칭한다. II형 토포이소머라아제 억제제의 예로서는 암사크린, 에토포시드, 에토포시드 인산염 및 테니포시드를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이것들은 아메리칸 메이애플(*American Mayapple*) 뿌리에 자연 발생하는 알칼로이드인 에피포도필로톡신(포도필륨 펠타튬(*Podophyllum peltatum*))의 반합성 유도체이다.

[0222] 방추체저해제 식물 알칼로이드는 식물로부터 유래하는 것으로서, 세포 분열에 필수인 미세소관 기능을 억제함으로써 세포 분열을 차단한다. 이러한 알칼로이드로서는 빈카 알칼로이드(예컨대 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 비노렐빈 및 빈포세틴) 및 탁산을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 탁산은 파클리탁셀, 도세탁셀, 라로탁셀, 카바지탁셀, 오르타탁셀, 테세탁셀 및 이것들의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0223] 알킬화제로서는 메클로레타민, 사이클로포스파미드, 클로람부실, 이포스파미드 및 백금 화합물, 예컨대 옥살리플라틴, 시스플라틴 또는 카보플라틴을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0224] 항대사물질은 정상 대사작용의 일부인 대사물질의 사용을 억제하는 화학물질이다. 항대사물질의 존재는 세포 성장과 세포 분열을 변경시킨다. 퓨린 또는 피리미딘 유사체는 뉴클레오티드가 DNA에 혼입되는 것, DNA 합성이 중지되는 것을 막으므로, 세포 분열도 막는다. 이는 또한 RNA 합성에도 영향을 미친다. 퓨린 유사체의 예로서는 아자티오프린, 머캅토퓨린, 티오구아닌, 플루다라빈, 펜토스타틴 및 클라드리빈을 포함한다. 피리미딘 유사체의 예로서는 티미딜레이트 신타아제를 억제하는 5-플루오로우라실(5FU), 플록수리딘(FUDR) 및 시토신 아라비노시드(시타라빈)을 포함한다.

[0225] 엽산길항제는 엽산의 기능을 손상시키는 화학요법 약물이다. 널리 공지된 예로서는 효소 디하이드로폴레이트 리덕타아제(DHFR)를 억제하여 테트라하이드로폴레이트의 생성을 막는, 엽산 유사체인 메토트렉세이트가 있다. (테트라하이드로폴레이트는 또한 아미노산인 세린과 메티오닌의 합성에도 연루되어 있으므로) 이는 DNA, RNA 및 단백질 생성의 억제를 초래한다. 기타 엽산길항체로서는 트리메토프림, 랄티트렉시드, 피리메타민 및 페메트렉시드를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0226] 기타 화학요법 약물, 예컨대 엘립티신 및 하르민도 또한 다중 특이적 항체에 접합될 수 있다. 엘립티신 및 이의 유도체, 예컨대 9-하이드록시엘립티시늄, N2-메틸-9-하이드록시엘립티시늄, 2-(디에틸이아미노-2-에틸)9-하이드록시엘립티시늄 아세트산염, 2-(디이소프로필아미노-에틸)9-하이드록시-엘립티시늄 아세트산염 및 2-(베타 피페리디노-2-에틸)9-하이드록시엘립티시늄은 모두 유효한 화학요법 약물이다.

[0227] 하르민은 페가늄 하르말라(*Peganum harmala*) 종자로부터 단리된 천연 식물 알칼로이드 생성물이다. 하르민 기반 화학요법 약물로서는 하르민, 하르말린, 하르몰, 하르말롤 및 하르만, 그리고 퀴나졸린 유도체인 바시신 및 바시시논을 포함한다.

[0228] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체에 접합된 세포 독소는 탁솔, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티듐 브롬화물, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 독소루비신, 도노루비신, 디하이드록시 안트라시네디온, 미토잔트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤 및 퓨로마이신, 그리고 이것들의 유사체 또는 동족체를 포함한다. 기타 독소로서는, 예를 들어 리신, CC-1065 및 유사체, 듀오카마이신을 포함한다. 또 다른 독소로서는 디프테리아 독소 및 뱀 독(예컨대 코브라 독)을 포함한다.

[0229] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 진단제에 접합될 수 있다. 본 발명에 사용된 진단제는, 예컨대 참고문헌[Armstrong et al, Diagnostic Imaging, 5th Ed., Blackwell Publishing(2004); Torchilin, V. P., Ed., Targeted Delivery of Imaging Agents, CRC Press(1995); Vallabhajosula, S., Molecular Imaging:

Radiopharmaceuticals for PET and SPECT, Springer(2009)]에 제공된 바와 같은 것으로서, 당 분야에 공지된 임의의 진단제를 포함할 수 있다. 진단제는 다양한 방법, 예컨대 검출 가능 신호, 예컨대 감마선 방사 신호, 방사능 신호, 반향 신호, 광학 신호, 형광 신호, 흡광 신호, 자기적 신호 또는 단층촬영 신호(이에 한정되는 것은 아님)를 제공 및/또는 증폭시키기 위한 제제를 사용하는 방법에 의해 검출될 수 있다. 진단제를 영상화하기 위한 기술로서는 단일광자방출 컴퓨터 단층촬영(SPECT), 자기공명영상화(MRI), 광학적 영상화, 형광 영상화, 양전자방출단층촬영(PET), 컴퓨터단층촬영(CT), X-선 영상화 및 감마선 영상화 등을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0230] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는, 예컨대 다양한 진단 영상화 기술에 사용될 금속 이온과 결합하는 킬레이트화제에 접합될 수 있다. 예시적 킬레이트화제로서는 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA), [4-(1,4,8,11-테트라아자사이클로테트라덱-1-일)메틸벤조산(CPTA), 사이클로헥산디아민테트라아세트산(CDTA), 에틸렌비스(옥시에틸렌니트릴로)테트라아세트산(EGTA), 디에틸렌트리아민펜타아세트산(DTPA), 시트르산, 하이드록시에틸에틸렌디아민트리아세트산(HEDTA), 이미노디아세트산(IDA), 트리에틸렌테트라아민헥사아세트산(TTHA), 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-1,4,7,10-테트라(메틸렌포스폰산)(DOTP), 1,4,8,11-테트라아자사이클로도데칸-1,4,8,11-테트라아세트산(TETA), 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산(DOTA) 및 이것들의 유도체를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0231] 본 다중 특이적 항체는 검출 가능 표지에 접합될 수 있다. 적합한 검출 가능 표지로서는 분광분석, 광화학, 생화학, 면역화학, 전기, 광학 또는 화학 수단에 의해 검출 가능한 임의의 조성물을 포함한다. 적합한 검출 가능 표지로서는 자기 비드(예컨대 다이나비즈; Dynabeads™), 형광 염료(예컨대 플루오레세인 이소티아시안산염, 텍사스 레드(TEXAS RED)®, 로다민, 녹색 형광 단백질, 적색 형광 단백질, 황색 형광 단백질 등), 방사성표지(예컨대 ^{3}H, ^{125}I, ^{35}S, ^{14}C 또는 ^{32}P), 효소(예컨대 서양고추냉이 퍼옥시다아제, 알칼리성 포스파타아제, 루시퍼라아제, 그리고 효소 연결 면역흡착 검정(ELISA)에 일반적으로 사용되는 기타의 것들, 비색 표지, 예컨대 콜로이드금, 착색 유리 또는 플라스틱(예컨대 멀티스티렌(multistyrene), 멀티프로필렌(multipropylene), 라텍스 등) 비드를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0232] 다른 구현예들에서, 검출 가능 표지는 광학 제제, 예컨대 형광 제제, 인광 제제 및 화학발광 제제 등으로부터 선택된다. 다수의 제제(예컨대 염료, 프로브, 표지 또는 지시약)가 당 분야에 공지되어 있으며, 본 발명에 사용될 수 있다[예컨대 문헌(Invitrogen, The Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies, Tenth Edition(2005))을 참조한다]. 형광 제제는 다양한 유기 및/또는 무기 소분자 또는 다양한 형광 단백질 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 예를 들어 형광 제제는 시아닌, 프탈로시아닌, 포르피린, 인도시아닌, 로다민, 페녹사진, 페닐잔텐, 페노티아진, 페노셀레나진, 플루오레세인, 벤조포르피린, 스쿠아라인, 디피롤로피리미돈, 테트라센, 퀴놀린, 피라진, 코린, 크로코늄, 아크리돈, 페난트리딘, 로다민, 아크리딘, 안트라퀴논, 칼코게노피릴륨 유사체, 클로린, 나프탈로시아닌, 메틴 염료, 인돌레늄 염료, 아조 화합물, 아줄렌, 아자아줄렌, 트리페닐메탄 염료, 인돌, 벤조인돌, 인도카보시아닌, 벤조인도카보시아닌, 일반식 4,4-디플루오로-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센으로 표시되는 보디파이(BODIPY)™ 유도체, 그리고/또는 이것들중 임의의 것의 접합체 및/또는 유도체를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0233] 기타 검출 가능 제제로서는 플루오레세인, 플로오레세인-폴리아스파르트산 접합체, 플루오레세인-폴리글루탐산 접합체, 플루오레세인-폴리아르기닌 접합체, 인도시아닌 그린, 인도시아닌-도데카아스파르트산 접합체, 인도시아닌(NIRD)-폴리아스파르트산 접합체, 이소설판 블루, 인돌 디설폰산염, 벤조인돌 디설폰산염, 비스(에틸카복시메틸)인도시아닌, 비스(펜틸카복시메틸)인도시아닌, 폴리하이드록시인돌 설폰산염, 폴리하이드록시벤조인돌 설폰산염, 비가요성 이종원자 인돌 설폰산염, 인도시아닌비스프로판산, 인도시아닌비스헥산산, 3,6-디시아노-2,5-[(N,N,N',N'-테트라키스(카복시메틸)아미노)]피라진, 3,6-[(N,N,N',N'-테트라키스(2-하이드록시에틸)아미노)]피라진-2,5-디카복실산, 3,6-비스(N-아자테디노)피라진-2,5-디카복실산, 3,6-비스(N-모폴리노)피라진-2,5-디카복실산, 3,6-비스(N-피페라지노)피라진-2,5-디카복실산, 3,6-비스(N-티오모폴리노)피라진-2,5-디카복실산, 3,6-비스(N-티오모폴리노)피라진-2,5-디카복실산 S-산화물, 2,5-디시아노-3,6-비스(N-티오모폴리노)피라진 S,S-이산화물, 인도카보시아닌테트라설폰산염, 클로로인도카보시아닌 및 3,6-디아미노피라진-2,5-디카복실산을 포함한다.

[0234] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 조영제와 접합할 수 있는데, 여기서 조영제는 영상화, 예컨대 인간을 대상으로 수행되는 영상화 절차에 사용하기 적합한 것이다. 조영제의 비제한적 예로서는 가돌리늄(Gd), 디스프로슘 및 철을 포함한다. 본 다중 특이적 항체는 표준 기술을 사용하여 조영제에 접합될 수 있다. 예를 들어 본 다중 특이적 항체는 클로라민 T 또는 1,3,4,6-테트라클로로-3α,6α-디페닐글리코우릴을 사용하여 요오드화

될 수 있다. 플루오르화를 위해, 플루오르는 합성중 본 다중 특이적 항체에 플루오르화물 이온 치환 반응에 의해 접합된다. 이러한 방사성동위원소로 단백질을 합성하는 것을 검토한 것에 관한 문헌[Muller-Gartner, H., TIB Tech., 16: 122-130(1998) and Saji, H., Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst., 16(2):209-244(1999)]을 참조한다. 예를 들어 본 다중 특이적 항체는, 저분자 Gd 킬레이트, 예컨대 Gd 디에틸렌 트리아민 펜타아세트산(GdDTPA) 또는 Gd 테트라아자사이클로도데칸테트라아세트산(GdDOTA)을 항체에 접합함으로써 Gd에 접합될 수 있다. 문헌[Caravan et al., Chem. Rev. 99:2293-2352(1999) and Lauffer et al., J. Magn. Reson. Imaging, 3: 11-16(1985)]을 참조한다. 본 다중 특이적 항체는 또한, 예를 들어 폴리리신-Gd 킬레이트를 항체에 접합함으로써 Gd에 접합될 수도 있다. 예를 들어 문헌[Curtet et al., Invest. Radiol., 33(10):752-761(1998)]을 참조한다. 대안적으로, 본 다중 특이적 항체는 Gd 킬레이트화제 지질을 포함하는 상자성 중합 리포좀이 아비딘 및 바이오틴화 항체와 함께 항온처리됨으로써 Gd에 접합될 수 있다. 예를 들어 문헌[Sipkins et al., Nature Med., 4:623-626(1998)]을 참조한다.

[0235] 또 다른 구현예들에서, 조영제는 참고문헌[H.S Thomsen, R.N. Muller and R.F. Mattrey, Eds., Trends in Contrast Media,(Berlin: Springer- Verlag, 1999); P. Dawson, D. Cosgrove and R. Grainger, Eds., Textbook of Contrast Media(ISIS Medical Media 1999); Torchilin, V.P., Curr. Pharm. Biotech., vol. 1, pages 183-215(2000); Bogdanov, A. A. et al, Adv. Drug Del. Rev., Vol. 37, pages 279-293(1999); Sachse, A. et ah, Investigative Radiology, vol. 32, pages 44-50(1997)]에 기술된 바와 같이 X-선 조영제일 수 있다. X-선용 조영제의 예로서는 이오파미돌, 이오메프롤, 이오헥솔, 이오펜톨, 이오프로미드, 이오시미드, 이오베르솔, 이오트롤란, 이오타술, 이오딕사놀, 이오데시몰, 이오글루카미드, 이오글루니드, 이오굴라미드, 이오사르콜, 이옥실란, 이오파미론, 메트리자미드, 이오비트리돌 및 이오시메놀을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 임의의 구현예들에서, X-선용 조영제는 이오파미돌, 이오메프롤, 이오프로미드, 이오헥솔, 이오펜톨, 이오베르솔, 이오비트리돌, 이오딕사놀, 이오트롤란 및 이오시메놀을 포함할 수 있다.

[0236] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 "방사선비투과" 표지, 예컨대 X-선을 사용하여 용이하게 가시화될 수 있는 표지와 접합할 수 있다. 방사선비투과 재료는 당 업자들에게 널리 공지되어 있다. 가장 일반적인 방사선비투과 재료는 요오드화물, 브롬화물 또는 바륨염을 포함한다. 기타 방사선비투과 재료도 또한 공지되어 있으며, 유기 비스무트 유도체(예컨대 미국 특허 제5,939,045호 참조), 방사선비투과 멀티우레탄(미국 특허 제5,346,981호 참조), 유기비스무트 복합재(예컨대 미국 특허 제5,256,334호 참조), 그리고 방사선비투과 바륨 다량체의 착체(예컨대 미국 특허 제4,866,132호 참조) 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0237] 본 다중 특이적 항체에 접합될 수 있는 적합한 형광 단백질로서는, 예를 들어 미국 특허 제6,066,476호; 동 제6,020,192호; 동 제5,985,577호; 동 제5,976,796호; 동 제5,968,750호; 동 제5,968,738호; 동 제5,958,713호; 동 제5,919,445호; 동 제5,874,304호에 기술된 바와 같은 아에쿠오리아 빅토리아(*Aequoria victoria*) 유래 녹색 형광 단백질(GFP) 또는 이의 돌연변이체나 유도체를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. GFP의 예들로서는, 예컨대 Clontech, Inc.로부터 시판되고 있는 것; 적색 형광 단백질; 황색 형광 단백질; 문헌(Matz et al.(1999) Nature Biotechnol. 17:969-973)에 기술된 바와 같은 안토조안(*Anthozoan*) 종 유래 다양한 형광 및 발색 단백질중 임의의 것 등이 있다.

[0238] 몇몇 구현예들에서, 접합은 본 다중 특이적 항체의 Fc 영역에서 이루어진다. 전술된 접합 대상 분자, 화합물 또는 약물은 미국 특허 제8,362,210호에 기술된 바와 같이 Fc 영역에 접합될 수 있다. 예를 들어 Fc 영역은, 다중 특이적 항체가 우선적으로 활성을 보이는 비정상 조건의 부위에 전달될 치료제, 예방제 또는 진단제에 접합될 수 있다. 항체의 Fc 영역으로의 접합을 위한 추가의 방법은 당 분야에 공지되어 있다. 예컨대 미국 특허 제5,336,603호, 동 제5,622,929호, 동 제5,359,046호, 동 제5,349,053호, 동 제5,447,851호, 동 제5,723,125호, 동 제5,783,181호, 동 제5,908,626호, 동 제5,844,095호 및 동 제5,112,946호; EP 307,434; EP 367,166; EP 394,827; PCT 공보 WO 91/06570, WO 96/04388, WO 96/22024, WO 97/34631 및 WO 99/04813; 문헌(Ashkenazi et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA, vol. 88, pages 10535-10539, 1991; Traunecker et al., Nature, vol. 331, pages 84-86, 1988; Zheng et al., J. Immunol., vol. 154, pages 5590-5600, 1995; 및 Vie et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 89, pages 11337-11341, 1992)을 참조한다.

[0239] **조성물, 제제, 키트**

[0240] 본 발명의 다중 특이적 항체가 치료용, 예방용 또는 진단용 약학 조성물, 의료용 디바이스, 키트 또는 제작 물품에 포함될 수 있다. 적합한 약학 조성물, 의료용 디바이스, 키트 또는 제작 물품은 WO 2016/138071에 상세히 기술되어 있다.

[0241] 몇몇 구현예들에서, 본 약학 조성물은 액체 형태, 동결건조된 형태 또는 동결건조된 형태를 재구성하여 얻어진 액체 형태일 수 있다. 동결건조 제제는, 통상 멸균 용액으로 재구성된 다음에 투여된다. 동결건조 조성물의 재구성을 위한 표준 절차는, 특정 부피(통상적으로 동결건조시 제거된 부피와 거의 동일한 부피)의 순수를 첨가하는 것이다. 항균제를 포함하는 용액도 또한 비경구 투여용 약학 조성물의 제조를 위해 사용될 수 있다. 문헌 [Chen, Drug Dev Ind Pharm, vol. 18, pp. 1311-54, 1994]도 또한 참조한다.

[0242] 제제의 긴장성을 조정하기 위해 약학적으로 허용 가능한 긴장제가 포함될 수 있다. 예시적 긴장제로서는 염화나트륨, 염화칼륨, 글리세린, 아미노산 군중 임의의 성분, 당, 그리고 이것들의 조합을 포함한다. 몇몇 구현예들에서, 수성 제제는 등장성이지만, 저장성 또는 고장성 용액도 또한 적합할 수 있다. "등장성"이란 용어는, 어떤 용액이 이의 비교 대상인 다른 용액 몇몇, 예컨대 생리적 염 용액 또는 혈청의 긴장성과 동일한 긴장성을 가지는 경우를 지칭한다. 긴장제는 약 5 mM 내지 약 350 mM의 양, 예컨대 100 mM 내지 약 350 nM의 양으로 사용될 수 있다.

[0243] 제제화된 다중 특이적 항체의 응집을 감소시키고/감소시키거나, 제제내 미립자 생성을 최소화하고/최소화하거나 흡착을 감소시키기 위해, 약학적으로 허용 가능한 계면활성제가 조성물에 첨가될 수 있다. 예시적 계면활성제로서는 폴리옥시에틸렌솔비탄 지방산 에스테르, 폴리옥시에틸렌알킬 에테르, 알킬페닐폴리옥시에틸렌 에테르(트리톤-X(Triton-X)™), 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 공중합체(폴록사머, 플루로닉(Pluronic)™), 그리고 도데실황산나트륨(SDS)을 포함한다. 적합한 폴리옥시에틸렌솔비탄-지방산 에스테르의 예로서는 폴리솔베이트 20(상품명 트윈 20(Tween 20)™으로 시판) 및 폴리솔베이트 80(상품명 트윈 80(Tween 80)™으로 시판)이 있다. 적합한 폴리에틸렌-폴리프로필렌 공중합체의 예로서는 상표명 플루로닉® F68 또는 폴록사머 188(Poloxamer 188)™으로 시판되고 있는 것들이 있다. 적합한 폴리옥시에틸렌알킬 에테르의 예들로서는 상품명 Brij™으로 시판되고 있는 것이 있다. 조성물중 계면활성제의 예시적 농도는 약 0.001% w/v 내지 약 1% w/v의 범위일 수 있다.

[0244] 불안정한 활성 성분(예컨대 단백질)을 동결건조 과정중의 탈안정화 조건으로부터 보호하기 위해 동결건조보호제가 조성물에 첨가될 수 있다. 예를 들어 공지의 동결건조보호제는 당류(예컨대 글루코스 및 수크로스), 폴리올(예컨대 만니톨, 솔비톨 및 글리세롤), 그리고 아미노산(예컨대 알라닌, 글리신 및 글루탐산)을 포함한다. 동결건조보호제는 약 10 nM ~ 약 500 nM의 양으로 포함될 수 있다.

[0245] 몇몇 구현예들에서, 계면활성제, 완충제, 안정화제 및 긴장제중 1개 이상을 함유하는 조성물에는 본질적으로 보존제, 예컨대 에탄올, 벤질알코올, 페놀, m-크레솔, p-클로로-m-크레솔, 메틸 또는 프로필 파라벤, 염화벤잘코늄 및 이것들의 조합 1개 이상이 함유되어 있지 않다. 다른 구현예들에서, 에탄올, 벤질알코올, 페놀, m-크레솔, p-클로로-m-크레솔, 메틸 또는 프로필 파라벤, 염화벤잘코늄 및 이것들의 조합으로부터 선택되는 보존제는 제제에, 예컨대 약 0.001%(w/v) 내지 약 2%(w/v) 범위의 농도로 포함될 수 있다.

[0246] 경구 투여를 위한 단위 투여형, 예컨대 시럽, 엘릭시르 및 현탁액은, 각각의 투여 단위, 예를 들어 티스푼, 테이블스푼, 정제 또는 바일이 소정량의 조성물을 함유하는 경우에 제공될 수 있다. 이와 유사하게, 주사 또는 정맥내 투여를 위한 단위 투여형은 조성물중 다중 특이적 항체를 멸균수, 정상 염수 또는 약학적으로 허용 가능한 다른 담체중 용액으로서 포함할 수 있다.

[0247] 본 다중 특이적 항체는 주사 가능 제제로서 제제화될 수 있다. 통상, 주사 가능 조성물은 액체 용액 또는 현탁액, 주사전 액체 비이클중 용액 또는 현탁액으로 제조될 수 있기 적합한 고체형으로서 제조된다. 제제는 또한 유화된 다중 특이적 항체가 리포좀 비이클내에 캡슐화된 것일 수 있다.

[0248] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 에어로졸 및 비내 조성물로서 제제화될 수 있다. 좌제의 경우, 본 조성물은 전통적인 결합제와 담체, 예컨대 폴리알킬렌글리콜 또는 트리글리세라이드를 포함할 것이다. 이러한 조성물은 본 다중 특이적 항체를 약 0.5%(w/w) 내지 약 10%(w/w), 예컨대 약 1%(w/w) 내지 약 2%(w/w) 범위만큼 함유하는 혼합물로 제조될 수 있다.

[0249] 본 다중 특이적 항체는 비강 점막에 자극을 일으키지 않고 섬모 기능도 거의 방해하지 않는 비이클을 포함하는 비내 제제로서 제제화될 수 있다. 희석제, 예컨대 물, 수성 염수 또는 기타 공지의 성분은 본 발명과 함께 사용될 수 있다. 비강 제제는 또한 보조제, 예컨대 클로로부탄올 및 염화벤잘코늄(이에 한정되는 것은 아님)을 함유할 수 있다. 계면활성제는 비강 점막에 의한 다중 특이적 항체의 흡수를 촉진하기 위해 존재할 수 있다.

[0250] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 제어 방출 제제로 제제화된다. 본 발명의 범위에 속하는 제어 방출

이란, 다수의 연장 방출 투여형중 하나를 의미한다. 이하 제어 방출 유형, 즉 연속 방출, 지체 방출(delayed release), 점진적 방출, 장기 방출, 계획 방출, 연장 방출(prolonged release), 비례 방출, 지속 방출(protracted release), 서방, 이격 방출(spaced release), 지연 방출(sustained release), 지효 방출(timed release), 지체 작용(delayed action), 연장 작용, 레이어드타임(layered-time) 작용, 장기 작용(long acting), 연장 작용, 반복 작용, 지연 작용(sustained action) 및 연장 방출이 본 발명을 위해 사용될 수 있다. 이러한 용어와 이러한 용어를 실행하기 위한 방법에 관한 추가의 논의는 문헌[Lesczek Krowczynski, Extended-Release Dosage Forms, 1987(CRC Press, Inc.)]에서 확인될 수 있다.

[0251] 당 분야에 공지된 방법이 이용되어 제어 방출 조성물이 제조될 수 있다. 제어 방출 제제의 예로서는 다중 특이적 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스[단 이 매트릭스는 성형 물품, 예컨대 필름 또는 마이크로캡슐의 형태를 가짐]를 포함한다. 지연 방출 매트릭스의 예로서는 폴리에스테르, L-글루탐산과 에틸-L-글루탐산염의 공중합체, 비분해성 에틸렌-비닐 아세트산염, 하이드로겔, 폴리락티드. 분해성 젖산-글리콜산 공중합체 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산을 포함한다. 지연 방출 제제에 포함된 다중 특이적 항체의 생물 활성에 일어날 수 있는 상실과, 면역원성에 일어날 수 있는 변화는, 적당한 첨가제를 사용하고, 수분 함량을 제어하며, 특이적 중합체 매트릭스 조성물을 개발함으로써 감소 또는 방지될 수 있다.

[0252] 제어 방출 기술은 물리적 시스템과 화학적 시스템 둘 다를 포함한다. 물리적 시스템은 속도 제어 막을 가지는 저장 시스템, 예컨대 마이크로캡슐화, 마크로캡슐화 및 막 시스템; 속도 제어막을 가지지 않는 저장 시스템, 예컨대 속이 빈 섬유, 초미세다공성 셀룰로스 트리아세트산염 및 다공성 중합체 기질 및 소포; 일체형 시스템, 예컨대 비다공성, 중합체 또는 탄성체 매트릭스내 물리적으로 용해된 (예컨대 비침식성, 침식성, 주변 제제 이입성 및 분해성) 시스템, 그리고 비다공성, 중합체 또는 탄성체 매트릭스에 물리적으로 분산된 (예컨대 비침식성, 침식성, 주변 제제 이입성 및 분해성) 재료; 외곽 제어층과 화학적으로 유사하거나 유사하지 않은 저장층들을 포함하는 다층 구조; 그리고 기타 물리적 수단, 예컨대 삼투압 펌프 또는 이온 교환 수지상에의 흡착을 포함한다.

[0253] 화학적 시스템은 (예컨대 이종 또는 동종) 중합체 매트릭스의 화학적 침식 또는 (예컨대 이종 또는 동종) 중합체 매트릭스의 생물학적 침식을 포함한다. 제어 방출을 위한 시스템의 카테고리에 관한 추가의 논의는 문헌[Agis F. Kydonieus, Controlled Release Technologies: Methods, Theory and Applications, 1980(CRC Press, Inc.)]에서 확인될 수 있다.

[0254] 다중 특이적 항체를 제제화하기 위해 사용될 수 있는 경구 투여용 제어 방출 약물 제제가 다수 존재한다. 이러한 제어 방출 제제는 삼투압 제어 위장관내 전달 시스템; 유체역학 압력 제어 위장관내 전달 시스템; 미소공성 막 투과 제어 위장관내 전달 디바이스를 포함하는 막 투과 제어 위장관내 전달 시스템; 위액 저항성 장 표적화 제어 방출 위장관내 전달 디바이스; 겔 확산 제어 위장관내 전달 시스템 및 양이온과 음이온 약물을 포함하는 이온 교환 제어 위장관내 전달 시스템을 포함한다. 제어 방출 약물 전달 시스템에 관한 추가의 정보는 문헌[in Yie W. Chien, Novel Drug Delivery Systems, 1992(Marcel Dekker, Inc.)]에서 확인될 수 있다.

[0255] 본 다중 특이적 항체는 생체내 및 생체외 방법뿐 아니라, 전신 및 국소 투여경로를 포함하는, 약물 전달에 적합한 임의의 가용 방법 및 경로를 사용하여 환자/대상체에 투여될 수 있다. 종래의 투여 경로와 약학적으로 허용가능한 투여 경로는 비내, 근육내, 기관내, 피하, 피내, 국소 적용, 정맥내, 동맥내, 직장, 비강, 경구 및 기타 장관 및 비경구 투여 경로를 포함한다. 투여 경로는 원한다면 다중 특이적 항체 및/또는 요망되는 효과에 따라서 합하여질 수 있거나, 또는 조정될 수 있다. 본 다중 특이적 항체는 단일회분 용량 또는 다수회분 용량으로 투여될 수 있다. 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 경구 투여된다. 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 흡입 경로를 통해 투여된다. 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 비내 투여된다. 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 국소 투여된다. 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 두개내 투여된다. 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 정맥내 투여된다.

[0256] 다른 양상에서, 본 발명은 본원에 기술된 다중 특이적 항체를 사용하는 암(종양) 치료 방법을 제공한다. 본 방법은 다중 특이적 항체를 암 또는 종양이 발병한 대상체에 투여하는 단계를 수반한다.

[0257] 몇몇 구현예들에서, 본 다중 특이적 항체는 암 신생항원 백신과 함께 투여되거나, 또는 암 신생항원 백신 투여 후에 투여된다. 신생항원 백신과 이의 제조는 US2017/0202939에 기술되어 있다.

[0258] 이하 실시예는 본 발명의 방법을 예시적하는 것일뿐, 제한하는 것은 아니다. 보통 당 분야에서 우연히 마주할 수 있는 것으로서, 당 업자들에세 명료한, 다양한 조건과 매개변수에 관한 기타 적합한 변형 및 수정은 본 발명

의 범위에 속한다.

[0259] **실시예**

[0260] 조건부 활성 항체를 제조하기 위한 실시예 1 ~ 15는 WO 2017/078839에 기술되어 있다.

[0261] **실시예 16: CD3 및 Axl과 결합하는 다중 특이적 항체**

[0262] 2개의 다중 특이적 항체를 구성하였다. 다중 특이적 항체 하나는 Axl에 대한 비조건부 활성 결합 부위(IgG 항체)(WT-Axl)와 쌍을 형성한, CD3에 대한 비조건부 활성 결합 부위(scFv 항체)(WT-CD3)를 사용하여, 나비 입체구조의 WT-CD3-WT-Axl를 제조하였다(도 2 및 도 3a ~ 도 3c). 이와 유사하게 제2 다중 특이적 항체는 Axl에 대한 조건부 활성 결합 부위(IgG 항체)(CAB-Axl)와 쌍을 형성한, CD3에 대한 비조건부 활성 결합 부위(scFv 항체)(WT-CD3)를 사용하여, 나비 입체구조의 WT-CD3-CAB-Axl를 제조하였다(도 2 및 도 3a ~ 도 3c).

[0263] 상기 다중 특이적 항체 2개를, pH 6.0 및 pH 7.4에서 CD3 및 Axl 각각과의 자체의 친화성에 대해 ELISA 검정법을 이용하여 검정하였다(도 3b 및 도 3c). 본원의 ELISA 검정법은 이하 프로토콜을 적용하였다:

[0264] 1. ELISA 하루 전, 96웰 평판을 ELISA 코팅 완충제중에서 밤새도록 4℃에서 0.5 μg/ml 재조합 CD3 또는 Axl 100 μl로 코팅하였다.

[0265] 2. 시료를 ELISA 검정 완충제중에 희석하였다.

[0266] 3. 항원으로 코팅한 평판으로부터 완충제를 털어낸 후, 종이 타월로 찍어가면서 건조하였다.

[0267] 4. 실온에서 1시간 동안 ELISA 검정 완충제 200μl로 평판을 차단하였다.

[0268] 5. 희석한 시료 100 μl를 각각의 웰에 첨가하였다.

[0269] 6. 평판을 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다.

[0270] 7. 평판의 레이아웃에 따라서 2차 항체를 스크리닝 완충제중에 제조하였다.

[0271] 8. 완충제를 평판에서 털어낸 다음, 종이 타월로 찍어가면서 건조하였다.

[0272] 9. 평판을 ELISA 세척 완충제로 총 3회 세척하였다.

[0273] 10. ELISA 검정 완충제중에 희석한 대응 2차 항체 100 μl를 웰에 첨가하였다:

[0274] - 재조합 CD3으로 코팅한 웰에는 항 인간 HRP 2차 항체를 첨가하였다.

[0275] - Axl로 코팅한 웰에는 재조합 CD3을 첨가한 다음, 항 His 항체와 항 마우스 HRP 2차 항체로 검출하였다.

[0276] 12. 평판을 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다.

[0277] 13. 완충제를 평판에서 털어낸 다음, 종이 타월로 찍어가면서 건조하였다.

[0278] 14. 평판을 ELISA 세척 완충제로 총 3회 세척하였다.

[0279] 15. 완충제를 평판에서 털어낸 다음, 종이 타월로 찍어가면서 건조하였다.

[0280] 16. 평판의 레이아웃에 따라서 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB) 기질 50 μl를 첨가하였다.

[0281] 17. 1N HCl 50 μl로 전개를 중단하였다.

[0282] 18. 평판 판독기를 사용하여 OD450 nm에서 판독하였다.

[0283] 음성 대조군(CD3의 야생형 IgG 항체, Axl의 야생형 IgG 항체, 그리고 이소타입 대조 음성 대조군)은, 상이한 2가지 pH, 즉 pH 6.0 및 pH 7.4에서 CD3에 대한 자체의 친화성에 유의미한 차이를 보이지 않았다(도 3b). 이와 유사하게, 음성 대조군은 상이한 2가지 pH, 즉 pH 6.0 및 pH 7.4에서 Axl에 대한 자체의 친화성에 유의미한 차이를 보이지 않았다(도 3c).

[0284] 2개의 다중 특이적 항체에 있어서, WT-CD3-WT-Axl도 WT-CD3-CAB-Axl도 상이한 2가지 pH, 즉 pH 6.0 및 pH 7.4에서 CD3에 대한 자체의 친화성에 유의미한 차이를 보였는데, 그 이유는 이것들의 CD3 결합 부위들은 조건부 활성이 아니었기 때문이다(도 3b). 뿐 아니라, WT-CD3-WT-Axl은 상이한 2가지 pH, 즉 pH 6.0 및 pH 7.4에서 Axl에 대한 자체의 친화성에 유의미한 차이를 보이지 않았는데, 그 이유는 이것들의 Axl 결합 부위들은 조건부 활성이 아니었기 때문이다(도 3c). 그러나 WT-CD3-CAB-Axl은 pH 7.4에서의 Axl에 대한 친화성에 비해 유의미하게

증가한, Ax1에 대한 친화성을 pH 6.0에서 보였는데(도 3c), 이는 Ax1에 대한 조건부 활성 결합 부위가 본 다중 특이적 항체에 포함되었기 때문이다.

[0285] **실시예 17: CD3 및 Ax1과 결합하는 다중 특이적 항체**

[0286] 이 실시예에서는, CD3 및 Ax1과 결합하는 추가의 다중 특이적 항체를 구성하였다. 실시예 16에 기술된 바와 같이 다중 특이적 항체를 제조하여, 이를 실시예 16에서와 동일한 방식으로 명명하였다:

[0287] Ax1-WT x CD3-CAB1: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, Ax1에 대한 비 조건부 활성 결합 부위;

[0288] Ax1-WT x CD3-CAB3: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, Ax1에 대한 비 조건부 활성 결합 부위;

[0289] Ax1-WT x CD3-CAB4: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, Ax1에 대한 비 조건부 활성 결합 부위;

[0290] Ax1-WT x CD3-WT: CD3에 대한 비 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, Ax1에 대한 비 조건부 활성 결합 부위;

[0291] Ax1-CAB x CD3-CAB1: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, Ax1에 대한 조건부 활성 결합 부위;

[0292] Ax1-CAB x CD3-CAB3: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, Ax1에 대한 비 조건부 활성 결합 부위; 및

[0293] Ax1-CAB x CD3-CAB4: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, Ax1에 대한 비 조건부 활성 결합 부위.

[0294] 상기 다중 특이적 항체들을 대상으로 ELISA 검정을 통해 pH 6.0 및 pH 7.4에서 이 항체들(CD3 부동화)의 CD3에 대한 친화성을 검정하였다(도 4a). 다중 특이적 항체가 CD3에 대한 결합 부위를 가지는 조건부 활성 가변 영역을 포함하였을 때, 이 항체는 pH 7.4에서의 CD3에 대한 친화성에 비해 증가한, CD3에 대한 친화성을 pH 6.0에서 보였음이 관찰되었다. 2개의 음성 대조군은 CD3과 결합하지 않는 이소타입 대조 항체와, 항체가 첨가되지 않은 완충제였다.

[0295] 다중 특이적 항체들중 몇몇을 대상으로 이 항체들(Ax1 부동화)이 CD3과 결합하는지에 대해 검정하였다. CD3 항체의 조건부 활성 가변 영역을 포함하였던 다중 특이적 항체는 pH 7.4에서의 CD3에 대한 친화성에 비해 증가한, CD3에 대한 친화성을 pH 6.0에서 보였다(도 4b).

[0296] **실시예 18: CD3 및 Her2와 결합하는 다중 특이적 항체**

[0297] 이 실시예에서는, CD3 및 Her2와 결합하는 다중 특이적 항체를 구성하였다. 실시예 16에 기술된 바와 같이 다중 특이적 항체를 제조하여, 이를 실시예 16에서와 동일한 방식으로 명명하였다:

[0298] Her2-WT x CD3-CAB1: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, Her2에 대한 비 조건부 활성 결합 부위;

[0299] Her2-WT x CD3-CAB3: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, Her2에 대한 비 조건부 활성 결합 부위;

[0300] Her2-WT x CD3-CAB4: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, Her2에 대한 비 조건부 활성 결합 부위; 및

[0301] Her2-WT x CD3-WT: CD3에 대한 비 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, Her2에 대한 비 조건부 활성 결합 부위.

[0302] 상기 다중 특이적 항체들을 대상으로 ELISA 검정으로 pH 6.0 및 pH 7.4에서 이 항체들(CD3 부동화)의 CD3에 대한 친화성을 검정하였다. 2개의 음성 대조군은 CD3과 결합하지 않는 항체(B12 및 NC)였다. 다중 특이적 항체가 CD3 항체의 조건부 활성 가변 영역을 포함하였을 경우, 이 항체는 pH 7.4에서의 CD3에 대한 친화성에 비해 증가한, CD3에 대한 친화성을 pH 6.0에서 보였음이 관찰되었다(도 5a).

[0303] 뿐 아니라, 다중 특이적 항체를 대상으로 검정을 통해 이 항체들(Her2 부동화)이 CD3과 결합하는지에 대해 검정하였다. CD3 항체의 조건부 활성 가변 영역을 포함하였던 다중 특이적 항체는 pH 7.4에서의 CD3에 대한 친화성에 비해 증가한 CD3에 대한 친화성을 pH 6.0에서 보였다(도 5b).

[0304] **실시예 19: CD3 및 B7-H3과 결합하는 다중 특이적 항체**

[0305] 이 실시예에서는, CD3 및 B7-H3과 결합하는 다중 특이적 항체를 구성하였다. 실시예 16에 기술된 바와 같이 다중 특이적 항체를 제조하여, 실시예 16에서와 동일한 방식으로 명명하였다:

[0306] B7-H3-WT x CD3-WT: CD3에 대한 비 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, B7-H3에 대한 비 조건부 활성 결합 부위;

[0307] B7-H3-WT x CD3-CAB3: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, B7-H3에 대한 비 조건부 활성 결합 부위;

[0308] B7-H3-WT x CD3-CAB4: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, B7-H3에 대한 비 조건부 활성 결합 부위;

[0309] B7-H3-CAB1 x CD3-CAB4: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, B7-H3에 대한 조건부 활성 결합 부위; 및

[0310] B7-H3-CAB2 x CD3-CAB4: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, B7-H3에 대한 조건부 활성 결합 부위.

[0311] 상기 다중 특이적 항체들을 대상으로 ELISA 검정을 통해 pH 6.0 및 pH 7.4에서 이 항체들(CD3 부동화)의 CD3에 대한 친화성을 검정하였다. 2개의 음성 대조군은 CD3과 결합하지 않는 이소타입 대조 항체와, 항체가 첨가되지 않은 완충제였다. 다중 특이적 항체가 CD3 항체의 조건부 활성 가변 영역을 포함하였을 경우, 이 항체는 pH 7.4에서의 CD3에 대한 친화성에 비해 증가한, CD3에 대한 친화성을 pH 6.0에서 보였음이 관찰되었다(도 6).

[0312] **실시예 20: CD3 및 Axl과 결합하는 다중 특이적 항체의 기능 검정**

[0313] 이 실시예에서는, 2개의 다중 특이적 항체를 대상으로 종양 반응성 림프구, Jurkat 세포를 자극함에 있어 이 항체들의 기능을 검정하였다(도 7). 본 검정법에서는 IL-2 프로모터 또는 NFAT 조절 요소(RE)에 의해 구동되어 루시퍼라아제를 발현하였던 구조체를 가지는 조작 Jurkat 세포를 사용하였다. 일단 다중 특이적 항체가 종양 세포상 Axl과 Jurkat 세포상 CD3에 결합하면, 이 Jurkat 세포내 루시퍼라아제 구조체는 활성화되었으며, 루시퍼라아제가 발현되었다. 그 다음 루시퍼라아제의 양을 측정하였다. 이 실시예에서는, Axl을 발현하도록 조작된 표적 CHO 세포가 종양 세포를 대신하였다. 루시퍼러아제의 측정량은, 조작된 표적 CHO 세포와 다중 특이적 항체가 결합한 후 이 항체에 의한 Jurkat 세포의 자극 수준을 보여준다.

[0314] 기능 검정(Promega CD3-Assay)은 이하 프로토콜을 적용하였다:

[0315] 1. 표적 세포를 웰에 첨가하고 나서(배지 100 μL당 5000개 세포, Costar #3917 96-웰 백색 평판), 37℃에서 밤새도록 항온처리하였다.

[0316] 2. 웰로부터 배지를 제거하였다.

[0317] 3. 웰당 pH 10%(평판 레이아웃에 따른 최종 농도) RPMI 배지중 2X Ab 희석액 25 μL를 첨가하였다.

[0318] 4. 웰당 NFAT-Luc2P Jurkat 세포 25 μL를 첨가하였다(1.2 mL 동결 세포 → 6 mL pH 10% RPMI).

[0319] 5. 37℃에서 5시간 동안 항온처리하였다.

[0320] 6. RT에서 5분 동안 웰당 Bio-Glo 50 μL를 첨가하였다.

[0321] 7. Promega Bio-Glo 프로그램으로 발광도를 측정하였다.

[0322] 도 8a에서, 검정한 다중 특이적 항체는 실시예 17의 Axl-WT x CD3-WT였다. 루시퍼라아제 측정량(상대적 루시퍼라아제 유닛, RLU)은, 표적 세포에서의 루시퍼라아제 측정량이 증가하였던 것처럼, pH 6.0 및 pH 7.4 두 경우 다 유사하게 증가하였던 것으로 보아, 다중 특이적 항체는 이 두 가지 pH에서 유사한 Jurkat 세포 자극 수준을 제공하는 것으로 보였다(CHO-Axl 세포 농도는 X축에 보임). 그러므로 다중 특이적 항체는 pH 6.0 및 pH 7.4에서 조건부 활성이 아니었다.

[0323] 도 8b에서, 다중 특이적 항체 Axl-WT x CD3-CAB1은 pH 7.4에서의 자극량에 비해 유의미하게 증가한 Jurkat 세포 자극을 pH 6.0에서 제공하는 것으로 보였다. 따라서 자극된 Jurkat 세포에 의해 생성되었던 루시퍼라아제의 양이, 자극된 Jurkat 세포에 의해 생성되었던 루시퍼라아제의 pH 7.4에서의 양에 비해, pH 6.0에서 유의미하게 증가한 것으로 보아, 이 다중 특이적 항체는 Jurkat 세포 자극에 있어 조건부 활성이었다.

[0324] CHO-Axl 세포의 상이한 농도들에 따라 pH 6.0및 pH 7.4에서 측정된 루시퍼라아제 양을 표4에 보였다.

표 4

기능 검정법에서 루시퍼라아제의 발현

CHO-Axl 농도 (ng/mL)	루시퍼라아제의 양, pH 6.0				루시퍼라아제의 양, pH 7.4			
10000.0	100080	102225	28988	29976	135273	139153	10497	10081
1000.0	90351	96185	38522	38864	112604	112090	9292	8616
100.0	77191	83231	35502	32522	94102	99220	7183	6999
10.00	44948	46733	6187	5118	51811	57094	3057	2660
1.000	10721	10023	1220	1088	17742	18418	2605	2429
0.1000	2311	1999	1036	999	3928	3972	2212	2436
0.01000	1227	1334	941	988	2274	2348	2351	2451
0.00000	893	937	944	922	2282	2164	2186	2252
다중특이적 항체	AXL-WT x CD3-WT		AXL-WT x CD3-CAB1		AXL-WT x CD3-WT		AXL-WT x CD3-CAB1	

[0325]

[0326] 이 실시예에서, 음성 대조군은 Axl을 발현하지 않는 CHO 세포(즉 비 표적 세포)였다. 비 표적 세포가 존재할 때 다중 특이적 항체는 Jurkat 세포를 활성화하지 않았음(도 8a 및 도 8b)은, Jurkat 세포의 활성화가 표적 세포의 존재여부에 의존적이었음을 보여준다.

[0327] **실시예 21: CD3 및 EpCAM과 결합하는 다중 특이적 항체**

[0328] 이 실시예에서는, CD3 및 EpCAM과 결합하는 다중 특이적 항체를 구성하였다. 실시예 16에 기술된 바와 같이 다중 특이적 항체를 제조하여, 실시예 16에서와 동일한 방식으로 명명하였다:

[0329] EpCAM-WT x CD3-BF1: CD3에 대한 비 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, EpCAM에 대한 비 조건부 활성 결합 부위(BAP150-07-BF1);

[0330] EpCAM-WT x CD3-BF3: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, EpCAM에 대한 비 조건부 활성 결합 부위(BAP150-07-BF3);

[0331] EpCAM-WT x CD3-BF5: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, EpCAM에 대한 비 조건부 활성 결합 부위(BAP150-07-BF5);

[0332] EpCAM-WT x CD3-BF11: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, EpCAM에 대한 비 조건부 활성 결합 부위(BAP150-07-BF11);

[0333] EpCAM-WT x CD3-BF36: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, EpCAM에 대한 비 조건부 활성 결합 부위(BAP150-07-BF36);

[0334] EpCAM-WT x CD3-BF37: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, EpCAM에 대한 비 조건부 활성 결합 부위(BAP150-07-BF37);

[0335] EpCAM-WT x CD3-BF38: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, EpCAM에 대한 비 조건부 활성 결합 부위(BAP150-07-BF38);

[0336] EpCAM-WT x CD3-BF39: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, EpCAM에 대한 비 조건부 활성 결합 부위(BAP150-07-BF39);

[0337] EpCAM-WT x CD3-BF40: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, EpCAM에 대한 비 조건부 활성 결합 부위(BAP150-07-BF40); 및

[0338] EpCAM-WT x CD3-BF41: CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위와 쌍을 형성한, EpCAM에 대한 비 조건부 활성 결합 부위(BAP150-07-BF41).

[0339] 각각의 다중 특이적 항체의 EpCAM-WT부는 동일하였고, 항 EpCAM 중쇄 가변 영역(서열 번호 85)과, 항 EpCAM 경쇄 가변 영역(서열 번호 93)을 포함하는 전장 경쇄를 가졌다. 전장 경쇄의 C 말단은 CD3에 대한 결합 부위에 연결하였다. CD3에 대한 결합 부위들 가운데, CD3-BF1(서열 번호 26)은 비 조건부 활성 단일 사슬 항 CD3 항체였던 반면에, CD3-BF3(서열 번호 28), CD3-BF5(서열 번호 30), CD3-BF11(서열 번호 36), CD3-BF36(서열 번호

61), CD3-BF37(서열 번호 62), CD3-BF38(서열 번호 63), CD3-BF39(서열 번호 64), CD3-BF40(서열 번호 65) 및 CD3-BF41(서열 번호 66)은 조건부 활성 단일 사슬 항 CD3 항체였다.

[0340] 상기 다중 특이적 항체를 대상으로, pH 값 6.0 내지 7.4에 이르기까지에서의 CD3에 대한 이 항체들(CD3 부동화)의 친화성에 대해 ELISA 검정에서 검정하였다(도 9). 다중 특이적 항체가 조건부 활성 항 CD3 단일 사슬 항체를 포함하였을 때, 이 항체는 pH 7.4에서의 CD3에 대한 친화성에 비해 증가한, CD3에 대한 친화성을 pH 6.0에서 보였다. CD3에 대한 결합 부위가 조건부 활성이 아닌 음성 대조군(BAP150-07-BF1)은 pH 범위 6.0 내지 7.4에서 pH에 의존적이지 않은, CD3에 대한 결합 친화성을 가졌다.

[0341] **실시예 22: 종양 치료를 위한, CD3 및 EpCAM에 대한 다중 특이적 항체**

[0342] EpCAM에 대한 비 조건부 활성 결합 부위와, CD3에 대한 조건부 활성 결합 부위를 포함하는 다중 특이적 항체(EpCAM x CAB-CD3)를 사용하여 종양 이종이식편 마우스 모델(MiXeno 마우스 모델(제조사: Crown Bioscience(San Diego, CA)))에 처리하였다. 구체적으로 결장 암세포주인 HCT116 세포(EpCAM 양성)를, 인간 말초 혈액 단백 세포가 이식된 면역결핍 마우스 3 마리에 이식하여, 마우스 모델에서 종양을 유도하였다. 종양 부피가 대략 150 mm^3에 이르렀을 때, 종양 보유 동물을 4개의 처리군으로 무작위로 나누었다. 4개의 처리군을 각각 비이클(음성 대조군; 제1군), 비 CAB-CD3 벤치마킹 항체(양성 대조군; 제2군), 다중 특이적 항체 EpCAM x CAB-CD3(제3군) 또는 이소타입 매칭 항체(음성 대조군; 제4군)으로 처리하였다. 항체를 2주마다 2.5 mg/kg의 용량으로 총 4주 동안 투여하였다. 비 CAB-CD3 벤치마킹 항체는 EpCAM에 대한 비 조건부 활성 결합 부위와, CD3에 대한 비 조건부 활성 결합 부위를 포함하였다.

[0343] 다중 특이적 항체 EpCAM x CAB-CD3은, 이종이식편 마우스 모델에서 종양의 완전 퇴행을 유도함에 양성 대조군 비 CAB-CD3 벤치마킹 항체로 유효하였던 반면에, 2개의 음성 대조군은, 이들 음성 대조군 처리 마우스에서 종양의 크기가 계속해서 증가하였던 것으로 보아 종양의 퇴행을 유도하는데 실패하였다. 도 10을 참조한다.

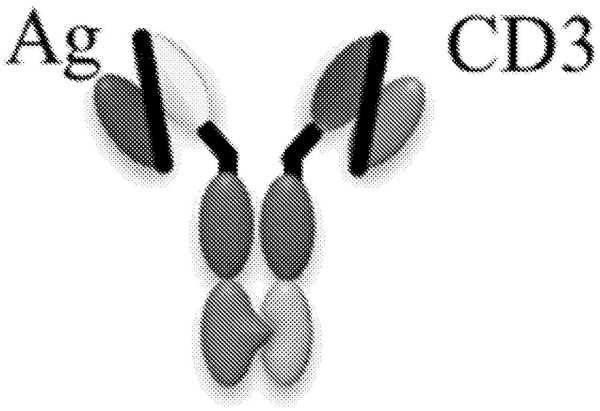
[0344] 항 CD3 항체는 말초혈행계에서 T 세포 활성화(Meso Scale Discovery(MSD) 검정을 통하여 혈청중 INF-γ 수준에 의해 측정될 수 있음)를 일으키는 부작용이 있었다. 다중 특이적 항체 EpCAM x CAB-CD3은 양성 대조군 비 CAB-CD3 벤치마킹 항체에 비하여, 유의미하게 감소한 T 세포 활성화를 달성하였다. 도 11을 참조한다. 그러므로 다중 특이적 항체 EpCAM x CAB-CD3은 조건부 활성 항 CD3 항체 성분을 가졌기 때문에 유의미하게 감소한 부작용을 나타냈음과 아울러, 양성 대조군 CAB-CD3 벤치마킹 항체와 거의 동일한 치료 효과를 보였다.

[0345] 본원에 언급된 모든 문서는 그 전체가 참조로 본원에 포함되어 있는 것으로서, 적어도 문서가 참조용인 것으로 특별히 신뢰되거나 인용된 개시 내용을 제공하기 위해 포함된다. 출원인(들)은 개시된 임의의 구현예를 대중에게 헌사하고자 하는 의도는 없으며, 개시된 임의의 수정 또는 변경은, 문자 그대로 청구 범위에 포함될 수 없는 한, 균등의 원칙에 따라 본원의 일부로서 간주된다.

[0346] 그러나 본 발명의 다수의 특징과 이점은 본 발명의 구조 및 기능에 관한 세부사항과 함께 상기 발명의 설명에 제시되었지만, 그 개시내용은 오로지 예시적인 것이고, 변경은 첨부된 특허청구의 범위가, 표현된 용어의 광범위한 일반적 의미에 의해 명시되는 전체 범위까지, 본 발명의 원리 내에서 구성부의 형상, 크기 및 배열 문제에서 세부적으로 변경이 이루어질 수 있음이 이해될 것이다.

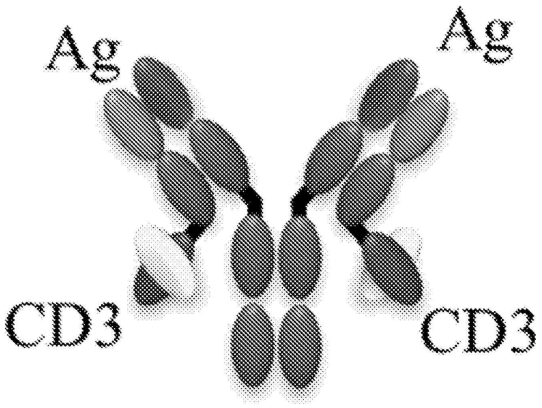
도면

도면1



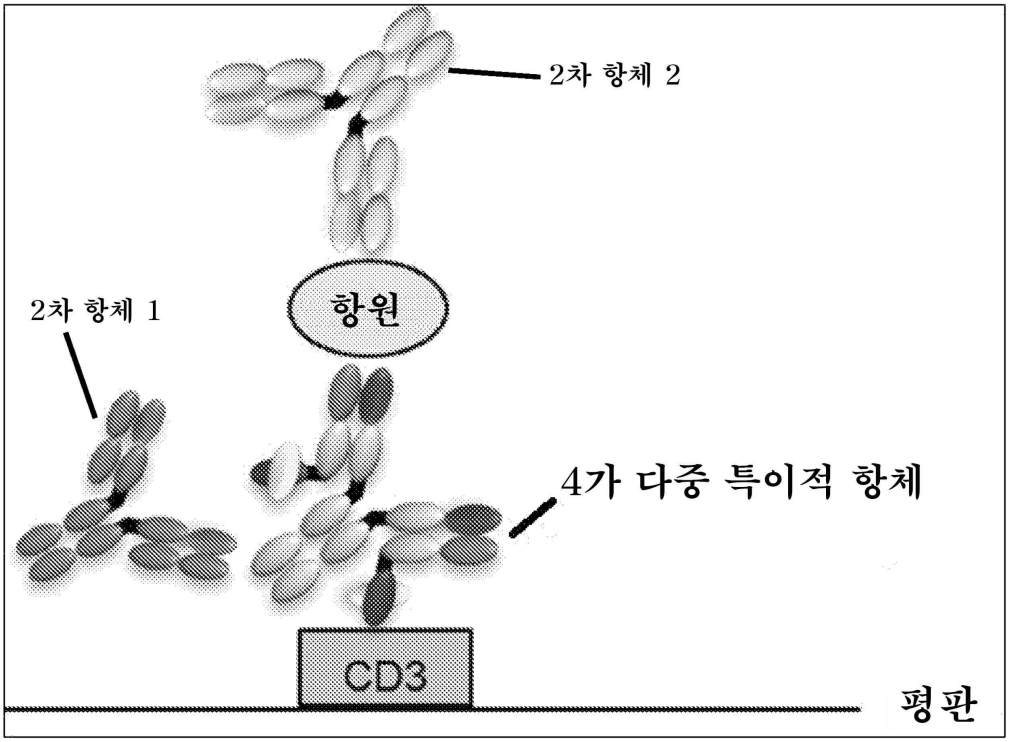
2가 이종이량체

도면2

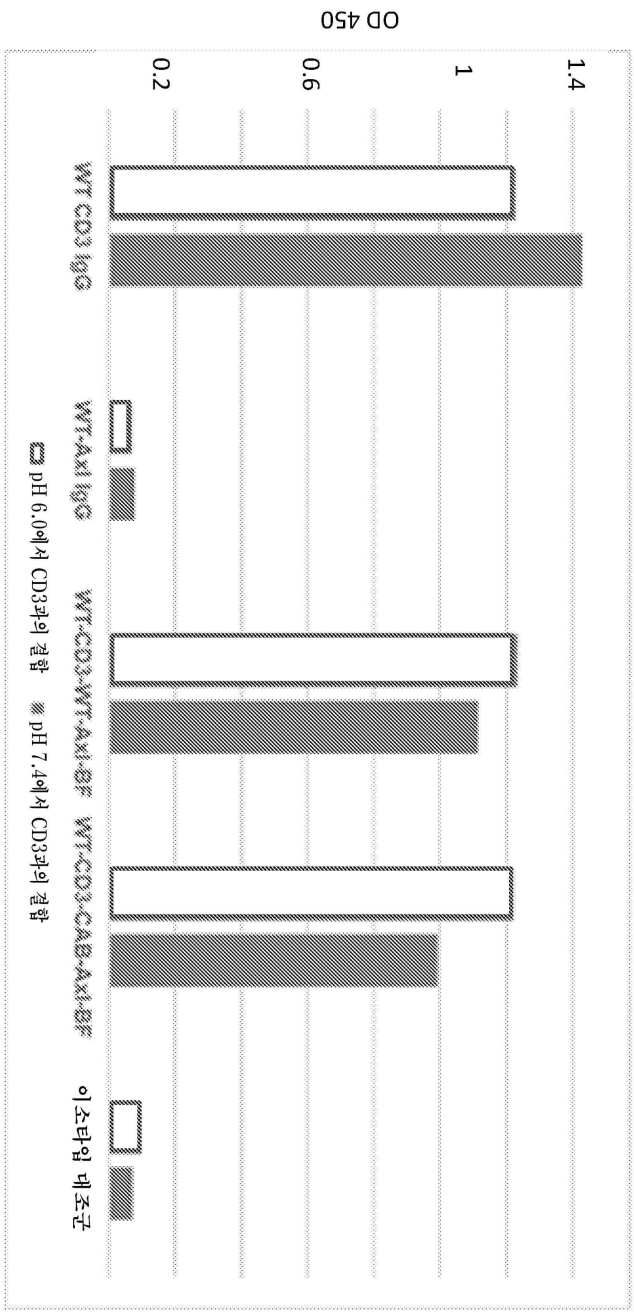


4가 동종이량체

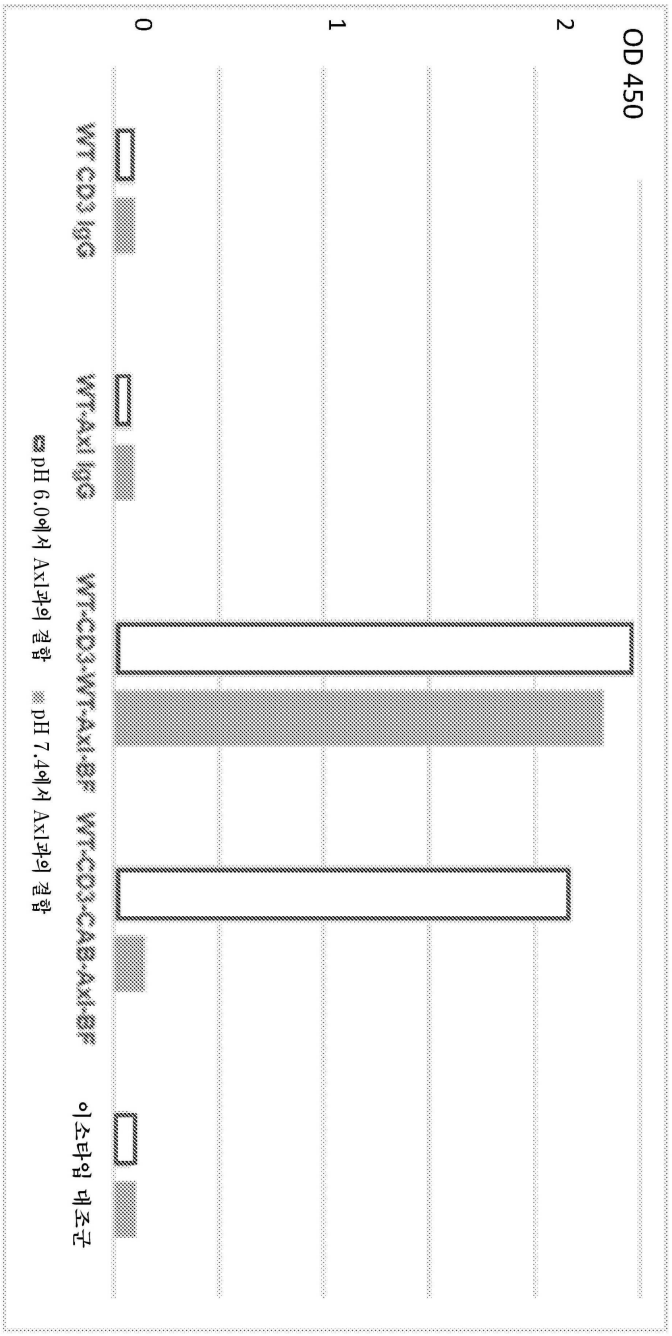
도면3a



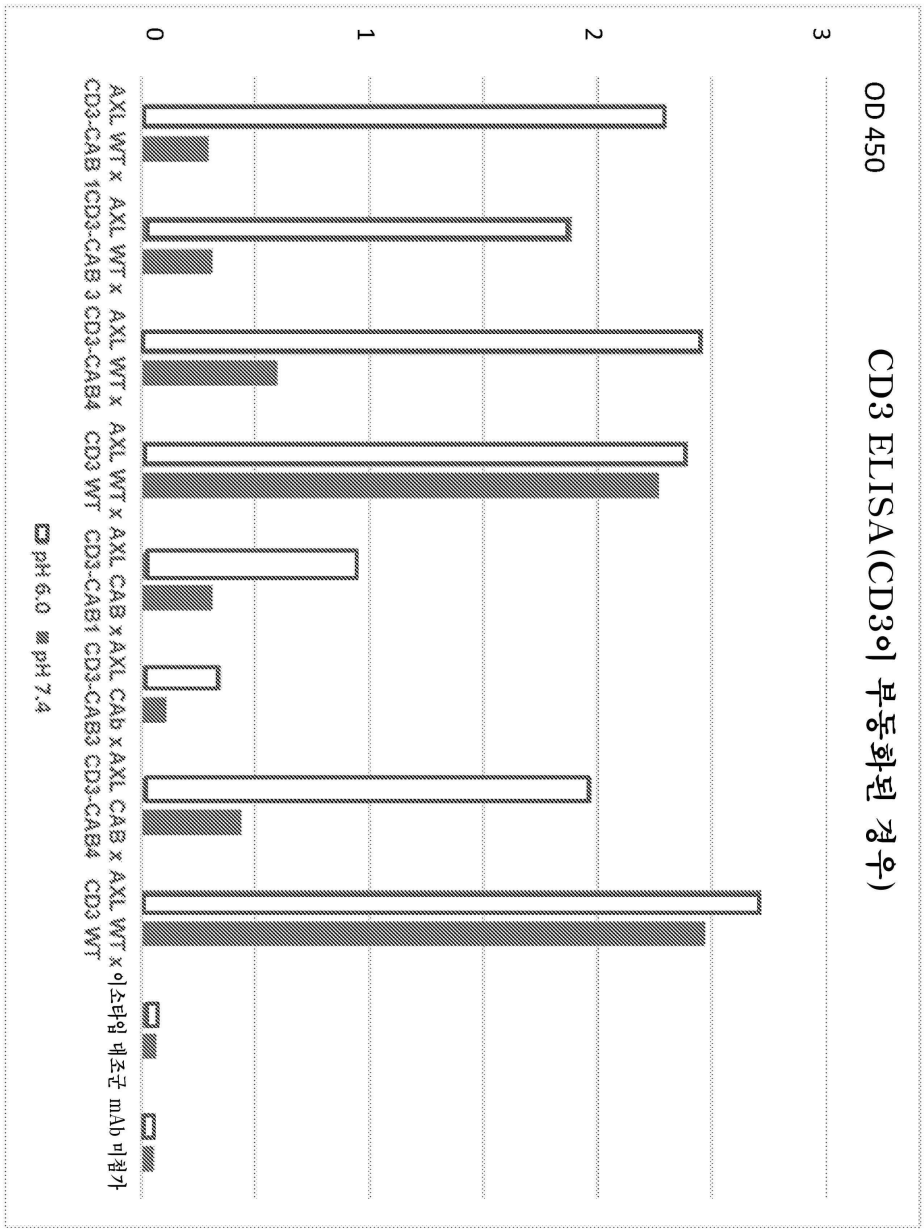
도면3b


OD 450
0.2
0.6
1
1.4
WT CD3 IgG
WT-Axl IgG
WT-CD3-WT-Axl-Bs
WT-CD3-CAB-Axl-Bs
이소타입 대조군
pH 6.0에서 CD3과의 결합
pH 7.4에서 CD3과의 결합

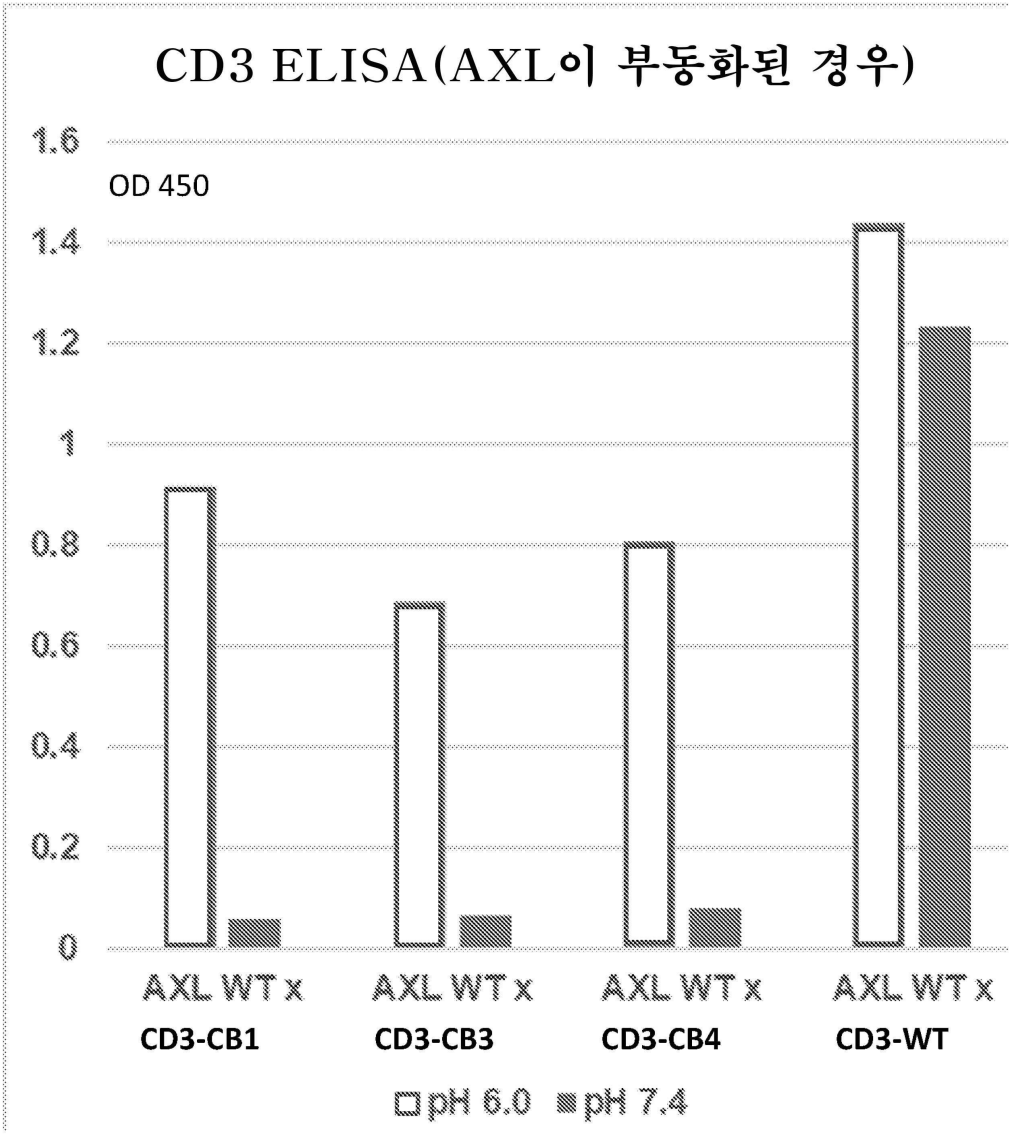
도면3c


OD 450
0
1
2
WT CD3 IgG
WT-Axl IgG
WT-CD3-WT-Axl-Bif
WT-CD3-CAB-Axl-Bif
이조타입 대조군
※ pH 6.0에서 Axl과의 결합
※ pH 7.4에서 Axl과의 결합

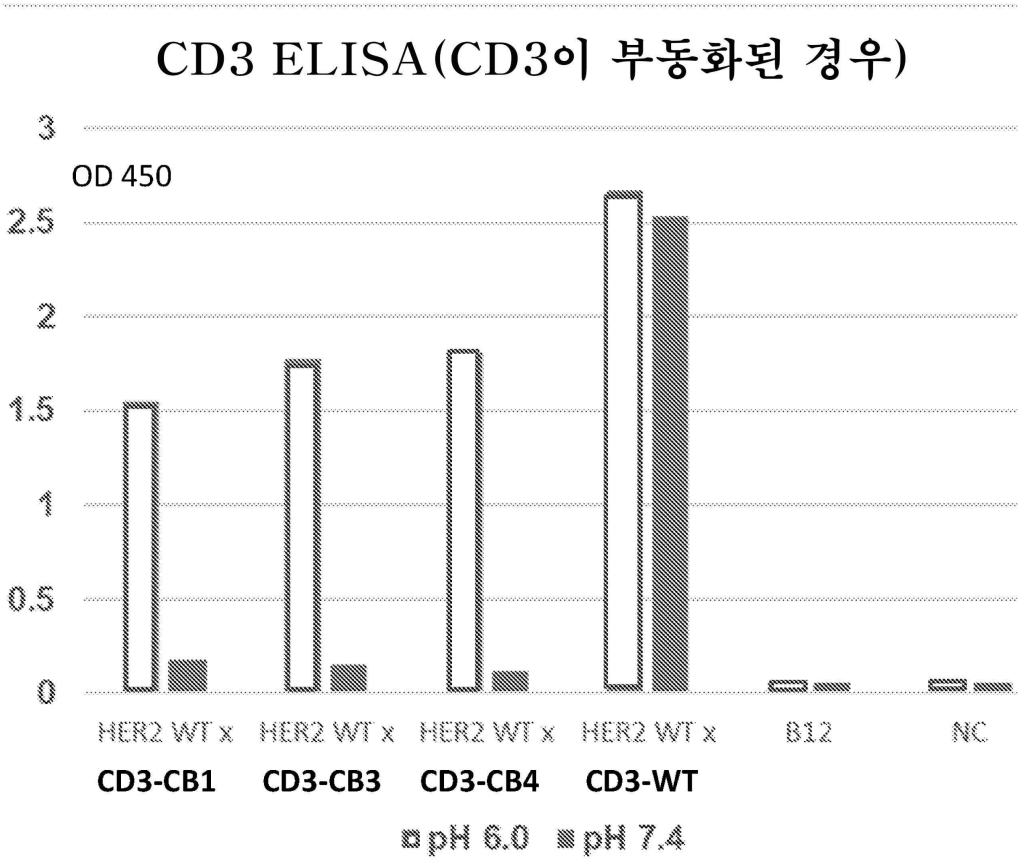
도면4a


CD3 ELISA(CD3이 부동화된 경우)
OD 450
0
1
2
3
AXL WT x CD3-CAB 1
AXL WT x CD3-CAB 3
AXL WT x CD3-CAB4
CD3 WT
AXL CAB x CD3-CAB1
AXL CAb x CD3-CAB3
AXL CAB x CD3-CAB4
AXL WT x CD3 WT
이소타입 대조군 mAb 미첨가
pH 6.0
pH 7.4

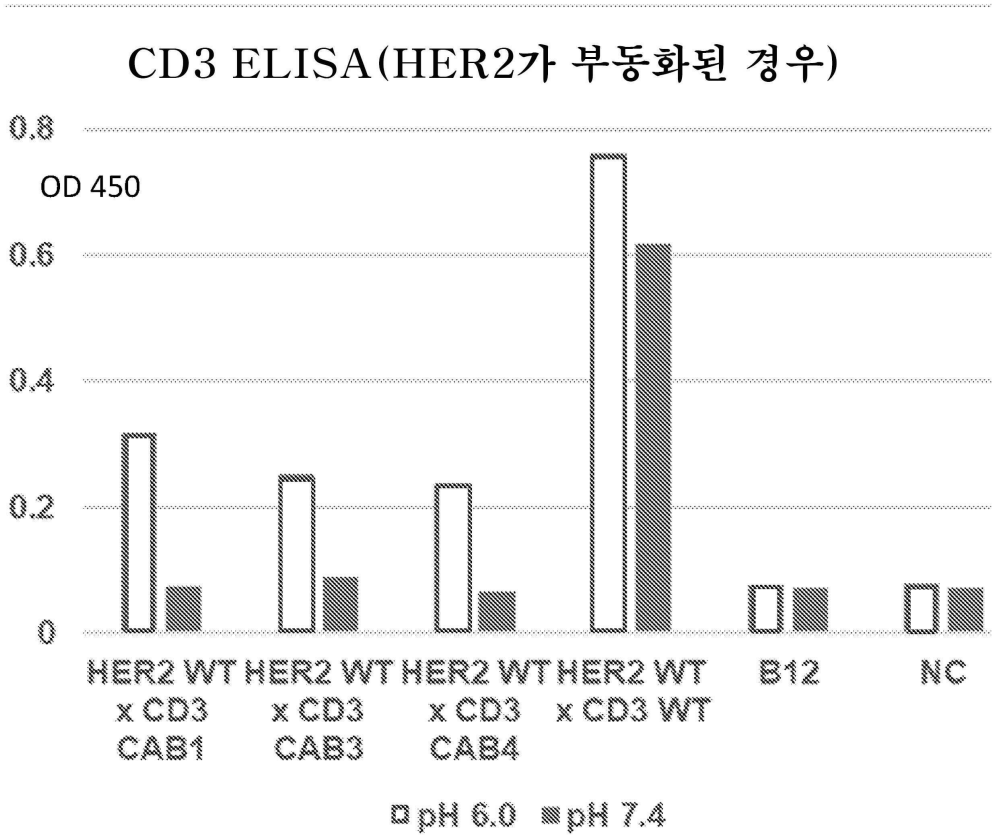
도면4b


CD3 ELISA(AXL이 부동화된 경우)
OD 450
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
AXL WT x CD3-CB1
AXL WT x CD3-CB3
AXL WT x CD3-CB4
AXL WT x CD3-WT
pH 6.0
pH 7.4

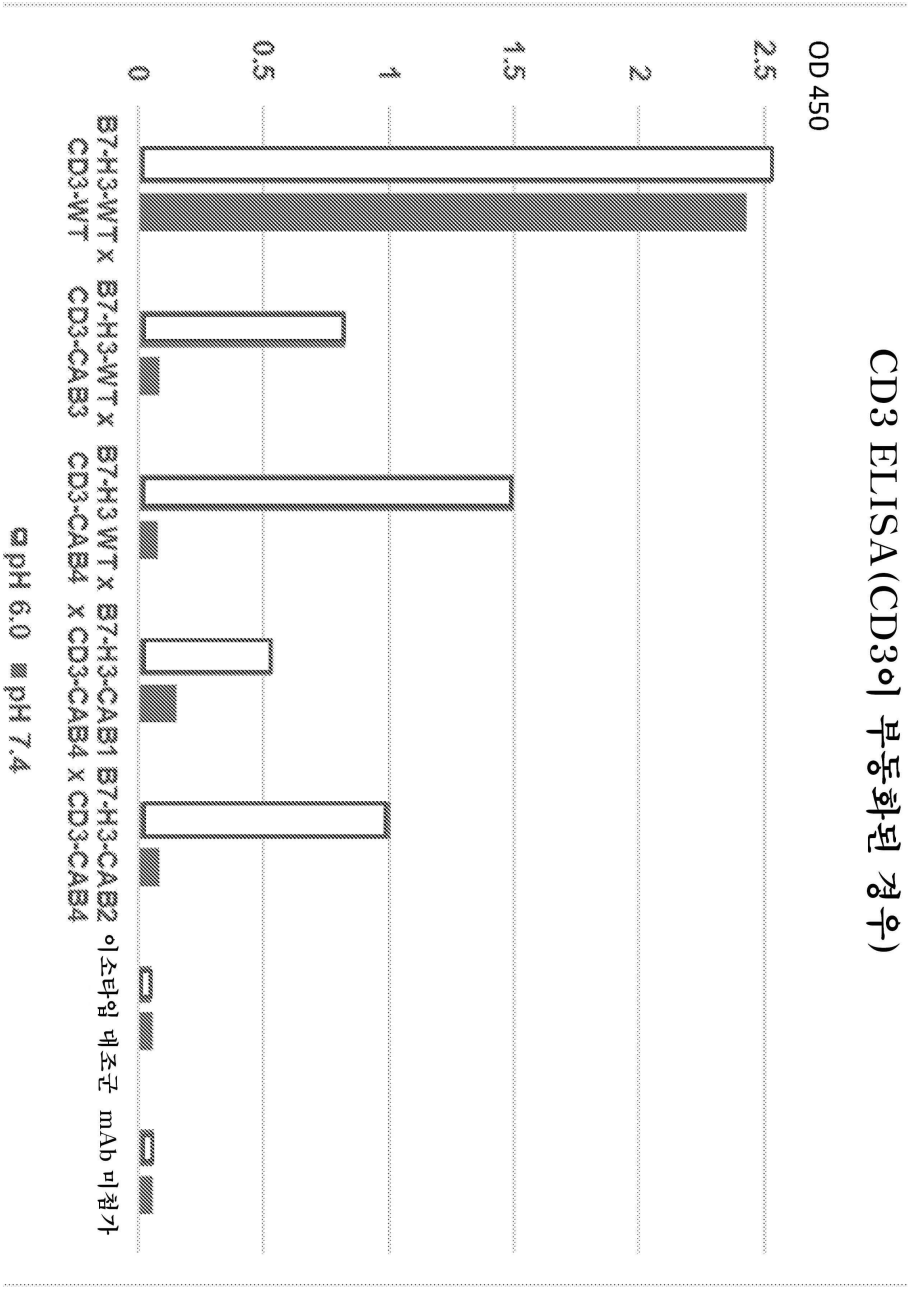
도면5a


CD3 ELISA(CD3이 부동화된 경우)
OD 450
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
HER2 WT x CD3-CB1
HER2 WT x CD3-CB3
HER2 WT x CD3-CB4
HER2 WT x CD3-WT
B12
NC
pH 6.0
pH 7.4

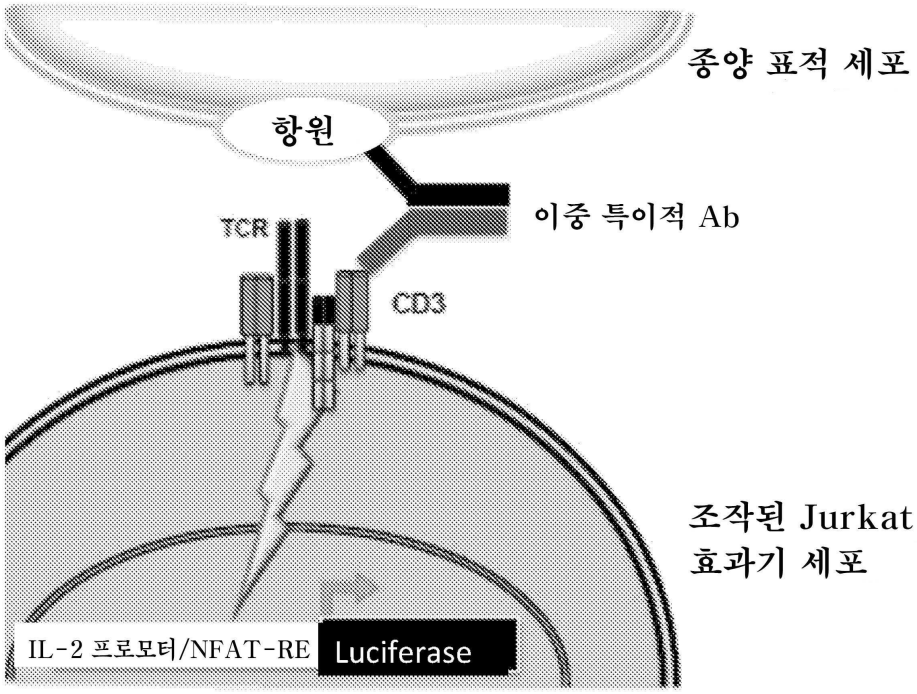
도면5b


CD3 ELISA(HER2가 부동화된 경우)
0.8
OD 450
0.6
0.4
0.2
0
HER2 WT x CD3 CAB1
HER2 WT x CD3 CAB3
HER2 WT x CD3 CAB4
HER2 WT x CD3 WT
B12
NC
pH 6.0
pH 7.4

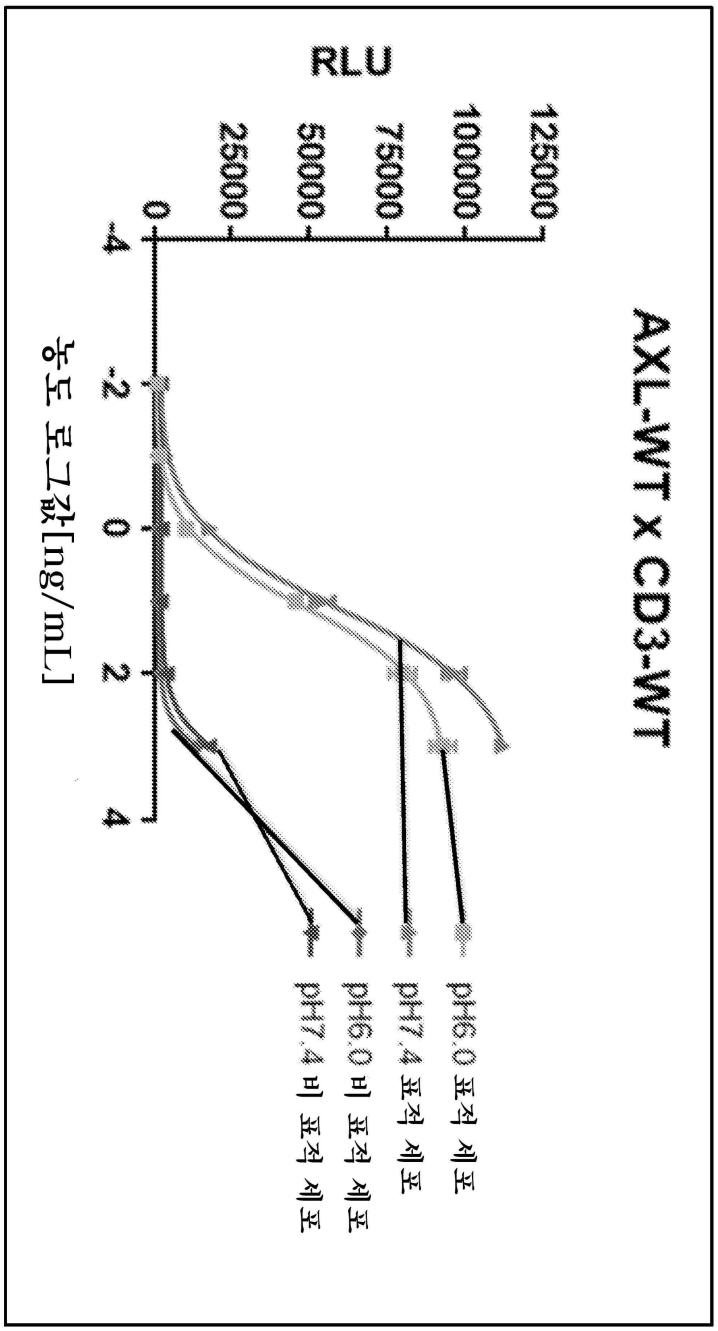
도면6


CD3 ELISA(CD3이 부동화된 경우)
OD 450
2.5
2
1.5
1
0.5
0
B7-H3-WT x CD3-WT
B7-H3-WT x CD3-CAB3
B7-H3 WT x CD3-CAB4
B7-H3-CAB1 x CD3-CAB4
B7-H3-CAB2 x CD3-CAB4
이소타입 대조군 mAb 미첨가
pH 6.0
pH 7.4

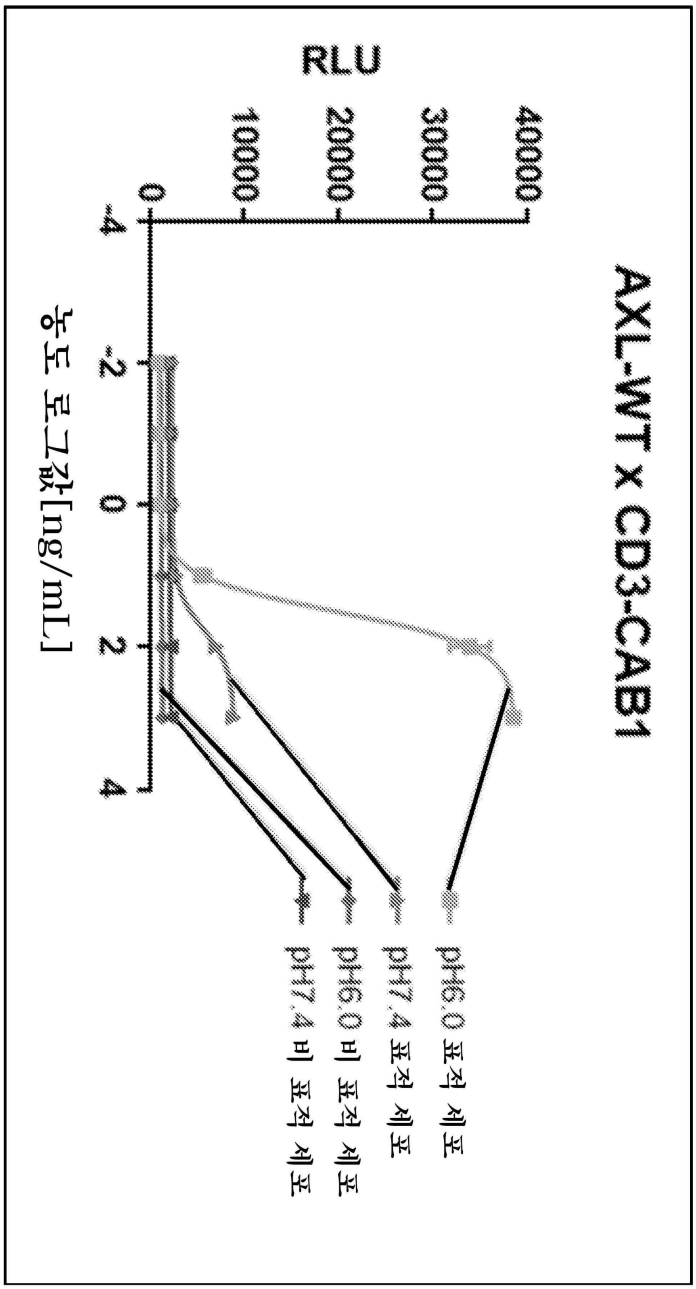
도면7


종양 표적 세포
항원
이중 특이적 Ab
TCR
CD3
조작된 Jurkat
효과기 세포
IL-2 프로모터/NFAT-RE
Luciferase

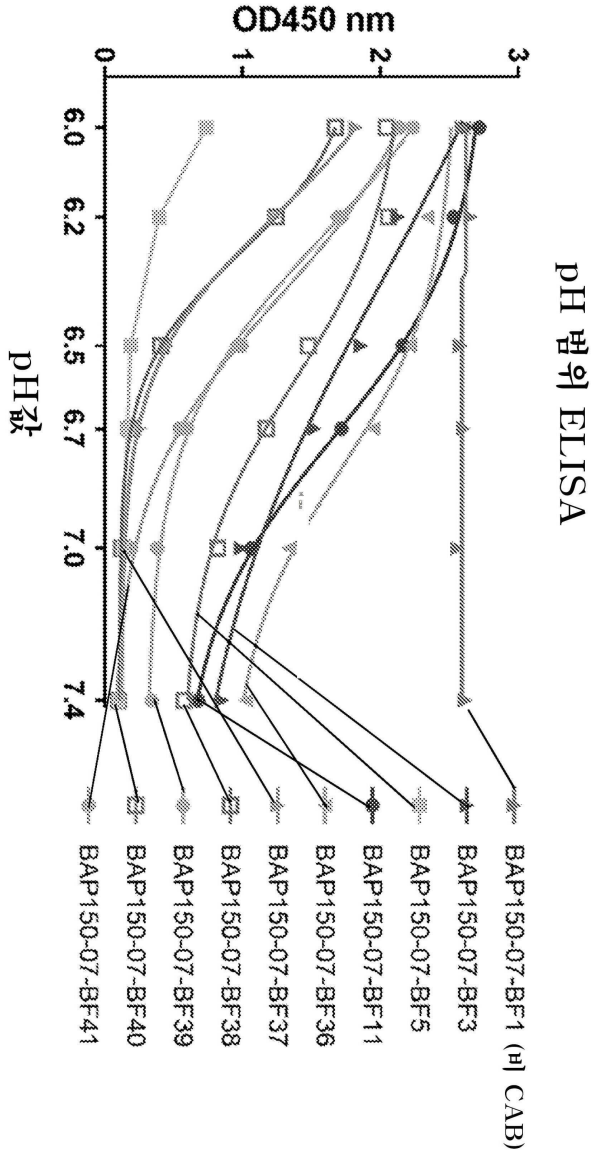
도면8a


AXL-WT x CD3-WT
RLU
125000
100000
75000
50000
25000
0
-4
-2
0
2
4
농도 로그값[ng/mL]
pH6.0 표적 세포
pH7.4 표적 세포
pH6.0 비 표적 세포
pH7.4 비 표적 세포

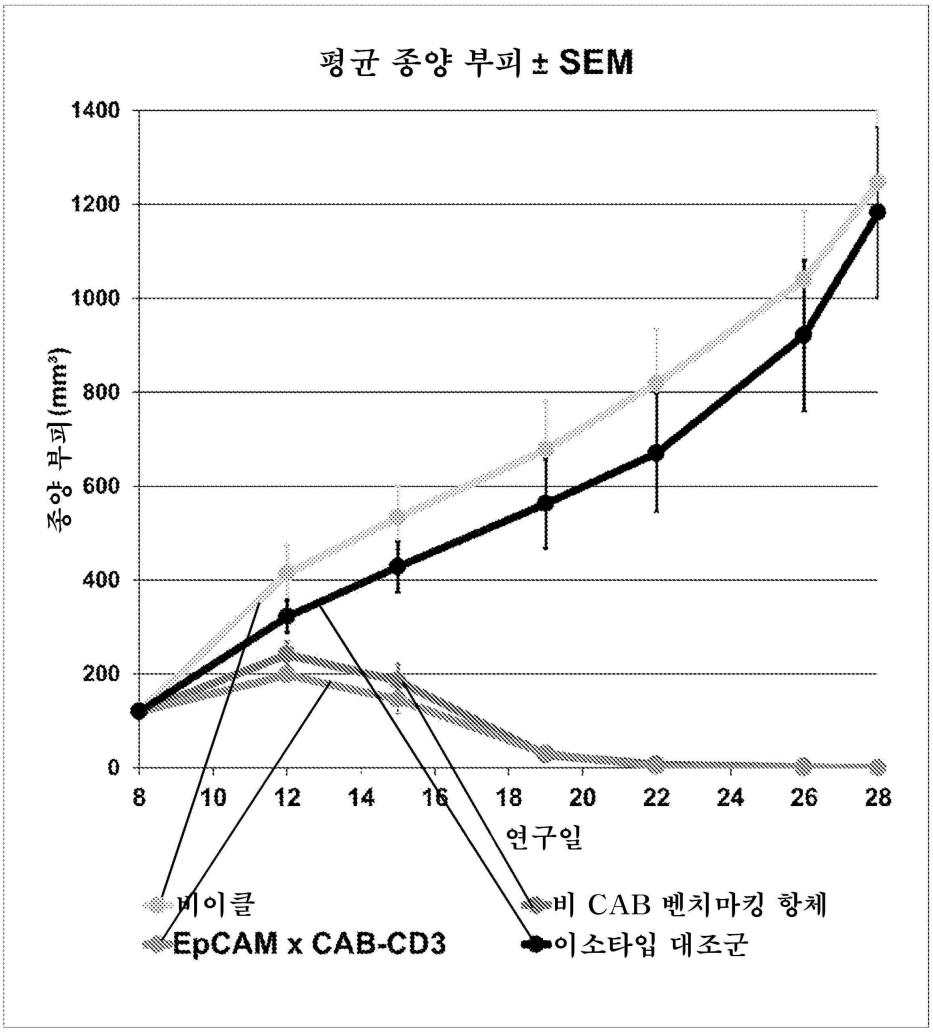
도면8b


AXL-WT x CD3-CAB1
RLU
40000
30000
20000
10000
0
-4
-2
0
2
4
농도 로그값[ng/mL]
pH6.0 표적 세포
pH7.4 표적 세포
pH6.0 비 표적 세포
pH7.4 비 표적 세포

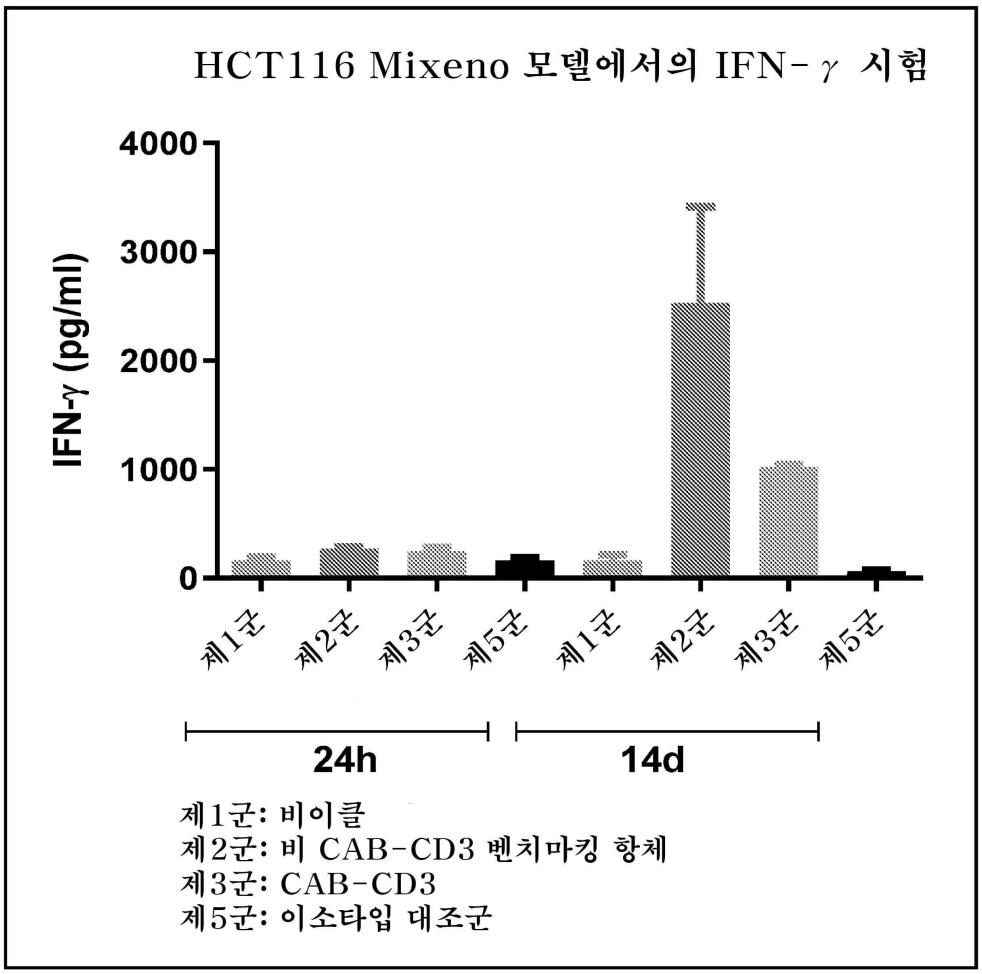
도면9


pH 범위 ELISA
OD450 nm
0
1
2
3
pH값
6.0
6.2
6.5
6.7
7.0
7.4
BAP150-07-BF1 (H) CAB)
BAP150-07-BF3
BAP150-07-BF5
BAP150-07-BF11
BAP150-07-BF36
BAP150-07-BF37
BAP150-07-BF38
BAP150-07-BF39
BAP150-07-BF40
BAP150-07-BF41

도면10


평균 종양 부피 ± SEM
종양 부피 (mm³)
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
연구일
바이클
EpCAM x CAB-CD3
비 CAB 벤치마킹 항체
이소타입 대조군

도면11



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> BioAtla LLC

<120> MULTI-SPECIFIC ANTIBODY CONSTRUCTS

<130> BIAT-1025

<160> 95

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 2

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 3

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 4

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 4

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 5

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223

> Synthetic sequence

<400> 5

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 6

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 6

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Thr Gly

100 105 110

<210> 7

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Gln Gly
100 105 110

<210> 8

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 8

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Asp Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 9

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 9

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

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

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 10
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic sequence
<400> 10
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly

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

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 11

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 11

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

<210> 12

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 12

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 Asn Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 13
<211> 125
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic sequence
<400> 13
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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 14
<211> 125
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic sequence
<400> 14

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

85 90 95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 15
<211> 125
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic sequence

<400> 15

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

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

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Glu His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 16

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 16

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 Ser Ala
20 25 30

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 17

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 17

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 Val Ser Ala

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Trp Gln Asp Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 18

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 18

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly His

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

85 90 95
Ala His Gly His Tyr Glu Ser Tyr Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 19
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic sequence
<400> 19
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Ser Phe Trp Gly Ala

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

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

85 90 95

Ala His Gly His Tyr Glu Ser Tyr Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 20

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 20

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> 21

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 21

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe 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> 22
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic sequence
<400> 22

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

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

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

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 23

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 23

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly His Asn Tyr Gly Met Asn
20 25 30

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

35 40 45

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

Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile
65 70 75 80

Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp
85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 24

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 24

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

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

100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 25
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic sequence
<400> 25
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly His Asn Tyr Gly Met Asn
20 25 30
Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met Gly Trp Ile

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

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

100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 26
<211> 248
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic sequence
<400> 26

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 Asn Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr
130 135 140
Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
145 150 155 160

Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 27

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 27

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 28

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 28

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 29

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 29

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Pro Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 30

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 30

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

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

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr
130 135 140

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
145 150 155 160

Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Asp Asn Trp
165 170 175

Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
180 185 190

Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 31

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 31

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 32

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 32

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 33

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 33

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val Phe Gly

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 34

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 34

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 35

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 35

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

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

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Pro Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr
130 135 140

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
145 150 155 160

Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Asp Asn Trp
165 170 175

Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
180 185 190

Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 36

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 36

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 37

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 37

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 38

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 38

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Pro Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 39

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 39

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Pro Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 40

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 40

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

Gln Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr
130 135 140

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
145 150 155 160

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

165 170 175

Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
180 185 190

Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 41

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 41

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Pro Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 42

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 42

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Pro Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 43

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 43

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 44

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 44

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Pro Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 45

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 45

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Pro Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

Gln Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr
130 135 140

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
145 150 155 160

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

165 170 175

Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
180 185 190

Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 46

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 46

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 47

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 47

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Pro Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 48

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 48

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 49

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 49

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 50

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 50

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Pro Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr
130 135 140

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
145 150 155 160

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

165 170 175

Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
180 185 190

Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 51

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 51

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 52

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 52

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 53

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 53

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Pro Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 54

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 54

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Pro Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 55

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 55

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

Gln Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr
130 135 140

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
145 150 155 160

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

165 170 175

Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
180 185 190

Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 56

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 56

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Pro Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 57

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 57

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Pro Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 58

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 58

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 59

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 59

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Pro Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 60

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 60

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Pro Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

Gln Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr
130 135 140

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
145 150 155 160

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

165 170 175

Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
180 185 190

Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 61

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 61

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 62

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 62

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 63

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 63

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 64

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 64

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 65

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synehtic sequence

<400> 65

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Pro Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr
130 135 140

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
145 150 155 160

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

165 170 175

Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
180 185 190

Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 66

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 66

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 67

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 67

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Thr Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 68

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 68

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 69

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 69

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Pro Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 70

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 70

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Ser Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr
130 135 140

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
145 150 155 160

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

165 170 175

Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
180 185 190

Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 71

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 71

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 Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Thr Asn Phe Gly Asn Ser Lys Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 72

<211> 469

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 72

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

1 5 10 15

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val

130 135 140

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser

145 150 155 160

Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr

165 170 175

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys

180 185 190

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn

195 200 205

Arg Gly Glu Cys Ser Arg Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg

275 280 285

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met

290 295 300

Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His

305 310 315 320

Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

325 330 335

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

340 345 350

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

355 360 365

Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr

370 375 380

Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Asp Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro

385 390 395 400

Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Thr Val Leu Ser Arg

465

<210> 73

<211> 469

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 73

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

1 5 10 15

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val

130 135 140

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser

145 150 155 160

Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr

165 170 175

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys

180 185 190

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn

195 200 205

Arg Gly Glu Cys Ser Arg Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg

275 280 285

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met

290 295 300

Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His

305 310 315 320

Ser Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

325 330 335

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

340 345 350

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

355 360 365

Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr

370 375 380

Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Asp Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro

385 390 395 400

Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Thr Val Leu Ser Arg

465

<210> 74

<211> 469

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 74

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

1 5 10 15

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val

130 135 140

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser

145 150 155 160

Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr

165 170 175

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys

180 185 190

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn

195 200 205

Arg Gly Glu Cys Ser Arg Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg

275 280 285

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met

290 295 300

Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His

305 310 315 320

Gly Asn Phe Pro Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

325 330 335

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

340 345 350

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

355 360 365

Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr

370 375 380

Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Asp Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro

385 390 395 400

Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Thr Val Leu Ser Arg

465

<210> 75

<211> 469

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 75

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

1 5 10 15

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val

130 135 140

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser

145 150 155 160

Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr

165 170 175

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys

180 185 190

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn

195 200 205

Arg Gly Glu Cys Ser Arg Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg

275 280 285

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met

290 295 300

Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His

305 310 315 320

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

325 330 335

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

340 345 350

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

355 360 365

Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr

370 375 380

Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Asp Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro

385 390 395 400

Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Thr Val Leu Ser Arg

465

<210> 76

<211> 469

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 76

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

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

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

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser
100 105 110

Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala
115 120 125

Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
130 135 140

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser
145 150 155 160

Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr
165 170 175

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys
180 185 190

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn
195 200 205

Arg Gly Glu Cys Ser Arg Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg

275 280 285

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met

290 295 300

Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His

305 310 315 320

Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Gln Tyr Trp Gly Gln

325 330 335

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

340 345 350

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

355 360 365

Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr

370 375 380

Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Asp Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro

385 390 395 400

Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Thr Val Leu Ser Arg

465

<210> 77

<211> 469

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 77

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

1 5 10 15

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val

130 135 140

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser

145 150 155 160

Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr

165 170 175

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys

180 185 190

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn

195 200 205

Arg Gly Glu Cys Ser Arg Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg

275 280 285

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met

290 295 300

Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His

305 310 315 320

Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

325 330 335

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

340 345 350

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

355 360 365

Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr

370 375 380

Gly Ala Val Thr Thr Lys Asn Tyr Asp Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro

385 390 395 400

Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Thr Val Leu Ser Arg

465

<210> 78

<211> 469

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 78

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

1 5 10 15

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val

130 135 140

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser

145 150 155 160

Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr

165 170 175

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys

180 185 190

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn

195 200 205

Arg Gly Glu Cys Ser Arg Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg

275 280 285

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met

290 295 300

Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His

305 310 315 320

Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

325 330 335

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

340 345 350

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

355 360 365

Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr

370 375 380

Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Asp Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro

385 390 395 400

Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Thr Val Leu Ser Arg

465

<210> 79

<211> 469

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 79

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

1 5 10 15

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val

130 135 140

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

195 200 205

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

260 265 270

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

325 330 335

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
340 345 350
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu
355 360 365
Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr

370 375 380

Gly Ala Val Thr Tyr Ser Asn Tyr Asp Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro

385 390 395 400

Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Thr Val Leu Ser Arg

465

<210> 80

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 80

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Arg Pro Ser Thr Gly Tyr Thr Glu Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Phe Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Gly Arg Gly Asp Asn Trp Val Gly Phe Ala Asn Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 81

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 81

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Arg Pro Ser Thr Gly Tyr Thr Glu Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Phe Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Gly Arg Gly Asp Asn Trp Val Gly Phe Ala Asn Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 82

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 82

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

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

100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 83
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic sequence
<400> 83
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

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

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Phe Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Gly Arg Gly Asp Asn Trp Val Gly Phe Ala Asn Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 84

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 84

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Arg Pro Ser Thr Gly Tyr Thr Glu Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Phe Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Gly Arg Gly Asp Asn Trp Val Gly Phe Ala Asn Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 85

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 85

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Arg Pro Ser Thr Gly Tyr Thr Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Gly Arg Gly Asp Asn Trp Val Gly Phe Ala Asn Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 86

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 86

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Arg Pro Ser Thr Gly Tyr Thr Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 87
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic sequence
<400> 87
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

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

100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 88
<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 88

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

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

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

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 89

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 89

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

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

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

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 90

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 90

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

1 5 10 15

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 91

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 91

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

1 5 10 15

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 92

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 92

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

1 5 10 15

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 93
<211> 105
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic sequence
<400> 93

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

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

<210> 94
<211> 105
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic sequence
<400> 94

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

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

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 95

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic sequence

<400> 95

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

1 5 10 15

Glu Glu Ile Ala Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Thr Tyr His Thr Phe

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105